

ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ (ΤΕΙ) ΚΑΛΑΜΑΤΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ

ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ ΦΥΤΙΚΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΓΙΑ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΑ
ΦΥΤΟΠΡΟΣΤΑΤΕΥΤΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ –ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ –
ΔΙΑΚΡΙΒΩΣΕΙΣ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΥ ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΥ.

Πτυχιακή εργασία.
της σπουδάστριας: Ράπη Στέλλας

ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ (ΤΕΙ) ΚΑΛΑΜΑΤΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ



ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ ΦΥΤΙΚΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΓΙΑ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΑ
ΦΥΤΟΠΡΟΣΤΑΤΕΥΤΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ –ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ –
ΔΙΑΚΡΙΒΩΣΕΙΣ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΥ ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΥ.

Πτυχιακή εργασία.
της σπουδάστριας: Ράπη Στέλλας

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ :ΑΝΑΣΤΑΣΙΟΥ Γ. ΗΛΙΟΠΟΥΛΟΥ

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ.....	4
ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	5
ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	6
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	7
2. ΦΥΤΟΠΡΟΣΤΑΤΕΥΤΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ.....	9
2.1 Ορισμοί.....	9
2.2 Ιστορική αναδρομή.....	9
2.3 Κατηγορίες φυτοπροστατευτικών προϊόντων.....	10
2.4 Παραγωγή και κατανάλωση φυτοπροστατευτικών προϊόντων.....	11
3. ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΑ ΦΥΤΟΠΡΟΣΤΑΤΕΥΤΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ ΣΕ ΦΥΤΙΚΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ.....	12
3.1 Αναλυτική Μεθοδολογία Προσδιορισμού Υπολειμμάτων σε δείγματα φυτικής προέλευσης.....	16
3.2 Στάδια Χημικής Κατεργασίας.....	18
3.2.1 Παραλαβή δείγματος για ανάλυση.....	18
3.2.2 Δειγματοληψία.....	19
3.2.3 Αντιπροσωπευτικότητα της δειγματοληψίας.....	20
3.2.4 Δειγματοληψία για τον έλεγχο Υπολειμμάτων από φορτία	20
3.2.5 Δειγματοληψία από πειραματικά τεμάχια (SUPERVISED TRIALS)	23
3.2.6 Γενικές προφυλάξεις κατά τη δειγματοληψία.....	30
3.2.7 Δειγματοληψία και Συντήρηση δείγματος.....	31
3.3 Επιλογή της μεθόδου ανάλυσης.....	31
3.4 Εκτέλεση της μεθόδου ανάλυσης.....	33
3.4.1 Εκχύλιση.....	34
3.4.2 Καθαρισμός (CLEAN UP).....	35
3.4.3 Στάδιο Μέτρησης.....	35
3.4.4 Διασφάλιση ποιότητας των χημικών μετρήσεων.....	35
3.4.5 Ποιοτική Επαλήθευση (Ταυτοποίηση).....	36
3.4.6 Έλεγχος ποιότητας της μεθόδου.....	36
4. ΕΣΩΤΕΡΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ.....	37
4.1 Τεχνικές Εσωτερικού ελέγχου.....	37

4.1.1	Χρήση Λευκών.....	38
4.1.2	Χρήση Δειγμάτων Ελέγχου Ποιότητας της Μεθόδου(QC.SAMPLES).....	39
4.1.3	Χρήση πολλαπλών Αναλύσεων του ίδιου Δείγματος.....	39
5.	ΑΝΑΛΥΤΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΣ: ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΩΝ ΦΥΤΟΠΡΟΣΤΑΤΕΥΤΙΚΩΝ ΠΡΟΙΟΝΤΩΝ ΣΕ ΦΥΤΙΚΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ...	40
6.	ΑΕΡΙΟΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ.....	41
	<u>ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟ ΜΕΡΟΣ</u>	43
1.	ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	44
2.	ΕΙΣΑΓΩΓΗ	44
3.	ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	46
3.1	Γυάλινα Υλικά.....	46
3.2	Όργανα	46
3.3	Αντιδραστήρια.....	47
3.4	Διακριβώσεις εργαστηριακού εξοπλισμού.....	47
3.4.1	Ογκομετρικές φιάλες.....	47
3.4.2	Ογκομετρικά σιφώνια.....	49
3.5	ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ.....	51
3.5.1	Εκχύλιση.....	51
3.5.2	Υπολογισμοί.....	52
3.6	ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΕΛΕΓΧΟΥ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΜΕ ΧΡΗΣΗ QUALITY CONTROL (QC) ΔΙΑΛΥΜΑΤΩΝ ΣΕ ΔΙΑΦΟΡΑ ΦΥΤΙΚΑ ΥΠΟΣΤΡΩΜΑΤΑ	53
3.6.1	Σε φυτικό υπόστρωμα τομάτας	53
3.6.2	Σε φυτικό υπόστρωμα μήλου σε εγχυτές GC-03-ECD, GC-04-NPD	56
4.	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	60
4.1	Αποτελέσματα διακριβώσεων	60
4.1.1	Ογκομετρικές φιάλες.....	60
4.1.2	Ογκομετρικά σιφώνια.....	67
4.2	Αποτελέσματα έλεγχου ποιότητας με χρήση Quality Control (QC) διαλυμάτων σε διάφορα φυτικά υποστρώματα	69
4.2.1	Σε φυτικό υπόστρωμα τομάτας	69
4.2.2	Σε φυτικό υπόστρωμα μήλου σε εγχυτές GC-03-ECD, GC-04-NPD.....	70
5.	ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ & ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	75

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ.....	77
1. Ορισμοί.....	77
2. Έννοιες και μαθηματικές σχέσεις της αεριοχρωματογραφίας.....	77
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	79
1. Ελληνική	
2. Ξενόγλωσση	

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η εργασία αυτή πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Υπολειμμάτων Γεωργικών Φαρμάκων του Μπενάκειου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου, με την έγκριση της Διοίκησης του Ινστιτούτου και της Διεύθυνσης του Εργαστηρίου.

Το θέμα της Εργασίας καθορίστηκε από τον Προϊστάμενο του Εργαστηρίου Υπολειμμάτων Γεωργικών Φαρμάκων, Τακτικό Ερευνητή Α. και Δρ Γεώργιο Ε. Μηλιάδη.

Θέλω να ευχαριστήσω θερμά τον κ.Μηλιάδη Γεώργιο για την ευκαιρία που μου έδωσε να εργαστώ στο χώρο του Εργαστηρίου Υπολειμμάτων του Ινστιτούτου καθώς και για τις πολύτιμες συμβουλές και υποδείξεις του κατά την πραγματοποίηση της πτυχιακής μου εργασίας. Επιπρόσθετα, θα ήθελα να του εκφράσω τις απεριόριστες ευχαριστίες μου για την επίβλεψη, το ενδιαφέρον και την επιστημονική καθοδήγησή του κατά την πορεία εξέλιξης αυτής της εργασίας καθώς και την αμέριστη συμπαράσταση και την πολύτιμη βοήθεια που προσέφερε τόσο κατά το εργαστηριακό όσο και κατά το συγγραφικό μέρος.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον επίκουρο καθηγητή του ΤΕΙ Καλαμάτας Αναστάσιο Ηλιόπουλο και την κα. Πορύχη Ελεάνα για τη βοήθεια που μου προσέφεραν κατά την επίβλεψη της εργασίας αυτής.

Δεν μπορώ βέβαια να ξεχάσω και να μην ευχαριστήσω τους ερευνητές του εργαστηρίου κα Πιπίνα Απλαδά-Σαρλή και Δρ. Κωνσταντίνο Λιαπή, τις γεωπόνους του Εργαστηρίου Υπολειμμάτων κα Μπεμπέλου Ελευθερία, κα Μαλάτου Παναγιώτα καθώς και τις βοηθούς του εργαστηρίου κα Μπούρου Αικατερίνη και την κα Κων/ντίνα Τσίρου για τη βοήθεια και για πολύτιμες εργαστηριακές συμβουλές τους. Ακόμη, τη Διοίκηση του Ινστιτούτου για την παροχή των απαιτούμενων μέσων για τη διεκπεραίωση της εργασίας μου.

ΡΑΠΤΗ ΣΤΕΛΛΑ

ΑΘΗΝΑ, ΙΑΝΟΥΑΡΙΟΣ 2005

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην εργασία αυτή περιγράφεται ο Εσωτερικός Έλεγχος ποιότητας, ο οποίος και αποτελεί μεθοδολογία του εργαστηρίου Υπολειμμάτων του Μπενακείου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου για τον προσδιορισμό υπολειμμάτων φυτοπροστατευτικών προϊόντων σε φυτικά δείγματα μήλων.

Ο σκοπός για τον οποίο εφαρμόζεται ο έλεγχος αυτός σε ένα εργαστήριο είναι για να εντοπιστούν και να αναιρεθούν οι αιτίες που προκαλούν σφάλματα. Έτσι ώστε κατά τη διάρκεια της αναλυτικής διαδικασίας, με τη χρήση κατάλληλων τεχνικών να εξασφαλιστεί η ακρίβεια και η εγκυρότητα των αποτελεσμάτων.

Αρχικά πραγματοποιείται κατάλληλη δειγματοληψία και κατεργασία του αρχικού δείγματος, προκειμένου να ληφθεί για ανάλυση ένα αντιπροσωπευτικό μέρος αυτού. Έπειτα, ακολουθεί εργαστηριακή προετοιμασία του δείγματος (επιλογή κατάλληλων τεμαχιδίων, άλεση ομογενοποίηση) έτσι ώστε από το ομοιογενές υλικό που θα προκύψει να παίρνονται τα εργαστηριακά δείγματα για ανάλυση.

Στη συνέχεια γίνεται η επιλογή της μεθόδου, η οποία για να είναι αποδεκτή θα πρέπει η απόδοσή της να κυμαίνεται από 60-140%, με μέσο όρο πάνω από 100%. Αφού γίνει η εργαστηριακή προετοιμασία του δείγματος για ανάλυση ακολουθεί εκχύλιση με ακετόνη, διχλωρομεθάνιο και πετρελαϊκό αιθέρα (και οι τρεις οργανικοί διαλύτες καθαρότητας ειδικά για αναλύσεις υπολειμμάτων) και το δείγμα ομογενοποιείται μαζί με το διαλύτη σε ομογενοποιητή (μίξερ) υψηλών ταχυτήτων (Ultra-Turrax, T-25).

Η μέθοδος ελέγχθηκε ως προς τα βασικά χαρακτηριστικά της στοιχεία, δηλαδή την ακρίβεια και την επαναληψιμότητα.

Για τον έλεγχο της ακρίβειας υπολογίστηκε σε Α' επίπεδο η ανάκτηση των captan, Myclobutanil, Fenarimol, a-cypermethrin σε τεχνητά φορτισμένα δείγματα μήλων. Οι ανακτήσεις κυμάνθηκαν από 91,7% έως 107%.

Ομοίως υπολογίστηκε σε Β' επίπεδο η ανάκτηση των lambda-cyhalothrin, deltamethrin, triadimenol, kresoxim methyl, beta-cyfluthrin, diazinon, chlorpyrifos methyl, fenitrothion, tau-fluvalinate, phosalone. Οι ανακτήσεις των οποίων κυμάνθηκαν από 88% έως 107%. Η επαναληψιμότητα των αποτελεσμάτων βρέθηκε ικανοποιητική με τιμές σχετικής τυπικής απόκλισης 21,7%.

ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Οι προσυλλεκτικές και μετασυλλεκτικές απώλειες από μυκητολογικές ασθένειες, σε φρούτα και λαχανικά αποτελούν μεγάλο οικονομικό πρόβλημα για πολλές χώρες. Ετησίως απαιτούνται μεγάλες χρηματικές δαπάνες για την ελαχιστοποίηση των απωλειών και την εξασφάλιση της ποιότητας των προϊόντων. Τα φυτοπροστατευτικά προϊόντα παίζουν έναν πολύ σπουδαίο ρόλο στην προστασία των προϊόντων και στη διατήρηση της ποιότητάς τους.

Οι υπολογισμοί για τη σωστή χρήση αυτών των χημικών ουσιών, που μικρές ποσότητες τους, υπολείμματα, μπορεί να βρεθούν στις τροφές που καταναλώνονται, δεν είναι εύκολοι. Περιλαμβάνουν τα συμπεράσματα μελετών πολλών επιστημόνων με υψηλή εξειδίκευση στους τομείς της γεωπονίας, της χημείας, της τοξικολογίας, της βιολογίας και της ιατρικής.

Η αντιμετώπιση των εντόμων- εχθρών και των ασθενειών που προσβάλουν τις καλλιέργειες έχει οδηγήσει στην υπέρμετρη χρήση φυτοπροστατευτικών προϊόντων. Δεδομένου ότι η χρήση αυτή έχει ήδη επιφέρει αρνητικές συνέπειες στο οικοσύστημα και στην υγεία του ανθρώπου-καταναλωτή και τα φαινόμενα αυτά είναι πιθανό να επαναληφθούν, ο έλεγχος των νωπών ή μεταποιημένων προϊόντων ως προς τα υπολείμματα φυτοπροστατευτικών προϊόντων είναι απαραίτητος.

Παγκοσμίως έχουν ιδρυθεί κρατικά και ιδιωτικά εργαστήρια με σκοπό τον έλεγχο των εγχώριων και των εισαγόμενων τροφίμων ως προς τα υπολείμματα φυτοπροστατευτικών προϊόντων. Προκειμένου να εξασφαλισθεί η ορθότητα των αποτελεσμάτων των αναλύσεων, απαραίτητη κρίνεται η διεξαγωγή ενδοεργαστηριακών ελέγχων ποιότητας (quality control, QC).

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε ο Εσωτερικός Έλεγχος Ποιότητας μιας υπάρχουσας μεθόδου του Εργαστηρίου Υπολειμμάτων του Μπενακείου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου η οποία εφαρμόζεται για τον προσδιορισμό φυτοπροστατευτικών προϊόντων σε φυτικά δείγματα, και στην προκειμένη περίπτωση σε μήλα.

Ο Εσωτερικός Έλεγχος Ποιότητας συνίσταται στη συστηματική παρακολούθηση της μεθόδου και της σωστής εκτέλεσης των αναλύσεων, ώστε να εξασφαλίζεται η ακρίβεια και η σταθερότητα των παραγομένων αποτελεσμάτων. Ο ρόλος του Εσωτερικού Ελέγχου Ποιότητας σε ένα εργαστήριο δοκιμών είναι η χρήση κατάλληλων τεχνικών, ώστε να εντοπίζονται και να αναιρούνται οι αιτίες που προκαλούν σφάλματα, κατά τη διάρκεια της αναλυτικής διαδικασίας.

Η διαδικασία της χρωματογραφίας αποτελεί μια αναλυτική μέθοδο διαχωρισμού μεταξύ δύο φάσεων. Ο διαχωρισμός επιτυγχάνεται λόγω διαφοράς φυσικοχημικής συγγένειας των ουσιών ως προς τις δύο φάσεις, τη στατική (ακίνητο στρώμα με μεγάλο εμβαδόν επιφάνειας) και την κινητή (ρευστό που κινείται δια μέσου και κατά μήκος της στατικής φάσης).

Ειδικότερα η μέθοδος αυτή εφαρμόστηκε για πρώτη φορά το 1906, από το Ρώσο βοτανολόγο M.Tsvett, για το διαχωρισμό των εγχρωμών ουσιών που υπάρχουν στα φύλλα των φυτών και από εκεί προέρχεται και το όνομα της.

Μια υποκατηγορία μεθόδων χρωματογραφίας είναι η αεριοχρωματογραφία (GC), στην οποία η κινητή φάση είναι αέρια, ενώ η στατική φάση είναι υγρή ή στερεή. Η αεριοχρωματογραφία με υγρή στατική φάση (gas-liquid chromatography - GLC) αναπτύχθηκε για πρώτη φορά από τους Martin και James και σήμερα χρησιμοποιεί ευρέως για τον ποιοτικό και ποσοτικό προσδιορισμό πτητικών ενώσεων, οι οποίες δεν θα πρέπει να είναι θερμοευαίσθητες.

Το κύριο φαινόμενο το οποίο λαμβάνει χώρα κατά τον διαχωρισμό των ουσιών στην αεριοχρωματογραφία είναι η προσρόφηση. Τα μόρια του φέροντος αερίου και της προς προσδιορισμό ουσίας ανταγωνίζονται για να καταλάβουν τις ενεργές θέσεις της στατικής φάσης. Η προς προσδιορισμό ουσία παραμένει περισσότερο χρόνο στη φάση με την οποία έχει μεγαλύτερη συγγένεια. Η πολικότητα της κινητής, της στατικής φάσης και της υπό προσδιορισμό ουσίας καθορίζουν τον χρόνο έκλουσης της τελευταίας. Οι μη πολικές στατικές φάσεις διαχωρίζουν τα συστατικά του μίγματος με βάση το σημείο ζέσεώς τους.

Επιπλέον, στην παρούσα εργασία μελετήθηκαν και οι διακριβώσεις εργαστηριακού εξοπλισμού, οι οποίες αποτελούν μια τυποποιημένη διαδικασία μέσω της οποίας ελέγχεται η καταλληλότητα της χρήσης αυτού, προκειμένου κατά την παραλαβή και μέτρηση καθορισμένου όγκου υγρών να έχουμε τα καλύτερα δυνατά αποτελέσματα.

Πιο συγκεκριμένα, μελετήθηκαν και διακριβώθηκαν οι ογκομετρικές φιάλες και τα ογκομετρικά σιφώνια διαφόρων περιεκτικοτήτων σε mL. Ο λόγος για τον οποίο καθίστανται απαραίτητες οι διακριβώσεις είναι για να εξακριβωθεί η ακριβής χωρητικότητα των ογκομετρικών φιαλών και σιφωνίων, έτσι ώστε κατά την διαδικασία ενός πειράματος να μην υπάρξουν λόγω της μετρήσεως λανθασμένα συμπεράσματα.

2. ΦΥΤΟΠΡΟΣΤΑΤΕΥΤΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ

2.1 Ορισμοί

Τα προϊόντα φυτοπροστασίας είναι τα σκευάσματα που περιέχουν μία ή περισσότερες δραστικές ουσίες και προορίζονται για να :

- Προστατεύουν τα φυτά ή τα φυτικά προϊόντα από κάθε είδος επιβλαβείς οργανισμούς ή να προλαμβάνουν τη δράση τους.
- Επηρεάζουν τις βιολογικές διεργασίες των φυτών (εκτός αν πρόκειται για θρεπτικές ουσίες).
- Διατηρούν τα φυτικά προϊόντα (εκτός και αν πρόκειται για ουσίες που κατατάσσονται στα συντηρητικά).
- Καταστρέφουν τα ανεπιθύμητα φυτά.
- Καταστρέφουν μέρη των φυτών, επιβραδύνουν ή παρεμποδίζουν την ανεπιθύμητη ανάπτυξή τους.

Υπολείμματα φυτοπροστατευτικών προϊόντων είναι μία ή περισσότερες δραστικές ουσίες, παρούσες εντός ή επί των φυτών ή των προϊόντων φυτικής προέλευσης, των βρώσιμων προϊόντων ζωικής προέλευσης, ή αλλού στο περιβάλλον, προερχόμενες από τη χρήση φυτοπροστατευτικών προϊόντων περιλαμβανομένων των μεταβολιτών τους και των προϊόντων που προέρχονται από την αποικοδόμηση ή την αντίδρασή τους.

2.2 Ιστορική αναδρομή

Η σημασία της φυτοπροστασίας για την αύξηση της γεωργικής παραγωγής προς την αντιμετώπιση του προβλήματος της διατροφής του αυξανόμενου πληθυσμού απασχολεί όλο και περισσότερο την επιστημονική κοινότητα. Οι απώλειες που προκαλούν στην γεωργική παραγωγή οι ασθένειες και τα παράσιτα είναι πολύ σημαντικές. Υπολογίζεται ότι χωρίς προστασία της παραγωγής, μόνο το 10% της κανονικής συγκομιδής μήλων θα μπορούσε να συλλεχθεί και αντίστοιχα το 9% για το ροδάκινο, 22% για το λάχανο, 37% για τα γεώμηλα κ.λ.π.

Η αντιμετώπιση των εντόμων με χημική καταπολέμηση άρχισε το 1865 με τη χρησιμοποίηση ενώσεων του αρσενικού, όπως ο οξικός αρσενικόδης χαλκός στην καταπολέμηση του δορυφόρου της πατάτας, ενός εντόμου των γεωμήλων. Για την προστασία των καλλιεργειών από προσβολές μυκήτων χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά μίγμα ασβεστίου και θείου στα καλλωπιστικά δενδρύλλια των Βερσαλλιών το 1851, ενώ το πρώτο ζιζανιοκτόνο ήταν το αρσενικόδες νάτριο, το 1900.

Στη συνέχεια χρησιμοποιήθηκαν κυρίως ανόργανες ενώσεις μέχρι το 1940, οπότε και αρχίζει μία αλματώδης ανάπτυξη της σύνθεσης νέων κυρίως οργανικών χημικών ενώσεων.

Η αύξηση της παραγωγής, που επιτεύχθηκε με τη χημική καταπολέμηση, όπως επίσης και με πολλούς άλλους τρόπους, βοήθησε σημαντικά τη βελτίωση της διατροφής, ενώ παράλληλα οι ασθένειες που προκαλούσαν τα έντομα, όπως η θανατηφόρος ελονοσία, περιορίστηκαν δραστικά.

Παρ' όλα αυτά, οι παγκόσμιες απώλειες της γεωργικής παραγωγής που οφείλονται σε έντομα, ασθένειες και ζιζάνια για το 1970 υπολογίστηκαν περίπου 75 δις. δολάρια, ενώ περίπου 500 εκατομμύρια άνθρωποι υποσιτίζοντο την ίδια χρονική περίοδο.

Η μεγάλη διάδοση της χρήσης των φυτοπροστατευτικών προϊόντων είχε ως αποτέλεσμα τη ρύπανση του περιβάλλοντος. Μέσω της τροφικής αλυσίδας τα φάρμακα εισέρχονται στους οργανισμούς και τα πιο ανθεκτικά από αυτά, όπως τα οργανοχλωριωμένα, συσσωρεύονται στους ζωικούς ιστούς. Έτσι, το DDT και οι μεταβολίτες του αποτέλεσαν αντικείμενο μελέτης πολλών ερευνητών από τις οποίες αποδείχτηκε η επικινδυνότητά του και απαγορεύτηκε η χρήση του.

Η χρησιμοποίηση φυτοπροστατευτικών προϊόντων συνεχώς επεκτείνεται μέχρι και σήμερα. Ταυτόχρονα όμως η ανησυχία για τις επιπτώσεις τους στην υγεία του ανθρώπου, οδηγεί στην εξεύρεση εναλλακτικών λύσεων στα προβλήματα της φυτοπροστασίας. Μέχρι σήμερα δεν υπάρχουν στοιχεία που να αποδεικνύουν ότι τα φυτοπροστατευτικά προϊόντα μετά από σωστή χρησιμοποίηση, μπορούν να προκαλέσουν μεταλλαξιγένεση, καρκινογένεση ή τερατογένεση στον άνθρωπο, παρ'όλο που αυτό μπορεί να συμβεί σε πειραματόζωα.

2.3 Κατηγορίες φυτοπροστατευτικών προϊόντων

Τα φυτοπροστατευτικά προϊόντα διακρίνονται ανάλογα με το είδος του παρασίτου που καταπολεμούν σε εντομοκτόνα, μυκητοκτόνα, ζιζανιοκτόνα, ακαρεοκτόνα, νηματοδοκτόνα κ.α. Ανάλογα με τον τρόπο δράσης τους ταξινομούνται σε φάρμακα επαφής, αυτά δηλαδή που παραμένουν στο φύλλωμα και σε διασυστηματικά, τα οποία μεταφέρονται μέσα στο φυτό και κυκλοφορούν στους φυτικούς ιστούς. Τα ζιζανιοκτόνα (herbicides) χρησιμοποιούνται για την αντιμετώπιση των ζιζανίων, δηλαδή των φυτών που φυτρώνουν σε μη επιθυμητή θέση και διακρίνονται σε καθολικά (non-selective) και σε εκλεκτικά (selective) ανάλογα με τον αν καταπολεμούν όλα ή μερικά από τα φυτά.

Μια άλλη ταξινόμηση γίνεται ανάλογα με τη χημική κατηγορία στην οποία ανήκει το φυτοπροστατευτικό προϊόν. Οι σημαντικότερες κατηγορίες είναι οι εξής :

- **Οργανοχλωριωμένα**, που είναι μια μεγάλη κατηγορία με μερικά ευρέως στο παρελθόν χρησιμοποιούμενα φυτοπροστατευτικά προϊόντα, όπως τα DDT, aldrin, dieldrin. Εξαιτίας της μεγάλης τους σταθερότητας, οι ενώσεις αυτές έχουν προκαλέσει μεγάλο ενδιαφέρον.

Είναι αδιάλυτες στο νερό και για αυτό συσσωρεύονται στους λιπαρούς ιστούς του οργανισμού.

- **Οργανοφωσφορικά**, τα οποία αποτελούν ενώσεις με ευρεία χρήση λόγω της ισχυρής τους δράσης, του ευρέως φάσματος καταπολέμησης εντόμων, μικρής διάρκειας δράσης λόγω ταχείας διάσπασης προς μη τοξικά προϊόντα και με άμεση αποτελεσματικότητα. Μειονεκτούν όμως λόγω της υψηλής οξείας τοξικότητας, ενώ η βιολογική τους δράση γίνεται με δέσμευση της χοληνεστεράσης, η οποία είναι απαραίτητη για τους οργανισμούς. Παράδειγμα αυτής της κατηγορίας είναι οι ενώσεις parathion ethyl, acephate, azinphos methyl, cadusaphos, chlorpyrifos.
- **Καρβαμιδικά**, που είναι παράγωγα του καρβαμιδικού οξέος, με γενικό τύπο (RO-CO-NR₁R₂). Αποτελούν ενώσεις που υδρολύονται εύκολα και λόγω της μικρής τους σταθερότητας δεν δημιουργούν σοβαρό περιβαλλοντικό πρόβλημα. Παράδειγμα αυτής της κατηγορίας είναι οι παρακάτω ενώσεις : carbaryl, carbofuran, carbosulfan.
- **Παράγωγα της ουρίας**, που είναι κυρίως ζιζανιοκτόνα με γενικό τύπο (R1HN-CO-NR₁R₂). Έχουν γενικά μικρή διαλυτότητα στο νερό, ενώ περιβαλλοντικά είναι σχετικά ασταθείς ενώσεις, επειδή υπόκεινται σε διάφορες αντιδράσεις αποικοδόμησης. Παράδειγμα αυτής της κατηγορίας είναι οι ενώσεις linuron, diuron.
- **Τριαζίνες**, που περιέχουν εξαμελή δακτύλιο με τρία ετεροάτομα αζώτου. Χρησιμοποιούνται ως ζιζανιοκτόνα, βιολογικά υφίστανται αποικοδόμηση αλλά έχουν όμως μεγάλη διάρκεια δράσης. Παράδειγμα αυτής της κατηγορίας είναι οι ενώσεις triazine, atrazine, ametryn.

2.4 Παραγωγή και κατανάλωση φυτοπροστατευτικών προϊόντων

Η ανάγκη προστασίας των γεωργικών προϊόντων από παθογόνα και παράσιτα, τόσο κατά την παραγωγή όσο και κατά την αποθήκευσή τους οδήγησε σε μια θεαματική αύξηση των χρησιμοποιούμενων γεωργικών φαρμάκων από το 1963. Οι μεγαλύτερες ποσότητες γεωργικών φαρμάκων χρησιμοποιούνται στις αναπτυσσόμενες χώρες και αυτό οφείλεται στην ανάπτυξη εντατικών καλλιεργειών, στην εισαγωγή υψηλής τεχνολογίας, στην προσπάθεια μείωσης του κόστους και αύξησης της απόδοσης και στην έλλειψη φτηνών εργατικών χεριών.

