

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ ΓΕΝΙΚΟΥ ΤΜΗΜΑΤΟΣ
ΘΕΤΙΚΕΣ ΕΠΙΣΤΗΜΕΣ ΣΤΗ ΓΕΩΠΟΝΙΑ
ΚΛΑΔΟΣ ΙΙΙ ΜΕΛΕΤΗ ΚΑΙ ΑΞΙΟΠΟΙΗΣΗ ΦΥΣΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ

Μεταπτυχιακή διατριβή με τίτλο:

**Προσδιορισμός υπολειμμάτων των φυτοπροστατευτικών
προϊόντων σε αγροτικά προϊόντα με πολύ-υπολειμματικές
μεθόδους και την τεχνική HRMS**

ΜΑΡΓΑΡΙΤΑ Ν. ΔΗΜΑ

Γεωπόνος

ΑΘΗΝΑ

2014

Χαρουτουιάν Σέρκο, Καθηγητής Γ.Π.Α.

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ ΓΕΝΙΚΟΥ ΤΜΗΜΑΤΟΣ
ΘΕΤΙΚΕΣ ΕΠΙΣΤΗΜΕΣ ΣΤΗ ΓΕΩΠΟΝΙΑ
ΚΛΑΔΟΣ ΙΙΙ ΜΕΛΕΤΗ ΚΑΙ ΑΞΙΟΠΟΙΗΣΗ ΦΥΣΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ

Μεταπτυχιακή διατριβή με τίτλο:

«Προσδιορισμός υπολειμμάτων των φυτοπροστατευτικών προϊόντων σε αγροτικά προϊόντα με πολύ-υπολειμματικές μεθόδους και την τεχνική HRMS»

Μαργαρίτα Ν. Δήμα

Γεωπόνος

Επιβλέπων: Χαρουτουγιάν Σέρκο, Καθηγητής Γ.Π.Α.

Εξεταστική επιτροπή: Κων/νος Γεωργίου, Καθηγητής ΓΠΑ

Γεώργιος Μηλιάδης, Επικεφαλής Ερευνητής, Food Allergens Laboratory.,

τ. Ερευνητής Α, Μπενάκειο Φυτοπαθολ. Ινστιτούτο

Αθήνα 2014

Σχεδιασμός και στόχοι της μεταπτυχιακής διατριβής

Ο τομέας της ανάλυσης των υπολειμμάτων των φυτοπροστατευτικών προϊόντων απαιτεί μεθόδους απλές, πολυδύναμες και οικονομικές. Η εξέλιξη της τεχνολογίας στον τομέα αυτό, προσφέρει νέα εργαλεία τα οποία προσδίδουν εναλλακτικούς τρόπους προσδιορισμού των αναλυτών και μεγαλύτερο επίπεδο αξιοπιστίας στα αποτελέσματα των αναλύσεων αυτών.

Στην παρούσα διατριβή αναπτύχθηκε και επικυρώθηκε μια νέα μέθοδος προσδιορισμού φυτοπροστατευτικών προϊόντων η οποία βασίζεται στην μέθοδο εκχύλισης QuEChERS, μια σύντομη διαδικασία εκχύλισης χωρίς πολύπλοκο εξοπλισμό με μικρή κατανάλωση αναλωσίμων ανά δείγμα και κατάλληλη για απομόνωση υπολειμμάτων φ.π. διαφορετικών χημικών κατηγοριών. Η ταυτοποίηση και η ποσοτικοποίηση των αναλυτών πραγματοποιήθηκε με τη χρήση υγρής χρωματογραφίας συζευγμένης με φασματομετρία μαζών χρόνου πτήσης (LC-TOF). Η εν λόγω τεχνική αποτελεί μία σχετικά νέα τεχνική στον τομέα προσδιορισμού υπολειμμάτων φυτοπροστατευτικών προϊόντων ως τεχνική σάρωσης που περιορίζεται στη ταυτοποίηση αυτών. Η πολύ-υπολειμματική μέθοδος επικυρώθηκε επιτυχώς για την αξιοπιστία της σε τρία υποστρώματα (κουνουπίδι, μανταρίνι και ροδάκινο) για 163 αναλύτες διαφορετικών χημικών ομάδων. Μελετήθηκε η ορθότητα, πιστότητα, γραμμικότητα της μεθόδου και η επίδραση του υποστρώματος.

Από τα στοιχεία επικύρωσης προκύπτει ότι η μέθοδος για την πλειονότητα των αναλυτών παρουσιάζει αποδεκτή γραμμικότητα με $r \geq 0,99$, αποδεκτή ορθότητα με ποσοστά ανάκτησης 70-120% και πιστότητα με $SDR \leq 20\%$. Ως όριο ποσοτικοποίησης της μεθόδου ορίστηκαν τα 0,01 mg/kg. Η μέθοδος κρίνεται κατάλληλη για τον προσδιορισμό φ.π. διαφόρων χημικών κατηγοριών σε κουνουπίδι, ροδάκινο και μανταρίνι, αντιπροσωπευτικές καλλιέργειες της ομάδας των φυτικών προϊόντων με υψηλή περιεκτικότητα σε νερό και υψηλή περιεκτικότητα σε οξέα.

SUMMARY

A trend in the field of pesticide residue analysis is the implementation of easy, robust, cheap and multiresidue analytical methods. The recent advances of analytical instrumentation, offers new tools for the reliable and more accurate determination of unknown analytes in a variety of complex matrices like fruits and vegetables.

Under the current work a multiresidue analytical method, based on the extraction method QuEChERS, a short extraction procedure without complex equipment, low consumption of consumables and appropriate isolation of pesticide residues of different chemical classes was developed and validated. The identification and quantification of the analytes was performed using liquid chromatography coupled with mass spectrometry time of flight (LC-TOF), a relatively new technique in the field of pesticide residue, mostly applied for a screening method. The method was successfully validated in three matrices (cauliflower, mandarin and peach), representative commodities of the group of plant commodities with high water and high acid content, for 163 analytes of different chemical groups. Accuracy, precision, linearity and matrix effect were investigated.

The majority of analysts showed acceptable linearity with $r \geq 0,99$, accuracy with 70-120% recovery rates and precision with $SDR \leq 20\%$. The limit of quantification was set at 0.01 mg / kg. Thus the method was found suitable for the determination of multiclass pesticide residues in cauliflower, peach and mandarins.

*Στους γονείς μου και
στον αδερφό μου*

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Υπολειμμάτων Γεωργικών Φαρμάκων του Μπενάκειου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου στα πλαίσια του μεταπτυχιακού προγράμματος του γενικού τμήματος, «Θετικές Επιστήμες στη Γεωπονία, Κλάδος ΙΙΙ, Μελέτη και Αξιοποίηση Φυσικών Προϊόντων».

Το θέμα ορίστηκε από τον Καθηγητή του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών κ. Σέρκο Χαρουτουγιάν, σε συνεργασία με τον Ερευνητή του Μπενακειού Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου, Δρ. Χρήστο Αναγνωστόπουλο, ο οποίος ανέλαβε και την επίβλεψη της εργασίας.

Θα ήθελα να εκφράσω τις ειλικρινείς μου ευχαριστίες, τόσο στον κ. Χαρουτουγιάν όσο και στον κ. Αναγνωστόπουλο για την πολύτιμη βοήθεια και καθοδήγησή τους καθ' όλη τη διάρκεια της εκπόνησης της εργασίας αυτής, για τις εύστοχες υποδείξεις τους κατά τη σύνταξη της αλλά κυρίως για την ευκαιρία που μου έδωσαν να ασχοληθώ με ένα τόσο ενδιαφέρον θέμα.

Επιπλέον θα ήθελα να εκφράσω τις θερμές μου ευχαριστίες στον Ερευνητή Α' και πρώην προϊστάμενο του Εργαστηρίου κ. Γεώργιο Μηλιάδη για τη συμμετοχή του στη τριμελή επιτροπή καθώς και για το γεγονός πως με εμπιστεύτηκε και με δέχτηκε στο Εργαστήριο Υπολειμμάτων Γεωργικών Φαρμάκων για την πρακτική μου άσκηση ως προπτυχιακή φοιτήτρια.

Ακόμη θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Καθηγητή κ. Κωνσταντίνο Γεωργίου για τη συμμετοχή του στη τριμελή επιτροπή, για τη διδασκαλία του και τις γνώσεις που μου μετέδωσε κατά τη διάρκεια του μεταπτυχιακού προγράμματος.

Επίσης, δε ξέρω πώς να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στον Ερευνητή Α' και νυν προϊστάμενο του Εργαστηρίου κ. Κωνσταντίνο Λιαπή για την ενθάρρυνση του να συμμετάσχω στο εν λόγω μεταπτυχιακό πρόγραμμα σπουδών του Γ.Π.Α. καθώς και για τις γνώσεις που μου μετέδωσε.

Θα ήθελα να εκφράσω τις βαθιές μου ευχαριστίες στην Αγγελική Χαρολάμπους για τις συμβουλές που μου έδινε κατά τη διάρκεια διεξαγωγής των πειραμάτων, καθώς επίσης και στην Πένυ Μαλάτου, Ελευθερία Μπεμπέλου, Κατερίνα Μπουρμποπούλου

και Αναστασία Βρεττάκου για την άψογη συνεργασία και πολύτιμη βοήθεια που μου προσέφεραν.

Τέλος, ιδιαίτερες ευχαριστίες οφείλω στους γονείς μου Νίκο και Μαρία και τον αδερφό μου Αλέξανδρο, που πάντα με στηρίζουν σε κάθε μου προσπάθεια.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΑ ΦΥΤΟΠΡΟΣΤΑΤΕΥΤΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ

1.1 Φυτοπροστατευτικά προϊόντα	1
1.2 Κατηγορίες φυτοπροστατευτικών προϊόντων	2
1.3 Υπολείμματα των φυτοπροστατευτικών προϊόντων	9
1.4 Μέγιστο όριο υπολειμμάτων (Maximum Residue Level -MRL) των γεωργικών φαρμάκων	11

2. ΜΕΘΟΔΟΙ ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΩΝ

2.1 Πολύ-υπολειμματικές μέθοδοι (Multi-Residues Methods, MRMs)	12
2.2 Στάδιο επεξεργασίας δείγματος MRMs	13
2.3 Υγρή χρωματογραφία/ φασματομετρία μαζών χρόνου πτήσης	16

3. ΕΠΙΚΥΡΩΣΗ ΜΕΘΟΔΩΝ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ

3.1 Ορθότητα – Πιστότητα	20
3.2 Γραμμικότητα	21
3.3 Όριο Ποσοτικοποίησης (LOQ)	22

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. Σκοπός της εργασίας	23
2. Πρότυπες ενώσεις και πρότυπα διαλύματα	24
3. Διαλύτες και αντιδραστήρια	24
4. Εργαστηριακός εξοπλισμός	25
5. Περιγραφή μεθόδου κατεργασίας δειγμάτων	26
6. Υγρή χρωματογραφία σε συνδυασμό με φασματομετρία μαζών χρόνου πτήσης ιόντων (LC-TOF)	27
7. Βελτιστοποίηση των παραμέτρων	29
8. Επικύρωση της μεθόδου	31
8.1 Εκτίμηση ορθότητας	31
8.2 Εκτίμηση πιστότητας	32
8.3 Επίδραση του υποστρώματος (matrix effect)	32
8.4 Όρια ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης	33

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

1. Υπόστρωμα «κουνουπίδι	35
1.1 Εκτίμηση της ορθότητας – πιστότητας	35
2. Υπόστρωμα «μανταρίνια»	37

2.2 Εκτίμηση της ορθότητας – πιστότητας	37
3. Υπόστρωμα «ροδάκινα»	39
3.1 Εκτίμηση της ορθότητας – πιστότητας	39
4. Εκτίμηση της γραμμικότητας	41
5. Επίδραση του υποστρώματος (Matrix Effect, ME)	43

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑΤΑ

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΑ ΦΥΤΟΠΡΟΣΤΑΤΕΥΤΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ

1.1. Φυτοπροστατευτικά προϊόντα

Ορισμός

Ως φυτοπροστατευτικά προϊόντα ορίζουμε τις ουσίες ή τα μίγματα ουσιών που χρησιμοποιούνται για να:

- προστατεύουν τα φυτά από επιβλαβείς οργανισμούς και μικροοργανισμούς, να προλαμβάνουν τη δράση αυτών,
- επηρεάζουν τις βιολογικές διεργασίες των φυτών,
- διατηρούν τα φυτικά προϊόντα,
- καταστρέφουν τα ανεπιθύμητα φυτά (ζιζάνια),
- παρεμποδίζουν ή να επιβραδύνουν την ανάπτυξη ανεπιθύμητων τμημάτων των φυτών [91/414/EOK] [1].

Σύντομη ιστορική αναδρομή

Η χρησιμοποίηση των χημικών ενώσεων από τον άνθρωπο για την καταπολέμηση των 'εχθρών' των φυτών ξεκίνησε από την αρχαιότητα. Από τα Ομηρικά έπη (1000-800 π.Χ.) είναι γνωστό ότι οι Αρχαίοι Έλληνες χρησιμοποιούσαν χημικές ουσίες για να αντιμετωπίσουν τις ασθένειες των φυτών, παρότι δεν γνώριζαν τη φύση και τους μηχανισμούς εκδήλωσής τους. Ο Όμηρος αναφέρει ότι Οδυσσεάς αφού σκότωσε τους μνηστήρες, χρησιμοποίησε θειάφι με φωτιά για να καθαρίσει και να απολυμάνει το ανάκτορο (ραψωδία Χ: 481,482 και 492-494). Ο Δημόκριτος (470 π.Χ.) συνιστούσε τον ψεκάσμο των φυτών με υγρά απόβλητα των ελεών (κατσίγαρος), προφανώς για την προστασία τους από το ωίδιο, ενώ ο Ρωμαίος Cato (200 π.Χ.) συνιστούσε υποκαπνισμούς της αμπέλου με μίγμα ασφάλτου και θείου. Επιπλέον, ο Ρωμαίος Plinius (70 π.Χ.) στην εργασία του 'Historia Naturalis' κάνει πολλές αναφορές στις ασθένειες δένδρων, αμπέλου και σιτηρών και ποικίλων μεθόδων αποφυγής τους, όπως η εμβάπτιση των σπόρων αραβόσιτου στο κρασί ή την ανάμιξή τους με κτυπημένα φύλλα κυπαρισσιού πριν από τη σπορά.

Στην πρόσφατη εποχή, αξιοσημείωτη είναι η περίοδος του βορδιγάλιου πολτού (θειικός χαλκός με ασβέστιο), η οποία είχε ως σημείο εκκίνησης τη δημοσίευση του Millardet (1885) για την αποτελεσματικότητά του στην καταπολέμηση του

περονόσπορου της αμπέλου. Το 1934 προσδιορίστηκαν από τους Tisale και Williams οι μυκητοκτόνες δράσεις των διθειοκαρβαμιδικών (μορίων γνωστών από τη βιομηχανία του καουτσούκ), γεγονός που σήμανε την απαρχή της ανάπτυξης των οργανικών προστατευτικών μυκητοκτόνων (1930-1965). Ακολούθησε η ανακάλυψη των cloranyl & dichlone (1940) και του captan (1952). Το 1954 η στρεπτομυκίνη χρησιμοποιήθηκε για την αντιμετώπιση του βακτηριακού καψίματος (fire blight) των μηλοειδών και ακολούθησε η ανακάλυψη του chlorothalonil 1964.

Μόλις το 1975 χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά ένας αντιπαθογονικός παράγοντας (tricyclazole) για την καταπολέμηση του *Pyricularia oryzae*, ενώ στη δεκαετία του '80 είχαμε την εμφάνιση διασυστηματικών (όπως π.χ. metalaxy) που είναι κατάλληλα για την καταπολέμηση των Ωομυκήτων καθώς και την εμφάνιση των διασυστηματικών με κάποιο βαθμό συμπλαστικής κίνησης (fosetyl-Al, isoprothiolate). Προβλεπόταν ότι τέτοιου είδους μυκητοκτόνα θα μας έδιναν τη λύση στην αντιμετώπιση των αδρομυκώσεων, αδροβακτηριώσεων και σηψιρριζιών, ασθενειών, που δεν αντιμετωπίζονται επιτυχώς με τα διασυστηματικά, που χαρακτηρίζονται μόνο από αποπλαστική κίνηση [2].

1.2. Κατηγορίες Φυτοπροστατευτικών Μορίων

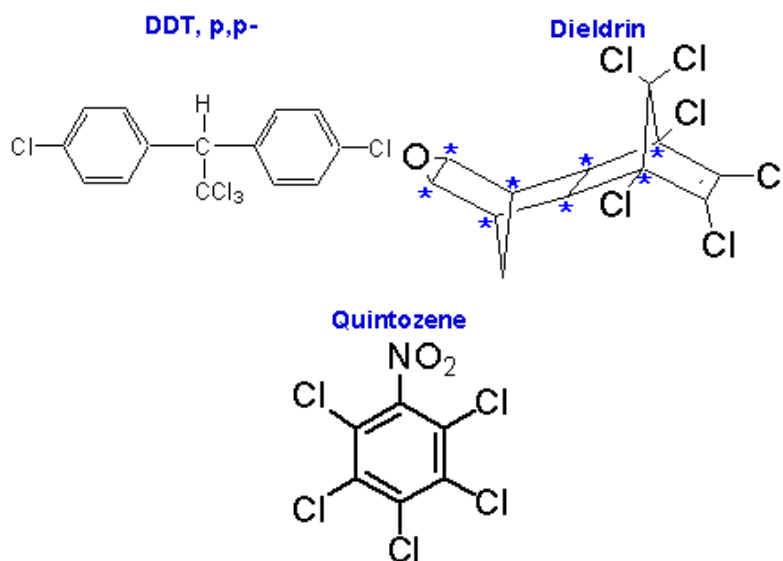
Η ταξινόμηση των φυτοπροστατευτικών μορίων γίνεται με βάση αφενός τον τρόπο δράσης τους (εντομοκτόνα, ακαρεοκτόνα, μυκητοκτόνα, ζιζανιοκτόνα, φυτορυθμιστικοί παράγοντες κ.α.) και αφετέρου τη χημική κατηγορία στην οποία ανήκουν. Στο πλαίσιο αυτό, τα σημαντικότερα φυτοπροστατευτικά που χρησιμοποιούνται σήμερα κατατάσσονται στις παρακάτω κατηγορίες:

Οργανοχλωριωμένα εντομοκτόνα

Τα οργανοχλωριωμένα εντομοκτόνα (organochlorines) αποτελούν μια από τις παλαιότερες ομάδες συνθετικών οργανικών ενώσεων. Ουσιαστικά η κατηγορία των μορίων αυτών άρχισε να αναπτύσσεται με την ανακάλυψη του DDT, του μορίου που θεωρείται ως ο θεμέλιος λίθος της σύγχρονης χημικής αντιμετώπισης των ζωικών εχθρών των καλλιεργειών. Χημικά, όλα τα μόρια αυτά αποτελούν παράγωγα των οργανοχλωριωμένων υδρογονανθράκων που επιδεικνύουν μεγάλη εντομοτοξική δράση και διάρκεια. Προσλαμβάνονται δε ταχύτατα από την επιδερμίδα των εντόμων,

κυρίως λόγω της μεγάλης λιποδιαλυτότητάς τους. Ο μηχανισμός της δράσης τους δεν έχει πλήρως διευκρινιστεί, παρότι είναι σχεδόν σίγουρο ότι επιδρούν στους νευρικούς άξονες των εντόμων και των θηλαστικών [3].

Στο παρελθόν τα οργανοχλωριωμένα εντομοκτόνα χρησιμοποιήθηκαν ευρύτατα με θεαματικά αποτελέσματα. Όμως, με την πάροδο του χρόνου διαπιστώθηκαν οι σοβαρές επιπτώσεις τους στο περιβάλλον, ως απόρροια της σημαντικής τους σταθερότητας που οδηγεί στο φαινόμενο της βιοσυσώρευσης. Αναλυτικότερα, τα μόρια αυτά δεν αποδομούνται εύκολα, συσσωρεύονται στο λιπώδη ιστό, περνούν στο γάλα, τα αυγά και το κρέας, με αποτέλεσμα να εισέρχονται στην τροφική αλυσίδα των ζώων και του ανθρώπου. Παράλληλα, τα έντομα αναπτύσσουν μεγάλη ανθεκτικότητα σε αυτά, με αποτέλεσμα να αυξάνεται ολοένα η απαιτούμενη ποσότητα. Έτσι, στη δεκαετία του '70 απαγορεύτηκε η χρήση των περισσότερων οργανοχλωριωμένων εντομοκτόνων σε όλες σχεδόν τις ανεπτυγμένες χώρες. Όμως στις περισσότερες από τις αναπτυσσόμενες χώρες τα οργανοχλωριωμένα εξακολουθούν να χρησιμοποιούνται, λόγω κυρίως του χαμηλού τους κόστους.



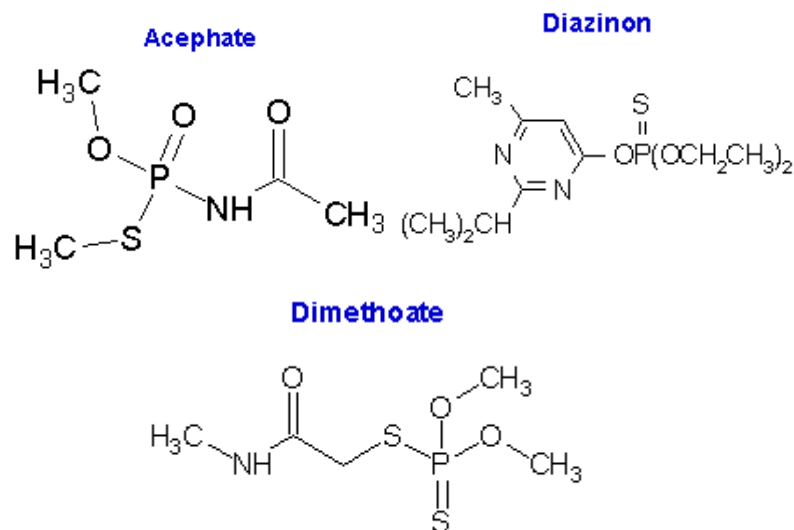
Σχήμα 1.1 Χημικός τύπος ορισμένων Οργανοχλωριωμένων φυτοπροστατευτικών προϊόντων.

Οργανοφωσφορικά εντομοκτόνα

Τα οργανοφωσφορικά εντομοκτόνα (organophosphates) αποτελούν την πλέον πολυπληθή ομάδα συνθετικών οργανικών εντομοκτόνων με ευρύ φάσμα δράσης κατά πολλών εντόμων. Είναι δε ιδιαίτερα αποτελεσματικά στην καταπολέμηση των καρποφάγων δίπτερων, όπως του δάκου της ελιάς (*Bactocera oleae*), της μύγας της Μεσογείου (*Ceratitis capitata*), καθώς και πολλών φυτοφάγων προνυμφών των λεπιδοπτέρων (πυρηνοτρήτης, καρπόκαψα) και των κολεοπτέρων, όπως και των θριπών, ακριδών, κοκκοειδών και άλλων φυτοπαρασίτων. Ειδικά για την περίπτωση του δάκου έχει αποδειχθεί πως είναι ικανά να θανατώνουν τις προνύμφες ακόμα και εντός του ελαιοκάρπου.

Οι αξιόλογες φυσικοχημικές και βιολογικές ιδιότητες των οργανοφωσφορικών έχει οδηγήσει στην ευρεία εφαρμογή τους και τη σχεδόν πλήρη υποκατάσταση των οργανοχλωριωμένων εντομοκτόνων. Σε γενικές γραμμές, τα μόρια αυτά χαρακτηρίζονται από ευρύ φάσμα δράσης, υψηλή εντομοκτόνο και ακαρεοκτόνο δραστηριότητα, μικρή υπολειμματική διάρκεια και σχετικά γρήγορη αποδόμηση σε μεταβολικά προϊόντα που είναι μη τοξικά για τον άνθρωπο και τα ζώα.

Ο μηχανισμός δράσης όλων των οργανικών ενώσεων του φωσφόρου αναφέρονται στην επίδρασή τους στο νευρικό σύστημα των εντόμων και συγκεκριμένα στην παρεμπόδιση της χολινεστεράσης, του ενζύμου που καταλύει την υδρόλυση του νευροδιαβιβαστή ακετυλοχολίνη.



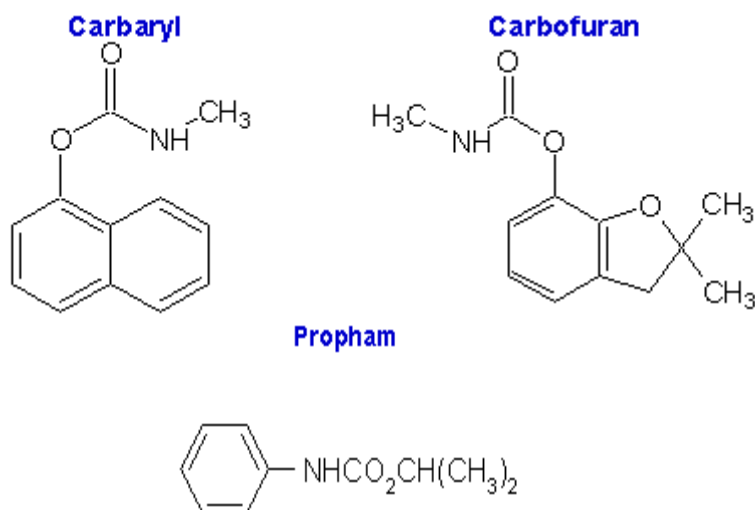
Σχήμα 1.2 Χημικός τύπος ορισμένων Οργανοφωσφορικών φυτοπροστατευτικών προϊόντων.

Καρβαμιδικά

Τα καρβαμιδικά εντομοκτόνα (carbamates) είναι παράγωγα της φυσοστιγμίνης ή εσερίνης, ενός αλκαλοειδούς με ισχυρή αντιχολινεστερασική δράση, που απομονώνεται από τους καρπούς του φυτού *Physostigma venenosum* που είναι γνωστό και ως κύαμο του Calabar και ενδημεί σε περιοχές της Δ. Αφρικής (όπως η Σομαλία και η Γουϊνέα).

Οι καρβαμιδικές ενώσεις είναι νεότερης γενιάς εντομοκτόνα σε σύγκριση με τα οργανοχλωριωμένα και τα οργανοφωσφορικά. Πρόκειται για μόρια με γενικό τύπο RO-CO-NR₂ που αποτελούν παράγωγα του καρβαμιδικού οξέος (NH₂COOH). Το R μπορεί να είναι μία φαινυλική ή ετεροκυκλική ομάδα ή παράγωγο οξίμης.

Γενικά, τα καρβαμιδικά εντομοκτόνα-ακαρεοκτόνα χαρακτηρίζονται από δράση ανάλογη των οργανοφωσφορικών, αφού επιδεικνύουν σημαντική δραστηριότητα ως εντομοκτόνα επαφής και στομάχου. Παράλληλα, τα περισσότερα διαθέτουν διασυστηματική κίνηση με άμεση δράση στο νευρικό σύστημα που προκαλεί ταχεία και απότομη πτώση των εντόμων, ιδιότητα που θυμίζει τη δράση των πυρεθρινοειδών. Τα περισσότερα έχουν υψηλή και οξεία τοξικότητα σε θηλαστικά, πτηνά και ψάρια.



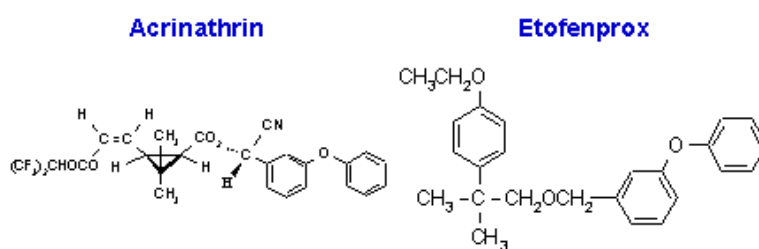
Σχήμα 1.3 Χημικός τύπος ορισμένων Καρβαμιδικών φυτοπροστατευτικών προϊόντων.

Πυρεθρινοειδή

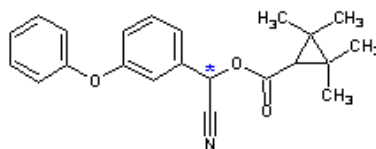
Τα πυρεθρινοειδή (pyrethroids) ή συνθετικές πυρεθρίνες αποτελούν την τέταρτη γενιά συνθετικών οργανικών εντομοκτόνων. Πρόκειται για ενώσεις που είναι παράγωγα της φυσικής πυρεθρίνης, η οποία παραλαμβάνεται από τις ταξιανθίες του φυτού *Tanacetum (Crysanthemum, Pyrethrum) cinerariaefolium*, γνωστό ως 'πύρεθρο'.

