



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ

Σχολή Θετικών Επιστημών

Τμήμα Χημείας

Τομέας Βιομηχανικής Χημείας και Χημείας Τροφίμων

Προσδιορισμός επιπέδων υπολειμμάτων
φυτοπροστατευτικών ενώσεων σε
οίνους ελληνικής προέλευσης με χρήση
μεθοδολογίας QuEChERS-LC-
LTQ/Orbitrap MS

Κίτσου Ειρήνη

A.M.:1261

Δεκέμβριος 2022

Περιεχόμενα

1.	Τρόφιμα και Ρύπανση	1
1.1.	Εισαγωγή	1
1.2.	Παρουσία φυτοπροστατευτικών ενώσεων σε τρόφιμα	3
1.3.	Τύχη φυτοπροστατευτικών ενώσεων μετά την εφαρμογή	4
1.4.	Επικινδυνότητα υπολειμμάτων φυτοπροστατευτικών	5
2.	Φυτοφάρμακα	8
2.1.	Σκοπός και χρήση φυτοφαρμάκων	8
2.2.	Κατηγοριοποίηση φυτοφαρμάκων	9
2.2.1.	Ζιζανιοκτόνα	10
2.2.2.	Εντομοκτόνα	11
2.2.3.	Μυκητοκτόνα	12
2.3.	Οφέλη και κίνδυνοι από τη χρήση φυτοφαρμάκων	13
2.4.	Νομοθετικό πλαίσιο και παρακολούθηση φυτοφαρμάκων	14
3.	Το κρασί	16
3.1.	Ιστορική αναδρομή	16
3.2.	Χημική Σύσταση	17
3.3.	Στάδια παραγωγής κρασιού	21
3.4.	Παράγοντες που επηρεάζουν την ποιότητα	24
3.5.	Το κρασί στη διατροφή	25
3.6.	Κατηγορίες και ποικιλίες κρασιών	26
3.7.	Κρασί και φυτοφάρμακα	28
4.	Τεχνικές εκχύλισης δειγμάτων τροφίμων	32
4.1.	Μέθοδοι προετοιμασίας δειγμάτων για ανάλυση	32
4.2.	Υγρή – υγρή εκχύλιση (Liquid – Liquid Extraction)	33
4.3.	Εκχύλιση δια της στερεάς φάσης (Solid Phase Extraction)	33
4.4.	Εκχύλιση με απορροφητική ράβδο ανάδευσης (Stir Bar Sorptive Extraction)	34
4.5.	Εκχύλιση στερεάς φάσης σε διασπορά (Dispersive Solid Phase Extraction)	34
4.6.	QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe)	34
5.	Υγρή χρωματογραφία – Φασματοσκοπία Μάζας	38
5.1.	Υγρή χρωματογραφία	38
5.1.1.	Αναλυτικές στήλες	39
5.2.	Φασματομετρία μάζας	40

5.2.1.	Τεχνικές Ιοντισμού - Ιονισμός ηλεκτροψεκασμού (ESI)	41
5.2.2.	Αναλυτές μαζών - Τροχιακή παγίδα ιόντων (Orbitrap)	42
5.2.3.	Τεχνικές Ανάλυσης - Σάρωσης	43
5.3.	Σύζευξη υγρής χρωματογραφίας και φασματομετρίας μάζας (LC-MS)	45
6.	Επιλεγμένα φυτοφάρμακα	47
6.1.	Επιλεγμένα εντομοκτόνα	47
6.1.1.	Acetamiprid.....	47
6.1.2.	Azinphos - methyl.....	47
6.1.3.	Chlorpyrifos - methyl.....	47
6.1.4.	Clofentezine	48
6.1.5.	Coumaphos	48
6.1.6.	Diazinon	48
6.1.7.	Dichlorvos.....	48
6.1.8.	Dimethoate.....	49
6.1.9.	Ethion.....	49
6.1.10.	Fenthion	49
6.1.11.	Fenthion sulfoxide	49
6.1.12.	Imidacloprid	49
6.1.13.	Methoxyfenozide	50
6.1.14.	Phosalone	50
6.1.15.	Pyriproxyfen.....	50
6.1.16.	Terbufos.....	50
6.1.17.	Thiacloprid	51
6.1.18.	Thiamethoxam.....	51
6.2.	Επιλεγμένα ζιζανιοκτόνα	51
6.2.1.	Fluazifop - p - butyl	51
6.2.2.	Quizalofop - p - ethyl.....	51
6.2.3.	Rimsulfuron	52
6.3.	Επιλεγμένα μυκητοκτόνα.....	52
6.3.1.	Azoxystrobin	52
6.3.2.	Benalaxyl	52
6.3.3.	Boscalid	52
6.3.4.	Bupirimate	53

6.3.5.	Carbendazim.....	53
6.3.6.	Cymoxanil	53
6.3.7.	Cyprodinil.....	53
6.3.8.	Difenoconazole.....	54
6.3.9.	Fenbuconazole	54
6.3.10.	Iprovalicarb.....	54
6.3.11.	Metalaxyl	54
6.3.12.	Myclobutanil.....	54
6.3.13.	Pyraclostrobin.....	55
6.3.14.	Tebuconazole	55
6.3.15.	Triadimenol	55
6.3.16.	Trifloxystrobin.....	55
7.	Πειραματικό μέρος: Προσδιορισμός παρασιτοκτόνων σε λευκό και κόκκινο κρασί	58
7.1.	Πρότυπες ουσίες - διαλύτες - αντιδραστήρια - υλικά - όργανα - συσκευές.....	58
7.1.1.	Πρότυπες ενώσεις παρασιτοκτόνων	58
7.1.2.	Διαλύτες	58
7.1.3.	Αντιδραστήρια.....	58
7.1.4.	Υλικά.....	58
7.1.5.	Όργανα - συσκευές.....	59
7.2.	Πρωτόκολλο εκχύλισης δειγμάτων οίνου με την βελτιστοποιημένη μέθοδο QuEChERS	60
7.3.	Σύστημα υγρής χρωματογραφίας υπερυψηλής πίεσης UHPLC (LTQ) Orbitrap	61
7.4.	Ποιοτικός και ποσοτικός προσδιορισμός.....	63
7.5.	Δείγματα.....	71
8.	Πειραματικά αποτελέσματα.....	77
9.	Συμπεράσματα.....	89
	Παράρτημα I: Δομή επιλεγμένων φυτοφαρμάκων	91
	Βιβλιογραφία.....	99

Περιεχόμενα πινάκων και εικόνων

Πίνακας 2-1. Βασικότερες οδηγίες και κανονισμοί της ΕΕ για τα φυτοφάρμακα.....	15
Πίνακας 3-1. Βασικά συστατικά του χυμού σταφυλιού	17
Πίνακας 3-2. Εκτιμήσεις τυπικής σύνθεσης κρασιών (% βάρους) (Soleas et al., 1997).....	20
Πίνακας 3-3. Ανώτατα όρια καταλοίπων (MRLs) σε επιτραπέζια και οινοποιήσιμα σταφύλια σύμφωνα με τους ισχύοντες ευρωπαϊκούς Κανονισμούς.....	30
Πίνακας 7-1. Παράμετροι χρωματογραφικής ανάλυσης.....	62
Πίνακας 7-2. Πρόγραμμα βαθμωτής έκλουσης για τον θετικό ιοντισμό στο σύστημα UHPLC/LTQ-ORBITRAP	62
Πίνακας 7-3. Χρόνοι κατακράτησης (t_R), θεωρητικές και πειραματικές μάζες, σχετικό σφάλμα μαζών (Mass Accuracy) και αριθμός ισοδυνάμων διπλών δεσμών και δακτυλίων (Ring Double Bond equivalents, RDBE) των ψευδο-μοριακών ιόντων, θυγατρικών ιόντων (Fragmentation ions).....	64
Πίνακας 7-4. Παράμετροι επικύρωσης μεθόδου: Γραμμικότητα (Linearity (R^2)), Όρια ανίχνευσης (LODs), όρια ποσοτικοποίησης (LOQs), μέσες ανακτήσεις (REC) (%) και σχετικές τυπικές αποκλίσεις (RSD) (%) τριών διαφορετικών επιπέδων ($n = 6$) που μελετήθηκαν για την ίδια ημέρα και σε διαφορετικές ημέρες, καθώς και μέγιστα επίπεδα υπολειμμάτων (MRL), για υπολείμματα παρασιτοκτόνων σε λευκό οίνο [1]	67
Πίνακας 7-5. Παράμετροι επικύρωσης μεθόδου: Γραμμικότητα [Linearity (R^2)], Όρια ανίχνευσης (LODs), όρια ποσοτικοποίησης (LOQs), μέσες ανακτήσεις (REC) (%) και σχετικές τυπικές αποκλίσεις (RSD) (%) τριών διαφορετικών επιπέδων ($n = 6$) που μελετήθηκαν για την ίδια ημέρα και σε διαφορετικές ημέρες, καθώς και μέγιστα επίπεδα υπολειμμάτων (MRL), για υπολείμματα παρασιτοκτόνων σε κόκκινο οίνο [1].....	69
Πίνακας 7-6. Βασικά χαρακτηριστικά δειγμάτων οίνων που αναλύθηκαν.....	71
Πίνακας 8-1. Κατανομή δειγμάτων - Συγκεντρωτικά αποτελέσματα.....	77
Πίνακας 8-2. Αποτελέσματα ποιοτικού και ποσοτικού προσδιορισμού	78
Πίνακας 8-3. Αριθμός δειγμάτων ανά παρασιτοκτόνο που ανιχνεύθηκε.....	85
Πίνακας 8-4. Γεωγραφική κατανομή των δειγμάτων στα οποία ανιχνεύθηκαν παρασιτοκτόνα	86
Πίνακας 8-5. Αριθμός δειγμάτων με βάση το έτος παραγωγής του οίνου	87
Σχήμα 1-1. Μεταβολή πωλήσεων φυτοφαρμάκων στην ΕΕ μεταξύ 2011 – 2020 [10]	2
Σχήμα 3-1. Κύρια στάδια οινοποίησης [51].....	23
Σχήμα 4-1. Σχηματικό διάγραμμα ροής για τα κύρια βήματα τριών βασικών μεθόδων QuEChERS [89]	37
Σχήμα 5-1. Σχηματική απεικόνιση φασματομετρίας μάζας [106]	41
Σχήμα 5-2. Ανιχνευτής Orbitrap [111]	43
Σχήμα 5-3. Βασική διάταξη LC – MS [114].....	45
Σχήμα 7-1. Τελικό πρωτόκολλο εκχύλισης δειγμάτων οίνου με την βελτιστοποιημένη μέθοδο QuEChERS.....	61
Σχήμα 8-1. (α) Χρωματογράφημα επιλεγμένων ιόντων (Extracted Ion Chromatogram, XIC) και (b) φάσμα MS / MS θυγατρικών ιόντων, που ελήφθησαν για Azoxystrobin και Boscalid σε δείγματα οίνου	83

Σχήμα 8-2. (a) Χρωματογράφημα επιλεγμένων ιόντων (Extracted Ion Chromatogram, XIC) και (b) φάσμα MS / MS θυγατρικών ιόντων, που ελήφθησαν για Cyprodinil και Metalaxyl σε δείγματα οίνου	84
Σχήμα 8-3. Κατανομή δειγμάτων με βάση το χρώμα του οίνου	85
Σχήμα 8-4. Ποσοστιαία κατανομή παρασιτοκτόνων στα δείγματα που ανιχνεύθηκαν.....	86
Σχήμα 8-5. Κατανομή δειγμάτων ανά γεωγραφική περιοχή	87
Σχήμα 8-6. Κατανομή δειγμάτων ανά έτος παραγωγής	88

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα μεταπτυχιακή διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στο πλαίσιο του μεταπτυχιακού προγράμματος σπουδών του τμήματος Χημείας στο ερευνητικό Εργαστήριο Βιομηχανικής Χημείας και Χημείας Τροφίμων του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.

Σκοπός της διπλωματικής εργασίας είναι ο προσδιορισμός υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων σε δείγματα οίνου της ελληνικής αγοράς με βάση την αναλυτική μέθοδο εκχύλισης QuEChERS σε συνδυασμό με υγρή χρωματογραφία συζευγμένη με φασματομετρία μάζας υψηλής διακριτικής ικανότητας Orbitrap HRMS.

Θα ήθελα να εκφράσω τις ειλικρινείς ευχαριστίες μου στον κ. Αλμπάνη Τριαντάφυλλο, Πρύτανη του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, καθηγητή του Τμήματος Χημείας και επιβλέποντα καθηγητή της παρούσας ερευνητικής εργασίας για την ανάθεση αυτής της μελέτης και την ευκαιρία να εργαστώ στο εργαστήριό του.

Επιπλέον, ευχαριστώ όλα τα μέλη και το προσωπικό του εργαστηρίου Βιομηχανικής Χημείας και ιδιαίτερα τις Δρ. Κοσμά Χριστίνα και Δρ. Μπότη Βασιλική για την καθοδήγηση και τις πολύτιμες συμβουλές τους κατά τη διάρκεια εκπόνησης της έρευνας.

Τέλος, οφείλω ένα μεγάλο ευχαριστώ στους γονείς μου, Χρήστο και Φωτεινή για τη στήριξη και την υπομονή τους όλα αυτά τα χρόνια, στον αδερφό μου Βαγγέλη που η βοήθειά του ήταν ανεκτίμητη στην ακαδημαϊκή μου πορεία, καθώς και τους φίλους μου για την αλληλεγγύη που έδειξαν.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Ο συνεχώς αυξανόμενος παγκόσμιος πληθυσμός οδήγησε στη χρήση φυτοπροστατευτικών ουσιών για την εξασφάλιση της μέγιστης απόδοσης παραγωγής στις καλλιέργειες. Επομένως, αποτελεσματικός έλεγχος των προϊόντων για τυχόν υπολειμματικές συγκεντρώσεις παρασιτοκτόνων που πιθανώς να προκαλέσουν προβλήματα υγείας είναι αναγκαίος.

Στο πλαίσιο αυτού του ελέγχου, η παρούσα διπλωματική εργασία επικεντρώνει το ενδιαφέρον στην εφαρμογή μιας βελτιστοποιημένης μεθοδολογίας QuEChERS και σε συνδυασμό με UHPLC-LTQ/ORBITRAP MS των Kosma et al. [1] για τον προσδιορισμό 37 φυτοπροστατευτικών ουσιών (εντομοκτόνων, μυκητοκτόνων και ζιζανιοκτόνων) σε ελληνικά κρασιά από συμβατικές και βιολογικές καλλιέργειες διαφόρων περιοχών της Ελλάδας. Τα αποτελέσματα της ανάλυσης συγκρίθηκαν με τα -θεσμοθετημένα από την Ευρωπαϊκή Νομοθεσία- Ανώτατα Όρια Καταλοίπων (Maximum Residue Limits, MRLs) και αξιολογήθηκαν με βάση την γεωγραφική τους προέλευση, την ποικιλία της αμπέλου και τη χρονολογία παραγωγής.

Από το σύνολο των 155 δειγμάτων ανιχνεύθηκαν παρασιτοκτόνα σε 7 δείγματα οίνου, ωστόσο μόνο 8 παρασιτοκτόνα ανιχνεύθηκαν στο σύνολο των 37 για τα οποία πραγματοποιήθηκε ανάλυση. Το παρασιτοκτόνο με το μεγαλύτερο ποσοστό ανίχνευσης ήταν το μυκητοκτόνο Metalaxyl, ενώ σε ότι αφορά τη γεωγραφική περιοχή το μεγαλύτερο ποσοστό εμφάνισης υπήρξε στη Στερεά Ελλάδα.

ABSTRACT

The ever-increasing world population has led to the use of pesticides to ensure maximum production efficiency in crops. Therefore, effective control of the products for any residual concentrations of pesticides that may cause health problems is imperative.

In the context of this control, this thesis focuses on the application of the optimized QuEChERS and UHPLC–LTQ/ORBITRAP MS method of Kosma et al. [1] for the determination of 38 pesticides (insecticides, fungicides and herbicides) in Greek wines from conventional and organic crops from various regions of Greece. The results of the analysis were compared with the - established by European Legislation - Maximum Residue Levels (MRLs) and evaluated based on their geographical origin, grape variety and production date.

Out of the total of 155 samples, pesticides were detected in 77 wine samples, however only 8 pesticides were detected in the total of 37 analyzed. The pesticide with the highest percentage of detection was the fungicide Metalaxyl, while in terms of the geographical area, the highest percentage of occurrence was in Central Greece.

1. Τρόφιμα και Ρύπανση

1.1. Εισαγωγή

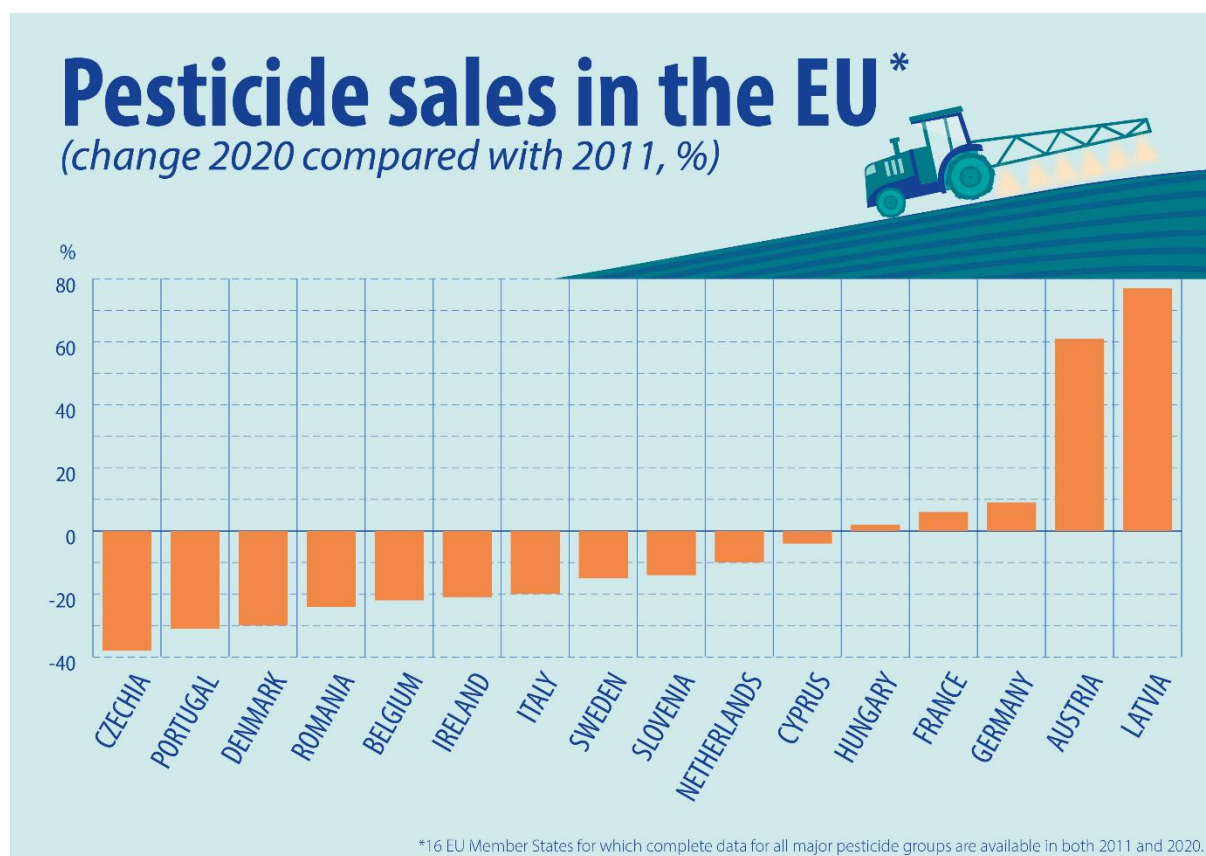
Ο παγκόσμιος πληθυσμός αυξήθηκε από 2,5 δισεκατομμύρια το 1950 σε 6,1 δισεκατομμύρια το έτος 2000. Μέχρι το έτος 2050 ο παγκόσμιος πληθυσμός εκτιμάται ότι θα φτάσει τα 9,1 δισεκατομμύρια. Αυτό σημαίνει ότι ο πληθυσμός της Γης υπερδιπλασιάστηκε τα 50 χρόνια από το 1950 έως το 2000, και πιθανότατα θα αυξηθεί ελαφρώς λιγότερο στα 50 χρόνια από το 2000 έως το 2050. Επί του παρόντος, ο παγκόσμιος πληθυσμός αυξάνεται με ετήσιο ρυθμό 1,2%, δηλαδή 77 εκατομμύρια άτομα ετησίως. Η διάρκεια ζωής αυξάνεται επίσης. Την περίοδο 1995–2000, το προσδόκιμο ζωής κατά τη γέννηση σε πιο ανεπτυγμένες περιοχές έχει υπολογιστεί στα 75 έτη και στις λιγότερο ανεπτυγμένες περιοχές στα 63 έτη. Σε παγκόσμιο επίπεδο, ο αριθμός των ηλικιωμένων, ηλικίας 60 ετών και άνω, θα υπερτριπλασιαστεί έως το έτος 2050, δηλαδή θα αυξηθεί σε 2 δισεκατομμύρια [2].

Ο μοναδικός μοχλός για την τροφοδοσία του παγκόσμιου πληθυσμού είναι η αύξηση της γεωργικής παραγωγής που θα μπορούσε να επιτευχθεί με έναν από διάφορους τρόπους ή με συνδυασμό αυτών, όπως η αύξηση της έκτασης της γεωργικής γης, η ενίσχυση της απόδοσης των καλλιεργειών μέσω της χρήσης αγροχημικών, οργανικών λιπασμάτων και βιολογικών ελέγχων και της βελτιωμένης διαχείρισης του εδάφους και των υδάτων. Η άμεση απάντηση στην ανάγκη για αυξανόμενη παραγωγή τροφίμων είναι η πιο εντατική χρήση αγροχημικών [3]. Τα αγροχημικά περιλαμβάνουν δύο μεγάλες ομάδες ενώσεων: τα χημικά λιπάσματα και τα φυτοφάρμακα.

Η χρήση φυτοφαρμάκων, συμπεριλαμβανομένων εντομοκτόνων, μυκητοκτόνων, ζιζανιοκτόνων, μυοκτόνων κ.λπ., επέτρεψε τη σημαντική μείωση των απωλειών και τη βελτίωση της απόδοσης στις καλλιέργειες, καθώς και την προστασία των ζώων από ασθένειες και παράσιτα και την προστασία των ανθρώπων από φορείς ελονοσίας. Τα φυτοφάρμακα είναι δηλητήρια που διασκορπίζονται σκόπιμα στο περιβάλλον για τον έλεγχο των παρασίτων, αλλά δρουν επίσης και σε άλλα είδη που δεν αποτελούν στόχο προκαλώντας σοβαρές παρενέργειες. Τα υπολείμματα φυτοφαρμάκων μολύνουν το έδαφος και το νερό, παραμένουν στις καλλιέργειες, εισέρχονται στην τροφική αλυσίδα και τελικά καταπίνονται από τον άνθρωπο με τα τρόφιμα και το νερό [4].

Οι ανεπτυγμένες χώρες, συμπεριλαμβανομένων της Ευρωπαϊκής Ένωσης, των ΗΠΑ και του Καναδά, ενέκριναν νόμους που περιορίζουν τη χρήση αγροχημικών. Αυτή η νομοθεσία στοχεύει στην προστασία των καταναλωτών μέσω μιας πιο ενδεδειγμένης τοξικολογικής δοκιμής των ενώσεων και της επιβολής χαμηλότερων ορίων συγκέντρωσης για τα υπολείμματα που είναι ανεκτά στα τρόφιμα και το νερό [5]. Αυτή η κίνηση καθοδηγείται από ανησυχίες για την δημόσια υγεία, καθώς η παρουσία υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων στα τρόφιμα είναι επιβλαβής για την ποιότητα ζωής. Στην πραγματικότητα, έχει αποδειχθεί ότι ακόμη και σε χαμηλές συγκεντρώσεις, η συνδυασμένη δράση των ξενοβιοτικών χημικών ουσιών προκαλεί καταστολή της ανοσολογικής απόκρισης και υπερευαισθησία σε χημικούς παράγοντες [6]. Οι ανεπτυγμένες χώρες οδεύουν, επομένως, προς την κατεύθυνση λιγότερων χημικών προϊόντων και

περισσότερων «πράσινων προϊόντων». Επιπλέον, τα νέα φυτοφάρμακα είναι λιγότερο ανθεκτικά στο περιβάλλον από τα κλασικά φυτοφάρμακα. Ωστόσο, είναι πιο δαπανηρά σε σύγκριση με τα παλιά χημικά και δεν μπορούν να τα αντέξουν οικονομικά οι αναπτυσσόμενες χώρες. Οι χώρες στην τροπική ζώνη επενδύουν στη μαζική χρήση φθηνών φυτοφαρμάκων. Έτσι, η μόλυνση του περιβάλλοντος, η ανθρωπίνη έκθεση και τα υπολείμματα στα τρόφιμα είναι υψηλότερα. Επιπρόσθετα, η εξάτμιση των ενώσεων προκαλεί την εξάπλωση των υπολειμμάτων που μεταφέρονται με ατμοσφαιρικές διεργασίες σε μεγαλύτερα γεωγραφικά πλάτη. Η διασυννοριακή μόλυνση φτάνει σε εύκρατες ζώνες και ακόμη και σε πολικές περιοχές [7]. Αν και η απαγόρευση της χρήσης έμμοων οργανικών ρύπων (POPs: Persistent Organic Pollutants), που είναι βιοσυσσωρευτικοί και τοξικοί, έχει επιτευχθεί μέσω μιας διεθνούς συμφωνίας [8], τα υπολείμματα των επίμονων οργανικών χημικών ουσιών θα παραμείνουν στη βιόσφαιρα για τα επόμενα χρόνια και, τουλάχιστον μερικά από αυτά, με τοξική δραστηριότητα [9].



Σχήμα 1-1. Μεταβολή πωλήσεων φυτοφαρμάκων στην ΕΕ μεταξύ 2011 – 2020 [10]

Η αξιολόγηση της προηγούμενης εμπειρίας από την αύξηση της παραγωγής τροφίμων μέσω της χρήσης υψηλότερων ποσοτήτων αγροχημικών, υποδηλώνει ότι αυτή η διαδικασία προκαλεί μεγαλύτερη ζημιά στο περιβάλλον και υποβαθμίζει περαιτέρω την ποιότητα των τροφίμων και του νερού. Αυτό δεν σημαίνει αυτόματα ότι τα αγροχημικά είναι άχρηστα ή εντελώς επιβλαβή, αλλά απαιτούν πολύ καλύτερο έλεγχο της καταχώρισης και της χρήσης τους [5]. Αυτός ο έλεγχος μπορεί να απαιτεί την απαγόρευση των ανθεκτικών χημικών ουσιών, την εκπαίδευση των αγροτών και των αγροτικών εργαζομένων και τη στενή παρακολούθηση των υπολειμμάτων στο περιβάλλον και στα τρόφιμα.

1.2. Παρουσία φυτοπροστατευτικών ενώσεων σε τρόφιμα

Το φαγητό είναι βασική ανάγκη για τη ζωή, καθώς παρέχει βασικά θρεπτικά συστατικά που απαιτούνται για τις περισσότερες από τις αντιδράσεις που συμβαίνουν στο σώμα και τα τρόφιμα που έχουν μολυνθεί με τοξικά φυτοφάρμακα συνδέονται με σοβαρές επιπτώσεις στην ανθρώπινη υγεία.

Η χρήση φυτοφαρμάκων έχει αυξηθεί επειδή έχουν ταχεία δράση, μειώνουν τις τοξίνες που παράγονται από οργανισμούς που μολύνουν τα τρόφιμα και είναι λιγότερο απαιτητική από άλλες μεθόδους καταπολέμησης παρασίτων. Ωστόσο, η χρήση φυτοφαρμάκων κατά την παραγωγή συχνά οδηγεί στην παρουσία υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων μετά τη συγκομιδή [11]. Η παρουσία υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων προκαλεί ανησυχία για τους καταναλωτές, επειδή τα φυτοφάρμακα είναι γνωστό ότι έχουν πιθανές επιβλαβείς επιπτώσεις σε άλλους μη στοχευμένους οργανισμούς εκτός από παράσιτα και ασθένειες. Οι κύριες ανησυχίες είναι οι τοξικές τους επιδράσεις, όπως η παρεμβολή στο αναπαραγωγικό σύστημα και στην ανάπτυξη του εμβρύου, καθώς και στην ικανότητά τους να προκαλούν καρκίνο και άσθμα [12]. Μερικά από τα φυτοφάρμακα είναι ανθεκτικά και επομένως παραμένουν στο σώμα προκαλώντας μακροχρόνια έκθεση. Η ανησυχία οδήγησε τις κυβερνήσεις να δημιουργήσουν συστήματα παρακολούθησης προκειμένου να αξιολογήσουν την κατάσταση ασφάλειας και να λάβουν τεκμηριωμένες αποφάσεις κατά τη θέσπιση νομοθεσίας [11].

Είναι -επομένως- σημαντικό να αξιολογηθούν απλές, οικονομικά αποδοτικές στρατηγικές για την ενίσχυση της ασφάλειας των τροφίμων από επιβλαβή φυτοφάρμακα. Οι τρεις κύριες οδοί εισόδου για τα φυτοφάρμακα στο σώμα είναι η δερματική, (έκθεση μέσω του δέρματος ή των ματιών), η αναπνευστική (εισπνοή στους πνεύμονες) και η από του στόματος (κατάποση από το στόμα) [11].

Για τη μείωση της έκθεσης του πληθυσμού σε αυτές τις χημικές ουσίες, τα υπολείμματα τόσο από παλαιού τύπου εφαρμογές όσο και από τρέχουσες γεωργικές, βιομηχανικές και οικιακές εφαρμογές πρέπει να ελέγχονται αυστηρά στο περιβάλλον και στα τρόφιμα. Τα υπολείμματα φυτοφαρμάκων στη Βόρεια Αμερική και στην ΕΕ παρακολουθούνται ήδη διεξοδικά. Γενικά, τα τρόφιμα της αγοράς συμμορφώνονται με τις μέγιστες επιτρεπόμενες συγκεντρώσεις και τα ποσοστά δειγμάτων με ανιχνευμένα υπολείμματα που υπερβαίνουν τα επιτρεπόμενα όρια είναι μικρά. Στην ΕΕ, ανάμεσα σε περισσότερα από 83.000 δείγματα τροφίμων από 28 κράτη μέλη που αναλύθηκαν το 2014, το 97% των δειγμάτων ήταν εντός των νόμιμων ορίων. Από αυτά, το 53,6% ήταν απαλλαγμένο από ποσοτικοποιήσιμα υπολείμματα και το 43,4% περιείχε υπολείμματα που ήταν εντός των επιτρεπόμενων συγκεντρώσεων. Παρά ταύτα, σε φυτικά προϊόντα, βρέθηκαν 154 διαφορετικές ουσίες σε μετρήσιμες συγκεντρώσεις και -παρόλο που η αρχή τροφίμων EFSA εκτίμησε τον κίνδυνο για τους καταναλωτές ως χαμηλό- κρίθηκαν απαραίτητες συστάσεις για την περαιτέρω βελτίωση της ασφάλειας των τροφίμων και τη μείωση της έκθεσης των καταναλωτών [13].

Η έκθεση σε φυτοφάρμακα και συνθετικές χημικές ουσίες έχει συσχετιστεί με τον καρκίνο, την παχυσαρκία, τις ενδοκρινικές διαταραχές και άλλες ασθένειες στον άνθρωπο. Η έκθεση σε χημικά

υπολείμματα μέσω της τροφής παραμένει ένα θέμα ανησυχίας, καθώς επιβαρύνει τη δημόσια υγεία [14]. Γενικά, τα μέγιστα ανεκτά όρια υπολειμμάτων στα τρόφιμα μειώνονται με την πάροδο των ετών, αν και η έκθεση δεν έχει ακόμη μειωθεί επαρκώς λόγω των κληρονομικών ενώσεων στο περιβάλλον και των νέων χημικών ουσιών που εισάγονται [15].

1.3. Τύχη φυτοπροστατευτικών ενώσεων μετά την εφαρμογή

Η τύχη αναφέρεται στο μοτίβο κατανομής ενός παράγοντα, των παραγώγων ή των μεταβολιτών του σε έναν οργανισμό, σύστημα ή (υπο)πληθυσμό ως αποτέλεσμα μεταφοράς, καταμερισμού, μετασχηματισμού ή υποβάθμισης [16]. Μετά την εφαρμογή φυτοφαρμάκων στις καλλιέργειες, μπορεί να αλληλεπιδράσουν με τις επιφάνειες των φυτών, να εκτεθούν σε περιβαλλοντικούς παράγοντες όπως ο άνεμος και ο ήλιος και μπορεί να ξεπλυθούν κατά τη διάρκεια βροχοπτώσεων. Το φυτοφάρμακο μπορεί να απορροφηθεί από την επιφάνεια του φυτού και να εισέλθει στο σύστημα μεταφοράς των φυτών ή να παραμείνει στην επιφάνεια του φυτού. Ενώ είναι ακόμα στην επιφάνεια της καλλιέργειας, το φυτοφάρμακο μπορεί να υποστεί εξάτμιση, χημική φωτόλυση και μικροβιακή αποικοδόμηση. Όλες αυτές οι διεργασίες μπορούν να μειώσουν την αρχική συγκέντρωση φυτοφαρμάκων, αλλά μπορούν επίσης να εισάγουν ορισμένους μεταβολίτες στις καλλιέργειες [11].

Η εξάτμιση του φυτοφαρμάκου συνήθως συμβαίνει αμέσως μετά την εφαρμογή στην καλλιέργεια. Η διαδικασία εξαρτάται από την τάση ατμών του φυτοφαρμάκου. Τα φυτοφάρμακα με υψηλή τάση ατμών τείνουν να εξατμίζονται γρήγορα στον αέρα, ενώ αυτά με χαμηλή τάση ατμών παραμένουν περισσότερο στην επιφάνεια. Ο ρυθμός εξάτμισης εξαρτάται επίσης από περιβαλλοντικούς παράγοντες όπως η ταχύτητα και η θερμοκρασία του ανέμου. Όσο μεγαλύτερη είναι η ταχύτητα του ανέμου και όσο υψηλότερη είναι η θερμοκρασία τόσο περισσότερο θα εξατμίζεται το φυτοφάρμακο. Η φωτόλυση συμβαίνει όταν τα μόρια απορροφούν ενέργεια από το ηλιακό φως με αποτέλεσμα την αποικοδόμηση των φυτοφαρμάκων. Η έμμεση φωτόλυση μπορεί να προκληθεί από κάποιες άλλες χημικές ουσίες που διασπώνται από το ηλιακό φως και τα προϊόντα τους αντιδρούν με τα φυτοφάρμακα. Ορισμένα φυτοφάρμακα μπορεί να αποικοδομηθούν από τον μικροβιακό μεταβολισμό. Οι μικροοργανισμοί μπορούν να χρησιμοποιούν φυτοφάρμακα ως θρεπτικά συστατικά, διασπώντας τα σε διοξείδιο του άνθρακα και άλλα συστατικά [17]. Λόγω της διαφοράς μεταξύ των φυσικών οργανικών χημικών ουσιών και των δομών φυτοφαρμάκων, τα τελευταία δεν μπορούν να αφομοιωθούν από τα μικρόβια, αλλά μπορεί να μετατραπούν. Τα προϊόντα που σχηματίζονται μπορεί να είναι λιγότερο ή περισσότερο τοξικά από τη μητρική χημική ουσία [11].

Τα τρόφιμα περνούν από την επεξεργασία και τη μαγειρική πριν καταναλωθούν και έχει βρεθεί ότι μειώνουν τα επίπεδα υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων εκτός από περιπτώσεις όπου υπάρχει συγκέντρωση του προϊόντος όπως στον χυμό και στην παραγωγή λαδιού. Μερικοί τοξικοί μεταβολίτες μπορεί να παραχθούν κατά τη διάρκεια των μεθόδων επεξεργασίας, ιδιαίτερα της θερμικής επεξεργασίας. Ωστόσο, οι καταναλωτές ενθαρρύνονται να χρησιμοποιούν εκείνες τις μεθόδους επεξεργασίας που μειώνουν τα υπολείμματα φυτοφαρμάκων [18], [19].

1.4. Επικινδυνότητα υπολειμμάτων φυτοπροστατευτικών

Η τοξικότητα είναι η δυνατότητα μιας χημικής ουσίας να προκαλέσει μια δυσμενή επίδραση σε έναν ζωντανό οργανισμό, π.χ., τον άνθρωπο. Η τοξικότητα μπορεί να χωριστεί σε τρεις μεγάλες κατηγορίες με βάση τη διάρκεια του χρόνου που απαιτείται για να εμφανιστούν οι ανεπιθύμητες ενέργειες, οι οποίες είναι:

- i. η οξεία τοξικότητα, στην οποία οι επιβλαβείς επιπτώσεις μπορούν να παρατηρηθούν μέσω μιας απλής ή βραχυπρόθεσμης έκθεσης, όπου ο θάνατος μια σημαντική ανησυχία
- ii. η υποχρόνια τοξικότητα, η οποία προκύπτει από επαναλαμβανόμενη έκθεση για εβδομάδες ή μήνες και απαιτεί περισσότερο από 1 έτος αλλά λιγότερο από τη διάρκεια ζωής του εκτεθειμένου οργανισμού για να παρατηρηθούν τα αποτελέσματα και
- iii. η χρόνια τοξικότητα, η οποία προκαλεί κακοήθεις επιδράσεις στον εκτεθειμένο οργανισμό για παρατεταμένη χρονική περίοδο

Η τοξικότητα μπορεί να διακριθεί -επίσης- σε συστημική που επηρεάζει όλο το σώμα ή πολλαπλά όργανα ενός οργανισμού και σε τοξικότητα οργάνου-στόχου που επηρεάζει μόνο συγκεκριμένους ιστούς ή όργανο. Ο βαθμός τοξικότητας ποικίλει ανάλογα με το στάδιο του κύκλου ζωής που βρίσκεται ο εκτεθειμένος οργανισμός και πού αυτός βρίσκεται μέσα στο τροφικό πλέγμα. Η δόση, η έκθεση και η απόκριση είναι οι τρεις βασικοί παράγοντες που καθορίζουν τις ανεπιθύμητες ενέργειες. Η δόση αναφέρεται στην ποσότητα της χημικής ουσίας που έρχεται σε επαφή ή εναποτίθεται μέσα σε έναν οργανισμό. Η δόση κατωφλιού περιγράφει το επίπεδο δόσης στο οποίο εμφανίζεται τοξικότητα. Κάθε κατάσταση, η οποία επιτρέπει σε έναν χημικό παράγοντα να εισέλθει σε έναν οργανισμό ονομάζεται έκθεση. Απόκριση είναι η βιολογική απόρροια ενός χημικού παράγοντα σε έναν εκτεθειμένο οργανισμό. Ο κίνδυνος αναφέρεται στην πιθανότητα εμφάνισης ανεπιθύμητων ενεργειών στην ανθρώπινη υγεία ως αποτέλεσμα έκθεσης σε έναν χημικό παράγοντα. Οι φυτοπροστατευτικές ουσίες εισέρχονται στον οργανισμό μέσω διαφόρων οδών, δηλαδή από το δέρμα ή τα μάτια, με εισπνοή κατά την εφαρμογή τους στις καλλιέργειες και με κατάποση μέσω των τροφών [20].

Η αξιολόγηση κινδύνου (risk assessment) χημικών ουσιών περιγράφεται ως μια διαδικασία που αποσκοπεί στον υπολογισμό ή την εκτίμηση του κινδύνου για έναν δεδομένο οργανισμό στόχο, σύστημα ή (υπο) πληθυσμό, συμπεριλαμβανομένης της αναγνώρισης των συνακόλουθων αβεβαιοτήτων, μετά από έκθεση σε συγκεκριμένο παράγοντα, λαμβάνοντας υπόψη τα εγγενή χαρακτηριστικά του παράγοντα, καθώς και τα χαρακτηριστικά του συγκεκριμένου συστήματος στόχου [16]. Η διαδικασία αξιολόγησης κινδύνου περιλαμβάνει τέσσερα στάδια:

- I. Η αναγνώριση κινδύνου είναι το πρώτο βήμα στην αξιολόγηση του κινδύνου και περιλαμβάνει τον προσδιορισμό του τύπου και της φύσης των δυσμενών επιπτώσεων που ένας παράγοντας έχει ως εγγενή ικανότητα να προκαλέσει σε έναν οργανισμό, σύστημα ή (υπο) πληθυσμό [16]. Οι πρόσφατοι κανονισμοί απαιτούν να πραγματοποιείται αναγνώριση κινδύνου προτού εγκριθεί

ένα φυτοφάρμακο για χρήση. Οι κίνδυνοι που έχουν εντοπιστεί σχετικά με τα φυτοφάρμακα περιλαμβάνουν αναπαραγωγικές και ενδοκρινικές διαταραχές, νευροαναπτυξιακές καθυστερήσεις, διαταραχές στο ανοσοποιητικό σύστημα, καρκίνο και αναπνευστική δυσχέρεια [12]. Η υψηλότερη δόση του φυτοφαρμάκου που δεν προκαλεί ανιχνεύσιμες τοξικές επιδράσεις στους υπό δοκιμή οργανισμούς ονομάζεται επίπεδο μη παρατηρούμενης δυσμενούς επίδρασης (NOAEL: No Observable Adverse Effect Level) και εκφράζεται σε χιλιοστόγραμμα ανά κιλό σωματικού βάρους ανά ημέρα (mg/kg-day) [21].

- II. Ο χαρακτηρισμός κινδύνου (αξιολόγηση δόσης-απόκρισης) είναι η ποιοτική και, όπου είναι δυνατόν, ποσοτική περιγραφή των εγγενών ιδιοτήτων ενός παράγοντα ή μιας κατάστασης που έχει τη δυνατότητα να προκαλέσει δυσμενείς επιπτώσεις. Αυτό θα πρέπει, όπου είναι δυνατόν, να περιλαμβάνει αξιολόγηση της δόσης απόκρισης και τις συνακόλουθες αβεβαιότητες [16]. Ο χαρακτηρισμός κινδύνου περιλαμβάνει τη σύγκριση της συγκέντρωσης έκθεσης στα φυτοφάρμακα με την ADI ή την ARfD. Η Αποδεκτή Ημερήσια Πρόσληψη (Acceptable Daily Intake, ADI) είναι η εκτίμηση της ποσότητας μιας ουσίας στα τρόφιμα (mg/kg σωματικού βάρους/ημέρα) που μπορεί να προσλαμβάνεται καθημερινά κατά τη διάρκεια της ζωής χωρίς σημαντικό κίνδυνο για την υγεία του καταναλωτή. Η Οξεία Δόση Αναφοράς (Acute Reference Dose, ARfD) είναι η εκτίμηση της ποσότητας μιας ουσίας στα τρόφιμα που μπορεί να προσληφθεί σε σύντομο χρονικό διάστημα, συνήθως κατά τη διάρκεια ενός γεύματος ή μιας ημέρας, χωρίς αξιολογικό κίνδυνο για την υγεία του καταναλωτή [21].
- III. Η εκτίμηση έκθεσης αφορά την αξιολόγηση της συγκέντρωσης ή της ποσότητας ενός συγκεκριμένου παράγοντα που φτάνει σε έναν οργανισμό στόχο, σύστημα ή (υπο) πληθυσμό σε συγκεκριμένη συχνότητα για καθορισμένη διάρκεια. Η πιθανή πρόσληψη ή κατανάλωση υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων διαιρείται με το σωματικό βάρος και συγκρίνεται με την ADI ή την ARfD στην αξιολόγηση της έκθεσης [16].

$$\text{Έκθεση} = \frac{\text{Συγκέντρωση υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων} \cdot \text{Τροφή που καταναλώθηκε}}{\text{Σωματικό βάρος}}$$

Τα δεδομένα κατανάλωσης τροφίμων αποτελούν ουσιαστικό συστατικό της αξιολόγησης διατροφικού κινδύνου. Τα δεδομένα που χρησιμοποιούνται εξαρτώνται από τον τύπο του πληθυσμού που αξιολογείται: παιδιά, ειδικές εθνοτικές ομάδες, γεωγραφικές περιοχές και εκτίμηση της ποσότητας του φαγητού που καταναλώνεται [22].

- IV. Ο χαρακτηρισμός κινδύνου αφορά τον ποιοτικό και, όπου είναι δυνατόν, ποσοτικό προσδιορισμό, συμπεριλαμβανομένων των συνακόλουθων αβεβαιοτήτων, της πιθανότητας εμφάνισης γνωστών και πιθανών δυσμενών επιπτώσεων ενός παράγοντα σε δεδομένο οργανισμό, σύστημα ή (υπο) πληθυσμό, υπό καθορισμένες συνθήκες έκθεσης. Η διεθνής εκτίμηση ημερήσιας πρόσληψης (IEDI) έχει χρησιμοποιηθεί για τον χαρακτηρισμό του κινδύνου από φυτοφάρμακα. Εκφράζεται ως:

$$\text{IEDI} = \sum \text{STMR} \cdot \text{E} \cdot \text{P} \cdot \text{F}$$

Όπου STMR = διάμεσο επίπεδο υπολειμμάτων εποπτευόμενης δοκιμής

E = βρώσιμο τμήμα

P = συντελεστής επεξεργασίας

F = κατανάλωση του τροφίμου

Όταν το IEDI είναι μεγαλύτερο από το ADI, το εμπλεκόμενο τρόφιμο θεωρείται κινδύνους για τους ενδιαφερόμενους καταναλωτές. Για την εθνική εκτιμώμενη βραχυπρόθεσμη πρόσληψη (NESTI), ο χαρακτηρισμός κινδύνου συγκρίνεται με το ARfD [16].

2. Φυτοφάρμακα

2.1. Σκοπός και χρήση φυτοφαρμάκων

Ένα φυτοφάρμακο είναι οποιαδήποτε ουσία ή μείγμα ουσιών, φυσικών ή συνθετικών, που έχει δημιουργηθεί για τον έλεγχο ή την απώθηση οποιουδήποτε παρασίτου που ανταγωνίζεται τον άνθρωπο για τροφή, καταστρέφει περιουσίες και μεταδίδει ασθένειες. Ο όρος παράσιτο περιλαμβάνει, μεταξύ άλλων, έντομα, ζιζάνια, θηλαστικά και μικρόβια [23].

Η Διεθνής Οργάνωση Τροφίμων και Γεωργίας (FAO: Food and Agriculture Organization) ορίζει το φυτοφάρμακο ως κάθε ουσία ή μείγμα ουσιών που προορίζεται για την πρόληψη, καταστροφή, απώθηση ή μετριασμό οποιουδήποτε παρασίτου, συμπεριλαμβανομένων των φορέων ασθενειών του ανθρώπου ή των ζώων, ανεπιθύμητων ειδών φυτών ή ζώων που προκαλούν βλάβη ή παρεμποδίζουν με άλλο τρόπο την παραγωγή, επεξεργασία, αποθήκευση, μεταφορά ή εμπορία τροφίμων, γεωργικών προϊόντων, ξύλου και προϊόντων ξύλου ή ζωοτροφών ή ουσιών που μπορούν να χορηγηθούν σε ζώα για την καταπολέμηση εντόμων, αραχνιδών ή άλλων παρασίτων μέσα ή πάνω στο σώμα τους. Ο όρος περιλαμβάνει ουσίες που προορίζονται για χρήση ως ρυθμιστικό ανάπτυξης φυτών, αποφυλλωτικό, αποξηραντικό ή παράγοντα για την αραίωση των καρπών ή την πρόληψη της πρόωρης πτώσης των καρπών, και ουσίες που εφαρμόζονται στις καλλιέργειες είτε πριν είτε μετά τη συγκομιδή για την προστασία του προϊόντος από αλλοίωση κατά την αποθήκευση και τη μεταφορά. Ένα φυτοφάρμακο μπορεί να είναι μια χημική ουσία, ένας βιολογικός παράγοντας (όπως ένας ιός ή ένα βακτήριο), ένας αντιμικροβιακός παράγοντας ή ένα απολυμαντικό μέσο που χρησιμοποιείται ενάντια σε οποιοδήποτε παράσιτο. Τα παράσιτα περιλαμβάνουν έντομα, παθογόνα φυτών, ζιζάνια, μαλάκια, πουλιά, θηλαστικά, ψάρια, νηματώδη και μικρόβια που καταστρέφουν περιουσίες, αποτελούν φορείς ασθενειών ή προκαλούν ενόχληση [24].

Οι χημικές ουσίες έχουν χρησιμοποιηθεί από τον άνθρωπο για τον έλεγχο των παρασίτων από την αρχή της γεωργίας. Αρχικά χρησιμοποιήθηκαν ανόργανες ενώσεις όπως το θείο, το αρσενικό, ο υδράργυρος και ο μόλυβδος. Η ανακάλυψη του διχλωροδιφαινυλτριχλωροαιθανίου (DDT) ως εντομοκτόνου από τον Paul Müller το 1939 προκάλεσε μεγάλο αντίκτυπο στον έλεγχο των παρασίτων και σύντομα έγινε ευρεία χρήση στον κόσμο. Εκείνη την εποχή, τα φυτοφάρμακα είχαν καλή φήμη κυρίως λόγω του ελέγχου ασθενειών όπως η ελονοσία που μεταδίδεται από τα κουνούπια και η βουβωνική πανώλη που μεταδίδεται από τους ψύλλους [25].

Η χρήση φυτοφαρμάκων έχει αυξηθεί 50 φορές από το 1950 και σήμερα χρησιμοποιούνται περίπου 2,5 εκατομμύρια τόνοι βιομηχανικών φυτοφαρμάκων ετησίως. Σύμφωνα με την Ετήσια Έκθεση της Ευρωπαϊκής Ένωσης Προστασίας Καλλιεργειών (ECPA) 2001–2002, οι κύριες γεωργικές περιοχές χρήσης φυτοφαρμάκων είναι η Βόρεια Αμερική, η Ευρώπη και η Ασία με 31,9%, 23,8% και 22,6%, αντίστοιχα, το 2001. Η ποσότητα των φυτοφαρμάκων που εφαρμόζονται σε μια καθορισμένη γεωγραφική περιοχή εξαρτάται από τις κλιματικές συνθήκες και από την έξαρση παρασίτων και ασθενειών ενός

συγκεκριμένου έτους. Παρόλα αυτά, τα ζιζανιοκτόνα είναι η κύρια ομάδα φυτοφαρμάκων που χρησιμοποιούνται παγκοσμίως και ακολουθούν τα εντομοκτόνα και τα μυκητοκτόνα [26].

