



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ

ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ

**Εφαρμογή μεθοδολογίας προσδιορισμού υπολειμμάτων
φυτοφαρμάκων σε αλεύρι με συνδυασμό εκχύλισης
QuEChERS-υγρής χρωματογραφίας φασματομετρίας
μάζας**

Μεταπτυχιακό Δίπλωμα Εξειδίκευσης

Αραπισόνογλου Ελευθερία

Χημικός

Ιωάννινα 2025

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα διπλωματική εργασία πραγματοποιήθηκε στο πλαίσιο του Προγράμματος Μεταπτυχιακών Σπουδών του τμήματος Χημείας, με κατεύθυνση «Αναλυτική Χημεία, Χημεία και Τεχνολογία Περιβάλλοντος και Τροφίμων». ταυτόχρονα, εκπονήθηκε στο εργαστήριο Βιομηχανικής Χημείας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.

Θα ήθελα να εκφράσω τις θερμές μου ευχαριστίες προς τον κ. Τριαντάφυλλο Αλμπάνη, Καθηγητή του εργαστηρίου Βιομηχανικής χημείας του Τμήματος Χημείας και επιβλέποντα καθηγητή της ερευνητικής εργασίας για την ανάθεση του θέματος, καθώς και για την καθοδήγηση, την συμπαράσταση και τις συμβουλές του κατά τη διάρκεια εκπόνησης και συγγραφής της συγκεκριμένης εργασίας.

Ευχαριστώ όλα τα μέλη και το προσωπικό του εργαστηρίου Βιομηχανικής Χημείας και ιδιαίτερα την Δρ. Τσούτση Χαρούλα για την καθοδήγηση και τις πολύτιμες συμβουλές της κατά τη διάρκεια εκπόνησης της έρευνας. Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω την Δρ. Μπότη Βασιλική και την Υποψήφια Διδάκτορα Συκαλιά Διονυσία για τη συμβολή τους στην ολοκλήρωση της παρούσας εργασίας.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες οφείλω στη μονάδα περιβαλλοντικής, οργανικής και βιομηχανικής ανάλυσης υψηλής ευκρίνειας Orbitrap – LC – MS του Πανεπιστημίου

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένειά μου για τη συνεχή στήριξη και την εμπιστοσύνη που μου έδειξαν όλα αυτά τα χρόνια. Η αγάπη, η υπομονή και η ενθάρρυνσή τους αποτέλεσαν για εμένα πολύτιμο στήριγμα καθ' όλη τη διάρκεια των σπουδών μου και της εκπόνησης της παρούσας εργασίας.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η παρουσία φυτοπροστατευτικών ενώσεων στο αλεύρι αποτελεί σημαντικό ζήτημα και καθιστά αναγκαία την εφαρμογή ευαίσθητων και αξιόπιστων αναλυτικών μεθόδων για τον έλεγχο της υπολειμματικότητάς τους. Το αυξανόμενο επιστημονικό ενδιαφέρον για το συγκεκριμένο αντικείμενο αποτυπώνεται στον συνεχώς μεγαλύτερο αριθμό ερευνητικών εργασιών που επικεντρώνονται στην εφαρμογή μεθόδων προσδιορισμού φυτοπροστατευτικών ουσιών σε αλεύρι.

Η εκπόνηση της παρούσας Μεταπτυχιακής Διατριβής πραγματοποιείται την εφαρμογή αναλυτικής μεθοδολογίας για τον προσδιορισμό επιλεγμένων φυτοπροστατευτικών ενώσεων στο αλεύρι με την χρήση της μεθόδου QuEChERS, για τον πολυυπολειμματικό προσδιορισμό 34 φυτοφαρμάκων. Η προετοιμασία των δειγμάτων πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο QuEChERS, η οποία διακρίνεται για τα χαρακτηριστικά ότι είναι γρήγορη, εύκολη, φθηνή, αποτελεσματική, ανθεκτική και ασφαλής και συνδυάστηκε με την υγρή χρωματογραφία υπερυψηλής απόδοσης-φασματομετρία μάζας- υψηλής ακρίβειας και διακριτικής ικανότητας (UHPLC Orbitrap-MS). Η αξιολόγηση της μεθόδου βασίστηκε στις βασικές παραμέτρους επικύρωσης, όπως την γραμμικότητα, την ανάκτηση, την επίδραση της μήτρας (ME), την επαναληψιμότητα και την αναπαραγωγικότητα, τα όρια ανίχνευσης (LOD) και ποσοτικοποίησης (LOQ). Η γραμμικότητα σε όλες τις περιπτώσεις εμφάνισε συντελεστές προσδιορισμού (R^2) μεγαλύτερους από 0,99. Οι τιμές ανάκτησης κυμάνθηκαν μεταξύ 82%-121%, ενώ τα όρια ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης προσδιορίστηκαν στα 0,001 ppm. Επιπλέον, οι τιμές της σχετικής τυπικής απόκλισης (%RSD) για την επαναληψιμότητα και την ενδοεργαστηριακή αναπαραγωγικότητα παρέμειναν, σχεδόν σε όλες τις περιπτώσεις, χαμηλότερες από το αποδεκτό όριο του 20%.

Η αναλυτική μέθοδος εφαρμόστηκε σε 58 δείγματα προερχόμενα από την τοπική αγορά των Ιωαννίνων. Η ανάλυση των δειγμάτων δεν ανέδειξε την παρουσία καμίας από τις 34 υπό μελέτη φυτοπροστατευτικές ουσίες, καθώς όλες βρέθηκαν κάτω από τα όρια ανίχνευσης της μεθόδου. Τα αποτελέσματα υποδεικνύουν ότι τα εξεταζόμενα δείγματα δεν περιείχαν ανιχνεύσιμα υπολείμματα των συγκεκριμένων φυτοφαρμάκων.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

A. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	8
Κεφάλαιο 1^ο: Αλεύρι και Πιθανοί Κίνδυνοι.....	8
1.1 Γενικά για τα σιτηρά	8
1.2 Γενικά για το αλεύρι.....	12
1.2.1 Κατηγορίες Αλεύρων	12
1.2.2 Παγκόσμια παραγωγή κι κατανάλωση αλεύρων.....	17
1.3 Ασθένειες και κίνδυνοι για τα δημητριακά	18
1.3.1 Ασθένειες σιτηρών	19
Κεφάλαιο 2: Υπολείμματα Φυτοφαρμάκων στο αλεύρι	20
2.1 Φυτοφάρμακα/Φυτοπροστατευτικές ενώσεις.....	20
2.1.1 Ορισμοί-Πληροφορίες.....	21
2.1.3 Ταξινομήσεις	22
2.1.4 Τοξικότητα	24
2.2 Φυτοφάρμακα στο αλεύρι	25
2.2.1 Επιτρεπόμενα φυτοπροστατευτικά στις καλλιέργειες σιτηρών.....	25
2.2 Επιπτώσεις στο περιβάλλον	27
2.3 Επιπτώσεις στην υγεία του ανθρώπου.....	28
2.4 Νομοθετικό πλαίσιο για τα φυτοφάρμακα	29
2.5 Μέγιστα Όρια Υπολειμμάτων (MRLs)	30
Κεφάλαιο 3^ο.....	32
3.1. Τεχνικές Εκχύλισης Φυτοφαρμάκων σε τρόφιμα	32
3.1.1 Εκχύλιση στερεάς φάσης (Solid Phase Extraction, SPE).....	34
3.1.2 Υγρή-υγρή εκχύλιση (Liquid-Liquid Extraction, LLE).....	35
3.1.3 QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe).....	36
3.2 Χρωματογραφικές τεχνικές προσδιορισμού υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων στο αλεύρι	40
3.3 Υβριδικός αναλυτής LTQ-Orbitrap.....	41
3.3.1 Πηγή ιόντων.....	42
3.4 Επικύρωση αναλυτικής μεθόδου.....	43
Σκοπός ερευνητικής εργασίας	43
B. Πειραματικό Μέρος.....	45
Κεφάλαιο 4: Επιλογή ενώσεων, υλικά & Μέθοδος	45
4.1 Επιλογή ενώσεων προς μελέτη.....	45

4.2 Υλικά – αντιδραστήρια – Σκεύη	58
4.2.1 Υλικά	58
4.2.2 Αντιδραστήρια.....	58
4.3 Οργανολογία.....	59
4.3.1 Συσκευές.....	59
4.3.2 LTQ/ORBITRAP	59
4.3.3 Χρωματογραφική ανάλυση	60
4.4 Δείγματα	60
4.4.1 Δείγματα για την ανάπτυξη των αναλυτικών μεθόδων	60
4.4.2 Εμβολιασμός δειγμάτων.....	61
4.5 Επικύρωση Μεθόδου	61
4.6 Επίδραση Μήτρας	63
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ	65
Κεφάλαιο 5: Επικύρωση της μεθόδου QuEChERS για την εκχύλιση των επιλεγμένων ενώσεων.....	65
5.1 Μέθοδοι.....	65
Κεφάλαιο 6: Ανίχνευση φυτοπροστατευτικών ενώσεων σε πραγματικά δείγματα.....	75
6.1. Επίπεδα συγκεντρώσεων φυτοπροστατευτικών ενώσεων σε πραγματικά δείγματα	75
6.2. Ύπαρξη φυτοπροστατευτικών ενώσεων σε δείγματα αλεύρου.....	77
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1.....	84
Alachlor	84
Atrazine	84
Azoxystrobin	84
Boscalid	84
Bupirimate	84
Carbaryl	85
Chlorpyrifos-methyl.....	85
Cyprodinil	85
Deltamethrin	85
Difenoconazole	85
Fenoxaprop-p.....	86
Florasulam	86
Fludioxonil	86
Flufenacet	86
Imazalil	86
Imidacloprid.....	86

Iodosulfuron-methyl	87
Iprovalicarb	87
Kresoxim-methyl	87
L-Cyhalothrin	87
Metalaxyl	87
Methoxy-fenozide	87
Metribuzin	88
Pyrimethalin	88
Pyraclostrobin	88
Pirimicarb	88
Tebuconazole	88
Trifloxystrobin	88
Spirotetramat	89
Γ. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	90

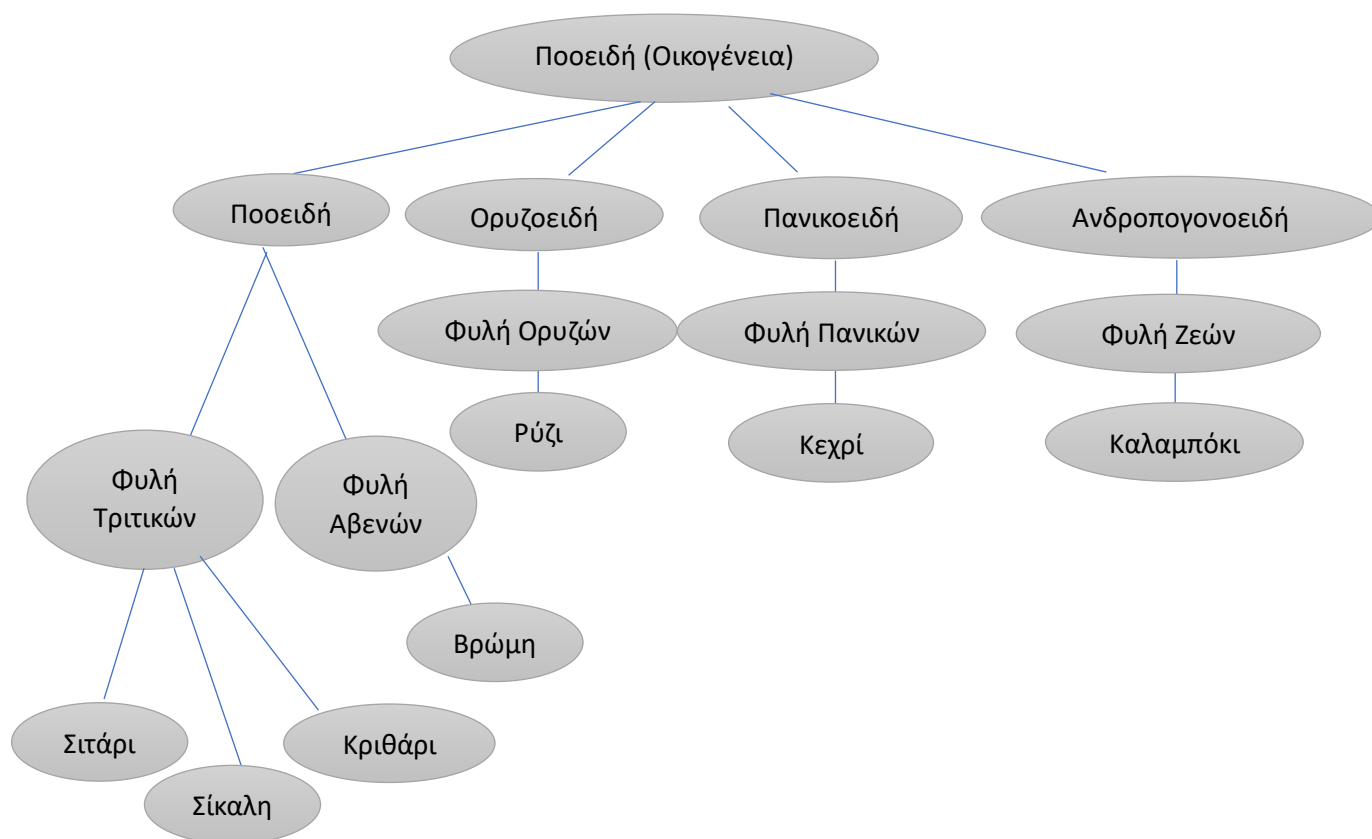
Α. ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Κεφάλαιο 1^ο: Αλεύρι και Πιθανοί Κίνδυνοι

1.1 Γενικά για τα σιτηρά

Τα σιτηρά συγκαταλέγονται μεταξύ των σημαντικότερων βασικών τροφίμων της ανθρωπότητας, καθώς περιέχουν θρεπτικά συστατικά (όπως υδατάνθρακες, πρωτεΐνες, βιταμίνες), που αντιστοιχούν στο ήμισυ της ημερήσιας απαιτούμενης ποσότητας, που χρειάζεται να προσλάβει ο οργανισμός, κυρίως από την κατανάλωση τροφίμων, με έμφαση στο ψωμί, ειδικά στις ανεπτυγμένες χώρες. Επίσης, παρέχουν σημαντικά ιχνοστοιχεία αλλά και ανόργανα συστατικά. (Belitz et al. 2009)

Τα σιτηρά ανήκουν στα αυτοφυή χορτολιβαδικά είδη (Poaceae) και ανάλογα με την προέλευσή τους χωρίζονται σε δύο κατηγορίες: σιτηρά εύκρατων κλιμάτων (όπως είναι το σιτάρι, κριθάρι, σίκαλη, βρώμη) και σε σιτηρά θερμών κλιμάτων (όπως για παράδειγμα το κεχρί, ρύζι). (Παπαγεωργίου 2024) Τα δημητριακά και τα προϊόντα των σιτηρών, με βασικότερο τελικό προϊόν το αλεύρι, είναι στην βάση της διατροφικής πυραμίδας και παίζουν κεντρικό ρόλο στη μεσογειακή διατροφή, αναδεικνύοντας έτσι τη σημασία τους και τα οφέλη που προσφέρουν. (Adom and Liu 2002)



Σχήμα 1:Εξελικτική ανάπτυξη (φυλογένεση) των σιτηρών (Belitz et al. 2009; Robert Soreng 2017)

Ο Κώδικας Τροφίμων και Ποτών στο Άρθρο 100 (“Κώδικας Τροφίμων Και Ποτών,”) αναφέρει πως «Δημητριακοί καρποί» ή «Δημητριακά» νοούνται οι αποξηραθέντες ώριμοι καρποί ορισμένων φυτών της οικογένειας των αγραστοειδών, που είναι πρακτικά απαλλαγμένοι από κάθε πρόσμιξη ανόργανης ή οργανικής ύλης. Συγκεκριμένα νοούνται οι παρακάτω:

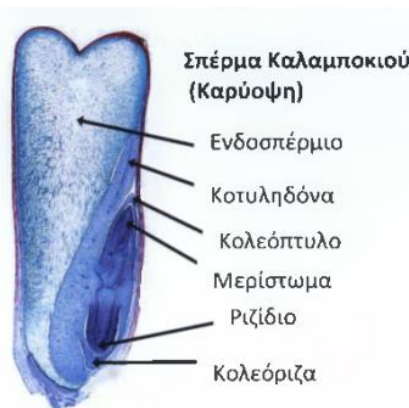
1. Σίτος
2. Αραβόσιτος
3. Σίκαλη
4. Βρώμη
5. Κεχρί
6. Κριθάρι
7. Ρύζι.

	<i>ΣΙΤΑΡΙ</i>	<i>ΣΙΚΑΛΗ</i>	<i>ΚΑΛΑΜΠΟΚΙ</i>	<i>ΚΡΙΘΑΡΙ</i>	<i>ΒΡΩΜΗ</i>	<i>ΡΥΖΙ</i>	<i>ΚΕΧΡΙ</i>
<i>ΥΓΡΑΣΙΑ</i>	13.2%	13.7%	12.5%	11.7%	13.0%	13.1%	12.1%
<i>ΠΡΩΤΕΙΝΗ</i>	11.7%	9.5%	9.2%	10.6%	12.6%	7.4%	10.6%
<i>ΛΙΠΟΣ</i>	2.2%	1.7%	3.8%	2.1%	7.1%	2.4%	4.05%
<i>ΥΔΑΤΑΝΘΡΑΚΕΣ</i>	59.6%	60.7%	64.2%	63.3%	55.7%	74.1%	68.8%
<i>ΙΝΩΔΗ</i>	13.3%	13.2%	9.7%	9.8%	9.7%	2.2%	3.8%
<i>ΑΝΟΡΓΑΝΗ</i>	1.5%	1.9%	1.3%	2.25%	2.85%	1.2%	1.6%

Πίνακας 1: Χημική σύσταση σιτηρών (μέσοι όροι τιμών, % κατά βάρος) (Belitz et al. 2009)

Το καλαμπόκι ή αραβόσιτος έχει την επιστημονική ονομασία *Zea mays* και αποτελεί ένα ανοιξιιάτικο δημητριακό στις εύκρατες χώρες με περίοδο σποράς τον Απρίλιο ή τον Μάιο και αποτελεί το πρώτο σε σπουδαιότητα σιτηρό στον κόσμο. Κυρίως, το καλαμπόκι καλλιεργείται για τον καρπό και δευτερευόντως για την παραγωγή βιομάζας. Κατά βάση, ο καρπός χρησιμοποιείται ως ζωοτροφή, μια επίσης σημαντική ποσότητα καταναλώνεται από τον άνθρωπο με διάφορους τρόπους και αποτελεί πηγή διαφόρων βιομηχανικών προϊόντων. Το κύριο συστατικό είναι το άμυλο, και αποτελεί την βάση για την πλειοψηφία των βιομηχανικών χρήσεων. (Παπακώστα - Τασοπούλου 2012)

Ο καρπός του αραβοσίτου είναι καρύωση. Η καρύωση (είδος ξηρού καρπού, μονόσπερμου, με πολύ λεπτό περικάρπιο που περιβάλλει το σπέρμα) αποτελείται από τέσσερα τμήματα: το περικάρπιο, το έμβρυο, το ενδοσπέρμιο και τον ποδίσκο (Ελευθερίου 2006).



Εικόνα 1: Τομή του ώριμου σπόρου αραβόσιτου(Ελευθερίου 2006)

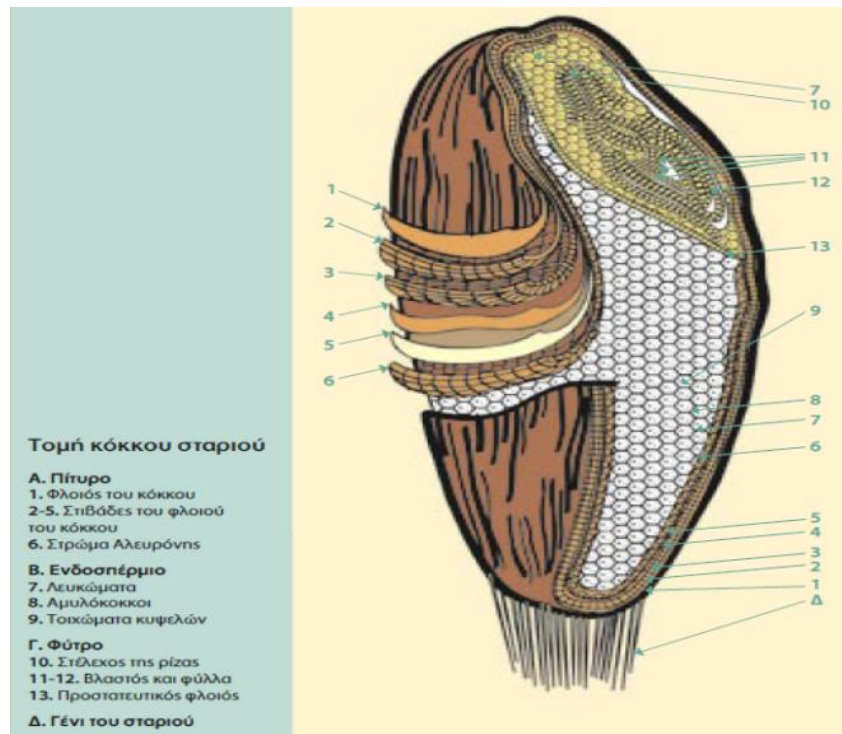
Το σιτάρι αποτελεί ένα από τα σημαντικότερα σιτηρά, καθώς είναι η κύρια ύλη για την παραγωγή αλεύρου και πρόκειται για ένα φυτό που καλλιεργείται παγκοσμίως και κατατάσσεται δεύτερο σε συγκομιδή, μετά τον αραβόσιτο. Το σιτάρι ανήκει στο γένος *Triticum* και διακρίνεται σε δύο είδη: το σκληρό και το μαλακό σιτάρι, ανάλογα με την απαιτούμενη δύναμη για την σύνθλιψη των πυρήνων. Η ιδιότητα που καθιστά το σιτάρι μοναδικό ως προϊόν, είναι το γεγονός ότι ολόκληρο το φυτό είναι πλήρως εκμεταλλεύσιμο και ο καρπός του χρησιμοποιείται όχι μόνο στην βιομηχανία τροφίμων (όπως για παράδειγμα για παραγωγή αλευριού), αλλά επίσης και στην παραγωγή ζωοτροφών και αλκοολούχων ποτών. (Edwards 2007)

Μαλακό σιτάρι (*Triticum vulgare*). Από τις διάφορες ποικιλίες του παίρνουμε τα αλεύρια αρτοποιίας, μπισκοτοποιίας και ζαχαροπλαστικής. Έχουν δομή μαλακή, η τομή των κόκκων τους είναι συνήθως αλευρώδης και αποτελεί το περισσότερο καλλιεργούμενο είδος σιταριού.

Σκληρό σιτάρι (*Triticum durum*). Από τις διάφορες ποικιλίες του παίρνουμε τα σιμιγδάλια για την παρασκευή ζυμαρικών. Οι κόκκοι του είναι συνήθως πολύ σκληροί και η τομή τους είναι υαλώδης, ενώ το πρωτεϊνικό τους περιεχόμενο είναι υψηλότερο και το είδος αυτό αντιπροσωπεύει περίπου το 5-6% της παγκόσμιας παραγωγής.

Οι σπόροι του σταριού αποτελούνται από τρία κυρίως μέρη (Εικόνα 1): α) Το εξωτερικό πίτυρο, το οποίο καλύπτει το 13-15% του κόκκου, β) το εσωτερικό ενδοσπέρμιο, το οποίο καλύπτει το 82-83% και αποτελεί το κυρίως τμήμα του κόκκου και μας προσφέρει το αλεύρι και γ) το φύτρο από το οποίο θα προέλθει το νέο φυτό και καλύπτει το 1-3% του κόκκου.

Όσον αφορά τη χημική σύσταση του σίτου, περιλαμβάνονται οι ακόλουθες ουσίες: άμυλο, πρωτεΐνες, κυτταρίνη (ακατέργαστες ίνες), σάκχαρα, λιπαρά και ανόργανα άλατα. (Γιαννακόπουλος 2017)



Εικόνα 2: τομή κόκκου σιταριού

(Γιαννακόπουλος 2017)

Το κριθάρι είναι ένα δημητριακό που χρησιμοποιείται κυρίως για την παραγωγή αλεύρου, ζωοτροφών, μύρας και τροφίμων και καλλιεργείται σε πολλές χώρες. Υπάρχουν 2 βασικοί τύποι κριθαριού:

- Κριθάρι Άνοιξης: Καλλιεργείται την άνοιξη και συγκομίζεται το καλοκαίρι. Είναι πιο ανθεκτικό σε ψυχρές καιρικές συνθήκες.
- Κριθάρι Χειμώνα: Καλλιεργείται το φθινόπωρο και συγκομίζεται την άνοιξη. Συνήθως έχει υψηλότερες αποδόσεις.

Η σύνθεση του κριθαριού περιλαμβάνει σε μεγάλο ποσοστό άμυλο (70%), το οποίο είναι πηγή ενέργειας και διασπάται σε γλυκόζη, ενώ η δομή του είναι σύνθετη και περιλαμβάνει διάφορα μέρη. Αρχικά, εσωτερικά υπάρχει το εμβρυακό σώμα, δηλαδή το αναπτυσσόμενο μέρος το σπόρου, πλούσιο σε βιταμίνες, μετά ακολουθεί το αλεσμένο σώμα (endosperm) η βασικότερη πηγή υδατανθράκων (αμύλου) και πρωτεϊνών. Τέλος, υφίσταται το περίβλημα, το εξωτερικό στρώμα του σπόρου το οποίο προστατεύει το σπόρο. (Goyal and Ahmed 2012; FoodData Central)

Η βρώμη (*Avena sativa*) είναι ένα δημητριακό που έχει γίνει δημοφιλές λόγω της θρεπτικής του αξίας και των πολλών οφελών για την υγεία. Η δομή του σπόρου της περιλαμβάνει: το αλεσμένο υλικό (Endosperm) που αποτελεί το μεγαλύτερο τμήμα του κόκκου, περιέχει κυρίως άμυλο και πρωτεΐνες και αποτελεί την κύρια πηγή ενέργειας, το εμβρυϊκό σώμα (Germ) που είναι το αναπτυσσόμενο μέρος του σπόρου, πλούσιο σε θρεπτικά συστατικά, όπως βιταμίνες, και εξωτερικά υπάρχει το περίβλημα που προσφέρει προστασία. (Rasane et al. 2013; FoodData Central)

Το ρύζι (*Oryza sativa*) είναι ένα από τα πιο καλλιεργούμενα και καταναλωμένα δημητριακά παγκοσμίως. Ταξινομείται σε πολλές κατηγορίες με βάση διαφορετικά κριτήρια. (Marton 2015; Kowsalya et al. 2022)

Η πρώτη ταξινόμηση γίνεται με βάση την καλλιέργεια:

- Ξηρική Καλλιέργεια: Καλλιεργούμενο ρύζι σε ξηρές περιοχές.
- Εγγειοκαλλιέργεια: Καλλιεργούμενο ρύζι σε υδάτινες περιοχές.

Η δεύτερη ταξινόμηση γίνεται με βάση την ποικιλία:

- Ποικιλία Αφρός (Long Grain): Π.χ. basmati.
- Ποικιλία Μεσαίος Κόκκος (Medium Grain): Π.χ. Arborio.
- Ποικιλία Κοντός Κόκκος (Short Grain): Π.χ. sushi rice.

Η τρίτη ταξινόμηση γίνεται με βάση το χρώμα:

- Λευκό Ρύζι
- Καστανό Ρύζι
- Κόκκινο Ρύζι
- Μαύρο Ρύζι.

Όσον αφορά την δομή του ρυζιού, αυτή περιλαμβάνει: το ενδόσπερμα, αποτελεί το μεγαλύτερο τμήμα του φυτού και αποτελείται κυρίως από υδατάνθρακες, το πρώτο περίβλημα, πλούσιο σε βιταμίνες και μέταλλα και το εξωτερικό περίβλημα που προστατεύει τον σπόρο. (FoodData Central; Marton 2015)

1.2 Γενικά για το αλεύρι

Το αλεύρι αποτελεί μία λεπτόκοκκη σκόνη, προϊόν άλεσης των δημητριακών (σιτάρι καλαμπόκι, σίκαλη, ρύζι κ.α.) ή άλλων αμυλούχων φυτών ή ξηρών καρπών και αποτελεί το κύριο συστατικό των προϊόντων αρτοποιίας. Χρησιμοποιείται κυρίως για την παρασκευή ψωμιού και άλλων προϊόντων όπως το κέικ, τα μπισκότα, το τσουρέκι, και προσδίδει σε αυτά την χαρακτηριστική υφή και δομή.

1.2.1 Κατηγορίες Αλεύρων

Τα χαρακτηριστικά που προσδίδει σε κάθε περίπτωση, οφείλονται στην κατηγορία του αλευριού, πιο συγκεκριμένα στην ποικιλία των δημητριακών από τα οποία παρήχθη. Τα κυριότερα από αυτά είναι: η ποσότητα της περιεχόμενης γλουτένης και η ικανότητα απορρόφησης νερού. (Stanley P. Cauvain, Linda S. Young 2006)

Τα άλευρα κατηγοριοποιούνται ανάλογα με τον βαθμό αλέσεως. Οι τύποι τους παρουσιάζουν μεταξύ τους μικρές διαφορές και είναι οι εξής :

- Αλεύρι τύπου πολυτελείας (Π) ή 55%

Αποτελείται από μαλακό σιτάρι και έχει χαμηλότερη περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες και τέφρα έως 0,45 %. Είναι λευκό αλεύρι, που προσδίδει στις ζύμες υψηλή αντοχή και χρησιμοποιείται σε ζαχαροπλαστική.(Miskelly and Suter 2017) Συγκεκριμένα, αλεύρι τύπου 55% σημαίνει ότι στα 100 μέρη καθαρισμένου σιταριού παράγεται 55% αλεύρι.

Στην Ελλάδα αυτό το ποσοστό συνήθως βρίσκεται στο 55% και χαρακτηρίζεται ως αλεύρι κατηγορίας Π (Π = πολυτελείας) από τον ελληνικό Κώδικα Τροφίμων και Ποτών (Κώδικας Τροφίμων Και Ποτών). Το συγκεκριμένο αλεύρι ορίζεται ως ένα τελείως λευκό αλεύρι, χωρίς στίγματα και το ελάχιστο ποσοστό της πρωτεΐνης του που περιέχει, δεν είναι γλουτένη. (Γιαννακόπουλος 2017)

ΑΛΕΥΡΑ ΤΥΠΟΥ Π

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ	ΟΡΙΟ%	ΑΝΩΤΑΤΟ/ΚΑΤΩΤΑΤΟ ΕΠΙΤΡΕΠΤΟ ΟΡΙΟ
Υγρασία	13.5%	Ανώτατο
Γλουτένη	28.0%	Κατώτατο
Οξύτητα	0.07%	Ανώτατο
Τέφρα	0.45%	Ανώτατο

Πίνακας 2: Όρια χαρακτηριστικών για αλεύρι τύπου Π σύμφωνα με την Εθνική νομοθεσία. (Κώδικας τροφίμων και ποτών)

- Αλεύρι τύπου 70%

Συνήθως προέρχεται από λευκό σιτάρι. Έχει περιεκτικότητα σε τέφρα κοντά στο 0,50% και θεωρείται πολύ καλής ποιότητας. Είναι κατάλληλο για αρτοποιητική και οικιακή χρήση. (Miskelly and Suter 2017)

ΑΛΕΥΡΑ ΤΥΠΟΥ 70%

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ	ΟΡΙΟ%	ΑΝΩΤΑΤΟ/ΚΑΤΩΤΑΤΟ ΕΠΙΤΡΕΠΤΟ ΟΡΙΟ
Υγρασία	13.5%	Ανώτατο
Γλουτένη	26.0%	Κατώτατο
Οξύτητα	0.08%	Ανώτατο
Τέφρα	0.50%	Ανώτατο
Λιπαρά	1.10%	Ανώτατο

Πίνακας 3: Όρια χαρακτηριστικών για αλεύρι τύπου 70% σύμφωνα με την Εθνική νομοθεσία. (Κώδικας τροφίμων και ποτών)

- Αλεύρι ολικής αλέσεως

Το αλεύρι ολικής αλέσεως προέρχεται από ολόκληρο τον καρπό μαλακού σίτου, χωρίς να χρειάζεται να απομακρυνθεί το περίβλημα του. Δεν απαιτείται να περάσει από το σύστημα κοπής και καθαρισμού, γι' αυτό επεξεργάζεται σε έναν τυποποιημένο κύλινδρο ή στην μυλόπετρα. Τέλος, έχει υψηλότερη θρεπτική αξία και περιεκτικότητα πρωτεΐνης, συγκριτικά με τα άλευρα τύπου Π και 70%. (Miskelly and Suter 2017)

ΑΛΕΥΡΑ ΤΥΠΟΥ ΟΛΙΚΗΣ ΑΛΕΣΗΣ

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ	ΟΡΙΟ%	ΑΝΩΤΑΤΟ/ΚΑΤΩΤΑΤΟ ΕΠΙΤΡΕΠΤΟ ΟΡΙΟ
Υγρασία	14.5%	Ανώτατο
Γλουτένη	25.0%	Κατώτατο
Οξύτητα	0.15%	Ανώτατο
Τέφρα	1.60%	Κατώτατο-Ανώτατο

Πίνακας 4: Όρια χαρακτηριστικών για αλεύρι τύπου ολικής άλεσης σύμφωνα με την Εθνική νομοθεσία. (Κώδικας τροφίμων και ποτών)

- Αλεύρι τύπου 85% και 90% (καστανό αλεύρι)

Το καστανό αλεύρι είναι αποτέλεσμα ανάμιξης λευκού αλευριού τύπου 70% και αλεύρου ολικής αλέσεως σε αναλογίες 50:50. Διαφορετικά, μπορεί να παραληφθεί από την άλεση και προσθήκη πίτουρου 10 έως 15%. (Miskelly and Suter 2017)

ΑΛΕΥΡΑ ΤΥΠΟΥ 85%

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ	ΟΡΙΟ%	ΑΝΩΤΑΤΟ/ΚΑΤΩΤΑΤΟ ΕΠΙΤΡΕΠΤΟ ΟΡΙΟ
Υγρασία	14.0%	Ανώτατο
Γλουτένη	25.0%	Κατώτατο
Οξύτητα	0.13%	Ανώτατο
Τέφρα	0.85-0.90%	Κατώτατο-Ανώτατο
Λιπαρά	1.80%	Ανώτατο
Πίτυρο	4.00-5.00%	Κατώτατο-Ανώτατο

Πίνακας 5: Όρια χαρακτηριστικών για αλεύρι τύπου 85% σύμφωνα με την Εθνική νομοθεσία. (Κώδικας τροφίμων και ποτών)

ΑΛΕΥΡΑ ΤΥΠΟΥ 90%

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ	ΟΡΙΟ%	ΑΝΩΤΑΤΟ/ΚΑΤΩΤΑΤΟ ΕΠΙΤΡΕΠΤΟ ΟΡΙΟ
Υγρασία	14.0%	Ανώτατο

Γλουτένη	25.0%	Κατώτατο
Οξύτητα	0.03%	Ανώτατο
Τέφρα	1.25-1.35%	Κατώτατο-Ανώτατο
Πίτυρο	10.00-13.50%	Κατώτατο-Ανώτατο

Πίνακας 6: Όρια χαρακτηριστικών για αλεύρι τύπου 90% σύμφωνα με την Εθνική νομοθεσία. (Κώδικας τροφίμων και ποτών)

- Αλεύρι ΦΑΡΙΝΑ (Αυτοδιογκούμενο)

Προέρχεται από συνδυασμό αλεύρου τύπου 70% και διογκωτικές ουσίες. Οι διογκωτικές ουσίες είναι ένας συνδυασμός όξινου ανθρακικού νατρίου και οργανικού οξέος. Ανάλογα με το οργανικό οξύ που προστίθεται, μεταβάλλεται το σημείο της ανάπτυξης του διοξειδίου του άνθρακα. Η επιλογή του οργανικού οξέος εξαρτάται από το επιθυμητό τελικό αποτέλεσμα.

- Αλεύρι τύπου Μ

Αποτελείται κυρίως από σκληρό σιτάρι, αλλά και από μαλακά και έχει χαρακτηριστικό κίτρινο χρώμα. Από το μαλακό αλεύρι τύπου Μ προκύπτουν τρεις κατηγορίες, που ορίζονται με βάση την περιεκτικότητα τέφρας:

1. Αλεύρι τύπου ΟΟ που περιέχει 0.50% τέφρα
2. Αλεύρι τύπου Ο που περιέχει 0.65% τέφρα
3. Τύπος αλευριού 1 που περιέχει 0.80% τέφρα.

