



Σχολή Θετικών Επιστημών και Τεχνολογίας (ΣΘΕΤ)
Μεταπτυχιακό Πρόγραμμα Σπουδών
Χημική & Βιομοριακή Ανάλυση (ΧΒΑ)

Διπλωματική Εργασία
Προσδιορισμός φυτοφαρμάκων με χρήση χρωματογραφικών
τεχνικών φασματομετρίας μάζας

Χατζημανωλάκης Κωνσταντίνος

Επιβλέπουσα καθηγήτρια: Λαμπροπούλου Δημητρούλα

Πάτρα, Ιούνιος 2026

Η παρούσα εργασία αποτελεί πνευματική ιδιοκτησία του/της φοιτητή («συγγραφέας/δημιουργός») που την εκπόνησε. Στο πλαίσιο της πολιτικής ανοικτής πρόσβασης ο συγγραφέας/δημιουργός εκχωρεί στο ΕΑΠ, μη αποκλειστική άδεια χρήσης του δικαιώματος αναπαραγωγής, προσαρμογής, δημόσιου δανεισμού, παρουσίασης στο κοινό και ψηφιακής διάχυσής τους διεθνώς, σε ηλεκτρονική μορφή και σε οποιοδήποτε μέσο, για διδακτικούς και ερευνητικούς σκοπούς, άνευ ανταλλάγματος και για όλο το χρόνο διάρκειας των δικαιωμάτων πνευματικής ιδιοκτησίας. Η ανοικτή πρόσβαση στο πλήρες κείμενο για μελέτη και ανάγνωση δεν σημαίνει καθ' οιονδήποτε τρόπο παραχώρηση δικαιωμάτων διανοητικής ιδιοκτησίας του συγγραφέα/δημιουργού ούτε επιτρέπει την αναπαραγωγή, αναδημοσίευση, αντιγραφή, αποθήκευση, πώληση, εμπορική χρήση, μετάδοση, διανομή, έκδοση, εκτέλεση, «μεταφόρτωση» (downloading), «ανάρτηση» (uploading), μετάφραση, τροποποίηση με οποιονδήποτε τρόπο, τμηματικά ή περιληπτικά της εργασίας, χωρίς τη ρητή προηγούμενη έγγραφη συναίνεση του συγγραφέα/δημιουργού. Ο συγγραφέας/δημιουργός διατηρεί το σύνολο των ηθικών και περιουσιακών του δικαιωμάτων.



Προσδιορισμός φυτοφαρμάκων με χρήση χρωματογραφικών τεχνικών φασματομετρίας μάζας

Χατζημανωλάκης Κωνσταντίνος

Επιτροπή Επίβλεψης Διπλωματικής Εργασίας

Επιβλέπουσα Καθηγήτρια:

Λαμπροπούλου Δημητρούλα

Αναπληρώτρια Καθηγήτρια στο Τμήμα
Χημείας του Αριστοτελείου
Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης

Συν-Επιβλέπουσα Καθηγήτρια:

Όρκουλα Μαλβίνα

Επίκουρη Καθηγήτρια στο Τμήμα
Φαρμακευτικής Πανεπιστημίου Πατρών

Πάτρα, Ιούνιος 2026

Determination of pesticides using chromatographic mass spectrometry techniques

Chatzimanolakis Konstantinos

Patras, June 2026

Περίληψη

Η παρούσα διπλωματική εργασία εξετάζει τη βιβλιογραφία σχετικά με τον προσδιορισμό φυτοφαρμάκων με τη χρήση χρωματογραφικών τεχνικών σε συνδυασμό με φασματομετρία μάζας. Αρχικά, παρουσιάζεται η έννοια των φυτοφαρμάκων, η ιστορική εξέλιξη της χρήσης τους, η ταξινόμησή τους ανάλογα με τον στόχο δράσης και τη χημική τους δομή, καθώς και οι βασικές φυσικοχημικές ιδιότητες που επηρεάζουν τη συμπεριφορά τους στο περιβάλλον και στις μήτρες τροφίμων. Στη συνέχεια, αναλύονται οι περιβαλλοντικές και υγειονομικές διαστάσεις της χρήσης τους, με έμφαση στα υπολείμματα σε τρόφιμα, νερό, έδαφος και ατμόσφαιρα, καθώς και η ανάγκη συστηματικής παρακολούθησης.

Δίνεται ιδιαίτερη έμφαση στο ευρωπαϊκό κανονιστικό πλαίσιο, στα ανώτατα όρια υπολειμμάτων και στις απαιτήσεις επικύρωσης για τις αναλυτικές μεθόδους και στη συνέχεια εξετάζονται οι βασικές αρχές της αναλυτικής χημείας, της αέριας και υγρής χρωματογραφίας, της UHPLC και της φασματομετρίας μάζας, τονίζοντας τη σημασία τεχνικών όπως η GC-MS/MS, η LC-MS/MS και η HRMS. Παράλληλα, παρουσιάζεται ο κρίσιμος ρόλος της προετοιμασίας των δειγμάτων, ιδίως της μεθόδου QuEChERS, SPE και LLE, στην αξιοπιστία των αποτελεσμάτων.

Η βιβλιογραφική ανασκόπηση δείχνει ότι η σύζευξη της χρωματογραφίας και της φασματομετρίας μάζας αποτελεί σήμερα ένα βασικό εργαλείο για τον ευαίσθητο, επιλεκτικό και αξιόπιστο προσδιορισμό πολλαπλών υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων, συμβάλλοντας ουσιαστικά στην ασφάλεια των τροφίμων, την περιβαλλοντική παρακολούθηση και τη συμμόρφωση με τη νομοθεσία.

Λέξεις – Κλειδιά: Φυτοφάρμακα, Υπολείμματα φυτοφαρμάκων, Χρωματογραφία, Φασματομετρία μάζας, QuEChERS

Abstract

This thesis examines the literature on the determination of pesticides using chromatographic techniques coupled with mass spectrometry. Initially, the concept of pesticides is presented, the historical development of their use, their classification according to their target of action and chemical structure, as well as the basic physicochemical properties that affect their behavior in the environment and in food matrices. Then, the environmental and health dimensions of their use are analyzed, with emphasis on residues in food, water, soil and atmosphere, as well as the need for systematic monitoring.

Emphasis is given particularly to the European regulatory framework, maximum residue limits and validation requirements for analytical methods and afterwards the basic principles of analytical chemistry, gas and liquid chromatography, UHPLC and mass spectrometry are examined, highlighting the importance of techniques such as GC-MS/MS, LC-MS/MS and HRMS. At the same time, the critical role of sample preparation, especially the QuEChERS method, SPE and LLE, in the reliability of the results is presented.

The literature review shows that the coupling of chromatography and mass spectrometry is currently a key tool for the sensitive, selective and reliable multi-residue determination of pesticides, contributing substantially to food safety, environmental monitoring and compliance with legislation.

Keywords: Pesticides, Pesticide residues, Chromatography, Mass spectrometry, QuEChERS

Περιεχόμενα

Περίληψη.....	vi
Abstract	vii
Περιεχόμενα	viii
Κατάλογος Εικόνων / Σχημάτων	xi
Κατάλογος Πινάκων	xiii
Κατάλογος Διαγραμμάτων.....	xiv
Συντομογραφίες & Ακρωνύμια.....	xv
Εισαγωγή.....	1
Κεφάλαιο 1. Φυτοφάρμακα: εννοιολογική προσέγγιση και βασικά χαρακτηριστικά	6
1.1. Ορισμός και έννοια των φυτοφαρμάκων	6
1.2. Ιστορική εξέλιξη της χρήσης των φυτοφαρμάκων	8
1.3 Ρόλος και αναγκαιότητα χρήσης στη σύγχρονη γεωργική παραγωγή.....	13
1.4 Ταξινόμηση των φυτοφαρμάκων ανάλογα με τον στόχο δράσης.....	15
1.4.1 Εντομοκτόνα	17
1.4.2 Ζιζανιοκτόνα	19
1.4.3 Μυκητοκτόνα	20
1.4.4 Ακαρεοκτόνα.....	23
1.4.5 Νηματωδοκτόνα και λοιπές κατηγορίες.....	24
1.5 Χημική ταξινόμηση των φυτοφαρμάκων.....	24
1.5.1 Οργανοχλωριωμένα	25
1.5.2 Οργανοφωσφορικά.....	26
1.5.3 Καρβαμιδικά	28
1.5.4 Πυρεθροειδή.....	29
1.5.5 Νεονικοτινοειδή	30
1.5.6 Τριαζίνες και άλλες σύγχρονες ενώσεις.....	31
1.6 Φυτικοχημικές ιδιότητες των φυτοφαρμάκων.....	31
1.7 Τρόπος δράσης και βασικοί μηχανισμοί τοξικότητας	33
1.8 Συσχέτιση φυτοφαρμάκων με το είδος της καλλιέργειας	35
1.9 Οφέλη και κίνδυνοι από τη χρήση των φυτοφαρμάκων	36
Κεφάλαιο 2. Φυτοφάρμακα, υπολείμματα, περιβάλλον και δημόσια υγεία.....	40
2.1 Είσοδος και διασπορά των φυτοφαρμάκων στο περιβάλλον.....	40
2.2 Υπολείμματα φυτοφαρμάκων σε τρόφιμα και γεωργικά προϊόντα	42
2.3 Παρουσία φυτοφαρμάκων σε φρούτα, λαχανικά, δημητριακά και προϊόντα ειδικών μητρών.....	43
2.4 Ρύπανση υδάτων, εδάφους και ατμόσφαιρας.....	45
2.5 Βιοσυσσωρευση και βιομεγέθυνση.....	46
2.6 Επιπτώσεις στην ανθρώπινη υγεία.....	46
2.7 Επιπτώσεις στους μη στοχευόμενους οργανισμούς και στη βιοποικιλότητα	47
2.8 Η ανάγκη παρακολούθησης και ελέγχου των υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων	49
Κεφάλαιο 3. Νομοθετικό και κανονιστικό πλαίσιο για τα φυτοφάρμακα	50
3.1 Η έννοια της ρυθμιστικής διαχείρισης των φυτοφαρμάκων	50
3.2 Ευρωπαϊκό κανονιστικό πλαίσιο για τα φυτοπροστατευτικά προϊόντα	51
3.3 Κανονισμός (ΕΚ) 1107/2009 και έγκριση δραστικών ουσιών	52
3.4 Κανονισμός (ΕΚ) 396/2005 και ανώτατα όρια καταλοίπων (MRLs).....	53
3.5 Οδηγία 2009/128/ΕΚ και ορθολογική χρήση των γεωργικών φαρμάκων.....	54

3.6 Απαιτήσεις για τον εργαστηριακό έλεγχο και την επικύρωση μεθόδων	55
3.7 Το έγγραφο SANTE/11312/2021 και η σημασία του στην αναλυτική πράξη.....	56
3.8 Εθνικό πλαίσιο και μηχανισμοί ελέγχου στην Ελλάδα.....	57
3.9 Προκλήσεις στην εφαρμογή της νομοθεσίας και στη συμμόρφωση	57
Κεφάλαιο 4. Αναλυτική χημεία και θεωρητικές βάσεις του προσδιορισμού φυτοφαρμάκων	59
4.1 Ο ρόλος της αναλυτικής χημείας στον έλεγχο υπολειμμάτων.....	59
4.2 Ιδιαιτερότητες του αναλυτικού προσδιορισμού φυτοφαρμάκων.....	60
4.3 Αναλυτικό σήμα, θόρυβος και εκλεκτικότητα.....	62
4.4 Βασικά χαρακτηριστικά αναλυτικών μεθόδων.....	64
4.4.1 Ακρίβεια.....	64
4.4.2 Ορθότητα.....	65
4.4.3 Επαναληψιμότητα	65
4.4.4 Αναπαραγωγιμότητα	65
4.4.5 Ευαισθησία.....	66
4.4.6 Εκλεκτικότητα.....	66
4.4.7 Όριο ανίχνευσης (LOD).....	66
4.4.8 Όριο ποσοτικοποίησης (LOQ)	66
4.5 Αναλυτικές δυσκολίες στις πολύπλοκες μήτρες τροφίμων.....	67
4.6 Πολυπολειμματικός προσδιορισμός και αναλυτικές απαιτήσεις	68
4.7 Ο ρόλος της προεπεξεργασίας δείγματος στην ποιότητα του αποτελέσματος	69
Κεφάλαιο 5. Χρωματογραφικές τεχνικές στον προσδιορισμό φυτοφαρμάκων.....	70
5.1 Γενικές αρχές της χρωματογραφίας	70
5.2 Ταξινόμηση των χρωματογραφικών τεχνικών.....	72
5.3 Αέρια χρωματογραφία (GC)	74
5.3.1 Αρχή λειτουργίας	74
5.3.2 Βασική οργάνολογία	75
5.3.3 Πλεονεκτήματα και περιορισμοί.....	75
5.3.4 Καταλληλότητα για πτητικά και θερμοσταθερά φυτοφάρμακα	76
5.4 Υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC).....	78
5.4.1 Αρχή λειτουργίας	79
5.4.2 Στατική και κινητή φάση	80
5.4.3 Είδη στηλών και μηχανισμοί διαχωρισμού.....	81
5.4.4 Πλεονεκτήματα και περιορισμοί.....	81
5.5 Υπερυψηλής απόδοσης υγρή χρωματογραφία (UHPLC)	82
5.6 Σύγκριση GC, HPLC και UHPLC στον προσδιορισμό φυτοφαρμάκων	84
5.7 Κριτήρια επιλογής κατάλληλης χρωματογραφικής τεχνικής.....	85
5.8 Η συμβολή της χρωματογραφίας στη σύγχρονη πολυπολειμματική ανάλυση.....	86
Κεφάλαιο 6. Φασματομετρία μάζας και σύζευξη με χρωματογραφικές τεχνικές	87
6.1 Θεμελιώδεις αρχές της φασματομετρίας μάζας.....	87
6.2 Βασικά μέρη φασματογράφου μάζας.....	88
6.3 Τεχνικές ιονισμού	90
6.4 Αναλυτές μάζας.....	92
6.5 Τρόποι απόκτησης και επεξεργασίας δεδομένων	96
6.6 GC-MS και GC-MS/MS	97
6.7 LC-MS/MS και UHPLC-MS/MS	98
6.8 HRMS στη σύγχρονη ανάλυση φυτοφαρμάκων	98
6.9 Πλεονεκτήματα και περιορισμοί της φασματομετρίας μάζας	99

6.10 Ο ρόλος της χρωματογραφίας-φασματομετρίας μάζας στον ασφαλή προσδιορισμό φυτοφαρμάκων.....	100
Κεφάλαιο 7. Προετοιμασία δείγματος, εκχύλιση και επικύρωση αναλυτικών μεθόδων .	105
7.1 Σημασία της δειγματοληψίας και της αντιπροσωπευτικότητας.....	105
7.2 Γενικά στάδια προετοιμασίας δείγματος.....	106
7.3 Εκχύλιση φυτοφαρμάκων από σύνθετες μήτρες.....	108
7.4 Μέθοδος QuEChERS.....	109
7.4.1 Βασικές αρχές	110
7.4.2 Πλεονεκτήματα	110
7.4.3 Περιορισμοί.....	113
7.5 Solid phase extraction (SPE).....	114
7.6 Liquid-liquid extraction (LLE)	115
7.7 Dispersive SPE και καθαρισμός εκχυλισμάτων.....	115
7.8 Matrix effects και στρατηγικές αντιμετώπισης.....	116
7.9 Βαθμονόμηση και ποσοτικοποίηση	117
7.10 Επικύρωση αναλυτικών μεθόδων	118
Κεφάλαιο 8. Εφαρμογές των χρωματογραφικών τεχνικών και της φασματομετρίας μάζας στον προσδιορισμό φυτοφαρμάκων.....	122
8.1 Προσδιορισμός φυτοφαρμάκων σε φρούτα και λαχανικά	122
8.2 Προσδιορισμός φυτοφαρμάκων σε δημητριακά και σπόρους.....	123
8.3 Προσδιορισμός φυτοφαρμάκων σε βρεφικές τροφές και ειδικές τροφικές μήτρες	124
8.4 Προσδιορισμός φυτοφαρμάκων σε ελαιόλαδο και λιπαρές μήτρες.....	125
8.5 Προσδιορισμός φυτοφαρμάκων σε χυμούς και μεταποιημένα προϊόντα	127
8.6 Πολυπολεμιατικές μέθοδοι ευρείας κάλυψης.....	129
8.7 Target screening, suspect screening και HRMS εφαρμογές	129
8.8 Σύγκριση GC-MS/MS, LC-MS/MS και Orbitrap/QTOF προσεγγίσεων.....	130
8.9 Εφαρμογές ανάλογα με την καλλιέργεια και τη δραστική ουσία στόχο.....	131
Κεφάλαιο 9. Συζήτηση και συμπεράσματα	132
9.1 Σύνθεση των βιβλιογραφικών δεδομένων	132
9.2 Η συμβολή της χρωματογραφίας-φασματομετρίας μάζας στη σύγχρονη ανάλυση φυτοφαρμάκων.....	133
9.3 Τα σημαντικότερα πλεονεκτήματα των τεχνικών GC-MS και LC-MS/MS.....	134
9.4 Ο ρόλος των HRMS συστημάτων στις νεότερες αναλυτικές στρατηγικές.....	135
9.5 Περιορισμοί, δυσκολίες και βασικά αναλυτικά προβλήματα	135
9.6 Σχέση αναλυτικής τεχνολογίας, νομοθεσίας και ασφάλειας τροφίμων.....	136
9.7 Προοπτικές για μελλοντική έρευνα και εφαρμογή	137
9.8 Συμπεράσματα	137
Βιβλιογραφία.....	138
Ξενόγλωσση βιβλιογραφία.....	138
Ελληνογλώσση βιβλιογραφία	150

Κατάλογος Εικόνων / Σχημάτων

Εικόνα 1. Μερικά χρησιμοποιούμενα φυτοφάρμακα (Πηγή: Hu et al., 2022).....	6
Εικόνα 2. Πωλήσεις φυτοφαρμάκων στην ΕΕ το 2020 (Πηγή: Tostado, 2022).....	7
Εικόνα 3. Χρονολογική εξέλιξη βασικών κατηγοριών γεωργικών φυτοφαρμάκων από το 1945 έως τη σύγχρονη εποχή (Πηγή: Brain & Anderson, 2019).....	10
Εικόνα 4. Σχηματική παρουσίαση διαδοχικών φάσεων στην εξέλιξη των φυτοφαρμάκων, από τα χημικά φυτοφάρμακα έως τις RNA-based βιοτεχνολογικές προσεγγίσεις (Πηγή: Huang et al., 2025)	12
Εικόνα 5. Σχηματική αποτύπωση της σχέσης χημικής φυτοπροστασίας και βιωσιμότητας στη γεωργία (Πηγή: Lykogianni et al., 2021)	14
Εικόνα 6. Κατανομή βασικών κατηγοριών φυτοφαρμάκων στη γεωργική χρήση, με έμφαση στη συμμετοχή των ζιζανιοκτόνων (Πηγή: Tudi et al., 2021)	15
Εικόνα 7. Γενική ταξινόμηση των φυτοφαρμάκων με βάση τον οργανισμό-στόχο (Πηγή: Abdollahdokht et al., 2022).....	16
Εικόνα 8. Αντιπροσωπευτικές χημικές δομές βασικών κατηγοριών εντομοκτόνων, όπως οργανοφωσφορικά, καρβαμικά, πυρεθροειδή, βενζοϋλουρίες, οξαδιαζίνες, διακυλυδραζίνες και οργανοχλωριωμένα (Πηγή: Farnsworth et al., 2010).....	18
Εικόνα 9. Παραδείγματα χημικών δομών ζιζανιοκτόνων που ανήκουν στις κατηγορίες των τριαζινών, των κυκλοεξανδινών, των θειοκαρβαμικών ενώσεων και των ενώσεων σουλφονυλαμινοκαρβονυλο-τριαζολινόνης. (Πηγή: Brêda-Alves et al., 2021).....	20
Εικόνα 10. Αντιπροσωπευτικές χημικές δομές διθειοκαρβαμικών μυκητοκτόνων, όπως τα mancozeb, thiram και ziram (Πηγή: Caldas et al., 2001).....	22
Εικόνα 11. Βασικές κατηγορίες μυκητοκτόνων που εισήχθησαν την περίοδο 1940–1970 (Πηγή: Abdollahdokht et al., 2022)	23
Εικόνα 12. Βασική ταξινόμηση των κυριότερων τύπων φυτοφαρμάκων που χρησιμοποιούνται σήμερα, με έμφαση στις σημαντικότερες χημικές ομάδες των εντομοκτόνων (Πηγή: Misra & Srivastava, 2025)	25
Εικόνα 13. Γενική χημική δομή των οργανοφωσφορικών ενώσεων (Πηγή: Κουτρουλάκης, 2018)	27
Εικόνα 14. Σχηματική αναπαράσταση της αναστολής της ακετυλοχολινεστεράσης από οργανοφωσφορικό παράγοντα (Πηγή: Κουτρουλάκης, 2018)	27

Εικόνα 15. Χημικές δομές και ενδεικτικές τιμές LD ₅₀ ορισμένων πυρεθροειδών φυτοφαρμάκων τύπου I και τύπου II (Πηγή: López-Benítez et al., 2024).....	30
Εικόνα 16. Σχηματική απεικόνιση των βασικών μοριακών στόχων και των κυριότερων κατηγοριών εντομοκτόνων που διαταράσσουν το νευρικό σύστημα των εντόμων (Πηγή: Araújo et al., 2023).....	34
Εικόνα 17. Συνοπτική ποσοστιαία κατανομή των κυριότερων κατηγοριών φυτοφαρμάκων που ανιχνεύθηκαν σε ύδατα 47 ποταμών κατά την περίοδο 2014–2024 (Πηγή: López-Benítez et al., 2024)	38
Εικόνα 18. Σχηματική αναπαράσταση της UHPLC (Πηγή: Dutt et al., 2024).....	73
Εικόνα 19. Χρωματογραφία για εντοπισμό φυτοφαρμάκων στο μέλι.....	78

Κατάλογος Πινάκων

Πίνακας 1. Πωλήσεις φυτοφαρμάκων ανά χώρα της ΕΕ σε τόνους μεταξύ του 2011 και του 2023 (Πηγή: Eurostat, 2025).....	2
Πίνακας 2. Ενδεικτικές εφαρμογές χρωματογραφικών τεχνικών συζευγμένων με φασματομετρία μάζας στον προσδιορισμό φυτοφαρμάκων (Πηγή: Botitsi et al., 2010) .	101
Πίνακας 3. Ενδεικτικές εφαρμογές της μεθόδου QuEChERS στον προσδιορισμό φυτοφαρμάκων σε βότανα και μπαχαρικά (Πηγή: Parrilla Vazquez et al., 2019).....	111
Πίνακας 4. Εφαρμογή μαγνητικού βιοάνθρακα και DLLME στον προσδιορισμό οργανοχλωριωμένων φυτοφαρμάκων σε χυμούς (Πηγή: Προσαρμογή από Ago et al., 2024)	127

Κατάλογος Διαγραμμάτων

Διάγραμμα 1. Πωλήσεις φυτοφαρμάκων στην ΕΕ την περίοδο 2011-2023 (Πηγή: Eurostat, 2025)	1
Διάγραμμα 2. Είσοδος και διασπορά των φυτοφαρμάκων στο περιβάλλον (Προσαρμογή βάσει του άρθρου των Schleiffer & Speiser, 2022)	41
Διάγραμμα 3. Υπολείμματα φυτοφαρμάκων σε τρόφιμα και γεωργικά προϊόντα (Προσαρμογή βάσει του άρθρου των Schleiffer & Speiser, 2022).....	44
Διάγραμμα 4. Επιδράσεις των φυτοφαρμάκων στο περιβάλλον και στη δημόσια υγεία (Προσαρμογή βάσει του άρθρου των Pathak et al., 2022).....	48
Διάγραμμα 5. Σύγκριση χρωματογραφικού διαχωρισμού τεσσάρων φυτοφαρμάκων με GC-TOFMS και GC×GC-TOFMS. Στην απλή GC-TOFMS παρατηρείται συν-έκλυση των myclobutanil, buprofezin, flusilazole και oxyfluorfen, ενώ με τη δισδιάστατη GC×GC-TOFMS επιτυγχάνεται σαφέστερος διαχωρισμός των ενώσεων, γεγονός που βελτιώνει την ταυτοποίηση και την ποσοτικοποίηση σε σύνθετες μήτρες (Πηγή: Botitsi et al., 2011, από Banerjee et al., 2008)	77
Διάγραμμα 6. Εφαρμογή της HPLC στον προσδιορισμό οργανοφωσφορικών θειοεστερικών φυτοφαρμάκων (Πηγή: Yu et al., 2018).....	80
Διάγραμμα 7. Σύγκριση χρωματογραφημάτων LC-MS/MS και UPLC-MS/MS για εκχύλισμα μήλου εμπλουτισμένο με 17 φυτοφάρμακα. Η χρήση UPLC-MS/MS επιτρέπει ταχύτερο διαχωρισμό και στενότερες χρωματογραφικές κορυφές, γεγονός που αναδεικνύει τη συμβολή της υπερυψηλής απόδοσης υγρής χρωματογραφίας στην πολυπολεμιακή ανάλυση φυτοφαρμάκων (Πηγή: Botitsi et al., 2011, από Kovaleczuk et al., 2006).	83
Διάγραμμα 8. Επίδραση της διακριτικής ικανότητας στην ακρίβεια μάζας και στη διάκριση δύο συν-εκλυόμενων ενώσεων, του imazalil και του flunixin, οι οποίες διαφέρουν κατά περίπου 30 mDa στην ακριβή μάζα τους. Σε ανάλυση Orbitrap, η αύξηση της διακριτικής ικανότητας από 10.000 σε 100.000 επιτρέπει σαφέστερο διαχωρισμό των σημάτων και ακριβέστερη ανάθεση μάζας, γεγονός ιδιαίτερα σημαντικό για την ταυτοποίηση φυτοφαρμάκων σε σύνθετες μήτρες (Πηγή: Botitsi et al., 2011, από Kellmann et al., 2009).	95

Συντομογραφίες & Ακρωνύμια

AChE	Ακετυλοχολινεστεράση
APCI	Atmospheric Pressure Chemical Ionization / Χημικός ιονισμός σε ατμοσφαιρική πίεση
BHC	Benzene Hexachloride / Εξαχλωροκυκλοεξάνιο
CI	Chemical Ionization / Χημικός ιονισμός
DLLME	Dispersive Liquid-Liquid Microextraction / Διασπειρόμενη μικροεκχύλιση υγρού- υγρού
DDE	Dichlorodiphenyldichloroethylene / Διχλωροδιφαινυλοδιχλωροαιθυλένιο
DDT	Dichlorodiphenyltrichloroethane / Διχλωροδιφαινυλοτριχλωροαιθάνιο
DT50	Χρόνος ημιζωής / χρόνος αποδόμησης του 50% της ουσίας
d-SPE	Dispersive Solid Phase Extraction / Διασπειρόμενη εκχύλιση στερεάς φάσης
ECD	Electron Capture Detector / Ανιχνευτής σύλληψης ηλεκτρονίων
EI	Electron Ionization / Ιονισμός ηλεκτρονίων
ESI	Electrospray Ionization / Ιονισμός με ηλεκτροψεκασμό
EE	Ευρωπαϊκή Ένωση
EK	Ευρωπαϊκή Κοινότητα
FAO	Food and Agriculture Organization / Οργανισμός Τροφίμων και Γεωργίας
FLD	Fluorescence Detector / Ανιχνευτής φθορισμού
FWHM	Full Width at Half Maximum / Πλήρες πλάτος στο ήμισυ του μέγιστου

GC	Gas Chromatography / Αέρια χρωματογραφία
GC-MS	Gas Chromatography-Mass Spectrometry / Αέρια χρωματογραφία-φασματομετρία μάζας
GC-MS/MS	Gas Chromatography-Tandem Mass Spectrometry / Αέρια χρωματογραφία με διαδοχική φασματομετρία μάζας
GC×GC-TOFMS	Comprehensive Two-Dimensional Gas Chromatography-Time of Flight Mass Spectrometry / Δισδιάστατη αέρια χρωματογραφία με φασματομετρία μάζας χρόνου πτήσης
GCB	Graphitized Carbon Black / Γραφίτοποιημένος άνθρακας
HILIC	Hydrophilic Interaction Liquid Chromatography / Υγρή χρωματογραφία υδρόφιλων αλληλεπιδράσεων
HLB	Hydrophilic-Lipophilic Balance / Υδρόφιλη-λιπόφιλη ισορροπία
HPLC	High Performance Liquid Chromatography / Υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης
HPLC-FLD	High Performance Liquid Chromatography-Fluorescence Detection / Υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης με ανίχνευση φθορισμού
HRMS	High Resolution Mass Spectrometry / Φασματομετρία μάζας υψηλής διακριτικής ικανότητας
LC	Liquid Chromatography / Υγρή χρωματογραφία

LC-MS	Liquid Chromatography-Mass Spectrometry / Υγρή χρωματογραφία-φασματομετρία μάζας
LC-MS/MS	Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry / Υγρή χρωματογραφία με διαδοχική φασματομετρία μάζας
LC-QTOF-MS	Liquid Chromatography-Quadrupole Time of Flight Mass Spectrometry / Υγρή χρωματογραφία με τετραπολικό αναλυτή χρόνου πτήσης
LC-Orbitrap HRMS	Υγρή χρωματογραφία με Orbitrap φασματομετρία μάζας υψηλής διακριτικής ικανότητας
LLE	Liquid-Liquid Extraction / Εκχύλιση υγρού-υγρού
LOD	Limit of Detection / Όριο ανίχνευσης
LOQ	Limit of Quantification / Όριο ποσοτικοποίησης
LVI	Large Volume Injection / Έγχυση μεγάλου όγκου
ME	Matrix Effect / Επίδραση μήτρας
MRLs	Maximum Residue Levels / Ανώτατα όρια καταλοίπων
MRM	Multiple Reaction Monitoring / Παρακολούθηση πολλαπλών αντιδράσεων
MS	Mass Spectrometry / Φασματομετρία μάζας
MS/MS	Tandem Mass Spectrometry / Διαδοχική φασματομετρία μάζας
MS ⁿ	Πολλαπλά στάδια φασματομετρίας μάζας
MSPD	Matrix Solid Phase Dispersion / Διασπορά στερεάς φάσης στη μήτρα

m/z	Mass-to-charge ratio / Λόγος μάζας προς φορτίο
NIST	National Institute of Standards and Technology
NPD	Nitrogen Phosphorus Detector / Ανιχνευτής αζώτου-φωσφόρου
PSA	Primary Secondary Amine / Πρωτοταγής-δευτεροταγής αμίνη
Q	Quadrupole / Τετράπολος
QqQ	Triple Quadrupole / Τριπλός τετραπολικός αναλυτής
QqTOF	Quadrupole Time of Flight / Τετραπολικός αναλυτής χρόνου πτήσης
QuEChERS	Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe / Γρήγορη, εύκολη, οικονομική, αποτελεσματική, ανθεκτική και ασφαλής μέθοδος
RNA	Ribonucleic Acid / Ριβονουκλεϊκό οξύ
RSD	Relative Standard Deviation / Σχετική τυπική απόκλιση
SBSE	Stir Bar Sorptive Extraction / Προσροφητική εκχύλιση με μαγνητική ράβδο
SD	Standard Deviation / Τυπική απόκλιση
SDHI	Succinate Dehydrogenase Inhibitors / Αναστολείς της αφυδρογονάσης του ηλεκτρικού οξέος
SIM	Selected Ion Monitoring / Παρακολούθηση επιλεγμένων ιόντων
SPE	Solid Phase Extraction / Εκχύλιση στερεάς φάσης

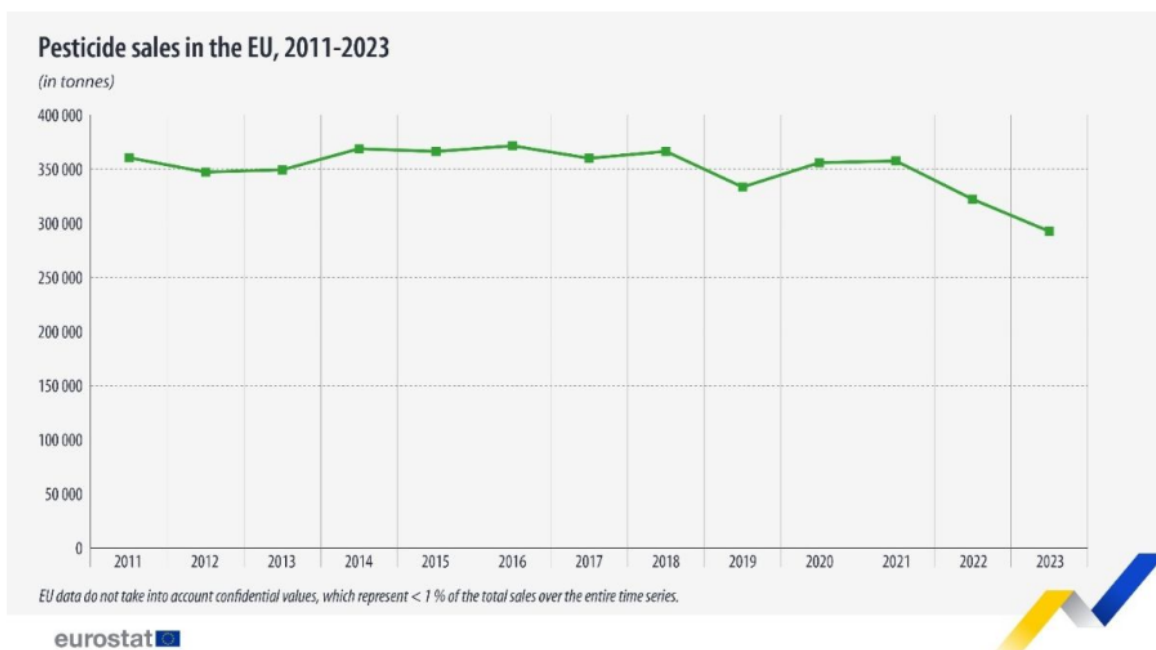
SPME	Solid Phase Microextraction / Μικροεκχύλιση στερεάς φάσης
SRM	Selected Reaction Monitoring / Παρακολούθηση επιλεγμένων αντιδράσεων
TLC	Thin Layer Chromatography / Χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας
TOF	Time of Flight / Χρόνος πτήσης
TOFMS	Time of Flight Mass Spectrometry / Φασματομετρία μάζας χρόνου πτήσης
UHPLC	Ultra High Performance Liquid Chromatography / Υγρή χρωματογραφία υπερυψηλής απόδοσης
UHPLC-MS/MS	Ultra High Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry / Υγρή χρωματογραφία υπερυψηλής απόδοσης με διαδοχική φασματομετρία μάζας
UHPLC-QTOF-MS	Ultra High Performance Liquid Chromatography-Quadrupole Time of Flight Mass Spectrometry / Υγρή χρωματογραφία υπερυψηλής απόδοσης με τετραπολικό αναλυτή χρόνου πτήσης
UPLC	Ultra Performance Liquid Chromatography / Υγρή χρωματογραφία υπερυψηλής απόδοσης
UPLC-MS/MS	Ultra Performance Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry / Υγρή χρωματογραφία υπερυψηλής απόδοσης με διαδοχική φασματομετρία μάζας

UPLC-QTOF-MS

Ultra Performance Liquid
Chromatography-Quadrupole Time of
Flight Mass Spectrometry / Υγρή
χρωματογραφία υπερυψηλής απόδοσης με
τετραπολικό αναλυτή χρόνου πτήσης

Εισαγωγή

Η ευρεία χρήση των φυτοφαρμάκων αποτελεί ένα από τα πιο χαρακτηριστικά γνωρίσματα της σύγχρονης γεωργικής παραγωγής, καθώς συνδέεται άμεσα με την ανάγκη διασφάλισης υψηλών αποδόσεων, προστασίας των καλλιεργειών από εχθρούς και ασθένειες και σταθερής επάρκειας τροφίμων για έναν συνεχώς αυξανόμενο πληθυσμό (Mandal et al., 2023). Τα φυτοπροστατευτικά προϊόντα χρησιμοποιούνται για την αντιμετώπιση εντόμων, μυκήτων, ζιζανίων και άλλων επιβλαβών οργανισμών, συμβάλλοντας ουσιαστικά στη μείωση των απωλειών στην πρωτογενή παραγωγή. Όσον αφορά την ΕΕ, στο Διάγραμμα 1 παρατηρείται πως οι πωλήσεις φυτοφαρμάκων κατά την περίοδο 2011-2023 παρουσίασαν διακυμάνσεις, αλλά συνολικά ακολούθησαν πτωτική πορεία τα τελευταία έτη, εξέλιξη που συνδέεται με την ενίσχυση των κανονιστικών περιορισμών, την αυξανόμενη έμφαση στη βιώσιμη χρήση των φυτοπροστατευτικών προϊόντων και τη σταδιακή στροφή προς πιο ελεγχόμενες πρακτικές φυτοπροστασίας (Eurostat, 2025).



Διάγραμμα 1. Πωλήσεις φυτοφαρμάκων στην ΕΕ την περίοδο 2011-2023 (Πηγή: Eurostat, 2025)

Παράλληλα, όμως, η εκτεταμένη και συχνά εντατική χρήση τους έχει δημιουργήσει έντονο επιστημονικό ενδιαφέρον και κοινωνικό προβληματισμό εξαιτίας της παρουσίας υπολειμμάτων σε τρόφιμα, της διασποράς τους στο περιβάλλον και των πιθανών επιπτώσεων στη δημόσια υγεία και στα οικοσυστήματα (Picó et al., 2000; Wilkowska & Biziuk, 2011; Mandal et al., 2023). Στον Πίνακα 1 αποτυπώνονται σημαντικές διαφοροποιήσεις μεταξύ των κρατών ως προς τον όγκο πωλήσεων φυτοφαρμάκων και τις επιμέρους κατηγορίες δραστικών προϊόντων, γεγονός που αντανακλά τις ιδιαιτερότητες της γεωργικής παραγωγής και των καλλιεργητικών προτύπων κάθε χώρας της ΕΕ.

Πίνακας 1. Πωλήσεις φυτοφαρμάκων ανά χώρα της ΕΕ σε τόνους μεταξύ του 2011 και του 2023 (Πηγή: Eurostat, 2025)

Sales of pesticides
(tonnes, 2011 and 2023)

	Fungicides and bactericides		Herbicides, haulm destructors and moss killers		Insecticides and acaricides		Molluscicides		Plant growth regulators		Other plant protection products	
	2011	2023	2011	2023	2011	2023	2011	2023	2011	2023	2011	2023
Belgium	2 408	1 502	2 505	2 195	654	453	18	12	245	379	467	261
Bulgaria	(c)	1 224	(c)	1 955	(c)	216	(c)	(c)	(c)	(c)	(c)	(c)
Czechia	1 627	1 284	3 473	2 350	291	95	13	13	1 183	425	462	405
Denmark	633	547	3 692	2 566	45	32	4	8	173	148	3	14
Germany	10 473	9 341	17 955	13 138	11 832	15 949	255	100	3 123	1 771	219	194
Estonia	49	118	357	516	(c)	(c)	(c)	(c)	32	67	(c)	(c)
Ireland	620	403	2 812	1 716	48	5	4	13	188	118	20	18
Greece	1 700	1 414	1 449	1 624	1 095	755	8	2	21	167	1 708	255
Spain	31 330	23 562	13 835	15 131	8 045	9 978	(c)	(c)	(c)	(c)	19 450	4 053
France	24 496	26 115	29 252	29 906	2 190	5 773	331	419	2 532	1 952	2 461	1 249
Croatia	-	605	-	526	-	54	-	4	-	22	-	14
Italy	43 574	24 342	8 327	5 198	2 494	4 221	97	11	390	505	15 443	5 293
Cyprus	895	561	170	133	159	69	2	1	3	3	6	58
Latvia	149	206	724	1 087	34	35	-	(c)	164	310	6	(c)
Lithuania	362	558	1 773	1 629	26	40	(c)	(c)	403	755	(c)	(c)
Luxembourg	92	(c)	102	44	(c)	(c)	1	0	(c)	5	(c)	(c)
Hungary	(c)	2 308	(c)	3 273	(c)	485	(c)	0	(c)	167	(c)	209
Malta	95	(c)	6	3	4	2	1	(c)	0	0	(c)	(c)
Netherlands	4 246	2 298	3 011	2 414	1 898	1 601	20	14	206	695	1 532	241
Austria	1 544	1 719	1 505	1 163	248	2 247	33	8	59	54	58	61
Poland	6 081	5 881	12 408	11 367	991	680	(c)	37	1 593	(c)	689	(c)
Portugal	9 979	4 812	1 996	1 862	883	643	3	11	4	9	1 159	521
Romania	3 455	3 239	6 771	5 126	815	459	1	8	335	133	49	193
Slovenia	797	526	264	119	39	36	1	3	1	6	20	5
Slovakia	(c)	504	1 080	971	75	84	0	(c)	113	181	(c)	(c)
Finland	1 474	2 237	1 452	954	32	12	(c)	1	59	41	(c)	6
Sweden	218	212	2 136	1 694	29	38	1	(c)	21	(c)	11	20
Iceland	-	1	-	1	-	0	-	0	-	0	-	0
Norway	105	79	680	502	5	11	1	2	38	30	17	26
Switzerland	933	716	919	429	261	226	38	19	33	31	91	109
Montenegro	-	62	-	12	-	12	-	0	-	0	-	0
Turkiye	-	19 551	-	15 509	-	15 303	-	297	-	1 984	-	4 932

(-) not available

(c) confidential

Note: definition of 2011 values differs for Luxembourg

Source: Eurostat (online data code: aei_fm_salpest09)

Η ανίχνευση και ο προσδιορισμός υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων σε τρόφιμα και άλλα δείγματα αποτελούν σήμερα κρίσιμο πεδίο της αναλυτικής χημείας και το ενδιαφέρον αυτό δεν περιορίζεται μόνο στην επιστημονική καταγραφή της παρουσίας ορισμένων δραστικών ουσιών, αλλά επεκτείνεται στον ακριβή, αξιόπιστο και ευαίσθητο προσδιορισμό τους σε φρούτα, λαχανικά, δημητριακά, έλαια, παιδικές τροφές και μεταποιημένα προϊόντα. Η

ανάγκη αυτή ενισχύεται από το γεγονός ότι τα υπολείμματα φυτοφαρμάκων μπορεί να αφορούν ουσίες με πολύ διαφορετικές φυσικοχημικές ιδιότητες, διαφορετική χημική δομή, διαφορετικό επίπεδο πτητικότητας και διαφορετική συμπεριφορά κατά την εκχύλιση, τον διαχωρισμό και την ανίχνευση. Επομένως, η ανάλυση φυτοφαρμάκων δεν είναι μια απλή διαδικασία ρουτίνας, αλλά ένα σύνθετο αναλυτικό πρόβλημα που απαιτεί κατάλληλη επιλογή μεθόδου, σωστή προετοιμασία δείγματος και ισχυρά εργαλεία επιβεβαίωσης της ταυτότητας των αναλυτών (Lambropoulou & Albanis, 2007; Stachniuk & Fornal, 2016; Hernández-Mesa & Moreno-González, 2022).