Η καταχώριση ενός φυτοφαρμάκου για την εφαρμογή του σε μια συγκεκριμένη καλλιέργεια απαιτεί ένα πλήρες σύνολο δεδομένων για να αποδειχθεί η αποτελεσματικότητα και η ασφαλής χρήση του. Αυτό συνήθως περιλαμβάνει δεδομένα για τις φυσικοχημικές ιδιότητες, τις αναλυτικές μεθόδους, την αποτελεσματικότητα, την τοξικολογία, την οικοτοξικολογία και την τύχη και τη συμπεριφορά στο περιβάλλον [23].

2.2. Κατηγοριοποίηση φυτοφαρμάκων

Σύμφωνα με την Ευρωπαϊκή Επιτροπή, αυτή τη στιγμή περισσότερες από 1.100 ουσίες είναι καταχωρημένες ως φυτοφάρμακα [23]. Τα φυτοφάρμακα σύμφωνα με τον Ομοσπονδιακό Νόμο Εντομοκτόνων, Μυκητοκτόνων και Μυοκτόνων των Ηνωμένων Πολιτειών (FIFRA: Federal Insecticide Fungicide Rodenticide Act) προορίζονται για την πρόληψη, την καταστροφή ή την απώθηση οποιουδήποτε παρασίτου, όπου τα παράσιτα ορίζονται ως οργανισμοί που μπορεί να είναι επιβλαβείς για τον άνθρωπο ή το περιβάλλον, συμπεριλαμβανομένων των σπονδυλωτών εκτός του ανθρώπου, των ασπόνδυλων, των φυτών, των μυκήτων και των μικροοργανισμών [25]. Αυτό δημιουργεί συγκεκριμένους όρους όπως εντομοκτόνα, ακαρεοκτόνα, ζιζανιοκτόνα, μυκητοκτόνα, νηματοκτόνα και τρωκτικοκτόνα.

Τα φυτοφάρμακα είναι συνήθως χημικές ουσίες, αν και μερικές φορές μπορεί να είναι βιολογικοί παράγοντες όπως ιοί ή βακτήρια. Το ενεργό μέρος ενός φυτοφαρμάκου, γνωστό ως δραστικό συστατικό, γενικά διαμορφώνεται από τον κατασκευαστή ως γαλακτωματοποιησίμα συμπυκνώματα ή στερεά σωματίδια (σκόνη, κόκκοι, διαλυτή σκόνη ή διαβρέξιμη σκόνη). Πολλά σκευάσματα του εμπορίου πρέπει να αραιωθούν με νερό πριν από τη χρήση και περιέχουν πρόσθετα για τη βελτίωση της κατακράτησης και της απορρόφησης φυτοφαρμάκων από τα φύλλα ή τους βλαστούς [23].

Τα φυτοφάρμακα έχουν παραδοσιακά ταξινομηθεί με βάση λειτουργικές ομάδες ή με βάση συγκεκριμένα στοιχεία στη μοριακή τους δομή. Τα υπολείμματα φυτοφαρμάκων που βρίσκονται πιο συχνά σε δείγματα τροφίμων φυτικής προέλευσης είναι φυτοφάρμακα που εφαρμόζονται σκόπιμα στα φυτά για να επιτεθούν σε παράσιτα ασπόνδυλων (εντομοκτόνα, ακαρεοκτόνα κ.λπ.) και φυτικές ασθένειες (μυκητοκτόνα).

Τα φυτοφάρμακα μπορούν να ταξινομηθούν ανά οργανισμό-στόχο, χημική δομή και φυσική κατάσταση. Μπορούν επίσης να ταξινομηθούν ως ανόργανα, συνθετικά ή βιολογικά (βιοπαρασιτοκτόνα). Τα βιοπαρασιτοκτόνα περιλαμβάνουν μικροβιακά φυτοφάρμακα και βιοχημικά φυτοφάρμακα. Τα φυτοφάρμακα που προέρχονται από φυτά, ή «βοτανικά» περιλαμβάνουν τα πυρεθροειδή, τα ροτενοειδή, τα νικοτινοειδή και μια τέταρτη ομάδα που περιλαμβάνει τη στρυχνίνη και τη σκιλλιροσίδη [27]. Πολλά φυτοφάρμακα μπορούν να ομαδοποιηθούν σε χημικές οικογένειες. Οι εξέχουσες οικογένειες εντομοκτόνων περιλαμβάνουν οργανοχλωρίδια, οργανοφωσφορικά και καρβαμιδικά. Οι υδρογονάνθρακες οργανοχλωρίου (π.χ. DDT) θα μπορούσαν να διαχωριστούν σε

διχλωροδιφαινυλαιθάνια, ενώσεις κυκλοδιενίου και άλλες σχετικές ενώσεις. Επιπλέον, τα φυτοφάρμακα μπορούν να ταξινομηθούν με βάση τη λειτουργία του βιολογικού μηχανισμού ή τη μέθοδο εφαρμογής τους [11].

Υπάρχουν διάφορες κατηγορίες φυτοφαρμάκων ανάλογα με τον τύπο χρήσης τους. Οι κύριες ομάδες φυτοφαρμάκων είναι τα ζιζανιοκτόνα, που χρησιμοποιούνται για τη θανάτωση ζιζανίων και άλλων φυτών που αναπτύσσονται σε μέρη όπου είναι ανεπιθύμητα, τα εντομοκτόνα, που χρησιμοποιούνται για τη θανάτωση εντόμων και άλλων αρθρόποδων και τα μυκητοκτόνα, που χρησιμοποιούνται για τη θανάτωση μυκήτων. Άλλοι τύποι φυτοφαρμάκων είναι τα ακαρεοκτόνα, τα μαλακιοκτόνα, τα νηματοκτόνα, οι φερομόνες, οι ρυθμιστές ανάπτυξης των φυτών, τα απωθητικά και τα τρωκτικοκτόνα [23].

Η καταπολέμηση των παρασίτων με φυτοφάρμακα εξαρτάται από πολλούς παράγοντες όπως ο τρόπος δράσης αυτών των ενώσεων, το στάδιο της καλλιέργειας και οι περιβαλλοντικές συνθήκες, η υγρασία, ο τύπος και η θερμοκρασία του εδάφους, κ.λ.π.

2.2.1. Ζιζανιοκτόνα

Τα ζιζανιοκτόνα είναι ενώσεις που εφαρμόζονται στο έδαφος ή στο φύλλωμα, οι οποίες συνήθως απορροφώνται από τις ρίζες ή τους ιστούς των φύλλων, αντίστοιχα. Αυτές οι ενώσεις μπορεί να είναι ολικά ή εκλεκτικά ζιζανιοκτόνα. Τα ολικά ζιζανιοκτόνα μπορούν να σκοτώσουν όλη τη βλάστηση, ενώ τα εκλεκτικά μπορούν να ελέγξουν τα ζιζάνια χωρίς να επηρεάσουν την καλλιέργεια. Αυτές οι χημικές ουσίες μπορούν να εφαρμοστούν σε διαφορετικά στάδια της καλλιέργειας, όπως πριν τη σπορά και πριν ή μετά τη φύτευση, ανάλογα με το ζιζάνιο για το οποίο απαιτείται έλεγχος σε μια συγκεκριμένη καλλιέργεια. Η επιλεκτικότητα ενός ζιζανιοκτόνου μπορεί να εξαρτάται από την διαφορετική πρόσληψη, μετατόπιση ή μεταβολισμό από το φυτό, καθώς και από διαφορές στο σημείο δράσης [28]. Η γνώση των φυσικοχημικών ιδιοτήτων, δηλαδή της πίεσης ατμών (V_p), του συντελεστή κατανομής οκτανόλης/νερού (K_{ow} , που εκφράζεται στη λογαριθμική μορφή $\log P$) και της διαλυτότητας στο νερό επιτρέπει την πρόβλεψη της τύχης και της συμπεριφοράς τέτοιων χημικών ουσιών στο περιβάλλον [29]. Τα ζιζανιοκτόνα μπορούν να ταξινομηθούν ανάλογα με τη χημική τους σύνθεση σε αμίδια, βενζοϊκά οξέα, καρβαμίδια, νιτρίλια, νιτροανιλίνες, φαινοξυοξέα, πυριδίνες και ενώσεις τεταρτοταγούς αμμωνίου, πυριδαζίνες και πυριδαζιόνες, τριαζίνες και ουρίες (φαινυλοουρίες και σουλφονουρίες) [23].

Ταξινομώντας τα ζιζανιοκτόνα βάσει του τρόπου δράσης τους μπορούμε να διακρίνουμε τις παρακάτω κατηγορίες [30]:

- i. Οι αναστολείς σύνθεσης αμινοξέων: Δρουν σε ένα συγκεκριμένο ένζυμο για να αποτρέψουν την παραγωγή ορισμένων αμινοξέων, τα οποία είναι τα βασικά δομικά στοιχεία για τη φυσιολογική ανάπτυξη των φυτών. Οι αναστολείς περιλαμβάνουν-μεταξύ άλλων- ζιζανιοκτόνα της οικογένειας των σουλφονουριών. Αυτές οι ενώσεις ποικίλλουν πολύ σε επιλεκτικότητα.

- ii. Οι αναστολείς κυτταρικής διαίρεσης: Αυτός ο τύπος ζιζανιοκτόνου αντιδρά με την τουμπουλίνη, μια πρωτεΐνη απαραίτητη για την κατασκευή του ενδοκυτταρικού σκελετού στα ευκαρυωτικά κύτταρα που σχηματίζουν το τοίχωμα των μικροσωληνίσκων. Αυτές οι ενώσεις διαταράσσουν τη φυσιολογική κυτταρική διαίρεση δεσμεύοντας την τουμπουλίνη. Αναστολείς της κυτταρικής διαίρεσης είναι ζιζανιοκτόνα που ανήκουν σε διάφορες χημικές κατηγορίες, όπως οι δινιτροανιλίνες, τα βενζοϊκά οξέα και οι πυριδίνες.
- iii. Αναστολείς φωτοσύνθεσης: Η φωτοσύνθεση είναι μια βασική διαδικασία για τα φυτά και κατά συνέπεια αποτελεί βασικό στόχο για πολλά ζιζανιοκτόνα. Υπάρχουν διάφοροι μηχανισμοί που εμπλέκονται στην αναστολή της φωτοσύνθεσης, όπως η παραγωγή ελεύθερων ριζών, ο αποκλεισμός του συστήματος μεταφοράς ηλεκτρονίων και η αναστολή-καταστροφή των προστατευτικών χρωστικών. Ωστόσο, τα περισσότερα ζιζανιοκτόνα παρεμβαίνουν στη μεταφορά ηλεκτρονίων στη δεξαμενή πλαστοκινόνης με σύνδεση σε μια συγκεκριμένη πρωτεΐνη που ρυθμίζει τη μεταφορά ηλεκτρονίων. Τα ζιζανιοκτόνα που δρουν ως αναστολείς της φωτοσύνθεσης είναι όλες ενώσεις που περιέχουν άζωτο με ποικιλία χημικής σύνθεσης. Αυτές οι ενώσεις, συμπεριλαμβανομένων των φαινυλουριών, των τριαζινών, των πυριδαζινών, των καρβαμδικών φαινυλεστέρων, των νιτριλίων και των αμιδίων, αντιπροσωπεύονται από διάφορες οικογένειες ζιζανιοκτόνων, αν και ορισμένες από αυτές τις χημικές κατηγορίες έχουν ζιζανιοκτόνα που δεν δρουν ως αναστολείς της φωτοσύνθεσης.

2.2.2. Εντομοκτόνα

Οι κηπευτικές καλλιέργειες μπορεί να επηρεαστούν από διάφορα παράσιτα προκαλώντας σοβαρές ζημιές στα φυτά και κατά συνέπεια σημαντικές μειώσεις της απόδοσης. Ως εκ τούτου, τα εντομοκτόνα χρησιμοποιούνται ευρέως για τον έλεγχο των παρασίτων στις καλλιέργειες. Αυτές οι ενώσεις μπορούν να εφαρμοστούν στο έδαφος για να σκοτώσουν τα εδαφογενή παράσιτα ή στο εναέριο μέρος του φυτού. Ένα μεγάλο μέρος των εντομοκτόνων φτάνει στο έδαφος, είτε με απευθείας εφαρμογές είτε έμμεσα με απορροή από φύλλα και μίσχους [31]. Βάσει της χημικής δομής τους, τα εντομοκτόνα μπορούν να διακριθούν σε βενζοϋλουριές, καρβαμίδια, οργανοχλωρίδια, οργανοφωσφορικά, πυρεθροειδή [23].

Σε ότι αφορά τον τρόπο δράσης τους τα εντομοκτόνα μπορούν να ταξινομηθούν σε [30]:

- i. Διαταράκτες σήματος στο νευρικό σύστημα: Οι χημικές ουσίες που διαταράσσουν το νευρικό σύστημα είναι συχνά ισχυρά δηλητήρια. Τα πυρεθροειδή και τα οργανοχλωρίδια είναι τα σημαντικότερα εντομοκτόνα αυτής της κατηγορίας. Ο τρόπος δράσης τους είναι να αναστέλλουν το σωστό κλείσιμο των καναλιών ενεργώντας στα κανάλια νατρίου που ελέγχονται από τάση. Τα πυρεθροειδή τροποποιούν την αξονική αγωγιμότητα εντός του κεντρικού νευρικού συστήματος των εντόμων αλλάζοντας τη διαπερατότητα της μεμβράνης του νεύρου σε ιόντα νατρίου και καλίου. Τα οργανοχλωρίδια μπορεί να αλληλεπιδράσουν με τους πόρους της λιποπρωτεϊνικής δομής του νεύρου του εντόμου προκαλώντας παραμόρφωση και επακόλουθη διέγερση της μετάδοσης των νευρικών παλμών.

- ii. Αναστολείς χολινεστεράσης: Ο στόχος για πολλά εντομοκτόνα είναι ένα ένζυμο που ονομάζεται ακετυλοχολινεστεράση (AChE). Η AChE υδρολύει την ακετυλοχολίνη, έναν εστέρα που απελευθερώνεται όταν μεταδίδονται νευρικές ώσεις. Οι συνάψεις, οι μυονευρικές λειτουργίες και τα γάγγλια του νευρικού συστήματος μεταδίδουν νευρικές ώσεις με τη μεσολάβηση της ακετυλοχολίνης. Τα οργανοφωσφορικά εντομοκτόνα έχουν την ικανότητα να φωσφορυλιώνουν την εστερική ενεργή θέση της AChE. Το φωσφορυλιωμένο ένζυμο αναστέλλεται αμετάκλητα και δεν είναι σε θέση να εκτελέσει την κανονική του λειτουργία της ταχείας απομάκρυνσης της ακετυλοχολίνης (ACh). Ως αποτέλεσμα, η ACh συσσωρεύεται και διαταράσσει την κανονική λειτουργία του νευρικού συστήματος. Τα καρβαμιδικά είναι ισχυροί αναστολείς της AChE και μπορεί επίσης να έχουν άμεση επίδραση στους υποδοχείς της ακετυλοχολίνης.
- iii. Αναστολείς σύνθεσης χιτίνης: Οι βενζοϋλουριές επηρεάζουν τη σύνθεση χιτίνης στην επιδερμίδα του εντόμου διαταράσσοντας τη διαδικασία σύνδεσης των μονάδων N-ακετυλογλυκοζαμίνης με την αλυσίδα χιτίνης, αποτρέποντας με αυτόν τον τρόπο τη φυσιολογική διαδικασία μορφοποίησης των εντόμων.

2.2.3. Μυκητοκτόνα

Τα μυκητοκτόνα που χρησιμοποιούνται στη γεωργία για τον έλεγχο των φυτικών ασθενειών ανήκουν σε διάφορες χημικές κατηγορίες. Ανάλογα με τις διαφορετικές χημικές δομές των μυκητοκτόνων, παρατηρείται μια μεγάλη ποικιλία φυσικοχημικών ιδιοτήτων. Ορισμένα μυκητοκτόνα είναι στερεοϊσομερή και συνήθως διατίθενται στο εμπόριο ως μείγματα αυτών των ισομερών. Τα μυκητοκτόνα μπορούν να εφαρμοστούν πριν ή μετά τη συγκομιδή για την προστασία των δημητριακών, των φρούτων και των λαχανικών από μυκητιάσεις [32]. Οι κυριότερες χημικές δομές των μυκητοκτόνων είναι οι αζόλες, οι βενζιμιδαζόλες, τα διθειοκαρβαμιδικά και οι μορφολίνες και ανάλογα με τον τρόπο δράσης τους διακρίνονται σε [23], [33]:

- i. Αντιδραστήρια σουλφυδρυλίου: Οι ομάδες σουλφυδρυλίου (SH) είναι σημαντικές αντιδραστικές ομάδες που βρίσκονται συχνά στις ενεργές θέσεις πολλών ενζύμων. Τα διθειοκαρβαμιδικά μυκητοκτόνα αντιδρούν με τα ένζυμα που περιέχουν SH και τα συνένζυμα των μυκητιακών κυττάρων. Ορισμένα μυκητοκτόνα επηρεάζουν τη δομή και τις λειτουργίες των κυτταρικών μεμβρανών και αναστέλλουν το ενζυμικό σύστημα που προκαλεί όγκους στα μιτοχόνδρια.
- ii. Αναστολείς κυτταρικής διαίρεσης: Τα μυκητοκτόνα βενζιμιδαζόλης αντιδρούν με την τουμπουλίνη, μια πρωτεΐνη που είναι το δομικό στοιχείο του ενδοκυτταρικού σκελετού στα κύτταρα. Η βλάβη της κυτταρικής διαίρεσης προκαλείται στις περισσότερες περιπτώσεις με την αναστολή του σχηματισμού των μικροσωληνίσκων. Οι βενζιμιδαζόλες και οι καρβαμιδικές ενώσεις έχουν αυτόν τον τρόπο δράσης.
- iii. Αναστολείς της σύνθεσης της εργοστερόλης: Τα μυκητοκτόνα αναστολέων της εργοστερόλης είναι δραστικά έναντι πολλών διαφορετικών μυκήτων. Αν και διαταράσσουν τη σύνθεση στερολών στα ανώτερα φυτά, καθώς και τη σύνθεση γιβερελινών, η φυτοτοξικότητά τους είναι

χαμηλή. Η σύνθεση των στερολών είναι πολύ περίπλοκη και διάφορες ομάδες μυκητοκτόνων δρουν σε διαφορετικούς στόχους αυτής της σύνθεσης. Μια μεγάλη ομάδα μυκητοκτόνων, που ονομάζονται αναστολείς απομεθυλάσης, περιλαμβάνει διάφορες ενώσεις που έχουν έναν ετεροκυκλικό δακτύλιο που περιέχει άζωτο, όπως οι αζόλες, οι μορφολίνες, οι πυριδίνες και οι πιπεραζίνες.

2.3. Οφέλη και κίνδυνοι από τη χρήση φυτοφαρμάκων

Η γεωργική παραγωγή συνοδεύτηκε από συνεχή αύξηση του αριθμού και της ποσότητας των αγροχημικών που εφαρμόζονται στις καλλιέργειες. Η χρήση φυτοφαρμάκων σχετίζεται με περιβαλλοντική μόλυνση και προβλήματα υγείας του ανθρώπου παγκοσμίως. Τα φυτοφάρμακα (εντομοκτόνα, μυκητοκτόνα κ.λπ.) χρησιμοποιούνται παγκοσμίως για την προστασία των τροφίμων, των φυτικών ινών, της ανθρώπινης υγείας και άνεσης [34]. Επί του παρόντος, περισσότερα από 800 ενεργά συστατικά φυτοφαρμάκων σε ένα ευρύ φάσμα εμπορικών προϊόντων είναι εγγεγραμμένα για χρήση στη γεωργία για την κάλυψη των απαιτήσεων προσφοράς τροφίμων. Τα φυτοφάρμακα είναι απαραίτητα στις σύγχρονες γεωργικές πρακτικές, αλλά, λόγω της βιοκτόνου δράσης τους και του πιθανού κινδύνου για τον καταναλωτή, ο έλεγχος των υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων στα τρόφιμα αποτελεί αυξανόμενη πηγή ανησυχίας για τον γενικό πληθυσμό και το περιβάλλον. Πάνω από το 98% των ψεκαζόμενων εντομοκτόνων και το 95% των ζιζανιοκτόνων φτάνουν σε προορισμό διαφορετικό από τα είδη-στόχους τους, συμπεριλαμβανομένων των άλλων ειδών, του αέρα, του νερού και του εδάφους [35]. Η μετατόπιση των φυτοφαρμάκων συμβαίνει όταν τα φυτοφάρμακα αιωρούνται στον αέρα καθώς τα σωματίδια μεταφέρονται από τον άνεμο σε άλλες περιοχές, δυνητικά μολύνοντάς τες. Τα φυτοφάρμακα είναι μία από τις αιτίες της ρύπανσης των υδάτων και ορισμένα φυτοφάρμακα είναι έμμονοι οργανικοί ρύποι (POPs: persistent organic pollutants) και συμβάλλουν στη μόλυνση του εδάφους [14].

Η χρήση φυτοφαρμάκων μειώνει τη βιοποικιλότητα, μειώνει τη δέσμευση του αζώτου, συμβάλλει στη μείωση των επικονιαστών, καταστρέφει τους βιότοπους (ειδικά για τα πουλιά) και ασκεί πίεση στα απειλούμενα είδη. Επίσης, μερικά από τα παράσιτα προσαρμόζονται στο φυτοφάρμακο και δεν πεθαίνουν. Αυτό ονομάζεται αντοχή στα φυτοφάρμακα και για την εξάλειψη των απογόνων αυτού του παρασίτου θα χρειαστεί ένα νέο φυτοφάρμακο ή μια αύξηση της δόσης του φυτοφαρμάκου. Αυτό θα προκαλέσει επιδείνωση του προβλήματος της ρύπανσης του περιβάλλοντος [11].

Τα φυτοφάρμακα μπορεί να είναι επικίνδυνα για τους καταναλωτές, τους εργαζόμενους και τους κοντινούς παρευρισκόμενους κατά την κατασκευή, τη μεταφορά, τη διάρκεια ή/και μετά τη χρήση. Ιδιαίτερη αβεβαιότητα υπάρχει σχετικά με τις μακροπρόθεσμες επιπτώσεις της έκθεσης σε φυτοφάρμακα σε χαμηλή δόση. Τα τρέχοντα συστήματα επιτήρησης είναι ανεπαρκή για να χαρακτηρίσουν πιθανά προβλήματα έκθεσης που σχετίζονται με τη χρήση φυτοφαρμάκων ή ασθένειες που σχετίζονται με φυτοφάρμακα. Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (WHO: World Health Organization) και το Περιβαλλοντικό Πρόγραμμα των Ηνωμένων Εθνών υπολογίζουν ότι κάθε χρόνο, 3 εκατομμύρια εργαζόμενοι στη γεωργία στον αναπτυσσόμενο κόσμο βιώνουν σοβαρή δηλητηρίαση από φυτοφάρμακα

και περίπου 18.000 από αυτούς πεθαίνουν [34]. Έως και 25 εκατομμύρια εργαζόμενοι στις αναπτυσσόμενες χώρες μπορεί να υποφέρουν από ήπια δηλητηρίαση από φυτοφάρμακα ετησίως. Η επαγγελματική έκθεση σε φυτοφάρμακα έχει συσχετιστεί με επιπτώσεις στην υγεία, όπως λέμφωμα non-Hodgkin, λευχαιμία, καρκίνος του προστάτη, πολλαπλό μυέλωμα και σάρκωμα μαλακών μορίων [36].

Ωστόσο, παρόλο που έχει επιτευχθεί κάποια πρόοδος στον βιολογικό έλεγχο και στην ανάπτυξη ανθεκτικότητας των φυτών στα παράσιτα, τα φυτοφάρμακα εξακολουθούν να είναι απαραίτητα για τη διατροφή και την προστασία του παγκόσμιου πληθυσμού από ασθένειες. Έχει υπολογιστεί ότι περίπου το ένα τρίτο της φυτικής παραγωγής θα χαθεί εάν δεν εφαρμόζονταν φυτοφάρμακα [23].

2.4. Νομοθετικό πλαίσιο και παρακολούθηση φυτοφαρμάκων

Λόγω των πιθανών τοξικών επιδράσεων των φυτοφαρμάκων στην ανθρώπινη υγεία και στο περιβάλλον, υπάρχουν αυστηροί κανονισμοί για την καταχώριση και χρήση τους σε όλο τον κόσμο, ιδιαίτερα στις ανεπτυγμένες χώρες.

Τα υπολείμματα που μένουν στις καλλιέργειες μετά την εφαρμογή φυτοφαρμάκων έχουν περιοριστεί στις ανεπτυγμένες χώρες για να διασφαλιστεί η ασφαλής κατανάλωση τροφίμων. Τα Ανώτατα Όρια Καταλοίπων (MRLs: Maximum Residue Levels) σε διάφορα τρόφιμα έχουν καθοριστεί σύμφωνα με τις ορθές γεωργικές πρακτικές, τις παρατηρούμενες τοξικές επιδράσεις του φυτοφαρμάκου και την ποσότητα της τροφής που καταναλώνεται. Τα MRLs καθορίζονται συνήθως σε σχέση με την αποδεκτή ημερήσια πρόσληψη (ADI) φυτοφαρμάκων και προτείνονται από την κοινή συνεδρίαση των FAO/WHO και συστήνονται για έγκριση από την Επιτροπή του Codex Alimentarius [23].

Προγράμματα παρακολούθησης για υπολείμματα φυτοφαρμάκων στα τρόφιμα εκτελούνται σε πολλές χώρες σε όλο τον κόσμο για να διασφαλιστεί ότι οι καταναλωτές δεν εκτίθενται σε απαράδεκτα επίπεδα φυτοφαρμάκων και ότι χρησιμοποιούνται μόνο εγκεκριμένα φυτοφάρμακα με βάση τις ορθές πρακτικές όσον αφορά την καλλιέργεια, τη δόση και το χρόνο εφαρμογής. Τα προϊόντα διατροφής επιτρέπονται εφόσον συμμορφώνονται με τα MRLs που έχουν οριστεί. Η παρακολούθηση υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων στα τρόφιμα μπορεί να αξιολογήσει τον πιθανό κίνδυνο για την ασφάλεια των τροφίμων λόγω της διατροφικής έκθεσης του πληθυσμού στα φυτοφάρμακα.

Σε πολλές χώρες, υπάρχει εθνική νομοθεσία σχετικά τόσο με την έγκριση των φυτοφαρμάκων όσο και με τις μέγιστες ποσότητες υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων σε διαφορετικά προϊόντα διατροφής. Αυτά τα ανώτατα όρια αναφέρονται επίσης ως MRLs (ΑΟΚ) ή ανοχές (στις Ηνωμένες Πολιτείες). Σε χώρες χωρίς εθνική νομοθεσία, χρησιμοποιούνται συχνά τα MRLs που ορίζονται από την Επιτροπή του Codex Alimentarius. Τα MRLs ορίζονται συνήθως για ακατέργαστα γεωργικά προϊόντα, για παράδειγμα, μπανάνα με φλούδα, μαρούλι και μήλα [11].

Το ARfD εφαρμόζεται μόνο σε φυτοφάρμακα που προκαλούν οξείες επιπτώσεις, για παράδειγμα, φυτοφάρμακα φωσφόρου που είναι αναστολείς της χολινεστεράσης. Συχνά, όταν ορίζονται εθνικά MRLs, πραγματοποιείται αξιολόγηση σε εθνικό επίπεδο. Ορισμένες χώρες ορίζουν επίσης τα δικά τους ADIs ή

ARfDs. Ως μέρος της αξιολόγησης των φυτοφαρμάκων εντός της Ευρωπαϊκής Ένωσης (Ε.Ε.), τα ADIs και ARfDs ορίζονται σε επίπεδο Ε.Ε. και ισχύουν σε όλα τα κράτη μέλη. Αυτές οι τιμές μπορεί να διαφέρουν από τις τιμές που ορίζει η Επιτροπή του Codex. Τα κράτη μέλη εντός της Ε.Ε. καθορίζουν εναρμονισμένα MRLs της Ε.Ε. για τα φυτοφάρμακα. Επί του παρόντος, δεν έχουν όλα τα φυτοφάρμακα εναρμονισμένα MRLs και για αυτά τα φυτοφάρμακα μπορούν να καθοριστούν MRLs σε εθνικό επίπεδο. Τον Απρίλιο του 2005 με τον Κανονισμό 396/2005 μπορούν να καθοριστούν μόνο εναρμονισμένα ΑΟΚ της Ε.Ε. και όλη η εθνική νομοθεσία μετατρέπεται σε νομοθεσία της Ε.Ε. [37].

Πίνακας 2-1. Βασικότερες οδηγίες και κανονισμοί της ΕΕ για τα φυτοφάρμακα

Τίτλος	Αναφορά
Οδηγία 2009/128/ΕΚ: Ορθολογική χρήση των γεωργικών φαρμάκων	[38]
Οδηγία 90/642/ΕΟΚ του Συμβουλίου που αφορά τον καθορισμό των ανώτατων περιεκτικοτήτων για τα κατάλοιπα φυτοφαρμάκων επάνω ή μέσα σε ορισμένα προϊόντα φυτικής προέλευσης, συμπεριλαμβανομένων των οπωροκηπευτικών	[39]
Οδηγία 79/117/ΕΟΚ του Συμβουλίου περί απαγορεύσεως της θέσεως σε κυκλοφορία και της χρησιμοποίησης φυτοφαρμακευτικών προϊόντων που περιέχουν ορισμένες δραστικές ουσίες	[40]
Οδηγία 2002/63/ΕΚ της Επιτροπής, για την καθιέρωση κοινοτικών μεθόδων δειγματοληψίας για τον επίσημο έλεγχο των υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων μέσα και πάνω σε προϊόντα φυτικής και ζωικής προέλευσης και την κατάργηση της οδηγίας 79/700/ΕΟΚ	[41]
Κανονισμός 1185/2009/ΕΚ: Στατιστικές που αφορούν τα γεωργικά φάρμακα	[42]
Κανονισμός 1272/2008/ΕΚ: Ταξινόμηση, επισήμανση και συσκευασία ουσιών και μειγμάτων ουσιών, συμπεριλαμβανομένων των φυτοφαρμάκων	[43]
Κανονισμός 396/2005/ΕΚ: Ανώτατα Όρια Καταλοίπων των δραστικών ουσιών σε τρόφιμα και ζωοτροφές φυτικής και ζωικής προέλευσης	[44]
Κανονισμός 1107/2009/ΕΚ: Διάθεση των φυτοπρασετυτικών προϊόντων στην αγορά.	[45]

3. Το κρασί

3.1. Ιστορική αναδρομή

Το κρασί αποτελεί μέρος της ανθρώπινης κουλτούρας εδώ και 6.000 χρόνια, εξυπηρετώντας διατροφικές και κοινωνικοθρησκευτικές λειτουργίες. Η παραγωγή του πραγματοποιείται σε κάθε ήπειρο και η χημική του σύσταση επηρεάζεται από τις τεχνικές που εφαρμόζονται, την ποικιλία σταφυλιού από την οποία προέρχεται και από κλιματικούς παράγοντες [46].

Μετά τον Μεγάλο Κατακλυσμό, όταν τα νερά της πλημμύρας υποχώρησαν και η Κιβωτός στάθηκε με ασφάλεια σε Ξηρά, η ανθρώπινη γεωργία άρχισε με την φύτευση ενός αμπελώνα από τον Νώε. Αυτή ήταν η πρώτη τεκμηριωμένη φύτευση οποιασδήποτε καλλιέργειας από ανθρώπινο χέρι στη γη. Από την αρχή του πολιτισμού, το κρασί φαίνεται να ήταν ένα σημαντικό και αναπόσπαστο συστατικό της ανθρώπινης διατροφής, αν και σύντομες ιστορικές ασυνέχειες όπως η άνοδος των πουριτανών στην Αγγλία του 16^{ου} αι. και η ποτοαπαγόρευση στις Ηνωμένες Πολιτείες του 20^{ου} αι. διατάραξαν αυτή την ισορροπία [46].

Το κρασί έχει μια καταγεγραμμένη ιστορία που εκτείνεται σχεδόν 6.000 χρόνια πίσω, με τα πρώτα στοιχεία να χρονολογούνται μεταξύ 5.400 και 5.000 π.Χ. Ένα κεραμικό βάζο που ανακτήθηκε στο Τεπέ του Ιράν, παρέχει τις πρώτες χημικές «αποδείξεις» που έχουν ανακαλυφθεί μέχρι στιγμής. Το κρασί αναγνωρίστηκε από την παρουσία του άλατος ασβεστίου του τρυγικού οξέος, το οποίο υπάρχει σε μεγάλες ποσότητες μόνο στα σταφύλια, και στη ρητίνη από το φυτό τερέβινθος, το οποίο χρησιμοποιήθηκε ευρέως στην αρχαιότητα ως πρόσθετο στο κρασί για την αναστολή της ανάπτυξης βακτηρίων. Αυτή η αρχαιολογική ανακάλυψη σηματοδοτεί την αρχαιότερη επιστημονική καταγραφή ζυμωμένου κρασιού ως μέρος του ανθρώπινου πολιτισμού [47].

Ορισμένοι ερευνητές τοποθετούν την ανακάλυψη της οινοποιίας, ή τουλάχιστον την ανάπτυξή της, στο νότιο Καύκασο. Θεωρείται -επίσης- ότι η εξημέρωση του οινοποιητικού σταφυλιού (*Vitis vinifera*) έγινε αρχικά στην περιοχή αυτή, όπου η φυσική κατανομή του *Vitis vinifera* πλησιάζει περισσότερο εκείνη της δυτικής αμπελοργίας. Από την προέλευσή της στον Καύκασο, η αμπελοκαλλιέργεια και η οινοποιία πιθανότατα ταξίδεψαν νότια στην Παλαιστίνη, τη Συρία, την Αίγυπτο και τη Μεσοποταμία. Έτσι, η κατανάλωση κρασιού και οι κοινωνικοθρησκευτικές της διασυνδέσεις διέσπειραν την οινοποιία σε όλη τη Μεσόγειο. Το κρασί χρησιμοποιήθηκε για μυστηριακούς σκοπούς στην Αίγυπτο στις αρχές της 3^{ης} χιλιετίας π.Χ., αν και τα στοιχεία δείχνουν ότι παρήχθη εκεί για γενική κατανάλωση 2.000 χρόνια μετά [48].

Τα κρασιά άρχισαν να παίρνουν τις σύγχρονες μορφές τους περίπου τον 17^ο αι. Η ευρεία χρήση του θείου στην επεξεργασία των βαρελιών φαίνεται να έχει συμβεί περίπου αυτή την εποχή. Αυτό αύξησε σημαντικά την παραγωγή κρασιών καλύτερης ποιότητας και την παράταση της ζωής τους. Οι Βορειοαμερικανοί καθυστέρησαν σχετικά στην αμπελοκαλλιέργεια. Φραγκισκανοί ιεραπόστολοι φύτεψαν

τους πρώτους αμπελώνες μεγάλης κλίμακας στην Καλιφόρνια μόλις πριν από 200 χρόνια, και αυτοί έπρεπε να αποκατασταθούν μετά την κατάργηση της ποτοαπαγόρευσης [46].

Ένα υποπροϊόν των αμπελώνων της Καλιφόρνια τον 19^ο αι. απείλησε με εξαφάνιση τους ευρωπαϊκούς αμπελώνες. Το έντομο *Phylloxera vitifoliae*, που μεταφέρθηκε στην Ευρώπη με ριζώματα της Καλιφόρνια, προκάλεσε πανδημία καταστρέφοντας περίπου 2,5 εκατομμύρια στρέμματα αμπελώνων μόνο στη Γαλλία. Τελικά, οι αμπελώνες της Ευρώπης επαναφύτεύτηκαν εξ ολοκλήρου με ριζώματα ανθεκτικά στη φυλλοξήρα (*Vitis labrusca*) που προέρχονται από τις ανατολικές Η.Π.Α., στα οποία εμβολιάστηκαν αμπέλια από τα ευρωπαϊκά οινοποιήσιμα σταφύλια, *Vitis vinifera* [48].

Η Ελλάδα είναι μια από τις παλαιότερες οινοπαραγωγικές περιοχές στον κόσμο. Οι αρχαιότερες μαρτυρίες ελληνικού κρασιού χρονολογούνται πριν από 6.500 χρόνια όπου το κρασί παρήχθη σε οικιακή ή κοινοτική βάση. Στην αρχαιότητα, καθώς το εμπόριο του κρασιού έγινε εκτεταμένο, μεταφερόταν από άκρη σε άκρη της Μεσογείου. Το ελληνικό κρασί είχε ιδιαίτερα υψηλό κύρος στην Ιταλία επί Ρωμαϊκής Αυτοκρατορίας. Στη μεσαιωνική περίοδο, τα κρασιά που εξαγόταν από την Κρήτη, τη Μονεμβασιά και άλλα ελληνικά λιμάνια έπιαναν υψηλές τιμές στη Βόρεια Ευρώπη. Τα σύγχρονα ελληνικά κρασιά ανταγωνίζονται για άλλη μια φορά στη διεθνή αγορά. Το 1937 ιδρύθηκε Ινστιτούτο Οίνου από το Υπουργείο Γεωργίας. Ο πρώτος αμπελώνας Cabernet Sauvignon στην Ελλάδα φυτεύτηκε το 1963. Το 1966 ιδρύθηκε ένα οινοποιείο που αφιερώθηκε στην παραγωγή κρασιών εξαγωγικής ποιότητας. Το 1971 και το 1972, η νομοθεσία θέσπισε νόμους περί ονομασιών [49].

3.2. Χημική Σύσταση

Ο οίνος είναι αλκοολούχο ποτό που λαμβάνεται αποκλειστικά από μερική ή πλήρη αλκοολική ζύμωση νωπών σταφυλιών, θρυμματισμένων ή μη, ή γλεύκους σταφυλιών. Μπορεί -επίσης- να παρασκευαστεί από άλλα φρούτα, όπως τα μήλα και τα αχλάδια, και άλλα γεωργικά προϊόντα, συμπεριλαμβανομένων των δημητριακών, όπως στην περίπτωση του σάκε που παρασκευάζεται από ρύζι. Ωστόσο, η παραγωγή κρασιού από σταφύλια είναι μακράν η μεγαλύτερη. Το τελικό εμφιαλωμένο κρασί μπορεί να είναι αφρώδες ή όχι και μπορεί να είναι κόκκινο, λευκό ή ροζέ. Το χρώμα του κόκκινου κρασιού οφείλεται στην επαφή με τη φλούδα του σταφυλιού, η οποία εμπλουτίζει το κρασί με τανίνες και αντιοξειδωτικά [50].

Η σύνθεση του χυμού σταφυλιού συνοψίζεται στον ακόλουθο πίνακα [51] :

Πίνακας 3-1. Βασικά συστατικά του χυμού σταφυλιού

Συστατικό χυμού σταφυλιού	Σχόλιο
Ενώσεις άνθρακα	
Γλυκόζη	Τυπική συγκέντρωση 75-150 g/L
Φρουκτόζη	Τυπική συγκέντρωση 75-150 g/L
Σακχαρόζη	Ίχνη
Πεντόζες	μη ζυμώσιμο από <i>S. cerevisiae</i> , ζυμώσιμο από βακτήρια γαλακτικού οξέος

Πηκτίνες	Μικρές ποσότητες
Αζωτούχες ενώσεις	
Ελεύθερα αμινοξέα	0,2-2,5 g/L
Ιόντα αμμωνίου	Μικρές ποσότητες, που μπορεί να είναι περιοριστικές για τους ζυμομύκητες
Πρωτεΐνες	Μικρές ποσότητες
Άλλα οργανικά οξέα	
Τρυγικό οξύ	2 - 10 g/L : δεν μεταβολίζεται από τους ζυμομύκητες του κρασιού
Μηλικό οξύ	1 - 8 g/L : μεταβολίζεται μερικώς από τους ζυμομύκητες του κρασιού, πλήρως από βακτήρια γαλακτικού οξέος
Μεταλλικά στοιχεία	
Φώσφορος, Κάλιο, Μαγνήσιο, Θείο, Ιχνοστοιχεία	επαρκής ποσότητες μεταλλικών στοιχείων και ιχνοστοιχείων
Βιταμίνες	μικρές ποσότητες αλλά επαρκείς για την ανάπτυξη των ζυμομυκήτων
Άλλα συστατικά	επίπεδα θειώδους ανάλογα με την ποιότητα της υγείας των σταφυλιών
Λιπαρά οξέα, στερόλες	Οι στερόλες και τα ακόρεστα λιπαρά οξέα μπορεί να είναι περιοριστικά για τους ζυμομύκητες

Περισσότερες από 500 ενώσεις έχουν αναγνωρισθεί στο κρασί μέχρι στιγμής, εκ των οποίων οι 160 είναι εστέρες. Οι συγκεντρώσεις της πλειοψηφίας κυμαίνονται μεταξύ 10^{-1} και 10^{-6} mg/L. Σε αυτά τα επίπεδα οι επιμέρους ενώσεις παίζουν πολύ μικρό ή καθόλου ρόλο στην ανθρώπινη οργανοληπτική (γευστική) αντίληψη, αλλά συλλογικά μπορεί να είναι πολύ σημαντικές. Ο αριθμός των αρωματικών και γευστικών ουσιών που προέρχονται από τα σταφύλια είναι σχετικά λίγος σε σύγκριση με τη συντριπτική πλειοψηφία που είναι τα μεταβολικά υποπροϊόντα της δραστηριότητας των ζυμομυκήτων κατά τη διάρκεια της ζύμωσης. Τα κρασιά περιέχουν γενικά 0,8-1,2 g αρωματικών ενώσεων ανά λίτρο, από τις οποίες οι πιο κοινές είναι οι ανώτερες αλκοόλες, τα πτητικά οξέα και οι εστέρες λιπαρών οξέων. Οι ανώτερες αλκοόλες αποτελούν συχνά το 50% όλων των πτητικών ουσιών στα κρασιά. Τα καρβονύλια, οι φαινόλες, οι λακτόνες, τα τερπένια, οι ακετάλες, οι υδρογονάνθρακες, το θείο και οι ενώσεις αζώτου -αν και υπάρχουν σε πολύ χαμηλότερες συγκεντρώσεις- είναι πιο σημαντικά ποιοτικά και συνεισφέρουν σε συγκεκριμένα αισθητηριακά χαρακτηριστικά σχετικά με το άρωμα ενός κρασιού. Η γεύση οφείλεται κυρίως στις λίγες ενώσεις που εμφανίζονται μεμονωμένα σε συγκεντρώσεις > 100 mg/L. Αυτές περιλαμβάνουν το νερό, την αιθανόλη, τα οργανικά οξέα, τα σάκχαρα και τη γλυκερίνη. Οι τανίνες απαντώνται στο κόκκινο κρασί και σπάνια σε σημαντικές ποσότητες στους λευκούς οίνους, εκτός εάν ωριμάσουν σε δρύινο βαρέλι. Σε αντίθεση με τη γεύση, η οσμή έχει πολύ χαμηλότερο οσφρητικό κατώφλι. Μετρείται ως οσφρητικό δυναμικό, το οποίο αντιπροσωπεύει τον αριθμό των μορίων-γραμμμαρίων ανά λίτρο αέρα σε συγκέντρωση κατωφλίου [52].

Τα βασικότερα συστατικά του κρασιού αναφέρονται ακολούθως:

Νερό

Το νερό είναι το κυρίαρχο χημικό συστατικό των σταφυλιών και του κρασιού και είναι κρίσιμο για τον καθορισμό των θεμελιωδών χαρακτηριστικών του. Είναι απαραίτητο συστατικό σε πολλές από τις χημικές αντιδράσεις που εμπλέκονται στην ανάπτυξη και τη ζύμωση του χυμού των σταφυλιών και στη γήρανση του κρασιού. Οι ενώσεις που είναι αδιάλυτες ή ελαφρώς διαλυτές στο νερό σπάνια παίζουν σημαντικό ρόλο στο κρασί [46].

Σάκχαρα

Τα κύρια σάκχαρα σταφυλιού είναι η γλυκόζη και η φρουκτόζη και εμφανίζονται σε περίπου ίσες αναλογίες στην ωριμότητα, ενώ τα υπερώριμα σταφύλια έχουν συχνά υψηλότερη αναλογία φρουκτόζης. Η σακχαρόζη βρίσκεται σπάνια στα σταφύλια *Vitis vinifera* και άλλα σάκχαρα βρίσκονται σε ασήμαντες ποσότητες. Οι ποικιλίες που δεν ανήκουν στο *Vitis vinifera* μπορεί να περιέχουν έως και 10% σακχαρόζη [53].

Πολυσακχαρίτες

Στα κρασιά, οι πολυσακχαρίτες είναι γενικά χαμηλοί, είναι μερικώς υδατοδιαλυτοί και εκχυλίζονται στο χυμό κατά την έκθλιψη. Η θερμή συμπίεση συνθλιμμένων ή ολόκληρων καρπών ενισχύει την εκχύλιση της φλούδας, αλλά κατά τη διάρκεια της ζύμωσης οι πολυσακχαρίτες σχηματίζουν σύνθετα κολλοειδή παρουσία αλκοόλης και τείνουν να καθιζάνουν [54].

Αιθανόλη

Η πιο σημαντική και άφθονη αλκοόλη στο κρασί είναι η αιθανόλη. Υπό τυπικές συνθήκες ζύμωσης, η αιθανόλη μπορεί να συσσωρευτεί σε ~14-15%, αλλά γενικά οι συγκεντρώσεις αιθανόλης στο κρασί κυμαίνονται μεταξύ 10-13%. Οι κύριοι παράγοντες που ελέγχουν την παραγωγή αιθανόλης είναι τα σάκχαρα, η θερμοκρασία και το στέλεχος ζυμομύκητα. Η αιθανόλη είναι ζωτικής σημασίας για τη σταθερότητα, την παλαιοποίηση και τις αισθητηριακές ιδιότητες του κρασιού. Καθώς η παραγωγή της αυξάνεται κατά τη διάρκεια της ζύμωσης, περιορίζει όλο και περισσότερο την ανάπτυξη των περισσότερων μικροοργανισμών, επιτρέποντας στον *Saccharomyces cerevisiae* να κυριαρχεί στη διαδικασία ζύμωσης [55]. Η μεθανόλη είναι ένα δευτερεύον συστατικό του κρασιού (0,1-0,2 g/L) και δεν έχει άμεση αισθητική επίδραση. Το κρασί έχει τη χαμηλότερη συγκέντρωση μεθανόλης από όλα τα ποτά που έχουν υποστεί ζύμωση [56]. Άλλες δυνητικά σημαντικές υψηλότερες αλκοόλες στο κρασί είναι οι αλκοόλες ευθείας αλυσίδας: 1-προπανόλη, 2-μεθυλ-1-προπανόλη, 2-μεθυλ-1-βουτανόλη και 3-μεθυλ-1-βουτανόλη [57].

Οξέα

Στο κρασί τα οξέα χωρίζονται σε δύο κατηγορίες: πτητικά και σταθερά. Το πρώτο αναφέρεται σε οξέα που μπορούν εύκολα να αφαιρεθούν με απόσταξη, ενώ το δεύτερο αναφέρεται στα καρβοξυλικά οξέα. Το πιο κοινό πτητικό οξύ στο κρασί είναι το αιθανικό (οξικό) οξύ. Ποσοτικά, τα καρβοξυλικά οξέα όπως το τρυγικό, το μηλικό, το γαλακτικό, το ηλεκτρικό, το οξαλικό, το φουμαρικό και το κιτρικό οξύ ελέγχουν το pH του κρασιού [46].

Φαινόλες

Οι φαινόλες είναι μια μεγάλη και σύνθετη ομάδα ενώσεων με ιδιαίτερη σημασία για τα χαρακτηριστικά και την ποιότητα των ερυθρών κρασιών. Η συγκέντρωσή τους στο λευκό κρασί είναι πολύ μικρότερη (Πίνακας 1). Οι φαινόλες μπορούν να επηρεάσουν την εμφάνιση, τη γεύση, το άρωμα και τις αντιμικροβιακές ιδιότητες του κρασιού. Μπορεί να προέρχονται από τους καρπούς (φλούδες και σπόρους) και τα στελέχη της αμπέλου, την παραγωγή με μεταβολισμό ζυμομύκητα ή την εκχύλιση από τα ξύλινα βαρέλια [58].