ΑΛΕΥΡΑ ΤΥΠΟΥ Μ

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ	ΟΡΙΟ%	ΑΝΩΤΑΤΟ/ΚΑΤΩΤΑΤΟ ΕΠΙΤΡΕΠΤΟ ΟΡΙΟ
Υγρασία	14.0%	Ανώτατο
Γλουτένη	25.0%	Κατώτατο
Οξύτητα	0.15%	Ανώτατο
Τέφρα	0.90%	Ανώτατο

Πίνακας 7: Όρια χαρακτηριστικών για αλεύρι τύπου Μ σύμφωνα με την Εθνική νομοθεσία. (Κώδικας τροφίμων και ποτών)

- Σκληρό αλεύρι ή χωριάτικο:

Το αλεύρι από σκληρό σιτάρι, είναι πλούσιο σε πρωτεΐνες ενώ διακρίνεται για το χαρακτηριστικό κίτρινο χρώμα. Είναι ιδανικό για ψωμί, αφού δίνει όγκο και ελαστικότητα στο ζυμάρι. (Stanley P. Cauvain, Linda S. Young 2006)

- Αλεύρι για όλες τις χρήσεις

Πρόκειται για μείγμα σκληρού και μαλακού σιταριού. Είναι επί το πλείστον, αλεύρι οικιακής χρήσης που χρησιμοποιείται για παρασκευή ψωμίων. (Stanley P. Cauvain , Linda S. Young 2007)

ΑΛΕΥΡΑ ΤΥΠΟΥ ΓΙΑ ΟΛΕΣ ΤΙΣ ΧΡΗΣΕΙΣ

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ	ΟΡΙΟ%	ΑΝΩΤΑΤΟ/ΚΑΤΩΤΑΤΟ ΕΠΙΤΡΕΠΤΟ ΟΡΙΟ
Υγρασία	14.0%	Ανώτατο
Γλουτένη	26.0%	Κατώτατο
Οξύτητα	0.08%	Ανώτατο
Τέφρα	0.50%	Ανώτατο

Πίνακας 8: Όρια χαρακτηριστικών για αλεύρι τύπου για όλες τις χρήσεις σύμφωνα με την Εθνική νομοθεσία. (Κώδικας τροφίμων και ποτών)

- Αλεύρι τύπου Κ

Είναι αλεύρι ανοιχτού καφέ χρώματος, που παράγεται από την άλεση ολόκληρου του κόκκου μαλακού σιταριού και μοιάζει με το ολικής άλεσης, με την διαφορά ότι στην περίπτωση αυτή έχει αφαιρεθεί μικρό μέρος, από το πίτυρο και το φύτρο. (Stanley P. Cauvain , Linda S. Young 2007)

ΑΛΕΥΡΑ ΤΥΠΟΥ Κ

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ	ΟΡΙΟ%	ΑΝΩΤΑΤΟ/ΚΑΤΩΤΑΤΟ ΕΠΙΤΡΕΠΤΟ ΟΡΙΟ
Υγρασία	14.0%	Ανώτατο
Γλουτένη	25.0%	Κατώτατο
Οξύτητα	0.15%	Ανώτατο
Τέφρα	1.40%	Ανώτατο

Πίνακας 9: Όρια χαρακτηριστικών για αλεύρι τύπου Κ σύμφωνα με την Εθνική νομοθεσία. (Κώδικας τροφίμων και ποτών)

- Αλεύρι από καλαμπόκι

Το καλαμποκάλευρο παρασκευάζεται με άλεση αποξηραμένων σπόρων καλαμποκιού σε μία από τις τρεις υφές: λεπτή, μέτρια και χονδροειδής. Ο παραδοσιακός τρόπος παρασκευής του γινόταν με το τρίψιμο με πέτρες, το οποίο διατηρεί μέρος από τον φλοιό και το φύτρο των πυρήνων. Έχει μικρή περιεκτικότητα σε γλουτένη. (Stanley P. Cauvain , Linda S. Young 2007)

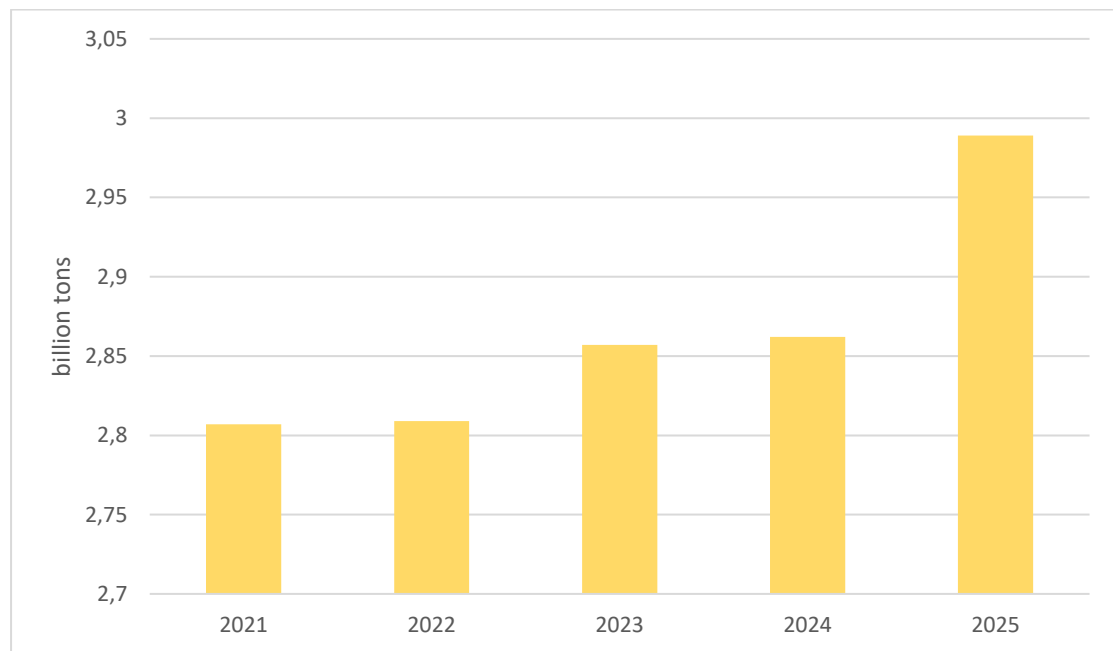
- Αλεύρι Σίκαλης

Το αλεύρι σίκαλης διατηρεί περισσότερο τα θρεπτικά του συστατικά από το αλεύρι σιταριού, λόγω της δυσκολίας που χωρίζει το φύτρο και το πίτουρο από το ενδοσπέρμιο της σίκαλης. (Stanley P. Cauvain , Linda S. Young 2007)

- Αλεύρι από βρώμη

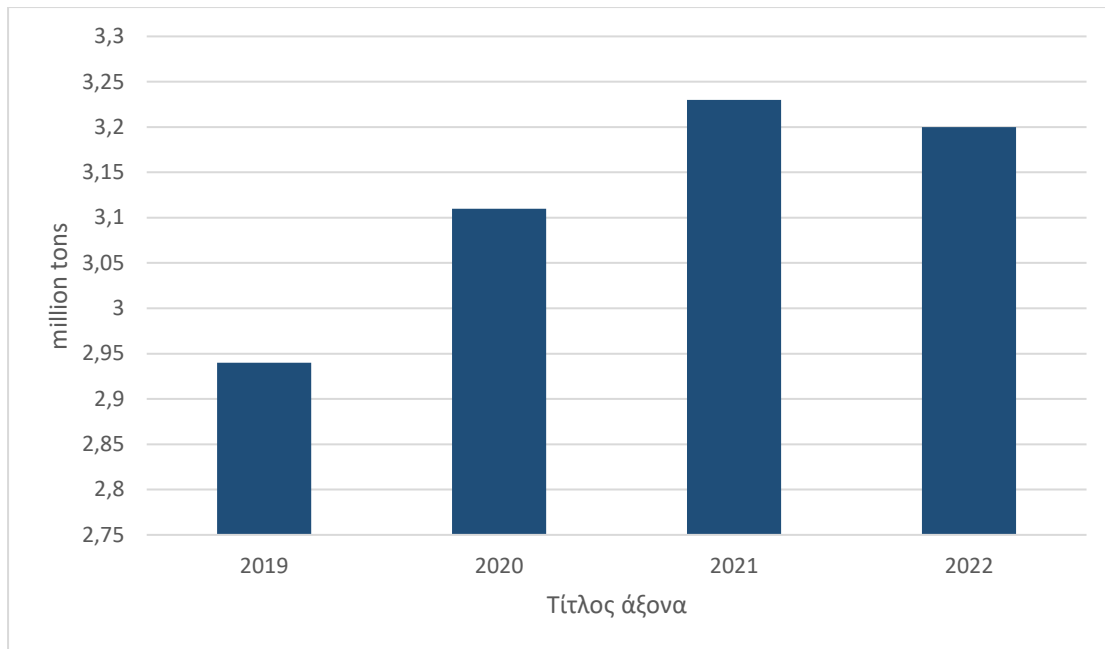
Το αλεύρι από βρώμη είναι ένα θρεπτικό προϊόν που παράγεται από την άλεση της βρώμης (*Avena sativa*). Περιέχει φαινολικές ενώσεις που έχουν αντιοξειδωτικές ιδιότητες, βοηθώντας στην καταπολέμηση του οξειδωτικού στρες. Η χημική σύνθεση του αλευριού βρώμης το καθιστά ένα θρεπτικό και ευεργετικό συστατικό για τη διατροφή, με σημαντικά οφέλη για την υγεία που προκύπτουν από τη μοναδική του χημική δομή και τις ιδιότητές του. (Hung 2014)

1.2.2 Παγκόσμια παραγωγή κι κατανάλωση αλεύρων



Σχήμα 2: Συνολική παραγωγή σιτηρών τα έτη 2011-2025(Food and Agriculture Organization (FAO))

Όπως φαίνεται και στο Σχήμα 2, για το έτος 2023 υπήρξε απότομη αύξηση της παραγωγής σιτηρών, συγκριτικά με το 2022. Έπειτα, ακολούθησε μια σχεδόν σταθερή παραγωγή για το έτος 2024 και ξανά μετά αύξηση της παραγωγής έως και το έτος 2025.(Food and Agriculture Organization (FAO))



Σχήμα 3: Παραγωγή αλευριού στην Ελλάδα τα έτη 2016-2022 (σε χιλιάδες τόνους)(Food and Agriculture Organization (FAO))

Σύμφωνα με το Σχήμα 3, η παραγωγή αλευριού στη χώρα μας είχε αυξητική τάση από το 2019 έως το 2021. Το 2021 παρατηρείται μία μικρή μείωση παραγωγής, σε σχετικά σταθερούς ρυθμούς.(Food and Agriculture Organization (FAO))

1.3 Ασθένειες και κίνδυνοι για τα δημητριακά

Τα δημητριακά αποτελούν μία πολύ σημαντική πηγή τροφής για τα ζώα και τον άνθρωπο και καλλιεργούνται σε όλο τον πλανήτη. Παρά τα οφέλη τους, τα δημητριακά μπορούν να εγκυμονούν διάφορους κινδύνους για την υγεία, που σχετίζονται είτε με την παραγωγή, τη μεταποίηση, τη συντήρηση ή την κατανάλωση τους. Για να μπορέσουν να ικανοποιήσουν την υψηλή ζήτηση για την παραγωγή δημητριακών, οι αγρότες πρέπει να γνωρίζουν τους κινδύνους που συνδέονται με την καλλιέργεια και την αποθήκευση των δημητριακών, και κατ' επέκταση την ασφαλή παραγωγή αλευριού. Αυτοί οι κίνδυνοι ταξινομούνται στις ακόλουθες κύριες κατηγορίες κινδύνων για τα τρόφιμα:

- Χημικοί

Οι χημικοί κίνδυνοι αφορούν κυρίως την παρουσία επικίνδυνων ουσιών σε διάφορα τρόφιμα, όπου προέρχονται από διάφορα στάδια της επεξεργασίας των δημητριακών, από την καλλιέργεια έως και την τελική επεξεργασία. Οι ουσίες αυτές περιλαμβάνουν φυτοφάρμακα, βαρέα μέταλλα, διοξίνες και άλλες τοξικές ενώσεις. (Α. J. E. Casarett. 2002) Για να εξασφαλιστεί η ασφάλεια στα δημητριακά, υπάρχουν κανονισμοί (EUROPEAN COMMISSION, Pesticide Evaluations EFSA) που καθορίζουν τα μέγιστα επιτρεπτά όρια υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων.

- Βιολογικοί

Αυτή η κατηγορία κινδύνων περιλαμβάνει βακτήρια, μύκητες, ιούς και παράσιτα τα οποία εύκολα μπορούν να μολύνουν τα δημητριακά και να οδηγήσουν σε δηλητηρίαση. Αυτοί οι οργανισμοί μπορούν να επηρεάσουν τα δημητριακά και την ασφάλεια των σιτηρών όταν συνθήκες, όπως η θερμοκρασία, η υγρασία και το pH, είναι ευνοϊκές για την ανάπτυξή τους.

Τα πιο κοινά παθογόνα βακτήρια είναι *Salmonella*, *Escherichia coli* (*E. coli*) και *Listeria monocytogenes*. Στους μύκητες, τον κυριότερο αποτελεί ο *Aspergillus*, ο οποίος δημιουργεί τοξίνες όπως οι μυκοτοξίνες και οι αφλατοξίνες. Όσον αφορά τους ιούς, μπορεί να μολύνουν τρόφιμα, ιδιαίτερα σε περιπτώσεις που έρχονται σε επαφή με μολυσμένα νερά ή τρόφιμα που δεν έχουν υποβληθεί σε κατάλληλη επεξεργασία. Τέλος, τα παράσιτα όπως το *Toxoplasma* μολύνουν τα τρόφιμα και προκαλούν ασθένειες. (Adam P. O'Connor. 2019; Balter 2006)

- Φυσικοί

Οι φυσικοί κίνδυνοι μπορεί να προκύψουν όταν οποιοδήποτε ξένο σώμα εισέρχεται στο προϊόν κατά τη συγκομιδή, την επεξεργασία, την αποθήκευση ή τη μεταφορά. Τα έντομα, τα τρωκτικά και τα ακάρεα αποτελούν σημαντικούς δυνητικούς και συχνούς κινδύνους για τα δημητριακά. Ξένα σώματα όπως γυαλί, πλαστικό και μέταλλα είναι επίσης πολύ πιθανό να μολύνουν τα τρόφιμα. (Knechtges 2011)

1.3.1 Ασθένειες σιτηρών

Κατά τη διάρκεια της καλλιέργειας των σιτηρών, τα φυτά μπορούν να προσβληθούν από διάφορους εχθρούς, με ορισμένους να προσβάλλουν και άλλες καλλιέργειες. Σημαντικοί και συχνοί εχθροί των σιτηρών περιλαμβάνουν το *Agrotis segetum* (σχιστοπόδαρος), τους σιδεροσκώληκες (*Agriotes* spp.), την πυραλίδα (*Ostrinia nubilalis* Hubner), έντομα όπως ο κάραβος, τις αφίδες, καθώς και τη σκωρία και μυκητιακές σήψεις.

Η αντιμετώπιση αυτών των εχθρών απαιτεί συχνά τη χρήση φυτοπροστατευτικών προϊόντων, όπως οι ενώσεις Tebuconazole, Azoxystrobin, Propiconazole και Imidacloprid. Τα συγκεκριμένα φυτοφάρμακα καλύπτουν ένα ευρύ φάσμα δράσης, από εντομοκτόνα έως και μυκητοκτόνα, και αποτελούν σημαντικά εργαλεία στη διαχείριση των παρασίτων και των ασθενειών που πλήττουν τα σιτηρά. (Alexandra Matei 2016; “USDA” 2020)(Czembor 2023)(Srivastava et al. 2022; George N. Agrios 2004)

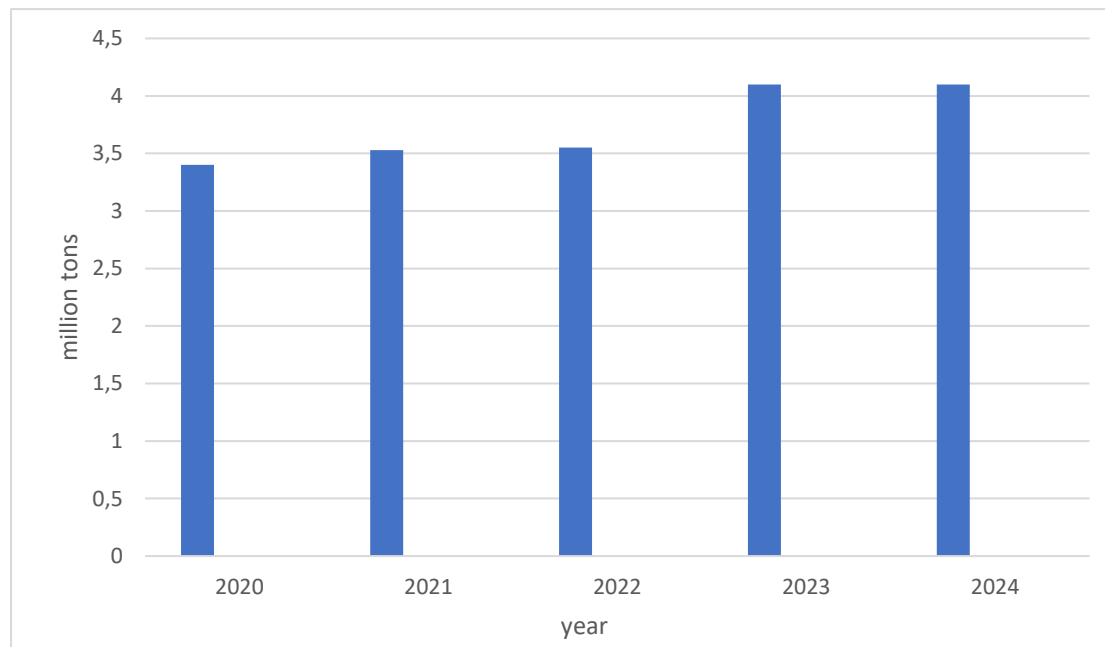
Κεφάλαιο 2: Υπολείμματα Φυτοφαρμάκων στο αλεύρι

2.1 Φυτοφάρμακα/Φυτοπροστατευτικές ενώσεις

Η χρήση των φυτοφαρμάκων έχει παρουσίαση σημαντική αύξηση τις τελευταίες δεκαετίες. Οι κυριότεροι παράγοντες που ήταν υπεύθυνοι για την ταχύτατη αύξηση της χρήσης φυτοπροστατευτικών προϊόντων είναι οι παρακάτω:

- α) Εμφάνιση ανθεκτικότητας σε διάφορα είδη εντόμων και ζιζανίων.
- β) Επέκταση των καλλιεργούμενων εκτάσεων (π.χ. αποξηράνσεις των λιμνών) ειδικότερα των αρδευόμενων γεωργικών καλλιεργειών.
- γ) Εισαγωγή νέων μεθόδων καλλιέργειας.
- δ) Εισαγωγή νέων ποικιλιών φυτών με μεγαλύτερες απαιτήσεις για φυτοπροστασία.
- ε) Απαίτηση μεγάλων αποδόσεων γεωργικής παραγωγής.

Η χρήση τους είναι εκτεταμένη στις αγροτικές περιοχές, συμβάλλοντας έτσι στην εξασφάλιση επαρκών ποσοτήτων γεωργικών προϊόντων υψηλής ποιότητας σε προσιτές τιμές. Τα φυτοφάρμακα χρησιμοποιούνται σε ευρεία κλίμακα και θεωρούνται εν γένει απαραίτητα για τα σύγχρονα καλλιεργητικά συστήματα, χρησιμοποιώντας πάντα σε εύλογα και με τις συνιστάμενες συγκεντρώσεις.



Σχεδιάγραμμα 1 : Σύγκριση χρήσης φυτοφαρμάκων σε παγκόσμιο επίπεδο στα έτη 2020-2024 (Food and Agriculture Organization (FAO))

Ωστόσο, η είσοδός τους στο περιβάλλον είτε από λανθασμένη πρακτική είτε από παράνομη χρήση, μπορεί να οδηγήσει σε ρύπανση του εδάφους, των υπόγειων και επιφανειακών νερών, προκαλώντας ανεπιθύμητες επιπτώσεις στο περιβάλλον, τους

οργανισμούς μη-στόχους αλλά και τον άνθρωπο. Έχει ήδη αποδειχτεί ότι μέσω πολλών βιοχημικών και βιολογικών διεργασιών, πολλά φυτοφάρμακα ή προϊόντα διάσπασής τους μπορούν να εισέλθουν σε όλα σχεδόν τα οικοσυστήματα και τελικά στην τροφική αλυσίδα. (Zhang et al. 2011; Kapsi et al. 2019; Αλμπάνης Τ. 2009)

2.1.1 Ορισμοί-Πληροφορίες

Στις γεωργικές καλλιέργειες συνυπάρχουν φυτικοί και ζωικοί οργανισμοί, παράσιτα και μικροοργανισμοί. Η ισορροπία αυτή πολλές φορές διαταράσσεται όταν καλλιεργείται ένα μόνο φυτικό είδος (μονοκαλλιέργεια) και κατ' επέκταση αποσταθεροποιεί το οικοσύστημα. Γι' αυτό, απαιτούνται συχνά μέτρα προστασίας των φυτών και καλλιεργειών, από την υπερβολική αύξηση επιβλαβών μικροοργανισμών που προκαλούν ζημιά στις καλλιέργειες. Τα μέσα αυτά είναι είτε φυσικά είτε χημικά. (Altieri 1999; Francis et al. 2003)

Τα χημικά φυτοπροστατευτικά προϊόντα χρησιμοποιούνται για να εξασφαλίσουν την επάρκεια σε τροφή για τον ολοένα και αυξανόμενο ανθρώπινο πληθυσμό, με λογική χρήση που να μη βλάπτει την ανθρώπινη υγεία και γενικά το οικοσύστημα. (Stoytcheva 2011) Τα υπολείμματα γεωργικών φυτοφαρμάκων στα τρόφιμα εδώ και πολλές δεκαετίες ρυθμίζονται με διεθνή και εθνική νομοθεσία και αυστηρούς τοξικολογικούς περιορισμούς. Το σύστημα για τα Ανώτατα Όρια Υπολειμμάτων Φυτοφαρμάκων (Maximum Residue Limits, MRLs) με το Codex Alimentarius της Διεθνούς Οργάνωσης Τροφίμων και Γεωργίας (World Health Organization (WHO); Food and Agriculture Organization (FAO)) και του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας (WHO) ρυθμίζει τα επίπεδα των ανώτατων επιτρεπόμενων υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων για την ασφάλεια των τροφίμων. (World Health Organization (WHO); Food and Agriculture Organization (FAO))

Τα φυτοφάρμακα προστατεύουν τις γεωργικές καλλιέργειες και κτηνοτροφικές δραστηριότητες από παράσιτα, ζιζάνια, μύκητες, βακτήρια και αυξάνουν την απόδοση φρούτων, λαχανικών κ.α. Συγχρόνως προστατεύουν ανθρώπινους πληθυσμούς όπου κατοικούν σε αγροτικές περιοχές από ελονοσία, κίτρινο πυρετό, τύφο και άλλες παρασιτικές και λοιμώδεις ασθένειες. (Ahmad et al. 2024)

Σύμφωνα με τον (FAO), τα φυτοφάρμακα έχουν οριστεί ως: «κάθε ουσία ή μείγμα ουσιών που προορίζεται για την πρόληψη, την καταστροφή ή τον έλεγχο τυχόν επιβλαβών οργανισμών, όπως φορείς ανθρώπινων ή ζωικών ασθενειών, ανεπιθύμητα είδη φυτών ή ζώων, που είτε είναι βλαπτικά κατά τη διάρκεια ή παρεμβαίνουν στην παραγωγή, την επεξεργασία, την αποθήκευση, τη μεταφορά, ή την πώληση τροφίμων, γεωργικών προϊόντων, ξυλείας και προϊόντων της ή ζωοτροφών, ή ουσίες που χορηγούνται σε ζώα για την καταπολέμηση εντόμων, αραχνοειδών, ή άλλων παρασίτων εντός ή επί του σώματός τους».

Ο όρος περιλαμβάνει επίσης ουσίες που προορίζονται για ρυθμιστές ανάπτυξης φυτών, αποφυλλωτικά, ξηραντικά, ή παράγοντες για το αραίωμα καρπών και προστασία από πρόωρη πτώση του φρούτου. Ακόμα, συγκαταλέγονται ουσίες που

χρησιμοποιούνται στις καλλιέργειες, είτε πριν είτε μετά τη συγκομιδή για να προστατεύσουν τα προϊόντα από αλλοίωση κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης και της μεταφοράς. (FAO 2022)

Το πρώτο οργανικό φυτοπροστατευτικό προϊόν που εφαρμόστηκε στη γεωργία με σπουδαία αποτελέσματα ήταν το εντομοκτόνο DDT το οποίο παρασκευάστηκε από έναν Γερμανό Χημικό το 1874, αλλά οι ιδιότητές του ως εντομοκτόνου διαπιστώθηκαν μόλις το 1939 από τον Ελβετό P. Muller. (Baillie 1946)

Σύμφωνα με την εθνική νομοθεσία, κάθε ουσία ή μίγμα ουσιών που χρησιμοποιείται για την καταπολέμηση των ασθενειών και των εχθρών των φυτών ή βελτιώνει την αποτελεσματικότητα των παραπάνω ουσιών, χαρακτηρίζεται σαν “γεωργικό φάρμακο” ή “φυτοφάρμακο”. Στη γεωργική πρακτική ως φυτοφάρμακα νοούνται κυρίως τα παρασιτοκτόνα.

Τα φυτοφάρμακα χωρίζονται κυρίως σε φυτοπροστατευτικές ενώσεις και βιοκτόνα, δύο όροι που καθορίζονται από τις ίδιες οδηγίες και κανονισμούς. Αυτά περιέχουν μια ή περισσότερες δραστικές ουσίες και προορίζονται για να:

- Προστατεύουν τα φυτά ή τα φυτικά προϊόντα από κάθε είδος επιβλαβών οργανισμών ή να παρεμποδίζουν τη δράση τους.
- Επηρεάζουν τις βιολογικές διεργασίες των φυτών (εκτός αν πρόκειται για θρεπτικές ουσίες).
- Διατηρούν τα φυτικά προϊόντα (εκτός εάν πρόκειται για ουσίες που κατατάσσονται στα συντηρητικά) .
- Καταστρέφουν τα ανεπιθύμητα φυτά.
- Καταστρέφουν μέρη των φυτών, που επιβραδύνουν ή παρεμποδίζουν την ανεπιθύμητη ανάπτυξή τους. (“EUROPEAN COMMISSION,” ; Nikolettta Ntalli 2022)

2.1.3 Ταξινομήσεις

Η κατάταξη των φυτοπροστατευτικών μπορεί να γίνει με βάση διαφορετικά κριτήρια. Συνήθως ταξινομούνται ανάλογα με τη φύση τους, τον τρόπο επαφής και δράσης τους, το είδος του οργανισμού στόχου, την εκλεκτικότητά τους και τη χημική τους δομή. (Νάννου and Αλμπάνης 2018)

Ανάλογα με τη φύση τους, τα φυτοφάρμακα διακρίνονται σε ανόργανα και οργανικά. Πλέον, τα περισσότερα φυτοφάρμακα είναι συνθετικές οργανικές ενώσεις και μόνο ένα μικρό ποσοστό αποτελεί παράγωγο φυσικών προϊόντων.

Ανάλογα με τον τρόπο επαφής τους, τα φυτοφάρμακα χωρίζονται σε συστημικά και μη συστημικά. Τα μη συστημικά φυτοφάρμακα δεν διεισδύουν αισθητά στους φυτικούς ιστούς και με αυτό τον τρόπο δεν μεταφέρονται ούτε μετατοπίζονται εντός του αγγειακού συστήματος των φυτών. Κύριο μειονέκτημά τους είναι η ευαισθησία τους στα καιρικά φαινόμενα. (Νάννου and Αλμπάνης 2018)

Πολλά από τα σύγχρονα φυτοφάρμακα εμφανίζουν συστημική δράση. Διεισδύουν, δηλαδή, στην επιδερμίδα των φυτών και μεταφέρονται μέσω του αγγειακού τους συστήματος. Οι συστηματικοί παράγοντες δεν δρουν μόνο προστατευτικά από τα παράσιτα, αλλά αναστέλλουν ή θεραπεύουν τυχόν μολύνσεις. Επηρεάζονται σε μικρότερο βαθμό από τις καιρικές συνθήκες και παρέχουν προστασία σε όλα τα υπό ανάπτυξη φυτά.

Ανάλογα με το είδος του οργανισμού στόχου, τα φυτοφάρμακα διακρίνονται σε:

- Εντομοκτόνα (insecticides): Καταπολεμούν τα έντομα και άλλα αρθρόποδα, τα οποία καταστρέφουν τα φυτά και τον καρπό τους. Προστίθενται είτε στο έδαφος είτε στην εναέρια περιοχή του φυτού.
- Ζιζανιοκτόνα (herbicides): Είναι οργανικά μόρια που χρησιμοποιούνται για την καταπολέμηση των ζιζανίων και άλλων φυτών, που δεν είναι επιθυμητά.
- Μυκητοκτόνα (fungicides): Χημικές ή βιολογικές δραστικές ουσίες που χρησιμοποιούνται για την καταπολέμηση των ασθενειών που οφείλονται σε μύκητες. Ο όρος μυκητοκτόνο χρησιμοποιείται και στην περίπτωση ενώσεων που δεν θανατώνουν, αλλά δρουν παρεμποδιστικά στην αύξηση των φυτοπαθογόνων, έχουν δηλαδή μυκητοστατική δράση.
- Ακαρεοκτόνα (Acaricides): Χρησιμοποιούνται για την καταπολέμηση των ακάρεων.
- Νηματωδοκτόνα (Nematicides): Χρησιμοποιούνται για την καταπολέμηση νηματωδών, τα οποία δρουν ως παράσιτα των φυτών.
- Βακτηριοκτόνα (Bacteriocides): Χρησιμοποιούνται για την αντιμετώπιση βακτηριδίων.
- Μαλακιοκτόνα (Molluscicides): Χρησιμοποιούνται για να αναστέλλουν ή καταστρέφουν μαλάκια, όπως το σαλιγκάρι.
- Φερομόνες (Pheromones): Χρησιμοποιούνται για την παρεμπόδιση της σύζευξης των εντόμων.
- Ρυθμιστές ανάπτυξης φυτών (Plant Growth Regulators): Χρησιμοποιούνται για τη βελτίωση της ανάπτυξης των φυτών και του ριζικού τους συστήματος, ειδικά σε δύσκολες συνθήκες.
- Απωθητικές ουσίες (Repellents): Χρησιμοποιούνται για να απωθούν τους στόχους μέσω της γεύσης ή της οσμής των φυτών.
- Τρωκτικοκτόνα (Rodenticides): Χρησιμοποιούνται για να σκοτώνουν ή να αποτρέπουν τρωκτικά, όπως αρουραίους ή ποντίκια. (Καψή 2020)

Επίσης, με βάση τη δραστική ουσία που περιέχουν, ανάλογα δηλαδή με την χημική τους δομή, τα φυτοφάρμακα μπορούν να ταξινομηθούν σε διάφορες χημικές ομάδες. Η κατηγοριοποίηση αυτού του είδους είναι ιδιαίτερα σημαντική, επειδή οι λειτουργικές ομάδες αποτελούν δείκτες των φυσικοχημικών ιδιοτήτων του κάθε φυτοφαρμάκου. Οι βασικότερες είναι: (Νάννου and Αλμπάνης 2018)

- χλωριωμένοι υδρογονάνθρακες
- οργανοφωσφορικά
- καρβαμιδικά

- τριαζίνες
- ενώσεις της ομάδας των ουριών
- βενζοϊκά οξέα
- φαινυλουρίες
- χλωροακεταμίδια και ανιλίδια
- θειοκαρβαμιδικοί εστέρες
- διπυριδύλια
- πυρεθροειδή και πυρεθρίνες
- φερομόνες
- Τριαζόλες- Ιμιδαζόλες
- φθαλιμιδικά
- νεονικοτινοειδή

2.1.4 Τοξικότητα

Ως τοξικότητα, θεωρείται η ικανότητα μιας χημικής ουσίας να προκαλέσει βλάβες ή ανεπιθύμητες επιδράσεις σε ζωντανούς οργανισμούς. Οι επιδράσεις αυτές μπορεί να είναι είτε άμεσες (όπως η δηλητηρίαση) είτε έμμεση (όπως η διαταραχή της ανάπτυξης). (Greim and Snyder 2008)

Ορισμένοι βασικοί παράγοντες που επηρεάζουν την τοξικότητα είναι:

1. Η δόση: η ποσότητα της ουσίας που εισέρχεται στον οργανισμό.
2. Ο μηχανισμός δράσης: ο τρόπος με τον οποίο η ουσία αλληλοεπιδρά με το βιολογικό σύστημα ενός οργανισμού.
3. Ο χρόνος έκθεσης: Η διάρκεια κατά την οποία ο οργανισμός είναι εκτεθειμένος.
4. Η βιοδιαθεσιμότητα: Η ικανότητα του ζωντανού οργανισμού να απορροφήσει και εν τέλει να χρησιμοποιήσει την ουσία αυτή. (Greim and Snyder 2008; John Timbrell 2001)

ΟΞΕΙΑ ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑ

Η οξεία τοξικότητα αφορά τις δυσμενείς επιπτώσεις που ενδέχεται να προκύψουν από μεμονωμένη ή πολλαπλή έκθεση στην ουσία εντός 24 ωρών. Η έκθεση αφορά στην οπτική, επιδερμική και αναπνευστική οδό. Οι τιμές της τοξικότητας δηλώνονται ως τιμές LD50 και για την εισπνοή LC50 ή προς την οξεία τοξικότητα (ATE).

LC50/LD50: δόση ή συγκέντρωση που θανατώνει το 50% του υπό μελέτη πληθυσμού.

EC50/ED50: δόση ή συγκέντρωση που έχει αρνητική επίδραση στην επιβίωση, αναπαραγωγή ή ανάπτυξη του 50% του υπό μελέτη πληθυσμού.

ΧΡΟΝΙΑ ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑ

Έκθεση σε δυσμενείς επιπτώσεις που προκύπτουν από μεμονωμένη ή πολλαπλή έκθεση για μεγάλο χρονικό διάστημα σε συγκεκριμένο πληθυσμό.

NOAEL/NOAEC: η μέγιστη δόση που δεν προκαλεί βλάβη.

LOAEL/LOAEC: η ελάχιστη δόση που προκαλεί βλάβη.