Η εξέλιξη των αναλυτικών τεχνικών για τον προσδιορισμό φυτοφαρμάκων υπήρξε ιδιαίτερα εντυπωσιακή τις τελευταίες δεκαετίες καθώς ενώ παλαιότερα η ανίχνευση βασιζόταν κυρίως σε κλασικούς χρωματογραφικούς ανιχνευτές, η σύγχρονη αναλυτική πρακτική στηρίζεται σε μεγάλο βαθμό στη σύζευξη χρωματογραφικών τεχνικών με φασματομετρία μάζας. Η αέρια χρωματογραφία και η υγρή χρωματογραφία, σε συνδυασμό με φασματομετρικούς ανιχνευτές μάζας, έχουν μεταβάλει ριζικά τις δυνατότητες ποιοτικού και ποσοτικού προσδιορισμού φυτοφαρμάκων, προσφέροντας υψηλή εκλεκτικότητα, χαμηλά όρια ανίχνευσης και δυνατότητα πολυπολειμματικής ανάλυσης σε ένα μόνο αναλυτικό πρωτόκολλο (Picó et al., 2000; Soler et al., 2008). Ειδικότερα, οι τεχνικές GC-MS, GC-MS/MS, LC-MS/MS και UHPLC-MS/MS έχουν καθιερωθεί ως βασικά εργαλεία σε εργαστήρια ελέγχου τροφίμων και ερευνητικά εργαστήρια, ενώ τα τελευταία χρόνια η υψηλής διακριτικής ικανότητας φασματομετρία μάζας έχει επεκτείνει περαιτέρω τις δυνατότητες ανίχνευσης μέσω προσεγγίσεων suspect και non target screening (Gómez-Ramos et al., 2013; García López et al., 2014; Wang et al., 2016).

Η επιλογή της κατάλληλης τεχνικής προσδιορισμού εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τη φύση των υπό εξέταση φυτοφαρμάκων. Ορισμένες δραστικές ουσίες, ιδίως πτητικές και θερμοσταθερές ενώσεις, είναι περισσότερο κατάλληλες για ανάλυση με αέρια χρωματογραφία, ενώ πιο πολικές, θερμικά ασταθείς ή μη πτητικές ενώσεις αναλύονται αποτελεσματικότερα με υγρή χρωματογραφία συζευγμένη με φασματομετρία μάζας (Picó et al., 2000; Soler et al., 2008). Έτσι, η σύγχρονη λογική στον προσδιορισμό φυτοφαρμάκων δεν βασίζεται σε μία μόνο καθολική τεχνική, αλλά σε ένα συνδυαστικό πλαίσιο, στο οποίο η χημική φύση του αναλύτη, η πολυπλοκότητα της μήτρας και ο στόχος της ανάλυσης καθορίζουν την επιλογή του καταλληλότερου αναλυτικού πρωτοκόλλου.

Καθοριστικής σημασίας για την επιτυχία της ανάλυσης είναι επίσης η προετοιμασία του δείγματος, καθώς οι μήτρες τροφίμων περιέχουν συχνά μεγάλο αριθμό παρεμποδιστικών ουσιών, όπως σάκχαρα, οργανικά οξέα, λιπίδια, χρωστικές και άλλα φυσικά συστατικά, τα οποία μπορούν να επηρεάσουν και να προκαλέσουν φαινόμενα καταστολής ή ενίσχυσης του σήματος στη φασματομετρία μάζας. Για τον λόγο αυτό, η εκχύλιση και ο καθαρισμός του δείγματος αποτελούν κρίσιμα στάδια της αναλυτικής διαδικασίας. Μεταξύ των τεχνικών που έχουν επικρατήσει, η μέθοδος QuEChERS ξεχωρίζει λόγω της ταχύτητας, της απλότητας, του χαμηλού κόστους και της προσαρμοστικότητάς της σε πολλές κατηγορίες τροφίμων, ενώ παράλληλα εξακολουθούν να χρησιμοποιούνται και τεχνικές όπως η SPE και η LLE, ανάλογα με τη μήτρα και τις απαιτήσεις της μεθόδου (Anastassiades et al., 2003; Lehotay et al., 2005; Lehotay, 2007; Wilkowska & Biziuk, 2011). Η βιβλιογραφία δείχνει ότι η επιλογή του κατάλληλου σχήματος προεπεξεργασίας δεν είναι δευτερεύουσα παράμετρος, αλλά θεμελιώδης προϋπόθεση για την εγκυρότητα του τελικού αποτελέσματος (Hercegová et al., 2007; Lambropoulou & Albanis, 2007).

Η αυξανόμενη απαίτηση για ασφαλή τρόφιμα και για συμμόρφωση με αυστηρά νομοθετικά όρια έχει ενισχύσει περαιτέρω τον ρόλο των αναλυτικών μεθόδων υψηλής απόδοσης. Στο ευρωπαϊκό πλαίσιο, ο Κανονισμός (ΕΚ) 396/2005 θέτει τα ανώτατα όρια καταλοίπων φυτοφαρμάκων στα τρόφιμα και στις ζωοτροφές, ενώ ο Κανονισμός (ΕΚ) 1107/2009 ρυθμίζει τη διάθεση φυτοπροστατευτικών προϊόντων στην αγορά. Παράλληλα, η Οδηγία 2009/128/ΕΚ εισάγει ένα ευρύτερο πλαίσιο για την ορθολογική χρήση των γεωργικών φαρμάκων. Οι νομοθετικές αυτές ρυθμίσεις καθιστούν αναγκαία την ύπαρξη αναλυτικών μεθόδων που δεν είναι μόνο ευαίσθητες, αλλά και κατάλληλα επικυρωμένες, με τεκμηριωμένη ακρίβεια, ορθότητα, επαναληψιμότητα, γραμμικότητα και όρια ανίχνευσης σύμφωνα με ευρωπαϊκά κριτήρια ποιότητας (Ευρωπαϊκό Κοινοβούλιο και Συμβούλιο της Ευρωπαϊκής Ένωσης, 2005, 2009a, 2009b; Ευρωπαϊκή Επιτροπή, 2021).

Το παρόν θέμα αποκτά ακόμη μεγαλύτερη σημασία αν ληφθεί υπόψη ότι οι σύγχρονες αναλυτικές απαιτήσεις δεν αφορούν μόνο την ανίχνευση λίγων, γνωστών ενώσεων, αλλά ολοένα και περισσότερο την ταυτόχρονη ανάλυση εκατοντάδων δραστικών ουσιών και μεταβολιτών. Στη διεθνή βιβλιογραφία παρατηρείται σαφής μετατόπιση από τις κλασικές στοχευμένες μεθόδους προς ευρύτερης εμβέλειας στρατηγικές, οι οποίες αξιοποιούν προηγμένα συστήματα φασματομετρίας μάζας υψηλής ευκρίνειας, όπως QTOF και Orbitrap. Τα συστήματα αυτά διευρύνουν τις δυνατότητες επιβεβαίωσης, αναδρομικής

ανάλυσης δεδομένων και ανίχνευσης άγνωστων ή μη αναμενόμενων καταλοίπων, χωρίς να αναιρούν τη μεγάλη σημασία των τριπλών τετραπύλων στην ποσοτική ανάλυση ρουτίνας (Portolés et al., 2014; Cervera et al., 2014; Jia et al., 2014; Wang et al., 2016; Feng et al., 2020). Η σύγχρονη τάση δεν είναι, συνεπώς, η αντικατάσταση μίας τεχνικής από μία άλλη, αλλά η λειτουργική συμπληρωματικότητα ανάμεσα σε τεχνικές υψηλής ευαισθησίας και τεχνικές υψηλής αναλυτικής πληροφορίας.

Σκοπός της παρούσας διατριβής λοιπόν είναι η βιβλιογραφική ανασκόπηση του πεδίου του προσδιορισμού φυτοφαρμάκων με έμφαση στις χρωματογραφικές τεχνικές και στη φασματομετρία μάζας. Ειδικότερα, η εργασία επιδιώκει να παρουσιάσει το θεωρητικό υπόβαθρο σχετικά με τα φυτοφάρμακα και τις βασικές κατηγορίες τους, να αναδείξει τις επιπτώσεις των υπολειμμάτων τους στην ασφάλεια τροφίμων και στο περιβάλλον, να εξετάσει το ισχύον νομοθετικό πλαίσιο και να αναλύσει τις αρχές λειτουργίας των σύγχρονων αναλυτικών τεχνικών που χρησιμοποιούνται για τον προσδιορισμό τους. Παράλληλα, επιδιώκει να συνθέσει τη διεθνή και ελληνόγλωσση βιβλιογραφία γύρω από τις σημαντικότερες τεχνικές προεπεξεργασίας δείγματος, τις απαιτήσεις επικύρωσης και τις πρακτικές εφαρμογές των GC-MS, LC-MS/MS και HRMS συστημάτων σε διαφορετικές κατηγορίες τροφίμων και άλλων μητρών μέσα από την απάντηση των ερευνητικών ερωτημάτων που είναι:

- I. Πώς η φύση των φυτοφαρμάκων και της μήτρας του δείγματος επηρεάζει την επιλογή της αναλυτικής τεχνικής;
- II. Ποια είναι τα πλεονεκτήματα και τα όρια των κυριότερων χρωματογραφικών μεθόδων συζευγμένων με φασματομετρία μάζας;
- III. Ποιος είναι ο ρόλος της προετοιμασίας δείγματος και της επικύρωσης στην αξιοπιστία της ανάλυσης;
- IV. Κατά πόσο τα σύγχρονα συστήματα υψηλής διακριτικής ικανότητας μεταβάλλουν το τοπίο της ανάλυσης υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων;

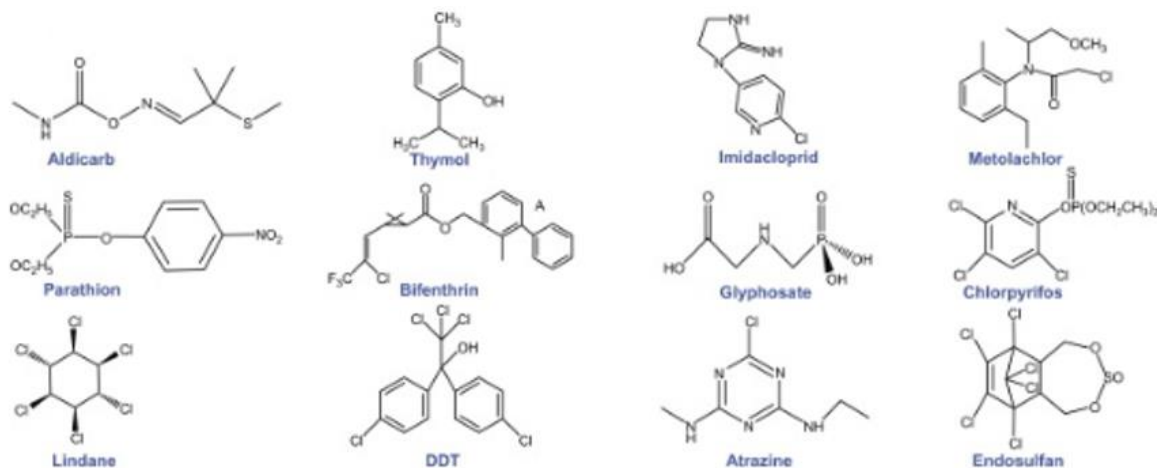
Από τα ερωτήματα αυτά, το παρόν πόνημα μέσω της βιβλιογραφικής ανασκόπησης αποσκοπεί όχι μόνο στην περιγραφή των διαθέσιμων τεχνικών, αλλά και στην κριτική αποτίμηση της συμβολής τους στην ασφάλεια τροφίμων και στον εργαστηριακό έλεγχο.

Κεφάλαιο 1. Φυτοφάρμακα: εννοιολογική προσέγγιση και βασικά χαρακτηριστικά

1.1. Ορισμός και έννοια των φυτοφαρμάκων

Τα φυτοφάρμακα αποτελούν βασική κατηγορία χημικών ουσιών που χρησιμοποιούνται στη φυτική παραγωγή με σκοπό την πρόληψη, την καταστολή ή τον έλεγχο οργανισμών που προκαλούν ζημιές στις καλλιέργειες και στα γεωργικά προϊόντα. Η έννοια τους δεν περιορίζεται μόνο στην άμεση καταπολέμηση εντόμων, ζιζανίων ή παθογόνων μικροοργανισμών, αλλά εκτείνεται σε ένα ευρύτερο πεδίο εφαρμογών που σχετίζονται με τη διατήρηση της παραγωγής, την προστασία της ποιότητας των τροφίμων και τη μείωση των απωλειών κατά την αποθήκευση και τη μεταφορά (Daraban et al., 2023; Mandal et al., 2023). Στην Εικόνα 1 παρουσιάζονται ενδεικτικά ορισμένες από τις σημαντικότερες δραστικές ουσίες φυτοφαρμάκων που έχουν χρησιμοποιηθεί στη γεωργία, προερχόμενες από διαφορετικές κατηγορίες όπως εντομοκτόνα, ζιζανιοκτόνα και μυκητοκτόνα.

Εικόνα 1. Μερικά χρησιμοποιούμενα φυτοφάρμακα (Πηγή: Hu et al., 2022)

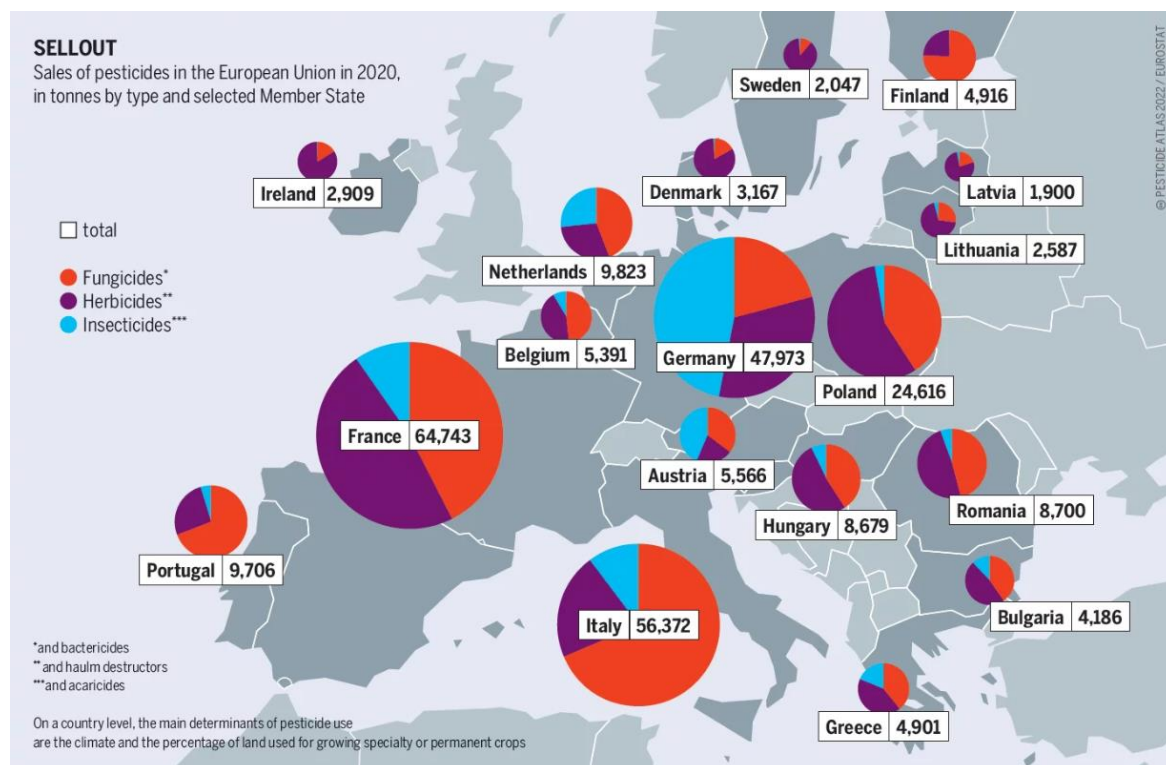


Σύμφωνα με τον Διεθνή Κώδικα Δεοντολογίας για τη Διανομή και τη Χρήση των Φυτοφαρμάκων του Οργανισμού Τροφίμων και Γεωργίας, ως φυτοφάρμακο ορίζεται κάθε ουσία ή μίγμα ουσιών που προορίζεται για την πρόληψη, την καταστροφή ή τον έλεγχο επιβλαβών οργανισμών, συμπεριλαμβανομένων φορέων ασθενειών, ανεπιθύμητων ειδών

φυτών ή ζώων, καθώς και ουσιών που χρησιμοποιούνται ως ρυθμιστές ανάπτυξης των φυτών, αποφυλλωτικά, ξηραντικά ή μέσα προστασίας των προϊόντων πριν και μετά τη συγκομιδή (FAO, 2002, όπως αναφέρεται στο Zacharia, 2011). Ο ορισμός αυτός δείχνει ότι τα φυτοφάρμακα δεν συνιστούν μία στενή και μονοδιάστατη κατηγορία χημικών, αλλά ένα σύνολο δραστικών ουσιών με ευρύ φάσμα γεωργικών και τεχνολογικών χρήσεων.

Με βάση αυτή την προσέγγιση, τα φυτοφάρμακα μπορούν να θεωρηθούν ως εργαλεία φυτοπροστασίας που ενσωματώθηκαν στην εντατική γεωργία προκειμένου να περιορίζουν τις απώλειες από βιοτικούς εχθρούς και να εξασφαλίζουν υψηλότερη απόδοση και καλύτερη εμπορική ποιότητα στα αγροτικά προϊόντα. Η χρήση τους συνδέθηκε στενά με την αύξηση της παραγωγικότητας και με την ικανότητα των σύγχρονων γεωργικών συστημάτων να ανταποκρίνονται στις διατροφικές ανάγκες του πληθυσμού, ιδιαίτερα σε συνθήκες αυξημένης πίεσης από εχθρούς και ασθένειες των φυτών (Samsidar et al., 2018, όπως αναφέρεται στο παρεχόμενο υλικό· Daraban et al., 2023). Η Εικόνα 2 αποτυπώνει τις πωλήσεις φυτοφαρμάκων στην Ευρωπαϊκή Ένωση το 2020, ανά κράτος μέλος και κατά βασική κατηγορία χρήσης, δείχνοντας ότι η κατανάλωση σε μυκητοκτόνα, ζιζανιοκτόνα και εντομοκτόνα διαφοροποιείται σημαντικά μεταξύ των χωρών.

Εικόνα 2. Πωλήσεις φυτοφαρμάκων στην ΕΕ το 2020 (Πηγή: Tostado, 2022)



Η έννοια των φυτοφαρμάκων δεν μπορεί να κατανοηθεί επαρκώς αν δεν ληφθεί υπόψη πως αφενός πρόκειται για ουσίες σχεδιασμένες να έχουν στοχευμένη βιολογική δράση απέναντι σε συγκεκριμένους οργανισμούς και αφετέρου, επειδή ακριβώς διαθέτουν βιολογική δραστηριότητα, είναι δυνατόν να εμφανίζουν επιδράσεις και σε μη στοχευόμενους οργανισμούς, συμπεριλαμβανομένου του ανθρώπου, των ζώων, των ωφέλιμων ειδών και των φυσικών οικοσυστημάτων. Για τον λόγο αυτό, δίνεται ιδιαίτερη έμφαση στην τοξικότητα, στην αποτελεσματικότητα και στην επικινδυνότητα των φυτοφαρμάκων ως βασικές παραμέτρους αξιολόγησής τους (Daraban et al., 2023).

1.2. Ιστορική εξέλιξη της χρήσης των φυτοφαρμάκων

Η ιστορική εξέλιξη της χρήσης των φυτοφαρμάκων συνδέεται άμεσα με την προσπάθεια του ανθρώπου να προστατεύσει την αγροτική παραγωγή από έντομα, παθογόνους μικροοργανισμούς, ζιζάνια και άλλους επιβλαβείς οργανισμούς. Η ανάγκη αυτή εμφανίζεται ήδη από τις πρώτες οργανωμένες μορφές καλλιέργειας, όταν η απώλεια μέρους της παραγωγής μπορούσε να απειλήσει την επιβίωση ολόκληρων κοινοτήτων. Ωστόσο, η συστηματική και τεχνολογικά οργανωμένη χρήση φυτοπροστατευτικών ουσιών αποτελεί κυρίως γνώρισμα της νεότερης και σύγχρονης εποχής, όταν η γεωργία άρχισε να μετασχηματίζεται από εμπειρική δραστηριότητα σε εντατικό παραγωγικό σύστημα με σαφείς απαιτήσεις απόδοσης, σταθερότητας και εμπορευσιμότητας (Bertomeu-Sánchez, 2019).

Παλαιότερα, ως φυτοφάρμακα χρησιμοποιούνταν κυρίως φυσικά ή ανόργανα μέσα προστασίας, όπως φυτικά εκχυλίσματα, θείο, ενώσεις χαλκού και διάφορα ορυκτά υλικά, εφαρμογές που δεν ήταν πάντοτε τυποποιημένες, αλλά αντανakλούσαν μία πρώιμη κατανόηση της ανάγκης παρέμβασης απέναντι στους εχθρούς των καλλιεργειών. Ωστόσο, κατά το δεύτερο μισό του 19ου αιώνα, η επέκταση του διεθνούς εμπορίου σπόρων και αγροτικών προϊόντων, η ανάπτυξη των μονοκαλλιεργειών και οι νέες μεταφορικές δυνατότητες συνέβαλαν στη διασπορά παλαιών και νέων εχθρών των φυτών σε ευρύτερες γεωγραφικές κλίμακες και έτσι η χρήση χημικών μέσων φυτοπροστασίας εντάχθηκε αισθητά και άρχισε να αποκτά περισσότερο συστηματικό χαρακτήρα (Bertomeu-Sánchez, 2019).

Κατά την ίδια περίοδο, ευρεία εφαρμογή βρήκαν ανόργανες ενώσεις όπως τα αρσενικούχα σκευάσματα, τα άλατα χαλκού και η νικοτίνη φυτικής προέλευσης. Ιδιαίτερη σημασία είχε ο βορδιγάλειος πολτός, που αποτελεί μίγμα θειικού χαλκού ($CuSO_4$) και ασβέστη ($Ca(OH)_2$), το οποίο χρησιμοποιήθηκε εκτεταμένα ως μυκητοκτόνο και αποτέλεσε ένα από τα πιο χαρακτηριστικά παραδείγματα πρώιμης χημικής φυτοπροστασίας. Παρά τη χρησιμότητά τους, οι ουσίες αυτές συνοδεύονταν ήδη από προβλήματα τοξικότητας και περιβαλλοντικής επιβάρυνσης, τα οποία όμως δεν είχαν ακόμη αξιολογηθεί με τα κριτήρια που εφαρμόζονται σήμερα (Bertomeu-Sánchez, 2019).

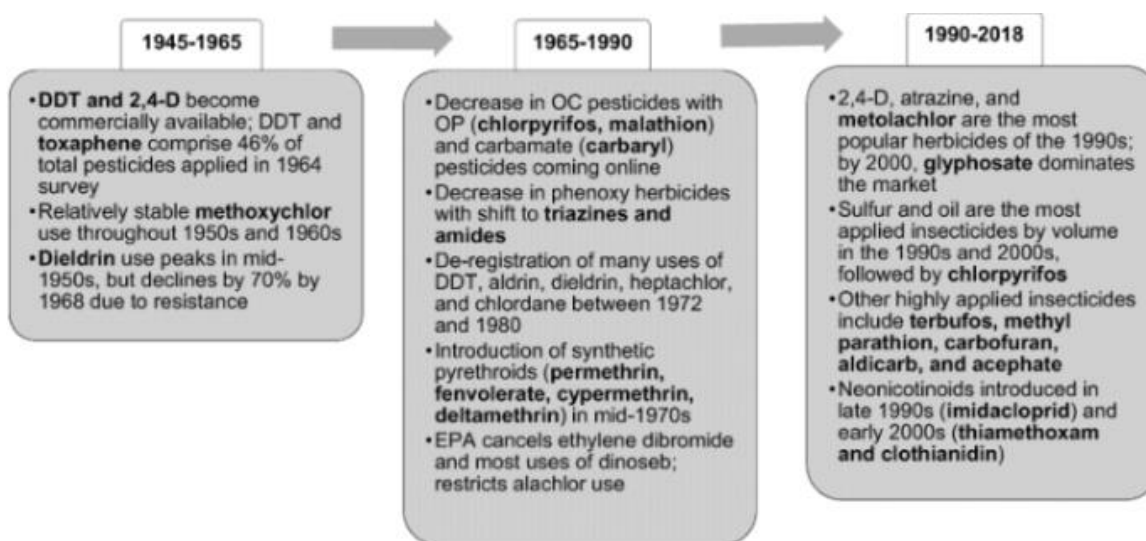
Η μετάβαση στη σύγχρονη εποχή των φυτοφαρμάκων συνδέθηκε με την ανάπτυξη της οργανικής χημείας και της χημικής βιομηχανίας. Καθοριστική τομή στην ιστορία των φυτοφαρμάκων αποτέλεσε η ανακάλυψη της εντομοκτόνου δράσης του DDT (Διχλωροδιφαινυλοτριχλωροαιθάνιο) το 1939 από τον Paul Müller, παρότι η ουσία είχε συντεθεί ήδη από το 1874. Το DDT θεωρήθηκε αρχικά εξαιρετικά αποτελεσματικό λόγω του ευρέος φάσματος δράσης του, της σχετικής σταθερότητας, του χαμηλού κόστους και της ευκολίας εφαρμογής του και χρησιμοποιήθηκε τόσο στη γεωργία όσο και στη δημόσια υγεία, ιδίως για την καταπολέμηση φορέων ασθενειών, και για ένα διάστημα αντιμετωπίστηκε ως εμβληματικό επίτευγμα της σύγχρονης χημείας. Η επιτυχία του συνέβαλε αποφασιστικά στη γενικευμένη αποδοχή των συνθετικών οργανικών φυτοφαρμάκων και εγκαίνιασε τη μεταπολεμική εποχή της χημικής εντατικοποίησης της γεωργίας (Jarman & Ballschmiter, 2012; Bertomeu-Sánchez, 2019). Σύμφωνα με τους Jarman & Ballschmiter (2012), η πορεία που οδήγησε στην ανάδειξη του DDT δεν ήταν ένα μεμονωμένο γεγονός, αλλά αποτέλεσμα μακράς επιστημονικής και βιομηχανικής εξέλιξης, η οποία ξεκίνησε από τη χημεία της λιθανθρακόπισσας, τη σύνθεση χρωστικών και τη διαμόρφωση νέων αντιλήψεων για τη σύνθεση και λειτουργία των οργανικών ενώσεων. Μέσα από αυτή την εξέλιξη δημιουργήθηκαν οι επιστημονικές και τεχνολογικές προϋποθέσεις για τη συστηματική αναζήτηση ουσιών με εντομοκτόνο δράση.

Μετά τον Β' Παγκόσμιο Πόλεμο, η χρήση συνθετικών φυτοφαρμάκων επεκτάθηκε ραγδαία και συνδέθηκε με την εντατικοποίηση της γεωργίας και με τη λεγόμενη Πράσινη Επανάσταση. Στο πλαίσιο αυτό, τα φυτοφάρμακα λειτούργησαν ως βασικά εργαλεία αύξησης της παραγωγικότητας, μαζί με τα χημικά λιπάσματα, τη μηχανοποίηση, τα βελτιωμένα γενετικά υλικά και τα αρδευτικά συστήματα. Η αυξημένη αποτελεσματικότητά τους διευκόλυνε την παραγωγή μεγάλων ποσοτήτων τροφίμων, αλλά ταυτόχρονα ενίσχυσε

την εξάρτηση των γεωργικών συστημάτων από χημικές εισροές (Bertomeu-Sánchez, 2019; Daraban et al., 2023).

Στην Εικόνα 3 αποτυπώνεται χαρακτηριστικά η διαχρονική μεταβολή των κυριότερων ομάδων φυτοφαρμάκων από το 1945 έως το 2018. Ειδικότερα, για την περίοδο 1945-1965 προβάλλεται η εμπορική εδραίωση του DDT και του 2,4-D, ενώ επισημαίνεται ότι το DDT και το τοξαφαίνιο αντιστοιχούσαν σε ιδιαίτερα υψηλό ποσοστό της συνολικής χρήσης φυτοφαρμάκων. Στη συνέχεια, για την περίοδο 1965-1990 καταγράφεται η σταδιακή υποχώρηση των οργανοχλωριωμένων φυτοφαρμάκων και η ενίσχυση άλλων κατηγοριών, όπως τα οργανοφωσφορικά και τα καρβαμικά, μαζί με την είσοδο των συνθετικών πυρεθροειδών. Τέλος, για την περίοδο 1990-2018 η εικόνα δείχνει την επικράτηση συγκεκριμένων ζιζανιοκτόνων, όπως η γλυφosatή, καθώς και την είσοδο των νεονικοτινοειδών, τα οποία κυριάρχησαν σε πολλές εφαρμογές από τα τέλη της δεκαετίας του 1990 και εξής (Βασιλείου, 2004). Η οπτική αυτή καταδεικνύει πως η ιστορική πορεία των φυτοφαρμάκων δεν είναι γραμμική, αλλά χαρακτηρίζεται από διαδοχικές αντικαταστάσεις δραστικών ουσιών, ανάλογα με την αποτελεσματικότητα, την ανθεκτικότητα των οργανισμών στόχων, τις τοξικολογικές ανησυχίες και την αυστηροποίηση της νομοθεσίας (Brain & Anderson, 2019).

Εικόνα 3. Χρονολογική εξέλιξη βασικών κατηγοριών γεωργικών φυτοφαρμάκων από το 1945 έως τη σύγχρονη εποχή (Πηγή: Brain & Anderson, 2019).

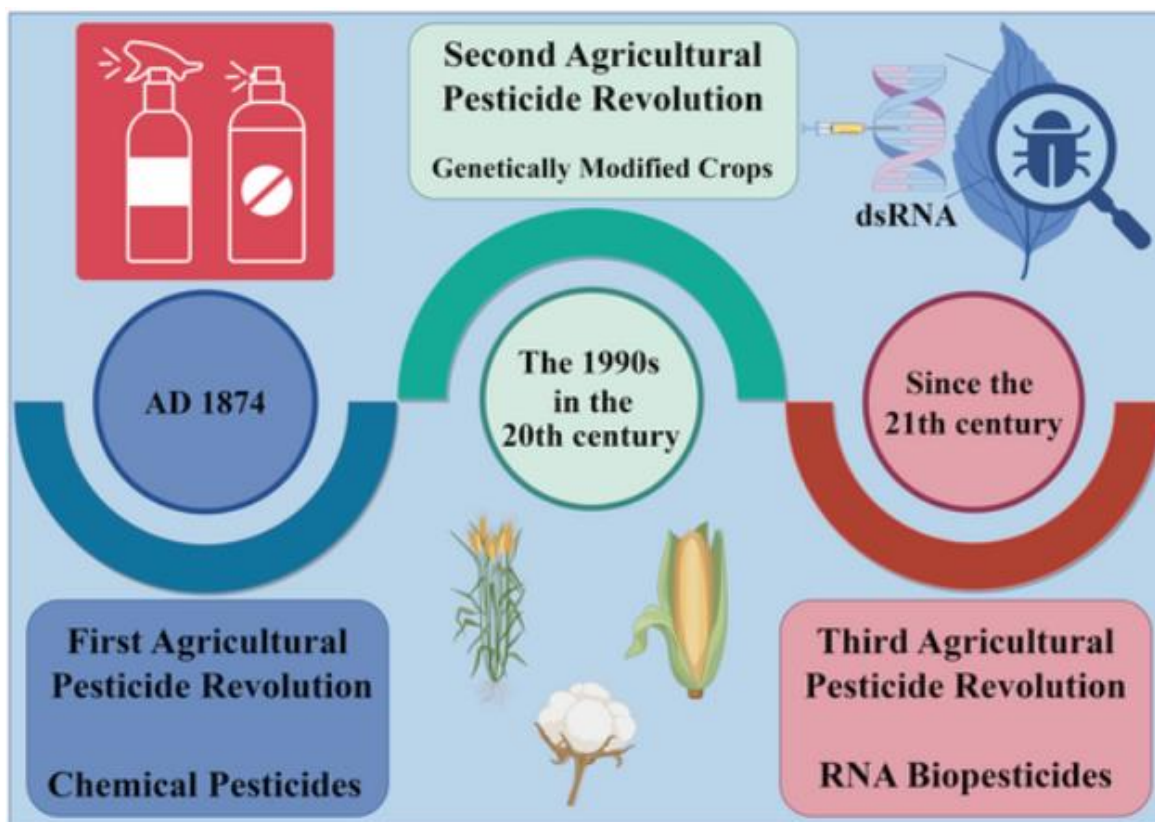


Παρά τη μεγάλη επιτυχία των πρώτων συνθετικών σκευασμάτων, ήδη από τα μέσα του 20ού αιώνα άρχισαν να διατυπώνονται σοβαρές επιφυλάξεις για τις επιπτώσεις τους. Η δημοσίευση του έργου *Silent Spring* από τη Rachel Carson το 1962 αποτέλεσε ιστορικό σημείο καμπής, επειδή ανέδειξε με έντονο τρόπο τις οικολογικές και υγειονομικές συνέπειες της ανεξέλεγκτης χρήσης επίμονων φυτοφαρμάκων, ιδιαίτερα του DDT. Η συζήτηση που ακολούθησε δεν αφορούσε μόνο την τοξικότητα μιας συγκεκριμένης ουσίας, αλλά συνολικά το μοντέλο χημικής διαχείρισης των αγροοικοσυστημάτων και την ανάγκη επανεξέτασης της σχέσης ανάμεσα στη γεωργική παραγωγικότητα και την περιβαλλοντική προστασία (Jarman & Ballschmiter, 2012; Bertomeu-Sánchez, 2019).

Μετά την αμφισβήτηση των οργανοχλωριωμένων ενώσεων, αναδείχθηκαν άλλες χημικές κατηγορίες όπως τα οργανοφωσφορικά, τα καρβαμιδικά και αργότερα τα πυρεθροειδή οι οποίες θεωρήθηκαν σε πολλές περιπτώσεις βελτιωμένες σε σχέση με τις παλαιότερες ως προς τη βιοσυσσωρευση ή την περιβαλλοντική εμμονή, χωρίς όμως να είναι απαλλαγμένες από προβλήματα τοξικότητας ή άλλων επιπτώσεων. Στα τέλη του 20^{ου} αιώνα και στις αρχές του 21^{ου} μάλιστα, αναπτύχθηκαν και νέες κατηγορίες όπως τα νεονικοτινοειδή, τα οποία συνδέθηκαν με αυξημένη αποτελεσματικότητα σε μικρές δόσεις και με ευρύτερη εφαρμογή σε γεωργικά συστήματα υψηλής έντασης. Ωστόσο, και για αυτές τις νεότερες ουσίες αναδείχθηκαν σταδιακά ανησυχίες σχετικά με τη δράση τους σε μη στοχευόμενους οργανισμούς, ιδίως επικονιαστές και άλλες ευαίσθητες βιολογικές ομάδες (Brain & Anderson, 2019; Daraban et al., 2023).

Στη νεότερη περίοδο, η ιστορία των φυτοφαρμάκων συνδέεται και με την αναζήτηση εναλλακτικών ή συμπληρωματικών μορφών φυτοπροστασίας. Η ολοκληρωμένη διαχείριση εχθρών και ασθενειών, η ανάπτυξη βιοφυτοφαρμάκων και οι πιο στοχευμένες τεχνολογίες φυτοπροστασίας αντανακλούν μια προσπάθεια απομάκρυνσης από την άκριτη χρήση ευρέος φάσματος χημικών ουσιών. Παράλληλα, η πρόσφατη βιβλιογραφία περιγράφει νέες προσεγγίσεις, όπως τα RNA-based biopesticides όπως φαίνεται και στην Εικόνα 4, ως μέρος μιας νεότερης φάσης στην εξέλιξη της φυτοπροστασίας, όπου η έμφαση μετατοπίζεται προς μεγαλύτερη εκλεκτικότητα, μικρότερη περιβαλλοντική επιβάρυνση και ενισχυμένη βιοασφάλεια. Η σχετική συζήτηση δείχνει ότι η ιστορική πορεία των φυτοφαρμάκων δεν έχει ολοκληρωθεί, αλλά συνεχίζει να εξελίσσεται υπό την πίεση επιστημονικών, τεχνολογικών, περιβαλλοντικών και κανονιστικών παραγόντων (Huang et al., 2025).

Εικόνα 4. Σχηματική παρουσίαση διαδοχικών φάσεων στην εξέλιξη των φυτοφαρμάκων, από τα χημικά φυτοφάρμακα έως τις RNA-based βιοτεχνολογικές προσεγγίσεις (Πηγή: Huang et al., 2025)



Η ιστορική εξέλιξη των φυτοφαρμάκων δεν αφορά, επομένως, μόνο τη διαδοχή διαφορετικών χημικών κατηγοριών, αλλά και τη μεταβολή της φιλοσοφίας της φυτοπροστασίας. Από την αρχική έμφαση στην άμεση και ευρεία εξόντωση των επιβλαβών οργανισμών, η προσέγγιση μετατοπίστηκε προοδευτικά προς πιο επιλεκτικές, περισσότερο ρυθμιζόμενες και τεχνολογικά εξειδικευμένες λύσεις. Η ενσωμάτωση της τοξικολογικής αξιολόγησης, η καθιέρωση ανώτατων ορίων καταλοίπων, η ανάπτυξη ολοκληρωμένης διαχείρισης εχθρών και η συστηματική αξιολόγηση των περιβαλλοντικών επιπτώσεων μετασχημάτισαν ουσιαστικά τον τρόπο με τον οποίο αντιμετωπίζονται τα φυτοφάρμακα στη σύγχρονη γεωργία (Daraban et al., 2023; Mandal et al., 2023).

1.3 Ρόλος και αναγκαιότητα χρήσης στη σύγχρονη γεωργική παραγωγή

Στη σύγχρονη γεωργική παραγωγή τα φυτοφάρμακα αποτελούν ένα από τα βασικότερα μέσα διασφάλισης της ποσότητας, της ποιότητας και της εμπορικής σταθερότητας των αγροτικών προϊόντων. Η αναγκαιότητα χρήσης τους συνδέεται άμεσα με το γεγονός ότι οι καλλιέργειες εκτίθενται συνεχώς σε έντομα, φυτοπαθογόνους μικροοργανισμούς και ζιζάνια, τα οποία μπορούν να προκαλέσουν σοβαρές απώλειες τόσο στην απόδοση όσο και στην ποιότητα της παραγωγής. Στη διεθνή βιβλιογραφία αναφέρεται ότι οι απώλειες λόγω εχθρών και ασθενειών μπορούν να ανέλθουν σε ιδιαίτερα υψηλά ποσοστά, γεγονός που καθιστά την φυτοπροστασία κρίσιμο παράγοντα για τη σταθερότητα του αγροδιατροφικού συστήματος (FAO, 2017, όπως αναφέρεται στους Lykogianni et al., 2021· Tudi et al., 2021).

Η σημασία αυτή γίνεται ακόμη μεγαλύτερη αν ληφθεί υπόψη ότι η γεωργία καλείται να ανταποκριθεί στις ανάγκες ενός συνεχώς αυξανόμενου παγκόσμιου πληθυσμού, υπό συνθήκες περιορισμένης καλλιεργήσιμης γης, πίεσης στους φυσικούς πόρους και μεταβαλλόμενων κλιματικών συνθηκών. Έτσι, τα φυτοφάρμακα δεν λειτουργούν απλώς ως μέσα καταπολέμησης βλαπτικών οργανισμών, αλλά ως εργαλεία που συμβάλλουν στη σταθεροποίηση της παραγωγής και στη διατήρηση της αγροτικής οικονομικής βιωσιμότητας (Lykogianni et al., 2021· Tudi et al., 2021).

Η Εικόνα 5 αποτυπώνει εύστοχα το προαναφερθέν, καθώς από τη μία πλευρά, η χημική φυτοπροστασία παρουσιάζεται ως μέσο υποστήριξης της παραγωγής τροφίμων για έναν αυξανόμενο πληθυσμό και ως παράγοντας που μπορεί να συμβάλει στην περιβαλλοντική ασφάλεια όταν εφαρμόζεται ορθολογικά και από την άλλη πλευρά, τονίζεται ότι η συμβολή της στη βιωσιμότητα δεν είναι αυτονόητη, αλλά εξαρτάται από το ισχύον κανονιστικό πλαίσιο, τα κριτήρια έγκρισης, την ολοκληρωμένη διαχείριση εχθρών και τις επενδύσεις στην έρευνα και ανάπτυξη νέων δραστικών ουσιών και πιο ασφαλών εφαρμογών (Lykogianni et al., 2021). Επομένως, ο ρόλος των φυτοφαρμάκων στη σύγχρονη γεωργία δεν μπορεί να αποτιμηθεί μονοδιάστατα, αλλά μόνο σε συνάρτηση με τον τρόπο χρήσης τους.