Τα φυτοπροστατευτικά προϊόντα που εισάγονται στην Ελλάδα είναι είτε σε μικρή συσκευασία, οπότε προωθούνται αμέσως στην αγορά, είτε σε μεγάλες συσκευασίες, οπότε υποσυσκευάζονται πριν την κυκλοφορία τους. Στην χώρα μας όμως γίνεται και παραγωγή φυτοπροστατευτικών προϊόντων από εισαγόμενες πρώτες ύλες.

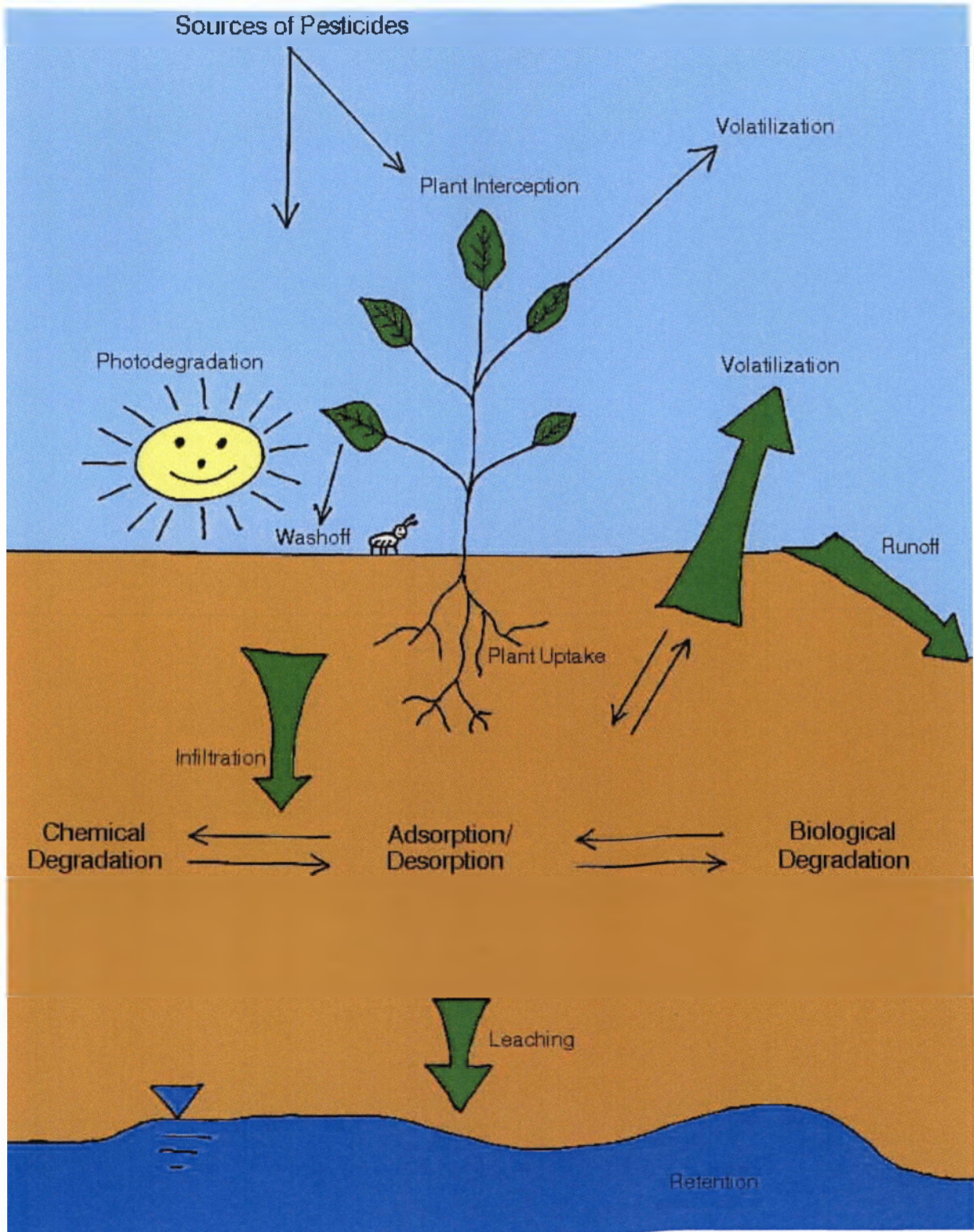
3. ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΑ ΦΥΤΟΠΡΟΣΤΑΤΕΥΤΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ ΣΕ ΦΥΤΙΚΑ ΠΡΟΪΟΝΤΑ

Ως υπολείμματα φυτοπροστατευτικών προϊόντων θεωρούνται κάθε ουσία ή μίγμα ουσιών που βρίσκονται στην τροφή των ανθρώπων ή των ζώων και προέρχονται από την χρησιμοποίηση φυτοπροστατευτικών προϊόντων. Στην κατηγορία αυτή περιλαμβάνονται και τα προϊόντα διάσπασης, μεταβολισμού ή χημικής αντίδρασης των ουσιών εφ'όσον είναι τοξικολογικά σημαντικές. Υπολείμματα φυτοπροστατευτικών προϊόντων βρίσκονται στα φυτά, στο έδαφος, στα πουλιά, στα ψάρια, στα ζώα και τον ανθρώπινο οργανισμό.

Το πρώτο μέρος της βιόσφαιρας στο οποίο ελευθερώνονται τα φυτοπροστατευτικά προϊόντα είναι η ατμόσφαιρα. Μέσω αυτής τα φυτοπροστατευτικά προϊόντα μεταφέρονται στα φυτά και το έδαφος, ενώ ένα μέρος τους μεταφέρεται με τον αέρα σε γειτονικούς χώρους. Από τη στιγμή της εναπόθεσής τους τα φυτοπροστατευτικά προϊόντα υπόκεινται σε ποιοτικές και ποσοτικές μεταβολές, υπό την επίδραση των συνθηκών του περιβάλλοντος (φως, θερμοκρασία, υγρασία). Από το έδαφος μεταφέρονται στα φυτά μέσω του ριζικού συστήματος, ενώ με το νερό μεταφέρονται στα υπόγεια ύδατα, τις λίμνες και τις θάλασσες. Τέλος, στον άνθρωπο περνάει με την τροφή φυτικής ή ζωικής προέλευσης. Μεγάλο ενδιαφέρον παρουσιάζει η αποικοδόμηση των φυτοπροστατευτικών προϊόντων που μπορεί να οδηγήσει στο σχηματισμό συνήθως λιγότερο, αλλά και μερικές φορές περισσότερο τοξικών για τους οργανισμούς ουσιών.

Τα υπολείμματα του φυτοπροστατευτικού προϊόντος και των μεταβολιτών του που παραμένουν στο φυτό, εξαρτώνται από πολλούς παράγοντες, όπως η αραίωση που προκαλείται με την ανάπτυξη του φυτού, η πτητικότητα, η προσρόφηση στις εσωτερικές στοιβάδες του φυτού, οι κλιματολογικές συνθήκες κ.α. (Σχ. 1).

Για τη διαπίστωση της έκτασης που μπορεί να έχει η παρουσία ενός φυτοπροστατευτικού προϊόντος του στην τροφή γίνονται μελέτες σε όλα τα είδη των φυτοπροστατευτικών προϊόντων. Έτσι γίνονται γνωστά τα επίπεδα υπολειμμάτων που είναι πιθανόν να υπάρχουν σε τόσο στην περίπτωση που έγινε επέμβαση με την κανονική δόση, όσο και σε περιπτώσεις υψηλότερης δόσης.



Σχήμα 1: Σχηματική απεικόνιση της τύχης των φυτοπροστατευτικών προϊόντων στο περιβάλλον και της πιθανής τελικής κατάληξης των υπολειμμάτων τους.

Η ταχύτητα υποβάθμισης των υπολειμμάτων ενός φυτοπροστατευτικού προϊόντος εξαρτάται από πολλούς παράγοντες, όπως είναι η μορφή του σκευάσματος (Σχ. 1). Ο ρυθμός ανάπτυξης του φυτού και οι συνθήκες του περιβάλλοντος (βροχή, υγρασία, άνεμος, θερμοκρασία), οι οποίες επηρεάζουν ιδιαίτερα την αρχική ταχύτητα υποβάθμισης.

Για την αξιολόγηση των αποτελεσμάτων προσδιορισμού υπολειμμάτων έχει καθοριστεί για κάθε μια χημική ουσία η ημερήσια αποδεκτή δόση Η.Α.Δ., (Acceptable Daily Intake, A.D.I) που είναι η ημερήσια δόση, η οποία χορηγούμενη για όλη τη διάρκεια ζωής του ενήλικα, με βάση τα γνωστά στοιχεία δε φαίνεται να δημιουργεί άξιο λόγου κίνδυνο. Ένα πρόβλημα, ήταν οι διαφορετικές τιμές Η.Α.Δ. από χώρα σε χώρα, που όμως αντιμετωπίζεται από τους παγκόσμιους οργανισμούς FAO και WHO, όπως επίσης και από τις χώρες της ΕΟΚ που εναρμονίζουν τις νομοθεσίες τους.

Η Η.Α.Δ. εκφράζεται σε mg δραστικής ουσίας ανά kg ζώντος βάρους ανά ημέρα και είναι τοξικολογικός δείκτης που ορίζει το επίπεδο έκθεσης στο οποίο δεν εκδηλώνεται με την έννοια της «Ημερήσιας Λήψης Υπολειμμάτων» (Estimated Daily Intake, E.D.I.) η οποία αποτελεί δείκτη ασφάλειας και υπολογίζεται με βάση τα «Μέγιστα Ανεκτά Όρια Υπολειμμάτων» (Maximum Residue Limits, M.R.L).

Τα M.R.L για κάθε καλλιέργεια είναι εκείνη η συγκέντρωση υπολειμμάτων της δραστικής ουσίας που αναμένεται να βρεθούν κατά τη στιγμή της συγκομιδής μετά από κανονική χρήση της και αντανakλούν τη μεγαλύτερη δυνατή επιβάρυνση του φυτοπροστατευτικού προϊόντος, αφού μέχρι να φτάσει στον καταναλωτή, τα υπολείμματα συνεχώς μειώνονται.

Από την τιμή της Η.Α.Δ. σε mg ανά kg σωματικού βάρους, το μέσο βάρος του καταναλωτή και το διαιτολόγιο (ποσότητα ημερήσιας κατανάλωσης κάθε τροφής), με κατάλληλη επεξεργασία προκύπτει το ανώτατο ανεκτό όριο υπολειμμάτων (Permissible level), το οποίο αναφέρεται κάθε φορά σε συγκεκριμένο φυτοπροστατευτικό προϊόν και συγκεκριμένο προϊόν τροφής.

Συσχετίζοντας την καμπύλη υποβάθμισης ενός φυτοπροστατευτικού προϊόντος σε μία καλλιέργεια με το ανώτατο αποδεκτό όριο των υπολειμμάτων του στην καλλιέργεια, προκύπτει το χρονικό μεσοδιάστημα (PreHarvest Interval, P.H.I), που είναι ο απαιτούμενος μετά την επέμβαση με το φυτοπροστατευτικό προϊόν χρόνος, έτσι ώστε τα υπολείμματα να ελαττωθούν κάτω από το ανώτατο αποδεκτό όριο.

Το γεγονός ότι τα ανθεκτικά φυτοπροστατευτικά προϊόντα παραμένουν στο έδαφος και στα φυτά για μεγάλο χρονικό διάστημα και στη συνέχεια συσσωρεύονται στους οργανισμούς, μπορεί να οδηγήσει σε χρόνια τοξικότητα, αποτέλεσμα της οποίας να είναι βλάβη οργάνων που είναι δυνατόν να μεταφερθεί και στους απογόνους.

Για τη μείωση των υπολειμμάτων των φυτοπροστατευτικών προϊόντων στα τρόφιμα σε ανεκτά και ασφαλή επίπεδα χρειάζεται να τηρούνται τα χρονικά μεσοδιαστήματα και να ακολουθούνται οι κανόνες της καλής γεωργικής πρακτικής, που σύμφωνα με τον (World Health Organization, W.H.O.) είναι, όσον αφορά τη χρήση φυτοπροστατευτικών προϊόντων, η χρησιμοποίηση τους σε πρακτικές συνθήκες σε κάθε στάδιο της παραγωγής, μεταφοράς, διανομής και κατεργασίας της τροφής και των φυτοπροστατευτικών προϊόντων, λαμβάνοντας υπ' όψη τη διακύμανση των αναγκών της κάθε περιοχής όπως επίσης και την ελάχιστη απαιτούμενη για ικανοποιητικό αποτέλεσμα ποσότητα, ώστε μετά από τη χρήση των φυτοπροστατευτικών προϊόντων τα υπολείμματα που μένουν να είναι οι ελάχιστες πρακτικά δυνατές και τοξικολογικά αποδεκτές ποσότητες.

Επειδή όμως πολλές φορές τα υπολείμματα συγκεντρώνονται στην επιφάνεια των φυτοπροστατευτικών προϊόντων, το πλύσιμο, η αποφλοιώση, όπως και άλλες κατεργασίες απομακρύνουν ένα μεγάλο ποσοστό από αυτά.

Ανάλογα με τις τοξικολογικές ιδιότητες και τη χρήση τους, τα φυτοπροστατευτικά προϊόντα μπορούν να προκαλέσουν μεγάλη ποικιλία ανεπιθύμητων επιδράσεων, κυριότερες των οποίων είναι οι εξής :

- **Τοξικολογική επίδραση στον άνθρωπο** : Ο άνθρωπος μπορεί να μολυνθεί διαμέσου του δέρματος, δια της αναπνοής και από το στόμα. Ανάλογα με το είδος του φυτοπροστατευτικού προϊόντος την ένταση και τη διάρκεια της επίδρασης, αυτή μπορεί να προκαλέσει δηλητηριάσεις ακόμα και θανατηφόρες δερματίτιδες, αλλεργικές αντιδράσεις, βλάβες στα μάτια και σε ζωτικά όργανα, καθώς και σοβαρές ανωμαλίες στους ιστούς του σώματος.
- **Τοξική επίδραση σε παραγωγικά ζώα**: Οι επιπτώσεις είναι παρόμοιες με τα αυτές στον άνθρωπο.
- **Μελισσοτοξικότητα**: Ορισμένα φυτοπροστατευτικά προϊόντα είναι τοξικά για τις μέλισσες, με αποτέλεσμα να δυσχεραίνεται η επικονίαση των καλλιεργούμενων φυτών και να ζημιώνεται η μελισσοκομική παραγωγή.
- **Φυτοτοξική δράση**: Εκδηλώνεται με την εμφάνιση ξηράνσεων, νεκρωτικών κηλίδων, μεταχρωματισμών, παραμορφώσεων και άλλων φυτοτοξικών συμπτωμάτων. Συχνά προβλήματα φυτοτοξικότητας παρατηρούνται με τη λανθασμένη χρήση καθολικών και ορμονικών ζιζανιοκτόνων.
- **Ανάπτυξη ανθεκτικότητας** : Τα παράσιτα αναπτύσσουν μηχανισμούς άμυνας έναντι των χρησιμοποιούμενων φυτοπροστατευτικών προϊόντων. Η ανθεκτικότητα αυτή των παρασίτων αναγκάζει τους γεωργούς να χρησιμοποιούν συνεχώς μεγαλύτερες ποσότητες

δραστικών ουσιών. Φαινόμενα ανθεκτικότητας έχουν παρατηρηθεί κυρίως σε μυκητοκτόνα και μετά ακολουθούν τα εντομοκτόνα. Δεν υπάρχει πρόβλημα με τα ζιζανιοκτόνα (εξαιρέση : το propanil για την μουχρίτσα στο ρύζι).

- **Τοξική επίδραση στο περιβάλλον με τη θανάτωση πολλών ωφέλιμων οργανισμών.**

Η Κοινοτική Νομοθεσία για το χαρακτηρισμό μιας ουσίας ως τοξικής ή μη στηρίζεται στις εισηγήσεις της Διεθνούς Συμβουλευτικής Επιστημονικής Επιτροπής (Scientific Advisory Committee of Toxicology and Ecotoxicology), η οποία εξετάζει όλα τα διαθέσιμα στοιχεία και προβαίνει σε σχετικές εισηγήσεις προς την Ευρωπαϊκή Επιτροπή και το Συμβούλιο Υπουργών.

3.1 Αναλυτική μεθοδολογία προσδιορισμού υπολειμμάτων σε δείγματα φυτικής προέλευσης

Οι αναλύσεις υπολειμμάτων φυτοπροστατευτικών προϊόντων αποτελούν μία δύσκολη εξειδικευμένη κατηγορία χημικής ανάλυσης. Είναι γεγονός πως στις μέρες μας όλο και περισσότερο αυξάνονται οι απαιτήσεις για έναν πιο αυστηρό έλεγχο των φυτικών προϊόντων, εξαιτίας της υψηλής χρήσης φυτοπροστατευτικών προϊόντων για την παρακολούθηση των τοξικολογικών και οικολογικών επιπτώσεων. Υπάρχει η τάση τα ανώτατα επιτρεπτά όρια να ελαττώνονται μετά από επανεξετάσεις, με αποτέλεσμα να δημιουργείται διαρκής απαίτηση για την αύξηση της ευαισθησίας των μεθόδων, με συνέπεια να πολλαπλασιάζονται τα αναλυτικά προβλήματα επιτυχούς προσδιορισμού.

Επίσης, πρέπει να επισημανθεί ότι τα επίπεδα των προς προσδιορισμό υπολειμμάτων φυτοπροστατευτικών προϊόντων σε δείγματα φυτικής προέλευσης είναι χαμηλά, της τάξεως $\mu\text{g}/\text{kg}$. Πρόκειται δηλαδή για ιχνοανάλυση, εφόσον πρέπει να προσδιοριστούν πολύ μικρές ποσότητες του φυτοπροστατευτικού προϊόντος. Επομένως, η ανάλυση υπολειμμάτων είναι πολύ δύσκολη σε σχέση με τις άλλες κατηγορίες ανάλυσης και απαιτεί εξειδικευμένο προσωπικό που να κατανοεί σε βάθος τη σημασία κάθε σταδίου την εργασία.

Επιπρόσθετα, αξίζει να αναφέρουμε πως ο προσδιορισμός των υπολειμμάτων των φυτοπροστατευτικών προϊόντων παρουσιάζει ορισμένες ιδιαιτερότητες όσον αφορά:

- Τις συγκεντρώσεις των υπολειμμάτων οι οποίες είναι πολύ μικρές, όπως αναφέραμε και προηγουμένως, της τάξεως mg/kg , σε συνάρτηση με τα αποδεκτά όρια υπολειμμάτων που θεσπίζουν οι διεθνείς οργανισμοί και τα οποία έχουν διαρκώς καθοδική τάση.
- Το φυτικό υπόστρωμα που αποτελείται από πολλά συστατικά με ποικίλες ιδιότητες συνυπάρχει και συνήθως παρεμποδίζει τη μέτρηση.
- Το ιστορικό των δειγμάτων είναι πολλές φορές άγνωστο.

Οι μέθοδοι υπολειμμάτων διακρίνονται σε ειδικές (specific), όταν προσδιορίζουν ένα φυτοπροστατευτικό προϊόν και σε πολυυπολειμματικές (multi-residue), όταν προσδιορίζουν συγχρόνως πολλά φυτοπροστατευτικά προϊόντα.

Η προσέγγιση μίας αναλυτικής μεθόδου στην ιδανική της εικόνα καθορίζεται από τους παρακάτω παράγοντες :

- **Εξειδίκευση (specificity)**, δηλαδή ο αριθμός των ουσιών που μπορούν να ανιχνευθούν με την ίδια αυτή μέθοδο.
- **Εκλεκτικότητα (selectivity)**, που αναφέρεται στην κατά προτίμηση ανίχνευση μίας ή περισσότερων σχετικών ουσιών σε ένα μίγμα ξένων ουσιών.
- **Ευαισθησία (sensitivity)**, που είναι η κλίση της καμπύλης αναφοράς, δηλαδή ο ρυθμός μεταβολής του μεγέθους της ένδειξης προς την μεταβολή της ποσότητας της ουσίας.
- **Κατώτατο όριο ανίχνευσης (limit of detection)**, είναι η μικρότερη ποσότητα της ουσίας που αξιόπιστα προσδιορίζεται με την μέθοδο.

Μια νέα μέθοδος προσδιορισμού υπολειμμάτων, είναι απαραίτητο να ελέγχεται ως προς την ακρίβεια και την επαναληψιμότητά της. Η απόδοση ελέγχεται με ανάλυση πραγματικών (φυσικών) δειγμάτων, στα οποία γίνεται τεχνητή, στο εργαστήριο, προσθήκη του φυτοπροστατευτικού προϊόντος σε διάφορες συγκεντρώσεις που να είναι κοντά στο ανώτατο ανεκτό όριο. Για να είναι αποδεκτή η μέθοδος πρέπει η απόδοσή της να κυμαίνεται από 60% - 140%, με μέσο όρο μεγαλύτερο από 100%. Ο συντελεστής μεταβλητότητας (coefficient of variation, C.V.), της μεθόδου που ελέγχει την επαναληψιμότητα της μεθόδου εξαρτάται από το επίπεδο της συγκέντρωσης της προσδιοριζόμενης ουσίας και είναι τόσο μεγαλύτερος, όσο η συγκέντρωση πλησιάζει το κατώτατο όριο ανίχνευσης.

Στη διαδικασία κάθε προσδιορισμού πρέπει να τηρούνται αυστηρά όλοι οι κανόνες καλής εργαστηριακής πρακτικής. Αυτό συμβαίνει γιατί τα περιθώρια σφάλματος είναι μικρότερα στις αναλύσεις υπολειμμάτων από ότι στις άλλες αναλύσεις και επειδή κάθε σφάλμα μπορεί να αλλοιώσει πολύ εύκολα όλα τα αποτελέσματα, για το λόγο αυτό θα πρέπει να δίνεται μεγάλη προσοχή στις λεπτομέρειες κατά την εκτέλεση των διαδικασιών. Η ανάλυση των φυτοπροστατευτικών προϊόντων στα τρόφιμα πρέπει να περιέχει και τους μεταβολίτες για να είναι πλήρης.

Η αναλυτική διαδικασία αποτελείται από πέντε βασικά στάδια και το καθένα από αυτά αναπτύσσεται στη συνέχεια.

Τα στάδια αυτά είναι τα εξής :

1. Δειγματοληψία, συσκευασία, αποθήκευση και προετοιμασία του αναλυτικού δείγματος.
2. Επιλογή της μεθόδου
3. Εκτέλεση της μεθόδου ανάλυσης
4. Ερμηνεία των αποτελεσμάτων της ανάλυσης
5. Διασφάλιση της ποιότητας των αναλυτικών μετρήσεων

3.2 Στάδια χημικής κατεργασίας

Τα στάδια της χημικής κατεργασίας των δειγμάτων θα μελετηθούν στη συνέχεια ξεχωριστά το κάθε ένα.

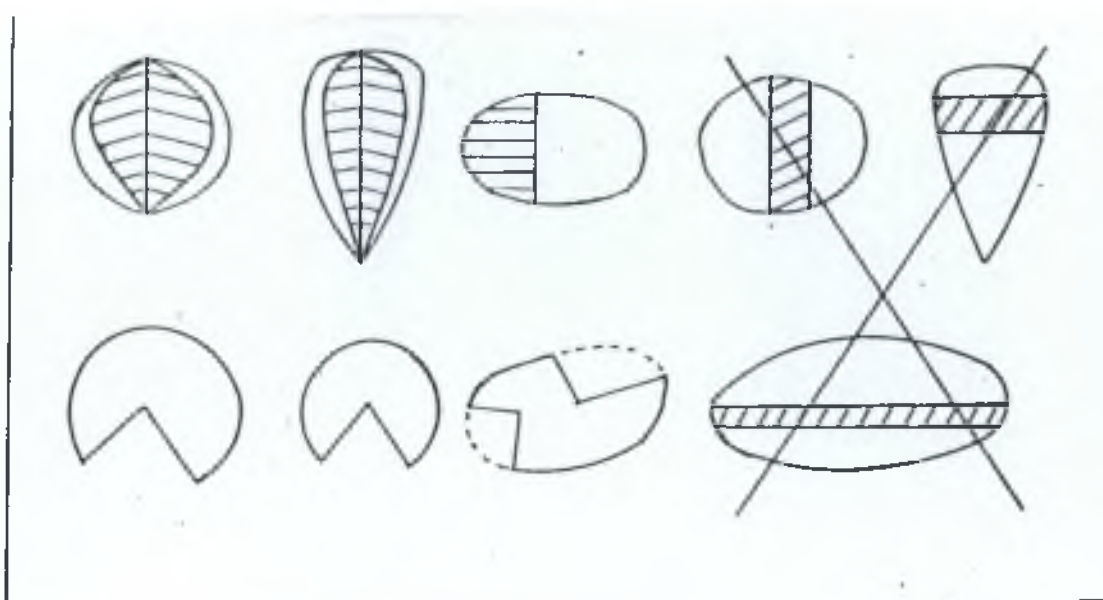
3.2.1 Παραλαβή δείγματος για ανάλυση

Πριν την κυρίως αναλυτική εργασία, προηγείται η κατεργασία του αρχικού δείγματος, έτσι ώστε να ληφθεί για ανάλυση ένα αντιπροσωπευτικό μέρος αυτού, κατά το δυνατόν αντιπροσωπευτικό του συνολικού. Το πρώτο στάδιο της ανάλυσης περιλαμβάνει την επιλογή των κατάλληλων τεμαχιδίων του δείγματος και το δεύτερο την άλεση και την ομοιογενοποίηση της συνολικής ποσότητας των επιλεγμένων τεμαχίων, έτσι ώστε από το ομοιογενές υλικό που θα προκύψει να παίρνονται τα εργαστηριακά δείγματα για ανάλυση.

Είναι γεγονός, πως η κατανομή των υπολειμμάτων στα φυτά είναι ανομοιόμορφη και φυτοπροστατευτικά προϊόντα επαφής εφαρμόζονται και παραμένουν κυρίως στην φυλλική επιφάνεια, ενώ τα διασυστηματικά όχι μόνο εισέρχονται στο εσωτερικό των φυτικών ιστών αλλά κινούνται και μέσω του ανοδικού ή και του καθοδικού ρεύματος των χυμών προς άλλα σημεία η φυτικά όργανα.

Σημαντικό είναι κατά την επιλογή των τεμαχίων του δείγματος να λαμβάνεται υπόψη η ανομοιόμορφη κατανομή των φυτοπροστατευτικών προϊόντων. Από τα βολβώδη και ριζώδη κηπευτικά, όπως οι πατάτες και τα καρότα αφαιρούνται οι ρίζες και το φύλλωμα. Το έδαφος απομακρύνεται με απαλό βούρτσισμα ή ξεπλένοντάς το ήπια με νερό. Από τα φρούτα όπως τα μήλα και τα αχλάδια αφαιρείται ο μίσχος. Το παρακάτω σχήμα δείχνει σωστές και λανθασμένες μεθόδους για την απόκτηση αντιπροσωπευτικού δείγματος.

Για την κατεργασία δείγματος εδάφους, απλώνεται το έδαφος σε ένα δίσκο, αφαιρούνται οι πέτρες και θραύονται τα συσσωματώματα. Μετά από ανάμειξη, λαμβάνεται το ένα τεταρτημόριο του ομοιογενούς δείγματος, αν απαιτείται μείωση της ποσότητας του δείγματος.



Εικόνα 1: Σωστές και λανθασμένες μέθοδοι για την απόκτηση αντιπροσωπευτικού δείγματος.

3.2.2 Δειγματοληψία

Οι πληροφορίες οι οποίες είναι απαραίτητες να αποκτήσουμε για τα υπολείμματα ενός συνόλου προϊόντων καθορίζουν τη μέθοδο δειγματοληψίας την οποία θα ακολουθήσουμε, καθώς και τη μέθοδο ανάλυσης των προϊόντων. Κατά συνέπεια, είναι φανερό ότι η διαδικασία δειγματοληψίας πρέπει να επιλεγεί ανάλογα με τον ιδιαίτερο στόχο της κάθε εξέτασης για τον προσδιορισμό υπολειμμάτων των φυτοπροστατευτικών προϊόντων.