(REACH | Δεδομένα για ουσίες > Τοξικολογικά δεδομένα (1/2))

Με βάση τα δεδομένα από τη Μελέτη Global Burden of Diseases, Injuries and Risk Factors 2019, η Επιτροπή Lancet ανέφερε ότι, περίπου εννέα εκατομμύρια θάνατοι συμβαίνουν ετησίως λόγω της, με σχεδόν δύο εκατομμύρια να συνδέονται με χημικά μολυσμένα νερά ή εδάφη. (Alehashem et al. 2022)

2.2 Φυτοφάρμακα στο αλεύρι

2.2.1 Επιτρεπόμενα φυτοπροστατευτικά στις καλλιέργειες σιτηρών

Σύμφωνα με το Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων στην Ελλάδα, οι εγκεκριμένες δραστικές ουσίες που χρησιμοποιούνται στις καλλιέργειες σιτηρών, και κατ' επέκταση και στο αλεύρι, παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα:

ΣΙΤΗΡΑ

ΔΡΑΣΤΙΚΕΣ ΟΥΣΙΕΣ	ΣΙΤΑΡΙ	ΑΡΑΒΟΣΙΤΟΣ	ΡΥΖΙ	ΚΡΙΘΑΡΙ	ΒΡΩΜΗ
2,4-Dimethylaniline	X	X		X	
Abamectin	X	X			
Amidosulfuron	X				
Aminopyralid	X	X			
Azoxystrobin	X	X	X	X	X
Bacillus firmus I-1582		X			
Bacillus thuringiensis subsp		X	X		
Benoxacor		X			
Bensulfuron	X				
Bentazone	X	X	X	X	
Benzovindiflupyr	X	X			
Bixafen	X				
Chlorantraniliprole		X			
Chlormequat	X				
Chlorotoluron	X				
Clodinafop	X				
Clopyralid	X	X			
Cloquintocet mexyl	X				
Cypermethrin	X	X		X	X
Cyproconazole	X	X			
Deltamethrin	X	X		X	X
Dicamba	X	X		X	

Difenoconazole	X		X	X	
Diffenican	X				
Dimethenamid-p		X			
Ethephon	X				
Fatty acid potassium salt	X	X	X		
Fenoxaprop-P	X			X	
Fenpropidin	X				
flonicamid	X				
Florasulam	X			X	X
Fludioxonil	X		X	X	
Flufenacet	X				
Fluroxypyr	X				X
Flutriafol	X				
Fluxapyroxad	X				
Glyphosate	X				
Iodosulfuron	X				
Ipconazole	X	X			
Isopyrazam	X				
lambda-Cyhalothrin	X		X	X	X
MCPA	X		X	X	X
Mecoprop-p	X				
mefenpyr	X				
Mefentrifluconazole	X				
Mesosulfuron	X				
Metribuzin	X				
Metsulfuron-methyl	X			X	X
Pendimethalin	X		X	X	X
Prochloraz	X				
Pyraclostrobin	X		X	X	X
Spiroxamine	X				
Sulphur	X				
tau-Fluvalinate	X				
Tebuconazole	X	X		X	X
Tefluthrin	X	X			
Tetraconazole	X				
thiencarbazone-methyl	X				
Tribenuron	X				
Trifloxystrobin	X		X		
Terbutylazine		X			
Mesotrione		X			
S-metolachlor		X			
mesotrione		X			
nicosulfuron		X			
Sodium o-nitrophenolate			X		
Sodium p-nitrophenolate			X		

Πίνακας 10 : ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΔΡΑΣΤΙΚΩΝ ΟΥΣΙΩΝ ΚΑΤΑ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ
(1click.Minagric.Gr/oneClickUI/frmFytoPro.Zul)

2.2 Επιπτώσεις στο περιβάλλον

Η μη ορθή χρήση των φυτοφαρμάκων αλλά και η παρουσία μη αποδεκτών υπολειμματικών συγκεντρώσεων φυτοφαρμάκων σε αγροτικά προϊόντα φυτικής ή ζωικής προέλευσης, εγείρουν περιβαλλοντικές ανησυχίες, καθώς έχουν αποδεδειγμένα αρνητικές επιπτώσεις. Ειδικότερα, ορισμένες από αυτές είναι: η ρύπανση του εδάφους, των επιφανειακών και υπογείων νερών, ο περιορισμός της βιοποικιλότητας, αλλά και η αύξηση του κινδύνου για την ανθρώπινη υγεία. (Αλμπάνης Τ. 2009)

Το μέγεθος των επιπτώσεων εξαρτάται τόσο από την εγγενή τοξικότητα του φυτοφαρμάκου, όσο και από το βαθμό ευαισθησίας των οργανισμών που εκτίθενται σε αυτό. Ιδανικά, ένα φυτοπροστατευτικό προϊόν πρέπει να έχει δράση μόνο εναντίον του παράσιτου στόχου, χωρίς καμία επίδραση στους οργανισμούς μη στόχους, συμπεριλαμβανομένου του ανθρώπου και της μη στοχευόμενης βλάστησης. Δυστυχώς, αυτό δεν γίνεται πάντα καθώς έχει υπολογιστεί ότι πάνω από το 98% των εντομοκτόνων και πάνω από το 95% των ζιζανιοκτόνων, δεν φτάνουν τον οργανισμό-στόχο και καταλήγουν να αποτίθενται στην ατμόσφαιρα, το νερό και το έδαφος. (Aktar et al. 2009)

Πιο συγκεκριμένα, η χρήση τους οδηγεί συχνά στα υπόγεια και επιφανειακά ύδατα. Αν δεν γίνει σωστή διαχείριση, εισέρχονται στα υδάτινα στρώματα μέσω της απορροής ή από διαρροή από τα αγροκτήματα και τις καλλιέργειες. Ταυτόχρονα, συσσωρεύονται στο έδαφος και βλάπτουν την μικροχλωρίδα του εδάφους, επιδρώντας αρνητικά στην ποιότητα του εδάφους και την φυσική ανακύκλωση διαφόρων θρεπτικών ουσιών. (Αλμπάνης Τ. 2009)

Με βάση όσα αναφέρθηκαν, τα φυτοφάρμακα καταλήγουν στο έδαφος, είτε από άμεση εφαρμογή τους σε αυτό, είτε έμμεσα έπειτα από ψεκασμούς σε καλλιέργειες. Σχετικές μελέτες έχουν δείξει ότι: το ποσοστό του φυτοφαρμάκου το οποίο φθάνει μετά τον ψεκασμό μιας καλλιέργειας στο έδαφος συχνά είναι υψηλό και μπορεί να ανέρχεται περίπου στο 60-70% της εφαρμοζόμενης ποσότητας. (E. O. Beasley, R. P. Rohrbach, C. M. Mainland, J. R. Meyer 1983)

Η τύχη των φυτοφαρμάκων στο έδαφος εξαρτάται τόσο από τις ιδιότητες του φυτοφαρμάκου όσο και από αυτές του εδάφους-κυρίως την περιεκτικότητά του σε οργανική ουσία. Οι τρεις κύριοι παράγοντες που καθορίζουν τη συμπεριφορά των φυτοφαρμάκων στο έδαφος είναι ο χρόνος παραμονής, η προσρόφηση και η τάση ατμών στην επιφάνεια του εδάφους. (Gavrilescu 2005)

Τα φυτοφάρμακα προκαλούν δυσμενείς επιπτώσεις στους μικροοργανισμούς του εδάφους και γενικότερα σε πανίδα και χλωρίδα που δεν αποτελούν «στόχο» του φυτοφαρμάκου. Υπάρχουν αρκετές αποδείξεις ότι, τα μόρια των παρασιτοκτόνων καθώς και των οργανοχλωριωμένων εντομοκτόνων διατηρούνται στο έδαφος και το νερό για αρκετά χρόνια. (Gavrilescu 2005)

Πολλές φορές, η υπερβολική χρήση τους οδηγεί και σε ανάπτυξη ανθεκτικότητας στα παράσιτα/μύκητες κ.α.. Με τον καιρό χρήσης, καταφέρνουν να εξελιχθούν, με σκοπό να γίνονται όλο και πιο ανθεκτικά σε διάφορα χημικά, μειώνοντας με αυτό τον τρόπο την αποτελεσματικότητά των φυτοφαρμάκων. Αυτό

οδηγεί σε χρήση μεγαλύτερων συγκεντρώσεων, με αποτέλεσμα να προκύπτει ένας φαύλος κύκλος. (Αλμπάνης Τ. 2009)

2.3 Επιπτώσεις στην υγεία του ανθρώπου

Δυστυχώς η ανάγκη για μεγάλη παραγωγή τροφίμων έχει οδηγήσει στη χρήση ουσιών οι οποίες, αφενός βοηθούν στην προστασία από διάφορους επιθετικούς παράγοντες όπως βακτήρια, μύκητες και έντομά, και αφετέρου ενοχοποιούνται για πρόκληση εξαιρετικά δυσάρεστων συνεπειών στην ανθρώπινη υγεία. Αξίζει να σημειωθεί μάλιστα πως οι επιπτώσεις αυτές είναι ακόμα πιο σοβαρές όταν αφορούν παιδιά καθώς αυτά είναι δυνατόν να έρθουν σε επαφή με τις βλαβερές αυτές ουσίες πάρα πολύ εύκολα, μέσω των τροφίμων, του αέρα αλλά και του νερού (Θεοδώρα Λιακοπούλου-Τσιτσιπή 2008)

Τα φυτοφάρμακα δεν εισέρχονται μόνο στον οργανισμό των φυτών αλλά και των ανθρώπων (καλλιεργητών και καταναλωτών) και αναλόγως της χημικής τους σύνθεσης επιδρούν τοξικά σε διαφορετικά συστήματα του ανθρώπινου οργανισμού (ενδοκρινικό, νευρικό, αναπαραγωγικό κ.α.). Αυτές οι χημικές ουσίες εισέρχονται είτε σε μεγάλες ποσότητες εφάπαξ (οξείες δηλητηριάσεις), είτε σε μικρές ποσότητες χρονίως. Και στις δύο περιπτώσεις δρουν σαν δηλητήρια για τον άνθρωπο. Ως γνωστόν ως δηλητήριο ορίζεται κάθε χημική ουσία, η οποία μπορεί να προκαλέσει βλάβη της υγείας ή και τον θάνατο όταν εισέλθει με οποιονδήποτε τρόπο στον οργανισμό. (Πολυξένη Νέου 2007). Αυτές οι δηλητηριάσεις μπορεί να προκύψουν από την κακή χρήση ή την έκθεση σε φυτοφάρμακα, που είναι συχνά το αποτέλεσμα ελλειπών εκπαίδευσης ή προστασίας των εργαζομένων στον αγροτικό τομέα. (World Health Organization (WHO))

Οι ουσίες των φυτοφαρμάκων μπορεί να είναι μέχρι και δέκα φορές πιο τοξικές στα παιδιά από ότι στους ενήλικες ανάλογα με το βάρος το οποίο αυτά διαθέτουν. Για παράδειγμα στα νεογνά λόγω της μη πλήρους ανεπτυγμένης νεφρικής λειτουργίας, οι τοξικές ουσίες δεν μπορούν να αποβληθούν εύκολα, με αποτέλεσμα να συγκεντρώνονται συνεχώς στον οργανισμό τους και να δημιουργούν σοβαρότατες επιπτώσεις. (Philip John Landrigan 2013; Vincent F Garry 2005)

Οι επιπτώσεις στην ανθρώπινη υγεία από την χρήση των φυτοπροστατευτικών προϊόντων έχουν διαπιστωθεί ότι είναι σημαντικές. Κάθε χρόνο, δεκάδες χιλιάδες αγρότες, κυρίως στις αναπτυσσόμενες χώρες εκτίθενται στα φυτοπροστατευτικά προϊόντα. Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (ΠΟΥ) ανακοινώνει 3 εκατομμύρια δηλητηριάσεις από φυτοφάρμακα κάθε χρόνο, ενώ σημειώνονται και 220.000 θάνατοι. (World Health Organization (WHO)). Οι περισσότεροι θάνατοι είναι απόρροια της έλλειψης μέτρων υγιεινής και ασφάλειας και καταγράφονται στις αναπτυσσόμενες χώρες. Η έκθεση σε φυτοπροστατευτικά προϊόντα έχει άμεση σύνδεση με χρόνια προβλήματα υγείας όπως αναπνευστικά προβλήματα, καρκίνο, κατάθλιψη, νευρολογικά προβλήματα διαταραχές μνήμης, δερματολογικές παθήσεις, αποβολές σε

εγκύους και γενετικές ανωμαλίες. Η είσοδος των φυτοφάρμακων στον άνθρωπο γίνεται κυρίως με τρεις τρόπους:

- δερματική έκθεση,
- το αναπνευστικό σύστημα,
- κατάποση.(Μαρία Ρεκλείτη , Παναγιώτης Κυλούδης 2012)

2.4 Νομοθετικό πλαίσιο για τα φυτοφάρμακα

Η νομοθεσία της ΕΕ για τα χημικά προϊόντα και τα φυτοφάρμακα έχει ως στόχο να προστατεύσει την ανθρώπινη υγεία και το περιβάλλον, από λανθασμένη και υπερβολική χρήση. Αποτελείται από κανόνες για τη διάθεση στην αγορά και τη χρήση των χημικών προϊόντων, σύνολο περιορισμών για τη διάθεση στην αγορά και τη χρήση, καθώς και από πρωτόκολλα για την αντιμετώπιση ατυχημάτων, που σχετίζονται με επικίνδυνες ουσίες. Τα δύο σημαντικότερα επιτεύγματα σε επίπεδο ΕΕ είναι ο κανονισμός CLP (Ευρωπαϊκός Κανονισμός CLP) (ταξινόμηση, επισήμανση και συσκευασία) και ο κανονισμός REACH (REACH) (καταχώριση, αξιολόγηση, αδειοδότηση και περιορισμοί των χημικών προϊόντων).

Η πολιτική της ΕΕ για τα χημικά προϊόντα υπέστη ριζική αναθεώρηση με την έγκριση του κανονισμού (ΕΚ) αριθ. 1907/2006 (κανονισμός REACH) το 2006. Ο κανονισμός, ο οποίος τέθηκε σε ισχύ την 1η Ιουνίου 2007, θέσπισε νέο νομικό πλαίσιο για τη ρύθμιση της ανάπτυξης, της παραγωγής, της διάθεσης στην αγορά και της χρήσης των χημικών προϊόντων και αντικατέστησε περίπου 40 προηγούμενες νομοθετικές πράξεις. Ο κανονισμός REACH καθιέρωσε ενιαίο σύστημα για όλα τα χημικά προϊόντα και μετέφερε το βάρος της απόδειξης για την αξιολόγηση των κινδύνων των ουσιών από τις δημόσιες αρχές, στις εταιρείες. Επιπροσθέτως, ζητούσε την αντικατάσταση των πιο επικίνδυνων χημικών προϊόντων από κατάλληλες εναλλακτικές λύσεις.(Χημικά προϊόντα και φυτοφάρμακα, 2023)

Με τον όρο «φυτοφάρμακα» εννοούμε ουσίες που χρησιμοποιούνται για την καταπολέμηση, εξάλειψη και πρόληψη οργανισμών που θεωρούνται ζημιογόνοι. Ο όρος περιλαμβάνει τόσο τα φυτοπροστατευτικά προϊόντα (ΦΠΠ) που χρησιμοποιούνται σε φυτά στη γεωργία, την κηπευτική, στα πάρκα και σε κήπους, όσο και τα βιοκτόνα που χρησιμοποιούνται σε άλλες εφαρμογές, όπως για παράδειγμα απολυμαντικά.

Σύμφωνα με το άρθρο 2 της οδηγίας 91/414/ΕΟΚ, ως υπολείμματα φυτοπροστατευτικών προϊόντων ορίζονται μία ή περισσότερες παρούσες ουσίες εντός ή επί των φυτών ή των προϊόντων φυτικής προέλευσης, των βρώσιμων προϊόντων ζωικής προέλευσης ή αλλού στο περιβάλλον, προερχόμενες από τη χρήση του φυτοπροστατευτικού προϊόντος, περιλαμβανομένων των μεταβολιτών τους και των προϊόντων που προέρχονται από την αποικοδόμηση ή την αντίδραση τους.

Η οδηγία 91/414/ΕΟΚ πλέον έχει αντικατασταθεί από τον νέο Κανονισμό (ΕΚ) 1107/2009, όπου αναφέρει το σύγχρονο νομοθετικό πλαίσιο της ΕΕ για τη διάθεση των φυτοπροστατευτικών προϊόντων. Η ενοποιημένη έκδοση του 2022 (ΕΚ) 1107/2009 δεν

αποτελεί επιπλέον νομοθεσία ή τροποποίηση, αλλά περιλαμβάνει όλες τις αλλαγές και προσθήκες που πραγματοποιήθηκαν από το έτος 2009 κα έπειτα. Έχουν θέσει πιο αυστηρές οδηγίες και απαιτήσεις για την έγκριση των δραστικών ουσιών, με σκοπό την καλύτερη προστασία της ανθρώπινης υγείας του περιβάλλοντος αλλά και των ζώων. Η νέα αυτή οδηγία δίνει μεγαλύτερο βάρος στην πρόληψη των κινδύνων και στην αξιολόγηση της ασφάλειας, πριν την διάθεση των δραστικών ουσιών. ((ΕΚ) 1107/2009, 2022)

Η παρουσία υπολειμμάτων φυτοπροστατευτικών προϊόντων διατρέχει διάφορους κινδύνους για τον καταναλωτή ανάλογα με:

1. Την τοξικότητα των φυτοπροστατευτικών ενώσεων,
2. Το επίπεδο των υπολειμμάτων στο προϊόν
3. Τις διατροφικές συνήθειες των καταναλωτών.

Το σύστημα Ανώτατων Ορίων Υπολειμμάτων Φυτοφάρμακων (MRLS's - MAXIMUM RESIDUE LIMITS) έχει θεσπιστεί από τον Codex Alimentarius από τον FAO και τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (WHO), ώστε να καθορίζονται τα μέγιστα επιτρεπτά επίπεδα στα υπολείμματα φυτοπροστατευτικών ενώσεων στα τρόφιμα, με τελικό σκοπό να διασφαλιστεί η υγεία και ασφάλεια των καταναλωτών. (SANTE/11312/2021)

2.5 Μέγιστα Όρια Υπολειμμάτων (MRLs)

Ως Μέγιστο Επιτρεπτό Όριο Υπολειμμάτων (Maximum Residue Level, MRL) ορίζεται, η μέγιστη συγκέντρωση των υπολειμμάτων που μπορεί να ανιχνευθεί σε προϊόντα, μετά από εφαρμογή ορθών γεωργικών πρακτικών στις καλλιέργειες. Τα μέγιστα επιτρεπτά όρια υπολειμμάτων εκφράζονται σε मिलिग्रामμάρια δραστικής ουσίας ανά κιλό φυτικού προϊόντος (mg/ Kg). Τα θεμελιώδη στοιχεία στα οποία βασίζονται τα MRLs είναι η Αποδεκτή Ημερήσια Δόση (Acceptable Daily Intake, ADI) και οι Κανόνες Ορθής Γεωργικής Πρακτικής (Good Agriculture Practice, GAP).(Maximum Residue Limits | CODEXALIMENTARIUS FAO-WHO)

Η θέσπιση των MRLs έχει δυο απώτερους στόχους. Πρώτων, την προστασία του καταναλωτή από τις μη επιθυμητές επιδράσεις των φυτοπροστατευτικών προϊόντων και δεύτερων, τη διευκόλυνση του της μετακίνησης και του εμπορίου αγροτικών προϊόντων. Τα MRLs καθορίζονται μετά από μια ιδιαίτερα πολύπλοκη διαδικασία. Συγκεκριμένα, απαιτούνται δεδομένα για τη μελέτη των ιδιοτήτων των φυτοπροστατευτικών προϊόντων (υπολειμματικότητα, μεταβολισμός, συμπεριφορά στον αγρό κ.ά.), τα οποία προέρχονται από εκτενή πειραματισμό που διεξάγεται σύμφωνα με τους κανόνες της Ορθής Εργαστηριακής Πρακτικής και της Ορθής Γεωργικής Πρακτικής, και δεδομένα που αφορούν τις διατροφικές συνήθειες των διαφόρων κρατών, προκειμένου να καθοριστεί η αναμενόμενη έκθεση του ανθρώπου ή των ζώων μέσω της τροφής. Οι διαδικασίες αυτές καθορίζονται στην Οδηγία 1107/2009 και τα MRLs που θεσπίζονται είναι υποχρεωτικά για τα Κράτη-Μέλη και ορίζονται σε επίπεδο Ευρωπαϊκής Ένωσης με τη συνεργασία της Επιτροπής και

εκπροσώπων της κρατών μελών. Ταυτόχρονα, ένας σημαντικός κανονισμός είναι ο (ΕΚ) 396/2005, που αποτελεί το βασικό και ενιαίο πλαίσιο. Καθορίζει MRL's για διάφορα προϊόντα, συμπεριλαμβανομένων των φυτοφαρμάκων, έχει άμεση ισχύ για όλα τα κράτη-μέλη της Ε.Ε..

Η Ελλάδα εκτός από τα Ευρωπαϊκά MRLs που υιοθετεί με αντίστοιχες υπουργικές αποφάσεις, καθορίζει και εθνικά MRLs που συμπεριλαμβάνονται στις υπουργικές αποφάσεις έγκρισης κυκλοφορίας ενός γεωργικού φαρμάκου. Για τις δραστικές ουσίες που δεν έχουν ευρωπαϊκά εθνικά MRLs, Ελλάδα αναγνωρίζει και αποδέχεται αυτά που ορίζονται από το CODEX Alimentarius του FAO. Όταν δεν υφίσταται κάποιο Ευρωπαϊκό MRL για την συγκεκριμένη δραστική ουσία (σε συνδυασμό με το φυτικό προϊόν), τα κράτη μέλη της Ε.Ε. είναι ελεύθερα να ακολουθήσουν την εθνική τους νομοθεσία και πολιτική σχετικά με τα αποδεκτά υπολείμματα, στις εμπορικές συναλλαγές που πραγματοποιούνται στην επικράτειά τους. (Pesticide Evaluations | EFSA; EUROPEAN COMMISSION)

Κεφάλαιο 3^ο

3.1. Τεχνικές Εκχύλισης Φυτοφαρμάκων σε τρόφιμα

Σε κάθε αναλυτική μεθοδολογία, όλα τα επιμέρους στάδια που χρησιμοποιούνται, έχουν βασική σημασία και απαιτούν προσεκτικό χειρισμό, προκειμένου να εξασφαλιστεί η αξιοπιστία και η επαναληψιμότητα της μεθόδου και των αποτελεσμάτων. Ένα από τα πιο απαιτητικά στάδια είναι η προετοιμασία του δείγματος, καθώς μέσω αυτού του σταδίου επιτυγχάνεται η απομόνωση, ο καθαρισμός και η προσυγκέντρωση των προς ανάλυση συστατικών. Έχουν αναπτυχθεί και συνεχίζουν να αναπτύσσονται νέες και πιο σύγχρονες μέθοδοι εκχύλισης, για τις όλο και αυξανόμενες απαιτήσεις σε απόδοση, ταχύτητα και όσο είναι εφικτό και αυτοματοποίηση. (Chen et al. 2008; Skoog et al. 2007)

Οι κυριότεροι στόχοι μίας κατεργασίας δείγματος συνοψίζονται στα εξής:

- I. Πριν από την εισαγωγή του υποστρώματος στην στήλη, απαιτείται η κατάλληλη προσαρμογή του, ώστε να καταστεί συμβατό με τον διαλύτη και να διασφαλιστεί η ασφαλή λειτουργία του οργάνου.
- II. Ο καθαρισμός του δείγματος είναι απαραίτητος, καθώς αποσκοπεί στην απομάκρυνση παρεμποδιστικών ουσιών, βελτιώνει την απόδοση της ανάλυσης αλλά προστατεύει έτσι και τον εξοπλισμό.
- III. Προκειμένου να αυξηθεί η ευαισθησία της μεθόδου και να επιτευχθούν τα χαμηλότερα όρια ανίχνευσης και προσδιορισμού, χρειάζεται η υπολογιστεί η προσυγκέντρωση των αναλυτών.
- IV. Η εκλεκτική ανάκτηση των υπό μελέτη ενώσεων.

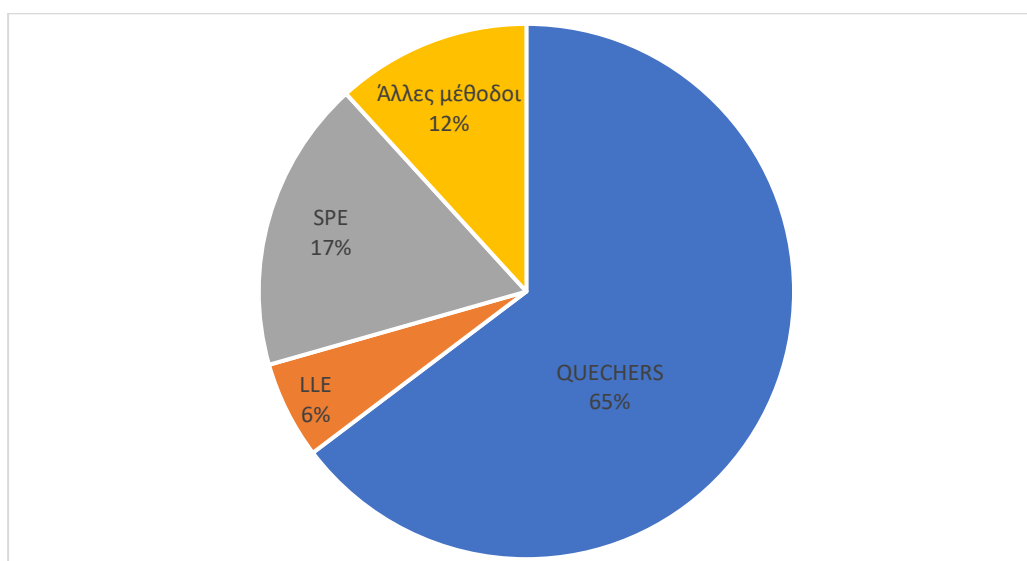
Τα κύρια γνωρίσματα μιας αποτελεσματικής τεχνικής προετοιμασίας περιλαμβάνουν τη σύντομη διάρκεια, χαμηλό κόστος ανάλυσης, υψηλή εκλεκτικότητα και απόδοση, εύκολη εφαρμογή. Μαζί με όλα αυτά θα πρέπει να συνεκτιμηθούν επίσης κι οι φυσικοχημικές ιδιότητες των προς ανάλυση ουσιών, η σύσταση του υποστρώματος και οι παρουσία παρεμποδίζουσων ουσιών. Τέλος, λαμβάνονται υπόψη όλα τα χαρακτηριστικά της μεθόδου όπως η επαναληψιμότητα, η ακρίβεια και η απλότητα της μεθόδου. (I. N. Παπαδογιάννης 2004)

Το πιο σημαντικό στάδιο των αναλύσεων είναι η απομόνωση της ένωσης από το δείγμα με τη βοήθεια μιας τεχνικής εκχύλισης. Η εκχύλιση είναι μία από τις πιο κλασικές τεχνικές διαχωρισμού και βασίζεται στην ισορροπία κατανομής μιας ουσίας μεταξύ δύο φάσεων, που αναμειγνύονται ελάχιστα μεταξύ τους. Αυτή η μέθοδος συναντάται με πολλές και διαφορετικές εκδοχές ανάλογα με την φυσική κατάσταση του εκχυλιστικού μέσου και της φάσης δότη. Στις τεχνικές εκχυλίσεως συμπεριλαμβάνεται η εκχύλιση στερεής φάσης (Solid Phase Extraction, SPE) και η πιο συνήθης που είναι η υγρή – υγρή εκχύλιση (Liquid – Liquid Extraction, LLE). (I. N. Παπαδογιάννης 2004)

Τα τυπικά στάδια της προκατεργασίας του δείγματος περιλαμβάνουν:

1. Δειγματοληψία και ομογενοποίηση, για την απόκτηση αντιπροσωπευτικού δείγματος
2. Εκχύλιση για απομόνωση των επιθυμητών ουσιών
3. Καθαρισμό για την απομάκρυνση παρεμποδίζουσών ουσιών
4. Διαχωρισμό, ταυτοποίηση και ποσοτικοποίηση

Ύστερα από βιβλιογραφική ανασκόπηση οι κυριότερες μέθοδοι εκχύλισης που χρησιμοποιούνται ευρέως για την εκχύλιση φυτοφαρμάκων σε αλεύρι τα τελευταία χρόνια είναι η εκχύλιση στερεάς φάσης (solid phase extraction, SPE), η υγρή-υγρή εκχύλιση (liquid-liquid extraction, LLE) και η εκχύλιση Quechers.



Εικόνα 5: Οι πιο συχνά χρησιμοποιούμενες μέθοδοι εκχύλισης για τον προσδιορισμό φυτοφαρμάκων στο αλεύρι. (Sereshti et al. 2022)

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΦΥΤ/ΚΩΝ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ	ΕΙΔΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ	ΜΕΘΟΔΟΣ
(Walorczyk 2007)	122	136	Δημητριακά	dSPE - GC-MS/MS
(Lacina et al. 2012)	288	2	Αλεύρι από: σιτάρι, βρώμη	QUECHERS UHPLS-MS/MS
(Peng Li 2013)	19	6	Δημητριακά : σιτάρι, καλαμπόκι, ρύζι	LLE HPLS-MS
(Zhao et al. 2015)	6	6	Δημητριακά : σιτάρι, καλαμπόκι, ρύζι	SPE HPLS-MS/MS
(He et al. 2015)	219	10	Αλεύρι από: καλαμπόκι, ρύζι, σιτάρι	QUECHERS GM-MS
(Zhu et al. 2016)	8	60	Αλεύρι από: σιτάρι, καλαμπόκι	SPE-DLLME
(Vilca et al., 2018)	42	37	Δημητριακά: Κινόα	QUECHERS LC- MS/MS
(de Matos et al., 2019)	60	24	Δημητριακά: Βρώμη	QUECHERS LC- MS/MS

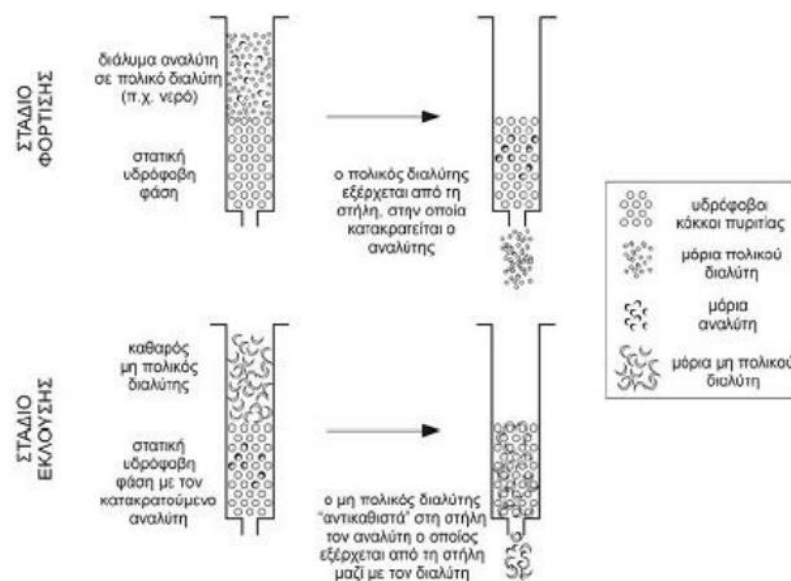
(Meghdad Pirsaeheb 2019)	3	27	Αλεύρι από: Σιτάρι	DLLME
Arendt Zannini, 2013; J. Wang et al., 2020			Αλεύρι από: Σίκαλη, Σιτάρι	QUECHER LC-ESI-MS
J. Wang et al., 2020	134	260	Αλεύρι από: Σιτάρι	QUECHER LC-ESI-MS
Valeria Nardelli 2021	37	209	Δημητριακά	QuEChERS - GC-MS/MS
(Hakami et al. 2021)	19	30	Δημητριακά: Σιτάρι, Καστανό σιτάρι, καλαμπόκι, κριθάρι, βρώμη, ρύζι	QUECHERS GM-MS
(Sereshti et al. 2022)	16	4	Αλεύρι από: Ρύζι, σιτάρι	QUECHERS GM-MS
Rodríguez-Ramos 2023	54	60	Αλεύρι από: Βρώμη, Σίκαλη, Κριθάρι, Κινόα	QUECHERS, UHPLC-Q-TOF-MS
EURL for Cereals and Feeding stuff National Food Institute Technical University of Denmark 2024	29		Δημητριακά: σιτάρι, ρύζι, σίκαλη, βρώμη	QuEChERS – GC & LC-MS/MS

Πίνακας 11: Αποτελέσματα πειραματικών δεδομένων βιβλιογραφίας, συγκρίνοντας την μέθοδο επεξεργασίας

3.1.1 Εκχύλιση στερεάς φάσης (Solid Phase Extraction, SPE)

Η εκχύλιση στερεάς φάσης πλεονεκτεί σημαντικά σε σχέση με τις κλασικές τεχνικές προκατεργασίας δείγματος. Είναι απαραίτητη σε περιπτώσεις που το σύνολο των δειγμάτων είναι αυξημένο, όταν υπάρχουν ιδιαίτερες απαιτήσεις για τον ποσοτικό προσδιορισμό νέων ενώσεων και των προϊόντων διάσπασης τους και όταν τα δείγματα είναι σε πολύ σημαντικά συγκεντρώσεις και σε αρκετά μεγάλο αριθμό. Η SPE είναι μια ταχεία και αποτελεσματική τεχνική που έχει πολλές εφαρμογές στην εκλεκτική απομόνωση, παραλαβή και προσυγκέντρωση των προσδιοριζόμενων συστατικών, περιορίζοντας τα μειονεκτήματα της κλασικής εκχύλισης υγρού-υγρού.

Τα προσδιοριζόμενα συστατικά κατανέμονται σε δύο φάσεις, μια στερεή και μια υγρή φάση, όπου το υγρό υπόστρωμα περιλαμβάνει συχνά και τις πιθανές παρεμποδίσεις. Χρησιμοποιεί ένα στερεό ως εκχυλιστική φάση η οποία εκχυλίζει οργανικές ενώσεις από υδατικά δείγματα. Τα προσδιοριζόμενα συστατικά χρειάζεται να έχουν μεγαλύτερη συγγένεια προς τη στερεή φάση, απ' ό,τι προς το υπόστρωμα του δείγματος, ώστε να μπορούν να συγκρατηθούν. Οι διάφοροι μηχανισμοί συγκράτησης και έκλουσης είναι αποτέλεσμα διαμοριακών αλληλεπιδράσεων που λαμβάνουν χώρα ανάμεσα σε τρία συστατικά: τα προσδιοριζόμενα συστατικά, τις ενεργές ομάδες στην επιφάνεια του προσροφητικού και του διαλύτη έκλουσης. (Ι. Ν. Παπαδογιάννης 2004)

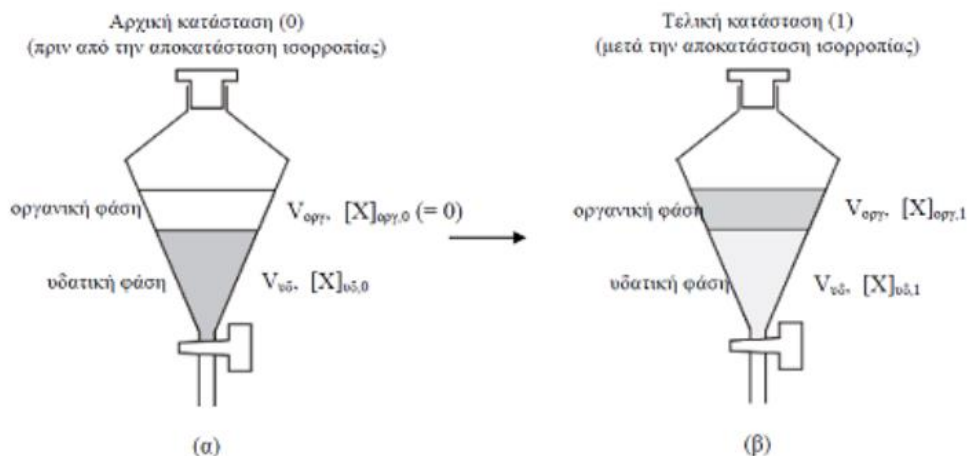


Εικόνα 6: Διαχωρισμός με SPE αντίστροφης φάσης. (Lord and Pawliszyn 2000; Arce et al. 2008)

Η SPE, όμως, περιορίζεται στην εκχύλιση ημιπτητικών και μη πτητικών ενώσεων και περιορίζεται από την θερμοκρασία του διαλύτη εκρόφησης (desorption solvent temperature). Απώλειες της ποσότητας των αναλυτών σημειώνονται κατά το στάδιο της εξάτμισης, χαρακτηριστικό που είναι ανεπιθύμητο. Τέλος, η SPE αποτελείται από πολλά στάδια που αυξάνουν τον κίνδυνο σφάλματος στην διαδικασία οδηγώντας σε ακόμη μικρότερη ευαισθησία της μεθόδου. (Lord and Pawliszyn 2000; Arce et al. 2008)

3.1.2 Υγρή-υγρή εκχύλιση (Liquid-Liquid Extraction, LLE)

Η πιο γνωστή μέθοδος εκχύλισης ενώσεων από υδατικό υπόστρωμα είναι η υγρή-υγρή εκχύλιση (LLE). Βασίζεται στην κατανομή των οργανικών ενώσεων μεταξύ του υδατικού δείγματος και ενός μη αναμίξιμου με το νερό οργανικού διαλύτη, δημιουργώντας δύο φάσεις. Στην υγρή - υγρή εκχύλιση, ορισμένος όγκος, από το προς εκχύλιση διάλυμα, φέρεται σε επαφή με ορισμένο όγκο εκχυλιστικού μέσου μέσα σε διαχωριστική χοάνη. Έπειτα, το σύστημα αναταράσσεται και αφήνεται σε ηρεμία. Μετά την αποκατάσταση της ισορροπίας, οι δύο φάσεις (υδατική και οργανική) διαχωρίζονται και λαμβάνεται εκείνη (συνήθως οργανική φάση) που περιέχει την ένωση στόχο, της οποίας εν συνεχεία υπολογίζεται η συγκέντρωση. Το πόσο αποτελεσματικός είναι ο διαλύτης στην εκχύλιση, εξαρτάται από τον συντελεστή κατανομής που εκφράζει την χημική συγγένειά του με την οργανική ένωση προς ανάλυση.



Εικόνα 7: Εκχύλιση LLE υδατικού διαλύματος ουσίας X (κάτω στοιβάδα) με οργανικό διαλύτη (επάνω στοιβάδα) σε διαχωριστική χοάνη. (α) Αρχική κατάσταση (0), (β) Τελική κατάσταση (μετά την ανατάραξη, αποκατάσταση ισορροπίας κατανομής και διαχωρισμό των φάσεων). (Χατζηιωάννου, Κουμπάρης 2014; Smith 2003)

Η υγρή-υγρή εκχύλιση είναι μία χρονοβόρος τεχνική που αποτελείται από πολλά στάδια, οδηγώντας μα αυτό τον τρόπο σε μειωμένη ευαισθησία της μεθόδου. Επιπλέον, η κατανάλωση μεγάλου όγκου διαλυτών όχι μόνο αυξάνει το συνολικό όγκο της τεχνικής, αλλά ταυτόχρονα, οι διαλύτες που χρησιμοποιούνται είναι τοξικοί, και αυξάνουν την επικινδυνότητα της μεθόδου. (Χατζηιωάννου, Κουμπάρης 2014; Smith 2003; Es'haghi 2011)

3.1.3 QuEChERS (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe)

Η μέθοδος QuEChERS αποτελεί ακρωνύμιο των 7 λέξεων ‘Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe’, δηλαδή «γρήγορη, εύκολη, οικονομική, αποτελεσματική, ανθεκτική, ασφαλής» και βρίσκει ένα ευρύ φάσμα αναφορών για τον προσδιορισμό καταλοίπων φυτοφαρμάκων σε διάφορα τρόφιμα.

Η μέθοδος QuEChERS αναπτύχθηκε από τον Michelangelo Anastassiades τα έτη 2001-2002 κατά τη μεταδιδακτορική έρευνα του στο USDA/ARS-ERRC στις ΗΠΑ. Αρχικά η μεθοδολογία αναπτύχθηκε για την ανάλυση κτηνιατρικών φαρμάκων σε ζωικούς ιστούς, αλλά αφού διαπιστώθηκαν οι μεγάλες δυνατότητές της στην εξαγωγή πολικών και ιδιαίτερα βασικών ενώσεων, δοκιμάστηκε και σε ανάλυση υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων σε φυτικό υλικό με μεγάλη επιτυχία. (Majors et al. 2010)

Η αρχική μέθοδος τροποποιήθηκε τα επόμενα χρόνια για να διεκρινθεί τόσο το πεδίο εφαρμογής των φυτοφαρμάκων όσο και των εμπορευμάτων. Μεγάλης σημασίας ήταν η εισαγωγή ρυθμιστικών αλάτων για τη βελτίωση της ανάκτησης αναλυτών που εξαρτώνται από το pH. Στο CVUA Stuttgart χρησιμοποιήθηκαν κιτρικά άλατα για ρυθμιστικό διάλυμα που επιτρέπουν την ανάλυση διαφόρων δύσκολων προϊόντων και φυτοφαρμάκων. Η μέθοδος με ρυθμιστικό διάλυμα κιτρικών οδήγησε στο Ευρωπαϊκό

Πρότυπο EN 15662 Τρόφιμα φυτικής προέλευσης – Προσδιορισμός υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων με χρήση GC-MS και/ή LC-MS/MS μετά από εκχύλιση/διαμερισμό ακετονιτρίλιου και καθαρισμό με διασπορά SPE (μέθοδος QuEChERS) δημοσιεύθηκε το 2008. Έκτοτε, έχει εξελιχθεί, βελτιστοποιηθεί και τροποποιηθεί. Σήμερα, το πεδίο αναλυτικής εφαρμογής της μεθόδου QuEChERS έχει επεκταθεί σε φυσικούς ρύπους, κτηνιατρικά φάρμακα, μυκοτοξίνες και άλλους τομείς. Έχει γίνει μια επικρατούσα προσέγγιση για την προετοιμασία δειγμάτων στον κόσμο της ανάλυσης υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων.(Majors et al. 2010; HAWACH 2019)

Η πειραματική πορεία που ακολουθείται είναι εξαιρετικά απλή. Τα προς ανάλυση δείγματα, ομογενοποιούνται και μία συνήθως μικρή ποσότητα από αυτά ζυγίζεται σε πλαστικούς φυγοκεντρικούς σωλήνες από πολυαιθυλένιο. Ακολουθεί εκχύλιση με χρήση οργανικού διαλύτη (συνήθως ακετονιτρίλιο) και προσθήκη άνυδρου θειικού μαγνησίου (MgSO_4) και χλωριούχου νατρίου (NaCl) ή οξικού νατρίου (NaAcetate) ή και κάποιου ρυθμιστικού διαλύματος όπως τα κιτρικά άλατα (αν κριθεί απαραίτητη η ρύθμιση pH). Το μείγμα αναδεύεται έντονα και ακολουθεί φυγοκέντρωση για το διαχωρισμό των φάσεων. Έπειτα, συγκεκριμένη ποσότητα από την υπερκείμενη φάση, καθαρίζεται με υγρή–στερεή εκχύλιση εν διασπορά (dispersive SPE) με τη χρήση MgSO_4 και υλικών όπως η πρωτοταγής–δευτεροταγής αμίνη (Primary-Secondary Amine, PSA), το υλικό προσρόφησης ανάστροφης φάσης πυριτία C18 ή και ο γραφίτιοποιημένος άνθρακας (graphitized carbon black, GCB). Για την εξισορρόπηση του pH και τη βελτίωση της σταθερότητας κατά την αποθήκευση των ευαίσθητων στο pH αναλυτών ενίοτε προστίθεται μικρή ποσότητα φορμικού οξέος ή αμμωνίας. Το τελικό εκχύλισμα, αν χρειαστεί συμπυκνώνεται και επαναδιαλύεται στον επιθυμητό διαλύτη πριν την έγχυση σε υγρό ή αέριο χρωματογράφο σε σύζευξη με φασματογράφο μάζας.