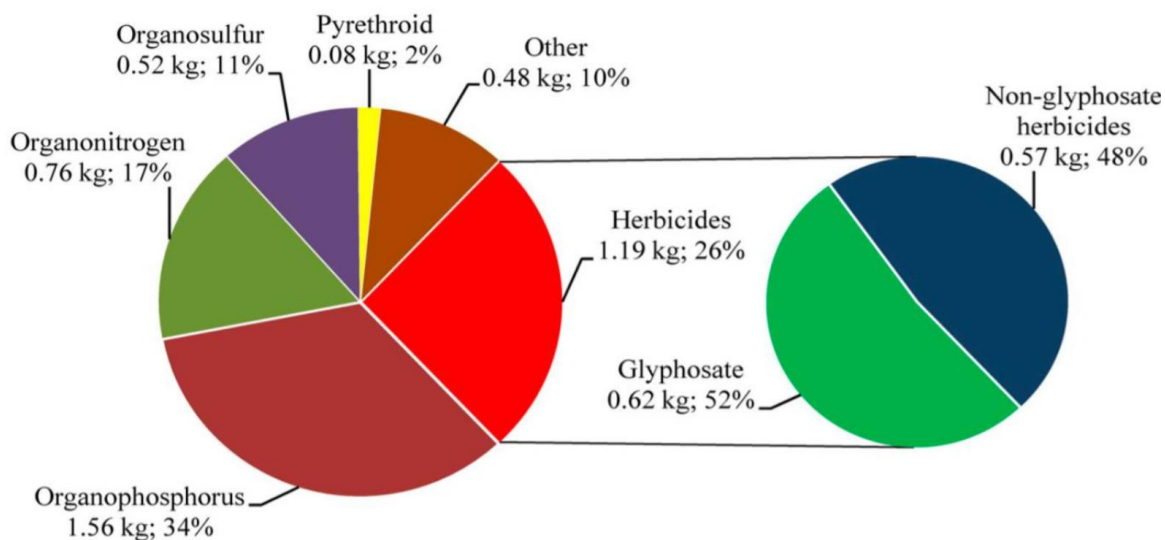
Εικόνα 5. Σχηματική αποτύπωση της σχέσης χημικής φυτοπροστασίας και βιωσιμότητας στη γεωργία (Πηγή: Lykogianni et al., 2021)



Παράλληλα, η αναγκαιότητα των φυτοφαρμάκων σχετίζεται και με την προστασία της εμπορικής ποιότητας των προϊόντων καθώς στις αγορές τροφίμων δεν αρκεί μόνο η ύπαρξη επαρκούς παραγωγής, αλλά απαιτούνται προϊόντα υγιή, με περιορισμένες απώλειες κατά την αποθήκευση και μεταφορά και με χαρακτηριστικά που να ανταποκρίνονται στις απαιτήσεις των αλυσίδων διάθεσης. Η φυτοπροστασία, επομένως, επηρεάζει όχι μόνο την πρωτογενή απόδοση, αλλά και την μετασυλλεκτική σταθερότητα και τελικά την οικονομική αξία της παραγωγής (Tudi et al., 2021).

Στη σημερινή γεωργική πράξη, η χρήση των φυτοφαρμάκων δεν είναι ομοιογενής, αλλά διαφοροποιείται ανάλογα με το είδος της καλλιέργειας, το βιολογικό πρόβλημα που αντιμετωπίζεται στην εκάστοτε περίπτωση και τις τεχνολογικές επιλογές του παραγωγικού συστήματος. Η Εικόνα 6 δείχνει ότι σημαντικό ποσοστό της συνολικής χρήσης αφορά τα ζιζανιοκτόνα, ενώ ακολουθούν άλλες χημικές κατηγορίες με διαφορετικό μερίδιο συμμετοχής. Η εικόνα αυτή υπογραμμίζει ότι στη σύγχρονη παραγωγή ιδιαίτερη βαρύτητα έχει ο έλεγχος των ζιζανίων, γεγονός που συνδέεται με τον έντονο ανταγωνισμό τους προς τα καλλιεργούμενα φυτά για νερό, θρεπτικά στοιχεία, φως και χώρο (Tudi et al., 2021).

Εικόνα 6. Κατανομή βασικών κατηγοριών φυτοφαρμάκων στη γεωργική χρήση, με έμφαση στη συμμετοχή των ζιζανιοκτόνων (Πηγή: Tudi et al., 2021)



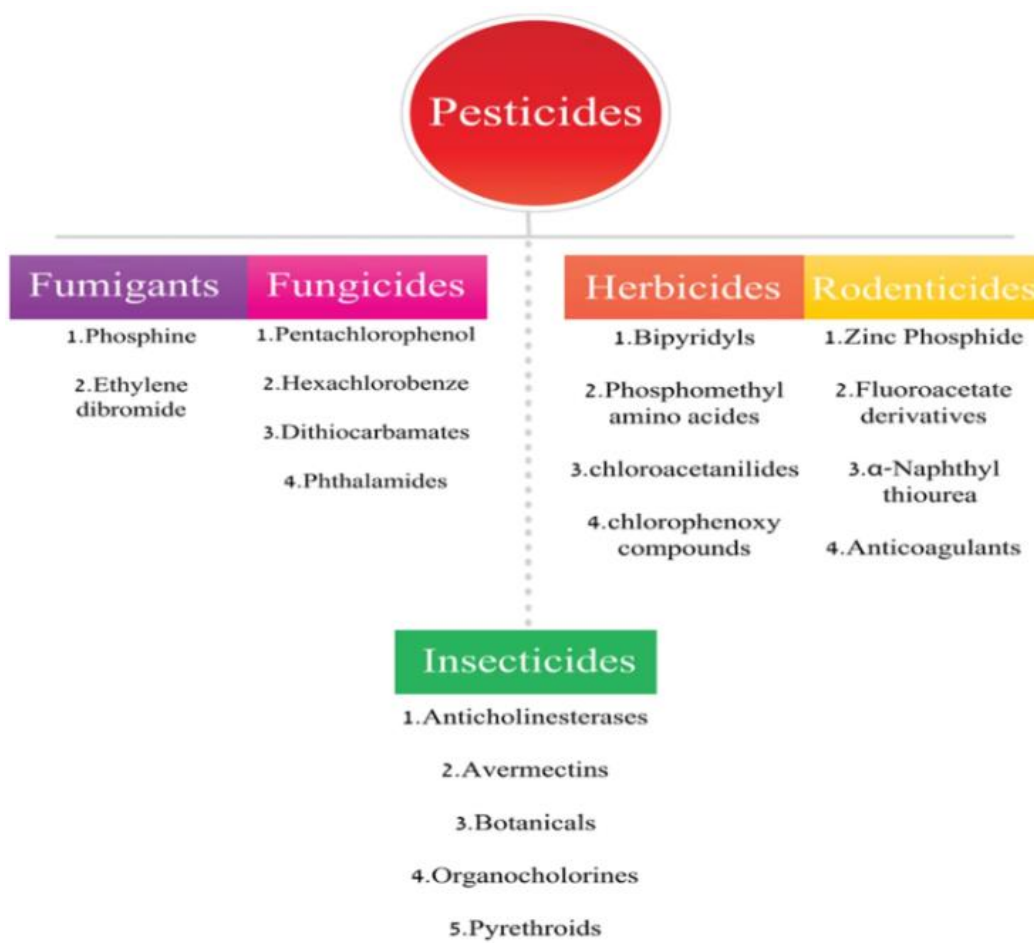
Ωστόσο, η αναγκαιότητα χρήσης των φυτοφαρμάκων δεν αναιρεί τις επιφυλάξεις που συνδέονται με τις επιδράσεις τους στο περιβάλλον και την υγεία. Απεναντίας, ακριβώς επειδή αποτελούν ουσίες βιολογικά δραστικές, η σύγχρονη γεωργία καλείται να ισορροπήσει ανάμεσα στην ανάγκη αποτελεσματικής φυτοπροστασίας και στην απαίτηση για ασφαλή και βιώσιμη παραγωγή. Συνεπώς, στη σύγχρονη προσέγγιση δεν προάγεται η αλόγιστη αύξηση της χρήσης τους, αλλά η ορθολογική και επιστημονικά τεκμηριωμένη εφαρμογή τους, μέσα από αυστηρή έγκριση δραστικών ουσιών, τήρηση ορθών γεωργικών πρακτικών, παρακολούθηση υπολειμμάτων και ενσωμάτωση των αρχών της ολοκληρωμένης φυτοπροστασίας (Lykogianni et al., 2021).

1.4 Ταξινόμηση των φυτοφαρμάκων ανάλογα με τον στόχο δράσης

Η ταξινόμηση των φυτοφαρμάκων με βάση τον στόχο δράσης αποτελεί μία από τις πιο λειτουργικές και ευρέως χρησιμοποιούμενες προσεγγίσεις καθώς συνδέει άμεσα κάθε δραστική ουσία με το βιολογικό πρόβλημα που καλείται να αντιμετωπίσει. Με αυτό το κριτήριο, τα φυτοφάρμακα διακρίνονται σε κατηγορίες όπως εντομοκτόνα, ζιζανιοκτόνα, μυκητοκτόνα, ακαρεοκτόνα, νηματωδοκτόνα και άλλες επιμέρους ομάδες, όπως τρωκτικοκτόνα, απολυμαντικά εδάφους, μαλακιοκτόνα και βακτηριοκτόνα (Akashe et al., 2018; Abdollahdokht et al., 2022). Η ταξινόμηση αυτή δεν είναι μόνο θεωρητική, αλλά έχει

ιδιαίτερη πρακτική σημασία, καθώς επηρεάζει την επιλογή της κατάλληλης δραστικής ουσίας, την ορθή χρήση στο πεδίο και, τελικά, τις αναλυτικές απαιτήσεις για τον προσδιορισμό των υπολειμμάτων τους σε τρόφιμα και περιβαλλοντικά δείγματα. Στην Εικόνα 7 παρουσιάζεται συνοπτικά η βασική διάκριση των φυτοφαρμάκων σύμφωνα με τον οργανισμό-στόχο.

Εικόνα 7. Γενική ταξινόμηση των φυτοφαρμάκων με βάση τον οργανισμό-στόχο (Πηγή: Abdollahdokht et al., 2022)



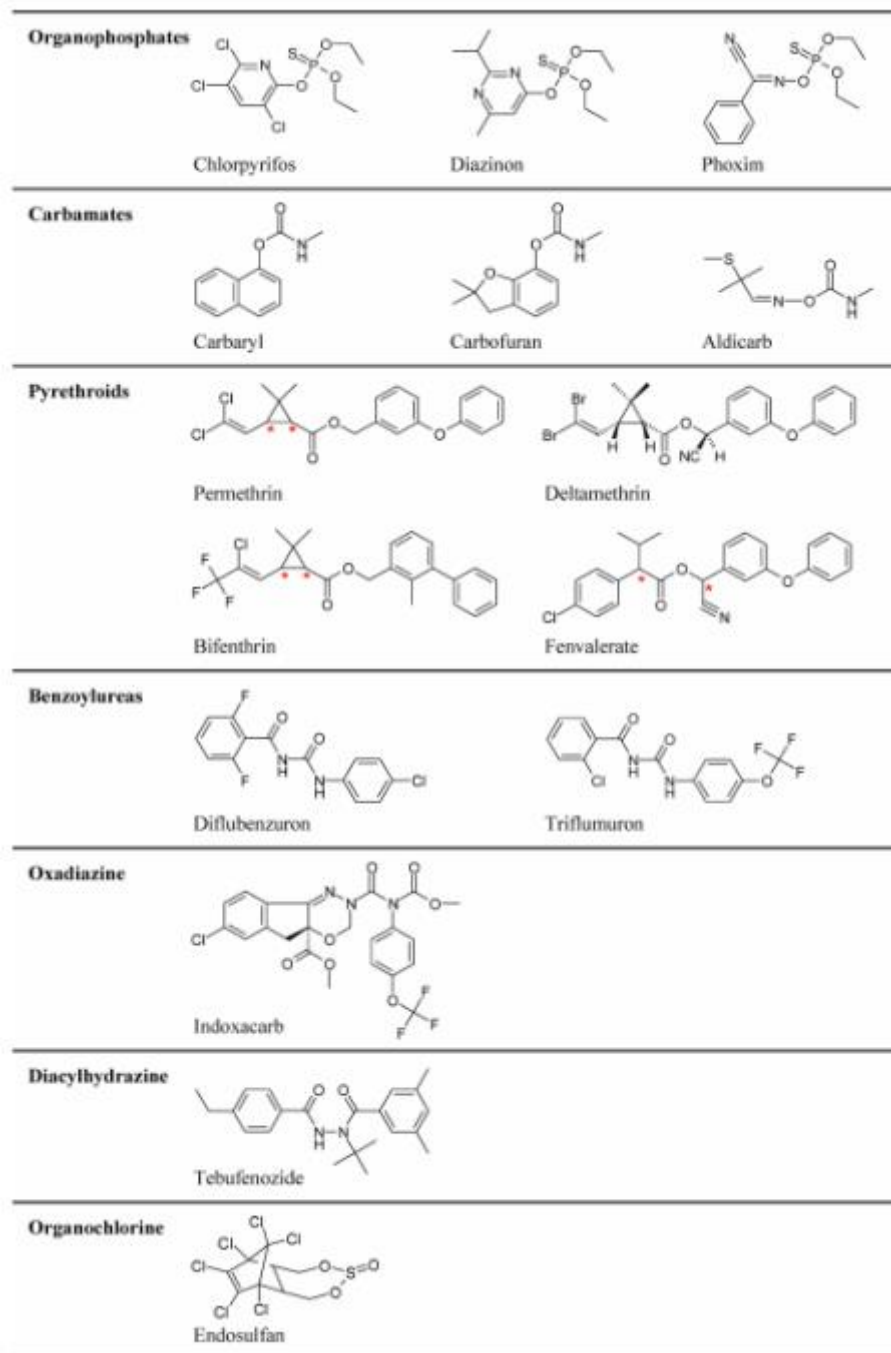
Παρατηρείται λοιπόν ότι ο κύριος κορμός της ταξινόμησης περιλαμβάνει τα υποκαπνιστικά, τα μυκητοκτόνα, τα ζιζανιοκτόνα, τα τρωκτικοκτόνα και τα εντομοκτόνα, γεγονός που αποτυπώνει το εύρος των εφαρμογών της σύγχρονης φυτοπροστασίας και τη σύνδεσή της με διαφορετικά είδη βιολογικών κινδύνων στις καλλιέργειες και στα αποθηκευμένα προϊόντα (Abdollahdokht et al., 2022).

1.4.1 Εντομοκτόνα

Τα εντομοκτόνα είναι φυτοφάρμακα που χρησιμοποιούνται για την εξόντωση, την απώθηση ή την αναστολή της ανάπτυξης εντόμων που προσβάλλουν τις καλλιέργειες ή τα αποθηκευμένα προϊόντα και αποτελούν μία από τις σημαντικότερες κατηγορίες φυτοφαρμάκων, επειδή τα έντομα μπορούν να προκαλέσουν άμεσες ζημιές στους φυτικούς ιστούς, να υποβαθμίσουν την ποιότητα της παραγωγής και να λειτουργήσουν ως φορείς φυτοπαθογόνων οργανισμών (Akashe et al., 2018; Abdollahdokht et al., 2022).

Η ομάδα αυτή περιλαμβάνει τα οργανοφωσφορικά, τα καρβαμιδικά, τα πυρεθροειδή και τα νεονικοτινοειδή, ενώ στη σύγχρονη βιβλιογραφία αναφέρονται επίσης ειδικότερες κατηγορίες όπως οι αβερμεκτίνες, οι σπινোসύνες και οι ρυθμιστές ανάπτυξης εντόμων (Akashe et al., 2018; Abdollahdokht et al., 2022).

Εικόνα 8. Αντιπροσωπευτικές χημικές δομές βασικών κατηγοριών εντομοκτόνων, όπως οργανοφωσφορικά, καρβαμικά, πυρεθροειδή, βενζοϋλουρίες, οξαδιαζίνες, διακυλδραζίνες και οργανοχλωριωμένα (Πηγή: Farnsworth et al., 2010)



Η σημασία τους στη γεωργία είναι ιδιαίτερα μεγάλη, αλλά ταυτόχρονα η χρήση τους συνδέεται με ζητήματα τοξικότητας, ανάπτυξης ανθεκτικότητας και παρουσίας

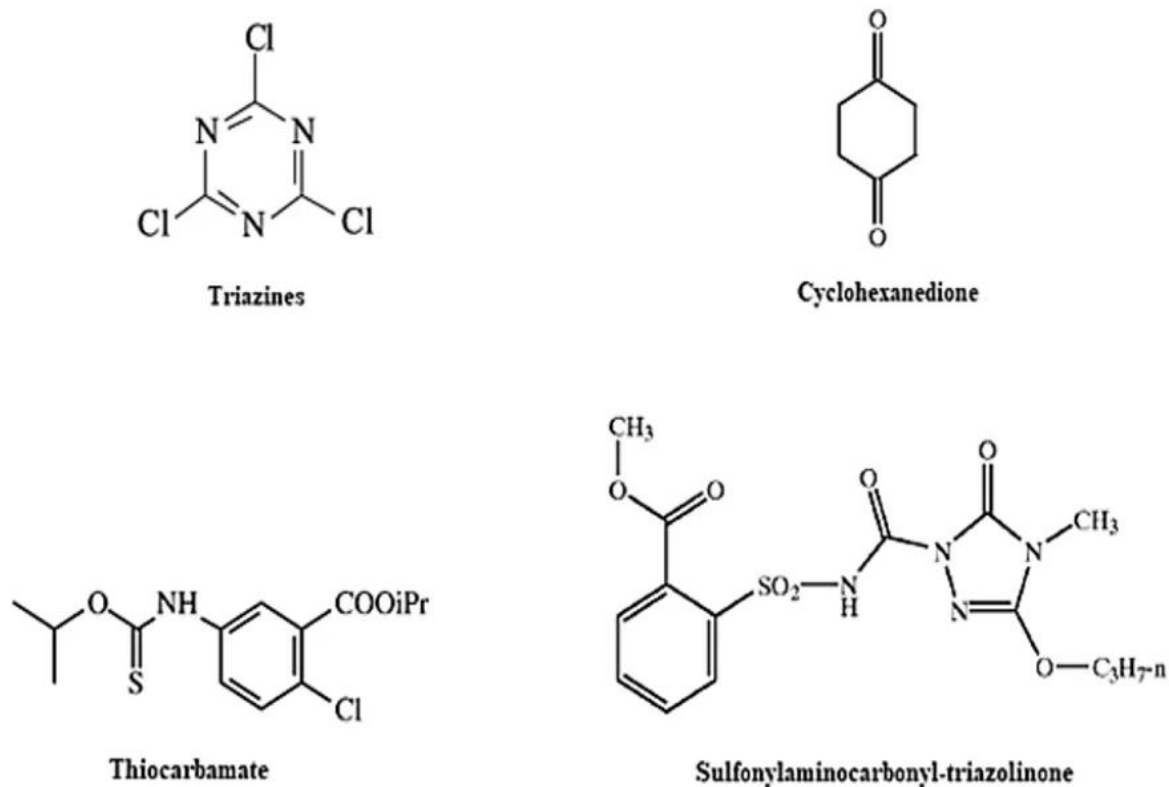
υπολειμμάτων, στοιχεία που καθιστούν κρίσιμο τον αξιόπιστο αναλυτικό τους προσδιορισμό.

1.4.2 Ζιζανιοκτόνα

Τα ζιζανιοκτόνα είναι οι ουσίες που χρησιμοποιούνται για την καταστροφή ή την αναστολή της ανάπτυξης ανεπιθύμητων φυτών, δηλαδή των ζιζανίων, τα οποία ανταγωνίζονται τις καλλιέργειες για νερό, θρεπτικά στοιχεία, φως και διαθέσιμο χώρο. Στη σύγχρονη γεωργική παραγωγή τα ζιζανιοκτόνα κατέχουν ιδιαίτερα σημαντική θέση, επειδή ο έλεγχος των ζιζανίων αποτελεί βασική προϋπόθεση για τη διατήρηση της απόδοσης και της ποιότητας των προϊόντων (Akashe et al., 2018; Tudi et al., 2021).

Ανάλογα με τον τρόπο δράσης τους, τα ζιζανιοκτόνα μπορεί να είναι εκλεκτικά ή μη εκλεκτικά, προφυτρωτικά ή μεταφυτρωτικά, επαφής ή διασυστηματικά. Στις κύριες χημικές τους ομάδες περιλαμβάνονται οι φαινοξυοξικές ενώσεις, οι τριαζίνες, οι σουλφονουλουρίες, οι διπυριδυλικές ενώσεις και τα παράγωγα της γλυφοσάτης (Akashe et al., 2018; Abdollahdokht et al., 2022).

Εικόνα 9. Παραδείγματα χημικών δομών ζιζανιοκτόνων που ανήκουν στις κατηγορίες των τριαζινών, των κυκλοεξανδινών, των θειοκαρβαμιδικών ενώσεων και των ενώσεων σουλφονυλαμινοκαρβονυλο-τριαζολινόνης. (Πηγή: Brêda-Alves et al., 2021)



Επειδή συχνά εφαρμόζονται σε μεγάλη κλίμακα και σε υψηλές ποσότητες σε σχέση με άλλες κατηγορίες φυτοφαρμάκων, τα ζιζανιοκτόνα καταλαμβάνουν κεντρική θέση τόσο σε έρευνες σχετικά με τη γεωργική αποτελεσματικότητα όσο και στη συζήτηση για τη διασπορά υπολειμμάτων στο περιβάλλον. Η δομική αυτή ετερογένεια που έχουν, επηρεάζει τις φυσικοχημικές ιδιότητες, τη συμπεριφορά στο περιβάλλον και τις απαιτήσεις του αναλυτικού προσδιορισμού, στοιχείο ιδιαίτερα σημαντικό για τις χρωματογραφικές τεχνικές σε σύζευξη με φασματομετρία μάζας.

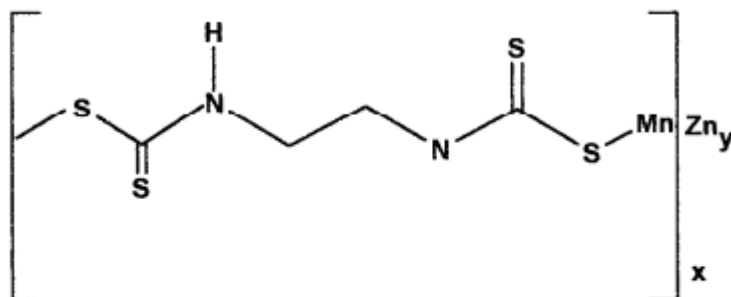
1.4.3 Μυκητοκτόνα

Τα μυκητοκτόνα είναι οι δραστικές ουσίες που χρησιμοποιούνται για την πρόληψη, την καταστολή ή την εξάλειψη μυκητολογικών προσβολών στα φυτά. Οι μυκητολογικές ασθένειες αποτελούν σημαντικό αίτιο υποβάθμισης της φυτικής παραγωγής, τόσο ως προς

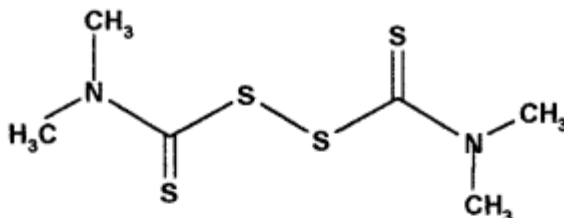
την απόδοση όσο και ως προς τη διατηρησιμότητα και εμπορική αξία των προϊόντων. Για τον λόγο αυτό, τα μυκητοκτόνα έχουν αποκτήσει ιδιαίτερη σημασία στη φυτοπροστασία πολλών δένδρων, κηπευτικών και αροτραίων καλλιεργειών (Akashe et al., 2018; Abdollahdokht et al., 2022).

Η κατηγορία αυτή περιλαμβάνει ανόργανες ενώσεις, όπως ενώσεις του χαλκού και του θείου, αλλά και νεότερες οργανικές ουσίες, όπως οι διθειοκαρβαμιδικές ενώσεις, οι φθαλιμίδες, οι βενζιμιδαζόλες, οι τριαζόλες, οι στρομπιλουρίνες και οι αναστολείς της αφυδρογονάσης του ηλεκτρικού οξέος. Η εξέλιξη των μυκητοκτόνων που ορισμένες χημικές δομές τους υπάρχουν στην Εικόνα 10, συνδέθηκε ιστορικά με τη μετάβαση από πιο απλές και συχνά λιγότερο εκλεκτικές ενώσεις σε πιο δραστικά και εξειδικευμένα μόρια, με στόχο τη μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα και τη μικρότερη φυτοτοξικότητα (Abdollahdokht et al., 2022).

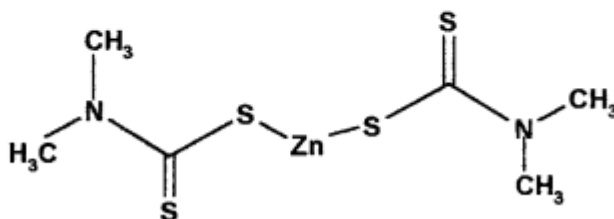
Εικόνα 10. Αντιπροσωπευτικές χημικές δομές διθειοκαρβαμιδικών μυκητοκτόνων, όπως τα mancozeb, thiram και ziram (Πηγή: Caldas et al., 2001)



Mancozeb [manganese ethylenebis (dithiocarbamate)
(polymeric) complex with zinc salt]



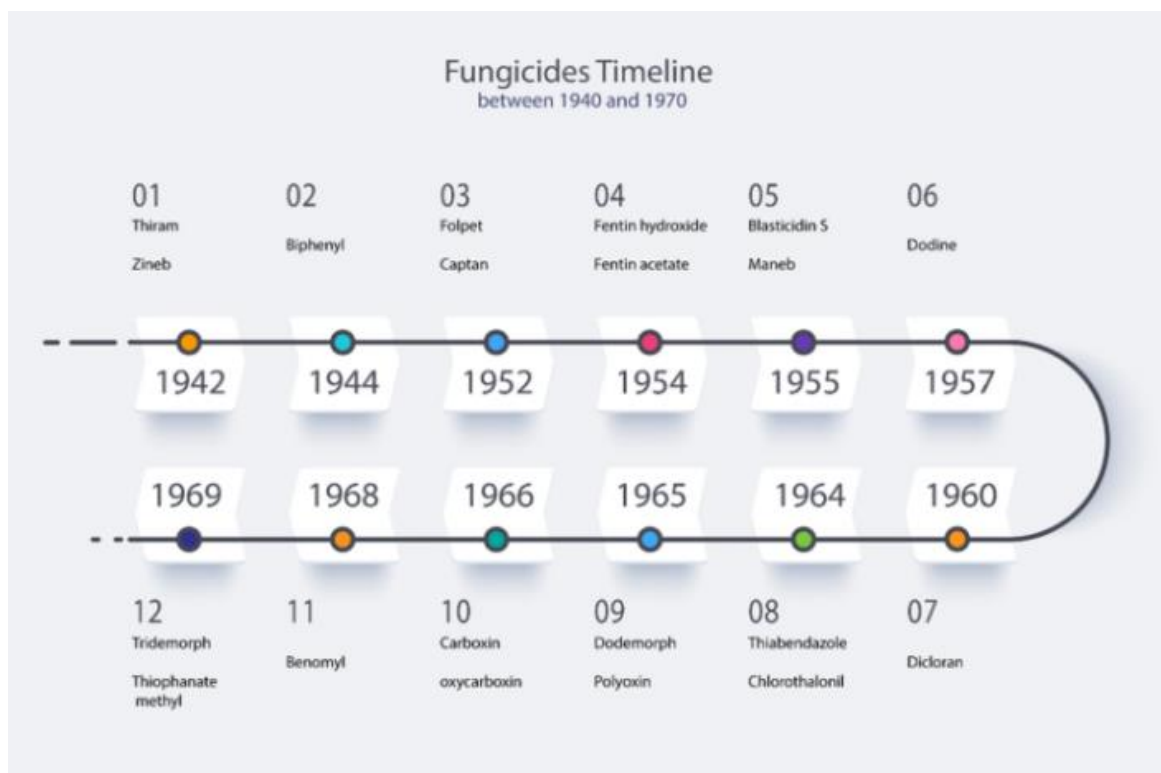
Thiram [tetramethyl thiuran disulfide]



Ziram [N,N-dimethyl dithiocarbamate zinc salt]

Στην Εικόνα 11 παρουσιάζονται βασικές κατηγορίες μυκητοκτόνων που εισήχθησαν μεταξύ 1940 και 1970 και φαίνεται πως κατά την περίοδο αυτή αναπτύχθηκαν διαδοχικά αρκετές νέες χημικές ομάδες, όπως τα διθειοκαρβαμιδικά, οι φθαλιμίδες και μεταγενέστερα οι βενζιμιδαζόλες, γεγονός που αποτυπώνει τη γρήγορη εξέλιξη της χημικής φυτοπροστασίας απέναντι στις μυκητολογικές ασθένειες.

Εικόνα 11. Βασικές κατηγορίες μυκητοκτόνων που εισήχθησαν την περίοδο 1940–1970 (Πηγή: Abdollahdokht et al., 2022)



Η ιστορική αυτή διεύρυνση της κατηγορίας των μυκητοκτόνων εξηγεί και το γιατί σήμερα ο αναλυτικός τους προσδιορισμός απαιτεί πολυπολεμιατικές μεθόδους με υψηλή εκλεκτικότητα και ευαισθησία.

1.4.4 Ακαρεοκτόνα

Τα ακαρεοκτόνα είναι φυτοπροστατευτικές ουσίες που στοχεύουν κυρίως στα ακάρεα και ιδιαίτερα στα φυτοφάγα ακάρεα, τα οποία μπορούν να προκαλέσουν εκτεταμένες ζημιές σε καλλιέργειες όπως τα οπωροφόρα, τα αμπέλια, τα κηπευτικά και τα ανθοκομικά είδη. Αν και συχνά συζητούνται μαζί με τα εντομοκτόνα, αποτελούν διακριτή κατηγορία, επειδή τα ακάρεα ανήκουν σε διαφορετική ζωολογική ομάδα και παρουσιάζουν ιδιαίτερες βιολογικές και οικολογικές ιδιαιτερότητες (Akashe et al., 2018).

Η σημασία των ακαρεοκτόνων έγκειται στο ότι οι προσβολές από ακάρεα μπορούν να επηρεάσουν σοβαρά τη φωτοσυνθετική ικανότητα των φυτών, να προκαλέσουν ποιοτική υποβάθμιση και να οδηγήσουν σε μείωση της εμπορικής αξίας της παραγωγής. Για τον λόγο

αυτό, απαιτούνται εξειδικευμένες δραστικές ουσίες, οι οποίες να είναι αποτελεσματικές απέναντι στα ακάρεα και ταυτόχρονα συμβατές με τα ευρύτερα προγράμματα φυτοπροστασίας.

1.4.5 Νηματωδοκτόνα και λοιπές κατηγορίες

Τα νηματωδοκτόνα χρησιμοποιούνται για την αντιμετώπιση φυτοпараσιτικών νηματωδών, δηλαδή μικροσκοπικών οργανισμών του εδάφους που προσβάλλουν κυρίως το ριζικό σύστημα των φυτών και μπορούν να προκαλέσουν σοβαρές απώλειες σε ευαίσθητες καλλιέργειες. Η κατηγορία αυτή έχει ιδιαίτερη σημασία στις δενδρώδεις καλλιέργειες, στα λαχανικά και στις εντατικές μορφές παραγωγής, όπου η προσβολή από νηματώδεις μπορεί να είναι δύσκολο να ελεγχθεί με άλλα μέτρα (Akashe et al., 2018).

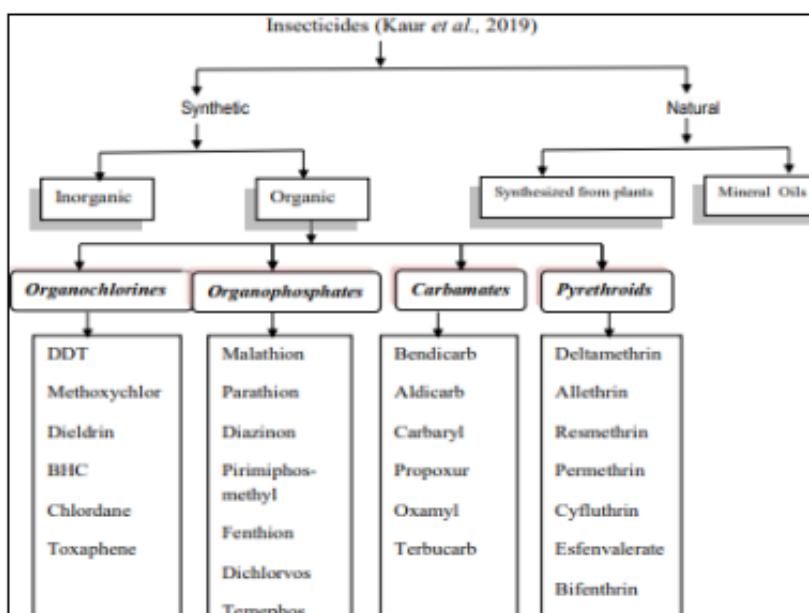
Πέρα από τις παραπάνω κύριες ομάδες, υπάρχουν και άλλες κατηγορίες φυτοφαρμάκων που ταξινομούνται επίσης ανάλογα με τον οργανισμό-στόχο ή τη λειτουργία τους. Σε αυτές περιλαμβάνονται τα τρωκτικοκτόνα για τον έλεγχο τρωκτικών, τα μαλακιοκτόνα για σαλιγκάρια και γυμνοσάλιαγκες, τα βακτηριοκτόνα για βακτηριακές προσβολές, τα υποκαπνιστικά για απολύμανση εδάφους ή αποθηκευτικών χώρων, καθώς και ειδικές ουσίες όπως οι απωθητικές ενώσεις, οι ελκυστικές ουσίες και οι ρυθμιστές ανάπτυξης φυτών ή εντόμων (Akashe et al., 2018; Abdollahdokht et al., 2022). Παρότι ορισμένες από αυτές τις κατηγορίες έχουν μικρότερη έκταση εφαρμογής σε σχέση με τα εντομοκτόνα, τα ζιζανιοκτόνα και τα μυκητοκτόνα, παραμένουν ουσιώδεις σε εξειδικευμένα προγράμματα φυτοπροστασίας και διευρύνουν το φάσμα των ενώσεων που είναι δυνατόν να αναζητηθούν σε αναλυτικές εφαρμογές.

1.5 Χημική ταξινόμηση των φυτοφαρμάκων

Η χημική ταξινόμηση των φυτοφαρμάκων αποτελεί θεμελιώδη άξονα στη μελέτη τους, καθώς δεν αφορά μόνο τη δομή των δραστικών ουσιών, αλλά συνδέεται άμεσα με τη βιολογική τους δράση, τη σταθερότητά τους, τη συμπεριφορά τους στις διάφορες περιβαλλοντικές μήτρες, καθώς και με την επιλογή των κατάλληλων αναλυτικών τεχνικών για τον προσδιορισμό τους. Η χημική οικογένεια στην οποία ανήκει ένα φυτοφάρμακο επηρεάζει σημαντικά ιδιότητες όπως η πολικότητα, η πτητικότητα, η θερμική αντοχή, η

υδατοδιαλυτότητα και η λιποφιλία (Sandín-España & Dagnac, 2023) ενώ παράλληλα, η κατανόηση της χημικής τους ταξινόμησης επιτρέπει τη συστηματική προσέγγιση των διαφορετικών ομάδων ουσιών που χρησιμοποιούνται στη γεωργική πράξη. Στο πλαίσιο της γενικής χημικής ταξινόμησης των φυτοφαρμάκων, διακρίνονται ορισμένες βασικές ομάδες που κυριάρχησαν ιστορικά αλλά και εξακολουθούν να έχουν σημασία στη σύγχρονη φυτοπροστασία και φαίνονται στην Εικόνα 12.

Εικόνα 12. Βασική ταξινόμηση των κυριότερων τύπων φυτοφαρμάκων που χρησιμοποιούνται σήμερα, με έμφαση στις σημαντικότερες χημικές ομάδες των εντομοκτόνων (Πηγή: Misra & Srivastava, 2025)



1.5.1 Οργανοχλωριωμένα

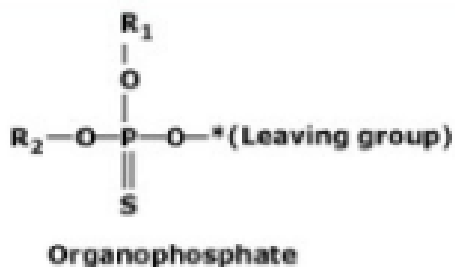
Τα οργανοχλωριωμένα φυτοφάρμακα υπήρξαν από τις πρώτες μεγάλες κατηγορίες συνθετικών οργανικών φυτοπροστατευτικών ουσιών που χρησιμοποιήθηκαν σε ευρεία κλίμακα. Η βασική τους χημική ιδιαιτερότητα είναι η παρουσία πολλαπλών ατόμων χλωρίου στο μόριο, στοιχείο που σχετίζεται με τη μεγάλη σταθερότητά τους και τη σημαντική αντοχή τους στη βιολογική και χημική αποδόμηση. Στην κατηγορία αυτή ανήκουν ενώσεις όπως το DDT, το lindane, το aldrin, το dieldrin, το endrin, το heptachlor και το endosulfan (Araújo et al., 2023; López-Benítez et al., 2024).

Η γεωργική και υγειονομική σημασία των οργανοχλωριωμένων υπήρξε ιστορικά πολύ μεγάλη, επειδή οι ενώσεις αυτές παρουσίασαν ισχυρή εντομοκτόνο δράση, μακρά διάρκεια αποτελεσματικότητας και υψηλή απόδοση σε σχετικά περιορισμένο αριθμό εφαρμογών. Ωστόσο, τα ίδια χαρακτηριστικά που τα κατέστησαν αποτελεσματικά ως φυτοπροστατευτικά μέσα συνδέθηκαν αργότερα με σοβαρά περιβαλλοντικά προβλήματα. Η έντονη λιποφιλία τους, η εμμονή τους στο περιβάλλον και η τάση τους για βιοσυσσώρευση οδήγησαν σε ανίχνευσή τους σε έδαφος, ύδατα, ιζήματα, φυτικούς και ζωικούς ιστούς ακόμη και πολλά χρόνια μετά τον περιορισμό ή την απαγόρευσή τους (López-Benítez et al., 2024). Για τον λόγο αυτό, τα οργανοχλωριωμένα αποτελούν σήμερα περισσότερο ομάδα ιστορικής και περιβαλλοντικής σημασίας, αν και εξακολουθούν να έχουν υψηλό αναλυτικό ενδιαφέρον λόγω της παραμένουσας παρουσίας τους σε διάφορες μήτρες.

1.5.2 Οργανοφωσφορικά

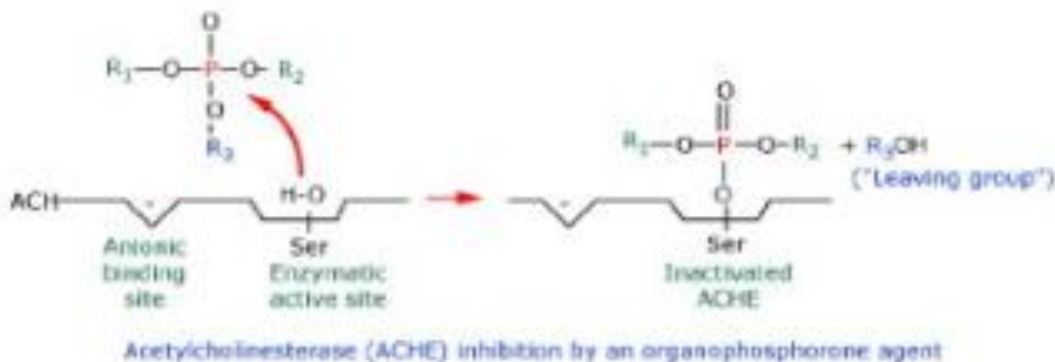
Τα οργανοφωσφορικά φυτοφάρμακα αποτέλεσαν μία από τις σημαντικότερες χημικές κατηγορίες που επικράτησαν μετά τη σταδιακή υποχώρηση πολλών οργανοχλωριωμένων ενώσεων. Χημικά, πρόκειται για παράγωγα του φωσφορικού, φωσφονικού, φωσφινικού ή θειοφωσφορικού οξέος και περιλαμβάνουν δραστικές ουσίες όπως το chlorpyrifos, το diazinon, το malathion, το parathion, το acephate και το dimethoate (Araújo et al., 2023; López-Benítez et al., 2024). Η γενική δομή τους όπως φαίνεται στην Εικόνα 13, βασίζεται στην παρουσία ατόμου φωσφόρου συνδεδεμένου με διαφορετικές οργανικές ομάδες και με μία αποχωρούσα ομάδα, στοιχείο που σχετίζεται άμεσα με τη χημική τους δραστηριότητα και τον βιολογικό τους μηχανισμό. Για τον λόγο αυτό, τα οργανοφωσφορικά συνδέθηκαν ιστορικά με υψηλή εντομοκτόνο αποτελεσματικότητα και ευρεία χρήση σε πολλές καλλιέργειες, ενώ ταυτόχρονα εμφάνισαν μικρότερη περιβαλλοντική εμμονή σε σύγκριση με τα οργανοχλωριωμένα.