Διαφορετικές μέθοδοι δειγματοληψίας απαιτούνται για τις εξής περιπτώσεις :

- Για τον καθορισμό των MRLs από πειράματα σε πειραματικά αγροτεμάχια (Supervised trials).
- Για τον προσδιορισμό της κατανομής των φυτοπροστατευτικών προϊόντων στον αγρό ή στο έδαφος.
- Για μελέτες αποδόμησης των φυτοπροστατευτικών προϊόντων (Degration Studies).
- Για έλεγχο των φυτοπροστατευτικών προϊόντων που κυκλοφορούν στην αγορά (Market Control).
- Για τον έλεγχο του επιπέδου των υπολειμμάτων των φυτοπροστατευτικών προϊόντων στο περιβάλλον.
- Έλεγχος του επιπέδου υπολειμμάτων πλήρους διαιτολογίου (Total Diet Studies).

Είναι αδύνατη και αντιοικονομική η ανάλυση της ποσότητας του προϊόντος που είναι προς έλεγχο. Αυτό γίνεται μόνο σε μια μικρή ποσότητα του προϊόντος και για αυτό χρειαζόμαστε αντιπροσωπευτικό δείγμα.

3.2.3 Αντιπροσωπευτικότητα της δειγματοληψίας

Η δειγματοληψία έχει ως στόχο την απόκτηση μιας κατάλληλης αλλά αντιπροσωπευτικής του όλου ποσότητας του προϊόντος για τον προσδιορισμό των υπολειμμάτων των φυτοπροστατευτικών προϊόντων, λαμβάνοντας υπόψη τον ιδιαίτερο σκοπό της ανάλυσης. Για παράδειγμα, αν κάποιος θέλει να ελέγξει τα υπολείμματα σε ένα φορτίο μήλων είναι απαραίτητο να ληφθεί δείγμα το οποίο να είναι αντιπροσωπευτικό.

3.2.4 Δειγματοληψία για τον έλεγχο των υπολειμμάτων από φορτία

Όπως είναι γνωστό, τα MRLs (Μέγιστο ανεκτό όριο) αφορούν το τελικό δείγμα. εφόσον αυτό έχει ληφθεί σύμφωνα με την προτεινόμενη μέθοδο δειγματοληψίας. Ο πρακτικός τρόπος δειγματοληψίας με τη μέθοδο αυτή, είναι σχετικά απλή. Ο υπεύθυνος δειγματοληψίας θα πρέπει να δώσει ιδιαίτερη προσοχή μόνο στην πραγματοποίηση της τυχαίας επιλογής των στοιχειωδών δειγμάτων, η οποία μπορεί να είναι αρκετά επίπονη, για μεγάλα φορτία. Ο ελάχιστος αριθμός των στοιχειωδών δειγμάτων καθορίζεται από το μέγεθος του φορτίου ή από τον αριθμό των δοχείων ή των containers.

Έτσι για ποσότητες φορτίων πάνω από 500kg, ο ελάχιστος αριθμός στοιχειωδών δειγμάτων που απαιτείται κυμαίνεται από 10-15. Για φορτία κάτω των 500kg απαιτούνται 3-5 στοιχειώδη δείγματα, με προϋπόθεση όμως η ορισμένη ελάχιστη ποσότητα προϊόντος για το εργαστήριο, να πρέπει να ικανοποιείται. Αυτό σημαίνει ότι αν υπάρχουν 100kg φράουλες που έχουν συσκευασθεί σε κουτιά του μισού κιλού, 3 κουτιά μπορούν να ανοιχθούν και ένα σύνολο του ενός κιλού μπορεί να χρησιμοποιηθεί περαιτέρω. Έτσι τα κουτιά με αυτόν τον τρόπο μπορεί να θεωρηθούν ως στοιχειώδη δείγματα.

Εάν ο όγκος του ολικού δείγματος είναι μεγάλος, το τελικό δείγμα θα πρέπει να προετοιμαστεί από αυτό, αφού μειωθεί πρώτα το ολικό δείγμα. Φρούτα και λαχανικά, στην περίπτωση αυτή, δεν θα πρέπει να κόβονται ή να διαιρούνται. Είναι σημαντικό να γνωρίζουμε το στοιχείο αυτό ιδιαίτερα στην περίπτωση των προϊόντων που έχουν μεγάλο μέγεθος (καρπούζι, πεπόνι κτλ) αφού η μεταχείρισή τους και η μεταφορά τους είναι δύσκολη. Κατά συνέπεια, μεγάλο ενδιαφέρον αποτελεί η μείωση του μεγέθους του προϊόντος με την κοπή ή τη διαίρεσή του προκειμένου να δημιουργήσουμε ένα πιο αντιπροσωπευτικό υπόδειγμα. Αυτοί οι χειρισμοί του δείγματος όμως είναι απαγορευμένοι αφού είναι δυνατό να επηρεάσουν αμετάκλητα το επίπεδο των υπολειμμάτων, ενώ μπορεί να αποτελέσουν και πηγή μόλυνσης του δείγματος.

Ο ελάχιστος αριθμός των 5 τεμαχίων του προϊόντος στο εργαστηριακό δείγμα μπορεί να θεωρηθεί ικανοποιητικός τόσο από θεωρητικής όσο και από πρακτικής άποψης. Δεν θα πρέπει να ξεχνάμε ότι η τυπική απόκλιση του μέσου επιπέδου των υπολειμμάτων είναι αναπόφευκτα μεγαλύτερη στην περίπτωση των 5 τεμαχίων, σε σύγκριση με την περίπτωση των 10 τεμαχίων ή των 15 τεμαχίων, ανεξάρτητα από το μέγεθος του ολικού δείγματος από το οποίο προετοιμάζονται τα εργαστηριακά δείγματα. Για τα σιτηρά και άλλα γεωργικά προϊόντα που μεταφέρονται υπό μορφή σωρών υπάρχουν διαδικασίες εναλλακτικής δειγματοληψίας που επιτρέπουν τη συλλογή αντιπροσωπευτικού δείγματος.

Ένα πρόβλημα το οποίο μπορεί να προκύψει στη δειγματοληψία για τον έλεγχο υπολειμμάτων φυτοπροστατευτικών προϊόντων σε γεωργικά προϊόντα, αποτελεί το γεγονός της ύπαρξης μιας ομάδας γεωργικών προϊόντων, που αποτελείται από φορτία διαφορετικών προελεύσεων με διαφορετικό τρόπο επισήμανσης για αναγνώριση. Η ανάλυση των στοιχειωδών δειγμάτων δίνει αντικρουόμενα αποτελέσματα ενώ ο συνδυασμός αυτών των δειγμάτων καταλήγει σε απώλειες χρήσιμων πληροφοριών.

Διαδικασία δειγματοληψίας στα φορτία

Κάθε φορτίο θα πρέπει να εξετάζεται και να δειγματοληπτείται ξεχωριστά, και η δειγματοληψία να γίνεται από εκπαιδευμένο προσωπικό. Τα στοιχειώδη δείγματα θα πρέπει να λαμβάνονται από όλο το φορτίο. Αποκλίσεις από τους κανόνες δειγματοληψίας θα πρέπει να καταγράφονται στο πρωτόκολλο δειγματοληψίας.

Όσο είναι δυνατό, τα στοιχειώδη δείγματα θα πρέπει να έχουν παρόμοιο μέγεθος, το ολικό δείγμα δεν θα πρέπει να είναι μικρότερο από το απαιτούμενο τελικό δείγμα, ενώ θα πρέπει να έχουμε υπόψη μας την πιθανή περίπτωση υποδιαίρεσης του τελικού δείγματος για τη λήψη επαρκών εργαστηριακών δειγμάτων. Ο ελάχιστος αριθμός των στοιχειωδών που πρέπει να συλλεχθούν δίνεται στον παρακάτω πίνακα 1.

Πινάκας 1: Ελάχιστος αριθμός στοιχειωδών δειγμάτων ανάλογα με το βάρος κάθε φορτίου

Βάρος φορτίου (kg)	Ελάχιστος αριθμός στοιχειωδών δειγμάτων
<50	3
50-500	5
>500	10

Για επεξεργασμένα προϊόντα σε κονσέρβες, μπουκάλια, κουτιά ή άλλα μικρότερα μεγέθη συσκευασίας, ιδιαίτερα όταν ο δειγματολήπτης δεν γνωρίσει το βάρος του φορτίου, ακολουθείται διαδικασία δειγματοληψία σύμφωνα με τον πίνακα 2.

Πίνακας 2: Ελάχιστος αριθμός στοιχειωδών δειγμάτων ανάλογα με τον αριθμό κονσερβών κουτιών ή κιβωτίων.

Αριθμός κονσερβών, κουτιών ή κιβωτίων	Ελάχιστος αριθμός στοιχειωδών δειγμάτων
1-25	1
26-100	5
>100	10
>250	15

Ολικό δείγμα : Το ολικό δείγμα δημιουργείται από την ενοποίηση και ανάμειξη των στοιχειωδών δειγμάτων.

Τελικό δείγμα : Το ολικό δείγμα ή αντιπροσωπευτικό μέρος αυτού θα συγκροτήσει το τελικό δείγμα. Εάν το ολικό δείγμα μεγάλο, το τελικό δείγμα θα δημιουργηθεί από κατάλληλα μειωμένο ολικό δείγμα. Σ' αυτή τη διαδικασία, απαγορεύεται όμως η κοπή ή η διαίρεση αυτών τούτων των φρούτων και λαχανικών.

Εργαστηριακό δείγμα : Όταν το συνολικό δείγμα είναι μεγαλύτερο από ό,τι απαιτείται για ένα εργαστηριακό δείγμα, θα πρέπει να διαιρείται ώστε να λαμβάνεται ένα αντιπροσωπευτικό δείγμα. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί όργανο δειγματοληψίας, τεμαχισμός σε τέταρτα ή άλλη κατάλληλη μέθοδος μείωσης του μεγέθους, μονάδες όμως φρέσκων φυτικών προϊόντων δεν θα πρέπει να κόβονται ή να θραύονται. Οι ανάγκες της εθνικής νομοθεσίας μπορεί να απαιτούν την υποδιαίρεση του τελικού δείγματος σε 2 ή περισσότερα μέρη για χωριστές αναλύσεις. Κάθε μέρος του, θα πρέπει να είναι αντιπροσωπευτικό του τελικού δείγματος.

Η ελάχιστη ποσότητα δειγμάτων από κάθε προϊόν που θα πρέπει να παραδοθεί στο εργαστήριο δίνεται στον παρακάτω πίνακα 3.

Πίνακας 3: Ελάχιστες ποσότητες δείγματος που απαιτούνται για το εργαστήριο

Είδος δείγματος	Παραδείγματα	Ελάχιστη ποσότητα (kg)
Μικρά ή ελαφρά προϊόντα, βάρους έως 25 gr	Φράουλες, αρακάς, ελιές, μαϊντανός	1
Προϊόντα ενδιάμεσου μεγέθους, βάρους μονάδας 25-250 gr	Μήλα ,πορτοκάλια, καρότα, πατάτες	1
Μεγάλα προϊόντα, βάρους πάνω από 250 gr	Λάχανα, πεπόνια, αγγούρια	2

Συσκευασία και αποστολή των εργαστηριακών δειγμάτων : Τα εργαστηριακά δείγματα θα πρέπει να τοποθετούνται μέσα σε καθαρά κιβώτια για την πλήρη προστασία από εξωτερικές μολύνσεις και αλλοιώσεις κατά τη μεταφορά. Το κιβώτιο θα πρέπει να είναι καλά σφραγισμένο με τέτοιο τρόπο ώστε οποιαδήποτε παραβίασή του να γίνεται αντιληπτή. Το δείγμα θα πρέπει να σταλεί στο εργαστήριο το συντομότερο δυνατόν, αφού πρώτα ληφθούν οι κατάλληλες προφυλάξεις για αποφυγή διαρροής (υγρά δείγματα) ή αλλοίωσης του δείγματος. Κατά τη μεταφορά θα πρέπει να αποφεύγεται οποιαδήποτε αλλοίωση όπως πχ. τα φρέσκα δείγματα θα πρέπει να διατηρούνται δροσερά και τα κατεψυγμένα να παραμένουν κατεψυγμένα.

Πρωτόκολλο δειγματοληψίας : Κάθε εργαστηριακό δείγμα, θα πρέπει να συνοδεύεται από πρωτόκολλο που θα καταγράφει το είδος και την προέλευση του δείγματος, τον προμηθευτή ή φορέα, την ημερομηνία και τον τόπο δειγματοληψίας μαζί με πρόσθετες άλλες πληροφορίες που πιθανώς να βοηθήσουν τον αναλυτή.

Αποκλίσεις από την συνιστώμενη διαδικασία δειγματοληψίας : Εάν για οποιοδήποτε λόγο, πρέπει να αποκλίνουμε από τη συνιστώμενη διαδικασία δειγματοληψίας, αυτό πρέπει να καταγραφεί με κάθε λεπτομέρεια στο ενημερωτικό σημείωμα που συνοδεύει το δείγμα.

3.2.5 Δειγματοληψία από πειραματικά τεμάχια (Supervised Trials)

Κατά την εγκατάσταση πειραμάτων, στις μελέτες υπολειμμάτων, είναι πρωταρχικής σημασίας ο σχεδιασμός του πειράματος, προκειμένου να έχουμε δείγματα γεωργικού προϊόντος, που θα περιέχουν αντιπροσωπευτικά υπολείμματα του φυτοπροστατευτικού προϊόντος που χρησιμοποιήθηκαν στη φυτοπροστασία του. Το μέγεθος του κάθε πειραματικού τεμαχίου πρέπει να είναι τέτοιο ώστε να επιτρέπει την άνετη εφαρμογή του φυτοπροστατευτικού προϊόντος αλλά και τη λήψη αντιπροσωπευτικού δείγματος.

Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, η διαδικασία δειγματοληψίας εξαρτάται από τον ιδιαίτερο σκοπό του πειράματος. Οι αρχές και οι διαδικασίες οι οποίες θα εξεταστούν αφορούν την περίπτωση της πλήρους διάσπασης των φυτοπροστατευτικών προϊόντων σε φυτά και έδαφος καθώς και τον προσδιορισμό της κατανομής των φυτοπροστατευτικών προϊόντων στον αγρό.

Γενικά, η συγκέντρωση των υπολειμμάτων φυτοπροστατευτικών προϊόντων συνεχώς μειώνεται μετά τους ψεκασμούς των καλλιεργειών εξαιτίας των φυσικών επιδράσεων όπως για παράδειγμα είναι το ξέπλυμα από τη βροχή, η ανάπτυξη του φυτού, η πτητικότητα του φαρμάκου κ.τ.λ. και των χημικών αιτιών όπως είναι ο μεταβολισμός και η χημική διάσπαση.

Το αντίθετο αποτέλεσμα μπορεί να παρατηρηθεί για τα διασυστηματικά φάρμακα, τα οποία προσλαμβάνουν τα φυτά από το έδαφος. Η συγκέντρωση του φαρμάκου που απομένει μετράται ως αποτέλεσμα δράσης του χρόνου που περνά μετά τον ψεκάσμο, στην αποδόμηση των φυτοπροστατευτικών προϊόντων. Από πειράματα έχει αποδειχθεί ότι η συγκέντρωση των υπολειμμάτων ενός φυτοπροστατευτικού προϊόντος από καρπό σε καρπό διαφέρει κατά πολύ μέσα στο ίδιο ψεκαζόμενο δέντρο. Αυτό είναι συχνό σε πειράματα αυτού του τύπου.

Ο σκοπός των μελετών αποδόμησης των φυτοπροστατευτικών προϊόντων είναι ο προσδιορισμός των μεταβολών της συγκέντρωσης των υπολειμμάτων τους μετά τον ψεκάσμο. Συνήθως λαμβάνονται δείγματα 4 έως 7 φορές μεταξύ του κάθε ψεκάσμου και της συλλογής, κατά διαφορετικά χρονικά διαστήματα.

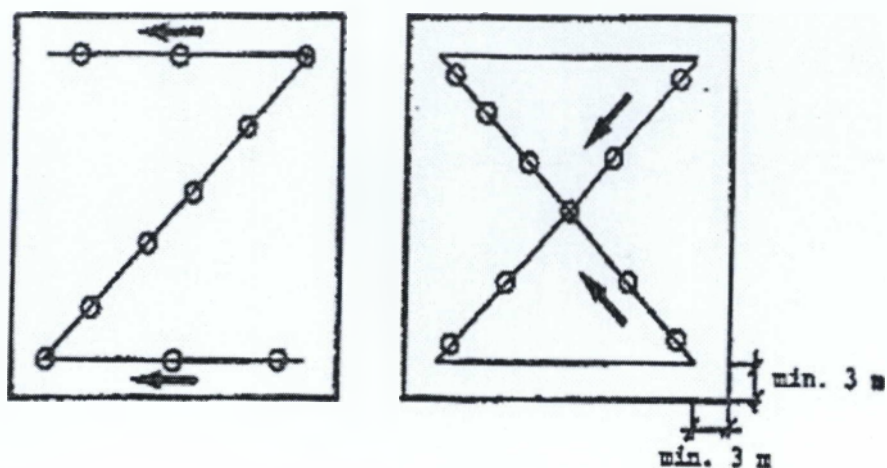
Στα πειράματα αυτά έχουμε μεγάλη τυπική απόκλιση του μέσου επιπέδου των υπολειμμάτων των φυτοπροστατευτικών προϊόντων, στην τυχαία δειγματοληψία μέσα στον ίδιο αγρό.

Ο καλύτερος τρόπος για να αποφύγουμε αυτό το πρόβλημα είναι η συλλογή των στοιχειωδών δειγμάτων από καθορισμένες και επισημασμένες θέσεις, υποθέτοντας ότι η ποσότητα του φαρμάκου που μένει είναι περίπου ίδια για την κάθε θέση δειγματοληψίας μεταξύ διαφορετικών δειγματοληψιών.

Μπορεί να υπάρχουν διαφορές στα επίπεδα των υπολειμμάτων μεταξύ διαφορετικών θέσεων δειγματοληψίας, σε μία δειγματοληψία, αλλά αυτό δεν επηρεάζει τα αποτελέσματα. Οι θέσεις δειγματοληψίας μπορεί να επσμανθούν ακολουθώντας ένα συγκεκριμένο σχέδιο ή μπορεί να υπάρχει ένα τυχαίο σχέδιο δειγματοληψίας. Πρακτικά όμως και οι δύο αυτοί τρόποι χρησιμοποιούνται.

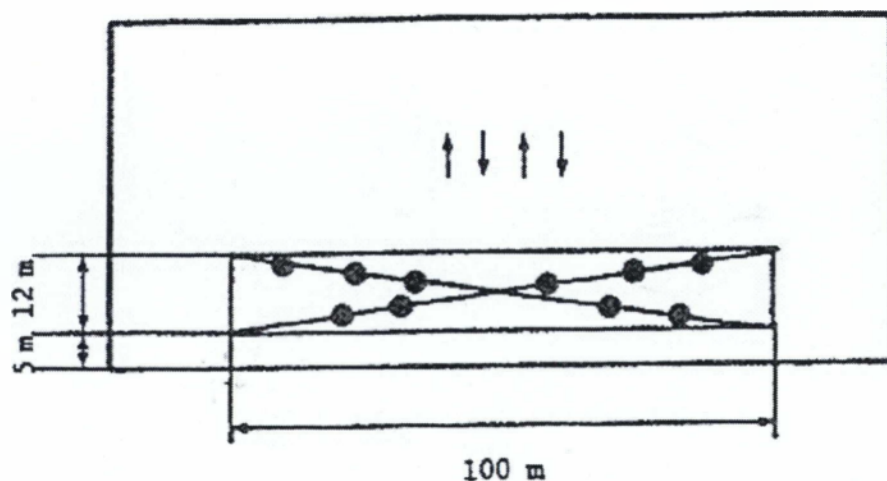
Η κατανομή των υπολειμμάτων των φυτοπροστατευτικών προϊόντων από τον ένα ένα καρπό στον άλλον, της ίδιας καλλιέργειας, συχνά αποτελεί αντικείμενο μελέτης. Πάντως, πιο συχνά κάποιος ενδιαφέρεται για την κατανομή του μέσου επιπέδου των υπολειμμάτων των φυτοπροστατευτικών προϊόντων σε επαναλαμβανόμενα δείγματα. Η κατανομή αυτή μπορεί να προσδιορισθεί από τη συλλογή μερικών τυχαίων επαναλαμβανόμενων δειγμάτων από το αγροτεμάχιο ή αν η πειραματική έκταση είναι αρκετά μεγάλη, μπορεί να διαιρεθεί σε μερικά τεμάχια τα οποία δειγματοληπτούνται ανεξάρτητα.

Επειδή δεν υπάρχει διεθνώς κοινή αποδεκτή μέθοδος δειγματοληψίας για την περίπτωση αυτή, θα αναφερθεί ο τρόπος δειγματοληψίας για τα πειραματικά τεμάχια όπως πραγματοποιείται στην Ουγγαρία. Οι τοποθεσίες για τη λήψη στοιχειωδών δειγμάτων επιλέγονται πριν την πρώτη δειγματοληψία, με χρήση συστήματος ακολουθώντας την πορεία που φαίνεται στην εικόνα 2.



Εικόνα 2: Προσδιορισμός των επιλεγμένων θέσεων στον αγρό

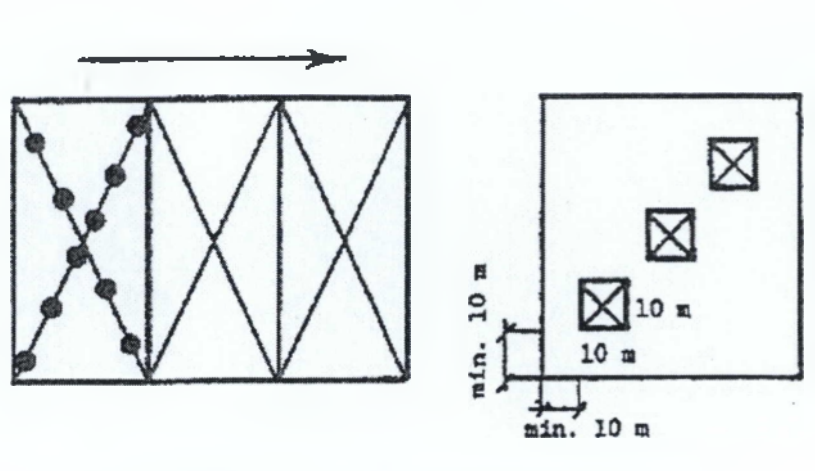
Εάν η πειραματική έκταση είναι πολύ μεγάλη, η περιοχή δειγματοληψίας επιλέγεται σύμφωνα με την εικόνα 3



Εικόνα 3: Τρόπος δειγματοληψίας σε μεγάλα πειραματικά τεμάχια

Για τον προσδιορισμό της κατανομής της μετρούμενης παραμέτρου που μας ενδιαφέρει μέσα σε έναν αγρό, η πειραματική έκταση χωρίζεται σε 3 μικρότερα τμήματα ή 3 θέσεις μεγαλύτερων αγροτεμαχίων. Τα μικρότερα τμήματα αγρού δειγματοληπτούνται χωριστά. Η συνιστώμενη μέθοδος για την επιλογή των μικρότερων τμημάτων γης φαίνεται στην εικόνα 4.

Οι θέσεις δειγματοληψίας λαμβάνονται μόνο από σχετικά κοντινές, στην επισήμανση, περιοχές του φυτού, οι οποίες αναμένεται να έχουν παρόμοιο επίπεδο υπολειμμάτων φυτοπροστατευτικών προϊόντων.



Εικόνα 4: Τρόπος λήψης επαναληπτικών δειγμάτων

Σύμφωνα με νέα δεδομένα, η ελάχιστη δειγματοληπτούμενη ποσότητα στα πειραματικά τεμάχια, συνιστάται να λαμβάνεται υπό μορφή τεμαχίων του προϊόντος και όχι με τη μέτρηση του ελάχιστου βάρους του προϊόντος. Κατά συνέπεια, η δειγματοληψία σε μικρούς καρπούς όπως φράουλες, βατόμουρα και μούρα, σε ξηρούς καρπούς και ανώριμα λαχανικά πραγματοποιείται με τη συλλογή ενός αριθμού τεμαχίων. Σε πολλές περιπτώσεις, συνιστάται η λήψη 12 τεμαχίων για φυτοπροστατευτικά προϊόντα μεγάλου μεγέθους. Η επιλογή των 12 τεμαχίων επιτρέπει εύκολα σχηματισμό σύνθετων δειγμάτων όπως για παράδειγμα την ύπαρξη 3 τεμαχίων για καθένα από τα 4 υποδείγματα. Είναι χρήσιμο επίσης κατά τη δειγματοληψία καρπών από δέντρα, να λαμβάνεται 6 καρποί από καθένα από τα 4 δέντρα χωριστά. Στη συνέχεια δίνεται ο πίνακας 4 με τις ελάχιστες ποσότητες του κάθε προϊόντος κατά τη δειγματοληψία σε πειραματικά τεμάχια.

Ένας αριθμός τεμαχίων μπορεί να συγκομισθεί μηχανικά, και σ' αυτές τις περιπτώσεις συνιστάται η συλλογή τους γίνεται από 12 διαφορετικά φυτά από τον πειραματικό αγρό.

Αν και κανονικά δεν συνιστάται, μπορεί μερικές φορές να είναι απαραίτητη η δημιουργία υποδειγμάτων για ογκώδη ή βαριά φυτοπροστατευτικά προϊόντα προτού σταλούν μέσω πλοίου για ανάλυση στο εργαστήριο. Στην περίπτωση αυτή θα πρέπει να θυμόμαστε πάντα τη σημασία διατήρησης της αντιπροσωπευτικότητας του υποδείγματος για την αποφυγή μόλυνσης ή αλλοίωσης των προϊόντων. Είναι αναγκαίο η δημιουργία του υποδείγματος να γίνει σε μία καθαρή περιοχή και εφόσον το προσωπικό που θα δημιουργήσει το υπόδειγμα έχει λάβει τις κατάλληλες πληροφορίες ή την κατάλληλη εκπαίδευση για το σκοπό αυτό.