Πίνακας 3-2. Εκτιμήσεις τυπικής σύνθεσης κρασιών (% βάρους) (Soleas et al., 1997)

Συστατικό	Επιτραπέζια κρασιά		Επιδόρπια κρασιά	
	Λευκό	Ερυθρό	Λευκό	Ερυθρό
Νερό	87	87	76	74
Αιθανόλη	10	10	14	14
Άλλα πτητικά	0,04	0,04	0,05	0,05
Εκχύλισμα	2,6	2,7	10,1	12,2
Σάκχαρα	0,05	0,05	8	10
Πηκτίνες	0,3	0,3	0,25	0,25
Γλυκερόλη	1,1	1,1	0,9	0,9
Οξέα	0,7	0,6	0,5	0,05
Στάκτη	0,2	0,2	0,2	0,2
Φαινόλες	0,01	0,2	0,01	0,1
Αμινοξέα	0,25	0,25	0,2	0,2
Λίπη, τερπενοειδή	0,01	0,02	0,01	0,02
Βιταμίνες κ.λ.π.	0,01	0,01	0,01	0,01

3.3. Στάδια παραγωγής κρασιού

Η οινοποιία είναι μια αρχαία βιοτεχνολογία και μπορεί να είναι μια απλή διαδικασία. Το σταφύλι είναι η βάση της παγκόσμιας οινοβιομηχανίας που επηρεάζει σημαντικά την οικονομική ευημερία πολλών χωρών, αν και υπάρχουν ξεχωριστές κατηγορίες κρασιών που παρασκευάζονται από φρούτα όπως τα μήλα. Όλα τα συστατικά που είναι απαραίτητα για την παρασκευή του κρασιού περιέχονται μέσα ή πάνω στην επιφάνεια των σταφυλιών, δηλαδή τα σάκχαρα των φρούτων και η μαγιά. Εάν τα σταφύλια πολτοποιηθούν σε ένα σκεύος, μετά από λίγες μέρες σε ζεστό μέρος το μείγμα θα μετατραπεί σε αλκοολούχο υγρό. Αυτή η διαδικασία που ονομάζεται ζύμωση οφείλεται στη δράση των ζυμομυκήτων. Υπάρχουν εκατομμύρια κύτταρα ζυμομυκήτων στη φλούδα των σταφυλιών, τα οποία μπορούν να ζυμώσουν τα φυσικά σάκχαρα στα σταφύλια. Αν και το υγρό που προκύπτει μπορεί να περιγραφεί ως κρασί, μπορεί να μην φαίνεται καλό ή να μην έχει ωραία γεύση. Η ζύμωση ανοιχτής δεξαμενής είναι μια απρόβλεπτη διαδικασία, η οποία μπορεί να παράγει αλδεΐδες και κετόνες που έχουν άσχημη γεύση και μπορούν να προκαλέσουν ανεπιθύμητες αντιδράσεις. Για να αντιμετωπίσουν αυτό το πρόβλημα, οι Ρωμαίοι συχνά γλύκαιναν το κρασί τους με οξικό μόλυβδο που είχε ακόμη πιο σοβαρές επιπτώσεις στην υγεία [59].

Οι βασικές δραστηριότητες των σύγχρονων οινοποιείων είναι ουσιαστικά οι ίδιες με αυτές που πραγματοποιούνται παραδοσιακά: Τα σάκχαρα από τα σταφύλια (ή άλλα φρούτα) εξάγονται φυσικά και στη συνέχεια ζυμώνονται από ζυμομύκητες για να παραχθεί ένα αλκοολούχο ποτό. Ορισμένα ωφέλιμα βακτήρια παίζουν επιπλέον ρόλο στην ανάπτυξη της γεύσης και του αρώματος του κρασιού κατά τη μηλογαλακτική ζύμωση μετά την πρωτογενή αλκοολική ζύμωση [51].

Η οινοποιία περιλαμβάνει βασικά την εκχύλιση χυμού σταφυλιού («μούστου») με σύνθλιψη του καρπού, αλκοολική ζύμωση από ζυμομύκητες (ενδογενείς ή εξωγενείς καλλιέργειες), μηλογαλακτική ζύμωση, παλαιώση, διαύγαση, και συσκευασία. Στην ερυθρή οινοποιία, η σύνθλιψη ακολουθείται από διαβροχή, η οποία διευκολύνει την εξαγωγή των ενώσεων από τους σπόρους και τη φλούδα (επιδερμίδα). Αυτή η εκχύλιση ξεκινά με τη δράση υδρολυτικών ενζύμων που απελευθερώνονται από κύτταρα που έχουν υποστεί ρήξη κατά τη σύνθλιψη [60].

Η οινοποιία ξεκινά με το μάζεμα στον αμπελώνα. Η συλλογή, η διαλογή, η αφαίρεση των κοτσανιών πραγματοποιείται πριν από τη μεταφορά σε δεξαμενές ζύμωσης. Σε αυτό το σημείο, το είδος του κρασιού που θα παρασκευαστεί, δηλαδή το κόκκινο ή το λευκό, θα καθορίσει εάν οι φλούδες παραμένουν ή διαχωρίζονται. Οι καλλιεργημένοι ζυμομύκητες μπορούν να προστεθούν σε αποξηραμένη μορφή για να βοηθήσουν τη ζύμωση, αν και συνήθως η άγρια μαγιά είτε από τον αμπελώνα είτε από το ίδιο το οινοποιείο είναι επαρκής για να επιτρέψει τη ζύμωση να προχωρήσει με επιτυχία. Εάν χρησιμοποιείται καλλιεργημένη μαγιά, το κρασί κατεργάζεται πρώτα με θειώδες νάτριο για να καταστραφεί η άγρια μαγιά [61].

Ανάλογα με τη φύση και το μέγεθος του αμπελώνα, η διαδικασία συγκομιδής πραγματοποιείται είτε χειρωνακτικά είτε μηχανικά, ιδανικά σε καλές καιρικές συνθήκες. Στην περίπτωση της συλλογής δια χειρός, τα τσαμπιά σταφύλια φορτώνονται σε κάδους για μεταφορά στο οινοποιείο. Στην περίπτωση μηχανικής συγκομιδής, τα σταφύλια συλλέγονται μεμονωμένα. Όλο και περισσότερο, η συγκομιδή των σταφυλιών γίνεται μηχανικά. Αυτή η πρακτική είναι πιο οικονομική και σε ζεστές περιοχές η συγκομιδή μπορεί να πραγματοποιείται τη νύχτα, όταν είναι πιο δροσερά για βελτιωμένη ποιότητα παραγόμενου οίνου. Τα σταφύλια που μαζεύτηκαν με το χέρι ή συλλέγονται με μηχανή ταξινομούνται ως προς την ποιότητα. Η διαλογή των σταφυλιών επιτρέπει την αφαίρεση σάπιων ή «σταφιδωμένων» σταφυλιών, φύλλων και μίσχων. Μετά την διαλογή, τα σταφύλια οδηγούνται για θλίψη [59].

Το κόκκινο κρασί παράγεται από τη ζύμωση του χυμού των μαύρων (ή κόκκινων) σταφυλιών, που περιέχουν τις φλούδες. Εάν αφαιρεθούν οι φλούδες των μαύρων σταφυλιών από το χυμό ή εάν χρησιμοποιηθούν λευκά σταφύλια, παράγεται λευκό κρασί. Τα ροζέ κρασιά παράγονται εάν αφαιρεθούν οι φλούδες των μαύρων σταφυλιών πριν από την εκχύλιση όλης της χρωστικής [51].

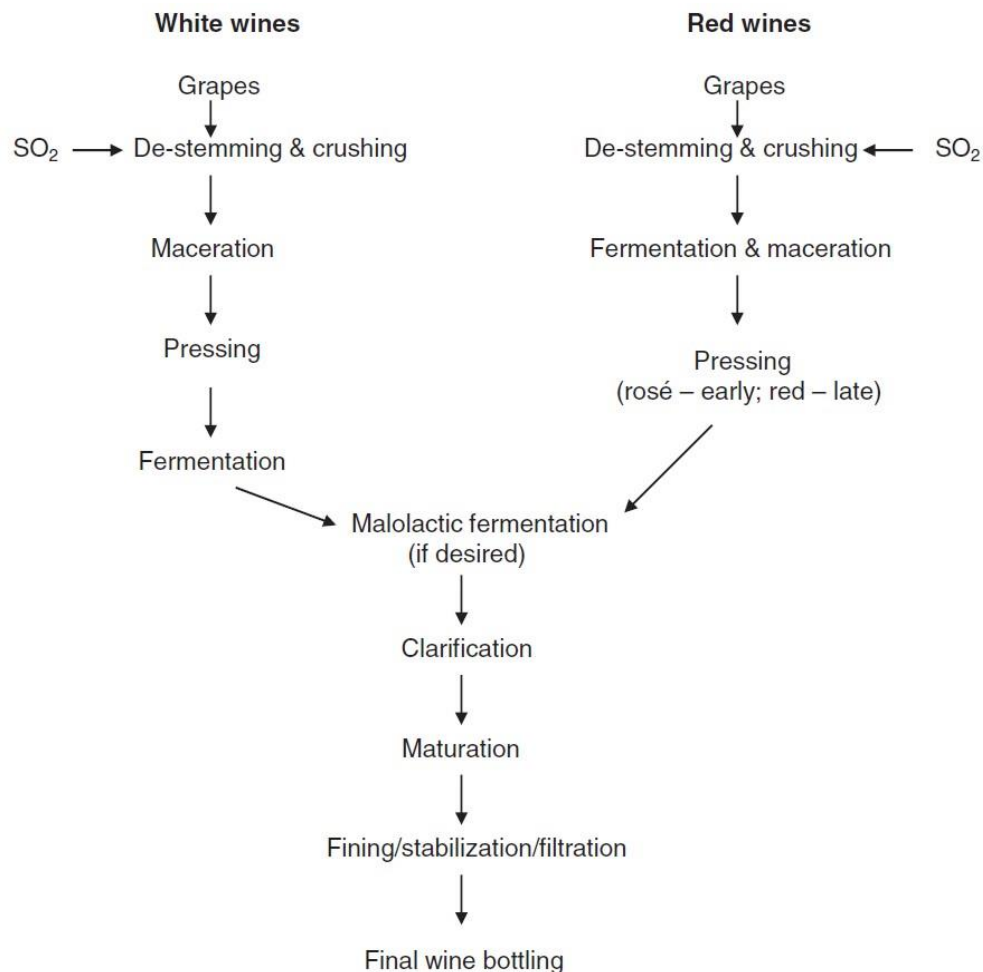
Το δοχείο ζύμωσης μπορεί να είναι μια ρηχή πέτρινη γούρνα. Τα σταφύλια πατιούνται με τα πόδια, έτσι ώστε ο χυμός να μπορεί να βγάλει χρώμα και άλλα συστατικά από τις φλούδες ή σε άλλα οινοποιεία τα σταφύλια φορτώνονται και μεταφέρονται με μεταφορέα σε μια δεξαμενή, από όπου αντλούνται στο δοχείο ζύμωσης. Η ζύμωση ξεκινά φυσικά αφού πατηθούν τα σταφύλια. Οι φλοιοί και ο χυμός αναμειγνύονται με το χέρι και αυτή η διαδικασία επαναλαμβάνεται πολλές φορές την ημέρα για να βοηθήσει στην εκχύλιση και επίσης για να αποτρέψει την ανάπτυξη βακτηρίων στους φλοιούς των σταφυλιών που φυσικά θα επέπλεαν στην επιφάνεια [61].

Μερικές φορές τα κόκκινα σταφύλια ζυμώνονται σε δεξαμενές από ανοξείδωτο χάλυβα. Κατά τη διάρκεια της ζύμωσης, απελευθερώνεται διοξείδιο του άνθρακα, ώστε η επιφάνεια να μπορεί να είναι εκτεθειμένη. Σε άλλες περιπτώσεις, ωστόσο, η ζύμωση λαμβάνει χώρα σε αεριζόμενες κλειστές δεξαμενές για να διευκολυνθεί η διαφυγή διοξειδίου του άνθρακα. Χρησιμοποιούνται -ακόμη- μικρότερες δεξαμενές στις οποίες οι φλοιοί μπορούν να συνθλιβούν χρησιμοποιώντας ένα ρομποτικό έμβολο. Σε ορισμένα οινοποιεία αυτό γίνεται με το χέρι, χρησιμοποιώντας κοντάρια. Εναλλακτική λύση είναι η άντληση του κρασιού από τον πυθμένα της δεξαμενής ξανά πάνω από τις φλούδες. Εδώ, το κόκκινο κρασί που ζυμώνεται αντλείται από τη δεξαμενή και στη συνέχεια αντλείται ξανά μέσα στη δεξαμενή, ώστε να εισαχθεί οξυγόνο στο κρασί για να βοηθήσει τις ζύμες στην ανάπτυξή τους. Σε άλλα στάδια της οινοποιίας λαμβάνεται μέριμνα για την προστασία του κρασιού από το οξυγόνο, αλλά σε αυτό το στάδιο χρειάζεται. Τα λευκά κρασιά ζυμώνονται σε ανοξείδωτα δοχεία [59].

Μόλις τελειώσει η ζύμωση, τα περισσότερα κόκκινα κρασιά μεταφέρονται σε βαρέλια για να ολοκληρωθεί η ωρίμανση τους. Το πιο κοινό μέγεθος βαρελιού είναι 225–250 L. Η προέλευση της βελανιδιάς και το αν το βαρέλι έχει χρησιμοποιηθεί προηγουμένως είναι σημαντικό για την επίδραση που έχει στο κρασί. Μερικές φορές χρησιμοποιούνται πολύ μεγαλύτερα, παλαιότερα δρύινα βαρέλια, που

ουσιαστικά δεν προσδίδουν δρύινο χαρακτήρα στο κρασί. Αυτό ταιριάζει σε ορισμένα στυλ κρασιού καλύτερα [60].

Μόλις ολοκληρωθεί η ζύμωση και το φρέσκο κρασί έχει στραγγιστεί από τους φλοιούς, οι υπόλοιπες φλούδες και τα στελέχη (κοτσάνια) συμπιέζονται για να εξαχθεί και όλο το κρασί που περιέχουν. Αυτή η πρακτική χρησιμοποιείται για μερικά κόκκινα και σχεδόν όλα τα λευκά. Τα στέμφυλα είναι αυτό που μένει στο τέλος και χρησιμοποιείται συνήθως για την παρασκευή κομπόστ. Τα κόκκινα κρασιά ωριμάζουν γενικά σε δρύινα βαρέλια [61].



Σχήμα 3-1. Κύρια στάδια οινοποίησης [51]

Η μηλογαλακτική ζύμωση μπορεί να πραγματοποιηθεί εάν είναι επιθυμητό (για τα περισσότερα κόκκινα και πολλά λευκά κρασιά), για να αποκαρβοξυλιωθεί το L-μηλικό οξύ σε L-γαλακτικό οξύ, με αποτέλεσμα τη μείωση της οξύτητας του κρασιού. Οι οργανοληπτικές ιδιότητες των κρασιών εξαρτώνται κυρίως από την ποικιλία σταφυλιού που χρησιμοποιείται και από τις μεταβολικές δραστηριότητες των ζυμών και των βακτηρίων. Κατά την παλαίωση, πολλές χημικές αντιδράσεις μεταξύ των συστατικών που υπήρχαν αρχικά στο γλεύκος σταφυλιών ή που παράγονται από μικροοργανισμούς συμβάλλουν επίσης στα χαρακτηριστικά του κρασιού [51].

3.4. Παράγοντες που επηρεάζουν την ποιότητα

Η οινοποιία μπορεί να είναι περίπλοκη όταν λαμβάνει κανείς υπόψη την ποικιλία των διαθέσιμων σταφυλιών, την αμπελοκαλλιέργεια, τους τύπους εδάφους και το κλίμα. Οι τύποι εδάφους πρέπει να έχουν την ικανότητα να συγκρατούν ή να αντανakλούν τη θερμότητα καθώς και να παρέχουν θρεπτικά συστατικά για την ανάπτυξη των αμπελιών. Οι πρακτικές συγκομιδής, ζύμωσης και ωρίμανσης είναι επίσης εξαιρετικά σημαντικές για την παραγωγή ενός εκλεκτού κρασιού.

Ίσως ο πιο σημαντικός παράγοντας που επηρεάζει τα αρώματα και τις γεύσεις των κρασιών είναι η ποικιλία ή ποικιλίες σταφυλιού. Η ποικιλιακή προέλευση θέτει τα εξωτερικά όρια των αισθητηριακών ιδιοτήτων του κρασιού, ακολουθούμενα από τις συνθήκες τρύγου και το στυλ παραγωγής. Υπάρχουν περίπου 10.000 τεκμηριωμένες ποικιλίες *V. vinifera*, από τις οποίες 200 ποικιλίες περιγράφονται ως κατάλληλες για οινοποίηση. Ωστόσο, δεν μπορεί να υπάρχουν περισσότερες από 50 τέτοιες ποικιλίες που χρησιμοποιούνται εκτενώς στην οινοποίηση σε εμπορική κλίμακα στις μεγάλες οινοπαραγωγικές περιοχές του κόσμου. Έτσι, τα κρασιά υψηλής φήμης συχνά θεωρούνται ότι συνδέονται με μια μοναδική ποικιλία σταφυλιού, που συχνά αναφέρονται ως «ποικιλιακό» [61].

Τα σταφύλια αναπτύσσονται καλά σε μια ποικιλία εδαφών όπως το χαλίκι, ο γρανίτης, η κιμωλία (ασβεστόλιθος) και ο σχιστόλιθος. Ένας μεγάλος αριθμός αμπελώνων βρίσκεται στις πλευρές των κοιλάδων των ποταμών σε καλά στραγγιζόμενα κοιτάσματα χαλικιών. Ορισμένα αμπέλια αναπτύσσονται καλύτερα σε εδάφη με φτωχή αποστράγγιση. Αυτό κάνει τις ρίζες του αμπελιού να επεκτείνονται βαθύτερα στο νερό, τα ιχνοστοιχεία και άλλα φυτικά θρεπτικά συστατικά. Περιοχές με χαλικώδη εδάφη - για παράδειγμα- ταιριάζουν ιδιαίτερα στην ανάπτυξη της ποικιλίας Cabernet Sauvignon. Άλλοι τύποι εδάφους που βρίσκονται κάτω από το χαλίκι μπορούν επίσης να έχουν κάποια επίδραση. Όπου το έδαφος είναι πηλός, το κρασί θα έχει λιγότερη οξύτητα από ότι θα είχε αν ήταν π.χ. ασβεστόλιθος. Οι πέτρες γρανίτη αντανakλούν τη θερμότητα πίσω στο αμπέλι. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή μεγάλου, υψηλής περιεκτικότητας σε αλκοόλ, κόκκινου χρώματος σταφυλιού οίνου. Ο γρανίτης ταιριάζει στην ποικιλία Gamay, στην οποία οι χημικές του ιδιότητες μειώνουν τη φυσική οξύτητα του κρασιού. Ο σχιστόλιθος είναι υπεύθυνος για το λεπτό άρωμα των φρουτωδών κρασιών. Το μεγάλο πλεονέκτημα του σχιστόλιθου είναι ότι διατηρεί τη θερμότητα τις πιο κρύες μέρες, γεγονός που αντισταθμίζει τις ψυχρότερες θερμοκρασίες της ημέρας στις οποίες τα σταφύλια πρέπει να ωριμάσουν. Ένας άλλος τύπος εδάφους είναι η κιμωλία (ασβεστόλιθος), η οποία παρέχει πολύ καλή αποστράγγιση. Αυτό το αλκαλικό έδαφος ταιριάζει κυρίως σε λευκές ποικιλίες σταφυλιού. Τα σταφύλια που καλλιεργούνται σε αυτό το είδος εδάφους είναι χαρακτηριστικά για την οξύτητά τους [59].

Όπως με όλες τις πρώτες ύλες, η ποιότητα των σταφυλιών είναι εξαιρετικά σημαντική. Τα σταφύλια πρέπει να μαζεύονται όταν έχουν φτάσει στο βέλτιστο στάδιο ωρίμανσης. Αυτά που δεν είναι αρκετά ώριμα ή είναι υπερώριμα θα επηρεάσουν την ποιότητα του κρασιού [59].

Ο μούστος σταφυλιών ζυμώνεται σε κρασί με μαγιά, καθώς και ορισμένες φορές από βακτήρια γαλακτικού οξέος που “μολύνουν” τα σταφύλια. Μπορούν -επίσης- να χρησιμοποιηθούν εμπορικά παρασκευάσματα ζυμομυκήτων με τη μορφή ενεργού Ξηρής μαγιάς (ADY: active dry yeast). Όλοι οι μικροοργανισμοί παίζουν σημαντικό ρόλο στην οινοποίηση αναπτύσσοντας περίπλοκο άρωμα και γεύση. Η ταξινόμηση και η ονοματολογία των κρασιών εξαρτώνται από ορισμένα χαρακτηριστικά, όπως η συγκέντρωση αλκοόλης, τα υπολειμματικά σάκχαρα, το χρώμα και η τυπική αισθητηριακή ποιότητα που σχετίζεται με τις ποικιλίες σταφυλιών. Επιπλέον, τα κρασιά μπορεί να είναι αφρώδη ή μη [62].

Η ζύμωση μπορεί να διεξαχθεί είτε ως «αυθόρμητη» ή με «επιλεγμένη καλλιέργεια». Στην πρώτη διαδικασία, οι ζύμες που υπάρχουν φυσικά στον χυμό σταφυλιών ξεκινούν και ολοκληρώνουν τη ζύμωση. Στη ζύμωση «επιλεγμένης καλλιέργειας», το εμπορικό παρασκεύασμα ADY των στελεχών του *S. cerevisiae* εμβολιάζεται στον χυμό σταφυλιών. Η προσέγγιση επιλεγμένης καλλιέργειας χρησιμοποιώντας εμπορικά σκευάσματα ADY, δίνει μια πιο γρήγορη και προβλέψιμη ζύμωση. Η αυθόρμητη ζύμωση έχει πιο ποικίλη έκβαση, με πιθανότητα αστοχιών, καθώς και προοπτική κρασιών με πιο ενδιαφέρον χαρακτήρα, λόγω της συνεισφοράς από μια σειρά ειδών ζυμομυκήτων [62].

3.5. Το κρασί στη διατροφή

Ο όρος Μεσογειακή διατροφή αναφέρεται στο διατροφικό πρόγραμμα που υιοθετούν οι άνθρωποι που ζουν γύρω από τη Μεσόγειο Θάλασσα, και ιδιαίτερα οι Έλληνες. Ένα από τα κύρια συστατικά της διατροφής, ειδικά το καλοκαίρι, είναι τα σταφύλια. Χαρακτηρίζονται από υψηλή θρεπτική αξία καθώς παρέχουν στον ανθρώπινο οργανισμό πολλά αντιοξειδωτικά και πολυφαινολικές ενώσεις. Η μέτρια κατανάλωση κρασιού επιτρέπεται καθημερινά με τα γεύματα [11].

Το κρασί είναι ένα από τα ποτά με τη μεγαλύτερη κατανάλωση σε όλο τον κόσμο και υψηλή οικονομική σημασία, με την κατανάλωσή του να αυξάνεται κάθε χρόνο. Η παγκόσμια έκταση αμπελοκαλλιέργειας είναι 7,4 εκατομμύρια εκτάρια. Το 2018, η παγκόσμια παραγωγή σταφυλιών ήταν 77,8 εκατομμύρια τόνοι και η παγκόσμια παραγωγή κρασιού ήταν 292 εκατομμύρια εκατόλιτρα, ενώ η παγκόσμια κατανάλωση κρασιού ήταν 246 εκατομμύρια εκατόλιτρα. Η Ελλάδα συγκαταλέγεται στη λίστα των μεγαλύτερων οινοπαραγωγών καθώς και στη λίστα των μεγάλων καταναλωτών κρασιού παγκοσμίως, που το 2018 παρήγαγαν 2,2 εκατ. εκατόλιτρα και κατανάλωσαν 2,1 εκατ. εκατόλιτρα κρασί, αντίστοιχα [1].

Η κατανάλωση κρασιού, ιδιαίτερα του κόκκινου, είναι καλή γιατί είναι πλούσιο σε αντιοξειδωτικά. Η μέτρια κατανάλωση αλκοόλ, όπως του κρασιού, σχετίζεται με μειωμένο κίνδυνο καρδιακής νόσου, εγκεφαλικού και γνωστική εξασθένηση, συμπεριλαμβανομένων τυχαίων τραυματισμών. Ωστόσο, η υπερβολική κατανάλωση μπορεί να οδηγήσει σε εθισμό, καρκίνο διαφόρων οργάνων, νευρολογικά προβλήματα, κοινωνικά προβλήματα, ασθένειες του ήπατος, συμπεριλαμβανομένης της αλκοολικής ηπατίτιδας και της κίρρωσης. Στις ΗΠΑ, υπολογίζεται ότι 80.000 θάνατοι προκαλούνται από την υπερβολική κατανάλωση αλκοόλ με εκτιμώμενο κόστος 223,5 δισεκατομμυρίων δολαρίων το 2006. Το

αλκοόλ μπορεί να προκαλέσει αποβολή και θνησιγένεια και έναν συνδυασμό σωματικών και νοητικών γενετικών ανωμαλιών στα παιδιά. Επιπλέον, κάθε άτομο που οδηγεί, σχεδιάζει να οδηγήσει ή συμμετέχει σε άλλες δραστηριότητες που απαιτούν δεξιότητες, συντονισμό και εγρήγορση θα πρέπει να αποφεύγει το αλκοόλ. Επίσης, άτομα που έχουν ορισμένες ιατρικές παθήσεις ή που λαμβάνουν φάρμακα θα πρέπει να αποφεύγουν το αλκοόλ [59].

Υπάρχει πληθώρα επιδημιολογικών δεδομένων που υποδεικνύουν τη μειωμένη συχνότητα θνησιμότητας και νοσηρότητας από στεφανιαία νόσο (ΣΝ) μεταξύ εκείνων που καταναλώνουν αλκοόλ με μέτρο σε σύγκριση με όσους απέχουν (1-3). Αυτή η μείωση έχει αποδειχθεί για κάθε τελικό σημείο (θάνατος, έμφραγμα του μυοκαρδίου ή νοσηλεία για ΣΝ), σε κάθε έναν από τους διαφορετικούς πληθυσμούς που μελετήθηκαν, και στα δύο φύλα και σε όλες τις ηλικίες. Αυτή η προστασία φαίνεται να οφείλεται σε μεγάλο βαθμό, αν όχι αποκλειστικά, στην αιθανόλη που υπάρχει σε αυτά τα ποτά που ταξινομούνται ως «αλκοολούχα», αλλά υπάρχουν ορισμένες ενδείξεις ότι το κρασί προσφέρει πρόσθετα οφέλη, λόγω της περιεκτικότητάς του σε πολυφαινόλες [46].

Οι πολυφαινόλες που βρίσκονται μέσα στο κρασί (ειδικά στο κόκκινο) επηρεάζουν πολλαπλά βιοχημικά συστήματα του οργανισμού. Αυτά τα στοιχεία του κρασιού έχουν αναγνωριστεί ως αντιοξειδωτικά, αντιμεταλλαξιγόνα, χηλικά καταλυτικά μέταλλα και δεσμευτές ελεύθερων ριζών. Επιπρόσθετα, οι πολυφαινόλες αποτρέπουν τα σύνδρομα που οδηγούν σε ευθραυστότητα των τριχοειδών αγγείων [63], και καθυστερούν την ανάπτυξη ορισμένων μορφών διαβήτη [61]. Τα οφέλη της μέτριας κατανάλωσης κρασιού στην αύξηση των επιπέδων της λιποπρωτεΐνης υψηλής πυκνότητας (HDL) στο πλάσμα, η οποία βοηθά στη μείωση της συγκέντρωσης της χοληστερόλης στο αίμα και της συχνότητας της αρτηριοσκλήρωσης, είναι τεκμηριωμένα. Το κρασί περιέχει -επίσης- μικρές ποσότητες βιταμινών Β όπως Β1 (θειαμίνη), Β2 (ριβοφλαβίνη) και Β12 (κυανοκοβαλαμίνη), αλλά στερείται βιταμινών Α, D και Κ [61].

Τα λευκά κρασιά έχει βρεθεί ότι έχουν νοθευτεί με αιθυλενογλυκόλη, μια τοξική χημική ουσία που βρίσκεται στο αντιψυκτικό. Υψηλά επίπεδα μολύβδου βρέθηκαν σε κρασί που είχε αποθηκευτεί σε μπουκάλια με φελλό επικαλυμμένο με μόλυβδο. Αν και η βιομηχανία δεν χρησιμοποιεί πλέον μόλυβδο, τα παλιά μπουκάλια κρασιού με μολύβδινα πώματα θα πρέπει να καθαρίζονται προσεκτικά πριν αφαιρεθεί ο φελλός [59].

3.6. Κατηγορίες και ποικιλίες κρασιών

Τα κρασιά μπορούν να ομαδοποιηθούν γενικά ανάλογα ανάλογα με τα βασικά χαρακτηριστικά τους (όπως χρώμα, περιεκτικότητα σε σάκχαρα, περιεκτικότητα σε αλκοόλη, περιεκτικότητα σε διοξείδιο του άνθρακα, ηλικία), τη διαδικασία οινοποίησης ή τη γεωγραφική προέλευση. Τα επιτραπέζια κρασιά έχουν συγκεντρώσεις αιθανόλης 10-15% v/v και τα εμπλουτισμένα κρασιά, όπως το πόρτο και το σέρι, έχουν γενικά συγκεντρώσεις αιθανόλης γύρω στο 20% v/v. Τα κρασιά συχνά χωρίζονται σε τρεις βασικές κατηγορίες, δηλαδή στα σταθερά κρασιά, στους αφρώδεις οίνους και στους οίνους λικέρ [51].

Τα σταθερά κρασιά, στις περισσότερες περιπτώσεις, προορίζονται για να συνοδεύσουν ένα γεύμα και μπορούν περαιτέρω να ταξινομηθούν σε λευκές, κόκκινες και ροζέ ομάδες ή σε ξηρά, μέτρια ξηρά, ημίγλυκα και γλυκά κρασιά. Τα αφρώδη κρασιά μπορούν να καταναλωθούν πριν, κατά τη διάρκεια ή μετά τα γεύματα, ανάλογα με την περιεκτικότητά τους σε σάκχαρα και συχνά ταξινομούνται με τη μέθοδο που χρησιμοποιείται για την επίτευξη της υψηλής περιεκτικότητας σε διοξείδιο του άνθρακα. Τα ηδύποτα (οίνοι λικέρ) μπορούν να καταναλωθούν ως απεριτίφ πριν από τα γεύματα, ειδικά αυτά που δεν περιέχουν υπολειμματικά σάκχαρα, αλλά πιο συχνά περιέχουν υψηλές ποσότητες σακχάρων και καταναλώνονται μετά τα γεύματα ως επιδόρπιο. Μια σημαντική κατηγορία αμπελοοικινικών προϊόντων, αν και δεν θεωρούνται κρασιά, είναι η ομάδα των αρωματισμένων οινοπροϊόντων, η οποία περιλαμβάνει τα αρωματισμένα κρασιά (όπως το βερμούτ), τα αρωματισμένα ποτά με βάση το κρασί (όπως η Sangria και το Glühwein) και τα αρωματισμένα κοκτέιλ κρασιού [61].

Τα σταφύλια οίνου ανήκουν σε ένα μόνο γένος της οικογένειας *Vitaceae* -η οποία περιλαμβάνει περίπου 12-14 γένη με περίπου 1.000 είδη- το *Vitis*. Οι πληροφορίες για την προέλευση της συντριπτικής πλειοψηφίας των ποικιλιών (μοναδικά είδη σταφυλιού, γνωστά και ως «ποικιλίες») είναι σπάνιες ή ανύπαρκτες [64].

Οι «νόμοι» του κρασιού ορίζουν ή απαγορεύουν ορισμένες ποικιλίες για κάθε μια από τις καθορισμένες ποιοτικές περιοχές κρασιού με βάση το τι αναπτύσσεται καλύτερα εκεί. Κατά συνέπεια, μόνο ορισμένες ποικιλίες σταφυλιών ή μείγματα σταφυλιών μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την παραγωγή κρασιού σε ένα συγκεκριμένο σημείο με κάποιον έλεγχο ονομασίας (π.χ. Προστατευόμενη Ονομασία Προέλευσης) [59].

Η «Ονομασία Προέλευσης» είναι η ονομασία μιας συγκεκριμένης τοποθεσίας, η οποία χρησιμοποιείται για να περιγράψει προϊόν του οποίου η ποιότητα και τα χαρακτηριστικά του οφείλονται κυρίως ή αποκλειστικά στο ιδιαίτερο γεωγραφικό περιβάλλον, τα σταφύλια από τα οποία παράγεται προέρχονται αποκλειστικά από τη γεωγραφική αυτή ζώνη, η παραγωγή του πραγματοποιείται στη συγκεκριμένη γεωγραφική ζώνη και προέρχεται αποκλειστικά από ποικιλίες αμπέλου που ανήκουν στο είδος *Vitis vinifera* [65].

Η «Γεωγραφική Ένδειξη» αφορά την ένδειξη που αναφέρεται σε μία συγκεκριμένη τοποθεσία, η οποία χρησιμοποιείται για να περιγράψει προϊόν το οποίο έχει συγκεκριμένη ποιότητα, φήμη ή άλλα χαρακτηριστικά που οφείλονται στην εν λόγω γεωγραφική προέλευσή του, τουλάχιστον το 85 % των σταφυλιών που χρησιμοποιούνται για την παραγωγή του προέρχονται αποκλειστικά από τη γεωγραφική αυτή ζώνη, η παραγωγή του πραγματοποιείται στη συγκεκριμένη γεωγραφική περιοχή, προέρχεται από ποικιλίες αμπέλου που ανήκουν στο είδος *Vitis vinifera* ή από διασταύρωση μεταξύ του είδους *Vitis vinifera* και άλλων ειδών του γένους *Vitis* [65].

Οι «Ποικιλιακοί Οίνοι» ορίζονται οι οίνοι χωρίς Προστατευόμενη Ονομασία Προέλευσης ή Γεωγραφική Ένδειξη, στην παρουσίαση και την επισήμανση των οποίων μπορούν να αναγράφονται οι οινοποιήσιμες

ποικιλία (εφόσον έχει παραχθεί σε ποσοστό τουλάχιστον 85% από την εν λόγω ποικιλία) ή των ποικιλιών (εφόσον έχει παραχθεί 100% από τις εν λόγω ποικιλίες) και το έτος συγκομιδής (εφόσον τουλάχιστον το 85% των σταφυλιών προέρχονται από το εν λόγω έτος) [66]. Όμως, δεν επιτρέπεται να αναγράφονται οι ποικιλίες: Ρομπόλα, Μαλβαζία, Μονεμβασιά και Μαυροδάφνη. Στους ποικιλιακούς Οίνους που παράγονται από μία μόνο ποικιλία, δεν μπορούν να αναγράφονται οι ποικιλίες: Αγιωργίτικο, Ξινόμαυρο, Ασύρτικο, Μοσχοφίλερο, Βιδιανό και Μαλαγουζιά. Επίσης, δεν μπορούν να αναγράφονται περισσότερες από τρεις ποικιλίες.

Οι συνήθεις ποικιλίες του ευρωπαϊκού είδους *Vitis vinifera* είναι το Pinot Noir, το Chardonnay, το Cabernet Sauvignon, το Gamay και το Merlot. Μερικές φορές οι γευστικές διαφορές στα φρεσκοκομμένα σταφύλια, όπως το Reisling ή το Gewürztraminer, είναι πιο έντονες στα κρασιά που προκύπτουν. Ορισμένες ποικιλίες αποδίδουν καλύτερα όταν χρησιμοποιούνται ως μονοποικιλίες, όπως η Βουργουνδία, το Pinot Noir και το Chardonnay. Οι περισσότερες ποικιλίες συνήθως βρίσκονται σε μείγματα, κυρίως το Cabernet Sauvignon, το Merlot και το Cabernet Franc [59].

Σημαντικά παραδείγματα κρασιών που βασίζονται σε ποικιλίες *V. vinifera* είναι χαρακτηριστικά ορισμένων περιοχών: Pinot Noir (κόκκινη Βουργουνδία), Chardonnay και Pinot Blanc (λευκή Βουργουνδία), Merlot και Cabernet Sauvignon (κόκκινο Bordeaux), Riesling, Müller-Thurgau και Sylvaner (Λευκό γερμανικό), Zinfandel (κόκκινο Καλιφόρνιας), Palomino (ισπανικό σέρι) και Sangiovese (ιταλικό Chianti) [51].

3.7. Κρασί και φυτοφάρμακα

Όπως ήδη αναφέρθηκε, τα φρούτα και τα λαχανικά αποτελούν βασικά συστατικά της ελληνικής διατροφής, και παρόλο που η υψηλή κατανάλωση αυτών των συστατικών θεωρείται ευεργετική για τον ανθρώπινο οργανισμό, είναι επίσης πηγή έκθεσης στα διάφορα φυτοφάρμακα που χρησιμοποιούνται για την προστασία των καλλιεργειών. Τα βασικά ζητήματα κατά τον σχεδιασμό της φυτοπροστασίας είναι η χρήση των φυτοφαρμάκων στο σωστό στάδιο της καλλιέργειας (δηλαδή άνθηση) και η διατήρηση των επιπέδων των υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων κάτω από τα Ανώτατα Όρια Καταλοίπων (MRL) στο στάδιο της συγκομιδής. Τα υπολείμματα φυτοφαρμάκων στα φρούτα, τα λαχανικά και τα επεξεργασμένα προϊόντα τους μπορούν να εμφανιστούν ως αποτέλεσμα μολυσμένων γεωργικών εισροών, μεταφοράς από παρακείμενα χωράφια, καθώς και ακατάλληλων ή καταχρηστικών πρακτικών. Τα υπολείμματα φυτοφαρμάκων που υπάρχουν στα γεωργικά προϊόντα μπορεί να προκαλέσουν κινδύνους για την υγεία και να επηρεάσουν την αισθητηριακή ποιότητα των μεταποιημένων/επεξεργασμένων προϊόντων. Στην περίπτωση του κρασιού, για παράδειγμα, παρεμβαίνουν στη ζυμωτική μικροχλωρίδα [11], [67].

Λόγω της παγκοσμιοποίησης, τα αγροτικά προϊόντα με υπολείμματα φυτοφαρμάκων ενδέχεται να ταξιδέψουν σε όλο τον κόσμο. Έτσι, οι καταναλωτές συνειδητοποιούν ολοένα και περισσότερο τα πιθανά περιβαλλοντικά προβλήματα και προβλήματα υγείας που σχετίζονται με τη συσσώρευση τοξικών

χημικών ουσιών, ιδιαίτερα σε προϊόντα διατροφής. Η έκθεση σε φυτοφάρμακα μέσω της κατανάλωσης οίνου είναι σχεδόν συνεχής, ειδικά για τους μεσογειακούς ανθρώπους. Τα τελευταία χρόνια η συμβατική καλλιέργεια φρούτων έχει αντικατασταθεί από πιο ελεγχόμενα συστήματα όπως η ολοκληρωμένη διαχείριση καλλιεργειών (ICM: Intergrated Crop Management) και η βιολογική (οργανική) καλλιέργεια για την εξάλειψη της έκθεσης [11].

Στην παραγωγή σταφυλιών, τα φυτοφάρμακα χρησιμοποιούνται για τον έλεγχο παρασίτων και ασθενειών στους αμπελώνες για την αύξηση της απόδοσης των καλλιεργειών. Οι πιο κοινές μυκητιασικές ασθένειες στους αμπελώνες είναι ο ωίδιος (*Uncinula necator*), ο περονόσπορος (*Plasmopora viticola*) και η φαιά μούχλα (*Botrytis cinerea*) [68]. Τα πιο απειλητικά έντομα στα φυτά της αμπέλου είναι ο ευρωπαϊκός σκώρος της αμπέλου (*Lobesia botrana*), ο αλευρόφυτος της αμπέλου (*Planococcus ficus*) και ο αλευρόφυτος των εσπεριδοειδών (*Planococcus citri*) [69]. Για την πρόληψη αυτών, μια μεγάλη ποικιλία φυτοφαρμάκων, ιδιαίτερα μυκητοκτόνων και εντομοκτόνων, εφαρμόζεται συχνά κατά την καλλιέργεια των σταφυλιών. Σε ορισμένες περιπτώσεις, χρησιμοποιούνται ακατάλληλες γεωργικές πρακτικές κατά την εφαρμογή αυτών των δραστικών υλικών στον αμπελώνα. Ως αποτέλεσμα, το επίπεδο των υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων μέσα ή πάνω στα σταφύλια τη στιγμή της συγκομιδής είναι υψηλότερο από το επιτρεπόμενο επίπεδο από τον κανονισμό [70]. Εκτός από τον περιβαλλοντικό κίνδυνο, ένα υψηλό επίπεδο υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων μπορεί να επηρεάσει την ποιότητα των σταφυλιών και των μεταποιημένων προϊόντων του και μπορεί τελικά να φτάσει στον καταναλωτή και να προκαλέσει κινδύνους για την υγεία. Ως εκ τούτου, για την πρόληψη κινδύνων για την υγεία είναι σημαντικό να παρακολουθείται η παρουσία φυτοφαρμάκων και να ρυθμίζονται τα επίπεδά τους στα σταφύλια. Στην Ευρωπαϊκή Ένωση, ο κανονισμός 396/2005/EK καθορίζει τα μέγιστα επίπεδα υπολειμμάτων (MRL) των φυτοφαρμάκων που επιτρέπονται σε προϊόντα ζωικής ή φυτικής προέλευσης που προορίζονται για ανθρώπινη ή ζωική κατανάλωση. Τα MRL για τα υπολείμματα φυτοφαρμάκων στα σταφύλια κυμαίνονται κυρίως μεταξύ 0,01 mg/kg και 5 mg/kg ανάλογα με το φυτοφάρμακο, αλλά σε ορισμένες περιπτώσεις καθορίζονται υψηλότερα όρια, π.χ. για φοσετύλ-αλουμίνιο 100 mg/kg [44].

Σύμφωνα με τις αρχές της ολοκληρωμένης διαχείρισης παρασίτων, η παρακολούθηση των υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων είναι απαραίτητη προκειμένου να προβλεφθούν οι κατάλληλες συγκεντρώσεις και ο αριθμός εφαρμογών φυτοφαρμάκων που απαιτούνται και να καθοριστεί το διάστημα που μεσολαβεί πριν από τη συγκομιδή. Η εφαρμογή των αρχών της ολοκληρωμένης διαχείρισης παρασίτων και των καλών γεωργικών πρακτικών είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση της χρήσης φυτοφαρμάκων με την τάση μείωσης των πιο επικίνδυνων για το περιβάλλον φυτοφαρμάκων. Εξαιτίας αυτού, ο αριθμός των κοινών φυτοφαρμάκων που εφαρμόζονται και βρέθηκαν ως υπολείμματα κατά τη συγκομιδή είναι συνήθως μικρότερος από τον αριθμό των φυτοφαρμάκων που έχουν καταχωριστεί από τις αρμόδιες αρχές σε κάθε χώρα. Για παράδειγμα, υπάρχουν περίπου 450 φυτοφάρμακα στη βάση δεδομένων της ΕΕ για τα οποία έχουν καθοριστεί τα MRL στα επιτραπέζια και οινοποιήσιμα σταφύλια, αλλά σύμφωνα με τη βιβλιογραφία λιγότερα από τα μισά από αυτά εφαρμόζονται στην πραγματικότητα για καταπολέμηση

παρασίτων στους αμπελώνες [71]. Ένα άλλο παράδειγμα μπορεί να βρεθεί στις κοινές κατευθυντήριες γραμμές ολοκληρωμένης διαχείρισης παρασίτων για τα σταφύλια όπου ο αριθμός και η ποσότητα οργανοφωσφορικών και καρβαμιδικών προϊόντων ευρέως φάσματος μειώθηκαν σημαντικά [72].

Αξίζει να σημειωθεί πως δεν έχουν οριστεί MRLs για το κρασί και ως εκ τούτου δεχόμαστε τα όρια που έχουν οριστεί για τα παρασιτοκτόνα σε οινοποιήσιμα αμπέλια.

Πίνακας 3-3. Ανώτατα όρια καταλοίπων (MRLs) σε επιτραπέζια και οινοποιήσιμα σταφύλια σύμφωνα με τους ισχύοντες ευρωπαϊκούς Κανονισμούς

Φυτοπροστατευτική ουσία	MRL επιτραπέζια σταφύλια (mg/kg)	MRL οινοποιήσιμα σταφύλια (mg/l)	Ευρωπαϊκός Κανονισμός
Acetamiprid	0.5	0.5	Κανονισμός 2019/88
Azoxystrobin	3	3	Κανονισμός 2019/552
Azinthos-methyl	0.05	0.05	Κανονισμός 2008/839
Benalaxyl	0.3	0.3	Κανονισμός 2013/1175
Boscalid	5	5	Κανονισμός 2016/156
Bupirimate	1.5	1.5	Κανονισμός 2018/1266
Chlorpyrifos	0.01	0.01	Κανονισμός 2018/686
Chlorpyrifos-methyl	0.01	0.01	Κανονισμός 2011/559
Cyprodinil	3	3	Κανονισμός 2019/168
Cymoxanil	0.3	0.3	Κανονισμός 2017/195
Coumaphos	0.1	0.1	Κανονισμός 2017/623
Clofentezine	0.02	1.0	Κανονισμός 2015/846
Dimethoate	0.01	0.01	Κανονισμός 2017/1135
Diazinon	0.01	0.01	Κανονισμός 2013/834
Dichlorvos	0.01	0.01	Κανονισμός 2008/839
Difenoconazole	3.0	3.0	Κανονισμός 2019/552
Ethion	0.01	0.01	Κανονισμός 2011/310
Fenthion	0.01	0.01	Κανονισμός 2011/310
Fenthion sulfoxide	0.01	0.01	Κανονισμός 2011/310
Fenbuconazole	1	1	Κανονισμός 2011/540
Fluazifop-p-butyl	0.01	0.01	Κανονισμός 2018/1514
Imidacloprid	1	1	Κανονισμός 2014/491
Iprovalicarb	2	2	Κανονισμός 2013/777
Methoxyfenozide	1.0	1.0	Κανονισμός 2015/1040
Metalaxyl	2	1	Κανονισμός 2017/1164
Myclobutanil	1	1	Κανονισμός 2016/567
Pyraclostrobin	1	2	Κανονισμός 2019/1015
Pyriproxyfen	0.05	0.05	Κανονισμός 2019/1589
Phosalone	0.01	0.01	Κανονισμός 2006/1010
Quizalofop-p-ethyl	0.02	0.02	Κανονισμός 2019/973
Rimsulfuron	0.01	0.01	Κανονισμός 2019/168
Thiacloprid	0.01	0.01	Κανονισμός 2019/50

Φυτοπροστατευτική ουσία	MRL επιτραπέζια σταφύλια (mg/kg)	MRL οινοποιήσιμα σταφύλια (mg/l)	Ευρωπαϊκός Κανονισμός
Thiamethoxam	0.4	0.4	Κανονισμός 2018/524
Terbufos	0.01	0.01	Κανονισμός 2008/149
Tebuconazole	0.5	1	Κανονισμός 2016/1
Triadimenol mix	0.3	0.3	Κανονισμός 2017/627
Trifloxystrobin	3.0	3.0	Κανονισμός 2019/1791

4. Τεχνικές εκχύλισης δειγμάτων τροφίμων

4.1. Μέθοδοι προετοιμασίας δειγμάτων για ανάλυση

Η προετοιμασία του δείγματος είναι κρίσιμη και αναπόφευκτη στη χημική ανάλυση. Τα περισσότερα δείγματα δεν μπορούν να εγχυθούν απευθείας στο αναλυτικό όργανο και ως εκ τούτου, πρέπει να υποβληθούν σε επεξεργασία για να γίνουν συμβατά με το αναλυτικό όργανο, ειδικά όταν πρόκειται για επίπεδα ιχνών αναλυτών στόχων διασκορπισμένων σε σύνθετες μήτρες δειγμάτων, όπως τα τρόφιμα. Η συλλογή και η προετοιμασία των δειγμάτων απαιτεί περισσότερο από τα 4/5 του χρόνου της αναλυτικής διαδικασίας. Ως εκ τούτου, η προετοιμασία του δείγματος θεωρείται το πιο χρονοβόρο αλλά κρίσιμο μέρος της συνολικής ανάλυσης, το οποίο επηρεάζει την αποτελεσματικότητα και την απόδοσή της. Η ανάγκη για προετοιμασία δειγμάτων είναι κρίσιμη για να ξεπεραστούν τρία κύρια ζητήματα των πραγματικών δειγμάτων. Κατ' αρχάς, τα συστατικά της μήτρας μπορεί να ασκήσουν επιζήμια επίδραση στην απόδοση του αναλυτικού οργάνου ή μπορεί να παρεμποδίσουν την ανάλυση των αναλυτών-στόχων. Επιπρόσθετα, η συγκέντρωση των αναλυτών-στόχων στη μήτρα του δείγματος μπορεί να είναι κάτω από το όριο ανίχνευσης του αναλυτικού οργάνου. Τέλος, η μήτρα του δείγματος μπορεί να είναι ασύμβατη με το αναλυτικό όργανο. Οι στόχοι της προεπεξεργασίας του δείγματος είναι:

- η τροποποίηση του υποστρώματος
- ο καθαρισμός του δείγματος
- ο εμπλουτισμός / προσυγκέντρωση
- η απομόνωση στοιχείων ενδιαφέροντος

προκειμένου για την εισαγωγή στο αναλυτικό όργανο αναγνώρισης και ποσοτικοποίησης [73], [74].

Για την ανάπτυξη της καταλληλότερης μεθόδου προεπεξεργασίας πρέπει να ληφθούν υπόψη οι ακόλουθες παράμετροι [75]:

- Οι φυσικοχημικές ιδιότητες του δείγματος
- Η χημική σύσταση του δείγματος
- Το υπόστρωμα και οι αναστολές από τα ενδογενή συστατικά
- Η σταθερότητα της καθορισμένης ένωσης
- Ανάκτηση, η οποία πρέπει να είναι ποσοτική
- Η διαδικασία, η οποία πρέπει να είναι απλή
- Αναπαραγωγιμότητα και ακρίβεια

Είναι αποδεκτό ότι υπάρχει μια προφανής ανάγκη να βρεθεί η πιο κατάλληλη μεθοδολογία που θα πληροί τις απαραίτητες προϋποθέσεις όπως η ταχύτητα, η ασφάλεια και η μειωμένη χρήση διαλυτών χωρίς να διακυβεύεται η απόδοσή της [74], [76]. Οι επιστήμονες προσπαθούν να αναπτύξουν νέες αναλυτικές μεθοδολογίες συμβατές με τις αρχές της πράσινης αναλυτικής χημείας [77].