Εικόνα 13. Γενική χημική δομή των οργανοφωσφορικών ενώσεων (Πηγή: Κουτρουλάκης, 2018)



Ο βασικός μηχανισμός τοξικής δράσης των οργανοφωσφορικών συνίσταται στην αναστολή της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE), του ενζύμου που φυσιολογικά υδρολύει την ακετυλοχολίνη στις νευρικές συνάψεις. Όταν το οργανοφωσφορικό δεσμεύεται στο ενεργό κέντρο της AChE, σχηματίζεται φωσφορυλιωμένο σύμπλοκο, το οποίο παρεμποδίζει τη φυσιολογική αποδόμηση του νευροδιαβιβαστή. Ως αποτέλεσμα, η ακετυλοχολίνη συσσωρεύεται στις συνάψεις και προκαλεί παρατεταμένη διέγερση των χολινεργικών υποδοχέων, με συνέπειες στη λειτουργία των σκελετικών μυών, των λείων μυών και των εξωκρινών αδένων. Η Εικόνα 14 αποδίδει ακριβώς αυτή τη διαδικασία, δείχνοντας τη σύνδεση του οργανοφωσφορικού παράγοντα με τη σερινική θέση του ενζύμου και την ταυτόχρονη αποχώρηση της χαρακτηριστικής αποχωρούσας ομάδας. Σε ορισμένες περιπτώσεις, το αρχικό αυτό σύμπλοκο υφίσταται περαιτέρω σταθεροποίηση μέσω της διαδικασίας που αναφέρεται ως «γήρανση» (aging), με αποτέλεσμα η αναστολή να γίνεται ουσιαστικά περισσότερο ανθεκτική στην επανενεργοποίηση του ενζύμου.

Εικόνα 14. Σχηματική αναπαράσταση της αναστολής της ακετυλοχολινεστεράσης από οργανοφωσφορικό παράγοντα (Πηγή: Κουτρουλάκης, 2018)



Από αναλυτική άποψη, τα οργανοφωσφορικά παρουσιάζουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον, επειδή οι ενώσεις της κατηγορίας δεν είναι ομοιογενείς ως προς τις φυσικοχημικές τους ιδιότητες. Διαφέρουν ως προς την πολικότητα, τη λιποφιλία, τη διαλυτότητα, τη θερμική σταθερότητα και τη συμπεριφορά τους σε διαφορετικά περιβάλλοντα, γεγονός που επηρεάζει τόσο την περιβαλλοντική τους τύχη όσο και τον εργαστηριακό τους προσδιορισμό. Ορισμένες ενώσεις μπορούν να ανιχνεύονται ευκολότερα σε υδατικά δείγματα, ενώ άλλες εμφανίζουν μεγαλύτερη συνάφεια με λιπαρές ή σύνθετες οργανικές μήτρες. Έτσι, η ανάπτυξη αναλυτικών μεθόδων για τα οργανοφωσφορικά δεν είναι ενιαία, αλλά εξαρτάται από τη φύση της ουσίας και από το υπόστρωμα στο οποίο αναζητείται. Η συχνή παρουσία τους σε γεωργικά προϊόντα, επιφανειακά ύδατα και άλλα περιβαλλοντικά δείγματα εξηγεί γιατί αποτελούν βασικό αντικείμενο της σύγχρονης χημείας καταλοίπων και απαιτούν ευαίσθητες και αξιόπιστες τεχνικές προσδιορισμού (Sandín-España & Dagnac, 2023).

Παρά την ευρεία χρήση τους, τα οργανοφωσφορικά συνδέονται με σημαντικούς τοξικολογικούς κινδύνους για τον άνθρωπο και τους μη στοχευόμενους οργανισμούς, ακριβώς λόγω της δράσης τους στο χολινεργικό σύστημα. Για τον λόγο αυτό, η αξιολόγησή τους δεν περιορίζεται μόνο στην αποτελεσματικότητα έναντι των εχθρών των καλλιεργειών, αλλά επεκτείνεται και στη συμπεριφορά τους στο περιβάλλον, στην πιθανότητα έκθεσης μέσω τροφίμων και νερού, καθώς και στην ανάγκη συστηματικής παρακολούθησης των καταλοίπων τους. Στο πλαίσιο αυτό, η κατηγορία των οργανοφωσφορικών παραμένει ιδιαίτερα σημαντική τόσο για τη φυτοπροστασία όσο και για την αναλυτική και τοξικολογική επιστήμη.

1.5.3 Καρβαμιδικά

Τα καρβαμιδικά φυτοφάρμακα αποτελούν μία ακόμη σημαντική χημική κατηγορία, η οποία περιλαμβάνει ουσίες όπως τα carbaryl, carbofuran, aldicarb, methomyl και propoxur (Araújo et al., 2023; Garud et al., 2024). Αν και αρκετά από αυτά χρησιμοποιήθηκαν κυρίως ως εντομοκτόνα, η κατηγορία αυτή συνδέθηκε γενικότερα με ευρύ φάσμα εφαρμογών στη φυτοπροστασία. Τα καρβαμιδικά χαρακτηρίζονται από την παρουσία της καρβαμιδικής ομάδας, στοιχείο που τους προσδίδει κοινά χημικά και βιολογικά χαρακτηριστικά.

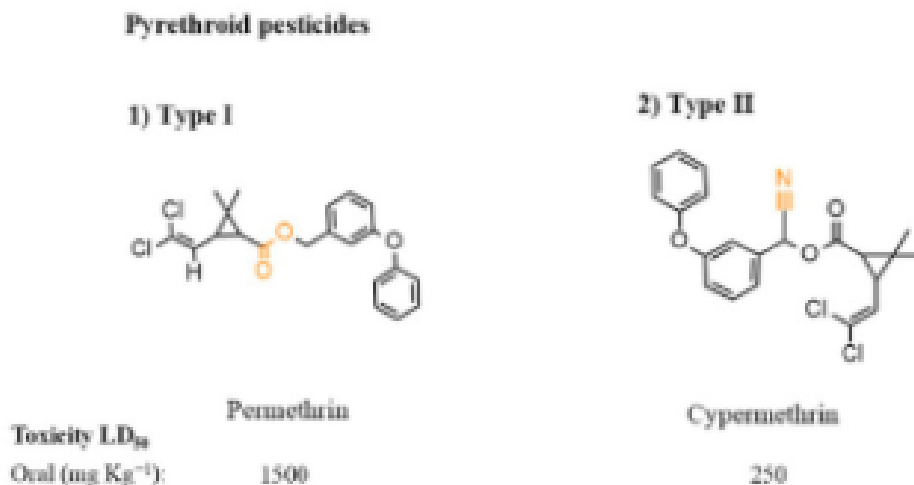
Από αναλυτική σκοπιά, τα καρβαμιδικά είναι ιδιαίτερα ενδιαφέροντα, επειδή ορισμένες ενώσεις τους εμφανίζουν ευαισθησία σε συγκεκριμένες συνθήκες προετοιμασίας δείγματος ή χρωματογραφικής ανάλυσης. Η συμπεριφορά τους μπορεί να επηρεάζεται από το pH, τη θερμοκρασία και το είδος του διαλύτη εκχύλισης, ενώ η παρουσία τους σε πολύπλοκες μήτρες απαιτεί προσεκτικό καθαρισμό δείγματος πριν από την τελική ανίχνευση (Sandín-España & Dagnac, 2023). Επομένως, παρότι πρόκειται για σαφώς καθορισμένη χημική ομάδα, η αναλυτική τους αντιμετώπιση δεν είναι πάντα απλή.

1.5.4 Πυρεθροειδή

Τα πυρεθροειδή αποτελούν συνθετικά ανάλογα των φυσικών πυρεθρινών, ουσιών που προέρχονται από φυτικά εκχυλίσματα του γένους *Chrysanthemum*. Η ανάπτυξή τους συνδέθηκε με την αναζήτηση ενώσεων με υψηλή εντομοκτόνο δράση αλλά και καλύτερη σταθερότητα σε σχέση με τις φυσικές πρόδρομες ουσίες. Στην κατηγορία αυτή περιλαμβάνονται ενώσεις όπως η permethrin, η cypermethrin, η deltamethrin, η bifenthrin και η fenvalerate (Araújo et al., 2023; Farnsworth et al., 2010).

Τα πυρεθροειδή διακρίνονται συνήθως σε τύπου I και τύπου II, με βάση τη χημική τους δομή και ιδιαίτερα την παρουσία ή όχι κυανομάδας όπως προκύπτει και από την Εικόνα 15. Επιπλέον, πολλά από αυτά εμφανίζουν στερεοϊσομέρεια ή γεωμετρική ισομέρεια, γεγονός που επηρεάζει τη βιολογική τους δραστηριότητα και τη σχετική τοξικότητα των επιμέρους μορφών τους. Η δομική διαφοροποίηση των πυρεθροειδών αποτυπώνεται χαρακτηριστικά στη διάκριση μεταξύ τύπου I και τύπου II, η οποία έχει ιδιαίτερη σημασία τόσο για τη βιολογική τους δράση όσο και για τη χημικοαναλυτική τους συμπεριφορά.

Εικόνα 15. Χημικές δομές και ενδεικτικές τιμές LD₅₀ ορισμένων πυρεθροειδών φυτοφαρμάκων τύπου I και τύπου II (Πηγή: López-Benítez et al., 2024)



Τα πυρεθροειδή έχουν ιδιαίτερη σημασία στη χημεία υπολειμμάτων, επειδή είναι συνήθως λιπόφιλα, υδρόφοβα και συχνά προσροφώνται σε οργανική ύλη ή ιζήματα. Παρά τη σχετικά μικρότερη περιβαλλοντική τους παραμονή σε σύγκριση με παλαιότερες κατηγορίες, συνδέονται με έντονη τοξικότητα σε υδρόβιους οργανισμούς και συχνά αποτελούν αντικείμενο παρακολούθησης σε επιφανειακά νερά και τρόφιμα (López-Benítez et al., 2024).

1.5.5 Νεονικοτινοειδή

Τα νεονικοτινοειδή είναι νεότερη κατηγορία εντομοκτόνων και χημικά παρουσιάζουν συγγένεια με τη νικοτίνη. Η ανάπτυξή τους από τη δεκαετία του 1990 και μετά συνδέθηκε με την ανάγκη για ιδιαίτερα δραστικές ενώσεις, αποτελεσματικές σε χαμηλές δόσεις και με συστηματική δράση μέσα στους φυτικούς ιστούς. Στα σημαντικότερα νεονικοτινοειδή περιλαμβάνονται οι imidacloprid, thiamethoxam, clothianidin, acetamiprid και thiacloprid (Araújo et al., 2023).

Η σημασία τους στη σύγχρονη γεωργία είναι μεγάλη, ιδίως για τον έλεγχο μυζητικών εντόμων, καθώς οι ουσίες αυτές μπορούν να προστατεύσουν διαφορετικά μέρη του φυτού μέσω της συστηματικής τους μεταφοράς. Παράλληλα όμως, η ομάδα αυτή έχει συνδεθεί με

έντονες επιστημονικές και ρυθμιστικές συζητήσεις αναφορικά με τις πιθανές επιδράσεις σε επικονιαστές και άλλους μη στόχους οργανισμούς. Ως αποτέλεσμα, τα νεονικοτινοειδή αποτελούν σήμερα μία από τις πιο χαρακτηριστικές ομάδες ουσιών που συνδυάζουν υψηλή γεωργική σημασία με έντονο ενδιαφέρον για παρακολούθηση υπολειμμάτων και αξιολόγηση κινδύνου (Araújo et al., 2023).

1.5.6 Τριαζίνες και άλλες σύγχρονες ενώσεις

Οι τριαζίνες αποτελούν χαρακτηριστική ομάδα ζιζανιοκτόνων, με γνωστότερο ίσως εκπρόσωπο την atrazine. Οι ενώσεις αυτές συνδέθηκαν με εκτεταμένες εφαρμογές στη διαχείριση ζιζανίων και έχουν ιδιαίτερη σημασία στην περιβαλλοντική χημεία λόγω της παρουσίας τους σε υδάτινα οικοσυστήματα και γεωργικές μήτρες (Brêda-Alves et al., 2021). Ωστόσο, η σύγχρονη χημική ταξινόμηση των φυτοφαρμάκων δεν περιορίζεται στις ιστορικά γνωστές κατηγορίες.

Στη σημερινή φυτοπροστασία απαντώνται επίσης χλωροακετανιλίδια, σουλφονυλουρίες, θειοκαρβαμιδικές ενώσεις, σουλφονυλαμινοκαρβονυλο-τριαζολινόνες, διαμίδες, αζόλες, στρομπιλουρίνες και SDHI μυκητοκτόνα, που αντιπροσωπεύουν την τάση προς ανάπτυξη όλο και πιο εξειδικευμένων ενώσεων με μικρότερες δόσεις εφαρμογής και συχνά πιο στοχευμένους μηχανισμούς δράσης (Umetsu & Shirai, 2020). Αυτό δείχνει ότι η χημική ταξινόμηση των φυτοφαρμάκων είναι ένα διαρκώς εξελισσόμενο πεδίο, στενά συνδεδεμένο με τη χημική και τεχνολογική πρόοδο.

1.6 Φυτικοχημικές ιδιότητες των φυτοφαρμάκων

Οι φυτικοχημικές ιδιότητες των φυτοφαρμάκων αποτελούν κρίσιμο παράγοντα για τη συμπεριφορά τους στο περιβάλλον, τη βιολογική τους δράση, αλλά και την ανίχνευση των υπολειμμάτων τους σε τρόφιμα, νερό και άλλα περιβαλλοντικά δείγματα. Η μεγάλη ποικιλία δραστικών ουσιών που χρησιμοποιούνται σήμερα χαρακτηρίζεται από σημαντικές διαφορές ως προς την πολικότητα, τη διαλυτότητα, την πτητικότητα, τη θερμική σταθερότητα και την ικανότητα προσρόφησης σε στερεές φάσεις, γεγονός που εξηγεί γιατί η μελέτη των φυτοφαρμάκων δεν μπορεί να στηρίζεται σε ένα ενιαίο φυτικοχημικό πρότυπο (Sandín-España & Dagnac, 2023).

Μία από τις βασικότερες ιδιότητες είναι η διαλυτότητα στο νερό, η οποία επηρεάζει άμεσα τη μεταφορά των φυτοφαρμάκων στα επιφανειακά και υπόγεια ύδατα. Ενώσεις με υψηλή υδατοδιαλυτότητα τείνουν να μετακινούνται ευκολότερα μέσω απορροής ή έκπλυσης, ενώ λιγότερο υδατοδιαλυτές ενώσεις παραμένουν συχνότερα προσροφημένες στο έδαφος ή στα αιωρούμενα σωματίδια. Παράλληλα, η λιποφιλικότητα, που συχνά εκφράζεται μέσω του συντελεστή κατανομής οκτανόλης/νερού (K_{ow}), σχετίζεται με την τάση μιας ουσίας να συσσωρεύεται σε οργανικές φάσεις και σε λιπαρούς ιστούς οργανισμών. Ιδίως τα οργανοχλωριωμένα φυτοφάρμακα είναι γνωστά για την αυξημένη λιποφιλικότητα και τη δυνατότητα βιοσυσσώρευσης, σε αντίθεση με άλλες κατηγορίες, όπως αρκετά οργανοφωσφορικά, που εμφανίζουν χαμηλότερη εμμόνη στο περιβάλλον (López-Benítez et al., 2024).

Εξίσου σημαντική είναι η πτητικότητα, η οποία συνδέεται με την τάση μιας ουσίας να μεταβαίνει από την υγρή ή στερεή φάση στην αέρια. Φυτοφάρμακα με υψηλή τάση ατμών μπορούν να διασπείρονται στην ατμόσφαιρα μετά την εφαρμογή τους, αυξάνοντας την πιθανότητα μεταφοράς τους σε απομακρυσμένες περιοχές. Η ιδιότητα αυτή σχετίζεται και με την αποτελεσματικότητα ορισμένων υποκαπνιστικών ουσιών, αλλά ταυτόχρονα αυξάνει τον κίνδυνο ακούσιας έκθεσης ανθρώπων και μη-στόχων οργανισμών. Η θερμική σταθερότητα είναι επίσης ουσιώδης, διότι καθορίζει αν μια ένωση μπορεί να αναλυθεί αξιόπιστα με τεχνικές όπως η αέρια χρωματογραφία ή αν απαιτούνται ηπιότερες συνθήκες, όπως στην υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (Sandín-España & Dagnac, 2023).

Άλλη καθοριστική ιδιότητα είναι ο χρόνος ημιζωής, δηλαδή η χρονική διάρκεια που απαιτείται ώστε η συγκέντρωση μιας ουσίας να μειωθεί κατά 50% μέσω χημικής, φωτοχημικής ή βιολογικής αποδόμησης. Ο χρόνος ημιζωής χρησιμοποιείται ως δείκτης εμμόνης. Ενώσεις με μεγάλο χρόνο ημιζωής παραμένουν περισσότερο στο περιβάλλον, διευκολύνοντας τη συσσώρευση και τη διασπορά τους. Αντίθετα, φυτοφάρμακα με ταχύτερη αποδόμηση θεωρούνται γενικά λιγότερο επίμονα, χωρίς αυτό να σημαίνει ότι είναι πάντοτε ακίνδυνα, καθώς μπορεί να παρουσιάζουν υψηλή οξεία τοξικότητα ή να σχηματίζουν δραστικούς μεταβολίτες (Garud et al., 2024).

Οι φυσικοχημικές αυτές παράμετροι συνδέονται άμεσα και με τη μήτρα ανάλυσης. Για παράδειγμα, λιπόφιλες ενώσεις ανιχνεύονται συχνότερα σε λιπαρά τρόφιμα και ιζήματα, ενώ περισσότερο πολικές ουσίες εμφανίζονται συχνότερα σε υδατικά δείγματα και φυτικούς ιστούς με υψηλή περιεκτικότητα σε νερό. Για τον λόγο αυτό, η ανάπτυξη

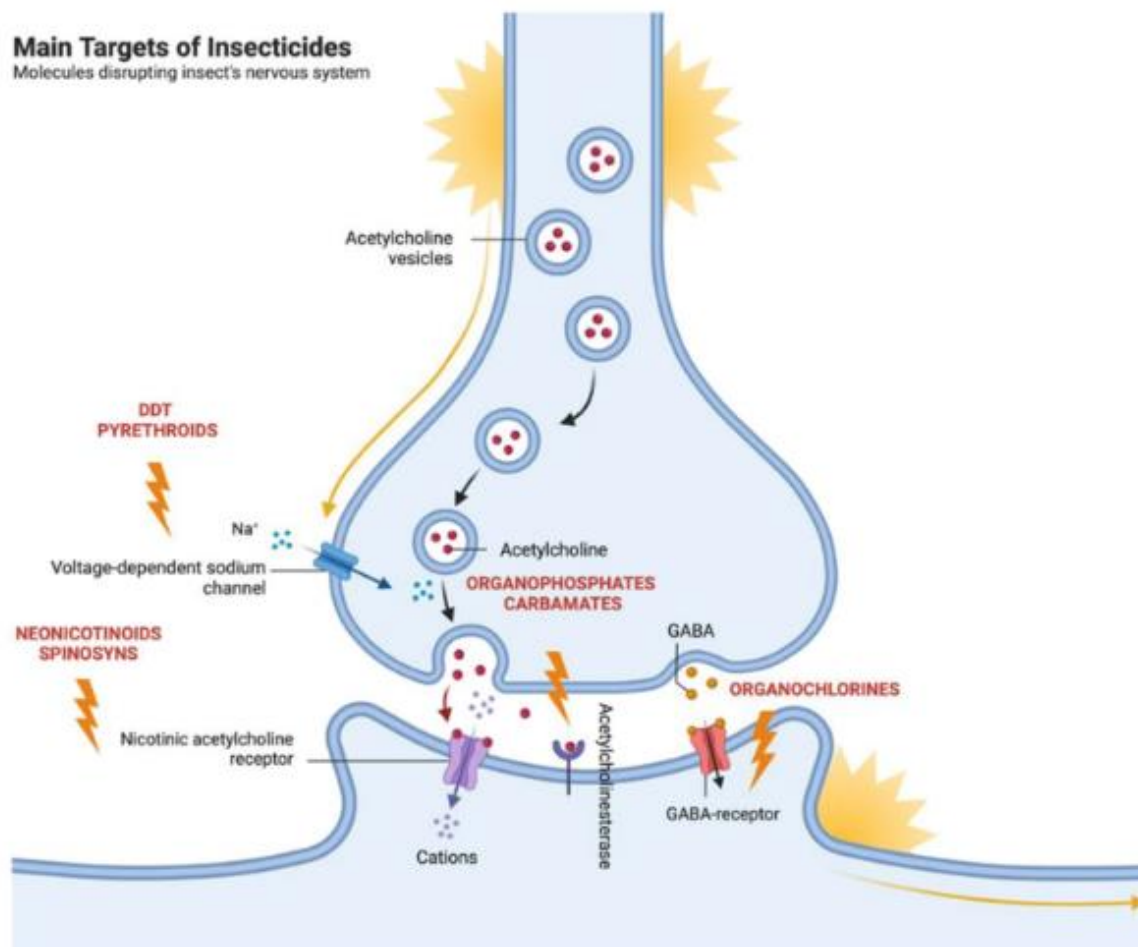
αναλυτικών μεθόδων για υπολείμματα φυτοφαρμάκων απαιτεί προσαρμογή τόσο στο είδος της ένωσης όσο και στο υπόστρωμα στο οποίο αναζητείται (Sandín-España & Dagnac, 2023).

1.7 Τρόπος δράσης και βασικοί μηχανισμοί τοξικότητας

Ο τρόπος δράσης των φυτοφαρμάκων εξαρτάται από την κατηγορία τους και από τον βιολογικό στόχο στον οποίο επιδρούν. Στην περίπτωση των εντομοκτόνων, οι συχνότεροι στόχοι είναι το νευρικό σύστημα, τα ιοντικά κανάλια και συγκεκριμένα ένζυμα που συμμετέχουν στη νευροδιαβίβαση. Τα οργανοφωσφορικά και τα καρβαμιδικά αναστέλλουν την ακετυλοχολινεστεράση, προκαλώντας συσσώρευση ακετυλοχολίνης. Τα πυρεθροειδή επιδρούν κυρίως στους διαύλους νατρίου, ενώ τα νεονικοτινοειδή δρουν στους νικοτινικούς υποδοχείς ακετυλοχολίνης (Araújo et al., 2023).

Η κατανόηση του τρόπου δράσης των εντομοκτόνων προϋποθέτει τη μελέτη των κύριων μοριακών στόχων τους στο νευρικό σύστημα των εντόμων. Κάθε χημική κατηγορία παρεμβαίνει σε διαφορετικά σημεία της νευρικής μετάδοσης, όπως στους διαύλους νατρίου, στην ακετυλοχολινεστεράση, στους υποδοχείς GABA και στους νικοτινικούς υποδοχείς της ακετυλοχολίνης. Στην Εικόνα 16 παρουσιάζονται σχηματικά οι βασικοί αυτοί στόχοι, καθώς και η αντιστοίχισή τους με τις σημαντικότερες κατηγορίες εντομοκτόνων, αναδεικνύοντας τη σχέση μεταξύ χημικής δομής, βιολογικής δράσης και τοξικολογικής συμπεριφοράς.

Εικόνα 16. Σχηματική απεικόνιση των βασικών μοριακών στόχων και των κυριότερων κατηγοριών εντομοκτόνων που διαταράσσουν το νευρικό σύστημα των εντόμων (Πηγή: Araujo et al., 2023).



Σε ό,τι αφορά τη τοξικότητα, οι επιδράσεις των φυτοφαρμάκων δεν περιορίζονται στον οργανισμό-στόχο. Ανάλογα με το είδος της ουσίας, τη δόση και τη διάρκεια έκθεσης, μπορεί να παρατηρηθούν νευροτοξικές, ηπατοτοξικές, νεφροτοξικές, γονοτοξικές, ενδοκρινικές ή αναπαραγωγικές επιδράσεις, ενώ επιπλέον, η έκθεση σε φυτοφάρμακα μπορεί να συνδέεται με οξειδωτικό στρες, μεταβολικές διαταραχές και δυσμενείς επιπτώσεις σε μη στόχους οργανισμούς, συμπεριλαμβανομένου του ανθρώπου (Garud et al., 2024; Misra & Srivastava, 2025). Για τον λόγο αυτό, η κατανόηση του τρόπου δράσης είναι σημαντική όχι μόνο για τη γεωργική αποτελεσματικότητα, αλλά και για την ερμηνεία του τοξικολογικού προφίλ των ουσιών.

1.8 Συσχέτιση φυτοφαρμάκων με το είδος της καλλιέργειας

Η παρουσία, η κατανομή και η παραμονή των φυτοφαρμάκων στις καλλιέργειες δεν είναι ομοιόμορφες, αλλά εξαρτώνται σε σημαντικό βαθμό από το είδος του φυτικού υλικού και από τα ιδιαίτερα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά της εκάστοτε μήτρας. Η μορφολογία του φυτικού ιστού, η περιεκτικότητα σε νερό, λιπίδια, κηρώδεις ουσίες, χλωροφύλλες, οργανικά οξέα, σάκχαρα, πρωτεΐνες και χρωστικές, καθώς και ο τρόπος και ο χρόνος εφαρμογής του φυτοφαρμάκου, αποτελούν κρίσιμους παράγοντες που επηρεάζουν τόσο τη συμπεριφορά των δραστικών ουσιών όσο και το τελικό επίπεδο των καταλοίπων που παραμένουν στο δείγμα (Sandín-España & Dagnac, 2023).

Από αναλυτική άποψη, η καλλιέργεια δεν αποτελεί απλώς το «υπόστρωμα» στο οποίο εφαρμόζεται το φυτοφάρμακο, αλλά μια σύνθετη χημική μήτρα, η οποία καθορίζει σε μεγάλο βαθμό την επιλογή της μεθόδου δειγματοληψίας, εκχύλισης, καθαρισμού και τελικού προσδιορισμού. Για παράδειγμα, τα φυλλώδη λαχανικά χαρακτηρίζονται από υψηλή επιφάνεια έκθεσης, παρουσία χλωροφύλλης και κηρωδών συστατικών στην επιδερμίδα, γεγονός που μπορεί να ευνοεί την προσρόφηση και συγκράτηση ορισμένων φυτοφαρμάκων, ιδιαίτερα όταν αυτά εφαρμόζονται με ψεκασμό. Αντίθετα, οι σαρκώδεις καρποί και τα υδαρή λαχανικά διαθέτουν υψηλότερη περιεκτικότητα σε νερό και διαφορετική κατανομή μεταβολιτών, γεγονός που επηρεάζει τόσο τη διείσδυση των ενώσεων όσο και την αποδοτικότητα της εκχύλισής τους στο εργαστήριο.

Ανάλογες διαφοροποιήσεις παρατηρούνται και μεταξύ φυτικών προϊόντων με αυξημένο λιπαρό περιεχόμενο, όπως οι ελαιούχοι σπόροι και ορισμένα προϊόντα ζωικής προέλευσης. Σε τέτοιες μήτρες, οι λιπόφιλες ενώσεις εμφανίζουν αυξημένη τάση κατακράτησης, λόγω της υψηλής τιμής του συντελεστή κατανομής οκτανόλης/νερού και της συγγένειάς τους προς τις οργανικές φάσεις. Αντίθετα, περισσότερο πολικές ενώσεις ή μεταβολίτες εμφανίζονται συχνότερα σε υδαρείς μήτρες, όπως φυτικοί χυμοί, επιφανειακά νερά ή εκχυλίσματα νωπών φυτικών ιστών. Η διαφοροποίηση αυτή έχει ιδιαίτερη σημασία στην ανάλυση καταλοίπων, καθώς η χημική φύση του αναλύτη και η σύσταση της μήτρας αλληλεπιδρούν άμεσα και καθορίζουν τόσο την ανάκτηση όσο και την αξιοπιστία του ποσοτικού προσδιορισμού.

Επιπλέον, το είδος της καλλιέργειας συνδέεται στενά με τη χρήση συγκεκριμένων κατηγοριών φυτοφαρμάκων. Διαφορετικές καλλιέργειες υπόκεινται σε διαφορετικές

φυτοπροστατευτικές ανάγκες, ανάλογα με τους εχθρούς, τα παθογόνα και τα ζιζάνια που τις προσβάλλουν. Έτσι, σε δενδρώδεις καλλιέργειες και αμπελοκαλλιέργειες απαντώνται συχνά μυκητοκτόνα, λόγω της ιδιαίτερης πίεσης από μυκητολογικές προσβολές, ενώ σε αροτραίες ή εκτατικές καλλιέργειες εμφανίζονται συχνότερα ζιζανιοκτόνα. Αντίστοιχα, σε προϊόντα που υπόκεινται σε μετασυλλεκτική προστασία ή μακροχρόνια αποθήκευση ενδέχεται να ανιχνευθούν ενώσεις με διαφορετικό προφίλ χρήσης σε σχέση με νωπά οπωροκηπευτικά. Κατά συνέπεια, η αναμενόμενη ομάδα αναλυτών δεν καθορίζεται μόνο από τη χημική ταξινόμηση των φυτοφαρμάκων, αλλά και από το ίδιο το γεωργικό σύστημα στο οποίο εφαρμόζονται.

Η σχέση αυτή μεταξύ καλλιέργειας και καταλοίπων αποκτά ιδιαίτερη σημασία κατά την ανάπτυξη και επικύρωση αναλυτικών μεθόδων. Στην πράξη, δεν είναι δυνατόν να εφαρμοστεί αδιακρίτως η ίδια διαδικασία σε όλες τις μήτρες, επειδή οι παρεμβολές από συνεκχυλιζόμενα συστατικά μεταβάλλονται σημαντικά. Η λεγόμενη επίδραση της μήτρας αποτελεί ένα από τα σημαντικότερα προβλήματα στη σύγχρονη ανάλυση καταλοίπων, καθώς μπορεί να οδηγήσει είτε σε ενίσχυση είτε σε καταστολή του αναλυτικού σήματος, ιδιαίτερα σε τεχνικές όπως η GC-MS/MS και η LC-MS/MS. Για τον λόγο αυτό, η προετοιμασία δείγματος αποτελεί κρίσιμο στάδιο της αναλυτικής διαδικασίας και πρέπει να προσαρμόζεται στη φύση τόσο της μήτρας όσο και των υπό προσδιορισμό ενώσεων (Sandín-España & Dagnac, 2023).

Στη σύγχρονη χημεία καταλοίπων, η χρήση τεχνικών όπως η QuEChERS, η στερεά εκχύλιση φάσης (SPE), η μικροεκχύλιση και άλλες στοχευμένες στρατηγικές καθαρισμού υπηρετεί ακριβώς αυτή την ανάγκη προσαρμογής. Οι τεχνικές αυτές επιλέγονται ή τροποποιούνται ανάλογα με το αν το δείγμα είναι πλούσιο σε χρωστικές, λιπίδια, κηρούς ή πρωτεΐνες, με στόχο την απομάκρυνση των παρεμβολών και την εξασφάλιση ικανοποιητικής ανάκτησης, εκλεκτικότητας και ευαισθησίας. Επομένως, η αναλυτική αντιμετώπιση των φυτοφαρμάκων δεν μπορεί να αποσπαστεί από το είδος της καλλιέργειας και τη χημική φύση της μήτρας, καθώς ακριβώς αυτή η συσχέτιση αποτελεί τη βάση για τον ορθό σχεδιασμό αξιόπιστων μεθόδων προσδιορισμού.

1.9 Οφέλη και κίνδυνοι από τη χρήση των φυτοφαρμάκων

Η χρήση των φυτοφαρμάκων έχει συνδεθεί διαχρονικά με ουσιώδη οφέλη για τη γεωργική παραγωγή, καθώς συμβάλλει στον περιορισμό των απωλειών που προκαλούνται από

έντομα, φυτοπαθογόνους μικροοργανισμούς, ζιζάνια και άλλους επιβλαβείς οργανισμούς. Με τον τρόπο αυτό ενισχύεται η σταθερότητα των αποδόσεων, βελτιώνεται η εμπορική ποιότητα των προϊόντων και διευκολύνεται η προστασία της παραγωγής τόσο στο στάδιο της καλλιέργειας όσο και, σε ορισμένες περιπτώσεις, κατά την αποθήκευση και μεταφορά. Σε ένα διεθνές αγροδιατροφικό σύστημα που καλείται να ανταποκριθεί στις ανάγκες ενός συνεχώς αυξανόμενου πληθυσμού, τα φυτοφάρμακα αποτέλεσαν βασικό εργαλείο εντατικοποίησης της παραγωγής και αντιμετώπισης των βιοτικών πιέσεων που περιορίζουν την αγροτική απόδοση (Araújo et al., 2023; Garud et al., 2024). Παράλληλα, ορισμένες κατηγορίες, κυρίως εντομοκτόνα, έχουν χρησιμοποιηθεί και στον έλεγχο διαβιβαστών νοσημάτων, γεγονός που προσδίδει στη χρήση τους και διάσταση δημόσιας υγείας (Garud et al., 2024).

Ωστόσο, τα οφέλη αυτά δεν αναιρούν τους σημαντικούς κινδύνους που συνδέονται με την ευρεία και συχνά ακατάλληλη χρήση τους. Η είσοδος φυτοφαρμάκων στο έδαφος, στο νερό και στην τροφική αλυσίδα αποτελεί έναν από τους βασικότερους λόγους ανησυχίας, καθώς μόνο ένα μικρό ποσοστό της εφαρμοζόμενης ποσότητας καταλήγει τελικά στον οργανισμό-στόχο, ενώ το υπόλοιπο διασπείρεται στο περιβάλλον. Η διασπορά αυτή μπορεί να πραγματοποιηθεί μέσω επιφανειακής απορροής, έκπλυσης, ατμοσφαιρικής μεταφοράς ή προσρόφησης σε εδαφικά και ιζηματογενή σωματίδια, οδηγώντας σε παρατεταμένη περιβαλλοντική παρουσία και, σε ορισμένες περιπτώσεις, σε βιοσυσσωρευση (López-Benítez et al., 2024).

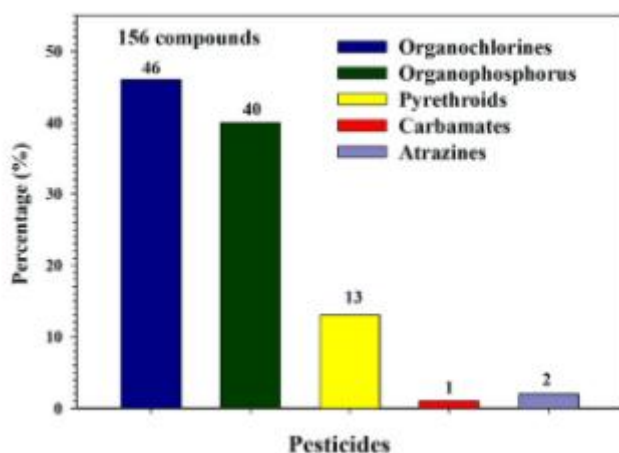
Ιδιαίτερα σημαντικό είναι το γεγονός ότι κατάλοιπα φυτοφαρμάκων ανιχνεύονται συστηματικά σε ποτάμια, επιφανειακά ύδατα, εδάφη και γεωργικά προϊόντα. Η παρουσία τους σε διαφορετικές περιβαλλοντικές και διατροφικές μήτρες αποδεικνύει ότι η χρήση τους δεν περιορίζεται στον άμεσο χώρο εφαρμογής, αλλά συνδέεται με ευρύτερη κινητικότητα και διάχυση. Σύμφωνα με πρόσφατη ανασκόπηση για ποτάμια συστήματα διεθνώς, οι οργανοχλωριωμένες και οργανοφωσφορικές ενώσεις παραμένουν από τις συχνότερα ανιχνευόμενες κατηγορίες, ενώ σε μικρότερο αλλά όχι αμελητέο ποσοστό εντοπίζονται πυρεθροειδή, καρβαμิดικά και τριαζίνες (López-Benítez et al., 2024). Τα ευρήματα αυτά αναδεικνύουν την ανάγκη συνεχούς παρακολούθησης και τεκμηριωμένης εκτίμησης κινδύνου, ιδίως σε περιοχές με εντατική γεωργική δραστηριότητα.

Πέρα από την περιβαλλοντική επιβάρυνση, σημαντικοί είναι και οι κίνδυνοι για την ανθρώπινη υγεία. Η έκθεση μπορεί να είναι άμεση, μέσω εισπνοής, δερματικής επαφής ή

επαγγελματικής χρήσης, αλλά και έμμεση, μέσω κατανάλωσης τροφίμων και νερού που περιέχουν υπολείμματα. Η βιβλιογραφία έχει συνδέσει την έκθεση σε διάφορες κατηγορίες φυτοφαρμάκων με νευροτοξικές, ενδοκρινικές, αναπαραγωγικές και ανοσολογικές επιδράσεις, ενώ για ορισμένες ενώσεις έχουν επίσης διατυπωθεί σοβαρές ανησυχίες για χρόνιες επιδράσεις και πιθανή συσχέτιση με εκφυλιστικά ή νεοπλασματικά νοσήματα (Araújo et al., 2023; Garud et al., 2024). Επιπλέον, η ανάπτυξη ανθεκτικότητας στα παράσιτα μειώνει σταδιακά την αποτελεσματικότητα πολλών δραστικών ουσιών, οδηγώντας συχνά σε εντατικότερη χρήση ή σε ανάγκη αντικατάστασής τους με νέα σκευάσματα, γεγονός που επιβαρύνει ακόμη περισσότερο το οικοσύστημα και το κόστος διαχείρισης.

Η Εικόνα 17 αποτυπώνει συνοπτικά τη σχετική παρουσία βασικών χημικών κατηγοριών φυτοφαρμάκων που ανιχνεύθηκαν σε ποτάμια σε Ασία, Αμερική, Αφρική και Ευρώπη, με τη μεγαλύτερη γεωγραφική εκπροσώπηση να εντοπίζεται στην Ασία την περίοδο 2014-2024. Η κατανομή αυτή είναι ιδιαίτερα χρήσιμη, επειδή αναδεικνύει ποιες ομάδες εμφανίζονται συχνότερα στο υδάτινο περιβάλλον και, επομένως, συνδέονται εντονότερα με ζητήματα περιβαλλοντικής παρακολούθησης. Με τον τρόπο αυτό, η εικόνα ενισχύει τη συζήτηση για τη διάχυση, την επιμονή και τη συνολική επιβάρυνση των υδάτινων οικοσυστημάτων από τα φυτοφάρμακα (López-Benítez et al., 2024).

Εικόνα 17. Συνοπτική ποσοστιαία κατανομή των κυριότερων κατηγοριών φυτοφαρμάκων που ανιχνεύθηκαν σε ύδατα 47 ποταμών κατά την περίοδο 2014–2024 (Πηγή: López-Benítez et al., 2024)



Για την αξιολόγηση των φυτοφαρμάκων λοιπόν, από τη μια πλευρά αποτελούν ουσίες μεγάλης αγρονομικής σημασίας· από την άλλη, η χρήση τους πρέπει να συνοδεύεται από αυστηρό έλεγχο, επιστημονικά τεκμηριωμένη εκτίμηση κινδύνου και αξιόπιστες αναλυτικές μεθόδους. Ακριβώς σε αυτό το πλαίσιο εντάσσεται και η σημασία των χρωματογραφικών τεχνικών και της φασματομετρίας μάζας, οι οποίες επιτρέπουν την ευαίσθητη και επιλεκτική ανίχνευση καταλοίπων σε σύνθετες μήτρες, υποστηρίζοντας την ασφάλεια τροφίμων, την περιβαλλοντική παρακολούθηση και τη συμμόρφωση με τα θεσμοθετημένα όρια.

Κεφάλαιο 2. Φυτοφάρμακα, υπολείμματα, περιβάλλον και δημόσια υγεία

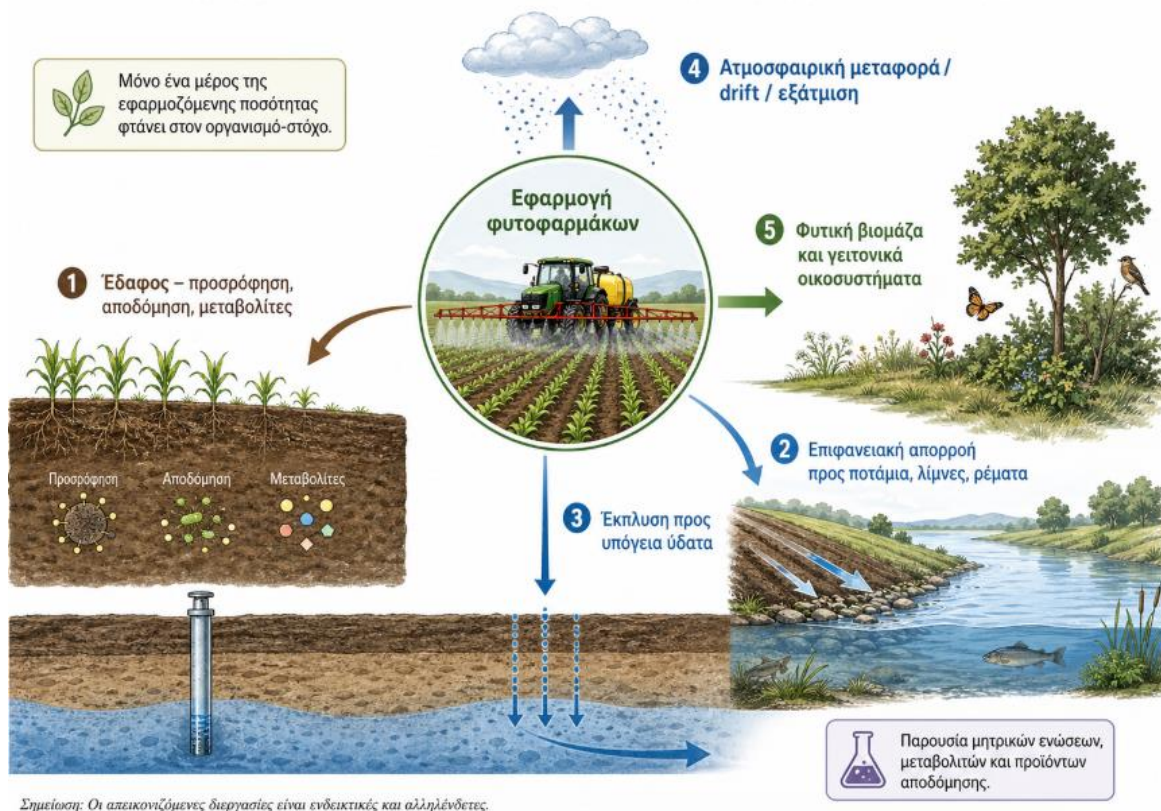
2.1 Είσοδος και διασπορά των φυτοφαρμάκων στο περιβάλλον

Η χρήση φυτοφαρμάκων στη σύγχρονη γεωργία δεν έχει ως μόνο αποτέλεσμα τη δράση τους πάνω στον οργανισμό-στόχο, αλλά συνοδεύεται αναπόφευκτα από την είσοδο και τη διασπορά τους στο περιβάλλον. Στην πράξη, μόνο ένα μέρος της εφαρμοζόμενης ποσότητας φτάνει στον επιδιωκόμενο βιολογικό στόχο, ενώ το υπόλοιπο κατανέμεται σε έδαφος, νερό, αέρα, φυτική βιομάζα και γειτονικά οικοσυστήματα. Η συμπεριφορά αυτή εξαρτάται από τον τρόπο εφαρμογής, τις φυσικοχημικές ιδιότητες της δραστικής ουσίας, τις κλιματικές συνθήκες, τη μορφολογία του εδάφους και τη φύση της καλλιέργειας (Tudi et al., 2021; Sandín-España & Dagnac, 2023).