Οι φυσικές πυρεθρίνες, ως μόρια ακίνδυνα για τον άνθρωπο και τα θηλαστικά γενικότερα, χρησιμοποιούνται ευρύτατα ως εντομοκτόνα οικιακής χρήσεως. Όμως, έχουν το μειονέκτημα ότι είναι φωτοευαίσθητες και διασπώνται εύκολα στη φύση, με συνέπεια τη μικρή υπολειμματική τους δράση και την αδυναμία εφαρμογής τους στη γεωργία.

Αντίθετα, τα συνθετικά πυρεθρινοειδή εντομοκτόνα και ακαρεοκτόνα, ιδιαίτερα αυτά που εμφανίστηκαν από τα μέσα της δεκαετίας του '70, παρουσιάζουν μεγαλύτερη φωτοσταθερότητα με αποτέλεσμα να διαθέτουν μια ικανή υπολειμματική διάρκεια. Έτσι, επιδεικνύουν σημαντική εντομοτοξική δράση η οποία επιτρέπει τη μείωση του αριθμού των αναγκαιών για την εφαρμογή τους επεμβάσεων. Επιπλέον, στον ανθρώπινο οργανισμό διασπώνται ταχύτατα προς μη τοξικά παράγωγα με αποτέλεσμα να είναι πρακτικώς ακίνδυνα. Οι παραπάνω ιδιότητες, σε συνδυασμό με τις πολύ μικρές δόσεις που απαιτούνται, δίνει τη δυνατότητα εφαρμογής των πυρεθρινοειδών όχι μόνο στη γεωργία αλλά και στη δημόσια υγεία σε διαδικασίες απεντόμωσης σε κατοικίες, κοινόχρηστους χώρους, στάβλους κλπ. Θα πρέπει να επισημανθεί ότι τα μόρια αυτά διαθέτουν αξιοσημείωτη λιποδιαλυτότητα και πρακτικά είναι αδιάλυτα στο νερό, γεγονός που τους προσδίδει σημαντικές ομοιότητες με τους οργανοχλωριωμένους υδρογονάνθρακες, χωρίς να παρουσιάζουν το πρόβλημα της βιοσυσσώρευσης των οργανοχλωριωμένων. Βέβαια, παρά τα πλεονεκτήματα που αναφέρθηκαν, τα πυρεθρινοειδή είναι μόρια επικίνδυνα για τα ψάρια με ισχυρές μελισσοτοξικές ιδιότητες, ενώ οι περισσότερες από αυτές επηρεάζουν και την ωφέλιμη εντομοπανίδα.



Fenpropathrin



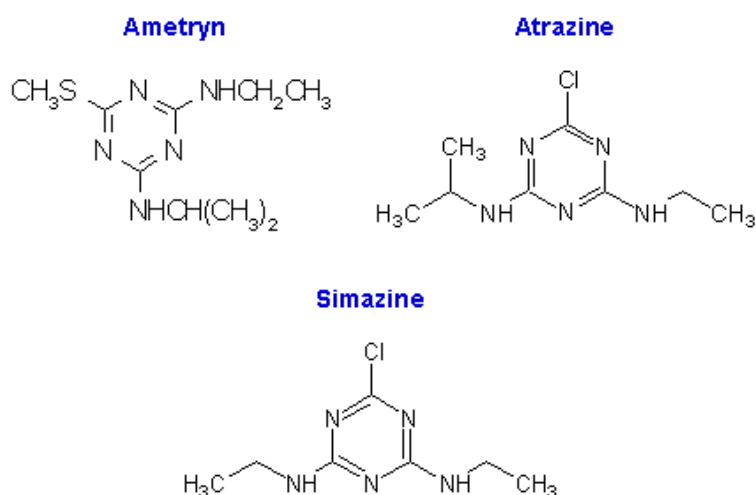
Σχήμα 1.4 Χημικός τύπος ορισμένων Πυρεθρινοειδών φυτοπροστατευτικών προϊόντων.

Τριαζινικά ζιζανιοκτόνα

Οι τριαζίνες (triazines) αποτελούν μία από τις σημαντικότερες ομάδες ζιζανιοκτόνων, που εμφανίστηκαν στη γεωργική πράξη κατά τη δεκαετία του '50. Χρησιμοποιούνται ευρέως σε πολλές καλλιέργειες για την αντιμετώπιση πολλών πλατύφυλλων και αγρωστωδών ζιζανίων.

Ως προς τη χημική τους δομή, οι τριαζίνες χαρακτηρίζονται από έναν εξαμελή δακτύλιο με τρία άτομα αζώτου, τα οποία με τα άτομα άνθρακα του δακτυλίου μπορεί να είναι είτε εναλλασσόμενα (συμμετρικές τριαζίνες) ή μη εναλλασσόμενα (ασύμμετρες τριαζίνες).

Οι τριαζίνες είναι σχετικά ασταθείς ενώσεις και δρουν ως αναστολείς της φωτοσύνθεσης. Η εκλεκτικότητά των περισσότερων τριαζινών οφείλεται στην ικανότητα των καλλιεργούμενων φυτών να αδρανοποιούν (μεταβολίζουν) τα ζιζανιοκτόνα είτε λόγω της παρουσίας μιας βενζοξαζινόνης (γνωστή και ως DIMBOA ή MBOA), είτε με το σχηματισμό συμπλόκων του ζιζανιοκτόνου με γλουταθείο παρουσία του ενζύμου τρανσφεράση της γλουταθειόνης (GST).



Σχήμα 1.5 Χημικός τύπος ορισμένων Τριαζινικών ζιζανιοκτόνων.

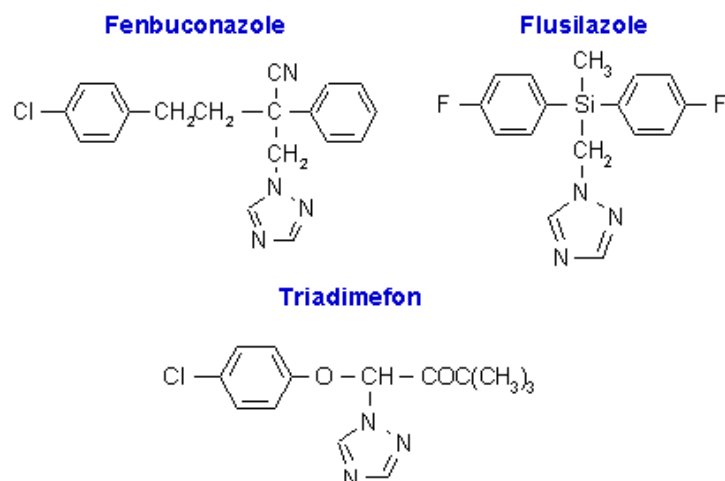
Τριαζολικά μυκητοκτόνα

Η υποομάδα των τριαζολικών (triazoles) μυκητοκτόνων αποτελεί την πολυπληθέστερη ομάδα των SBIs (Sterol Biosynthesis Inhibitors) που δρουν ως παρεμποδιστές της βιοσύνθεσης των στερολών (εργοστερόλης κατά κύριο λόγο). Είναι μία μεγάλη και σημαντική ομάδα διασυστηματικών μυκητοκτόνων, που έκαναν την εμφάνισή τους περίπου στα τέλη της δεκαετίας του '60 ως μόρια χρήσιμα αφενός στη γεωργία για την αντιμετώπιση και καταπολέμηση σημαντικών μυκητολογικών ασθενειών και αφετέρου στην ιατρική και κτηνιατρική για τον έλεγχο σοβαρών δερματομυκητιάσεων σε άνθρωπο και ζώα.

Στη γεωργία η χρήση τους είναι ευρύτατη στην καταπολέμηση των ωιδίων και των σκωριάσεων σε πολλές καλλιέργειες, όπως σε σιτηρά, μηλοειδή, κολοκυνθοειδή, ψυχανθή και καλλωπιστικά. Πολλά από αυτά είναι αποτελεσματικά και στην αντιμετώπιση αρκετών ασθενειών που προκαλούνται από είδη των γενών *Monilinia*, *Septoria*, *Venturia*, *Cercospora*, *Fusarium*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria*, *Helminthosporium*, *Rhizoctonia* κ.α.

Χημικά, οι SBIs που χρησιμοποιούνται στη γεωργία πράξη χαρακτηρίζονται από την παρουσία στο μόριό τους ενός ετεροκυκλικού δακτυλίου (ακόρεστος ή κορεσμένος). Στη πρώτη περίπτωση υπάγονται τα μυκητοκτόνα που περιέχουν πυριδινικό, πυριμιδινικό, ιμιδαζολικό και τριαζολικό δακτύλιο, μόρια που αντιπροσωπεύουν τους κύριους SBIs που χρησιμοποιούνται στη γεωργία. Στη δεύτερη περίπτωση εντάσσονται τα μυκητοκτόνα που περιέχουν πιπεραζινικό,

μορφολινικό και πιπεριδινικό δακτύλιο. Εκτός από τα μυκητοκτόνα αυτά, τη βιοσυνθετική οδό των στερολών επηρεάζουν και ορισμένα νέα μυκητοκτόνα που έχουν αναπτυχθεί. Αυτά εμπεριέχουν είτε σπироκεταλαμινική ή υδροξυανιλιδική ομάδα και δεν χαρακτηρίζονται από την παρουσία αζαετεροκυκλικού δακτυλίου.



Σχήμα 1.6 Χημικός τύπος ορισμένων Τριαζολικών μυκητοκτόνων.

1.3. Υπολείμματα των φυτοπροστατευτικών προϊόντων

Τα υπολείμματα των φυτοπροστατευτικών προϊόντων είναι ένας τομέας με μεγάλο ενδιαφέρον που αφορά τη γεωργία, τη δημόσια υγεία, το διεθνές εμπόριο, τη βιομηχανία αγροχημικών και την ενόργανη χημική ανάλυση. Σύμφωνα με στοιχεία του Ευρωβαρομέτρου σχετικά με το πώς αντιλαμβάνεται ο Ευρωπαίος καταναλωτής τους διατροφικούς κινδύνους, οι Έλληνες καταναλωτές είναι ιδιαίτερα ανήσυχοι για τα υπολείμματα φυτοπροστατευτικών προϊόντων σε φρούτα, λαχανικά και δημητριακά (91% έναντι 72% του κοινοτικού μέσου όρου). Μάλιστα κατατάσσουν τον κίνδυνο αυτόν ως τον πρώτο και σημαντικότερο σε σχέση με όλες τις υπόλοιπες διατροφικές απειλές, όπως κατά σειρά προέκυψαν στην έρευνα: υπολείμματα αντιβιοτικών και ορμονών (87% έναντι 70% του κοινοτικού μέσου όρου), γενετικά τροποποιημένοι οργανισμοί (81% έναντι 66%), πρόσθετα-συντηρητικά τροφίμων (81% έναντι 66%), περιβαλλοντικοί ρύποι (π.χ. διοξίνες, υδράργυρος) (81% έναντι 69%) κλπ.

Σύμφωνα με τον Κανονισμό (ΕΚ) αριθμ. 1107/2009 ως υπολείμματα φυτοπροστατευτικών προϊόντων (pesticide residues) ορίζονται μία ή περισσότερες ουσίες, παρούσες μέσα ή πάνω σε φυτά ή φυτικά προϊόντα, βρώσιμα ζωικά προϊόντα,

πόσιμο νερό ή αλλού στο περιβάλλον, προερχόμενες από τη χρήση φυτοπροστατευτικού προϊόντος, συμπεριλαμβανομένων των μεταβολιτών τους και των προϊόντων διάσπασης ή αντίδρασής τους [5,6].

Για τη διερεύνηση του κινδύνου της παρουσίας υπολειμμάτων των φυτοφαρμάκων στα γεωργικά προϊόντα κατά το χρόνο της κατανάλωσής τους, διενεργούνται μελέτες προσδιορισμού υπολειμμάτων κατά το χρόνο συγκομιδής τους. Επιπλέον μελέτες διεξάγονται για την τύχη των υπολειμμάτων κατά τη διαδικασία της μεταφοράς, συσκευασίας, αποθήκευσης, μεταποίησης και χρήσης των γεωργικών προϊόντων. Οι μελέτες προσδιορισμού των υπολειμμάτων γίνονται σε διάφορες περιβαλλοντικές συνθήκες για δύο τουλάχιστον καλλιεργητικές περιόδους, χρησιμοποιώντας διπλάσια από τη συνιστώμενη δόση του φυτοφαρμάκου. Επιπλέον, πραγματοποιούνται μελέτες για την παρουσία φυτοφαρμάκων και των τοξικολογικά σημαντικών μεταβολιτών τους στο γάλα και το κρέας.

Η υπολειμματική δράση ενός φυτοπροστατευτικού προϊόντος εκφράζει το χρονικό διάστημα μετά την εφαρμογή του κατά το οποίο συνεχίζεται η φυτοπροστατευτική του δράση. Η υπολειμματική δράση ενός προϊόντος φυτοπροστασίας εξαρτάται από τη δυσκολία αποικοδόμησής του, τον τρόπο εφαρμογής του, το είδος του σκευάσματος, τις επικρατούσες εδαφοκλιματικές συνθήκες (θερμοκρασία, υγρασία, μικροβιακό φορτίο του εδάφους κ.λ.π.) και τους παράγοντες που καθορίζουν και επηρεάζουν τη σταθερότητά του [7].

Ως σταθερότητα ενός φυτοπροστατευτικού προϊόντος ορίζεται η ικανότητα να αποικοδομείται αργά ή γρήγορα και να χάνει τη βιοδραστηκότητά του. Εκφράζεται με το χρόνο ημιζωής ή ημιμεταβολής, δηλαδή το χρονικό διάστημα μετά την εφαρμογή του κατά το οποίο η δράση του μειώνεται κατά 50%.

Η μεγάλη υπολειμματική δράση ενός προϊόντος φυτοπροστασίας αυξάνει την αποτελεσματικότητά του, επιτρέπει τη μείωση του αριθμού των επεμβάσεων για την καταπολέμηση της ασθένειας ή των εντόμων, καθώς επίσης και την εφαρμογή προληπτικών εφαρμογών πριν από την εμφάνιση της προσβολής. Σε μερικές όμως περιπτώσεις η μεγάλη υπολειμματική δράση μπορεί να καταστήσει ένα προϊόν φυτοπροστασίας επικίνδυνο για τη δημόσια υγεία και το περιβάλλον. Φυτοπροστατευτικά προϊόντα με μεγάλο χρόνο ημιζωής είναι αυτά που δεν αποδομούνται στο περιβάλλον και συνήθως εισερχόμενα στις τροφικές αλυσίδες υφίστανται το φαινόμενο της βιομεγέθυνσης, η συγκέντρωσή τους αυξάνει καθώς προχωράμε προς τους τελευταίους κρίκους των τροφικών αλυσίδων.

1.4. Μέγιστο Όριο Υπολειμμάτων (Maximum Residue Level -MRL) των γεωργικών φαρμάκων

Ως μέγιστο όριο υπολειμμάτων (MRL) ορίζεται η μέγιστη επιτρεπόμενη συγκέντρωση υπολειμμάτων φυτοπροστατευτικών ουσιών και των τοξικών μεταβολιτών τους, η οποία επιτρέπεται να παραμείνει σε ένα προϊόν φυτικής προέλευσης.

Τα MRLs για κάθε εγκεκριμένο φυτοπροστατευτικό προϊόν καθορίζεται με βάση τα εξής κριτήρια:

- ✓ Την αποδεκτή ημερησία λήψη από τον άνθρωπο (Acceptable Daily Intake, ADI) καθώς επίσης και από
- ✓ Την Ορθή Γεωργική Πρακτική (Good Agricultural Practices, GAP) όπως αυτή καθορίζεται από τον FAO.

Η Ορθή Γεωργική Πρακτική είναι ο τρόπος εφαρμογής ενός εγκεκριμένου φυτοπροστατευτικού προϊόντος σε μία καλλιέργεια που εξασφαλίζει την αποτελεσματικότητα στην χρήση. Έχει δε ως κύριες παραμέτρους τη δόση ανά επιφάνεια, τον αριθμό των εφαρμογών του φυτοφαρμάκου, τον ψεκαστικό όγκο, καθώς και την τελευταία επέμβαση πριν τη συγκομιδή.

Το MRL εκφράζεται σε mg ουσίας ανά kg βάρους φυτικού προϊόντος ή ppm (parts per million, μέρη στο εκατομμύριο).

Για την ελαχιστοποίηση των υπολειμμάτων στα γεωργικά προϊόντα είναι απαραίτητο να αποφεύγεται η υπέρβαση των ορίων (δοσολογία, συχνότητα ψεκασμών κ.ο.κ) και κυρίως να τηρείται το χρονικό όριο μεταξύ της τελευταίας εφαρμογής και της συγκομιδής (Pre-Harvest Interval, PHI). Η εφαρμογή αυτών των κανόνων συνιστούν κατά κύριο λόγο, την «Ορθή Γεωργική Πρακτική» (Good Agricultural Practice, GAP) για την εφαρμογή των φυτοπροστατευτικών προϊόντων [8,9].

Ανάλυση υπολειμμάτων σε φρούτα και λαχανικά

Ως ανάλυση υπολειμμάτων ορίζεται η ανίχνευση και ο προσδιορισμός των φυτοπροστατευτικών προϊόντων σε φυτικά δείγματα (προϊόντα), έτσι ώστε να μπορεί να γίνει η αξιολόγησή τους, όσον αφορά την ασφάλεια του καταναλωτή και την τήρηση της νομοθεσίας.

Δειγματοληψία

Προτού πραγματοποιηθεί η ανάλυση των υπολειμμάτων θα πρέπει πρώτα να έχει πραγματοποιηθεί σωστή δειγματοληψία. Η δειγματοληψία αποτελεί διαδικασία κατά την οποία λαμβάνονται μία ή περισσότερες ποσότητες – δείγματα από ένα προϊόν, με σκοπό να υποβληθεί στη συνέχεια σε εργαστηριακή χημική ανάλυση. Απαραίτητη προϋπόθεση είναι τα δείγματα που λαμβάνονται να περιέχουν αντιπροσωπευτική ποσότητα των δραστικών που πρόκειται να προσδιορισθούν, ώστε τα τελικά αποτελέσματα της χημικής ανάλυσης να εκφράζονται για όλο το αρχικό προϊόν.

Δειγματοληψία φρούτων ή λαχανικών μπορεί να απαιτείται να γίνει είτε στον αγρό (πριν ή κατά τη συγκομιδή των προϊόντων), είτε κατά τη μεταφορά και διακίνησή τους στα σημεία εισόδου των προϊόντων στην αγορά, είτε κατά την πώλησή τους.

Τέλος, όταν η δειγματοληψία πραγματοποιείται κατά τη συγκομιδή στον αγρό ή κατά τη συσκευασία των νωπών προϊόντων, θα πρέπει να ακολουθείται η συνήθης πρακτική της συγκομιδής ή της συσκευασίας. Ο αριθμός των δειγμάτων, συνίσταται να λαμβάνεται ανάλογα με το είδος και το μέγεθος του φορτίου, ακολουθώντας την Οδηγία 2002/63/ΕΚ της Ε.Ε., το δείγμα θα πρέπει να συλλεχθεί κατά τρόπο τέτοιο ώστε να είναι αντιπροσωπευτικό του όλου φορτίου [8,9].

2. ΜΕΘΟΔΟΙ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΩΝ

2.1. Πολύ-υπολειμματικές μέθοδοι (Multi-Residues Methods, MRMs)

Η ανάλυση υπολειμμάτων πολλαπλών φυτοπροστατευτικών προϊόντων αποτελεί πάγια υποχρέωση πολλών δημόσιων φορέων, εργαστηρίων ελέγχου τροφίμων και της βιομηχανίας των τροφίμων. Κάθε χρόνο χιλιάδες δείγματα τροφίμων αναλύονται για την παρουσία υπολειμμάτων φ.π. ώστε να εξασφαλιστεί ότι είναι ασφαλή προς κατανάλωση. Η μεγάλη πληθώρα και ποικιλομορφία των δραστικών ουσιών των φ.π. σε συνδυασμό με την ανάγκη για πρακτικές λύσεις (ανθεκτικότητα, χαμηλό κόστος, ευκολία στην χρήση, εξοικονόμηση χώρου και χρόνου) στις αναλυτικές τεχνικές έκαναν την χρήση πολύ-υπολειμματικών μεθόδων (MRMs) απαραίτητο εργαλείο για κάθε αναλυτικό εργαστήριο [10].

Με τις MRMs επιτρέπεται ο προσδιορισμός πολλαπλών υπολειμμάτων φ.π., διαφόρων χημικών ομάδων, με κοινό στάδιο επεξεργασίας δείγματος και

προσδιορισμού. Οι μέθοδοι αυτές παρουσιάζουν ευρύ πεδίο και κάνουν δυνατό τον προσδιορισμό πάνω από 2 χημικών κατηγοριών φ.π. και σε ορισμένες περιπτώσεις πάνω από 300 δραστικές ουσίες σε πληθώρα διαφορετικών υποστρωμάτων. Τέτοιες μέθοδοι περιλαμβάνουν αρχικά ένα στάδιο εκχύλισης των αναλυτών-στόχων με οργανικό δ/τη ή μίγμα δ/των και στη συνέχεια ένα στάδιο καθαρισμού του εκχυλίσματος από τις ουσίες του υποστρώματος. Οι πιο διαδομένες αναλυτικές τεχνικές για τον προσδιορισμό των αναλυτών-στόχων, είναι η αέρια χρωματογραφία (GC), και η υγρή χρωματογραφία (LC) με εκλεκτικούς ανιχνευτές (π.χ. αζώτου φωσφόρου, σύλληψης ηλεκτρονίων, ανιχνευτής συστοιχίας φωτοδιόδων) ή φασματομετρία μάζας [11].

2.2. Στάδιο επεξεργασίας δείγματος MRMs

Ακετόνη (Acetone)

Η ακετόνη αποτελεί τον πιο οικονομικό, λιγότερο τοξικό και τον πιο πτητικό διαλύτη σε σχέση με τους άλλους δύο. Το 1975, οι Luke *et al.* ανέπτυξαν μία πολύ-υπολειμματική μέθοδο που συμπεριλάμβανε όχι μόνο οργανοχλωριωμένα (OCs) και οργανοφωσφορικά (OPs) αλλά και οργανοαζωτούχες (ONs) ενώσεις. Δείγματα φρούτων και λαχανικών (100 γρ.) εκχυλίστηκαν με 100 ml ακετόνης, διαχωρίστηκαν με μίγμα διαλυτών (πετρελαϊκού αιθέρα : διχλωρομεθάνιο) και καθαρίστηκαν με εκχύλιση στερεάς φάσης (Florisil) [12]. Το 1981, οι Specht και Tillkes δημοσίευσαν μια MRM για 90 διαφορετικές ενώσεις σε δείγματα φυτικής και ζωικής προέλευσης. Χρησιμοποίησαν διχλωρομεθάνιο για καλύτερη εκχύλιση των αναλυτών αλλά με τη διαφορά ότι για τον καθαρισμό του τελικού συνεκχυλίσματος χρησιμοποίησαν GPC (χρωματογραφία πηκτής) [13].

Στις αρχές της δεκαετίας του '90, λόγω της αυξανόμενης πίεσης για την εξάλειψη της χρήσης των χλωριωμένων διαλυτών (όπως του διχλωρομεθανίου), υιοθετήθηκε η χρήση ορισμένων λιγότερο τοξικών διαλυτών (Koipecke *et al.*, 1994), όπως το κυκλοεξάνιο το οποίο δίνει παρόμοια επίπεδα ανακτήσεων (με τους χλωριωμένους διαλύτες) για ένα μεγάλο εύρος αναλυτών [14]. Η χρήση της εκχύλισης στερεάς φάσης (SPE) αποτέλεσε διαδομένη τεχνική, για την αντικατάσταση του διχλωρομεθανίου για το καθαρισμό των συνεκχυλισμάτων. Στα τέλη της δεκαετίας του '90, για την καλύτερη απόδοση της εκχύλισης, χρησιμοποιήθηκε ένας συνδυασμός ακετόνης με διάφορους άλλους διαλύτες και εκχύλισης υπό πίεση (pressurised liquid extraction, PLE). Το αποτέλεσμα ήταν μία αυτοματοποιημένη

διαδικασία εκχύλισης, γνωστή στο εμπόριο ως ASE, και το κυριότερο, τη μειωμένη έκθεση των αναλυτών σε διαλύτες [15].

Οξικός Αιθυλεστέρας (Ethyl Acetate, EtAc)

Σε αντίθεση με την ακετόνη η οποία εμφανίζει καλή αναμιξιμότητα με το νερό, ο οξικός αιθυλεστέρας (EtAc) δεν είναι αναμιξιμός. Το κύριο πλεονέκτημα του EtAc είναι ότι οι ελάχιστες ποσότητες νερού που παραμένουν στο συνεκχύλισμα μπορούν εύκολα να απομακρυνθούν με τη προσθήκη άνυδρων αλάτων. Συγκριτικά με τους άλλους δύο διαλύτες ο EtAc είναι λιγότερο πολικός, αυτό του δίνει την δυνατότητα να εκχυλίζει πιο αποτελεσματικά μη πολικούς αναλύτες από λιπαρά υποστρώματα (φυτικά ή ζωικά).

Μία από τις πρώτες MRMs, βασισμένες στο EtAc, δημοσιεύτηκε το 1969 από τους Watts *et al.*, όπου προσδιόρισαν αποτελεσματικά 60 διαφορετικά οργανοφωσφορικά από μήλα, καρότα και λαχανίδες [16]. Τα εκχυλίσματα καθαρίστηκαν με ενεργοποιημένο ξυλάνθρακα και ο προσδιορισμός πραγματοποιήθηκε με την χρήση αέρια χρωματογραφίας σε συνδυασμό με ανιχνευτή αζώτου φωσφόρου. Οι Roots *et al.* (1987) χρησιμοποίησαν τον EtAc ως κύριο διαλύτη εκχύλισης για τον προσδιορισμό οργανοχλωριωμένων (OC) και οργανοφωσφορικών (OP) ουσιών σε φρούτα και λαχανικά [17]. Για τον καθαρισμό του εκχυλίσματος χρησιμοποιήθηκε χρωματογραφία πηκτής. Με την μέθοδο αυτή παρατηρήθηκαν παρόμοια επίπεδα ανακτήσεων των ουσιών σε δείγματα δημητριακών με μεθόδους που είχαν σαν δ/τη εκχύλισης την ακετόνη. Οι Fernández-Alba *et al.* (1994), χρησιμοποίησαν EtAc για την εκχύλιση υπολειμμάτων OPs και πυρεθροειδών από φρούτα και λαχανικά. και φυσίγγια silica gel για τον καθαρισμό του εκχυλίσματος. Ο προσδιορισμός των αναλυτών πραγματοποιήθηκε με αέρια χρωματογραφία σε συνδυασμό με ανιχνευτές σύλληψης ηλεκτρονίων (GC-ECD) και φασματομετρία μάζα; (GC/MS) [18].

Στα τέλη της δεκαετίας του '90, οι Obana *et al.*, χρησιμοποίησαν EtAc ως κύριο διαλύτη για την εκχύλιση υπολειμμάτων φ.π., διαφόρων κατηγοριών, από δείγματα φρούτων και λαχανικών. Σε αντικατάσταση του θεικού νατρίου (Na_2SO_4) για την απομάκρυνση της υγρασίας, πρόσθεσαν Aquaparl A3, ένα βιομηχανικό πολυμερές από ακρυλικό οξύ που παρουσιάζει μεγαλύτερη χωρητικότητα σε νερό. Από τις ανακτήσεις 107 αναλυτών (διαφορετικών κατηγορίες) σε διάφορα

υποστρώματα παρατηρήθηκε ότι η μέθοδος παρουσιάζει παρόμοια απόδοση με μεθόδους όπου κύριος διαλύτης εκχύλισης είναι το ακετονιτρίλιο [19].

Ακετονιτρίλιο (Acetonitrile, MeCN)

Το MeCN συγκριτικά με την ακετόνη (acetone) και τον οξικό αιθυλεστέρα (EtAc) παρουσιάζει το μειονέκτημα πως είναι πιο ακριβός διαλύτης και πιο τοξικός. Παρόλα αυτά χρησιμοποιείται συχνότερα διότι έχει υψηλότερη πολικότητα και δίνει καθαρότερα συνεκχυλίσματα (παρασύρει λιγότερα λιπόφιλα υλικά όπως κηρούς, χλωροφύλλες κ.α.).