4.2. Υγρή – υγρή εκχύλιση (Liquid – Liquid Extraction)

Η εκχύλιση υγρού-υγρού (Liquid-Liquid Extraction, LLE) είναι μια μέθοδος διαχωρισμού που εκμεταλλεύεται τη διαφορετική διαλυτότητα μιας ουσίας σε δύο διαφορετικούς διαλύτες και περιλαμβάνει τη μεταφορά της διαλυμένης ουσίας από τον έναν διαλύτη στον άλλο, με τους δύο διαλύτες να είναι μη ή εν μέρει αναμίξιμοι. Το νερό ή ένα υδατικό διάλυμα χρησιμοποιείται συχνά ως ένας από τους διαλύτες, με ένα μη πολικό οργανικό υγρό ως τον άλλο διαλύτη. Η εκχύλιση υγρού-υγρού, όπως και άλλες διαδικασίες εκχύλισης, ξεκινά με ανάμιξη (επαφή) και τελειώνει με διαχωρισμό φάσεων. Η έντονη ανάμιξη διευκολύνει τη μεταφορά της εκχυλιζόμενης ουσίας από τον έναν διαλύτη στον άλλο, ωστόσο είναι πιθανό να δυσχεράνει τον διαχωρισμό φάσεων παράγοντας γαλακτώματα (Berk, 2018).

Τα πλεονεκτήματα της LLE περιλαμβάνουν το χαμηλό κόστος των υλικών και την υψηλή εκλεκτικότητα, τη δυνατότητα συγκέντρωσης αναλυτών ενώ εκτελείται εκτενής καθαρισμός της μήτρας. Τα μειονεκτήματα είναι η πολυπλοκότητα της διαδικασίας, η συνεκχύλιση άλλων συστατικών της μήτρας, η αργή χειροκίνητη απόδοση, το υψηλό κόστος εργασίας, η ανάγκη για εξειδικευμένο εργατικό δυναμικό και η δυσκολία στην αυτοματοποίηση (Stone, 2017).

4.3. Εκχύλιση δια της στερεάς φάσης (Solid Phase Extraction)

Η εκχύλιση στερεάς φάσης είναι μια από τις απλούστερες τεχνικές προετοιμασίας δείγματος για την εξαγωγή και την προσυγκέντρωση οργανικών ουσιών και ρύπων σε επίπεδο ιχνών. Παρουσιάστηκε για πρώτη φορά το 1970 και είχε μεγάλο αντίκτυπο στον τομέα των αναλυτικών επιστημών [78]. Τα βασικά πλεονεκτήματα της εκχύλισης στερεάς φάσης είναι ότι:

- Απαιτείται σχετικά μικρός χρόνος εκτέλεσης
- Χρησιμοποιούνται μικροί όγκοι διαλυτών.
- Μπορεί να αυτοματοποιηθεί και να αναλυθεί μεγάλος αριθμός δειγμάτων.
- Επιτυγχάνεται ικανοποιητικός καθαρισμός του δείγματος
- Έχει καλή επαναληψιμότητα.
- Παρέχει υψηλά ποσοστά ανάκτησης

Η αρχή της SPE περιλαμβάνει την κατανομή των εκχυλιζόμενων συστατικών ανάμεσα σε δύο φάσεις: τη στερεή φάση που αποτελεί το προσροφητικό υλικό και την υγρή που αποτελεί το υπόστρωμα με όλες τις παρεμποδίσεις [79]. Αρχικά, πραγματοποιείται διέλευση του υγρού δείγματος μέσω μιας στήλης που περιέχει το προσροφητικό που συγκρατεί τους αναλύτες [80] και στη συνέχεια έκπλυση για την απομάκρυνση των ανεπιθύμητων πολικών συστατικών του υποστρώματος [79]. Στη συνέχεια, οι προσροφημένοι αναλύτες ανακτώνται με έκλυση με κατάλληλο διαλύτη [80]. Η SPE χρησιμοποιεί τη συγγένεια των αναλυτών με το προσροφητικό, συνεπώς το προσροφητικό είναι ο πυρήνας της SPE και καθορίζει την αποτελεσματικότητα και την επιλεκτικότητα της εξαγωγής [81].

4.4. Εκχύλιση με απορροφητική ράβδο ανάδευσης (Stir Bar Sorptive Extraction)

Το 1999, η SBSE εισήχθη στις αναλυτικές επιστήμες ως φιλική προς το περιβάλλον τεχνική εκχύλισης, η οποία έχει επιπρόσθετα πλεονεκτήματα όπως η ταχύτητα και η ευαισθησία [78]. Είναι μια τεχνική χωρίς διαλύτες, η οποία αποτελείται από μία ράβδο που έχει τρία βασικά μέρη: (α) μια μαγνητική πλάκα (ράβδο) ανάδευσης (β) ένα λεπτό γυάλινο περίβλημα που καλύπτει τη μαγνητική πλάκα ανάδευσης και (γ) ένα στρώμα προσροφητικού στον οποίο προσροφώνται οι αναλύτες. Η ράβδος προστίθεται στο υγρό δείγμα και αναδεύεται. Μετά την προσρόφηση η ράβδος απομακρύνεται, ξεπλένεται με απεσταγμένο νερό για την απομάκρυνση άλλων συστατικών του δείγματος και ξηραίνεται σε χάρτινο ιστό για την απομάκρυνση του νερού. Το στάδιο εκχύλισης ακολουθείται από εκρόφηση πριν από τον χρωματογραφικό διαχωρισμό και ανίχνευση [82]. Η τεχνική αυτή έχει εξαιρετική επιλεκτικότητα, ευαισθησία και απλότητα. Συνδέεται με διάφορες αναλυτικές τεχνικές για ανιχνεύσεις (σε επίπεδο ιχνών) οργανικών ουσιών από διάφορα δείγματα [78]. Η εφαρμογή της SBSE προσφέρει μια εναλλακτική λύση στις κλασικές μεθόδους εκχύλισης μειώνοντας την κατανάλωση και την έκθεση στον διαλύτη, το κόστος και το χρόνο εκχύλισης.

4.5. Εκχύλιση στερεάς φάσης σε διασπορά (Dispersive Solid Phase Extraction)

Η εκχύλιση στερεάς φάσης διασποράς, ως μια νέα τεχνική προκατεργασίας δείγματος, πλεονεκτεί έναντι των άλλων τεχνικών εκχύλισης διότι [83]:

- χρησιμοποιεί μικρή ποσότητα διαλυτών συγκριτικά με την SPE
- εμφανίζει μειωμένο αριθμό βημάτων χειρισμού, αφού δεν απαιτεί την ενεργοποίηση της στήλης και γενικά είναι αρκετά απλή.
- είναι αρκετά ταχεία.
- παρέχει υψηλά ποσοστά ανάκτησης ανά εκχύλιση.
- παρουσιάζει εκλεκτικότητα και μεγάλη διαχωριστική ικανότητα.
- μπορεί να αυτοματοποιηθεί.

Η μέθοδος d-SPE αναπτύχθηκε για να επιτρέψει την προσθήκη ενός προσροφητή απευθείας στο αναλυτικό διάλυμα, ευνοώντας μια ισχυρή αλληλεπίδραση μεταξύ του προσροφητή και των αναλυτών. Μόλις ολοκληρωθεί η διαδικασία διασποράς, το προσροφητικό με τους αναλύτες συγκρατείται στην επιφάνεια και διαχωρίζεται με μηχανική διαδικασία, όπως φυγοκέντρηση ή διήθηση. Στη συνέχεια πραγματοποιείται έκλουση με διαλύτη ώστε να γίνει απομόνωση των αναλυτών [78].

4.6. QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe)

Οι Anastassiades et al. (2003) πρότειναν μια ταχεία και φθηνή προσέγγιση στην ανάλυση καταλοίπων φυτοφαρμάκων σε φρούτα και λαχανικά. Ονόμασαν τη μέθοδο QuEChERS, που σημαίνει Quick, Easy,

Cheap, Effective, Rugged and Safe (γρήγορη, εύκολη, φθηνή, αποτελεσματική, ανθεκτική και ασφαλής) και επιτυγχάνει υψηλά ποσοστά ανάκτησης για ευρύ φάσμα αναλυτών με πολύ ακριβή αποτελέσματα.

Η πειραματική πορεία της QuEChERS είναι αρκετά απλή και αποτελείται από δύο βασικά στάδια. Το πρώτο στάδιο περιλαμβάνει την εκχύλιση των ενώσεων-στόχων από το υπόστρωμα και την κατανομή τους με τη χρήση μίγματος αλάτων, και το δεύτερο στάδιο είναι ο καθαρισμός του εκχυλίσματος. Αναλυτικότερα, τα προς ανάλυση δείγματα ομογενοποιούνται και συγκεκριμένη ποσότητα αυτών ζυγίζεται και μεταφέρεται σε πλαστικούς σωλήνες φυγοκέντρησης. Ακολουθεί προσθήκη νερού (αν είναι απαραίτητο) και στη συνέχεια προστίθεται οργανικός διαλύτης (συνήθως ακετονιτρίλιο) ώστε να πραγματοποιηθεί η εκχύλιση των ενώσεων-στόχων από το υπόστρωμα. Τέλος, προστίθεται το μίγμα των αλάτων, το δείγμα ανακινείται έντονα και φυγοκεντρείται. Το μίγμα των αλάτων συνήθως αποτελείται από άνυδρο θειικό μαγνησίου ($MgSO_4$) μαζί με χλωριούχο νατρίου ($NaCl$) ή οξικό νάτριο ($NaOAc$) ή μαζί με κάποιο ρυθμιστικό διάλυμα, όπως τα κιτρικά άλατα (trisodium citrate, sodium citrate dibasic sesquihydrate) ή συνδυασμός αυτών [85], [86].

Στο δεύτερο στάδιο, παραλαμβάνεται ένα μέρος της υπερκείμενης φάσης, το οποίο καθαρίζεται με εκχύλιση διασποράς στερεάς φάσης (dispersive Solid Phase Extraction: dSPE) με τη χρήση $MgSO_4$ και μικρής ποσότητας προσροφητικών ουσιών, όπως πρωτοταγή-δευτεροταγή αμίνη (Primary Secondary Amine, PSA), πυριτία C18 ή γραφίτιοποιημένο άνθρακα (graphitized carbon black, GCB). Στην περίπτωση που χρειάζεται εξισορρόπηση του pH, μπορεί να προστεθεί μικρή ποσότητα αμμωνίας ή μυρμηκικού οξέος. Ακολουθεί πάλι ανακίνηση και φυγοκέντρηση του δείγματος, πριν την έγχυση σε υγρό ή αέριο χρωματογράφο σε σύζευξη με φασματογράφο μάζας. Το τελικό εκχύλισμα αν είναι απαραίτητο συμπυκνώνεται και επαναδιαλύεται στον επιθυμητό διαλύτη πριν την τελική ανάλυση του δείγματος [85], [86].

Η ομογενοποίηση του δείγματος είναι σημαντικό βήμα για τη λήψη ακριβέστερων αναλυτικών αποτελεσμάτων από την εκχύλιση QuEChERS. Τα δείγματα πρέπει να κονιοποιούνται κατάλληλα για μεγιστοποίηση της επιφάνειας, γεγονός που αυξάνει την αποτελεσματικότητα εκχύλισης. Η ομογενοποίηση διασπά την κυτταρική δομή (βιολογικών δειγμάτων) και εξασφαλίζει -επίσης- την αντιπροσωπευτικότητα του δείγματος. Η ψύξη είναι αναγκαία για την αποτροπή της διάσπασης των αναλυτών [86].

Το ακετονιτρίλιο ($MeCN$: πυκνότητα 786 kg/m^3) είναι ο πιο συχνά επιλεγμένος ως διαλύτης εκχύλισης στην εκχύλιση QuEChERS. Ο διαλύτης μπορεί να εξαγάγει ένα ευρύ πολικό φάσμα φυτοφαρμάκων από διάφορα προϊόντα διατροφής [84]. Μπορεί να διεισδύσει στο υδατικό κλάσμα της μήτρας του δείγματος, επιτρέποντας τον εύκολο διαχωρισμό των δύο φάσεων με την προσθήκη αλατιού [87]. Η χρήση του $MeCN$ οδηγεί σε πολύ λιγότερες παρεμβολές από λιπόφιλες ενώσεις [84] και καθιστά δυνατή την επακόλουθη εκκαθάριση υγρού-υγρού (εάν απαιτείται για άλλες εφαρμογές) επειδή μπορεί να διαχωριστεί από μη πολικούς διαλύτες. [88]. Άλλοι μη αλογονωμένοι διαλύτες, όπως η ακετόνη και ο οξικός αιθυλεστέρας μπορούν να χρησιμοποιηθούν, ωστόσο το ακετονιτρίλιο συνιστάται για την QuEChERS, καθώς κατά την προσθήκη αλάτων διαχωρίζεται ευκολότερα από το νερό σε σύγκριση με την ακετόνη και η πολικότητά

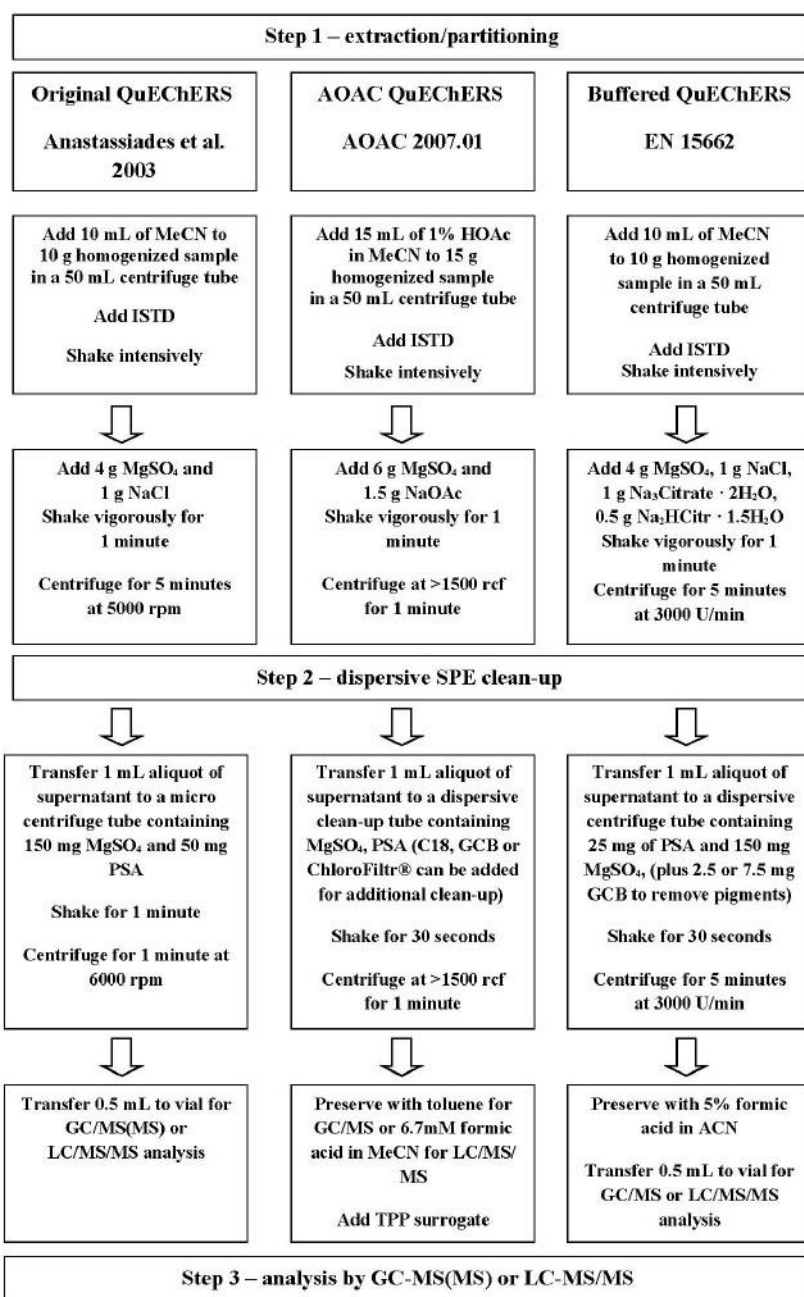
του είναι υψηλότερη τόσο της ακετόνης όσο και του οξικού αιθυλεστέρα εξασφαλίζοντας καλύτερη διαλυτότητα στα υψηλά πολικά φυτοφάρμακα και -συνεπώς- υψηλότερες ανακτήσεις [89].

Οι διαφορετικοί τύποι και ποσότητες αλάτων που χρησιμοποιούνται επηρεάζουν τα ποσοστά ανάκτησης. Η συγκέντρωση των αλάτων μπορεί να επηρεάσει το ποσοστό του νερού στο οργανικό στρώμα και επομένως μπορεί να προσαρμόσει την «πολικότητα» της [84], [90]. Το $MgSO_4$ επιτρέπει την καλύτερη εξαλάτωση (salting-out) του MeCN και αποδίδει τις καλύτερες συνολικές ανακτήσεις, ιδίως των πολικών αναλυτών. Ωστόσο, το $MgSO_4$ συμβάλλει σε εναπομείναντα μέρη νερού στην ακετονιτριλική φάση και στη συνεκχύλιση ορισμένων ανεπιθύμητων πολικών ενώσεων από μήτρες δείγματος, όπως τα σάκχαρα [89], [91]. Για τη δέσμευση της πλειονότητας του κλάσματος νερού, η ποσότητα $MgSO_4$ που προστίθεται πρέπει να υπερβαίνει τη συγκέντρωση κορεσμού [90]. Η προσθήκη NaCl βοηθά στον έλεγχο της πολικότητας των διαλυτών εκχύλισης και έτσι αυξάνει την εκλεκτικότητα της [87], [89], ωστόσο η υπερβολική προσθήκη NaCl έχει ως αποτέλεσμα μικρότερη ικανότητα του φάσης ακετονιτριλίου για διαχωρισμό πολικών αναλυτών [84], [90]. Η καλύτερη αναλογία $MgSO_4:NaCl$ για τον διαχωρισμό είναι 4:1 [84].

Εξαιτίας της πολυπλοκότητας ορισμένων υποστρωμάτων, τα εκχυλίσματα περιέχουν συχνά μια ποικιλία άλλων ενώσεων που μπορεί να δρουν ως παρεμποδιστές, απαιτώντας καθαρισμό δείγματος κατά την εφαρμογή της QuEChERS. Μια δεύτερη εκχύλιση πραγματοποιείται κατά το στάδιο καθαρισμού που όχι μόνο αφαιρεί το νερό, αλλά και όσο το δυνατόν περισσότερες παρεμποδίσεις από το υπόστρωμα. Το προσροφητικό που χρησιμοποιείται εξαρτάται από το υπόστρωμα που αναλύεται και τις παρεμποδίζουσες ενώσεις. Τα πιο κοινά προροφητικά (ή μίγματα αυτών) είναι το $MgSO_4$, η πρωτοταγής-δευτεροταγής αμίνη (PSA), η πυριτία (C_{18}) και ο γραφίτιοποιημένος άνθρακας (GCB) [85], [86].

Η τεχνική QuEChERS τροποποιείται και προσαρμόζεται στις ανάγκες κάθε ανάλυσης. Οι τρεις κυριότερες παραλλαγές αυτής της μεθόδου είναι [89]:

- Η «αυθεντική» μέθοδος QuEChERS: Το ακετονιτρίλιο χρησιμοποιείται ως διαλύτης εκχύλισης. Στη μέθοδο χρησιμοποιείται -επίσης- NaCl για τη βελτίωση της απόδοσης εκχύλισης και τη μείωση των παρεμποδίσεων από πολικές ενώσεις.
- Επίσημη μέθοδος AOAC 2007.01: Το ακετονιτρίλιο με 1% οξικό οξύ χρησιμοποιείται ως διαλύτης εκχύλισης. Το άνυδρο οξικό νάτριο (CH_3COONa) χρησιμοποιείται ως ρυθμιστής pH για την πρόληψη της αποδόμησης ενώσεων ευαίσθητων σε αλκαλικό περιβάλλον και για να βοηθήσει στην καλύτερη ανάκτηση ενώσεων ευαίσθητων σε ακραίες μεταβολές pH.
- Η ευρωπαϊκή τυπική μέθοδος EN 15662: Το ακετονιτρίλιο χρησιμοποιείται ως διαλύτης εκχύλισης. Εκτός από το NaCl για την εξάλειψη των πολικών παρεμβολών, χρησιμοποιείται κιτρικό ρυθμιστικό διάλυμα για τη διατήρηση της βασικής ένωσης ευαίσθητης στο pH.



Σχήμα 4-1. Σχηματικό διάγραμμα ροής για τα κύρια βήματα τριών βασικών μεθόδων QuEChERS [89]

Η μεθοδολογία QuEChERS μειώνει το μέγεθος του δείγματος και τις ποσότητες εργαστηριακών γυαλικών, καθώς και απαιτεί λιγότερα βήματα (χωρίς ανάμειξη, διήθηση, ποσοτικές μεταφορές μεγάλου όγκου, στάδια εξάτμισης/συμπύκνωσης ή εναλλαγές διαλυτών). Αυτό είναι πολύ σημαντικό, καθώς κάθε επιπλέον αναλυτικό βήμα περιπλέκει τη διαδικασία και αποτελεί -επίσης- πιθανή πηγή συστηματικών και τυχαίων σφάλματα [92]. Επιπρόσθετα, η QuEChERS χρησιμοποιεί μικρή ποσότητα οργανικών διαλυτών, παρέχει υψηλές ανακτήσεις (>85%), παρέχει τη δυνατότητα αυτοματοποίησης, έχει την ικανότητα ανάκτησης όξινων και βασικών ενώσεων και είναι συμβατή με αέρια και υγρή χρωματογραφία [89].

5. Υγρή χρωματογραφία – Φασματοσκοπία Μάζας

5.1. Υγρή χρωματογραφία

Οι τεχνικές υγρής ή αέριας χρωματογραφίας, σε συνδυασμό με την εφαρμογή εξειδικευμένων ανιχνευτών, χρησιμοποιούνται τυπικά για τον διαχωρισμό, τον εντοπισμό και τον ποσοτικό προσδιορισμό των εξεταζόμενων οργανικών ενώσεων που έχουν προηγουμένως εκχυλιστεί από ένα υπόστρωμα.

Η χρωματογραφία στηρίζεται στις διαφορετικές κατανομές των συστατικών ενός μίγματος μεταξύ δύο φάσεων. Η μια φάση παραμένει σταθερή στο σύστημα και λέγεται στατική φάση, ενώ η άλλη λέγεται κινητή φάση και διέρχεται μέσα ή επάνω από την επιφάνεια της σταθερής φάσης. Στην υγρή χρωματογραφία, η κινητή φάση είναι ένα υγρό, ενώ η στατική φάση είναι συνήθως ένα υγρό μεγάλου ιξώδους, χημικά δεσμευμένο στο εσωτερικό ενός τριχοειδούς σωλήνα ή στην επιφάνεια στερεών σωματιδίων με τα οποία έχει πληρωθεί η στήλη. Ουσιαστικά, η κινητή φάση προκαλεί μετατόπιση των συστατικών ενός μίγματος σε διαφορετικές θέσεις μέσα στη χρωματογραφική στήλη, με αποτέλεσμα τον διαχωρισμό τους. Η μετατόπιση αποδίδεται ως μία κορυφή στο χρωματογράφημα. Η ποσότητα ή η συγκέντρωση της προσδιοριζόμενης ένωσης είναι ανάλογη του ύψους της κορυφής ή του εμβαδού της επιφάνειας [93].

Η αλληλεπίδραση κάθε συστατικού με την κινητή και στατική φάση καθορίζει τον διαχωρισμό των ενώσεων σε ένα μείγμα, με αποτέλεσμα ο χρόνος έκλουσης από τη στήλη να διαφέρει για κάθε ένωση. Το σχήμα, το μέγεθος και η πυκνότητα φορτίου των σωματιδίων στο διάλυμα παίζουν ρόλο σε αυτή την αλληλεπίδραση. Χρησιμοποιώντας τον κατάλληλο συνδυασμό στατικής φάσης και υγρού έκλουσης (κινητή φάση), όλοι οι μηχανισμοί χρωματογραφικών διαχωρισμών εφαρμόζονται στην υγρή χρωματογραφία [94]. Τα κυριότερα είδη χρωματογραφίας είναι:

- i. η Χρωματογραφία Προσρόφησης (Adsorption Chromatography): Ο διαχωρισμός των διάφορων ουσιών βασίζεται στο διαφορετικό βαθμό προσρόφησης στην στατική φάση. Οι κυριότερες αλληλεπιδράσεις που λαμβάνουν χώρα είναι ηλεκτροστατικής φύσης. Η χρωματογραφία προσρόφησης βρίσκει εφαρμογή στο διαχωρισμό ουσιών με παρόμοια δομή, αλλά διαφορετική πολικότητα [95].
- ii. η Χρωματογραφία Κατανομής (Partition Chromatography): Ο διαχωρισμός στηρίζεται στη διαφορετική κατανομή των συστατικών ενός μίγματος μεταξύ της κινητής και της υγρής (με υψηλό σημείο ζέσεως) στατικής φάσης και εφαρμόζεται στην ανάλυση ομόλογων, μη ιοντικών ενώσεων. Η χρωματογραφία κατανομής προσφέρει μεγαλύτερα πλεονεκτήματα από τη χρωματογραφία προσρόφησης. Ο συντελεστής κατανομής είναι σταθερός σε πολύ μεγαλύτερη περιοχή συγκεντρώσεων και οι παραγόμενες κορυφές είναι οξύτερες και συμμετρικότερες. Τα αποτελέσματά της μπορούν -επίσης- να προβλεφθούν από δεδομένα διαλυτότητας. Χρειάζεται

μεγάλη προσοχή στην επιλογή του ζεύγους των διαλυτών, οι οποίοι θα πρέπει να μην είναι αναμίξιμοι, ενώ ο περισσότερο πολικός διαλύτης καλύπτει το στερεό υπόστρωμα της στατικής φάσης [96]. Ανάλογα με τη σχέση της πολικότητας μεταξύ της στατικής και της κινητής φάσης, η χρωματογραφία κατανομής διακρίνεται σε [97], [98]:

- a. Χρωματογραφία Κανονικής Φάσης (Normal Phase Chromatography), όπου η στατική φάση (συνήθως SiO_2 ή Al_2O_3) είναι πολικότερη από την κινητή που αποτελείται από μη πολικούς διαλύτες (π.χ. εξάνιο)
 - b. Χρωματογραφία Αντίστροφης Φάσης (Reversed Phase Chromatography) που χρησιμοποιείται στο 80% περίπου των αναλυτικών εφαρμογών. Η στατική φάση είναι λιγότερο πολική από την κινητή και αποτελείται από SiO_2 συζευγμένο με διάφορες ομάδες, όπως αλκύλια, φαινύλιο, διόλες, αμινομάδες, κυανομάδες κ.α., ενώ η κινητή φάση αποτελείται από μίγματα οργανικών διαλυτών με υδατικά ρυθμιστικά διαλύματα ή νερό.
- iii. η Χρωματογραφία Ιοντανταλλαγής (Ion Exchange Chromatography): Ο διαχωρισμός βασίζεται στις ηλεκτροστατικές επιδράσεις μεταξύ των αναλυόμενων ιόντων και των φορτισμένων ομάδων της στατικής φάσης. Οι κυριότερες παράμετροι που καθορίζουν τη συγκράτηση στη χρωματογραφία ιοντοανταλλαγής είναι το αντίθετο ιόν της δραστηρικής ομάδας της στατικής φάσης, η ιονική ισχύς, το pH, ο τροποποιητής της κινητής φάσης και η θερμοκρασία [99].
- iv. η Χρωματογραφία Αποκλεισμού Μεγέθους (Size Exclusion Chromatography): Ο διαχωρισμός γίνεται με βάση το σχήμα και το μέγεθος των μορίων των αναλυόμενων ενώσεων. Τα μεγάλα μόρια εξέρχονται πρώτα από τη στήλη, ενώ τα μικρά μόρια καθυστερούν, καθώς εισέρχονται στους πόρους των σωματιδίων της στατικής φάσης και εξέρχονται αργότερα. Η χρωματογραφία αποκλεισμού μεγέθους βρίσκει εφαρμογή στην ανάλυση και στον χαρακτηρισμό των πολυμερών [100].

5.1.1. Αναλυτικές στήλες

Ο πυρήνας ενός χρωματογραφικού συστήματος είναι η αναλυτική στήλη που πρέπει να παράγει επαναλήψιμα και ακριβή αποτελέσματα. Η χρωματογραφική στήλη αποτελείται από τον εξωτερικό κύλινδρο και το υλικό πλήρωσης. Ο εξωτερικός κύλινδρος μπορεί να είναι κατασκευασμένος από μέταλλο, ανοξείδωτο ατσάλι, γυαλί ή πολυμερές. Το υλικό πλήρωσης (στατική φάση) με βάση τις προς διαχωρισμό ενώσεις και βρίσκεται στο εσωτερικό του κυλίνδρου [94].

Η αναλυτική στήλη απαιτεί προσεκτική χρήση. Το καθάρισμα της στήλης με μια ουδέτερη κινητή φάση είναι απαραίτητο. Για παράδειγμα, μια στήλη αντίστροφης φάσης αρχικά πρέπει να πλένεται με ένα μίγμα νερού-μεθανόλης, έτσι ώστε να απομακρύνεται το ρυθμιστικό διάλυμα και τα άλλα συστατικά της κινητής φάσης. Για την απομάκρυνση ισχυρά προσροφημένων ενώσεων, η στήλη -στη συνέχεια-

πλένεται με μεθανόλη ή ακετονιτρίλιο. Έτσι, διατηρείται η απόδοση και αυξάνεται η διάρκεια ζωής της στήλης [101].

Λόγω των ποικίλων φυσικοχημικών ιδιοτήτων των διαφορετικών υλικών πλήρωσης, αυτά παρέχουν διαφορετικής απόδοσης διαχωρισμούς. Υλικά πλήρωσης με μικρή διάμετρο σωματιδίων παρέχουν γενικά γρηγορότερους και καλύτερους διαχωρισμούς, αλλά έχουν μεγαλύτερο κίνδυνο απόφραξης της στήλης [102].

Η επιλογή της στατικής φάσης και της κατάλληλης αναλυτικής στήλης είναι κρίσιμη για την αναλυτική μέθοδο. Οι βασικότερες παράμετροι είναι [103]:

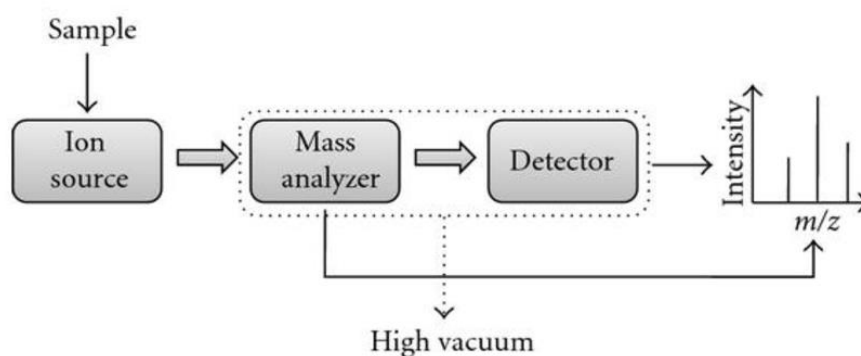
- I. Τα γεωμετρικά χαρακτηριστικά της στήλης (μήκος, εσωτερική διάμετρος) και το μέγεθος των μορίων του υλικού πλήρωσης, που επηρεάζουν την εκλεκτικότητα.
- II. Η φύση της ομάδας που είναι δεσμευμένη στο υποστρώμα (μήκος αλυσίδας, υδρόφοβος χαρακτήρας, δυνατότητα δημιουργίας δεσμών), η οποία καθορίζει και την εκλεκτικότητα της στατικής φύσης.
- III. Η διάμετρος των πόρων του υλικού πλήρωσης. Τα μόρια που είναι μεγαλύτερα από τους πόρους του υλικού πλήρωσης δεν μπορούν να εισχωρήσουν σε αυτούς, με αποτέλεσμα ο διαχωρισμός τους να επιτυγχάνεται στην επιφάνεια.
- IV. Ο τύπος του υποστρώματος, το οποίο θα πρέπει να είναι χημικά σταθερό. Η χημική αστάθεια σε υδατικά διαλύματα και σε ακραίες τιμές pH (συνήθως κάτω από 3 και πάνω από 10) είναι το κυριότερο μειονέκτημα του διοξειδίου του πυριτίου (SiO_2) που χρησιμοποιείται ευρέως. Συνθετικά οργανικά πολυμερή, όπως το πολυστυρένιο μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως υποστρώματα σε αυτές τις περιπτώσεις, καθώς χαρακτηρίζονται από χημική σταθερότητα στην περιοχή pH από 1 έως 12 και είναι -επίσης- κατάλληλα για υδατικά διαλύματα (κινητή φάση).
- V. Η περιεκτικότητα της στήλης σε ελεύθερα σιλανολικά υδροξύλια. Οι ενεργές θέσεις στην επιφάνεια του διοξειδίου του πυριτίου είναι οι ομάδες $-\text{Si}-\text{OH}$ (σιλανόλες). Ο πολικός (όξινο) χαρακτήρας της στήλης αυξάνεται με το ποσοστό των σιλανολικών υδροξυλίων, ενώ ταυτόχρονα ασθενεί η συγκράτηση των μη πολικών ενώσεων. Στην επιφάνεια του SiO_2 υπάρχουν επίσης και σιλοξανικές ομάδες ($-\text{Si}-\text{O}-\text{Si}-$) με μικρή δραστηριότητα, με αποτέλεσμα να μη θεωρούνται ιδιαίτερα σημαντικές.
- VI. Η μέθοδος παρασκευής του υποστρώματος.

5.2. Φασματομετρία μάζας

Η φασματομετρία μάζας (MS: Mass Spectrometry) είναι μια ισχυρή αναλυτική τεχνική. Τις τελευταίες δεκαετίες, έχει υποστεί τεράστιες τεχνολογικές βελτιώσεις που την καθιστούν απαραίτητο αναλυτικό εργαλείο στη χημεία, τη βιοχημεία, τη φαρμακευτική και την ιατρική. Χρησιμοποιείται για την ανάλυση συνδυαστικών βιβλιοθηκών, βιομορίων αλληλουχίας, δομική διαλεύκανση αγνώστων, την περιβαλλοντική και ιατροδικαστική ανάλυση, τον ποιοτικό έλεγχο των φαρμάκων, των γεύσεων και των

πολυμερών. Η φασματομετρία μάζας έχει τόσο ποιοτικές, δεδομένου ότι τα μόρια έχουν διακριτά μοτίβα θραυσματοποίησης και παρέχουν δομικές πληροφορίες για την ταυτοποίηση δομικών στοιχείων, όσο και ποσοτικές χρήσεις [104].

Ένα φασματομέτρο μάζας ιονίζει τις χημικές ενώσεις για την παραγωγή φορτισμένων (θετικά ή αρνητικά) μορίων ή θραυσμάτων μορίων και μετρά απομονώνοντάς ηλεκτρικά ή μαγνητικά τις αναλογίες μάζας προς φορτίο (m/z) [105].



Σχήμα 5-1. Σχηματική απεικόνιση φασματομετρίας μάζας [106]

Γενικά, ένα φασματομέτρο μάζας αποτελείται από μία πηγή ιόντων (ιονισμό), έναν αναλυτή μάζας (διαχωρίζει τα ιόντα) και έναν ανιχνευτή (ανιχνεύει και μετρά τον αριθμό των ιόντων που σχηματίζονται). Ο αναλυτής μάζας, ο ανιχνευτής και μερικές πηγές ιόντων λειτουργούν υπό συνθήκες υψηλού κενού προκειμένου να επιτραπεί στα ιόντα να φτάσουν στον ανιχνευτή χωρίς σύγκρουση με άλλα αέρια μόρια ή άτομα, επομένως, το όργανο χρειάζεται -επίσης- ένα σύστημα άντλησης. Μόρια εισάγονται στο όργανο μέσω της εισόδου δείγματος (sample inlet) [107].

Τα αποτελέσματα της τεχνικής παρουσιάζονται σε ένα φάσμα μάζας: μια δυσδιάστατη αναπαράσταση της έντασης του σήματος, δηλαδή της αφθονίας ιοντικών ειδών (τεταγμένη) έναντι της μάζας/φορτίο (m/z) (τετμημένη). Η πιο έντονη κορυφή ενός φάσματος καλείται βασική κορυφή (base peak). Στις περισσότερες αναπαραστάσεις φασματικών δεδομένων μάζας, η ένταση της βασικής κορυφής κανονικοποιείται στο 100% της σχετικής έντασης [108].

5.2.1. Τεχνικές Ιοντισμού - Ιονισμός ηλεκτροψεκασμού (ESI)

Ανεξάρτητα από τη μέθοδο με την οποία εισάγεται ένα δείγμα στο φασματομέτρο μάζας (GC, LC, άμεση έγχυση), η πηγή ιόντων είναι το σημείο όπου παράγονται τα φορτισμένα είδη ώστε να εισέλθουν στον αναλυτή και -στη συνέχεια- στον ανιχνευτή. Ο ιοντισμός των ενώσεων μπορεί να επιτευχθεί με διάφορους μηχανισμούς στην πηγή [107]:

- i. Ιονισμός ουδέτερου μορίου μέσω της εκτόξευσης ηλεκτρονίων
- ii. Δέσμευση ηλεκτρονίων
- iii. Πρωτονίωση

- iv. Κατιονισμός
- v. Αποπρωτονίωση
- vi. Μεταφορά ενός φορτισμένου μορίου στην αέρια φάση

Τα ιονικά είδη που λαμβάνονται αντιστοιχούν σε ολόκληρο το μόριο ή θραύσματα.

Η πιο διαδεδομένη πηγή ιόντων για το LC-MS υψηλής απόδοσης είναι ο ιονισμός ηλεκτροψεκασμού (ESI: Electrospray Ionization) ή αλλιώς ηλεκτροψεκασμός με τη βοήθεια αζώτου (nitrogen assisted electrospray). Στον ESI, τα δείγματα διαλύονται συνήθως σε ρυθμιστικό διάλυμα ή διαλύτη (συνήθως πολικό) που εισάγεται στο φασματόμετρο με ψεκασμό μέσω μιας λεπτής βελόνας. Το υγρό που μεταφέρει τους αναλύτες ωθείται στον εκνεφωτή (nebulizer) που είναι τοποθετημένος σε ένα θάλαμο ατμοσφαιρικής πίεσης. Ο θάλαμος τοποθετείται μπροστά σ' ένα κώνο που έχει ένα τριχοειδές στόμιο (capillary orifice) επιτρέποντας την είσοδο των ιόντων στο φασματόμετρο μάζας. Υπάρχει διαφορά δυναμικού μεταξύ του κώνου και του άκρου ψεκασμού, δηλαδή ένα ηλεκτροστατικό πεδίο, αφού εφαρμόζεται υψηλό ηλεκτρικό δυναμικό στη βελόνα ψεκασμού για το σχηματισμό σταγονιδίων υψηλής φόρτισης. Η πολικότητα του πεδίου καθορίζει τα ιόντα που θα αναλυθούν. Επιπλέον, ο θάλαμος θερμαίνεται με τη βοήθεια θερμού ουδέτερου αερίου (συνήθως αζώτου) για να εξατμιστεί ο διαλύτης. Υπό αυτές τις συνθήκες, τα ιόντα βρίσκονται στο διάλυμα αποδιαλυτοποιούνται και έλκονται από την είσοδο του φασματόμετρου. Οι δυνάμεις άπωσης (δυνάμεις Coulomb) μεταξύ των ιόντων στην επιφάνεια των συρρικνωμένων σταγονιδίων γίνονται πολύ υψηλές και ξεπερνούν την επιφανειακή τάση του διαλύτη, με αποτέλεσμα τα ιόντα να εκροφώνται στην αέρια φάση. Αυτή η θεωρία του σχηματισμού ιόντων ESI ονομάζεται μέθοδος εξάτμισης ιόντων (ion evaporation method) και φαίνεται να ευνοεί ιόντα με σχετικά χαμηλές τιμές m/z . Μια εναλλακτική θεωρία που είναι κυρίαρχη στην περίπτωση ιόντων με πολύ υψηλό m/z είναι το μοντέλο υπολειμμάτων φορτίου (charge residue model) που περιλαμβάνει συνεχή εξάτμιση του διαλύτη συνοδευόμενη από θραυσματοποίηση σταγονιδίων ώστε ένα και μοναδικό ιόν -πιθανώς πολλαπλά φορτισμένο- σχηματίζεται στο τέλος της διαδικασίας (δηλαδή ο διαλύτης εξατμίζεται πλήρως) [108].

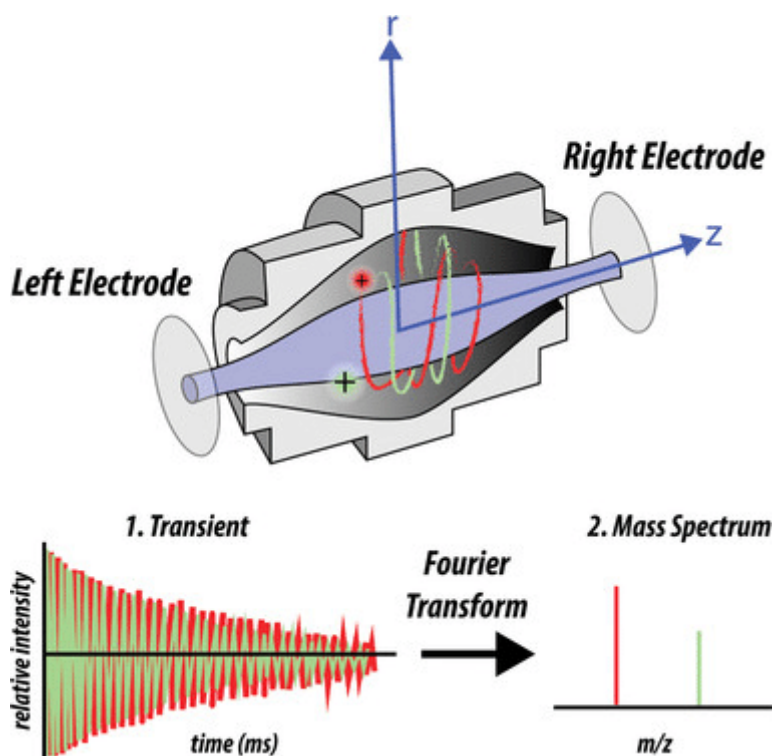
Ο ηλεκτροψεκασμός χρησιμοποιείται για ποιοτικές και ποσοτικές μελέτες μιας ευρείας ποικιλίας πολικών, μη πτητικών και θερμικά ασταθών απλών ανόργανων χημικών ουσιών, καθώς και πολύπλοκων βιολογικών δομών [109].

5.2.2. Αναλυτές μαζών – Τροχιακή παγίδα ιόντων (Orbitrap)

Η ανάλυση μάζας των ιόντων στην αέρια φάση βασίζεται στις αλληλεπιδράσεις των ιόντων με ηλεκτρικά και μαγνητικά πεδία. Ο αναλυτής μάζας είναι το τμήμα του φασματόμετρου μάζας όπου τα φορτισμένα μόρια αναλύτη διαχωρίζονται με βάση την αναλογία μάζα/φορτίο (m/z). Εκτός από την επιλογή της πηγής ιονισμού, μπορούν να επιλεγούν πολλοί διαφορετικοί τύποι αναλυτών μάζας. Αυτοί περιλαμβάνουν τους αναλυτές μαγνητικού τομέα, τις παγίδες ιόντων, τα τετράπολα συστήματα, τους αναλυτές χρόνου πτήσης και τους αναλυτές μετασχηματισμού Fourier [104].

Ένας νέος τύπος αναλυτή μάζας, το Orbitrap, εισήχθη στην αγορά το 2005 και είναι ικανός για υψηλές επιδόσεις, έχει πιο μέτριο μέγεθος και μικρότερη πολυπλοκότητα και κόστος. Η τροχιακή παγίδα είναι μια ηλεκτροστατική παγίδα ιόντων που χρησιμοποιεί τον μετασχηματισμό Fourier για να αποκτήσει φάσματα μάζας. Δεν υπάρχει ούτε μαγνήτης για να συγκρατεί τα ιόντα ούτε υπάρχει κάποιο είδος διέγερσης ραδιοσυχνοτήτων για να ξεκινήσει η κίνησή τους. Αντίθετα, τα κινούμενα ιόντα παγιδεύονται σε ένα σταθερό ακτινικό ηλεκτροστατικό πεδίο. Η ηλεκτροστατική έλξη προς το κεντρικό ηλεκτρόδιο αντισταθμίζεται από μια φυγόκεντρη δύναμη που προκύπτει από την αρχική εφαιπτομενική ταχύτητα των ιόντων [107].

Το Orbitrap αποτελείται από δύο εξωτερικά ηλεκτρόδια και ένα κεντρικό ηλεκτρόδιο, τα οποία του επιτρέπουν να λειτουργεί και ως αναλυτής και ως ανιχνευτής. Τα ιόντα που εισέρχονται στο Orbitrap συλλαμβάνονται μέσω «ηλεκτροδυναμικής συμπίεσης», μετά την οποία ταλαντώνονται γύρω από το κεντρικό ηλεκτρόδιο και μεταξύ των δύο εξωτερικών ηλεκτροδίων. Διαφορετικά ιόντα ταλαντώνονται σε διαφορετικές συχνότητες, με αποτέλεσμα τον διαχωρισμό τους. Με τη μέτρηση των συχνοτήτων ταλάντωσης που προκαλούνται από ιόντα στα εξωτερικά ηλεκτρόδια, τα φάσματα μάζας των ιόντων αποκτώνται χρησιμοποιώντας ανίχνευση ρεύματος εικόνας [110].



Σχήμα 5-2. Ανιχνευτής Orbitrap [111]

5.2.3. Τεχνικές Ανάλυσης – Σάρωσης

Μερικά φασματομέτρα μάζας έχουν την ικανότητα να εκτελούν πολλαπλά στάδια φασματομετρίας μάζας σε ένα δείγμα μάζας. Μπορούν να δημιουργήσουν ένα φάσμα μάζας, να επιλέξουν ένα

συγκεκριμένο ιόν από αυτό το φάσμα, να θραύσουν το ιόν και να δημιουργήσουν ένα άλλο φάσμα μάζας, επαναλαμβάνοντας αυτόν τον κύκλο πολλές φορές.

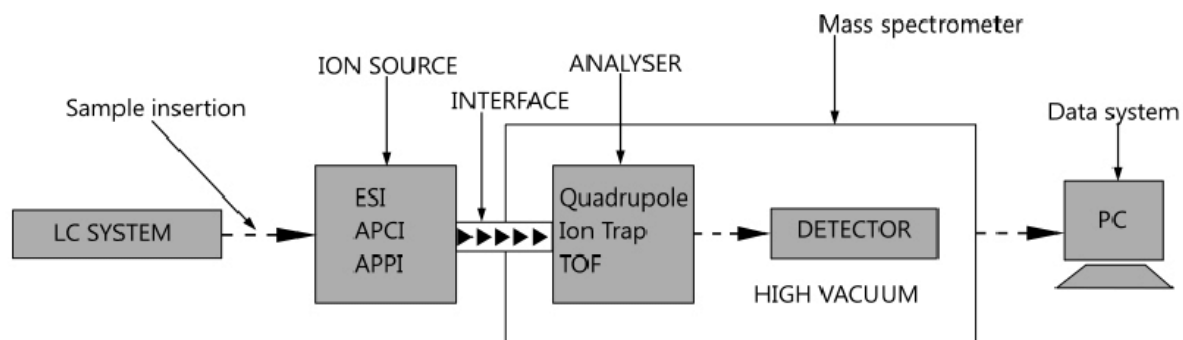
Ένα φασματομέτρο μάζας μπορεί να λειτουργήσει με τους ακόλουθους τύπους σάρωσης:

1. Πλήρης σάρωση (Full Scan): Αυτός είναι ένας τύπος σάρωσης που παρέχει πλήρες φάσμα μάζας για κάθε αναλυόμενη ουσία. Ο αναλυτής μάζας σαρώνεται από τη χαμηλή μάζα στην υψηλή μάζα του καθορισμένου εύρους μάζας (m/z) του χρήστη για καθορισμένο χρόνο. Η πλήρης σάρωση μπορεί να ταυτοποιήσει ένα άγνωστο μόριο εκτιμώντας το μοριακό του βάρος, το οποίο στη συνέχεια μπορεί να συγκριθεί και με φάσματα αναφοράς. Η ευαισθησία της μέτρησης βελτιώνεται με αύξηση του χρόνου σάρωσης και συνεπώς του συνολικού αριθμού ιόντων που φτάνουν στον ανιχνευτή. Με κίνδυνο την απώλεια πληροφοριών, η ευαισθησία μπορεί επίσης να βελτιστοποιηθεί με τη μείωση του εύρους σάρωσης (m/z) [112].
2. Επιλεκτική παρακολούθηση Ιόντων (SIM: Selected Ion Monitoring): Η SIM χρησιμοποιείται συχνά για τον ποσοτικό προσδιορισμό συγκεκριμένων αναλυτών από MS, συνήθως σε συνδυασμό με χρωματογραφικό διαχωρισμό. Το φασματομέτρο μάζας χρησιμοποιείται για την παρακολούθηση περιορισμένου αριθμού ιόντων χαρακτηριστικών των ενώσεων-στόχων, αντί για την απόκτηση ενός πλήρους φάσματος. Το αποτέλεσμα είναι ότι το όργανο ξοδεύει περισσότερο χρόνο καταγράφοντας ιόντα από τις αναλυόμενες ουσίες ενδιαφέροντος, με αποτέλεσμα να αυξάνεται τόσο η ευαισθησία όσο και η επιλεκτικότητα. Αυτή είναι μια πολύ ευαίσθητη τεχνική και για ορισμένες ενώσεις είναι δυνατό να ανιχνευθεί σε επίπεδο femtogram (10^{-15} g) [113].
3. Φασματομετρία μάζας σε σειρά ή πολλαπλών σταδίων (MS/MS, MSⁿ): Το Tandem MS χρησιμοποιείται για την παροχή περισσότερων πληροφοριών από όσες μπορεί να προσφέρει ένα μεμονωμένο φασματομέτρο μάζας και χρησιμοποιείται ευρέως για τον έλεγχο πολύπλοκων μητρών όπως το αίμα και τα ούρα. Η ανάλυση επιτυγχάνεται, ουσιαστικά, με την εκτέλεση δύο σταδίων της SIM. Το πρώτο φασματομέτρο μάζας έχει ρυθμιστεί να μεταδίδει το «πρόδρομο» ιόν ενδιαφέροντος σε μια περιοχή όπου εμφανίζεται κατακερματισμός. Ένα από τα ιόντα «προϊόντος» παρακολουθείται από ένα δεύτερο φασματομέτρο μάζας. Η επιλογή ενός κατάλληλου εσωτερικού προτύπου και η εναλλαγή μεταξύ των μεταβάσεων αέριας φάσης μπορεί να οδηγήσει σε πολύ υψηλή εξειδίκευση. Αυτή η τεχνική είναι γνωστή ως παρακολούθηση επιλεγμένης αντίδρασης (SRM) και χρησιμοποιείται συχνά για ποσοτικοποίηση. Ο κατακερματισμός συνήθως επιτυγχάνεται σε κυψέλη σύγκρουσης υπό πίεση με ένα αδρανές αέριο όπως το αργό. Η σύγκρουση ιόντων με άτομα στο κύτταρο παράγει θραύσματα με μια διαδικασία γνωστή ως διάσπαση επαγόμενης από σύγκρουση (CID). Άλλες προσεγγίσεις έχουν χρησιμοποιηθεί για την πρόκληση κατακερματισμού, όπως λέιζερ, δέσμες ηλεκτρονίων και επιφανειακές συγκρούσεις. Σε περιπτώσεις όπου χρησιμοποιούνται τεχνικές «μαλακού» ιονισμού, μπορεί να παρατηρηθεί το μοριακό βάρος του δείγματος, αλλά η έλλειψη κατακερματισμού στην πηγή σημαίνει ότι υπάρχουν λίγες δομικές πληροφορίες. Ένα φάσμα μάζας ιόντων προϊόντος που αποκτάται με ένα διαδοχικό φασματομέτρο μάζας μπορεί να δώσει αυτές τις

δομικά σημαντικές πληροφορίες. Στην τεχνική της σάρωσης ιόντων πρόδρομου, το δεύτερο φασματόμετρο μάζας ρυθμίζεται στατικά για να μεταδίδει ιόντα προϊόντος μόνο μιας επιλεγμένης αναλογίας μάζας προς φορτίο. Αυτή η μάζα παρακολουθείται συνεχώς ενώ το πρώτο φασματόμετρο μάζας σαρώνεται. Ένα σήμα θα ανιχνευθεί μόνο όταν ένα πρόδρομο ιόν θραύσει για να σχηματίσει το προϊόν ιόν που παρακολουθείται. Αυτή η τεχνική χρησιμοποιείται συχνά για τη διαλογή για ενώσεις σχετικής δομής, όπως οι μεταβολίτες ενός γνωστού φαρμάκου. Μια άλλη μέθοδος διαδοχικής διαλογής είναι γνωστή ως σάρωση σταθερής ουδέτερης απώλειας. Εδώ, και τα δύο φασματόμετρα μάζας σαρώνονται ταυτόχρονα αλλά μετατοπίζονται που αντιστοιχεί στη διαφορά μεταξύ μάζας ιόντων πρόδρομου και προϊόντος. Ένα σήμα εμφανίζεται μόνο όταν ένα πρόδρομο ιόν αποδίδει ένα ιόν προϊόντος με επιλεγμένη τη διαφορά μάζας. Αυτή η τεχνική μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη διαλογή για ενώσεις που περιέχουν ένα συγκεκριμένο δομικό χαρακτηριστικό που παράγει μια κοινή διαδικασία κατακερματισμού [113].