Πίνακας 4: Ελάχιστο μέγεθος δείγματος από πειραματικά τεμάχια

Προϊόν	Ελάχιστη δειγματοληπτούμενη ποσότητα
Σακχαρότευτλα	12 φυτά
Πατάτες	24 κόνδυλοι ή 12 κόνδυλοι εάν είναι μεγάλοι από τουλάχιστον 6 φυτά
Ριζώδη και κονδυλώδη (λαχανικά, καρότα, κοκκινογούλια, κόνδυλοι ηλίανθου, γλυκοπατάτα, λευκόσαρκα. Παστινάκη, ρεπάνια, λαγόχορτο, ραδίκι, ραπανάκι	12 μεγάλοι κόνδυλοι ή ριζώματα ή 24 μικρές ρίζες ή κόνδυλοι (ή και περισσότερα) για ελάχιστο δείγμα βάρους 2 kg
Πράσο	12 φυτά
Φρέσκα κρεμμύδια (ανοιξιάτικα)	24 φυτά (ή και περισσότερα) για ελάχιστο βάρος δείγματος 2 kg.
Σκόρδα, σκαλώνια	24 βολβούς από τουλάχιστον 12 φυτά.
Φυλλώδη λαχανικά (για σαλάτες) κάρδαμο, πικραλίδα	0,5 kg από τουλάχιστον 12 φυτά (ή 12 διαφορετικά μέρη του χωραφιού)
Σπανάκι, φύλλα ραδικιού	1kg από τουλάχιστον 12 φυτά
Μαρούλι	12 φυτά ή 1 kg από 12 φυτά εάν συλλέγονται φύλλα μαρουλιού
Αντίδι	12 φυτά
Λαχανικά	1kg από τουλάχιστον 12 φυτά, από τουλάχιστον 2 διαφορετικά επίπεδα του φυτού
Μεγάλα κραμβοειδή λαχανικά π.χ. κουνουπίδι, λάχανο κλπ.	12 φυτά
Λαχανάκι Βρυξελλών, μπρόκολο	1kg από τουλάχιστον 12 φυτά και για τα λαχανάκια Βρυξελλών, η δειγματοληψία γίνεται από τουλάχιστον 2 διαφορετικά επίπεδα του φυτού
Γογγυλοκράμβη	12 φυτά
Σέλινο	12 φυτά
Ραβέντι	12 βλαστάρια (ή και περισσότερα από τουλάχιστον 12 διαφορετικά φυτά για ένα ελάχιστο δείγμα βάρους 2kg)
Σπαράγγι	24 βλαστάρια (ή και περισσότερα) από τουλάχιστον 24 διαφορετικά φυτά για ένα ελάχιστο δείγμα βάρους 2 kg
Αγκινάρα	12 κεφαλές
Σπόροι σόγιας	1kg από τουλάχιστον 12 διαφορετικές περιοχές του χωραφιού
Αρακάς, φασόλια (French, Kidney, Runner κλπ.) κουκιά, φακές	1kg (φύλλωμα ή αποξηραμένοι σπόροι ανάλογα με την περίπτωση)
Τομάτες, πιπεριές	24 καρποί ή 12 καρποί από μεγαλόκαρπες ποικιλίες από τουλάχιστον 12 φυτά. (Συλλέγονται περισσότεροι καρποί εάν χρειάζεται για ένα ελάχιστο βάρος δείγματος 25 kg)

Μελιτζάνες	12 καρποί από 12 διαφορετικά φυτά
Αγγούρια	12 καρποί από 12 διαφορετικά φυτά
Αγγουράκια, κολοκυθάκια, κολοκύθι	24 καρποί από τουλάχιστον 12 διαφορετικά φυτά (Συλλέγονται περισσότεροι καρποί εάν χρειάζεται για ένα ελάχιστο βάρος δείγματος 25 kg)
Πεπόνια, Νεροκολοκύθες, καρπούζια, γλυκοκολοκύθες	12 καρποί από 12 διαφορετικά φυτά
Γλυκό καλαμπόκι	12 σπάδικες (ή και περισσότεροι εάν χρειάζεται για ένα ελάχιστο δείγμα βάρους 2 kg)
Φρούτα	
<u>Εσπεριδοειδή</u>	
Πορτοκάλια, λεμόνια, μανταρίνια, κλιμεντίνες, φράπες, γκρέϊπ-φρουτ, τανγέλο, ταγκερίνια κλπ.	
<u>Μηλοειδή</u>	
Μήλα, αχλάδια, κυδώνια, μούσμουλα	
<u>Πυρηνόκαρπα (μεγάλοι καρποί)</u>	
Βερίκοκα, νεκταρίνια, ροδάκινα, δαμάσκηνα κλπ.	
<u>Πυρηνόκαρπα (μικροί καρποί)</u> κεράσια, κλπ.	1kg από διαφορετικές θέσεις του δέντρου, από τουλάχιστον 4 διαφορετικά δέντρα
Σταφύλια	12 τσαμπιά ή τμήματα των 12 τσαμπιών από διαφορετικά πρέμνα για να δώσουν ένα ελάχιστο δείγμα βάρους 1kg
Φραγκοστάφυλα, σμέουρα και άλλοι μικροί καρποί	0,5 kg από τουλάχιστον 12 διαφορετικές περιοχές του φυτού ή θάμνους.
Φράουλες, φραγκοστάφυλα αγκαθωτά	1kg από τουλάχιστον 12 διαφορετικές περιοχές του φυτού ή 12 διαφορετικούς θάμνους.
<u>Διάφοροι μικροί καρποί.</u> (ελιές, γουρμάδες, σύκα κλπ.)	1kg από διαφορετικές θέσεις του φυτού από τουλάχιστον 4 δέντρα.
Μπανάνες	24 φρούτα από 4 διαφορετικά δέντρα και από διαφορετικές θέσεις από την κάθε καρποταξία
Διάφορα φρούτα(αβοκάντο, γκονάβα, μάνγκο,παπάγια, ροδιά, ακτινίδια, λίτσι κλπ.)	24 φρούτα από τουλάχιστον 4 διαφορετικά δέντρα(ή περισσότερα φρούτα εάν χρειάζεται για ένα ελάχιστο δείγμα βάρους 2 kg)
Ανανάς	12 φρούτα
Σιτηρά (σίτος, κριθάρι, σίκαλη, τριτικάλε, ρύζι, βρώμη, καλαμπόκι, κλπ)	1kg από τουλάχιστον 12 διαφορετικές περιοχές του χωραφιού. Ανάλογη μεταχείριση έχουμε και σε φορτία σιτηρών. (Αυτός ο τρόπος δειγματοληψίας εφαρμόζεται και στον αγρό αλλά και μετασυλλεκτικά)
Άχυρο από τα παραπάνω σιτηρά	0,05kg από τουλάχιστον 12 διαφορετικές περιοχές του χωραφιού (β)
Αραβόσιτος (ώριμα φυτά για ζωοτροφή εκτός των σπαδικών)	12 φυτά (α)

Ενσιρωμένος αραβόσιτος	12 φυτά
Φυτά ζωοτροφών (νωπά/ ενσιρωμένα, σόγια, μήδικη, τριφύλλι κλπ.)	1kg από τουλάχιστον 12 διαφορετικές περιοχές του χωραφιού.
Φυτά ζωοτροφών (αποξηραμένα)	0,05kg από τουλάχιστον 12 διαφορετικές περιοχές του χωραφιού (β)
Αραχίδες	1kg από τουλάχιστον 24 φυτά
Ξηροί καρποί (καρύδια, αμύγδαλα, κάστανα κλπ.)	1kg (με ή χωρίς το κέλυφος τους)
Καρύδες	12 καρύδες
Κραμβισπορος και σπόρος μουστάρδας (σιναπιού)	0,05kg από τουλάχιστον 12 διαφορετικές περιοχές του χωραφιού (β)
Ηλιάνθος	12 κεφάλια ή 1kg από 12 διαφορετικές θέσεις του χωραφιού (β)
Βαμβακόσπορος	1kg σπόροι λινταρισμένοι ή με τις ίνες
Αρωματικά και φαρμακευτικά φυτά (μαϊντανός, θυμάρι κλπ.)	0,5kg νωπό δείγμα ή 0,2kg αποξηραμένο δείγμα
Τσάι (αποξηραμένα φύλλα)	0,2kg
Μανιτάρια	12 μανιτάρια ή περισσότερα για να εξασφαλιστεί ελάχιστο δείγμα βάρους 0,5kg
Ζαχαροκάλαμο	12 στελέχη των 20 cm από 12 διαφορετικές θέσεις του χωραφιού (α)
Λυκίσκος (αφυδατωμένοι κώνοι)	0,5kg
Μπύρα, κρασί, ξύδι, χυμοί φρούτων	1 lit

α: (i). Χωρίζουμε τα 12 στελέχη σε 3 ομάδες των τεσσάρων στελεχών, (ii). Διαιρούμε κάθε στέλεχος, με τα φύλλα του, σε τρία ίσα μέρη: το ανώτερο, το κατώτερο και το μεσαίο τμήμα του στελέχους. (iii). Λαμβάνοντας από την πρώτη ομάδα το ανώτερο, από τη δεύτερη ομάδα το κατώτερο και από την τρίτη ομάδα το μεσαίο τμήμα του στελέχους, εξασφαλίζοντας ένα αντιπροσωπευτικό δείγμα από 12 στελέχη.

β: Για προϊόντα τα οποία συλλέγονται μηχανικά, ο υπεύθυνος της δειγματοληψίας λαμβάνει τα δείγματα κατά τη διέλευση του μηχανήματος μέσα από τον αγρό.

Οι οδηγίες για το ελάχιστο μέγεθος των φυτοπροστατευτικών προϊόντων αναφέρονται σε προϊόντα τα οποία βρίσκονται στο στάδιο πλήρους ανάπτυξης, στο οποίο πρόκειται να συγκομισθούν για κατανάλωση. Ίσως είναι αναγκαία η λήψη μεγαλύτερων δειγμάτων σε μερικές περιπτώσεις, ιδιαίτερα σε μεγάλα πειραματικά τεμάχια ή αγρούς στους οποίους θέλουμε να κάνουμε δειγματοληψία. Μεγαλύτερα δείγματα μερικών προϊόντων μπορεί να χρειαστούν αν έχουν χαμηλά όρια ποσοτικού προσδιορισμού (Limit of determination) ή για πολυδύναμες μεθόδους στις οποίες απαιτούνται μεγαλύτερα ή περισσότερα δείγματα. Οι περισσότερες αναλυτικές μέθοδοι απαιτούν μικρό μέγεθος δείγματος αλλά το γεγονός αυτό δεν αποτελεί τον κύριο παράγοντα καθορισμού του μεγέθους του δείγματος στον αγρό. Η βασική και ουσιαστική προτεραιότητά μας στον αγρό είναι η λήψη αντιπροσωπευτικού δείγματος.

3.2.6 Γενικές προφυλάξεις κατά τη δειγματοληψία

Η διαδικασία της δειγματοληψίας εξαρτάται από τον ιδιαίτερο σκοπό της εξέτασης του δείγματος και κατά συνέπεια ένας λανθασμένος τρόπος δειγματοληψίας, μπορεί αναπόφευκτα να επηρεάσει αρνητικά τα αποτελέσματα της ανάλυσής μας. Γεγονός αποτελεί ότι ακόμα και με την πιο ακριβή μέθοδο ανάλυσης να δουλεύουμε, είναι πάρα πολύ εύκολο να καταλήξουμε σε λανθασμένα συμπεράσματα, αν η δειγματοληψία δεν έχει διενεργηθεί σωστά. Κατά συνέπεια, είναι απαραίτητο οι υπεύθυνοι δειγματολήπτες να έχουν στη διάθεσή τους όλες τις πληροφορίες που απαιτούνται για τον ιδιαίτερο σκοπό εξέτασης του δείγματος που θα πάρουν.

Ο υπεύθυνος δειγματοληψίας θα πρέπει να έχει τα απαραίτητα προσόντα, να κατανοεί ότι η συνεπής τήρηση των καθορισμένων διαδικασιών δειγματοληψίας είναι αναγκαία, να παρέχει πλήρη τεκμηρίωση για τα δείγματα, να είναι κατάλληλα εκπαιδευμένος για την εκτέλεση των διαφόρων τύπων δειγματοληψίας που απαιτούνται ανάλογα με το σκοπό της εξέτασης του δείγματος. Επιπρόσθετα, απαραίτητη προϋπόθεση για την λήψη δειγμάτων είναι ο υπεύθυνος δειγματοληψίας να είναι εξουσιοδοτημένος από τις αρμόδιες αρχές. Ο καλύτερος τρόπος για τη διασφάλιση ορθών αποτελεσμάτων στηρίζεται στην ανάμιξη όλων των ενδιαφερομένων για το σχεδιασμό ενός πειράματος.

Κατά την πορεία της δειγματοληψίας και στις μεταγενέστερες διαδικασίες, πολύ μεγάλη προσοχή θα πρέπει να δοθεί στην αποφυγή ρύπανσης των δειγμάτων ή σε οποιαδήποτε άλλη αιτία που θα μπορούσε να μεταβάλλει τη συγκέντρωση των υπολειμμάτων στο δείγμα. Τα στοιχειώδη δείγματα θα πρέπει να τοποθετούνται σε καθαρά κιβώτια ή σακούλες πολυαιθυλενίου, τα οποία παρέχουν πλήρη προστασία από αλλοιώσεις ή διαρροές (για τα υγρά δείγματα) κατά τη διάρκεια της δειγματοληψίας, της προετοιμασίας των εργαστηριακών δειγμάτων και κατά τη μεταφορά.

Επομένως, σε οποιοδήποτε στάδιο της δειγματοληψίας θα πρέπει να παραμποδίζεται η τυχόν μόλυνση ή φθορά των δειγμάτων, διότι αυτό μπορεί να επηρεάσει τα αναλυτικά αποτελέσματα. Απαραίτητη προϋπόθεση για μια επιτυχή δειγματοληψία είναι η αποστολή δειγμάτων στο εργαστήριο όσο το δυνατόν πιο σύντομα. Τα παγωμένα δείγματα ή τα δείγματα που περιέχουν πτητικά υπολείμματα φυτοπροστατευτικών προϊόντων θα πρέπει να διατηρούνται παγωμένα σε ξηρό πάγο κατά τη διάρκεια της μεταφοράς τους.

Κάθε εργαστηριακό δείγμα θα πρέπει να αναγνωρίζεται, ενώ η επισήμανσή τους δεν θα πρέπει να απομακρύνεται ποτέ. Λεπτομέρειες για την αναγνώρισή του θα πρέπει να δίνονται στο πρακτικό βιβλίο της δειγματοληψίας, συμπεριλαμβανομένης κάθε πληροφορίας που σχετίζεται με τυχόν απόκλιση από τη συνιστώμενη μέθοδο δειγματοληψίας, μαζί με τις πρόσθετες πληροφορίες που μπορεί να φανούν χρήσιμες για τον αναλυτή. Το πρακτικό βιβλίο δειγματοληψίας θα πρέπει να συνοδεύει πάντα το δείγμα.

3.2.7 Δειγματοληψία και Συντήρηση Δείγματος

Η δειγματοληψία για την πραγματοποίηση ανάλυσης από το εργαστήριο Υπολειμμάτων του Μπενακείου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου πρέπει να γίνεται σύμφωνα με τους παραπάνω τρόπους. Με την άφιξη του δείγματος στο εργαστήριο συμπληρώνονται ειδικά έντυπα που αναφέρουν πληροφορίες για το φυτικό δείγμα και ο χειρισμός του γίνεται σύμφωνα με την παράγραφο 3.2.4.

Τα ομογενοποιημένα δείγματα τοποθετούνται στην κατάψυξη στους 20°C, όπου διατηρούνται ως την ανάλυση.

3.3 **Επιλογή της μεθόδου ανάλυσης**

Για την επιλογή μιας αναλυτικής μεθόδου λαμβάνονται υπόψη η διεθνής βιβλιογραφία, η τυχόν εφαρμογή της μεθόδου από πολλά συγχρόνως συνεργαζόμενα εργαστήρια (collaborative study), η ικανότητα της μεθόδου για ταυτόχρονο προσδιορισμό περισσότερων από ένα φυτοπροστατευτικών προϊόντων και σε συγκεντρώσεις αρκετά μικρότερες από το ανώτατο αποδεκτό όριο, η ικανότητα προσαρμογής της μεθόδου σε ένα μέσο εργαστήριο υπολειμμάτων εφοδιασμένο με όργανα ρουτίνας και ο σκοπός της ανάλυσης (έλεγχος, έρευνα, επιβολή κυρώσεων κτλ).

Η προσέγγιση μιας αναλυτικής μεθόδου στην ιδανική της εικόνα καθορίζεται από την εξειδίκευσή της (specificity), την εκλεκτικότητά της (selectivity), την ευαισθησία της (sensitivity) και από το κατώτατο όριο ανίχνευσης (limit of detection). Έτσι τα σημεία που πρέπει να ληφθούν υπόψη για την επιλογή μιας μεθόδου ανάλυσης υπολειμμάτων είναι τα εξής:

- Η επιλογή της κατάλληλης μεθόδου ανάλυσης, αν θα είναι δηλαδή πολυυπολειμματική ή εξειδικευμένη.

- Η ορθότητα της μεθόδου. Αυτή ελέγχεται με τεχνητές φορτίσεις στο εργαστήριο, ανάλυση και σύγκριση στη συνέχεια της προσδιοριζόμενης συγκέντρωσης με τη συγκέντρωση φόρτισης. Για να είναι αποδεκτή μία μέθοδος πρέπει η απόδοσή της, που υπολογίζεται με αυτόν τον τρόπο, να κυμαίνεται από 60 –140% , με μέσο όρο μεγαλύτερο από 100%. Όπως γίνεται αντιληπτό, η ορθότητα της αναλυτικής μεθόδου δεν εξασφαλίζει την εύρεση της πραγματικής συγκέντρωσης υπολειμμάτων αν το δείγμα δεν είναι αντιπροσωπευτικό και δεν έχει ληφθεί με σωστές διαδικασίες.
- Η παραλλακτικότητα των αποτελεσμάτων της ανάλυσης. Η παραλλακτικότητα των αποτελεσμάτων εκφράζεται με το συντελεστή μεταβλητικότητας (CV, Coefficient of Variation) ,που προσδιορίζει την επαναληψιμότητα. Ένας συντελεστής μεταβλητικότητας ως 20% θεωρείται γενικά ικανοποιητικός, συχνά όμως γίνονται αποδεκτές μεγαλύτερες τιμές, όταν οι συγκεντρώσεις βρίσκονται κοντά στα όρια ευαισθησίας. Συνήθως οι εξειδικευμένες μέθοδοι, που προσδιορίζουν μία μόνο χημική ουσία, έχουν τους μικρότερους συντελεστές και οι πολυύπολειμματικές μέθοδοι τους μεγαλύτερους.

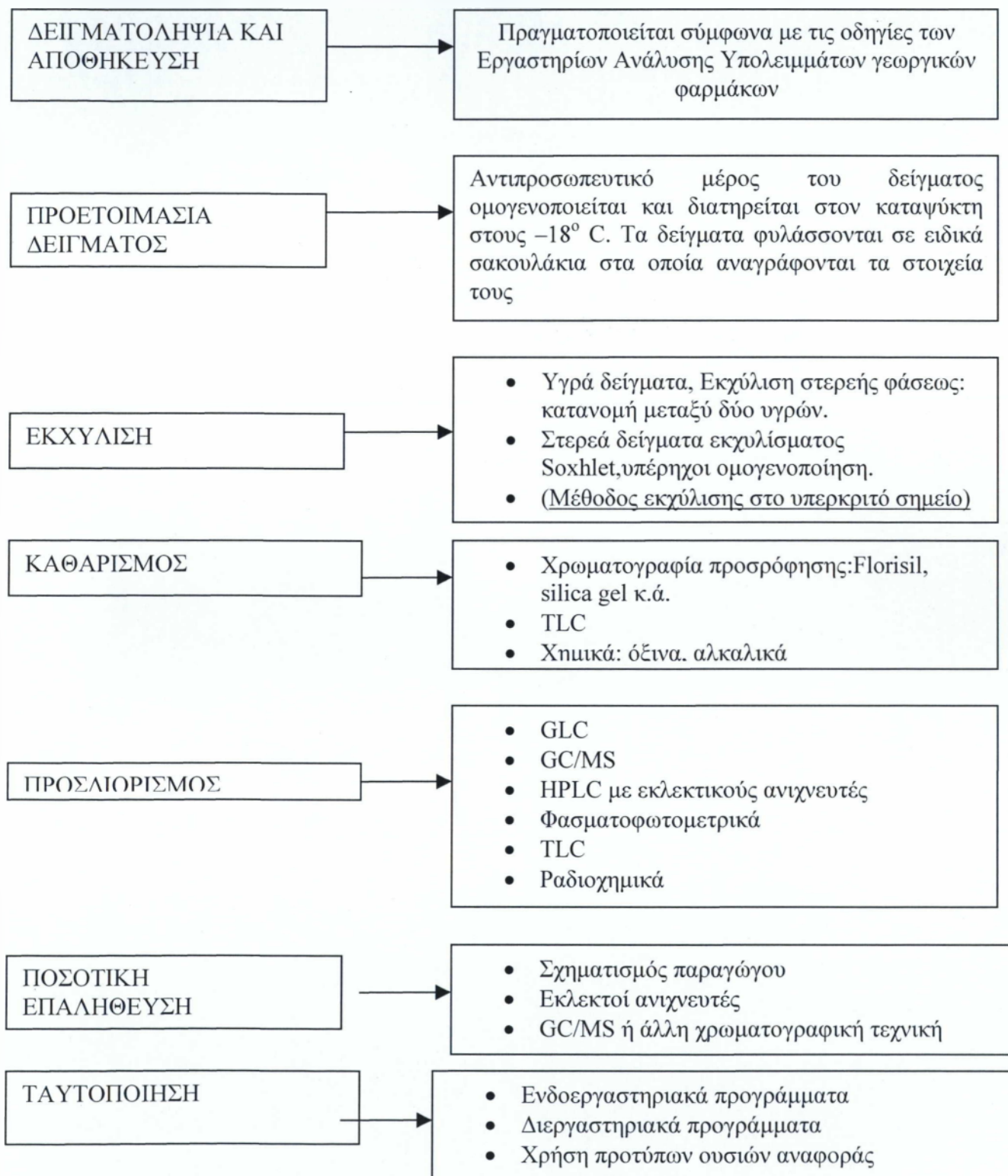
Ο συντελεστής μεταβλητικότητας CV εξαρτάται από το επίπεδο της συγκέντρωσης της προσδιοριζόμενης ουσίας, όπως ήδη αναφέρθηκε. Οι αποδεκτές τιμές του είναι έως και 50% για συγκεντρώσεις πλησίον του ορίου ανίχνευσης.

Πιο συγκεκριμένα, για την ανάπτυξη χρωματογραφικής μεθόδου στο σύστημα HPLC ο αναλύτης, θα πρέπει να ελέγξει τις ιδιότητες του δείγματος , κυρίως τη διαλυτότητά του και τις χαρακτηριστικές ομάδες που περιέχει. Το παρακάτω διάγραμμα αποτελεί έναν οδηγό για την επιλογή της μεθόδου στην υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης βάσει των αρχών Snyder και Kirkland.

3.3 Εκτέλεση της μεθόδου ανάλυσης

Τα στάδια που ακολουθούνται στην ανάλυση υπολειμμάτων φαίνονται στον πίνακα 5. Για τη δειγματοληψία γίνεται αναφορά στις προηγούμενες παραγράφους.

Πίνακας 5. Στάδια που περιλαμβάνει η ανάλυση υπολειμμάτων



3.4.1 Εκχύλιση

Για την παραλαβή των υπολειμμάτων από το φυτικό υπόστρωμα χρησιμοποιήθηκε η εκχύλιση με διαλύτες. Η καθαρότητα του διαλύτη εκχύλισης στην ανάλυση υπολειμμάτων είναι πολύ σημαντικός παράγοντας, λόγω των ευαίσθητων συστημάτων ανίχνευσης.

Χρησιμοποιήθηκαν κυρίως διαλύτες αποσταγμένοι σε γυαλί αλλά και προδιαγραφών καθαρότητας “Pesticide Residue “, που περιείχαν προσμίξεις της τάξεως $\mu\text{g} / \text{L}$ ή και πιο χαμηλά. Ο καθαρισμός των διαλυτών γίνεται εκτός από την απόσταξη και με άλλους τρόπους, όπως με τη χρωματογραφία προσρόφησης.

Τα κριτήρια που λαμβάνονται υπόψη στην επιλογή του διαλύτη εκχύλισης είναι :

- Έλλειψη αντίδρασης μεταξύ του διαλύτη και των φυτοπροστατευτικών προϊόντων.
- Η διαλυτότητα των φυτοπροστατευτικών προϊόντων στους διάφορους διαλύτες.
- Ο τύπος του προς ανάλυση δείγματος.
- Η τοξικότητα του διαλύτη.
- Η πτητικότητα του διαλύτη.
- Η καθαρότητα του διαλύτη.
- Το κόστος του διαλύτη.
- Ο τύπος της μεθόδου (ειδική ή πολυϋπολειμματική).

Γενικά, για την εκχύλιση υδρόφιλων φυτοπροστατευτικών προϊόντων χρησιμοποιούνται υδρόφιλοι διαλύτες και αντίστοιχα λιπόφιλοι διαλύτες για τα λιπόφιλα φυτοπροστατευτικά προϊόντα.

Για την παραλαβή φυτοπροστατευτικών προϊόντων από το φυτικό υπόστρωμα , το δείγμα ομογενοποιείται μαζί με το διαλύτη σε ομογενοποιητή (μίξερ) υψηλών ταχυτήτων. Η εκχύλιση μπορεί να γίνει και με εκχυλιστήρα (soxhlet), που χρησιμοποιείται κυρίως στα ελαιώδη και στα λιπαρά προϊόντα, με την προϋπόθεση ότι τα φυτοπροστατευτικά προϊόντα κατά τον προσδιορισμό τους δεν διασπώνται στις υψηλές θερμοκρασίες που χρησιμοποιούνται με τη μέθοδο αυτή. Για κάθε επιλεγμένη μέθοδο εκχύλισης ελέγχεται η απόδοσή της , ενώ για τη βελτίωση της απόδοσης χρησιμοποιούνται διαδοχικές εκχυλίσεις. Η ακετόνη έχει βρεθεί ότι είναι ένας διαλύτης ευρείας αποδοχής στην ανάλυση υπολειμμάτων για την εκχύλιση διαφόρων τύπων ουσιών από διαφορετικά δείγματα. Τα πλεονεκτήματά της είναι η μη τοξικότητά της, η ευκολία καθαρισμού, εξάτμισης και διήθησής της, όπως επίσης και το χαμηλό της κόστος.

3.4.2 Καθαρισμός (clean-up)

Κατά τη διαδικασία προσδιορισμού υπολειμμάτων σε διάφορα φυτικά δείγματα, ο όρος καθαρισμός δηλώνει τις χημικές διεργασίες στις οποίες υποβάλλεται το εκχύλισμα προκειμένου να απομονωθούν τα φυτοπροστατευτικά προϊόντα από τα υπόλοιπα φυτικά συνεκχυλίσματα, τα οποία και αποτελούν τα κύρια συστατικά που παρεμποδίζουν τη μέτρηση και μικραίνουν τη ζωή των στηλών και των ευαίσθητων ανιχνευτών της χρωματογραφίας.

3.4.3 Στάδιο μέτρησης

Για τον προσδιορισμό των ουσιών στο εκχύλισμα που προέκυψε μετά από τις διάφορες κατεργασίες παραλαβής και καθαρισμού, στις οποίες υποβλήθηκε το αρχικό δείγμα, χρησιμοποιούνται συνήθως χρωματογραφικές μέθοδοι όπως της αεριοχρωματογραφίας (gas-liquid chromatography, GC), σε συνδυασμό πολύ συχνά με φασματομετρία μάζας (MS) ή με τους ανιχνευτές NPD και ECD και η υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC) που συνδυάζεται συνήθως με τον ανιχνευτή (Diode Array Detector, DAD). Επιπλέον όμως χρησιμοποιούνται και οι χρωματογραφίες χάρτου και της λεπτής στοιβάδας και λιγότερο η φασματομετρία ορατού-υπεριώδους.

3.4.4 Διασφάλιση ποιότητας των χημικών μετρήσεων

Το τελευταίο στάδιο είναι ο υπολογισμός των αποτελεσμάτων προσδιορισμού. Σύμφωνα με τον Gunther υπολείμματα κάτω του 0.1 mg/kg σε φυτά ή προϊόντα έχουν μεγάλη απόκλιση και προτείνει τις εξής τιμές:

Πινάκας 6: Προτεινόμενες από τον Gunther αποκλίσεις σε προσδιορισμούς υπολειμμάτων.

Υπολείμματα (mg/kg)	Απόκλιση %
10	±10
1	±10
0,1	±20
0,01	±50
0,0001	±200

Τα αποτελέσματα υπολειμμάτων θα πρέπει να εκφράζονται με τέτοιο τρόπο, ώστε να αντιστοιχούν με πραγματικούς αριθμούς. Για παράδειγμα, λαμβανομένης υπόψη της απόκλισης των αποτελεσμάτων, δεν υπάρχει διαφορά μεταξύ των τιμών 0,125 και 0,126 mg/kg. Οι δύο αυτοί αριθμοί αντιστοιχούν σε τάξη υπολειμμάτων $0,1 \pm 20\%$ mg/kg.

Επειδή με την αέρια χρωματογραφία το κριτήριο ανίχνευσης μίας ένωσης είναι ο χρόνος κατακράτησής της, είναι απαραίτητη η ταυτοποίηση (ποιοτική επαλήθευση), όταν τα δείγματα που αναλύονται είναι άγνωστης προέλευσης.

Συμπερασματικά η ανίχνευση και ο προσδιορισμός υπολειμμάτων των φυτοπροστατευτικών προϊόντων αποτελεί μια σύνθετη αναλυτική εργασία που απαιτεί μεγάλη εξειδίκευση και προσεκτικούς χειρισμούς.

3.4.5 Ποιοτική επαλήθευση (Ταυτοποίηση)

Με τον όρο Ταυτοποίηση, εννοούμε την ποιοτική επαλήθευση της ταυτότητας μιας ένωσης, η οποία είναι απαραίτητη στην περίπτωση που έχουν προκύψει ενδείξεις για την ύπαρξη αναλύτη στο δείγμα σε συγκέντρωση μεγαλύτερη του ορίου αναφοράς.