Μετά την εφαρμογή τους, τα φυτοφάρμακα μπορούν να ακολουθήσουν πολλαπλές οδούς μεταφοράς. Μέσω της επιφανειακής απορροής ενδέχεται να καταλήξουν σε ρέματα, ποτάμια και λίμνες, ενώ μέσω της έκπλυσης μπορούν να διεισδύσουν σε βαθύτερα στρώματα του εδάφους και να επηρεάσουν τα υπόγεια ύδατα. Παράλληλα, ορισμένες πτητικές ενώσεις ή σταγονίδια ψεκασμού μεταφέρονται ατμοσφαιρικά, αυξάνοντας τη γεωγραφική έκταση της ρύπανσης πέρα από τον αρχικό χώρο εφαρμογής. Η προσρόφηση σε εδαφικά σωματίδια, σε οργανική ύλη ή σε ιζήματα μπορεί να επιβραδύνει την απομάκρυνσή τους, χωρίς ωστόσο να αποκλείει τη μεταγενέστερη επανακινητοποίησή τους (López-Benítez et al., 2024; Garud et al., 2024).

Η περιβαλλοντική διασπορά των φυτοφαρμάκων συνδέεται επίσης με τον σχηματισμό μεταβολιτών και προϊόντων αποδόμησης. Σε ορισμένες περιπτώσεις, οι μεταβολίτες αυτοί εμφανίζουν μικρότερη τοξικότητα από τη μητρική ένωση· σε άλλες όμως διατηρούν ή και ενισχύουν τη βιολογική δραστηριότητα, γεγονός που περιπλέκει την περιβαλλοντική αξιολόγηση και την αναλυτική παρακολούθηση. Επομένως, η περιβαλλοντική παρουσία των φυτοφαρμάκων δεν πρέπει να νοείται αποκλειστικά ως παρουσία αρχικών δραστικών ουσιών, αλλά ως ένα δυναμικό μίγμα μητρικών ενώσεων, προϊόντων μετασχηματισμού και υπολειμμάτων σε διαφορετικές μήτρες (Masiá et al., 2016; Sandín-España & Dagnac, 2023). Η πολυπλοκότητα των οδών μεταφοράς των φυτοφαρμάκων αποτυπώνεται σχηματικά στο παρακάτω διάγραμμα όπου παρουσιάζονται οι βασικές διαδρομές εισόδου

και διασποράς τους στο έδαφος, στο νερό, στην ατμόσφαιρα και στα γειτονικά οικοσυστήματα.



Διάγραμμα 2. Είσοδος και διασπορά των φυτοφαρμάκων στο περιβάλλον (Προσαρμογή βάσει του άρθρου των Schleiffer & Speiser, 2022)

Πρόσθετα, η νεότερη βιβλιογραφία δείχνει ότι η ατμοσφαιρική διασπορά αποτελεί συχνά υποτιμημένη οδό μεταφοράς. Σε πρόσφατη ευρωπαϊκή μελέτη σε δύο αγροτικές περιοχές, ανιχνεύθηκαν 99 φυτοφάρμακα και προϊόντα μετασχηματισμού στον ατμοσφαιρικό αέρα, σε συγκεντρώσεις από 0.003 έως 10 ng/m³, ενώ το 97% των δειγμάτων περιείχε τουλάχιστον ένα φυτοφάρμακο και το 95% μίγματα πολλαπλών ενώσεων (Debler et al., 2024). Τα δεδομένα αυτά ενισχύουν την άποψη ότι η διασπορά δεν περιορίζεται στο χωράφι εφαρμογής, αλλά εξελίσσεται σε πολυμεσική περιβαλλοντική μεταφορά, η οποία μπορεί να επηρεάσει και μη στοχευόμενες περιοχές.

2.2 Υπολείμματα φυτοφαρμάκων σε τρόφιμα και γεωργικά προϊόντα

Ως υπολείμματα φυτοφαρμάκων σε τρόφιμα και γεωργικά προϊόντα, νοούνται οι μητρικές δραστικές ουσίες, οι μεταβολίτες τους, τα προϊόντα αποδόμησης ή αντίδρασης, τα οποία παραμένουν μέσα ή πάνω στα τρόφιμα μετά την εφαρμογή των φυτοπροστατευτικών προϊόντων. Η παρουσία τους μπορεί να προκύπτει ακόμη και όταν η χρήση έχει γίνει σύμφωνα με τις ορθές γεωργικές πρακτικές, αν και η ακατάλληλη δοσολογία, οι επαναλαμβανόμενες εφαρμογές και η μη τήρηση των χρονικών διαστημάτων πριν τη συγκομιδή ενισχύουν σημαντικά το πρόβλημα (Wilkowska & Biziuk, 2011; Mandal et al., 2023).

Τα υπολείμματα δεν κατανέμονται ομοιόμορφα σε όλα τα γεωργικά προϊόντα, αλλά η φύση του φυτικού ιστού, η επιφάνεια επαφής, η περιεκτικότητα σε νερό ή λιπίδια, καθώς και ο τρόπος εφαρμογής του φυτοφαρμάκου επηρεάζουν το τελικό επίπεδο παραμονής. Έτσι, προϊόντα με εκτεθειμένη επιφάνεια, όπως φυλλώδη λαχανικά, παρουσιάζουν διαφορετικό προφίλ υπολειμμάτων από ό,τι καρποί με παχύτερη επιδερμίδα ή προϊόντα που υφίστανται μεταποίηση. Αντίστοιχα, ορισμένα λιπόφιλα φυτοφάρμακα εμφανίζουν αυξημένη συνάφεια με λιπαρές μήτρες και ελαιώδη προϊόντα, ενώ περισσότερο πολικές ενώσεις συνδέονται συχνότερα με υδαρείς φυτικούς ιστούς ή με υγρά τρόφιμα (Rajski et al., 2013; Iosif et al., 2023).

Η σημασία του προσδιορισμού υπολειμμάτων δεν περιορίζεται στην απλή επιβεβαίωση παρουσίας ή απουσίας μιας ουσίας αλλά αφορά την αξιόπιστη ποσοτικοποίηση σε επίπεδα συχνά πολύ χαμηλά, κοντά ή και κάτω από τα νομοθετικά όρια, καθώς και τη διάκριση μεταξύ ενώσεων με παρόμοια χημική συμπεριφορά σε πολύπλοκες μήτρες. Για τον λόγο αυτό, ο έλεγχος υπολειμμάτων αποτελεί σήμερα ένα από τα πιο απαιτητικά πεδία της αναλυτικής χημείας τροφίμων, ιδίως όταν πρόκειται για πολυυπολειμματικές μεθόδους που στοχεύουν δεκάδες ή εκατοντάδες αναλύτες ταυτόχρονα (Picó et al., 2000; Hernández-Mesa & Moreno-González, 2022).

Πολύ χρήσιμα είναι και τα δεδομένα από εφαρμογές μεγάλης κλίμακας σε πραγματικά δείγματα. Χαρακτηριστικά, σε μελέτη για 108 φυτοφάρμακα σε δείγματα ρυζιού, η αναπτυχθείσα LC-MS/MS μέθοδος έδειξε γραμμικότητα στο εύρος 0.01-1.00 mg/kg, με $R^2 > 0.990$ για όλες τις ενώσεις, ενώ τα όρια ανίχνευσης κυμάνθηκαν μεταξύ 0.005 και 0.060 mg/kg και τα ποσοστά ανάκτησης μεταξύ 72% και 117% με $RSD < 20\%$ (Mardani et al.,

2021). Τα στοιχεία αυτά δείχνουν ότι ο έλεγχος υπολειμμάτων απαιτεί όχι μόνο θεωρητική κατανόηση της έννοιας των υπολειμμάτων, αλλά και ισχυρές, επικυρωμένες αναλυτικές προσεγγίσεις για πραγματικές, πολύπλοκες μήτρες.

2.3 Παρουσία φυτοφαρμάκων σε φρούτα, λαχανικά, δημητριακά και προϊόντα ειδικών μητρών

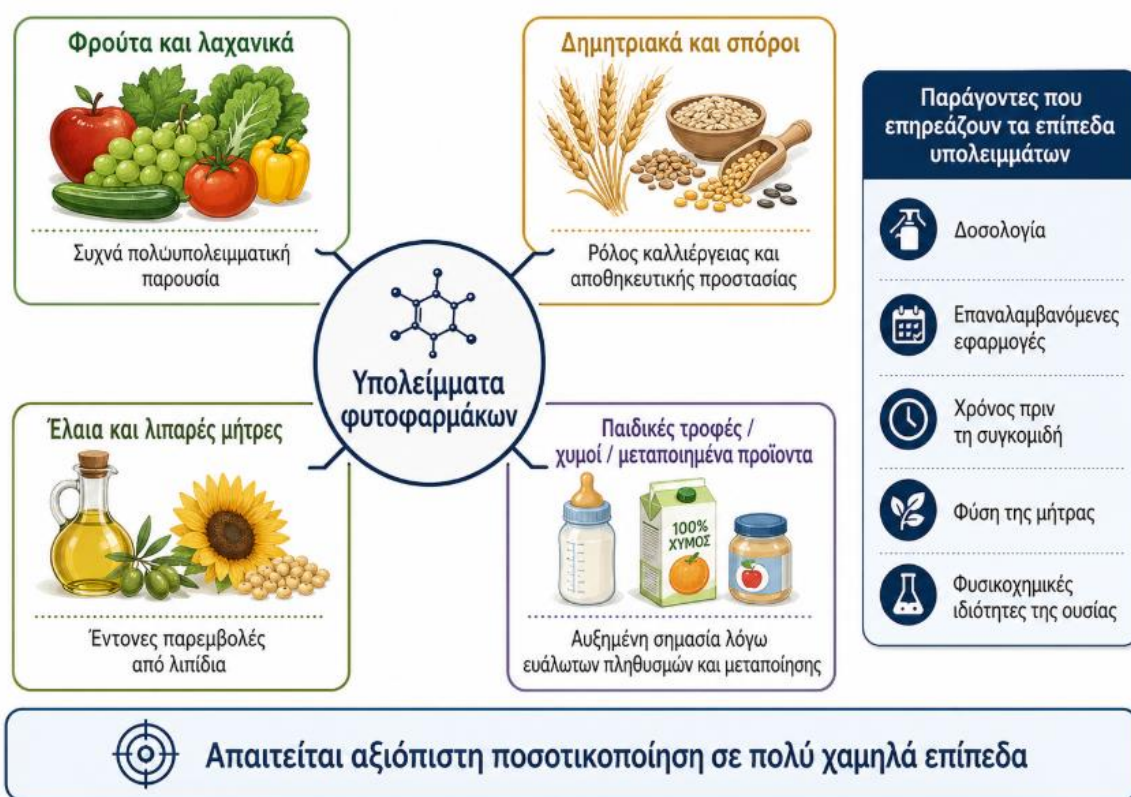
Η βιβλιογραφία δείχνει ότι η παρουσία φυτοφαρμάκων παρατηρείται σε ένα εξαιρετικά ευρύ φάσμα τροφικών μητρών, από νωπά φρούτα και λαχανικά έως δημητριακά, σπόρους, παιδικές τροφές, χυμούς, οίνους, έλαια και προϊόντα υψηλής περιεκτικότητας σε λιπαρά. Οι διαφορές μεταξύ αυτών των μητρών έχουν μεγάλη σημασία, όχι μόνο για την ερμηνεία της έκθεσης του καταναλωτή, αλλά και για τη μεθοδολογία της ανάλυσης, καθώς κάθε κατηγορία τροφίμου ενσωματώνει διαφορετικούς αναλυτικούς περιορισμούς (Stachniuk & Fornal, 2016; Mandal et al., 2023).

Στα φρούτα και τα λαχανικά τα υπολείμματα συχνά συνδέονται με πολυυπολειμματική παρουσία, επειδή στις καλλιέργειες αυτές χρησιμοποιούνται συστηματικά εντομοκτόνα, μυκητοκτόνα και ζιζανιοκτόνα σε διαφορετικά στάδια ανάπτυξης. Η υψηλή περιεκτικότητα σε νερό, τα φυσικά οξέα, τα σάκχαρα και οι χρωστικές μπορούν να επηρεάσουν την αποδοτικότητα της εκχύλισης και την τελική απόκριση των ανιχνευτών μάζας, γεγονός που απαιτεί καλά σχεδιασμένες διαδικασίες καθαρισμού και matrix-matched βαθμονόμηση (Lehotay et al., 2005; Gómez-Ramos et al., 2013).

Στα δημητριακά και στους σπόρους, πέρα από τα φυτοφάρμακα που εφαρμόζονται κατά την καλλιέργεια, σημαντικό ρόλο παίζουν και ενώσεις που σχετίζονται με αποθηκευτική προστασία. Η χαμηλότερη περιεκτικότητα σε νερό, η παρουσία αμύλου, πρωτεϊνών και λιπιδίων, αλλά και η στερεή φύση της μήτρας καθιστούν διαφορετική την προσέγγιση της προετοιμασίας δείγματος και της ανάλυσης σε σχέση με τα νωπά προϊόντα (Saito-Shida et al., 2021; Hernández-Mesa et al., 2020).

Ιδιαίτερη κατηγορία αποτελούν οι ειδικές μήτρες, όπως οι παιδικές τροφές, τα έλαια, οι χυμοί και τα μεταποιημένα προϊόντα. Στις βρεφικές τροφές, ακόμη και ίχνη υπολειμμάτων αποκτούν αυξημένη σημασία, λόγω του ευάλωτου πληθυσμού στον οποίο απευθύνονται. Στις λιπαρές μήτρες, όπως το ελαιόλαδο, οι παρεμβολές από συνεκχυλιζόμενα λιπίδια είναι

συχνά έντονες και απαιτούν εξειδικευμένους καθαρισμούς. Αντίστοιχα, σε χυμούς και μεταποιημένα προϊόντα, η τεχνολογική επεξεργασία μπορεί να αλλάξει τόσο τη συγκέντρωση όσο και τη χημική μορφή των υπολειμμάτων, χωρίς να εξαλείφει κατ' ανάγκη τον κίνδυνο παρουσίας τους (Gilbert-López et al., 2012; Iosif et al., 2023; Tran et al., 2012). Οι βασικές κατηγορίες τροφίμων και οι παράγοντες που επηρεάζουν τα επίπεδα υπολειμμάτων συνοψίζονται στο Διάγραμμα 3 όπου η σχηματική παρουσίαση βοηθά στην κατανόηση της διαφορετικής αναλυτικής συμπεριφοράς κάθε μήτρας.



Διάγραμμα 3. Υπολείμματα φυτοφαρμάκων σε τρόφιμα και γεωργικά προϊόντα (Προσαρμογή βάσει του άρθρου των Schleiffer & Speiser, 2022)

Σημαντικό παράδειγμα ειδικής μήτρας υψηλής δυσκολίας αποτελεί το ελαιόλαδο. Σε σχετική μελέτη, αναπτύχθηκε προσέγγιση MSPD σε συνδυασμό με GC-MS και LC-MS/MS για προσδιορισμό φυτοφαρμάκων σε ελιές και ελαιόλαδο, με μέσες ανακτήσεις περίπου 85–115% και σχετική τυπική απόκλιση κάτω από 10% στις περισσότερες περιπτώσεις, ενώ τα όρια ανίχνευσης έφθασαν κάτω από 5 µg/kg με LC-MS και 10–60 µg/kg με GC-MS (Ferrer et al., 2005). Το παράδειγμα αυτό καταδεικνύει πόσο καθοριστική είναι η επιλογή

κατάλληλης μεθόδου προετοιμασίας δείγματος, όταν η μήτρα είναι πλούσια σε λιπίδια και δημιουργεί έντονα φαινόμενα παρεμβολών.

2.4 Ρύπανση υδάτων, εδάφους και ατμόσφαιρας

Η περιβαλλοντική επίπτωση των φυτοφαρμάκων γίνεται ιδιαίτερα εμφανής στις τρεις βασικές δεξαμενές του οικοσυστήματος: το νερό, το έδαφος και την ατμόσφαιρα. Στα υδάτινα συστήματα, η ρύπανση μπορεί να είναι διάχυτη και χρόνια, ιδιαίτερα σε περιοχές εντατικής γεωργίας. Οι ποταμοί και τα επιφανειακά ύδατα δέχονται εισροές από γεωργική απορροή, απόθεση ατμοσφαιρικών ρύπων και εκροές από καλλιεργημένες εκτάσεις. Ανασκοπήσεις της πρόσφατης βιβλιογραφίας καταδεικνύουν ότι σε ποτάμια παγκοσμίως ανιχνεύονται συχνά οργανοχλωριωμένες, οργανοφωσφορικές και πυρεθροειδείς ενώσεις, γεγονός που επιβεβαιώνει τη συστηματική μεταφορά τους στο υδάτινο περιβάλλον (López-Benítez et al., 2024).

Το έδαφος λειτουργεί συχνά ως πρωτογενής αποδέκτης των φυτοφαρμάκων. Εκεί λαμβάνουν χώρα διαδικασίες προσρόφησης, αποδόμησης, έκπλυσης και βιολογικού μετασχηματισμού. Η οργανική ουσία, το pH, η υγρασία, η μικροβιακή δραστηριότητα και η κοκκομετρική σύσταση επηρεάζουν καθοριστικά τη μοίρα των ουσιών. Παρά το γεγονός ότι το έδαφος μπορεί να συμβάλει στη μερική αδρανοποίηση ή αποδόμηση ορισμένων ενώσεων, μπορεί επίσης να λειτουργήσει ως μακροχρόνια αποθήκη ρύπανσης, ιδιαίτερα για επίμονες και λιπόφιλες ουσίες (Słowiak-Borowiec et al., 2022; Garud et al., 2024).

Η ατμοσφαιρική διάσταση της ρύπανσης συχνά υποτιμάται, αλλά είναι ουσιώδης. Η μεταφορά σταγονιδίων κατά τον ψεκασμό, η εξάτμιση πτητικών ενώσεων και η προσρόφηση σε αιωρούμενα σωματίδια επιτρέπουν την απομάκρυνση φυτοφαρμάκων από την περιοχή εφαρμογής και την εναπόθεσή τους σε γειτονικές ή και απομακρυσμένες περιοχές. Η ατμοσφαιρική αυτή μεταφορά συνδέεται με έκθεση μη στοχευόμενων οργανισμών, με μόλυνση υδάτων μέσω υγρής ή ξηρής απόθεσης και με γενικότερη διεύρυνση της περιβαλλοντικής επιβάρυνσης (Tudi et al., 2021).

2.5 Βιοσυσσώρευση και βιομεγέθυνση

Η βιοσυσσώρευση περιγράφει τη σταδιακή συγκέντρωση μιας χημικής ουσίας στους ιστούς ενός οργανισμού όταν ο ρυθμός πρόσληψης υπερβαίνει τον ρυθμό αποβολής ή μεταβολισμού. Η βιομεγέθυνση αναφέρεται στην αύξηση της συγκέντρωσης της ουσίας καθώς προχωρούμε σε ανώτερα τροφικά επίπεδα. Οι δύο αυτές διαδικασίες έχουν ιδιαίτερη σημασία για ορισμένες κατηγορίες φυτοφαρμάκων, ιδίως για ενώσεις με υψηλή λιποφιλικότητα, μεγάλη χημική σταθερότητα και χαμηλή βιοαποδομησιμότητα, όπως τα οργανοχλωριωμένα (López-Benítez et al., 2024).

Αν και νεότερες κατηγορίες φυτοφαρμάκων χαρακτηρίζονται συχνά από μικρότερη περιβαλλοντική εμμονή, αυτό δεν αποκλείει το ενδεχόμενο συσσώρευσης σε συγκεκριμένα οικοσυστήματα ή οργανισμούς. Η παρουσία τους σε ιζήματα, σε υδρόβιους οργανισμούς και σε ζωικά προϊόντα έχει ιδιαίτερη σημασία για την αξιολόγηση της έμμεσης έκθεσης του ανθρώπου. Επομένως, η μελέτη βιοσυσσώρευσης και βιομεγέθυνσης δεν αφορά μόνο τις «παλαιές» απαγορευμένες ενώσεις, αλλά εντάσσεται ευρύτερα στην περιβαλλοντική τοξικολογία των σύγχρονων φυτοφαρμάκων (Daraban et al., 2023; Garud et al., 2024).

2.6 Επιπτώσεις στην ανθρώπινη υγεία

2.6.1 Οξεία τοξικότητα

Η οξεία τοξικότητα συνδέεται με βραχυχρόνια έκθεση σε σχετικά υψηλές δόσεις και μπορεί να προκύψει μέσω εισπνοής, δερματικής επαφής ή κατάποσης. Τα συμπτώματα εξαρτώνται από την κατηγορία του φυτοφαρμάκου και τον μηχανισμό δράσης του. Στα οργανοφωσφορικά, για παράδειγμα, η αναστολή της ακετυλοχολινεστεράσης μπορεί να προκαλέσει χολινεργικό σύνδρομο με μυϊκές συσπάσεις, βρογχόσπασμο, υπερέκκριση, βραδυκαρδία και, σε σοβαρές περιπτώσεις, αναπνευστική ανεπάρκεια. Άλλες κατηγορίες μπορεί να συνδέονται με ερεθισμούς, νευρολογικά συμπτώματα ή οξείες ηπατονεφρικές διαταραχές (Araújo et al., 2023; Garud et al., 2024).

2.6.2 Χρόνια τοξικότητα

Η χρόνια τοξικότητα αφορά παρατεταμένη έκθεση σε χαμηλές ή μέτριες δόσεις, συχνά μέσω τροφής, νερού ή επαγγελματικού περιβάλλοντος. Η αξιολόγησή της είναι πιο σύνθετη, επειδή οι επιπτώσεις ενδέχεται να εκδηλωθούν μετά από μακρό χρονικό διάστημα και να συνδέονται με πολλαπλούς βιολογικούς μηχανισμούς. Στη βιβλιογραφία περιγράφονται συσχετίσεις με νευρολογικές διαταραχές, διαταραχές της αναπαραγωγής, ανοσολογικές μεταβολές και μεταβολικό στρες, αν και η ένταση και η βεβαιότητα των ευρημάτων διαφοροποιούνται ανάλογα με την ουσία και τον πληθυσμό μελέτης (Daraban et al., 2023; Garud et al., 2024).

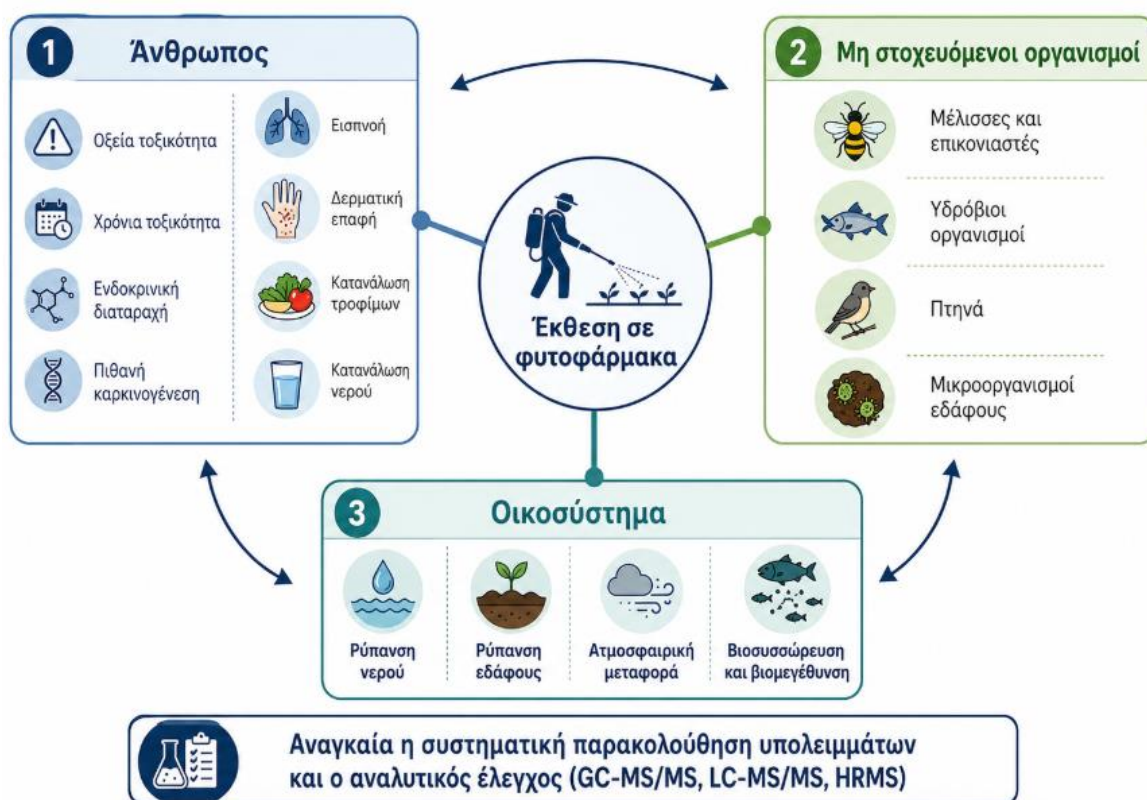
2.6.3 Ενδοκρινική διαταραχή και καρκινογένεση

Ορισμένα φυτοφάρμακα έχουν ενοχοποιηθεί για ενδοκρινική διαταραχή, δηλαδή για παρέμβαση στη φυσιολογική λειτουργία του ορμονικού συστήματος. Οι μηχανισμοί περιλαμβάνουν μίμηση ή αναστολή ορμονών, μεταβολή της σύνθεσης ή αποδόμησής τους και παρεμβολή σε κυτταρικά μονοπάτια σηματοδότησης. Παράλληλα, για κάποιες ενώσεις έχουν τεθεί ζητήματα γονοτοξικότητας, οξειδωτικού στρες και πιθανής συμβολής σε καρκινογόνες διεργασίες. Αν και η τοξικολογική αξιολόγηση δεν είναι ομοιόμορφη για όλες τις κατηγορίες, το πεδίο αυτό αποτελεί βασικό λόγο για τη διαρκή επανεξέταση εγκρίσεων, ορίων και προγραμμάτων παρακολούθησης (Araújo et al., 2023; Misra & Srivastava, 2025).

2.7 Επιπτώσεις στους μη στοχευόμενους οργανισμούς και στη βιοποικιλότητα

Πέρα από τον άνθρωπο, τα φυτοφάρμακα επιδρούν και σε ευρύ φάσμα μη στοχευόμενων οργανισμών, όπως επικονιαστές, ωφέλιμα έντομα, γαιοσκώληκες, υδρόβιους οργανισμούς, πτηνά και μικροοργανισμούς του εδάφους. Οι επιδράσεις αυτές μπορεί να είναι θανατηφόρες ή υποθανατηφόρες και να εκφράζονται ως μεταβολές στη συμπεριφορά, στη γονιμότητα, στη νευρική λειτουργία, στη διατροφή ή στην ικανότητα αναπαραγωγής. Ιδιαίτερη ανησυχία έχει εκφραστεί για τις μέλισσες και άλλους επικονιαστές, καθώς η έκθεσή τους σε ορισμένες κατηγορίες εντομοκτόνων μπορεί να επηρεάσει κρίσιμες λειτουργίες των πληθυσμών τους (Lykogianni et al., 2021; Daraban et al., 2023).

Οι επιπτώσεις αυτές αποκτούν οικοσυστημική σημασία όταν διαταράσσουν τροφικά πλέγματα, διαδικασίες αποσύνθεσης, γονιμοποίηση φυτών και οικολογικές ισορροπίες. Επομένως, η αξιολόγηση ενός φυτοφαρμάκου δεν μπορεί να περιορίζεται στον άμεσο έλεγχο του παρασίτου-στόχου, αλλά οφείλει να ενσωματώνει την ευρύτερη οικολογική του επίδραση. Το Διάγραμμα 4 περιλαμβάνει αναπαράσταση από τις κύριες επιπτώσεις των φυτοφαρμάκων στον άνθρωπο, στους μη στοχευόμενους οργανισμούς και στο οικοσύστημα, αναδεικνύοντας έτσι τον αλληλένδετο χαρακτήρα της περιβαλλοντικής και υγειονομικής επιβάρυνσης.



Διάγραμμα 4. Επιδράσεις των φυτοφαρμάκων στο περιβάλλον και στη δημόσια υγεία (Προσαρμογή βάσει του άρθρου των Pathak et al., 2022)

Πέρα από τις άμεσες τοξικές επιδράσεις, έχει δοθεί έμφαση και στη χρόνια, διάχυτη επιβάρυνση οικοσυστημάτων μέσω πολλαπλών περιβαλλοντικών διαμερισμάτων. Οι Pathak et al. (2022) επισημαίνουν ότι τα φυτοφάρμακα μεταφέρονται από το σημείο εφαρμογής σε έδαφος, νερό και ατμόσφαιρα και επηρεάζουν μη στοχευόμενα είδη σε πολλά επίπεδα οργάνωσης, από το κύτταρο έως τον πληθυσμό και το οικοσύστημα. Η παρατήρηση

αυτή ενισχύει την ανάγκη για πιο ολιστική οικοτοξικολογική προσέγγιση και όχι για αποσπασματική αξιολόγηση ανά είδος.

2.8 Η ανάγκη παρακολούθησης και ελέγχου των υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων

Η συστηματική παρακολούθηση των υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων αποτελεί θεμελιώδη προϋπόθεση για την προστασία της δημόσιας υγείας, την ασφάλεια τροφίμων, τη διατήρηση της περιβαλλοντικής ποιότητας και τη συμμόρφωση με το νομοθετικό πλαίσιο. Η ανάγκη αυτή προκύπτει από την πολυπλοκότητα των χημικών κατηγοριών, τη μεγάλη ποικιλία μητρών και τη διαρκή εμφάνιση νέων δραστικών ουσιών ή μεταβολιτών. Η αξιόπιστη ανάλυση δεν εξυπηρετεί μόνο ελεγκτικό σκοπό, αλλά συμβάλλει και στην επιστημονική κατανόηση της διασποράς, της έκθεσης και των πραγματικών κινδύνων (Hernández-Mesa & Moreno-González, 2022; Sandín-España & Dagnac, 2023).

Στο πλαίσιο αυτό, οι χρωματογραφικές τεχνικές συζευγμένες με φασματομετρία μάζας έχουν καθιερωθεί ως τα πλέον ισχυρά εργαλεία για την ανίχνευση και ποσοτικοποίηση υπολειμμάτων σε πολύπλοκες μήτρες. Οι τεχνικές GC-MS/MS, LC-MS/MS και HRMS προσφέρουν τον απαραίτητο συνδυασμό εκλεκτικότητας, ευαισθησίας και δυνατότητας πολυυπολειμματικής προσέγγισης, υποστηρίζοντας τόσο τον έλεγχο ρουτίνας όσο και πιο σύνθετες στρατηγικές suspect ή non-target screening. Επομένως, η παρακολούθηση των φυτοφαρμάκων δεν αποτελεί απλώς ένα τεχνικό εργαστηριακό καθήκον, αλλά έναν κρίσιμο σύνδεσμο ανάμεσα στη γεωργική πρακτική, τη νομοθεσία, την αναλυτική χημεία και την κοινωνική απαίτηση για ασφαλή τρόφιμα και βιώσιμο περιβάλλον (Picó et al., 2000; Wang et al., 2016; Feng et al., 2020).

Κεφάλαιο 3. Νομοθετικό και κανονιστικό πλαίσιο για τα φυτοφάρμακα

3.1 Η έννοια της ρυθμιστικής διαχείρισης των φυτοφαρμάκων

Η ρυθμιστική διαχείριση των φυτοφαρμάκων αποτελεί έναν από τους κρίσιμότερους άξονες της σύγχρονης αγροδιατροφικής πολιτικής, καθώς συνδέει τη γεωργική παραγωγή με την προστασία της δημόσιας υγείας, του περιβάλλοντος και της εύρυθμης λειτουργίας της αγοράς. Τα φυτοπροστατευτικά προϊόντα είναι ουσίες με σκοπούμενη βιολογική δράση, γεγονός που σημαίνει ότι η κυκλοφορία και η χρήση τους δεν μπορούν να αντιμετωπίζονται ως μια απλή εμπορική δραστηριότητα, αλλά απαιτούν προηγούμενη επιστημονική αξιολόγηση και συνεχή διοικητικό έλεγχο. Η έννοια της ρυθμιστικής διαχείρισης περιλαμβάνει επομένως το σύνολο των κανόνων, των διαδικασιών έγκρισης, των μηχανισμών παρακολούθησης, των ορίων ασφάλειας και των συστημάτων ελέγχου που εφαρμόζονται πριν, κατά και μετά τη διάθεση ενός φυτοφαρμάκου στην αγορά (Ευρωπαϊκό Κοινοβούλιο και Συμβούλιο της Ευρωπαϊκής Ένωσης, 2009a).

Η σημασία αυτής της ρυθμιστικής προσέγγισης προκύπτει από το γεγονός ότι ένα φυτοφάρμακο δεν αξιολογείται αποκλειστικά ως προς την αποτελεσματικότητά του έναντι του οργανισμού-στόχου, αλλά και ως προς την πιθανή τοξικότητά του για τον άνθρωπο, τους μη στοχευόμενους οργανισμούς και τα οικοσυστήματα. Συνεπώς, το σύγχρονο κανονιστικό πλαίσιο στηρίζεται στην αρχή ότι μια δραστική ουσία πρέπει να αποδεικνύεται επαρκώς αποτελεσματική, αλλά ταυτόχρονα να μην προκαλεί μη αποδεκτούς κινδύνους όταν χρησιμοποιείται σύμφωνα με τις προβλεπόμενες συνθήκες. Η λογική αυτή αποτυπώνει μια μετάβαση από την παλαιότερη αντίληψη της σχεδόν αποκλειστικής έμφασης στην αγρονομική αποτελεσματικότητα προς ένα πολυπαραγοντικό μοντέλο αξιολόγησης κινδύνου και διαχείρισης της έκθεσης (Lykogianni et al., 2021).

Στο ευρωπαϊκό πλαίσιο, η ρυθμιστική διαχείριση των φυτοφαρμάκων βασίζεται σε διακριτά αλλά αλληλένδετα επίπεδα. Το πρώτο αφορά την έγκριση των δραστικών ουσιών, δηλαδή των χημικών ή βιολογικών παραγόντων που είναι υπεύθυνοι για τη φυτοπροστατευτική δράση. Το δεύτερο αφορά την αδειοδότηση των εμπορικών σκευασμάτων που περιέχουν αυτές τις ουσίες. Το τρίτο αφορά τη θέσπιση ανώτατων ορίων καταλοίπων στα τρόφιμα και στις ζωοτροφές, ενώ το τέταρτο περιλαμβάνει την ορθολογική χρήση, την επιτήρηση της

αγοράς, τους ελέγχους συμμόρφωσης και την εργαστηριακή τεκμηρίωση μέσω επικυρωμένων αναλυτικών μεθόδων (Ευρωπαϊκό Κοινοβούλιο και Συμβούλιο της Ευρωπαϊκής Ένωσης, 2005, 2009a, 2009b).

Η ρυθμιστική διαχείριση δεν έχει, επομένως, μόνο νομικό ή διοικητικό χαρακτήρα, αλλά αποτελεί και επιστημονικό πεδίο στο οποίο η τοξικολογία, η οικοτοξικολογία, η αναλυτική χημεία, η χημεία καταλοίπων και η εκτίμηση κινδύνου συνδυάζονται σε ένα συνεκτικό σύστημα λήψης αποφάσεων. Για τον λόγο αυτό, η ποιότητα των αναλυτικών δεδομένων αποκτά κομβική σημασία: χωρίς αξιόπιστες αναλυτικές μεθόδους δεν είναι δυνατόν να αποδειχθεί η συμμόρφωση με τα νομοθετικά όρια, να ελεγχθεί η έκθεση του πληθυσμού ή να αξιολογηθεί η πραγματική παρουσία καταλοίπων σε τρόφιμα και περιβαλλοντικές μήτρες (Ευρωπαϊκή Επιτροπή, 2021; Hernández-Mesa & Moreno-González, 2022).

3.2 Ευρωπαϊκό κανονιστικό πλαίσιο για τα φυτοπροστατευτικά προϊόντα

Το ευρωπαϊκό κανονιστικό πλαίσιο για τα φυτοπροστατευτικά προϊόντα θεωρείται από τα πλέον οργανωμένα και αυστηρά διεθνώς, καθώς βασίζεται στην προληπτική αξιολόγηση κινδύνου, στην επιστημονική τεκμηρίωση και στην εναρμόνιση των κανόνων μεταξύ των κρατών-μελών. Στόχος του δεν είναι μόνο η εξασφάλιση υψηλού επιπέδου προστασίας της ανθρώπινης υγείας και του περιβάλλοντος, αλλά και η διατήρηση της ομαλής λειτουργίας της εσωτερικής αγοράς της Ευρωπαϊκής Ένωσης, ώστε τα φυτοπροστατευτικά προϊόντα να κυκλοφορούν με κοινά κριτήρια ασφάλειας και αξιολόγησης (Ευρωπαϊκό Κοινοβούλιο και Συμβούλιο της Ευρωπαϊκής Ένωσης, 2009a).

Ο βασικός πυρήνας του πλαισίου αυτού συγκροτείται από τρεις θεμελιώδεις νομικούς άξονες. Ο πρώτος είναι ο Κανονισμός (ΕΚ) 1107/2009, ο οποίος αφορά τη διάθεση φυτοπροστατευτικών προϊόντων στην αγορά και τη διαδικασία έγκρισης των δραστικών ουσιών. Ο δεύτερος είναι ο Κανονισμός (ΕΚ) 396/2005, που αφορά τα ανώτατα όρια καταλοίπων φυτοφαρμάκων σε τρόφιμα και ζωοτροφές. Ο τρίτος είναι η Οδηγία 2009/128/ΕΚ, η οποία θεσπίζει το πλαίσιο για την ορθολογική χρήση των γεωργικών φαρμάκων και την προώθηση της ολοκληρωμένης φυτοπροστασίας (Ευρωπαϊκό Κοινοβούλιο και Συμβούλιο της Ευρωπαϊκής Ένωσης, 2005, 2009a, 2009b).

Η συνοχή των τριών αυτών πράξεων είναι ιδιαίτερα σημαντική. Ο Κανονισμός 1107/2009 ρυθμίζει ποια δραστική ουσία μπορεί να εγκριθεί και υπό ποιες προϋποθέσεις μπορεί να κυκλοφορήσει ένα εμπορικό σκεύασμα. Ο Κανονισμός 396/2005 μεταφέρει την έννοια της ασφάλειας στο επίπεδο της παρουσίας καταλοίπων στα τρόφιμα, θέτοντας συγκεκριμένα και νομικά δεσμευτικά όρια. Τέλος, η Οδηγία 2009/128/EK επεκτείνει το ρυθμιστικό ενδιαφέρον πέρα από την έγκριση και τον τελικό έλεγχο, εστιάζοντας στον ίδιο τον τρόπο χρήσης των φυτοφαρμάκων στο γεωργικό πεδίο. Έτσι, το ευρωπαϊκό πλαίσιο δεν είναι αποσπασματικό αλλά πολυεπίπεδο, καλύπτοντας όλο τον κύκλο ζωής του φυτοπροστατευτικού προϊόντος, από την έγκριση της δραστικής ουσίας μέχρι την τελική κατανάλωση του τροφίμου και την περιβαλλοντική του επίπτωση (Lykogianni et al., 2021).

Από επιστημονική σκοπιά, η εναρμονισμένη αυτή προσέγγιση έχει ιδιαίτερη σημασία για την αναλυτική χημεία, επειδή δημιουργεί κοινές απαιτήσεις ως προς τα αναλυτικά όρια, τα κριτήρια επιβεβαίωσης, την αποδεκτή αβεβαιότητα και την αξιοπιστία των εργαστηριακών αποτελεσμάτων. Με τον τρόπο αυτό, τα εργαστήρια ελέγχου υπολειμμάτων στην Ευρώπη καλούνται να λειτουργούν υπό κοινές ποιοτικές προδιαγραφές, ώστε τα αποτελέσματα να είναι συγκρίσιμα και νομικά αξιοποιήσιμα σε όλα τα κράτη-μέλη (Ευρωπαϊκή Επιτροπή, 2021).

3.3 Κανονισμός (ΕΚ) 1107/2009 και έγκριση δραστικών ουσιών

Ο Κανονισμός (ΕΚ) 1107/2009 αποτελεί τη θεμελιώδη νομοθετική πράξη για την έγκριση των δραστικών ουσιών και τη διάθεση φυτοπροστατευτικών προϊόντων στην αγορά της Ευρωπαϊκής Ένωσης. Ο βασικός του προσανατολισμός είναι ότι μία δραστική ουσία εγκρίνεται μόνο όταν, υπό ρεαλιστικές συνθήκες χρήσης, δεν αναμένεται να έχει επιβλαβείς επιδράσεις στην ανθρώπινη ή ζωική υγεία ούτε μη αποδεκτές επιπτώσεις στο περιβάλλον. Επομένως, η διαδικασία έγκρισης δεν στηρίζεται σε μία απλή καταγραφή χημικών ιδιοτήτων, αλλά σε ολοκληρωμένη εκτίμηση κινδύνου που περιλαμβάνει τοξικολογικά, οικοτοξικολογικά, περιβαλλοντικά και υπολειμματικά δεδομένα (Ευρωπαϊκό Κοινοβούλιο και Συμβούλιο της Ευρωπαϊκής Ένωσης, 2009a).