Η πρώτη πολύ-υπολειμματική μέθοδος ανάλυσης δημοσιεύτηκε το 1963 από τους Mills *et al.* οι οποίοι χρησιμοποίησαν MeCN για την εκχύλιση οργανοχλωριωμένων (OCs) φ.π. από φρούτα και λαχανικά. Στη συνέχεια, στο σχετικά μη-πολικό εκχύλισμα προστέθηκε διάλυμα PE με νερό και κορεσμένο διάλυμα άλατος (NaCl) και ακολούθησε καθαρισμός με φυσίγγια τύπου Florisil. Ο προσδιορισμός των αναλυτών πραγματοποιήθηκε με GC-ECD [20]. Στις αρχές της δεκαετίας του '90 το ακετονιτρίλιο είχε ευρεία εφαρμογή για τον προσδιορισμό περισσότερων από 100 αναλυτών στόχων, από διαφορετικές ομάδες φυτοφαρμάκων (όπως οργανοχλωριωμένα, οργανοφωσφορικά, καρβαμιδικά κ.α.). Πιο συγκεκριμένα, το 1991, οι Ton Joe και Cusick χρησιμοποίησαν το MeCN για τον προσδιορισμό 143 φυτοφαρμάκων από 13 διαφορετικά φυτικά δείγματα [21]. Οι Lee *et al.* (1991) χρησιμοποίησαν την ίδια μέθοδο εκχύλιση με την προσθήκη καθαρισμού με φυσίγγια τύπου C18 [22]. Το 2003, οι Anastassiades *et al.* παρουσίασαν την μέθοδο QuEChERS, η οποία αποτελεί την πιο διαδεδομένη MRM με βάση το MeCN η οποία παρουσιάζει εξαιρετικές ανακτήσεις (>85% για ένα μεγάλο εύρος πολικότητας και τάσης ατμών αναλυτών, δυνατότητα επεξεργασία πολλών δειγμάτων (10-20) σε μικρό χρονικό διάστημα (30-40 min.), μικρή χρήση δ/τη και εργαστηριακού εξοπλισμού [23,24].

2.3. ΥΓΡΗ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ/ ΦΑΣΜΑΤΟΜΕΤΡΙΑ ΜΑΖΩΝ ΧΡΟΝΟΥ ΠΤΗΣΗΣ

Σύντομη ιστορική αναδρομή

Η πρώτη αναφορά του αναλυτή χρόνου πτήσης (Time of Flight, TOF) ως τεχνική διαχωρισμού μαζών έγινε το 1946, ενώ η πρώτη φασματομετρία μάζας χρόνου πτήσης κατασκευάστηκε το 1948 από τους Cameron και Eggers [25]. Η αρχή ήταν δύσκολη καθώς υπήρχαν κάποιοι περιορισμοί που σχετίζονταν με τη διαχωριστική ικανότητα. Η μεγαλύτερη συνεισφορά για τη βελτίωση της διαχωριστικής ικανότητας ήρθε το 1955 από τους Wiley και McLaren, οι οποίοι ασχολήθηκαν εκτενώς με τα προβλήματα που υπήρχαν [26]. Παρά το γεγονός ότι οι θεωρίες τους ήταν ιδιαίτερα πρωτοποριακές για εκείνη την εποχή, η εφαρμογή τους στη πράξη απλά έφερε τη διαχωριστική ικανότητα σε επίπεδο μερικών εκατοντάδων (αναλυτική ισχύ μέχρι περίπου 300). Το πρώτο εμπορικά διαθέσιμο όργανο αναλυτή TOF εμφανίστηκε το 1958 με πολλά προβλήματα όσον αφορά την ευαισθησία και τη διαχωριστική ικανότητα. Για αυτό το λόγο δεν υπήρξε και ιδιαίτερα δημοφιλές. Στα μέσα της δεκαετίας του '60 και ύστερα από την εμφάνιση της ακτινοβολίας λέιζερ να χρησιμεύει για τον ιοντισμό των μορίων, χωρίς βέβαια να μπορούν να ξεπεραστούν οι καθιερωμένες τεχνικές (τετραπολικά φασματομέτρα μαζών), τα συστήματα TOF αρχίζουν να κερδίζουν έδαφος [27].

Τη δεκαετία του '90 έρχεται η επανάσταση στη φασματομετρία μαζών χρόνου πτήσης με την εισαγωγή μιας νέας πηγής ιοντισμού, ο ιοντισμός εκφόρησης με τη βοήθεια υλικού μήτρας (Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization, MALDI). Ο ιοντισμός αυτού του τύπου είναι κατάλληλος για την ανίχνευση μεγαλομορίων, όπως πρωτεΐνες, πεπτίδια έως και αλληλουχίες DNA. Έτσι τα επόμενα χρόνια υπήρξαν πολλές εφαρμογές της τεχνικής MALDI –TOF για αναλύσεις μεγάλης μοριακής μάζας. Τα συστήματα υγρής χρωματογραφίας με διασυνδεδετή ηλεκτροδιάχυσης (Electrospray Ionization, ESI) και αναλυτή μαζών χρόνου πτήσης σε ορθογώνια διάταξη (ESI-orthogonal-TOF/MS) έχουν καθιερωθεί και χρησιμοποιούνται ευρέως για στοχευμένες (target) και για μη στοχευμένες αναλύσεις (non-target). Η συγκεκριμένη τεχνική είναι κατάλληλη και για τον προσδιορισμό άγνωστων ουσιών (unknown compound analysis). Αυτό οφείλεται στο ότι ο αναλυτής μαζών (TOF) λειτουργεί αποκλειστικά σε συνθήκες πλήρους σάρωσης (full scan spectrum) καθ όλη τη διάρκεια του χρωματογραφήματος, καθώς και στο γεγονός πως είναι παλμικός ανιχνευτής επιτρέποντας έτσι την αποθήκευση μεγάλου όγκου δεδομένων [28, 29].

Θεωρία λειτουργίας αναλυτή χρόνου πτήσης

Ο χρόνος πτήσης για κάθε ιόν καθορισμένου λόγου μάζας προς φορτίο (m/z) είναι μοναδικός. Ύστερα από την εφαρμογή υψηλού δυναμικού στον παλμικό επιταχυντή ιόντων (pulser), ξεκινά η διαδρομή για κάθε ιόν και τελειώνει όταν αυτό προσκρούσει στον ανιχνευτή. Ο χρόνος πτήσης (t) καθορίζεται από την ενέργεια με την οποία επιταχύνεται ένα ιόν, την απόσταση (d) που έχει διανύσει και τη μάζα του (αναφερόμενοι πάντα στο λόγο μάζα/φορτίο) [30].

Πιο συγκεκριμένα, η κινητική ενέργεια ενός αντικειμένου (ή ιόντος) είναι ανάλογη της μάζας του (m) και του τετραγώνου της ταχύτητάς του (v) και δίνεται από την παρακάτω εξίσωση:

$$E = \frac{1}{2} mv^2$$

Λύνοντας ως προς m προκύπτει

$$m = 2E/v^2$$

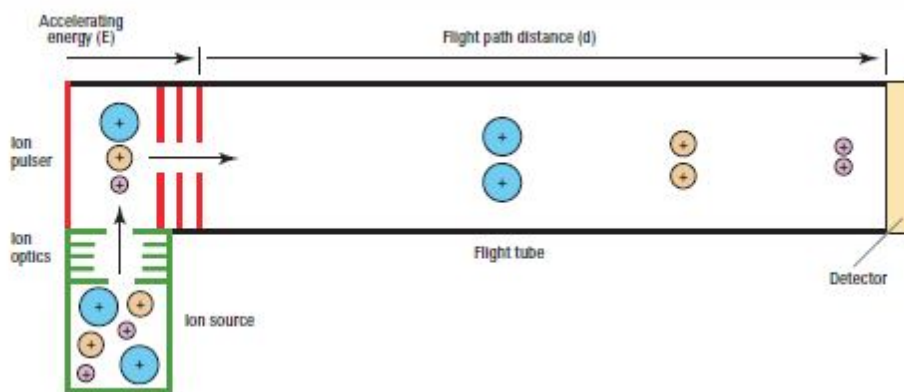
όμως η ταχύτητα (v) ενός αντικειμένου ορίζεται ως το πηλίκο της απόστασης (d) προς το χρόνο (t)

$$v = d/t$$

συνδυάζοντας τις παραπάνω εξισώσεις και επειδή αναφερόμαστε στο λόγο μάζα προς φορτίο ενός ιόντος προκύπτει

$$m/z = (2E/d^2) t^2$$

Συμπερασματικά προκύπτει ότι για δεδομένη κινητική ενέργεια (E), οι μικρές μάζες θα έχουν μεγαλύτερη κινητική ταχύτητα, ενώ αντίθετα οι μεγαλύτερες μάζες μικρότερη ταχύτητα. Έτσι, ιόντα με μικρές μάζες φτάνουν στον ανιχνευτή σε μικρότερο χρονικό διάστημα όπως φαίνεται και στην εικόνα που ακολουθεί (**Εικόνα 2.3**).



Εικόνα 2.3 Μονοφορτισμένα ιόντα διαφορετικών μαζών καθώς διανύουν έναν σωλήνα πτήσης ιόντων χωρίς καθρέπτη ιόντων (απλουστευμένη μορφή).

Για τον σχεδιασμό τις φασματομέτρου μαζών χρόνου πτήσης σε ορθογώνια διάταξη έχει γίνει μεγάλη προσπάθεια για τη διατήρηση σταθερής τις κινητικής ενέργειας που εφαρμόζεται και στην απόσταση που πρέπει να διανύσουν τα ιόντα ώστε η μέτρηση του χρόνου πτήσης να δώσει και ακριβή μέτρηση μάζας.

Έτσι, διατηρώντας σταθερές αυτές τις παραμέτρους (κινητική ενέργεια (E) και απόσταση (d)) προκύπτει ότι:

$$m/z = A (t)^2$$

Η παραπάνω σχέση αποτελεί μία ιδανική εξίσωση που δεν υφίσταται. Στη πραγματικότητα, υπάρχει μία χρονική καθυστέρηση από τη στιγμή που τα ηλεκτρικά κυκλώματα στέλνουν παλμικές ωθήσεις (pulses) μέχρι τη στιγμή που το δυναμικό αυτό φτάνει στον παλμικό επιταχυντή ιόντων (ion pulser plates). Υπάρχει ακόμη μία χρονική καθυστέρηση από τη στιγμή που τα ιόντα φτάσουν στον ανιχνευτή μέχρι την ψηφιοποίηση του σήματος που παράγεται από την άφιξή τις. Οι χρονικές αυτές καθυστερήσεις είναι πολύ μικρές που τις δεν μπορούν να χαρακτηριστούν ως ασήμαντες. Έτσι, για να υπολογιστεί ο ακριβής χρόνος πτήσης (t) πρέπει από τον μετρούμενο χρόνο πτήσης τις να αφαιρεθούν οι παραπάνω καθυστερήσεις (t_0), ως εξής:

$$t = t_m - t_0$$

οπότε και έχουμε :

$$m/z = A (t_m - t_0)^2$$

Βαθμονόμηση μαζών

Για τον ακριβή προσδιορισμό τις μάζας τις ιόντος από τον μετρούμενο χρόνο πτήσης τις θα πρέπει πρώτα να προσδιοριστούν οι όροι A και t_0 από την προηγούμενη εξίσωση ($m/z = A (t_m - t_0)^2$), για το λόγο αυτό και πραγματοποιείται βαθμονόμηση μαζών (mass calibration). Κατά τη διαδικασία τις βαθμονόμησης χρησιμοποιείται μίγμα ουσιών των οποίων οι ακριβείς μάζες είναι γνωστές. Στον πίνακα που ακολουθεί αναγράφονται οι ακριβείς μάζες (m/z) των ουσιών του μίγματος καθώς και οι χρόνοι πτήσης τις για την κάθε ουσία (**Πίνακας 2.3**) [31].

Μάζες ουσιών βαθμονόμησης (u)	Χρόνος πτήσης (μsec)
118,0863	20,79841
322,0481	33,53829
622,0290	46,12659
922,0098	55,88826
1521,9710	71,45158
2121,9330	84,14302
2721,8950	95,13425

Πίνακας 2.3 Ακριβείς μάζες των ουσιών που χρησιμοποιήθηκαν για τη βαθμονόμηση και οι ακριβείς χρόνοι πτήσης τις.

Κατά συνέπεια, έχοντας τις τιμές τις ακριβής μάζας και χρόνου πτήσης των ουσιών αυτών, πραγματοποιούνται υπολογισμοί μέσω του λογισμικού ώστε να προσδιορισθούν οι βέλτιστες τιμές των A και t_0 . Μέσω τις αλγόριθμοι, στον οποίο δίνοντας διαφορετικές τιμές κάθε φορά για τις δύο αυτές παραμέτρους (A και t_0) προκύπτει και η λύση τις εξίσωσης :

$$m/z = A (t_m - t_0)^2$$

και για τις 7 μάζες του μίγματος βαθμονόμησης.

Παρόλο που αυτή η προσέγγιση για τον υπολογισμό των A και t_0 θεωρείται εξαιρετικά ακριβής, τις φορές δεν μπορεί να δώσει και τη μέγιστη ακρίβεια μάζας. Οπότε με μία ακόμα βαθμονόμηση, αφού έχουν οριστεί τα A και t_0 , υπολογίζεται η ακρίβεια μάζας των ουσιών του μίγματος και κατόπιν η διαφορά που προκύπτει από τις θεωρητικές μάζες τις. Η διαφορά τις συνήθως κυμαίνεται σε λίγα ppm. Αν και πάλι το σφάλμα που προκύπτει είναι εκτός των αποδεκτών ορίων τότε πραγματοποιείται μία ακόμα βαθμονόμηση. Το σφάλμα που προκύπτει από τις δύο βαθμονομήσεις δεν πρέπει να είναι μεγαλύτερο από 1 ppm [30].

Διόρθωση ακρίβειας μάζας με τη χρήση διαλύματος αναφοράς

Για τον προσδιορισμό ουσιών με χρήση φασματομετρίας μαζών χρόνου πτήσης στόχος είναι η μέτρηση της ακριβούς μάζας των ουσιών (όριο τα 5 ppm) καθώς και της διαχωριστικής ικανότητας (resolving power) (τουλάχιστον 10.000). Οπότε για την επίτευξη ικανοποιητικής ακρίβειας μάζας μια βαθμονόμηση δεν αρκεί, καθώς για την παραμικρή διακύμανση στην εφαρμοζόμενη ενέργεια των ιόντων μπορεί να προκαλέσει μεγάλη διολίσθηση στο προσδιοριζόμενο σφάλμα της ακρίβειας μάζας. Για αυτόν ακριβώς το λόγο χρησιμοποιούνται διαλύματα αναφοράς (reference

solutions) καθ' όλη τη διάρκεια της χρωματογραφίας. Τα διαλύματα αναφοράς περιέχουν ενώσεις γνωστής μάζας και εισάγονται (συνήθως) με έναν δεύτερο εκνεφωτή μαζί με το δείγμα στη πηγή ιόντων σε κάθε χρωματογραφική ανάλυση. Με αυτό τον τρόπο βελτιστοποιούνται εκ νέου οι παράμετροι λ και t_0 για να χρησιμοποιηθούν στον προσδιορισμό της ακρίβειας μάζας των άγνωστων ουσιών στόχων.

3. ΕΠΙΚΥΡΩΣΗ ΜΕΘΟΔΩΝ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ

Η αξιοπιστία και η καταλληλότητα μιας μεθόδου για το σκοπό για τον οποίο προορίζεται (fitness for purpose) εξασφαλίζεται μέσω της διαδικασίας της επικύρωσης (validation). Η πλήρης επικύρωση μιας μεθόδου πραγματοποιείται αξιολογώντας την ορθότητα, τη πιστότητα, την ευαισθησία, την εξειδίκευσή της και την ανθεκτικότητα της.

3.1 Ορθότητα – Πιστότητα

Η ορθότητα αναφέρεται στη διαφορά της μέσης τιμής \bar{x} - μ (σφάλμα), μεταξύ της μέσης τιμής \bar{x} , μιας σειράς μετρήσεων και της αληθούς τιμής μ της μετρούμενης ποσότητας.

Η ορθότητα εκφράζεται ως εξής

$$\frac{100 * (\bar{x} - \mu)}{\mu}$$

Η ανάκτηση υπολογίζεται από τον λόγο των τιμών των συγκεντρώσεων που μετρήθηκαν κατά τον προσδιορισμό σε εμβολιασμένα δείγματα (προσθήκη γνωστής ποσότητας του αναλύτη σε δείγματα μάρτυρα) και των συγκεντρώσεων εμβολιασμού. Για την εκτίμηση της ορθότητας της μεθόδου απαιτούνται τουλάχιστον πέντε επαναλήψεις για κάθε επίπεδο μέτρησης [32].

Η πιστότητα εκφράζει τη συμφωνία μεταξύ των επαναλαμβανομένων αποτελεσμάτων της μεθόδου και αποτελεί μέτρο της διασποράς μιας σειράς μετρήσεων. Ως μέτρο της επαναληψιμότητας χρησιμοποιείται η τυπική σχετική απόκλιση (relative standard deviation, SDr) και δίνεται από τον τύπο :

$$SDr(\%) = 100 * \frac{s}{\bar{x}}$$

Όπου s είναι η τυπική απόκλιση των μετρήσεων και \bar{x} ο μέσος όρος των μετρήσεων [33].

Η πιστότητα μιας μεθόδου εκτιμάται με τη μελέτη της ενδοεργαστηριακής επαναληψιμότητας, η οποία αποτελεί το μέτρο της διασποράς των αποτελεσμάτων διαδοχικών ελέγχων στο ίδιο δείγμα, που εκτελούνται κάτω από τις ίδιες συνθήκες (ίδια μέθοδος, ίδιος αναλυτής, ίδια συσκευή, ίδιο εργαστήριο και ίδια μέρα).

3.2 Γραμμικότητα

Η γραμμικότητα πρέπει να ελέγχεται σε όλο το εύρος της περιοχής μιας αναλυτικής μεθόδου. Αποδεικνύεται με την εξέταση του διαγράμματος της απόκρισης του ανιχνευτή ως συνάρτηση της συγκέντρωσης του αναλύτη. Από το συγκεκριμένο διάγραμμα υπολογίζεται η εξίσωση της ευθείας παλινδρόμησης (regression line) με τη μέθοδο των ελαχίστων τετραγώνων (least square method). Η κατασκευή του διαγράμματος πραγματοποιείται με μια σειρά εγχύσεων προτύπων δ/των σε υπόστρωμα σε διάφορες συγκεντρώσεις, ανάλογα με το εύρος της μεθόδου. Οι καμπύλες παλινδρόμησης χρησιμοποιούνται για τον υπολογισμό της άγνωστης συγκέντρωσης C_{pred} ενός αναλύτη σε ένα δείγμα στο οποίο παρουσιάζεται κορυφή με επιφάνεια y_{obs} . Η συγκέντρωση C_{pred} υπολογίζεται από τον τύπο :

$$C_{pred} = (y_{obs} - a) / b$$

Ο υπολογισμός της αβεβαιότητας (S_u) προσδιορισμένης συγκέντρωσης που προκύπτει από την χρήση της γραμμής παλινδρόμησης, υπολογίζεται από τον τύπο :

$$S_u = \frac{S_{Areal/C}}{b}$$

Όπου $S_{Areal/C} = \sqrt{\frac{\sum_i (y_i - \bar{y})^2}{n-2}}$, n είναι ο αριθμός των σημείων της γραμμής παλινδρόμησης, $(y_i - \bar{y})$ είναι το y -υπόλειμμα το οποίο αντιστοιχεί στο i^{th} σημείο και b η κλίση της ευθείας παλινδρόμησης [33].

Η συνεισφορά της αβεβαιότητας της καμπύλης βαθμονόμησης στη συνολική αβεβαιότητα της μεθόδου υπολογίζεται για το μεσαίο σημείο της καμπύλης για κάθε αναλύτη ξεχωριστά.

3.3 Όριο Ποσοτικοποίησης (LOQ)

Το όριο ποσοτικοποίησης προσδιορίζεται ως το ελάχιστο επίπεδο συγκέντρωσης στο οποίο ο αναλύτης μπορεί να προσδιοριστεί αξιόπιστα (με αποδεκτή ορθότητα και πιστότητα). Η παράμετρος η οποία ελέγχθηκε είναι το σήμα/θόρυβος (S/N). Για το LOQ πρέπει να ισχύει $S/N \geq 10$.

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η ανάπτυξη και επικύρωση μιας πολυδύναμης μεθόδου σάρωσης και ποσοτικοποίησης των υπολειμμάτων των φυτοπροστατευτικών προϊόντων σε φυτικά προϊόντα με υψηλή περιεκτικότητα σε νερό, με τη χρήση συστήματος LC-TOF.

Όσον αφορά την απαραίτητη οργανολογία, θα πρέπει να επισημανθεί ότι υπάρχει διαθέσιμο σύστημα υγρής χρωματογραφίας (LC) με διασυνδεδετή ηλεκτροψεκασμού (Electron Spray Ionization, ESI) και αναλυτή χρόνου πτήσης σε ορθογώνια διάταξη (ESI-orthogonal- TOF/MS), το οποίο έχει την ικανότητα να παράγει δεδομένα με επαρκή ακρίβεια και επαναληψιμότητα έτσι ώστε να είναι δυνατή η τεκμηρίωση της στοιχειακής ανάλυσης ενός μικρομοριακού αναλύτη. Ο συνδυασμός μέτρησης της ακριβούς μάζας με την τεχνική ESI-orthogonal-TOF/MS και υγρής χρωματογραφίας χρησιμοποιείται είτε για τον προσδιορισμό της ταυτότητας μιας ουσίας σε σύνθετα μίγματα ή τον προσδιορισμό μεταβολιτών και προϊόντων διάσπασης, ακόμη και χωρίς τη χρήση αναλυτικών προτύπων (κάτω από συγκεκριμένες προϋποθέσεις).

Η παραπάνω τεχνική είναι κατάλληλη για στοχευμένη και μη στοχευμένη ανάλυση, αλλά και για τον προσδιορισμό άγνωστων ουσιών, αφού ο αναλυτής μαζών TOF λειτουργεί αποκλειστικά σε συνθήκες πλήρους σάρωσης καθ' όλη τη διάρκεια του χρωματογραφήματος. Επιπλέον διαθέτει έναν παλμικό ανιχνευτή που επιτρέπει την αποθήκευση μεγάλου όγκου δεδομένων καθώς και την ανακατασκευή του χρωματογραφήματος για όποιο ιόν (m/z) επιλέξει ο χρήστης.

Στο πλαίσιο εκπόνησης της παρούσας εργασίας επιλέχθηκαν μια σειρά από ενώσεις-στόχοι, για τις οποίες υπολογίστηκε η θεωρητική μάζα των μοριακών ιόντων καθώς και των αντίστοιχων ιόντων θραυσματοποίησης. Στη συνέχεια, ακολούθησε η βελτιστοποίηση των παραμέτρων για τις ενώσεις που επιλέχθηκαν και με τα στοιχεία που είχαν συλλεχθεί (μοριακά ιόντα, ιόντα θραυσματοποίησης, χρόνος κατακράτησης κ.α.) κατασκευάστηκε μια βάση δεδομένων. Τέλος, έγινε η επικύρωση της μεθόδου διαλογής με τη χρήση της βάσης δεδομένων που κατασκευάστηκε.

2. ΠΡΟΤΥΠΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ ΚΑΙ ΠΡΟΤΥΠΑ ΔΙΑΛΥΜΑΤΑ

Οι δραστικές ενώσεις που χρησιμοποιήθηκαν για την διενέργεια των πειραμάτων, ορισμένες φυσικοχημικές τους ιδιότητες καθώς και η χημική ομάδα στην οποία ανήκουν αλλά και ο τρόπος δράσης τους, συνοψίζονται στους **Πίνακες 2.1, 2.2 του Παραρτήματος**. Όλες τα πρότυπα μόρια συνοδεύονταν από πιστοποιητικό ανάλυσης και ήταν επισημασμένες με ημερομηνία λήξης.

Παρασκευάστηκαν πρότυπα δ/τα παρακαταθήκης (stock standard solutions) ως εξής: Μια καθορισμένη με ζυγό ακριβείας ποσότητα από κάθε πρότυπο μόριο διαλυτοποιήθηκε σε κατάλληλο διαλύτη υψηλής καθαρότητας (για την κάθε δραστική ουσία) έτσι ώστε να επιτευχθεί τελική συγκέντρωση 1 mg/L (1000 ppm). Τα διαλύματα αυτά διατηρήθηκαν υπό ψύξη έως τη χρησιμοποίησή τους.

Στη συνέχεια, με κατάλληλες αραιώσεις των προτύπων διαλυμάτων παρακαταθήκης παρασκευάστηκαν τα πρότυπα διαλύματα εργασίας (working standards solutions) συγκέντρωσης 0.01 mg/L σε νερό-μεθανόλη (50:50 v/v). Τα διαλύματα αυτά χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό των θραυσμάτων στο φασματογράφο μάζας καθώς και των βέλτιστων συνθηκών ιοντισμού. Τέλος, παρασκευάστηκε ένα πρότυπο διάλυμα συγκέντρωσης 0.01 mg/L απαρτιζόμενο από μίγμα όλων των προτύπων μορίων για τον εμβολιασμό των υποστρωμάτων κατά την επικύρωση της μεθόδου.

Για την εκτίμηση της γραμμικότητας της μεθόδου παρασκευάστηκαν μίγματα προτύπων διαλυμάτων με όλες τις ουσίες σε συγκεντρώσεις 0.05, 0.025, 0.01, 0.1 και 0.2 μg/L σε νερό-μεθανόλη, 50:50 v/v.

3. ΔΙΑΛΥΤΕΣ ΚΑΙ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Οι διαλύτες και τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν κατά την πειραματική διαδικασία, η καθαρότητά τους καθώς και η εταιρεία προέλευσης παρουσιάζονται στους παρακάτω πίνακες.

Πίνακας 3.1 Οι διαλύτες που χρησιμοποιήθηκαν, η καθαρότητα τους και η εταιρεία προέλευσής τους.

Διαλύτης	Καθαρότητα	Προέλευση
Μεθανόλη	HPLC	Fisher Scientific
Ακετονιτρίλιο	HPLC	Fisher Scientific
Νερό	HPLC	Fisher Scientific

Πίνακας 3.2 Τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν, η καθαρότητα τους και η εταιρεία προέλευσής τους.

Αντιδραστήριο	Καθαρότητα	Προέλευση
Μυρμηκικό αμμώνιο		Fluka Analytical
Μυρμηκικό οξύ,		Fluka Analytical
NaCl	≥ 99,0%	Sigma – Aldrich

4. ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΣ ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ

Για την προετοιμασία των υποστρωμάτων κ την παρασκευή των διαλυμάτων που χρησιμοποιήθηκαν κατά την επικύρωση, χρησιμοποιήθηκαν οι παρακάτω συσκευές:

- Μηχανικές πιπέττες των 10-100 µL, 20-200 µL, 100-1000 µL, 0,5-5 mL, Transferpette
- Φιάλες φυγοκέντρου από Teflon των 50 mL με βιδωτό πόμα (NALGENE)
- Ηλεκτρονικός ζυγός με ακρίβεια δύο δεκαδικών ψηφίων (KERN, PLS2100-2)
- Φυγόκεντρος (ROTINA 380 max speed 15000 στροφές/min Hettich Zentrifugen)
- Φίλτρα τύπου syringe filter PTFE με διάμετρο πόρων 0,45 µm της εταιρείας Rerstek
- Σκουρόχρωμα πλαστικά φιαλίδια αυτόματου δειγματολήπτη χωρητικότητας 2Μl

- Ογκομετρικές φιάλες κατηγορίας ClassA
- Αναλυτικός ζυγός ακρίβειας τεσσάρων δεκαδικών ψηφίων

5. ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΜΕΘΟΔΟΥ ΚΑΤΕΡΓΑΣΙΑΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

Η μέθοδος QuEChERS είναι μια από τις πιο διαδεδομένες MRMs για τον προσδιορισμό υπολειμμάτων φ.π. σε φυτικά δείγματα. Η μέθοδος περιλαμβάνει την εκχύλιση των αναλυτών από τους φυτικούς ιστούς με ακετονιτρίλιο, ρύθμιση του pH και στην συνέχεια καθαρισμό του εκχυλίσματος με προσθήκη πρωτοταγούς-δευτεροταγούς αμίνης. Υπάρχουν διάφορες παραλλαγές της μεθόδου στην βιβλιογραφία., στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιήθηκε το πρωτόκολλο της μεθόδου όπως περιγράφεται ακολούθως [23]:

1. Σε φιάλη φυγοκέντρου από Teflon των 50ml ζυγίστηκε μάζα δείγματος (m_s). Σε περίπτωση που έχουμε τροφές με μεγάλη περιεκτικότητα σε νερό (>80%), η μάζα του δείγματος προς ανάλυση είναι $10 \pm 0,1$ g.
2. Στα 10 g δείγματος προστίθενται 10 ml ακετονιτρίλιο κ ακολουθεί έντονη ανακίνηση για 1 λεπτό με το χέρι.
3. Στη συνέχεια προστίθενται μίγμα αλάτων και ακολουθεί έντονη ανακίνηση με το χέρι για 1 λεπτό.