Ο τρόπος με τον οποίο γίνεται η ταυτοποίηση είναι με το να εγχύσουμε 1μL του τεχνικού εκλούσματος του δείγματος σε στήλη διαφορετικής πολικότητας. Στην περίπτωση που στο χρωματογράφημα δεν εμφανιστεί χρωματογραφική κορυφή σε χρόνο πλησίον ($\pm 3\%$) του χρόνου κατακράτησής του προς ταυτοποίηση αναλύτη στην αντίστοιχη χρωματογραφική στήλη, τότε ο αναλύτης δεν ταυτοποιείται και το δείγμα δεν περιέχει ανιχνεύσιμες συγκεντρώσεις του αναλύτη, ενώ σε αντίθετη περίπτωση ο αναλύτης ταυτοποιείται.

Επιπλέον, η χρήση του συστήματος MS αποτελεί από μόνη της μέθοδο ταυτοποίησης. Όπου στην περίπτωση αυτή θα πρέπει, εκτός από την απαίτηση για ταύτιση ($\pm 3\%$) του χρόνου κατακράτησής της προς ταυτοποίηση ένωσης με τον αντίστοιχο χρόνο της πρότυπης ουσίας, το φάσμα της να έχει τα ίδια 3 κύρια ιόντα με αυτά της πρότυπης ουσίας.

3.4.6 Έλεγχος ποιότητας της μεθόδου

Ο Έλεγχος ποιότητας της μεθόδου γίνεται με εμβολιασμό μάρτυρα με 4 τουλάχιστον αναλύτες της μεθόδου. Το εμβολιασμένο δείγμα που προκύπτει ονομάζεται δείγμα QC (Quality Control) και επεξεργάζεται σύμφωνα με την παράγραφο 4.1.2(θεωρητικό μέρος) Ακολουθεί προσδιορισμός της συγκέντρωσης, σύμφωνα με την παράγραφο 4.1.2(θεωρητικό μέρος) και υπολογισμός της ανάκτησης, η οποία πρέπει να κυμαίνεται από 60 ως 140%.

Για να χρησιμοποιηθεί όμως ένα δείγμα φυτικού προϊόντος ως μάρτυρας για τον έλεγχο ποιότητας της μεθόδου θα πρέπει το χρωματογράφημά του είτε να μην εμφανίζει παρεμποδίζουσες κορυφές στους χρόνους έκλουσης των αναλυτών που χρησιμοποιούνται για τον έλεγχο, είτε οι τυχόν εμφανιζόμενες κορυφές να έχουν μέγεθος (επιφάνεια) 5 φορές τουλάχιστον μικρότερο από το μέγεθος (επιφάνεια) των αναλυτών στο επίπεδο συγκεντρώσεων στο οποίο γίνεται ο έλεγχος.

Η συχνότητα πραγματοποίησης του ελέγχου ποιότητας της μεθόδου είναι ένα δείγμα QC κάθε 20 δείγματα φυτικών προϊόντων.

4. ΕΣΩΤΕΡΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ

Όπως αναφέραμε και προηγουμένως, η διαδικασία του Εσωτερικού Ελέγχου Ποιότητας συνίσταται στη συστηματική παρακολούθηση της μεθόδου και της σωστής εκτέλεσης των αναλύσεων, ώστε να εξασφαλίζεται η ακρίβεια και η σταθερότητα των παραγομένων αποτελεσμάτων.

Για την επίτευξη του Εσωτερικού Ελέγχου Ποιότητας, στο εργαστήριο χρησιμοποιήθηκαν τεχνικές οι οποίες αναφέρονται παρακάτω:

4.1 Τεχνικές εσωτερικού ελέγχου ποιότητας.

Ο ρόλος του Εσωτερικού Ελέγχου Ποιότητας σε ένα εργαστήριο δοκιμών είναι η χρήση κατάλληλων τεχνικών, ώστε να εντοπίζονται και να αναιρούνται οι αιτίες που προκαλούν σφάλματα, κατά τη διάρκεια της αναλυτικής διαδικασίας. Οι τεχνικές, οι οποίες εφαρμόζονται για την επίτευξη αυτού του σκοπού είναι η χρήση λευκών (blanks), εμβολιασμένων δειγμάτων (spiked samples), διπλών ή και πολλαπλών αναλύσεων του ίδιου δείγματος (replicates), προτύπων υλικών αναφοράς (CRMs), δειγμάτων ελέγχου ποιότητας (Quality Control Samples) καθώς και η χρήση διαγραμμάτων ελέγχου ποιότητας (Control Charts).

Για να χρησιμοποιηθεί όμως ένα δείγμα φυτικού προϊόντος ως μάρτυρας για τον εσωτερικό έλεγχο ποιότητας θα πρέπει το χρωματογράφημά του είτε να μην εμφανίζει παρεμποδίζουσες κορυφές στους χρόνους έκλουσης των αναλυτών, είτε οι τυχόν εμφανιζόμενες κορυφές να έχουν μέγεθος (επιφάνεια) μικρότερο από το μέγεθος (επιφάνεια) των ορίων αναφοράς των αναλυτών.

Το επίπεδο και ο τύπος του Εσωτερικού Ελέγχου Ποιότητας εξαρτάται από τη φύση της ανάλυσης, τη συχνότητα της, το μέγεθος της παρτίδας, το βαθμό του αυτοματισμού και τη δυσκολία και αξιοπιστία της μεθόδου.

4.1.1 Χρήση λευκών (blanks)

Η τεχνική ανάλυσης λευκού, παράλληλα με την ανάλυση του άγνωστου δείγματος, αποσκοπεί στον προσδιορισμό και στην αναίρεση του συστηματικού σφάλματος που προκύπτει αν δεν μηδενιστεί το σήμα του υποβάθρου (background), το οποίο εμφανίζεται στην περιοχή μέτρησης ενός αγνώστου δείγματος. Υπάρχουν δύο τύποι λευκών, τα οποία χρησιμοποιούνται ανάλογα με την αιτία που αποδίδεται το σφάλμα. Το κοινό χαρακτηριστικό και των δύο τύπων είναι η απουσία του μετρούμενου συστατικού.

- **Το λευκό αντιδραστήριο (blank reagent)**, το οποίο αποτελείται από όλα τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιούνται κατά τη διάρκεια της αναλυτικής διαδικασίας, καθώς και το διαλύτη, χωρίς όμως να περιέχει το υπόστρωμα του δείγματος και το μετρούμενο συστατικό. Στην περίπτωση φυτικών προϊόντων κατά την ανάλυση του λευκού αντί για το φυτικό προϊόν χρησιμοποιείται στη θέση του η αντίστοιχη ποσότητα νερού (καθαρότητας HPLC) που περιέχει. Για παράδειγμα, αν η μέθοδος προβλέπει επεξεργασία 50 g ντομάτας, για την ανάλυση του λευκού στη θέση της επεξεργάζονται 45 g νερού (HPLC), δεδομένης της περιεκτικότητας της ντομάτας σε νερό που είναι περίπου 90%. Κατά την ανάλυση φυτικών δειγμάτων η συχνότητα ανάλυσης λευκών αντιδραστηρίων είναι ένα δείγμα (Blank Reagent) κάθε 20 δείγματα φυτικών προϊόντων.

- **Το λευκό δείγμα-μάρτυρας (blank matrix η control sample)**, το οποίο αποτελείται από το ίδιο υλικό / υπόστρωμα με αυτό του αγνώστου δείγματος, χωρίς όμως να περιέχει το μετρούμενο συστατικό ή, αν αυτό δεν είναι εφικτό, περιέχει τον αναλύτη σε επίπεδα συγκεντρώσεων μικρότερα του ορίου ποσοτικοποίησης.

Για τα φυτικά προϊόντα ως μάρτυρες μπορεί να χρησιμοποιηθούν προϊόντα βιολογικής γεωργίας ή προϊόντα που έχουν αναλυθεί στο πρόσφατο παρελθόν και έχουν βρεθεί χωρίς ανιχνεύσιμα υπολείμματα των αναλυτών. Ως μάρτυρας στην ανάλυση δειγμάτων νερού μπορεί να χρησιμοποιηθεί νερό καθαρότητας χρωματογραφικής ανάλυσης, που διατίθεται από τις εταιρίες παραγωγής χημικών υλικών και αντιδραστηρίων.

Επιπρόσθετα, γεγονός είναι πως το είδος του νερού (λιμναίο, υπόγειο, θαλασσινό, κ.α.) επηρεάζει τη μέτρηση, ιδανικός μάρτυρας νερού είναι νερό ίδιας προέλευσης με το δείγμα που θα αναλυθεί (πχ. Υπόγειο) στο οποίο επιβεβαιωμένα δεν υπάρχουν οι αναλύτες σε συγκέντρωση που να επηρεάζει τη μέτρηση.

4.1.2 Χρήση δειγμάτων έλεγχου ποιότητας της μεθόδου (QC samples)

Μια άλλη τεχνική Εσωτερικού Ελέγχου Ποιότητας είναι η χρήση δειγμάτων (QC SAMPLES) στην οποία τα δείγματα Ελέγχου ποιότητας της μεθόδου είναι εμβολιασμένα, είναι δηλαδή δείγματα μάρτυρα στα οποία έχει προστεθεί γνωστή συγκέντρωση του αναλύτη. Τα οποία αποτελούν τα ονομαζόμενα QC δείγματα (Quality Control) και με αυτά πραγματοποιείται ο έλεγχος ποιότητας των αναλυτικών μεθόδων. Η ανάλυση των δειγμάτων αυτών γίνεται παράλληλα με την ανάλυση των αγνώστων δειγμάτων (QC) και έχει ως σκοπό τον εντοπισμό και την αναίρεση κυρίως των συστηματικών αναλογικών σφαλμάτων.

Αν η συγκέντρωση του προστιθέμενου συστατικού στο λευκό δείγμα είναι $C_{\text{εμβ}}$ και μετά την ανάλυση του εμβολιασμένου δείγματος, η συγκέντρωση του προσδιοριζόμενου συστατικού μετράται ίση με C περιεκτικότητα. Τότε η ανάκτηση (recovery) του συστατικού υπολογίζεται από τον τύπο: $R = (C_{\text{περ}} * 100) / C_{\text{εμβ}}$.

Για να είναι αποδεκτή η αναλυτική απόδοση του εργαστηρίου πρέπει οι ανακτήσεις στα δείγματα ποιότητας να κυμαίνεται από 60% έως 140%. Αν η ανάκτηση δεν είναι μέσα στα όρια αυτά απαιτείται επανεξέταση των δειγμάτων. Κατ' εξαίρεση τα αποτελέσματα μπορεί να γίνουν αποδεκτά στην περίπτωση που η απόδοση είναι μικρότερη από 60 % αλλά με ικανοποιητική ακρίβεια (επαναληψιμότητα), μόνο όμως όταν δεν υπάρχει εναλλακτική μέθοδος. Στην περίπτωση αυτή το αναλυτικό αποτέλεσμα διορθώνεται ως προς την ανάκτηση.

4.1.3 Χρήση πολλαπλών αναλύσεων του ίδιου δείγματος

Σύμφωνα με την τεχνική αυτή, ελέγχεται η επαναληψιμότητα της μεθόδου εντός του εργαστηρίου για μια ομάδα δειγμάτων, δηλαδή ελέγχονται και εξουδετερώνονται κατά ένα μέρος τα τυχαία σφάλματα. Η πλήρης εξάλειψη των τυχαίων σφαλμάτων δεν είναι δυνατή, εφόσον γι αυτό απαιτούνται άπειρες μετρήσεις. Η πολλαπλή ανάλυση του ίδιου δείγματος συνίσταται στην επανάληψη ολόκληρης της αναλυτικής διαδικασίας, από τη ζύγιση του δείγματος έως και τον τελικό υπολογισμό των αποτελεσμάτων, ώστε όλες αυτές οι αναλύσεις να είναι μεταξύ τους ανεξάρτητες και να παράγουν ανεξάρτητα αποτελέσματα.

Απαραίτητη προϋπόθεση για την επίτευξη του ελέγχου αυτού είναι ότι θα πρέπει η προσδιορισθείσα συγκέντρωση να είναι άνω του επιτρεπόμενου ορίου. Τότε η ανάλυση επαναλαμβάνεται και υπολογίζεται η μέση τιμή των 3 αποτελεσμάτων. Πλησίον όμως του ορίου ποσοτικοποίησης η διακύμανση δύο αποτελεσμάτων μπορεί να είναι μεγαλύτερη, έως και 50%.

5. ΑΝΑΛΥΤΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΣ : ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΩΝ ΦΥΤΟΠΡΟΣΤΑΤΕΥΤΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ ΣΕ ΦΥΤΙΚΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ.

Σκοπός αυτής της μεθόδου είναι η ανάλυση φυτικών προϊόντων για την ανίχνευση και τον προσδιορισμό υπολειμμάτων φυτοπροστατευτικών προϊόντων ευαίσθητων στους ανιχνευτές αζώτου- φωσφόρου και σύλληψης ηλεκτρονίων της αέριας χρωματογραφίας, καθώς και στο φασματογράφο μαζών.

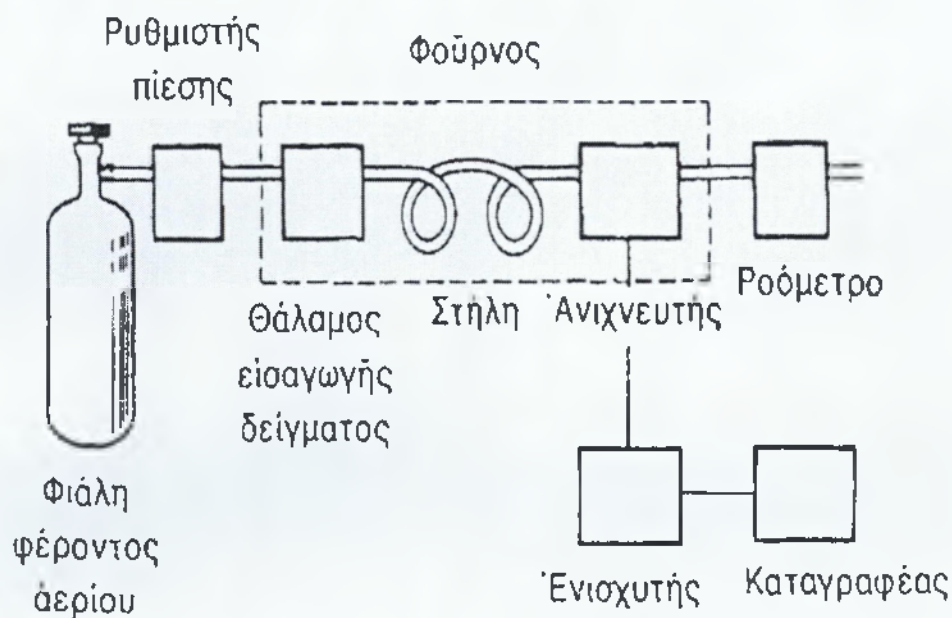
Κατά την διαδικασία αυτής της μεθόδου, αρχικά τα φυτοπροστατευτικά προϊόντα εκχυλίζονται από τα φυτικά δείγματα με μίγμα ακετόνης- διχλωρομεθάνιου και πετρελαϊκού αιθέρα. Έπειτα, με εξάτμιση αλλάζουμε το διαλύτη σε μίγμα ισοοκτανίου- τολουολίου και το τελικό εκχύλισμα εγχύεται σε αεριοχρωματογράφο όπου γίνεται διαχωρισμός και προσδιορισμός των υπολειμμάτων με τη χρήση ανιχνευτή NPD, ECD ή MS.

Τελειώνοντας, η ταυτοποίηση των υπολειμμάτων γίνεται βασιζόμενη στις τεχνικές στις οποίες αναφερθήκαμε προηγουμένως. Πιο συγκεκριμένα στην περίπτωση αυτή, γίνεται με τη χρησιμοποίηση αεριοχρωματογραφίας με στήλη διαφορετικής ποικιλότητας και / ή φασματομετρίας μαζών.

6. ΑΕΡΙΟΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ

Με τον όρο αεριοχρωματογραφία χαρακτηρίζεται η κατηγορία εκείνη των μεθόδων χρωματογραφίας, όπου η κινητή φάση είναι αέριο και η στατική μπορεί να είναι στερεή (αεριο-στερεή χρωματογραφία, GSC) είτε υγρή πάνω σ' έναν αδρανή φορέα (αεριο-υγρή χρωματογραφία, GLC). Η σημαντικότερη χρωματογραφική μέθοδος είναι η αεριο-υγρή χρωματογραφία, στην οποία η στατική φάση είναι ένα μη πτητικό υγρό που συγκρατείται πάνω σε μία αδρανή στερεά επιφάνεια με τη μορφή λεπτής στοιβάδας.

Τα βασικά στοιχεία ενός αεριοχρωματογραφικού συστήματος φαίνονται στην παρακάτω εικόνα (5).



Εικόνα 5: Στοιχεία ενός αεριοχρωματογραφικού συστήματος.

Το δείγμα εισάγεται σε ένα θερμαινόμενο θάλαμο (εγχυτής) και το φέρον αέριο (κινητή φάση) μεταφέρει τα συστατικά του δείγματος μέσα στη στήλη (στατική φάση), όπου διαχωρίζονται το ένα μετά το άλλο και διέρχονται από τον ανιχνευτή, ο οποίος στέλνει ένα σήμα στον καταγραφέα. Η στήλη, ο εγχυτής και ο ανιχνευτής βρίσκονται σε ένα θερμοστατούμενο φούρνο και τα δύο τελευταία μπορούν να θερμανθούν ξεχωριστά.

- Κατά τη λειτουργία του αεριοχρωματογράφου πρέπει να λειτουργεί σύστημα απαγωγής των αερίων της εξόδου του χρωματογράφου. Επίσης, η πηγή του ανιχνευτή ECD πρέπει να ανοίγεται μόνο από τεχνικούς της κατασκευάστριας εταιρίας λόγω ραδιενέργειας του ^{63}Ni .

- Η αεριοχρωματογραφία πρέπει να εξασφαλίζει την ύπαρξη ανιχνευτή ECD με στήλη SE 54 (ή ισοδύναμη, π.χ. DB 5) και μια δεύτερη στήλη διαφορετικής πολικότητας και ανιχνευτή NPD με στήλη DB 608 και μια δεύτερη στήλη διαφορετικής πολικότητας.
- Θερμοκρασιακό πρόγραμμα: από 50° c (1min), στους 180° c με ρυθμό ανόδου 30° c/min, αύξηση στους 230° c με ρυθμό 1,8° c/min, αύξηση στους 260° c με ρυθμό 30° c/min και παραμονή εκεί για 25min.
- Εγχύεται 1μL του τελικού εκχυλίσματος του δείγματος σε ένα εκ των χρωματογραφικών συστημάτων. Στην περίπτωση που στο χρωματογράφημα δεν εμφανιστεί χρωματογραφική κορυφή σε χρόνο πλησίον (+-3%) των χρόνων κατακράτησης των αναλυτών στην αντίστοιχη χρωματογραφική στήλη. Τότε το δείγμα δεν περιέχει ανιχνεύσιμες συγκεντρώσεις των αναλυτών. Σε αντίθετη περίπτωση υπάρχουν ενδείξεις ύπαρξης των αναλυτών στο δείγμα και απαιτείται ταυτοποίηση.

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το πειραματικό μέρος αποτελείται από 3 ενότητες: α) τις διακριβώσεις εργαστηριακού ογκομετρικού εξοπλισμού β) τον σχεδιασμό και την πραγματοποίηση αναλύσεων σε δείγματα ελέγχου ποιότητας και γ) την επικύρωση μεθόδου προσδιορισμού υπολειμμάτων σε μηλοειδή.

Η αναλυτική διαδικασία των διακριβώσεων εργαστηριακού εξοπλισμού αποτέλεσε το πρώτο μέρος της πτυχιακής μου εργασίας. Μέρος του εξοπλισμού του εργαστηρίου όπως για παράδειγμα είναι οι ογκομετρικές φιάλες και τα σιφώνια εξετάστηκαν σχετικά με την ακριβή τους χωρητικότητα προκειμένου να αποδειχτούν κατάλληλα έτσι ώστε σε μια εργαστηριακή μελέτη να έχουμε τα καλύτερα δυνατά αποτελέσματα. Ακόμη, εκτενέστερα στην παρούσα εργασία μελετήθηκε ο Εσωτερικός Έλεγχος Ποιότητας σε φυτικά δείγματα μήλων και ντομάτας. Μέθοδος η οποία χρησιμοποιείται κατά τη διάρκεια μιας αναλυτικής διαδικασίας προκειμένου να εντοπιστούν και να αναιρεθούν οι αιτίες που προκαλούν σφάλματα, με σκοπό να εξασφαλίζεται η ακρίβεια και η σταθερότητα των παραγομένων αποτελεσμάτων. Επιπλέον, πραγματοποιήθηκε επικύρωση μεθόδου προσδιορισμού υπολειμμάτων. Κατ' αυτήν αναλύθηκαν δείγματα μήλων έτσι ώστε να προσδιοριστούν και να ανιχνευτούν υπολείμματα φυτοπροστατευτικών προϊόντων με τα οποία είχαν εμβολιαστεί τα δείγματα. Σκοπός ήταν ο έλεγχος της ορθότητας και ακρίβειας της μεθόδου.

2.ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Είναι γεγονός πως τα τελευταία χρόνια όλο και περισσότερο αυξάνεται η χρήση φυτοπροστατευτικών προϊόντων, δεδομένου ότι η συνεχώς αυξανόμενη χρήση τους δημιουργεί κινδύνους για το οικοσύστημα με την καταστροφή και ωφέλιμων οργανισμών. Η μακροχρόνια έκθεσή σ' αυτά δημιουργεί έναν αστάθμητο κίνδυνο για τη ζωή και την υγεία των καταναλωτών αλλά ιδιαίτερα των παραγωγών που λόγω της επαγγελματικής τους ασχολίας εκτίθενται σε μεγαλύτερο βαθμό στην επίδραση των φυτοπροστατευτικών προϊόντων που χρησιμοποιούν.

Στις μέρες μας, η χρήση φυτοπροστατευτικών προϊόντων θεωρείται αναγκαία για την προστασία της γεωργικής παραγωγής. Για τον λόγο αυτό, σύμφωνα με εκτιμήσεις, αν δεν εφαρμοστεί συστηματικός έλεγχος των ασθενειών και των παρασίτων των καλλιεργειών, στην καλύτερη περίπτωση μπορούμε να πάρουμε όσον αφορά τα μήλα μόνο το 10% της παραγωγής. Με τον συστηματικό έλεγχο των ασθενειών και των παρασίτων, οι απώλειες της γεωργικής παραγωγής περιορίζονται σε ποσοστό 20-30%.

Γνωρίζοντας ήδη τις αρνητικές συνέπειες που έχει προκαλέσει η χρήση αυτή, καταλήγουμε στο συμπέρασμα ότι ο έλεγχος των νωπών ή μεταποιημένων προϊόντων ως προς τα υπολείμματα φυτοπροστατευτικών προϊόντων είναι απαραίτητος.

Συνεπώς, κρίνεται απαραίτητη η διεξαγωγή ενδοεργαστηριακών ελέγχων ποιότητας προκειμένου να εξασφαλιστεί η σταθερότητα και η ορθότητα των αποτελεσμάτων των αναλύσεων.

Στην παρούσα εργασία εφαρμόστηκαν έλεγχοι ποιότητας με την χρήση διαλυμάτων Quality Control (QC) σε δείγματα ντομάτας και μήλων. Τα δείγματα Ελέγχου Ποιότητας της μεθόδου που χρησιμοποιήθηκαν, ήταν δείγματα μάρτυρα τα οποία εμβολιάστηκαν, προσθέτοντάς τους γνωστή συγκέντρωση του αναλύτη. Η ανάλυση των δειγμάτων αυτών έγινε παράλληλα με την ανάλυση αγνώστων δειγμάτων (QC) και είχε ως σκοπό τον εντοπισμό και την αναίρεση κυρίως των συστηματικών αναλογικών σφαλμάτων.

Σε κάθε έλεγχο που πραγματοποιήθηκε μελετήθηκαν διαφορετικοί αναλύτες, έτσι ώστε να υπάρχει η δυνατότητα να προσδιοριστούν τα υπολείμματα από περισσότερες ουσίες. Επομένως, με τον τρόπο αυτό μπορούμε να διαπιστώσουμε πιο συγκεκριμένα ποιες ουσίες μπορούν να ανιχνευτούν και ποιες όχι μετά την επανάληψη της μεθόδου.

3. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

3.1 Γυάλινα υλικά

Για τις διακριβώσεις χρησιμοποιήθηκαν ογκομετρικές φιάλες των 200mL, 100mL, 50mL, 10mL, 5mL, 3mL, 2mL, 1mL, και τα ογκομετρικά σιφώνια των 1mL, 2mL, 5mL, 10mL, πιπέτες 1mL, 2mL, ποτήρια ζέσεως των 200mL, 100mL πουάρ και ένα θερμόμετρο.

Για την παρασκευή διαλυμάτων της προσδιοριζόμενης ουσίας χρησιμοποιήθηκαν σιφώνια των 1mL, 2mL, 5mL και 10mL, πιπέτες του 1mL, 2mL και 3mL και ογκομετρικές φιάλες των 10mL, 50mL, 100mL, και 500mL. Επιπρόσθετα, χρησιμοποιήθηκαν ποτήρια ζέσεως, των 250mL, μικρά γυάλινα χωνιά και γυάλινα φιαλίδια των 8mL με πάμα από Teflon.

3.2 Όργανα

Κατά την εκτέλεση της αναλυτικής μεθόδου χρησιμοποιήθηκαν τα παρακάτω όργανα:

- Ηλεκτρονικός ζυγός ακριβείας 5 δεκαδικών ψηφίων.
- Ομογενοποιητής χαμηλών στροφών.
- Ultra – Turrax T- 25 (για την εκχύλιση του δείγματος)
- Φιαλίδια φυγοκέντρου χωρητικότητας 250mL από Teflon
- Φυγόκεντρος (4236 Centrifuge της εταιρείας Labware sa)
- Υδατόλουτρο θερμοκρασιών ως τουλάχιστον 70°C
- Γυάλινη σύριγγα των 5mL με έμβολο και κατάλληλο πλαστικό προσαρμοστή για τα φυσιγγια, στερεωμένη με τη βοήθεια βραχίονα σε σιδερένιο στατώ.
- Πλαστικά φυσιγγια της εταιρείας International Sorbent Technology (ISI) με προσροφητικό υλικό Diol (500mg).
- Φίλτρο PVDF με διάμετρο πόρων 0.2μm.
- Μικρά φιλτράκια για τον καθαρισμό των δειγμάτων με διάμετρο πόρων 0.2μm.
- Συσκευή υπερήχων.

3.3 Αντιδραστήρια

- Ακετόνη καθαρότητας residue analysis – Pestiscan της εταιρείας LabScan
- Διχλωρομεθάνιο καθαρότητας residue analysis – Pestiscan της εταιρείας LabScan
- Πετρελαϊκός αιθέρας (σημείο ζέσεως 40-60°C) καθαρότητας residue analysis – Pestiscan της εταιρείας LabScan
- Τολουόλιο και 2,2,4-τριμεθυλοπεντάνιο (ισσοκτάνιο) καθαρότητας pesticide residues grade
- Ισοοκτάνιο τολουόλιο (90/10)κ
- Νερό καθαρότητας HPLC (LabScan)

3.4 Διακριβώσεις ογκομετρικού εξοπλισμού

3.4.1 Ογκομετρικές φιάλες

Χαρακτηριστικά

Οι ογκομετρικές φιάλες γενικότερα χρησιμοποιούνται για την παρασκευή διαλυμάτων γνωστής συγκέντρωσης. Είναι βαθμονομημένες σε συγκεκριμένη θερμοκρασία να περιέχουν συγκεκριμένο όγκο υγρού (ονομαστικός όγκος), κατατάσσονται σε κατηγορίες ανάλογα με την ακρίβεια του όγκου τους και διακρίνονται σε (class, grade) A και B.