Η έγκριση των δραστικών ουσιών πραγματοποιείται σε επίπεδο Ευρωπαϊκής Ένωσης, ενώ η αδειοδότηση των συγκεκριμένων εμπορικών σκευασμάτων γίνεται σε επίπεδο κρατών-μελών, με βάση και τις ιδιαίτερες γεωργικές ή κλιματικές συνθήκες κάθε ζώνης. Η διάκριση

αυτή είναι σημαντική, διότι αναγνωρίζει ότι η επιστημονική αξιολόγηση της ουσίας πρέπει να είναι κοινή και εναρμονισμένη, αλλά η πρακτική χρήση ενός σκευάσματος ενδέχεται να διαφοροποιείται ανάλογα με την καλλιέργεια, το περιβάλλον εφαρμογής και τη γεωργική πρακτική. Η σχετική προσέγγιση αποσκοπεί στη συνδυασμένη εξασφάλιση ενιαίων κριτηρίων ασφαλείας και ευελιξίας στην εφαρμογή (Ευρωπαϊκό Κοινοβούλιο και Συμβούλιο της Ευρωπαϊκής Ένωσης, 2009a).

Ένα ιδιαίτερα κρίσιμο στοιχείο του Κανονισμού είναι η ενσωμάτωση των λεγόμενων κριτηρίων αποκλεισμού. Ουσίες που ταξινομούνται, για παράδειγμα, ως καρκινογόνες, μεταλλαξιογόνες, τοξικές για την αναπαραγωγή ή ενδοκρινικοί διαταράκτες μπορούν, υπό προϋποθέσεις, να αποκλειστούν από την έγκριση. Η νομοθετική αυτή επιλογή δείχνει ότι το ευρωπαϊκό σύστημα δεν βασίζεται μόνο στη διαχείριση της έκθεσης, αλλά και σε μια περισσότερο προληπτική λογική, σύμφωνα με την οποία ορισμένοι εγγενείς κίνδυνοι μιας ουσίας δεν θεωρούνται αποδεκτοί, ακόμη και αν η έκθεση επιχειρείται να περιοριστεί (Lykogianni et al., 2021; Ευρωπαϊκό Κοινοβούλιο και Συμβούλιο της Ευρωπαϊκής Ένωσης, 2009a).

Για την αναλυτική χημεία, η σημασία του Κανονισμού 1107/2009 είναι μεγάλη, επειδή η τεκμηρίωση της συμπεριφοράς μιας δραστικής ουσίας περιλαμβάνει και δεδομένα μεταβολισμού, αποδόμησης, δημιουργίας μεταβολιτών και παρουσίας υπολειμμάτων σε πρωτογενείς και μεταποιημένες μήτρες. Επομένως, η έγκριση μιας ουσίας δεν είναι ανεξάρτητη από την ικανότητα των εργαστηρίων να την ανιχνεύουν και να την ποσοτικοποιούν με κατάλληλη ευαισθησία και εκλεκτικότητα.

3.4 Κανονισμός (ΕΚ) 396/2005 και ανώτατα όρια καταλοίπων (MRLs)

Όσον αφορά τον Κανονισμό (ΕΚ) 396/2005, είναι αυτός που ρυθμίζει τα ανώτατα όρια καταλοίπων φυτοφαρμάκων, γνωστά ως MRLs (Maximum Residue Levels), στα τρόφιμα και στις ζωοτροφές φυτικής και ζωικής προέλευσης. Τα όρια αυτά αποτελούν τη βασική γέφυρα ανάμεσα στη γεωργική χρήση των φυτοφαρμάκων και στην προστασία του καταναλωτή, καθώς καθορίζουν τη μέγιστη νόμιμα αποδεκτή συγκέντρωση ενός καταλοίπου ή ομάδας καταλοίπων σε συγκεκριμένο προϊόν (Ευρωπαϊκό Κοινοβούλιο και Συμβούλιο της Ευρωπαϊκής Ένωσης, 2005).

Τα MRLs δεν ταυτίζονται με όρια τοξικότητας, αλλά καθορίζονται με βάση την ορθή γεωργική πρακτική και την εκτίμηση διατροφικού κινδύνου. Αυτό σημαίνει ότι η τιμή τους προκύπτει αφενός από τα αναμενόμενα κατάλοιπα όταν το φυτοφάρμακο χρησιμοποιείται σωστά και αφετέρου από την ανάγκη να παραμένει η έκθεση του καταναλωτή κάτω από αποδεκτά τοξικολογικά όρια, όπως η αποδεκτή ημερήσια πρόσληψη και, όπου απαιτείται, η οξεία αναφορά έκθεσης. Επομένως, τα MRLs έχουν διττό χαρακτήρα: είναι ταυτόχρονα ρυθμιστικά εργαλεία ελέγχου της αγοράς και δείκτες ασφαλούς χρήσης (Ευρωπαϊκό Κοινοβούλιο και Συμβούλιο της Ευρωπαϊκής Ένωσης, 2005).

Για τον εργαστηριακό έλεγχο, τα MRLs έχουν καθοριστική σημασία, καθώς αποτελούν το σημείο αναφοράς για την αξιολόγηση της συμμόρφωσης ενός δείγματος. Ένα εργαστήριο ελέγχου υπολειμμάτων δεν αρκεί να ανιχνεύει την παρουσία μιας ουσίας, αλλά πρέπει να είναι σε θέση να αποδείξει με ακρίβεια αν η συγκέντρωσή της υπερβαίνει ή όχι το ισχύον όριο. Αυτό απαιτεί μεθόδους με επαρκώς χαμηλά όρια ποσοτικοποίησης, κατάλληλη επιλεκτικότητα και σαφή κριτήρια επιβεβαίωσης, ιδίως όταν οι συγκεντρώσεις είναι πολύ χαμηλές και οι μήτρες σύνθετες (Ευρωπαϊκή Επιτροπή, 2021; Stachniuk & Fornal, 2016).

Επιπλέον, το σύστημα των MRLs έχει μεγάλη σημασία και για το διεθνές εμπόριο, καθώς η μη συμμόρφωση με τα ευρωπαϊκά όρια μπορεί να οδηγήσει σε απόρριψη παρτίδων, περιορισμούς στην κυκλοφορία προϊόντων και εμπορικές επιπτώσεις. Κατά συνέπεια, η αναλυτική χημεία των φυτοφαρμάκων δεν υπηρετεί μόνο την επιστημονική γνώση ή τη δημόσια υγεία, αλλά και την κανονιστική τεκμηρίωση της ποιότητας και της νομιμότητας των αγροδιατροφικών προϊόντων.

3.5 Οδηγία 2009/128/EK και ορθολογική χρήση των γεωργικών φαρμάκων

Μια ακόμα Οδηγία της ΕΕ που είναι αναγκαία να αναφερθεί είναι η Οδηγία 2009/128/EK που εισάγει ένα ευρύτερο και περισσότερο προληπτικό επίπεδο ρύθμισης, καθώς δεν εστιάζει μόνο στην έγκριση των ουσιών ή στα κατάλοιπα στα τρόφιμα, αλλά στον ίδιο τον τρόπο χρήσης των γεωργικών φαρμάκων. Στόχος της είναι η επίτευξη της ορθολογικής χρήσης των φυτοφαρμάκων, μέσω της μείωσης των κινδύνων και των επιπτώσεων στην ανθρώπινη υγεία και στο περιβάλλον, καθώς και μέσω της προώθησης της ολοκληρωμένης

φυτοπροστασίας και εναλλακτικών προσεγγίσεων χαμηλής εισροής (Ευρωπαϊκό Κοινοβούλιο και Συμβούλιο της Ευρωπαϊκής Ένωσης, 2009b).

Η σημασία της Οδηγίας είναι ιδιαίτερα μεγάλη, επειδή αναγνωρίζει ότι ακόμη και ένα εγκεκριμένο προϊόν, όταν χρησιμοποιείται ακατάλληλα ή υπερβολικά, μπορεί να οδηγήσει σε μη αποδεκτούς κινδύνους. Έτσι, το ρυθμιστικό βάρος μετατοπίζεται εν μέρει από την ίδια την ουσία προς την πρακτική εφαρμογή της. Η κατάρτιση των χρηστών, η επιθεώρηση του εξοπλισμού εφαρμογής, η προστασία των υδάτων, ο περιορισμός των αεροψεκασμών, η ενημέρωση των επαγγελματιών χρηστών και η ενσωμάτωση των αρχών της ολοκληρωμένης φυτοπροστασίας αποτελούν βασικά στοιχεία της Οδηγίας (Ευρωπαϊκό Κοινοβούλιο και Συμβούλιο της Ευρωπαϊκής Ένωσης, 2009b).

Από πλευράς αναλυτικής χημείας, η Οδηγία έχει έμμεση αλλά πολύ ουσιαστική σημασία. Όσο περισσότερο η πολιτική της ΕΕ μετατοπίζεται προς την πρόληψη, τη μείωση χρήσης και την τεκμηριωμένη εφαρμογή, τόσο μεγαλύτερη γίνεται η ανάγκη για συστήματα παρακολούθησης που μπορούν να αποτυπώσουν με αξιοπιστία τις μεταβολές στα επίπεδα καταλοίπων σε τρόφιμα, έδαφος, ύδατα και άλλες περιβαλλοντικές μήτρες. Με άλλα λόγια, η ορθολογική χρήση δεν μπορεί να αξιολογηθεί χωρίς κατάλληλα δεδομένα μέτρησης και επομένως χωρίς αναλυτικές μεθόδους υψηλής ποιότητας.

3.6 Απαιτήσεις για τον εργαστηριακό έλεγχο και την επικύρωση μεθόδων

Για να είναι ένα εργαστηριακό αποτέλεσμα αποδεκτό τόσο επιστημονικά όσο και νομικά, δεν αρκεί η απλή μέτρηση μιας συγκέντρωσης αλλά απαιτείται η χρήση κατάλληλα επικυρωμένων αναλυτικών μεθόδων, με τεκμηριωμένη απόδοση ως προς την εκλεκτικότητα, τη γραμμικότητα, την ανάκτηση, την ακρίβεια, την ορθότητα, τα όρια ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης, καθώς και την αβεβαιότητα της μέτρησης (Ευρωπαϊκή Επιτροπή, 2021).

Οι απαιτήσεις αυτές αποκτούν ιδιαίτερη σημασία στην ανάλυση φυτοφαρμάκων, επειδή τα υπολείμματα ανευρίσκονται συχνά σε πολύ χαμηλά επίπεδα και μέσα σε εξαιρετικά σύνθετες μήτρες. Τρόφιμα όπως φρούτα, λαχανικά, δημητριακά, έλαια, παιδικές τροφές ή μπαχαρικά περιέχουν μεγάλο αριθμό συνεκχυλιζόμενων συστατικών που μπορούν να

επηρεάσουν την ανάλυση. Επομένως, η επικύρωση δεν είναι μια τυπική διαδικασία συμμόρφωσης, αλλά απαραίτητη επιστημονική προϋπόθεση για την αξιοπιστία του αποτελέσματος (Lambropoulou & Albanis, 2007; Wilkowska & Biziuk, 2011).

Ιδίως στη σύγχρονη πολυπολειμματική ανάλυση με GC-MS/MS, LC-MS/MS και HRMS, το ζήτημα της επικύρωσης γίνεται ακόμη πιο σύνθετο, επειδή ένα μόνο πρωτόκολλο μπορεί να στοχεύει δεκάδες ή εκατοντάδες ενώσεις με διαφορετική χημική συμπεριφορά. Γι' αυτό τα κριτήρια αποδοχής πρέπει να εφαρμόζονται με συνέπεια και να τεκμηριώνονται σε πραγματικές μήτρες, με στόχο η μέθοδος να αποδεικνύεται κατάλληλη για τον συγκεκριμένο σκοπό χρήσης της και όχι απλώς θεωρητικά επαρκής (Hernández-Mesa & Moreno-González, 2022; Sandín-España & Dagnac, 2023).

3.7 Το έγγραφο SANTE/11312/2021 και η σημασία του στην αναλυτική πράξη

Από την Ευρωπαϊκή Επιτροπή, τη σήμερον ημέρα το έγγραφο SANTE/11312/2021 είναι το βασικό καθοδηγητικό κείμενο για τον ποιοτικό έλεγχο και την επικύρωση μεθόδων ανάλυσης υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων σε τρόφιμα και ζωοτροφές και μεταφράζει τις γενικές αρχές της αναλυτικής ποιότητας σε συγκεκριμένα τεχνικά κριτήρια που πρέπει να εφαρμόζονται από τα εργαστήρια ελέγχου (Ευρωπαϊκή Επιτροπή, 2021).

Το έγγραφο αυτό καθορίζει, μεταξύ άλλων, αποδεκτά κριτήρια ανάκτησης, επαναληψιμότητας, επιβεβαίωσης ταυτότητας, αριθμού μεταβάσεων σε MS/MS συστήματα, χρήσης matrix-matched calibration, αντιμετώπισης των επιδράσεων της μήτρας και τεκμηρίωσης του LOQ. Έτσι, λειτουργεί ως σημείο αναφοράς για την πρακτική εφαρμογή της νομοθεσίας, ενοποιώντας σε μεγάλο βαθμό τη λειτουργία των εργαστηρίων εντός της Ευρωπαϊκής Ένωσης. Για έναν αναλυτικό χημικό, το SANTE δεν είναι απλώς διοικητική οδηγία, αλλά καθημερινό εργαλείο σχεδιασμού, αξιολόγησης και τεκμηρίωσης της μεθόδου.

Η σημασία του είναι ιδιαίτερα μεγάλη για τις τεχνικές χρωματογραφίας-φασματομετρίας μάζας, στις οποίες τα ζητήματα επιλεκτικότητας και επιβεβαίωσης είναι κεντρικά. Η απαίτηση για επαρκή ιοντικά κριτήρια, σωστό χρόνο κατακράτησης, αποδεκτές αναλογίες μεταβάσεων και συνεπή επίδοση σε διάφορες μήτρες καθιστά το SANTE βασική γέφυρα

ανάμεσα στην αναλυτική επιστήμη και στη ρυθμιστική εφαρμογή (Ευρωπαϊκή Επιτροπή, 2021).

3.8 Εθνικό πλαίσιο και μηχανισμοί ελέγχου στην Ελλάδα

Στην Ελλάδα, η εφαρμογή του ευρωπαϊκού πλαισίου πραγματοποιείται μέσω των αρμόδιων εθνικών αρχών, οι οποίες είναι υπεύθυνες για την αδειοδότηση, την επιτήρηση της αγοράς, τους επίσημους ελέγχους και την παρακολούθηση των υπολειμμάτων στα τρόφιμα και στο περιβάλλον. Το εθνικό πλαίσιο δεν λειτουργεί αυτόνομα, αλλά εντάσσεται στον εναρμονισμένο μηχανισμό της Ευρωπαϊκής Ένωσης, πράγμα που σημαίνει ότι οι ελληνικές αρχές οφείλουν να εφαρμόζουν τα ίδια κανονιστικά κριτήρια, τα ίδια MRLs και τις ίδιες βασικές απαιτήσεις αναλυτικής ποιότητας όπως και τα υπόλοιπα κράτη-μέλη (Ευρωπαϊκό Κοινοβούλιο και Συμβούλιο της Ευρωπαϊκής Ένωσης, 2005, 2009a, 2009b).

Σε πρακτικό επίπεδο, ο εθνικός μηχανισμός περιλαμβάνει προγράμματα ελέγχου υπολειμμάτων σε προϊόντα φυτικής και ζωικής προέλευσης, συνεργασία μεταξύ αρμόδιων ελεγκτικών και εργαστηριακών φορέων, καθώς και συμμετοχή σε ευρωπαϊκά δίκτυα επιτήρησης. Η αξία των εθνικών ελέγχων είναι διπλή: αφενός προστατεύουν τον καταναλωτή και αφετέρου τεκμηριώνουν τη συμμόρφωση των ελληνικών προϊόντων στην εσωτερική και διεθνή αγορά. Για τον λόγο αυτό, η ποιότητα των εργαστηριακών αποτελεσμάτων είναι αποφασιστικής σημασίας και πρέπει να στηρίζεται σε μεθόδους συμβατές με το SANTE και τις διεθνείς απαιτήσεις διαπίστευσης.

3.9 Προκλήσεις στην εφαρμογή της νομοθεσίας και στη συμμόρφωση

Παρά την ύπαρξη εκτεταμένου και επιστημονικά τεκμηριωμένου νομοθετικού πλαισίου, η εφαρμογή της νομοθεσίας για τα φυτοφάρμακα εξακολουθεί να συνοδεύεται από σημαντικές προκλήσεις. Μία πρώτη δυσκολία είναι η ίδια η πολυπλοκότητα του πεδίου: μεγάλος αριθμός δραστικών ουσιών, μεταβολιτών, διαφορετικών μητρών και συνεχώς μεταβαλλόμενων αναλυτικών και κανονιστικών απαιτήσεων. Αυτό σημαίνει ότι η συμμόρφωση δεν εξαρτάται μόνο από τη βούληση των χρηστών ή των ελεγκτικών αρχών, αλλά και από τη διαρκή επιστημονική και τεχνολογική τους επάρκεια (Sandín-España & Dagnac, 2023).

Ακόμα μια αξιομνημόνευτη πρόκληση είναι για τη χώρα μας η ανάπτυξη και διατήρηση προηγμένων αναλυτικών υποδομών. Η σύγχρονη παρακολούθηση των υπολειμμάτων απαιτεί εξοπλισμό υψηλού κόστους, όπως GC-MS/MS, LC-MS/MS και HRMS συστήματα, καθώς και εξειδικευμένο προσωπικό ικανό να αναπτύσσει, να επικυρώνει και να ερμηνεύει σύνθετες πολυπολειμματικές μεθόδους. Επομένως, η αποτελεσματική εφαρμογή της νομοθεσίας δεν είναι μόνο νομικό ζήτημα, αλλά και ζήτημα τεχνικής ικανότητας και επένδυσης σε εργαστηριακή υποδομή (Hernández-Mesa & Moreno-González, 2022).

Μια τρίτη πρόκληση σχετίζεται με τη δυναμική φύση του πεδίου. Νέες δραστικές ουσίες, νέοι μεταβολίτες, νέες μορφές σκευασμάτων και αυξανόμενη χρήση ευρείας εμβέλειας προσεγγίσεων screening καθιστούν απαραίτητη τη συνεχή επικαιροποίηση των μεθόδων και των ελεγκτικών στρατηγικών. Επιπλέον, οι αναλυτικές απαιτήσεις διαφοροποιούνται ανάλογα με τη μήτρα, το είδος της καλλιέργειας και τον επιδιωκόμενο σκοπό της ανάλυσης. Συνεπώς, η συμμόρφωση δεν μπορεί να αντιμετωπίζεται στατικά, αλλά ως διαρκής διαδικασία προσαρμογής.

Κεφάλαιο 4. Αναλυτική χημεία και θεωρητικές βάσεις του προσδιορισμού φυτοφαρμάκων

4.1 Ο ρόλος της αναλυτικής χημείας στον έλεγχο υπολειμμάτων

Η αναλυτική χημεία αποτελεί τον θεμελιώδη επιστημονικό κλάδο πάνω στον οποίο στηρίζεται ο σύγχρονος έλεγχος των υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων σε τρόφιμα, ζωοτροφές, νερά, εδάφη και άλλες περιβαλλοντικές ή βιολογικές μήτρες. Μέσω αυτής, καθίσταται εφικτή αφενός η ανίχνευση της παρουσίας μιας δραστικής ουσίας, αφετέρου δε η ασφαλής ταυτοποίησης, η ακριβής ποσοτικοποίηση και η αξιολόγηση της συμμόρφωσης των δειγμάτων με τα ισχύοντα κανονιστικά όρια (Picó et al., 2000; Stachniuk & Fornal, 2016). Σε ένα περιβάλλον όπου οι απαιτήσεις για ασφάλεια τροφίμων και προστασία της δημόσιας υγείας είναι ιδιαίτερα αυξημένες, η αναλυτική χημεία δεν λειτουργεί απλώς ως τεχνικό εργαλείο, αλλά ως βασικός μηχανισμός επιστημονικής τεκμηρίωσης.

Η σημασία της αναλυτικής χημείας στον τομέα των φυτοφαρμάκων συνδέεται άμεσα με τη χημική ετερογένεια των ενώσεων αυτών. Τα φυτοφάρμακα περιλαμβάνουν μεγάλο αριθμό ουσιών με διαφορετική μοριακή δομή, διαφορετική πολικότητα, διαφορετική διαλυτότητα, διαφορετική πτητικότητα και διαφορετική σταθερότητα έναντι θερμικής, φωτοχημικής ή βιολογικής αποδόμησης. Οι διαφορές αυτές επηρεάζουν καθοριστικά τον τρόπο με τον οποίο οι ουσίες εκχυλίζονται από μια μήτρα, διαχωρίζονται χρωματογραφικά και τελικά ανιχνεύονται από το κατάλληλο αναλυτικό σύστημα (Lambropoulou & Albanis, 2007; Sandín-España & Dagnac, 2023). Επομένως, η αναλυτική χημεία καλείται να αντιμετωπίσει όχι ένα ενιαίο πρόβλημα, αλλά ένα σύνολο σύνθετων και διαφοροποιημένων αναλυτικών προκλήσεων.

Επιπλέον, η αναλυτική χημεία είναι απαραίτητη για την εφαρμογή της ισχύουσας νομοθεσίας. Ο προσδιορισμός υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων δεν αφορά μόνο ερευνητικούς σκοπούς, αλλά συνδέεται με επίσημους ελέγχους, με μηχανισμούς επιτήρησης της αγοράς και με διαδικασίες λήψης αποφάσεων που σχετίζονται με την προστασία του καταναλωτή. Στο ευρωπαϊκό πλαίσιο, η συμμόρφωση με τα ανώτατα όρια καταλοίπων προϋποθέτει την ύπαρξη μεθόδων ικανών να προσδιορίζουν αξιόπιστα τις ουσίες σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις, συχνά σε επίπεδα mg/kg ή και µg/kg, με

κατάλληλα τεκμηριωμένη ακρίβεια, ορθότητα και ευαισθησία (Ευρωπαϊκό Κοινοβούλιο και Συμβούλιο της Ευρωπαϊκής Ένωσης, 2005; Ευρωπαϊκή Επιτροπή, 2021). Η σύγχρονη τάση, όπως έχει επισημανθεί και σε πρόσφατες ανασκοπήσεις της αναλυτικής χημείας φυτοφαρμάκων, είναι οι μέθοδοι να είναι ταυτόχρονα πιο «πράσινες», πιο ολοκληρωμένες και περισσότερο κατάλληλες για έλεγχο πολλών ενώσεων σε ένα μόνο πρωτόκολλο (Wu et al., 2022).

Από την άποψη της θεωρίας της αναλυτικής χημείας, ο έλεγχος υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων περιλαμβάνει όλα τα βασικά στάδια μιας σύγχρονης αναλυτικής μεθόδου: δειγματοληψία, ομογενοποίηση, προετοιμασία δείγματος, διαχωρισμό, ανίχνευση, ποσοτικοποίηση, επιβεβαίωση ταυτότητας και τελική αξιολόγηση της ποιότητας των αποτελεσμάτων. Κάθε ένα από αυτά τα στάδια μπορεί να επηρεάσει αποφασιστικά την αξιοπιστία της τελικής μέτρησης. Για παράδειγμα, ένα εξαιρετικό φασματομετρικό σύστημα δεν μπορεί να αντισταθμίσει πλήρως προβλήματα που έχουν προκύψει από ανεπαρκή εκχύλιση, απώλειες αναλυτών ή ισχυρές παρεμβολές της μήτρας (Skoog et al., 2005; Lambropoulou & Albanis, 2007). Αντίστοιχα, οι Andreu & Picó (2004) τόνισαν ήδη από νωρίς ότι η ανάλυση φυτοφαρμάκων στο έδαφος είναι απαιτητική όχι μόνο λόγω των χαμηλών συγκεντρώσεων, αλλά και επειδή η ισχυρή πρόσδεση των ουσιών στη μήτρα και ο σχηματισμός πολυάριθμων προϊόντων αποδόμησης αυξάνουν σημαντικά την αναλυτική πολυπλοκότητα.

Ο ρόλος της αναλυτικής χημείας στον έλεγχο υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων λοιπόν αφορά την ανάπτυξη μεθόδων, την αξιολόγηση της ποιότητάς τους, τη σωστή ερμηνεία των μετρήσεων και τη σύνδεση των αποτελεσμάτων με πραγματικές ανάγκες δημόσιας υγείας, περιβαλλοντικής παρακολούθησης και κανονιστικής συμμόρφωσης. Για τον λόγο αυτό, η θεωρητική προσέγγιση του προσδιορισμού φυτοφαρμάκων δεν μπορεί να γίνει χωρίς αναφορά στις βασικές αρχές της αναλυτικής χημείας.

4.2 Ιδιαιτερότητες του αναλυτικού προσδιορισμού φυτοφαρμάκων

Ο αναλυτικός προσδιορισμός φυτοφαρμάκων παρουσιάζει ιδιαίτερες απαιτήσεις και δυσκολίες που τον διαφοροποιούν ουσιωδώς από άλλες εφαρμογές της αναλυτικής χημείας.

Μία από τις βασικότερες ιδιαιτερότητες είναι ότι οι υπό προσδιορισμό ουσίες βρίσκονται συνήθως σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις, ενώ ταυτόχρονα συνυπάρχουν με μεγάλο αριθμό φυσικών ή ανθρωπογενών συστατικών της μήτρας. Το γεγονός αυτό καθιστά αναγκαία την ανάπτυξη μεθόδων υψηλής ευαισθησίας, υψηλής εκλεκτικότητας και επαρκούς ανθεκτικότητας απέναντι στις παρεμβολές (Masía et al., 2016; Hernández-Mesa & Moreno-González, 2022).

Πέρα από τη χαμηλή συγκέντρωση, οι ίδιες οι χημικές ιδιότητες των φυτοφαρμάκων αποτελούν πηγή αναλυτικής πολυπλοκότητας. Ορισμένες ενώσεις είναι πτητικές και θερμικά σταθερές και μπορούν να προσδιοριστούν αποτελεσματικά με αέρια χρωματογραφία, ενώ άλλες είναι περισσότερο πολικές, θερμικά ασταθείς ή μη πτητικές και συνεπώς αναλύονται καλύτερα με υγρή χρωματογραφία συζευγμένη με φασματομετρία μάζας (Picó et al., 2000; Soler et al., 2008). Επομένως, η επιλογή της τεχνικής δεν είναι τυχαία, αλλά εξαρτάται άμεσα από τη χημική φύση των αναλυτών. Στο ίδιο πλαίσιο, φυσικοχημικές παράμετροι όπως η υδατοδιαλυτότητα, ο συντελεστής κατανομής οκτανόλης/νερού ($\log K_{ow}$), ο συντελεστής προσρόφησης στο οργανικό κλάσμα του εδάφους (K_{oc}) και ο χρόνος ημιζώης στο έδαφος (DT_{50}) χρησιμοποιούνται όχι μόνο για την ερμηνεία της περιβαλλοντικής συμπεριφοράς των φυτοφαρμάκων, αλλά και για την επιλογή κατάλληλης αναλυτικής στρατηγικής και προεπεξεργασίας δείγματος (Andreu & Picó, 2004).

Μια ακόμη ιδιαιτερότητα αφορά τη δυνατότητα μετασχηματισμού των φυτοφαρμάκων. Σε πολλές περιπτώσεις, η αναλυτική εξέταση δεν περιορίζεται στις μητρικές δραστικές ουσίες, αλλά επεκτείνεται σε μεταβολίτες, προϊόντα διάσπασης ή ισομερή. Αυτό έχει ιδιαίτερη σημασία τόσο για την ασφάλεια τροφίμων όσο και για την περιβαλλοντική παρακολούθηση, επειδή ορισμένοι μεταβολίτες μπορεί να διατηρούν βιολογική δραστηριότητα ή να εμφανίζουν διαφορετικό τοξικολογικό προφίλ από την αρχική ένωση. Η απαίτηση αυτή αυξάνει σημαντικά τον βαθμό δυσκολίας του αναλυτικού έργου και ενισχύει την ανάγκη για τεχνικές με ισχυρή επιβεβαιωτική ικανότητα (Gómez-Ramos et al., 2013; Wang et al., 2016). Οι Andreu και Picó (2004) επισημαίνουν χαρακτηριστικά ότι σε ορισμένες περιπτώσεις τα προϊόντα αποδόμησης βρίσκονται σε υψηλότερα επίπεδα από το ίδιο το αρχικό φυτοφάρμακο, κάτι που μετατρέπει την ανάλυση από απλό προσδιορισμό υπολειμμάτων σε πολυπαραμετρική μελέτη χημικού μετασχηματισμού.

Σημαντική ιδιαιτερότητα αποτελεί επίσης ο πολυπολειμματικός χαρακτήρας της σύγχρονης ανάλυσης. Στη γεωργική πράξη είναι συνηθισμένη η χρήση διαφορετικών κατηγοριών φυτοφαρμάκων στο ίδιο σύστημα παραγωγής, ενώ τα δείγματα που ελέγχονται από τα εργαστήρια συχνά πρέπει να εξετάζονται για πολύ μεγάλο αριθμό ουσιών. Η απαίτηση αυτή έχει οδηγήσει στην ανάπτυξη πολυπολειμματικών μεθόδων, ικανών να καλύπτουν ταυτόχρονα δεκάδες ή εκατοντάδες ενώσεις. Ωστόσο, όσο διευρύνεται το πεδίο εφαρμογής μιας μεθόδου, τόσο αυξάνεται η δυσκολία διατήρησης ικανοποιητικών επιδόσεων για κάθε αναλύτη ξεχωριστά (Lehotay et al., 2005; Feng et al., 2020). Είναι χαρακτηριστικό ότι σε πρόσφατες μεθόδους αέριας και υγρής χρωματογραφίας με φασματομετρία μάζας αναλύονται εκατοντάδες φυτοφάρμακα σε μία μόνο αναλυτική ακολουθία, κάτι που αυξάνει σημαντικά τις απαιτήσεις για εκχύλιση, καθαρισμό, σταθερότητα οργάνου και επεξεργασία δεδομένων (Wu et al., 2022).

Τέλος, ο προσδιορισμός φυτοφαρμάκων χαρακτηρίζεται από αυστηρές απαιτήσεις τεκμηρίωσης. Δεδομένου ότι τα αποτελέσματα χρησιμοποιούνται για κανονιστικούς σκοπούς, κάθε μέθοδος πρέπει να αποδεικνύεται κατάλληλη για τον σκοπό της μέσω επικύρωσης. Δεν αρκεί επομένως μια μέθοδος να «λειτουργεί» σε θεωρητικό επίπεδο· πρέπει να αποδεικνύεται ότι λειτουργεί σωστά, επαναλήψιμα και με αποδεκτό σφάλμα στην πράξη και στις πραγματικές μήτρες όπου θα εφαρμοστεί (Ευρωπαϊκή Επιτροπή, 2021).

4.3 Αναλυτικό σήμα, θόρυβος και εκλεκτικότητα

Ως αναλυτικό σήμα νοείται η μετρούμενη απόκριση ενός οργάνου που αντιστοιχεί στην παρουσία του αναλύτη και, υπό συγκεκριμένες προϋποθέσεις, σχετίζεται ποσοτικά με τη συγκέντρωσή του. Στην περίπτωση των χρωματογραφικών τεχνικών, το σήμα εκφράζεται συνήθως ως επιφάνεια ή ύψος κορυφής, ενώ στη φασματομετρία μάζας αποδίδεται ως ένταση ιοντικού σήματος ή ως λόγος χαρακτηριστικών ιόντων. Η χρησιμότητα του σήματος εξαρτάται από το κατά πόσο αυτό μπορεί να αποδοθεί με σαφήνεια στον αναλύτη και να διακριθεί από το υπόβαθρο ή από τυχόν παρεμβολές (Skoog et al., 2005).

Ο θόρυβος αποτελεί τις τυχαίες ή μη επιθυμητές διακυμάνσεις του μετρούμενου σήματος που δεν σχετίζονται άμεσα με τον αναλύτη. Μπορεί να προέρχεται από το ίδιο το όργανο,

από την ηλεκτρονική του σταθερότητα, από τη γραμμή βάσης της χρωματογραφίας, από τη ρύπανση του συστήματος ή από τη μήτρα του δείγματος. Όσο μεγαλύτερος είναι ο θόρυβος, τόσο δυσκολότερη καθίσταται η ανίχνευση χαμηλών συγκεντρώσεων. Για τον λόγο αυτό, η σχέση σήματος προς θόρυβο αποτελεί βασικό μέτρο αξιολόγησης της ευαισθησίας μιας μεθόδου και χρησιμοποιείται ευρύτατα κατά τον προσδιορισμό του ορίου ανίχνευσης και του ορίου ποσοτικοποίησης (Skoog et al., 2005; Ευρωπαϊκή Επιτροπή, 2021). Τυπικά, στην αναλυτική πράξη χρησιμοποιείται η προσέγγιση:

$$S/N = \frac{\text{ύψος ή ένταση σήματος αναλύτη}}{\text{ένταση θορύβου υποβάθρου}}$$

και συνήθως θεωρείται ότι:

$$LOD \approx S/N = 3$$

$$LOQ \approx S/N = 10$$

Η εκλεκτικότητα είναι η ικανότητα της αναλυτικής μεθόδου να αποδίδει σήμα ειδικά για τον επιθυμητό αναλύτη, ακόμη και παρουσία πολλών άλλων συστατικών. Στην ανάλυση φυτοφαρμάκων, η εκλεκτικότητα έχει πολύ μεγάλη σημασία, επειδή οι μήτρες είναι συνήθως πολύπλοκες και τα συνυπάρχοντα συστατικά μπορούν να παράγουν σήματα που επικαλύπτουν ή παραμορφώνουν το σήμα του αναλύτη. Η χρωματογραφική απομόνωση της ένωσης πριν από την ανίχνευση βελτιώνει ουσιαστικά την εκλεκτικότητα, ενώ η σύζευξη με φασματομετρία μάζας παρέχει επιπλέον επίπεδο επιβεβαίωσης μέσω των χαρακτηριστικών ιόντων ή των ακριβών τιμών μάζας (Stachniuk & Fornal, 2016; Hernández-Mesa & Moreno-González, 2022). Οι Andreu και Picó (2004) έδειξαν επίσης ότι σε πολύπλοκες εδαφικές μήτρες το χρωματογραφικό σήμα μπορεί εύκολα να παραμορφωθεί από συνεκχυλιζόμενες χουμικές ουσίες, καθιστώντας αναγκαίο είτε αποτελεσματικότερο καθαρισμό είτε πιο εκλεκτικά συστήματα ανίχνευσης, όπως LC-MS/MS ή GC-MS.

Στην πράξη, η ποιότητα μιας αναλυτικής μέτρησης εξαρτάται από τη σωστή ισορροπία ανάμεσα σε αυτά τα τρία στοιχεία: επαρκές και σταθερό σήμα, χαμηλό θόρυβο και υψηλή

εκλεκτικότητα. Εάν οποιαδήποτε από αυτές τις παραμέτρους είναι ανεπαρκής, η συνολική αξιοπιστία της μεθόδου μειώνεται. Για παράδειγμα, μια μέθοδος με μεγάλη θεωρητική ευαισθησία μπορεί να αποδειχθεί πρακτικά προβληματική αν επηρεάζεται έντονα από matrix effects ή αν δεν διαχωρίζει ικανοποιητικά τις ουσίες της μήτρας. Συνεπώς, ο αναλυτικός σχεδιασμός πρέπει να αντιμετωπίζει το σήμα, τον θόρυβο και την εκλεκτικότητα ως αλληλοσυνδεόμενες παραμέτρους.

4.4 Βασικά χαρακτηριστικά αναλυτικών μεθόδων

Η καταλληλότητα μιας αναλυτικής μεθόδου δεν μπορεί να αξιολογηθεί μόνο από το αν παράγει αποτέλεσμα, αλλά από το κατά πόσο το αποτέλεσμα αυτό είναι αξιόπιστο, επαναλήψιμο και κατάλληλο για τον επιδιωκόμενο σκοπό. Για τον λόγο αυτό, έχουν καθιερωθεί συγκεκριμένα ποιοτικά χαρακτηριστικά, μέσω των οποίων περιγράφεται η επίδοση μιας μεθόδου. Τα βασικότερα από αυτά είναι η ακρίβεια, η ορθότητα, η επαναληψιμότητα, η αναπαραγωγιμότητα, η ευαισθησία, η εκλεκτικότητα, το LOD και το LOQ (Skoog et al., 2005; Ευρωπαϊκή Επιτροπή, 2021).

4.4.1 Ακρίβεια

Η ακρίβεια αναφέρεται στον βαθμό συμφωνίας μεταξύ ανεξάρτητων επαναλαμβανόμενων μετρήσεων υπό καθορισμένες συνθήκες. Εκφράζει ουσιαστικά τη διασπορά των αποτελεσμάτων και συνδέεται με τα τυχαία σφάλματα της μεθόδου. Μια μέθοδος υψηλής ακρίβειας δίνει αποτελέσματα πολύ κοντά μεταξύ τους. Στην πράξη, η ακρίβεια εκτιμάται μέσω στατιστικών παραμέτρων, όπως η τυπική απόκλιση ή η σχετική τυπική απόκλιση:

$$\%RSD = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100$$

όπου SD η τυπική απόκλιση και $\bar{x}$ η μέση τιμή των μετρήσεων (Skoog et al., 2005). Στις σύγχρονες πολυπολεμιατικές μεθόδους φυτοφαρμάκων, τιμές $\%RSD$ κάτω από 20% θεωρούνται γενικά αποδεκτές για τις περισσότερες συγκεντρώσεις επικύρωσης (Wu et al., 2022).

4.4.2 Ορθότητα

Η ορθότητα αφορά τον βαθμό συμφωνίας του μέσου αναλυτικού αποτελέσματος με την αληθή ή αποδεκτή τιμή αναφοράς. Συνδέεται κυρίως με τα συστηματικά σφάλματα. Στην ανάλυση φυτοφαρμάκων, η ορθότητα αξιολογείται συχνά μέσω πειραμάτων ανάκτησης, στα οποία γνωστή ποσότητα αναλύτη προστίθεται σε δείγμα μήτρας και εξετάζεται το ποσοστό που τελικά ανιχνεύεται. Η ανάκτηση υπολογίζεται συνήθως ως:

$$\%Recovery = \frac{C_{found}}{C_{spiked}} \times 100$$

ή, όταν υπάρχει φυσικό υπόβαθρο, ως:

$$\%Recovery = \frac{C_{spiked\ sample} - C_{blank}}{C_{added}} \times 100$$

Η ορθότητα είναι καίριας σημασίας για τον έλεγχο συμμόρφωσης, επειδή ένα συστηματικά μεροληπτικό αποτέλεσμα μπορεί να οδηγήσει είτε σε ψευδή μη συμμόρφωση είτε σε ψευδή αποδοχή ενός δείγματος (Ευρωπαϊκή Επιτροπή, 2021).

4.4.3 Επαναληψιμότητα

Η επαναληψιμότητα είναι ειδική μορφή ακρίβειας και αφορά τη συμφωνία αποτελεσμάτων που λαμβάνονται υπό τις ίδιες ακριβώς συνθήκες: ίδιος αναλυτής, ίδιο όργανο, ίδιο εργαστήριο και σύντομο χρονικό διάστημα. Πρόκειται για βασική παράμετρο της επικύρωσης, επειδή δείχνει τη σταθερότητα της μεθόδου σε ελεγχόμενο περιβάλλον.

4.4.4 Αναπαραγωγιμότητα

Η αναπαραγωγιμότητα αναφέρεται στη συμφωνία αποτελεσμάτων όταν οι συνθήκες μέτρησης αλλάζουν, όπως σε διαφορετικούς χειριστές, διαφορετικές ημέρες ή διαφορετικά εργαστήρια. Αποτελεί πιο αυστηρό κριτήριο από την επαναληψιμότητα και έχει ιδιαίτερη σημασία στις τυποποιημένες μεθόδους ή στις διεργαστηριακές συγκρίσεις.

4.4.5 Ευαισθησία

Η ευαισθησία εκφράζει την ικανότητα της μεθόδου να μετατρέπει μια μικρή μεταβολή συγκέντρωσης σε μετρήσιμη μεταβολή σήματος. Συνδέεται άμεσα με την κλίση της καμπύλης βαθμονόμησης. Όσο πιο απότομη είναι η κλίση, τόσο μεγαλύτερη είναι η ευαισθησία. Η παράμετρος αυτή είναι κρίσιμη στον προσδιορισμό φυτοφαρμάκων, διότι οι συγκεντρώσεις ενδιαφέροντος είναι συνήθως πολύ χαμηλές.

4.4.6 Εκλεκτικότητα

Η εκλεκτικότητα συνδέεται με την ικανότητα της μεθόδου να ανταποκρίνεται ειδικά στον αναλύτη και να περιορίζει την επίδραση παρεμβολών. Σε πολύπλοκες μήτρες τροφίμων, η εκλεκτικότητα αποτελεί βασική προϋπόθεση τόσο για την ορθή ποσοτικοποίηση όσο και για την ασφαλή ταυτοποίηση.

4.4.7 Όριο ανίχνευσης (LOD)

Το LOD είναι η μικρότερη ποσότητα ή συγκέντρωση αναλύτη που μπορεί να διακριθεί αξιόπιστα από τον θόρυβο του υποβάθρου. Δεν συνεπάγεται κατ' ανάγκη ακριβή ποσοτικοποίηση, αλλά μόνο αξιόπιστη ανίχνευση. Στην πράξη, το LOD αποτελεί κρίσιμο χαρακτηριστικό για μεθόδους που στοχεύουν σε έλεγχο παρουσίας ή απουσίας.