5.3.Σύζευξη υγρής χρωματογραφίας και φασματομετρίας μάζας (LC-MS)

Η φασματομετρία μάζας χρησιμοποιείται με καθετήρες άμεσης εισαγωγής, αλλά και σε συνδυασμό με χρωματογραφία όπως η υγρή χρωματογραφία για την αύξηση της ευαισθησίας, του δυναμικού εύρους και της εκλεκτικότητας της αναλυτικής μεθόδου. Ο χρωματογραφικός διαχωρισμός μπορεί να πραγματοποιηθεί πριν από τη φασματομετρική ανάλυση μάζας είτε εντός είτε εκτός σύνδεσης [104], [109].



Σχήμα 5-3. Βασική διάταξη LC – MS [114]

Η υγρή χρωματογραφία είναι μια θεμελιώδης τεχνική διαχωρισμού που μπορεί να διαχωρίσει με ασφάλεια ένα πολύ ευρύ φάσμα οργανικών ενώσεων. Τα φασματόμετρα μάζας παράγουν τρισδιάστατα δεδομένα που εκτός από την ισχύ του σήματος παρέχουν πολύτιμες πληροφορίες σχετικά με το μοριακό βάρος, τη δομή, την ταυτότητα, την ποσότητα και την καθαρότητα του δείγματος. Τα δεδομένα φασμάτων μάζας προσθέτουν εξειδίκευση που αυξάνει την εμπιστοσύνη στα αποτελέσματα τόσο ποιοτικών όσο και ποσοτικών αναλύσεων [94].

Για τις περισσότερες ενώσεις, ένα φασματόμετρο μάζας είναι πιο ευαίσθητο και πολύ πιο συγκεκριμένο από όλους τους άλλους ανιχνευτές LC. Τα δεδομένα φασμάτων μάζας συμπληρώνουν δεδομένα από

άλλους ανιχνευτές LC. Ενώ δύο ενώσεις μπορεί να έχουν παρόμοια φάσματα υπερύδους ή παρόμοια φάσματα μάζας είναι ασυνήθιστο να έχουν και τα δύο. Το σύνολο των δεδομένων μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την ταυτοποίηση, επιβεβαίωση και ποσοτικοποίηση των ενώσεων [105].

6. Επιλεγμένα φυτοφάρμακα

6.1. Επιλεγμένα εντομοκτόνα

6.1.1. Acetamiprid

Το acetamiprid ($C_{10}H_{11}ClN_4$, μοριακή μάζα 222.67 g/mol) είναι ένα νεονικοτινοειδές με χλωροπυριδινυλική ομάδα. Είναι διασυστηματικό εντομοκτόνο επαφής και στομάχου με ευρύ φάσμα δράσης εναντίον κυρίως μυζητικών εντόμων. Δρα δεσμεύοντας τους μετασυναπτικούς (νικοτινικούς) υποδοχείς της ακετυλοχολίνης στο κεντρικό νευρικό σύστημα του εντόμου [115]. Η κύρια χρήση του acetamiprid είναι ο έλεγχος εντόμων όπως οι αφίδες, τα οποία είναι γνωστό ότι προσβάλλουν και καταστρέφουν φυλλώδη φυτά. Είναι σχετικά σταθερό στην υδρόλυση σε περιβαλλοντικές θερμοκρασίες και φωτοαποικοδομείται σχετικά αργά στο νερό, ενώ αποικοδομείται γρήγορα σε εδάφη [116], [117].

Η ακεταμιπρίδη, εάν απελευθερωθεί στο έδαφος, αναμένεται να έχει μέτρια έως υψηλή κινητικότητα και, αν απελευθερωθεί σε νερό, δεν αναμένεται να προσροφηθεί σε αιωρούμενα στερεά και ιζήματα. Ο συντελεστής οκτανόλης-νερού ($\log K_{ow} = 0.80$) στους 25 °C, υποδηλώνει ότι η πιθανότητα βιοσυγκέντρωσης σε υδρόβιους οργανισμούς είναι χαμηλή, υπό την προϋπόθεση ότι η ένωση δεν μεταβάλλεται φυσικά ή χημικά μόλις απελευθερωθεί στο περιβάλλον. Εγκρίθηκε για χρήση στην Ελλάδα με τον ΕΚ 1107/2009 [115].

6.1.2. Azinphos – methyl

Το Azinphos-methyl ($C_{10}H_{12}N_3O_3PS_2$, μοριακή μάζα 317.32 g/mol) είναι μια συνθετική οργανική θειοφωσφορική ένωση και οργανοφωσφορικός αναστολέας της ακετυλοχολινεστεράσης και νευροτοξικό που χρησιμοποιείται ως εντομοκτόνο. Χαρακτηρίζεται ως μη επίμονο και πτητικό άχρωμο, λευκό ή καφέ κρυσταλλικό στερεό και η έκθεση γίνεται με εισπνοή, κατάποση ή επαφή. Ο συντελεστής οκτανόλης-νερού στους 25 °C είναι $\log K_{ow} = 2.75$ [118].

Το azinphos-methyl προσροφάται έντονα στα σωματίδια του εδάφους και έχει μεγάλη δυνατότητα να φτάσει στο επιφανειακό νερό τόσο μέσω της ολίθθησης του ψεκασμού όσο και της απορροής. Η βιοαποικοδόμηση και η εξάτμιση είναι οι κύριες οδοί απομάκρυνσης από το έδαφος, αλλά επίσης αποδομείται από το υπεριώδες φως. Η αποικοδόμηση είναι πιο γρήγορη σε υψηλότερες θερμοκρασίες. Ο χρόνος ημιζωής στις καλλιέργειες είναι 3-5 ημέρες υπό κανονικές συνθήκες [119].

6.1.3. Chlorpyrifos – methyl

Το Chlorpyrifos-methyl ($C_7H_7Cl_3NO_3PS$, μοριακή μάζα 322.53 g/mol) είναι ένας συνθετικός οργανοφωσφορικός αναστολέας της ακετυλοχολινεστεράσης που χρησιμοποιείται ως εντομοκτόνο. Έχει χαμηλή υδατοδιαλυτότητα, είναι αρκετά πτητικό. Υπάρχει χαμηλός κίνδυνος έκπλυσης στα υπόγεια ύδατα με βάση τις χημικές του ιδιότητες. Τείνει να μην είναι ανθεκτικό σε συστήματα εδάφους ή νερού. Δεν είναι ιδιαίτερα τοξικό για τα θηλαστικά, αλλά ταξινομείται ως νευροτοξικό. Είναι -επίσης- ερεθιστικό για το δέρμα. Είναι πολύ τοξικό για τα ψάρια, τα υδρόβια ασπόνδυλα και τις μέλισσες και

μετρίως τοξικό για τα πουλιά, τα υδρόβια φυτά, τα φύκη και τους γαιοσκώληκες. Ο συντελεστής οκτανόλης-νερού στους 25 °C είναι $\log K_{ow} = 4.31$ [120]

6.1.4. Clofentezine

Το Clofentezine ($C_{14}H_8Cl_2N_4$, μοριακή μάζα 303.15 g/mol) είναι μια οργανοχλωρική τετραζίνη, μέλος των μονοχλωροβενζολίων, και παίζει το ρόλο του ρυθμιστή ανάπτυξης ακάρεων και του ακαρεοκτόνου τετραζίνης. Έχει χαμηλή υδατοδιαλυτότητα και δεν είναι πτητικό. Είναι μέτρια ανθεκτικό στα εδαφικά συστήματα, αλλά τείνει να μην είναι σε υδάτινα συστήματα. Με βάση τις φυσικοχημικές του ιδιότητες δεν αναμένεται να εκπλυθεί στα υπόγεια ύδατα. Η κλοφενταζίνη είναι πολύ τοξική για τα πουλιά και τα ψάρια και μετρίως τοξική για τα υδρόβια ασπόνδυλα, τις μέλισσες και τους γαιοσκώληκες. Έχει χαμηλή τοξικότητα στα θηλαστικά [121].

6.1.5. Coumaphos

Το Coumaphos ($C_{14}H_6ClO_5PS$, μοριακή μάζα 362.8 g/mol) είναι μία συνθετική οργανική θειοφωσφορική, οργανοχλωρική ένωση και οργανοφωσφορική αναστολέας της ακετυλοχολινεστεράσης που χρησιμοποιείται ως εντομοκτόνο/ακαρεοκτόνο. Είναι μαύρο ή ελαφρώς καφέ κρυσταλλικό στερεό με ήπια θειούχα οσμή και η έκθεση γίνεται με εισπνοή, κατάποση ή επαφή. Ο συντελεστής οκτανόλης-νερού στους 25 °C είναι $\log K_{ow} = 4.13$. Το Coumaphos είναι γενικά ακίνητο στα εδάφη και μπορεί να επιμείνει έως και ένα χρόνο σε ορισμένους τύπους εδαφών [122].

6.1.6. Diazinon

Το Diazinon ($C_{12}H_{21}N_2O_3PS$, μοριακή μάζα 304.35 g/mol) είναι οργανοφωσφορικό εντομοκτόνο επαφής, στομάχου και αναπνοής με ασθενή ακαρεοκτόνο δράση. Δρα ως νηματοκτόνο, αναστολέας της χολινεστεράσης, και αναστολέας της ακετυλοχολινεστεράσης. Είναι μέτρια διαλυτό στο νερό και εξαιρετικά πτητικό. Εμφανίζει χαμηλό κίνδυνο έκπλυσης στα υπόγεια ύδατα, ωστόσο έχουν σημειωθεί περιστατικά ρύπανσης, που το καθιστούν πιθανό ρύπο υπογείων υδάτων. Θεωρείται τοξικό στους περισσότερους υδρόβιους οργανισμούς, μέλισσες και πουλιά, ενώ σε ανθρώπους και άλλα θηλαστικά είναι νευροτοξικό. Ο συντελεστής οκτανόλης-νερού στους 25 °C είναι $\log K_{ow} = 3.81$ [123], [124].

6.1.7. Dichlorvos

Το Dichlorvos ($C_4H_7ClO_4P$, μοριακή μάζα 220.97 g/mol) είναι ένας συνθετικός οργανοφωσφορικός αναστολέας της ακετυλοχολινεστεράσης και πιθανό μεταλλαξιογόνο, νευροτοξίνη και τοξικό για την αναπαραγωγή που χρησιμοποιείται ως εντομοκτόνο. Έχει υψηλή υδατική διαλυτότητα, είναι αρκετά πτητικό και, με βάση τις χημικές του ιδιότητες, είναι απίθανο να εκπλυθεί στα υπόγεια ύδατα. Δεν είναι συνήθως ανθεκτικό στο έδαφος ή στο νερό. Έχει μέτρια έως υψηλή τοξικότητα για την περισσότερη βιοποικιλότητα -συμπεριλαμβανομένων των μελισσών- με υψηλή τάση βιοσυσσώρευσης. Ο συντελεστής οκτανόλης-νερού στους 25 °C είναι $\log K_{ow} = 1.43$ [125]

6.1.8. Dimethoate

Το Dimethoate ($C_5H_{12}NO_3PS_2$, μοριακή μάζα 229.26 g/mol) είναι οργανοφωσφορικό διασυστηματικό εντομοκτόνο/ακαρεοκτόνο επαφής και στομάχου. Δρα ως αναστολέας της ακετυλοχολινεστεράσης. Απορροφάται εύκολα, κατανέμεται σε όλους τους ιστούς των φυτών και αποικοδομείται σχετικά γρήγορα. Είναι πολύ διαλυτό στο νερό, έχει χαμηλό δυναμικό έκπλυσης των υπόγειων υδάτων και είναι πτητικό. Είναι μη ανθεκτικό στο έδαφος, κινητό αλλά δεν παραμένει κανονικά σε αερόβια υδάτινα συστήματα. Είναι μέτρια τοξικό για τα θηλαστικά, αλλά μπορεί να έχει σοβαρές επιπτώσεις στην υγεία του ανθρώπου, καθώς μπορεί να προκαλέσει επιπτώσεις στην αναπαραγωγή ή στην ανάπτυξη. Είναι πολύ τοξικό για τα πουλιά και τις μέλισσες, μετρίως τοξικό για τα περισσότερα υδρόβια είδη και τους γαιοσκώληκες. Ο συντελεστής οκτανόλης-νερού στους 25 °C είναι $\log K_{ow} = 0.78$ [126].

6.1.9. Ethion

Το Ethion ($C_9H_{22}O_4P_2S_4$, μοριακή μάζα 384.48 g/mol) είναι ένα οργανοφωσφορικό εντομοκτόνο-ακαρεοκτόνο που χρησιμοποιείται για τον έλεγχο μιας σειράς εντόμων και παρασίτων. Το Ethion είναι γνωστό ότι επηρεάζει το ένζυμο ακετυλοχολινεστεράση, εμποδίζοντας τη δράση του. Εφαρμόζεται κυρίως σε φρούτα όπως μήλα, αχλάδια, σε εσπεριδοειδή, βαμβάκι και σιτηρά. Ο συντελεστής οκτανόλης-νερού στους 25 °C είναι $\log K_{ow} = 5.073$ [127].

6.1.10. Fenthion

Το Fenthion ($C_{10}H_{15}O_3PS_2$, μοριακή μάζα 278.33 g/mol) είναι οργανοφωσφορικό εντομοκτόνο επαφής και στομάχου για την καταπολέμηση μασητικών και μυζητικών εντόμων. Δρα ως αναστολέας της χολινεστεράσης. Έχει χαμηλή υδατοδιαλυτότητα, αλλά γενικά είναι πολύ διαλυτό σε οργανικούς διαλύτες. Είναι πτητικό και δεν αναμένεται να εκπλυθεί στα υπόγεια ύδατα. Η εμμόνη του σε εδαφικά και υδάτινα συστήματα εξαρτάται από τις τοπικές συνθήκες. Είναι μέτρια τοξικό για τα θηλαστικά. Ο συντελεστής οκτανόλης-νερού στους 25 °C είναι $\log K_{ow} = 4.091$ [128].

6.1.11. Fenthion sulfoxide

Το Fenthion sulfoxide ($C_{10}H_{15}O_4PS_2$, μοριακή μάζα 294.3 g/mol) είναι μεταβολίτης του Fenthion και δρα - επίσης- ως αναστολέας της χολινεστεράσης. Έχει χαμηλή υδατοδιαλυτότητα και χαμηλό συντελεστή βιοσυγκέντρωσης. Είναι μέτρια τοξικό για τα θηλαστικά, αλλά ιδιαίτερα τοξικό για τα ψάρια. Ο συντελεστής οκτανόλης-νερού στους 20 °C είναι $\log K_{ow} = 1.92$ [129].

6.1.12. Imidacloprid

Το Imidacloprid ($C_9H_{10}ClN_5O_2$, μοριακή μάζα 255.66 g/mol) είναι ένα διασυστηματικό εντομοκτόνο που ανήκει στα νεονικοτινοειδή και δρα στο κεντρικό νευρικό σύστημα των εντόμων. Συνδέεται πολύ πιο ισχυρά με υποδοχείς νευρώνων εντόμων παρά με υποδοχείς νευρώνων θηλαστικών, επομένως, είναι πιο τοξικό για τα έντομα παρά για τα θηλαστικά. Άλλες χρήσεις περιλαμβάνουν εφαρμογή σε θεμέλια για την πρόληψη της ζημιάς από τερμίτες, έλεγχο παρασίτων για κήπους και χλοοτάπητα, θεραπεία

κατοικίδιων κατοικίδιων για τον έλεγχο των ψύλλων, και στη συντηρητική επεξεργασία ορισμένων τύπων προϊόντων ξυλείας. Είναι πολύ διαλυτό, μη πτητικό και ανθεκτικό στο έδαφος. Ο συντελεστής οκτανόλης-νερού στους 21 °C είναι $\log K_{ow} = 0.57$ [123]

6.1.13. Methoxyfenozide

Το Methoxyfenozide ($C_{22}H_{28}N_2O_3$, μοριακή μάζα 368.47 g/mol) είναι ένα εντομοκτόνο ευρέος φάσματος και δρα ως μμητικό της ορμόνης έκδυσης της εκδυσόνης, στις προνύμφες των λεπιδοπτέρων. Έχει χαμηλή υδατοδιαλυτότητα και χαμηλή πτητικότητα. Με βάση τις χημικές του ιδιότητες υπάρχει υψηλός κίνδυνος έκπλυσης στα υπόγεια ύδατα και υπό ορισμένες συνθήκες μπορεί να είναι επίμονη στα εδαφικά συστήματα. Έχει χαμηλή στοματική τοξικότητα για τα θηλαστικά και δεν έχουν εντοπιστεί σημαντικά ζητήματα κινδύνου για την ανθρώπινη υγεία. Ο συντελεστής οκτανόλης-νερού είναι $\log K_{ow} = 3.7$ [130].

6.1.14. Phosalone

Το Phosalone ($C_{12}H_{15}ClNO_4PS_2$, μοριακή μάζα 367.8 g/mol) είναι μια οργανοφωσφορική χημική ουσία που χρησιμοποιείται συνήθως ως εντομοκτόνο και ακαρεοκτόνο. Είναι ένας ασθενής αναστολέας της ακετυλοχολινεστεράσης. Είναι εύφλεκτο και αποσυντίθεται σε τοξικά αέρια όπως οξείδια του φωσφόρου, οξείδια του θείου και οξείδια του αζώτου. Είναι επιβλαβές ιδιαίτερα σε υδρόβιους οργανισμούς. Ο συντελεστής οκτανόλης-νερού είναι $\log K_{ow} = 4.38$ [131].

6.1.15. Pyriproxyfen

Το Pyriproxyfen ($C_{20}H_{19}NO_3$, μοριακή μάζα 321.37 g/mol) είναι εντομοκτόνο που ανήκει στην κατηγορία των ρυθμιστών ανάπτυξης. Είναι μμητικό της ορμόνης νεότητας των εντόμων, καθώς επιδρά στη μορφογένεση, την αναπαραγωγή και την εμβρυογένεση των εντόμων, ανάλογα με το στάδιο της ανάπτυξης τους (ωό, προνύμφη, νύμφη, ακμαίο), παρεμποδίζοντας την ομαλή εξέλιξη και ενηλικίωσή τους. Χρησιμοποιείται επίσης ως πρόληψη για τον έλεγχο των ψύλλων σε οικιακά κατοικίδια, για τη θανάτωση μυρμηγκιών και κατσαρίδων εσωτερικών και εξωτερικών χώρων. Ο συντελεστής οκτανόλης-νερού είναι $\log K_{ow} = 5.37$ [132], [133].

6.1.16. Terbufos

Το Terbufos ($C_9H_{21}O_2PS_3$, μοριακή μάζα 288.4 g/mol) είναι μια συνθετική οργανική θειοφωσφορική ένωση που χρησιμοποιείται ως διασυστηματικό εντομοκτόνο/νηματοκτόνο δρώντας ως αναστολέας της ακετυλοχολινεστεράσης. Είναι διαλυτό σε οργανικές ενώσεις και μετρίως πτητικό. Είναι ιδιαίτερα τοξικό για τα θηλαστικά και τους υδρόβιους οργανισμούς, δεν εμμένει στο έδαφος, αλλά είναι ένας σοβαρός θαλάσσιος ρύπος. Ο συντελεστής οκτανόλης-νερού είναι $\log K_{ow} = 4.48$ [134].

6.1.17. Thiacloprid

Το Thiacloprid ($C_{10}H_7ClN_4S$, μοριακή μάζα 252.72 g/mol). Ο συντελεστής οκτανόλης-νερού είναι $\log K_{ow} = 4.48$. είναι εντομοκτόνο στομάχου και επαφής με κάποια συστημική δράση της κατηγορίας των νεονικοτινοειδών και χρησιμοποιείται σε γεωργικές καλλιέργειες για τον έλεγχο μιας ποικιλίας μυζητικών και μασητικών εντόμων, κυρίως αφίδων και λευκών μυγών. Ο μηχανισμός δράσης του είναι παρόμοιος με άλλα νεονικοτινοειδή και περιλαμβάνει διαταραχή του νευρικού συστήματος του εντόμου διεγείροντας τους υποδοχείς νικοτινικής ακετυλοχολίνης. Ο συντελεστής οκτανόλης-νερού στους 20 °C είναι $\log K_{ow} = 1.26$ [123], [135].

6.1.18. Thiamethoxam

Το Thiamethoxam ($C_8H_{10}ClN_5O_3S$, μοριακή μάζα 291.71 g/mol) είναι ένα διασυστηματικό εντομοκτόνο της κατηγορίας των νικοτινοειδών που παρεμποδίζει τη μεταφορά πληροφοριών μεταξύ των νευρικών κυττάρων παρεμβαίνοντας στους υποδοχείς νικοτινικής ακετυλοχολίνης στο κεντρικό νευρικό σύστημα και τελικά παραλύει τους μύες των εντόμων. Ο συντελεστής οκτανόλης-νερού στους 25 °C είναι $\log K_{ow} = -0.13$ [136], [137].

6.2. Επιλεγμένα ζιζανιοκτόνα

6.2.1. Fluazifop – p – butyl

Το Fluazifop-p-butyl ($C_{19}H_{20}F_3NO_4$, μοριακή μάζα 383.36 g/mol) είναι εκλεκτικό διασυστηματικό ζιζανιοκτόνο φυλλώματος για την μεταφυτρωτική καταπολέμηση αγρωστωδών ζιζανίων. Απορροφάται από τα φύλλα και το στέλεχος των φυτών, μετακινείται μέσα στους υπέργειους και υπόγειους ιστούς τους, παρεμποδίζοντας την ανάπτυξη των μεριστωμάτων στα φύλλα και στο ρίζωμα. Δρα αναστέλλοντας την φυτική ακετυλο-CoA καρβοξυλάση (ACCase). Η επιλεκτικότητά τους για τα χόρτα προκύπτει επειδή στοχεύουν στην πλαστιδική ισομορφή του ενζύμου που υπάρχει μόνο σε αυτά τα είδη, καθιστώντας τα αναποτελεσματικά σε πλατύφυλλα ζιζάνια και άλλους οργανισμούς, συμπεριλαμβανομένων των θηλαστικών. Ο συντελεστής οκτανόλης-νερού στους 20 °C είναι $\log K_{ow} = 4.5$ [138], [139].

6.2.2. Quizalofop – p – ethyl

Το Quizalofop-p-ethyl ($C_{19}H_{17}ClN_2O_4$, μοριακή μάζα 372.81 g/mol) είναι εκλεκτικό διασυστηματικό ζιζανιοκτόνο ετησίων και πολυετών αγρωστωδών ζιζανίων. Απορροφάται από τα φύλλα και το στέλεχος των φυτών και παρεμποδίζει την ανάπτυξη των μεριστωμάτων στα φύλλα και στο ρίζωμα. Δρα αναστέλλοντας την φυτική ακετυλο-CoA καρβοξυλάση (ACCase). Είναι μη πτητικό και αρκετά ευαίσθητο σε αλλαγή pH ή θερμοκρασίας. Ο συντελεστής οκτανόλης-νερού στους 20 °C είναι $\log K_{ow} = 4.61$ [140].

6.2.3. Rimsulfuron

Το Rimsulfuron ($C_{14}H_{17}N_5O_7S_2$, μοριακή μάζα 431.44 g/mol) είναι ένα ζιζανιοκτόνο ορισμένων αγρωστωδών, πλατύφυλλων ζιζανίων και είναι επίσης ιδιαίτερα αποτελεσματικό για τη διαχείριση ειδών ζιζανίων ανθεκτικών στη γλυφοσάτη. Δρα αναστέλλοντας τη δράση της ακετολακτικής συνθάσης (ALS). Χωρίς αυτό το ένζυμο το φυτό δεν μπορεί να παράγει συγκεκριμένα αμινοξέα εμποδίζοντας έτσι το σχηματισμό πρωτεΐνης. Αυτό αποτρέπει αποτελεσματικά την ανάπτυξη του φυτού. Ο συντελεστής οκτανόλης-νερού στους 20 °C είναι $\log K_{ow} = -1.46$ [141].

6.3. Επιλεγμένα μυκητοκτόνα

6.3.1. Azoxystrobin

Το Azoxystrobin ($C_{22}H_{17}N_3O_5$, μοριακή μάζα 403.39 g/mol) είναι διασυστηματικό μυκητοκτόνο QoI (Quinone Outside Inhibitor) ευρέως φάσματος. Ανήκει στην ομάδα των στρομπιλουρινών. Αναστέλλει τη μιτοχονδριακή αναπνοή εμποδίζοντας τη μεταφορά ηλεκτρονίων. Έχει χαμηλή υδατοδιαλυτότητα, είναι μη πτητικό και μπορεί να εκπλυθεί στα υπόγεια ύδατα υπό ορισμένες συνθήκες. Μπορεί να είναι ανθεκτικό στο έδαφος και μπορεί επίσης να είναι ανθεκτικό σε συστήματα νερού εάν οι συνθήκες είναι κατάλληλες. Έχει χαμηλή τοξικότητα στα θηλαστικά αλλά μπορεί να βιοσυσσωρευτεί. Ο συντελεστής οκτανόλης-νερού στους 20 °C είναι $\log K_{ow} = 2.5$ [142], [143].

6.3.2. Benalaxyl

Το Benalaxyl ($C_{20}H_{23}NO_3$, μοριακή μάζα 325.40 g/mol) είναι ένα μυκητοκτόνο που χρησιμοποιείται ευρέως αλλά τώρα καταργείται σταδιακά σε πολλές χώρες. Έχει χαμηλή υδατική διαλυτότητα, είναι αρκετά πτητικό και χαμηλή δυνατότητα βιοσυσσώρευσης. Είναι μη κινητό, μέτρια ανθεκτικό στα εδαφικά συστήματα, αλλά μπορεί να είναι ανθεκτικό σε συστήματα νερού. Είναι μέτρια τοξικό για τα θηλαστικά, αλλά δεν αναμένεται να βιοσυσσωρευτεί. Είναι μέτρια τοξικό για τους περισσότερους υδρόβιους οργανισμούς, τις μέλισσες και τους γαιοσκώληκες αλλά λιγότερο για τα πουλιά. Ο συντελεστής οκτανόλης-νερού στους 20 °C είναι $\log K_{ow} = 3.54$ [144].

6.3.3. Boscalid

Το Boscalid ($C_{20}H_{23}NO_3$, μοριακή μάζα 325.40 g/mol) είναι ένα ευρέως φάσματος καρβοξιμιδικό μυκητοκτόνο. Απορροφάται μέσω των φύλλων και παρεμποδίζει την κυτταρική αναπνοή μέσω της αναστολής δράσης ενός ενζύμου (σύμπλοκο II). Έχει χαμηλή υδατοδιαλυτότητα και δεν είναι πτητικό. Μπορεί να είναι πολύ ανθεκτικό τόσο στο έδαφος όσο και στο υδάτινο σύστημα ανάλογα με τις τοπικές συνθήκες. Υπάρχει κάποιος κίνδυνος έκπλυσης στα υπόγεια ύδατα. Είναι μέτρια τοξικό για τις περισσότερες είδη πανίδας. Ο συντελεστής οκτανόλης-νερού στους 20 °C είναι $\log K_{ow} = 2.96$ [145].

6.3.4. Bupirimate

Το Bupirimate ($C_{13}H_{24}N_4O_3S$, μοριακή μάζα 316.42 g/mol) είναι διασυστηματικό μυκητοκτόνο με προληπτική, θεραπευτική και εξοντωτική δράση κατά του ωΐδιου στο αμπέλι. Δρα κυρίως αναστέλλοντας τη δημιουργία σπορίων. Ανήκει στην ομάδα των αμινοπυριμιδινών και απορροφάται από τα φύλλα του φυτού. Έχει χαμηλή υδατοδιαλυτότητα και χαμηλή πτητικότητα. Ανάλογα με τις τοπικές συνθήκες, το bupirimate μπορεί να είναι μέτρια ανθεκτικό τόσο στο έδαφος όσο και στο υδατικό σύστημα. Είναι μέτρια τοξικό για τα περισσότερα είδη πανίδας και χλωρίδας. Ο συντελεστής οκτανόλης-νερού στους 20 °C είναι $\log K_{ow} = 3.68$ [146].

6.3.5. Carbendazim

Το Carbendazim ($C_9H_9N_3O_2$, μοριακή μάζα 191.19 g/mol) είναι ένα ευρέως φάσματος διασυστηματικό μυκητοκτόνο και ανήκει στην ομάδα των βενζιμιδαζολών. Έχει χαμηλή υδατοδιαλυτότητα, είναι πτητικό και μέτρια ευκίνητο. Είναι μέτρια ανθεκτικό στο έδαφος και μπορεί να είναι πολύ ανθεκτικό σε συστήματα νερού υπό ορισμένες συνθήκες. Το Carbendazim έχει χαμηλή τοξικότητα στα θηλαστικά και δεν αναμένεται να βιοσυσσωρευτεί. Ωστόσο, αναφέρεται ως τοξικό για την αναπαραγωγή/ανάπτυξη. Ο συντελεστής οκτανόλης-νερού στους 20 °C είναι $\log K_{ow} = 1.48$ [147].

6.3.6. Cymoxanil

Το Cymoxanil ($C_7H_{10}N_4O_3$, μοριακή μάζα 198.18 g/mol) είναι ένα τοπικά διασυστηματικό μυκητοκτόνο που παρεμποδίζει τη βλάστηση των σπορίων. Είναι εξαιρετικά διαλυτό στο νερό και θεωρείται αρκετά πτητικό. Έχει χαμηλή δυνατότητα έκπλυσης στα υπόγεια ύδατα, είναι μη ανθεκτικό σε εδάφη και υδατίνα συστήματα. Το Cymoxanil είναι μέτρια τοξικό για τα θηλαστικά, μπορεί να προκαλέσει δυσμενείς επιπτώσεις στην αναπαραγωγή/ανάπτυξη και έχει υψηλή δυνατότητα βιοσυγκέντρωσης. Ο συντελεστής οκτανόλης-νερού στους 20 °C είναι $\log K_{ow} = 0.67$ [148].

6.3.7. Cyprodinil

Το Cyprodinil ($C_{14}H_{15}N_3$, μοριακή μάζα 225.29 g/mol) ανήκει στην ομάδα των ανιλινοπυριμιδινών και είναι διασυστηματικό μυκητοκτόνο φυλλώματος ευρέως φάσματος που χρησιμοποιείται για τον έλεγχο μιας σειράς παθογόνων μικροοργανισμών κυρίως στους καρπούς. Παρεμποδίζει την βιοσύνθεση των αμινοξέων, αναστέλλοντας την επιμήκυνση του μυκηλίου και την διείσδυση του στην φυλλική επιφάνεια. Έχει χαμηλή διαλυτότητα, είναι απίθανο να εκπλυθεί στα υπόγεια ύδατα και είναι πτητικό. Στα εδάφη είναι μέτρια ανθεκτικό, αλλά μπορεί να είναι ανθεκτικό σε συστήματα νερού ανάλογα με τις τοπικές συνθήκες. Είναι μέτρια τοξικό για τα θηλαστικά και μπορεί να βιοσυσσωρευτεί. Ο συντελεστής οκτανόλης-νερού στους 20 °C είναι $\log K_{ow} = 4$ [149].

6.3.8. Difenoconazole

Το Difenoconazole ($C_{19}H_{17}Cl_2N_3O_3$, μοριακή μάζα 406.26 g/mol) είναι ένα διασυστηματικό μυκητοκτόνο που απορροφάται από τα φύλλα και παρουσιάζει έντονη διαφυλλική μετατόπιση. Σταματά την ανάπτυξη μυκήτων παρεμβαίνοντας στη βιοσύνθεση στερολών στις κυτταρικές μεμβράνες An και είναι δυνητικά κινητό μόριο, είναι απίθανο να εκπλυθεί λόγω της χαμηλής υδατοδιαλυτότητάς του. Είναι ελαφρώς πτητικό, ανθεκτικό στο έδαφος και στο υδάτινο περιβάλλον. Υπάρχουν ορισμένες ανησυχίες σχετικά με τις δυνατότητές του για βιοσυσσώρευση. Μέτρια τοξικό για τον άνθρωπο, τα θηλαστικά, τα πουλιά και τους περισσότερους υδρόβιους οργανισμούς. Ο συντελεστής οκτανόλης-νερού στους 20 °C είναι $\log K_{ow} = 4.36$ [150].

6.3.9. Fenbuconazole

Το Fenbuconazole ($C_{19}H_{17}ClN_4$, μοριακή μάζα 336.82 g/mol) είναι ένα μυκητοκτόνο τριαζόλης που δρα διασυστηματικά παρεμποδίζοντας την παραγωγή στερόλης από μύκητες για να επιβραδύνει ή να αποτρέψει την ανάπτυξη τους. Είναι μη κινητό, μη πτητικό, υψηλής διαλυτότητας μόριο και ανθεκτικό στο νερό και το έδαφος, ενώ είναι αρκετά τοξικό για τα θηλαστικά. Ο συντελεστής οκτανόλης-νερού στους 20 °C είναι $\log K_{ow} = 3.79$ [151], [152].

6.3.10. Iprovalicarb

Το Iprovalicarb ($C_{18}H_{28}N_2O_3$, μοριακή μάζα 320.43 g/mol) είναι ένα διασυστηματικό μυκητοκτόνο της ομάδας των αμιδίων του καρβοξυλικού οξέος. Έχει χαμηλή υδατοδιαλυτότητα, είναι ημιπτητικό και υπάρχει κάποιος κίνδυνος να εκπλυθεί στα υπόγεια ύδατα. Είναι αναστολέας της βιοσύνθεσης των φωσφολιπιδίων και της σύνθεσης του κυτταρικού τοιχώματος. Είναι μη ανθεκτικό στο έδαφος, αλλά μπορεί να παραμείνει στο νερό για μεγάλο χρονικό διάστημα. Είναι μέτρια τοξικό για τα θηλαστικά, αλλά έχει χαμηλό κίνδυνο βιοσυσσώρευσης. Θεωρείται καρκινογόνο. Ο συντελεστής οκτανόλης-νερού στους 20 °C είναι $\log K_{ow} = 3.2$ [153].

6.3.11. Metalaxyl

Το Metalaxyl ($C_{15}H_{21}NO_4$, μοριακή μάζα 279.33 g/mol) είναι εκλεκτικό διασυστηματικό μυκητοκτόνο ακυκλαμινοξέος που δρα καταστέλλοντας τον σχηματισμό σπορίων, την ανάπτυξη των μυκηλίων και της εμφάνισης νέων λοιμώξεων. Διαταράσσει τη σύνθεση νουκλεϊκού οξέος των μυκήτων. Είναι υψηλά διαλυτό και μη πτητικό, είναι ανθεκτικό στο έδαφος και στα ύδατα και μετρίως κινητό. Παρουσιάζει τοξικότητα σε θηλαστικά, πτηνά και υδρόβιους οργανισμούς. Ο συντελεστής οκτανόλης-νερού στους 20 °C είναι $\log K_{ow} = 1.75$ [154].

6.3.12. Myclobutanil

Το Myclobutanil ($C_{15}H_{17}ClN_4$, μοριακή μάζα 288.78 g/mol) είναι ένα ευρέως χρησιμοποιούμενο μυκητοκτόνο. Είναι μια τριαζόλη που δρα ως αναστολέας απομεθυλίωσης στεροειδών, και συγκεκριμένα

αναστέλλει τη βιοσύνθεση της εργοστερόλης. Είναι μέτρια τοξικό εάν καταποθεί. Είναι μέτρια διαλυτό στο νερό και στους οργανικούς διαλύτες και είναι πτητικό. Το Myclobutanil έχει υψηλή δυνατότητα έκπλυσης και είναι μέτρια ανθεκτικό στα εδαφικά συστήματα. Υπό ορισμένες συνθήκες μπορεί -επίσης- να εμμένει σε υδατικά συστήματα. Είναι μέτρια τοξικό για τα πουλιά, τα ψάρια, τα υδρόβια ασπόνδυλα, τα φύκια, τις μέλισσες και τους γαιοσκώληκες. Όταν θερμαίνεται αποσυντίθεται για να παράγει διαβρωτικούς και τοξικούς καπνούς, συμπεριλαμβανομένων μονοξειδίου του άνθρακα, διοξειδίου του άνθρακα, υδροχλωρίου, υδροκυανίου και οξειδίων του αζώτου. Ο συντελεστής οκτανόλης-νερού στους 20 °C είναι $\log K_{ow} = 2.89$ [155].

6.3.13. Pyraclostrobin

Το Pyraclostrobin ($C_{19}H_{18}ClN_5O_4$, μοριακή μάζα 387.82 g/mol) είναι διασυστηματικό μυκητοκτόνο QoI (Quinone Outside Inhibitor) ευρέως φάσματος. Ανήκει στην ομάδα των στρομπιλουρινών. Δρα εμποδίζοντας τη μεταφορά ηλεκτρονίων στη μιτοχονδριακή αναπνευστική αλυσίδα στους μύκητες. Έχει χαμηλή διαλυτότητα στο νερό, είναι μη πτητικό και εμμένει στο έδαφος. Είναι ιδιαίτερα τοξικό σε υδρόβιους οργανισμούς. Ο συντελεστής οκτανόλης-νερού στους 20 °C είναι $\log K_{ow} = 3.99$ [156].

6.3.14. Tebuconazole

Το Tebuconazole ($C_{16}H_{22}ClN_5O$, μοριακή μάζα 307.82 g/mol) είναι ένα μυκητοκτόνο που δρα αναστέλλοντας την απομεθυλίωση. Πιο συγκεκριμένα, επηρεάζει τα κυτταρικά τοιχώματα των μυκήτων καταστέλλοντας τη βλάστηση των σπορίων και την ανάπτυξη των μυκήτων. Παρεμποδίζει -επίσης- την παραγωγή εργοστερόλης με αποτέλεσμα ο σχηματισμός μύκητα επιβραδύνεται και τελικά σταματά. Είναι μη πτητικό και εμμένει σε εδαφικά και υδατικά συστήματα. Είναι ιδιαίτερα τοξικό για τα θηλαστικά και τα πτηνά. Ο συντελεστής οκτανόλης-νερού στους 20 °C είναι $\log K_{ow} = 3.7$. Εγκρίθηκε για χρήση στην Ελλάδα με τον ΕΚ 1107/2009 [157].

6.3.15. Triadimenol

Το Triadimenol ($C_{14}H_{18}ClN_3O_2$, μοριακή μάζα 295.76 g/mol) είναι ένα διασυστηματικό μυκητοκτόνο της ομάδας των τριαζολών με ευρύ φάσμα δράσης. Αναστέλλει τη βιοσύνθεση της εργοστερόλης και της γιββερελλίνης και -συνεπώς- τον ρυθμό κυτταρικής διαίρεσης. Είναι μη πτητικό και εμμένει σε εδαφικά και υδατικά συστήματα. Είναι ιδιαίτερα τοξικό για τα θηλαστικά και τα πτηνά. Ο συντελεστής οκτανόλης-νερού στους 20 °C είναι $\log K_{ow} = 3.18$. Εγκρίθηκε για χρήση στην Ελλάδα με τον ΕΚ 1107/2009 [158].

6.3.16. Trifloxystrobin

Το Trifloxystrobin ($C_{20}H_{19}FN_2O_4$, μοριακή μάζα 307.82 g/mol) είναι ένα διασυστηματικό μυκητοκτόνο QoI (Quinone Outside Inhibitor) ευρέως φάσματος. Δρα εμποδίζοντας τη μεταφορά ηλεκτρονίων στη μιτοχονδριακή αναπνευστική αλυσίδα στους μύκητες. Έχει χαμηλή υδατική διαλυτότητα, χαμηλή πτητικότητα και, με βάση τις χημικές του ιδιότητες, δεν αναμένεται να εκπλυθεί στα υπόγεια ύδατα

ούτε να εμμένει σε εδάφη ή υδατικά συστήματα. Έχει χαμηλή τοξικότητα για τα θηλαστικά, αλλά υπάρχουν κάποιες ενδείξεις ότι μπορεί να προκαλέσει αρνητικές επιπτώσεις στην αναπαραγωγή ή στη γονιμότητα. Είναι πολύ τοξικό για τα πουλιά, τα ψάρια και τα υδρόβια ασπόνδυλα. Ο συντελεστής οκτανόλης-νερού στους 20 °C είναι $\log K_{ow} = 4.5$ [159].

ΣΚΟΠΟΣ

Σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας είναι η διερεύνηση των ελληνικών κρασιών για πιθανές υπολειμματικές συγκεντρώσεις φυτοπροστατευτικών ενώσεων κάνοντας χρήση της βελτιστοποιημένης μεθοδολογίας QuEChERS που ανέπτυξαν οι Kosma et al. [1]. Στο πλαίσιο της έρευνας λήφθηκαν δείγματα τόσο από βιολογικές όσο και από συμβατικές καλλιέργειες από την ηπειρωτική και νησιωτική Ελλάδα και ελέγχθηκαν για 37 διαφορετικές ουσίες (εντομοκτόνα, μυκητοκτόνα και ζιζανιοκτόνα). Τα αποτελέσματα της ανάλυσης συγκρίθηκαν με τα -θεσμοθετημένα από την Ευρωπαϊκή Νομοθεσία- Ανώτατα Όρια Καταλοίπων (Maximum Residue Levels, MRLs) και αξιολογήθηκαν με βάση την γεωγραφική τους προέλευση, την ποικιλία της αμπέλου και τη χρονολογία παραγωγής.

7. Πειραματικό μέρος: Προσδιορισμός παρασιτοκτόνων σε λευκό και κόκκινο κρασί

7.1. Πρότυπες ουσίες - διαλύτες - αντιδραστήρια - υλικά - όργανα - συσκευές

7.1.1. Πρότυπες ενώσεις παρασιτοκτόνων

Η μορφή των μελετώμενων στην παρούσα εργασία φυτοπροστατευτικών ουσιών που περιγράφονται αναλυτικά στο Κεφάλαιο 6 ήταν στερεή με καθαρότητα > 99% από την εταιρία Sigma - Aldrich (Steinheim, Germany). Διαλύτης μεθανόλης (υψηλής καθαρότητας) Pestiscan χρησιμοποιήθηκε για την παρασκευή πυκνών διαλυμάτων αναφοράς (stock solutions) σε συγκεντρώσεις 800-2000 ppm. Τα παρασκευασμένα διαλύματα διατηρήθηκαν στους -20 °C σε γυάλινες ογκομετρικές φιάλες των 10 ml. Με κατάλληλες αραιώσεις των πυκνών προτύπων σε διαλύτη μεθανόλη παρασκευάστηκαν πρότυπα διαλύματα μείγματος παρασιτοκτόνων.

7.1.2. Διαλύτες

Οι διαλύτες που χρησιμοποιήθηκαν παρατίθενται στη συνέχεια:

- i. Μεθανόλη και ακετόνη υψηλής καθαρότητας, του οίκου Pestiscan (Labscan, Ltd., Dublin, Ireland).
- ii. Ακετονιτρίλιο, μεθανόλη και νερό LC-MS-grade, του οίκου Fisher Scientific (Leicestershire, UK).

7.1.3. Αντιδραστήρια

Τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν έχουν ως ακολούθως:

- i. Άνυδρο θειικό μαγνήσιο, (καθαρότητας 99,5 % σκόνη), του οίκου Merck (Darmstadt, Germany).
- ii. Οξικό νάτριο, άνυδρο (καθαρότητας 99 %), του οίκου Riedel-de Haën (Hannover, Germany).
- iii. Μυρμηγκικό οξύ (καθαρότητας 98-100 %), του οίκου Merck KGaA (Darmstadt, Germany).
- iv. Πρωτοταγής - δευτεροταγής αμίνη (PSA; 40 μm) (PSA) του οίκου Agilent Technologies (Waldbronn, Germany).

7.1.4. Υλικά

Τα υλικά που χρησιμοποιήθηκαν για την πειραματική διαδικασία είναι τα εξής:

- Φιαλίδια 61x16.6 mm, clear glass, του οίκου Lab Logistics Group GmbH-Meckenheim.
- Φιαλίδια 32x11.6 mm, clear glass, του οίκου Target Analysis A.E Kinesis.
- Πλαστικοί σωλήνες φυγόκεντρου 50 ml, 28 mm, του οίκου Millipore (Cork, Ireland)
- Πλαστικοί σωλήνες φυγόκεντρου 15 ml, 17 mm, του οίκου Millipore (Cork, Ireland)
- Μικρές σύριγγες 1 mL, του οίκου Softcare laboratory series
- Φίλτρα 13 mm 0,45 μm PTFE Luer, του οίκου Target analysis s.a.