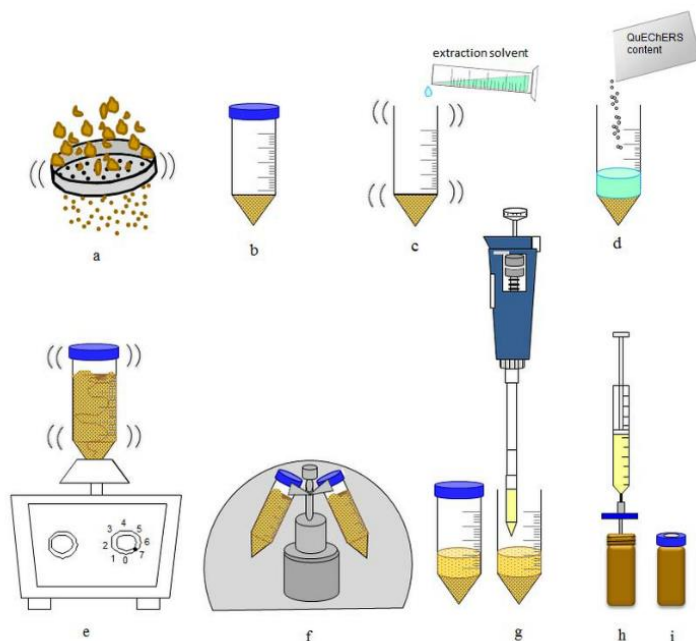
Η εκχύλιση διασποράς με χρήση προσροφητικού παρουσιάζει σημαντικά πλεονεκτήματα καθώς συμβάλλει στην βελτίωση της ευκρίνειας αλλά και στον διαχωρισμό των κορυφών της κάθε ένωσης, διευκολύνοντας και την ταυτοποίησή της. Επίσης, μειώνει και απομακρύνει άλλες παρεμβολές στο υπόστρωμα που εμφανίζουν κορυφές ίδιες ή παρόμοιες με τις προς ανάλυση ενώσεις. (RESTEK 2020)

Η μέθοδος βασίζεται σε ένα απλό στάδιο υγρής–υγρής/στερεής εκχύλισης του ομογενοποιημένου δείγματος με τη χρήση ακετονιτρίλιου και παρουσία μεγάλων ποσοτήτων αλάτων όπως άνυδρο θειικό μαγνήσιο (MgSO_4), χλωριούχο ή οξικό νάτριο (NaCl ή NaOAc) ή κιτρικά άλατα ακολουθούμενο από ένα στάδιο καθαρισμού με εκχύλιση στερεάς φάσης σε διασπορά (dispersive SPE).

Το ακετονιτρίλιο είναι ο διαλύτης που προτιμάται, καθώς διαχωρίζεται εύκολα από την υδατική φάση με την προσθήκη ενός μείγματος αλάτων (συνήθως MgSO_4 και NaCl), παρέχοντας υψηλές ανακτήσεις ακόμα και για πολικές ενώσεις, ενώ παράλληλα τα εκχυλίσματα του είναι σχετικά απαλλαγμένα από παρεμποδίζουσες ενώσεις. Μπορεί επίσης, να χρησιμοποιηθεί ακετόνη ή οξικός αιθυλεστέρας, ωστόσο δεν προτιμώνται καθώς η ακετόνη αναμειγνύεται εύκολα με το νερό δυσκολεύοντας τον διαχωρισμό τους, ενώ ο οξικός αιθυλεστέρας είναι λιγότερο αναμίξιμος με το νερό αλλά δεν παραλαμβάνει ποσοτικά τα πολικά φυτοφάρμακα.

Ανάλογα με τη φύση των δειγμάτων, η συγκεκριμένη μέθοδος διαφοροποιείται. Για παράδειγμα, δείγματα με χαμηλή περιεκτικότητα σε νερό (<80%) απαιτούν την προσθήκη ύδατος πριν από την αρχική εκχύλιση προκειμένου να περιέχεται η ίδια αναλογία νερού και δείγματος σε τελική ποσότητα δείγματος ίση με 10 mL. Όταν πρόκειται για δείγματα που περιέχουν <25% νερό (π.χ. σιτηρά, ξηρούς καρπούς, μέλι, καρυκεύματα) η ποσότητα του δείγματος ανάλυσης μπορεί να μειωθεί (π.χ. 1–5 g) και ακολουθεί συμπλήρωση με νερό ώστε να εξασφαλιστεί ικανοποιητικό ποσοστό υγρασίας. Το νερό που προστίθεται πρέπει να είναι σε χαμηλή θερμοκρασία (π.χ. <4°C) προκειμένου να αντισταθμιστεί από την αύξηση της θερμοκρασίας που προκαλείται από την προσθήκη των αλάτων εκχύλισης.

Η προσθήκη των αλάτων κατά το στάδιο της εκχύλισης, έχει ως σκοπό τον βέλτιστο διαχωρισμό των φάσεων και τη σταθεροποίηση των δραστικών φυτοφαρμάκων, δηλαδή την υψηλότερη ανάκτηση για ευρύ φάσμα αναλυτών. Το θεικό μαγνήσιο ($MgSO_4$) μειώνει τον όγκο της υδατικής φάσης βοηθώντας την κατανομή των πολικών αναλυτών στην οργανική φάση. Το χλωριούχο νάτριο ($NaCl$) βελτιώνει την εκλεκτικότητα της εκχύλισης καθώς, με μεταβολή της ποσότητας του ελέγχεται η πολικότητα της μεθόδου και επομένως η ποσότητα των παρεμβαλλόμενων ουσιών στο εκχύλισμα. Τέλος, το οξικό νάτριο βοηθά στη διάλυση σφαιριδίων λίπους.



Εικόνα 8: Σχηματική απεικόνιση μιας τυπικής μεθόδου QuEChERS.(Paíga et al. 2015)

Υπάρχουν τρεις βασικές «παραλλαγές» για τη μέθοδο, οι οποίες ενδέχεται να τροποποιηθούν περαιτέρω ανάλογα με τις ανάγκες της ανάλυσης.

1. Στην «αυθεντική» μέθοδο ('original') QuEChERS ως διαλύτης εκχύλισης χρησιμοποιείται ακετονιτρίλιο, ενώ η σύνθεση της QuEChERS περιλαμβάνει χλωριούχο νάτριο ($NaCl$) για να βελτιώσει την αποτελεσματικότητα της εκχύλισης και να μειώσει τις παρεμποδίσσεις που οφείλονται σε πολικές ενώσεις.

Στο στάδιο του καθαρισμού χρησιμοποιούνται τα άλατα καθαρισμού: MgSO_4 , PSA και C18.

2. Στη μέθοδο AOAC 2007.01, ως διαλύτης εκχύλισης χρησιμοποιείται ακετονιτρίλιο με προσθήκη οξικού οξέος (1%), και άνυδρο οξικό νάτριο (CH_3COONa) ως ρυθμιστής pH, για να αποτρέψει την αποδόμηση ενώσεων που είναι ευαίσθητες σε βασικό περιβάλλον, ενώ ταυτόχρονα βοηθά στην καλύτερη ανάκτηση και σταθερότητα των ενώσεων που είναι ευαίσθητες στις ακραίες μεταβολές του pH. Στο στάδιο του καθαρισμού περιλαμβάνει τα άλατα καθαρισμού: MgSO_4 , PSA και C18.
3. Τέλος, στη μέθοδο που είναι γνωστή ως EN15662 ή Buffered, διαλύτης εκχύλισης χρησιμοποιείται ακετονιτρίλιο και η σύνθεση της εκτός από NaCl για την απομάκρυνση των πολικών παρεμποδίσεων, περιλαμβάνει και τα ρυθμιστικά άλατα του κιτρικού οξέος για τη συντήρηση των ευαίσθητων σε βασικό pH ενώσεων (sodium citrate, sodium hydrogencitrate sesquihydrate). Τέλος, στο στάδιο του καθαρισμού περιλαμβάνει τα άλατα καθαρισμού: MgSO_4 , PSA και C18. (Satpathy et al. 2014; Majors et al. 2010)

Κατά την εφαρμογή της QuEChERS, ο καθαρισμός του δείγματος είναι απαραίτητος και συνήθως επιτυγχάνεται με τεχνική της εκχύλισης δια της στερεής φάσης σε διασπορά (dispersive solid phase extraction, dSPE). Συχνά προτείνεται επίσης ψύξη του δείγματος, πριν την ανάλυση ως επιπλέον στάδιο καθαρισμού, αφού όταν χρησιμοποιείται κατεψυγμένο ομογενοποιημένο δείγμα συστατικά του υποστρώματος όπως λίπη και σάκχαρα μπορεί να απομακρυνθούν.

Η πειραματική πορεία για τον καθαρισμό με d-SPE είναι εξίσου απλή με την εκχύλιση QuEChERS. Ένα μέρος από το υπερκείμενο διάλυμα (οργανική φάση) που προκύπτει από την εκχύλιση μεταφέρεται σε πλαστικό φυγοκεντρικό σωλήνα από πολυαιθυλένιο, ο οποίος περιέχει άνυδρο θειικό μαγνήσιο (MgSO_4) για την απομάκρυνση της περίσσειας νερού και μικρή ποσότητα άλλης προσροφητικής ουσίας ή συνδυασμού προσροφητικών ουσιών. Επίσης, αυξάνει την ιοντική ισχύ και βοηθάει στον πλήρη διαχωρισμό των 2 φάσεων. Ακολουθεί και πάλι ανακίνηση και φυγοκέντρηση του δείγματος, και το τελικό υπερκείμενο διάλυμα είτε αναλύεται απευθείας με υγρή ή αέρια χρωματογραφία συζευγμένη με φασματογράφο μάζας, είτε προηγουμένως συμπυκνώνεται για να επαναδιαλυθεί σε καταλληλότερο διαλύτη. Επίσης, όταν κρίνεται απαραίτητο στο στάδιο αυτό, μπορεί να ρυθμίζεται το pH. Η χρήση του NaCl οδηγεί σε διάλυση του λίπους, ώστε να απομακρυνθεί ευκολότερα στο στάδιο του καθαρισμού.

Κατά τη διάρκεια του καθαρισμού, λαμβάνει χώρα μια δεύτερη εκχύλιση που στοχεύει, εκτός από την απομάκρυνση του νερού και στην απομάκρυνση, όσο το δυνατόν περισσότερων παρεμποδίζουσών ουσιών από το υπόστρωμα. Έτσι, τα προσροφητικά που χρησιμοποιούνται διαφέρουν ανάλογα με το αναλυόμενο υπόστρωμα αλλά και τις παρεμποδίζουσες ουσίες. Τα προσροφητικά/μείγματα προσροφητικών που χρησιμοποιούνται ευρέως είναι:

- Πρωτοταγής–δευτεροταγής αμίνη (PSA): ως ασθενής ιονανταλλάκτης ελαττώνει ή/και απομακρύνει εντελώς παρεμποδίζουσες ενώσεις όπως λιπαρά οξέα και σάκχαρα.
- Γραφίτοποιημένος άνθρακας (GCB): απομακρύνει χρωστικές ουσίες, όπως χλωροφύλλη και καροτενοειδή. Ωστόσο, μπορεί μαζί με τις παρεμποδίζουσες ουσίες να απομακρύνει και ορισμένους αναλύτες που δεν παρουσιάζουν επίπεδη γεωμετρία στο χώρο, όπως φυτοφάρμακα με επίπεδη δομή δακτυλίου (ring-planar pesticides).
- Πυριτία C18 (octadecyl silica): απομακρύνει τα λιπίδια και τις μη πολικές ενώσεις. (Paíga et al. 2015; Sereshti et al. 2022)

3.2 Χρωματογραφικές τεχνικές προσδιορισμού υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων στο αλεύρι

Η χρωματογραφική ανάλυση, γνωστή συνήθως ως χρωματογραφία, περιλαμβάνει μια σειρά τεχνικών φυσικού διαχωρισμού και προσδιορισμού των συστατικών μείγματος ανόργανων ή οργανικών ουσιών. Ο διαχωρισμός επιτυγχάνεται με κατανομή των συστατικών μεταξύ δύο φάσεων, μιας στατικής και μιας κινητής, που βρίσκονται στη χρωματογραφική “στήλη”. Ο διαχωρισμός βασίζεται στις διαφορές, που υπάρχουν σε ορισμένες ιδιότητες των συστατικών ενός μείγματος, όπως είναι το σημείο ζέσεως, η πολικότητα, τα ηλεκτρικά φορτία, το μέγεθος των φορτίων κ.α. οι διαφοροποιήσεις αυτές επηρεάζουν τη σχετική φυσικοχημική έλξη κάθε συστατικού προς τις δύο φάσεις της “στήλης”. Έτσι, η κινητή φάση, διερχόμενη μέσα από τη στατική, προκαλεί διαφορετική μετατόπιση επάνω σε αυτή των συστατικών του μείγματος, τα οποία διαχωρίζονται μεταξύ τους και συνήθως εξέρχονται από τη στήλη, σε διαφορετικές χρονικές στιγμές. Εάν στην έξοδο της στήλης υπάρχει σύστημα ανίχνευσης και καταμέτρησης της ποσότητας κάθε συστατικού, εκτός από το διαχωρισμό και παράλληλα με αυτό, πραγματοποιείται και ποσοτικός προσδιορισμός των συστατικών.

Στις μέρες μας, υπάρχουν οι εξής ενόργανες χρωματογραφικές τεχνικές:

- I. Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Πίεσης (High Pressure Liquid Chromatography, HPLC)
- II. Αέρια Χρωματογραφία (Gas Chromatography, GC)

Η κατάταξη των χρωματογραφικών μεθόδων σε είδη γίνεται ανάλογα με τη φύση της στατικής και της κινητής φάσης

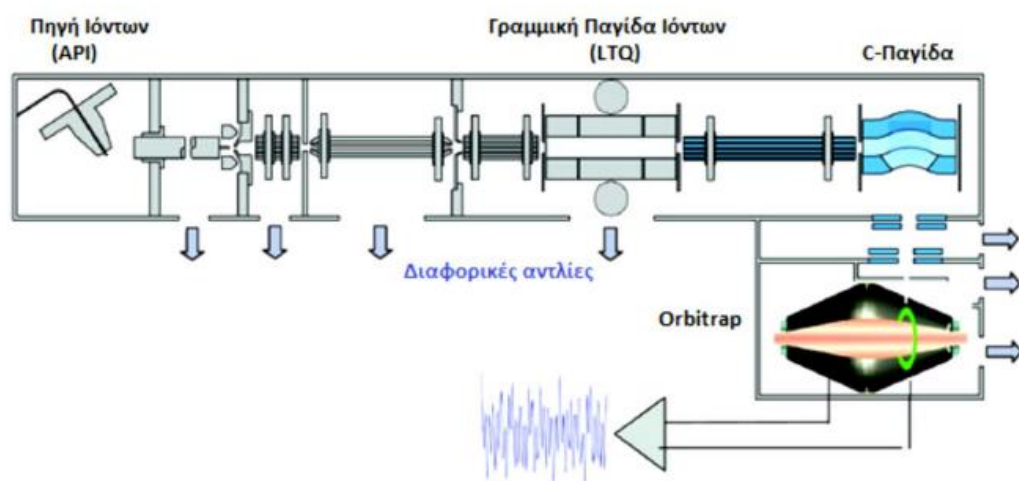
- I. Αέρια Χρωματογραφίας (GC) : κινητή φάση αέριο
- II. Υγρή Χρωματογραφία (LC) : κινητή φάση υγρό
- III. Χρωματογραφία Υπερκρίσιμων Ρευστών (SFC) : κινητή φάση υπερκρίσιμο υγρό

Επίσης, οι χρωματογραφίες κατατάσσονται και με βάση τη μέθοδο διαχωρισμού έχοντας τις χρωματογραφίες Προσρόφησης, Κατανομής, Αποκλεισμού Μεγέθους, Ιοντοανταλλαγής και Συγγένειας. Τέλος, σημαντικό ρόλο παίζει και η σχετική πολικότητα των δυο φάσεων. Στην Χρωματογραφία Κανονικής Φάσης, η πολικότητα της στατικής φάσης είναι μεγαλύτερη από την πολικότητα της κινητής φάσης, ενώ αντίθετα στην Χρωματογραφία Αντίστροφης Φάσης, η πολικότητα της κινητής φάσης είναι μεγαλύτερη από την πολικότητα της στατικής φάσης. (Κωνσταντίνα Ιωσήφ 2022)

3.3 Υβριδικός αναλυτής LTQ-Orbitrap

Ο τετραπολικός αναλυτής μάζας (Quadrupole Mass Analyzer, Q) αποτελεί το συνηθέστερο τύπο αναλυτή μάζας που χρησιμοποιείται στη φασματομετρία μάζας. Χαρακτηρίζεται από: μικρό μέγεθος, σχετικά χαμηλό κόστος και μεγάλη μηχανική σταθερότητα. Επίσης, έχει το πλεονέκτημα των υψηλών ταχυτήτων σάρωσης, με αποτέλεσμα ολόκληρο το φάσμα μάζας να λαμβάνεται σε χρόνο μικρότερο των 100 ms. Την βάση του τετραπολικού αναλυτή μάζας, αποτελούν οι τέσσερις παράλληλες κυλινδρικές ράβδοι, οι οποίες δρουν ως ηλεκτρόδια. Οι διαγώνιες ράβδοι συνδέονται ηλεκτρικά μεταξύ τους, το ένα ζεύγος συνδέεται με το θετικό πόλο μιας πηγής μεταβλητού δυναμικού συνεχούς ρεύματος, ενώ το άλλο με τον αρνητικό πόλο της πηγής. Επιπλέον σε κάθε ζεύγος ράβδων εφαρμόζονται μεταβλητά δυναμικά εναλλασσόμενου ρεύματος, που μεταξύ τους βρίσκονται σε διαφορά φάσης 180° .

Ο αναλυτής Orbitrap αποτελεί έναν νέο τύπο αναλυτή τροχιακής παγίδας ιόντων, που επιτρέπει την ανίχνευση σε μεγάλο εύρος μαζών (έως 2000 Da), με υψηλή διακριτική ικανότητα (έως και 150.000 FWHM), ακρίβεια μάζας (τέσσερα ή πέντε δεκαδικά ψηφία) και δυναμικό εύρος > 4.000 σε μία σάρωση. Η χρήση του Orbitrap, δίνει την δυνατότητα για σχετικό σφάλμα μάζας < 5 ppm, εξασφαλίζοντας υψηλή αξιοπιστία στην ταυτοποίηση. (Godfrey 2013; Kosma et al. 2014)



Σχήμα 5: Σχηματική απεικόνιση του υβριδικού φασματογράφου μάζας LTQ-Orbitrap (The Hebrew University of Jerusalem, 2009)

Τα παραγόμενα ιόντα στην πηγή ιοντισμού ατμοσφαιρικής πίεσης (Atmospheric Pressure Ionization, API) παγιδεύονται στο LTQ και μπορούν να αναλυθούν με τη χρήση μεθόδων σαρώσεως MS και MSn ($n=1-10$). Στη συνέχεια, τα ιόντα αυτά επιταχύνονται ευθύγραμμα και συλλέγονται στην παγίδα ιόντων σχήματος C (C-Trap), από την οποία στη συνέχεια εισάγονται στην τροχιακή παγίδα Orbitrap και συλλέγονται - παγιδεύονται με απότομη άνοδο του δυναμικού στο κεντρικό ηλεκτρόδιο του Orbitrap. Τα παγιδευμένα ιόντα κινούνται σε κυκλική τροχιά γύρω από το κεντρικό ηλεκτρόδιο και ανιχνεύονται οι αξονικές ταλαντώσεις τους κατά μήκος του κεντρικού ηλεκτροδίου. Τα αξονικά ταλαντευόμενα ιόντα παράγουν ένα περιοδικό σήμα στα εξωτερικά ηλεκτρόδια, το οποίο ανιχνεύεται ως αποτυπωμένο ρεύμα. Μετά από την ενίσχυση του, τα σήματα του αποτυπωμένου ρεύματος μετατρέπονται σε φάσμα συχνοτήτων με χρήση του αλγορίθμου μετατροπής Fourier (Fourier Transformation, FT algorithm). Επειδή η συχνότητα ταλάντωσης σχετίζεται ευθέως με το λόγο μάζας/φορτίου (m/z), το φάσμα συχνοτήτων μετατρέπεται εύκολα σε φάσμα μαζών. (Godfrey 2013; Κολόκα 2021)

3.3.1 Πηγή ιόντων

Κατά την υγρή χρωματογραφία, ως τεχνικής ιονισμού ο ιοντισμός των μορίων πραγματοποιείται σε συνθήκες ατμοσφαιρικής πίεσης. Ως πηγές ιοντισμού χρησιμοποιούνται ο ιοντισμός με λεκτροψεκασμό (electrospray ionization, ESI), ο χημικός ιοντισμός σε συνθήκες ατμοσφαιρικής πίεσης (atmospheric pressure chemical ionization, APCI) και ο φωτοϊοντισμός σε συνθήκες ατμοσφαιρικής πίεσης (atmospheric pressure photo ionization APPI).

Κατά τον ιοντισμό με ηλεκτροψεκασμό το δείγμα υπό την μορφή διαλύματος εξέρχεται από την στήλη και ψεκάζεται μέσω τριχοειδούς ακροφυσίου σε υψηλή δυναμικό των 3-6kV, παρουσία εκνεφωτή (ρεύμα αζώτου) δημιουργώντας αερόλυμα φορτισμένων σταγονιδίων. Καθώς τα μόρια του διαλύτη εξατμίζονται, τα σταγονίδια συρρικνώνονται και αυξάνεται το φορτίο στην επιφάνειά τους. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα, οι ηλεκτροστατικές απώσεις των φορτίων να υπερνικούν την τάση συγκράτησης με αποτέλεσμα την έκρηξη της σταγόνας (διασπάσεις Coulomb) και την παραγωγή φορτισμένων ιόντων. Η τεχνική ιοντισμού ESI συνίσταται για μόρια μετρίως πολικά έως πολικά και υψηλού μοριακού βάρους ενώσεις, γι' αυτό και χρησιμοποιείται συχνά στην ανάλυση φυτοφαρμάκων που περιέχουν σουλφονικό οξύ ή καρβοξυλικές ομάδες στη χημική τους δομή (Νάννου and Αλμπάνης 2018)

Σε αντίθεση με τον ESI, ο χημικός ιοντισμός σε συνθήκες ατμοσφαιρικής πίεσης δεν εφαρμόζει δυναμικό στο τριχοειδές ακροφύσιο ενώ τα ιόντα δημιουργούνται μέσω μιας ακίδας στην οποία εφαρμόζεται υψηλό δυναμικό. Το δείγμα θερμαίνονται (250-400°C) και επέρχεται εξάτμιση του διαλύτη και των μορίων του αναλυτή. Ο διαλύτης ιοντίζεται με τη βοήθεια της ακίδας υψηλού δυναμικού και μεταφέρει το φορτίο στα μόρια του αναλυτή. Η συγκεκριμένη πηγή ιοντισμού παρέχει πληροφορίες για το μοριακό ιόν, ωστόσο είναι ακατάλληλη για ενώσεις με υψηλό μοριακό βάρος μεγαλύτερο των 2000 Dalton. (Νάννου and Αλμπάνης 2018)

3.4 Επικύρωση αναλυτικής μεθόδου

Η επικύρωση των αναλυτικών μεθόδων πραγματοποιήθηκε σε εμβολιασμένα δείγματα με βάση τις ισχύουσες οδηγίες 2002/657/EK, SANTE/11312/2021 και 96/23/EK. (EUROPEAN COMMISSION) Οι κυριότερες παράμετροι επικύρωσης μιας αναλυτικής μεθόδου είναι οι παρακάτω:

- Ορθότητα (trueness): Προσδιορίζεται από μελέτες πιστοποιημένων υλικών αναφοράς ή υλικών που έχουν εμβολιαστεί με γνωστή ποσότητα των προς ανάλυση ουσιών και μπορεί να εκφραστεί ως, η απόκλιση μιας αναλυτικής μεθόδου.
- Πιστότητα (Precision): Με τον όρο πιστότητα, εννοούμε τον επαναλαμβανόμενο ορθό υπολογισμό της συγκέντρωσης ενός δείγματος. Επηρεάζεται σημαντικά από τυχαία σφάλματα και μπορεί να ελεγχθεί μέσω της επαναληψιμότητας, δηλαδή την επανάληψη της ίδιας πειραματικής διαδικασίας σε διαφορετικά δείγματα την ίδια μέρα, ή της αναπαραγωγιμότητας, δηλαδή επανάληψη της ίδιας διαδικασίας σε διαφορετικά δείγματα διαφορετικές μέρες.
- Γραμμικότητα (linearity): Η γραμμικότητα της απόκρισης προσδιορίζεται σε πρότυπα διαλύματα ενώσεων και σε πραγματικά δείγματα.
- Όριο ανίχνευσης (Limit of Detection, LOD): Είναι η ελάχιστη συγκέντρωση της προσδιοριζόμενης ουσίας, η οποία μπορεί να ανιχνευτεί με βεβαιότητα 99,6%. Στόχος είναι τα ιδιαίτερα χαμηλά όρια ανίχνευσης.
- Εκλεκτικότητα / ειδικότητα (Selectivity/Specificity): Είναι ο βαθμός απόκρισης μίας μεθόδου σε μια συγκεκριμένη ένωση προς ανάλυση.
- Αβεβαιότητα: Είναι ένα εύρος γύρω από το αναφερόμενο αποτέλεσμα εντός του οποίου μπορεί να βρίσκεται η πραγματική τιμή αναμένεται να βρίσκεται με συγκεκριμένη βεβαιότητα (συνήθως επίπεδο εμπιστοσύνης 95%). Τα δεδομένα αβεβαιότητας λαμβάνουν υπόψη την πιστότητα (bias) και την αναπαραγωγιμότητα της μεθόδου. (SANTE)

Σκοπός ερευνητικής εργασίας

Η εκπόνηση της παρούσας Μεταπτυχιακής Διατριβής πραγματεύεται τη βελτιστοποίηση και εφαρμογή μίας αναλυτικής μεθοδολογίας για τον προσδιορισμό υπολειμμάτων επιλεγμένων φυτοπροστατευτικών ενώσεων, σε αλεύρι. Κατά την αναζήτηση βιβλιογραφίας, παρατηρήθηκε ότι υπάρχει έλλειψη ανάλογων εργασιών όσον αφορά την ποσοτικοποίηση φυτοφαρμάκων σε διάφορα δείγματα αλεύρων (για όλες τις χρήσεις, ολικής, βιολογικό, ρυζιού). Για τον ποιοτικό και ποσοτικό προσδιορισμό των επιλεγμένων φυτοπροστατευτικών και φαρμακευτικών ενώσεων χρησιμοποιήθηκε το σύστημα υγρής χρωματογραφίας υπερ-υψηλής πίεσης (ultra-high pressure liquid chromatography, UHPLC) συζευγμένο με φασματομετρία μάζας υψηλής διακριτικής ικανότητας και ακρίβειας (high-resolution-accurate-mass

spectrometry, HRMS) και πιο συγκεκριμένα με τον υβριδικό αναλυτή LTQ/Orbitrap MS. Η επικύρωση της μεθόδου πραγματοποιήθηκε με βάση την ισχύουσα νομοθεσία της ΕΕ, όπως αυτή ορίζεται στις οδηγίες SANTE/11312/2021 της Ε.Ε, FAO και WHO.

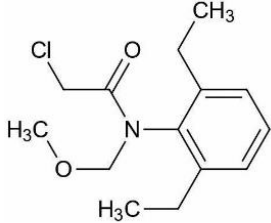
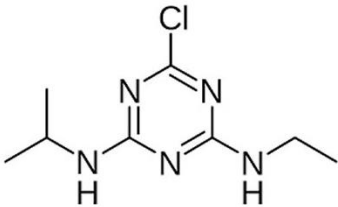
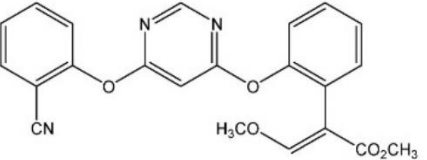
B. Πειραματικό Μέρος

Κεφάλαιο 4: Επιλογή ενώσεων, υλικά & Μέθοδος

4.1 Επιλογή ενώσεων προς μελέτη

Οι φυτοπροστατευτικές ενώσεις που επιλέχθηκαν για την συγκεκριμένη μελέτη, χρησιμοποιούνται σε μεγάλο ποσοστά στα σιτηρά που καταλήγουν σε παραγωγή αλευριού. Οι περισσότερες από τις επιλεγμένες ενώσεις αν και είναι εγκεκριμένες προς χρήση σε καλλιέργειες είναι πιθανό να ανιχνευθούν σε ίχνη στο περιβάλλον και στα τρόφιμα. Τα κριτήρια επιλογής αυτών των ενώσεων ήταν η έκταση της χρήσης τους στην γεωργία στα σιτηρά, η λίστα ενώσεων προτεραιότητας από την ΕΕ σχετικά με τα τρόφιμα, η επιβεβαιωμένη ύπαρξή τους σε μεγάλο αριθμό δειγμάτων τροφίμων, η παρουσία απαγορευμένων φυτοπροστατευτικών ενώσεων στη διεθνή βιβλιογραφία και η ικανότητά τους να προσδιορίζονται με υγρή χρωματογραφία συζευγμένη με φασματομετρία μάζας.

Για περισσότερες πληροφορίες για τις φυτοπροστατευτικές ενώσεις, βλέπε παράρτημα 1.

ΕΝΩΣΗ	ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ	ΑΡΙΘΜΟΣ CAS	ΔΟΜΗ	ΧΗΜΙΚΟΣ ΤΥΠΟΣ	ΜΟΡΙΑΚΟ ΒΑΡΟΣ	LOGKOW 25°C	PKA
ALACHLOR	ZIZANIOKTONO	15972-60-8		C14H20ClNO2	269.12	3.52	0.62
ATRAZINE	ZIZANIOKTONO	1912-24-9		C6H10ClN5	187.10	2.61	1.7
AZOXYSTROBIN	ΜΥΚΗΤΟΚΤΟΝΟ	131860-33-8		C22H17N3O5	403.12	2,5	1.94

BIFETHRIN

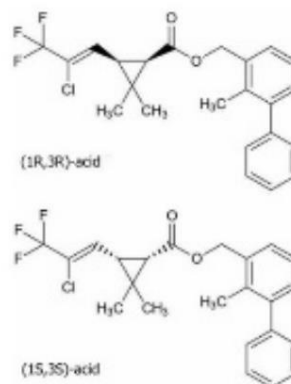
ENTOMOKTONO 82657-04-3

C₂₃H₂₂ClF₃O₂

422.13

6

-

**BOSCALID**

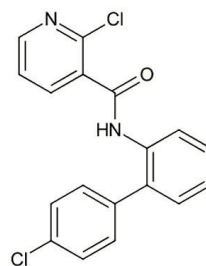
MYKHTOKTONO 188425-85-6

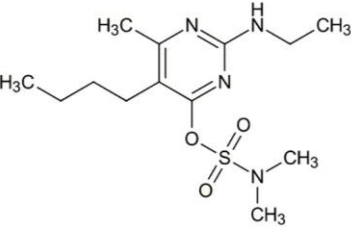
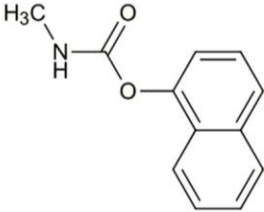
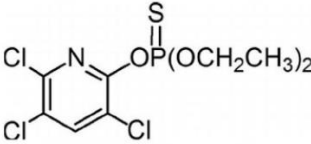
C₁₈H₁₂Cl₂N₂O

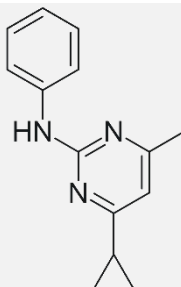
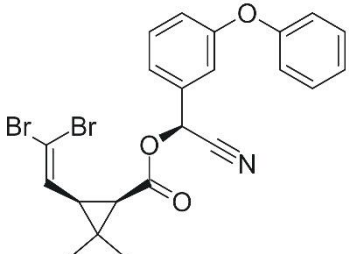
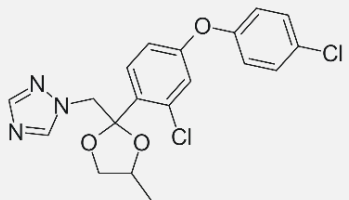
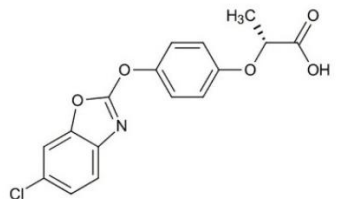
342.04

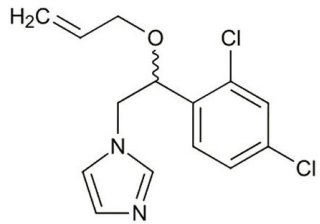
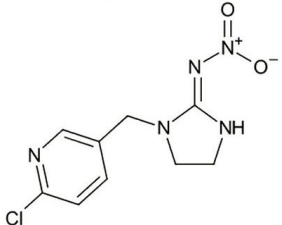
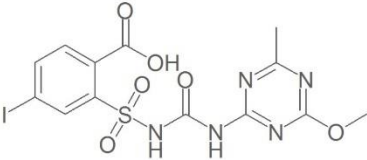
2.96

14.27



BUPIRIMATE	MYKHTOKTONO 41483-43-6		C ₁₃ H ₂₄ N ₄ O ₃ S	316.16	3.68	4.4
CARBARYL	ENTOMOKTONO 63-25-2		C ₁₂ H ₁₁ NO ₂	201.09	2.36	10.4
CHLORPYRIFOS	ZIZANIOKTONO 2921-88-2		C ₉ H ₁₁ Cl ₃ NO ₃ PS	348.94	4.96	7.1

CYPRODINIL	MYKHTOKTONO	121552-61-2		C ₁₄ H ₁₅ N ₃	225,29	3.59	4.44
DELTAMETHRIN	ENTOMOKTONO	52918-63-5		C ₂₂ H ₁₉ Br ₂ NO ₃	505,20	6.2	10.65
DIFENOCONAZOLE	MYKHTOKTONO	119446-68-3		C ₁₉ H ₁₇ Cl ₂ N ₃ O ₃	406,30	4,4	1.07
FENOXAPROP-P	ZIZANIOKTONO	113158-40-0		C ₁₈ H ₁₆ ClNO ₅	333.72	4,58	0.18

IMAZALIL	MYKHTOKTONO 35554-44-0		C14H14Cl2N2O 297.183,826.49
IMIDACLOPRID	ENTOMOKTONO 138261-41-3		C9H10ClN5O2 255.660,579.39
IODOSULFURON	ZIZANIOKTONO 185119-76-0		C14H14IN5O6S 493.23-3.22

IPROVALICARB

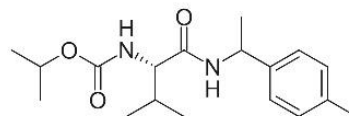
MYKHTOKTONO 140923-17-7

C₁₈H₂₈N₂O₃

320,43

-

11.4



KRESOXIM-METHYL

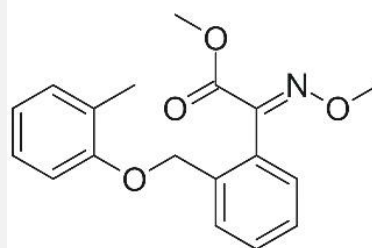
MYKHTOKTONO 143390-89-0

C₁₈H₁₉NO₄

313,35

3.4

4.2



L-CYHLOTHRIN

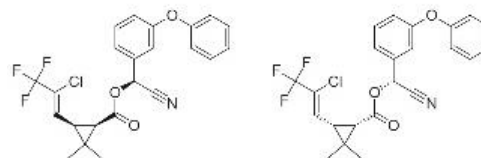
ENTOMOKTONO 91465-08-6

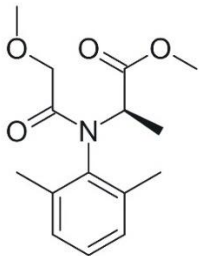
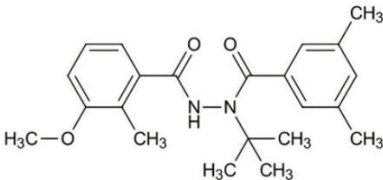
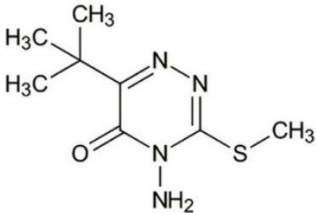
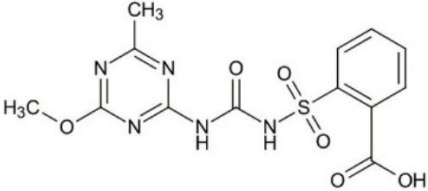
C₂₃H₁₉ClF₃NO₃