Σε κάθε ογκομετρική φιάλη υπάρχουν οι εξής ενδείξεις :

- Ονομαστικός όγκος (χωρητικότητα)
- Ακρίβεια
- Κατηγορία – τύπος της φιάλης
- Θερμοκρασία βαθμονόμησης
- Σήμα κατασκευαστή

Χρήση

Οι ογκομετρικές φιάλες κατηγορίας A έχουν τη μισή ανοχή (επιτρεπόμενο σφάλμα) στον ονομαστικό τους όγκο σε σχέση με τις φιάλες της κατηγορίας B και συνεισφέρουν λιγότερο στη συνολική αβεβαιότητα των αποτελεσμάτων. Λόγω υψηλής ακρίβειας στην κατασκευή τους, το κόστος τους είναι υψηλό, γι' αυτό κρίνεται σκόπιμο η χρήση τους να περιορίζεται στην παρασκευή προτύπων διαλυμάτων που χρησιμοποιούνται για τη βαθμονόμηση των αναλυτικών οργάνων.

Σημαντικό είναι να αναφέρουμε πως η ακρίβεια της χωρητικότητας των φιαλών μειώνεται μετά από κακό χειρισμό τους για αυτό και απαιτείται, ιδιαίτερα για τις φιάλες κατηγορίας A, προσοχή στη θερμοκρασία έκπλυσης και ξήρασης. Επιπλέον, θα πρέπει ακόμη μετά τον καθαρισμό των φιαλών να γίνει έκπλυση με ακετόνη και στέγνωμά τους σε θερμοκρασία κάτω των 40°C, ενώ απαγορεύεται η θέρμανση σε θερμαντική πλάκα.

Επιπρόσθετα, οι ογκομετρικές φιάλες δεν θα πρέπει να χρησιμοποιούνται για τη λήψη καθορισμένων ποσοτήτων υγρού διότι τα σιφώνια και οι πιπέτες έχουν κατασκευαστεί για το σκοπό αυτό. Στο εργαστήριο η διακριβωση των ογκομετρικών φιαλών με ζύγιση γίνεται κατά την παραλαβή τους, προκειμένου να ελεγχθεί η ακρίβεια του όγκου τους. Ενώ μεγάλη προσοχή θα πρέπει να δίνεται στην θερμοκρασία, στην οποία διεξάγεται η βαθμονόμηση.

Επιπλέον θα πρέπει να αναφέρουμε πως η θερμοκρασία αποτελεί καθοριστική παράμετρος για τον όγκο του διαλύματος που περιέχεται στη φιάλη. Και ότι σε περίπτωση που υπάρξει υπόνοια για τη μεταβολή της ακρίβειας μιας ογκομετρικής φιάλης (π.χ. θέρμανσή της σε θερμοκρασία μεγαλύτερη των 40°C), θα πρέπει να επαναδιακριβωθεί.

Διακρίβωση

Απαραίτητες προϋποθέσεις για τη σωστή επίτευξη της διαδικασίας των διακριβώσεων των ογκομετρικών φιαλών είναι οι παρακάτω:

- Η θερμοκρασία βαθμονόμησης συνιστάται να ταυτίζεται με αυτή που δίνεται από τον κατασκευαστή, συνήθως στους 20°C. Σε αντίθετη περίπτωση είναι απαραίτητο να γίνουν κάποιες διορθώσεις.
- Για μεγαλύτερη ακρίβεια (μικρότερη αβεβαιότητα των μετρήσεων) θα πρέπει να χρησιμοποιείται ζυγός βαθμονομημένος, που να παρέχει ακρίβεια 10 % καλύτερη από την αναγραφόμενη επί της φιάλης.
- Η εξεταζόμενη φιάλη (απόλυτα στεγνή και καθαρή) θα πρέπει να ζυγίζεται με γάντια και να σημειώνεται το απόβαρο.
- Η φιάλη να πληρούται με νερό καθαρότητας HPLC και απαερωμένο (π.χ. σε λουτρό υπερήχων ή με θέρμανση ή σε HPLC), το οποίο βρίσκεται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος.
- Η θερμοκρασία να μετράται και να καταγράφεται. Επιπρόσθετα, οι τυχόν σταγόνες που απέμειναν στα τοιχώματα της φιάλης πάνω από τη χαραγή να απομακρύνονται πριν γίνει η πλήρωση της φιάλης μέχρι τη χαραγή. Και τελειώνοντας, ξαναζυγίζεται το βάρος της φιάλης με το νερό να καταγράφεται.

Έπειτα αφού έχουν προηγηθεί τα παραπάνω:

- Υπολογίζεται η μάζα του νερού, $m_{\text{νερού}}$, που περιέχεται στη φιάλη.
- Υπολογίζεται ο όγκος του νερού, $V_{\text{νερού}} = m_{\text{νερού}}/P$, όπου P η πυκνότητα που αντιστοιχεί στη θερμοκρασία μέτρησης.
- Απαραίτητη προϋπόθεση για τα καλύτερα δυνατά αποτελέσματα, είναι η διόρθωση της πυκνότητας λόγω διαστολής ή συστολής, οπότε στο υπολογιζόμενο όγκο νερού προστίθεται ή αφαιρείται ποσότητα $\Delta v = C \cdot V_{\text{νερού}} \cdot (\Theta - 20)$, όπου Θ : η θερμοκρασία μέτρησης και C : ο συντελεστής θερμικής διαστολής της υάλου από την οποία είναι κατασκευασμένη η φιάλη ($2,5 \cdot 10^{-5} \text{ mL}^\circ\text{C}$)
- Η διαδικασία πραγματοποιείται τουλάχιστον 3 φορές και λαμβάνεται ο μέσος όρος των μετρήσεων
- Η ακρίβεια της φιάλης υπολογίζεται ως η διαφορά του ονομαστικού της φιάλης από τον πειραματικά υπολογιζόμενο μέσο όρο των όγκων

3.4.2 Ογκομετρικά σιφώνια

Χαρακτηριστικά

Τα ογκομετρικά σιφώνια χρησιμοποιούνται ειδικότερα για την παραλαβή και μέτρηση καθορισμένου όγκου υγρών. Είναι βαθμονομημένα σε συγκεκριμένη θερμοκρασία να παρέχουν συγκεκριμένο όγκο υγρού (ονομαστικός όγκος), κατατάσσονται σε κατηγορίες ανάλογα με την ακρίβεια του όγκου τους και διακρίνονται σε (class, grade) A ή As και B.

Πιο αναλυτικά θα λέγαμε πως τα σιφώνια διακρίνονται σε δύο κατηγορίες : α) τα σιφώνια μετρήσεως (graduated pipettes) με βαθμονομημένο όλο το μήκος του σωλήνα και β) τα σιφώνια πληρώσεως (one mark pipettes) με μία ή δύο χαραγές, τα οποία και χαρακτηρίζονται από μεγαλύτερη ακρίβεια ώστε να λαμβάνεται ένας μόνο όγκος.

Σε κάθε σιφώνιο υπάρχουν οι εξής ενδείξεις :

- Ονομαστικός όγκος
- Όγκος που αντιστοιχεί σε κάθε υποδιαίρεση της κλίμακας (αφορά τα σιφώνια μετρήσεως)
- Ακρίβεια
- Κατηγορία – τύπος του σιφωνίου
- Θερμοκρασία βαθμονόμησης
- Σήμα κατασκευαστή
- Έγχρωμη κωδικοποίηση ανάλογα με τον όγκο που παρέχει το σιφώνιο.

Χρήση

Τα σιφώνια κατηγορίας A και As έχουν τη μισή ανοχή (επιτρεπόμενο σφάλμα) στον ονομαστικό τους όγκο σε σχέση με τα σιφώνια της κατηγορίας B και συνεισφέρουν λιγότερο στη συνολική αβεβαιότητα των αποτελεσμάτων. Λόγω υψηλής ακρίβειας στην κατασκευή τους, το κόστος τους είναι υψηλό γι' αυτό κρίνεται σκόπιμο η χρήση τους να περιορίζεται στην παρασκευή προτύπων διαλυμάτων που χρησιμοποιούνται για τη βαθμονόμηση των αναλυτικών οργάνων.

Σημαντικό είναι να αναφέρουμε πως η ακρίβεια της χωρητικότητας των σιφωνίων μειώνεται μετά από κακό χειρισμό τους για αυτό και θα πρέπει μετά τον καθαρισμό των σιφωνίων να γίνεται έκπλυση με ακετόνη και στέγνωμά τους σε θερμοκρασία κάτω των 40°C σε φούρνο ή σε θερμοκρασία περιβάλλοντος. Ακόμη ιδιαίτερη προσοχή θα πρέπει να δίνεται στη θερμοκρασία έκπλυσης και ξήρασης.

Τα σιφώνια προκειμένου να χρησιμοποιηθούν πρέπει να είναι απολύτως καθαρά και στεγνά, ώστε η διαβροχή του εσωτερικού σιφωνίου να είναι ομοιόμορφη και να μην απομένουν σταγονίδια στα τοιχώματα κατά το άδειασμα. Με τον τρόπο αυτό εξασφαλίζεται η ακρίβεια της μέτρησης.

Επιπρόσθετα, τα σιφώνια με σπασμένα ακροφύσια θα πρέπει να αποσύρονται, διότι με αυτόν τον τρόπο επηρεάζεται σημαντικά η ακρίβεια του σιφωνιού. Ενώ η πλήρωση των σιφωνίων σε καμιά περίπτωση δε θα πρέπει να γίνεται με αναρρόφηση από το στόμα, παρά μόνο με τη βοήθεια πουάρ.

Τέλος, το άδειασμα των σιφωνίων θα πρέπει να γίνεται με το ακροφύσιο να εφάπτεται στην επιφάνεια ελαφρώς κεκλιμένου γυαλινού δοχείου και τηρώντας τον προβλεπόμενο χρόνο εκροής. Η μικρή ποσότητα του υγρού που απομένει στο ακροφύσιο δεν εκφυσάται, διότι έχει ληφθεί υπόψη στη βαθμονόμηση από κατασκευής του σιφωνίου και οφείλεται σε τριχοειδή φαινόμενα. Ενώ για να ολοκληρωθεί το άδειασμα, θα πρέπει να μεσολαβήσουν 3 sec πριν μετακινηθεί το σιφώνιο από την κάθετη θέση στην οποία γινόταν η μεταφορά.

Διακρίβωση

Απαραίτητες προϋποθέσεις για τη σωστή επίτευξη της διαδικασίας των διακριβώσεων των ογκομετρικών σιφωνίων είναι οι παρακάτω:

- Ιδιαίτερη προσοχή θα πρέπει να δίνεται στη θερμοκρασία στην οποία διεξάγεται η διακρίβωση διότι η θερμοκρασία είναι καθοριστική παράμετρος για τον όγκο του υγρού που παρέχει το σιφώνιο και συνιστάται συνήθως να ταυτίζεται με αυτήν που δίνεται από τον κατασκευαστή (20 °C). Σε αντίθετες περιπτώσεις είναι απαραίτητο να γίνουν κάποιες διορθώσεις.
- Για μεγαλύτερη ακρίβεια (μικρότερη αβεβαιότητα) των μετρήσεων θα πρέπει να χρησιμοποιείται ζυγός βαθμονομημένος, που να παρέχει ακρίβεια 10% καλύτερη από την αναγραφόμενη του σιφωνίου.

Έπειτα αφού έχουν προηγηθεί τα παραπάνω:

- Δοχείο κατάλληλης χωρητικότητας ζυγίζεται και σημειώνεται το απόβαρο.
- Το σιφώνιο πληροúται με νερό καθαρότητας HPLC και απαερωμένο (πχ. σε λουτρό υπερήχων ή θέρμανση), το οποίο βρίσκεται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος.
- Μετράται η θερμοκρασία και καταγράφεται.

- Οι τυχόν σταγόνες που αιωρούνται από το ακροφύσιο απομακρύνονται όταν έρθουν σε επαφή με γυάλινη επιφάνεια. Ενώ η ποσότητα του νερού που περιέχεται στο σιφώνιο μεταφέρεται σύμφωνα με παρατήρηση που αναφέραμε προηγουμένως στο δοχείο.
- Το δοχείο ξαναζυγίζεται και καταγράφεται το βάρος.
- Υπολογίζεται ο όγκος του νερού, $V_{\text{νερού}} = \rho_{\text{νερού}}/P$, όπου P η πυκνότητα που αντιστοιχεί στη θερμοκρασία μέτρησης.
- Σε περίπτωση όπου η διαδικασία αυτή έγινε σε θερμοκρασία διαφορετική από τη θερμοκρασία διακρίβωσης, τότε απαραίτητη προϋπόθεση για τα καλύτερα δυνατά αποτελέσματα, είναι η διόρθωση του όγκου του σιφωνίου λόγω διαστολής ή συστολής του νερού, οπότε στο υπολογιζόμενο όγκο νερού προστίθεται ή αφαιρείται ποσότητα $\Delta V = C \cdot V_{\text{νερού}} \cdot (\Theta - 20)$, όπου Θ : η θερμοκρασία μέτρησης και C : ο συντελεστής θερμικής διαστολής της υάλου από την οποία είναι κατασκευασμένη το σιφώνιο ($2,5 \cdot 10^{-5} \text{ mL}/^{\circ}\text{C}$)
- Η διαδικασία πραγματοποιείται τουλάχιστον 3 φορές και λαμβάνεται ο μέσος όρος των μετρήσεων.

3.5. Μεθοδολογία

3.5.1 Εκχύλιση.

Κατά την διαδικασία της εκχύλισης, αρχικά ζυγίστηκαν σε φιάλη φυγόκεντρου από teflon των 250mL $15 \pm 0,15 \text{ gr}$ δείγματος. Έπειτα, προστέθηκαν 30mL ακετόνη και ακολούθησε ανάδευση για 1 min στον ομογενοποιητή ultra turaх σε μεσαία ταχύτητα 13500 στροφές/min, μέσα σε απαγωγό εστία. Ακόμη, προστέθηκαν επιπλέον 30mL διχλωρομεθάνιο και 30mL πετρελαϊκού αιθέρα $40-60^{\circ}\text{C}$ και ακολούθησε νέα ανάδευση για 1 min. Τελειώνοντας τη διαδικασία αυτή, η φιάλη πωματίζεται και το δείγμα φυγοκεντρείθηκε στις 4000 στροφές/min για 2min. Στη συνέχεια μεταφέρθηκαν 25mL από το υπερκείμενο υγρό σε σφαιρική των 50mL και τοποθετήθηκαν σε υδατόλουτρο στους $65-70^{\circ}\text{C}$, μέσα στην απαγωγό εστία, όπου έγινε εξάτμιση μέχρι ξηρού. Έχοντας εξατμιστεί, η φιάλη απομακρύνεται, αφήνεται ώστε να έλθει σε θερμοκρασία περιβάλλοντος και προστίθενται 5mL 2.2.4 τριμεθυλοπεντάνιο- τολουόλιο(90/10). Στο τέλος, αναδύεται το διάλυμα σε λουτρό υπερήχων για 30sec και μεταφέρεται σε φιαλίδιο των 8mL, σφραγίζεται με πώμα Teflon (PTFE) και τοποθετείται στην κατάψυξη έτοιμο για χρωματογραφική ανάλυση.

3.5.2 Υπολογισμοί

Σύμφωνα με το πρωτόκολλο του εργαστηρίου η περιεκτικότητα του δείγματος σε ένα φυτοπροστατευτικό προϊόν που ταυτοποιήθηκε υπολογίστηκε από την εξίσωση: $c=1,2 \cdot m$, όπου c : η συγκέντρωση σε $\text{mg/kg}(\text{ppm})$ του φυτοπροστατευτικού προϊόντος στο δείγμα και m : η ποσότητα(ng), όπως υπολογίστηκε στο εκχύλισμα από τη σύγκριση με 2 διαλύματα της προτύπου ουσίας. Τα δυο αυτά πρότυπα διαλύματα του αναλύτη θα πρέπει να έχουν συγκεντρώσεις που να μη διαφέρουν περισσότερο από 20% μεταξύ τους, έτσι ώστε η περιοχή συγκεντρώσεων ανάμεσα να μπορεί να θεωρηθεί στοιχειώδης. Η συγκέντρωση του αναλύτη στο δείγμα θα πρέπει να είναι ανάμεσα στις συγκεντρώσεις του στα δυο αυτά πρότυπα διαλύματα (τεχνική 'εγκλωβισμού' του δείγματος ανάμεσα στα πρότυπα) και η σειρά έγχυσης τέτοια ώστε τα 2 πρότυπα διαλύματα να είναι αμέσως πριν και μετά το δείγμα.

Απαραίτητες προϋποθέσεις προκειμένου τα αποτελέσματα να είναι ακριβή και έγκυρα είναι οι εξής:

Στη περίπτωση κατά την οποία η προσδιορισθείσα συγκέντρωση είναι άνω του επιτρεπόμενου ορίου, η ανάλυση επαναλαμβάνεται από νέο δείγμα και υπολογίζεται η μέση τιμή των δύο αποτελεσμάτων. Επιπλέον, θα πρέπει τα δύο αποτελέσματα να μην διαφέρουν περισσότερο από 30% διότι σε διαφορετική περίπτωση η ανάλυση, θα πρέπει να επαναληφθεί και να υπολογιστεί η μέση τιμή των τριών αποτελεσμάτων όπως ακόμη να υπολογιστεί και η αβεβαιότητα των 3 μετρήσεων.

Αν όμως η προσδιορισθείσα συγκέντρωση είναι λίγο άνω του επιτρεπόμενου ορίου, με αποτέλεσμα αφαιρούμενης της αβεβαιότητας να μην το υπερβαίνει πλέον τότε, μαζί με το αποτέλεσμα μπορεί να δοθεί και η αβεβαιότητα. Η τιμή της αβεβαιότητας στην περίπτωση αυτή λαμβάνεται από τα στοιχεία επικύρωσης(για την πλησιέστερη συγκέντρωση επικύρωσης προς την προσδιορισθείσα συγκέντρωση) και αναγράφεται δίπλα στο αποτέλεσμα, μαζί με το επίπεδο εμπιστοσύνης (π.χ. 95%).

Τα αποτελέσματα δεν διορθώνονται ως προς την ανάκτηση. Απαραίτητο είναι και το στρογγύλεμα αποτελεσμάτων όταν η συγκέντρωση του αναλύτη στο δείγμα είναι $<1, 1 \text{ mg/kg}$, διότι τότε το αποτέλεσμα δίνεται με ένα σημαντικό ψηφίο. Όταν είναι όμως από 0, 1 ως 10 mg/kg δίνεται με 2 σημαντικά ψηφία και όταν είναι $>10 \text{mg/kg}$ δίνεται με 3 σημαντικά.

3.6 ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ ΕΛΕΓΧΟΥ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΜΕ ΧΡΗΣΗ QUALITY CONTROL (QC) ΔΙΑΛΥΜΑΤΩΝ ΣΕ ΔΙΑΦΟΡΑ ΦΥΤΙΚΑ ΥΠΟΣΤΡΩΜΑΤΑ

3.6.1 Σε φυτικό υπόστρωμα τομάτας

Σύμφωνα με το πρωτόκολλο του εργαστηρίου οι ποσότητες που χρησιμοποιούμε για τον σχεδιασμό διαλυμάτων QC σε διάφορα φυτικά υποστρώματα, όπου στη συγκεκριμένη περίπτωση πρόκειται για τομάτα είναι προκαθορισμένες (standard) από τους αρμόδιους του εργαστηρίου. Θα αναφέρουμε ως παράδειγμα την ποσότητα του δείγματος την οποία χρησιμοποιούμε, η οποία θα πρέπει να είναι πάντα $15 \pm 0,15$ gr.

Διάλυμα Α

Κατασκευάστηκε διάλυμα που περιείχε 15g μάρτυρα ντομάτας και σε αντίστοιχες συγκεντρώσεις τα εξής:

με lindane	0,06 mg/g δηλαδή 0,9 μ g/15g	R.T.=11, 7 min (DB5-MS)
με fenthion	0,06 mg/g δηλαδή 0,9 μ g/15g	R.T.=16, 5 min (DB5-MS)
με folpet	0,12 mg/g δηλαδή 1,8 μ g/15g	R.T.=19, 7 min (DB5-MS)
με bifenthrin	0,24 mg/g δηλαδή 3,6 μ g/15g	R.T.=34 min (DB5-MS)
με fenvalerate	0,12 mg/g δηλαδή 1,8 μ g/15g	R.T.=47-48,4 min (DB5-MS)

R.T: χρόνος κατακράτησης ο οποίος έχει προκαθοριστεί από το εργαστήριο για κάθε φυτοπροστατευτικό προϊόν ξεχωριστά.

Για το σκοπό αυτό εμβολιάστηκαν 15g μάρτυρα ντομάτας με 1,8mL διαλύματος το οποίο ονομάστηκε ΔΤ1000 και παρασκευάστηκε προσθέτοντας σε ογκομετρική φιάλη των 100mL τα εξής: (και αραιώση με ισοοκτάνιο- τολουόλιο = 90:10)

1. lindane	0,5mL από διάλυμα 100 μ g/mL,	είχε δηλαδή $c=0,5\mu$ g/mL
2. fenthion	0,5mL από διάλυμα 100 μ g/mL,	είχε δηλαδή $c=0,5\mu$ g/mL
3. folpet	1mL από διάλυμα 100 μ g/mL,	είχε δηλαδή $c=1\mu$ g/mL
4. bifenthrin	2mL από διάλυμα 100 μ g/mL,	είχε δηλαδή $c=2\mu$ g/mL
5. fenvalerate	1mL από διάλυμα 100 μ g/mL,	είχε δηλαδή $c=1\mu$ g/mL

Από αυτό με αραιώσεις με ισοοκτάνιο- τολουόλιο (90:10) παρασκευάστηκαν αραιώσεις ως εξής:

0,6mL στα 10mL που ονομάστηκε διάλυμα ΔΤ60

0,8mL στα 10mL που ονομάστηκε διάλυμα ΔΤ80

1mL στα 10mL που ονομάστηκε διάλυμα ΔΤ100

1,2mL στα 10mL που ονομάστηκε διάλυμα ΔΤ120

Για παράδειγμα το διάλυμα ΔΤ100, που είναι το διάλυμα με την ίδια συγκέντρωση προς το QC δείγμα, είχε τις εξής συγκεντρώσεις:

1. lindane 0,05μg/mL
2. fenthion 0,05μg/mL
3. folpet 0,1μg/mL
4. bifenthrin 0,2μg/mL
5. fenvalerate 0,1μg/mL

Κατά αντίστοιχο τρόπο τα διαλύματα ΔΤ60, ΔΤ80, ΔΤ120 και ΔΤ140 είχαν συγκεντρώσεις :

60/100 του ΔΤ100

80/100 του ΔΤ100

120/100 του ΔΤ100

140/100 του ΔΤ100

Παρασκευάστηκε διάλυμα των προτύπων σε εκχύλισμα μάρτυρα (τομάτα) ως εξής: 0,5mL μάρτυρα εξατμίστηκαν μέχρι ξηρού και προστέθηκε 0,5mL διαλύματος ΔΤ(60, 80, 100, 120, 140) οπότε προέκυψαν τα αντίστοιχα διαλύματα προτύπων σε εκχύλισμα μάρτυρα, που ονομάστηκαν ΔΜΤ(60, 80, 100, 120, 140) και τα οποία χρησιμοποιήθηκαν για σύγκριση με το QC δείγμα.

Στη συνέχεια εγχύθηκε στον αεριοχρωματογράφο 1μL από κάθε διάλυμα ΔΜΤ και από 1μL του δείγματος QC. Από σύγκριση υπολογίσαμε την ποσότητα (ng) κάθε ουσίας στο QC δείγμα που πολλαπλασιαζόμενη με 1,2 έδωσε τη συγκέντρωσή της στο QC δείγμα. Στη συνέχεια υπολογίστηκε η ανάκτηση από τη σχέση: Ανάκτηση = (C που βρέθηκε /C εμβολιασμού)*100

Διάλυμα Β

Κατασκευάστηκε διάλυμα που περιείχε 15g μάρτυρα ντομάτας σε αντίστοιχες συγκεντρώσεις τα εξής:

με ethoprophos	0,12 mg/kg δηλαδή 1,8 μg/15gr	R.T= 9,3 min (SE-54)
με diazinon	0,12 mg/kg δηλαδή 1,8 μg/15gr	R.T= 11,8 min (SE-54)
με malathion	0,3 mg/kg δηλαδή 4,5 μg/15gr	R.T= 15,8 min (SE-54)
με iprodione	0,6 mg/kg δηλαδή 9 μg/15gr	R.T= 32 min (SE-54)
με phosalone	0,06 mg/kg δηλαδή 0,9 μg/15gr	R.T= 34,9 min (SE-54)

Για το σκοπό αυτό εμβολιάστηκαν 15gr ντομάτα μάρτυρα με 1, 8mL διαλύματος το οποίο ονομάστηκε ΔΤ1000 και παρασκευάστηκε προσθέτοντας σε ογκομετρική φιάλη των 100mL τα εξής και αραιώση με ισοοκτάνιο- τολουόλιο = 90:10.

1. ethoprophos 1mL από διάλυμα 100μg/mL, είχε δηλαδή $c=1\mu\text{g/mL}$
2. diazinon 1mL από διάλυμα 100μg/mL, είχε δηλαδή $c=1\mu\text{g/mL}$
3. malathion 1mL από διάλυμα 100μg/mL, είχε δηλαδή $c=2,5\mu\text{g/mL}$
4. iprodione 0,5mL από διάλυμα 100μg/mL, είχε δηλαδή $c=5\mu\text{g/mL}$
5. phosalone 0,5mL από διάλυμα 100μg/mL, είχε δηλαδή $c=0,5\mu\text{g/mL}$

Από αυτό με αραιώσεις με ισοοκτάνιο- τολουόλιο (90:10) παρασκευάστηκαν αραιώσεις ως εξής:

0,6mL στα 10mL που ονομάστηκε διάλυμα Δ.Τ.60

0,8mL στα 10mL που ονομάστηκε διάλυμα Δ.Τ.80

1mL στα 10mL που ονομάστηκε διάλυμα Δ.Τ.100

1.2mL στα 10mL που ονομάστηκε διάλυμα Δ.Τ.120

Για παράδειγμα το διάλυμα ΔΤ100, που είναι διάλυμα με την ίδια συγκέντρωση προς το QC σε δείγμα, είχε τις εξής συγκεντρώσεις:

1. ethoprophos 0,1mg/mL
2. diazinon 0,1mg/mL
3. malathion 0,25mg/mL
4. iprodione 0,5mg/mL
5. phosalone 0,05mg/mL

Κατά αντίστοιχο τρόπο τα διαλύματα ΔΤ60, ΔΤ80 και ΔΤ120 είχαν συγκεντρώσεις :

60/100 του ΔΤ100

80/100 του ΔΤ100

120/100 του ΔΤ100

Παρασκευάστηκε διάλυμα των προτύπων σε εκχύλισμα μάρτυρα (τομάτα) ως εξής: 0,5mL μάρτυρα εξατμίστηκαν μέχρι ξηρού και προστέθηκαν 0,5mL διαλύματος ΔΤ(60, 80, 100, 120) οπότε προέκυψαν τα αντίστοιχα διαλύματα προτύπων σε εκχύλισμα μάρτυρα, που ονομάστηκαν ΔΜΤ(60, 80, 100, 120) και τα οποία χρησιμοποιήθηκαν για σύγκριση με το QC δείγμα.

Στη συνέχεια εγχύθηκε στον αεριοχρωματογράφο 1μL από κάθε δείγμα ΔΜΤ και από 1 μL του δείγματος QC. Από σύγκριση υπολογίστηκε η ποσότητα (ng) κάθε ουσίας στο QC δείγμα που πολλαπλασιαζόμενη με 1.2 έδωσε τη συγκέντρωσή της στο QC δείγμα. Στη συνέχεια υπολογίστηκε η ανάκτηση από τη σχέση: Ανάκτηση = (C που βρέθηκε / C εμβολιασμού)*100

3.6.2 Σε φωτικό υπόστρωμα μήλου σε εγγυτές GC-03-ECD, GC-04-NPD.