7.1.5. Όργανα – συσκευές

Τα όργανα και οι συσκευές που χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό των επιλεγμένων φαρμακευτικών ουσιών είναι τα ακόλουθα:

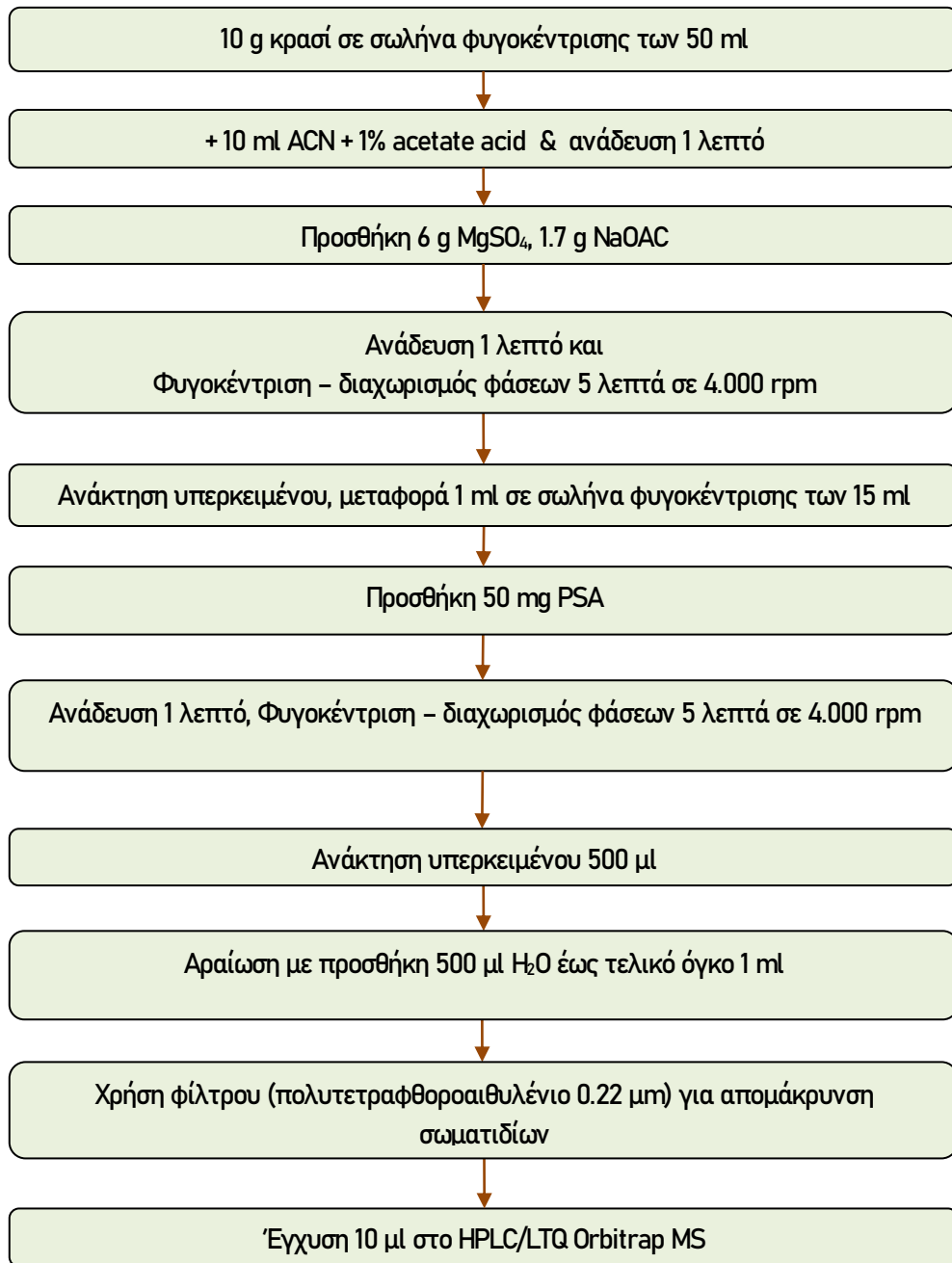
- i. Σύστημα υγρής χρωματογραφίας υπερυψηλής πίεσης συζευγμένο με φασματομετρία μάζας υψηλής διακριτικής ικανότητας και ακρίβειας UHPLC/LTQ-ORBITRAP XL της Thermo Fischer Scientific (Bremen, Germany).
- ii. Αναλυτικός ζυγός ακρίβειας 4 δεκαδικών ψηφίων (Denver Instrument Company, AA- 160, Göttingen, Germany).
- iii. Συσκευή απόσταξης νερού.
- iv. Αναδευτήρας vortex
- v. Στήλη χρωματογραφίας C₁₈ (Restek), 150 x 4.6 mm με 5 μm μέγεθος σωματιδίων (Restek, USA).
- vi. Στήλη χρωματογραφίας Thermo hypersil gold, 150 x 2.1 mm με 5 μm μέγεθος σωματιδίων (Bremen, Germany).

7.2. Πρωτόκολλο εκχύλισης δειγμάτων οίνου με την βελτιστοποιημένη μέθοδο QuEChERS

Το πρωτόκολλο εκχύλισης βασίστηκε στην βελτιστοποιημένη προτεινόμενη μέθοδο των Kosma et al. [1] και περιγράφεται στη συνέχεια:

Αρχικά, σε σωλήνα φυγοκέντρησης των 50 mL προστίθενται 10 g οίνου, στη συνέχεια προστίθεται και ο διαλύτης, ήτοι 10 mL ACN+0,1% οξικό οξύ και ακολουθεί ανακίνηση σε συσκευή vortex για 1 min. Έπειτα, προστίθενται τα άλατα εκχύλισης, δηλαδή 6 g MgSO₄ και 1,7 g NaOAC και ανακινούνται εκ νέου για 30 sec με το χέρι με έντονο ρυθμό και για 1 min στη συσκευή vortex. Κατόπιν, πραγματοποιείται φυγοκέντρηση για 5 λεπτά σε 4000 rpm για τον διαχωρισμό των φάσεων και επομένως, την παραλαβή της υπερκείμενης φάσης (1 mL) και τη μεταφορά της σε σωλήνα φυγοκέντρησης των 15 mL που περιέχει τα άλατα/προσοφνητικά για τον καθαρισμό, ήτοι 50 mg PSA. Ακολουθεί ανακίνηση στη συσκευή vortex για 1 min και φυγοκέντρηση για 5 λεπτά σε 4000 rpm για τον διαχωρισμό των φάσεων και - στη συνέχεια- παραλαβή του υπερκείμενου. Το εκχύλισμα διηθείται με χρήση φίλτρου σύριγγας (πολυτετραφθοροαιθυλένιο 0.22 μm) για την απομάκρυνση τυχόν σωματιδίων. Τέλος, σε γυάλινο φυαλίδιο αυτόματου δειγματολήπτη προστίθεται 0,5 mL φιλτραρισμένου δείγματος και 0,5 mL υπερκάθαρου νερού (τελικός όγκος 1 mL) με σκοπό την αραιώση του πριν την έγχυση του στο LC-Orbitrap MS.

Το πρωτόκολλο εκχύλισης είναι όμοιο για τους λευκούς και τους ροζέ/ερυθρούς οίνους.



Σχήμα 7-1. Τελικό πρωτόκολλο εκχύλισης δειγμάτων οίνου με την βελτιστοποιημένη μέθοδο QuEChERS

7.3. Σύστημα υγρής χρωματογραφίας υπερυψηλής πίεσης UHPLC (LTQ) Orbitrap

Για την ανάλυση των δειγμάτων έγινε χρήση συστήματος υγρής χρωματογραφίας υπερυψηλής πίεσης UHPLC με γραμμική παγίδα ιόντων (LTQ) και αναλυτή τροχιακής παγίδας Orbitrap της εταιρίας Thermo Fischer Scientific (Bremen, Germany). Το σύστημα υγρής χρωματογραφίας περιλαμβάνει αντλία (Accela Pump Ser. No 750157) και θερμοστατούμενο σύστημα αυτόματου δειγματολήπτη (Accela AS). Η αντλία παραγωγής αζώτου είναι της εταιρίας Brezza-Claind (NiGen

LCMS 40-1). Για τη χρωματογραφική ανάλυση χρησιμοποιήθηκε στήλη hypersil Gold, 100 x 2.1 mm, 1.9 μm (Thermo). Οι παράμετροι της χρωματογραφικής ανάλυσης παρουσιάζονται στον πίνακα που ακολουθεί.

Πίνακας 7-1. Παράμετροι χρωματογραφικής ανάλυσης

Παράμετρος	Τιμές
Πλήρης σάρωση (Full scan)	Εύρος μαζών 120-1000 Da
Δυναμικό εκνέφωσης (Spray voltage)	3.7 kV
Διακριτική ικανότητα (Resolution)	60.000 FWHM
Ροή αερίου (sheath gas)	40 au
Ροή βοηθητικού αερίου αποδιαλύτωσης (auxiliary gas flow)	15 au
Θερμοκρασία τριχοειδούς σωλήνα μεταφοράς ιόντων (capillary temperature)	320 °C
Ταχύτητα ροής κινητής φάσης	250 μl min ⁻¹
Δυναμικό πρόσκρουσης (collision energy)	45 Ev
Σχετικό σφάλμα μάζας m/z (mass tolerance)	< 5 ppm
Λογισμικό επεξεργασίας δεδομένων	Thermo Xcalibur 2.1

Η ανίχνευση των αναλυτών πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο του θετικού ιοντισμού και καταγραφή των ψευδο-μοριακών ιόντων $[M + H]^+$ λαμβάνοντας υπόψη την υπολογιζόμενη ακριβή μάζα, με σφάλμα μάζας < 5 ppm καθώς και το χρόνο κατακράτησης (ανοχή $\pm 0,1$ min). Για περαιτέρω επιβεβαίωση επιτεύχθηκε η καταγραφή των χαρακτηριστικών θυγατρικών ιόντων θραυσματοποίησης των ψευδομοριακών ιοντών με ακρίβεια μάζας τεσσάρων δεκαδικών και σχετικό σφάλμα μάζας <5 ppm (Πίνακας 7-3). Για το διαχωρισμό των ουσιών στον θετικό ιοντισμό χρησιμοποιήθηκε σύστημα βαθμωτής έκλυσης (gradient elution) με μίγμα διαλυτών Α (νερό LC-MS με 0,1 % φορμικό οξύ) και Β (μεθανόλη LC-MS με 0,1 % φορμικό οξύ) με ταχύτητα ροής 0,45 mL/min (Πίνακας 7-2). Ο όγκος έγχυσης του δείγματος είναι 10 μL και η θερμοκρασία του φούρνου ανέρχεται σε 35 °C.

Πίνακας 7-2. Πρόγραμμα βαθμωτής έκλυσης για τον θετικό ιοντισμό στο σύστημα UHPLC/LTQ-ORBITRAP

Χρόνος(min)	Διαλύτες έκλυσης (ΘΙ)	
	Νερό LC-MS +0,1% φορμικό οξύ	Μεθανόλη LC-MS +0,1% φορμικό οξύ
0	70	30
1	70	30
2	30	70
5	0	100
7	0	100
7.1	70	30
10	70	30

7.4. Ποιοτικός και ποσοτικός προσδιορισμός

Ο ποιοτικός και ποσοτικός προσδιορισμός των παρασιτοκτόνων στα δείγματα κρασιού πραγματοποιήθηκε ακόλουθα με τις διαδικασίες ποιοτικού ελέγχου (quality control) που ορίζει η νομοθεσία της Ευρωπαϊκής Ένωσης στην Κοινοτική Απόφαση SANTE/11813/2017 [160], SANTE/12682/2019 [161] και SANTE/11312/2021 [162]. Έτσι, ο ποιοτικός και ποσοτικός προσδιορισμός των ουσιών που πραγματοποιήθηκε λαμβάνοντας υπόψη:

- το χρόνο κατακράτησης (RT) των πρότυπων ουσιών σε σχέση με το χρόνο κατακράτησης των ουσιών που προσδιορίστηκαν στο εκάστοτε δείγμα ($\pm 2,5\%$).
- την ακριβή μάζα των ψευδο-μοριακών ιόντων σε σχέση με την πρότυπη ουσία (με ακρίβεια τεσσάρων δεκαδικών και σχετικό σφάλμα μάζας $< 5\text{ppm}$).
- την ακριβή μάζα των θυγατρικών ιόντων MS^2 σε σχέση με αυτά της πρότυπης ουσίας (με ακρίβεια τεσσάρων δεκαδικών και σχετικό σφάλμα μάζας $< 5\text{ppm}$).

Ο ποιοτικός και ποσοτικός προσδιορισμός των ουσιών πραγματοποιήθηκε με τη χρήση καμπυλών βαθμονόμησης. Για την ποσοτικοποίηση των φυτοπροστατευτικών ουσιών στα δείγματα που αυτές εντοπίστηκαν, κατασκευάστηκαν καμπύλες βαθμονόμησης με συγκεντρώσεις 1, 2,5, 5, 10, 25, 50, 100, 250 και 500 $\mu\text{g}/\text{kg}$ μίγματος παρασιτοκτόνων. Για την παρασκευή των καμπυλών έγινε χρήση βιολογικού δείγματος λευκού και κόκκινου οίνου, παρασκευασμένο σε 50:50 (v/v) (ACN:H₂O), προκειμένου να διασφαλιστεί ότι η μήτρα είναι απαλλαγμένη από τους αναλύτες στόχους.

Πίνακας 7-3. Χρόνοι κατακράτησης (t_R), θεωρητικές και πειραματικές μάζες, σχετικό σφάλμα μαζών (Mass Accuracy) και αριθμός ισοδυνάμων διπλών δεσμών και δακτυλίων (Ring Double Bond equivalents, RDBE) των ψευδο-μοριακών ιόντων, θυγατρικών ιόντων (Fragmentation ions)

Παρασιτοκτόνα	Χρήση*	t_R (min)	Μοριακός τύπος $[M+H]^+$	Θεωρητική μάζα (m/z)	Πειραματική μάζα (m/z)	Σχετικό σφάλμα μαζών(Δppm)	RDBE	Θυγατρικά ιόντα 45 % NCE**
Acetamiprid	In	3.53	$C_{10}H_{12}ClN_4$	223.0745	223.0743	-0.9	6.5	126.0102/ 187.0972/ 196.0627
Azinphos-methyl	In	4.77	$C_{10}H_{13}N_3O_3PS_2$	318.0130	318.0135	1.429	6.5	261.1306
Azoxystrobin	Fu	4.78	$C_{22}H_{18}N_3O_5$	404.1240	404.1245	0.997	15.5	372.0974
Benalaxyl	Fu	5.67	$C_{20}H_{24}NO_3$	326.1751	326.1751	0.092	9.5	148.1119/ 208.1331
Boscalid	Fu	4.97	$C_{18}H_{13}Cl_2N_2O$	343.0399	343.0401	0.452	12.5	307.0626/ 139.9898
Bupirimate	Fu	4.97	$C_{13}H_{25}N_4O_3S$	317.1642	317.1644	0.669	3.5	166.0973/ 237.2070
Carbendazim	Fu	1.70	$C_9H_{10}N_6O_2$	192.0767	192.0768	0.244	6.5	160.0505/ 132.0556
Chlorpyrifos	In	6.60	$C_9H_2Cl_3NO_3PS$	349.9336	349.9335	-0.172	3.5	197.9273/ 321.9016
Chlorpyrifos-methyl	In	6.02	$C_7H_8Cl_3NO_3PS$	321.9023	321.9025	0.746	3.5	124.9821
Clofentezine	In	5.83	$C_{14}H_9Cl_2N_4$	303.0199	303.0198	-0.258	11.5	138.0103
Coumaphos	In	5.62	$C_{14}H_{17}ClO_5PS$	363.0217	363.0216	-0.372	6.5	307.0485
Cymoxanil	Fu	3.69	$C_7H_{11}N_4O_3$	199.0826	199.0827	0.669	4.5	128.0462
Cyprodinil	Fu	5.11	$C_{14}H_{16}N_3$	226.1339	226.1342	1.441	8.5	210.1024/ 185.1074/ 144.0806/ 133.0757/ 108.0802
Diazinon	In	5.68	$C_{12}H_{22}N_2O_3PS$	305.1083	305.1085	0.569	3.5	169.0789/ 153.1021
Dichlorvos	In	4.26	$C_4H_8Cl_2O_4P$	220.9532	220.9533	0.556	0.5	144.9813/ 127.0151/ 109.0045

Παρασιτοκτόνα	Χρήση*	t _R (min)	Μοριακός τύπος [M+H] ⁺	Θεωρητική μάζα (m/z)	Πειραματική μάζα (m/z)	Σχετικό σφάλμα μαζών(Δppm)	RDBE	Θυγατρικά ιόντα 45 % NCE**
Difenoconazole	Fu	6.00	C ₁₉ H ₁₈ Cl ₂ N ₃ O ₃	406.0720	406.0719	-0.181	11.5	251.0019/ 291.0325
Dimethoate	In	3.53	C ₅ H ₁₃ NO ₃ PS ₂	230.0069	230.0067	-0.859	0.5	170.9697
Ethion	In	6.46	C ₉ H ₂₃ O ₄ P ₂ S ₄	384.9949	384.9949	0.022	-0.5	97.8836
Fenbuconazole	Fu	5.36	C ₁₉ H ₁₈ ClN ₄	337.1215	337.1216	0.442	12.5	194.0476/ 125.0149
Fenthion	In	5.65	C ₁₀ H ₁₆ O ₃ PS ₂	279.0273	279.0275	0.721	3.5	231.0232/ 149.0231
Fenthion sulfoxide	In	4.32	C ₁₀ H ₁₆ O ₄ PS ₂	295.0222	295.0223	0.294	3.5	264.0033/ 201.0400/ 279.9983
Fluazifop-p-butyl	He	6.22	C ₁₉ H ₂₁ F ₃ NO ₄	384.1417	384.1418	0.21	8.5	282.0734/ 328.0788
Imidacloprid	In	3.08	C ₉ H ₁₁ ClN ₅ O ₂	256.0595	256.0596	0.083	6.5	175.0976/ 209.0587
Iprovalicarb	Fu	5.20	C ₁₈ H ₂₉ N ₂ O ₃	321.2172	321.2174	0.407	5.5	119.0851
Metalaxyl	Fu	4.60	C ₁₅ H ₂₂ NO ₄	280.1543	280.1544	0.233	5.5	248.1281/ 220.1332
Methoxyfenozide	In	5.05	C ₂₂ H ₂₉ N ₂ O ₃	369.2172	369.2172	-0.188	9.5	313.1545
Myclobutanil	Fu	5.15	C ₁₅ H ₁₈ ClN ₄	289.1215	289.1217	0.862	8.5	220.0882/ 125.0148
Phosalone	In	5.80	C ₁₂ H ₁₆ ClNO ₄ PS ₂	367.9941	367.9939	-0.652	5.5	182.0003
Pyraclostrobin	Fu	5.68	C ₁₉ H ₁₉ ClN ₃ O ₄	388.1058	388.1056	-0.671	11.5	163.0836
Pyriproxyfen	In	6.43	C ₂₀ H ₂₀ NO ₃	322.1438	322.1441	1.024	11.5	227.1064/ 96.0439
Quizalop-p-ethyl	He	6.22	C ₁₉ H ₁₇ ClN ₂ O ₄	373.0949	373.0954	1.176	11.5	299.0582
Rimsulfuron	He	4.33	C ₁₄ H ₁₈ N ₅ O ₇ S ₂	432.0642	432.0643	0.195	8.5	182.0560/ 325.0962

Παρασιτοκτόνα	Χρήση*	t _R (min)	Μοριακός τύπος [M+H] ⁺	Θεωρητική μάζα (m/z)	Πειραματική μάζα (m/z)	Σχετικό σφάλμα μαζών(Δppm)	RDBE	Θυγατρικά ιόντα 45 % NCE**
Tebuconazole	Fu	5.64	C ₁₆ H ₂₃ ClN ₃ O	308.1524	308.1523	-0.378	6.5	151.0306/ 290.1402
Terbufos	In	6.37	C ₉ H ₂₂ O ₂ PS ₃	289.0514	289.0516	0.674	-0.5	232.9881
Thiacloprid	In	3.78	C ₁₀ H ₁₀ ClN ₄ S	253.0309	253.0309	-0.084	7.5	126.0102
Thiamethoxam	In	2.17	C ₈ H ₁₁ ClN ₅ O ₃ S	292.0266	292.0265	-0.22	5.5	180.9578/ 139.0325
Triadimenol	Fu	5.23	C ₁₄ H ₁₉ ClN ₃ O ₂	296.1160	296.1162	0.57	6.5	227.0836
Trifloxystrobin	Fu	6.00	C ₂₀ H ₂₀ F ₃ N ₂ O ₄	409.1369	409.1368	-0.411	10.5	186.0524/ 206.0810

*In - εντομοκτόνο *He - ζιζανιοκτόνο *Fu - μηκυτοκτόνο

** NCE (Normalized Collision Energy) - ενέργεια σύγκρουσης

Πίνακας 7-4. Παράμετροι επικύρωσης μεθόδου: Γραμμικότητα (Linearity (R^2)), Όρια ανίχνευσης (LODs), όρια ποσοτικοποίησης (LOQs), μέσες ανακτήσεις (REC) (%) και σχετικές τυπικές αποκλίσεις (RSD) (%) τριών διαφορετικών επιπέδων ($n = 6$) που μελετήθηκαν για την ίδια ημέρα και σε διαφορετικές ημέρες, καθώς και μέγιστα επίπεδα υπολειμμάτων (MRL), για υπολείμματα παρασιτοκτόνων σε λευκό οίνο [1]

Παρασιτοκτόνο	Γραμμικότητα (R^2)	LOD ($\mu\text{g}/\text{Kg}$)	LOQ ($\mu\text{g}/\text{Kg}$)	MRL (mg/Kg)	Ανακτήσεις και σχετικές τυπικές αποκλίσεις ($n = 6$)											
					Ενδο-ημερήσια						Δια-ημερήσια					
					10 $\mu\text{g}/\text{Kg}$		100 $\mu\text{g}/\text{Kg}$		500 $\mu\text{g}/\text{Kg}$		10 $\mu\text{g}/\text{Kg}$		100 $\mu\text{g}/\text{Kg}$		500 $\mu\text{g}/\text{Kg}$	
					Rec %	RSDr %	Rec %	RSDr %	Rec %	RSDr %	Rec %	RSDr %	Rec %	RSDr %	Rec %	RSDr %
Acetamiprid	0.9985	15.0	50.0	0.5			95.0	5.5	96.5	3.0			98.0	3.3	81.0	3.6
Azoxystrobin	0.9922	6.1	20.0	0.05			92.0	6.1	96.0	4.5			106.0	3.3	97.0	3.7
Benalaxyl	0.9980	0.8	2.5	3.0	114.0	3.8	102.0	4.5	111.0	2.7	109.0	3.2	101.0	2.1	93.0	3.0
Azinphos-methyl	0.9995	0.9	3.0	0.3	112.0	7.5	100.0	7.3	111.2	3.8	114.4	2.0	98.0	3.2	88.0	3.4
Boscalid	0.9994	2.7	9.0	5.0	120.0	3.7	92.0	7.7	107.0	2.5	103.6	3.2	97.0	5.0	90.0	5.1
Bupirimate	0.9951	1.5	5.0	1.5	118.4	4.6	104.0	4.5	118.0	4.2	117.4	2.8	97.0	4.5	112.0	4.5
Carbendazim	0.9978	21.5	72.0	0.5			78.5	6.8	106.2	3.5			74.5	5.8	91.5	2.3
Chlorpyrifos	0.9968	2.7	9.0	0.01	109.2	4.3	89.0	4.7	104.0	2.7	117.4	2.3	85.0	4.8	77.0	4.6
Chlorpyrifos-methyl	0.9966	7.5	25.0	0.01			102.0	2.6	104.0	2.9			87.0	4.2	85.0	2.8
Clofentezine	0.9954	19.0	63.0	1.0			111.0	7.7	92.0	7.5			99.0	5.6	109.0	4.9
Coumaphos	0.9996	1.5	5.0	0.1	122.0	1.9	98.0	6.0	116.0	4.4	112.4	4.7	87.0	4.5	83.0	3.3
Cymoxanil	0.9969	15.0	50.0	0.3			102.0	6.5	106.0	5.3			119.6	2.9	83.0	2.8
Cyprodinil	0.9923	1.5	5.0	3.0	120.0	2.2	114.0	6.9	121.0	0.9	89.4	6.4	102.5	2.4	99.8	3.5
Diazinon	0.9924	1.5	5.0	0.01	121.0	1.7	120.0	3.1	119.0	1.3	115.8	7.2	104.0	4.0	110.0	4.4
Dichlorvos	0.9996	1.5	5.0	0.01	114.0	4.3	107.0	1.3	104.0	2.3	103.8	2.8	93.0	2.5	84.0	2.3
Difenoconazole	0.9984	1.5	5.0	3.0	121.0	1.1	107.0	3.7	106.0	2.6	107.8	2.3	106.0	4.5	96.0	5.1
Dimethoate	0.9989	2.7	9.0	0.01	117.6	4.8	102.0	3.5	106.0	2.2	108.0	8.0	115.0	3.4	89.5	5.7
Ethion	0.9974	1.5	5.0	0.01	121.0	2.8	102.0	7.4	110.0	2.6	111.0	2.6	104.0	3.0	101.0	2.9
Fenbuconazole	0.9997	1.5	5.0	1.0	119.0	2.9	98.0	3.7	106.0	3.6	116.0	3.8	92.0	3.0	86.0	4.1
Fenthion	0.9923	2.5	8.0	0.01	100.0	7.0	112.0	3.8	119.0	1.1	109.0	4.3	107.0	2.4	100.0	4.2

Παρασιτοκτόνο	Γραμμικότητα (R ²)	LOD (μg/Kg)	LOQ (μg/Kg)	MRL (mg/Kg)	Ανακτήσεις και σχετικές τυπικές αποκλίσεις (n = 6)											
					Ενδο-ημερήσια						Δια-ημερήσια					
					10 μg/Kg		100 μg/Kg		500 μg/Kg		10 μg/Kg		100 μg/Kg		500 μg/Kg	
					Rec %	RSDr %	Rec %	RSDr %	Rec %	RSDr %	Rec %	RSDr %	Rec %	RSDr %	Rec %	RSDr %
Fenthion sulfoxide	0.9998	1.5	5.0	0.01	106.0	6.5	96.0	4.7	99.0	3.3	103.0	2.8	81.0	1.7	76.0	3.6
Fluazifop-p-butyl	0.9968	0.7	2.5	0.01	71.2	1.6	120.0	1.8	119.0	1.1	93.6	4.0	89.5	5.7	119.0	3.0
Imidacloprid	0.9964	15.3	51.0	1.0			87.2	3.2	96.0	2.7			81.6	4.5	80.0	2.3
Iprovalicarb	0.9996	1.5	5.0	2.0	108.0	7.3	100.0	4.8	108.0	3.6	115.0	1.6	89.0	4.8	85.0	3.7
Metalaxyl	0.9985	1.5	5.0	1.0	118.0	4.5	106.0	3.4	108.0	3.5	89.0	6.7	95.0	3.6	87.0	4.2
Methoxyfenozide	0.9921	2.5	8.0	1.0	115.6	5.9	119.0	1.2	118.0	3.5	104.0	2.8	107.0	3.0	101.0	5.1
Myclobutanil	0.9994	3.0	10.0	1.0			95.0	5.8	110.0	2.8	115.6		92.5	2.3	89.0	3.5
Phosalone	0.9992	2.5	8.0	0.01	107.0	5.1	107.0	6.3	121.0	1.2	88.8	7.1	106.0	2.1	105.0	2.6
Pyraclostrobin	0.9992	1.5	5.0	2.0	118.0	6.3	104.0	7.0	107.0	4.0	114.2	2.7	103.0	5.3	89.0	5.3
Pyriproxyfen	0.9985	0.9	3.0	0.05	120.4	2.5	93.0	4.5	88.0	2.7	108.2	6.7	95.0	7.4	93.0	3.1
Quizalop-p-ethyl	0.9929	2.5	8.0	0.02	125.0	3.1	108.0	5.2	108.0	4.5	116.6	2.6	93.0	5.9	88.0	4.1
Rimsulfuron	0.9932	4.5	15.0	0.01			72.0	3.4	103.0	4.5			102.0	2.0	74.0	3.8
Tebuconazole	0.9966	1.2	4.0	1.0	117.0	7.3	105.0	3.3	105.0	4.0	91.4	3.7	89.0	3.8	88.0	5.2
Terbufos	0.9993	2.7	9.0	0.01	110.0	2.6	77.0	5.8	94.0	4.0	108.0	6.3	87.0	4.9	81.5	4.0
Thiacloprid	0.9990	2.7	9.0	0.01	119.0	2.7	94.0	6.0	106.0	3.0	120.0	3.6	91.0	2.9	84.0	2.8
Thiamethoxam	0.9957	14.3	48.0	0.4			114.4	2.3	94.0	4.9			119.0	1.1	87.5	3.1
Triadimenol	0.9943	1.2	4.0	0.3	91.0	7.8	113.0	6.1	110.0	2.8	115.0	2.3	114.8	3.4	108.0	7.0
Trifloxystrobin	0.9964	1.5	5.0	3.0	117.6	5.2	113.0	1.3	92.0	4.1	107.6	1.4	94.0	6.0	86.0	4.6

Πίνακας 7-5. Παράμετροι επικύρωσης μεθόδου: Γραμμικότητα [Linearity (R^2)], Όρια ανίχνευσης (LODs), όρια ποσοτικοποίησης (LOQs), μέσες ανακτήσεις (REC) (%) και σχετικές τυπικές αποκλίσεις (RSD) (%) τριών διαφορετικών επιπέδων ($n = 6$) που μελετήθηκαν για την ίδια ημέρα και σε διαφορετικές ημέρες, καθώς και μέγιστα επίπεδα υπολειμμάτων (MRL), για υπολείμματα παρασιτοκτόνων σε κόκκινο οίνο [1]

Παρασιτοκτόνο	Γραμμικότητα (R^2)	LOD ($\mu\text{g}/\text{Kg}$)	LOQ ($\mu\text{g}/\text{Kg}$)	MRL (mg/ Kg)	Ανακτήσεις και σχετικές τυπικές αποκλίσεις ($n = 6$)											
					Ενδο-ημερήσια						Δια-ημερήσια					
					10 $\mu\text{g}/\text{Kg}$		100 $\mu\text{g}/\text{Kg}$		500 $\mu\text{g}/\text{Kg}$		10 $\mu\text{g}/\text{Kg}$		100 $\mu\text{g}/\text{Kg}$		500 $\mu\text{g}/\text{Kg}$	
					Rec %	RSDr %	Rec %	RSDr %	Rec %	RSDr %	Rec %	RSDr %	Rec %	RSDr %	Rec %	RSDr %
Acetamiprid	0.9980	15.2	50.0	0.5			103.0	7.1	81.0	4.2			97.5	2.1	88.0	7.8
Azoxystrobin	0.9930	5.5	18.0	0.05			103.0	7.7	103.0	3.8			95.0	2.7	106.0	9.3
Benalaxyl	0.9980	1.5	5.0	3.0	107.0	8.8	110.0	4.7	90.0	7.0	119.6	1.1	101.0	3.8	93.0	6.1
Azinphos-methyl	0.9995	1.2	4.0	0.3	96.4	9.9	118.0	4.2	92.0	5.6	118.6	2.1	105.5	3.3	97.0	8.8
Boscalid	0.9994	2.5	8.3	5.0	115.0	6.8	113.4	3.8	90.0	6.0	120.6	1.4	104.5	4.2	98.0	6.0
Bupirimate	0.9951	1.5	5.0	1.5	113.0	7.7	114.0	5.0	102.0	7.1	120.0	1.8	113.5	2.5	100.0	5.0
Carbendazim	0.9978	22.0	73.0	0.5			74.7	5.2	85.0	3.2			71.6	6.3	100.0	5.1
Chlorpyrifos	0.9968	1.5	5.0	0.01	118.5	2.0	112.0	4.4	88.0	2.4	118.4	2.6	88.0	4.7	82.0	4.0
Chlorpyrifos-methyl	0.9966	7.6	25.0	0.01			101.0	4.1	88.0	7.9			98.2	4.2	95.0	4.5
Clofentezine	0.9955	19.5	65.0	1.0			117.0	4.7	120.5	2.8			117.8	3.6	113.0	4.1
Coumaphos	0.9996	0.9	3.0	0.1	118.6	1.9	114.0	3.6	97.0	5.5	115.6	2.1	91.0	6.6	88.0	6.9
Cymoxanil	0.9958	15.2	50.0	0.3			120.2	1.2	89.0	5.2			119.2	1.7	81.0	4.8
Cyprodinil	0.9923	1.5	5.0	3.0	100.8	7.4	116.0	4.6	98.0	5.7	119.2	1.1	107.0	3.4	102.0	7.7
Diazinon	0.9924	1.5	5.0	0.01	117.4	3.6	118.5	1.5	119.5	1.2	105.6	5.2	115.0	4.4	113.0	4.0
Dichlorvos	0.9995	1.2	4.0	0.01	95.0	7.5	108.0	5.9	103.0	4.1	98.4	10.8	107.5	1.8	95.0	2.5
Difenoconazole	0.9984	1.5	5.0	3.0	119.0	1.5	115.4	5.3	103.0	9.3	112.8	2.7	112.5	6.0	99.0	3.2
Dimethoate	0.9990	2.2	7.2	0.01	119.5	7.6	108.0	8.2	99.0	6.5	100.0	6.0	105.0	3.0	95.0	4.4
Ethion	0.9974	0.4	1.4	0.01	118.4	2.0	118.5	2.1	114.0	4.7	105.2	6.0	112.0	6.7	103.0	2.2
Fenbuconazole	0.9997	1.5	5.0	1.0	104.8	5.7	110.0	4.6	89.0	5.8	112.8	7.2	103.0	6.4	94.0	5.9
Fenthion	0.9923	2.4	8.0	0.01	112.4	9.5	120.0	1.7	109.0	5.6	113.6	6.0	104.0	6.3	102.0	2.9

Παρασιτοκτόνο	Γραμμικότητα (R ²)	LOD (μg/Kg)	LOQ (μg/Kg)	MRL (mg/Kg)	Ανακτήσεις και σχετικές τυπικές αποκλίσεις (n = 6)											
					Ενδο-ημερήσια						Δια-ημερήσια					
					10 μg/Kg		100 μg/Kg		500 μg/Kg		10 μg/Kg		100 μg/Kg		500 μg/Kg	
					Rec %	RSDr %	Rec %	RSDr %	Rec %	RSDr %	Rec %	RSDr %	Rec %	RSDr %	Rec %	RSDr %
Fenthion sulfoxide	0.9998	1.2	4.0	0.01	103.8	8.4	99.0	4.9	79.0	3.5	110.0	4.5	83.5	3.2	80.0	4.5
Fluazifop-p-butyl	0.9969	1.5	5.0	0.01	114.2	5.9	120.2	1.3	119.0	4.2	121.0	1.9	119.6	1.8	119.2	2.2
Imidacloprid	0.9964	15.5	52.0	1.0			73.3	5.7	83.0	3.0			71.4	4.3	91.0	4.6
Iprovalicarb	0.9997	2.1	7.0	2.0	107.2	6.3	109.0	4.7	91.0	4.4	116.2	3.1	99.0	4.9	93.0	3.8
Metalaxyl	0.9990	1.5	5.0	1.0	101.8	9.2	109.0	3.8	92.5	4.9	118.4	3.8	102.0	3.3	92.0	7.1
Methoxyfenozide	0.9921	2.7	9.0	1.0	114.2	7.9	121.0	5.3	110.0	10.1	116.8	3.1	113.0	2.7	97.0	2.5
Myclobutanil	0.9994	3.0	10.0	1.0			110.0	5.1	97.0	4.0	118.2		100.0	3.7	93.0	6.7
Phosalone	0.9992	2.7	9.0	0.01	89.8	8.1	116.0	3.9	117.0	5.7	120.4	1.2	120.0	3.1	116.0	5.6
Pyraclostrobin	0.9993	0.9	3.0	2.0	120.2	3.3	113.0	7.8	91.0	5.3	116.8	3.9	99.0	7.7	94.0	4.5
Pyriproxyfen	0.9985	1.5	5.0	0.05	118.0	2.7	102.0	4.8	88.0	2.5	118.4	1.8	99.0	4.8	100.0	5.8
Quizalop-p-ethyl	0.9930	1.5	5.0	0.02	115.6	7.6	114.2	9.6	92.0	9.2	112.8	3.3	99.0	4.6	93.0	3.8
Rimsulfuron	0.9938	4.5	15.0	0.01			96.0	5.7	97.0	2.9			100.0	2.7	89.0	4.4
Tebuconazole	0.9966	1.5	5.0	1.0	107.8	4.7	103.0	5.5	99.0	5.0	99.0	4.2	98.0	5.4	89.0	3.3
Terbufos	0.9993	2.8	9.2	0.01	119.8	1.8	120.0	1.3	96.0	9.8	116.2	6.0	96.0	4.1	87.0	7.3
Thiacloprid	0.9991	2.3	7.6	0.01	116.8	4.2	103.0	4.7	86.0	3.5	119.6	2.3	98.0	3.4	89.0	4.7
Thiamethoxam	0.9958	15.0	50.0	0.4			100.0	3.4	80.0	7.4			95.0	2.5	87.0	3.3
Triadimenol	0.9943	1.5	5.0	0.3	119.6	1.1	114.0	7.7	104.0	8.6	119.8	3.6	111.0	7.3	99.0	4.3
Trifloxystrobin	0.9964	0.5	1.8	3.0	101.8	9.0	109.0	9.3	86.0	10.2	110.2	4.5	94.0	3.2	84.0	5.0

7.5. Δείγματα

Όλα τα δείγματα που αναλύθηκαν παρήχθησαν στην Ελλάδα. Τα δείγματα, που μεταφέρθηκαν στο εργαστήριο για ανάλυση, διατηρήθηκαν σε θερμοκρασία δωματίου σε γυάλινα φιαλίδια έως ότου αναλυθούν. Στον πίνακα που ακολουθεί παρατίθενται τα βασικά χαρακτηριστικά των δειγμάτων που αναλύθηκαν.

Πίνακας 7-6. Βασικά χαρακτηριστικά δειγμάτων οίνων που αναλύθηκαν

A/A	ΧΡΩΜΑ	ΤΥΠΟΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ	ΠΟΙΚΙΛΙΑ 1	ΠΟΙΚΙΛΙΑ 2	ΠΟΙΚΙΛΙΑ 3	ΠΕΡΙΟΧΗ	ΕΤΟΣ
1	ΛΕΥΚΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	CHARDONNAY	-	-	ΑΤΑΛΑΝΤΗ	2019
2	ΕΡΥΘΡΟ	ΒΙΟΛΟΠΙΚΗ	ΑΠΩΡΓΠΙΚΟ	-	-	ΚΟΡΙΝΘΙΑ	2019
3	ΕΡΥΘΡΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	-	-	-	ΚΕΡΚΥΡΑ	2018
4	ΕΡΥΘΡΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	-	-	-	ΛΕΥΚΑΔΑ	2020
5	ΕΡΥΘΡΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	CABERNET SAUVIGNON	SYRAH	-	-	-
6	ΕΡΥΘΡΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	-	-	-	-	-
7	ΕΡΥΘΡΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	-	-	-	ΜΑΚΕΔΟΝΙΑ	2005
8	ΕΡΥΘΡΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	-	-	-	-	-
9	ΕΡΥΘΡΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	ΑΠΩΡΓΠΙΚΟ	-	-	ΠΕΛΟΠΟΝΝΗΣΟΣ (ΝΕΜΕΑ)	2016
10	ΕΡΥΘΡΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	-	-	-	ΠΕΛΟΠΟΝΝΗΣΟΣ	-
11	ΕΡΥΘΡΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	ΜΑΥΡΟΔΑΦΝΗ (Π.Ο.Π.)	-	-	ΠΑΤΡΑ	-
12	ΕΡΥΘΡΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	MERLOT 50%	ΞΙΝΟΜΑΥΡΟ 25%	SYRAH 25%	ΜΑΚΕΔΟΝΙΑ	-
13	ΕΡΥΘΡΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	CABERNET SAUVIGNON	MERLOT	SYRAH	ΜΑΚΕΔΟΝΙΑ	2019
14	ΡΟΖΕ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	ΞΙΝΟΜΑΥΡΟ	-	-	ΜΑΚΕΔΟΝΙΑ (ΝΑΟΥΣΑ/ΑΜΥΝΤΑΙΟ)	2007
15	ΡΟΖΕ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	ΜΟΣΧΑΤΟ	SYRAH	-	ΑΧΑΪΑ	
16	ΡΟΖΕ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	ΑΠΩΡΓΠΙΚΟ	-	-	-	2017
17	ΛΕΥΚΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	-	-	-	ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗ	2017
18	ΕΡΥΘΡΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	ΒΛΑΧΙΚΟ 30%	ΜΠΕΚΑΡΙ 30%	CABERNET SAUVIGNON 40%	ΖΙΤΣΑ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ	2017
19	ΕΡΥΘΡΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	-	-	-	ΔΡΑΜΑ	2019
20	ΕΡΥΘΡΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	ΒΛΑΧΙΚΟ 30%	ΜΠΕΚΑΡΙ 30%	CABERNET SAUVIGNON 40%	ΖΙΤΣΑ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ	2018
21	ΕΡΥΘΡΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	CABERNET SAUVIGNON	-	-	ΠΥΡΓΟΣ ΜΕΣΣΗΝΙΑΣ	2017
22	ΕΡΥΘΡΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	MERLOT	-	-	ΠΕΛΟΠΟΝΝΗΣΟΣ (ΑΡΓΟΣ)	2018
23	ΛΕΥΚΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	ΡΟΔΙΤΗΣ	-	-	-	2017
24	ΛΕΥΚΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	ΡΟΔΙΤΗΣ	-	-	ΕΥΒΟΙΑ	2014

A/A	ΧΡΩΜΑ	ΤΥΠΟΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ	ΠΟΙΚΙΛΙΑ 1	ΠΟΙΚΙΛΙΑ 2	ΠΟΙΚΙΛΙΑ 3	ΠΕΡΙΟΧΗ	ΕΤΟΣ
25	ΛΕΥΚΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	SAUVIGNON BLANC	ΜΑΛΑΓΟΥΖΙΑ	ΑΣΥΡΤΙΚΟ	-	-
26	ΛΕΥΚΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	CHARDONNAY	ΜΑΛΑΓΟΥΖΙΑ	ΑΣΥΡΤΙΚΟ	ΤΥΡΝΑΒΟΣ	2016
27	ΛΕΥΚΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	-	-	-	ΠΕΛΟΠΟΝΝΗΣΟΣ	2016
28	ΛΕΥΚΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	PROSECCO	-	-	ΚΑΝΕΛΙ ΙΤΑΛΙΑ	2020
29	ΛΕΥΚΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	ΛΕΥΚΑ ΣΤΑΦΥΛΙΑ	-	-	ΕΡΥΘΡΕΣ ΑΤΤΙΚΗΣ	
30	ΛΕΥΚΟ	ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ	ΜΟΣΧΑΤΟ ΑΛΕΞΑΝΔΡΕΙΑΣ	-	-	ΛΗΜΝΟΣ	2019
31	ΕΡΥΘΡΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	ΑΠΩΡΓΠΤΙΚΟ	ΒΛΑΧΙΚΟ	ΜΠΕΚΑΡΙ	ΖΙΤΣΑ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ	2017
32	ΛΕΥΚΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	ΝΤΕΜΠΙΝΑ	ΝΤΕΜΠΙΝΑ	-	ΖΙΤΣΑ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ	2019
33	ΡΟΖΕ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	-	-	-	ΡΙΤΣΩΝΑ	2013
34	ΕΡΥΘΡΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	ΑΠΩΡΓΠΤΙΚΟ	-	-	ΝΕΜΕΑ	2019
35	ΛΕΥΚΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	-	-	-	ΕΛΕΥΣΙΝΑ	-
36	ΡΟΖΕ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	ΡΟΔΙΤΗΣ 20%	ΣΑΒΑΤΙΑΝΟ 80%	ΜΟΣΧΑΤΟ 20%	ΕΥΒΟΙΑ	2020
37	ΡΟΖΕ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	ΡΟΔΙΤΗΣ 60%	ΣΑΒΑΤΙΑΝΟ 30%	ΜΟΣΧΑΤΟ 10%	ΕΥΒΟΙΑ	2020
38	ΕΡΥΘΡΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	ΚΟΤΣΙΦΑΛΙ	ΜΑΝΤΗΛΑΡΙ	-	ΑΡΧΑΝΕΣ ΗΡΑΚΛΕΙΟΥ	2008
39	ΡΟΖΕ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	-	-	-	-	-
40	ΛΕΥΚΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	GEWURZTRAMINER	-	-	ΕΥΒΟΙΑ	2020
41	ΛΕΥΚΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	ΜΟΣΧΟΦΙΛΕΡΟ	-	-	ΚΟΡΙΝΘΙΑ	2020
42	ΡΟΖΕ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	ΜΟΣΧΑΤΟ	-	-	ΤΥΡΝΑΒΟΣ	2019
43	ΕΡΥΘΡΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	CABERNET SAUVIGNON	-	-	ΛΑΚΩΝΙΑ	2019
44	ΛΕΥΚΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	ΜΑΛΑΓΟΥΖΙΑ	-	-	ΚΟΡΙΝΘΙΑ	2020
45	ΛΕΥΚΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	SAUVIGNON BLANC	-	-	ΤΥΡΝΑΒΟΣ	2019
46	ΡΟΖΕ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	ΞΙΝΟΜΑΥΡΟ	-	-	ΕΓΓΙΑΝΟΜΗ ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ	2019
47	ΕΡΥΘΡΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	SYRAH	-	-	ΕΥΒΟΙΑ	2017
48	ΕΡΥΘΡΟ	ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ	ΑΠΩΡΓΠΤΙΚΟ	-	-	ΠΕΛΟΠΟΝΝΗΣΟΣ	2017
49	ΛΕΥΚΟ	ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ	CHARDONNAY	-	-	ΚΟΡΙΝΘΙΑ	2020
50	ΛΕΥΚΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	ΒΗΛΑΝΑ	-	-	ΚΡΗΤΗ	2018
51	ΕΡΥΘΡΟ	ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ	SYRAH	-	-	ΡΑΧΗ ΠΙΕΡΙΑΣ	2010
52	ΡΟΖΕ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	ΜΟΣΧΑΤΟ ΜΑΥΡΟ (BLACK MUSCAT)	-	-	ΤΥΡΝΑΒΟΣ	2019
53	ΕΡΥΘΡΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	MERLOT	-	-	ΒΟΥΛΓΑΡΙΑ	2017
54	ΡΟΖΕ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	ΑΠΩΡΓΠΤΙΚΟ	-	-	ΚΟΡΙΝΘΙΑ	2016
55	ΕΡΥΘΡΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	ΜΟΥΧΤΑΡΟ	-	-	ΠΓΕ ΘΗΒΑ	2019
56	ΕΡΥΘΡΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	ΑΠΩΡΓΠΤΙΚΟ	MERLOT	-	ΠΓΕ ΣΤΕΡΕΑ ΕΛΛΑΔΑ	2018

A/A	ΧΡΩΜΑ	ΤΥΠΟΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ	ΠΟΙΚΙΛΙΑ 1	ΠΟΙΚΙΛΙΑ 2	ΠΟΙΚΙΛΙΑ 3	ΠΕΡΙΟΧΗ	ΕΤΟΣ
57	ΕΡΥΘΡΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	MERLOT	-	-	ΠΓΕ ΘΗΒΑ	2018
58	ΛΕΥΚΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	ΜΑΛΑΓΟΥΖΙΑ	CHARDONNAY	-	ΠΓΕ ΣΤΕΡΕΑ ΕΛΛΑΔΑ	2020
59	ΕΡΥΘΡΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	ΜΟΥΧΤΑΡΟ	-	-	ΠΓΕ ΘΗΒΑ	2018
60	ΕΡΥΘΡΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	CABERNET SAUVIGNON	MERLOT	SYRAH	ΠΓΕ ΣΤΕΡΕΑ ΕΛΛΑΔΑ	2018
61	ΛΕΥΚΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	ΑΣΥΡΤΙΚΟ	TREBBIANO	SAUVIGNON BLANC	ΠΓΕ ΣΤΕΡΕΑ ΕΛΛΑΔΑ	2020
62	ΡΟΖΕ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	SYRAH	ΜΟΥΧΤΑΡΟ		ΠΓΕ ΣΤΕΡΕΑ ΕΛΛΑΔΑ	2019
63	ΛΕΥΚΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	ΑΣΥΡΤΙΚΟ	TREBBIANO	SAUVIGNON BLANC	ΠΓΕ ΣΤΕΡΕΑ ΕΛΛΑΔΑ	2019
64	ΛΕΥΚΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	ΑΣΥΡΤΙΚΟ	ΡΟΔΙΤΗΣ	ΣΑΒΒΑΤΙΑΝΟ	ΠΓΕ ΣΤΕΡΕΑ ΕΛΛΑΔΑ	2020
65	ΕΡΥΘΡΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	CABERNET SAUVIGNON	-	-	ΠΓΕ ΘΗΒΑ	2018
66	ΛΕΥΚΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	ΜΟΣΧΑΤΟ	-	-	ΚΟΙΛΑΔΑ ΜΟΥΣΩΝ, ΑΣΚΡΗ, ΣΤΕΡΕΑ ΕΛΛΑΔΑ	-
67	ΡΟΖΕ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	SAUVIGNON BLANC	ΜΟΥΧΤΑΡΟ	-	ΠΓΕ ΣΤΕΡΕΑ ΕΛΛΑΔΑ	2019
68	ΡΟΖΕ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	SAUVIGNON BLANC	ΜΟΥΧΤΑΡΟ	-	ΠΓΕ ΣΤΕΡΕΑ ΕΛΛΑΔΑ	2020
69	ΛΕΥΚΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	ΜΑΛΑΓΟΥΖΙΑ	-	-	ΠΓΕ ΣΤΕΡΕΑ ΕΛΛΑΔΑ	2020
70	ΕΡΥΘΡΟ	ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ	MERLOT 85%	CABERNET SAUVIGNON 15%	-	ΠΓΕ ΑΤΑΛΑΝΤΗΣ	2020
71	ΛΕΥΚΟ	ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ	ΜΑΛΑΓΟΥΖΙΑ	CHARDONNAY	-	ΠΓΕ ΑΤΑΛΑΝΤΗΣ	2019
72	ΛΕΥΚΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	ΜΟΣΧΟΦΙΛΕΡΟ	-	-	ΠΓΕ ΠΕΛΟΠΟΝΝΗΣΟΣ, ΜΑΝΤΙΝΕΙΑ	2020
73	ΡΟΖΕ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	ΜΟΣΧΟΦΙΛΕΡΟ	-	-	ΠΓΕ ΑΡΚΑΔΙΑ, ΜΑΝΤΙΝΕΙΑ	2020
74	ΕΡΥΘΡΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	ΑΠΩΡΓΠΤΙΚΟ	-	-	ΠΟΠ ΝΕΜΕΑ	2020
75	ΛΕΥΚΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	ΣΑΒΒΑΤΙΑΝΟ	ΡΟΔΙΤΗΣ	CHARDONNAY	ΠΓΕ ΠΛΑΠΕΣ ΚΙΘΑΙΡΩΝΑ	2016
76	ΕΡΥΘΡΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	ΑΠΩΡΓΠΤΙΚΟ	-	-	ΠΟΠ ΝΕΜΕΑ	2018
77	ΛΕΥΚΟ	ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ	ΜΟΣΧΟΦΙΛΕΡΟ	-	-	ΠΓΕ ΠΕΛΟΠΟΝΝΗΣΟΣ, ΠΙΣΤΑΜΑΤΑ ΜΟΝΕΜΒΑΣΙΑΣ	2020
78	ΛΕΥΚΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	ΒΙΔΙΑΝΟ	-	-	ΚΑΤΩ ΑΣΙΤΕΣ, ΗΡΑΚΛΕΙΟ ΚΡΗΤΗΣ	2019
79	ΕΡΥΘΡΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	SYRAH	ΜΑΝΤΙΛΑΡΙΑ	-	ΚΑΤΩ ΑΣΙΤΕΣ, ΗΡΑΚΛΕΙΟ ΚΡΗΤΗΣ	2017