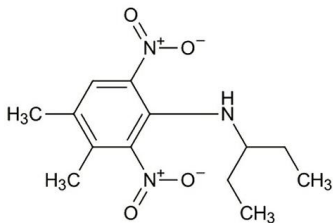
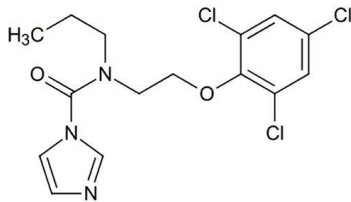
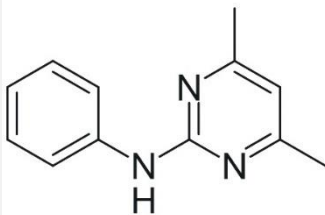
449,85

6.8

>9

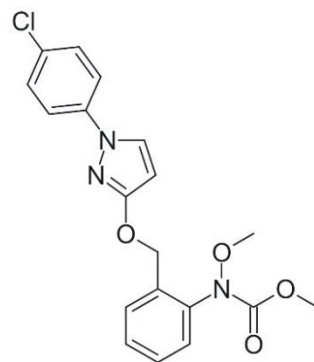


METALAXYL	MYKHTOKTONO 70630-17-0		C ₁₅ H ₂₁ NO ₄	279,33	1	1.4
METHOXY-FENOZIDE	MYKHTOKTONO 161050-58-4		C ₂₂ H ₂₈ N ₂ O ₃	368.47	1.65	-
METRIBUZIN	ZIZANIOKTONO 21087-64-9		C ₈ H ₁₄ N ₄ OS	214.29	1.7	1.3
METSULFURON	ZIZANIOKTONO 79510-48-8		C ₁₃ H ₁₃ N ₅ O ₆ S	367.34	-	3.3

PENDIMETHALIN	ZIZANIOKTONO 40487-42-1		$C_{13}H_{19}N_3O_4$	281.31	5.2	2.8
PROCHLORAZ	MYKHTOKTONO 67747-09-5		$C_{15}H_{16}Cl_3N_3O_2$	376.7		3.8
PYRIMETHALIN	MYKHTOKTONO 53112-28-0		$C_{12}H_{13}N_3$	199,28	2.84	3.5

PYRACLOSTROBIN

MYKHTOKTONO 175013-18-0



C₁₉H₁₈ClN₃O₄

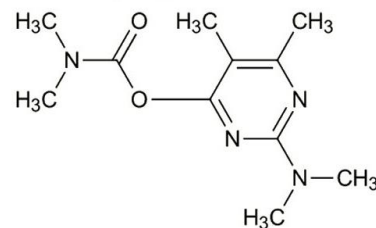
387,82

3,99

-

PIRIMICARB

ENTOMOKTONO 23103-98-2



C₁₁H₁₈N₄O₂

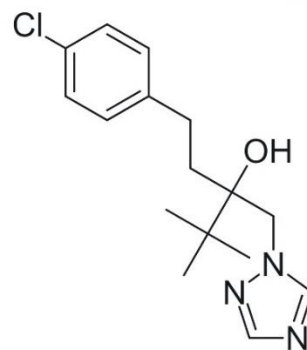
238,39

1,7

4,4

TEBUCONAZOLE

MYKHTOKTONO 107534-96-3

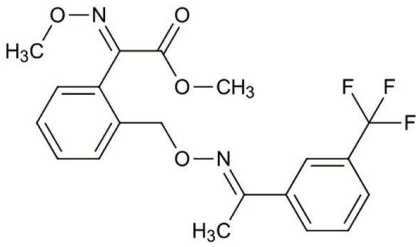
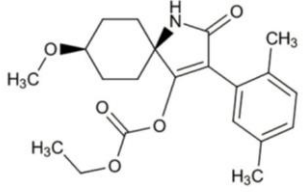


C₁₆H₂₂ClN₃O

307,82

3,7

5

TRIFLOXYTROBIN	MYKHTOKTONO 141517-21-7		$C_{20}H_{19}F_3N_2O_4$	408.37	4,5	2.3
SPIROTETRAMAT	ENTOMOKTONO 203313-25-1		$C_{21}H_{27}NO_5$	373.48	-	10.7

Πίνακας 12 : Δεδομένα από Agricultural Substances Database, Agriculture & Environment Research Unit, University of Hertfordshire, (Pesticide Properties Database)

Ένωση	MRL (mg/kg) (σε σιτηρά)	European Union Regulation, European Food Safety Authority Joint Meeting on Pesticide Residues
Alachlor	0.01	Reg. (EU) No 899/2012
Atrazine	0.05	Reg. (EU) 2016/440
azoxystrobin	0.5	Reg. (EU) 2023/129
bifenthrin	0.5	Reg. (EU) 2018/687
Boscalid	0.8	Reg. (EU) 2022/1324
bupirimate	0.01	Reg. (EU) 2020/1566
Carbaryl	0.5	Reg. (EU) No 1096/2014
chlorpyrifos	0.01	Reg. (EU) 2020/1085
cyprodinil	0.5	Reg (EU) 2023/1069
deltamethrin	1	Reg. (EU) 2018/832
difenoconazole	0.1	Reg. (EU) 2019/552
fenoxaprop-p	0.1	Reg. (EC) No 149/2008
florasulam	0.01	Reg. (EU) 2022/1363
fludioxonil	0.01	Reg. (EU) 2022/1264
flufenacet	0.1	Reg. (EU) No 1127/2014
fluroxypyr	0.1	Reg. (EU) 2022/1363
Imazalil	0.01	Reg. (EU) 2020/856
imidachloprid	0.01	Reg. (EU) 2021/1881
iodosulfuron-methyl	0.01	Reg. (EU) No 289/2014
iprovalicarb	0.01	Reg. (EU) 2022/1363
kresoxim-methyl	0.08	Reg. (EU) 2020/856
l-cyhalothrin	0.05	Reg. (EU) 2021/590
metalaxyl	0.01	Reg. (EU) 2017/1164
methoxy-fenozide	0.01	Reg (EU) 2023/1069
metribuzin	0.1	Reg. (EU) 2017/623
metsulfuron	0.01	Reg. (EU) No 617/2014
pendimethalin	0.05	Reg. (EU) 2023/1049
prochloraz	0.2	Reg. (EU) 2020/192
pyrimethalin	0.05	Reg. (EU) 2018/832
pyraclostrobin	0.2	Reg. (EU) 2022/1324
pirimicarb	0.05	Reg. (EU) 2016/71
tebuconazole	0.3	Reg. (EU) 2018/1514
trifloxystrobin	0.3	Reg. (EU) 2019/1791
spirotetramat	0.02	Reg (EU) 2023/1069

Πίνακας 13: MRLs των επιλεγμένων φυτοπροστατευτικών ενώσεων. (EUROPEAN COMMISSION)

4.2 Υλικά – αντιδραστήρια – Σκεύη

4.2.1 Υλικά

Πρότυπες ενώσεις

Οι πρότυπες ουσίες των φυτοπροστατευτικών προϊόντων ήταν υψηλής καθαρότητας (> 98%) και προμηθεύτηκαν σε στερεή μορφή από την εταιρεία Sigma Aldrich (Darmstadt, Germany) και την LGC Standards, πρώην Dr. Ehrenstorfer (Germany).

Πρότυπα διαλύματα

Τα πυκνά πρότυπα διαλύματα (stock solutions) για κάθε προσδιοριζόμενη ένωση παρασκευάστηκαν ξεχωριστά, σε συγκεντρώσεις είτε 1000 mg/L είτε 2000 mg/L, σε διαλύτη μεθανόλη καθαρότητας LC-MS, και μεταφέρθηκαν σε γυάλινα φιαλίδια των 8 mL. Από τα παραπάνω πυκνά πρότυπα διαλύματα παρασκευάστηκε μίγμα των προσδιοριζόμενων φυτοπροστατευτικών ενώσεων σε συγκέντρωση 10 mg/L, σε διαλύτη MeOH LC-MS. Τόσο τα πυκνά πρότυπα διαλύματα, όσο και το μίγμα των φυτοπροστατευτικών ενώσεων κλείστηκαν αεροστεγώς με πώμα και αποθηκεύτηκαν απουσία ηλιακής ακτινοβολίας στους -20°C. Τα αραιωμένα πρότυπα διαλύματα εργασίας (working solutions) των μιγμάτων των φυτοφαρμάκων παρασκευάζονταν σε διαλύτη MeOH LC-MS και σε συγκεντρώσεις 1, 2.5, 5, 10, 25, 50, 100, 250, 500, 1000, 10.000 ng/L.

Διαλύτες

Οι διαλύτες μεθανόλη (MeOH, methanol), ακετονιτρίλιο (ACN, acetonitrile), και νερό (H₂O, water) αναλυτικού βαθμού (LC-MS-grade) προμηθεύτηκαν από τη Fisher Scientific (Leicestershire, UK).

4.2.2 Αντιδραστήρια

Αντιδραστήρια και προσροφητικά υλικά

Για τη βελτιστοποίηση και εφαρμογή της μεθόδου QuEChERS χρησιμοποιήθηκαν: άνυδρο θειικό μαγνήσιο (MgSO₄) καθαρότητας 99,5%, κιτρικό νάτριο (tri-sodium citrate dehydrate) καθαρότητας 99% του οίκου Merck (Darmstadt, Germany), χλωριούχο νάτριο (sodium 82 chloride, NaCl) του οίκου Riedel de Haën (Hannover, Germany) και Sodium citrate sesquihydrate καθαρότητας 99% (sodium citrate dibasic sesquihydrate) του οίκου Sigma Aldrich (Steinheim, Germany). Για τον καθαρισμό των εκχυλισμάτων χρησιμοποιήθηκαν τα προσροφητικά πρωτοταγής δευτεροταγής αμίνη (Primary Secondary Amine, PSA, 40μm) του οίκου Agilent Technologies (Waldbronn, Germany), LiChoprep RP-18, (40-64μm), του οίκου Merck (Darmstadt, Germany). Πριν την έγχυση στο σύστημα υγρής χρωματογραφίας, τα δείγματα διηθήθηκαν με φίλτρα πολυτετραφθοροαιθυλενίου (PTFE), με διάμετρο πόρων

0,22μm, του οίκου Millipore (Cork, Ireland) με τη βοήθεια αποστειρωμένων συρίγγων μιας χρήσης όγκου 1 ή 2.5 ή 5 ml.

4.3 Οργανολογία

4.3.1 Συσκευές

Για τη φυγοκέντρωση των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκε η συσκευή φυγοκέντρωσης μέγιστης ταχύτητας περιστροφής 4000rpm μοντέλο B4i του οίκου Joun (Saint-Herblain, France), ενώ για την ανάδευση των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκε η συσκευή περιδίνησης Vortex IR της STARLAB (Hamburg, Germany). Η συσκευή υπερήχων Elmasonic P του οίκου Elma Schmidbauer (Singen, Germany), χρησιμοποιήθηκε για την ομογενοποίηση των διαλυμάτων. Για τις ζυγίσεις χρησιμοποιήθηκε αναλυτικός ζυγός ακριβείας τεσσάρων δεκαδικών ψηφίων KERN ACS 80-4N (Balingen, Germany). Τέλος, για τη φύλαξη και τη συντήρηση των αντιδραστηρίων, των προτύπων διαλυμάτων και δειγμάτων χρησιμοποιήθηκαν ψυγεία με θερμοκρασία λειτουργίας 4-8°C και καταψύκτες ελάχιστης θερμοκρασίας -30°C.

4.3.2 LTQ/ORBITRAP

Σύστημα υγρής χρωματογραφίας – LTQ/Orbitrap HRMS

Για τον διαχωρισμό και τον προσδιορισμό των επιλεγμένων φυτοπροστατευτικών και ενώσεων χρησιμοποιήθηκε σύστημα υγρής χρωματογραφίας υπερ-υψηλής απόδοσης (Ultra High Performance Liquid Chromatography, UHPLC) συζευγμένο με ανιχνευτή μαζών LTQ/Orbitrap FT. Το σύστημα περιλαμβάνει αυτόματο δειγματολήπτη (Accela AS autosampler model 2.1.1), αντλία αυτόματης ροής δείγματος (Accela quaternary gradient UHPLC-pump model 1.05.0900) και φασματομέτρο μάζας LTQ Orbitrap XL 2.5.5 SP1 της εταιρείας Thermo Fisher Scientific (Bremen, Germany). Το τμήμα της γραμμικής παγίδας ιόντων (LTQ) του υβριδικού αναλυτή μαζών είναι εξοπλισμένο με πηγή ιοντισμού ηλεκτροψεκασμού, Ion Max Electrospray Ionization (ESI) που λειτουργεί σε μέθοδο θετικών ή αρνητικών ιόντων. Ο έλεγχος του οργάνου και η περαιτέρω επεξεργασία του ακριβούς φάσματος μάζας (mass range m/z 50-2000) με υψηλή διακριτική ικανότητα (60000 FWHM) πραγματοποιήθηκε με το λογισμικό πρόγραμμα Xcalibur v.2.2 της εταιρείας Thermo Electron (San Jose, CA, USA). Το σύστημα υποστηρίζεται από αντλία παραγωγής αζώτου της εταιρείας Brezza-Claid (NiGen LCMS 40-1). Οι επιλεγμένοι αναλύτες διαχωρίστηκαν σε αναλυτική στήλη ανάστροφης φάσης Hypersil GOLD (50mm x 2.1mm, 1.9μm) της Thermo (Bremen, Germany) στο πλαίσιο της ανάλυσης ύποπτων ενώσεων (suspect analysis) και στήλη ανάστροφης φάσης Fortis H2O (50mm x 84 2.1mm, 1.7μm) του οίκου Fortis Technologies Ltd (Neston, UK) για την στοχευμένη ανάλυση (target analysis). Σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή, η σωστή λειτουργία του οργάνου απαιτεί εβδομαδιαία βαθμονόμηση με τη χρήση ενός

διαλύματος καφεΐνης, MRFA (πεπτίδιο) και Ultramark 1621 (πολυμερές) στην λειτουργία θετικού ιονισμού.

4.3.3 Χρωματογραφική ανάλυση

Για τον διαχωρισμό και τον προσδιορισμό των επιλεγμένων φυτοπροστατευτικών και ενώσεων χρησιμοποιήθηκε σύστημα υγρής χρωματογραφίας υπερ-υψηλής απόδοσης (Ultra High Performance Liquid Chromatography, UHPLC) συζευγμένο με ανιχνευτή μαζών LTQ/Orbitrap FT. Το σύστημα περιλαμβάνει αυτόματο δειγματολήπτη (Accela AS autosampler model 2.1.1), αντλία αυτόματης ροής δείγματος (Accela quaternary gradient U HPLC-pump model 1.05.0900) και φασματόμετρο μάζας LTQ Orbitrap XL 2.5.5 SP1 της εταιρείας Thermo Fisher Scientific (Bremen, Germany).

Το τμήμα της γραμμικής παγίδας ιόντων (LTQ) του υβριδικού αναλυτή μαζών είναι εξοπλισμένο με πηγή ιοντισμού ηλεκτροψεκασμού, Ion Max Electrospray Ionization (ESI) που λειτουργεί σε μέθοδο θετικών ή αρνητικών ιόντων. Ο έλεγχος του οργάνου και η περαιτέρω επεξεργασία του ακριβούς φάσματος μάζας (mass range m/z 50-2000) με υψηλή διακριτική ικανότητα (60000 FWHM) πραγματοποιήθηκε με το λογισμικό πρόγραμμα Xcalibur v.2.2 της εταιρείας Thermo Electron (San Jose, CA, USA). Το σύστημα υποστηρίζεται από αντλία παραγωγής αζώτου της εταιρείας Brezza-Claud (NiGen LCMS 40-1).

Ο διαχωρισμός των αναλυτών τελέστηκε με πρόγραμμα βαθμωτής έκλουσης διάρκειας 10 λεπτών, του οποίου η κινητή φάση αποτελούνται από: (Α): νερό με 0,1% φορμικό αμμώνιο ($H_2O + 1\% FA$) (Β): μεθανόλη με 0,1% φορμικό αμμώνιο ($MeOH + 1\% FA$). Η ανίχνευση των προσδιοριζόμενων ενώσεων πραγματοποιήθηκε σε λειτουργία πλήρους σάρωσης και για εύρος μαζών 120-1000 Da και διακριτική ικανότητα 60.000 FWHM. Η υψηλή διακριτική ικανότητα είναι απαραίτητη για τον διαχωρισμό των σημάτων δύο διαδοχικών ενώσεων, και διασφαλίζει ότι τα ιόντα μιας μόνο ένωσης συμβάλλουν σε μια συγκεκριμένη μέτρηση. Η ταυτοποίηση των αναλυτών έγινε με βάση τα ακόλουθα κριτήρια:

- τον καθορισμό του χρόνου κατακράτησης του κάθε αναλυτή
- την καταγραφή των ψευδο-μοριακών ιόντων, λαμβάνοντας υπόψη την ακριβή μάζα των αναλυτών και το σφάλμα μάζας (μικρότερο των 5mg/L)
- την ακριβή μάζα των θυγατρικών ιόντων MS/MS, σε σχέση με αυτά της πρότυπης ένωσης (ακρίβεια τεσσάρων δεσμευτικών ψηφίων) και σχετικό σφάλμα μάζας μικρότερο των 5mg/L.

4.4 Δείγματα

4.4.1 Δείγματα για την ανάπτυξη των αναλυτικών μεθόδων

Για την ανάπτυξη και την επικύρωση των μεθόδων εκχύλισης χρησιμοποιήθηκε δείγμα αλεύρου βιολογικής καλλιέργειας, το οποίο επιλέχθηκε προκειμένου να ελαχιστοποιηθεί όσο είναι εφικτό η πιθανή παρουσία φυτοπροστατευτικών ουσιών. Το

συγκεκριμένο δείγμα χρησιμοποιήθηκε καθόλα τα στάδια βελτιστοποίησης της πειραματικής διαδικασίας.

Για την εφαρμογή της τελικής προτεινόμενης μεθοδολογίας συλλέχθηκαν δείγματα από καταστήματα λιανικής πώλησης της περιοχής των Ιωαννίνων καθώς και από τοπικούς παραγωγούς. Η επιλογή των δειγμάτων είχε σαν σκοπό την αντιπροσωπευτική κάλυψη της τοπικής αγοράς και την διερεύνηση διαφοροποιήσεων με βάση την προέλευση των προϊόντων.

Η συλλογή των δειγμάτων έγινε σε διαφανή σακούλες και αποθηκεύτηκαν σε σκιερό, χωρίς υγρασία μέρος έως ότου να πραγματοποιηθεί η ανάλυση τους, για να διατηρηθεί η φυσικοχημική τους ιδιότητα.

4.4.2 Εμβολιασμός δειγμάτων

Για τη βελτιστοποίηση και την επικύρωση της αναλυτικής μεθόδου το αλεύρι εμβολιάστηκε σε τρία διαφορετικά επίπεδα (25, 100 και 250 $\mu\text{g/kg}$) με το μείγμα των επιλεγμένων φυτοπροστατευτικών ενώσεων.

Για τον εμβολιασμό, κατάλληλη ποσότητα πρότυπου μείγματος των επιλεγμένων ενώσεων προστέθηκε σε 5 g δείγματος από αλεύρι, ζυγισμένο μέσα σε σωλήνα φυγοκέντρισης από πολυπροπυλένιο. Ο χρόνος παραμονής (residence time) ελέγχθηκε σε προκαταρκτικό πείραμα και δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διακυμάνσεις στη συγκέντρωση των επιλεγμένων ενώσεων όταν η ανάλυση πραγματοποιήθηκε 30 min, 3, 5, 7 και 12 h μετά τον εμβολιασμό. Η διαδικασία πραγματοποιήθηκε ξεχωριστά για κάθε επίπεδο εμβολιασμού. Μετά το τέλος της προκατεργασίας, τα δείγματα ήταν έτοιμα για εκχύλιση με τη μέθοδο QuEChERS.

4.5 Επικύρωση Μεθόδου

Η επικύρωση των αναλυτικών μεθόδων στις εργαστηριακές συνθήκες πραγματοποιήθηκε σε εμβολιασμένα δείγματα με βάση τις ισχύουσες οδηγίες (EU) 2021/808, SANTE/11312/2021 και 96/23/EK.

Η ακρίβεια της μεθόδου μελετήθηκε ως συνδυασμός της επί τοις εκατό ανάκτησης (% recovery, R) και της πιστότητας. Η πιστότητα είναι εκφρασμένη ως επαναληψιμότητα εντός της ίδιας ημέρας (repeatability, RSDr) και ενδοεργαστηριακή αναπαραγωγιμότητα (within-lab-reproducibility, RSDwR). Μελετήθηκαν επίσης τα όρια ανίχνευσης (method detection limits, LOD) και ποσοτικοποίησης (method quantification limits, LOQ) της μεθόδου, η γραμμικότητα (linearity) και η επίδραση του υποστρώματος (matrix effect).

Στον παρακάτω πίνακα συνοψίζονται οι απαιτήσεις για την επικύρωση των μεθόδων που προορίζονται για ποσοτικό προσδιορισμό, όπως περιγράφονται στην πιο πρόσφατη Ευρωπαϊκή οδηγία:

Παράμετρος	Τρόπος ελέγχου	Κριτήρια
Γραμμικότητα	Έλεγχος σε πέντε επίπεδα συγκεντρώσεων	Απόκλιση $C_{ΠΕΙΡ}$, $C_{ΘΕΩΡ}$ $\leq 20\%$
Επίδραση υποστρώματος	Σύγκριση της απόκρισης του ανιχνευτή για διαλύματα παρασκευασμένα σε διαλύτη και σε εκχύλισμα από το υπόστρωμα	$ME > 20\%$: ποσοτικοποίηση με καμπύλες αναφοράς προσομοιωμένες στο υπόστρωμα
LOQ	Έλεγχος αν το χαμηλότερο επίπεδο εμβολιασμού πληροί τα κριτήρια επίδοσης της μεθόδου ως προς την ακρίβεια και την πιστότητα	$\leq MRL$ (αν υπάρχει)
Ακρίβεια (ορθότητα, συστηματικό σφάλμα)	Υπολογισμός μέσης ανάκτησης για όλα τα επίπεδα εμβολιασμού	70% – 120%
Επαναληψιμότητα (εντός ίδιας ημέρας)	Υπολογισμός $\%RSD_r$ για κάθε επίπεδο εμβολιασμού που ελέγχθηκε	$\leq 20\%$
Ενδοεργαστηριακή αναπαραγωγιμότητα	Υπολογισμός $\%RSD_{WR}$ σε διαδοχικές ημέρες	$\leq 20\%$

Πίνακας 15: Χαρακτηριστικά επικύρωσης αναλυτικών μεθόδων (“SANTE/11312/2021” 2021)

Για τον πραγματοποιηθεί ο προσδιορισμός της γραμμικότητας κατασκευάστηκε πρότυπη καμπύλη με 10 σημεία, σε εμβολιασμένα δείγματα με εύρος συγκεντρώσεων από 1, 2, 5, 5, 10, 25, 50, 100, 250, 500 και 1000 $\mu\text{g/kg}$. Ο συντελεστής συσχέτισης (r^2) παρέχει πληροφορίες για την γραμμικότητα της μεθόδου και υπολογίστηκε με βάση την παρακάτω εξίσωση, με δεδομένο ότι οι τιμές κοντά στο 1 δηλώνουν την καλή και επιθυμητή γραμμικότητα:

$$r = \frac{\sum_i [(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})]}{\sqrt{\sum_i (x_i - \bar{x})^2} \sqrt{\sum_i (y_i - \bar{y})^2}}$$

Οι ανακτήσεις προσδιορίστηκαν με την πραγματοποίηση τριών διαδοχικών εκχυλίσεων (n=3) δειγμάτων εμβολιασμένων σε τρία επίπεδα συγκεντρώσεων. Ταυτόχρονα εκχυλίστηκε για κάθε υπόστρωμα και ένα τυφλό δείγμα, ώστε η συγκέντρωση τυχόν αναλυτών που υπήρχαν στο δείγμα πριν τον εμβολιασμό να αφαιρεθεί από τις συγκεντρώσεις που υπολογίστηκαν για τα εμβολιασμένα δείγματα. Για τον υπολογισμό της % ανάκτησης συγκρίθηκε η συγκέντρωση μετά την εφαρμογή της εκχύλισης με την αρχική συγκέντρωση εμβολιασμού με βάση την παρακάτω εξίσωση:

$$\%R = \frac{C_{\text{πειραματική}} - C_{\text{τυφλού}}}{C_{\text{θεωρητική (εμβολιασμού)}}} \times 100$$

Τα όρια ανίχνευσης προσδιορίστηκαν ως η συγκέντρωση του εμβολιασμένου δείγματος για την οποία η αναλογία του σήματος του αναλύτη προς το θόρυβο του οργάνου είναι κοντά στο 3 ($S/N = 3$), ενώ τα όρια ποσοτικοποίησης ως η αντίστοιχη συγκέντρωση του δείγματος που αντιστοιχεί σε σήμα ίσο με 10 φορές το θόρυβο του οργάνου.

Η πιστότητα της μεθόδου προσδιορίστηκε ως η σχετική τυπική απόκλιση (Relative Standard Deviation, RSD) που προκύπτει για τρεις διαδοχικές εκχυλίσεις (n=3) εμβολιασμένου δείγματος την ίδια ημέρα, οπότε εκφράζει την επαναληψιμότητα (repeatability, RSDr) καθώς και για την ίδια διαδικασία σε τρεις διαφορετικές μέρες (n=9) οπότε εκφράζει την αναπαραγωγιμότητα (reproducibility, RSDR). Οι τιμές της σχετικής τυπικής απόκλισης που θεωρούνται αποδεκτές είναι $\leq \pm 20\%$.

Σύμφωνα με την οδηγία SANTE 11813/2017, τα αποδεκτά όρια για τις μεμονωμένες ανακτήσεις θα πρέπει να κυμαίνονται στο εύρος της μέσης ανάκτησης εντός περιθωρίου $\pm 2 \times \text{RSD}$. Πρακτικά, για τις μεμονωμένες ανακτήσεις μπορεί να χρησιμοποιηθεί μια «κλίμακα εξ' ορισμού» στο εύρος 60 – 140%, η οποία θα αφορά τις αναλύσεις ρουτίνας. Οι ανακτήσεις που βρίσκονται εκτός του παραπάνω ορίου, κανονικά απαιτούν να επαναληφθεί όλη η σειρά των αναλύσεων (batch), ωστόσο υπό ορισμένες δικαιολογημένες συνθήκες τα αποτελέσματα μπορεί να είναι αποδεκτά. Παρόλα αυτά, σταθερά υψηλές ανακτήσεις ή RSDs εκτός του περιθωρίου του $\pm 20\%$ θα πρέπει να διερευνώνται περαιτέρω.

4.6 Επίδραση Μήτρας

Η απόκριση των αναλυτών στο εκχύλισμα μπορεί να είναι αυξημένη (signal enhancement) ή μειωμένη (signal suppression) σε σχέση με το σήμα τους στο διαλύτη. Πρόκειται για το ανεπιθύμητο φαινόμενο της «επίδρασης του υποστρώματος» (matrix effect), το οποίο δυσχεραίνει την ανάλυση και μπορεί να επηρεάσει σημαντικά την ανθεκτικότητα της μεθόδου, περιορίζοντας τελικά τη συλλογή αξιόπιστων αποτελεσμάτων. Η επίδραση του υποστρώματος μπορεί να διαφέρει σημαντικά ακόμα και μεταξύ δειγμάτων που ανήκουν στο ίδιο είδος, όμως τις περισσότερες φορές η επίδραση στο σήμα, μεταξύ δειγμάτων που ανήκουν στην ίδια κατηγορία, παραμένει παρόμοια. Ανάλογα με τον τύπο του υποστρώματος, η μείωση του σήματος παρατηρείται

σε διαφορετικά τμήματα του χρωματογράφου, για αυτό και δεν είναι πάντα ίδια για όλα τα υποστρώματα που ανήκουν στην ευρύτερη κατηγορία. (Trufelli et al. 2011)

Συχνά, η παρουσία διαφόρων συστατικών του υποστρώματος παρεμποδίζει την μέτρηση στο χρωματογράφο, με αποτέλεσμα τη μέτρηση τιμών διαφορετικών από τις πραγματικές (συνήθως μεγαλύτερες). Για να αντιμετωπιστεί το παραπάνω πρόβλημα, οι πρότυπες καμπύλες κατασκευάζονται με διαλύματα των προτύπων ουσιών σε εκχύλισμα δείγματος και όχι σε καθαρό διαλύτη ή με την μέθοδο της Σταθερής Προσθήκης. Σύμφωνα με αυτήν, όταν δεν είναι γνωστή η χημική σύσταση των δειγμάτων, τα πρότυπα διαλύματα παρασκευάζονται με προσθήκη γνωστών συγκεντρώσεων τους στο ίδιο το δείγμα ή το μάρτυρα (δείγμα που δεν περιέχει το φυτοφάρμακο που προσδιορίζεται).

Δηλαδή, προκειμένου να ελεγχθεί η ακριβής επίδραση του υποστρώματος στην μέθοδο πραγματοποιείται εμβολιασμός με τα πρότυπα διαλύματα σε εκχυλίσματα των υπό μελέτη υποστρωμάτων, τα οποία εμφανίζονται καθαρά υπολειμμάτων (blank samples) και στη συνέχεια εξάγεται από την εξέτασή τους η καμπύλη βαθμονόμησης προσομοίωσης υποστρώματος («matrix-matched» calibration curve). Μέσω της σύγκρισης της καμπύλης των προτύπων διαλυμάτων και της καμπύλης «matrix-matched», προσδιορίζεται η επίδραση του υποστρώματος στο χρωματογραφικό σύστημα για τα συγκεκριμένα φυτοφάρμακα. Έτσι το ME% υπολογίζεται σύμφωνα με την παρακάτω εξίσωση:(Nannou et al. 2018; Kosma et al. 2014; Trufelli et al. 2011)

$$ME (\%) = \left(\left(\frac{S_m}{S_s} \right) - 1 \right) \times 100$$

όπου: S_m η κλίση της ευθείας στο εκχύλισμα και S_s η κλίση της ευθείας σε καθαρό διαλύτη.

Όταν η ME είναι 0%, δεν υφίσταται καμία επίδραση μεταξύ υποστρώματος και αναλύτη. Όταν οι τιμές της ME είναι μικρότερες του 0% η επίδραση του υποστρώματος μειώνει το χρωματογραφικό σήμα, ενώ όταν είναι μεγαλύτερες το ενισχύει. Για τιμές ME% μεταξύ -20% και 20% θεωρείται πως το υπόστρωμα προκαλεί ελαφριά μείωση ή ενίσχυση του σήματος και η επίδραση θεωρείται μη σημαντική. Για τιμές μεταξύ -50% και -20% ή 20% έως 50% η επίδραση θεωρείται μέτρια, ενώ για τιμές μικρότερες του -50% ή μεγαλύτερες του 50% η επίδραση θεωρείται ισχυρή.(Trufelli et al. 2011; Nannou et al. 2018)

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Κεφάλαιο 5: Επικύρωση της μεθόδου QuEChERS για την εκχύλιση των επιλεγμένων ενώσεων

5.1 Μέθοδοι

5.1.1 Προετοιμασία δειγμάτων

Για να επιλεγθεί το επιθυμητό πρωτόκολλο ανάλυσης, πρέπει να μελετηθεί πληθώρα παραγόντων που επηρεάζουν το τελικό αποτέλεσμα. Αρχικά, πρέπει να ληφθούν υπόψιν η περιεκτικότητα του υποστρώματος σε λιπαρά, υγρασία, χρωστικές, οξέα, σάκχαρα κ.ά. Γι' αυτό και είναι σημαντικό ανάλογα με τα χαρακτηριστικά κάθε προς ανάλυση υποστρώματος, να εφαρμοστεί διαφορετική προετοιμασία δείγματος, με σκοπό την παραλαβή καθαρά και μόνο των ενώσεων ενδιαφέροντος και τον περιορισμό των ανωτέρω ενώσεων που παρεμποδίζουν.

Κατηγορία Προϊόντος	Χαρακτηριστική ομάδα	Προϊόντα Ομάδας
1.Υψηλή περιεκτικότητα νερού	Μηλοειδή	Μήλα, αχλάδια
	Πυρηνόκαρπα	Βερίκοκα, κεράσια, ροδάκινα
	Άλλα φρούτα	μπανάνες
	Άλλιον (Allium)	Κρεμμύδια, πράσα
	Καρποφόρα λαχανικά	Ντομάτες, πιπεριές, αγγούρια, πεπόνια
	Λαχανικά κράμβες (Brassica)	Κουνουπίδια, λαχανάκια Βρυξελλών, λάχανα, μπρόκολο
	Φυλλώδη λαχανικά και φρέσκα βότανα	Μαρούλι, σπανάκι, βασιλικός
	Λαχανικά με μίσχο	Σέλινο, σπαράγγια
	Φρέσκα όσπρια	μπιζέλια, ψώρα, κουκιά
	Φρέσκοι μύκητες	Champignons, chanterelles

	Βολβοί και ριζώματα	Ζαχαρότευτλα, καρότα, πατάτες, γλυκοπατάτες
2.Υψηλή περιεκτικότητα οξέων και υψηλή περιεκτικότητα νερού	Εσπεριδοειδή	Λεμόνια, Μανταρίνια, Πορτοκάλια, Γκρέιπφρουτ
	Μικρά φρούτα και μούρα	Μικρά φρούτα και μούρα Φράουλες, βατόμουρα, σμέουρα, μαύρες σταφίδες, κόκκινες σταφίδες, λευκές σταφίδες, σταφύλια
3.Υψηλή περιεκτικότητα σακχάρων και χαμηλή περιεκτικότητα νερού	Μέλι, αποξηραμένα φρούτα	Μέλι, σταφίδες, αποξηραμένα βερίκοκα, αποξηραμένα δαμάσκηνα, μαρμελάδες φρούτων
4a.Υψηλή περιεκτικότητα λίπους και χαμηλή περιεκτικότητα νερού	Ξηροί καρποί	Καρύδια, φουντούκια, κάστανα
	Ελαιώδεις σπόροι	Ελαιοκράμβη, ηλίανθος, βαμβακόσπορος, σόγια, φιστίκια, σουσάμι κ.λπ.
	Πάστες από ξηρούς καρπούς και ελαιούχους σπόρους	Φυστικοβούτυρο, ταχίνι, πάστα φουντουκιού
4b.Υψηλή περιεκτικότητα λίπους και μέτρια περιεκτικότητα νερού	Ελαιώδη φρούτα και προϊόντα	Ελιές, αβοκάντο
5.Υψηλή περιεκτικότητα σε άμυλο και/ή πρωτεΐνη και χαμηλή περιεκτικότητα σε νερό και λίπος	Ξηρά όσπρια/όσπρια	φασόλια χωραφιού, ξερά κουκιά, ξερά φασόλια (κίτρινα, λευκά/ναυτικά, καφέ, στίγματα), φακές
	Σπόροι δημητριακών και προϊόντα τους	Σιτάρι, σίκαλη, κριθάρι και βρώμη. καλαμπόκι, ρύζι ψωμί ολικής αλέσεως, λευκό ψωμί, κράκερ, δημητριακά πρωινού, ζυμαρικά, αλεύρι.
6.Δύσκολα ή «μοναδικά» δείγματα		Κόκκοι κακάο και προϊόντα τους, καφές, τσάι, μπαχαρικά
7.Κρέας (μύες) και Θαλασσινά	Κόκκινο κρέας	Μοσχάρι, χοιρινό, αρνί, κυνήγι, άλογο
	Λευκό κρέας	Κοτόπουλο, πάπια, γαλοπούλα

	Εντόσθια	Συκώτι, νεφρό
	Ψάρι	Μπακαλιάρος, σολομός, πέστροφα
8.Γάλα και γαλακτοκομικά προϊόντα	Γάλα	Αγελαδινό, κατσικίσιο και βουβαλίσιο γάλα
	Τυρί	Αγελαδινό και κατσικίσιο τυρί
	Γαλακτοκομικά προϊόντα	Γιαούρτι, κρέμα
9.Αυγά	Αυγά	Αυγά κοτόπουλου, πάπιας, ορτυκιού και χήνας
10.Λίπος από τρόφιμα ζωικής προέλευσης	Λίπος από κρέας	Λίπος νεφρού, λαρδί
	Λιπαρά γάλακτος	Βούτυρο

Πίνακας 16: Κατηγορίες των τροφίμων βάση της περιεκτικότητας σε παρεμποδίζουσα συστατικά (Linee guida 2022)

Με βάση τον παραπάνω πίνακα, διαπιστώνουμε ότι το υπό επεξεργασία δείγματά μας (άλευρα) ανήκουν στην κατηγορία 5, δηλαδή “*Υψηλή περιεκτικότητα σε άμυλο και/ή πρωτεΐνη και χαμηλή περιεκτικότητα σε νερό και λίπος*”

Αρχικά, έγινε δοκιμή όλων των πρωτοκόλλων της QUECHERS (original, aoac, cen) με βάση τα ήδη υπάρχοντα από σχετικές βιβλιογραφίες. Όλα τα πειράματα έγιναν με 2 επαναλήψεις.

- ORIGINAL

Αρχικά, σε φυγοκεντρικό σωλήνα πολυπροπυλενίου των 50 mL ζυγίζονται 10g δείγματος. Έπειτα, προστίθενται 10 mL ACN και 12ml απεσταγμένου H₂O και ο φυγοκεντρικός σωλήνας κλείνεται ερμητικά και ανακινείται για 1 min σε vortex (4000rpm). Ακολούθως, προστίθενται τα άλατα εκχύλισης 4g MgSO₄ και 1g NaCl και ο σωλήνας ανακινείται αμέσως μετά την προσθήκη για 1 min χειροκίνητα για την παρεμπόδιση σχηματισμού κρυσταλλικών συσσωματωμάτων και για να εξασφαλιστεί επαρκής αλληλεπίδραση με διαλύτη με όλο το δείγμα και έπειτα ανακίνηση για 1min στο vortex (4000rpm). Ακολουθεί φυγοκέντρηση για 5min στις 4000rpm. Το στάδιο του καθαρισμού (clean-up) διεξάγεται με υγρή-στερεή εκχύλιση σε διασπορά (dispersive SPE).