Το μίγμα αλάτων περιέχει τα εξής:

- ✓ $4,0g \pm 0.2$ g Άνυδρου θειικού μαγνησίου
- ✓ $1,0g \pm 0.05$ g Χλωριούχου νατρίου
- ✓ $1,0 g \pm 0.05$ g Διωδρικού κιτρικού τρινατρίου
- ✓ $0,5 g \pm 0.03g$ Όξινου κιτρικού δινατρίου * $1 \frac{1}{2} H_2O$

4. Πωματίζεται η φιάλη και το δείγμα φυγοκεντρείται στις 4000 rpm για 5 λεπτά.
5. Μετά τη φυγοκέντρωση παραλαμβάνονται 6 ml από το υπερκείμενο υγρό και μεταφέρονται σε φιάλη φυγοκέντρου από Teflon των 15ml η οποία κ περιέχει 150 mg PSA και 900 mg $MgSO_4$.
6. Ακολουθεί έντονη ανακίνηση με το χέρι για 1 λεπτό.
7. Η φιάλη με το δείγμα, φυγοκεντρείται στις 4000 στροφές για 5 λεπτά.
8. 5 ml από το υπερκείμενο υγρό μεταφέρονται σε φιαλίδιο των 8 ml.

9. Το δείγμα διηθείται από φίλτρο τύπου syringe filter 0.45 µm μέσα σε φιαλίδιο των 2 ml, πωματίζεται με πόμα PTFE και εγχύεται στο σύστημα LC-TOF/MS.

6. ΥΓΡΗ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΣΕ ΣΥΝΔΥΑΣΜΟ ΜΕ ΦΑΣΜΑΤΟΜΕΤΡΙΑ ΜΑΖΩΝ ΧΡΟΝΟΥ ΠΤΗΣΗΣ ΙΟΝΤΩΝ (LC-TOF)

Επιλογή χρωματογραφικών συνθηκών

Ο διαχωρισμός των φυτοπροστατευτικών προϊόντων από τα συνεκχυλίσματα πραγματοποιήθηκε με τη χρήση συστήματος υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης (HPLC). Το σύστημα αποτελείται από:

- Έναν αυτόματο δειγματολήπτη
- Μία αντλία (binary pump – Agilent series 6200)
- Στήλη POLARISC18-Αμήκους 15 cm και εσωτερικής διαμέτρου 2,1 mm και διάμετρο πόρων 5 µm

Σε κάθε χρωματογραφική ανάλυση εγχύονται 10 µl από το εκχύλισμα του δείγματος.

Οι κινητές φάσεις που χρησιμοποιήθηκαν ήταν οι εξής :

- **A1:** H₂O (100%), μυρμηκικό οξύ 0,1%, μυρμηκικό αμμώνιο 5 mM, 0,2% ACN
- **B1:** MeOH (100%), μυρμηκικό οξύ 0,1 %, μυρμηκικό αμμώνιο 5 mM

Το χρωματογραφικό πρόγραμμα βαθμιδωτής έκλουσης που ακολουθήθηκε είχε ως εξής:

Για τα 2 πρώτα λεπτά η κινητή φάση ήταν 30% διαλύτης B.

Από τα 2 έως και τα 12 λεπτά γραμμική αύξηση έως 60% για το διαλύτη B.

Τέλος, από τα 12 λεπτά έως τα 30 ο διαλύτης B αυξήθηκε γραμμικά στο 100% και κρατήθηκε σταθερός μέχρι τα 35 λεπτά όπου και ολοκληρώνεται η χρωματογραφία.

Ο χρόνος εξισορρόπησης είναι 10 λεπτά.

Χαρακτηριστικά LC-TOF/MS/ESI (+)

Το συγκεκριμένο σύστημα υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης συνδέεται με φασματομετρικό αναλυτή χρόνου πτήσης Agilent MSD TOFεφοδιασμένο με πηγή ηλεκτροψεκασμού, ο οποίος λειτουργεί με θετικό ιοντισμό και έχει τις παρακάτω παραμέτρους ρυθμισμένες ως εξής:

- ✓ Τάση τριχοειδούς στήλης : 4000 V
- ✓ Πίεση αερίου εκνέφωσης : 40 psi
- ✓ Ροή αερίου ξήρανσης 9 L/min
- ✓ Θερμοκρασία αερίου ξήρανσης 300° C
- ✓ Τάση αποκορυφωτή 60V
- ✓ Τάση θραυσματοποιητή να μεταβάλλεται ανάλογα με τη βέλτιστη τιμή
- ✓ Το φάσμα μαζών είχε ρυθμιστεί να καταγράφει μάζες από 100 – 1000 m/z (σε περίπτωση που αναμένονται θραύσματα μικρότερα από 100 m/z)

Έλεγχος καταλληλότητας του συστήματος

Κατά τη διάρκεια της συγκεκριμένης μελέτης χρησιμοποιήθηκε μία μεθοδολογία για τον καθημερινό έλεγχο του συστήματος με τη χρήση της φυτοπροστατευτικής ουσίας ατραζίνη ($C_8H_{14}ClN_5$), προσαρμοσμένη στη λογική, στις απαιτήσεις αλλά και στο τρόπο λειτουργίας του συστήματος LC-TOF/MS/ESI(+).

Κάθε μέρα που γινόταν χρήση του συστήματος πραγματοποιούταν βαθμονόμηση μαζών (calibration) και ρύθμιση (tuning). Στη συνέχεια γινόταν έγχυση 10μl διαλύματος της πρότυπης ουσίας σε συγκέντρωση 0,001 μg/L. Το συγκεκριμένο διάλυμα παρασκευάζεται από πυκνότερο 0,01 μg/L, το οποίο και ανανεωνόταν κάθε μήνα. Όμως και αυτό παρασκευαζόταν από ένα ακόμα πυκνότερο διάλυμα συγκέντρωσης 0.1 μg/L που είχε διάρκεια ζωής 6 μήνες.

7. ΒΕΛΤΙΣΤΟΠΟΙΗΣΗ ΤΩΝ ΠΑΡΑΜΕΤΡΩΝ

Πριν καθοριστούν οι τελικές παράμετροι με τις οποίες θα γινόταν ο έλεγχος καταλληλότητας του χρωματογραφικού συστήματος, πραγματοποιήθηκαν δοκιμές ώστε να γίνει η επιλογή της βέλτιστης χρωματογραφίας για τον ταυτόχρονο προσδιορισμό των ουσιών και των ιόντων τους. Τέτοιες παράμετροι, που επηρεάζουν την απόκριση του συστήματος για την υπό μελέτη ουσία είναι το δυναμικό που εφαρμόζεται στην αρχή (V_{cap}) και στο τέλος (fragmentor voltage) της τριχοειδούς στήλης, η θερμοκρασία της στήλης και η κινητή φάση.

Θερμοκρασία στήλης

Κατά κανόνα, στην υγρή χρωματογραφία, αύξηση της θερμοκρασίας της στήλης έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση του χρόνου κατακράτησης μιας ουσίας. Όμως αν μια ουσία είναι θερμοευαίσθητη είναι πολύ πιθανόν να επηρεαστεί και να διασπαστεί. Αλλά και κάποιες ουσίες που έχουν πολύ κοντινούς χρόνους κατακράτησης πιθανόν να μην διαχωριστούν επαρκώς.

Έτσι σε θερμοκρασία 30°C παρατηρήθηκε χρόνος κατακράτησης 15,8 min. Σε θερμοκρασία 60°C ο χρόνος κατακράτησης μειώθηκε στα 14,2 min. Η αύξηση της θερμοκρασίας επέφερε μείωση στο χρόνο κατακράτησης, όμως η διαφορά δεν ήταν ικανοποιητική οπότε και καταλήξαμε στη θερμοκρασία των 30°C ($30 \pm 4^\circ\text{C}$).

Κινητή φάση

Εξετάστηκαν δύο προγράμματα βαθμιδωτής έκλουσης. Αρχικά, ως κινητή φάση, χρησιμοποιήθηκε νερό με μεθανόλη ($\text{H}_2\text{O} : \text{MeOH}$) και η ατραζίνη μας έδωσε μία ‘καλή’ κορυφή στα 15,8 min. Όμως θέλαμε μικρότερο χρόνο κατακράτησης και έτσι οδηγηθήκαμε στη χρησιμοποίηση νερό με ακετονιτρίλιο ($\text{H}_2\text{O} : \text{ACN}$) ως κινητή φάση. Πράγματι πετύχαμε πολύ μικρότερο χρόνο ανάλυσης, στα 7,2 min, αλλά είχαμε πολύ κακή κορυφή.

Όμως λόγω κακής συμμετρίας κορυφής, τοξικότητας του ακετονιτρίλιου σε σχέση με τη μεθανόλη, η περιορισμένη διαθεσιμότητά του και το υψηλό κόστος του διαλύτη, μας οδήγησαν στην επιλογή του $\text{H}_2\text{O} : \text{MeOH}$ ως κινητή φάση.

✓ Ροή κινητής φάσης : 0,2 mL/min

Συνοπτικά

Ύστερα από διερεύνηση, επιλέχθηκαν οι εξής παράμετροι για τον προσδιορισμό της ατραζίνης:

- Θερμοκρασία στήλης : 30°C ($30 \pm 4^\circ\text{C}$)
- V_{cap} : 4000V

- Δυναμικό θραυσματοποίησης : 200V
- Κινητή φάση :

A	B
H ₂ O (100%)	MeOH (100%)
HCOOH(0.1%)	HCOOH(0.1%)
HCOONH ₄ (5mM)	HCOONH ₄ (5mM)
0,02% ACN	

8. ΕΠΙΚΥΡΩΣΗ ΜΕΘΟΔΟΥ

8.1 ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΟΡΘΟΤΗΤΑΣ

Η ακρίβεια (accuracy) της μεθόδου αποτελεί έννοια άμεσα συνυφασμένη με την ορθότητα.

Πιο συγκεκριμένα, η ακρίβεια αφορά τη διαφορά μεταξύ του μέσου όρου μιας σειράς μετρήσεων και της τιμής που γίνεται αποδεκτή ως αληθής ή ορθής τιμής της μετρούμενης ποσότητας. Η αληθής τιμή ορίζεται:

- a. Ως η ποσότητα που προστίθεται σε εμβολιασμένο δείγμα
- b. Από τα αποτελέσματα άλλων μεθόδων (γνωστής ορθότητας και ακρίβειας)
- c. Από το υλικό αναφοράς (γνωστής και αποδεκτής σύνθεσης).

Οι κυριότεροι περιορισμοί στην ακρίβεια προέρχονται από:

- a) Τα τυχαία σφάλματα και
- b) Τα συστηματικά σφάλματα της αναλυτικής μεθόδου.

Μία ακριβής μέτρηση θεωρείται αυτή που στερείται συστηματικού σφάλματος και είναι επαναλήψιμη.

Η ακρίβεια της μεθόδου μπορεί να εκφραστεί ως η επί τις εκατό (%) ανάκτηση (%Recovery) της γνωστής ποσότητας των υπό προσδιορισμό ουσιών που προστέθηκε στο δείγμα. Η επί τις εκατό ανάκτηση υπολογίζεται από τον τύπο:

$$\% R = (C_{\text{πειρ}} / C_{\text{εμβ}}) \times 100$$

Όπου:

$C_{\text{πειρ}}$: η συγκέντρωση της υπό προσδιορισμό ουσίας στο εμβολιασμένο δείγμα

$C_{\text{εμβ}}$: η συγκέντρωση εμβολιασμού

Η τεχνική που χρησιμοποιήθηκε για τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης των ουσιών στα εμβολιασμένα δείγματα ($C_{\text{πειρ}}$) είναι η τεχνική του εγκλωβισμού (bracketing). Σύμφωνα με την τεχνική αυτή η επιφάνεια της κορυφής κάθε ουσίας του εκλούσματος του εμβολιασμένου δείγματος «εγκλωβίζεται» ανάμεσα στις δύο πιο κοντινές τιμές των επιφανειών των κορυφών που δίνουν δύο πρότυπα διαλύματα.

Η ακρίβεια στις μεθόδου εξετάστηκε σε δύο επίπεδα συγκέντρωσης των αναλυτών που μελετήθηκαν, σε τέσσερα διαφορετικά υποστρώματα.

8.2 ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΠΙΣΤΟΤΗΤΑΣ

Η πιστότητα εκφράζει τη συμφωνία μεταξύ των επαναλαμβανόμενων αποτελεσμάτων της μεθόδου και αποτελεί μέτρο της διασποράς μιας σειράς μετρήσεων είτε μεταξύ δυο μετρήσεων ή μέσα στην ίδια σειρά μετρήσεων. Ως μέτρο της επαναληψιμότητας χρησιμοποιείται η σχετική τυπική απόκλιση (relative standard deviation, SDr) η οποία δίνεται από τον τύπο [33]:

$$SDr(\%) = 100 * \frac{s}{\bar{x}}$$

Όπου s είναι η τυπική απόκλιση των μετρήσεων και ο \bar{x} μέσος όρος των μετρήσεων.

Η πιστότητα μιας μεθόδου εκτιμάται μελετώντας την ενδοεργαστηριακή επαναληψιμότητα, η οποία αποτελεί το μέτρο της διασποράς των αποτελεσμάτων διαδοχικών ελέγχων στο ίδιο δείγμα, που εκτελούνται κάτω από τις ίδιες συνθήκες, δηλαδή ίδια μέθοδος, ίδιος αναλυτής, ίδια συσκευή, ίδιο εργαστήριο και ίδια μέρα.

8.3 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΥΠΟΣΤΡΩΜΑΤΟΣ (MATRIX EFFECT)

Για την μελέτη της σημαντικότητας της επίδρασης του υποστρώματος στην απόκριση του ανιχνευτή (και εμμέσως στην ευαισθησία της μεθόδου), συγκρίθηκαν οι κλίσεις των γραμμών παλινδρόμησης που προέκυψαν χρησιμοποιώντας πρότυπα διαλύματα σε κουνουπίδι, μανταρινί, ροδάκινο και σε καθαρό διαλύτη (ακετονιτρίλιο). Η σύγκριση πραγματοποιήθηκε κατά ζεύγη με τη χρήση του στατιστικού τεστ Student *t-test*. Η πειραματική τιμή t_{cal} υπολογίστηκε από την παρακάτω σχέση:

$$t_{cal} = \frac{|b_1 - b_2|}{\sqrt{S_{b_1}^2 + S_{b_2}^2}}$$

Όπου b_1 και b_2 είναι οι κλίσεις των γραμμών παλινδρόμησης και S_{b_1} και S_{b_2} οι τυπικές τους αποκλίσεις. Η θεωρητική τιμή για $6+6-4=8$ βαθμούς ελευθερίας και επίπεδο εμπιστοσύνης 0,05 για αμφίπλευρες δοκιμασίες είναι 2 [35]. Αν η θεωρητική τιμή (t_{theo}) είναι μεγαλύτερη από την πειραματική t_{cal} , η μηδενική υπόθεση (ότι οι κλίσεις των γραμμών δεν διαφέρουν μεταξύ τους) είναι αποδεκτή.

Συνολικά για κάθε αναλύτη πραγματοποιήθηκαν 3 ζεύγη συγκρίσεων των γραμμών παλινδρόμησης μεταξύ:

1. Χρήση προτύπων σε διαλύτη και σε υπόστρωμα κουνουπίδι.
2. Χρήση προτύπων σε διαλύτη και σε υπόστρωμα μανταρίνι.
3. Χρήση προτύπων σε διαλύτη και σε υπόστρωμα ροδάκινο.

Η μη ύπαρξη σημαντικής διαφοράς στις κλίσεις των καμπυλών μεταξύ των τριών υποστρωμάτων και του δ/τη, δηλώνει ότι η επίδραση του υποστρώματος δεν είναι σημαντική.

8.4 ΟΡΙΑ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ ΚΑΙ ΠΟΣΟΤΙΚΟΠΟΙΗΣΗΣ

Η ανιχνευσιμότητα (detectability) εκφράζει την ικανότητα της μεθόδου να ανιχνεύει και να ποσοτικοποιεί χαμηλές συγκεντρώσεις του αναλύτη. Η ικανότητα αυτή ποσοτικοποιείται με δύο διαφορετικές εκφράσεις:

- i. Όριο ανιχνεύσεως (Detection Limit, DL ή LOD)
- ii. Όριο ποσοτικοποίησης (Quantitation Limit, QL ή LOQ).

Ως όριο ανίχνευσης ορίζεται η ελάχιστη συγκέντρωση του αναλύτη στο δείγμα που μπορεί να ανιχνευτεί με αξιοπιστία (ή αλλιώς, η συγκέντρωση του αναλύτη της οποίας το αναλυτικό σήμα διαφέρει από το σήμα του λευκού δείγματος-blank-κατά 3,3 φορές από τη τυπική απόκλιση του σήματος του λευκού).

Ως όριο ποσοτικοποίησης ορίζεται η ελάχιστη συγκέντρωση του αναλύτη στο δείγμα που μπορεί να προσδιοριστεί ποσοτικά αξιόπιστα, με αποδεκτή δηλαδή ακρίβεια και ορθότητα (ή αλλιώς η συγκέντρωση του αναλύτη της οποίας το αναλυτικό σήμα διαφέρει από το σήμα του λευκού δείγματος κατά 10 φορές από τη τυπική απόκλιση του σήματος του λευκού).

Ο ορισμός των ορίων αυτών βασίζεται στην ικανότητα της μεθόδου να διακρίνει το σήμα του αναλύτη από το σήμα του υποβάθρου ή θορύβου και τα από τα επιτρεπόμενα σφάλματα πρώτου και δεύτερου είδους.

Σύμφωνα με την οδηγία SANCO/12495/2011 ως όριο ποσοτικοποίησης της μεθόδου ορίζεται η χαμηλότερη συγκέντρωση που έχει επικυρωθεί και πληροί τις προδιαγραφές (RSD<20%, Μέση Ανάκτηση: 70-120%). Όπως προκύπτει, το όριο ποσοτικοποίησης της μεθόδου με βάση τη SANCO είναι 10 µg/kg [38].

Ο προσδιορισμός των ορίων ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης πραγματοποιήθηκε με βάση την τυπική απόκλιση της αναλυτικής απόκρισης και την κλίση των καμπύλων αναφοράς.

Η τιμή των ορίων ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης δίνεται από τους παρακάτω τύπους:

$$\text{LOD} = (3,3 \times S\alpha) / b$$

και

$$\text{LOQ} = (10 \times S\alpha) / b$$

Όπου:

$S\alpha$: η τυπική απόκλιση της τομής

b : η κλίση της καμπύλης αναφοράς.

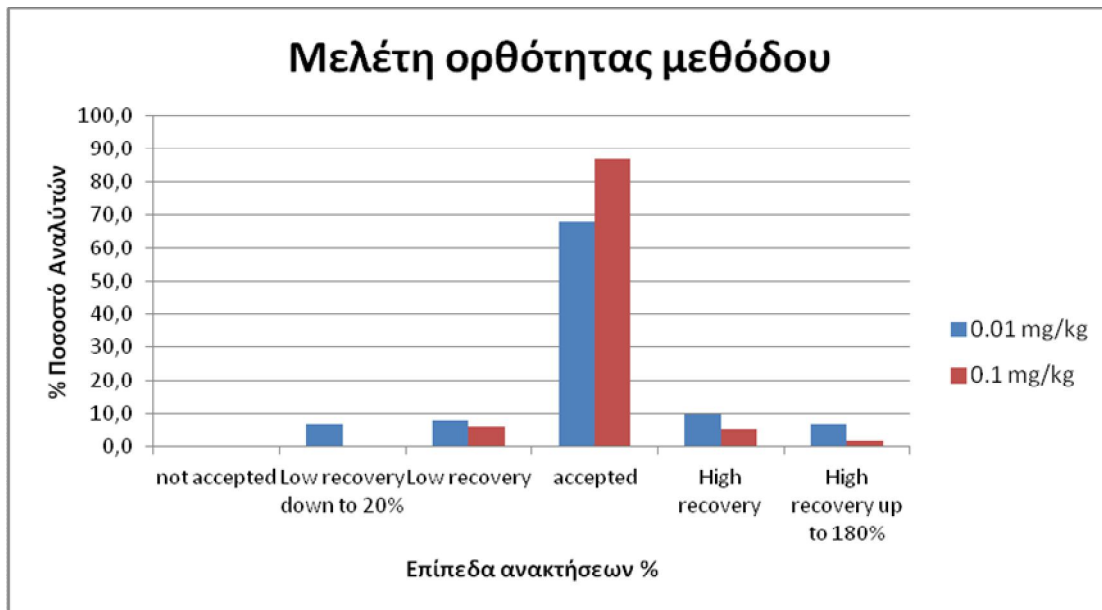
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

1. Υπόστρωμα «κουνουπίδι»:

1.1 Εκτίμηση της ορθότητας – πιστότητας

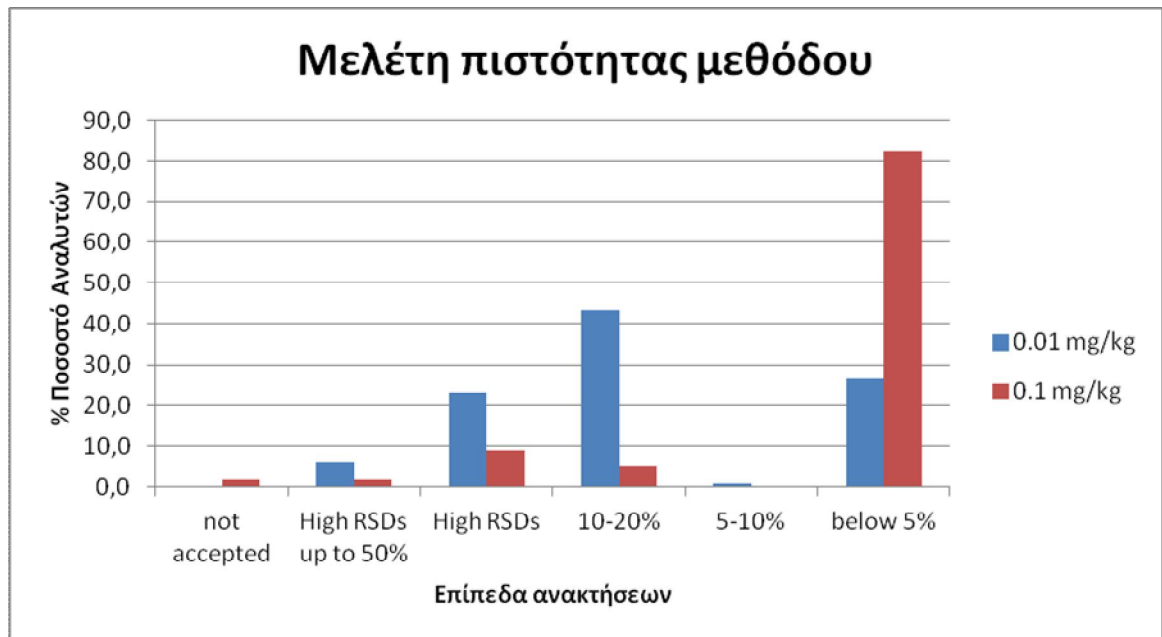
Η εκτίμηση της ορθότητας και πιστότητας της μεθόδου, προσδιορίστηκε με την εφαρμογή της σε εμβολιασμένα δείγματα μάρτυρα (κουνουπίδι, μανταρίνια, ροδάκινα) για 5 επαναλήψεις. Στο πλαίσιο αυτό, ποσότητα $10 \pm 0,1$ g από το φυτικό ιστό εμβολιάστηκε σε 2 επίπεδα με γνωστές συγκεντρώσεις των αναλυτών και προσθήκη μικρού όγκου δ/τος εργασίας. Ως χαμηλότερο επίπεδο εμβολιασμού προστέθηκαν 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ και ως υψηλότερο 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Για την εκτίμηση της ορθότητας ελέγχτηκε η ανάκτηση (Recovery) και της πιστότητας η σχετική τυπική απόκλιση (SDr ή RSD).

Όπως παρατηρείται στο **Διάγραμμα 1.1** το 68.1 % και το 86.7 % των αναλυτών για το 1^ο και 2^ο επίπεδο αντίστοιχα, παρουσίασαν ανακτήσεις εντός του αποδεκτού εύρους 70 – 120% σε υπόστρωμα, κουνουπίδι. Ένα ποσοστό της τάξης του 9.7 % για το 1^ο επίπεδο και 5.3 % για το 2^ο, παρουσίασε υψηλές ανακτήσεις (120-140%), ενώ ένα ποσοστό 8.0 % και 6.2 % παρουσίασε χαμηλές ανακτήσεις (50% έως 70%). Για τις τιμές με ανακτήσεις εκτός των αποδεκτών ορίων, η μέθοδος δύναται να χρησιμοποιηθεί, ύστερα από διόρθωση των αποτελεσμάτων ως προς την ανάκτηση, καθώς οι τιμές των σχετικών τυπικών αποκλίσεων είναι αποδεκτές.



Διάγραμμα 1.1 Μέσες εκατοστιαίες ανακτήσεις των 77 αναλυτών για τα 2 επίπεδα εμβολιασμού (0,01 και 0,1 mg/kg) σε κουνουπίδι.

Σχετικά με την πιστότητα (**Διάγραμμα 1.2**), η μέθοδος παρουσίασε επαναληψιμότητα με την πλειονότητα των αναλυτών (70,5% και 87,6% για το 1^ο επίπεδο και 2^ο επίπεδο αντίστοιχα) να έχουν αποδεκτές σχετικές τυπικές αποκλίσεις ($SDr < 20\%$) με 26,5% των αναλυτών στο 1^ο και 82,3% στο 2^ο επίπεδο να παρουσιάζουν πολύ καλή πιστότητα με SDr κάτω του 5%. Ένα ποσοστό αναλυτών (~23,0% και 8,8%, αντίστοιχα για τα δύο επίπεδα φόρτισης) παρουσίασε ικανοποιητική επαναληψιμότητα με SDr από 20-40%.



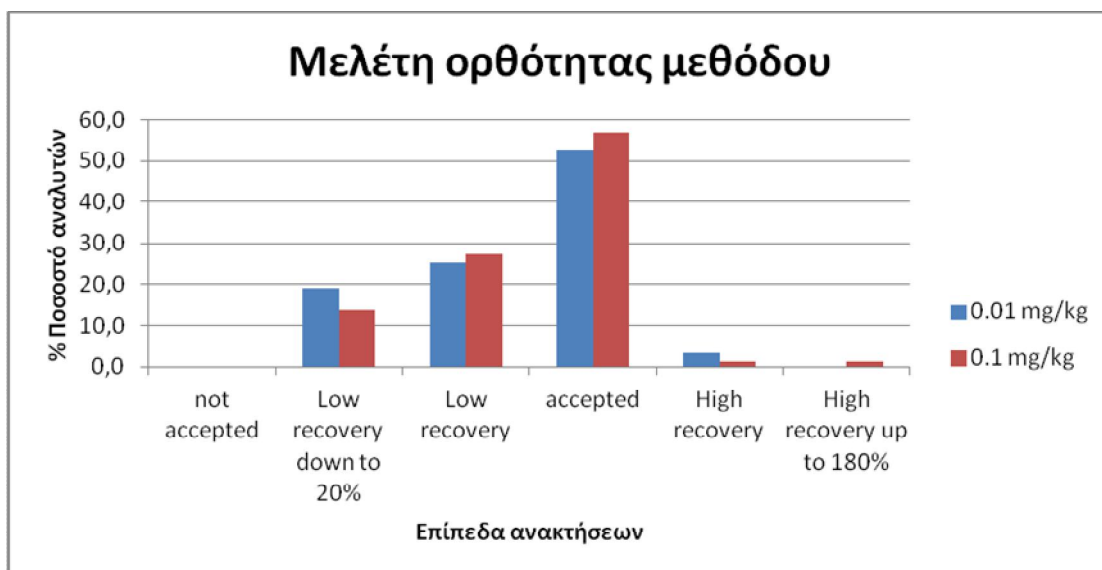
Διάγραμμα 1.2 Σχετικές τυπικές αποκλίσεις των 77 αναλυτών για τα 2 επίπεδα εμβολιασμού (0,01 και 0,1 mg/kg) σε κουνουπίδι.