Α' επίπεδο

Κατασκευάστηκε διάλυμα που περιείχε 15g μάρτυρα μήλου σε αντίστοιχες συγκεντρώσεις τα εξής:

Σε εγχυτή GC-03-ECD:

με captan	3mg/kg (=MRL) δηλαδή 45 mg/15 gr	R.T.=30,3 min
με a-cypermethrin	1mg/kg (=MRL) δηλαδή 15mg/15gr	R.T.=45,2/45,9 min
με fenarimol	0,3 mg/kg (=MRL) δηλαδή 4,5mg /15gr	R.T.=42,4 min
με myclobutanil	0,5mg/kg (=MRL) δηλαδή 7,5mg/15gr	R.T.=32,22 min

Σε εγχυτή GC-04-NPD

με carbaryl	3mg/kg (=MRL) δηλαδή 45mg/15gr	R.T.=14,08 min
-------------	--------------------------------	----------------

Για τον σκοπό αυτό εμβολιάστηκαν 15 gr μάρτυρα μήλων με 1.8mL διαλύματος το οποίο ονομάστηκε ΔΤ1000 και παρασκευάστηκε προσθέτοντας σε ογκομετρική φιάλη των 100mL τα εξής : (και αραιώση με ισοοκτάνιο / τολουόλιο 90 :10)

Σε εγχυτή GC-03-ECD:

1. captan 2,5mL από το διάλυμα 1000mg/mL, είχε δηλαδή c=2,5 μg/mL.
2. a-cypermethrin 0.83mL από το διάλυμα 1000μg/mL, είχε δηλαδή c=8,3 μg/mL.
3. fenarimol 2,5mL από το διάλυμα 1000μg/mL, είχε δηλαδή C = 2, μg/mL.
4. myclobutanil 4,2mL από το διάλυμα 1000μg/mL, είχε δηλαδή c= 4,2 μg/mL.

Σε εγχυτή GC-04-NPD

1. carbaryl 2,5mL από το διάλυμα 1000μg/mL, είχε δηλαδή c= 2,5μg/mL.

Από το διάλυμα αυτό με αραιώσεις με ισοοκτάνιο- τολουόλιο (90:10) παρασκευάστηκαν διαλύματα αραιώσεων ως εξής :

0,6mL στα 10mL που ονομάστηκε ΔΤ60

0,8mL στα 10mL που ονομάστηκε ΔΤ80

1mL στα 10mL που ονομάστηκε ΔΤ100

1,2mL στα 10mL που ονομάστηκε ΔΤ120

1,4mL στα 10mL που ονομάστηκε ΔΤ140

Για παράδειγμα το διάλυμα ΔΤ100 περιείχε τις εξής συγκεντρώσεις :

Σε εγχυτή GC-03-ECD:

1. captan 3mg /mL
2. a-cypermethrin 0,996μg/mL
3. fenarimol 0,3μg/mL
4. myclobutanil 0,504μg/mL

Κατά αντίστοιχο τρόπο τα διαλύματα ΔΤ60, ΔΤ80, ΔΤ120 και ΔΤ140 είχαν συγκεντρώσεις :

60/100 του ΔΤ100

80/100 του ΔΤ100

120/100 του ΔΤ100

140/100 του ΔΤ100

Παρασκευάστηκε διάλυμα των προτύπων σε εκχύλισμα μάρτυρα μήλων ως εξής : 0,5mL μάρτυρα εξατμίστηκαν έως ξηρού και προστέθηκαν 0,5mL διαλύματος ΔΤ(60, 80, 100, 120, 140) οπότε προέκυψαν τα αντίστοιχα διαλύματα προτύπων σε εκχύλισμα μάρτυρα, που ονομάστηκαν ΔΜΤ(60, 80, 100, 120, 140) και τα οποία χρησιμοποιήθηκαν για σύγκριση με το δείγμα. Έπειτα εγχύσαμε στον αεριοχρωματογράφο 1μL από κάθε διάλυμα ΔΤ και 1μL του δείγματος.

Από σύγκριση υπολογίσαμε την έγχυση στον GC-03-ECD των παρακάτω διαλυμάτων επικύρωσης. Η σειρά με την οποία έγιναν οι εγχύσεις είναι η εξής: ΔΤ60, ΔΤ80, ΔΤ100, QC₁, ΔΤ100, QC₂, ΔΤ100, ΔΤ120, ΔΤ140.

B' επίπεδο

Κατασκευάστηκε διάλυμα που περιείχε 15g μάρτυρα μήλου σε αντίστοιχες συγκεντρώσεις τα εξής:

με lambda-cyhalothrin	0,01mg/kg (=MRL) δηλαδή 0,15mg/15g	R.T.=36,9min
με deltamethrin	0,05mg/kg (=MRL) δηλαδή 0,75mg/15g	R.T.= 51,71min
με triadimenol	2mg/kg (=MRL) δηλαδή 30mg/15g	R.T.=19,64/20,17min
με b-cyfluthrin	0,02mg/kg (=MRL) δηλαδή 0,3mg/15g	R.T.=41,92/42,15min
με diazinon	0,03mg/kg (=MRL) δηλαδή 0,45 mg/15g	R.T.=12,1min
με chlorpyrifos methyl	0,05mg/kg (=MRL) δηλαδή 0,75mg/kg	R.T.=14,0min
με fenitrothion	0,05mg/kg (=MRL) δηλαδή 0,75mg/kg	R.T.=15,57min
με tau-fluvalinate	0,05mg/kg (=MRL) δηλαδή 0,75mg/kg	R.T.=47,88/48,82min
με phosalone	0,2mg/kg (= MRL) δηλαδή 3mg/15g	R.T.= 35,48min

Για το σκοπό αυτό εμβολιάστηκαν 15 g μάρτυρα μήλων με 1.8mL διαλύματος το οποίο ονομάστηκε ΔΤ1000 και παρασκευάστηκε προσθέτοντας σε ογκομετρική φιάλη των 100mL τα εξής : (και αραιώση με ισοοκτάνιο / τολουόλιο 90 : 10)

1. diazinon	0,25mL από το διάλυμα 100mg/mL,	είχε δηλαδή c=0,25μg/mL
2. chlorpyrifos methyl	0,4mL από το διάλυμα 100μg/mL,	είχε δηλαδή c=0,4μg/mL
3. fenitrothion	0,4mL από το διάλυμα 100μg/mL,	είχε δηλαδή c=0,4μg/mL
4. triadimenol	1,7mL από το διάλυμα 1000μg/mL,	είχε δηλαδή c=17μg/mL
5. kresoxim methyl	1,7mL από το διάλυμα 10μg/mL,	είχε δηλαδή c=0,17μg/mL
6. phosalone	1,7mL από το διάλυμα 100μg/mL,	είχε δηλαδή c=1,7μg/mL
7. beta-cyfluthrin	1,7mL από το διάλυμα 10μg/mL,	είχε δηλαδή c=0,17μg/mL
8. lambda-cyhalothrin	0,8mL από το διάλυμα 100μg/mL,	είχε δηλαδή c=0,08μg/mL
9. deltamethrin	0,4mL από το διάλυμα 100μg/mL,	είχε δηλαδή c=0,4μg/mL
10. tau-fluvalinate	0,4mL από το διάλυμα 100μg/mL,	είχε δηλαδή c=0,4μg/mL

Από το διάλυμα αυτό με αραιώσεις με ισοοκτάνιο / τολουόλιο (90 : 10) παρασκευάστηκαν διαλύματα αραιώσεων ως εξής :

0,6mL στα 10mL που ονομάστηκε ΔΤ60

0,8mL στα 10mL που ονομάστηκε ΔΤ80

1,0mL στα 10mL που ονομάστηκε ΔΤ100

1,2mL στα 10mL που ονομάστηκε ΔΤ120

1,4mL στα 10mL που ονομάστηκε ΔΤ140

Για παράδειγμα το διάλυμα ΔΤ100 περιείχε τις εξής συγκεντρώσεις :

- lambda-cyhalothrin 0,0096μg/mL
- deltamethrin 0,048μg/mL
- triadimenol 2,04μg/mL
- kresoxim methyl 0,0204μg/mL
- beta-cyfluthrin 0,0204μg/mL
- diazinon 0,03μg/mL
- chlorpyrifos methyl 0,048μg/mL
- fenitrothion 0,048μg/mL
- tau-fluvalinate 0,048μg/mL
- phosalone 0,204μg/mL

Κατά αντίστοιχο τρόπο τα διαλύματα ΔΤ60, ΔΤ80, ΔΤ120 και ΔΤ140 είχαν συγκεντρώσεις:
60/100 του ΔΤ100
80/100 του ΔΤ100
120/100 του ΔΤ100
140/100 του ΔΤ100

Παρασκευάστηκε διάλυμα των προτύπων σε εκχύλισμα μάρτυρα (μήλα) ως εξής : 0,5mL μάρτυρα εξατμίστηκε μέχρι ξηρού και προστέθηκαν 0,5mL διαλύματος ΔΤ(60, 80, 100, 120, 140) οπότε προέκυψαν τα αντίστοιχα διαλύματα προτύπων σε εκχύλισμα μάρτυρα, που ονομάστηκαν ΔΜΤ(60, 80, 100, 120, 140) και τα οποία χρησιμοποιήθηκαν για σύγκριση με το δείγμα.

Έπειτα εγχύθηκε στον αεριοχρωματογράφο 1mL από κάθε διάλυμα ΔΤ και από 1μl του δείγματος. Από σύγκριση υπολογίστηκε η ποσότητα (ng) κάθε ουσίας στο δείγμα, η οποία πολλαπλασιαζόμενη με 1.2 έδωσε τη συγκέντρωση της στο δείγμα. Στη συνέχεια υπολογίσαμε την ανάκτηση ως εξής : Ανάκτηση = (C που βρέθηκε /C εμβολιασμού)*100

4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

4.1 Αποτελέσματα διακριβώσεων

4.1.1 Ογκομετρικές Φιάλες

Πριν την εκτενή παρουσίαση των αποτελεσμάτων, κρίθηκε σκόπιμο να αναφερθούν οι επιτρεπόμενες αποκλίσεις (ανοχές) όπως ορίζονται από τις Προδιαγραφές (BRITISH STANDARDS) ή τα Μέγιστα Ανεκτά Όρια (Nominal capacity) σε mL και τα οποία χρησιμοποιήθηκαν στις συγκρίσεις.

Πίνακας 7: Επιτρεπόμενες αποκλίσεις (ανοχές) σύμφωνα με τις Προδιαγραφές (British Standards) ή Μέγιστα Ανεκτά Όρια (Nominal Capacity) σε mL για ογκομετρικές φιάλες Class A και Class B, καθώς και σε ποσοστιαία βάση (%) για ογκομετρικές φιάλες Class B

Ονομαστικός όγκος (mL)	Ανοχή (mL)		Ανοχή (%)
	Class A	Class B	+/-%
5	± 0,025	± 0,05	± 1
10	± 0,025	± 0,05	± 0,5
25	± 0,04	± 0,08	± 0,32
50	± 0,06	± 0,12	± 0,24
100	± 0,10	± 0,20	± 0,20
200	± 0,15	± 0,30	

Όσον αφορά σε ογκομετρικές φιάλες ονομαστικού όγκου μικρότερου των 5mL ($V < 5\text{mL}$) οι ανοχές σύμφωνα με τις Προδιαγραφές (British Standards) σε mL και σε ποσοστιαία βάση (%) αναφέρονται στον πίνακα 8 που ακολουθεί.

Πίνακας 8: Επιτρεπόμενες αποκλίσεις (ανοχές) σύμφωνα με τις Προδιαγραφές (British Standards) σε mL για ογκομετρικές φιάλες Class A με $V < 5\text{mL}$, καθώς και σε ποσοστιαία βάση (%).

Ονομαστικός όγκος (mL)	Ανοχή (mL)	Ανοχή (%)
3	± 0,05	± 1,67%
2	± 0,03	± 1,50%
1	± 0,018	± 1,80%

Πραγματοποιήθηκε διακρίβωση των ογκομετρικών φιαλών και τα αποτελέσματα δίνονται στους παρακάτω πίνακες:

Πίνακας 9: Αποτελέσματα διακρίβωσης ογκομετρικών φιαλών Class A με ονομαστικό όγκο 200mL. Οι επιτρεπόμενες αποκλίσεις (ανοχές) σύμφωνα με τις Προδιαγραφές (British Standards) σε mL είναι $\pm 0,15$ για Class A και $\pm 0,30$ για Class B

Αριθμός φιάλης	Υπολογισθείς όγκος φιάλης σε mL (N=3)	Απόκλιση σε mL	Επιτυγχανόμενη ακρίβεια (%)
1	199,80	- 0,146	- 0,073
2	199,74	- 0,26	- 0,13
3	199,86	- 0,143	- 0,071
4	200,20	+ 0,201	+ 0,1

Οι ογκομετρικές φιάλες 2 και 4 κρίνονται ακατάλληλες για χρήση λόγω απόκλισης από τα επιτρεπόμενα όρια των προδιαγραφών ($\pm 0,15$ για Class A).

Πίνακας 10: Αποτελέσματα διακρίβωσης ογκομετρικών φιαλών Class A με ονομαστικό όγκο 100mL. Οι επιτρεπόμενες αποκλίσεις (ανοχές) σύμφωνα με τις Προδιαγραφές (British Standards) σε mL είναι $\pm 0,10$ για Class A και $\pm 0,20$ για Class B

Αριθμός φιάλης	Υπολογισθείς όγκος φιάλης σε mL (N=3)	Απόκλιση σε mL	Επιτυγχανόμενη ακρίβεια (%)
1	99,96	- 0,043	- 0,043
2	99,89	- 0,10	- 0,10
3	99,93	- 0,073	- 0,073
4	99,94	- 0,063	- 0,063
5	100,143	+ 0,143	+ 0,143
6	99,9	- 0,1	- 0,1
7	99,93	- 0,073	- 0,073
8	99,88	- 0,123	- 0,123
9	99,87	- 0,13	- 0,13
10	99,84	- 0,156	- 0,156
11	99,83	- 0,17	- 0,17
12	99,76	- 0,024	- 0,024
13	99,99	- 0,035	- 0,035
14	99,82	- 0,1773	- 0,1773

Πίνακας 11: Αποτελέσματα διακρίβωσης ογκομετρικών φιαλών Class A με ονομαστικό όγκο 50mL. Οι επιτρεπόμενες αποκλίσεις (ανοχές) σύμφωνα με τις Προδιαγραφές (British Standards) σε mL είναι $\pm 0,06$ για Class A και $\pm 0,12$ για Class B

Αριθμός φιάλης	Υπολογισθείς όγκος φιάλης σε mL (N=3)	Απόκλιση σε mL	Επιτυγχανόμενη ακρίβεια (%)
1	50,02	+ 0,023	+ 0,046
2	50,12	+ 0,123	+ 0,246
3	50,1253	+ 0,1253	+ 0,2506
4	50,0392	+ 0,0392	+ 0,0784
5	49,9003	- 0,0096	- 0,0192
6	49,9958	- 0,0042	- 0,0085
7	50,02	+ 0,02	+ 0,04
8	50,0363	+ 0,0363	+ 0,0726
9	50,0085	+ 0,0085	+ 0,0170
10	49,9697	- 0,0303	+ 0,0606
11	49,9530	- 0,047	- 0,094
12	49,9271	- 0,073	- 0,146
13	49,8769	- 0,1231	- 0,2462
14	50,0465	+ 0,0465	+ 0,093
15	50,0590	+ 0,059	+ 0,1181
16	50,0088	+ 0,0088	+ 0,0176

Οι ογκομετρικές φιάλες 2, 3, 12 και 13 κρίνονται ακατάλληλες για χρήση λόγω απόκλισης από τα επιτρεπόμενα όρια των προδιαγραφών ($\pm 0,06$ για Class A).

Πίνακας 12: Αποτελέσματα διακριβώσεων ογκομετρικών φιαλών Class A με ονομαστικό όγκο 10mL. Οι επιτρεπόμενες αποκλίσεις (ανοχές) σύμφωνα με τις Προδιαγραφές (British Standards) σε mL είναι $\pm 0,025$ για Class A και $\pm 0,05$ για Class B

Αριθμός φιάλης	Υπολογισθείς όγκος φιάλης σε mL (N=3)	Απόκλιση σε mL	Επιτυγχανόμενη ακρίβεια (%)
1	9,9914	- 0,0086	- 0,086
2	10,004	+ 0,004	+ 0,04
3	9,9634	- 0,0366	- 0,366
4	9,9746	- 0,0254	- 0,254
5	9,9846	- 0,0154	- 0,154
6	9,9753	- 0,0247	- 0,247
7	9,9985	- 0,0045	- 0,045
8	9,9677	- 0,0323	- 0,323
9	9,9396	- 0,0604	- 0,604
10	9,9732	- 0,0168	- 0,168
11	9,9745	- 0,0255	- 0,255
12	9,9563	- 0,0437	- 0,437
13	9,9920	- 0,008	- 0,08
14	9,9670	- 0,033	- 0,33
15	9,973	- 0,017	- 0,17
16	9,9856	- 0,0144	- 0,144
17	9,9858	- 0,0142	- 0,142
18	10,0014	+ 0,0042	+ 0,042
19	9,9985	- 0,0015	- 0,015
20	10,0157	0,0157	0,157
21	9,9934	- 0,0066	- 0,066
22	9,9966	- 0,0103	- 0,103

Οι ογκομετρικές φιάλες 3, 8, 9, 12 και 14 κρίνονται ακατάλληλες για χρήση λόγω απόκλισης από τα επιτρεπόμενα όρια των προδιαγραφών ($\pm 0,025$ για Class A).

Πίνακας 13: Αποτελέσματα διακριβώσεων ογκομετρικών φιαλών Class A με ονομαστικό όγκο 5mL. Οι επιτρεπόμενες αποκλίσεις (ανοχές) σύμφωνα με τις Προδιαγραφές (British Standards) σε mL είναι $\pm 0,025$ για Class A και $\pm 0,05$ για Class B

Αριθμός φιάλης	Υπολογισθείς όγκος φιάλης σε mL (N=3)	Απόκλιση σε mL	Επιτυγχανόμενη ακρίβεια (%)
1	4,9607	- 0,0393	- 0,786
2	4,9724	- 0,0248	- 0,496
3	4,9742	- 0,0251	- 0,502
4	4,9606	- 0,0394	- 0,788
5	4,9757	- 0,0243	- 0,486
6	4,9639	- 0,036	- 0,721
7	4,9666	- 0,0334	- 0,668
8	4,9792	- 0,0208	- 0,4153
9	4,9953	- 0,0047	- 0,094
10	5,0437	+ 0,0437	+ 0,8746
11	5,0004	+ 0,0004	+ 0,0073
12	5,0014	+ 0,0014	+ 0,028
13	4,9839	- 0,0161	- 0,322
14	5,0112	+ 0,0112	+ 0,224
15	4,9766	- 0,0234	- 0,468
16	4,9771	- 0,0229	- 0,458
17	4,9809	- 0,0191	- 0,382

Οι ογκομετρικές φιάλες 1, 6, 7 και 10 κρίνονται ακατάλληλες για χρήση λόγω απόκλισης από τα επιτρεπόμενα όρια των προδιαγραφών ($\pm 0,025$ για Class A).

Πίνακας 14: Αποτελέσματα διακριβώσεων ογκομετρικών φιαλών Class A με ονομαστικό όγκο 3mL. Οι επιτρεπόμενες αποκλίσεις (ανοχές) σύμφωνα με τις Προδιαγραφές (British Standards) σε mL είναι $\pm 0,05$ και σε ποσοστιαία βάση $\pm 1,67\%$ για Class A

Αριθμός φιάλης	Υπολογισθείς όγκος φιάλης σε mL (N=3)	Απόκλιση σε mL	Επιτυγχανόμενη ακρίβεια (%)
1	3,0234	+ 0,0234	+ 0,7799
2	3,0329	+ 0,0329	+ 1,0977
3	3,0412	+ 0,0412	+ 1,3743
4	3,0173	+ 0,0173	+ 0,5777
5	3,0087	+ 0,0087	+ 0,291
6	3,0315	+ 0,0315	+ 1,0487
7	3,0108	+ 0,0108	+ 0,3588
8	3,0366	+ 0,0366	+ 1,221
9	3,0649	+ 0,0649	+ 2,162
10	3,0592	+ 0,0592	+ 1,973

Οι ογκομετρικές φιάλες 9 και 10 κρίνονται ακατάλληλες για χρήση λόγω απόκλισης από τα επιτρεπόμενα όρια των προδιαγραφών ($\pm 0,05$ για Class A).

Πίνακας 15: Αποτελέσματα διακριβώσεων ογκομετρικών φιαλών Class A με ονομαστικό όγκο 2mL. Οι επιτρεπόμενες αποκλίσεις (ανοχές) σύμφωνα με τις Προδιαγραφές (British Standards) σε mL είναι $\pm 0,03$ και σε ποσοστιαία βάση $\pm 1,50\%$ για Class A

Αριθμός φιάλης	Υπολογισθείς όγκος φιάλης σε mL (N=3)	Απόκλιση σε mL	Επιτυγχανόμενη ακρίβεια (%)
1	1,978	- 0,022	- 1,1
2	1,9903	- 0,0097	- 0,485
3	1,9826	- 0,0173	- 0,866
4	1,9903	- 0,0097	- 0,485
5	1,9872	- 0,0128	- 0,64
6	1,9867	- 0,0133	- 0,665
7	1,9821	- 0,0179	- 0,895
8	1,9744	- 0,0256	- 1,28

Καμία ογκομετρική φιάλη δεν απορρίπτεται.

Πίνακας 16: Αποτελέσματα διακριβώσεων ογκομετρικών φιαλών Class A με ονομαστικό όγκο 1mL. Οι επιτρεπόμενες αποκλίσεις (ανοχές) σύμφωνα με τις Προδιαγραφές (British Standards) σε mL είναι $\pm 0,018$ και σε ποσοστιαία βάση $\pm 1,80\%$ για Class A

Αριθμός φιάλης	Υπολογισθείς όγκος φιάλης σε mL (N=3)	Απόκλιση σε mL	Επιτυγχανόμενη ακρίβεια (%)
1	0,9941	- 0,0059	- 0,59
2	1,0151	+ 0,0151	+ 1,51
3	1,0079	+ 0,0079	+ 0,79
4	0,9816	- 0,0180	- 1,80
5	0,9839	- 0,0161	- 1,61
6	0,9850	- 0,015	- 1,5
7	0,987	- 0,013	- 1,3
8	0,9886	- 0,0114	- 1,143
9	0,9827	- 0,0173	- 1,73
10	0,9857	- 0,0143	+ 1,43
11	1,0021	+ 0,0062	+ 0,62
12	1,0136	+ 0,0136	+ 1,36
13	1,0061	+ 0,0061	+ 0,61

Καμία ογκομετρική φιάλη δεν απορρίπτεται.

4.1.2. Ογκομετρικά σιφώνια

Πριν την εκτενή παρουσίαση των αποτελεσμάτων, κρίθηκε σκόπιμο να αναφερθούν οι επιτρεπόμενες αποκλίσεις (ανοχές) όπως ορίζονται από τις Προδιαγραφές (BRITISH STANDARDS) ή τα Μέγιστα Ανεκτά Όρια (Nominal capacity) σε mL και τα οποία χρησιμοποιήθηκαν στις συγκρίσεις.

Πίνακας 17: Επιτρεπόμενες αποκλίσεις (ανοχές) σύμφωνα με τις Προδιαγραφές (British Standards) ή Μέγιστα Ανεκτά Όρια (Nominal Capacity) σε mL για ογκομετρικά σιφώνια Class A και Class B, καθώς και σε ποσοστιαία βάση (%) για ογκομετρικά σιφώνια Class B.

Όνομαστικός όγκος (mL)	Ανοχή (mL)		Ανοχή (%)
	Class AS	Class B	+/-%
0,5	± 0,0005	± 0,01	
1	± 0,008	± 0,015	
2	± 0,01	± 0,02	± 1%
5	± 0,015	± 0,03	± 0,06%
10	± 0,02	± 0,04	

Πραγματοποιήθηκε διακρίβωση των ογκομετρικών σιφωνίων και τα αποτελέσματα δίνονται στους παρακάτω πίνακες:

Πίνακας 18: Αποτελέσματα διακρίβωσης ογκομετρικών σιφωνίων Class AS με ονομαστικό όγκο 1mL. Οι επιτρεπόμενες αποκλίσεις (ανοχές) σύμφωνα με τις Προδιαγραφές (British Standards) σε mL είναι ± 0,008 για Class AS και ± 0,015 για Class B

Αριθμός σιφωνίου	1	2
Υπολογισθείς όγκος σιφωνίου σε mL (N=3)	0,9859	0,9651
Απόκλιση σε mL	- 0,0141	- 0,0349
Επιτυγχανόμενη ακρίβεια (%)	- 1,41	- 3,49

Το ογκομετρικά σιφώνια 1 και 2 κρίνονται ακατάλληλα για χρήση λόγω απόκλισης από τα επιτρεπόμενα όρια των προδιαγραφών (± 0,008 για Class AS).

Πίνακας 19: Αποτελέσματα διακριβώσεων ογκομετρικών σιφώνιων Class AS με ονομαστικό όγκο 2mL. Οι επιτρεπόμενες αποκλίσεις (ανοχές) σύμφωνα με τις Προδιαγραφές (British Standards) σε mL είναι $\pm 0,01$ για Class AS και $\pm 0,02$ για Class B

Αριθμός σιφώνιου	1	2
Υπολογισθείς όγκος σιφώνιου σε mL (N=3)	1,9639	1,9963
Απόκλιση σε mL	- 0,0361	- 0,0037
Επιτυγχανόμενη ακρίβεια (%)	- 1,805	- 0,185

Το ογκομετρικό σιφώνιο 2 κρίνεται ακατάλληλο για χρήση λόγω απόκλισης από τα επιτρεπόμενα όρια των προδιαγραφών ($\pm 0,01$ για Class AS).

Πίνακας 20: Αποτελέσματα διακριβώσεων ογκομετρικών σιφώνιων Class AS με ονομαστικό όγκο 5mL. Οι επιτρεπόμενες αποκλίσεις (ανοχές) σύμφωνα με τις Προδιαγραφές (British Standards) σε mL είναι $\pm 0,015$ για Class AS και $\pm 0,03$ για Class B

Αριθμός σιφώνιου	1
Υπολογισθείς όγκος σιφώνιου σε mL (N=3)	5,0031
Απόκλιση σε mL	+ 0,0031
	+ 0,062

Το ογκομετρικό σιφώνιο δεν απορρίπτεται.

Πίνακας 21: Αποτελέσματα διακριβώσεων ογκομετρικών σιφώνιων Class AS με ονομαστικό όγκο 10mL. Οι επιτρεπόμενες αποκλίσεις (ανοχές) σύμφωνα με τις Προδιαγραφές (British Standards) σε mL είναι $\pm 0,02$ για Class AS και $\pm 0,04$ για Class B

Αριθμός σιφώνιου	1	2
Υπολογισθείς όγκος σιφώνιου σε mL (N=3)	10,002	9,9958
Απόκλιση σε mL	0,002	- 0,0042
Επιτυγχανόμενη ακρίβεια (%)	0,02	- 0,042

Κανένα ογκομετρικό σιφώνιο δεν απορρίπτεται

Από την επιτέλεση της διαδικασίας των διακριβώσεων, η οποία αναφέρθηκε πιο αναλυτικά προηγουμένως, καταλήγουμε στο συμπέρασμα ότι από τις ογκομετρικές φιάλες που διακριβώθηκαν οι 22 από τις 104 κρίθηκαν ακατάλληλες για να χρησιμοποιηθούν σε διάφορες αναλυτικές εργασίες. Στα ογκομετρικά όμως σιφώνια, τα 3 από τα 7 κρίθηκαν ακατάλληλα για χρήση διότι ξεπερνούσαν σε κάποιο βαθμό τα επιτρεπόμενα όρια ανοχής.