A/A	ΧΡΩΜΑ	ΤΥΠΟΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ	ΠΟΙΚΙΛΙΑ 1	ΠΟΙΚΙΛΙΑ 2	ΠΟΙΚΙΛΙΑ 3	ΠΕΡΙΟΧΗ	ΕΤΟΣ
80	ΕΡΥΘΡΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	ΚΟΤΣΙΦΑΛΙ	-	-	ΚΑΤΩ ΑΣΙΤΕΣ, ΗΡΑΚΛΕΙΟ ΚΡΗΤΗΣ	2020
81	ΛΕΥΚΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	CHARDONNAY	MALVASIA	-	ΚΑΤΩ ΑΣΙΤΕΣ, ΗΡΑΚΛΕΙΟ ΚΡΗΤΗΣ	2020
82	ΡΟΖΕ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	ΛΙΑΤΙΚΟ	-	-	ΚΑΤΩ ΑΣΙΤΕΣ, ΗΡΑΚΛΕΙΟ ΚΡΗΤΗΣ	2020
83	ΛΕΥΚΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	ΑΣΥΡΤΙΚΟ	-	-	ΚΑΤΩ ΑΣΙΤΕΣ, ΗΡΑΚΛΕΙΟ ΚΡΗΤΗΣ	2020
84	ΕΡΥΘΡΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	SYRAH	-	-	ΚΑΤΩ ΑΣΙΤΕΣ, ΗΡΑΚΛΕΙΟ ΚΡΗΤΗΣ	2020
85	ΛΕΥΚΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	ΑΣΥΡΤΙΚΟ	-	-	ΚΑΤΩ ΑΣΙΤΕΣ, ΗΡΑΚΛΕΙΟ ΚΡΗΤΗΣ	2018
86	ΕΡΥΘΡΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	ΛΙΑΤΙΚΟ	-	-	ΚΑΤΩ ΑΣΙΤΕΣ, ΗΡΑΚΛΕΙΟ ΚΡΗΤΗΣ	2020
87	ΛΕΥΚΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	ΒΙΔΙΑΝΟ	ΒΗΛΑΝΑ	-	ΚΑΤΩ ΑΣΙΤΕΣ, ΗΡΑΚΛΕΙΟ ΚΡΗΤΗΣ	2020
88	ΛΕΥΚΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	MALVASIA	-	-	ΚΑΤΩ ΑΣΙΤΕΣ, ΗΡΑΚΛΕΙΟ ΚΡΗΤΗΣ	2020
89	ΕΡΥΘΡΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	ΜΑΝΔΗΛΑΡΙΑ	-	-	ΚΑΤΩ ΑΣΙΤΕΣ, ΗΡΑΚΛΕΙΟ ΚΡΗΤΗΣ	2019
90	ΛΕΥΚΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	CHARDONNAY	-	-	ΚΑΤΩ ΑΣΙΤΕΣ, ΗΡΑΚΛΕΙΟ ΚΡΗΤΗΣ	2020
91	ΕΡΥΘΡΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	ΜΑΝΤΗΛΑΡΙ	-	-	ΚΑΤΩ ΑΣΙΤΕΣ, ΗΡΑΚΛΕΙΟ ΚΡΗΤΗΣ	2020
92	ΡΟΖΕ/ΕΡ ΥΘΡΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	ΛΙΑΤΙΚΟ	-	-	ΚΑΤΩ ΑΣΙΤΕΣ, ΗΡΑΚΛΕΙΟ ΚΡΗΤΗΣ	2018
93	ΕΡΥΘΡΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	SYRAH	-	-	ΚΑΤΩ ΑΣΙΤΕΣ, ΗΡΑΚΛΕΙΟ ΚΡΗΤΗΣ	2018
94	ΡΟΖΕ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	ΛΙΑΤΙΚΟ	-	-	ΚΑΤΩ ΑΣΙΤΕΣ, ΗΡΑΚΛΕΙΟ ΚΡΗΤΗΣ	2020
95	ΕΡΥΘΡΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	SYRAH	-	-	ΚΑΤΩ ΑΣΙΤΕΣ, ΗΡΑΚΛΕΙΟ ΚΡΗΤΗΣ	2019
96	ΕΡΥΘΡΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	SYRAH	-	-	ΚΑΤΩ ΑΣΙΤΕΣ, ΗΡΑΚΛΕΙΟ ΚΡΗΤΗΣ	2019
97	ΡΟΖΕ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	SYRAH	ΜΑΝΔΗΛΑΡΙΑ	-	ΚΑΤΩ ΑΣΙΤΕΣ, ΗΡΑΚΛΕΙΟ ΚΡΗΤΗΣ	2020
98	ΡΟΖΕ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	ΛΙΑΤΙΚΟ	-	-	ΚΑΤΩ ΑΣΙΤΕΣ, ΗΡΑΚΛΕΙΟ ΚΡΗΤΗΣ	2019
99	ΛΕΥΚΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	ΒΙΔΙΑΝΟ	ΑΣΥΡΤΙΚΟ	-	ΚΑΤΩ ΑΣΙΤΕΣ, ΗΡΑΚΛΕΙΟ ΚΡΗΤΗΣ	2020
100	ΛΕΥΚΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	ΒΙΔΙΑΝΟ	-	-	ΚΑΤΩ ΑΣΙΤΕΣ, ΗΡΑΚΛΕΙΟ ΚΡΗΤΗΣ	2020
101	ΛΕΥΚΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	ΠΟΛΥΠΟΙΚΙΛΙΑΚΟ	-	-	ΚΑΤΩ ΑΣΙΤΕΣ, ΗΡΑΚΛΕΙΟ ΚΡΗΤΗΣ	-
102	ΡΟΖΕ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	ΛΙΑΤΙΚΟ	-	-	ΚΑΤΩ ΑΣΙΤΕΣ, ΗΡΑΚΛΕΙΟ ΚΡΗΤΗΣ	2020

A/A	ΧΡΩΜΑ	ΤΥΠΟΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ	ΠΟΙΚΙΛΙΑ 1	ΠΟΙΚΙΛΙΑ 2	ΠΟΙΚΙΛΙΑ 3	ΠΕΡΙΟΧΗ	ΕΤΟΣ
103	ΛΕΥΚΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	ΒΙΔΙΑΝΟ	ΑΣΥΡΤΙΚΟ	-	ΠΓΕ ΚΡΗΤΗ	2019
104	ΕΡΥΘΡΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	ΣΥΡΑΗ	ΜΑΝΔΗΛΑΡΙΑ	-	ΠΓΕ ΚΡΗΤΗ	2017
105	ΛΕΥΚΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	ΜΟΣΧΟΦΙΛΕΡΟ	-	-	ΜΑΝΤΙΝΕΙΑ ΑΡΚΑΔΙΑΣ	2020
106	ΡΟΖΕ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	ΜΟΣΧΟΦΙΛΕΡΟ	-	-	ΜΑΝΤΙΝΕΙΑ ΑΡΚΑΔΙΑΣ	2020
107	ΛΕΥΚΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	ΜΑΛΑΓΟΥΖΙΑ	-	-	ΡΟΔΟΣ	2020
108	ΛΕΥΚΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	ΑΘΗΡΗ	-	-	ΡΟΔΟΣ	2020
109	ΛΕΥΚΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	ΑΣΥΡΤΙΚΟ	-	-	ΡΟΔΟΣ	2020
110	ΛΕΥΚΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	ΜΟΣΧΑΤΟ	-	-	ΡΟΔΟΣ	2020
111	ΛΕΥΚΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	ΑΘΗΡΗ	-	-	ΡΟΔΟΣ	2020
112	ΛΕΥΚΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	ΑΘΗΡΗ	-	-	ΡΟΔΟΣ	2020
113	ΛΕΥΚΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	SAUVIGNON BLANC	-	-	ΡΟΔΟΣ	2020
114	ΛΕΥΚΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	ΑΘΗΡΗ	-	-	ΡΟΔΟΣ	2020
115	ΛΕΥΚΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	ΑΘΗΡΗ	-	-	ΡΟΔΟΣ	2020
116	ΛΕΥΚΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	ΑΘΗΡΗ	-	-	ΡΟΔΟΣ	2020
117	ΛΕΥΚΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	ΑΘΗΡΗ	-	-	ΡΟΔΟΣ	2020
118	ΕΡΥΘΡΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	TEMPRANILLO	-	-	ΡΟΔΟΣ	2020
119	ΕΡΥΘΡΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	CABERNET SAUVIGNON	-	-	ΡΟΔΟΣ	2020
120	ΕΡΥΘΡΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	ΜΑΝΔΗΛΑΡΙΑ	-	-	ΡΟΔΟΣ	2020
121	ΕΡΥΘΡΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	MERLOT	-	-	ΡΟΔΟΣ	2020
122	ΕΡΥΘΡΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	ΜΑΝΔΗΛΑΡΙΑ	-	-	ΡΟΔΟΣ	2020
123	ΕΡΥΘΡΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	ΣΥΡΑΗ	-	-	ΡΟΔΟΣ	2020
124	ΕΡΥΘΡΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	ΜΟΣΧΑΤΟ ΑΛΕΞΑΝΔΡΕΙΑΣ	MERLOT	-	ΣΑΝΤΟΡΙΝΗ	-
125	ΕΡΥΘΡΟ	ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ	-	-	-	ΠΟΠ ΝΑΟΥΣΑ	2019
126	ΕΡΥΘΡΟ	50% ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ 50% ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	-	-	-	ΠΟΠ ΝΑΟΥΣΑ	2020
127	ΕΡΥΘΡΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	-	-	-	ΠΟΠ ΝΑΟΥΣΑ	2020
128	ΕΡΥΘΡΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	-	-	-	ΠΓΕ ΗΜΑΘΙΑ	2020
129	ΕΡΥΘΡΟ	ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ	-	-	-	ΠΟΠ ΝΑΟΥΣΑ	2020
130	ΕΡΥΘΡΟ	ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ	-	-	-	ΠΟΠ ΝΑΟΥΣΑ	2020
131	ΛΕΥΚΟ	ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ	ΑΣΥΡΤΙΚΟ	ΜΑΛΑΓΟΥΖΙΑ	ΡΟΔΙΤΗΣ	ΝΑΟΥΣΑ, ΠΓΕ ΗΜΑΘΙΑ	2018
132	ΛΕΥΚΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	SAUVIGNON BLANC	-	-	ΕΠΑΝΟΜΗ ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ	2020
133	ΕΡΥΘΡΟ	ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ	ΣΥΡΑΗ	-	-	ΤΡΙΛΟΦΟ ΝΑΟΥΣΑΣ	2017
134	ΡΟΖΕ	ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ	ΞΙΝΟΜΑΥΡΟ	ΑΠΩΡΓΠΤΙΚΟ	ΣΥΡΑΗ	ΤΡΙΛΟΦΟ ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ	2020
135	ΡΟΖΕ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	ΞΙΝΟΜΑΥΡΟ	-	-	ΑΜΥΝΤΑΙΟ	2020
136	ΛΕΥΚΟ	ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ	ΞΙΝΟΜΑΥΡΟ	-	-	ΑΜΥΝΤΑΙΟ	2020
137	ΛΕΥΚΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	ΞΙΝΟΜΑΥΡΟ	-	-	ΑΜΥΝΤΑΙΟ	2020

A/A	ΧΡΩΜΑ	ΤΥΠΟΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ	ΠΟΙΚΙΛΙΑ 1	ΠΟΙΚΙΛΙΑ 2	ΠΟΙΚΙΛΙΑ 3	ΠΕΡΙΟΧΗ	ΕΤΟΣ
138	ΛΕΥΚΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	ΞΙΝΟΜΑΥΡΟ	-	-	ΑΜΥΝΤΑΙΟ	2020
139	ΛΕΥΚΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	ΞΙΝΟΜΑΥΡΟ	-	-	ΑΜΥΝΤΑΙΟ	2019
140	ΛΕΥΚΟ	ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ	ΑΣΥΡΤΙΚΟ	-	-	ΑΜΥΝΤΑΙΟ	2020
141	ΕΡΥΘΡΟ	ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ	ΛΗΜΝΙΩΝΑ	-	-	ΑΜΥΝΤΑΙΟ	2019
142	ΕΡΥΘΡΟ	ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ	ΞΙΝΟΜΑΥΡΟ	-	-	ΑΜΥΝΤΑΙΟ	2020
143	ΕΡΥΘΡΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	ΞΙΝΟΜΑΥΡΟ	-	-	ΑΜΥΝΤΑΙΟ	2017
144	ΕΡΥΘΡΟ	ΒΙΟΛΟΓΙΚΟ	CABERNET SAUVIGNON	-	-	ΑΜΥΝΤΑΙΟ	2018
145	ΕΡΥΘΡΟ	ΒΙΟΛΟΓΙΚΟ	ΛΗΜΝΙΩΝΑ	-	-	ΑΜΥΝΤΑΙΟ	2020
146	ΕΡΥΘΡΟ	ΒΙΟΛΟΓΙΚΟ	ΞΙΝΟΜΑΥΡΟ	-	-	ΑΜΥΝΤΑΙΟ	2019
147	ΕΡΥΘΡΟ	ΒΙΟΛΟΓΙΚΟ	ΞΙΝΟΜΑΥΡΟ	-	-	ΑΜΥΝΤΑΙΟ	2020
148	ΛΕΥΚΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	ΜΟΣΧΟΦΙΛΕΡΟ	-	-	ΠΓΕ ΠΕΛΟΠΟΝΝΗΣΟΣ	2019
149	ΛΕΥΚΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	ΡΟΔΙΤΗΣ	-	-	ΑΙΠΑΛΕΙΑ, ΑΧΑΪΑΣ	-
150	ΛΕΥΚΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	ΜΟΣΧΑΤΟ	-	-	ΑΙΠΑΛΕΙΑ, ΑΧΑΪΑΣ	-
151	ΛΕΥΚΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	ΣΙΔΕΡΙΤΗΣ	-	-	ΑΙΠΑΛΕΙΑ, ΑΧΑΪΑΣ	-
152	ΕΡΥΘΡΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	ΜΑΥΡΟΔΑΦΝΗ	-	-	ΑΙΠΑΛΕΙΑ, ΑΧΑΪΑΣ	-
153	ΛΕΥΚΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	ΜΟΣΧΟΦΙΛΕΡΟ	-	-	ΠΟΠ ΜΑΝΤΙΝΕΙΑ, ΣΤΕΝΟ ΜΑΝΤΙΝΕΙΑ	2018
154	ΛΕΥΚΟ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	ΜΟΣΧΟΦΙΛΕΡΟ	-	-	ΠΟΠ ΜΑΝΤΙΝΕΙΑ, ΣΤΕΝΟ ΜΑΝΤΙΝΕΙΑ	2019
155	ΡΟΖΕ	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗ	ΜΟΣΧΟΦΙΛΕΡΟ	-	-	ΠΟΠ ΜΑΝΤΙΝΕΙΑ, ΣΤΕΝΟ ΜΑΝΤΙΝΕΙΑ	2019

8. Πειραματικά αποτελέσματα

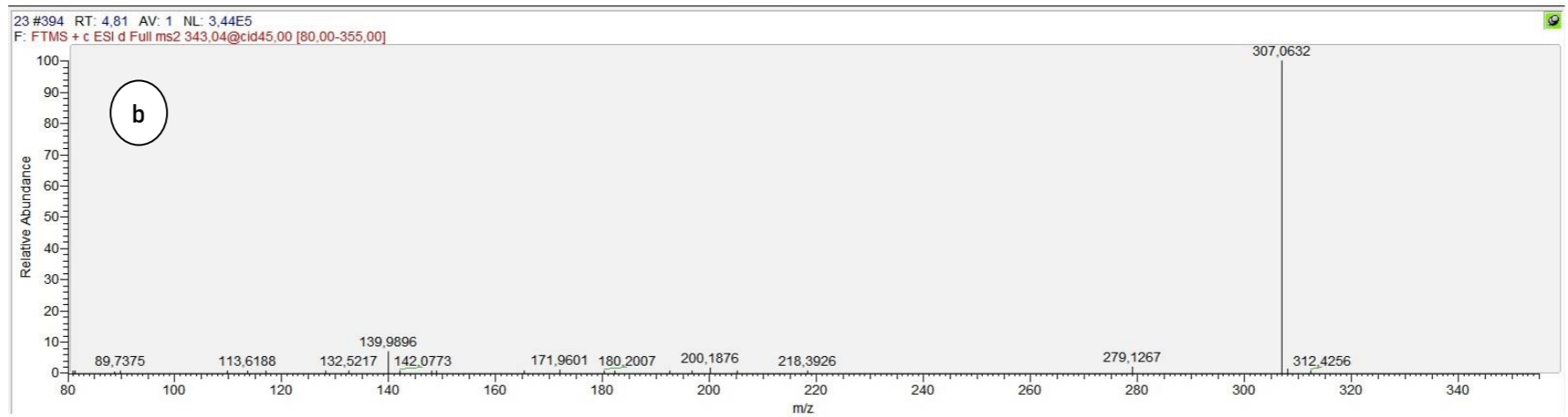
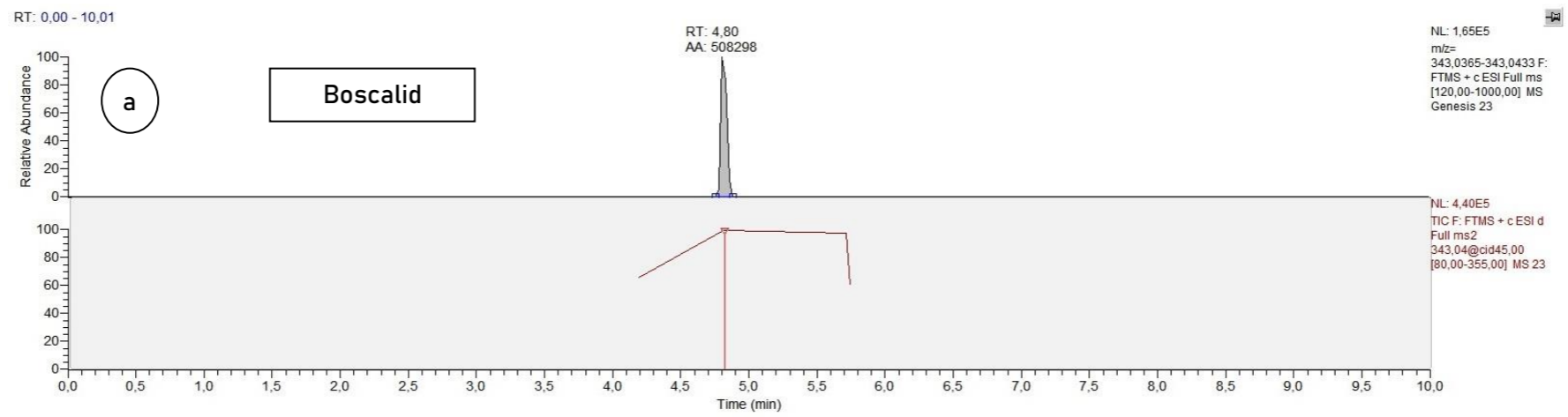
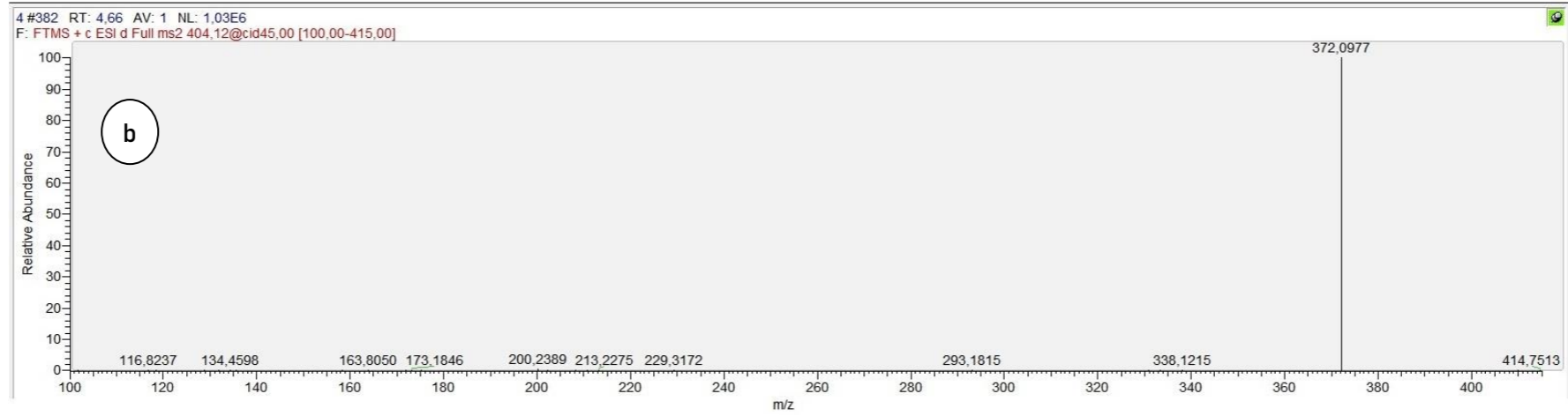
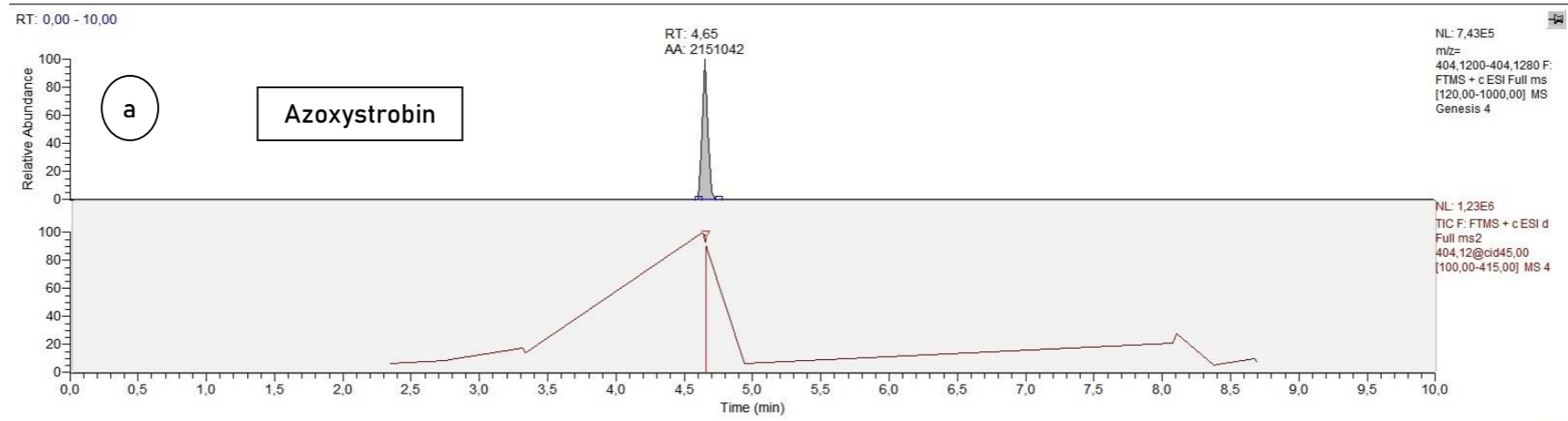
Οι πίνακες που ακολουθούν περιγράφουν το σύνολο των αποτελεσμάτων για τα 155 δείγματα που ελέγχθηκαν στο εργαστήριο.

Πίνακας 8-1. Κατανομή δειγμάτων - Συγκεντρωτικά αποτελέσματα

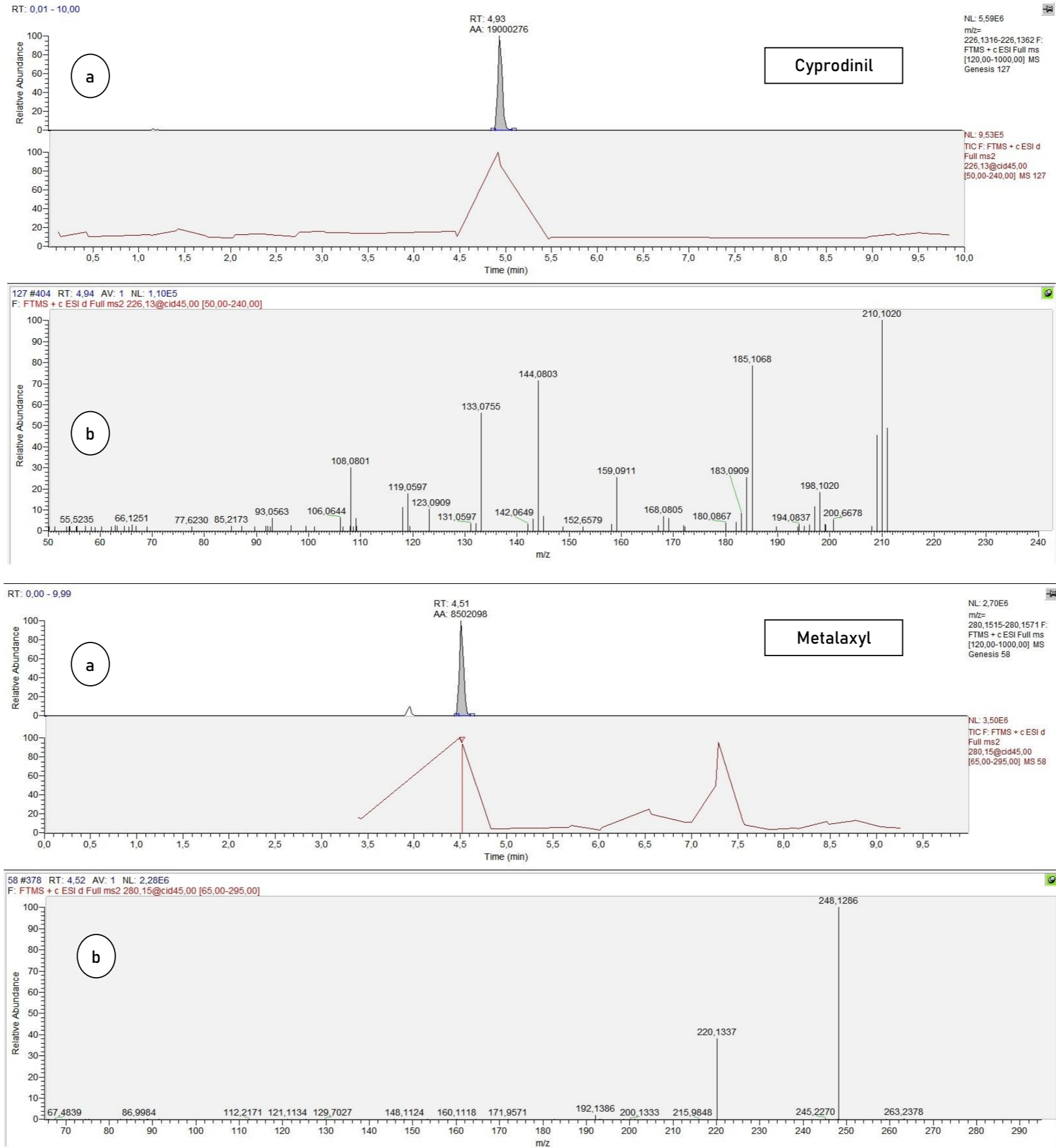
	ΕΙΔΟΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ		ΣΥΝΟΛΟ
	ΣΥΜΒΑΤΙΚΗΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ	ΒΙΟΛΟΓΙΚΗΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ	
ΑΡΙΘΜΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ	133	22	155
ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΣΤΑ ΟΠΟΙΑ ΑΝΙΧΝΕΥΘΗΚΕ ΠΑΡΑΣΙΤΟΚΤΟΝΟ	70	7	77
ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΣΤΑ ΟΠΟΙΑ ΑΝΙΧΝΕΥΘΗΚΑΝ ΠΟΛΛΑΠΛΑ ΠΑΡΑΣΙΤΟΚΤΟΝΑ	18	2	20
ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΜΕ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΙΚΕΣ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΕΙΣ ΠΑΡΑΣΙΤΟΚΤΟΝΩΝ ΚΑΤΩ ΤΟΥ ΟΡΙΟΥ ΠΟΣΟΤΙΚΟΠΟΙΗΣΗΣ	16	1	17
	ΧΡΩΜΑ ΟΙΝΟΥ		ΣΥΝΟΛΟ
	ΕΡΥΘΡΟ/ΡΟΖΕ	ΛΕΥΚΟ	
ΑΡΙΘΜΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ	91	64	155
ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΣΤΑ ΟΠΟΙΑ ΑΝΙΧΝΕΥΘΗΚΕ ΠΑΡΑΣΙΤΟΚΤΟΝΟ	40	37	77
ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΣΤΑ ΟΠΟΙΑ ΑΝΙΧΝΕΥΘΗΚΑΝ ΠΟΛΛΑΠΛΑ ΠΑΡΑΣΙΤΟΚΤΟΝΑ	15	5	20
ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΜΕ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΙΚΕΣ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΕΙΣ ΠΑΡΑΣΙΤΟΚΤΟΝΩΝ ΚΑΤΩ ΤΟΥ ΟΡΙΟΥ ΠΟΣΟΤΙΚΟΠΟΙΗΣΗΣ	11	6	17

Από τον πίνακα αναλυτικών αποτελεσμάτων 8-2 προκύπτει πως από τα 37 φυτοφάρμακα για τα οποία πραγματοποιήθηκε ανάλυση, ανιχνεύθηκαν μόνο 8.

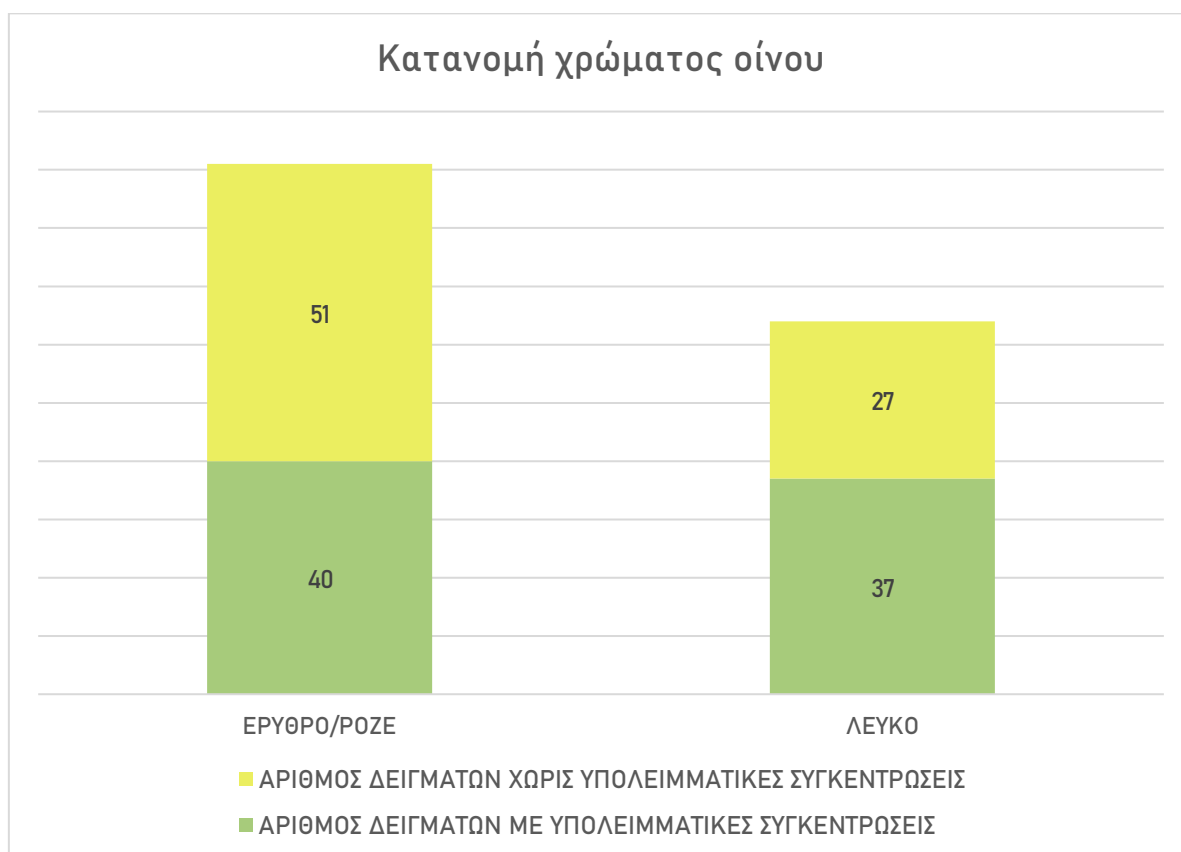
Σχήμα 8-1. (α) Χρωματογράφημα επιλεγμένων ιόντων (Extracted Ion Chromatogram, XIC) και (β) φάσμα MS / MS θυγατρικών ιόντων, που ελήφθησαν για Azoxystrobin και Boscalid σε δείγματα οίνου



Σχήμα 8-2. (a) Χρωματογράφημα επιλεγμένων ιόντων (Extracted Ion Chromatogram, XIC) και (b) φάσμα MS / MS θυγατρικών ιόντων, που ελήφθησαν για Cyprodinil και Metalaxyl σε δείγματα οίνου



Η ποσοστιαία κατανομή με βάση το χρώμα του οίνου φαίνεται στην εικόνα που ακολουθεί:



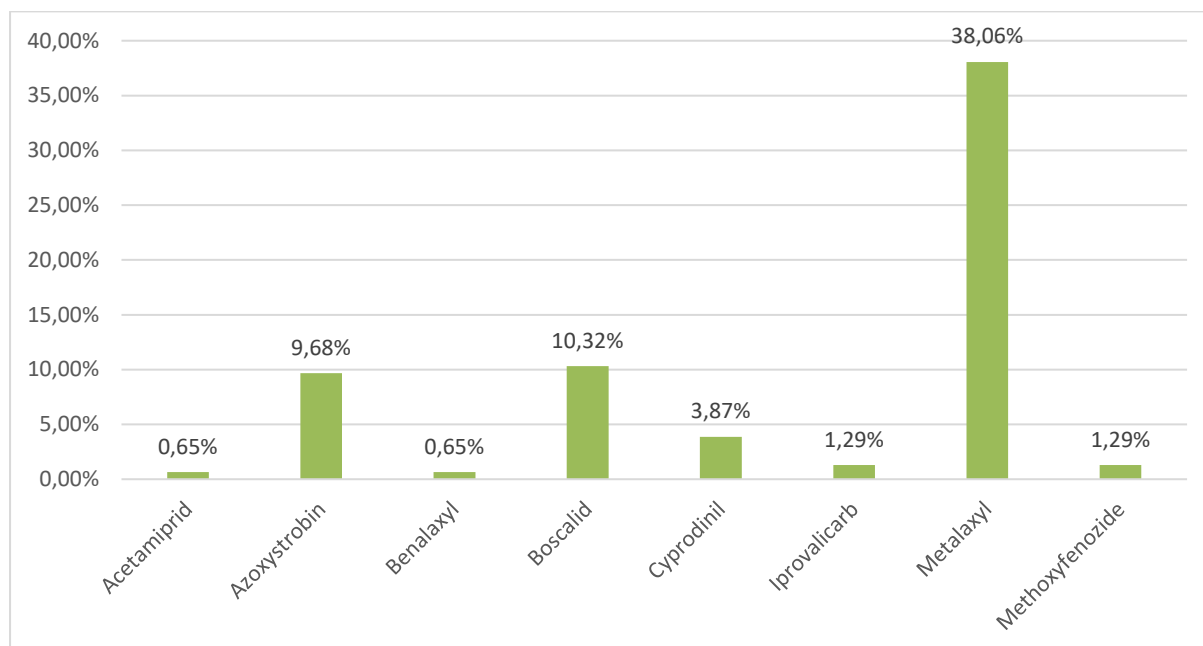
Σχήμα 8-3. Κατανομή δειγμάτων με βάση το χρώμα του οίνου

Από τον πίνακα 8-2, προκύπτει ότι για το σύνολο των δειγμάτων που αναλύθηκαν, ανιχνεύθηκαν μόνο 9 παρασιτοκτόνα. Ο πίνακας που ακολουθεί περιγράφει την κατανομή τους στα δείγματα βάσει του χρώματος του οίνου και το επίπεδο των συγκεντρώσεων.

Πίνακας 8-3. Αριθμός δειγμάτων ανά παρασιτοκτόνο που ανιχνεύθηκε

ΔΡΑΣΤΙΚΗ ΟΥΣΙΑ	ΛΕΥΚΑ	ΕΡΥΘΡΑ/ΡΟΖΕ	ΣΥΝΟΛΟ	ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΕΙΣ Κ.Ο.Π.		
				ΛΕΥΚΑ	ΕΡΥΘΡΑ/ΡΟΖΕ	ΣΥΝΟΛΟ
Acetamiprid	0	1	1	0	1	1
Azoxystrobin	4	11	15	1	1	2
Benalaxyl	0	1	1	0	0	0
Boscalid	4	12	16	2	1	2
Cyprodinil	1	5	6	1	0	1
Iprovalicarb	2	0	2	1	0	1
Metalaxyl	29	30	59	0	7	7
Methoxyfenozide	1	1	2	1	1	2

Από τα δεδομένα του πίνακα 8-3 προκύπτει η ακόλουθη εικόνα:



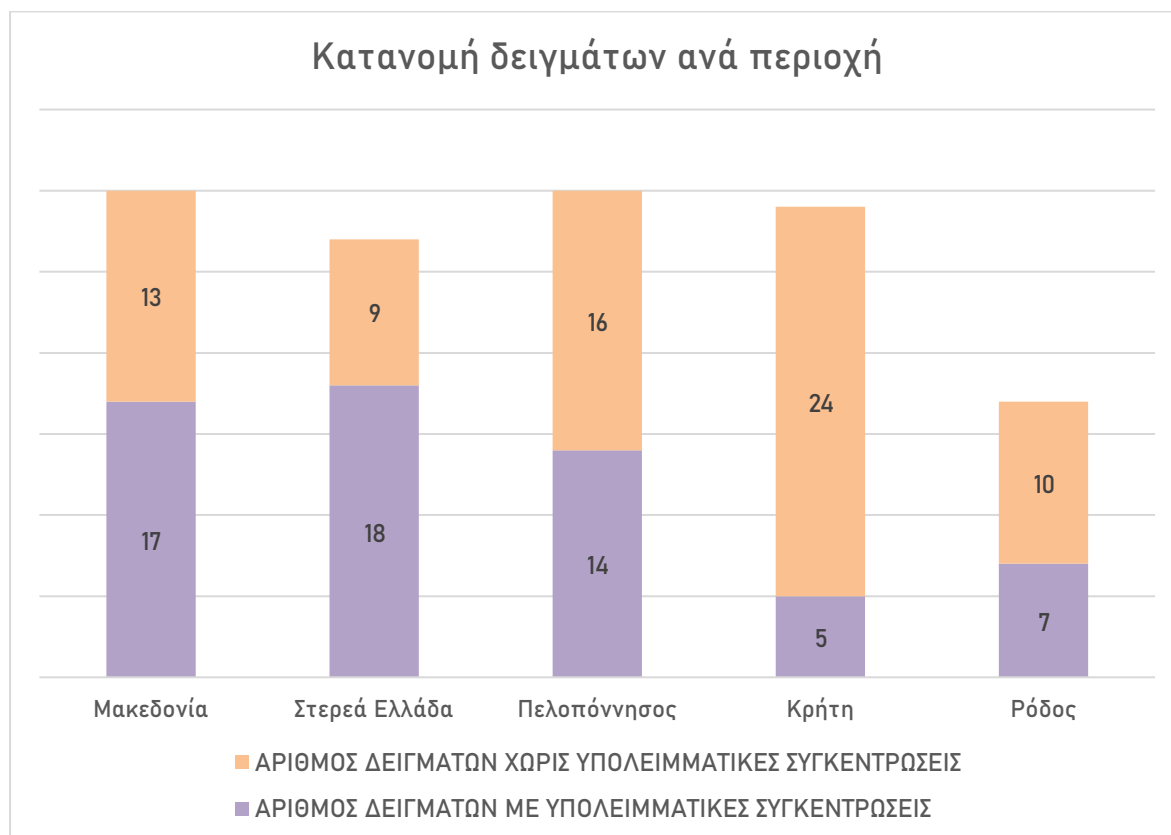
Σχήμα 8-4. Ποσοστιαία κατανομή παρασιτοκτόνων στα δείγματα που ανιχνεύθηκαν

Αναφορικά με την περιοχή προέλευσης των δειγμάτων συνδυάζοντας τα δεδομένα των πινάκων 7-6 και 8-2 προκύπτουν τα ακόλουθα:

Πίνακας 8-4. Γεωγραφική κατανομή των δειγμάτων στα οποία ανιχνεύθηκαν παρασιτοκτόνα

ΠΕΡΙΟΧΕΣ	ΣΥΝΟΛΟ ΑΡΙΘΜΟΥ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΜΕ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΙΚΕΣ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΕΙΣ ΠΑΡΑΣΙΤΟΚΤΟΝΩΝ
Μακεδονία	30	17
Στερεά Ελλάδα	27	18
Πελοπόννησος	30	14
Κρήτη	29	5
Ρόδος	17	7
Ήπειρος	5	5
Θεσσαλία	4	2
Ιταλία	1	1
Άγνωστη περιοχή	7	6
Νησιά Ιονίου	2	1
Βουλγαρία	1	1
Λήμνος	1	0
Σαντορίνη	1	0

Από τον παραπάνω πίνακα προκύπτει η κατανομή της εικόνας 8-5.



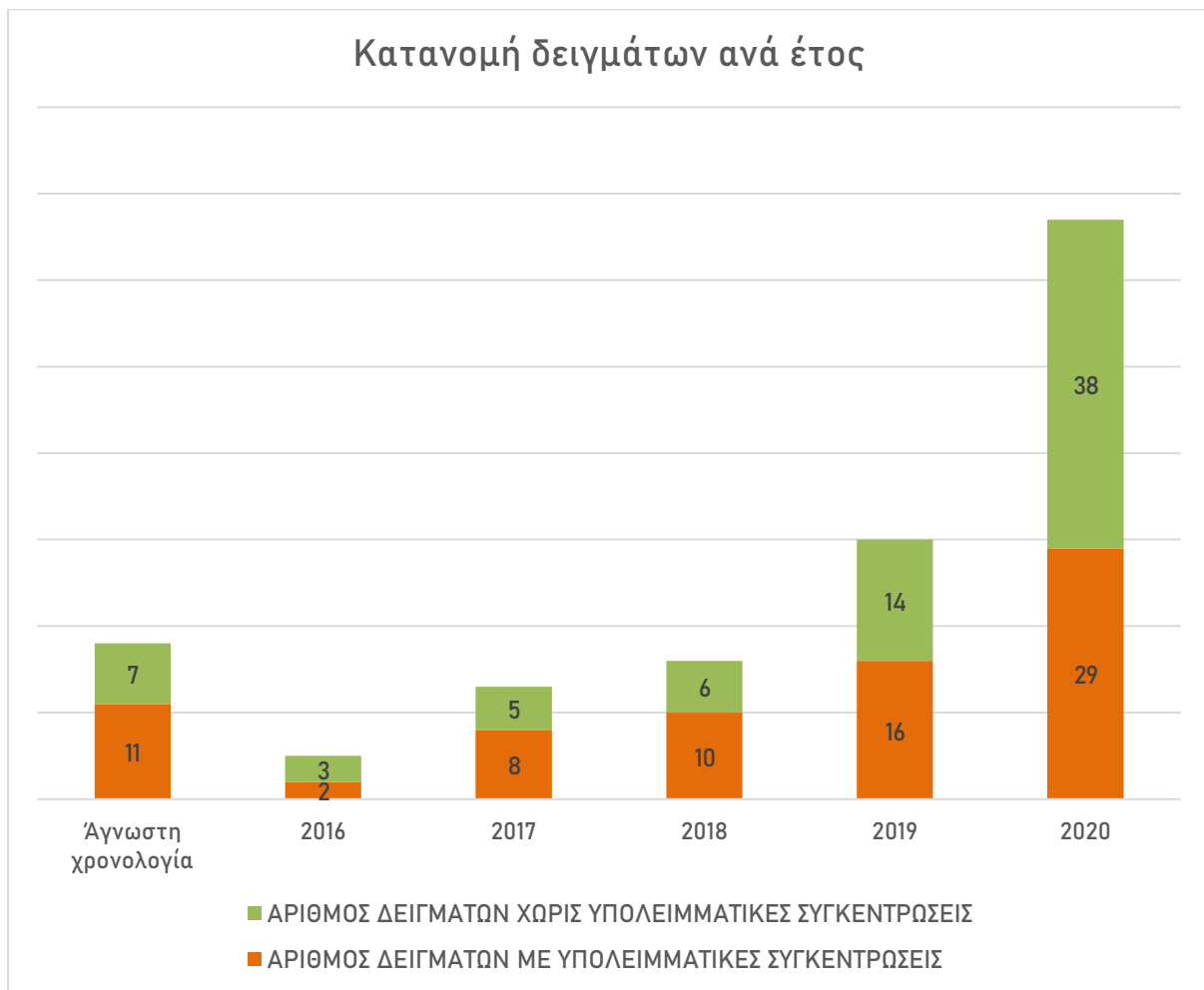
Σχήμα 8-5. Κατανομή δειγμάτων ανά γεωγραφική περιοχή

Σε ότι αφορά τη χρονολογική κατανομή των εξετασθέντων δειγμάτων, αυτή φαίνεται στον πίνακα και την εικόνα που ακολουθεί.

Πίνακας 8-5. Αριθμός δειγμάτων με βάση το έτος παραγωγής του οίνου

ΧΡΟΝΟΛΟΓΙΑ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΜΕ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΙΚΕΣ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΕΙΣ ΠΑΡΑΣΙΤΟΚΤΟΝΩΝ
Άγνωστη χρονολογία	18	11
2005	1	1
2007	1	0
2008	1	0
2010	1	0
2013	1	0
2014	1	0
2016	5	2
2017	13	8
2018	16	10
2019	30	16
2020	67	29

Από τον παραπάνω πίνακα προκύπτει η κατανομή της εικόνας 8-6.



Σχήμα 8-6. Κατανομή δειγμάτων ανά έτος παραγωγής

9. Συμπεράσματα

Από την αξιολόγηση των αποτελεσμάτων του Κεφαλαίου 8 εξάγονται τα ακόλουθα συμπεράσματα:

- Οι βιολογικοί οίνοι -παρότι καλλιεργούνται και επεξεργάζονται σωστά- δεν είναι απαραίτητα απαλλαγμένοι από φυτοφάρμακα και άλλες συνθετικές χημικές ουσίες της συμβατικής γεωργίας. Τέτοιου είδους αποτελέσματα μπορεί να οφείλονται σε καλλιέργεια σε προηγουμένως μολυσμένο έδαφος, διήθηση χημικών ουσιών μέσω του εδάφους, μη εξουσιοδοτημένη χρήση φυτοφαρμάκων, διασταυρούμενη μόλυνση με αιολική κίνηση, εκτόξευση ψεκασμού από γειτονικά συμβατικά αγροκτήματα, μολυσμένα υπόγεια ύδατα ή ύδατα άρδευσης κ.τ.λ. Ωστόσο, η παρουσία συνθετικών χημικών ουσιών δεν αναιρεί το γεγονός πως ο οίνος μπορεί να περιγραφεί ως «βιολογικός», εφόσον πληρούνται όλες οι απαιτήσεις που σχετίζονται με τη διαδικασία παραγωγής.
- Οι βιολογικοί οίνοι αναμένεται να περιέχουν λιγότερα αγροχημικά υπολείμματα από τους συμβατικούς. Στο 52,63 % των οίνων συμβατικής καλλιέργειας ανιχνεύθηκαν παρασιτοκτόνα, ενώ το αντίστοιχο ποσοστό για τους βιολογικούς οίνους ανέρχεται σε 31,82 %.
- Στο 43,96 % των δειγμάτων ερυθρού οίνου ανιχνεύθηκαν αγροχημικά υπολείμματα, ενώ το αντίστοιχο ποσοστό για τους λευκούς οίνους ανέρχεται σε 57,81%.
- Η ύπαρξη πολλαπλών αγροχημικών υπολειμμάτων είναι αρκετά συνηθισμένη, καθώς το 25,97 % των δειγμάτων με υπολειμματικές συγκεντρώσεις περιείχαν τουλάχιστον δύο διαφορετικές χημικές ενώσεις.
- Σε ότι αφορά τη γεωγραφική κατανομή, φαίνεται ότι η Κρήτη είχε το μικρότερο ποσοστό υπολειμματικών συγκεντρώσεων, καθώς από τα συνολικά 29 δείγματα οίνου που αναλύθηκαν από την περιοχή υπολειμματικές συγκεντρώσεις ανιχνεύθηκαν μόνο σε 5. Αντίθετα, τα μεγαλύτερα ποσοστά βρέθηκαν στην Στερεά Ελλάδα, καθώς από τα συνολικά 27 δείγματα οίνου που αναλύθηκαν από την περιοχή υπολειμματικές συγκεντρώσεις ανιχνεύθηκαν σε 18.
- Στο σύνολο των δειγμάτων με αγροχημικά υπολείμματα, το συνηθέστερο παρασιτοκτόνο προέκυψε να είναι το Metalaxyl (38,06 %) και ακολουθούν τα Boscalid (10,32 %), Azoxystobin (9,68 %) και Cyprodinil (3,87%).
- Στο 50,32 % δειγμάτων δεν ανιχνεύθηκε κανένα αγροχημικό, ενώ από τα δείγματα στα οποία ανιχνεύθηκαν παρασιτοκτόνα σε ποσοστό 25,97 % τα αγροχημικά που ανιχνεύθηκαν ήταν κάτω από το όριο ποσοτικοποίησης. Τα δείγματα στα οποία ανιχνεύθηκαν συγκεντρώσεις αγροχημικών αρκετές ώστε να μπορούν να ποσοτικοποιηθούν αντιστοιχούν σε ποσοστό 38,71 % του συνόλου των δειγμάτων που αναλύθηκαν.
- Σε κανένα από τα δείγματα δεν παρατηρήθηκαν συγκεντρώσεις μεγαλύτερες του MRL.