2. Υπόστρωμα «μανταρίνια»:

2.1 Εκτίμηση της ορθότητας – πιστότητας

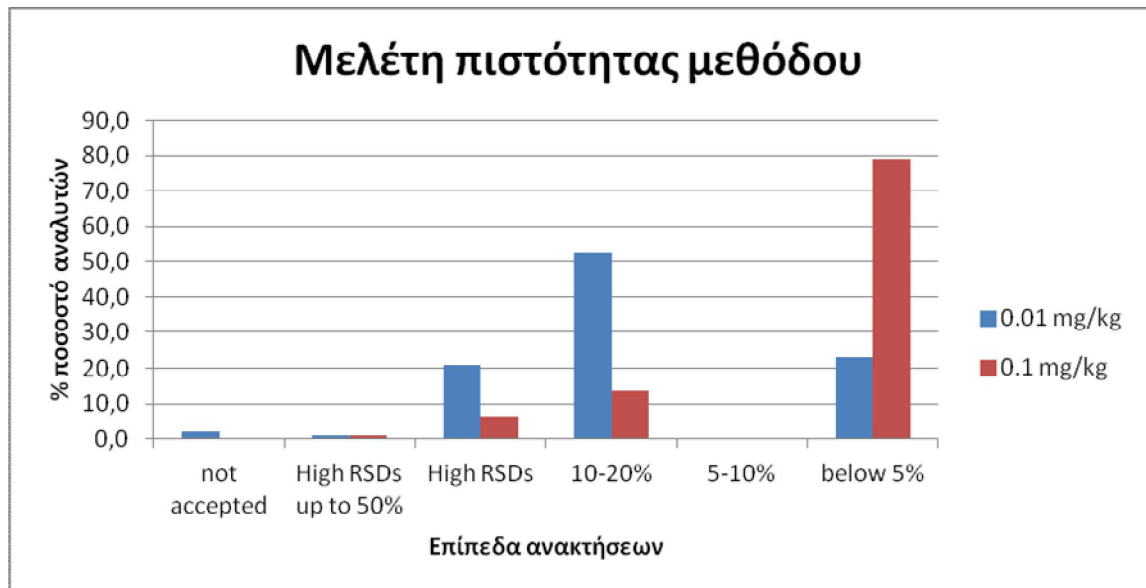
Ομοίως, για την εκτίμηση της πιστότητας και της ορθότητας της μεθόδου στο μανταρίνι, ποσότητα $10 \pm 0,1$ g ομογενοποιημένου δείγματος, ελεγμένο για την απουσία φ.π. εμβολιάστηκε με γνωστές συγκεντρώσεις αναλυτών (10μg/kg και 100μg/kg) και μικρού αλλά και υπολογίσιμου όγκου διαλύματος εργασίας. Έτσι, για την εκτίμηση της ορθότητας ελέγχτηκε η ανάκτηση (Recovery) και της πιστότητας η σχετική τυπική απόκλιση (RSD).

Όπως μπορούμε να παρατηρήσουμε και στο Διάγραμμα που ακολουθεί (Διάγραμμα 2.1), το 52.6% των αναλυτών για το 1^ο και το 56.8% των αναλυτών για το 2^ο επίπεδο, παρουσίασαν ανακτήσεις εντός του αποδεκτού εύρους 70 – 120%. Ένα ποσοστό της τάξης του 3.2% για το 1^ο και 1.1% για το 2^ο, επίπεδο παρουσίασε υψηλές ανακτήσεις (120-140%), ενώ ένα ποσοστό 25.3% και 27.4% παρουσίασε χαμηλές ανακτήσεις (50% έως 70%). Ομοίως, για τις τιμές με ανακτήσεις εκτός των ορίων, η μέθοδος δύναται να χρησιμοποιηθεί, ύστερα από διόρθωση των αποτελεσμάτων ως προς την ανάκτηση, καθώς οι τιμές των σχετικών τυπικών αποκλίσεων είναι αποδεκτές.



Διάγραμμα 2.1 Σχετικές τυπικές αποκλίσεις των 85 αναλυτών για τα 2 επίπεδα εμβολιασμού (0,01 και 0,1 mg/kg) σε μανταρίνι.

Όσον αφορά τη πιστότητα (**Διάγραμμα 2.2**), η μέθοδος παρουσίασε καλή επαναληψιμότητα, για το υπόστρωμα των μανταρινιών, για το 1^ο επίπεδο με την πλειονότητα των αναλυτών (75.8%) να εμφανίζουν ικανοποιητικές τυπικές αποκλίσεις ($SDr < 20\%$). Πιο συγκεκριμένα, το 23.2% των αναλυτών εμφάνισε $SDr < 5\%$ και το 52.6%, SDr μεταξύ 10-20%. Ένα ποσοστό της τάξης του 24.2%, δεν εμφάνισε αποδεκτές τυπικές αποκλίσεις. Για το 2^ο επίπεδο (100 $\mu\text{g}/\text{kg}$), η μέθοδος παρουσίασε πολύ καλή επαναληψιμότητα, με τη πλειονότητα των αναλυτών (78.9%) να παρουσιάζουν πολύ καλή πιστότητα με $SDr < 5\%$, ένα ποσοστό της τάξης του 13.7% εμφάνισε SDr μεταξύ 10-20% και ένα πολύ μικρό ποσοστό αναλυτών δεν εμφάνισε καλή πιστότητα (7.3%).



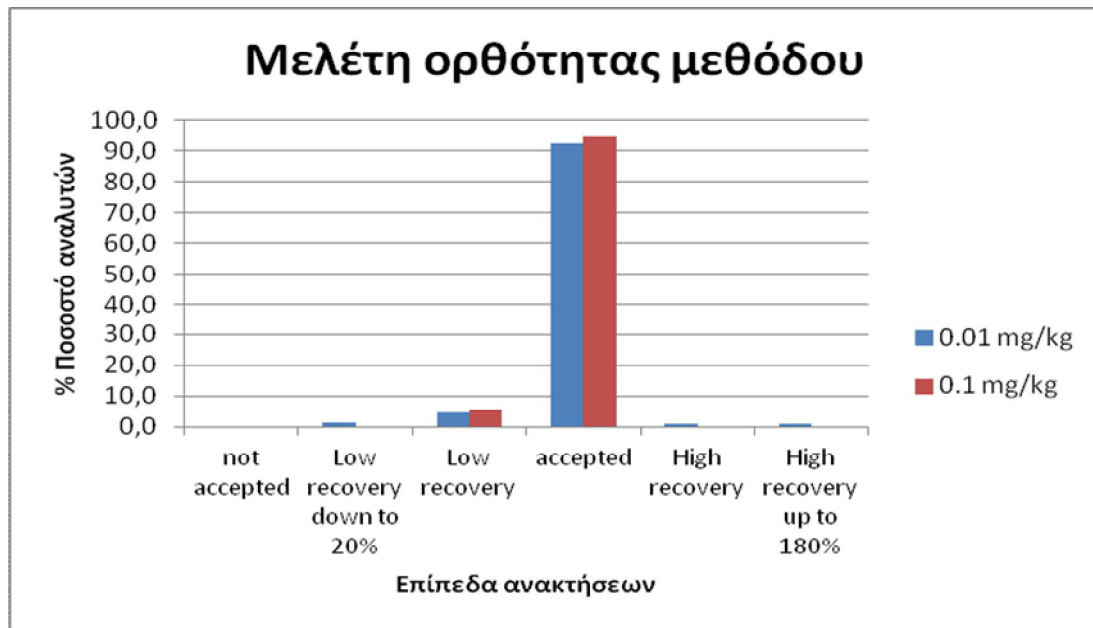
Διάγραμμα 2.1, Σχετικές τυπικές αποκλίσεις των ... αναλυτών για τα 2 επίπεδα εμβολιασμού (0,01 και 0,1 mg/kg) σε μανταρίνι.

3. Υπόστρωμα «ροδάκινα»:

3.1 Εκτίμηση της ορθότητας – πιστότητας

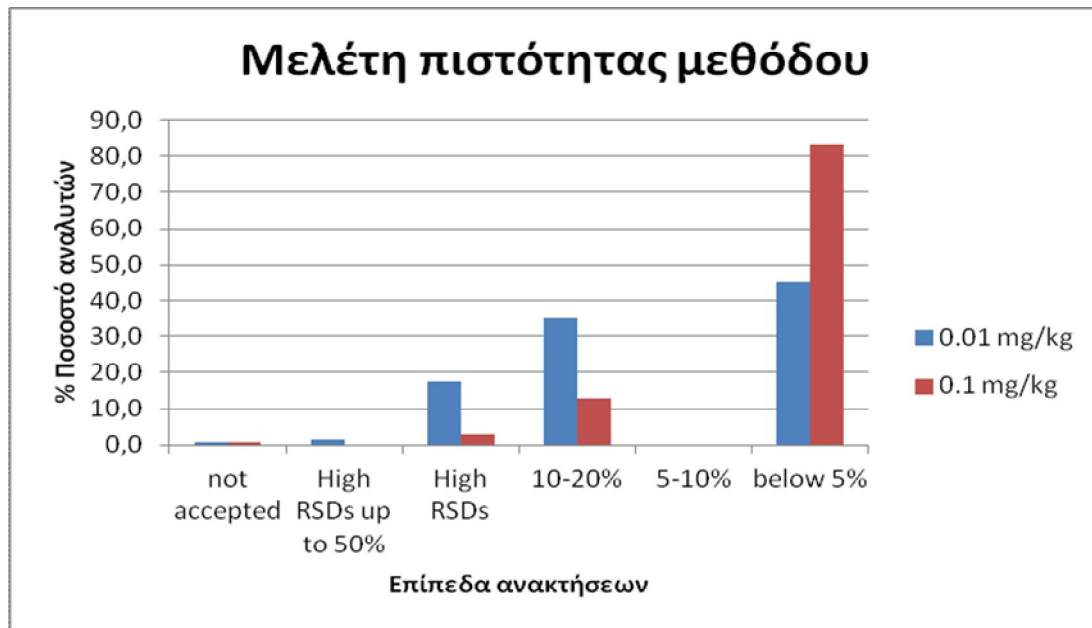
Η διαδικασία εμβολιασμού είναι η ίδια με αυτή που ακολουθήθηκε και στα προηγούμενα υποστρώματα.

Από τα αποτελέσματα, όπως συνοψίζονται στο **Διάγραμμα 3.1**, παρατηρείται ότι το 92.4% και το 94.7% των αναλυτών για το 1^ο και 2^ο επίπεδο αντίστοιχα, παρουσίασαν ανακτήσεις εντός του αποδεκτού εύρους 70 – 120%. Ένα μικρό ποσοστό της τάξης του 0.8% για το 1^ο επίπεδο παρουσίασε υψηλές ανακτήσεις (120-140%), ενώ ένα ποσοστό 4.6% και 5.3%, για το 1^ο και 2^ο επίπεδο αντίστοιχα, παρουσίασε χαμηλές ανακτήσεις (50% - 70%). Ομοίως και σε αυτή τη περίπτωση, για τις τιμές με ανακτήσεις εκτός των αποδεκτών ορίων, η μέθοδος δύναται να χρησιμοποιηθεί, ύστερα από διόρθωση των αποτελεσμάτων ως προς την ανάκτηση, καθώς οι τιμές των σχετικών τυπικών αποκλίσεων είναι αποδεκτές.



Διάγραμμα 3.1. Σχετικές τυπικές αποκλίσεις των 119 αναλυτών για τα 2 επίπεδα εμβολιασμού (0,01 και 0,1 mg/kg) σε ροδάκινο.

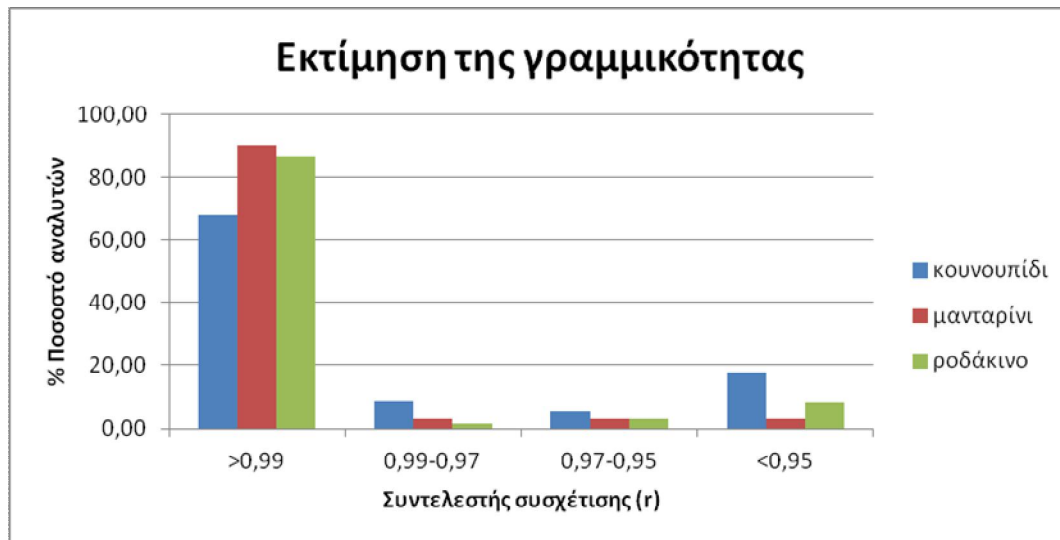
Σχετικά με την πιστότητα (**Διάγραμμα 3.2**), η μέθοδος παρουσίασε καλή επαναληψιμότητα, για το υπόστρωμα ροδάκινο, για το 1^ο επίπεδο (0,01 mg/kg) με την πλειονότητα των αναλυτών (80.1%) να εμφανίζουν αποδεκτές τυπικές αποκλίσεις ($SDr < 20\%$). Το 19.9% των αναλυτών δεν εμφάνισε αποδεκτές τυπικές αποκλίσεις. Όμοιος για το 2^ο επίπεδο (0,1 mg/kg), η μέθοδος παρουσίασε πολύ καλή επαναληψιμότητα, με τη πλειονότητα των αναλυτών (83.2%) να παρουσιάζουν πολύ καλή πιστότητα με $SDr < 5\%$ και με ένα ποσοστό της τάξης του 13.0% ικανοποιητική πιστότητα με SDr μεταξύ 10-20%. Τέλος ένα πολύ μικρό ποσοστό (3.9%) δεν εμφάνισε αποδεκτές τυπικές αποκλίσεις.



Διάγραμμα 3.2 Σχετικές τυπικές αποκλίσεις των 119 αναλυτών για τα 2 επίπεδα εμβολιασμού (0,01 και 0,1 mg/kg) σε ροδάκινο.

4. Εκτίμηση της γραμμικότητας

Η γραμμικότητα ελέγχθηκε σε όλο το εύρος της περιοχής της αναλυτικής μεθόδου και για τα τρία υποστρώματα (κουνουπίδι, μανταρίνι, ροδάκινο). Η εκτίμηση της γραμμικότητας πραγματοποιήθηκε με την κατασκευή καμπύλων παλινδρόμησης πραγματοποιώντας σειρά εγχύσεων για πέντε συγκεντρώσεις των προτύπων (0.01, 0.025, 0.05, 0.1, 0.2 mg/L) σε εκχύλισμα κουνουπίδι, μανταρίνι και ροδάκινο ώστε να συνεκτιμηθεί η επίδραση του υποστρώματος. Οι βασικές παράμετροι της γραμμικής παλινδρόμησης παρουσιάζονται στους **Πίνακες 4.1, 4.2, 4.3** (Βλέπε **Παράρτημα**). Στο **Διάγραμμα 4.1**, παρουσιάζονται γραφικά οι τιμές των συντελεστών συσχέτισης κατανεμημένες ανά υπόστρωμα και σε 4 κατηγορίες ανάλογα με το εύρος τιμών τους.



Διάγραμμα 4.1 Τιμές συντελεστών συσχέτισης 162 αναλυτών, κατανεμημένες σε 4 κατηγορίες για το κάθε υπόστρωμα που μελετήθηκε.

Η πλειονότητα των αναλυτών (76.79%) για το υπόστρωμα του κουνουπιδιού, παρουσιάζουν καλή γραμμικότητα με συντελεστές συσχέτισης (r) πάνω από 0,97. Ένα μικρό ποσοστό της τάξης του 5.36, παρουσίασε ικανοποιητική γραμμικότητα όπου κυμαίνεται από 0,95 – 0,97. Τέλος, ένα ποσοστό της τάξης του 17.86% παρουσίασε πολύ κακή γραμμικότητα ($\leq 0,95$).

Ομοίως στο μανταρίνι, η πλειονότητα των αναλυτών (93.62%) παρουσιάζουν καλή γραμμικότητα με συντελεστές συσχέτισης (r) πάνω από 0,97. Επίσης ένα μικρό ποσοστό της τάξης του 3.19%, παρουσίασε ικανοποιητική γραμμικότητα όπου κυμαίνεται από 0,95 – 0,97. Τέλος, ένα μικρό ποσοστό, πάλι, της τάξης του 3.19% παρουσίασε πολύ κακή γραμμικότητα ($\leq 0,95$).

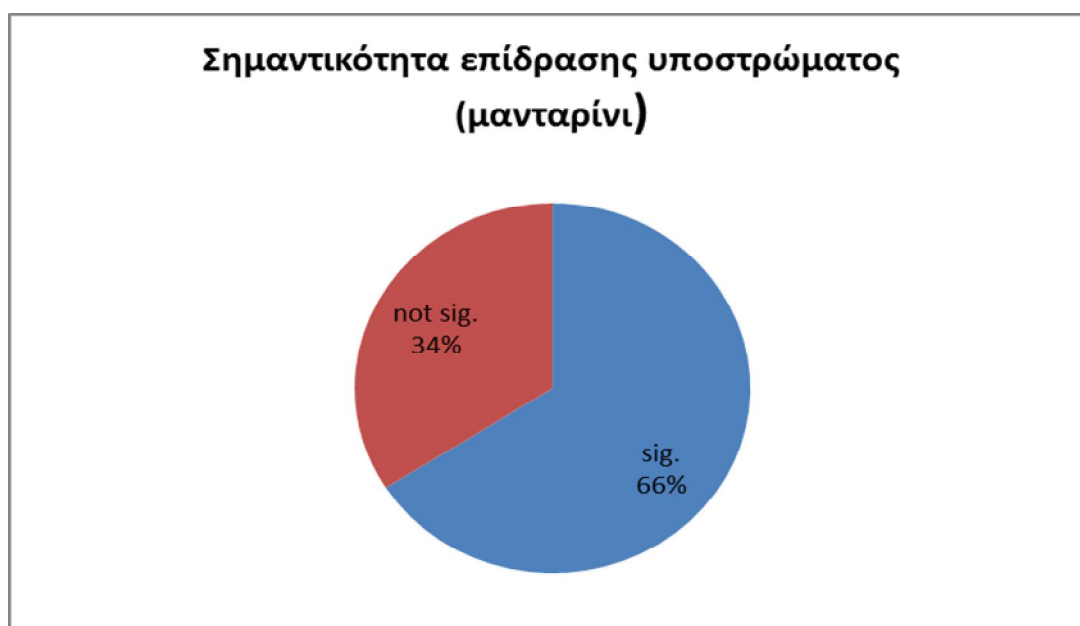
Στο ροδάκινο, η πλειονότητα των αναλυτών (88.46%) παρουσιάζουν καλή γραμμικότητα με συντελεστές συσχέτισης (r) πάνω από 0,97. Ένα μικρό ποσοστό της τάξης του 3.08%, παρουσίασε ικανοποιητική γραμμικότητα όπου κυμαίνεται από 0,95 – 0,97. Τέλος, ένα ποσοστό της τάξης του 8.46% παρουσίασε πολύ κακή γραμμικότητα ($\leq 0,95$).

5. ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΥΠΟΣΤΡΩΜΑΤΟΣ (MATRIX EFFECT, ME)

Η επίδραση του υποστρώματος εκτιμήθηκε για όλους του αναλύτες ξεχωριστά σε κάθε υπόστρωμα όπως διακρίνεται από τα **Διαγράμματα 5.1, 5.2, 5.3** ,

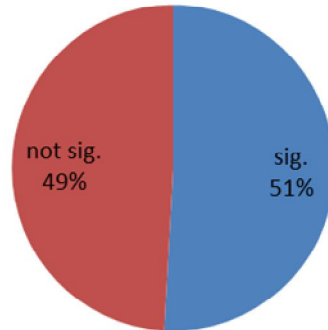


Διάγραμμα 5.1 Κατανομή αναλυτών σύμφωνα με την σημαντικότητα της επίδρασης του υποστρώματος κουνουπιδιού.



Διάγραμμα 5.2. Κατανομή αναλυτών σύμφωνα με την σημαντικότητα της επίδρασης του υποστρώματος μανταρίνι.

Σημαντικότητα επίδρασης υποστρώματος (ροδάκινο)



Διάγραμμα 5.3. Κατανομή αναλυτών σύμφωνα με την σημαντικότητα της επίδρασης του υποστρώματος ροδάκινο.

Η επίδραση του υποστρώματος είναι εμφανείς για το μεγαλύτερο ποσοστό των αναλυτών. Στο 73%, 66% και 51% των αναλυτών η επίδραση του υποστρώματος είναι σημαντική συνεπώς για την ποσοτικοποίηση αυτών συνίσταται η χρήση πρότυπων δ/των στο εκάστοτε υπόστρωμα. Αντίθετα στο 27%, 34% και 49% των αναλυτών η επίδραση του υποστρώματος δεν είναι σημαντική. Στις περιπτώσεις αυτές η μέτρηση με την χρήση προτύπων δ/των σε ακετονιτρίλιο δεν δύναται να οδηγήσει σε σημαντικό σφάλμα στην ποσοτικοποίηση, λόγω της απουσίας του υποστρώματος.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Ο τομέας της ανάλυσης των υπολειμμάτων των φυτοπροστατευτικών προϊόντων απαιτεί μεθόδους απλές, πολυδύναμες και οικονομικές. Η εξέλιξη της τεχνολογίας στον τομέα αυτό, προσφέρει νέα εργαλεία τα οποία προσδίδουν εναλλακτικούς τρόπους προσδιορισμού των αναλυτών και μεγαλύτερο επίπεδο αξιοπιστίας στα αποτελέσματα των αναλύσεων αυτών.

Στην παρούσα διατριβή αναπτύχθηκε και επικυρώθηκε μια νέα μέθοδος προσδιορισμού φ.π. η οποία βασίζεται στην μέθοδο εκχύλισης QuEChERS, μια σύντομη διαδικασία εκχύλισης χωρίς πολύπλοκο εξοπλισμό με μικρή κατανάλωση αναλωσίμων ανά δείγμα και κατάλληλη για απομόνωση υπολειμμάτων φ.π. διαφορετικών χημικών κατηγοριών. Η ταυτοποίηση και η ποσοτικοποίηση των αναλυτών πραγματοποιήθηκε με την τεχνική LC-TOF, μία σχετικά νέα τεχνική στον τομέα προσδιορισμού υπολειμμάτων φ.π. με εφαρμογές ως τεχνική σάρωσης, που περιορίζετε στην ταυτοποίηση αυτών. Η μέθοδος επικυρώθηκε επιτυχώς για την αξιοπιστία της σε κουνουπίδι, μανταρίνι και ροδάκινο. Από τα στοιχεία επικύρωσης προκύπτει ότι η μέθοδος για την πλειονότητα των αναλυτών παρουσιάζει αποδεκτή γραμμικότητα με $r \geq 0,99$, αποδεκτή ορθότητα με ποσοστά ανάκτησης 70-120% και πιστότητα με $SDR \leq 20\%$. Το όριο ποσοτικοποίησης της μεθόδου ορίστηκαν τα 0,01 mg/kg.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑΤΑ

Πίνακας 2.1 Φυσικοχημικές ιδιότητες των ουσιών που μελετήθηκαν [39] .

α/α	Πρότυπη Ουσία	Τάση ατμών (mmHg) (25°C)	LogK _{ow} (pK _{ow})	Διαλυτότητα στο νερό(mg/L)
1	acephate	0,000226 (24°C)	-0,85	790000
2	acetochlor	2,2E-05 (20°C)	4,14 (20°C, pH 6,5)	282 (20°C, pH 6,89)
3	aclonifen	1,6E-05 (20°C)	4,37 (pH 5 - 6)	1,4 (20°C, pH 5,7,9)
4	alachlor	0,002 (25°C)	3,09	170,31 (pH 7, 20°C)
5	aldicarb	0,013 (20°C)	1,359	4930 (pH 7, 20°C)
6	ametryn	0,000365	2,63 (25°C)	200 (20°C)
7	atrazine	3,9E-05	2,5 (25°C)	33 (22°C, pH 7)
8	azimsulfuron	4E-09	0,6 (25°C, pH 5)	72,3 (20°C, pH 5)
9	azinphos ethyl	0,00032 (20°C)	3,18	4 (20°C)

10	azinphos methyl	5E-07 (20°C)	2,96	28 (20°C)
11	benalaxyl	0,00066	3,54 (20°C, pH 6,1)	28,6 (20°C)
12	benfuracarb	4,2E-06	4,22 (25°C)	8 (20°C, pH 4)
13	bensulfuron methyl	2,8E-06	0,79 (25°C, pH 7)	67 (25°C, pH 7)
14	benzoximate	0,00045	2,4	30 (25°C)
15	bifenthrin	1,78E-05 (20°C)	6,6 (20°C, pH 5)	0,001 < (20°C, pH 7)
16	bitertanol A+B	2,2E-10 (20°C)	4,1 / 4,15 (20°C)	2,7 / 1,1 (20°C)
17	boscalid	7E-07 (20°C)	2,96 (21°C, pH 7)	6 (20 °C)
18	bromacil	4,1E-05 (30°C)	1,88 (pH 5)	700
19	bromuconazole	4E-06	3,24 (20°C)	
20	bupirimate	5,7E-05 (20°C)	3,68 (21°C, pH 7)	13,06 (20°C, pH 7)
21	buprofezin	4,2E-05 (20°C)	4,93 (pH 7)	0,46 (25°C, pH 7)

22	butocarboxim	0,011 (20°C)	1,1	35000 (20°C)
23	cadusafos	0,1196	3,85 (20,5°C, pH 5,5)	245 (25°C)
24	carbaryl	4,1E-05 (23,5°C)	2,36 (23°C)	9,1 (pH 7)
25	carbendazim	9E-05 (20°C)	1,5 (25°C, pH 7-9)	8 (24°C, pH 7)
26	carbofuran	0,000225 (20°C)	1,8 (20°C, pH- independ.)	315 (20°C, pH-independ.)
27	chlorfevinphos	0,001		145 (23°C) 3,85 Z-isomer; 4,22 E-isomer
28	Chlorotoluron	5E-06	2,5 (25°C, pH 7)	74 (25°C)
29	chlorpropham	0,024 (20°C)	3,76 (20°C, pH 7)	110 (20°C, pH 7)
30	chlorpyriphos ethyl	0,00143 (20°C)	4,7 (20°C, neutral pH)	1,05 (20°C, pH independ.)
31	chlorpyriphos methyl	0,003	4 (20°C)	2,74 (20°C)
32	chlorsulfuron	3,1E-09	-0,99 (25°C, pH 7)	876 (20°C, pH 5)
33	Chlorotoluron	5E-06	2,5 (25°C, pH 7)	74 (25°C)

34	clofentezin	6E-07 (20°C)	3,1 (20 °C, independent of pH)	0,0025 (22 °C, pH 5)
35	cyprodinil	0,00051	4 (25°C, pH 5 - 9)	13 (25°C, pH 7)
36	Demeton-S- Methyl	0,04 (20°C)	1,32 (20°C)	22000 (20°C)
37	Demeton-S- Methylsulfone	5,6E-05 (20°C)	-0,112 (calculated)	200000 > (20°C)
38	Demeton-S- Methylsulfoxide	0,002	-0,74 (21°C)	completely miscible
39	desmetryn	0,000133 (20°C)	2,38	580 (20°C)
40	diazinon	0,01197	3,69 (24°C, pH-undepend.)	60 (22°C, pH- undepend.)
41	dichlorvos	2,1	1,9 (25°C)	18000 (25°C, pH-undepend.)
42	diclofop methyl	2,5E-05	4,8 (neutral pH)	0,39 (20°C, neutral pH)
43	diethofencarb	9,44E-06	2,89 (20°C)	27,6 (20°C)
44	dimethoate	0,00025	0,704 (pH 7)	39800 (25°C, pH 7)
45	diniconazole	0,00293 (20°C)	4,3 (25°C)	4 (25°C)

46	disulfoton-sulfone		1,87 (calculated)	
47	disulfoton-sulfoxide		1,73 (calculated)	
48	diuron	1,15E-06	2,87 (25°C, distilled H2O)	37,4 (25°C)
49	epoxiconazole	< 1E-05 (20°C)	3,3 (25°C, pH 7)	7,1 (20°C)
50	ethion	0,0002	4,28	2 (25°C)
51	ethirimol	0,000267	2,3 (20°C, pH 7)	253 (20°C, pH 5,2)
52	ethoprophos	0,123	3,1 bis 3,6	1300 (30°C, pH 4)
53	etofenprox	8,13E-07	6,9 (20°C)	0,0225 (20°C, pH 7)
54	etoxazole	7E-06	5,52 (20°C)	0,0704 (20°C)
55	famoxadone	6,4E-07 (20°C)	4,8 (20°C, pH 5)	0,243 (20°C, pH 5)
56	fenamiphos	0,00012 (20°C)	3,3 (20°C, surface active)	345 (20°C, buffer: pH 7)
57	Fenamiphos-Sulfone		1,75 (calculated)	