4.4.8 Όριο ποσοτικοποίησης (LOQ)

Το LOQ είναι η μικρότερη συγκέντρωση που μπορεί να προσδιοριστεί ποσοτικά με αποδεκτή ακρίβεια και ορθότητα. Στην ανάλυση φυτοφαρμάκων, το LOQ πρέπει να είναι συμβατό με τα ισχύοντα κανονιστικά όρια, διαφορετικά η μέθοδος δεν είναι πρακτικά χρήσιμη για επίσημο έλεγχο.

Πέρα από τα παραπάνω, η σύγχρονη επικύρωση συνδέεται όλο και περισσότερο και με την αξιολόγηση του matrix effect (ME), ιδιαίτερα σε μεθόδους LC-MS/MS και GC-MS/MS. Ένας συχνός τρόπος έκφρασής του είναι:

$$ME(\%) = \left(1 - \frac{\text{κλίση καμπύλης σε μήτρα}}{\text{κλίση καμπύλης σε διαλύτη}}\right) \times 100$$

Θετικές ή αρνητικές αποκλίσεις από το μηδέν δηλώνουν ενίσχυση ή καταστολή ιονισμού, αντίστοιχα, και επηρεάζουν άμεσα την ορθότητα της ποσοτικοποίησης όταν δεν χρησιμοποιούνται κατάλληλες διορθώσεις, όπως matrix-matched calibration ή εσωτερικά πρότυπα (Wu et al., 2022).

4.5 Αναλυτικές δυσκολίες στις πολύπλοκες μήτρες τροφίμων

Οι μήτρες τροφίμων αποτελούν ένα από τα πιο δύσκολα πεδία εφαρμογής της αναλυτικής χημείας, επειδή δεν είναι χημικά ουδέτερες ούτε απλές, αφού έκαστη κατηγορία τροφίμου φέρει δικό της σύνθετο προφίλ συστατικών, το οποίο μπορεί να παρεμποδίσει τόσο την εκχύλιση όσο και την ανίχνευση των φυτοφαρμάκων. Φρούτα και λαχανικά περιέχουν υψηλά επίπεδα νερού, σακχάρων, οργανικών οξέων και χρωστικών, τα έλαια χαρακτηρίζονται από μεγάλη περιεκτικότητα σε λιπίδια, ενώ προϊόντα όπως τα βότανα, τα καρυκεύματα ή οι σπόροι έχουν ιδιαίτερα πολύπλοκες οργανικές μήτρες (Wilkowska & Biziuk, 2011; Rajski et al., 2013).

Το σημαντικότερο πρακτικό πρόβλημα που συνδέεται με τις πολύπλοκες μήτρες είναι η συνεκχύλιση ανεπιθύμητων συστατικών. Οι ουσίες αυτές μπορούν να επηρεάσουν τη χρωματογραφική συμπεριφορά των αναλυτών, να ρυπάνουν το αναλυτικό σύστημα, να μειώσουν τη διάρκεια ζωής στηλών και πηγών ιονισμού και, κυρίως, να προκαλέσουν μεταβολές στην απόκριση του φασματομέτρου μάζας. Η καταστολή και η ενίσχυση ιονισμού αποτελούν χαρακτηριστικά φαινόμενα των matrix effects και ενδέχεται να οδηγήσουν σε σημαντικές αποκλίσεις από την πραγματική συγκέντρωση του αναλύτη, εφόσον δεν διορθωθούν επαρκώς (Masiá et al., 2016; Balkan et al., 2023).

Ένα επιπλέον πρόβλημα είναι ότι η ίδια μέθοδος δεν αποδίδει αναγκαστικά με τον ίδιο τρόπο σε όλες τις μήτρες. Ένα πρωτόκολλο που λειτουργεί ικανοποιητικά σε μήλα ή αγγούρια μπορεί να μην είναι εξίσου κατάλληλο για ελαιόλαδο, δημητριακά ή καρυκεύματα. Αυτό σημαίνει ότι η επικύρωση πρέπει να σχετίζεται με τη συγκεκριμένη ομάδα μητρών για την οποία προορίζεται η μέθοδος και ότι η προεπεξεργασία του

δείγματος οφείλει να είναι προσαρμοσμένη στο χημικό προφίλ του υποστρώματος (Ramadan et al., 2016; Hakme et al., 2018).

4.6 Πολυπολειμματικός προσδιορισμός και αναλυτικές απαιτήσεις

Η ανάγκη για ταυτόχρονο προσδιορισμό πολλών φυτοφαρμάκων οδήγησε στην ανάπτυξη πολυπολειμματικών μεθόδων, οι οποίες αποτελούν σήμερα το κυρίαρχο μοντέλο στη σύγχρονη εργαστηριακή πρακτική. Οι μέθοδοι αυτές είναι αξιομνημόνευτες καθώς δίνουν πλεονεκτήματα σε επίπεδο χρόνου, κόστους και αποδοτικότητας, επειδή επιτρέπουν τον έλεγχο μεγάλου αριθμού ενώσεων με ένα μόνο αναλυτικό πρωτόκολλο (Lehotay et al., 2005; Payá et al., 2007).

Ωστόσο, ο πολυπολειμματικός προσδιορισμός είναι εγγενώς απαιτητικός. Η μέθοδος πρέπει να είναι αρκετά γενική ώστε να περιλαμβάνει ουσίες με διαφορετική χημική συμπεριφορά, αλλά και αρκετά ακριβής και εκλεκτική για να παρέχει αξιόπιστα αποτελέσματα για καθεμία από αυτές. Η βελτιστοποίηση, επομένως, δεν αφορά μία μόνο ένωση, αλλά έναν συμβιβασμό ανάμεσα στις απαιτήσεις πολλών αναλυτών και πολλών μητρών. Για τον λόγο αυτό, οι μέθοδοι πολυπολειμματικής ανάλυσης βασίζονται συνήθως σε εκτεταμένη πρακτική αξιολόγηση και σε πολύπλευρη επικύρωση (Feng et al., 2020; Kim et al., 2024).

Η εξέλιξη αυτή συνδέθηκε στενά με τη χρήση συζευγμένων τεχνικών χρωματογραφίας-φασματομετρίας μάζας. Τα συστήματα LC-MS/MS και GC-MS/MS επέτρεψαν την ταυτόχρονη παρακολούθηση πολλών αναλυτών με υψηλή εκλεκτικότητα, ενώ τα συστήματα HRMS διεύρυναν ακόμη περισσότερο το πεδίο προς το suspect και non-target screening, προσφέροντας μεγαλύτερη αναλυτική πληροφορία και δυνατότητα αναδρομικής αξιολόγησης των δεδομένων (Gómez-Ramos et al., 2013; Wang et al., 2016; Hernández-Mesa & Moreno-González, 2022).

4.7 Ο ρόλος της προεπεξεργασίας δείγματος στην ποιότητα του αποτελέσματος

Η προεπεξεργασία του δείγματος αποτελεί ίσως το πιο κρίσιμο στάδιο στην ανάλυση φυτοφαρμάκων, διότι γεφυρώνει το πραγματικό, πολύπλοκο δείγμα με τις απαιτήσεις του οργάνου και της αναλυτικής μεθόδου. Στόχος της δεν είναι μόνο η μεταφορά των αναλυτών σε κατάλληλη μορφή για ανάλυση, αλλά και η απομάκρυνση παρεμβολών, η βελτίωση της ανάκτησης και η διασφάλιση της σταθερότητας των ενώσεων κατά την πορεία της ανάλυσης (Lambropoulou & Albanis, 2007; Hercegová et al., 2007).

Η μέθοδος QuEChERS αποτέλεσε σημαντικό σταθμό στην εξέλιξη της προετοιμασίας δείγματος για ανάλυση φυτοφαρμάκων. Η επιτυχία της οφείλεται στην ταχύτητα, στην απλότητα, στο χαμηλό κόστος και στην ικανότητά της να προσαρμόζεται σε πολλές κατηγορίες δειγμάτων. Παρ' όλα αυτά, δεν αποτελεί καθολική λύση. Σε λιπαρές, έντονα χρωματισμένες ή ιδιαίτερα σύνθετες μήτρες, απαιτούνται συχνά τροποποιήσεις, πρόσθετος καθαρισμός ή ακόμη και διαφορετικές στρατηγικές, όπως SPE ή εξειδικευμένα sorbents καθαρισμού (Anastassiades et al., 2003; Iosif et al., 2023).

Η προεπεξεργασία επηρεάζει άμεσα την ορθότητα και την ακρίβεια της μεθόδου. Ανεπαρκής εκχύλιση μπορεί να οδηγήσει σε χαμηλές ανακτήσεις, ενώ υπερβολική συνεκχύλιση συστατικών της μήτρας μπορεί να αυξήσει τις παρεμβολές και να επιδεινώσει τα matrix effects. Επομένως, το στάδιο αυτό δεν πρέπει να αντιμετωπίζεται ως απλή τεχνική λεπτομέρεια, αλλά ως βασικός προσδιοριστικός παράγοντας της συνολικής ποιότητας του αποτελέσματος (Wilkowska & Biziuk, 2011; Sandín-España & Dagnac, 2023).

Κεφάλαιο 5. Χρωματογραφικές τεχνικές στον προσδιορισμό φυτοφαρμάκων

5.1 Γενικές αρχές της χρωματογραφίας

Η χρωματογραφία αποτελεί μία από τις περισσότερο καθιερωμένες τεχνικές διαχωρισμού στην αναλυτική χημεία και έχει αποκτήσει κεντρική θέση στον προσδιορισμό υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων σε τρόφιμα, νερά, εδάφη και άλλες σύνθετες μήτρες. Ως φυσικοχημική μέθοδος, βασίζεται στη διαφορετική κατανομή των συστατικών ενός μίγματος μεταξύ δύο φάσεων, της στατικής και της κινητής, με αποτέλεσμα κάθε ένωση να μετακινείται με διαφορετική ταχύτητα και τελικά να διαχωρίζεται από τις υπόλοιπες (Skoog et al., 2005). Η αρχή αυτή είναι ιδιαιτέρως βοηθητική στην ανάλυση φυτοφαρμάκων, επειδή οι ενώσεις που αναζητούνται στα πραγματικά δείγματα εμφανίζουν μεγάλη χημική ετερογένεια ως προς την πολικότητα, την πτητικότητα, τη λιποφιλία, τη θερμική σταθερότητα και τη δυνατότητα ιονισμού.

Η ιστορική απαρχή της χρωματογραφίας συνδέεται με τα πειράματα του Ρώσου βοτανολόγου Mikhail Tswett, ο οποίος στις αρχές του 20ού αιώνα διαχώρισε φυτικές χρωστικές σε γυάλινη στήλη με ανθρακικό ασβέστιο, παρατηρώντας τη δημιουργία διακριτών έγχρωμων ζωνών. Από αυτή τη διαδικασία προήλθε και ο όρος χρωματογραφία, από τις λέξεις «χρώμα» και «γράφω». Παρότι η τεχνική εξελίχθηκε ριζικά από τότε, η βασική αρχή παρέμεινε η ίδια: οι ουσίες διαχωρίζονται επειδή δεν αλληλεπιδρούν με τον ίδιο τρόπο με τη στατική και την κινητή φάση (Rouessac & Rouessac, 2007).

Σε μία τυπική χρωματογραφική διαδικασία, το δείγμα εισάγεται στο σύστημα και η κινητή φάση το μεταφέρει μέσα από τη στατική φάση. Ορισμένα συστατικά παραμένουν περισσότερο χρόνο σε επαφή με τη στατική φάση, ενώ άλλα ακολουθούν ταχύτερα την κινητή φάση. Το αποτέλεσμα είναι η έξοδος των αναλυτών σε διαφορετικούς χρόνους. Η διαδικασία αυτή ονομάζεται έκλουση και το διάγραμμα του αναλυτικού σήματος ως συνάρτηση του χρόνου ονομάζεται χρωματογράφημα. Σε αυτό, κάθε κορυφή αντιστοιχεί σε μία ουσία ή ομάδα ουσιών που εξέρχεται από τη στήλη και ανιχνεύεται από το κατάλληλο σύστημα ανίχνευσης.

Η χρωματογραφία μπορεί να θεωρηθεί ως δυναμική μορφή εκχύλισης. Όπως στην εκχύλιση, έτσι και εδώ, ο αναλύτης κατανέμεται ανάμεσα σε δύο φάσεις. Ωστόσο, στη χρωματογραφία η μία φάση παραμένει ακίνητη, ενώ η άλλη κινείται συνεχώς, επιτρέποντας διαδοχικούς κύκλους προσρόφησης, εκρόφησης, διάλυσης και επανακατανομής. Αυτή η επαναλαμβανόμενη διεργασία προσδίδει στη χρωματογραφία εξαιρετικά μεγάλη διαχωριστική ικανότητα, γεγονός που την καθιστά ιδιαίτερα κατάλληλη για τον διαχωρισμό φυτοφαρμάκων που συνυπάρχουν σε χαμηλές συγκεντρώσεις μέσα σε πολύπλοκες μήτρες (Pare & Belanger, 1997).

Από αναλυτικής σκοπιάς, η χρωματογραφία δεν είναι απλώς μία τεχνική διαχωρισμού, αλλά ένα θεμελιώδες στάδιο που εξασφαλίζει την εκλεκτικότητα και την αξιοπιστία της ανάλυσης. Στα δείγματα τροφίμων, για παράδειγμα, συνυπάρχουν σάκχαρα, οργανικά οξέα, λιπίδια, χρωστικές, φαινολικές ενώσεις και άλλα φυσικά συστατικά, τα οποία μπορούν να προκαλέσουν σοβαρές παρεμβολές. Ο αποτελεσματικός χρωματογραφικός διαχωρισμός επιτρέπει τη μείωση αυτών των παρεμβολών και βελτιώνει ουσιαστικά τη δυνατότητα ταυτοποίησης και ποσοτικοποίησης των αναλυτών-στόχων (Picó et al., 2000; Stachniuk & Fornal, 2016).

Στη σύγχρονη ανάλυση υπολειμμάτων, η σημασία της χρωματογραφίας ενισχύεται ακόμη περισσότερο από το γεγονός ότι πολλές πραγματικές μήτρες, όπως τα μπαχαρικά, τα αρωματικά φυτά και ο καπνός, περιέχουν πολύ υψηλά επίπεδα συνεκχυλιζόμενων συστατικών. Αιθέρια έλαια, τερπένια, χρωστικές, πολυφαινόλες, αλκαλοειδή και άλλοι ενδογενείς μεταβολίτες μπορούν να επηρεάσουν τόσο τον διαχωρισμό όσο και την απόκριση του συστήματος ανίχνευσης, ιδίως όταν χρησιμοποιείται φασματομετρία μάζας. Έτσι, η χρωματογραφία δεν λειτουργεί μόνο ως μέσο διαχωρισμού των φυτοφαρμάκων μεταξύ τους, αλλά και ως βασικός μηχανισμός αποσυμφόρησης της μήτρας πριν από την τελική ανίχνευση, μειώνοντας τον κίνδυνο παρεμβολών, ψευδώς αρνητικών αποτελεσμάτων και σφαλμάτων ποσοτικοποίησης (Parrilla Vázquez et al., 2019; Paul et al., 2021).

Πέρα από τον πρακτικό της ρόλο, η χρωματογραφία στηρίζεται και σε συγκεκριμένες θεωρητικές έννοιες, όπως ο χρόνος συγκράτησης, ο συντελεστής κατανομής, ο παράγοντας συγκράτησης, η εκλεκτικότητα, η διακριτική ικανότητα και η αποδοτικότητα της στήλης.

Οι έννοιες αυτές επιτρέπουν την κατανόηση του διαχωρισμού σε ποσοτική βάση και είναι καθοριστικές για την ανάπτυξη, τη βελτιστοποίηση και την επικύρωση χρωματογραφικών μεθόδων. Στην ανάλυση φυτοφαρμάκων, όπου συχνά απαιτείται ταυτόχρονος προσδιορισμός δεκάδων ή εκατοντάδων ενώσεων, ο έλεγχος αυτών των παραμέτρων είναι κρίσιμος για την επιτυχή εφαρμογή της μεθόδου.

5.2 Ταξινόμηση των χρωματογραφικών τεχνικών

Οι χρωματογραφικές τεχνικές μπορούν να ταξινομηθούν με διάφορα κριτήρια, ανάλογα με τη φυσική κατάσταση της κινητής φάσης, τη μορφή της στατικής φάσης, τον τρόπο επαφής μεταξύ των δύο φάσεων και τον κυρίαρχο μηχανισμό διαχωρισμού. Η πρώτη βασική διάκριση γίνεται ανάμεσα στη χρωματογραφία στήλης και στην επίπεδη χρωματογραφία. Στη χρωματογραφία στήλης, η στατική φάση βρίσκεται μέσα σε στήλη και η κινητή φάση διέρχεται διαμέσου αυτής, ενώ στην επίπεδη χρωματογραφία η στατική φάση είναι καθηλωμένη σε επίπεδη επιφάνεια, όπως σε χαρτί ή πλάκα λεπτής στοιβάδας (TLC), και η μετακίνηση γίνεται συνήθως μέσω τριχοειδούς δράσης. Για τον προσδιορισμό φυτοφαρμάκων, οι τεχνικές στήλης είναι σαφώς οι πιο σημαντικές, επειδή προσφέρουν υψηλότερη αποδοτικότητα, αυτοματοποίηση και συμβατότητα με προηγμένα συστήματα ανίχνευσης.

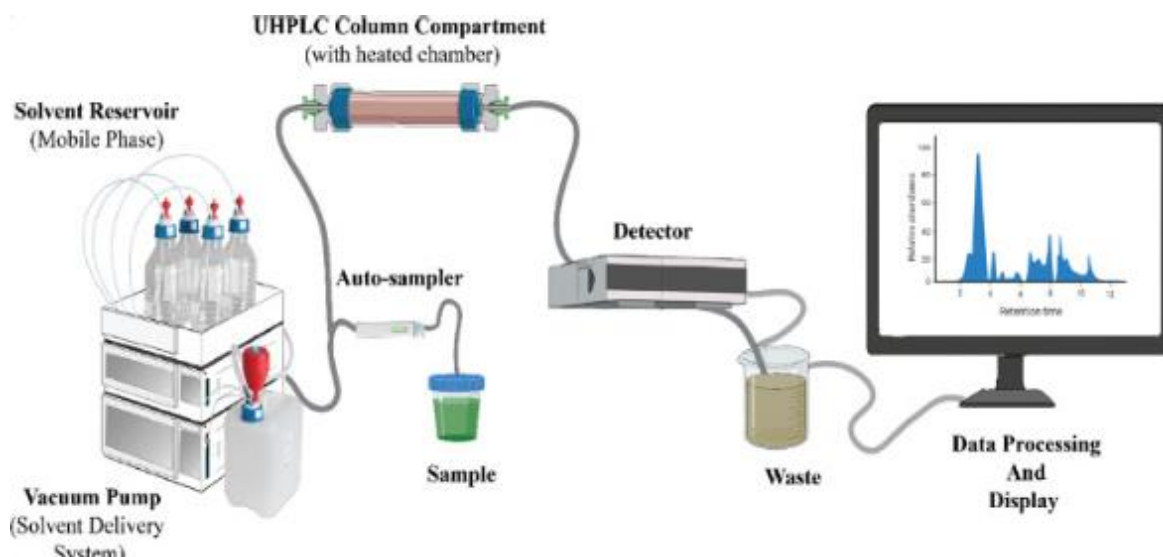
Μία δεύτερη θεμελιώδης ταξινόμηση βασίζεται στη φύση της κινητής φάσης. Με αυτό το κριτήριο, διακρίνονται η αέρια χρωματογραφία, η υγρή χρωματογραφία και η χρωματογραφία υπερκρίσιμου ρευστού. Στην αέρια χρωματογραφία η κινητή φάση είναι αέριο, συνήθως ήλιο, άζωτο ή υδρογόνο, ενώ στην υγρή χρωματογραφία χρησιμοποιούνται μίγματα υγρών διαλυτών. Η χρωματογραφία υπερκρίσιμου ρευστού χρησιμοποιεί ως κινητή φάση ρευστό σε υπερκρίσιμη κατάσταση, συχνά διοξείδιο του άνθρακα, όμως η τεχνική αυτή είναι λιγότερο διαδεδομένη στις ρουτίνες αναλύσεις υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων.

Μία ακόμη ταξινόμηση αφορά τον μηχανισμό διαχωρισμού. Στην προσροφητική χρωματογραφία, οι αναλύτες συγκρατούνται στην επιφάνεια ενός στερεού υλικού μέσω επιφανειακών αλληλεπιδράσεων. Στη χρωματογραφία κατανομής, οι αναλύτες

κατανέμονται μεταξύ κινητής φάσης και υγρής στατικής φάσης ή τροποποιημένης στερεής φάσης. Στην ιοντοανταλλακτική χρωματογραφία ο διαχωρισμός βασίζεται σε ηλεκτροστατικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ φορτισμένων ομάδων της στατικής φάσης και ιονισμένων αναλυτών. Στη χρωματογραφία αποκλεισμού μεγέθους, η διαφορά στο μοριακό μέγεθος καθορίζει τον διαχωρισμό, ενώ στη χρωματογραφία συγγένειας η συγκράτηση βασίζεται σε εξαιρετικά ειδικές βιοχημικές αλληλεπιδράσεις. Αν και στον προσδιορισμό φυτοφαρμάκων κυριαρχούν κυρίως οι μηχανισμοί κατανομής και προσρόφησης, η πλήρης θεωρητική κατανόηση της χρωματογραφίας προϋποθέτει γνώση όλων αυτών των μορφών.

Η ταξινόμηση των χρωματογραφικών τεχνικών έχει ιδιαίτερη σημασία για την αναλυτική χημεία των φυτοφαρμάκων, επειδή βοηθά στην ορθολογική επιλογή της κατάλληλης μεθόδου. Για παράδειγμα, φυτοφάρμακα πτητικά και θερμοσταθερά είναι περισσότερο κατάλληλα για GC, ενώ ενώσεις πολικές, μη πτητικές ή θερμικά ασταθείς αναλύονται συνήθως με HPLC ή UHPLC (Ultra performance liquid chromatography). Αντίστοιχα, για ιδιαίτερα πολύπλοκες μήτρες, όπως μπαχαρικά, βότανα και καπνός, η επιλογή δεν καθορίζεται μόνο από τη φύση του αναλύτη αλλά και από τη συμπεριφορά της μήτρας κατά την εκχύλιση, τον καθαρισμό και τον ιονισμό.

Εικόνα 18. Σχηματική αναπαράσταση της UHPLC (Πηγή: Dutt et al., 2024)



Επομένως, η επιλογή χρωματογραφικής τεχνικής δεν είναι γενική, αλλά εξαρτάται από τη χημική φύση των αναλυτών, τη μήτρα στην οποία αυτοί αναζητούνται και τις απαιτήσεις

επιβεβαίωσης και ευαισθησίας της μεθόδου (Soler et al., 2008; Sandín-España & Dagnac, 2023; Parrilla Vázquez et al., 2019).

5.3 Αέρια χρωματογραφία (GC)

Η αέρια χρωματογραφία αποτελεί μία από τις χρωματογραφικές τεχνικές στην ανάλυση φυτοφαρμάκων που θεωρούνται πιο βασικές και έχει συνδεθεί ιστορικά με τον προσδιορισμό πολλών κατηγοριών οργανικών ρύπων και υπολειμμάτων σε τρόφιμα και στο περιβάλλον. Παρά την ανάπτυξη των τεχνικών υγρής χρωματογραφίας, η GC εξακολουθεί να κατέχει κεντρικό ρόλο, ιδίως για ενώσεις πτητικές, ημιπτητικές και θερμοσταθερές, όπως πολλά οργανοχλωριωμένα, ορισμένα οργανοφωσφορικά και αρκετά πυρεθροειδή φυτοφάρμακα (Picó et al., 2000; Cervera et al., 2014).

5.3.1 Αρχή λειτουργίας

Η αρχή λειτουργίας της αέριας χρωματογραφίας βασίζεται στον διαχωρισμό πτητικών ή αεροποιήσιμων συστατικών μέσω της διαφορετικής τους κατανομής μεταξύ μιας αέριας κινητής φάσης και μιας στατικής φάσης που βρίσκεται στο εσωτερικό της στήλης. Το δείγμα εισάγεται σε θερμαινόμενο εγχυτήρα, όπου εξαερώνεται ταχύτατα, και στη συνέχεια μεταφέρεται με το φέρον αέριο προς τη στήλη. Καθώς οι αναλύτες κινούνται κατά μήκος της στήλης, αλληλεπιδρούν σε διαφορετικό βαθμό με τη στατική φάση, με αποτέλεσμα να συγκρατούνται για διαφορετικό χρονικό διάστημα και να εξέρχονται σε διαφορετικούς χρόνους συγκράτησης.

Ο διαχωρισμός εξαρτάται από τη σχετική πτητικότητα των ενώσεων, από τη θερμοκρασία της στήλης και από τις αλληλεπιδράσεις του αναλύτη με τη στατική φάση. Όσο μεγαλύτερη είναι η συγγένεια μιας ουσίας με τη στατική φάση, τόσο περισσότερο συγκρατείται. Αντίθετα, ενώσεις με μικρότερη αλληλεπίδραση με τη στατική φάση ακολουθούν πιο εύκολα τη ροή της κινητής φάσης και εκλούνται νωρίτερα. Ο θερμοκρασιακός προγραμματισμός του φούρνου είναι καθοριστικός, επειδή επιτρέπει τον διαχωρισμό ενώσεων με διαφορετική πτητικότητα σε εύλογο χρόνο ανάλυσης.

5.3.2 Βασική οργανολογία

Το βασικό σύστημα GC περιλαμβάνει τη φιάλη φέροντος αερίου, τους ρυθμιστές πίεσης και ροής, τον εγχυτήρα, τον φούρνο, τη στήλη και τον ανιχνευτή. Το φέρον αέριο πρέπει να είναι αδρανές και υψηλής καθαρότητας, ώστε να μην προκαλεί χημικές αντιδράσεις ή θόρυβο στο σύστημα. Ο εγχυτήρας έχει σκοπό την ταχεία και αναπαραγωγίμη εισαγωγή του δείγματος, συνήθως σε θερμοκρασία υψηλότερη από το σημείο βρασμού των αναλυτών. Ο φούρνος ελέγχει τη θερμοκρασία της στήλης με μεγάλη ακρίβεια, ενώ η στήλη αποτελεί το κατ' εξοχήν τμήμα του διαχωρισμού.

Στη σύγχρονη GC χρησιμοποιούνται κυρίως τριχοειδείς στήλες, οι οποίες προσφέρουν πολύ υψηλή αποδοτικότητα και καλύτερο διαχωρισμό σε σχέση με τις παλαιότερες πληρωμένες στήλες. Η στατική φάση βρίσκεται ως λεπτό φιλμ στο εσωτερικό τοίχωμα της τριχοειδούς στήλης και η επιλογή της χημείας της είναι καθοριστική για την εκλεκτικότητα του συστήματος. Όσον αφορά τους ανιχνευτές, παλαιότερα χρησιμοποιήθηκαν ευρέως ο ανιχνευτής σύλληψης ηλεκτρονίων (ECD), ο οποίος είναι ιδιαίτερα ευαίσθητος σε αλογονούχες ενώσεις, και ο θερμιονικός ανιχνευτής αζώτου-φωσφόρου (NPD), χρήσιμος για φυτοφάρμακα που περιέχουν φωσφόρο ή άζωτο. Σήμερα, ωστόσο, η κυρίαρχη μορφή είναι η σύζευξη της GC με φασματομετρία μάζας, δηλαδή η GC-MS και ιδίως η GC-MS/MS, λόγω της πολύ ανώτερης εκλεκτικότητας και της δυνατότητας επιβεβαίωσης της ταυτότητας των ενώσεων (Soler et al., 2008; Stachniuk & Fornal, 2016).

5.3.3 Πλεονεκτήματα και περιορισμοί

Η GC παρουσιάζει σειρά σημαντικών πλεονεκτημάτων, από τα οποία ένα είναι πως προσφέρει πολύ υψηλή αποδοτικότητα διαχωρισμού και εξαιρετική αναπαραγωγιμότητα στους χρόνους συγκράτησης. Ένα ακόμα πλεονέκτημα είναι πως είναι ιδιαίτερα κατάλληλη για αναλύσεις ιχνοποσοτήτων, καθώς η σύζευξη με ευαίσθητους ανιχνευτές επιτρέπει την ανίχνευση πολύ χαμηλών συγκεντρώσεων φυτοφαρμάκων. Επιπλέον, διαθέτει ώριμη μεθοδολογική βάση, με ευρύτατη βιβλιογραφία και πληθώρα επικυρωμένων εφαρμογών σε τρόφιμα, νερά και περιβαλλοντικές μήτρες. Τέλος η GC-MS/MS παρέχει υψηλή επιβεβαιωτική ικανότητα, απαραίτητη για αναλύσεις συμμόρφωσης με νομοθετικά όρια.

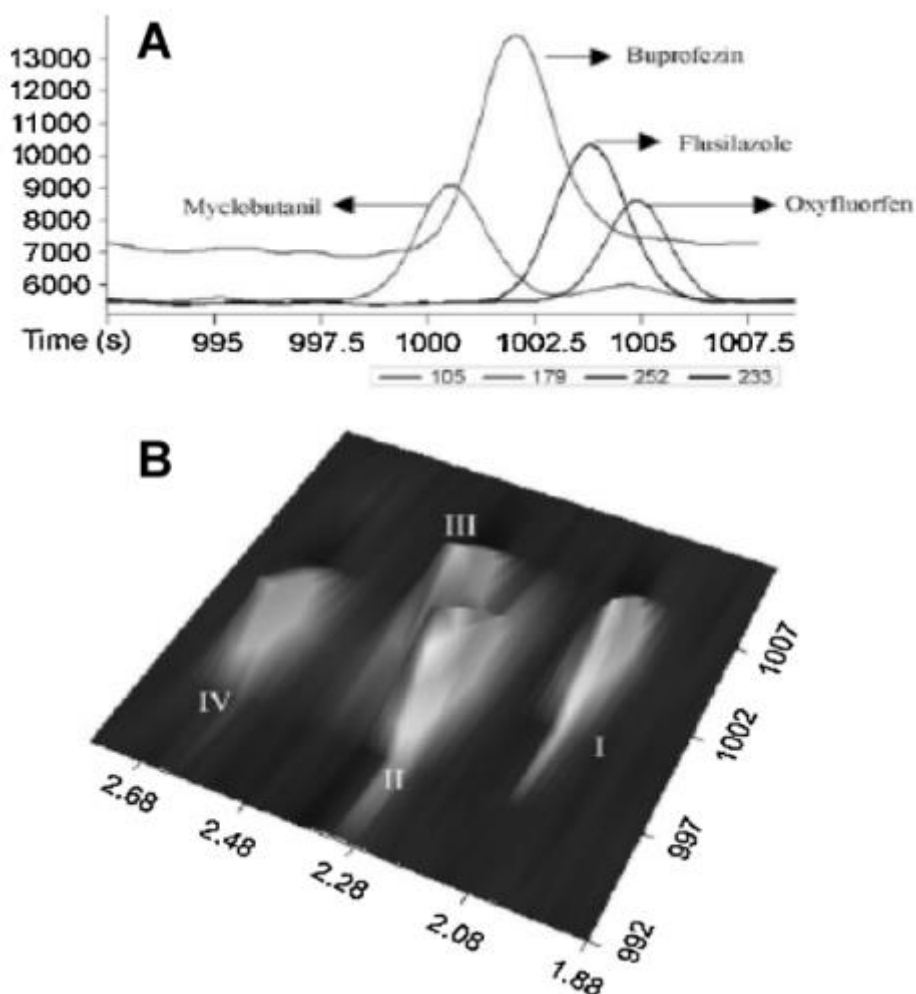
Ως προς τους περιορισμούς της τεχνικής αυτής, ο βασικότερος είναι ότι δεν είναι κατάλληλη για όλες τις κατηγορίες φυτοφαρμάκων, αλλά μόνο για εκείνες που μπορούν να εξαερωθούν χωρίς σημαντική θερμική αποδόμηση. Πολικές, ιοντικές, πολύ υψηλού μοριακού βάρους ή θερμικά ασταθείς ενώσεις συχνά δεν μπορούν να αναλυθούν ικανοποιητικά με GC. Σε ορισμένες περιπτώσεις απαιτείται χημική παραγωγή, ώστε να βελτιωθεί η πτητικότητα και η θερμική σταθερότητα των αναλυτών, όμως αυτό αυξάνει την πολυπλοκότητα και τον κίνδυνο σφαλμάτων. Επιπλέον, ορισμένα φυτοφάρμακα μπορεί να αποικοδομούνται στον εγχυτήρα ή να αλληλεπιδρούν ανεπιθύμητα με ενεργά σημεία της στήλης, επηρεάζοντας την ποσοτικοποίηση (Picó et al., 2000; Sandín-España & Dagnac, 2023).

Μία πρόσθετη πρακτική δυσκολία, που αναδεικνύεται ιδιαίτερα σε απαιτητικές μήτρες όπως τα μπαχαρικά και τα βότανα, είναι η παρουσία συνεκχυλιζόμενων ενώσεων που μπορούν να προκαλέσουν ισοβαρικές παρεμβολές, μεταβολές στους λόγους ιόντων MRM και αλλοίωση της ακρίβειας της ποσοτικοποίησης. Στις περιπτώσεις αυτές, ακόμη και η GC-MS/MS, αν και πολύ πιο εκλεκτική από τους κλασικούς ανιχνευτές, δεν αρκεί πάντα χωρίς αποτελεσματικό στάδιο clean-up ή κατάλληλη βαθμονόμηση σε μήτρα. Για τον λόγο αυτό, η απόδοση της GC στην πράξη εξαρτάται όχι μόνο από τον χρωματογραφικό διαχωρισμό, αλλά και από την ποιότητα της προετοιμασίας δείγματος και την ικανότητα περιορισμού του matrix effect (Parrilla Vázquez et al., 2019).

5.3.4 Καταλληλότητα για πτητικά και θερμοσταθερά φυτοφάρμακα

Η GC είναι ιδιαίτερα κατάλληλη για φυτοφάρμακα που παρουσιάζουν επαρκή πτητικότητα ή μπορούν να μετατραπούν σε πτητικά παράγωγα, καθώς και για ενώσεις που παραμένουν σταθερές στις θερμοκρασίες ανάλυσης. Στην κατηγορία αυτή ανήκουν πολλά οργανοχλωριωμένα φυτοφάρμακα, αρκετές οργανοφωσφορικές ενώσεις και αρκετά πυρεθροειδή. Οι ενώσεις αυτές μπορούν να διαχωριστούν αποτελεσματικά σε τριχοειδείς στήλες και να ανιχνευθούν με υψηλή ευαισθησία, ιδίως όταν χρησιμοποιούνται συστήματα GC-MS/MS. Η αέρια χρωματογραφία σε σύζευξη με φασματομετρία μάζας μπορεί να ενισχυθεί σημαντικά όταν εφαρμόζεται σε δισδιάστατη μορφή, όπως η GC×GC-TOFMS. Η προσέγγιση αυτή είναι ιδιαίτερα χρήσιμη σε περιπτώσεις όπου πολλοί αναλύτες εμφανίζουν παρόμοιους χρόνους κατακράτησης και συν-εκλούνται στην κλασική GC. Όπως φαίνεται στο Διάγραμμα 5, τέσσερα φυτοφάρμακα που παρουσιάζουν

αλληλοεπικάλυψη στην GC-TOFMS διαχωρίζονται σαφέστερα με GC×GC-TOFMS, γεγονός που αυξάνει την αξιοπιστία της ταυτοποίησης.

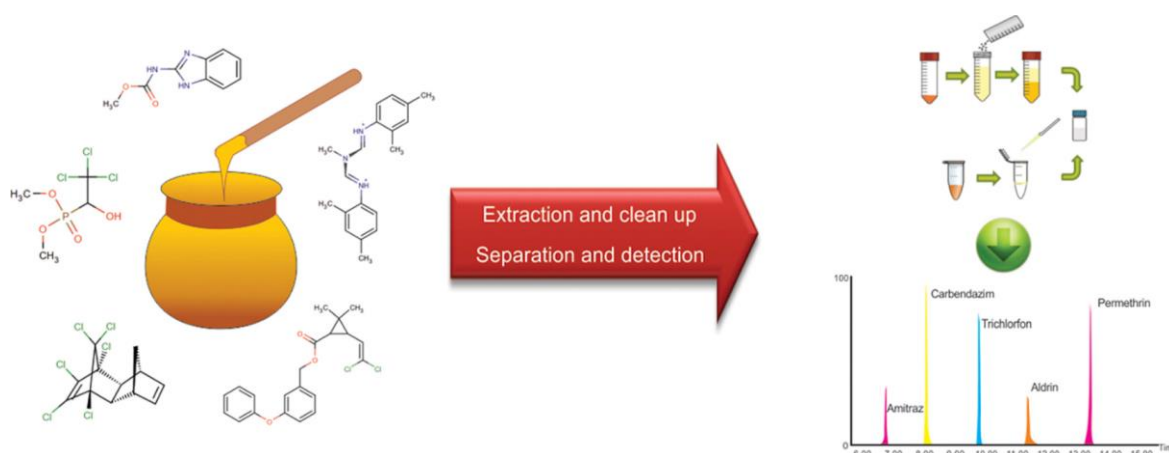


Διάγραμμα 5. Σύγκριση χρωματογραφικού διαχωρισμού τεσσάρων φυτοφαρμάκων με GC-TOFMS και GC×GC-TOFMS. Στην απλή GC-TOFMS παρατηρείται συν-έκλυση των myclobutanil, buprofezin, flusilazole και oxyfluorfen, ενώ με τη διδιάστατη GC×GC-TOFMS επιτυγχάνεται σαφέστερος διαχωρισμός των ενώσεων, γεγονός που βελτιώνει την ταυτοποίηση και την ποσοτικοποίηση σε σύνθετες μήτρες (Πηγή: Botitsi et al., 2011, από Banerjee et al., 2008)

Η πρακτική σημασία της GC στον προσδιορισμό τέτοιων φυτοφαρμάκων παραμένει πολύ μεγάλη, επειδή οι ενώσεις αυτές συχνά αναζητούνται σε προγράμματα παρακολούθησης υπολειμμάτων, σε περιβαλλοντικά δείγματα και σε ελέγχους συμμόρφωσης. Ωστόσο,

καθώς η σύγχρονη αγορά φυτοπροστατευτικών προϊόντων περιλαμβάνει ολοένα και περισσότερες πολικές και μη πτητικές ουσίες, η GC από μόνη της δεν επαρκεί πλέον για πλήρη πολυπολεμιματική κάλυψη και λειτουργεί συμπληρωματικά προς τις τεχνικές υγρής χρωματογραφίας. Στο σημείο αυτό είναι χρήσιμη μία σχηματική απεικόνιση της συνολικής πορείας της χρωματογραφικής ανάλυσης από ένα παράδειγμα και συγκεκριμένα στο μέλι, από την εκχύλιση και τον καθαρισμό του δείγματος έως τον διαχωρισμό και την ανίχνευση των φυτοφαρμάκων (Εικόνα 19).

Εικόνα 19. Χρωματογραφία για εντοπισμό φυτοφαρμάκων στο μέλι



Από το παραπάνω παράδειγμα γίνεται σαφές ότι ο προσδιορισμός φυτοφαρμάκων στο μέλι δεν περιορίζεται στη χρωματογραφική ανάλυση καθαυτή, αλλά περιλαμβάνει μια αλληλουχία σταδίων, από την εκχύλιση και τον καθαρισμό του δείγματος έως τον τελικό διαχωρισμό και την ανίχνευση. Η εικόνα αποτυπώνει συνοπτικά αυτή την αναλυτική ροή, αναδεικνύοντας τη σημασία της σωστής προετοιμασίας δείγματος για την αξιόπιστη χρωματογραφική μέτρηση και την επιτυχή ταυτοποίηση των υπολειμμάτων.

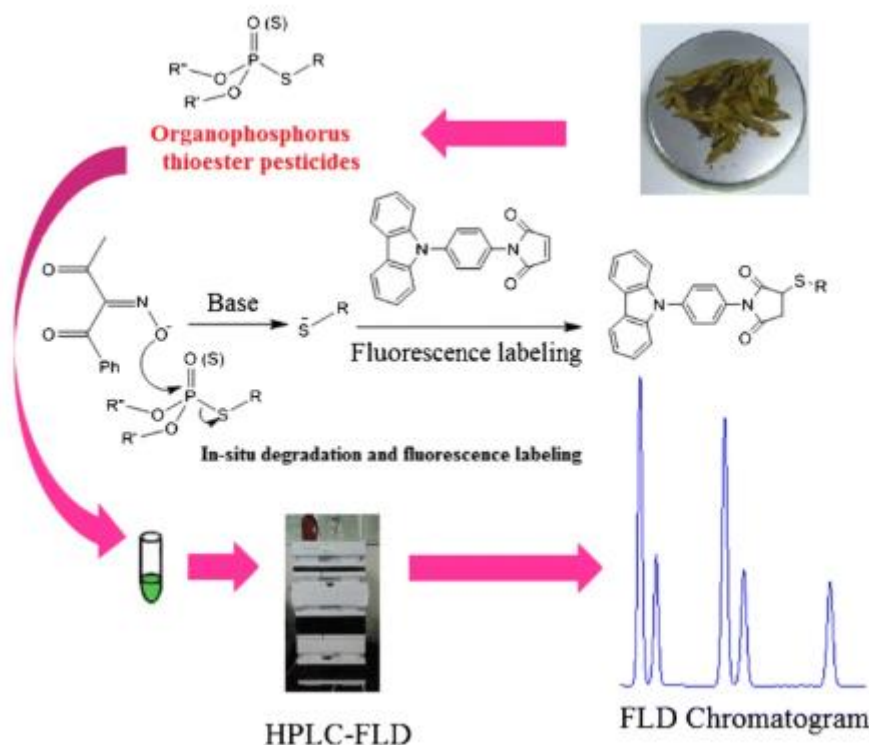
5.4 Υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC)

Η HPLC αποτέλεσε καθοριστική εξέλιξη για την ανάλυση φυτοφαρμάκων, επειδή επέτρεψε τον αξιόπιστο διαχωρισμό και προσδιορισμό ενώσεων που δεν μπορούσαν να αναλυθούν ικανοποιητικά με αέρια χρωματογραφία. Πολλά σύγχρονα φυτοφάρμακα είναι περισσότερο πολικά, λιγότερο πτητικά ή θερμικά ασταθή και, ως εκ τούτου, είναι καταλληλότερα για

υγρή χρωματογραφία. Για τον λόγο αυτό, η HPLC και οι εξελιγμένες μορφές της συνιστούν σήμερα αναπόσπαστο μέρος της χημείας υπολειμμάτων (Picó et al., 2000; Masiá et al., 2016).