Κατά το στάδιο αυτό, όλο το υπερκείμενο(περίπου 8 ml) (οργανικός διαλύτης ACN) μεταφέρεται σε σωλήνα φυγοκέντρησης των 15 mL ο οποίος περιέχει προζυγισμένες ποσότητες των προσροφητικών 900 mg MgSO₄ και 300mg PSA και 150mg C18. Έπειτα από ισχυρή ανάδευση, ανακίνηση στο vortex για 1 min και φυγοκέντρηση στις 4000rpm για 5min, πραγματοποιείται συλλογή του διαλύτη με πιπέτες Pasteur.

Τέλος, από τα δείγματα διηθείται το 1 ml του υπερκειμένου μέσω φίλτρων σύριγγας με μεμβράνη PTFE 0.22μm, μεταφέρεται σε γυάλινα φιαλίδια των 2mL με βιδωτά πώματα με septa teflon-σιλικόνης, συμβατά με αυτόματους δειγματολήπτες και ακολουθεί ανάλυση σε διάταξη LC-LTQ/Orbitrap MS.

- CEN

Αρχικά, σε φυγοκεντρικό σωλήνα πολυπροπυλενίου των 50 mL ζυγίζονται 5g δείγματος. Έπειτα, προστίθενται 10 mL ACN και 15ml απεσταγμένου H₂O και ο φυγοκεντρικός σωλήνας κλείνεται ερμητικά και ανακινείται για 1 min σε vortex (4000rpm). Ακολούθως, προστίθενται τα άλατα εκχύλισης 4g MgSO₄, 1g NaCl, 1g C₆H₅Na₃O₇·2H₂O και 0.5g C₆H₆Na₂O₇·1.5H₂O και ο σωλήνας ανακινείται αμέσως μετά την προσθήκη για 1 min χειροκίνητα για την παρεμπόδιση σχηματισμού κρυσταλλικών συσσωματωμάτων και για να εξασφαλιστεί επαρκής αλληλεπίδραση με διαλύτη με όλο το δείγμα και έπειτα ανακίνηση για 1min στο vortex (4000rpm). Ακολουθεί φυγοκέντρωση για 5min στις 4000rpm. Το στάδιο του καθαρισμού (clean-up) διεξάγεται με υγρή-στερεή εκχύλιση σε διασπορά (dispersive SPE).

Κατά το στάδιο αυτό, 6ml από το υπερκείμενο (οργανικός διαλύτης ACN) μεταφέρεται σε σωλήνα φυγοκέντρωσης των 15 mL ο οποίος περιέχει προζυγισμένες ποσότητες των προσροφητικών 900 mg MgSO₄ και 150mg PSA και 150mg C18. Έπειτα από ισχυρή ανάδευση, ανακίνηση στο vortex για 1 min και φυγοκέντρωση στις 4000rpm για 5min, πραγματοποιείται συλλογή του διαλύτη με πιπέτες Pasteur.

Τέλος, από τα δείγματα διηθείται το 1 ml του υπερκειμένου μέσω φίλτρων σύριγγας με μεμβράνη PTFE 0.22μm, μεταφέρεται σε γυάλινα φιαλίδια των 2mL με βιδωτά πώματα με septa teflon-σιλικόνης, συμβατά με αυτόματους δειγματολήπτες και ακολουθεί ανάλυση σε διάταξη LC-LTQ/Orbitrap MS.

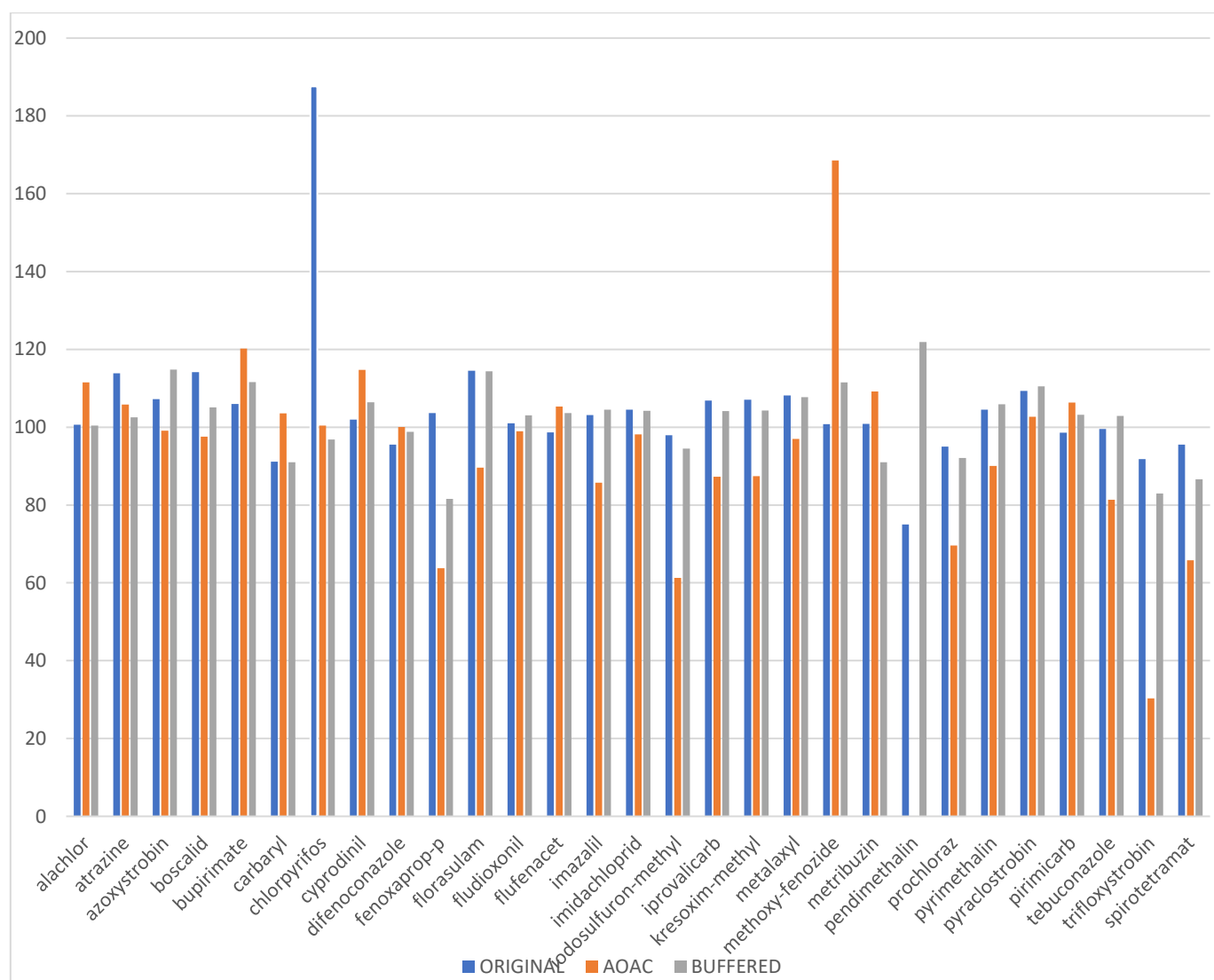
- AOAC

Αρχικά, σε φυγοκεντρικό σωλήνα πολυπροπυλενίου των 50 mL ζυγίζονται 5g δείγματος. Έπειτα, προστίθενται 10 mL ACN και 15ml απεσταγμένου H₂O και ο φυγοκεντρικός σωλήνας κλείνεται ερμητικά και ανακινείται για 1 min σε vortex (4000rpm). Ακολούθως, προστίθενται τα άλατα εκχύλισης 6g MgSO₄ και 1,5g CH₃COONa και ο σωλήνας ανακινείται αμέσως μετά την προσθήκη για 1 min χειροκίνητα για την παρεμπόδιση σχηματισμού κρυσταλλικών συσσωματωμάτων και για να εξασφαλιστεί επαρκής αλληλεπίδραση με διαλύτη με όλο το δείγμα και έπειτα ανακίνηση για 1min στο vortex (4000rpm). Ακολουθεί φυγοκέντρωση για 5min στις 4000rpm. Το στάδιο του καθαρισμού (clean-up) διεξάγεται με υγρή-στερεή εκχύλιση σε διασπορά (dispersive SPE).

Κατά το στάδιο αυτό, 8ml από το υπερκείμενο (οργανικός διαλύτης ACN) μεταφέρεται σε σωλήνα φυγοκέντρωσης των 15 mL ο οποίος περιέχει προζυγισμένες ποσότητες των προσροφητικών 1.200 mg MgSO₄ και 400mg PSA και 400mg C18.

Έπειτα από ισχυρή ανάδευση, ανακίνηση στο vortex για 1 min και φυγοκέντρωση στις 4000rpm για 5min, πραγματοποιείται συλλογή του διαλύτη με πιπέτες Pasteur.

Τέλος, από τα δείγματα διηθείται το 1 ml του υπερκειμένου μέσω φίλτρων σύριγγας με μεμβράνη PTFE 0.22μm, μεταφέρεται σε γυάλινα φιαλίδια των 2mL με βιδωτά πώματα με septa teflon-σιλικόνης, συμβατά με αυτόματους δειγματολήπτες και ακολουθεί ανάλυση σε διάταξη LC-LTQ/Orbitrap MS.



Πίνακας 17: Ανακτήσεις μεθόδων Quechers σε υπόστρωμα αλευριού

Διαπιστώθηκε ότι η πιο αποτελεσματική μέθοδος, δηλαδή αυτή με τις καλύτερες ανακτήσεις για το συγκεκριμένο υπόστρωμα, ήταν η QuEChERS CEN 15662:2008. Αυτό εξηγείται ως εξής: η μέση ανάκτηση για την ORIGINAL είναι 104,6%, για την CEN είναι 100,2%, ενώ για την AOAC είναι 91,42%. Με βάση τους μέσους όρους συμπεραίνουμε πως η CEN έχει καλύτερες ανακτήσεις. Επίσης, κυριαρχούν πιο σταθερές κορυφές οι οποίες δεν εμφανίζουν μεγάλες διαφορές μεταξύ τους.

5.1.2 Πρωτόκολλο QUECHERS για το αλεύρι

Εμβολιασμός δειγμάτων

Για τη βελτιστοποίηση και επικύρωση της αναλυτικής μεθόδου, δείγματα αλεύρων εμβολιάστηκαν με το μείγμα των φυτοπροστατευτικών ενώσεων, αφού πρώτα αναλύθηκαν για να διασφαλιστεί η απουσία ιχνών των αναλυτών. Κατάλληλος όγκος διαλύματος των επιλεγμένων ενώσεων, προστέθηκε σε 5 g δείγματος, ώστε να επιτευχθεί τελική συγκέντρωση από 1 $\mu\text{g/Kg}$ – 100 $\mu\text{g/Kg}$ και στη συνέχεια τα δείγματα εκχυλίστηκαν με την επιλεγμένη μέθοδο εκχύλισης QuEChERS.

Δείγματα

Αρχικά, σε φυγοκεντρικό σωλήνα πολυπροπυλενίου των 50 mL ζυγίζονται 5g δείγματος. Έπειτα, προστίθενται 10 mL ACN και 15ml απεσταγμένου H_2O και ο φυγοκεντρικός σωλήνας κλείνεται ερμητικά και ανακινείται για 1 min σε vortex (4000rpm). Ακολούθως, προστίθενται τα άλατα εκχύλισης 4g MgSO_4 , 1g NaCl, 1g $\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ και 0.5g $\text{C}_6\text{H}_6\text{Na}_2\text{O}_7 \cdot 1.5\text{H}_2\text{O}$ και ο σωλήνας ανακινείται αμέσως μετά την προσθήκη για 1 min χειροκίνητα για την παρεμπόδιση σχηματισμού κρυσταλλικών συσσωματωμάτων και για να εξασφαλιστεί επαρκής αλληλεπίδραση με διαλύτη με όλο το δείγμα και έπειτα ανακίνηση για 1min στο vortex (4000rpm). Ακολουθεί φυγοκέντρωση για 5min στις 4000rpm. Το στάδιο του καθαρισμού (clean-up) διεξάγεται με υγρή-στερεή εκχύλιση σε διασπορά (dispersive SPE).

Κατά το στάδιο αυτό, 6ml από το υπερκείμενο (οργανικός διαλύτης ACN) μεταφέρεται σε σωλήνα φυγοκέντρωσης των 15 mL ο οποίος περιέχει προζυγισμένες ποσότητες των προσροφητικών 900 mg MgSO_4 και 150mg PSA και 150mg C18. Έπειτα από ισχυρή ανάδευση, ανακίνηση στο vortex για 1 min και φυγοκέντρωση στις 4000rpm για 5min, πραγματοποιείται συλλογή του διαλύτη με πιπέτες Pasteur.

Τέλος, από τα δείγματα διηθείται το 1 ml του υπερκειμένου μέσω φίλτρων σύριγγας με μεμβράνη PTFE 0.22 μm , μεταφέρεται σε γυάλινα φιαλίδια των 2mL με βιδωτά πώματα με septa teflon-σιλικόνης, συμβατά με αυτόματους δειγματολήπτες και ακολουθεί ανάλυση σε διάταξη LC-LTQ/Orbitrap MS.

5.1.3 Επικύρωση μεθόδου

Για τα επιλεγμένα φυτοφάρμακα, οι τιμές των ανακτήσεων που προέκυψαν στην επικύρωση της μεθόδου αξιολογήθηκαν σε τρία διαφορετικά επίπεδα εμβολιασμού: χαμηλό (25 $\mu\text{g/kg}$), μεσαίο (100 $\mu\text{g/kg}$) και υψηλό (250 $\mu\text{g/kg}$). Στο χαμηλό επίπεδο εμβολιασμού (25 $\mu\text{g/Kg}$), οι ανακτήσεις κυμάνθηκαν από 93% (Azoxystrobin) έως 107% (Pirimicarb), στο μεσαίο επίπεδο (100 $\mu\text{g/Kg}$) παρουσίασαν μικρότερη διακύμανση, από 74% (Fenoxprop-p) έως 102% (trifloxystrobin) και στο μεγάλο επίπεδο (250 $\mu\text{g/Kg}$) από 81% (Methoxy-fenozide) έως 105% (spirotetramat).

Οι μέσες τιμές των ανακτήσεων υπολογίστηκαν για το χαμηλό επίπεδο 100,23%, για το μεσαίο 79,09% και για το υψηλό επίπεδο εμβολιασμού 95,00%. Παρατηρούμε ότι στο μεσαίο επίπεδο οι ανακτήσεις παρουσιάζουν μεγαλύτερη διαφοροποίηση. Πιο συγκεκριμένα, στο χαμηλό επίπεδο αλλά και στο υψηλό, οι μέσες τιμές βρίσκονται εντός των ορίων ακρίβειας, αποδεικνύοντας έτσι την απόδοση της μεθόδου. Αντίθετα, στο μεσαίο επίπεδο, παρατηρείται αισθητή μείωση της μέσης τιμής ανάκτησης, υποδηλώνοντας με αυτό τον τρόπο πιθανός μειωμένη ακρίβεια στο συγκεκριμένο επίπεδο εμβολιασμού.

Σύμφωνα με τα διεθνώς αποδεκτά κριτήρια αξιολόγησης των μεθόδων για υπολείμματα φυτοφαρμάκων όπως περιγράφονται από την SANTE/11312/2021, οι αποδεκτές τιμές για τις ανακτήσεις κυμαίνονται μεταξύ 70% και 120%, με σχετική τυπική απόκλιση RSD <20%, όπως αναφέρονται στον πίνακα 19.

Με βάση τα όσα παρατηρήσαμε, οι ανακτήσεις σε όλα τα επίπεδα θεωρούνται αποδεκτές και επιθυμητές, καθώς εμπίπτουν εντός των καθορισμένων ορίων. Έτσι, η μέθοδος μπορεί να θεωρεί αξιόπιστη και επαναλήψιμη.

Αναφορικά με τα όρια ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης της μεθόδου (LOD και LOQ) αποτελούν την ελάχιστη συγκέντρωση του αναλύτη που αντιστοιχεί σε λόγο σήματος προς θόρυβο 3 και 10 αντίστοιχα. Για τις επιλεγμένες ενώσεις, τα όρια ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης κυμάνθηκαν από 1 µg/Kg έως 50 µg/Kg και 2,5 µg/Kg έως 50 µg/Kg. Η γραμμικότητα της μεθόδου ελέγχθηκε με την κατασκευή καμπύλης δέκα σημείων σε εμβολιασμένα δείγματα για εύρος συγκεντρώσεων από 1-1000ppb. Ο συντελεστής συσχέτισης (R²) υπολογίστηκε για τις επιλεγμένες ενώσεις να έχει τιμές μεγαλύτερες από 0,99 συνεπώς επέδειξε εξαιρετική γραμμικότητα για τη μέθοδο. Τα όρια ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης καθώς και τα MRLs των εν λόγω ενώσεων δίνονται στον Πίνακα 18:

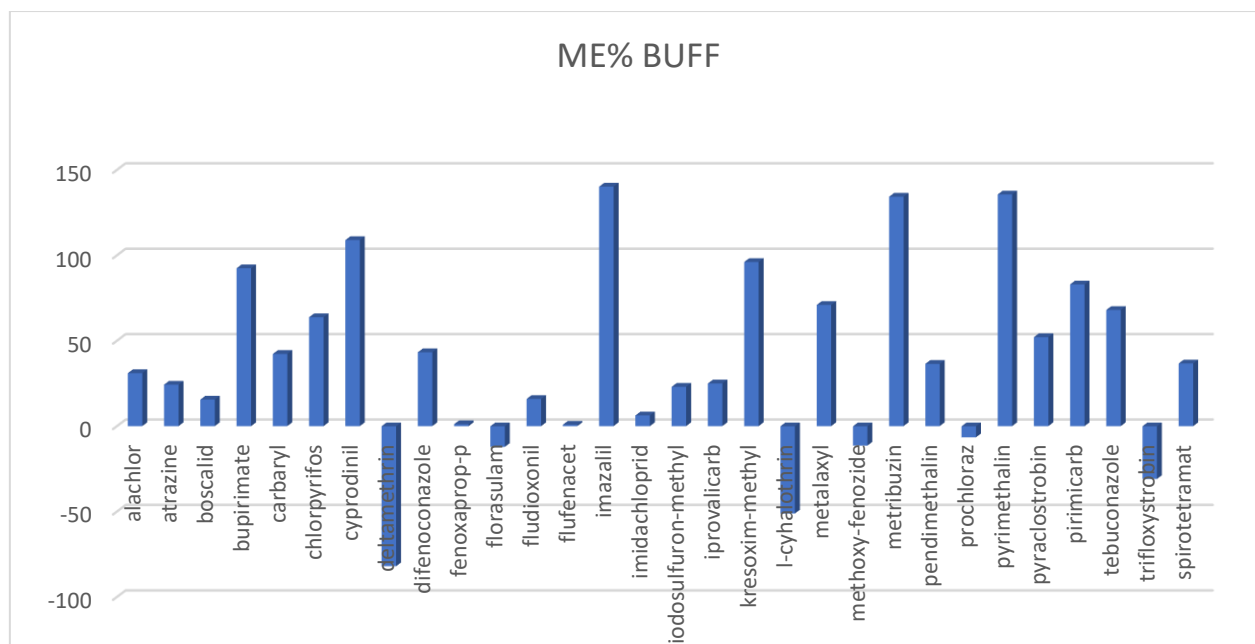
ΦΥΤΟΦΑΡΜΑΚΑ	LOD ppm	LOQ ppm	R ²
alachlor	0.001	0.001	0.99
atrazine	0.001	0.001	0.996
azoxystrobin	0.001	0.0025	0.9907
bifenthrin	0.01	0.025	0.9935
boscalid	0.0025	0.005	0.9988
bupirimate	0.001	0.001	0.9912
carbaryl	0.005	0.025	0.994
chlorpyrifos	0.0025	0.0025	0.996
cyprodinil	0.001	0.0025	0.9927
deltamethrin	0.005	0.01	0.9989
difenoconazole	0.0025	0.005	0.9982
fenoxaprop-p	0.001	0.0025	0.989
florasulam	0.0025	0.0025	0.9987

fludioxonil	0.001	0.0025	0.9903
flufenacet	0.001	0.005	0.9945
imazalil	0.001	0.001	0.99
imidachloprid	0.0025	0.0025	0.9968
iodosulfuron-methyl	0.0025	0.0025	0.9969
iprovalicarb	0.001	0.0025	0.9962
kresoxim-methyl	0.001	0.0025	0.9895
l-cyhalothrin	0.001	0.0025	0.989
metalaxyl	0.001	0.0025	0.9908
methoxy-fenozide	0.0025	0.005	0.985
metribuzin	0.01	0.01	0.9921
pendimethalin	0.05	0.05	0.9975
prochloraz	0.0025	0.025	0.9969
pyrimethalin	0.001	0.0025	0.9925
pyraclostrobin	0.001	0.0025	0.99
pirimicarb	0.005	0.01	0.9911
tebuconazole	0.001	0.005	0.9978
trifloxystrobin	0.001	0.01	0.9906
spirotetramat	0.0025	0.005	0.9861

Πίνακας 18: Όρια ανίχνευσης (LODs), όρια ποσοτικοποίησης (LOQs) και μέγιστα όρια υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων (MRLs) για τα επιλεγμένα φυτοφάρμακα στο αλεύρι.(PPDB - Pesticides Properties DataBase)

Όσον αφορά την επίδραση του υποστρώματος, για τιμές μικρότερες του 0% η επίδραση μειώνει το αναλυτικό σήμα, ενώ για μεγαλύτερες το ενισχύει. Για τιμές ME (Matrix Effect) μεταξύ -20% και 20% θεωρείται ότι το υπόστρωμα προκαλεί ελαφριά μείωση ή ενίσχυση του σήματος. Όπως φαίνεται και στο διάγραμμα το Deltamethrin έχει την μεγαλύτερη αρνητική επίδραση (-87%), συνεπώς στην περίπτωση αυτή το υπόστρωμα μειώνει το αναλυτικό σήμα.

Από την άλλη, η μεγαλύτερη θετική επίδραση του υποστρώματος, δηλαδή αυτή που αυξάνει το αναλυτικό σήμα, παρουσιάζεται στην περίπτωση του Imazalil με το ME να είναι 140%. Στον Σχήμα 6, παρουσιάζονται οι τιμές ME% για κάθε μελετώμενο φυτοφάρμακο στο αλεύρι.



Σχήμα 6: Επίδραση του υποστρώματος του αλεύρου (ME%) για τα επιλεγμένα φυτοφάρμακα

ΦΥΤΟΦΑΡΜΑΚΑ	25PPB			100PPB			250PPB		
	R±RSD (%)	RSDr (%)	RSDR (%)	R±RSD (%)	RSDr (%)	RSDR (%)	R±RSD (%)	RSDr (%)	RSDR (%)
ALACHLOR	99.88±0.1	0.1	12.3	70,07±1,03	4,62	4,44	95.1±4.51	2.2	5.12
ATRAZINE	102.31±1.33	1.33	4.11	76.48±0,902	4,23	3.52	100.74±1.33	1.98	1.63
AZOXYSTROBIN	93.51±4.51	4.51	0.63	77,62±0.598	2.04	2,21	87.54±1	0.21	0.86
BOSCALID	102.43±1.51	1.51	0.47	94.77±8.24	1.3	10.21	98.55±0.26	0.44	0.55
BUPIRIMATE	104.77±2.69	2.69	2.76	98,24±0.05	12.32	9.79	100±3.62	4.24	4.88
CARBARYL	99.02±0.2	0.2	2.85	72.36±22.27	2.06	25.7	88.29±12.52	1.99	11.66
CYPRODINIL	93.44±6.88	6.88	4.85	92.91±16.15	0.9	17.87	100.18±0.22	4.07	3.38
DIFENOCONAZOLE	98.44±1.57	1.57	0.7	74.08±1,34	5,41	5,40	89.17±0.8	4.05	3.78
FENOXAPROP-P	106.34±5.74	4.74	18.60	65.97±1,38	6.02	5.93	87.51±19.04	1.92	17.1
FLORASULAM	102.31±2.56	2.56	2.56	90,39±2,62	1.5	2,79	98.76±0.32	2.87	2.08
FLUFENACET	98.56±2.51	2.51	9.94	92.16±18	2.9	18.9	99.11±0.16	2.89	2.45
IMAZALIL	99.55±2.33	2.33	1.63	84.74±19.81	2.36	23.3	100.01±1.9	11.42	9.95
IMIDACHLOPRID	95.11±1.91	1.91	10.52	101.35±0.33	12.5	13.98	97.23±4.78	0.22	4.11
IODOSULFURON-METHYL	102.9±4.87	4.87	5.64	65,57±0.08	0,246	0,366	95.2±7.32	5.84	9.35
IPROVALICARB	98.29±1.24	1.24	4.69	78.72±6.81	3.91	13.14	98.76±1.14	2.45	2.59

KRESOXIM-METHYL	93.04±8.92	8.92	9.23	70,77±1,28	1,37	5,42	88.13±1.25	6.04	5.43
METALAXYL	100.02±1.2	1.2	3.8	75.27±2.93	3.34	5.12	93.42±4.09	0.23	3.56
METHOXY-FENOZIDE	96.77±4.82	4.82	0.5	89.88±0.47	11.93	9.68	105.38±1.13	7.17	6.24
PENDIMETHALIN	100.51±2.22	2.22	3.11	96.01±2.62	4.66	5.25	97.43±1.81	1.28	2.31
PROCHLORAZ	98.67±1.48	1.48	5.44	98.73±2.69	16.3	14.01	95.75±2.95	3.09	4.27
PYRIMETHALIN	100±1.36	1.36	1.38	98.87±1.27	7.61	9.39	99.63±1.37	0.89	1.66
PYRACLOSTROBIN	100.14±1.60	60	5.9	65.99±4.27	2.05	6.39	88.07±6.92	0.13	5.72
PIRIMICARB	107.23±5.11	5.11	2.48	95.85±2.89	12.53	11.31	98.56±1.01	2.03	2.24
TEBUCONAZOLE	104.75±4.73	4.73	2.55	81.28±2.25	4.79	5.52	97.66±0.1	6.53	5.32
TRIFLOXYSTROBIN	103.4±0.9	0.9	0.9	102.02±16.74	6.17	17.09	101.25±1.11	3.57	3.43
SPIROTETRAMAT	103.48±1.46	1.46	0.99	70.71±1,557	4,19	6,61	81.74±3.06	1.1	3.12

Πίνακας 19: Μέσες τιμές των ανακτήσεων ($R \pm RSD\%$), επαναληψιμότητα της μεθόδου ($RSDr$) και ενδοεργαστηριακή αναπαραγωγιμότητα ($RSDR$) για τα επιλεγμένα φυτοφάρμακα, σε τρία επίπεδα συγκεντρώσεων στο αλεύρι.

Στον παραπάνω πίνακα παρατηρούμε οι τιμές $RSDr$ (%) και $RSDR$ (%) δείχνουν ότι η μέθοδος έχει καλή ακρίβεια και επαναληψιμότητα για τις περισσότερες ενώσεις. Όσον αφορά τις μηδενικές τιμές που εμφανίζονται, σχετίζονται με την μη ανίχνευση των ενώσεων στα προς ανάλυση δείγματα.

Κεφάλαιο 6: Ανίχνευση φυτοπροστατευτικών ενώσεων σε πραγματικά δείγματα

6.1. Επίπεδα συγκεντρώσεων φυτοπροστατευτικών ενώσεων σε πραγματικά δείγματα

Στο παρόν κεφάλαιο παρουσιάζονται τα αποτελέσματα του συστηματικού ελέγχου υπολειμμάτων των μελετώμενων ενώσεων σε δείγματα που ελήφθησαν από τα super market της περιοχής των Ιωαννίνων. Τα 58 δείγματα λήφθηκαν κατά την περίοδο 2022-2025 και η ανάλυσή τους έγινε σύμφωνα με τα βελτιστοποιημένα και επικυρωμένα πρωτόκολλα που παρουσιάστηκαν στο παραπάνω κεφάλαιο (κεφάλαιο 5).

Βασικός στόχος της εργασίας ήταν να επισημανθεί η ικανότητα της προτεινόμενης μεθοδολογίας Quechers για τον προσδιορισμό των επιλεγμένων φυτοπροστατευτικών ενώσεων στο επιλεγόμενο υπόστρωμα καθώς και ο έλεγχος και η παρουσία των φυτοπροστατευτικών ενώσεων που χρησιμοποιούνται στην καλλιέργεια των σιτηρών.

Κατά τη διάρκεια του πειραματικού σταδίου της μελέτης, δεν ανιχνεύθηκε κανένα από τα φυτοφάρμακα που τέθηκαν υπό αναζήτηση σε κανένα από τα εξεταζόμενα δείγματα αλεύρων. Συγκεκριμένα, οι αναλυτικές μετρήσεις που πραγματοποιήθηκαν έδειξαν ότι οι συγκεντρώσεις των εν λόγω υπολειμμάτων φυτοπροστατευτικών προϊόντων ήταν είτε μηδενικές είτε κάτω από τα όρια ανίχνευσης (LOD) της μεθόδου.

Για τον λόγο αυτό, δεν κατέστη εφικτός ο ποσοτικός προσδιορισμός τους σε κανένα από τα δείγματα. Η απουσία ανιχνεύσιμων ποσοτήτων υπολειμμάτων υποδεικνύει ότι οι συγκεντρώσεις των υπό μελέτη ενώσεων, ήταν χαμηλότερες από τα όρια ανίχνευσης της συγκεκριμένης μεθόδου. Παράλληλα, τα αποτελέσματα, ενδέχεται να αντικατοπτρίζουν και την τήρηση των Ορθών Γεωργικών Πρακτικών. Παρότι δεν ανιχνεύτηκαν υπολείμματα, δεν μπορεί να αποκλειστεί η παρουσία τους σε συγκεντρώσεις χαμηλότερες από την ευαισθησία της μεθόδου.

ΚΩΔΙΚΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ	ΤΥΠΟΣ ΑΛΕΥΡΟΥ	ΠΡΟΕΛΕΥΣΗ Α ΥΛΗΣ	ΜΟΡΦΗ ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑΣ	ΕΤΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑΣ
Δ1	ΜΑΛΑΚΟ ΣΙΤΑΡΙ	EU/non-EU	ΣΥΣΚΕΥΑΣΜΕΝΟ	2022
Δ2	ΣΚΛΗΡΟ ΣΙΤΑΡΙ	EU/non-EU	ΣΥΣΚΕΥΑΣΜΕΝΟ	2022
Δ3	ΚΑΛΑΜΠΟΚΙΣΙΟ	EU/non-EU	ΣΥΣΚΕΥΑΣΜΕΝΟ	2022
Δ4	ΚΑΛΑΜΠΟΚΙΣΙΟ	EU	ΣΥΣΚΕΥΑΣΜΕΝΟ	2022
Δ5	ΣΚΛΗΡΟ ΣΙΤΑΡΙ	EU	ΣΥΣΚΕΥΑΣΜΕΝΟ	2022
Δ6	ΜΑΛΑΚΟ ΣΙΤΑΡΙ	EU	ΣΥΣΚΕΥΑΣΜΕΝΟ	2022
Δ7	ΜΑΛΑΚΟ ΣΙΤΑΡΙ	EU	ΣΥΣΚΕΥΑΣΜΕΝΟ	2023
Δ8	ΜΑΛΑΚΟ ΣΙΤΑΡΙ	EU/non-EU	ΣΥΣΚΕΥΑΣΜΕΝΟ	2023
Δ9	ΜΑΛΑΚΟ ΣΙΤΑΡΙ	ΔΕΝ ΑΝΑΓΡΑΦΕΤΑΙ	ΣΥΣΚΕΥΑΣΜΕΝΟ	2023
Δ10	ΜΑΛΑΚΟ ΣΙΤΑΡΙ	ΔΕΝ ΑΝΑΓΡΑΦΕΤΑΙ	ΣΥΣΚΕΥΑΣΜΕΝΟ	2023

Δ11	ΜΑΛΑΚΟ ΣΙΤΑΡΙ	EU/non-EU	ΣΥΣΚΕΥΑΣΜΕΝΟ	2023
Δ12	ΜΑΛΑΚΟ ΣΙΤΑΡΙ	EU	ΣΥΣΚΕΥΑΣΜΕΝΟ	2023
Δ13	ΜΑΛΑΚΟ ΣΙΤΑΡΙ	ΔΕΝ ΑΝΑΓΡΑΦΕΤΑΙ	ΣΥΣΚΕΥΑΣΜΕΝΟ	2023
Δ14	ΚΑΛΑΜΠΟΚΙΣΙΟ	EU/non-EU	ΣΥΣΚΕΥΑΣΜΕΝΟ	2023
Δ15	ΟΛΙΚΗΣ ΜΑΛΑΚΟ	EU	ΣΥΣΚΕΥΑΣΜΕΝΟ	2023
Δ16	ΜΑΛΑΚΟ ΣΙΤΑΡΙ	EU	ΣΥΣΚΕΥΑΣΜΕΝΟ	2023
Δ17	ΡΥΖΑΛΕΥΡΟ	ΔΕΝ ΑΝΑΓΡΑΦΕΤΑΙ	ΣΥΣΚΕΥΑΣΜΕΝΟ	2023
Δ18	ΟΛΙΚΗΣ ΜΑΛΑΚΟ	ΔΕΝ ΑΝΑΓΡΑΦΕΤΑΙ	ΣΥΣΚΕΥΑΣΜΕΝΟ	2023
Δ19	ΜΑΛΑΚΟ ΣΙΤΑΡΙ	ΔΕΝ ΑΝΑΓΡΑΦΕΤΑΙ	ΣΥΣΚΕΥΑΣΜΕΝΟ	2023
Δ20	ΚΑΛΑΜΠΟΚΙΣΙΟ	EU	ΣΥΣΚΕΥΑΣΜΕΝΟ	2023
Δ21	ΜΑΛΑΚΟ ΣΙΤΑΡΙ	ΔΕΝ ΑΝΑΓΡΑΦΕΤΑΙ	ΣΥΣΚΕΥΑΣΜΕΝΟ	2024
Δ22	ΒΙΟ ΣΚΛΗΡΟ	ΔΕΝ ΑΝΑΓΡΑΦΕΤΑΙ	ΣΥΣΚΕΥΑΣΜΕΝΟ	2024
Δ23	ΜΑΛΑΚΟ ΣΙΤΑΡΙ	ΔΕΝ ΑΝΑΓΡΑΦΕΤΑΙ	ΣΥΣΚΕΥΑΣΜΕΝΟ	2024
Δ24	ΟΑΤ FLAKES	ΔΕΝ ΑΝΑΓΡΑΦΕΤΑΙ	ΣΥΣΚΕΥΑΣΜΕΝΟ	2024
Δ25	ΜΑΛΑΚΟ ΣΙΤΑΡΙ	ΔΕΝ ΑΝΑΓΡΑΦΕΤΑΙ	ΣΥΣΚΕΥΑΣΜΕΝΟ	2024
Δ26	ΚΑΛΑΜΠΟΚΙΣΙΟ	EU/non-EU	ΣΥΣΚΕΥΑΣΜΕΝΟ	2024
Δ27	ΜΑΛΑΚΟ ΣΙΤΑΡΙ	EU/non-EU	ΣΥΣΚΕΥΑΣΜΕΝΟ	2024
Δ28	ΜΑΛΑΚΟ ΣΙΤΑΡΙ	EU	ΣΥΣΚΕΥΑΣΜΕΝΟ	2024
Δ29	ΜΑΛΑΚΟ ΣΙΤΑΡΙ	ΔΕΝ ΑΝΑΓΡΑΦΕΤΑΙ	ΣΥΣΚΕΥΑΣΜΕΝΟ	2024
Δ30	ΟΛΙΚΗΣ	ΔΕΝ ΑΝΑΓΡΑΦΕΤΑΙ	ΣΥΣΚΕΥΑΣΜΕΝΟ	2024
Δ31	ΟΛΙΚΗΣ	EU/non-EU	ΣΥΣΚΕΥΑΣΜΕΝΟ	2024
Δ32	ΟΛΙΚΗΣ	ΔΕΝ ΑΝΑΓΡΑΦΕΤΑΙ	ΣΥΣΚΕΥΑΣΜΕΝΟ	2024
Δ33	ΚΑΛΑΜΠΟΚΙΣΙΟ	ΔΕΝ ΑΝΑΓΡΑΦΕΤΑΙ	ΣΥΣΚΕΥΑΣΜΕΝΟ	2025
Δ34	ΜΑΛΑΚΟ ΣΙΤΑΡΙ	ΔΕΝ ΑΝΑΓΡΑΦΕΤΑΙ	ΣΥΣΚΕΥΑΣΜΕΝΟ	2025
Δ35	ΚΑΛΑΜΠΟΚΙΣΙΟ	ΔΕΝ ΑΝΑΓΡΑΦΕΤΑΙ	ΣΥΣΚΕΥΑΣΜΕΝΟ	2025
Δ36	ΜΑΛΑΚΟ ΣΙΤΑΡΙ	ΔΕΝ ΑΝΑΓΡΑΦΕΤΑΙ	ΣΥΣΚΕΥΑΣΜΕΝΟ	2024
Δ37	ΜΑΛΑΚΟ ΣΙΤΑΡΙ	ΔΕΝ ΑΝΑΓΡΑΦΕΤΑΙ	ΣΥΣΚΕΥΑΣΜΕΝΟ	2024
Δ38	ΟΛΙΚΗΣ	EU/non-EU	ΣΥΣΚΕΥΑΣΜΕΝΟ	2024
Δ39	ΟΛΙΚΗΣ	EU/non-EU	ΣΥΣΚΕΥΑΣΜΕΝΟ	2025
Δ40	ΟΛΙΚΗΣ	EU/non-EU	ΣΥΣΚΕΥΑΣΜΕΝΟ	2025
Δ41	ΚΑΛΑΜΠΟΚΙΣΙΟ	ΔΕΝ ΑΝΑΓΡΑΦΕΤΑΙ	ΣΥΣΚΕΥΑΣΜΕΝΟ	2025
Δ42	ΜΑΛΑΚΟ ΣΙΤΑΡΙ	EU	ΧΥΜΑ	2025