4.2 Αποτελέσματα έλεγχου ποιότητας με χρήση Quality Control (QC) διαλυμάτων σε διάφορα φυτικά υποστρώματα

4.2.1 Σε φυτικό υπόστρωμα τομάτας

Πίνακας 22: Αποτελέσματα ανάκτησης (%) Α διαλύματος Quality Control (QC) σε φυτικό υπόστρωμα τομάτας

Δραστική ουσία	Ανάκτηση
lindane	86,73%
fenthion	91%
folpet	78%
bifenthrin	99,78%
fenvalerate	86,9%

Πίνακας 23: Αποτελέσματα ανάκτησης (%) Β διαλύματος Quality Control (QC) σε φυτικό υπόστρωμα τομάτας

Δραστική ουσία	Ανάκτηση
ethoprophos	87,8%
diazinon	99,65%
malathion	91%
iprodione	102%
phosalone	97%

4.2.2 Σε φυτικό υπόστρωμα μήλου σε εγχυτές GC-03-ECD, GC-04-NPD.

Πίνακας 24: Αποτελέσματα (%) ανάκτησης-επικύρωσης διαλύματος Quality Control (QC) σε φυτικό υπόστρωμα μήλου σε εγχυτές GC-03-ECD και GC-04-NPD. Α΄ Επίπεδο: Επιφάνειες χρωματογραφικών κορυφών των φυτοπροστατευτικών ουσιών στον ανιχνευτή σύλληψης ηλεκτρονίων

Δραστική ουσία	ΔT 60	ΔT 80	ΔT100	SQC1	ΔT100	SQC2	FT100	ΔT120	ΔT140
captan R.T.=30.3min	7,3 10 ⁶	8 10 ⁶	8.6 10 ⁶	8,5 10 ⁶	8.5 10 ⁶	8.4 10 ⁶	8.5 10 ⁶	9, 10 ⁶	9,3 10 ⁶
myclobutanil R.T.=32,22 min	0,4 10 ⁶	0,7 10 ⁶	1,2 10 ⁶	1,9 10 ⁶	1,6 10 ⁶	2,3 10 ⁶	2 10 ⁶	2,2 10 ⁶	2,6 10 ⁶
fenarimol R.T.=42,15 min	2,5 10 ⁶	3,5 10 ⁶	4,0 10 ⁶	4,9 10 ⁶	4,4 10 ⁶	5,1 10 ⁶	5 10 ⁶	5,6 10 ⁶	5,9 10 ⁶
a-cypermethrin R.T.=45.2-45.9 min	3,6 10 ⁶	4,7 10 ⁶	5,5 10 ⁶	5,9 10 ⁶	6.1 10 ⁶	6,3 10 ⁶	6,4 10 ⁶	7,1 10 ⁶	7,5 10 ⁶

Πίνακας 25: Συγκενρωτικά αποτελέσματα (%) ανακτήσεων-επικύρωσης διαλύματος Quality Control (QC) σε φυτικό υπόστρωμα μήλου σε εγχυτές GC-03-ECD και GC-04-NPD. Α΄ Επίπεδο: Επιφάνειες χρωματογραφικών κορυφών των φυτοπροστατευτικών ουσιών στον ανιχνευτή σύλληψης ηλεκτρονίων

Δραστική ουσία	SQC1	SQC2
captan	99,6%	98,5%
myclobutanil	91,7%	89,3%
fenarimol	107%	91,7%
a-cypermethrin	98,3%	105%

Καμία τιμή δεν απορρίπτεται.

Πίνακας 26: Αποτελέσματα (%) ανάκτησης-επικύρωσης διαλύματος Quality Control (QC) σε φυτικό υπόστρωμα μήλου σε εγχυτή GC-01-ECD.

Β' Επίπεδο: Επιφάνειες χρωματογραφικών κορυφών των φυτοπροστατευτικών ουσιών στον ανιχνευτή σύλληψης ηλεκτρονίων

Δραστική ουσία	ΔT60	ΔT80	ΔT100	SV ₂ QC1	ΔT100	SV ₂ QC2	ΔT100	ΔT120	ΔT140
diazinon R.T.=12,1min	0,8 10 ⁶	1,1 10 ⁶	1,4 10 ⁶	1,5 10 ⁶	1,1 10 ⁶	1,8 10 ⁶	1,4 10 ⁶	2,0 10 ⁶	2,4 10 ⁶
chlorpyrifos methyl R.T.=14,0min	10,3 10 ⁶	13,2 10 ⁶	16,3 10 ⁶	15,1 10 ⁶	14,6 10 ⁶	16,9 10 ⁶	16,7 10 ⁶	18,9 10 ⁶	21,4 10 ⁶
fenitrothion R.T.=15,57min	5,5 10 ⁶	8,7 10 ⁶	11,4 10 ⁶	10,2 10 ⁶	9,5 10 ⁶	12,3 10 ⁶	12,1 10 ⁶	14,4 10 ⁶	16,9 10 ⁶
triadimenol R.T.=19,64-20,17min	10,4 10 ⁶	10,6 10 ⁶	18,2 10 ⁶	22 10 ⁶	15,8 10 ⁶	28,4 10 ⁶	22,8 10 ⁶	29,7 10 ⁶	43,3 10 ⁶
kresoxim methyl R.T.=23,76min	11,1 10 ⁶	11,4 10 ⁶	12,5 10 ⁶	11,8 10 ⁶	11,8 10 ⁶	12,8 10 ⁶	12,8 10 ⁶	13,7 10 ⁶	14,8 10 ⁶
phosalone R.T.=35,48min	18,7 10 ⁶	23,3 10 ⁶	26,7 10 ⁶	25,1 10 ⁶	25,2 10 ⁶	27,7 10 ⁶	27,6 10 ⁶	30,9 10 ⁶	33,9 10 ⁶
lambda-cyhalothrin R.T.=36,9min	0,5 10 ⁶	0,6 10 ⁶	1,1 10 ⁶	1,2 10 ⁶	1,0 10 ⁶	1,2 10 ⁶	1,6 10 ⁶	1,6 10 ⁶	2,1 10 ⁶
beta-cyfluthrin R.T.=41,92-42,15min	20 10 ⁶	23,4 10 ⁶	25,7 10 ⁶	24,4 10 ⁶	24,8 10 ⁶	26,3 10 ⁶	26,3 10 ⁶	28,6 10 ⁶	30,7 10 ⁶
tau-fluvalinate R.T.=47,88-48,42min	0,7 10 ⁶	1,2 10 ⁶	1,75 10 ⁶	1,6 10 ⁶	1,4 10 ⁶	1,9 10 ⁶	1,6 10 ⁶	12,3 10 ⁶	3,0 10 ⁶
deltamethrin R.T.=51,71min	1,4 10 ⁶	1,5 10 ⁶	2,2 10 ⁶	2,2 10 ⁶	2,2 10 ⁶	2,3 10 ⁶	2,4 10 ⁶	3,3 10 ⁶	4,5 10 ⁶

Πίνακας 27: Συγκεντρωτικά αποτελέσματα (%) ανακτήσεων-επικύρωσης διαλύματος Quality Control (QC) σε φυτικό υπόστρωμα μήλου σε εγχυτή GC-01-ECD. Β' Επίπεδο: Επιφάνειες χρωματογραφικών κορυφών των φυτοπροστατευτικών ουσιών στον ανιχνευτή σύλληψης ηλεκτρονίων

Δραστική ουσία	SV ₂ QC1	SV ₂ QC2
diazinon	88,1 %	95,2 %
chlorpyrifos methyl	95,2 %	107 %
fenitrothion	92,7 %	89,7 %
triadimenol	88,1 %	98 %
kresoxim methyl	88 %	88,5 %
phosalone	94,7 %	105 %
lambda-cyhalothrin	97,6 %	97,6 %
beta-cyfluthrin	95,3 %	103 %
tau-fluvalinate	100 %	90,5 %
deltamethrin	95,7 %	100 %

Στην περίπτωση του diazinon εφαρμόστηκε στατιστικός έλεγχος σύμφωνα με το Grubbs test για την ακραία τιμή $R=152\%$ της έγχυσης V₂QC6. Συνεπώς $G = \text{suspect redue} - x / sd$, όπου sd η τυπική απόκλιση, δηλαδή $G = 152 - 99.6 / 21.7 = 2.4147$. Η κρίσιμη τιμή για $n = 8$ είναι 2.215 για $\alpha = 0.05$ αφού $G (=2.4147) > 2.215$, η τιμή R 152% απορρίπτεται.

Πίνακας 28: Μέση ανάκτηση (%) διαλύματος Quality Control (QC) σε φυτικό υπόστρωμα μήλου σε εγχυτή GC-01-ECD για Α' και Β' Επίπεδο.

Μέση ανάκτηση % αριθμός επαναλήψεων (n) σχετική τυπική απόκλιση (SDr) σε 2 επίπεδα συγκεντρώσεων.

Αναλύτης	1 ^ο επίπεδο			2 ^ο επίπεδο		
	Συγκέντρωση (mg/kg)	Ανάκτηση (%)	Σχ. τυπική απόκλιση SDr	Συγκέντρωση (mg/kg)	Ανάκτηση (%)	Σχ. τυπική απόκλιση SDr
diazinon	0,3	98,6	13,03%	0,03	92,1	5,46%
chlorpyrifos methyl	0,5	95,3	6,39%	0,05	96,5	7,33%
fenitrothion	0,5	92,9	8,12%	0,05	90,4	6,2%
triadimenol	0,2	90,9	10,5%	2	53	5,21%
kresoxim methyl	0,2	97,7	4,82%	0,02	86	4,13%
phosalone	2	100	1,32%	0,2	99,3	5,22%
lambda-cyhalothrin	0,1	97,8	5,61%	0,01	88,2	14%
beta-cyfluthrin	0,2	97,8	6,7%	0,02	97	5,32%
tau-fluvalinate	0,5	98,8	6,81%	0,05	96,1	12,9%
deltamethrin	0,1	91,6	11,67%	0,05	92,6	5,96%
captan	3	101	1,07%	0,3	¹	¹
myclobutanil	0,5	92,9	3,92%	0,1	100	10,4%
fenarimol	0,3	96,2	6,45%	0,03	101	6,81%
alpha-cypermethrin	1	98,9	6,77%	0,1	90,8	2,78%
carbaryl	²	²	²	²	²	²
triadimefon	0,2	98,6	5,27%	³	³	-

¹ Το captan δεν ανιχνεύθηκε στο δεύτερο επίπεδο φόρτισης.

² Το carbaryl δεν ανιχνεύθηκε επαναλήψιμα

³ Το triadimefon μελετήθηκε στο MRL, δεδομένου ότι στον ορισμό του MRL συναθροίζεται με το triadimenol

Για είναι η μέθοδος αποδεκτή θα πρέπει το εύρος ανακτήσεως της (Recoveries) να κυμαίνεται ανάμεσα στο 60-140%. Όπως παρατηρείται από τους πίνακες 22 έως 28 που αναφέρθηκαν προηγουμένως όλες οι τιμές που υπολογίστηκαν είναι εντός των αποδεκτών ορίων. Συνεπώς, η μέθοδος παρουσίασε ικανοποιητική ορθότητα. Επιπλέον, η σχετική τυπική απόκλιση πρέπει να έχει τιμές <20%.

Όπως παρατηρείται από τον πίνακα 28, όλες η τιμές RSD που έχουν υπολογιστεί ικανοποιούν τη συνθήκη αυτή. Συνεπώς, η μέθοδος παρουσίασε ικανοποιητική ακρίβεια (πιστότητα) και ο έλεγχος ποιότητας της μεθόδου ανάλυσης υπολειμμάτων σε φυτικά υποστρώματα είναι επιτυχής. Το γεγονός αυτό καθιστά τη μέθοδο αυτή ικανή για πραγματοποίηση αναλύσεων ρουτίνας για τον προσδιορισμό υπολειμμάτων φυτοπροστατευτικών προϊόντων σε φυτικά υποστρώματα.

5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ & ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Σημαντικό είναι να αναφέρουμε πως σε κάθε προσδιορισμό, θα πρέπει να τηρούνται αυστηρά όλοι οι κανόνες καλής εργαστηριακής πρακτικής και να δίνεται μεγάλη προσοχή στις λεπτομέρειες κατά την εκτέλεση των διαδικασιών διότι τα περιθώρια σφάλματος είναι μικρότερα στις αναλύσεις υπολειμμάτων από ότι στις άλλες αναλύσεις δεδομένου ότι κάθε σφάλμα μπορεί να αλλοιώσει και αναπόφευκτα να επηρεάσει αρνητικά τα αποτελέσματα της ανάλυσης μας. Επομένως, είναι πάρα πολύ εύκολο να καταλήξουμε σε λανθασμένα συμπεράσματα, αν η εκτέλεση της μεθόδου δεν έχει διενεργηθεί σωστά δεδομένου ότι η ανίχνευση και ο προσδιορισμός υπολειμμάτων των φυτοπροστατευτικών προϊόντων αποτελούν μια σύνθετη αναλυτική εργασία που απαιτεί μεγάλη εξειδίκευση και προσεκτικούς χειρισμούς. Το ίδιο θα λέγαμε ότι ισχύει και για τις διακριβώσεις εργαστηριακού εξοπλισμού, οι οποίες αποτελούν και αυτές διαδικασία που απαιτούν μεγάλη προσοχή, γνωρίζοντας ότι πολύ εύκολα τα αποτελέσματα μπορούν να αλλοιωθούν και να επηρεάσουν αρνητικά την αναλυτική εργασία.

Όπως φαίνεται και στους πίνακες 9-21 το μεγαλύτερο ποσοστό των ογκομετρικών φιαλών και σιφωνιών που υποβλήθηκαν στη διαδικασία της διακριβώσης τηρούσαν τις απαραίτητες προϋποθέσεις που απαιτούνται, προκειμένου να αποδειχτούν κατάλληλα για την χρησιμοποίησή τους σε εργαστηριακές μελέτες. Όμως ο αριθμός των ογκομετρικών φιαλών που κρίθηκαν ακατάλληλες λόγω της απόκλισης τους από τα επιτρεπόμενα όρια των Προδιαγραφών (British Standards) απομακρύνθηκαν από την εργαστηριακή πράξη. Σχετικά με τα ογκομετρικά σιφώνια, σημαντικό ποσοστό των οποίων κρίθηκε ακατάλληλο και αποσύρθηκαν από τη χρήση.

Το αποτέλεσμα αυτής της διαδικασίας κρίνεται αναγκαίο, διότι με αυτόν τον τρόπο αποδεικνύεται ότι μπορεί να προσδιοριστεί η ακριβής χωρητικότητα των ογκομετρικών φιαλών και των ογκομετρικών σιφωνιών που χρησιμοποιούνται στο εργαστήριο, προκειμένου να έχουμε σε μια εργαστηριακή μελέτη τα καλύτερα δυνατά αποτελέσματα.

Επιπλέον, από τους πίνακες 22-28, συμπεραίνουμε ότι η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε για την ανίχνευση και τον προσδιορισμό των φυτοπροστατευτικών προϊόντων τηρούσε τις προδιαγραφές που απαιτούνται έτσι ώστε να είναι αποδεκτή, δεδομένου ότι η απόδοσή της κυμαινόταν από 60 –140%, με μέσο όρο μεγαλύτερο από 100%.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα που βρέθηκαν έπειτα από τον προσδιορισμό των υπολειμμάτων, διαπιστώθηκε ότι υπήρχαν φυτοπροστατευτικά προϊόντα όπως το carpan και το carbaryl, τα οποία δεν ανιχνεύτηκαν στο δεύτερο επίπεδο της φόρτισης. Σε αντίθεση με τα υπόλοιπα φυτοπροστατευτικά προϊόντα τα οποία ανιχνεύτηκαν και κατά την διάρκεια του τελευταίου σταδίου της μέτρησης.

Επιπρόσθετα, όλες οι προσδιοριζόμενες τιμές της σχετικής τυπικής απόκλισης κυμαίνονταν από 1 έως 13, 03%, οπότε καταλήγουμε στο συμπέρασμα ότι ικανοποιούσαν τη βασική προϋπόθεση που απαιτείται ώστε να έχουν τιμές <20%.

Τελειώνοντας, αξίζει να αναφέρουμε πως για την παραγωγή και την πιστοποίηση προϊόντων διατροφής υψηλής ποιότητας, ο σχεδιασμός και η εφαρμογή μιας ενιαίας πολιτικής για πιστοποίηση και διασφάλισης της ποιότητας των αγροτικών προϊόντων κρίνεται απαραίτητη και έχει αναδειχθεί σε εθνική προτεραιότητα. Δεδομένου ότι ιδιαίτερα στις μέρες μας, η ανάγκη για μια ασφαλή και υγιεινή παραγωγή αγροτικών προϊόντων και τροφίμων σε όλα τα στάδια της παραγωγής, σε Κοινοτικό, και κατά συνέπεια σε Εθνικό επίπεδο είναι πολύ μεγάλη.

Τα αποτελέσματα των ενδοεργαστηριακών ελέγχων ποιότητας έδειξαν ότι οι τιμές ορθότητας και πιστότητας της μεθόδου προσδιορισμού υπολειμμάτων φυτοπροστατευτικών προϊόντων που προσδιορίστηκαν ήταν εντός των επιτρεπόμενων ορίων. Πιο συγκεκριμένα, η ορθότητα ήταν μέσα στα όρια 60-140% και η πιστότητα < 20%, όπως απαιτούνται προκειμένου να είναι αποδεκτή η μέθοδος.

Όλα τα φυτοπροστατευτικά προϊόντα που χρησιμοποιήθηκαν για τον προσδιορισμό και την ανίχνευση υπολειμμάτων τους, προσδιορίστηκαν επιτυχώς σε όλα τα στάδια της ανάλυσης.

Στο σημείο αυτό θα πρέπει να αναφέρουμε πως το αντικείμενο μελέτης της παρούσας εργασίας δεν είναι δυνατό να συγκριθεί με ίδιες, ή παρόμοιες μελέτες άλλων ερευνητών, εξαιτίας του γεγονότος ότι οι παραπάνω διεργασίες που μελετήθηκαν αφορούσαν αποκλειστικά επικυρώσεις μεθόδων του Εργαστηρίου Υπολειμμάτων Γεωργικών Φαρμάκων του Μπενάκειου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου.

Δεδομένου ότι οι διεργασίες αυτές γίνονται συνέχεια σε καθημερινή βάση και αποτελούν αρμοδιότητα του συγκεκριμένου εργαστηρίου.

Επομένως, τα αποτελέσματα που προέκυψαν από τις ενδοεργαστηριακές μελέτες δεν μπορούν να συγκριθούν με άλλα αποτελέσματα ίδιων μελετών δεδομένου ότι δεν έχουν βρεθεί σχετικές βιβλιογραφικές αναφορές με το ίδιο αντικείμενο παρά μόνο με τα θεσπισμένα όρια της Ευρωπαϊκής Ένωσης.

Παράρτημα

1. Ορισμοί

Αναλύτης : Χημική ένωση που πρόκειται να προσδιοριστεί.

Βαθμονόμηση : Προσδιορισμός της απόκρισης που παράγεται από τον αναλύτη στο σύστημα ανίχνευσης μέσα σε συγκεκριμένο εύρος συγκεντρώσεων, κατά τη διάρκεια ανάλυσης των δειγμάτων. Τα διαλύματα που χρησιμοποιούνται καλούνται διαλύματα βαθμονόμησης.

GC : Αέρια χρωματογραφία (gas chromatography)

NPD : Ανιχνευτής αζώτου- φωσφόρου (nitrogen- phosphorus detector)

ECD : Ανιχνευτής σύλληψης ηλεκτρονίων (electron capture detector)

LOQ : Όριο ποσοτικοποίησης (limit of quantitation)

Όριο αναφοράς (reporting limit) : Η ελάχιστη συγκέντρωση που το εργαστήριο ποσοτικοποιεί έναν αναλύτη.

Μάρτυρας : Φυτικό προϊόν που δεν περιέχει φυτοπροστατευτικά προϊόντα των προσδιοριζόμενων ουσιών.

MRL : Μέγιστη επιτρεπόμενη συγκέντρωση υπολειμμάτων (maximum residue)

MS : Φασματογράφος μαζών (mass spectrometer)

RT : Χρόνος κατακράτησης (retention time)

SD_R : Σχετική τυπική απόκλιση (ή συντελεστής παραλλακτικότητας)

2. Έννοιες και μαθηματικές σχέσεις της αεριοχρωματογραφίας

Παρακάτω δίνονται οι βασικές έννοιες και μαθηματικές σχέσεις που διέπουν την αέρια χρωματογραφία:

Ο χρόνος ο οποίος μεσολαβεί μεταξύ της ενέσεως του δείγματος στη στήλη και της εμφάνισης της κορυφής της ουσίας στον καταγραφέα ονομάζεται χρόνος κατακράτησης (retention time) της ουσίας t_R .

Ο χρόνος ο οποίος απαιτείται ώστε κάποια ουσία που δεν κατακρατείται από το υλικό της στήλης να διέλθει μέσω της στήλης και των τεμαχίων συνδέσεως αυτής ονομάζεται νεκρός χρόνος (dead time), t_M .

Ο ανηγμένος χρόνος κατακράτησης ορίζεται από τη σχέση $t_R' = t_R - t_M$.

Ο σχετικός χρόνος κατακράτησης (RRT) μιας ουσίας A ως προς μια ουσία B είναι ο λόγος t_{RA} / t_{RB} .

Ύψος κορυφής (peak height, h) είναι η απόσταση του μεγίστου σημείου κορυφής από τη βάση της, κάθετα στον άξονα του χρόνου.

Ο λόγος κατανομής μάζας ουσίας Dm (partition ratio) ή παράγοντας χωρητικότητας (capacity factor, k) αποτελεί μέτρο συγκράτησης της ουσίας και υπολογίζεται από τη σχέση : $Dm = \frac{t_R - t_M}{t_M}$, όπου $t_M = t_{αιρα}$

Η διαχωριστική ικανότητα ή διαχωριστικότητα της κορυφής A ως προς την κορυφή B είναι ο βαθμός διαχωρισμού των δύο κορυφών A και B που εμφανίζονται στο χρωματογράφημα και ορίζεται από τη σχέση: $R_S = \frac{(t_{R, B} - t_{R, A})}{0.5 (W_A + W_B)}$. Η διαχωριστικότητα είναι πλήρης για $R_S > 1.5$

Ο παράγοντας διαχωρισμού (separation factor) ή σχετική συγκράτηση (relation retention), α, μεταξύ δύο ουσιών A και B, όταν η ουσία A εκλύεται πριν την ουσία B, δίνεται από τη σχέση $\alpha = \frac{Dm(B)}{Dm(A)}$.*

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Ελληνική

Γεωργόπουλος Σ.Γ., Ζιώγας Β.Ν., (1992) «Αρχές και μέθοδοι καταπολέμησης των ασθενειών των φυτών», Αθήνα. σελ 141-142.

Δαμανάκη Μ., (1973) «Χημική καταπολέμηση ζιζανίων» Αθήνα

(1991) «Επίσημη εφημερίδα των Ευρωπαϊκών Κοινοτήτων» L230.

Ζαφειρίου Α. και Λιαπής Κ.(1985) «Αναλύσεις υπολειμμάτων γεωργικών φαρμάκων. Πρακτικά 10^{ου} Πανελληνίου Συνεδρίου Χημείας. Πάτρα. σελ 490.

Μαυρόπουλος, Καπετάνιου Μ., Ζαμπετάκη Ε., Γανωτόπουλος Τ., Πρόβης Ν., (1990)

«Χημεία Ά Ε.Π.Λ.», σελ 65.

«Επίσημη εφημερίδα των Ευρωπαϊκών Κοινοτήτων» L230, 19 Αυγούστου 1991.

Μηλιάδης Γ.Ε.(1989) «Μελέτη μεθόδου προσδιορισμού υπολειμμάτων ζιζανιοκτόνων παραγώγων της ουρίας», Διδακτορική διατριβή, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Τμήμα Χημείας Θεσσαλονίκης.

Μηλιάδης Γ.Ε.(1985) «Αναλύσεις για τον προσδιορισμό υπολειμμάτων γεωργικών φαρμάκων». Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο, Κηφισιά, Σελ 9.

Μηλιάδης Γ.Ε. (1995) «Υγρή Χρωματογραφία» Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο, Κηφισιά.

Μηλιάδης Γ.Ε. (1989) «Μελέτη μεθόδου προσδιορισμού υπολειμμάτων ζιζανιοκτόνων παραγώγων της ουρίας», Διδακτορική διατριβή, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Τμήμα Χημείας, Θεσσαλονίκη.

Παλούκης Σ. και Παπαδόπουλος Χρ., (1983) «Γεωργικά φάρμακα που κυκλοφορούν στην Ελληνική αγορά «.Θεσσαλονίκη.

Παπασταθακόπουλος Δ.Σ. και Σίσκος Π.Α. (1986) «Ειδικά κεφάλαια Αναλυτικής Χημείας.» Εργαστήριο Αναλυτικής Χημείας. Πανεπιστήμιο Αθηνών.

Σίσκος Π.Α., Νικολέλης Δ.Π, (1991). «Αναλυτικές μέθοδοι διαχωρισμού».Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Σχολή Θετικών Επιστημών, Τμήμα Χημείας, Αθήνα..

Σίσκος Π.Α., Σκούλλος Μ.Ι., (1992) «Περιβαλλοντική Χημεία Ι» Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Σχολή Θετικών Επιστημών, τμήμα Χημείας, Αθήνα. σελ 111.

2. Ξενόγλωσση

An Der Lan. H. (1966) «The present situation of toxicology in the field of crop protection.» Res. Rev., 15, 31.

ALINORM (1987) «Report of the ad hoc working group on development of residues data and sampling « 8/24A.

Brown A., John Wiley and sons. (1978) «Ecology of pesticide» New York. p.1,

Bevenew A.(1976) «The bioconcentration aspects of DDT in the enviroment.» Res.Rev.61, 37

- Barnsley G.E. and McFarlane. Ed.N.R (1976) «The future of pesticides. Problems and opportunities. N Herbicides and fungicides « The Chemical Society, London p.1.
- Dormal S.- van der Bruel. (1967) «Common market approaches to harmonization of food laws in the field of pesticide residues.» Res. Rev., 17, 73.
- Eaton J.G., (1970) «Chronic malathion toxicity to the bluegill (*Lepomis macrochirus*)» Water Res., 4, 673.
- Ebeling W. (1963) «Analysis of the basic processes involved in the deposition, degradation, persistence and effectiveness of pesticides.» Res. Rev., 3, 35.
- FAO.(1981) «Guidelines on pesticide residue trials to provide data for the registration of pesticides and the establishment of maximum residue limits» Plant protection bulletin Vol 29.
- FAO/WHO. (1984) «Guide to Codex Recommendations concerning pesticide residues. » Part 7, CaC/PR 7.
- Finlayson D. and Maccarthy H. (1965). »The movement and persistence of insecticides in plant tissue.» Res. Rev. 9, 114.
- Georgacakis E. and M.khan. (1971) «Toxicity of photoisomers of cyclodiene insecticides to freewater animals.» Nature, 1223, 120
- Greeve. P.A.(1983) «Good laboratory practice in pesticide residue analysis.» In Pesticide Residue Analysis, Proceedings of a joint FAO/WHO course, p. 281.
- GUNTHER. F.A.(1980) «Interpreting Pesticide residue data at the analytical level.» Res. Rev., 76, 1555.
- James A.T. and Martin. A.J.P., (1952) Biochem. J.50:679.
- Kaufman D.D., Kearney P.C.(1970) «Microbial degradation of s-triazine herbicides» Res.Rev., 32, 235.
- Liska B.J. and Stadelman. W.J. (1974) «Effects of processing.» Res. Rev., 54, 43
- Lu. F.C. (1973) «Toxicological evaluation of food additives and pesticide residues and their acceptable daily intake for man. The role of Who, in conjunction with FAO.» Res. Rev., 45, 81.
- Melnikov N. (1971) «Chemistry of pesticide» Res. Rev. 36.
- Mollenhauer H. (1967).»The acceptance daily intake value as a base for legislative measures regarding food additives. » Res. Rev., 19, 1.
- Swackhamer A.(1968) «Pesticide residues in Canada.» Res. Rev. 23, 37.
- Visi. E. (1983) «Methods of extraction. in Pesticide Residue Analysis, Proceedings of a joint FAO/WHO « course, p.63.
- WHO. (1976). «Pesticide residues in food.» Technical report series 592, 39.