58	Fenamiphos-Sulfoxide		1,39 (calculated)	
59	fenarimol	6,5E-05	3,69 (25°C, pH 7)	13,7 (25°C, pH 7)
60	fenazaquin	1,9E-05	5,51 (21°C, pH 5,3-5,9)	0,102 (20°C, pH 5)
61	fenbuconazole	3,4E-07	3,79 (20°C, pH 4)	2,57 (20°C, pH 4)
62	fenitrothion	0,00068 (20°C)	3,3 (25°C)	19 (20°C)
63	fenoxycarb	8,67E-07	4,07 (25°C)	7,9 (25°C)
64	fenpropathrin	0,00073 (20°C)	6 (20°C)	0,014 (25°C)
65	fenpropimorph	0,0039 (20°C)	4,5 (pH 7)	4,32 (20°C, pH 6, deion.)
66	fenthion sulfone		1,827 (calculated)	
67	fenthion sulfoxide		1,629 (calculated)	
68	fipronil	2E-06	4 (20°C)	3,78 (20°C,pH 6,58)
69	fluazifop	8E-07 (20°C)	3,18 (25°C, unionised)	780

70	fluazifop butyl	5,5E-05 (20°C)	4,5 (20°C)	1,1 (20°C)
71	flucythrinate	1,2E-06	4,7 (25°C)	0,5 (21°C)
72	fludioxonil	3,9E-07	4,12 (25°C, pH-undepend.)	1,8 (25°C, pH- undepend.)
73	flufenacet	9E-05 (20°C)	3,2	56 (20°C)
74	flufenoxuron	6,52E-12 (20°C)	4 (pH 7)	0,004 (25°C)
75	fluometuron	0,000125	2,28 (23,5°C, pH 7)	111 (22°C; pH 6,9)
76	fluquinconazole	6,4E-09 (20°C)	3,24 (20°C; pH 5,6)	1150 (20°C, pH 6,6)
77	flusilazole	3,9E-05	3,87 (pH 7)	41,9 (20°C)
78	flutriafol	4E-07 (20°C)	2,3 (20°C, pH independ.)	124 (20°C, pH 4)
79	fluvalinate tau	9E-11 (20°C)	7,02 (25°C; pH 7)	0,001 (20°C, pH 7)
80	formetanate	1,6E-06	-0,0014 (20°C, pH 7)	822000 (25°C)
81	fosthiazate	0,00056 (1,68 (25°C)	9000 (25°C, pH 7)

82	furathiocarb	3,9E-06	4,6 (25°C)	11 (25°C)
83	haloxyfop-ethoxyethylester	1,64E-08 (20°C)	4,33 (20°C)	0,58
84	haloxyfop-methoxyethylester	0,000328	4	9,08 (25°C)
85	hexaconazole	1,8E-05 (20°C)	3,9 (20°C)	17 (20°C)
86	hexythiazox	< 1,33E-06	2,67 (25°C)	0,1 (20°C; pH 5-7)
87	imazalil	0,000158	2,63 (pH 5)	184 (20°; pH 7,6)
88	iprovalicarb	7,7E-08 (20°C)	3,18 (SR); 3,20 (SS) (20°C)	11 (SR); 6,8(SS) (20°C)
89	kresoxim methyl	2,3E-06 (20°C)	3,4 (25°C)	2 (20°C)
90	linuron	0,0051 (20°C)	3	63,8 (20°C, pH 7)
91	malaoxon		2,074 (calculated)	
92	malathion	0,00045	2,75 (25°C, unbuffered)	148 (25°C, unbuffered)
93	mecarbam		2,306 (calculated)	1000

94	mepanipyrim	2,32E-05	3,28 (20°C)	2,08 (20°C, pH 7)
95	metalaxyl-M	0,0033	1,71 (25°C; pH 7,6)	26000 (25°C)
96	metamitron	7,44E-07	0,85 (21°C, not pH dependent)	1770 (25°C; pH 5)
97	metconazole	2,1E-08 (20°C)	3,85 (20°C; pH 7,2-8)	30,4 (20°C, pH 7,5)
98	methacrifos	0,16 (20°C)	3	400 (20°C)
99	methomyl	0,00072	55000 (25°C, pH 7)	55000 (25°C, pH 7)
100	methoxyfenozone	< 1,33E-05	3,72 (25°C)	3,3 (20°C, pH 7)
101	metobromuron	0,0004 (20°C)	2,41	330 (20°C)
102	metolachlor S	0,0037	3,05 (25°C; pH 7)	480 (25°C; pH 7,3)
103	metsulfuron methyl	3,30E-07	0,018 (pH 7; 25°C)	548 (pH 5; 20°C)
104	monocrotophos	0,00029 (20°C)	-0,22	100% (20°C)
105	monolinuron	0,0013 (20°C)	2,2	735 (25°C)

106	myclobutanil	0,000198 (20°C)	3,17 (20°C, pH 4,7,9)	124 (20°C; pH 3-5)
107	napropamide	2,2E-05	3,3 (25°C)	74 (25°C)
108	omethoate	0,0033 (20°C)	-0,74 (20°C)	water-miscible
109	oxadiazon	0,0001	5,33 (20°C)	0,57 (20°C)
110	oxamyl	5,12E-05	-0,44 (25°C, pH 5)	148100 (20°C, pH 5)
111	oxyfluorfen	2,6E-05	4,86 (18°C)	0,116 (25°C)
112	parathion ethyl	0,00089 (20°C)	3,83	11 (20°C)
113	penconazole	0,00037	3,72 (25°C; pH 5,7)	73 (20°C; pH 6,7)
114	pencycuron	5E-10 (20°C)	4 (20°C, pH 7)	0,3 (20°C; pH 6,8)
115	pendimethalin	0,00194	5,2 (pH 7)	0,33 (20°C)
116	permethrin		6,1 (20°C)	0,006 (20°C, pH 7)
117	phorate	0,085	3,92	50 (25°C)

118	phorate oxon sulfone		2,02 (calculated)	
119	phorate sulfone		1,783 (calculated)	
120	phorate sulfoxide		1,513 (calculated)	
121	phosalone	1,56E-05	4,01 (20°C)	1,4 (20°C, pH 5,9)
122	phosmet	6,5E-05	2,96 (25°C, pH 7)	15,2 (20°C, pH 4,4)
123	phosphamidon	0,0022	0,79	Miscible
124	phoxim	0,0021 (20°C)	3,38	1,5 (20°C)
125	pirimicarb	4,3E-07 (20°C)	1,7 (purified water)	3000 (purified water)
126	pirimiphos methyl	0,002 (20°C)	4,2 (20°C, pH 7)	10 (20°C, pH 7)
127	primisulfuron methyl	< 5E-06	0,2 (25°C, pH 7)	3,7 (pH 5, 390 (pH 7))
128	Prochloraz	0,00015	3,53 (25°C, pH 6,7)	26,5 (20°C)
129	profenofos	0,000124	4,44	28 (25°C)

130	propachlor	0,01	2,3 to 1,4	580 (25°C)
131	propamocarb	0,00166	-1,2 (pH 7)	900000 > (20°C, pH 7)
132	propanil	0,000193	2,29 (RT, neutral pH)	95 (20°C, pH 6,7)
133	propargite	4,04E-05 (20°C)	5,7	0,215 (20°C, pH 6,5)
134	propham	high	2,647 (calculated)	250 (20°C)
135	propiconazole	5,6E-05	3,72 (25°C; pH 6,6)	150 (20°C, pH 5,2)
136	pyraclostrobin	2,6E-08 (20°C)	3,99 (20°C)	1,9 (20°C, pH 5,8)
137	pyrazophos	0,00022 (50°C)	3,8	4,2 (25°C)
138	pyrifenox	0,0017	3,7 (25°C, pH 7)	300 (25°C, pH 6)
139	pyriproxyfen	< 1,3E-05 (23°C)	5,37	
140	quinoxifen	1,2E-05 (20°C)	4,66 (20°C, pH 6,6)	0,116 (20°C, pH 6,45)
141	Resmethrin	1E-05	5,43 (25°C)	0,0379 (25°C)

142	rimsulfuron	8,9E-07 (20°C)	-1,46 (25°C, pH 7)	7300 (25°C, pH 7)
143	simazine	2,94E-06	2,1 (25°C)	6,2 (20°C, pH 7)
144	spinosyn D	2E-08	3,23 (23°C, pH 5)	0,332 (20°C, pH 7)
145	<u>Spirodiclofen</u>	< 3E-07 (20°C)	5,83 (20°C, pH 4)	0,05 (20°C, pH 4)
146	spiroxamine		3 ~ (A + B; 20°C; pH 7)	200000 > (20°C; pH 3; Mix)
147	tebufenpyrad	< 9,7E-06	4,93 (25°C)	2,4 (25°C, pH 7)
148	terbufos sulfone		2,48 (calculated)	
149	terbufos sulfoxide		2,21 (calculated)	
150	Terbutylazine, Desethyl-		-0,06 (pH 5,5; calculated)	
151	tetraconazole	0,00018 (20°C)	3,56 (20°C)	156,6 (20°C, pH 7)
152	thiabendazole	5,3E-07	2,39 (20°C, pH 7)	29 (20°C, pH 7)
153	thiacloprid	3E-10 (20°C)	1,26 (20°C)	184 (20°C, pH 7)

154	thiamethoxam	6,6E-09	-0,13 (25°C)	4100 (25°C, pH 7)
155	thiodicarb	0,0027	1,62	24,47 (25°C, pH 7)
156	tolclofos methyl	0,000877 (20°C)	4,56	0,708 (20°C)
157	tralkoxydim	3,7E-10 (20°C)	2,1 (20°C)	6,1 (pH 6,5, 22°C)
158	tri-allate	0,023	4,57	4,1 (20°C, pH 7)
159	triasulfuron	< 2,1E-06	1,1 (25°C, pH 5)	815 (25°C, pH 7)
160	triazophos	0,00039 (30°C)	3,34	39 (20°C, pH 7)
161	triflumuron	2E-07 (20°C)	4,9 (22°C)	0,04 (20°C)
162	vamidotion		0,15	4000000

Πίνακας 2. 2 Χημική ομάδα και τρόπος δράσης των ουσιών που μελετήθηκαν [39] .

α/α	Πρότυπη Ουσία	Χημική Ομάδα	Τρόπος Δράσης
1	acephate	Οργανοφωσφορικά	Εντομοκτόνο (φυλλώματος)
2	acetochlor	Χλωροακεταμίδια	Ζιζανιοκτόνο
3	aclonifen	Διφαινυλικοί αιθέρες	Ζιζανιοκτόνο
4	alachlor	Χλωροακεταμίδια	Ζιζανιοκτόνο
5	aldicarb	Καρβαμιδικά (Καρβαμιδικά Παράγωγα Οξιμών)	Ακαρεοκτόνο, Ζιζανιοκτόνο, Νηματοδοκτόνο
6	ametryn	Τριαζίνες	Ζιζανιοκτόνο
7	atrazine	Τριαζίνες	Ζιζανιοκτόνο
8	azimsulfuron	Σουλφονουλουρίες	Ζιζανιοκτόνο
9	aziphos ethyl	Οργανοφωσφορικό	Εντομοκτόνο, Ακαρεοκτόνο
10	aziphos methyl	Οργανοφωσφορικό	Εντομοκτόνο
11	benalaxyl	Φαινυλαμίδια (Ακυλαλανίνες)	Μυκητοκτόνο
12	benfuracarb	Καρβαμιδικά	Εντομοκτόνο Νηματοδοκτόνο
13	bensulfuron methyl	σουλφονουλουρίες	Ζιζανιοκτόνο
14	benzoximate	Συνθετικές Ενώσεις με Άγνωστο Μηχανισμό Δράσης	Ακαρεοκτόνο
15	bifenthrin	Πυρεθρονοειδή	Εντομοκτόνο , Ακαρεοκτόνο
16	bitertanol A+B	Τριαζολικά	Μυκητοκτόνο
17	boscalid	Πυριδινοκαρβοξαμίδια	Μυκητοκτόνο
18	bromacil	Ουρακίλες	Ζιζανιοκτόνο
19	bromuconazole	Τριαζολικά	Μυκητοκτόνο
20	bupirimate	Πυριμιδινικά	Μυκητοκτόνο
21	buprofezin	Άγνωστος μηχανισμός δράσης	Εντομοκτόνο, Ακαρεοκτόνο
22	butocarboxim	Καρβαμιδικά (Καρβαμιδικά Παράγωγα Οξιμών)	Οργανοφωσφορικά
23	cadusafos	Οργανοφωσφορικό	Εντομοκτόνο, Νηματοδοκτόνο
24	carbaryl	Καρβαμιδικά	Ακαρεοκτόνο, Ρυθμιστής αύξησης εντόμων
25	carbendazim	Βενζιμιδαζολικά	Μυκητοκτόνο
26	carbofuran	Καρβαμιδικά	Ακαρεοκτόνο, Εντομοκτόνο, Νηματοδοκτόνο
27	chlorfevinphos	Οργανοφωσφορικά	Ακαρεοκτόνο, Εντομοκτόνο
28	Chlorotoluron	Ουρίες	Ζιζανιοκτόνο
29	chlorpropham	Καρβαμιδικά	Έλεγχος Ανέπτυξης Ζιζανίων
30	chlorpyrifos ethyl	Οργανοφωσφορικά	Οργανοφωσφορικά
31	chlorpyrifos methyl	Οργανοφωσφορικά	Ακαρεοκτόνο, Εντομοκτόνο
32	chlorsulfuron	Σουλφονουλουρίες	Ζιζανιοκτόνο
33	Chlorotoluron	Ουρίες	Ζιζανιοκτόνο
34	clofentezin	Τετραζίνες	Ακαρεοκτόνο
35	cyprodinil	Ανιλινοπυριμιδίνες	Μυκητοκτόνο
36	Demeton-S-Methyl	Οργανοφωσφορικά	Ακαρεοκτόνο, Εντομοκτόνο
37	Demeton-S-Methylsulfone	Οργανοφωσφορικά	Ακαρεοκτόνο, Εντομοκτόνο
38	Demeton-S-Methylsulfoxide	Οργανοφωσφορικά	Εντομοκτόνο
39	desmetryn	Άγνωστος μηχανισμός δράσης	Ζιζανιοκτόνο
40	diazinon	Οργανοφωσφορικά	Ακαρεοκτόνο, Εντομοκτόνο, Νηματοδοκτόνο
41	dichlorvos	Οργανοφωσφορικά	Ακαρεοκτόνο, Εντομοκτόνο

42	diclofop methyl	Αρυλοξυφαινοξυαλκανοϊκά Οξέα	Ζιζανιοκτόνο
43	diethofencarb	Καρβαμιδικά	Μυκητοκτόνο
44	dimethoate	Οργανοφωσφορικά	Ακαρεοκτόνο, Εντομοκτόνο
45	diniconazole	Τριαζολικά	Μυκητοκτόνο
46	disulfoton-sulfone	Οργανοφωσφορικά	Εντομοκτόνο
47	disulfoton-sulfoxide	Οργανοφωσφορικά	Εντομοκτόνο
48	diuron	Ουρίες	Ζιζανιοκτόνο
49	epoxiconazole	Τριαζολικά	Μυκητοκτόνο
50	ethion	Οργανοφωσφορικά	Ακαρεοκτόνο, Εντομοκτόνο
51	ethirimol	Πυριμιδινικά	Μυκητοκτόνο
52	ethoprophos	Οργανοφωσφορικά	Εντομοκτόνο, Νηματοδοκτόνο
53	etofenprox	Πυρεθρουοειδή	Εντομοκτόνο
54	etoxazole	Άγνωστος μηχανισμός δράσης	Ακαρεοκτόνο
55	famoxadone	Στρομπιλουρίνες	Μυκητοκτόνο
56	fenamiphos	Οργανοφωσφορικά	Εντομοκτόνο, Νηματοδοκτόνο
57	Fenamiphos-Sulfone	Οργανοφωσφορικά	Εντομοκτόνο
58	Fenamiphos-Sulfoxide	Οργανοφωσφορικά	Εντομοκτόνο
59	fenarimol	Πυριμιδινικά	Μυκητοκτόνο
60	fenazaquin	Άγνωστος μηχανισμός δράσης	Ακαρεοκτόνο
61	fenbuconazole	Τριαζολικά	Μυκητοκτόνο
62	fenitrothion	Οργανοφωσφορικά	Εντομοκτόνο
63	fenoxycarb	Καρβαμιδικά	Εντομοκτόνο
64	fenpropathrin	Πυρεθρουοειδή	Εντομοκτόνο, Ακαρεοκτόνο
65	fenpropimorph	Μορφολινικά (SBI)	Μυκητοκτόνο
66	fenthion sulfone	Οργανοφωσφορικά	Εντομοκτόνο
67	fenthion sulfoxide	Οργανοφωσφορικά	Εντομοκτόνο
68	fipronil	Φαινυλοπυραζολικά	Εντομοκτόνο
69	fluazifop	Αραξυφαινοξυπροπιονικά οξέα/εστέρες	Ζιζανιοκτόνο
70	fluazifop butyl	Αραξυφαινοξυπροπιονικά οξέα/εστέρες	Ζιζανιοκτόνο
71	flucythrinate	Πυρεθροειδές	Εντομοκτόνο
72	fludioxonil	Φαινυλοπυρολικά	Μυκητοκτόνο
73	flufenacet	Οξυακεταμίδια	Ζιζανιοκτόνο
74	flufenoxuron	Βενζοϋλουρίες	Ακαρεοκτόνο, Εντομοκτόνο
75	fluometuron	Φαινυλουρίες	Ζιζανιοκτόνο
76	fluquinconazole	Τριαζολικά	Μυκητοκτόνο
77	flusilazole	Τριαζολικά	Μυκητοκτόνο
78	flutriafol	Τριαζολικά	Μυκητοκτόνο
79	fluvalinate tau	Πυρεθροειδές	Ακαρεοκτόνο, Εντομοκτόνο
80	formetanate	Καρβαμιδικά	Ακαρεοκτόνο, Εντομοκτόνο
81	fosthiazate	Οργανοφωσφορικά	Εντομοκτόνο, Νηματοδοκτόνο
82	furathiocarb	Καρβαμιδικά	Εντομοκτόνο
83	haloxyfop-ethoxyethylester	Αραξυφαινοξυπροπιονικά οξέα/εστέρες	ζιζανιοκτόνο
84	haloxyfop-methoxyethylester	Αραξυφαινοξυπροπιονικά οξέα/εστέρες	ζιζανιοκτόνο
85	hexaconazole	Τριαζολικά	Μυκητοκτόνο
86	hexythiazox	Άγνωστος μηχανισμός δράσης	Ακαρεοκτόνο, Εντομοκτόνο
87	imazalil	Ιμιδαζολικά	Μυκητοκτόνο
88	iprovalicarb	Καρβαμιδικά	Μυκητοκτόνο
89	kresoxim methyl	Στρομπιλουρίνες	Μυκητοκτόνο

90	linuron	Ουρίες	Ζιζανιοκτόνο
91	malaoxon	Οργανοφωσφορικά	Ζιζανιοκτόνο
92	malathion	Οργανοφωσφορικά	Ακαρεοκτόνο, Εντομοκτόνο
93	mecarbam	Οργανοφωσφορικά	Ζιζανιοκτόνο
94	mepanipyrim	Ανιλινουριμιδίνες	Μυκητοκτόνο
95	metalaxyl-M	Ακυλαλανίνες	Μυκητοκτόνο
96	metamiton	Τριαζινόνες	Ζιζανιοκτόνο
97	metconazole	Τριαζόλες	Μυκητοκτόνο
98	methacrifos	Οργανοφωσφορικά	Ακαρεοκτόνο, Εντομοκτόνο
99	methomyl	Οξίμοκαρβαμικά	Ακαρεοκτόνο, Εντομοκτόνο
100	methoxyfenozide	Διακυλοϋδραζινικά	Εντομοκτόνο
101	metobromuron	Ουρίες	Ζιζανιοκτόνο
102	metolachlor S	Χλωροακεταμίδια	Ζιζανιοκτόνο
103	metsulfuron methyl	Τριαζινοσουλφονουρίες	Ζιζανιοκτόνο
104	monocrotophos	Οργανοφωσφορικά	Ακαρεοκτόνο, Εντομοκτόνο
105	monolinuron	Ουρίες	Ζιζανιοκτόνο
106	myclobutanil	Τριαζολικά	Μυκητοκτόνο
107	napropamide	Ακεταμίδια	Ζιζανιοκτόνο
108	omethoate	Οργανοφωσφορικά	Ακαρεοκτόνο, Εντομοκτόνο
109	oxadiazon	Οξαδιαζόλες	Ζιζανιοκτόνο
110	oxamyl	Οξίμες καρβαμικών	Ακαρεοκτόνο, Εντομοκτόνο, Νηματοδοκτόνο
111	oxyfluorfen	Διφαινυλικοί αιθέρες	Ζιζανιοκτόνο
112	parathion ethyl	Οργανοφωσφορικά	Ακαρεοκτόνο, Εντομοκτόνο
113	penconazole	Τριαζολικά	Μυκητοκτόνο
114	pencycuron	Φαινιλουρίες	Μυκητοκτόνο
115	pendimethalin	Δινιτροανιλίνες	Ζιζανιοκτόνο
116	permethrin	Πυρεθροειδές	Ζιζανιοκτόνο
117	phorate	Οργανοφωσφορικά	Ακαρεοκτόνο, Εντομοκτόνο, Νηματοδοκτόνο
118	phorate oxon sulfone	Οργανοφωσφορικά	Ακαρεοκτόνο, Εντομοκτόνο, Νηματοδοκτόνο
119	phorate sulfone	Οργανοφωσφορικά	Ακαρεοκτόνο, Εντομοκτόνο, Νηματοδοκτόνο
120	phorate sulfoxide	Οργανοφωσφορικά	Ακαρεοκτόνο, Εντομοκτόνο, Νηματοδοκτόνο
121	phosalone	Οργανοφωσφορικά	Ακαρεοκτόνο, Εντομοκτόνο
122	phosmet	Οργανοφωσφορικά	Ακαρεοκτόνο, Εντομοκτόνο
123	phosphamidon	Οργανοφωσφορικά	Ακαρεοκτόνο, Εντομοκτόνο
124	phoxim	Οργανοφωσφορικά	Εντομοκτόνο
125	pirimicarb	Καρβαμικά	Εντομοκτόνο
126	pirimiphos methyl	Οργανοφωσφορικά	Ακαρεοκτόνο, Εντομοκτόνο
127	primisulfuron methyl	Πυριμιδινυλοσουλφονουρίες	Ζιζανιοκτόνο
128	Prochloraz	Ιμιδαζολικά	Μυκητοκτόνο
129	profenofos	Οργανοφωσφορικά	Ακαρεοκτόνο, Εντομοκτόνο
130	propachlor	Χλωροακεταμίδια	Ζιζανιοκτόνο
131	propamocarb	Καρβαμικά	Μυκητοκτόνο
132	propanil	Αμίδια Φυλλώματος	Ζιζανιοκτόνο
133	propargite	Παρεμποδιστές της Οξειδωτικής Φωσφορυλίωσης	Ακαρεοκτόνο
134	propham	Καρβαμικά	Μυκητοκτόνο, Ρυθμιστής Ανάπτυξης

135	propiconazole	Τριαζολικά	Μυκητοκτόνο
136	pyraclostrobin	Στρομπιλουρίνες	Μυκητοκτόνο
137	pyrazophos	Φωσφοροθειολικά	Μυκητοκτόνο
138	pyrifenox	Πυριδίνες	Μυκητοκτόνο
139	pyriproxyfen	Ενώσεις που μιμούνται τη Νεοτίνη	Εντομοκτόνο
140	quinoxifen	Κινολίνες	Μυκητοκτόνο
141	Resmethrin	Πυρεθρουνοειδή	Εντομοκτόνο
142	rimsulfuron	Πυριμιδινο-σουλφονουρίες	Ζιζανιοκτόνο
143	simazine	Τριαζίνες	Ζιζανιοκτόνο
144	spinosyn D	Σπινοσίνες	Εντομοκτόνο
145	Spirodiclofen	Τετρονικού οξέος	Ακαρεοκτόνο, Νηματοδοκτόνο
146	spiroxamine	Μορφολινικά (SBIs)	Μυκητοκτόνο
147	tebufenpyrad	Πυραζόλες	Ακαρεοκτόνα
148	terbufos sulfone	Καρβαμιδικά	
149	terbufos sulfoxide	Καρβαμιδικά (Οργανοφωσφορικά)	Εντομοκτόνο, Νηματοδοκτόνο
150	Terbuthylazine, Desethyl-	Τριαζίνες (Χλωροτριαζίνες)	Ζιζανιοκτόνο
151	tetraconazole	Τριαζολικά	Μυκητοκτόνο
152	thiabendazole	Βενζιμιδαζολικά	Μυκητοκτόνο
153	thiacloprid	Νεονικοτινοειδή	Εντομοκτόνο
154	thiamethoxam	Νεονικοτινοειδή	Εντομοκτόνο
155	thiodicarb	Καρβαμιδικά Παράγωγα Οξιμών	Εντομοκτόνο, Ακαρεοκτόνο, Νηματοδοκτόνο
156	tolclofos methyl	Αρωματικοί Υδρογονάνθρακες (AHFs)	Μυκητοκτόνο
157	tralkoxydim	Κυκλοεξανδιόνες (ή Οξίμες)	Ζιζανιοκτόνο
158	tri-allate	Θειοκαρβαμιδικά	Ζιζανιοκτόνο
159	triasulfuron	Σουλφονουρίες	Ζιζανιοκτόνο
160	triazophos	Οργανοφωσφορικά	Εντομοκτόνο, Ακαρεοκτόνο, Νηματοδοκτόνο
161	triflumuron	Βενζοϋλουρίες	Εντομοκτόνο
162	vamidotion	Οργανοφωσφορικά	Εντομοκτόνο, Ακαρεοκτόνο

Πίνακας 4.1 - Κουνοπίδι Βασικές παράμετροι γραμμών παλινδρόμησης για τους 77 αναλύτες σε διαλύτη (ACN). (συντελεστής συσχέτισης (r), το τετράγωνο του συντελεστή παλινδρόμησης (r^2), τεταγμένη επί της αρχής (a), η τυπική απόκλιση της (S_a), κλίση της γραμμής (b), η τυπική απόκλιση της (S_b) και η αβεβαιότητα (S_u) που προκύπτει από την χρήση της γραμμής παλινδρόμησης στις μετρήσεις.