Δ43	ΟΛΙΚΗΣ	ΕΥ	ΧΥΜΑ	2025
Δ44	ΚΑΛΑΜΠΟΚΙΣΙΟ	ΕΥ	ΧΥΜΑ	2025
Δ45	ΜΑΛΑΚΟ ΣΙΤΑΡΙ	ΔΕΝ ΑΝΑΓΡΑΦΕΤΑΙ	ΣΥΣΚΕΥΑΣΜΕΝΟ	2025
Δ46	ΜΑΛΑΚΟ ΣΙΤΑΡΙ	ΔΕΝ ΑΝΑΓΡΑΦΕΤΑΙ	ΣΥΣΚΕΥΑΣΜΕΝΟ	2025
Δ47	ΚΑΛΑΜΠΟΚΙΣΙΟ	ΕΥ/non-EU	ΣΥΣΚΕΥΑΣΜΕΝΟ	2025
Δ48	ΜΑΛΑΚΟ ΣΙΤΑΡΙ	ΕΥ	ΣΥΣΚΕΥΑΣΜΕΝΟ	2025
Δ49	ΜΑΛΑΚΟ ΣΙΤΑΡΙ	ΔΕΝ ΑΝΑΓΡΑΦΕΤΑΙ	ΣΥΣΚΕΥΑΣΜΕΝΟ	2025
Δ50	ΚΑΛΑΜΠΟΚΙΣΙΟ	ΔΕΝ ΑΝΑΓΡΑΦΕΤΑΙ	ΣΥΣΚΕΥΑΣΜΕΝΟ	2025
Δ51	ΣΚΛΗΡΟ ΣΙΤΑΡΙ	ΔΕΝ ΑΝΑΓΡΑΦΕΤΑΙ	ΣΥΣΚΕΥΑΣΜΕΝΟ	2025
Δ52	ΚΑΛΑΜΠΟΚΙΣΙΟ	ΕΥ	ΧΥΜΑ	2025
Δ53	ΚΑΛΑΜΠΟΚΙΣΙΟ	ΕΥ	ΧΥΜΑ	2025
Δ54	ΖΕΑΣ ΟΛΙΚΗΣ	ΕΥ	ΧΥΜΑ	2025
Δ55	ΖΕΑΣ	ΕΥ	ΧΥΜΑ	2025
Δ56	ΚΑΛΑΜΠΟΚΙΣΙΟ	ΕΥ	ΧΥΜΑ	2025
Δ57	ΒΡΩΜΗ	ΔΕΝ ΑΝΑΓΡΑΦΕΤΑΙ	ΣΥΣΚΕΥΑΣΜΕΝΟ	2025
Δ58	ΜΑΛΑΚΟ ΣΙΤΑΡΙ	ΔΕΝ ΑΝΑΓΡΑΦΕΤΑΙ	ΣΥΣΚΕΥΑΣΜΕΝΟ	2025

Πίνακας 20: Χαρακτηριστικά των δειγμάτων που αναλύθηκαν

6.2. Ύπαρξη φυτοπροστατευτικών ενώσεων σε δείγματα αλεύρου

Από την έρευνα της βιβλιογραφίας σε διάφορες επιστημονικές ομάδες που χρησιμοποίησαν ως υπόστρωμα το αλεύρι, προέκυψαν τα εξής αποτελέσματα:

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΦΥΤ/ΚΩΝ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ	ΕΙΔΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ	ΜΕΘΟΔΟΣ	ΠΡΟΕΛΕΥΣΗ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ
(Walorczyk 2007)	122	136	Δημητριακά	dSPE - GC- MS/MS	Άγνωστη	Tebuconazole, Cyproconazole, Malathion, Methiocarb, Pirimiphos-methyl, Cypermethrin, Chlorpyrifos, Flusilazol
(Lacina et al. 2012)	288	2	Αλεύρι από: σιτάρι, βρώμη	QUECHERS UHPLS- MS/MS	Άγνωστη	Δεν ανιχνεύθηκαν υπολείμματα φυτοφαρμάκων
(Peng Li 2013)	19	6	Δημητριακά : σιτάρι, καλαμπόκι, ρύζι	LLE HPLS-MS	Κίνα	Cyromazine, Metamitron, Atrazine-2-hydroxy, Simeton, Hexazinone, Simazine, Atrazine, Methoprotetryne, Prometryn, Dipropetryn
(Zhao et al. 2015)	6	6	Δημητριακά : σιτάρι, καλαμπόκι, ρύζι	SPE HPLS-MS/MS	Άγνωστη	Atrazine, Ametryn, prometryn

(He et al. 2015)	219	10	Αλεύρι από: καλαμπόκι, ρύζι, σιτάρι	QUECHERS GM-MS	Άγνωστη	Dichlorvos, Isoprothiolane
(Zhu et al. 2016)	8	60	Αλεύρι από: σιτάρι, καλαμπόκι	SPE-DLLME	Κίνα	Δεν ανιχνεύθηκαν υπολείμματα φυτοφαρμάκων
(Vilca et al. 2018)	42	37	Δημητριακά: Κινόα	QUECHERS LC-MS/MS	Περου	Δεν ανιχνεύθηκαν υπολείμματα φυτοφαρμάκων
(Matos et al. 2019)	60	24	Δημητριακά: Βρώμη	QUECHERS LC-MS/MS	Βραζιλία	Azoxystrobin, Thiamethoxam, Metalaxyl,
(Meghdad Pirsahab 2019)	3	27	Αλεύρι από: Σιτάρι	DLLME	Ιράν	Deltamethrin, malathion
(Wang et al. 2020)	134	260	Αλεύρι από: Σίκαλη, Σιτάρι	LC-ESI-MS	Ηνωμένο Βασίλειο, Γερμανία	Deltamethrin, Clomequat, Piperonyl-butoxide, Pirimiphos- cypermethrin, Alpha- cupermethrin, Pendimethanil, Tebuconazole, Meriquat, two-phenylphenol, Glyphosate, Chlorpyrifos-methyl
(Nardelli et al. 2021)	37	209	Αλεύρι από: Σιτάρι	QuEChERS - GC-MS/MS	Ιταλία, Καζακστάν, Ρωσία, Μολδαβία, Αμερική	Cyfluthrin, deltamethrin, phenothrin, cypermethrin, fenvalerate, chlorpyrifos, pirimiphos-methyl
(Hakami et al. 2021)	19	30	Δημητριακά	QUECHERS GM-MS	Αυστραλία, Υεμένη, Ινδία, HAE	Dichlorvos, Diazinon, Pirimicarb, Chlorpyrifos-methyl, Malathion, Ethion, Tebuconazole, L-cyhalothrin, Cypermethrin, Pirimicarb
(Sereshti et al. 2022)	16	4	Δημητριακά: Σιτάρι. Καστανό σιτάρι, καλαμπόκι, κριθάρι, βρώμη, ρύζι	QUECHERS GM-MS	Ιράν	Dieldrin, b-endosulfan, hexaconazole
(Rodríguez-Ramos et al. 2023)	54	60	Αλεύρι από: Ρύζι, σιτάρι	QUECHERS, UHPLC-Q- TOF-MS	Ισπανία	Acetamiprid, Azoxystrobin, Carbendazim
(DTU National Food Institute)	29		Αλεύρι από: Βρώμη, Σίκαλη, Κριθάρι, Κινόα	QuEChERS – GC & LC-MS/MS	Άγνωστη	Atrazine-Desethyl, Aziprotryne, Benzoximate, Benzoylprop- ethyl, Butachlor, Butamifos, Butylate, Crimidine, Cyhalofop-butyl, Dicapthon, Dichlormid,, Dichlorophen, Dithiopyr, Fenopropmethylester, Fluchloralin, Fluridone, Metamitrondesamino, Methabenzthiazuron, Naptalam, Nitrothal-isopropyl, Pentanochlor, Plifenate, Profluralin, Siduron, Tiocarbazil, Triflumizole metabolite (FM-6-1), Triflumizole metabolite (FM-6- 1)+, XMC1, zeta-Cypermethrin
			Δημητριακά: σιτάρι, ρύζι, σίκαλη, βρώμη			

Πίνακας 21: Αποτελέσματα πειραματικών δεδομένων βιβλιογραφίας

ΕΡΕΥΝΑ	ΦΥΤΟΠΡΟΣΤΑΤΕΥΤΙΚΗ ΕΝΩΣΗ	MRL (mg/Kg)	ΥΠΟΣΤΡΩΜΑ	ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ mg/kg
(Walorczyk 2007)	- tebuconazole - cyproconazole - malathion - methiocarb - cypermethrin - chlorpyrifos - flusilazole	-0,3 - 0,1 - 8 -0,03 - 2 -0,01 -0,01	Δημητριακά	- 0,094 - 0,011 - 0,038 - 0,182 - 0,012 & 0,048 - 0,318 - 0,01
(Peng Li 2013)	-cyromazine -metamitron -atrazine-2-hydroxy -simeton -hexazinone -simazine -atrazine -methoprotryn -prometryn -dipropetryn	-0,02 -0,01 -0,05 -0,05 -0,05 -0,01 -0,05 -0,05 -0,01 -0,05	Δημητριακά : σιτάρι, καλαμπόκι, ρύζι	- 0,00098 - 0,00087 - 0,00008-0,000184 -0,000334 - 0,000047 - 0,00085 - 0,000200-0,000356 - 0,000021 - 0,000014 - 0,000013
(Zhao et al. 2015)	- atrazine - ametryn - prometryn	- 0,05 - 0,01 - 0,01	Δημητριακά : σιτάρι, καλαμπόκι, ρύζι	- 0,0000056 - 0,0000076 - 0,0000073
(He et al. 2015)	- dichlorvos	- 0,01	Αλεύρι από: καλαμπόκι, ρύζι, σιτάρι	- 0,0096
(Matos et al. 2019)	- azoxystrobin - thiamethoxam	- 0,5 - 0,02	Δημητριακά: Βρώμη	- 0,006-0,082 - 0,005-0,2
(Meghdad Pirsahab 2019)	- deltamethrin	- 1	Αλεύρι από: Σιτάρι	- 0,0021-0,0054
(Wang et al. 2020)	- chlormequat	- 4	Αλεύρι από: Σίκαλη, Σιτάρι	- 0,0055
(Nardelli et al. 2021)	- chlorpyrifos - fenvalerate - cyfluthrin - Phenothrin - deltamethrin - cypermethrin - Pirimiphos-methyl	- 0,01 - 0,01 -0,04 -0,05 -1 -2 -5	Αλεύρι από: Σιτάρι	- 0,025 - 0,018 - 0,011 - 0,013 - 0,015 - 0,049 - 0,013-0,113
(Hakami et al. 2021)	- dichlorvos -diazinon -pirimicarb -chlorpyrifos-methyl -Pirimiphos-methyl -malathion -aldrin -ethion -tebuconazole -fenpropathrin -lamba-cyhalothrin -cypermethrin	-0,01 -0,01 -0,05 -0,01 -5 -8 -0,01 - 0,01 -0,3 -0,01 -0,05 -2	Δημητριακά	- 0,014-0,712 -0,022-0,434 - 0,099 - 0,037-0,245 - 0,0069 - 0,081-0,278 - 0,013-0,190 - 0,013-0,054 - 0,011-0,032 - 0,011-1,182 - 0,012-0,083 - 0,029-2,409
(Sereshti et al. 2022)	- dieldrin - b-endosulfan - hexaconazole	-0,01 -0,05 -0,01	Δημητριακά: Σιτάρι. Καστανό σιτάρι, καλαμπόκι, κριθάρι, βρώμη, ρύζι	- 0,0018-0,0056 - 0,0053 - 0,010—0,016
(Rodríguez-Ramos et al. 2023)	-acetamiprid -azoxystrobin -carbendazim	-0,1 -0,5 -0,1	Αλεύρι από: Ρύζι, σιτάρι	- <LOQ

Πίνακας 22: Αναλυτικά αποτελέσματα δεδομένων βιβλιογραφίας σε δείγματα

Σύμφωνα με τα δεδομένα που παρουσιάζονται στον Πίνακα 21-22, μπορούμε να εξάγουμε τις ακόλουθες παρατηρήσεις:

Με βάση την ανασκόπηση προκύπτει ότι οι μέθοδοι εκχύλισης ποικίλουν, τόσο η QUECHERS όσο και SPE, LLE χρησιμοποιούνται όλες με επιτυχή αποτελέσματα, με κυρίαρχη την QUECHERS. Η επιλογή μεθόδου επηρεάζει την ικανότητα ανίχνευσης διαφορετικών κατηγοριών φυτοφαρμάκων. Παρατηρούμε πως με την χρήση της QUECHERS ανιχνεύονται κυρίως εντομοκτόνα. Σε αντίθετη περίπτωση, μέσω της SPE και LLE ανιχνεύτηκαν κυρίως μυκητοκτόνα.

Εξίσου σημαντική παρατήρηση αποτελεί το γεγονός πως συχνότερη εμφάνιση επιμόλυνσης παρατηρούμε σε αλεύρι σίτου, παρά σε καλαμποκίσιο, βρώμης κα. Κατ' επέκταση, τονίζεται η ανάγκη για πιο στενυμένο έλεγχο στο συγκεκριμένο είδος καλλιέργειας, χωρίς αυτό να παραμερίζει τους ελέγχους σε όλα τα είδη σιτηρών.

Τέλος αλλά εξίσου σημαντικό, αποτελεί το γεγονός ότι βασικότερη διαφορά όσον αφορά το υπόστρωμα είναι η προέλευση του. Οι προαναφερθέντες μελέτες αφορούν αλεύρι προέλευσης Ιράν, Κίνα, Αυστραλία, Υεμένη, Ινδία, ΗΑΕ, περιοχές που αποδεικνύει δύο πράγματα. Αρχικά, διαπιστώνουμε ότι το πρόβλημα χρήσης και ύπαρξης φυτοφαρμάκων έχει παγκόσμιο χαρακτήρα και δεν γνωρίζει γεωγραφικά όρια. Δεύτερον, οι μελέτες με ύπαρξη φυτοφαρμάκων προέρχονται από χώρες εκτός Ευρωπαϊκής Ένωσης, οπότε τα θεσμοθετημένα όρια μέγιστων υπολειμμάτων (MRLs) ενδέχεται να διαφέρουν από εκείνα που ισχύουν στην Ευρωπαϊκή Ένωση, καθώς και η εφαρμογή αλλά και ο έλεγχος των ορίων αυτών να είναι λιγότερο αυστηρός ή συστηματικός.

Ο (Walorczyk 2007) ανέπτυξε και επικύρωσε μία μεθοδολογία για την ύπαρξη υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων μέσω GC-MS/MS, σε υπόστρωμα δημητριακά. Μέσω των πειραμάτων του, κατάφερε σε ένα σύνολο 122 φυτοφαρμάκων να εντοπίσει αρκετά από αυτά σε 136 δείγματα. Οι ανακτήσεις κυμάνθηκαν από 73-129%, ενώ οι τυπικές αποκλίσεις από 1-29%. Οι ενώσεις τις οποίες κατάφερε να εντοπίσει και να ποσοτικοποιήσει στο σιτάρι είναι οι εξής: tebuconazole 0,094 mg/kg, cyproconazole 0,011 mg/kg, malathion 0,038 mg/kg, methiocarb 0,182 mg/kg, cypermethrin 0,012 mg/kg και 0,048 mg/kg, chlorpyrifos, 0,318 mg/kg και flusilazole 0,01 mg/kg. Αξίζει να σημειωθεί ότι όλες οι ενώσεις που εντοπίστηκαν στα δείγματα είναι άνω των τιμών LOD και LOQ, αλλά επίσης δεν ξεπερνάν τα όρια των MRL's τα οποία έχουν τεθεί από την Πολωνική νομοθεσία, με εξαίρεση το chlorpyrifos όπου η τιμή MRL είναι 0.05 mg/kg, χαμηλότερη από την τιμή που βρέθηκε στο δείγμα. Παρατηρούμε, ότι με την χρήση GC-MS ανιχνεύτηκαν φυτοφάρμακα όπου η παρούσα μελέτη επίσης ερευνά, όσον αφορά την ύπαρξή τους σε σιτηρά και αλεύρι. Επίσης, τα ποσοστά των ανακτήσεων κι τα όρια ποσοτικοποίησης, αντιστοιχούν στις δύο μελέτες.

Η (Lacina et al. 2012) εξέτασε τις τρεις διαφορετικές μεθοδολογίες QUECHERS για την εκχύλιση 288 φυτοφαρμάκων σε δείγματα αλευριού παραγόμενο από σιτάρι, βρώμη και καλαμπόκι. Μετά από σύγκριση των ανακτήσεων, κατέληξε στο συμπέρασμα πως η μέθοδος AOAC έδωσε τις λιγότερο αποδεκτές τιμές, συγκεκριμένα εκτός των ορίων μεταξύ 70-120%, σε αντίθεση με την CEN που είχε συγκριτικά καλύτερες τιμές ανακτήσεων. Σημαντικό να τονίσουμε όμως ότι, η ORIGINAL είχε τις καλύτερες τιμές ανακτήσεις μεταξύ 76-104%, με μόνο μία τιμή εκτός ορίων, την ένωση Pymetrozine με τιμή ανάκτησης 10%. Οι μέθοδοι αξιολογήθηκαν με πιστοποιημένα υλικά αναφοράς που

περιείχαν πραγματικά κατάλοιπα φυτοφαρμάκων σε συγκεκριμένες τιμές, ώστε να επιβεβαιωθεί η αξιοπιστία των μεθόδων. Με αυτόν τον τρόπο, κατέληξαν στα εξής συμπεράσματα:

- Οι μέθοδοι A(ORIGINAL) & B(CEN) παρείχαν αξιόπιστα αποτελέσματα, ενώ η μέθοδος Γ (AOAC) θεωρήθηκε ανεπαρκής.
- Η μέθοδος A πέτυχε χαμηλότερα LOQs, αλλά και recoveries.

Διαπιστώνουμε ότι και στην παρούσα μελέτη και στην έρευνα της (Lacina et al. 2012) ότι η μέθοδος CEN παρουσιάζει τα πιο αξιόπιστα αποτελέσματα, με τις υψηλότερες τιμές ανακτήσεων αλλά και χαμηλές τιμές LOQ.

Ο (Peng Li 2013) ανέπτυξε μία μέθοδο HPLC με σκοπό την ανίχνευση 19 τριαζινών σε δείγματα σιτηρών. Οι ανακτήσεις κυμάνθηκαν μεταξύ 70-112%, με ποσοστά RSD<13,5%. Κατάφερε να ανιχνεύσει 11 τριαζίνες (cyromazine, metamitron, atrazine-2-hydroxy, simeton, hexazinone, simazine, atrazine, methoprottryne, ametryn, prometryn και dipropetryn) με συγκεντρώσεις 0.013-0.987 ppb. Παρατηρούμε ότι συγκριτικά με την παρούσα μελέτη υπάρχουν μικρές ομοιότητες όσον αφορά τις ενώσεις προς ανίχνευση, όπως και την διαφορά στην μέθοδο ανάλυσης.

Ο (Zhao et al. 2015) επίσης με την χρήση HPLC προέβησαν σε ανίχνευση 6 τριαζινών, σε δείγματα δημητριακών. Οι ανακτήσεις κυμάνθηκαν μεταξύ 81-96%, ενώ τα όρια ποσοτικοποίησης ήταν σε αρκετά χαμηλά επίπεδα 0,08–0,16 ng/g. Κατάφερε να ποσοτικοποιήσει το atrazine σε δύο δείγματα σε συγκεντρώσεις 6.7 και 5.6 ng/g, το ametryn και το prometryn σε ένα δείγμα με συγκεντρώσεις αντίστοιχα 7.6 και 7.3 ng/g.

Ο (He et al. 2015) ανέπτυξε και επικύρωσε την QuEChERS-GC–MS/MS για περισσότερο από 200 φυτοφάρμακα σε σιτηρά. Η πλειοψηφία των τιμών των ανακτήσεων κυμάνθηκαν από 70-120%, με RSD<20%. Από το σύνολο των 219 φυτοφαρμάκων, κατάφερε να εντοπίσει δύο, το dichlorvos και το isoprothiolane σε πέντε δείγματα. Όσον αφορά το dichlorvos, βρέθηκε σε 1 δείγμα ρυζιού και 2 δείγματα καλαμποκιού σε τιμές <LOQ και ποσοτικοποιήθηκε στην τιμή 9.58 µg/kg σε ένα δείγμα καλαμποκιού, ενώ το isoprothiolane εντοπίστηκε σε 2 δείγματα ρυζιού σε τιμές <LOQ.

Ο (Zhu et al. 2016) ανέπτυξε μία μέθοδο SPE dLLME για τον προσδιορισμό φυτοφαρμάκων σε δείγματα σιταριού και καλαμποκιού. Οι ανακτήσεις στα τρία επίπεδα εμβολιασμού κυμάνθηκαν μεταξύ 76,4-109,8%, με σχετική τυπική απόκλιση <10,7%.

Η Vilca et al., 2018 βελτιστοποίησε και επικύρωσε την QUECHERS LS MS/MS, για τον προσδιορισμό 40 φυτοφαρμάκων σε 37 δείγματα Κινόα, προερχόμενα από το Περού. Τα αποτελέσματα των ανακτήσεων κυμάνθηκαν μεταξύ 31,6-125,1%. Παρόλο που η μέθοδος είχε χαμηλά όρια ποσοτικοποίησης (0,001–0,01mg/kg), κανένα φυτοφάρμακο δεν εντοπίστηκε στα προς ανάλυση δείγματα. Παρόλο που και στην παρούσα ερευνά δεν εντοπίστηκε κανένα φυτοφάρμακο, διαπιστώνουμε ότι τα ποσοστά των ανακτήσεων ήταν υψηλότερα, σε ίδια όρια ποσοτικοποίησης 0,001-0,025ppm.

Ο (de Matos et al., 2019) ανέπτυξε και επικύρωσε την QUECHERS UHPLS-MS/MS για τον προσδιορισμό 60 φυτοφαρμάκων σε δείγματα βρώμης. Διαπιστώθηκε ότι 16 δείγματα περιείχαν ένα τουλάχιστον φυτοφάρμακο, με το azoxystrobin να αποτελεί το συχνότερο. Πιο συγκεκριμένα, σε 6 δείγματα ποσοτικοποιήθηκε μεταξύ 0,006-0,082

mg/kg ενώ σε ακόμα 5 δείγματα, ήταν κάτω από το όριο ποσοτικοποίησης. Ταυτόχρονα, παρατήρησαν και εντόπισαν το thiamethoxam σε 6 δείγματα, με 2 από τα οποία περιείχαν τιμές άνω του MRL EU αλλά και το metalaxyl το οποίο ήταν κάτω από το LOQ τη μεθόδου.

O (Meghdad Pirsahab 2019) ανέπτυξε μία μέθοδο DLLME για να προσδιορίσει τα υπολείμματα φυτοφαρμάκων σε αλεύρι. Οι ανακτήσεις κυμάνθηκαν μεταξύ 67-81% ενώ το RSD<20%. Όσον αφορά τον εντοπισμό των ενώσεων, το permethrin και το malathion δεν εντοπίστηκε σε κανένα δείγμα, ενώ το deltamethrin εντοπίστηκε σε 1 δείγμα αλευριού σε τιμή $21.5 \pm 5.4 \mu\text{g/kg}$. Στην παρούσα ερευνητική μελέτη, παρόλο που δεν ανιχνεύτηκαν φυτοφάρμακα στα δείγματα, οι ανακτήσεις ήταν αρκετά υψηλότερες, αποδεικνύοντας ότι η LC-MS παρουσιάζει καλύτερες ανακτήσεις συγκριτικά με την DLLME.

O (Wang et al. 2020) έκανε μία έρευνα δύο χρόνων χρησιμοποιώντας LC-ESI-MS, με σκοπό να συγκρίνει τα οργανικά και μη σιτηρά και συγκεκριμένα το σιτάρι, με προέλευση από Γερμανία και Ηνωμένο Βασίλειο. Το σύνολο των φυτοφαρμάκων που ανιχνεύτηκαν (deltamethrin, chlormequat, piperonyl butoxide, pirimiphos methyl, alpha-cypermethrin, pendimethanil, tebuconazole, και meriquat., είχαν τιμές χαμηλότερες ή ίσες με τα αντίστοιχα MRL's. Μέσω αυτής της μελέτης παρατήρησε ότι το φυτοφάρμακο chlormequat ανιχνεύτηκε στο 35% των μη βιολογικών δειγμάτων που αναλύθηκαν, ενώ το 87% όλων των μη οργανικών δειγμάτων παρουσίασαν φυτοφάρμακα. Σε αντίθετη περίπτωση, στα οργανικά δείγματα, το 25% εμφάνισαν υπολείμματα φυτοφαρμάκων, με τιμές χαμηλότερες από τα MR's των ενώσεων. Παρατηρούμε, ότι η παρούσα μελέτη παρουσιάζει αρκετά μεγάλο ποσοστό ομοιότητας στα προς ανίχνευση φυτοφάρμακα, χρησιμοποιώντας την ίδια μέθοδο ανίχνευσης.

H (Nardelli et al. 2021) χρησιμοποίησε μία ήδη επαληθευμένη μέθοδο GC-MS με σκοπό την ανίχνευση υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων σε σιτηρά προερχόμενα κυρίως από την Ιταλία, Καζακστάν, Ρωσία, Μολδαβία, Αμερική. Ανίχνευσε ένα σύνολο από φυτοφάρμακα, κανένα από τα οποία δεν υπερέβαινε τα όρια των MR's. Συγκεκριμένα, παρατήρησε τα εξής φυτοφάρμακα στις παρακάτω συγκεντρώσεις: το chlorpyrifos σε συγκέντρωση 0,025ppm, το fenvalerate σε συγκέντρωση 0,018 ppm, tocyfluthrin σε συγκέντρωση 0,011 ppm, το Phenothrin σε συγκέντρωση 0,013 ppm, το deltamethrin σε μ.ο. συγκεντρώσεων 0,015 ppm, το cypermethrin σε μ.ο. συγκεντρώσεων 0,049 ppm και το Pirimiphos-methyl σε αρκετά δείγματα σε ένα εύρος συγκεντρώσεων από 0,013-0,113ppm. Συγκριτικά με την παρούσα έρευνα διαπιστώνουμε για ακόμα μία φορά την διαφορά μεταξύ GC και LC στην ανίχνευση ενώσεων που συγκαταλέγονται στην κατηγορία των πυρεθροειδών, κάτι που είναι αρκετά δύσκολο στην LC-MS.

O (Hakami et al. 2021) επαλήθευσε μία μέθοδο QUECHERS GS-MS και μία DART-ToF-MS. Με την χρήση και των δύο μεθόδων ανίχνευσε στο σύνολο 19 ενώσεις, τα μισά από τα οποία ανιχνεύτηκαν και από τις δύο μεθόδους. Οι ανακτήσεις κυμάνθηκαν μεταξύ 75,2-119,6% με όρια ποσοτικοποίησης 0,015-0,035ppm.

H (Sereshti et al. 2022) χρησιμοποίησε την μέθοδο QUECHERS GM-MS για να ανιχνεύσει υπολείμματα φυτοφαρμάκων άλευρα. Με ανακτήσεις 71-118% και RSD % < 7,5, ανίχνευσε και ποσοτικοποίησε τα εξής: dieldrin σε αλεύρι σιταριού (5.60 ± 1.5 2ppb) και καλαμποκίσιο (1.80 ± 2.93 ppb), b-endosulfan σε αλεύρι σιταριού (5.53 ± 2.01 ppb) και hexaconazole σε αλεύρι σιταριού (16.40 ± 2.13 ppb) και

καλαμποκίσιο. ($10.00 \pm 2.41 \text{ ppb}$). Όλες οι συγκεντρώσεις είναι χαμηλότερες από τα MRL's. Σε ακόμη μία έρευνα παρατηρούμε ότι συγκριτικά με την LC-MS, με την χρήση της GC-MS είναι πιο πιθανή η ανίχνευση συγκεκριμένων φυτοφαρμάκων, όπως τα οργανοχλωριωμένα.

Ο (Rodríguez-Ramos et al. 2023) ανέπτυξε μία μέθοδο QUECHERS με σκοπό την ανίχνευση υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων σε δείγματα σιτηρών. Με ανακτήσεις 60-124% και RSD % < 20. Παρατηρεί ότι σε ένα σύνολο 60 δειγμάτων από την Ισπανία, μόνο στο 6% βρέθηκαν φυτοφάρμακα (acetamiprid, azoxystrobin, carbendazim), σε συγκεντρώσεις χαμηλότερες από τα MRL's. Σημαντικό να σημειώσουμε ότι, συγκριτικά με την παρούσα έρευνα, έγινε χρήση της μεθόδου QUECHERS σε Ευρωπαϊκά δείγματα αλεύρων, με παρόμοια ποσοστά ανακτήσεων και μόνο σε ένα ποσοστό 6%, δηλαδή σε τρία δείγματα, βρέθηκαν φυτοφάρμακα, κάτι που δεν αποκλίνει αρκετά από την παρούσα έρευνα σε δείγματα αλεύρων προερχόμενα από την Ελλάδα.

Στο (DTU National Food Institute), που αποτελεί το εθνικό εργαστήριο της Δανίας στο πλαίσιο του National Food Institute του Technical University of Denmark και λειτουργεί ως κέντρο αναφοράς για όλη την Ευρωπαϊκή Ένωση, επικύρωσαν μία αναλυτική μέθοδο QUECHERS (GS & LC) για ποσοτικοποίηση υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων σε σιτηρά. Οι ανακτήσεις κυμάνθηκαν μεταξύ 71-115% με LOQ 0,002ppm. Συγκριτικά με την παρούσα ερευνητική μελέτη, παρατηρούμε ότι τόσο το εύρος ανακτήσεων όσο και τα όρια ποσοτικοποίησης ταυτίζονται, γεγονός που αποδεικνύει ότι η μέθοδος QUECHERS και συγκεκριμένα η χρήση της LC-MS αποτελεί μία αξιόπιστη και αναπαραγωγίσιμη διαδικασία για τον έλεγχο ύπαρξης υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ 1

Alachlor

Το Alachlor ($C_{14}H_{20}ClNO_2$) είναι ένα ζιζανιοκτόνο χλωροακετανιλιδίου. Είναι μέτρια διαλυτό στο νερό, αρκετά πτητικό και δεν αναμένεται να εκπλυθεί εύκολα στα υπόγεια ύδατα. Τείνει να μην παραμένει ούτε στο έδαφος, ούτε στα υδάτινα συστήματα. Έχει μέτρια τοξικότητα στα θηλαστικά και χαμηλό δυναμικό βιοσυσσώρευσης. Παραδείγματα χρήσεων είναι: Αραβόσιτος, Πατάτες, Ηλιοτρόπια, Ανανά, Ζαχαροκάλαμο (UNIVERSITY OF HERTFORDSHIRE).

Atrazine

Το Atrazine, ($C_8H_{14}ClN_5$) επίσης γνωστό ως aneldazin είναι ένα ζιζανιοκτόνο που χρησιμοποιείται για τον έλεγχο πλατύφυλλων ζιζανίων και χόρτων. Έχει επιλεκτική, συστηματική δράση με υπολειμματική και φυλλική δράση. Έχει χαμηλή υδατοδιαλυτότητα, είναι πτητικό και, βάσει των φυσικοχημικών ιδιοτήτων του, υπάρχει κάποια ανησυχία ότι θα μπορούσε να εκπλυθεί στα υπόγεια ύδατα. Γενικά δεν είναι επίμονο-ανθεκτικό στο χωράφι ούτε σε υδάτινα συστήματα. Είναι μέτρια τοξικό για τα θηλαστικά, δεν αναμένεται να βιοσυσσωρευτεί και είναι ερεθιστικό για το δέρμα, τα μάτια και το αναπνευστικό σύστημα. Παραδείγματα χρήσεων είναι: Καλαμπόκι, Σόργο, Ζαχαροκάλαμο, Σπαράγγι.(UNIVERSITY OF HERTFORDSHIRE)

Azoxystrobin

Το Azoxystrobin ($C_{22}H_{17}N_3O_5$) είναι ένα μυκητοκτόνο. 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 στα συστήματα ύδρευσης, εάν οι συνθήκες είναι κατάλληλες. Έχει χαμηλή τοξικότητα στα θηλαστικά, αλλά μπορεί να βιοσυσσωρευτεί. Είναι ερεθιστικό για το δέρμα και τα μάτια. Παραδείγματα χρήσεων είναι: Σιτάρι, Φρούτα, Ηλιοτρόπια, Λαχανικά, Βαμβάκι, Πεκάν, Κανόλα, Σόγια, Φιστίκια, Ντομάτα, Καλλωπιστικά φυτά.

Boscalid

Το Boscalid ($C_{18}H_{12}Cl_2N_2O$) είναι ένα μυκητοκτόνο καρβοξιμιδίου. Έχει χαμηλή υδατική διαλυτότητα και δεν είναι πτητική. Μπορεί να είναι πολύ ανθεκτικό τόσο στο έδαφος όσο και στα υδάτινα συστήματα, ανάλογα με τις τοπικές συνθήκες. Υπάρχει κάποιος κίνδυνος έκπλυσης στα υπόγεια ύδατα. Παραδείγματα χρήσεων είναι: Λαχανικά, Σόγια, Φρούτα, Καρύδια.

Bupirimate

Ένα μυκητοκτόνο πυριμιδίνης δραστικό κατά του περονόσπορου ($C_{13}H_{24}N_4O_3S$). Έχει χαμηλή υδατοδιαλυτότητα και χαμηλή πτητικότητα. Ανάλογα με τις τοπικές συνθήκες, το bupirimate μπορεί να είναι μέτρια ανθεκτικό τόσο στο έδαφος όσο και στα υδάτινα συστήματα. Είναι μέτρια τοξικό για τα περισσότερα είδη πανίδας και χλωρίδας. Παραδείγματα χρήσεων είναι: Μήλα, Φράουλα, Σιτάρι, Κολοκύθι, Καλλωπιστικά φυτά. (UNIVERSITY OF HERTFORDSHIRE)

Carbaryl

Το Carbaryl ($C_{12}H_{11}NO_2$) είναι ένα παρωχημένο καρβαμιδικό εντομοκτόνο. Έχει χαμηλή υδατοδιαλυτότητα και είναι πτητική. Δεν είναι ανθεκτικό ούτε στο έδαφος ούτε στα υδάτινα συστήματα. Είναι ιδιαίτερα τοξικό για τα θηλαστικά, αλλά δεν αναμένεται να βιοσυσσωρευτεί. Πρόκειται για ύποπτο ενδοκρινικό διαταράκτη. Παραδείγματα χρήσεων είναι: Βαμβάκι, Δασοκομία, κτηνοτροφικές καλλιέργειες, Καλλωπιστικά φυτά, Δημητριακά.

Chlorpyrifos-methyl

Το Chlorpyrifos-methyl ($C_7H_7Cl_3NO_3PS$) είναι ένα οργανοφωσφορικό εντομοκτόνο ευρέος φάσματος. Έχει χαμηλή υδατοδιαλυτότητα, είναι αρκετά πτητική και δεν είναι κινητή. Υπάρχει χαμηλός κίνδυνος έκπλυσης στα υπόγεια ύδατα με βάση τις χημικές του ιδιότητες. Τείνει να μην είναι ανθεκτικό στα συστήματα εδάφους ή νερού. Δεν είναι ιδιαίτερα τοξικό για τα θηλαστικά, αλλά ταξινομείται ως αναστολέας της ακετυλοχολινεστεράσης και νευροτοξικό. Είναι επίσης ερεθιστικό για το δέρμα και ευαισθητοποιητικό. Παραδείγματα χρήσεων είναι: Σιτάρια, Βαμβάκι, Φρούτα, Ντομάτες, Λαχανικά.

Cyprodinil

Το Cyprodinil ($C_{14}H_{15}N_3$) είναι ένα συστηματικό μυκητοκτόνο ευρέος φάσματος. Έχει χαμηλή διαλυτότητα, είναι απίθανο να εκπλυθεί στα υπόγεια ύδατα και είναι πτητικό. Στα εδάφη είναι μέτρια ανθεκτική, αλλά μπορεί να είναι ανθεκτική στα υδατικά συστήματα ανάλογα με τις τοπικές συνθήκες. Είναι μέτρια τοξικό για τα θηλαστικά και υπάρχει κάποια ανησυχία ότι μπορεί να βιοσυσσωρευτεί. Αν και είναι αναγνωρισμένο ερεθιστικό, δεν έχουν εντοπιστεί σοβαρές ανησυχίες για την ανθρώπινη υγεία. Παραδείγματα χρήσεων είναι: Φρούτα, Αμύγδαλα, Καλλωπιστικά φυτά, Δημητριακά.(UNIVERSITY OF HERTFORDSHIRE)

Deltamethrin

Το Deltamethrin ($C_{22}H_{19}Br_2NO_3$) είναι ένα πυρεθροειδές εντομοκτόνο και για κτηνιατρική θεραπεία που έχει εγκριθεί για χρήση στην ΕΕ, την Αυστραλία και τις ΗΠΑ. Έχει χαμηλή υδατοδιαλυτότητα, είναι ημιπτητική και έχει χαμηλό δυναμικό έκπλυσης στα υπόγεια ύδατα. Δεν είναι ανθεκτικό στο έδαφος και δεν είναι κινητό. Η δελταμεθρίνη είναι ιδιαίτερα τοξική για τον άνθρωπο και άλλα θηλαστικά και είναι νευροτοξίνη. Παραδείγματα χρήσεων είναι: Ζαχαρότευτλο, Κουνουπίδι, Σιτάρι, Ντομάτες, Μαρούλι, Αραβόσιτος, Γλυκό καλαμπόκι, Πατάτες, Ελιές, Κορυφαία φρούτα.