Η ανάγκη για παραγωγή περισσότερων τροφίμων για τη διατροφή του αυξανόμενου ανθρώπινου πληθυσμού είναι πιθανό να αυξηθεί. Η συνέχιση της έντονης χρήσης αγροχημικών, συμπεριλαμβανομένων των φυτοφαρμάκων και κατ' επέκταση η μόλυνση των τροφίμων και του

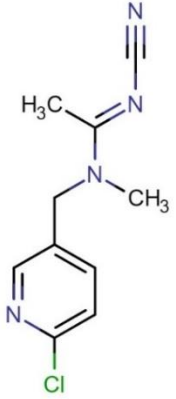
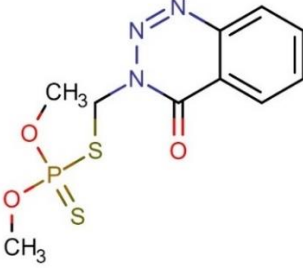
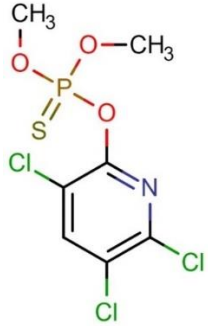
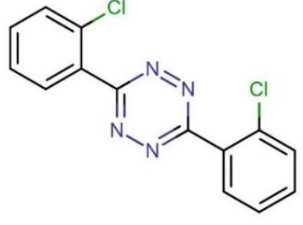
περιβάλλοντος με τοξικές χημικές ουσίες που επηρεάζουν τη δημόσια υγεία για αρκετές ανθρώπινες γενιές θεωρείται απαγορευτική.

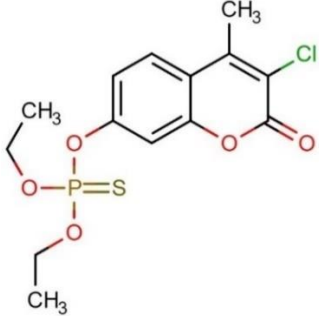
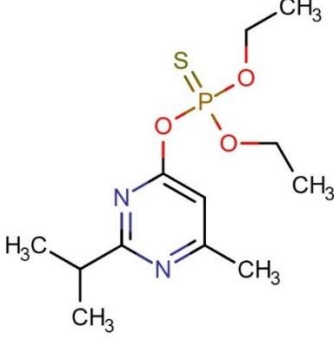
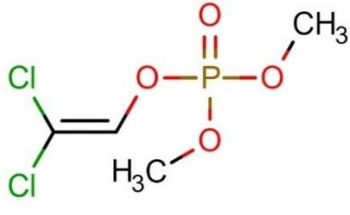
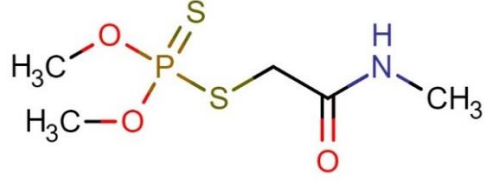
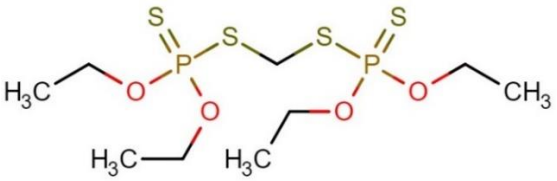
Η γεωργία και η εντατική παραγωγή τροφίμων ενδέχεται να μην καταργήσουν τη χρήση των σημερινών αγροχημικών προϊόντων τα επόμενα χρόνια. Εν τω μεταξύ, θα μπορούσαν να εισαχθούν διάφορα μέτρα για τον καλύτερο μετριασμό των παράπλευρων επιπτώσεών τους. Για παράδειγμα, η εισαγωγή της εφαρμογής των αγροχημικών με ακρίβεια (καθώς και της άρδευσης ακριβείας) θα μπορούσε να μειώσει την ποσότητα των χημικών ουσιών (και του νερού) που εφαρμόζεται στα χωράφια. Επιπρόσθετα, η εφαρμογή της ανάκτησης και επεξεργασίας μολυσμένων γεωργικών απορροών με τοποθέτηση λωρίδων υγροτόπων κατάλληλων για τον καθαρισμό της απορροής και της αποστράγγισης του νερού και οι ενδεδειγμένες δοκιμές τοξικότητας και η σωστή καταχώριση χημικών ουσιών και σκευασμάτων είναι ορισμένα βιώσιμα μέτρα. Άλλες εναλλακτικές επιλογές περιλαμβάνουν τη χρήση γενετικά τροποποιημένων οργανισμών για καλλιέργειες καλύτερης απόδοσης και καλλιέργειες ανθεκτικές στα παράσιτα, τη βιολογική γεωργία και την ανάπτυξη νέων ποικιλιών.

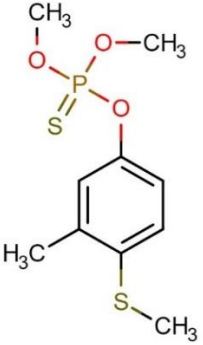
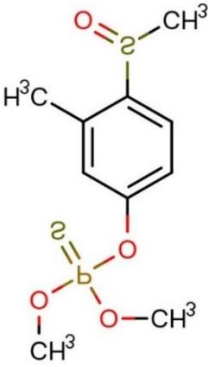
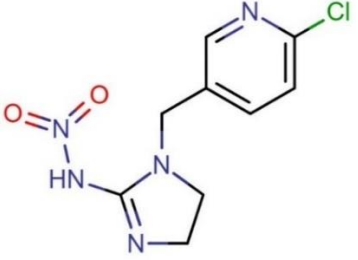
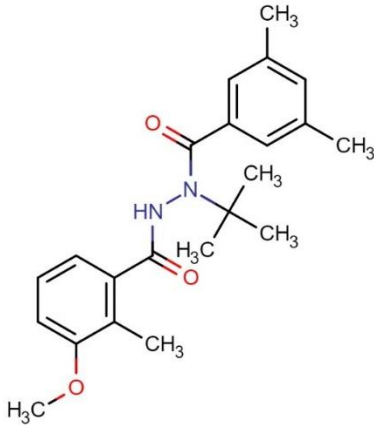
Είναι γενικώς αποδεκτό ότι απαιτείται εντατική έρευνα για μεγαλύτερη παραγωγή τροφίμων και παραγωγή τροφίμων καλύτερης ποιότητας. Ωστόσο, το παραγωγικό έδαφος είναι ένας πεπερασμένος πόρος (όπως το νερό) και, για να εξασφαλιστεί η συνεχής παραγωγή τροφίμων, η γεωργία πρέπει να συμβαδίζει με τη διατήρηση του εδάφους και των οικοσυστημάτων, την αποκατάσταση και τη έρευνα για ποικιλίες αποδοτικά καλύτερες. Ως εκ τούτου, είναι επείγον να επιτευχθεί μια γενικευμένη συμφωνία για την εφαρμογή φυτοφαρμάκων και την υιοθέτηση καλών γεωργικών πρακτικών.

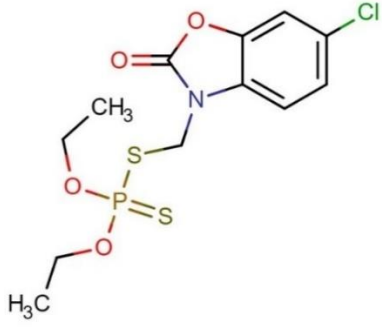
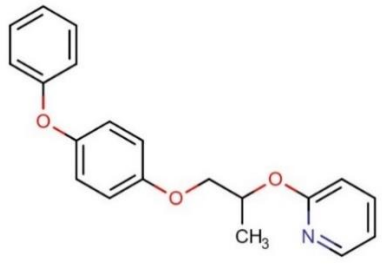
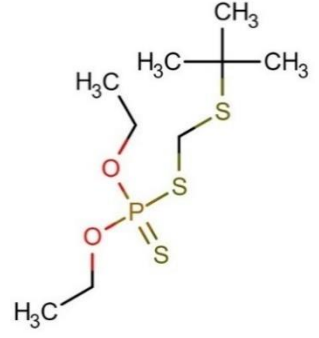
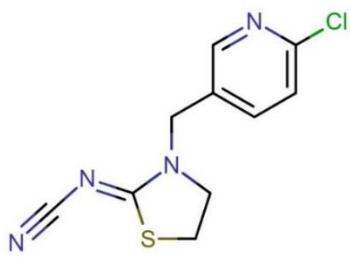
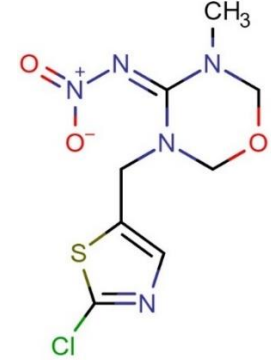
Η ευαισθητοποίηση των καταναλωτών για τα χημικά υπολείμματα στα τρόφιμα δημιούργησε τη ζήτηση για καθαρά τρόφιμα. Ως εκ τούτου, απαιτείται συστηματική εφαρμογή της αρχής της προφύλαξης στην εισαγωγή και εφαρμογή των φυτοφαρμάκων. Αυτό απαιτεί ενδεδειγμένη αξιολόγηση κινδύνου της τοξικότητας των χημικών ουσιών για το περιβάλλον και τον άνθρωπο.

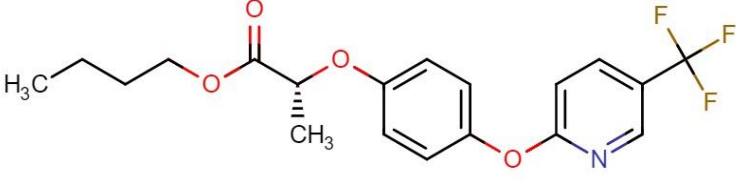
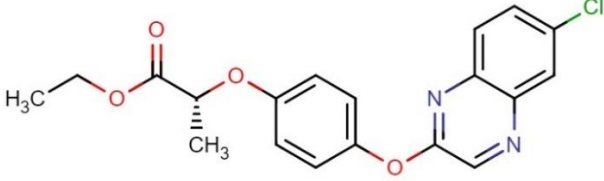
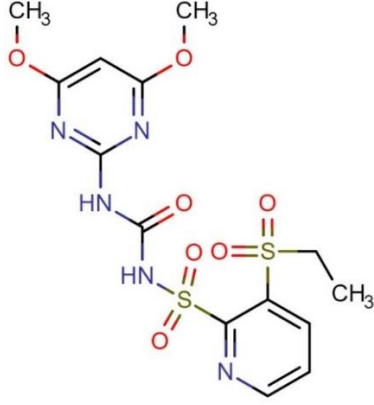
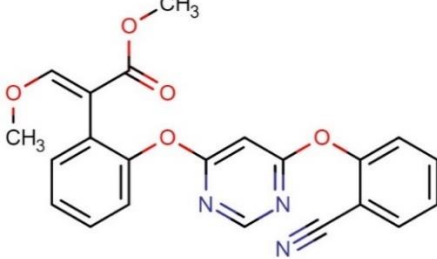
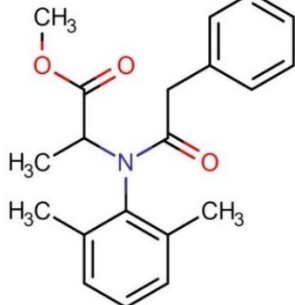
Παράρτημα Ι: Δομή επιλεγμένων φυτοφαρμάκων

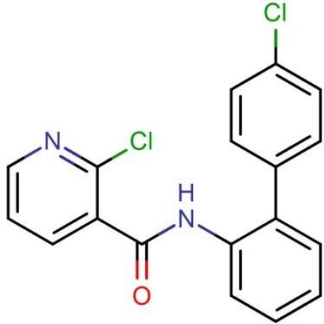
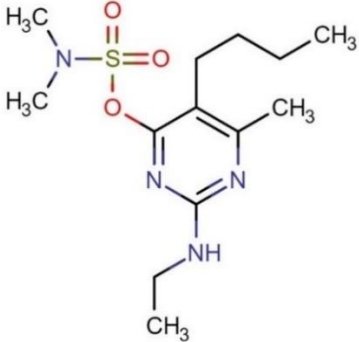
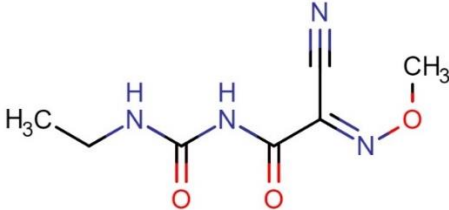
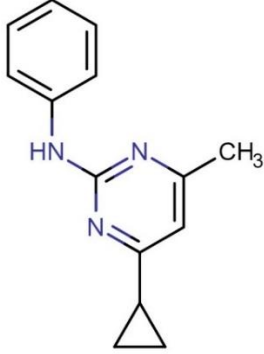
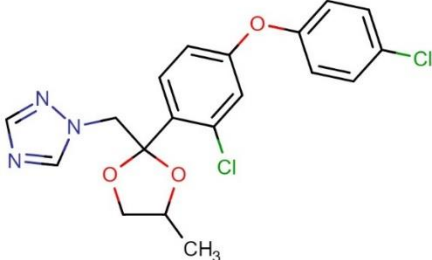
Ένωση	Δομή
Εντομοκτόνα	
Acetamiprid	
Azinphos-methyl	
Chlorpyrifos-methyl	
Clofentezine	

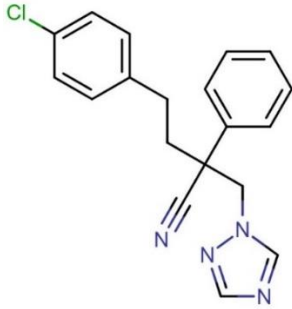
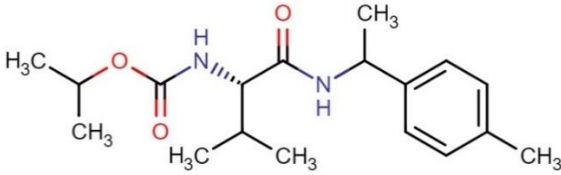

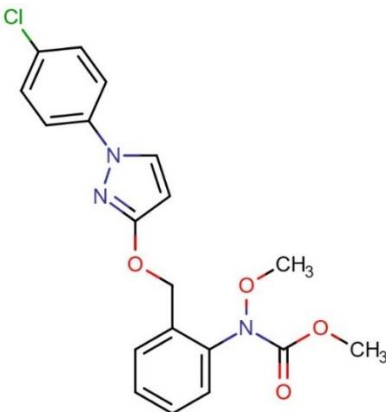
Ένωση	Δομή
Coumaphos	
Diazinon	
Dichlorvos	
Dimethoate	
Ethion	

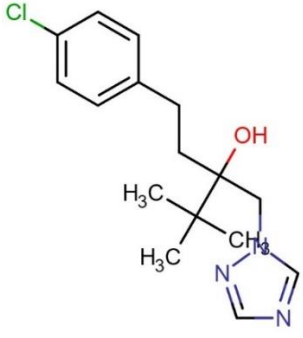
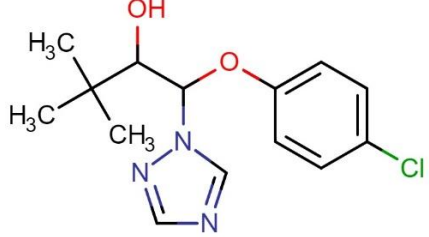
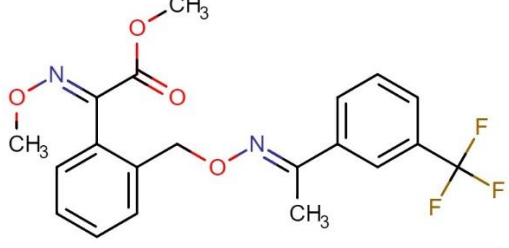
Ένωση	Δομή
Fenthion	
Fenthion sulfoxide	
Imidacloprid	
Methoxyfenozone	

Ένωση	Δομή
Phosalone	
Pyriproxyfen	
Terbufos	
Thiacloprid	
Thiamethoxam	

Ένωση	Δομή
Ζιζανιοκτόνα	
Fluazifop-p-butyl	
Quizalofop-p-ethyl	
Rimsulfuron	
Μυκητοκτόνα	
Azoxystrobin	
Benalaxyl	

Ένωση	Δομή
Boscalid	
Bupirimate	
Cymoxanil	
Cyprodinil	
Difenoconazole	

Ένωση	Δομή
Fenbuconazole	 <p>The structure of Fenbuconazole consists of a central carbon atom bonded to a 4-chlorophenyl group, a phenyl ring, a nitrile group (-C≡N), and a 1H-imidazole ring.</p>
Iprovalicarb	 <p>The structure of Iprovalicarb is a cyclic beta-lactam derivative. It features a central six-membered ring with a carbonyl group and a nitrogen atom. The nitrogen is substituted with a 1-hydroxypropan-2-yl group. The ring also has methyl groups at the 2 and 5 positions and a 4-methylphenyl group at the 3 position.</p>
Metalaxyl	 <p>The structure of Metalaxyl is a substituted benzamide. It features a central benzene ring with methyl groups at the 2 and 6 positions. The nitrogen atom is substituted with a methyl group and a 2-methoxyethyl group. The carbonyl group is also substituted with a methyl group and a methoxy group.</p>
Pyraclostrobin	 <p>The structure of Pyraclostrobin is a pyrazole derivative. It features a central pyrazole ring with a chlorine atom at the 4-position. The pyrazole ring is substituted at the 1-position with a 4-chlorophenyl group and at the 3-position with a methoxy group. The methoxy group is further substituted with a 2-methoxyethyl group.</p>

Ένωση	Δομή
Tebuconazole	
Triadimenol	
Trifloxystrobin	

*Όλες οι δομές προήλθαν από: <https://chemicalize.com/welcome>

Βιβλιογραφία

- [1] C. I. Kosma, O. L. Koloka, T. A. Albanis, and I. K. Konstantinou, "Accurate mass screening of pesticide residues in wine by modified QuEChERS and LC-hybrid LTQ/Orbitrap-MS," *Food Chem.*, vol. 360, Oct. 2021, doi: 10.1016/j.foodchem.2021.130008.
- [2] UN, "World Population Prospects The 2004 Revision. Highlights." Population Division, Department of Economic and Social Affairs. United Nations, NY, New York, 2005.
- [3] F. P. Carvalho, "Agriculture, pesticides, food security and food safety," *Environmental Science and Policy*, vol. 9, no. 7–8. pp. 685–692, Nov. 2006, doi: 10.1016/j.envsci.2006.08.002.
- [4] M. Taylor, S. Klaine, F. P. Carvalho, D. Barcelo, and J. Everaarts, *Pesticide Residues in Coastal Tropical Ecosystems. Distribution, Fate and Effects*, 1st ed. London: Taylor & Francis, 2003.
- [5] C. A. Harris, "The regulation of pesticides in Europe - Directive 91/414," *J. Environ. Monit.*, vol. 4, no. 2, pp. 28–31, Mar. 2002, doi: 10.1039/b202153f.
- [6] EEA, "Environment and Health. European Environment Agency, EEA Report No. 10." 2005.
- [7] F. P. Carvalho, "Residues of persistent organic pollutants in coastal environments-a review," in *Proceedings of the First International Conference on Coastal Conservation and Management in the Atlantic and Mediterranean (ICCCM '05)*, F. V. Gomes, F. T. Pinto, L. Neves, O. Sena, and O. Ferreira, Eds. Tavira, Portugal: FEUP, Universidade de Porto, 2005, pp. 423–431.
- [8] UNEP, "Geo Yearbook - An overview of our changing environment," *Geo Year Book 2004/5*. p. 98, 2005, [Online]. Available: www.unep.org/geo/yearbook.
- [9] J. Pelley, "DDT's legacy lasts for many decades," *J. Environ. Sci. Technol.*, vol. 40, no. 15, pp. 4533–4534, 2006.
- [10] Eurostat, "346.000 tonnes of pesticides sold in 2020 in the EU," 2020. <https://ec.europa.eu/eurostat/web/products-eurostat-news/-/ddn-20220502-1>.
- [11] M. Stoytcheva, *Pesticides - Formulations, Effects, Fate*. INTECH, 2011.
- [12] R. C. Gilden, K. Huffling, and B. Sattler, "Pesticides and Health Risks," *J. Obstet. Gynecol. Neonatal Nurs.*, vol. 39, no. 1, pp. 103–110, Jan. 2010, doi: 10.1111/j.1552-6909.2009.01092.x.
- [13] EFSA, "The 2014 European Union Report on Pesticide Residues in Food," *EFSA J.*, vol. 14, no. 10, p. e04611, Oct. 2016, doi: 10.2903/j.efsa.2016.4611.
- [14] F. P. Carvalho, "Pesticides, environment, and food safety," *Food and Energy Security*, vol. 6, no. 2. Wiley-Blackwell Publishing Ltd, pp. 48–60, May 01, 2017, doi: 10.1002/fes3.108.
- [15] EEA, "Late lessons from early warnings: science, precaution, innovation," *Eur. Environ. Agency, Rep. no 1/2013. EEA, Copenhagen*, vol. 15, no. 4, p. S113, Jul. 2013, doi: 10.1097/00001648-200407000-00286.
- [16] OECD, "Descriptions of selected key generic terms used in chemical hazard/risk assessment," *OECD Series on Testing and Assessment, No. 44*, no. 44. pp. 1–92, 2003, [Online]. Available: [http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=ENV/JM/MONO\(2](http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=ENV/JM/MONO(2)

003)15&docLanguage=En.

- [17] J. Holland and P. Sinclair, "Environmental fate of pesticides and the consequences for residues in food and drinking water," in *Pesticide Residues in Food and Drinking Water: Human Exposure and Risks*, West Sussex, England: Willey & Sons LTD, 2004, pp. 27–62.
- [18] P. T. Holland, "Effects of storage and processing on pesticide residues in plant products," *Pure and Applied Chemistry*, vol. 66, no. 2. pp. 335–356, 1994, doi: 10.1351/pac199466020335.
- [19] N. Yigit and Y. S. Velioglu, "Effects of processing and storage on pesticide residues in foods," *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, vol. 60, no. 21, pp. 3622–3641, Nov. 2020, doi: 10.1080/10408398.2019.1702501.
- [20] L. Y. Heng, L. Ooi, I. C. Mori, and D. Futra, "Environmental Toxicity and Evaluation," in *Environmental Risk Analysis for Asian-Oriented, Risk-Based Watershed Management*, Singapore: Springer Singapore, 2018, pp. 71–94.
- [21] WHO, "Guidelines for predicting dietary intake of pesticide residues." WHO, Switzerland, p. 41, 1997.
- [22] D. Hamilton *et al.*, "Pesticide residues in food-acute dietary exposure," *Pest Manag. Sci.*, vol. 60, no. 4, pp. 311–339, Apr. 2004, doi: 10.1002/ps.865.
- [23] J. L. Tadeo, *Analysis of pesticides in food and environmental samples*. 2008.
- [24] Food and Agriculture Organization of the United Nations, *International Code of Conduct on the Distribution and Use of Pesticides*. 2010.
- [25] R. Carson, *Silent Spring*. Boston, MA: The Riverside Press, 1962.
- [26] ECPA, "European Crop Protection Association (ECPA) Annual Report 2001-2002," Brussels, Belgium, 2002.
- [27] Michael. A. Kamrin, *Pesticides Profile (Toxicity, Environmental Impact, and Fate)*. 2010.
- [28] C. Tomlin, *The Pesticide Manual*. Farnham, Surrey, UK: British Crop Protection Council, 2000.
- [29] R. White-Stevens, *Pesticides in the Environment*. Marcel Dekker, 1971.
- [30] J. Stenersen, *Chemical Pesticides Mode of Action and Toxicology*. CRC Press, 2004.
- [31] A. G. Hornsby, A. E. Herner, and R. D. Wauchope, *Pesticide Properties in the Environment*. New York: Springer-Verlag, 1996.
- [32] D. H. Hutson and T. R. Roberts, *Herbicides: Progress in Pesticide Biochemistry and Toxicology*. Chichester, UK: John Wiley & Sons, 1987.
- [33] G. Matolcsy, M. Nádas, and V. Andriská, *Pesticide Chemistry*. Amsterdam: Elsevier, 1989.
- [34] F. P. W. Winteringham, "Some global aspects of pesticide residue problems," *Isr. J. Entomol.*, vol. 6, no. 2, pp. 171–181, 1971.
- [35] G. T. Miller and S. Spoolman, *Sustaining the Earth*, 10th ed. Brooks Cole, 2011.
- [36] L. A. McCauley, W. K. Anger, M. Keifer, R. Langley, M. G. Robson, and D. Rohlman, "Studying Health Outcomes in Farmworker Populations Exposed to Pesticides," *Environ. Health Perspect.*, vol. 114, no. 6, pp. 953–960, Jun. 2006, doi: 10.1289/ehp.8526.

- [37] J. L. Tadeo, Ed., *Analysis of pesticides in food and environmental samples*. CRC Press, 2008.
- [38] EC, "Directive 2009/128/EC establishing a framework for Community action to achieve the sustainable use of pesticides," *Off. J. Eur. Union*, vol. 309/71, 2009.
- [39] EC, "Council Directive 90/642/EEC on the fixing of maximum levels for pesticide residues in and on certain products of plant origin, including fruit and vegetables," *Off. J. Eur. Communities*, vol. 350/71, 1990.
- [40] EC, "Council Directive 79/117/EEC prohibiting the placing on the market and use of plant protection products containing certain active substances," *Off. J. Eur. Communities*, vol. 33/36, 1978.
- [41] EC, "Commission Directive 2002/63/EC establishing Community methods of sampling for the official control of pesticide residues in and on products of plant and animal origin and repealing Directive 79/700/EEC," *Off. J. Eur. Communities*, vol. 187/30, 2002.
- [42] EC, "Regulation (EC) No 1185/2009 of the European Parliament and of the Council concerning statistics on pesticides," *Off. J. Eur. Union*, vol. 324/1, 2009.
- [43] EC, "Regulation (EC) No 1272/2008 on classification, labelling and packaging of substances and mixtures, amending and repealing Directives 67/548/EEC and 1999/45/EC, and amending Regulation (EC) No 1907/2006," *Off. J. Eur. Union*, vol. 353/1, 2008.
- [44] EC, "Commission Regulation (EC) 396/2005 on maximum residue levels of pesticides in or on food and feed of plant and animal origin," *Off. J. Eur. Union*, vol. 70/1, 2005.
- [45] EC, "Regulation (EC) No 1107/2009 of the European Parliament and of the Council concerning the placing of plant protection products on the market and repealing Council Directives 79/117/EEC and 91/414/EEC," *Off. J. Eur. Union*, vol. 309/1, 2009.
- [46] G. J. Soleas, E. P. Diamandis, and D. M. Goldberg, "Wine as a biological fluid: History, production, and role in disease prevention," *J. Clin. Lab. Anal.*, vol. 11, no. 5, pp. 287–313, May 1997, doi: 10.1002/(SICI)1098-2825(1997)11:5<287::AID-JCLA6>3.0.CO;2-4.
- [47] P. E. McGovern, D. L. Glusker, L. J. Exner, and M. M. Voigt, "Neolithic resinated wine," *Nature*, vol. 381, no. 6582, pp. 480–481, Jun. 1996, doi: 10.1038/381480a0.
- [48] D. Zohary, M. Hopf, and E. Weiss, *Domestication of Plants in the Old World*. Oxford University Press, 2012.
- [49] E. Martin, "Wine Encyclopedia." Global Media, Chandni Chowk, Delhi, pp. 1–155, 2009.
- [50] H. J. Phaff and M. A. Amerine, "Wine," in *Microbial Technology*, Elsevier, 1979, pp. 131–153.
- [51] G. M. Walker, "Wines: Microbiology of Winemaking," *Encyclopedia of Food Microbiology: Second Edition*. pp. 787–792, 2014, doi: 10.1016/B978-0-12-384730-0.00356-6.
- [52] M. A. Amerine and B. E. Roessler, "Composition of wines," in *Wines: Their Sensory Evaluation*, Enlarged., W H Freeman & Co, 1983, pp. 67–80.
- [53] D. C. Crippen and J. C. Morrison, "The Effects of Sun Exposure on the Phenolic Content of Cabernet Sauvignon Berries During Development," *Am. J. Enol. Vitic.*, vol. 37, pp. 243–247, 1986.
- [54] J. Ribéreau-Gayon, P. Ribéreau-Gayon, and G. Seguin, "Botrytis cinerea in enology," in *Biology*

- of *Botrytis*, J. R. Coley-Smith, K. Verhoeff, and W. R. Jarvis, Eds. London: Academic Press, 1980, pp. 251–274.
- [55] A. A. Williams and P. R. Rosser, "Aroma enhancing effects of ethanol," *Chem. Senses*, vol. 6, pp. 149–153, 1981.
- [56] B. Gnekow and C. S. Ough, "Methanol in Wines and Musts: Source and Amounts," *Am. J. Enol. Vitic.*, vol. 27, pp. 1–6, 1976.
- [57] A. Rapp and H. Mandery, "Wine aroma," *Experientia*, vol. 42, no. 8, pp. 873–884, Aug. 1986, doi: 10.1007/BF01941764.
- [58] R. Hornedo-Ortega, M. Reyes González-Centeno, K. Chira, M. Jourdes, and P.-L. Teissedre, "Phenolic Compounds of Grapes and Wines: Key Compounds and Implications in Sensory Perception," in *Chemistry and Biochemistry of Winemaking, Wine Stabilization and Aging*, IntechOpen, 2021.
- [59] R. Ryan, "Safety of Food and Beverages: Alcoholic Beverages," *Encyclopedia of Food Safety*, vol. 3. pp. 364–370, 2014, doi: 10.1016/B978-0-12-378612-8.00432-7.
- [60] R. B. Boulton, V. L. Singleton, L. F. Bisson, and R. E. Kunkee, *Principles and Practices of Winemaking*. New York: Chapman & Hall, 1996.
- [61] V. K. Joshi, *Concise Encyclopedia of Science and Technology of Wine*. Boca Raton: CRC Press, 2021.
- [62] P. S. Nigam, "Wines: Production of Special Wines," *Encyclopedia of Food Microbiology: Second Edition*. pp. 793–799, 2014, doi: 10.1016/B978-0-12-384730-0.00358-X.
- [63] A. A. de Lorimier, "Alcohol, wine, and health," *Am. J. Surg.*, vol. 180, no. 5, pp. 357–361, Nov. 2000, doi: 10.1016/S0002-9610(00)00486-4.
- [64] P. Galet, *A Practical Ampelography: Grapevine Identification*, 2nd editio. Comstock, Ithaca, NY: LT Morton, 1980.
- [65] EC, "Council Regulation (EC) No 479/2008 of 29 April 2008 on the common organisation of the market in wine, amending Regulations (EC) No 1493/1999, (EC) No 1782/2003, (EC) No 1290/2005, (EC) No 3/2008 and repealing Regulations (EEC) No 2392/86 and (EC) No 1493," *Off. J. Eur. Union*, vol. 148, pp. 1–61, 2008.
- [66] EC, "Commission regulation (EC) No 607/2009 of 14 July 2009 laying down certain detailed rules for the implementation of Council Regulation (EC) No 479/2008 as regards protected designations of origin and geographical indications, traditional terms, labelling," *Off. J. Eur. Union*, vol. 193, pp. 60–139, 2009.
- [67] S. H. Patil *et al.*, "Multiresidue analysis of 83 pesticides and 12 dioxin-like polychlorinated biphenyls in wine by gas chromatography–time-of-flight mass spectrometry," *J. Chromatogr. A*, vol. 1216, no. 12, pp. 2307–2319, Mar. 2009, doi: 10.1016/j.chroma.2009.01.091.
- [68] R. Flamini, "Mass spectrometry in grape and wine chemistry. Part I: Polyphenols," *Mass Spectrom. Rev.*, vol. 22, no. 4, pp. 218–250, Jul. 2003, doi: 10.1002/mas.10052.
- [69] P. Caboni and P. Cabras, "Pesticides' Influence on Wine Fermentation," 2010, pp. 43–62.
- [70] G. T. Bakırcı and Y. Hışıl, "Fast and simple extraction of pesticide residues in selected fruits and vegetables using tetrafluoroethane and toluene followed by ultrahigh-performance liquid

- chromatography/tandem mass spectrometry," *Food Chem.*, vol. 135, no. 3, pp. 1901–1913, Dec. 2012, doi: 10.1016/j.foodchem.2012.06.051.
- [71] S. Grimalt and P. Dehouck, "Review of analytical methods for the determination of pesticide residues in grapes," *J. Chromatogr. A*, vol. 1433, pp. 1–23, Feb. 2016, doi: 10.1016/j.chroma.2015.12.076.
- [72] W. J. Bentley, "The integrated control concept and its relevance to current integrated pest management in California fresh market grapes," *Pest Manag. Sci.*, vol. 65, no. 12, pp. 1298–1304, Dec. 2009, doi: 10.1002/ps.1840.
- [73] A. Kabir, M. Locatelli, and H. Ulusoy, "Recent Trends in Microextraction Techniques Employed in Analytical and Bioanalytical Sample Preparation," *Separations*, vol. 4, no. 4, p. 36, Dec. 2017, doi: 10.3390/separations4040036.
- [74] V. Samanidou, "Trends in Microextraction Techniques for Sample Preparation," *Separations*, vol. 5, no. 1, p. 1, Dec. 2017, doi: 10.3390/separations5010001.
- [75] J. Pawliszyn and H. L. Lord, Eds., *Handbook of Sample Preparation*. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc., 2010.
- [76] A. Kabir, R. Mesa, J. Jurmain, and K. Furton, "Fabric Phase Sorptive Extraction Explained," *Separations*, vol. 4, no. 2, p. 21, Jun. 2017, doi: 10.3390/separations4020021.
- [77] S. Armenta, S. Garrigues, and M. de la Guardia, "The role of green extraction techniques in Green Analytical Chemistry," *TrAC Trends Anal. Chem.*, vol. 71, pp. 2–8, Sep. 2015, doi: 10.1016/j.trac.2014.12.011.
- [78] A. Azzouz *et al.*, "Review of nanomaterials as sorbents in solid-phase extraction for environmental samples," *TrAC Trends Anal. Chem.*, vol. 108, pp. 347–369, Nov. 2018, doi: 10.1016/j.trac.2018.08.009.
- [79] S. Mitra, *Sample Preparation Techniques in Analytical Chemistry*. Hoboken, New Jersey.: John Wiley & Sons, Inc., 2003.
- [80] A. Samsidar, S. Siddiquee, and S. M. Shaarani, "A review of extraction, analytical and advanced methods for determination of pesticides in environment and foodstuffs," *Trends in Food Science and Technology*, vol. 71, pp. 188–201, 2018, doi: 10.1016/j.tifs.2017.11.011.
- [81] Q. Liu, J. Shi, and G. Jiang, "Application of graphene in analytical sample preparation," *TrAC Trends Anal. Chem.*, vol. 37, pp. 1–11, Jul. 2012, doi: 10.1016/j.trac.2012.03.011.
- [82] U. Telgheder, N. Bader, and N. Alshelmani, "Stir bar sorptive extraction as a sample preparation technique for chromatographic analysis: An overview," *Asian J. Nanosci. Mater.*, vol. 1, no. 2, pp. 56–62, 2018, doi: 10.26655/ajnanomat.2018.3.2.
- [83] A. R. Fontana, A. Camargo, L. D. Martinez, and J. C. Altamirano, "Dispersive solid-phase extraction as a simplified clean-up technique for biological sample extracts. Determination of polybrominated diphenyl ethers by gas chromatography–tandem mass spectrometry," *J. Chromatogr. A*, vol. 1218, no. 18, pp. 2490–2496, May 2011, doi: 10.1016/j.chroma.2011.02.058.
- [84] M. Anastassiades, S. J. Lehotay, D. Štajnbaher, and F. J. Schenck, "Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and 'dispersive solid-phase extraction' for the determination of pesticide residues in produce," *J. AOAC Int.*, vol. 86, no. 2, pp. 412–

- 431, 2003, doi: 10.1093/jaoac/86.2.412.
- [85] R. Perestrelo *et al.*, “QuEChERS - Fundamentals, relevant improvements, applications and future trends,” *Anal. Chim. Acta*, vol. 1070, pp. 1–28, 2019, doi: 10.1016/j.aca.2019.02.036.
- [86] L. Kim, D. Lee, H. K. Cho, and S. D. Choi, “Review of the QuEChERS method for the analysis of organic pollutants: Persistent organic pollutants, polycyclic aromatic hydrocarbons, and pharmaceuticals,” *Trends Environ. Anal. Chem.*, vol. 22, 2019, doi: 10.1016/j.teac.2019.e00063.
- [87] F. J. Schenck, P. Callery, P. M. Gannett, J. R. Daft, and S. J. Lehotay, “Comparison of magnesium sulfate and sodium sulfate for removal of water from pesticide extracts of foods,” *J. AOAC Int.*, vol. 85, no. 5, pp. 1177–1180, 2002, doi: 10.1093/jaoac/85.5.1177.
- [88] S. J. Lehotay *et al.*, “Determination of pesticide residues in foods by acetonitrile extraction and partitioning with magnesium sulfate: Collaborative study,” *J. AOAC Int.*, vol. 90, no. 2, pp. 485–520, 2007.
- [89] T. Rejczak and T. Tuzimski, “A review of recent developments and trends in the QuEChERS sample preparation approach,” *Open Chemistry*, vol. 13, no. 1. De Gruyter Open Ltd, pp. 980–1010, 2015, doi: 10.1515/chem-2015-0109.
- [90] R. E. Majors, “QuEChERS - A new technique for multiresidue analysis of pesticides in foods and agricultural samples,” *LC GC Eur.*, vol. 25, no. 5, pp. 436–446, 2007.
- [91] S. J. Lehotay, M. Anastassiades, and R. E. Majors, “The QuEChERS Revolution,” *LC GC Eur.*, vol. 23, no. 9, 2010.
- [92] A. Wilkowska and M. Biziuk, “Determination of pesticide residues in food matrices using the QuEChERS methodology,” *Food Chem.*, vol. 125, no. 3, pp. 803–812, Apr. 2011, doi: 10.1016/j.foodchem.2010.09.094.
- [93] V. R. Meyer, “CHROMATOGRAPHY | Principles,” in *Encyclopedia of Analytical Science*, Elsevier, 2005, pp. 98–105.
- [94] D. A. Skoog, F. J. Holler, and S. R. Crouch, *Principles of Instrumental Analysis*, 6th editio. Brooks/Cole Publishing Co., 2007.
- [95] D. S. Hage, “Chromatography,” in *Principles and Applications of Clinical Mass Spectrometry*, Elsevier, 2018, pp. 1–32.
- [96] S. H. Hansen, P. Helboe, and U. Lund, “Chapter 4.4. Adsorption and partition chromatography,” 1984, pp. 167–204.
- [97] K. Robards, P. R. Haddad, and P. E. Jackson, “High-performance Liquid Chromatography—Separations,” in *Principles and Practice of Modern Chromatographic Methods*, Elsevier, 2004, pp. 305–380.
- [98] P. Jandera, “Comparison of various modes and phase systems for analytical HPLC,” 2020, pp. 1–91.
- [99] D. S. Hage, “Chromatography,” in *Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, Sixth Edition*, 6th editio., Elsevier Inc., 2018, pp. 266–294.
- [100] Y. Sun, Q.-H. Shi, L. Zhang, G.-F. Zhao, and F.-F. Liu, “Adsorption and Chromatography,” in *Comprehensive Biotechnology*, Elsevier, 2011, pp. 665–679.

- [101] J. W. Dolan, "Column Care," *LC GC Eur.*, vol. 21, no. 12, pp. 624–627, 2008.
- [102] J. M. Miller, *Chromatography: Concepts and Contrasts*, 2nd editio. John Wiley & Sons, 2009.
- [103] N. A. Parris, "Instrumental liquid chromatography - A practical manual on high-performance liquid chromatographic methods," 2nd editio., Elsevier Science Ltd, 2000.
- [104] G. Kaklamanos, E. Aprea, and G. Theodoridis, "Mass Spectrometry," in *Chemical Analysis of Food: Techniques and Applications*, Elsevier, 2012, pp. 249–283.
- [105] E. De Hoffmann and V. Stroobant, *Mass Spectrometry. Principles and Applications*, 3rd editio. John Wiley & Sons, Ltd, 2007.
- [106] S. Banerjee and S. Mazumdar, "Electrospray Ionization Mass Spectrometry: A Technique to Access the Information beyond the Molecular Weight of the Analyte," *Int. J. Anal. Chem.*, vol. 2012, pp. 1–40, 2012, doi: 10.1155/2012/282574.
- [107] J. H. Gross, *Mass Spectrometry*. Cham: Springer International Publishing, 2017.
- [108] A. El-Aneed, A. Cohen, and J. Banoub, "Mass Spectrometry, Review of the Basics: Electrospray, MALDI, and Commonly Used Mass Analyzers," *Appl. Spectrosc. Rev.*, vol. 44, no. 3, pp. 210–230, Apr. 2009, doi: 10.1080/05704920902717872.
- [109] L. Berdié *et al.*, "Basics of Mass Spectrometry," in *Handbook of instrumental techniques for materials, chemical and biosciences research*, J. R. Seoane and X. Llovet, Eds. Centres Científics i Tecnològics Universitat de Barcelona, 2012, pp. 168–176.
- [110] S. N. Thomas, "Mass spectrometry," in *Contemporary Practice in Clinical Chemistry*, Elsevier, 2019, pp. 171–185.
- [111] J. P. Savaryn, T. K. Toby, and N. L. Kelleher, "A researcher's guide to mass spectrometry-based proteomics," *Proteomics*, vol. 16, no. 18, pp. 2435–2443, Sep. 2016, doi: 10.1002/pmic.201600113.
- [112] J. T. Watson and O. D. Sparkman, *Introduction to Mass Spectrometry*. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd, 2007.
- [113] R. Sleeman and J. F. Carter, "MASS SPECTROMETRY | Overview," in *Encyclopedia of Analytical Science*, Elsevier, 2005, pp. 337–344.
- [114] R. Ferreira do Nascimento, *Advances in Chromatographic Analysis*. Avid Science, 2017.
- [115] C. D. PubChem, "Acetamiprid," *United States National Library of Medicine – National Center for Biotechnology Information*, 2005.
<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Acetamiprid>.
- [116] D. R. Wallace, "Acetamiprid," in *Encyclopedia of Toxicology*, 3rd editio., Elsevier, 2014, pp. 30–32.
- [117] P. Jeschke, R. Nauen, and B. C. Ag, "Neonicotinoid Insecticides," in *Comprehensive Molecular Insect Science*, I. G. Lawrence, Ed. Chapel Hill, NC, USA: University of North Carolina, 2005.
- [118] C. D. PubChem, "Azinphos-methyl," *United States National Library of Medicine – National Center for Biotechnology Information*, 2022.
<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Azinphos-methyl>.

- [119] S. Karanth, "Azinphos-Methyl," in *Encyclopedia of Toxicology*, Elsevier, 2014, pp. 351–352.
- [120] P. P. P. DataBase, "Chlorpyrifos-methyl," *University of Hertfordshire*, 2022. <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/155.htm>.
- [121] P. P. P. DataBase, "Clofentezine," *University of Hertfordshire*, 2022. <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/167.htm>.
- [122] C. D. PubChem, "Coumaphos," *United States National Library of Medicine – National Center for Biotechnology Information*, 2022. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Coumaphos#section=LogP>.
- [123] K. A. Lewis, J. Tzilivakis, D. J. Warner, and A. Green, "An international database for pesticide risk assessments and management," *Hum. Ecol. Risk Assess. An Int. J.*, vol. 22, no. 4, pp. 1050–1064, May 2016, doi: 10.1080/10807039.2015.1133242.
- [124] C. D. PubChem, "Diazinon," *United States National Library of Medicine – National Center for Biotechnology Information*, 2022. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Diazinon#section=LogP>.
- [125] P. P. P. DataBase, "Dichlorvos," *University of Hertfordshire*, 2022. <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/220.htm>.
- [126] P. P. P. DataBase, "Dimethoate," *University of Hertfordshire*, 2022. <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/244.htm>.
- [127] P. P. P. DataBase, "Ethion," *University of Hertfordshire*, 2022. <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/276.htm>.
- [128] P. P. P. DataBase, "Fenthion," *University of Hertfordshire*, 2022. <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/310.htm>.
- [129] P. P. P. DataBase, "Fenthion sulfoxide," *University of Hertfordshire*, 2022. <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/799.htm>.
- [130] P. P. P. DataBase, "Methoxyfenozide," *University of Hertfordshire*, 2022. <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/461.htm>.
- [131] C. D. PubChem, "Phosalone," *United States National Library of Medicine – National Center for Biotechnology Information*, 2022. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Phosalone>.
- [132] I. Ishaaya and A. R. Horowitz, "Pyriproxyfen, a novel insect growth regulator for controlling whiteflies: Mechanisms and resistance management," *Pestic. Sci.*, vol. 43, no. 3, pp. 227–232, Mar. 1995, doi: 10.1002/ps.2780430308.
- [133] P. P. P. DataBase, "Pyriproxyfen," *University of Hertfordshire*, 2022. <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/574.htm>.
- [134] P. P. P. DataBase, "Terbufos," *University of Hertfordshire*, 2022. <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/621.htm>.
- [135] C. D. PubChem, "Thiacloprid," *United States National Library of Medicine – National Center for Biotechnology Information*, 2022. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Thiacloprid>.
- [136] FAO, "FAO Specifications and Evaluations for Agricultural Pesticides:Thiamethoxam," *Fao*. pp.

- 1–62, 2007.
- [137] C. D. PubChem, “Thiamethoxam,” *United States National Library of Medicine – National Center for Biotechnology Information*, 2022.
<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Thiamethoxam>.
- [138] P. P. P. DataBase, “Fluazifop-p-butyl,” *University of Hertfordshire*, 2022.
<http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/323.htm>.
- [139] L. J. PRICE, D. HERBERT, S. R. MOSS, D. J. COLE, and J. L. HARWOOD, “Graminicide insensitivity correlates with herbicide-binding co-operativity on acetyl-CoA carboxylase isoforms,” *Biochem. J.*, vol. 375, no. 2, pp. 415–423, Oct. 2003, doi: 10.1042/bj20030665.
- [140] P. P. P. DataBase, “Quizalofop-p-ethyl,” *University of Hertfordshire*, 2022.
<http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/583.htm>.
- [141] P. P. P. DataBase, “Rimsulfuron,” *University of Hertfordshire*, 2022.
<http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/586.htm>.
- [142] P. P. P. DataBase, “Azoxystrobin,” *University of Hertfordshire*, 2022. .
- [143] W. F. Becker, G. Von Jagow, T. Anke, and W. Steglich, “Oudemansin, strobilurin A, strobilurin B and myxothiazol: new inhibitors of the bc 1 segment of the respiratory chain with an E- β -methoxyacrylate system as common structural element,” *FEBS Lett.*, vol. 132, no. 2, pp. 329–333, Sep. 1981, doi: 10.1016/0014-5793(81)81190-8.
- [144] P. P. P. DataBase, “Benalaxyl,” *University of Hertfordshire*, 2022.
<http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/59.htm>.
- [145] P. P. P. DataBase, “Boscalid,” *University of Hertfordshire*, 2022.
<http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/86.htm>.
- [146] P. P. P. DataBase, “Bupirimate,” *University of Hertfordshire*, 2022.
<http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/99.htm>.
- [147] P. P. P. DataBase, “Carbendazim,” *University of Hertfordshire*, 2022.
<http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/116.htm>.
- [148] P. P. P. DataBase, “Cymoxanil,” *University of Hertfordshire*.
<http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/196.htm>.
- [149] P. P. P. DataBase, “Cyprodinil,” *University of Hertfordshire*, 2022.
<http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/199.htm>.
- [150] P. P. P. DataBase, “Difenoconazole,” *University of Hertfordshire*, 2022.
<http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/230.htm>.
- [151] V. Jankuloska, G. Pavlovska, T. Kalevska, and I. Karov, “Determination of fenbuconazole in apples (Golden Delicious) from different location.” 56th Science Conference of Ruse University, 2018, [Online]. Available: <https://conf.uni-ruse.bg/bg/docs/cp17/bp/bp-34.pdf>.
- [152] P. P. P. DataBase, “Fenbuconazole,” *University of Hertfordshire*, 2022.
<http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/293.htm>.
- [153] P. P. P. DataBase, “Iprovalicarb,” *University of Hertfordshire*, 2022.
<http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/404.htm>.

- [154] P. P. P. DataBase, "Metalaxyl," *University of Hertfordshire*, 2022. <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/444.htm>.
- [155] P. P. P. DataBase, "Myclobutanil," *University of Hertfordshire*, 2022. <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/478.htm>.
- [156] P. P. P. DataBase, "Pyraclostrobin," *University of Hertfordshire*, 2022. <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/564.htm>.
- [157] P. P. P. DataBase, "Tebuconazole," *University of Hertfordshire*, 2022. <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/610.htm>.
- [158] P. P. P. DataBase, "Triadimenol," *University of Hertfordshire*, 2022. <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/649.htm>.
- [159] P. P. P. DataBase, "Trifloxystrobin," *University of Hertfordshire*, 2022. <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/664.htm>.
- [160] E. Commission, "Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for pesticides residues analysis in food and feed," *SANTE/11813/2017*, pp. 1–46, 2017, [Online]. Available: https://www.eurl-pesticides.eu/userfiles/file/EurlALL/SANTE_11813_2017-fin.pdf.
- [161] E. Commission, "Analytical Quality Control and Method Validation for Pesticide Residues Analysis in Food and Feed," (*SANTE/12682/2019*), pp. 1–48, 2019, [Online]. Available: https://www.eurl-pesticides.eu/userfiles/file/EurlALL/AqcGuidance_SANTE_2019_12682.pdf.
- [162] European Commission, "Analytical quality control and method validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed SANTE 11312/2021," *Document N° SANTE 11945/2015*. pp. 1–57, 2021, [Online]. Available: https://www.eurl-pesticides.eu/userfiles/file/EurlALL/SANTE_11312_2021.pdf.