Αναλύτης	r	r^2	b	S_b	a	S_a	S_u
acetochlor	0,992	0,983	4,5E+03	2,9E+02	-2,6E+04	2,8E+04	1,1E+01
ametryn	0,968	0,938	4,2E+04	5,4E+03	7,0E+05	5,1E+05	2,2E+01
azinphos ethyl	0,941	0,886	9,3E+02	1,7E+02	9,4E+03	1,6E+04	3,0E+01
bensulfuron methyl	1,000	1,000	1,5E+04	1,4E+02	-6,8E+04	1,3E+04	1,5E+00
benzoximate	0,999	0,998	1,5E+03	3,0E+01	-3,5E+03	2,8E+03	3,3E+00
bitertanol A+B	0,970	0,942	1,9E+04	2,4E+03	-1,5E+05	2,2E+05	2,1E+01
bromuconazole	0,998	0,997	1,3E+03	3,7E+01	-1,3E+04	3,5E+03	4,6E+00
butocarboxim	0,962	0,925	3,2E+02	4,6E+01	-3,8E+03	4,3E+03	2,4E+01
cadusafos	0,986	0,973	2,9E+03	2,4E+02	-4,3E+03	2,3E+04	1,4E+01
carbendazim	0,999	0,998	3,0E+04	7,1E+02	-2,2E+05	6,7E+04	3,9E+00
carbofuran	1,000	0,999	2,4E+04	2,7E+02	-4,6E+04	2,6E+04	1,9E+00
chlorpropham	0,998	0,995	3,5E+03	1,2E+02	-2,1E+04	1,1E+04	5,7E+00
chlortoluron	1,000	1,000	1,8E+04	2,0E+02	-5,2E+04	1,9E+04	1,8E+00
clofentezin	0,999	0,997	1,3E+03	3,1E+01	2,2E+03	3,0E+03	4,2E+00
demeton S methyl sulfoxide	0,993	0,987	3,2E+03	1,9E+02	5,6E+03	1,8E+04	9,7E+00
demeton S methyl	0,986	0,971	3,6E+03	3,0E+02	1,1E+04	2,9E+04	1,4E+01
desmetryn	0,999	0,998	6,5E+04	1,6E+03	-1,9E+05	1,5E+05	4,1E+00
dimethoate	0,993	0,986	1,7E+04	1,0E+03	-2,4E+05	9,4E+04	1,0E+01
disulfoton-sulfone	1,000	0,999	7,0E+03	9,4E+01	1,3E+03	8,9E+03	2,2E+00
ethion	0,997	0,994	2,8E+03	1,1E+02	-1,3E+04	1,1E+04	6,7E+00
etofenprox	0,998	0,995	4,5E+03	1,5E+02	1,6E+03	1,5E+04	5,8E+00
fenamiphos	0,942	0,887	1,5E+04	2,7E+03	4,5E+05	2,5E+05	3,0E+01
fenamiphos sulfoxide	1,000	1,000	1,6E+04	1,7E+02	-3,9E+03	1,6E+04	1,7E+00
fenarimol	0,999	0,998	6,5E+03	1,3E+02	-1,2E+04	1,2E+04	3,2E+00

fenpropathrin	0,981	0,963	3,2E+03	3,2E+02	-5,1E+04	3,0E+04	1,6E+01
fenthion sulfone	1,000	1,000	1,5E+04	9,6E+01	-1,0E+04	9,0E+03	1,1E+00
fenthion sulfoxide	1,000	1,000	1,2E+04	1,3E+02	-9,0E+04	1,2E+04	1,9E+00
fluazifop	0,999	0,997	3,9E+03	1,0E+02	-3,4E+03	9,7E+03	4,4E+00
flucythrinate	1,000	0,999	3,7E+03	4,2E+01	-7,4E+03	4,0E+03	1,9E+00
flufenoxuron	1,000	1,000	4,1E+03	2,5E+01	-2,1E+03	2,3E+03	1,0E+00
fluometuron	1,000	0,999	2,3E+04	2,9E+02	-1,3E+05	2,7E+04	2,1E+00
flusilazole	0,993	0,987	1,7E+04	9,6E+02	1,5E+05	9,1E+04	9,7E+00
flutriafol	1,000	1,000	8,1E+03	5,7E+01	-1,1E+04	5,3E+03	1,2E+00
fluvalinate tau	0,989	0,977	8,7E+02	6,6E+01	-7,9E+03	6,2E+03	1,3E+01
fosthiazate	0,997	0,995	2,5E+03	9,0E+01	-2,4E+04	8,5E+03	6,0E+00
haloxyfop-ethoxyethylester	0,927	0,860	1,0E+04	2,1E+03	1,2E+05	2,0E+05	3,4E+01
hexythiazox	0,974	0,948	4,7E+03	5,6E+02	-7,1E+04	5,2E+04	2,0E+01
imazalil	1,000	1,000	3,0E+04	2,9E+02	2,7E+04	2,7E+04	1,6E+00
kresoxim methyl	0,997	0,995	1,2E+03	4,5E+01	-1,3E+04	4,2E+03	6,0E+00
malaixon	0,999	0,998	6,2E+03	1,3E+02	-4,9E+04	1,2E+04	3,4E+00
malathion	1,000	0,999	5,1E+03	7,5E+01	-1,7E+04	7,0E+03	2,5E+00
metalaxyl-M	0,958	0,917	1,4E+04	2,1E+03	3,3E+04	2,0E+05	2,5E+01
metconazole	1,000	1,000	1,7E+04	9,4E+01	-2,9E+03	8,8E+03	9,1E-01
metolachlor S	1,000	1,000	1,4E+04	1,1E+02	-1,6E+04	1,0E+04	1,3E+00
metsulfuron methyl	0,999	0,998	4,7E+03	9,3E+01	1,0E+04	8,7E+03	3,3E+00
monocrotophos	0,977	0,955	3,1E+03	3,4E+02	1,3E+04	3,2E+04	1,8E+01
monolinuron	1,000	1,000	3,9E+03	3,1E+01	-2,3E+04	2,9E+03	1,3E+00
omethoate	0,986	0,972	3,4E+03	2,9E+02	8,0E+03	2,7E+04	1,4E+01
parathion ethyl	0,999	0,997	8,7E+02	2,3E+01	-3,9E+03	2,2E+03	4,4E+00
penconazole	0,996	0,993	1,0E+04	4,5E+02	-3,2E+04	4,2E+04	7,2E+00
pencycuron	0,938	0,880	1,4E+02	2,6E+01	-2,0E+03	2,5E+03	3,1E+01
phorate	0,972	0,945	7,3E+02	8,8E+01	-2,9E+02	8,3E+03	2,0E+01
phorate sulfone	0,994	0,988	1,5E+03	8,2E+01	-9,3E+03	7,7E+03	9,0E+00

phorate sulfoxide	0,960	0,922	3,6E+03	5,3E+02	1,6E+04	5,0E+04	2,4E+01
phosalone	1,000	1,000	1,2E+04	1,0E+02	1,4E+04	9,8E+03	1,4E+00
pirimicarb	1,000	0,999	3,1E+04	3,7E+02	-6,4E+04	3,5E+04	2,0E+00
pirimiphos methyl	0,928	0,862	4,7E+04	9,3E+03	-2,9E+05	8,8E+05	3,3E+01
prochloraz	1,000	1,000	2,1E+03	1,3E+01	-9,1E+03	1,2E+03	1,0E+00
propachlor	0,999	0,999	7,3E+03	1,2E+02	-4,0E+04	1,1E+04	2,7E+00
propamocarb	1,000	0,999	8,9E+03	1,2E+02	-3,6E+04	1,1E+04	2,2E+00
propham	0,918	0,843	8,1E+02	1,7E+02	1,3E+02	1,6E+04	3,6E+01
pyraclostrobin	1,000	1,000	2,1E+04	2,0E+02	-4,3E+04	1,9E+04	1,6E+00
pyrazophos	0,994	0,988	3,5E+04	1,9E+03	2,3E+05	1,8E+05	9,1E+00
pyrifenox	0,979	0,959	7,1E+03	7,4E+02	8,2E+04	6,9E+04	1,7E+01
resmetryn	0,995	0,990	8,6E+03	4,4E+02	-6,4E+04	4,2E+04	8,6E+00
rimsulfuron	0,999	0,997	5,9E+03	1,5E+02	5,0E+03	1,4E+04	4,3E+00
simazine	1,000	1,000	5,5E+04	5,0E+02	-2,1E+05	4,7E+04	1,5E+00
spirodoclofen	0,998	0,996	6,3E+03	2,1E+02	8,9E+03	2,0E+04	5,5E+00
terbuthilazine-desmethyl	0,999	0,999	1,3E+04	2,4E+02	-7,6E+04	2,3E+04	3,1E+00
tetraconazole	1,000	1,000	5,4E+03	2,1E+01	-2,8E+03	2,0E+03	6,7E-01
thiabendazole	0,999	0,998	3,7E+04	7,6E+02	-1,4E+05	7,2E+04	3,4E+00
thiodicarb	0,998	0,996	4,3E+03	1,3E+02	1,1E+04	1,2E+04	5,0E+00
tolclofos methyl	0,998	0,995	2,3E+03	7,9E+01	-1,1E+04	7,4E+03	5,8E+00
triasulfuron	1,000	1,000	7,8E+03	4,9E+01	3,2E+03	4,6E+03	1,0E+00
triazophos	0,997	0,994	4,6E+04	1,9E+03	1,3E+05	1,8E+05	6,7E+00
trichlorfon	0,985	0,970	1,1E+04	9,7E+02	-1,9E+05	9,1E+04	1,5E+01
triflumuron	0,996	0,993	2,6E+03	1,1E+02	1,2E+04	1,0E+04	7,2E+00

Πίνακας 4.2 - Μανταρίνι Βασικές παράμετροι γραμμών παλινδρόμησης για 85 αναλύτες σε διαλύτη (ACN). (συντελεστής συσχέτισης (r), το τετράγωνο του συντελεστή παλινδρόμησης (r^2), τεταγμένη επί της αρχής (a), η τυπική απόκλιση της (S_a), κλίση της γραμμής (b), η τυπική απόκλιση της (S_b) και η αβεβαιότητα (S_u) που προκύπτει από την χρήση της γραμμής παλινδρόμησης στις μετρήσεις.

Αναλύτης	r	r^2	b	S_b	a	S_a	S_u
acetochlor	0,999	0,997638	1,1E+04	3,0E+02	-3,7E+04	3,1E+04	4,5E+00
aclonifen	0,998	0,995642	1,8E+03	6,7E+01	-1,4E+04	6,9E+03	6,2E+00
alachlor	0,996	0,991663	8,4E+02	4,4E+01	-9,2E+03	4,5E+03	8,5E+00
ametryn	0,997	0,993238	7,8E+04	3,7E+03	-2,1E+05	3,8E+05	7,7E+00
atrazine	0,997	0,994622	3,6E+04	1,5E+03	5,3E+02	1,5E+05	6,8E+00
azinphos ethyl	1,000	0,999482	6,5E+02	8,5E+00	-4,1E+03	8,8E+02	2,1E+00
azinphos methyl	0,998	0,99666	8,8E+03	2,9E+02	4,0E+03	3,0E+04	5,4E+00
benalaxyl	0,997	0,993981	4,1E+03	1,8E+02	-3,5E+03	1,9E+04	7,2E+00
benfuracarb	0,992	0,983572	3,6E+03	2,7E+02	1,9E+04	2,7E+04	1,2E+01
benzoximate	0,997	0,994883	3,3E+04	1,4E+03	1,7E+03	1,4E+05	6,7E+00
bitertanol A+B	0,994	0,987545	2,2E+04	1,5E+03	9,8E+04	1,5E+05	1,0E+01
bromacil	0,997	0,994009	6,3E+03	2,8E+02	-1,7E+04	2,9E+04	7,2E+00
bupirimate	0,995	0,990608	4,8E+04	2,7E+03	-2,7E+05	2,8E+05	9,1E+00
buprofezin	0,928	0,860334	2,4E+04	5,6E+03	2,7E+05	5,7E+05	3,7E+01
cadusafos	0,995	0,990931	4,6E+03	2,6E+02	-3,1E+04	2,6E+04	8,9E+00
carbaryl	0,996	0,992572	2,6E+04	1,3E+03	-4,3E+04	1,3E+05	8,1E+00
carbofuran	0,997	0,994353	2,5E+04	1,1E+03	-3,5E+04	1,1E+05	7,0E+00
chlorfevinphos	0,996	0,991663	5,0E+03	2,6E+02	-5,6E+03	2,7E+04	8,5E+00
chlorpropham	0,994	0,987245	4,0E+03	2,6E+02	-1,8E+04	2,7E+04	1,1E+01
chlorsulfuron	0,998	0,995058	5,5E+03	2,2E+02	3,6E+03	2,3E+04	6,6E+00
chlortoluron	0,997	0,994735	1,8E+04	7,6E+02	-1,0E+04	7,8E+04	6,8E+00
desmetryn	0,997	0,993353	6,7E+04	3,2E+03	-1,5E+05	3,2E+05	7,6E+00
diazinon	0,996	0,992659	4,5E+04	2,2E+03	-1,4E+05	2,3E+05	8,0E+00
dichlorvos	0,998	0,995767	5,1E+03	1,9E+02	-2,1E+04	2,0E+04	6,1E+00
diniconazole	0,995	0,989163	8,3E+03	5,0E+02	2,4E+04	5,1E+04	9,7E+00
disulfoton-sulfone	0,998	0,995424	6,7E+03	2,6E+02	-7,4E+03	2,7E+04	6,3E+00
disulfoton-sulfoxide	0,997	0,994692	3,8E+03	1,6E+02	1,0E+02	1,7E+04	6,8E+00
diuron	0,996	0,991446	8,7E+03	4,7E+02	-3,1E+04	4,8E+04	8,6E+00
ethion	0,998	0,99533	3,5E+03	1,4E+02	2,0E+03	1,4E+04	6,4E+00
ethoprophos	0,997	0,993902	6,4E+03	2,9E+02	-2,3E+04	3,0E+04	7,3E+00

fenamiphos sulfone	0,998	0,995874	1,4E+04	5,2E+02	-1,2E+04	5,4E+04	6,0E+00
fenamiphos sulfoxide	0,997	0,993535	1,6E+04	7,6E+02	-3,1E+03	7,8E+04	7,5E+00
fenarimol	0,998	0,996293	4,0E+03	1,4E+02	-5,1E+03	1,4E+04	5,7E+00
fenazaquin	0,998	0,995943	7,7E+04	2,8E+03	-1,6E+05	2,9E+05	5,9E+00
fenpropathrin	0,997	0,994291	4,0E+03	1,8E+02	-2,1E+04	1,8E+04	7,1E+00
fenpropimorph	0,997	0,993839	3,1E+04	1,4E+03	-1,8E+05	1,5E+05	7,3E+00
fenthion sulfone	0,997	0,994489	1,6E+04	6,9E+02	1,4E+04	7,1E+04	6,9E+00
fenthion sulfoxide	0,997	0,993402	1,1E+04	5,0E+02	-9,5E+03	5,1E+04	7,6E+00
fluazifop	0,992	0,984688	5,4E+03	3,9E+02	-1,2E+04	4,0E+04	1,2E+01
flucythrinate	0,998	0,995294	5,5E+03	2,2E+02	-1,6E+03	2,2E+04	6,4E+00
flufenoxuron	0,998	0,995657	6,5E+03	2,5E+02	-2,0E+04	2,5E+04	6,1E+00
fluometuron	0,997	0,994504	1,9E+04	8,2E+02	-9,5E+04	8,4E+04	6,9E+00
fosthiazate	0,997	0,994496	2,7E+03	1,1E+02	-1,7E+04	1,2E+04	6,9E+00
furathiocarb	0,996	0,992347	2,3E+04	1,2E+03	-1,8E+04	1,2E+05	8,2E+00
haloxyfop-ethoxyethylester	0,991	0,982799	2,5E+04	1,9E+03	1,5E+04	2,0E+05	1,2E+01
haloxyfop-methoxyethylester	0,996	0,991123	3,0E+04	1,6E+03	-9,0E+04	1,7E+05	8,8E+00
hexaconazole	0,994	0,988537	6,1E+03	3,8E+02	1,9E+04	3,9E+04	1,0E+01
imazalil	0,997	0,993115	3,5E+04	1,7E+03	-6,1E+04	1,7E+05	7,7E+00
kresoxim methyl	0,995	0,989987	1,3E+03	7,4E+01	-5,1E+03	7,5E+03	9,4E+00
mecarbam	0,998	0,995172	6,4E+03	2,6E+02	-1,5E+04	2,6E+04	6,5E+00
mepanipirim	0,984	0,968248	1,3E+04	1,3E+03	-1,8E+05	1,4E+05	1,7E+01
metalaxyl-M	0,996	0,992208	1,6E+04	8,3E+02	8,2E+04	8,6E+04	8,2E+00
metconazole	0,997	0,993478	1,8E+04	8,2E+02	3,7E+04	8,4E+04	7,5E+00
metolachlor S	0,997	0,994588	6,9E+03	2,9E+02	-2,7E+04	3,0E+04	6,9E+00
metsulfuron methyl	0,997	0,993528	6,4E+03	3,0E+02	1,4E+04	3,1E+04	7,5E+00
monolinuron	0,997	0,99306	4,6E+03	2,2E+02	-1,1E+04	2,3E+04	7,8E+00
napropamide	0,997	0,994698	2,1E+04	8,6E+02	-7,0E+04	8,9E+04	6,8E+00
penconazole	0,998	0,995069	7,7E+03	3,1E+02	-1,9E+04	3,2E+04	6,6E+00
pendimethalin	0,992	0,984752	3,3E+03	2,4E+02	8,0E+03	2,5E+04	1,2E+01
phorate	0,968	0,936422	7,5E+02	1,1E+02	8,0E+02	1,2E+04	2,4E+01
phorate sulfone	0,997	0,993703	5,3E+03	2,4E+02	-1,5E+04	2,5E+04	7,4E+00
phorate sulfoxide	0,986	0,972021	1,0E+03	9,8E+01	-1,0E+04	1,0E+04	1,6E+01
phosalone	0,996	0,991869	2,1E+04	1,1E+03	7,9E+04	1,1E+05	8,4E+00
phosmet	0,992	0,983557	6,6E+03	4,9E+02	5,4E+04	5,0E+04	1,2E+01
phosphamidone	0,997	0,993156	1,8E+04	8,8E+02	-4,9E+04	9,0E+04	7,7E+00
phoxim	0,974	0,948991	2,3E+02	3,1E+01	2,6E+03	3,2E+03	2,2E+01
pirimicarb	0,997	0,994451	3,3E+04	1,4E+03	-2,2E+04	1,4E+05	7,0E+00
pirimiphos methyl	0,997	0,994241	5,7E+04	2,5E+03	-1,2E+05	2,6E+05	7,1E+00
procloraz	0,998	0,99521	2,0E+03	8,1E+01	-3,8E+03	8,3E+03	6,5E+00

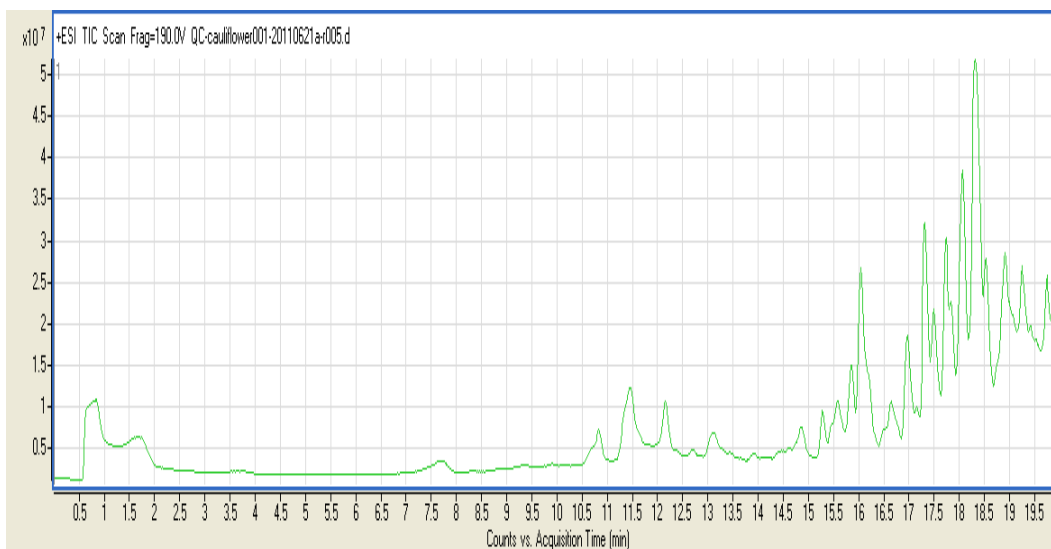
propachlor	0,998	0,995341	6,9E+03	2,7E+02	-1,4E+04	2,8E+04	6,4E+00
propiconazole	0,997	0,994233	4,1E+03	1,8E+02	-1,0E+03	1,8E+04	7,1E+00
pyraclostrobin	0,998	0,996888	1,9E+04	6,2E+02	-3,9E+03	6,3E+04	5,2E+00
pyrifenox	0,998	0,996159	4,5E+03	1,6E+02	-1,3E+04	1,6E+04	5,8E+00
quinoxifen	0,997	0,993434	3,0E+04	1,4E+03	-6,5E+04	1,4E+05	7,6E+00
resmetryn	0,993	0,986868	1,5E+04	9,7E+02	-1,1E+05	1,0E+05	1,1E+01
simazine	0,997	0,994324	5,4E+04	2,4E+03	-8,5E+04	2,4E+05	7,0E+00
tebufenpyrad	0,986	0,971518	1,3E+04	1,3E+03	7,8E+04	1,4E+05	1,6E+01
terbufos sulfone	0,998	0,996651	1,8E+03	6,1E+01	-8,2E+03	6,2E+03	5,4E+00
terbufos sulfoxide	0,997	0,99483	6,7E+03	2,8E+02	-2,4E+04	2,9E+04	6,7E+00
terbuthilazine-desmethyl	0,997	0,993451	1,2E+04	5,8E+02	-1,7E+04	6,0E+04	7,6E+00
thiabendazole	0,993	0,986903	3,4E+04	2,3E+03	2,8E+05	2,3E+05	1,1E+01
thiodicarb	0,995	0,99042	4,3E+03	2,4E+02	1,6E+03	2,5E+04	9,2E+00
triasulfuron	0,997	0,994834	9,2E+03	3,8E+02	1,5E+04	3,9E+04	6,7E+00
trichlorfon	0,997	0,994692	1,3E+04	5,3E+02	-6,2E+04	5,5E+04	6,8E+00
vamidotion	0,997	0,994462	4,5E+03	1,9E+02	-4,8E+04	2,0E+04	6,9E+00

Πίνακας 4.3 - Ροδάκινο Βασικές παράμετροι γραμμών παλινδρόμησης για 119 αναλύτες σε διαλύτη (ACN). (συντελεστής συσχέτισης (r), το τετράγωνο του συντελεστή παλινδρόμησης (r^2), τεταγμένη επί της αρχής (a), η τυπική απόκλιση της (S_a), κλίση της γραμμής (b), η τυπική απόκλιση της (S_b) και η αβεβαιότητα (S_u) που προκύπτει από την χρήση της γραμμής παλινδρόμησης στις μετρήσεις.

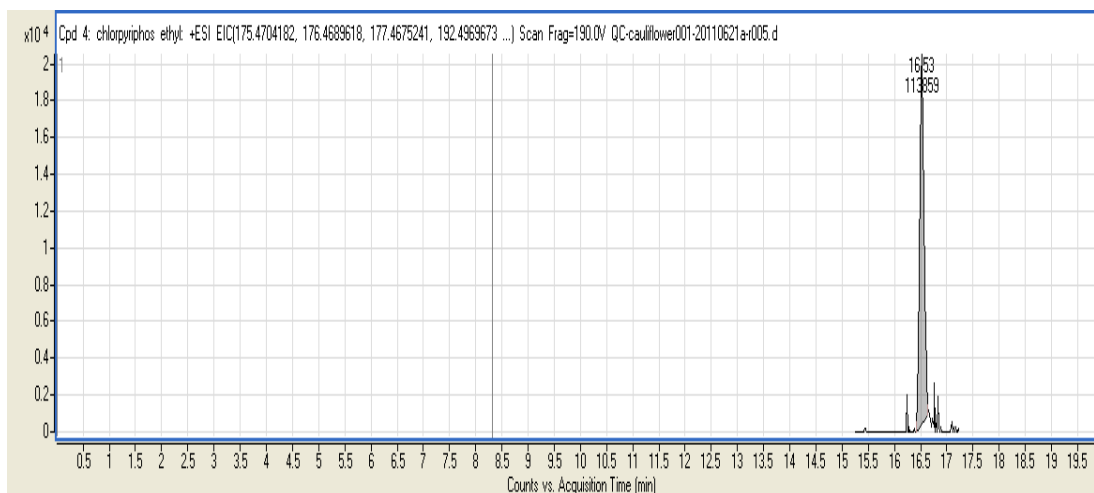
Αναλύτης	r	r^2	b	S_b	a	S_a	S_u
acephate	0,998	0,995	1,1E+04	3,6E+02	6,7E+04	3,4E+04	5,7E+00
acephate	1,000	0,999	2,0E+04	2,6E+02	-1,2E+05	2,4E+04	2,1E+00
acetochlor	0,999	0,998	4,9E+03	9,7E+01	-2,4E+04	9,2E+03	3,3E+00
aclonifen	0,999	0,999	1,3E+03	2,3E+01	-4,8E+03	2,2E+03	3,0E+00
alachlor	0,998	0,995	1,8E+03	6,3E+01	-1,8E+04	5,9E+03	5,9E+00
ametryn	0,999	0,999	8,5E+04	1,4E+03	-5,4E+05	1,3E+05	2,7E+00
atrazine	1,000	1,000	3,5E+04	1,5E+02	-1,6E+05	1,4E+04	7,3E-01
azimsulfuron	0,977	0,955	6,0E+03	6,5E+02	-1,2E+05	6,1E+04	1,8E+01
azinphos methyl	0,999	0,998	8,8E+03	2,1E+02	-2,3E+04	2,0E+04	4,0E+00
benalaxyl	1,000	0,999	3,3E+04	4,7E+02	-1,8E+05	4,4E+04	2,4E+00
bensulfuron methyl	1,000	0,999	1,5E+04	2,0E+02	-2,7E+04	1,9E+04	2,3E+00
benzoximate	0,999	0,998	1,6E+03	3,6E+01	-2,8E+03	3,4E+03	3,7E+00
bitertanol A+B	0,998	0,996	6,2E+03	2,0E+02	-4,5E+03	1,9E+04	5,5E+00
boscalid	1,000	1,000	6,8E+03	6,6E+01	-1,8E+04	6,2E+03	1,6E+00
bromacil	0,998	0,995	4,7E+03	1,6E+02	-4,8E+04	1,5E+04	5,7E+00
bromuconazole	1,000	1,000	2,1E+03	2,0E+01	-6,9E+03	1,9E+03	1,6E+00
cadusafos	0,996	0,993	4,8E+03	2,0E+02	-4,6E+04	1,9E+04	7,1E+00
carbaryl	1,000	1,000	2,7E+04	2,9E+02	-1,5E+05	2,7E+04	1,8E+00
carbendazim	0,999	0,998	3,0E+04	5,9E+02	-2,1E+05	5,6E+04	3,3E+00
carbofuran	1,000	0,999	2,5E+04	2,8E+02	-1,1E+05	2,7E+04	1,9E+00
chlorfevinphos	1,000	1,000	6,5E+03	6,3E+01	-2,3E+04	6,0E+03	1,6E+00

chlorpropham	1,000	0,999	3,2E+03	4,8E+01	-2,1E+04	4,5E+03	2,5E+00
chlorpyriphos methyl	0,994	0,989	1,6E+03	8,6E+01	-1,8E+04	8,1E+03	9,0E+00
chlorsulfuron	0,999	0,999	5,1E+03	9,3E+01	-5,5E+03	8,8E+03	3,1E+00
chlortoluron	1,000	0,999	2,0E+04	2,3E+02	-9,3E+04	2,1E+04	1,9E+00
clofentezin	0,967	0,935	6,9E+03	9,2E+02	-1,6E+05	8,6E+04	2,2E+01
demeton S methyl sulfoxide	0,998	0,996	2,3E+03	7,5E+01	-1,0E+04	7,1E+03	5,5E+00
demeton S methyl	0,996	0,993	1,3E+04	5,7E+02	-1,5E+05	5,3E+04	7,1E+00
desmetryn	0,999	0,997	6,7E+04	1,7E+03	-4,4E+05	1,6E+05	4,2E+00
diclofop methyl	0,997	0,994	4,4E+02	1,8E+01	-4,7E+03	1,7E+03	6,8E+00
diethofencarb	0,999	0,999	2,1E+04	3,5E+02	-5,8E+04	3,3E+04	2,7E+00
diniconazole	0,999	0,998	8,3E+03	1,8E+02	-1,4E+04	1,7E+04	3,6E+00
disulfoton-sulfone	1,000	1,000	7,1E+03	4,6E+01	-2,3E+04	4,3E+03	1,1E+00
diuron	1,000	1,000	1,1E+04	1,2E+02	-8,2E+04	1,1E+04	1,8E+00
epoxiconazole	0,998	0,996	1,2E+04	3,7E+02	-4,6E+04	3,5E+04	5,2E+00
ethion	0,999	0,999	3,2E+03	5,1E+01	-8,9E+03	4,8E+03	2,7E+00
ethirimole	0,997	0,995	2,7E+03	9,8E+01	-2,1E+04	9,2E+03	6,0E+00
ethoprophos	1,000	1,000	1,1E+04	9,1E+01	-5,7E+04	8,6E+03	1,4E+00
etoxazole	0,927	0,860	2,2E+04	4,4E+03	4,5E+05	4,2E+05	3,4E+01
fenamiphos	1,000	1,000	3,8E+04	1,7E+02	-1,6E+05	1,6E+04	7,7E-01
fenamiphos sulfone	1,000	1,000	1,0E+04	9,3E+01	-2,9E+04	8,8E+03	1,5E+00
fenamiphos sulfoxide	1,000	0,999	1,3E+04	2,1E+02	-5,4E+04	1,9E+04	2,6E+00
fenarimol	0,998	0,996	8,0E+03	2,4E+02	6,3E+03	2,2E+04	5,0E+00
fenazaquin	0,950	0,903	6,8E+03	1,1E+03	-1,7E+05	1,0E+05	2,7E+01
fenitrothion	0,999	0,998	9,7E+02	2,3E+01	-4,5E+03	2,2E+03	4,1E+00
fenoxycarb	1,000	1,000	1,6E+04	1,5E+02	-5,0E+04	1,4E+04	1,6E+00
fenpropimorph	0,999	0,999	8,4E+04	1,6E+03	-6,0E+05	1,5E+05	3,2E+00
fenthion sulfone	1,000	1,000	1,1E+04	1,2E+02	-2,8E+04	1,1E+04	1,7E+00
fenthion sulfoxide	1,000	1,000	1,1E+04	5,8E+01	-5,8E+04	5,5E+03	9,0E-01
fipronil	0,993	0,986	6,9E+02	4,2E+01	2,9E+03	3,9E+03	1,0E+01
fluazifop	0,994	0,988	5,4E+03	3,0E+02	-4,9E+04	2,9E+04	9,4E+00
flucythrinate	0,999	0,999	3,2E+03	5,5E+01	-6,6E+03	5,2E+03	2,9E+00
fludioxonil	0,999	0,998	3,5E+03	7,7E+01	-1,2E+04	7,3E+03	3,7E+00
flufenacet	0,994	0,988	6,6E+03	3,7E+02	-8,2E+03	3,5E+04	9,4E+00
flufenoxuron	0,999	0,999	4,4E+03	7,0E+01	-6,1E+03	6,6E+03	2,6E+00
fluometuron	1,000	1,000	2,4E+04	1,8E+02	-1,2E+05	1,7E+04	1,3E+00
fluquinconazole	0,999	0,998	1,8E+03	4,2E+01	-4,4E+03	4,0E+03	4,0E+00
flusilazole	1,000	0,999	2,7E+04	4,1E+02	-4,6E+04	3,9E+04	2,6E+00
flutriafol	1,000	0,999	1,2E+04	1,4E+02	-3,8E+04	1,3E+04	2,0E+00
formetanate	0,999	0,998	4,6E+03	1,1E+02	-4,3E+04	1,0E+04	3,9E+00
fosthiazate	1,000	1,000	2,9E+03	2,4E+01	-2,0E+04	2,3E+03	1,4E+00
furathiocarb	0,929	0,863	2,0E+04	3,9E+03	-3,2E+05	3,7E+05	3,3E+01
haloxyfop-ethoxyethylester	0,990	0,981	2,7E+04	1,9E+03	-1,9E+05	1,8E+05	1,2E+01
haloxyfop-methoxyethylester	0,999	0,998	2,6E+04	5,8E+02	-1,7E+05	5,5E+04	3,8E+00
hexaconazole	0,998	0,996	7,2E+03	2,3E+02	7,7E+03	2,1E+04	5,2E+00
hexythiazox	0,999	0,999	4,0E+03	7,5E+01	-2,7E+04	7,1E+03	3,2E+00
imazalil	0,999	0,999	3,8E+04	7,3E+02	-1,3E+05	6,9E+04	3,2E+00
iprovalicarb	0,992	0,983	2,6E+04	1,7E+03	-2,4E+05	1,6E+05	1,1E+01
kresoxim methyl	1,000	0,999	1,3E+03	1,5E+01	-8,7E+03	1,4E+03	1,9E+00
linuron	0,999	0,999	4,1E+03	6,6E+01	-9,4E+03	6,2E+03	2,7E+00
malaaxon	1,000	1,000	6,2E+03	5,5E+01	-3,1E+04	5,2E+03	1,5E+00
malathion	1,000	1,000	5,7E+03	3,2E+01	-3,5E+04	3,0E+03	9,4E-01
mecarbam	0,997	0,993	1,1E+03	4,7E+01	1,7E+03	4,5E+03	6,9E+00
metalaxyl-M	1,000	0,999	2,6E+04	3,7E+02	-1,9E+05	3,5E+04	2,4E+00
metconazole	0,999	0,998	2,2E+04	4,5E+02	-2,2E+04	4,3E+04	3,5E+00
methomyl	0,934	0,872	2,6E+02	5,0E+01	6,8E+03	4,7E+03	3,2E+01