Difenoconazole

Το Difenoconazole ($C_{19}H_{17}Cl_2N_3O_3$) είναι ένα μυκητοκτόνο που χρησιμοποιείται για τον έλεγχο ασθενειών σε πολλά φρούτα, λαχανικά, δημητριακά και άλλες καλλιέργειες. Αν και δυνητικά ένα κινητό μόριο, είναι απίθανο να εκπλυθεί λόγω της χαμηλής υδατοδιαλυτότητάς του. Ωστόσο, έχει δυνατότητες μεταφοράς σωματιδίων. Είναι ελαφρώς πτητικό, ανθεκτικό στο έδαφος και στο υδάτινο περιβάλλον. Υπάρχουν ορισμένες ανησυχίες σχετικά με τις δυνατότητές του για βιοσυσσώρευση. Παραδείγματα χρήσεων είναι: Λαχανικά, Πατάτες, Δημητριακά, συμπεριλαμβανομένου του κριθαριού, της βρώμης, της σίκαλης, του σιταριού, του τριτικάλε. Γλυκό καλαμπόκι, βαμβάκι.(UNIVERSITY OF HERTFORDSHIRE)

Fenoxaprop-p

Το Fenoxaprop-P ($C_{16}H_{12}ClNO_5$) είναι ένα μεταφυτρωτικό ζιζανιοκτόνο που χρησιμοποιείται για τον έλεγχο ετήσιων και πολυετών αγρωστωδών. Το Fenoxaprop είναι ένα χειροειδές μόριο που υπάρχει στις μορφές R- και S. Το Fenoxaprop-P είναι το R-ισομερές. Έχει χαμηλή υδατοδιαλυτότητα και χαμηλή πτητικότητα. Τείνει να μην είναι ανθεκτικό στα εδάφη, αλλά, υπό ορισμένες συνθήκες, μπορεί να παραμείνει στα συστήματα ύδρευσης. Παραδείγματα χρήσεων είναι: Καλλωπιστικά φυτά, Ρύζι.

Florasulam

Το Florasulam ($C_{12}H_8F_3N_5O_3S$) είναι ένα μεταφυτρωτικό ζιζανιοκτόνο. Είναι ιδιαίτερα διαλυτό στο νερό, πτητικό και υπάρχει πιθανότητα, υπό ορισμένες συνθήκες, έκπλυσης στα υπόγεια ύδατα. Δεν είναι ανθεκτικό στο έδαφος, αλλά μπορεί να είναι ανθεκτικό στα υδάτινα συστήματα. Έχει χαμηλή τοξικότητα στα θηλαστικά και δεν θεωρείται ότι βιοσυσσωρεύεται. Ενώ είναι αναγνωρισμένο ερεθιστικό, δεν έχουν αναφερθεί άλλα σοβαρά προβλήματα ανθρώπινης υγείας. Παραδείγματα χρήσεων είναι: Σιτάρι, Κριθάρι, Βρώμη, Σίκαλη, Τριτικήλη.

Fludioxonil

Το Fludioxonil ($C_{12}H_6F_2N_2O_2$) είναι ένα μυκητοκτόνο ευρέος φάσματος για τον έλεγχο μιας σειράς ασθενειών στα φρούτα και τα λαχανικά. Παραδείγματα χρήσεων είναι: Φρούτα, Λαχανικά, Καλλωπιστικά φυτά, Δημητριακά.

Flufenacet

Το Flufenacet ($C_{14}H_{13}F_4N_3O_2S$) είναι ένα επιλεκτικό ζιζανιοκτόνο. Είναι μέτρια διαλυτό στο νερό, δεν είναι ιδιαίτερα πτητικό, αλλά μπορεί, υπό ορισμένες συνθήκες, να είναι ανθεκτικό στο έδαφος και στα συστήματα νερού/ιζημάτων. Είναι μέτρια τοξικό για τον άνθρωπο μέσω της στοματικής οδού και θεωρείται ευαισθητοποιητικό του δέρματος. Παραδείγματα χρήσεων είναι: Καλαμπόκι, Σόγια, Χειμερινό σιτάρι, Χειμερινό κριθάρι, Πατάτες, Ηλιοτρόπια, Σπαράγγι, Βαμβάκι, Τσίλι, Καπνός.

Imazalil

Το imazalil ($C_{14}H_{14}Cl_2N_2O$) γνωστό και ως Enilconazole ή chloramizole είναι ένα μυκητοκτόνο που χρησιμοποιείται ευρέως στη γεωργία, για τον έλεγχο ενός ευρέος φάσματος μυκήτων, συμπεριλαμβανομένων των *Tilletia* και *Helminthosporium* spp. σε φρούτα, λαχανικά και καλλωπιστικά φυτά. Παραδείγματα χρήσεων είναι: Φρούτα, Αγγούρια, Κριθάρι, Σιτάρι, Φρούτα. (Pesticide Properties Database)

Imidacloprid

Το Imidacloprid ($C_9H_{10}ClN_5O_2$) είναι ένα νεονικοτινοειδές εντομοκτόνο, το οποίο ανήκει σε μια κατηγορία νευροδραστικών εντομοκτόνων. Είναι πολύ διαλυτό στο νερό, μη πτητικό και ανθεκτικό στο έδαφος. Είναι μετρίως κινητό. Έχει χαμηλό κίνδυνο βιοσυσσώρευσης. Διατίθεται στο εμπόριο ως σκεύασμα με στόχο τον έλεγχο των παρασίτων, ως εντομοκτόνο σπρέι, για καταπολέμηση τερμιτών και ψύλλων και συστημικό εντομοκτόνο. Παραδείγματα χρήσεων είναι: φρούτα, αγγούρια, Τριαντάφυλλα, Κριθάρι, Σιτάρι.

Iodosulfuron-methyl

Το Iodosulfuron-methyl ($C_{14}H_{13}IN_5NaO_6S$) είναι ζιζανιοκτόνο σουλφονουλουργίας. Είναι ιδιαίτερα διαλυτό σε υδατικό διάλυμα και ημι-πηκτικό. Δεν είναι ανθεκτικό στο έδαφος, αλλά μπορεί να είναι σε υδάτινα συστήματα. Είναι ιδιαίτερα τοξικό για τα θηλαστικά, μια νευροτοξίνη και ένα ερεθιστικό για το δέρμα, τα μάτια και την αναπνευστική οδό. Παραδείγματα χρήσεων είναι: Δημητριακά, συμπεριλαμβανομένου του σιταριού, του κριθαριού, του καλαμποκιού, σόγια.

Iprovalicarb

Το iprovalicarb ($C_{18}H_{28}N_2O_3$) είναι ένα συστηματικό, προστατευτικό μυκητοκτόνο. Έχει χαμηλή υδατοδιαλυτότητα, είναι ημιπηκτικό και υπάρχει κίνδυνος να διαρρεύσει στα υπόγεια ύδατα. Δεν είναι ανθεκτικό στο έδαφος, αλλά μπορεί να παραμείνει στο νερό για μεγάλο χρονικό διάστημα. Είναι μέτρια τοξικό για τα θηλαστικά, αλλά έχει χαμηλό κίνδυνο βιοσυσώρευσης. Θεωρείται καρκινογόνο. Παραδείγματα χρήσεων είναι: Καλλωπιστικά φυτά, Πατάτες, Σταφύλια, Ντομάτες, Ρύζι. (Pesticide Properties Database)

Kresoxim-methyl

Το kresoxim-methyl ($C_{18}H_{19}NO_4$) είναι μυκητοκτόνο μερικώς ή μη συστηματικό και χρησιμοποιείται για τον έλεγχο ασθενειών σε ευρύ φάσμα καλλιεργειών όπως σε μήλα, σταφύλια, αχλάδια κ.ά. Ανακαλύφθηκε το 1983 και δρα αποτρέποντας τη βλάστηση και δημιουργία των σπορίων και την ανάπτυξη των μυκηλίων. Έχει προληπτική και θεραπευτική δράση. Παραδείγματα χρήσεων είναι: Ζαχαρότευτλα, Φρούτα, λαχανικά.

L-Cyhalothrin

Το L-Cyhalothrin ($C_{23}H_{19}ClF_3NO_3$) ανήκει στην οικογένεια των πυρεθροειδών. Έχει χαμηλή υδατοδιαλυτότητα και είναι μη πηκτικό και υπάρχει μικρός κίνδυνος έκπλυσης στα υπόγεια ύδατα. Είναι εξαιρετικά τοξικό για τα θηλαστικά. Είναι εντομοκτόνο ταχείας δράσης και χρησιμοποιείται για τον έλεγχο ευρέως φάσματος παρασίτων των γεωργικών καλλιεργειών. Τέλος, διαταράσσει την φυσιολογική λειτουργία του νευρικού συστήματος. Παραδείγματα χρήσεων είναι: Βαμβάκι, Δημητριακά, Πατάτες, Λυκίσκος, Λαχανικά.

Metalaxyl

Το metalaxyl ($C_{15}H_{21}NO_4$) είναι εκλεκτικό διασυστημικό μυκητοκτόνο κατά του περονόσπορου. Η δράση του εστιάζεται κατά των ωομυκήτων που κινείται μέσα στο φυτό με αποπλαστική κυρίως κίνηση παρεμποδίζοντας την ανάπτυξη του παθογόνου μέσα στους ιστούς του φυτού. Παραδείγματα χρήσεων είναι: καπνός, πατάτες, σόγια, κρεμμύδια, εσπεριδοειδή, κολοκύθες, ντομάτες, βαμβάκι, δημητριακά.

Methoxy-fenozide

Το Methoxy-fenozide ($C_{22}H_{28}N_2O_3$) είναι ένα εντομοκτόνο ευρέως φάσματος. Είναι ένα εντομοκτόνο διακυλδραζίνης. Έχει χαμηλή υδατοδιαλυτότητα και χαμηλή πηκτικότητα. 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. Παραδείγματα

χρήσεων είναι: Φυλλώδη λαχανικά, Φρέσκα βότανα, Μαρούλι, Σαλάτες, Βότανα, Μπρασίκας, Βαμβάκι, Μηλοειδή φρούτα, Σταφύλια, Γλυκό καλαμπόκι, Αραβόσιτος, Πιπεριές, Μελιτζάνες. (Pesticide Properties Database)

Metribuzin

Το metribuzin ($C_8H_{14}N_4OS$) είναι ένα προφυτρωτικό και μεταφυτρωτικό ζιζανιοκτόνο που χρησιμοποιείται για τον έλεγχο των ζιζανίων στα σιτηρά και σε μια σειρά καλλιέργειών. Παραδείγματα χρήσεων είναι: Σόγια, Πατάτες, δημητριακά όπως Κριθάρι, σιτάρι, Σπαράγγι, Ζαχαροκάλαμο, Ντομάτες, Αρακάς, Φακές.

Pyrimethalin

Το pyrimethalin ($C_{12}H_{13}N_3$) είναι συστηματικό μυκητοκτόνο και ανήκει στην οικογένεια των ανιλινοπυριμιδών. Δρα αναστέλλοντας τη βιοσύνθεση της μεθειονίνης επηρεάζοντας τον σχηματισμό πρωτεϊνών και την επακόλουθη κυτταρική διαίρεση. Παραδείγματα χρήσεων είναι: σταφύλια, φράουλα, πατάτες, ντομάτα.

Pyraclostrobin

Το Pyraclostrobin ($C_{19}H_{18}ClN_3O_4$) είναι ένα Μυκητοκτόνο ευρέως φάσματος που χρησιμοποιείται για τον έλεγχο σημαντικών παθογόνων φυτών σε δημητριακά και άλλες καλλιέργειες. Παραδείγματα χρήσεων είναι: Δημητριακά, συμπεριλαμβανομένου του σιταριού, του κριθαριού, της βρώμης, χορτονομές, σιτηρά, αραβόσιτος, τριτικάλε, Ζαχαρότευτλα, Πατάτες, Λαχανικά, Φρούτα.

Pirimicarb

Το Pirimicarb ($C_{11}H_{18}N_4O_2$) είναι μια συνθετική αμινοπυριμιδίνη και τριτοταγής αμινο-ένωση, που προέρχεται από ένα διμεθυλοκαρβαμικό οξύ και έναν αναστολέα καρβαμιδικής ακετυλοχολινεστεράσης που χρησιμοποιείται ως παρασιτοκτόνο. Τα καρβαμιδικά φυτοφάρμακα προέρχονται από το καρβαμικό οξύ και σκοτώνουν τα έντομα με παρόμοιο τρόπο με τα οργανοφωσφορικά εντομοκτόνα. Παραδείγματα χρήσεων είναι: Σιτάρι, Φρούτα, Λαχανικά, Πατάτες, Βαμβάκι, Καπνός, Καλλιέργειες χορτονομής. (Pesticide Properties Database)

Tebuconazole

Το Tebuconazole ($C_{16}H_{22}ClN_3O$) γνωστό και ως fenetrazole είναι ένα συστηματικό μυκητοκτόνο ευρέως φάσματος με προστατευτικό και θεραπευτικό τρόπο δράσης που ανήκει στην κατηγορία των τριαζολών. Είναι αποτελεσματικό έναντι ασθενειών με τη δράση αναστολής της βιοσύνθεσης στερολών. Λόγω της πιθανότητας για ενδοκρινικές διαταραχές, το tebuconazole αξιολογήθηκε από τον Σουηδικό Οργανισμό Χημικών Προϊόντων ως πιθανώς αποσυρόμενη από την αγορά με βάση τον Κανονισμό 1107/2009 της Ευρωπαϊκής Ένωσης. Παραδείγματα χρήσεων είναι: Δημητριακά, συμπεριλαμβανομένου του σιταριού, του κριθαριού, της βρώμης, της σίκαλης, Σταφύλια, Φιστίκια, Λαχανικά, Ζαχαροκάλαμο.

Trifloxystrobin

Το Trifloxystrobin ($C_{20}H_{19}F_3N_2O_4$) είναι ένα ευρέως χρησιμοποιούμενο μυκητοκτόνο. Έχει χαμηλή υδατική διαλυτότητα, χαμηλή πτητότητα και, με βάση τις χημικές του ιδιότητες, δεν αναμένεται κανονικά να εκπλυθεί στα υπόγεια ύδατα. Δεν

αναμένεται να είναι μόνιμο σε εδάφη ή υδάτινα συστήματα. Παραδείγματα χρήσεων είναι: Δημητριακά, Καλλωπιστικά φυτά, Λαχανικά, Φρούτα, Τροπικές καλλιέργειες.

Spirotetramat

Το Spirotetramat ($C_{21}H_{27}NO_5$) είναι ένα εντομοκτόνο για τον έλεγχο ενός ευρέως φάσματος εντόμων σε καλλιέργειες όπως φρούτα και πατάτες. Παραδείγματα χρήσεων είναι: Φρούτα, Μαρούλι, Πατάτες, Βαμβάκι, Λαχανικά, δημητριακά. (Pesticide Properties Database)

Γ. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- "1click.Minagric.Gr/oneClickUI/frmFytoPro.Zul." n.d. Accessed December 9, 2025.
<https://1click.minagric.gr/oneClickUI/frmFytoPro.zul>.
- A. J. E. Casarett. 2002. *Toxicology in Foods*. <http://ouci.dntb.gov.ua/en/works/98VVLrR4/>.
- Adam P. O'Connor. 2019. *Foodborne Infections and Intoxications*.
<https://www.slideshare.net/slideshow/foodborne-infections-and-intoxications/148812460>.
- Adom, Kafui Kwami, and Rui Hai Liu. 2002. "Antioxidant Activity of Grains." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 50 (21): 6182–87. <https://doi.org/10.1021/jf0205099>.
- Ahmad, Md Faruque, Fakhruddin Ali Ahmad, Abdulrahman A. Alsayegh, et al. 2024. "Pesticides Impacts on Human Health and the Environment with Their Mechanisms of Action and Possible Countermeasures." *Heliyon* 10 (7): e29128.
<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e29128>.
- Aktar, Wasim, Dwaipayan Sengupta, and Ashim Chowdhury. 2009. "Impact of pesticides use in agriculture: their benefits and hazards." *Interdisciplinary Toxicology* 2 (1): 1–12.
<https://doi.org/10.2478/v10102-009-0001-7>.
- Alehashem, Maryam, Steven Mamet, Natacha Hogan, et al. 2022. "Correlation between in Vitro Toxicity of Pesticides and in Vivo Risk Guidelines in Support of Complex Operating Site Risk Management: A Meta-Analysis." *Food and Chemical Toxicology* 170 (December): 113502. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2022.113502>.
- Alexandra Matei, Gunther Doehlemann. 2016. *Cell Biology of Corn Smut Disease*.
- Altieri, Miguel A. 1999. "The Ecological Role of Biodiversity in Agroecosystems." *Agriculture, Ecosystems & Environment* 74 (1): 19–31. [https://doi.org/10.1016/S0167-8809\(99\)00028-6](https://doi.org/10.1016/S0167-8809(99)00028-6).
- Arce, Lourdes, Macarena Menéndez, Rocio Garrido, and M. Valcárcel. 2008. "Sample-Introduction Systems Coupled to Ion-Mobility Spectrometry Equipment for Determining Compounds Present in Gaseous, Liquid and Solid Samples." *Trends in Analytical Chemistry - TrAC* 27 (February): 139–50.
<https://doi.org/10.1016/j.trac.2008.01.001>.
- Baillie, J. H. 1946. "A Review of the Uses of the Insecticide DDT in the Control of Insect Pests Affecting Humans." *Canadian Journal of Public Health = Revue Canadienne De Sante Publique* 37 (December): 214–16.
- Balter, Sharon. 2006. "Foodborne Pathogens: Microbiology and Molecular Biology." *Emerging Infectious Diseases* 12 (12): 2003. <https://doi.org/10.3201/eid1212.061077>.
- Belitz, Hans-Dieter, Werner Grosch, and Peter Schieberle, eds. 2009. "Cereals and Cereal Products." In *Food Chemistry*. Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-540-69934-7_16.
- Chen, Yi, Zhenpeng Guo, Xiaoyu Wang, and Changgui Qiu. 2008. "Sample Preparation." *Journal of Chromatography. A* 1184 (1–2): 191–219.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2007.10.026>.
- Czembor, Jerzy H. 2023. "Barley Genetic Resources: Advancing Conservation and Applications for Breeding." *Agronomy* 13 (12): 12. <https://doi.org/10.3390/agronomy13122901>.
- "DTU National Food Institute." n.d. Accessed January 7, 2026.
<https://www.food.dtu.dk/english/>.
- E. O. Beasley, R. P. Rohrbach, C. M. Mainland, J. R. Meyer. 1983. *SATURATIONS PARYING OF BLUBERRIES WITH PARTIAL SPRAY RECOVERY*.
- Edwards, W. P. 2007. *The Science of Bakery Products*. Royal society of chemistry.
- Es'haghi, Zarrin. 2011. "Extraction and Determination of Three Chlorophenols by Hollow Fiber Liquid Phase Microextraction - Spectrophotometric Analysis, and Evaluation Procedures Using Mean Centering of Ratio Spectra Method." *American Journal of Analytical Chemistry* 02 (January): 1–8. <https://doi.org/10.4236/ajac.2011.21001>.

- "EUROPEAN COMMISSION." n.d.
- FAO. 2022. *In Brief to The State of Food and Agriculture 2022*.
- "Food and Agriculture Organization (FAO)." n.d.
- "FoodData Central." n.d. Accessed July 15, 2024. <https://fdc.nal.usda.gov/>.
- Francis, Charles, Geir Lieblein, Stephen Gliessman, et al. 2003. "Agroecology: The Ecology of Food Systems." *Journal of Sustainable Agriculture* 22 (July): 99–118. https://doi.org/10.1300/J064v22n03_10.
- Gavrilescu, M. 2005. "Fate of Pesticides in the Environment and Its Bioremediation." *Engineering in Life Sciences* 5 (6): 497–526. <https://doi.org/10.1002/elsc.200520098>.
- George N. Agrios. 2004. *Plant Pathology*. 5th Edition.
- Godfrey, Ruth. 2013. *Guide to Achieving Reliable Quantitative LC-MS Measurements*. LGC.
- Goyal, Aakash, and Mukhtar Ahmed. 2012. "Barley: Production, Improvement, and Uses." *Crop Science* 6 (January): 2852–53. <https://doi.org/10.2135/cropsci2012.12.0003br>.
- Greim, Helmut, and R. Snyder. 2008. *Toxicology and Risk Assessment: A Comprehensive Introduction*. <https://doi.org/10.1002/9780470868959>.
- Hakami, Rabab A., Ahmad Aqel, Ayman A. Ghfar, Zeid A. AlOthman, and Ahmed-Yacine Badjah-Hadj-Ahmed. 2021. "Development of QuEChERS Extraction Method for the Determination of Pesticide Residues in Cereals Using DART-ToF-MS and GC-MS Techniques. Correlation and Quantification Study." *Journal of Food Composition and Analysis* 98 (May): 103822. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2021.103822>.
- HAWACH. 2019. *The Development History of the QuEChERS Method*.
- He, Zeying, Lu Wang, Yi Peng, Ming Luo, Wenwen Wang, and Xiaowei Liu. 2015. "Multiresidue Analysis of over 200 Pesticides in Cereals Using a QuEChERS and Gas Chromatography–Tandem Mass Spectrometry-Based Method." *Food Chemistry* 169 (February): 372–80. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.07.102>.
- Hung, Pham. 2014. "Phenolic Compounds of Cereals and Their Antioxidant Capacity." *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 56 (July). <https://doi.org/10.1080/10408398.2012.708909>.
- John Timbrell. 2001. *Introduction to Toxicology*. 3rd Edition. London. <https://www.taylorfrancis.com/books/mono/10.1201/9781003016724/introduction-toxicology-john-timbrell>.
- Kapsi, Margarita, Charoula Tsoutsis, Anastasia Paschalidou, and Triantafyllos Albanis. 2019. "Environmental Monitoring and Risk Assessment of Pesticide Residues in Surface Waters of the Louros River (N.W. Greece)." *Science of The Total Environment* 650 (February): 2188–98. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.09.185>.
- Knechtges, Paul L. 2011. *Food Safety: Theory and Practice: Theory and Practice*. Jones & Bartlett Publishers.
- Kosma, Christina I., Dimitra A. Lambropoulou, and Triantafyllos A. Albanis. 2014. "Investigation of PPCPs in Wastewater Treatment Plants in Greece: Occurrence, Removal and Environmental Risk Assessment." *Science of The Total Environment* 466–467 (January): 421–38. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.07.044>.
- Kowsalya, P., P. S. Sharanyakanth, and R. Mahendran. 2022. "Traditional Rice Varieties: A Comprehensive Review on Its Nutritional, Medicinal, Therapeutic and Health Benefit Potential." *Journal of Food Composition and Analysis* 114 (December): 104742. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2022.104742>.
- Lacina, Ondrej, Milena Zachariasova, Jana Urbanova, Marta Vaclavikova, Tomas Cajka, and Jana Hajslova. 2012. "Critical Assessment of Extraction Methods for the Simultaneous Determination of Pesticide Residues and Mycotoxins in Fruits, Cereals, Spices and Oil Seeds Employing Ultra-High Performance Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry." *Journal of Chromatography A* 1262 (November): 8–18. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2012.08.097>.

- Linee guida. 2022. *Guidance SANTE 11312/2021 – Analytical Quality Control and Method Validation Procedures for Pesticide Residues Analysis in Food and Feed*.
- Lord, Heather, and Janusz Pawliszyn. 2000. "Evolution of Solid-Phase Microextraction Technology." *Journal of Chromatography A* 885 (1): 153–93. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(00\)00535-5](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)00535-5).
- Majors, Ronald, Michelangelo Anastassiades, and Steven Lehotay. 2010. *The QuEChERS Revolution*. LCGC Europe-09-01-2010, vol. 23 (September): 418–29.
- Marton, Renee. 2015. *Rice: A Global History*. [Enhanced Credo edition]. Edible. Reaktion Books, Credo Reference. <http://www.credoreference.com/book/reakrice>.
- Matos, Estéfani, Lucila Ribeiro, Osmar Prestes, et al. 2019. "Multiclass Method for the Determination of Pesticide Residues in Oat Using Modified QuEChERS with Alternative Sorbent and Liquid Chromatography with Tandem Mass Spectrometry." *Food Analytical Methods* 12 (December). <https://doi.org/10.1007/s12161-019-01641-1>.
- "Maximum Residue Limits | CODEXALIMENTARIUS FAO-WHO." n.d. Accessed May 13, 2024. <https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/maximum-residue-limits/tr/>.
- Meghdad Pirsaeheb, Yadolah Fakhri. 2019. *Measurement of Permethrin, Deltamethrin and Malathion Pesticide Residues in the Wheat Flour and Breads and Probabilistic Health Risk Assessment: A Case Study in Kermanshah, Iran*. https://www.researchgate.net/publication/333503328_Measurement_of_permethrin_deltamethrin_and_malathion_pesticide_residues_in_the_wheat_flour_and_breads_and_probabilistic_health_risk_assessment_a_case_study_in_Kermanshah_Iran.
- Miskelly, Diane, and Dai Suter. 2017. "Chapter 22 - Assessing and Managing Wheat-Flour Quality Before, During and After Milling." In *Cereal Grains (Second Edition)*, edited by Colin Wrigley, Ian Batey, and Diane Miskelly. Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition. Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100719-8.00022-X>.
- Murray, T. D., David W. Parry, and Nigel D. Cattlin. 2013. *Diseases of Small Grain Cereal Crops: A Colour Handbook*. CRC Press. <https://doi.org/10.1201/b15911>.
- Nannou, Christina, Vasiliki Boti, and Triantafyllos Albanis. 2018. "Trace Analysis of Pesticide Residues in Sediments Using Liquid Chromatography–High-Resolution Orbitrap Mass Spectrometry." *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 410 (February). <https://doi.org/10.1007/s00216-018-0864-6>.
- Nardelli, Valeria, Valeria D'Amico, Mariateresa Ingegno, et al. 2021. "Pesticides Contamination of Cereals and Legumes: Monitoring of Samples Marketed in Italy as a Contribution to Risk Assessment." *Applied Sciences* 11 (August): 7283. <https://doi.org/10.3390/app11167283>.
- Nikoletta Ntalli. 2022. *Biopesticides: Naturally Originating Plant Protection Products and Biocides*. 964. https://www.researchgate.net/publication/361786156_Biopesticides_Naturally_Originating_Plant_Protection_Products_and_Biocides.
- Paíga, Paula, Valentina F. Domingues, Kaline Amaral Wanderley, Severino Alves Júnior, and C. M. Delerue-Matos. 2015. "QuEChERS: A Sample Preparation for Extraction of Carbaryl from Rat Feces." *Toxicological & Environmental Chemistry* 97 (6): 687.
- Peng Li, Yongning Wu. 2013. *Simultaneous Determination of 19 Triazine Pesticides and Degradation Products in Processed Cereal Samples from Chinese Total Diet Study by Isotope Dilution-High Performance Liquid Chromatography-Linear Ion Trap Mass Spectrometry*. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23684466/>.
- "Pesticide Evaluations | EFSA." n.d. Accessed October 30, 2024. <https://www.efsa.europa.eu/en/applications/pesticides>.

- "Pesticide Properties Database." n.d. Accessed July 2, 2024.
<http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/index.htm>.
- Philip John Landrigan, Ruth Etzel. 2013. *Children's Environmental Health—A New Branch of Pediatrics*.
- "PPDB - Pesticides Properties DataBase." n.d. Accessed August 12, 2024.
<https://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/>.
- Rasane, Prasad, Alok Jha, Latha Sabikhi, Arvind Kumar, and V. S. Unnikrishnan. 2013.
 "Nutritional Advantages of Oats and Opportunities for Its Processing as Value Added Foods - a Review." *Journal of Food Science and Technology* 52 (2): 662.
<https://doi.org/10.1007/s13197-013-1072-1>.
- "REACH." n.d. Accessed October 30, 2024. <https://osha.europa.eu/en/themes/dangerous-substances/reach>.
- RESTEK, Restek. 2020. "RESTEK." December 17.
<https://discover.restek.com/articles/ffss1183/quechers-made-even-easier>.
- Robert Soreng, Paul M. Peterson. 2017. *A Worldwide Phylogenetic Classification of the Poaceae*. 259–290.
https://www.researchgate.net/publication/318145918_A_worldwide_phylogenetic_classification_of_the_Poaceae_Gramineae_II_An_update_and_a_comparison_of_two_2015_classifications_Soreng_et_al_Phylogenetic_classification_of_the_grasses_II.
- Rodríguez-Ramos, Ruth, Álvaro Santana-Mayor, Bárbara Socas-Rodríguez, Antonio V. Herrera-Herrera, and Miguel Ángel Rodríguez-Delgado. 2023. "Assessment of Pesticide Residues Contamination in Cereals and Pseudo-Cereals Marketed in the Canary Islands." *Food Chemistry* 400 (January): 134089. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.134089>.
- SANTE. n.d.
 "SANTE/11312/2021." 2021.
- Satpathy, Gouri, Yogesh Kumar Tyagi, and Rajinder Kumar Gupta. 2014. "Development and Validation of Multi-Residue Analysis of 82 Pesticides in Grapes and Pomegranate as per the Requirements of the European Union (EU) and Codex Alimentarius Using GC-MS/MS with Compound Based Screening." *American Journal of Food Science and Technology* 2 (2): 2. <https://doi.org/10.12691/ajfst-2-2-2>.
- Sereshti, Hassan, Zahra Mohammadi, Sara Soltani, and Hamid Najarzadekan. 2022. "A Green Miniaturized QuEChERS Based on an Electrospun Nanofibrous Polymeric Deep Eutectic Solvent Coupled to Gas Chromatography-Mass Spectrometry for Analysis of Multiclass Pesticide Residues in Cereal Flour Samples." *Journal of Molecular Liquids* 364 (October): 120077. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2022.120077>.
- Skoog, Douglas A., F. James Holler, and Stanley R. Crouch. 2007. *Principles of Instrumental Analysis*. Thomson Brooks/Cole.
- Smith, Roger M. 2003. "Before the Injection—Modern Methods of Sample Preparation for Separation Techniques." *Journal of Chromatography A, A Century of Chromatography 1903-2003*, vol. 1000 (1): 3–27. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(03\)00511-9](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(03)00511-9).
- Srivastava, Deepti, Md Shamim, Malik Mobeen Ahmad, and R. S. Upadhyay. 2022. *Fungal Diseases of Rice*.
- Stanley P. Cauvain, Linda S. Young. 2007. *Technology of Breadmaking*.
- Stanley P. Cauvain, Linda S. Young. 2006. *Baked Products: Science, Technology and Practice*.
- Stoytcheva, Margarita. 2011. *Pesticides in the Modern World -Risks and Benefits*. The Hebrew University of Jerusalem. 2009.
- Trufelli, Helga, Pierangela Palma, Giorgio Famiglini, and Achille Cappiello. 2011. "An Overview of Matrix Effects in Liquid Chromatography-Mass Spectrometry." *Mass Spectrometry Reviews* 30 (3): 491–509. <https://doi.org/10.1002/mas.20298>.
- UNIVERSITY OF HERTFORDSHIRE. n.d. *Pesticide Properties DataBase*.
- "USDA." 2020. <https://www.ams.usda.gov/>.

- Vilca, Franz, Graziela Moura Andrade, Walter Zamalloa Cuba, and Valdemar Tornisielo. 2018. "Determination of Pesticides Residues in Quinoa (*Chenopodium Quinoa* Willd) Using QuEChERS and LC-MS/MS." *Emirates Journal of Food and Agriculture* 30 (May): 421. <https://doi.org/10.9755/ejfa.2018.v30.i5.1683>.
- Vincent F Garry. 2005. *Pesticides and Children*.
- Walorczyk, Stanisław. 2007. "Development of a Multi-Residue Screening Method for the Determination of Pesticides in Cereals and Dry Animal Feed Using Gas Chromatography–Triple Quadrupole Tandem Mass Spectrometry." *Journal of Chromatography A* 1165 (1): 200–212. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2007.07.071>.
- Wang, Juan, Gultakin Hasanalieva, Liza Wood, et al. 2020. "Effect of Wheat Species (*Triticum Aestivum* vs *T. Spelta*), Farming System (Organic vs Conventional) and Flour Type (Wholegrain vs White) on Composition of Wheat Flour – Results of a Retail Survey in the UK and Germany – 3. Pesticide Residue Content." *Food Chemistry: X* 7 (September): 100089. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2020.100089>.
- "World Health Organization (WHO)." n.d. Accessed October 19, 2024. <https://www.who.int>.
- Zhang, Wenjun, Fubin Jiang, and Jianfeng Ou. 2011. "Global Pesticide Consumption and Pollution: With China as a Focus." *Proceedings of the International Academy of Ecology and Environmental Sciences* 1 (August): 125–44.
- Zhao, Qi, Huiyu Li, Yang Xu, et al. 2015. "Determination Triazine Pesticides in Cereal Samples Based on Single-Hole Hollow Molecularly Imprinted Microspheres." *Journal of Chromatography A* 1376 (January): 26–34. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2014.12.021>.
- Zhu, Xiaodan, Chunhong Jia, Zuntao Zheng, Xiaoyuan Feng, Yue He, and Ercheng Zhao. 2016. "Solid-Phase Extraction Combined with Dispersive Liquid-Liquid Microextraction for the Determination of Pyrethroid Pesticides in Wheat and Maize Samples." *Journal of Separation Science* 39 (23): 4621–28. <https://doi.org/10.1002/jssc.201600840>.
- Αλμπάνης Τ. 2009. *ΡΥΠΑΝΣΗ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΕΣ ΠΡΟΣΤΑΣΙΑΣ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ*.
- Γιαννακόπουλος. 2017. *ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΣΙΤΗΡΑ, ΑΛΕΥΡΑ, ΑΡΤΟΣ, ΑΡΤΟΣΚΕΥΑΣΜΑΤΑ, ΖΥΜΑΡΙΚΑ*.
- Ελευθερίου, Ελευθέριος Π. 2006. *Τεχνολογία Φυτικού Πολλαπλασιαστικού Υλικού* /. 3η εκδ. University Studio Press,.
- "Ευρωπαϊκός Κανονισμός CLP." n.d. Accessed October 30, 2024. <https://www.elinyae.gr/themata-yaе/himikes-oysies/page/episimansi-himikon-oysion-eyropaikos-kanonismos-clp>.
- Θεοδώρα Λιακοπούλου-Τσιτσιπή. 2008. *Φυτοφάρμακα Και Παιδική Υγεία*.
- Ι. Ν. Παπαδογιάννης. 2004. *Σύγχρονες διαχωριστικές τεχνικές στην ενόργανη χημική ανάλυση*. <https://metabook.gr/books/syghkhrones-diakhoristikies-tekhnikes-stin-enorghani-khimiki-analisi-i-n-papadoghiannis-449528>.
- Κανονισμός (ΕΚ) αριθ. 1107/2009 του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου, της 21ης Οκτωβρίου 2009, σχετικά με τη διάθεση φυτοπροστατευτικών προϊόντων στην αγορά και την κατάργηση των οδηγιών 79/117/ΕΟΚ και 91/414/ΕΟΚ του Συμβουλίου (2022). <http://data.europa.eu/eli/reg/2009/1107/2022-11-21>.
- Καψή, Μαργαρίτα. 2020. "Ανάπτυξη αναλυτικών μεθόδων προσδιορισμού παρασιτοκτόνων σε ιχθυοκαλλιέργειες και εκτίμηση επικινδυνότητας." Διδακτορική Διατριβή, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων. Σχολή Θετικών Επιστημών. Τμήμα Χημείας. Τομέας Βιομηχανικής Χημείας και Χημείας Τροφίμων. Εργαστήριο Βιομηχανικής Χημείας. <http://hdl.handle.net/10442/hedi/47599>.
- Κολόκα, Ουρανία. 2021. *Προσδιορισμός Υπολειμμάτων Παρασιτοκτόνων Σε Οίνους Με Εκχύλιση QuEChERS Και Χρήση Υγρής Χρωματογραφίας-Φασματομετρία Μάζας Υψηλής Διακριτικής Ικανότητας Και Ακρίβειας*. <https://doi.org/10.26268/heal.uoi.11258>.

- “Κώδικας Τροφίμων Και Ποτών.” n.d. Accessed May 2, 2024.
<https://www.aade.gr/himeio/trofima-ylika-se-epafi-me-trofima/himeio/kodikas-trofimon-kai-poton>.
- Κωνσταντίνα Ιωσήφ. 2022. *ΒΕΛΤΙΣΤΟΠΟΙΗΣΗ ΠΟΛΥ – ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΙΚΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΠΑΡΑΣΙΤΟΚΤΟΝΩΝ ΣΕ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟ ΜΕ ΣΥΝΔΥΑΣΜΟ ΕΚΧΥΛΙΣΗΣ QuEChERS – ΥΓΡΗΣ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑΣ ΦΑΣΜΑΤΟΜΕΤΡΙΑΣ ΜΑΖΑΣ*.
- Μαρία Ρεκλείτη , Παναγιώτης Κυλούδης. 2012. *Φυτοφάρμακα: Οι Επιπτώσεις Τους Στην Υγεία Και η Αντιμετώπιση Δηλητηρίασης Στην Πρωτοβάθμια Φροντίδα*.
- Νάννου and Αλμπάνης. 2018. “Σύγχρονες αναλυτικές μέθοδοι για τον προσδιορισμό υπολειμμάτων φυτοπροστατευτικών και φαρμακευτικών ενώσεων σε φυσικά νερά και ιζήματα.” Διδακτορική Διατριβή, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων. Σχολή Θετικών Επιστημών. Τμήμα Χημείας. Τομέας Ανόργανης και Αναλυτικής Χημείας.
<http://hdl.handle.net/10442/hedi/44795>.
- Παπαγεωργίου. 2024. *Τεχνολογία και Έλεγχος Ποιότητας Σιτηρών*.
<http://food.webt.iee.ihu.gr/courses/276-190601/>.
- Παπακώστα - Τασοπούλου. 2012. *Ειδική Γεωργία*.
- Πολυξένη Νέου. 2007. *Κλινική Τοξικολογία Και Θεραπευτική Αντιμετώπιση Των Δηλητηριάσεων*.
- Χατζηιωάννου, Κουμπάρης. 2014. *ΕΝΟΡΓΑΝΗ ΑΝΑΛΥΣΗ*.
- “Χημικά προϊόντα και φυτοφάρμακα | Θεματολογικά δελτία για την Ευρωπαϊκή Ένωση | Ευρωπαϊκό Κοινοβούλιο.” 2023. September 30.
<https://www.europarl.europa.eu/factsheets/el/sheet/78/χημικα-προιοντα-και-φυτοφαρμακα>.