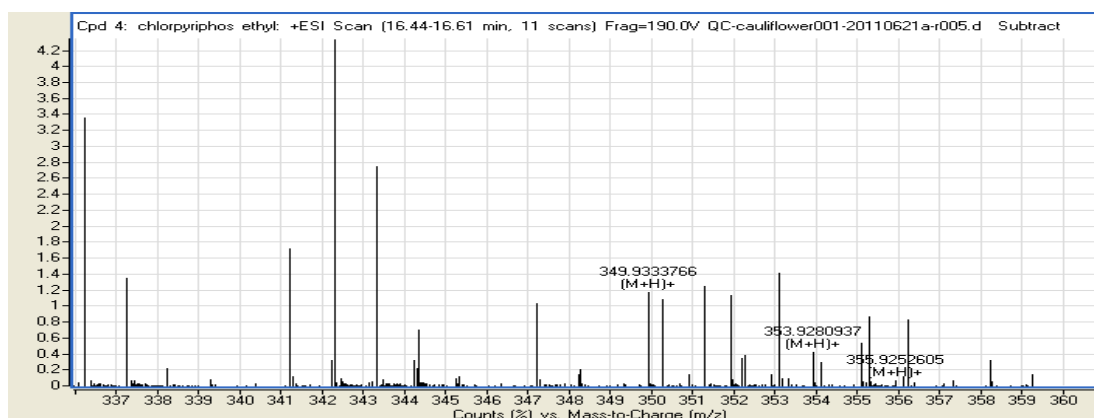
metobromuron	0,999	0,999	5,4E+03	1,0E+02	-1,3E+04	9,4E+03	3,1E+00
metolachlor S	1,000	1,000	1,5E+04	1,4E+02	-6,8E+04	1,3E+04	1,5E+00
metsulfuron methyl	1,000	0,999	5,8E+03	7,8E+01	-1,3E+04	7,4E+03	2,3E+00
monocrotophos	0,996	0,992	1,3E+04	5,8E+02	-1,5E+05	5,5E+04	7,3E+00
monolinuron	1,000	1,000	4,0E+03	4,2E+01	-2,1E+04	4,0E+03	1,8E+00
myclobutanil	1,000	1,000	4,8E+03	3,3E+01	-2,3E+04	3,1E+03	1,2E+00
napropamide	1,000	1,000	4,0E+04	2,2E+02	-1,8E+05	2,1E+04	9,2E-01
omethoate	0,925	0,856	1,2E+04	2,5E+03	-2,7E+05	2,4E+05	3,4E+01
oxadiazon	0,999	0,998	8,0E+03	1,9E+02	-5,9E+04	1,8E+04	4,0E+00
parathion ethyl	0,997	0,995	4,7E+02	1,7E+01	-3,3E+03	1,6E+03	6,1E+00
penconazole	1,000	1,000	1,1E+04	9,3E+01	-3,8E+04	8,8E+03	1,4E+00
phorate	0,978	0,956	1,4E+03	1,5E+02	9,6E+02	1,4E+04	1,8E+01
phorate sulfone	0,997	0,993	5,6E+03	2,3E+02	-5,5E+04	2,1E+04	6,8E+00
phorate sulfoxide	0,999	0,997	1,1E+03	3,0E+01	-1,1E+04	2,8E+03	4,4E+00
phosalone	0,998	0,996	1,1E+04	3,4E+02	4,8E+03	3,2E+04	5,0E+00
pirimicarb	1,000	1,000	3,3E+04	1,9E+02	-1,3E+05	1,8E+04	9,9E-01
pirimiphos methyl	0,983	0,967	4,3E+04	4,0E+03	1,8E+05	3,8E+05	1,5E+01
primisulfuron methyl	0,999	0,999	3,1E+03	5,4E+01	-5,2E+03	5,1E+03	2,9E+00
procloraz	1,000	0,999	3,0E+03	4,5E+01	-1,9E+04	4,2E+03	2,5E+00
propachlor	1,000	0,999	8,0E+03	1,1E+02	-5,6E+04	1,1E+04	2,4E+00
propargite	0,915	0,836	2,5E+03	5,5E+02	-4,9E+04	5,2E+04	3,7E+01
propiconazole	0,999	0,999	5,9E+03	1,1E+02	-1,0E+04	1,0E+04	3,1E+00
pyraclostrobin	1,000	1,000	2,2E+04	2,0E+02	-1,1E+05	1,9E+04	1,5E+00
pyrifenoxy	1,000	0,999	2,7E+04	3,4E+02	-1,4E+05	3,2E+04	2,1E+00
pyriproxyfen	0,940	0,884	9,1E+03	1,7E+03	1,7E+05	1,6E+05	3,0E+01
rimisulfuron	0,998	0,996	6,2E+03	1,9E+02	1,8E+03	1,8E+04	5,1E+00
simazine	1,000	0,999	5,1E+04	7,5E+02	-2,4E+05	7,1E+04	2,5E+00
spinosyn D	0,978	0,956	2,2E+03	2,4E+02	-4,6E+04	2,3E+04	1,8E+01
spirodofen	1,000	0,999	7,6E+03	1,2E+02	-4,7E+04	1,1E+04	2,6E+00
tebufenpyrad	0,906	0,821	1,2E+04	2,9E+03	-2,0E+05	2,7E+05	3,9E+01
terbufos sulfone	1,000	1,000	5,1E+03	3,1E+01	-2,1E+04	2,9E+03	1,0E+00
terbufos sulfoxide	0,906	0,822	1,2E+04	2,8E+03	2,3E+05	2,7E+05	3,9E+01
terbuthilazine-desmethyl	1,000	1,000	1,1E+04	1,2E+02	-4,5E+04	1,1E+04	1,8E+00
tetraconazole	0,998	0,996	5,9E+03	1,8E+02	1,7E+03	1,7E+04	5,0E+00
thiabendazole	1,000	0,999	3,8E+04	4,6E+02	-2,4E+05	4,3E+04	2,0E+00
thiamethoxam	0,999	0,999	9,1E+02	1,8E+01	-7,0E+03	1,7E+03	3,2E+00
thiodicarb	0,998	0,996	4,5E+03	1,4E+02	1,5E+03	1,4E+04	5,4E+00
tolclofos methyl	0,999	0,998	9,1E+02	1,9E+01	-5,6E+03	1,8E+03	3,6E+00
triallate	0,976	0,952	6,3E+02	7,1E+01	-1,4E+04	6,7E+03	1,9E+01
triasulfuron	1,000	0,999	8,8E+03	1,3E+02	-1,4E+04	1,2E+04	2,5E+00
triazophos	1,000	1,000	5,7E+04	2,0E+02	-2,3E+05	1,9E+04	6,0E-01
triflumuron	0,986	0,973	1,8E+03	1,5E+02	1,5E+04	1,4E+04	1,4E+01
vamidothion	0,991	0,983	5,0E+03	3,3E+02	-7,3E+04	3,1E+04	1,1E+01



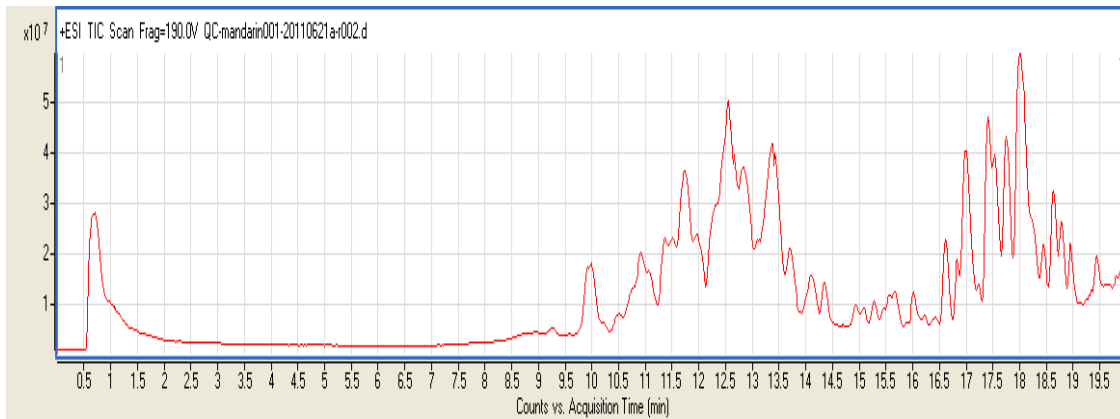
Σχήμα 6.1 Χρωματογράφημα πλήρους φάσματος εμβολιασμένου δείγματος **κουνουπιδιού** σε συγκέντρωση 0,01 mg/kg σε σύστημα LC-ESI(+)-TOF.



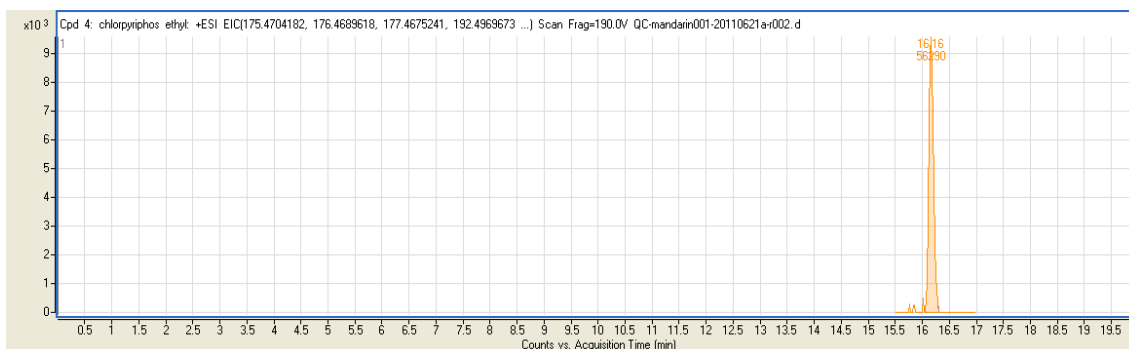
Σχήμα 6.2 Ανακατασκευή χρωματογραφήματος για την ουσία **chlorpyrifos methyl** σε δείγμα **κουνουπίδι**, σε συγκέντρωση 0,01 mg/kg σε σύστημα LC-ESI(+)-TOF.



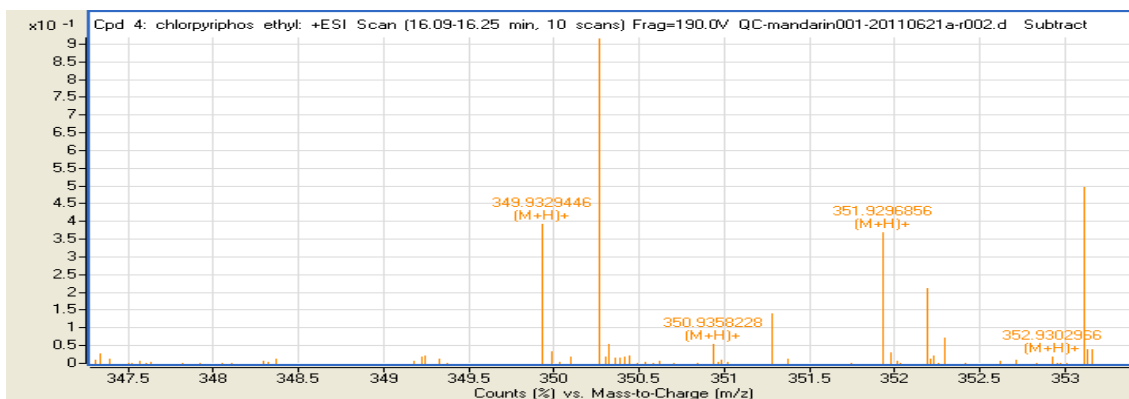
Σχήμα 6.3 Φάσμα μαζών της χρωματογραφικής κορυφής της ουσίας **chlorpyrifos methyl** σε δείγμα **κουνουπίδι**.



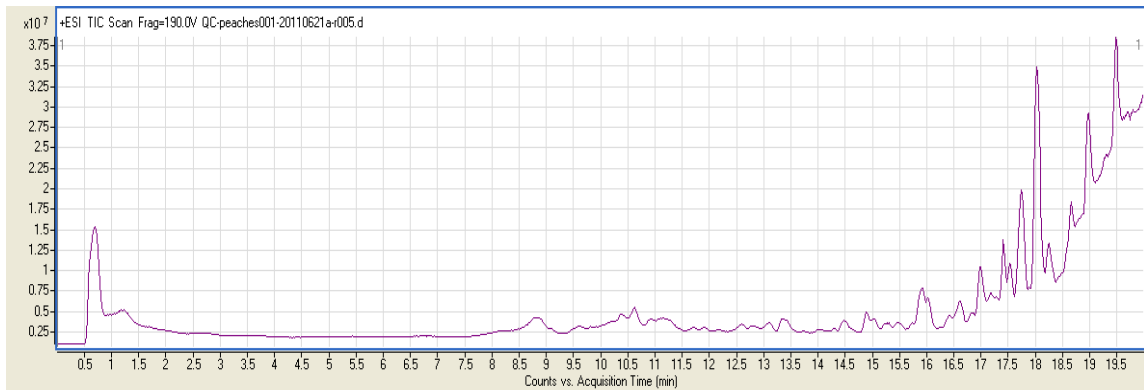
Σχήμα 7.1 Χρωματογράφημα πλήρους φάσματος εμβολιασμένου δείγματος **μανταρινιού** σε συγκέντρωση 0,01 mg/kg σε σύστημα LC-ESI(+)-TOF.



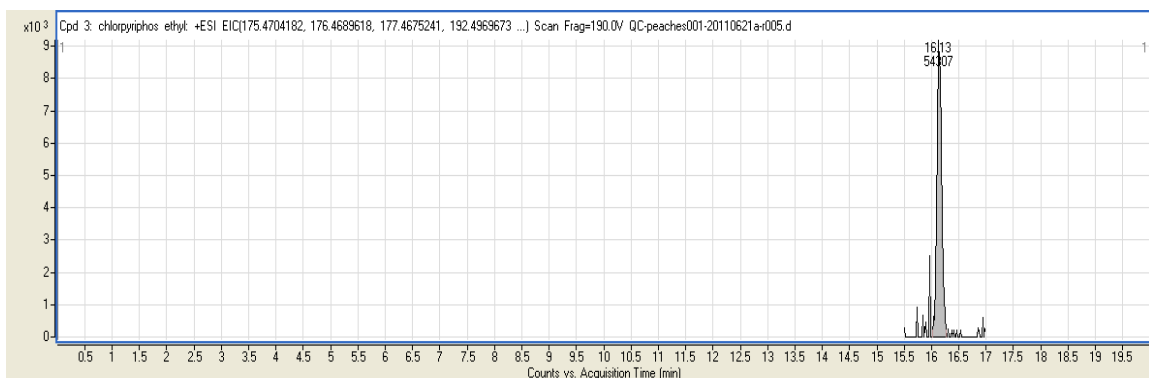
Σχήμα 7.2 Ανακατασκευή χρωματογραφήματος για την ουσία **chlorpyrifos methyl** σε δείγμα **μανταρίνι**, σε συγκέντρωση 0,01 mg/kg σε σύστημα LC-ESI(+)-TOF.



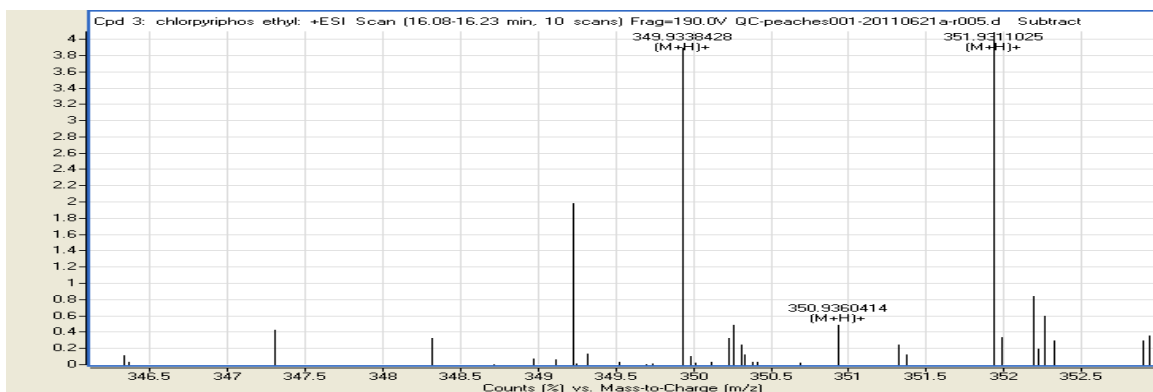
Σχήμα 7.3 Φάσμα μαζών της χρωματογραφικής κορυφής της ουσίας **chlorpyrifos methyl** σε δείγμα **μανταρίνι**.



Σχήμα 8.1 Χρωματογράφημα πλήρους φάσματος εμβολιασμένου δείγματος ροδάκινου σε συγκέντρωση 0,01 mg/kg σε σύστημα LC-ESI(+)-TOF.



Σχήμα 8.2 Ανακατασκευή χρωματογραφήματος για την ουσία **chlorpyrifos methyl** σε δείγμα ροδάκινο, σε συγκέντρωση 0,01 mg/kg σε σύστημα LC-ESI(+)-TOF.



Σχήμα 8.3 Φάσμα μαζών της χρωματογραφικής κορυφής της ουσίας **chlorpyrifos methyl** σε δείγμα ροδάκινο.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Οδηγία 91/414/ΕΟΚ
<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CONSLEG:1991L0414:20051201:EL:PDF> Οδηγία 91/414 ΕΟΚ (Τελευταία επίσκεψη: Απρίλιος 2014), σελ. 6-7.
2. Σ.Γ. Γεωργόπουλος – Β.Ν. Ζιώγας, «Αρχές και Μέθοδοι Καταπολέμησης των Ασθενειών των Φυτών», Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα 1992, σελ. 71-75.
3. Ιγνατιάδου-Παγκούση, «Χημεία Φυσικών Προϊόντων», Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Εργαστήριο Οργανικής Χημείας, Τμήμα Χημείας (1998), σελ.256-260.
4. Ζιώγας, Β., Μαρκόγλου.Α., Γεωργική Φαρμακολογία, Έκδοση Α', Ελληνικής Έκδοσης, Αθήνα, 2007, σελ. 12,18,120-124, 215-219, 227-228, 393.
5. http://www.efet.gr/images/efet_res/docs/EFSA/Eurobarometer_GR.pdf (Τελευταία επίσκεψη: Ιανουάριος 2014).
6. <http://www.minagric.gr/greek/DATA/%CE%9A%CE%91%CE%9D%CE%9F%CE%9D%CE%99%CE%A3%CE%9C%CE%9F%CE%A3%20%CE%A6%CE%A01107-2009-24-11-09.pdf> Κανονισμός 1107/2009/ΕΚ (Τελευταία επίσκεψη: Απρίλιος 2014)
7. Frehse, H., Pesticide Chemistry, Advances in International Research, Development and Legislation, VCH, Weinheim, 1991, p.p. 361-371, 383-394.
8. http://www.safeuse.gr/~esyf/docs/abcs_of_cropprotection_2004.pdf Το Αλφαβητάρι της Φυτοπροστασίας. (Τελευταία επίσκεψη: Φεβρουάριος 2014).
9. http://www.agro.basf.gr/agroportal/gr/media/migrated/gr/news/agro/pdf_5/Th_final_upoleimmata.pdf Οδηγός για τα Υπολείμματα Φυτοπροστατευτικών Προϊόντων σε Προϊόντα Φυτικής Προέλευσης. (Τελευταία επίσκεψη: Φεβρουάριος 2014).

10. Steven J. Lehotay, Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe (QuEChERS) Approach for Determining Pesticide Residues, Pesticide Analysis in Methods in Biotechnology, Humana Press, USA, Nov. 2004.
11. Wang J., Cheung W. (2006) “ Determination of Pesticides in Soy-Based Infant Formula Using Liquid Chromatography with Electrospray Ionization Tandem Mass Spectrometry”, Journal of AOAC International 89:214-224.
12. M.A. Luke, J.E. Froberg and H.T. Masumoto, Extraction and cleanup of organochlorines, organophosphate, organonitrogen and hydrocarbon pesticides in procedure for determination by gas-liquid chromatography, J.Assoc.Off.Anal.Chem.,58(5) (1975) 1020-1026.
13. W.Specht and M.Tillkes, Gaschromatographische bestimmung von rückständen an pflanzenbehandlungsmitteln nach clean-up über gel-chromatographie und minikieselgel- säulen-chromatographie, Fresenius Z. Anal. Chem., 301 (1980) 300-307.
14. A.Koinecke, R. Kreuzig, M.Bahadir, J.Siebers and H.G.Nolting, Investigations on the substitution of dichloromethane in pesticide residue analysis of plant materials, Fresenius J. Anal. Chem., 349 (1994) 301-305.
15. J.A. Casanova, Use of solid-phase extraction disks for analysis of moderately polar and nonpolar pesticide in high-moisture foods, J. AOAC Int., 79(4) (1996) 936-940.
16. R.R. Watts, R.W. Storherr, J.R. Pardue and T. Osgood, Charcoal column cleanup method for many organophosphorus pesticide residues in crop extracts, J. Assoc. Off. Anal. Chem., 52(3) (1969) 522-526.
17. A.H.Roos, A.J. Van Munsteren, F.M. Nab and L.G.M.Th. Tuinstra, Universal extraction/clean-up procedure for screening of pesticides by extraction with ethyl acetate and size-exclusion chromatography, Anal. Chim. Acta, 196 (1987) 95-102.
18. A.R. Fernandez-Alba, A. Valverde, A. Aguera and M. Conteras, Gas chromatographic determination of organochlorine and pyrethroid pesticides of horticultural concern, J.Chromatogr. A, 686 (1994) 263-274.
19. H. Obana, K. Akutsu, M. Okihashi, S. Kakimoto and S. Hori, Multiresidue analysis of pesticides in vegetables and fruits using high capacity absorbent polymer for water, Analyst, 124 (1999) 1159-1165.

20. P.A. Mills, J.H. Onley and R.A. Gaither, Rapid method for chlorinated pesticide residues in nonfatty foods, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 46(2) (1963) 186-191.
21. W.L. Joe and W.G. Cusick, Multiresidue screening for fresh fruits and vegetables with gas chromatography/mass spectrometric detection, *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 74(3) (1991) 554-565.
22. S.M. Lee, M.L. Papathakis, H.M.C. Feng, G.F. Hunter and J.E. Carr, Multi-pesticide residue method for fruits and vegetables : California Department of Food and Agriculture, *Fresenius J. Anal. Chem.*, 339 (1991) 376-383.
23. M. Anastassiades, S.J. Lehotay, D. Stajnbaher, F.J. Schenck, Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and 'Dispersive solid-phase extraction for the determination of pesticide residues in produce', *Journal of the Association of Official Analytical Chemists International*, 86 (2003) 412-431.
24. Steven J. Lehotay, Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe Approach for Determining Pesticide Residues, *Mass Spectrometry in Food Safety : Methods and Protocols*, (2002) 239-261.
25. Cameron, A.E.; Eggers, D.F., An ion 'velocitron', *Rev.Sci. Instrum.*, 1948, 19, 605-607.
26. Wiley, W.C.; McLaren, I.H., Time-of-Flight mass spectrometer with improved resolution, *Rev. Sci. Instrum.*, 1955, 26, 1150-1157.
27. Mamyrin, B.A., Time-of-Flight mass spectrometry (concepts, achievements, and prospects), *Int. J. Mass Spectrom.*, 2001, 206, 251-266.
28. Coles, J.; Guilhaus, M., Orthogonal acceleration – a new direction for time-of-flight mass spectrometry : fast, sensitive mass analysis for continuous ion sources, *Trends Anal. Chem.*, 1993, 12, 203-213.
29. Dodonov, A.F.; Chermushevich, I.V.; Laiko, V.V., *Proceedings of the 12th International Mass Spectrometry Conference*, 26-30.
30. Ferrer, I. and Thurman, E.M., *Liquid Chromatography Time-of-Flight Mass Spectrometry*, Wiley, 2009, vol.173, 4-9.
31. J. Fjeldsted, *Time-of-Flight, Technical Overview*, Agilent Technologies, 2003.
32. European Commission (2007), Document No. SANCO/3131/2007, "Method Validation And Quality Control Procedures For Pesticide Residues Analysis

- In Food And Feed”,
http://ec.europa.eu/food/plant/protection/resources/qualcontrol_en.pdf.
33. EURACHEM/CITAC Guide (2000), “Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement”, 2nd Edition.
 34. http://www.chem.uoa.gr/applets/AppletQtest/Text_Qtest1.htm
 35. Καλτσίκης Π. (1990), ‘Πίνακες Γεωργικού Πειραματισμού’, Σταμούλης 1990, σελ.16.
 36. J. Klein and L. Alber, J.Assoc. Off. Anal. Chem. Int., 86 (2003) 1015.
 37. M. Stuber and T. Reemtsma, Anal. Bioanal. Chem., 378 (2004) 910.
 38. European Commission (2007), Document No. SANCO/3131/2007, “Method Validation And Quality Control Procedures For Pesticide Residues Analysis In Food And Feed”,
http://ec.europa.eu/food/plant/protection/pesticides/docs/qualcontrol_en.pdf
 39. http://www.eurl-pesticides-datapool.eu/default.aspx?ziel=asp/en/login_reply.aspx