5.4.1 Αρχή λειτουργίας

Η HPLC βασίζεται στη διέλευση της υγρής κινητής φάσης υπό υψηλή πίεση μέσα από στήλη γεμισμένη με λεπτόκοκκο υλικό στατικής φάσης. Οι αναλύτες διαχωρίζονται ανάλογα με τη διαφορετική τους συγγένεια προς τη στατική και την κινητή φάση. Σε αντίθεση με την GC, δεν απαιτείται εξαέρωση των ουσιών, γεγονός που επιτρέπει την ανάλυση ενώσεων που είναι θερμικά ασταθείς ή μη πτητικές. Ο διαχωρισμός επιτυγχάνεται μέσω μηχανισμών κατανομής, προσρόφησης, ιοντικής αλληλεπίδρασης ή άλλων ειδικών διεργασιών, ανάλογα με το είδος της στήλης και τη σύσταση της κινητής φάσης. Στο Διάγραμμα 6 φαίνεται ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα εφαρμογής της HPLC στον προσδιορισμό οργανοφωσφορικών θειοεστερικών φυτοφαρμάκων, όπου προηγείται *in situ* αποδόμηση και φθορίζουσα παραγωγή των αναλυτών και ακολουθεί διαχωρισμός με HPLC-FLD.



Διάγραμμα 6. Εφαρμογή της HPLC στον προσδιορισμό οργανοφωσφορικών θειοεστερικών φυτοφαρμάκων (Πηγή: Yu et al., 2018)

Η HPLC είναι ιδιαίτερα αποτελεσματική για ενώσεις μεσαίας έως υψηλής πολικότητας, καθώς και για αναλύτες που εμφανίζουν μικρή πτητικότητα ή αποδομούνται σε υψηλές θερμοκρασίες. Στον προσδιορισμό φυτοφαρμάκων αυτό έχει ιδιαίτερη σημασία, επειδή περιλαμβάνει κατηγορίες όπως τα νεονικοτινοειδή, οι σουλφονυλ ουρίες, διάφορα μυκητοκτόνα και πλήθος μεταβολιτών.

5.4.2 Στατική και κινητή φάση

Η πιο συνηθισμένη μορφή HPLC στην ανάλυση φυτοφαρμάκων είναι η χρωματογραφία αντίστροφης φάσης. Σε αυτήν, η στατική φάση είναι σχετικά μη πολική και η κινητή φάση σχετικά πολική. Οι πιο διαδεδομένες στήλες είναι οι C18 και C8, όπου αλκυλικές αλυσίδες είναι χημικά δεσμευμένες πάνω σε υπόστρωμα πυριτίας. Η κινητή φάση αποτελείται συνήθως από μίγμα νερού με οργανικό διαλύτη, όπως μεθανόλη ή ακετονιτρίλιο, και συχνά

περιέχει πτητικά πρόσθετα, όπως μυρμηκικό οξύ ή άλατα αμμωνίου, προκειμένου να βελτιωθεί τόσο ο διαχωρισμός όσο και η απόκριση στη φασματομετρία μάζας.

Η σύσταση της κινητής φάσης μπορεί να παραμένει σταθερή καθ' όλη τη διάρκεια της ανάλυσης ή να μεταβάλλεται σταδιακά, σε διαδικασία που ονομάζεται βαθμιδωτή έκλουση. Η δεύτερη προσέγγιση χρησιμοποιείται συχνά στις πολυπολειμματικές αναλύσεις φυτοφαρμάκων, επειδή επιτρέπει τη διαδοχική έκλουση ενώσεων με πολύ διαφορετική πολικότητα και συγκράτηση. Η προσεκτική ρύθμιση του pH, της αναλογίας διαλυτών και της ισχύος της κινητής φάσης είναι καθοριστική για τη διακριτική ικανότητα της μεθόδου.

5.4.3 Είδη στηλών και μηχανισμοί διαχωρισμού

Οι στήλες HPLC διαφέρουν ως προς το μήκος, τη διάμετρο, το μέγεθος των σωματιδίων και κυρίως τη χημεία της στατικής φάσης. Αν και οι C18 στήλες είναι οι πλέον διαδεδομένες, χρησιμοποιούνται και άλλες μορφές, όπως C8, φαινυλικές, κυανοπροπυλικές, αμινοπροπυλικές ή υδρόφιλες αλληλεπιδραστικές φάσεις (HILIC), όταν απαιτείται καλύτερος διαχωρισμός συγκεκριμένων κατηγοριών φυτοφαρμάκων. Οι μηχανισμοί διαχωρισμού περιλαμβάνουν υδροφοβικές αλληλεπιδράσεις, διπολικές αλληλεπιδράσεις, δεσμούς υδρογόνου και, σε ορισμένες περιπτώσεις, ηλεκτροστατικές επιδράσεις.

Στην πράξη, η επιλογή της κατάλληλης στήλης εξαρτάται από το προφίλ των υπό εξέταση αναλυτών. Για πολυπολειμματικές εφαρμογές συνήθως επιλέγονται στήλες γενικής χρήσης με καλή ισορροπία μεταξύ αποδοτικότητας και ευρείας εφαρμοσιμότητας. Ωστόσο, σε εξειδικευμένες εφαρμογές, ιδίως για πολύ πολικές ουσίες, μπορεί να απαιτείται εναλλακτική στατική φάση, ώστε να επιτευχθεί επαρκής συγκράτηση και ικανοποιητικός διαχωρισμός.

5.4.4 Πλεονεκτήματα και περιορισμοί

Το βασικότερο πλεονέκτημα της HPLC είναι η δυνατότητα ανάλυσης μη πτητικών και θερμικά ασταθών ενώσεων χωρίς ανάγκη παραγωγίσης. Αυτό την καθιστά ιδανική για μεγάλο μέρος των σύγχρονων φυτοφαρμάκων. Επιπλέον, η σύζευξή της με φασματομετρία μάζας παρέχει υψηλή εκλεκτικότητα, χαμηλά όρια ανίχνευσης και ισχυρή επιβεβαιωτική

ικανότητα. Η HPLC είναι επίσης πολύ ευέλικτη ως προς τη ρύθμιση των συνθηκών διαχωρισμού και προσαρμόζεται εύκολα σε διαφορετικές κατηγορίες μήτρων και αναλυτών.

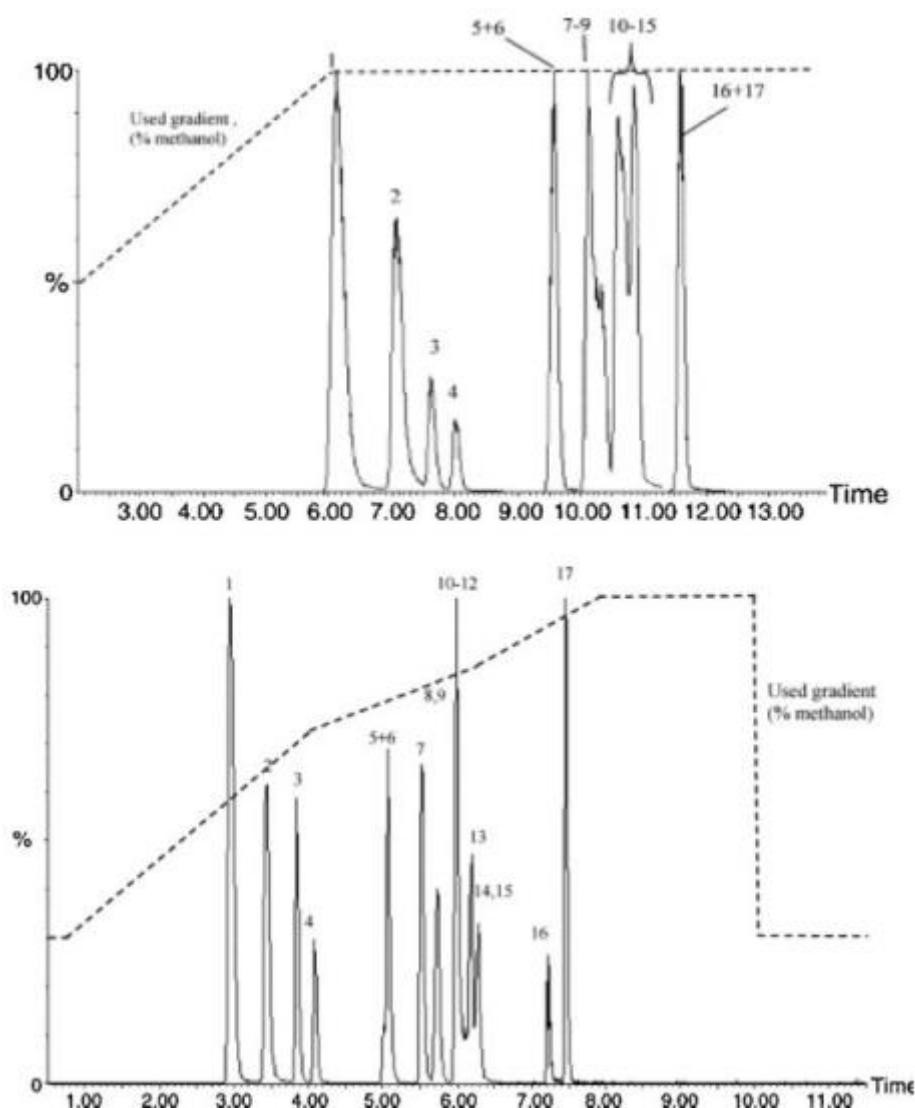
Ωστόσο, η HPLC παρουσιάζει και περιορισμούς. Οι επιδράσεις μήτρων μπορεί να είναι έντονες, ιδιαίτερα όταν χρησιμοποιείται σύζευξη με φασματομετρία μάζας, και να οδηγήσουν σε καταστολή ή ενίσχυση του σήματος. Επίσης, η βελτιστοποίηση της μεθόδου μπορεί να είναι απαιτητική, επειδή εξαρτάται από πολλές παραμέτρους, όπως η επιλογή διαλυτών, η κλίση βαθμίδωσης, το pH και η χημεία της στήλης. Παρά ταύτα, η HPLC παραμένει μια από τις σημαντικότερες και πιο αξιόπιστες τεχνικές στον προσδιορισμό φυτοφαρμάκων (Masiá et al., 2016; Hernández-Mesa & Moreno-González, 2022).

5.5 Υπερυψηλής απόδοσης υγρή χρωματογραφία (UHPLC)

Η UHPLC αποτελεί εξέλιξη της κλασικής HPLC και βασίζεται στη χρήση στηλών με μικρότερο μέγεθος σωματιδίων και συστημάτων που λειτουργούν σε πολύ υψηλότερες πιέσεις. Η τεχνολογία αυτή επιτρέπει σημαντική αύξηση της αποδοτικότητας, βελτίωση της διακριτικής ικανότητας και ταυτόχρονα μείωση του συνολικού χρόνου ανάλυσης. Στη σύγχρονη ανάλυση φυτοφαρμάκων, η UHPLC έχει ιδιαίτερη σημασία, επειδή οι πολυπολεμιματικές μέθοδοι απαιτούν την ταχεία και αξιόπιστη επεξεργασία μεγάλου αριθμού αναλυτών σε σύνθετες μήτρες (Gómez-Ramos et al., 2013; Ma et al., 2023).

Η UHPLC παρουσιάζει στενότερες και υψηλότερες χρωματογραφικές κορυφές, γεγονός που βελτιώνει την αναλογία σήματος προς θόρυβο και συμβάλλει σε υψηλότερη ευαισθησία. Η καλύτερη αποδοτικότητα της στήλης αυξάνει τη δυνατότητα διαχωρισμού αναλυτών με πολύ κοντινούς χρόνους συγκράτησης, κάτι ιδιαίτερος σημαντικό όταν σε μία μόνο ανάλυση στοχεύεται ο προσδιορισμός εκατοντάδων φυτοφαρμάκων. Η UHPLC είναι ιδιαίτερα συμβατή με σύγχρονα συστήματα φασματομετρίας μάζας υψηλής διακριτικής ικανότητας, όπως QTOF και Orbitrap, και έχει καταστεί βασικό εργαλείο όχι μόνο για στοχευμένες αναλύσεις, αλλά και για προσεγγίσεις suspect και non-target screening. Η υπερυψηλής απόδοσης υγρή χρωματογραφία αποτελεί εξέλιξη της κλασικής LC/HPLC και προσφέρει σημαντική μείωση του χρόνου ανάλυσης, βελτίωση της διακριτικής ικανότητας και αύξηση της ευαισθησίας λόγω της παραγωγής στενότερων και υψηλότερων

χρωματογραφικών κορυφών. Η διαφορά αυτή αποτυπώνεται χαρακτηριστικά στο Διάγραμμα 7, όπου συγκρίνονται χρωματογραφήματα LC-MS/MS και UPLC-MS/MS για εκχύλισμα μήλου εμπλουτισμένο με 17 φυτοφάρμακα. Παρατηρείται ότι η UPLC-MS/MS επιτυγχάνει ταχύτερη έκλουση και πιο συμπαγή χρωματογραφικό διαχωρισμό, γεγονός που την καθιστά ιδιαίτερα κατάλληλη για πολυπολειμματικές αναλύσεις υψηλής παραγωγικότητας.



Διάγραμμα 7. Σύγκριση χρωματογραφήματων LC-MS/MS και UPLC-MS/MS για εκχύλισμα μήλου εμπλουτισμένο με 17 φυτοφάρμακα. Η χρήση UPLC-MS/MS επιτρέπει ταχύτερο διαχωρισμό και στενότερες χρωματογραφικές κορυφές, γεγονός που αναδεικνύει τη συμβολή της υπερυψηλής απόδοσης υγρής χρωματογραφίας στην πολυπολειμματική ανάλυση φυτοφαρμάκων (Πηγή: Botitsi et al., 2011, από Kovalczuk et al., 2006).

Σε σύγκριση με την κλασική HPLC, η UHPLC προσφέρει ταχύτερες αναλύσεις, χαμηλότερη κατανάλωση διαλυτών και καλύτερη απόδοση, χωρίς να μεταβάλλει τη βασική θεωρητική αρχή της υγρής χρωματογραφίας. Ωστόσο, απαιτεί πιο εξειδικευμένο εξοπλισμό, μεγαλύτερη μηχανική αντοχή των εξαρτημάτων και αυξημένη προσοχή στην ποιότητα των διαλυτών και των δειγμάτων, καθώς τα συστήματα λειτουργούν υπό πολύ υψηλή πίεση.

5.6 Σύγκριση GC, HPLC και UHPLC στον προσδιορισμό φυτοφαρμάκων

Οι τεχνικές GC, HPLC και UHPLC δεν πρέπει να αντιμετωπίζονται ως αμοιβαία αποκλειόμενες, αλλά ως συμπληρωματικά εργαλεία που εξυπηρετούν διαφορετικές ανάγκες της ανάλυσης φυτοφαρμάκων. Η GC είναι κατεξοχήν κατάλληλη για ενώσεις πτητικές και θερμοσταθερές και διατηρεί υψηλή αξία για πολλές κλασικές κατηγορίες φυτοφαρμάκων. Η HPLC προσφέρει τη δυνατότητα ανάλυσης ενώσεων περισσότερο πολικών, μη πτητικών ή θερμικά ασταθών. Η UHPLC, τέλος, βελτιώνει περαιτέρω τις δυνατότητες της HPLC, κυρίως ως προς την ταχύτητα, την αποδοτικότητα και τη συμβατότητα με προηγμένα συστήματα ανίχνευσης.

Η επιλογή μεταξύ των τεχνικών αυτών εξαρτάται πρωτίστως από τις φυσικοχημικές ιδιότητες του αναλύτη. Οργανοχλωριωμένα και πολλά πυρεθροειδή αναλύονται εξαιρετικά με GC, ενώ νεονικοτινοειδή, τριαζίνες, διάφορα μυκητοκτόνα και περισσότερο πολικές ενώσεις απαιτούν συχνότερα LC ή UHPLC. Παράλληλα, η πολυπλοκότητα της μήτρας επηρεάζει τη στρατηγική που ακολουθείται, καθώς οι λιπαρές, υδαρείς ή ιδιαίτερα χρωστικές μήτρες μπορούν να απαιτήσουν διαφορετικό χρωματογραφικό και ανιχνευτικό σχεδιασμό.

Σε επίπεδο απόδοσης, η UHPLC υπερέχει σαφώς της κλασικής HPLC ως προς τον χρόνο ανάλυσης και την αποδοτικότητα, ενώ η GC συχνά παρέχει εξαιρετική διακριτική ικανότητα για κατάλληλους αναλύτες. Έτσι, πολλά σύγχρονα εργαστήρια εφαρμόζουν συνδυαστικά GC-MS/MS και LC-MS/MS ή UHPLC-MS/MS, ώστε να επιτυγχάνεται η

ευρύτερη δυνατή κάλυψη φυτοφαρμάκων σε ένα πρόγραμμα ελέγχου (Soler et al., 2008; Hernández-Mesa & Moreno-González, 2022).

5.7 Κριτήρια επιλογής κατάλληλης χρωματογραφικής τεχνικής

Η επιλογή της κατάλληλης χρωματογραφικής τεχνικής στον προσδιορισμό φυτοφαρμάκων αποτελεί κρίσιμη απόφαση, η οποία καθορίζει σε μεγάλο βαθμό την επιτυχία της αναλυτικής μεθόδου. Το πρώτο και βασικότερο κριτήριο είναι η χημική φύση του αναλύτη, δηλαδή η πτητικότητα, η πολικότητα, η θερμική σταθερότητα, η ικανότητα ιονισμού και η λιποφιλία του. Ενώσεις πτητικές και θερμοσταθερές προσανατολίζουν συνήθως προς GC, ενώ ενώσεις μη πτητικές, πολικές ή ευαίσθητες στη θερμότητα προς HPLC ή UHPLC.

Ακόμα ένα σημαντικό κριτήριο είναι η φύση της μήτρας, αφού τα φυτοφάρμακα μπορεί να προσδιορίζονται σε φρούτα, λαχανικά, δημητριακά, ελαιόλαδο, βρεφικές τροφές, νερά ή εδάφη. Κάθε μία από αυτές τις μήτρες έχει διαφορετική χημική σύσταση και δημιουργεί διαφορετικές προκλήσεις ως προς τις παρεμβολές, την προετοιμασία δείγματος και την τελική ανίχνευση. Για παράδειγμα, σε λιπαρές μήτρες απαιτείται μεγαλύτερη προσοχή στην απομάκρυνση συνεκχυλιζόμενων ουσιών, ενώ σε υδατικά δείγματα το βασικό ζήτημα είναι συχνά η προ-συγκέντρωση των αναλυτών.

Ο στόχος της ανάλυσης αποτελεί ένα επίσης καθοριστικό κριτήριο αφού εάν πρόκειται για ανάλυση ρουτίνας συμμόρφωσης με MRLs, τότε προτιμώνται τεχνικές υψηλής αξιοπιστίας, ανθεκτικές και γρήγορες, όπως GC-MS/MS και LC-MS/MS. Αντίθετα, σε ερευνητικές εφαρμογές ή σε διερεύνηση άγνωστων καταλοίπων, τα συστήματα UHPLC-QTOF ή UHPLC-Orbitrap αποκτούν προτεραιότητα, επειδή προσφέρουν μεγαλύτερη πληροφοριακή ισχύ. Τελευταίο αξιομνημόνευτο κριτήριο είναι το απαιτούμενο όριο ανίχνευσης, καθώς ορισμένες εφαρμογές, όπως οι παιδικές τροφές ή τα πόσιμα ύδατα, επιβάλλουν ιδιαίτερα χαμηλά επίπεδα ανίχνευσης.

Τέλος, πρακτικοί παράγοντες όπως η διαθεσιμότητα εξοπλισμού, το κόστος λειτουργίας, η εμπειρία του εργαστηρίου και η δυνατότητα επικύρωσης της μεθόδου παίζουν επίσης σημαντικό ρόλο. Η επιλογή της χρωματογραφικής τεχνικής επομένως δεν αποτελεί

αποκλειστικά θεωρητικό ζήτημα, αλλά σύνθεση επιστημονικών, τεχνικών και λειτουργικών παραμέτρων.

5.8 Η συμβολή της χρωματογραφίας στη σύγχρονη πολυπολειμματική ανάλυση

Η συμβολή της χρωματογραφίας στη σύγχρονη πολυπολειμματική ανάλυση φυτοφαρμάκων είναι καταλυτική, καθώς οι σημερινές απαιτήσεις δεν περιορίζονται πλέον στον προσδιορισμό λίγων μόνο γνωστών ενώσεων, αλλά επεκτείνονται στην ταυτόχρονη ανάλυση δεκάδων ή και εκατοντάδων δραστικών ουσιών και μεταβολιτών σε ένα μόνο δείγμα. Η δυνατότητα αυτή στηρίζεται ακριβώς στην υψηλή διαχωριστική ισχύ των χρωματογραφικών τεχνικών και στη συμβατότητά τους με ισχυρά ανιχνευτικά συστήματα, κυρίως φασματομετρία μάζας.

Η χρωματογραφία επιτρέπει την αποσυμφόρηση πολύπλοκων μητρών πριν από την ανίχνευση και ελαχιστοποιεί τις αλληλεπικαλύψεις κορυφών και τις παρεμβολές. Αυτό είναι απολύτως απαραίτητο σε δείγματα όπως φρούτα, λαχανικά, βρεφικές τροφές, χυμοί, δημητριακά και ελαιόλαδο, όπου η χημική σύσταση της μήτρας είναι πολύπλοκη. Χωρίς αποτελεσματικό χρωματογραφικό διαχωρισμό, ακόμη και ένα πολύ ευαίσθητο ανιχνευτικό σύστημα θα δυσκολευόταν να προσφέρει αξιόπιστα και επιβεβαιωμένα αποτελέσματα.

Επιπλέον, η χρωματογραφία είναι το μέσο με το οποίο κατέστη δυνατή η ανάπτυξη πολυπολειμματικών μεθόδων ευρείας κάλυψης, όπως εκείνων που στηρίζονται σε QuEChERS εκχύλιση και ακολουθούνται από GC-MS/MS ή LC-MS/MS. Οι μέθοδοι αυτές επιτρέπουν την αποτελεσματική παρακολούθηση μεγάλου φάσματος φυτοφαρμάκων σε σύντομο χρόνο, με ικανοποιητική ανάκτηση και χαμηλά όρια ανίχνευσης. Ακόμη περισσότερο, η UHPLC σε συνδυασμό με HRMS έχει ενισχύσει τη δυνατότητα όχι μόνο στοχευμένης ανάλυσης, αλλά και αναδρομικής επεξεργασίας δεδομένων για μη αναμενόμενα ή νεοεμφανιζόμενα κατάλοιπα.

Κεφάλαιο 6. Φασματομετρία μάζας και σύζευξη με χρωματογραφικές τεχνικές

6.1 Θεμελιώδεις αρχές της φασματομετρίας μάζας

Η φασματομετρία μάζας αποτελεί μία από τις πιο ισχυρές και ευέλικτες τεχνικές της σύγχρονης αναλυτικής χημείας, της οποίας η βασική αρχή της συνίσταται στη μετατροπή ουδέτερων μορίων σε ιόντα, στον διαχωρισμό των ιόντων αυτών ανάλογα με τον λόγο μάζας προς φορτίο (m/z) και, τελικά, στην ανίχνευσή τους ώστε να προκύψει το φάσμα μάζας. Το φάσμα αυτό εκφράζει την κατανομή της έντασης των ιοντικών ειδών ως συνάρτηση του m/z και μπορεί να παρέχει πληροφορίες για το μοριακό βάρος, τη στοιχειακή σύσταση, τον τρόπο κατακερματισμού και, κατ' επέκταση, για τη δομή της εξεταζόμενης ένωσης (Skoog et al., 2005· Stephanou, n.d.).

Η ιστορική εξέλιξη της φασματομετρίας μάζας συνδέεται με τις κλασικές μελέτες του J. J. Thomson πάνω στη συμπεριφορά ιόντων σε ηλεκτρικά και μαγνητικά πεδία. Στη συνέχεια, η ανάπτυξη πιο ακριβών αναλυτών μάζας, η πρόοδος στην τεχνολογία κενού, η εμφάνιση πιο ευαίσθητων ανιχνευτών και κυρίως η εισαγωγή νέων τεχνικών ιονισμού, οδήγησαν στη μετατροπή της φασματομετρίας μάζας από εξειδικευμένη φυσικοχημική τεχνική σε βασικό εργαλείο της αναλυτικής επιστήμης. Ιδιαίτερη σημασία είχαν οι τεχνικές ήπιου ιονισμού, όπως ο ηλεκτροψεκασμός (ESI), που επέκτειναν τη μέθοδο σε πολικές, μη πτητικές και θερμικά ασταθείς ενώσεις, καθιστώντας τη ιδιαίτερα χρήσιμη στην ανάλυση τροφίμων, φαρμάκων, βιομορίων και περιβαλλοντικών ρυπαντών (Stephanou, n.d.· Hernández-Mesa & Moreno-González, 2022).

Στο πεδίο του προσδιορισμού φυτοφαρμάκων, η φασματομετρία μάζας έχει αποκτήσει κεντρικό ρόλο. Οι δραστικές ουσίες των φυτοφαρμάκων εμφανίζουν έντονη χημική ετερογένεια: άλλες είναι πτητικές και θερμοσταθερές, άλλες εξαιρετικά πολικές και θερμικά ευαίσθητες, ενώ πολλές υφίστανται μεταβολισμό ή αποικοδόμηση, οδηγώντας σε πολυάριθμα προϊόντα μετασχηματισμού. Επιπλέον, οι ενώσεις αυτές ανιχνεύονται συνήθως σε πολύπλοκες μήτρες, όπως φρούτα, λαχανικά, δημητριακά, βρεφικές τροφές, έλαια,

επιφανειακά και υπόγεια ύδατα, όπου συνυπάρχουν χιλιάδες παρεμποδιστικά συστατικά. Υπό αυτές τις συνθήκες, η απλή χρωματογραφική ανίχνευση συχνά δεν επαρκεί. Η φασματομετρία μάζας προσθέτει το στοιχείο της μοριακής επιβεβαίωσης, προσφέροντας πολύ υψηλή εκλεκτικότητα και επιτρέποντας τον σαφή διαχωρισμό πραγματικού αναλυτικού σήματος από θόρυβο ή ισοβαρείς παρεμβολές (Picó et al., 2000· Soler et al., 2008· Botitsi et al., 2011).

Η πληροφορία που προκύπτει από ένα φάσμα μάζας εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τον τρόπο ιονισμού και από τον τύπο του αναλυτή μάζας. Σε «σκληρές» τεχνικές ιονισμού, όπως ο electron ionization (EI), παρατηρείται εκτεταμένος κατακερματισμός, ο οποίος είναι ιδιαίτερα χρήσιμος για δομική ερμηνεία και για σύγκριση με φασματικές βιβλιοθήκες. Αντίθετα, σε «ήπιες» τεχνικές, όπως ο ESI και ο atmospheric pressure chemical ionization (APCI), παράγονται κυρίως μοριακά ή ψευδομοριακά ιόντα, γεγονός που διευκολύνει τον προσδιορισμό του μοριακού βάρους και ευνοεί τις ποσοτικές εφαρμογές. Έτσι, η φασματομετρία μάζας δεν είναι απλώς ένας τρόπος «ζύγισης» μορίων, αλλά ένα σύνθετο φασματοσκοπικό εργαλείο που συνδέει τη μάζα, τη δομή και τη χημική συμπεριφορά της ένωσης.

Στην ανάλυση φυτοφαρμάκων, η σημασία της μεθόδου γίνεται ακόμη μεγαλύτερη λόγω των σύγχρονων ρυθμιστικών απαιτήσεων. Τα ανώτατα όρια καταλοίπων είναι χαμηλά, οι απαιτήσεις επιβεβαίωσης αυστηρές και η ανάγκη για ταυτόχρονο έλεγχο μεγάλου αριθμού ουσιών διαρκώς αυξάνεται. Για αυτόν τον λόγο, η φασματομετρία μάζας, ιδίως σε σύζευξη με χρωματογραφικές τεχνικές, αποτελεί σήμερα τον βασικό πυλώνα του εργαστηριακού ελέγχου φυτοφαρμάκων σε τρόφιμα, ζωοτροφές και περιβαλλοντικά δείγματα (Masiá et al., 2016· Hernández-Mesa & Moreno-González, 2022).

6.2 Βασικά μέρη φασματογράφου μάζας

Παρά την ποικιλία των οργανολογικών διαμορφώσεων, κάθε φασματογράφος μάζας περιλαμβάνει ορισμένα βασικά υποσυστήματα που είναι το σύστημα εισαγωγής δείγματος, την πηγή ιονισμού, τον αναλυτή μάζας, τον ανιχνευτή, καθώς και το σύστημα κενού και το λογισμικό επεξεργασίας δεδομένων. Η διαδοχική λειτουργία αυτών των τμημάτων

εξασφαλίζει ότι τα μόρια του δείγματος μετατρέπονται σε χρήσιμη αναλυτική πληροφορία (Stephanou, n.d.).

6.2.1 Σύστημα εισαγωγής δείγματος

Το σύστημα εισαγωγής δείγματος αποτελεί τη διεπιφάνεια ανάμεσα στο δείγμα και στη φασματομετρική διάταξη. Ο σχεδιασμός του εξαρτάται από τη φυσική κατάσταση του δείγματος, την τεχνική ιονισμού και το εάν η φασματομετρία μάζας χρησιμοποιείται αυτόνομα ή συζευγμένη με χρωματογραφία. Στις εφαρμογές προσδιορισμού φυτοφαρμάκων, η εισαγωγή δείγματος πραγματοποιείται σχεδόν πάντοτε μέσω αέριας ή υγρής χρωματογραφίας. Στη GC-MS, το δείγμα εισάγεται υπό μορφή ατμού μετά τον χρωματογραφικό διαχωρισμό, ενώ στη LC-MS το έκλουσμα μεταφέρεται από τη χρωματογραφική στήλη προς πηγές ατμοσφαιρικού ιονισμού, όπως ο ESI ή ο APCI. Η επιτυχία της σύζευξης εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τη σταθερή και αποδοτική μεταφορά του αναλύτη από το χρωματογραφικό σύστημα στη φασματομετρική πηγή, χωρίς απώλειες και χωρίς υποβάθμιση της ευαισθησίας.

6.2.2 Πηγή ιονισμού

Η πηγή ιονισμού είναι το τμήμα στο οποίο τα ουδέτερα μόρια μετατρέπονται σε ιόντα αέριας φάσης. Η διεργασία αυτή μπορεί να περιλαμβάνει αποβολή ηλεκτρονίου, προσθήκη ή αφαίρεση πρωτονίου, σχηματισμό προσδεμάτων ή ακόμη και παραγωγή θραυσμάτων ήδη στο στάδιο του ιονισμού. Η επιλογή της πηγής επηρεάζει καθοριστικά τόσο την απόδοση του ιονισμού όσο και τη μορφή του φάσματος μάζας. Για τον λόγο αυτό, η πηγή ιονισμού δεν είναι απλώς τεχνικό εξάρτημα, αλλά παράμετρος που συνδέεται άμεσα με τη χημεία του αναλύτη και με τον αναλυτικό στόχο.

6.2.3 Αναλυτής μάζας

Ο αναλυτής μάζας διαχωρίζει τα ιόντα ανάλογα με το m/z . Από αυτόν εξαρτώνται η διακριτική ικανότητα, η ακρίβεια μάζας, η ευαισθησία, η ταχύτητα απόκτησης φασμάτων και οι δυνατότητες επιβεβαιωτικής ή μη στοχευμένης ανάλυσης. Διαφορετικοί τύποι αναλυτών είναι κατάλληλοι για διαφορετικές αναλυτικές στρατηγικές. Οι τετραπολικοί και τριπλοί τετραπολικοί αναλυτές έχουν καθιερωθεί κυρίως σε ποσοτικές εφαρμογές ρουτίνας,

ενώ οι TOF, QqTOF και Orbitrap χρησιμοποιούνται ευρύτερα σε screening, προσδιορισμό ακριβούς μάζας και ανίχνευση αγνώστων.

6.2.4 Ανιχνευτής

Ο ανιχνευτής καταγράφει τα ιόντα που εξέρχονται από τον αναλυτή μάζας και μετατρέπει την άφιξή τους σε ηλεκτρικό σήμα. Οι συνηθέστεροι ανιχνευτές είναι οι electron multipliers, οι Faraday cups και τα συστήματα scintillation. Οι electron multipliers είναι ιδιαίτερα διαδεδομένοι λόγω της μεγάλης ευαισθησίας τους, καθώς πολλαπλασιάζουν το αρχικό σήμα μέσω καταρράκτη δευτερογενών ηλεκτρονίων. Έτσι καθίσταται δυνατή η ανίχνευση εξαιρετικά χαμηλών ποσοτήτων αναλύτη.

6.2.5 Σύστημα κενού και επεξεργασίας δεδομένων

Η λειτουργία ενός φασματογράφου μάζας προϋποθέτει συνθήκες χαμηλής πίεσης, ώστε τα ιόντα να μπορούν να κινηθούν χωρίς εκτεταμένες συγκρούσεις με μόρια αερίων. Για τον λόγο αυτόν χρησιμοποιούνται αντλίες κενού, όπως μηχανικές και turbomolecular, ανάλογα με το απαιτούμενο επίπεδο κενού. Εξίσου σημαντικό είναι και το υπολογιστικό σύστημα, το οποίο δεν περιορίζεται στον έλεγχο του οργάνου, αλλά επεκτείνεται στην απόκτηση, αποθήκευση, επεξεργασία, αποσυμφόρηση και ερμηνεία των δεδομένων. Στα σύγχρονα συστήματα HRMS, η ποιότητα της λογισμικής επεξεργασίας είναι συχνά εξίσου καθοριστική με την ίδια την οργανολογία.

6.3 Τεχνικές ιονισμού

Οι τεχνικές ιονισμού καθορίζουν τη μορφή των ιόντων που παράγονται και άρα το είδος της αναλυτικής πληροφορίας που μπορεί να εξαχθεί. Στον προσδιορισμό φυτοφαρμάκων, οι σημαντικότερες τεχνικές είναι ο EI, ο CI, ο ESI και ο APCI.

6.3.1 Ιονισμός ηλεκτρονίων (Electron Ionization, EI)

Ο EI χρησιμοποιείται κυρίως σε συστήματα GC-MS και αποτελεί την κλασική τεχνική ιονισμού για πτητικές και θερμοσταθερές οργανικές ενώσεις. Στην πηγή EI, τα μόρια βομβαρδίζονται από ηλεκτρόνια ενέργειας συνήθως 70 eV, τα οποία αποσπών ένα ηλεκτρόνιο από το μόριο και σχηματίζουν το ριζικό μοριακό ιόν M^+ . Εξαιτίας της σχετικά

υψηλής ενέργειας, το μοριακό ιόν συχνά υφίσταται εκτεταμένο κατακερματισμό, παράγοντας χαρακτηριστικά θραύσματα. Ο έντονος αυτός κατακερματισμός καθιστά τον EI «σκληρή» τεχνική ιονισμού (Stephanou, n.d.).

Το μεγάλο πλεονέκτημα του EI είναι η εξαιρετική αναπαραγωγιμότητα των φασμάτων. Αυτό επιτρέπει τη χρήση ευρέως διαθέσιμων φασματικών βιβλιοθηκών, όπως οι NIST βιβλιοθήκες, και καθιστά τη μέθοδο ιδιαίτερα αποτελεσματική για επιβεβαιωτική ταυτοποίηση γνωστών ενώσεων. Στην ανάλυση φυτοφαρμάκων, ο EI παραμένει ιδιαίτερα σημαντικός για οργανοχλωριωμένα, πυρεθροειδή και αρκετές ενώσεις που δεν ιονίζονται ικανοποιητικά με ατμοσφαιρικές πηγές ιονισμού. Ωστόσο, η απουσία ή η πολύ χαμηλή ένταση του μοριακού ιόντος σε ορισμένες ενώσεις μπορεί να περιορίσει την άμεση πληροφορία για το μοριακό βάρος.

6.3.2 Χημικός ιονισμός (Chemical Ionization - CI)

Ο CI είναι ηπιότερη τεχνική ιονισμού σε σχέση με τον EI. Σε αυτήν, ιονίζεται πρώτα ένα αέριο αντιδραστήριο, όπως μεθάνιο, αμμωνία ή ισοβουτάνιο, και στη συνέχεια τα ιόντα του αερίου μεταφέρουν φορτίο στα μόρια του αναλύτη μέσω αντιδράσεων ιοντισμού. Έτσι σχηματίζονται κυρίως ψευδομοριακά ιόντα, όπως $[M+H]^+$, με σαφώς μικρότερο κατακερματισμό. Ως αποτέλεσμα, ο CI παρέχει πιο άμεση πληροφορία για το μοριακό βάρος και συχνά λειτουργεί συμπληρωματικά προς τον EI (Stephanou, n.d.).

Στις αναλύσεις φυτοφαρμάκων, ο CI χρησιμοποιείται όταν το μοριακό ιόν στον EI είναι αδύναμο ή απουσιάζει. Επίσης, η negative chemical ionization έχει αποδειχθεί ιδιαίτερα ευαίσθητη για ενώσεις με έντονη συγγένεια προς το ηλεκτρόνιο, όπως αρκετές αλογονομένες ενώσεις. Παρ' όλα αυτά, η τεχνική δεν είναι καθολική και η χρησιμότητά της εξαρτάται από τη δομή του αναλύτη.

6.3.3 Ιονισμός με ηλεκτροψεκασμό (Electrospray Ionization, ESI)

Ο ESI αποτελεί τη σημαντικότερη ίσως τεχνική ιονισμού στη σύγχρονη LC-MS. Το δείγμα εισάγεται ως διάλυμα μέσω τριχοειδούς άκρου στο οποίο εφαρμόζεται υψηλή τάση. Δημιουργούνται φορτισμένα σταγονίδια τα οποία, με τη βοήθεια θερμότητας και αερίου αποξήρανσης, χάνουν τον διαλύτη τους. Τελικά προκύπτουν ιόντα αέριας φάσης, συνήθως

υπό μορφή $[M+H]^+$, $[M+Na]^+$ ή $[M-H]^-$. Η τεχνική θεωρείται ήπια, επειδή οδηγεί σε περιορισμένο κατακερματισμό και ευνοεί τον σχηματισμό μοριακών ή ψευδομοριακών ιόντων (Stephanou, n.d.).

Ο ESI είναι ιδανικός για πολικές, μη πτητικές και θερμικά ασταθείς ενώσεις, δηλαδή ακριβώς για πολλές από τις δραστικές ουσίες που αναλύονται με LC-MS/MS στον τομέα των φυτοφαρμάκων. Επιπλέον, επιτρέπει την ανάλυση ενώσεων σε ήπιες συνθήκες και είναι πλήρως συμβατός με εκλούσεις υγρής χρωματογραφίας. Ωστόσο, εμφανίζει ισχυρή ευαισθησία στα matrix effects, κυρίως υπό μορφή καταστολής ή ενίσχυσης του ιονισμού, γεγονός που καθιστά απαραίτητη την κατάλληλη προετοιμασία δείγματος, την επιλογή matrix-matched calibration ή τη χρήση εσωτερικών προτύπων.

6.3.4 Χημικός ιονισμός σε ατμοσφαιρική πίεση (Atmospheric Pressure Chemical Ionization, APCI)

Ο APCI είναι επίσης τεχνική ατμοσφαιρικού ιονισμού, κατάλληλη για LC-MS εφαρμογές. Σε αυτήν, το έκλουσμα νεφελοποιείται και εξατμίζεται σε θερμαινόμενο περιβάλλον, ενώ μία corona discharge παράγει ιοντικά είδη από το μέσο, τα οποία αντιδρούν με τα μόρια του αναλύτη. Σε σχέση με τον ESI, ο APCI θεωρείται συχνά καταλληλότερος για λιγότερο πολικές και πιο ημιπτητικές ενώσεις χαμηλότερου μοριακού βάρους. Έτσι, σε ορισμένες κατηγορίες φυτοφαρμάκων, οι δύο τεχνικές λειτουργούν συμπληρωματικά.

6.4 Αναλυτές μάζας

Οι αναλυτές μάζας αποτελούν τον πυρήνα της οργανολογίας της φασματομετρίας μάζας και καθορίζουν σε μεγάλο βαθμό τη διακριτική ικανότητα, την ακρίβεια μάζας και τις δυνατότητες εφαρμογής της τεχνικής.

6.4.1 Τετραπολικός αναλυτής

Ο τετραπολικός αναλυτής αποτελεί μία από τις πιο καθιερωμένες διατάξεις. Τέσσερις παράλληλες ράβδοι δημιουργούν μεταβαλλόμενα ηλεκτρικά πεδία που επιτρέπουν μόνο σε ιόντα συγκεκριμένου m/z να ακολουθήσουν σταθερή τροχιά και να φτάσουν στον

ανιχνευτή. Η διάταξη αυτή χαρακτηρίζεται από απλότητα, ταχύτητα, χαμηλότερο κόστος και ικανοποιητική απόδοση για αναλύσεις ρουτίνας. Σε ποσοτικού τύπου εφαρμογές, οι μονοτετραπολικοί αναλυτές χρησιμοποιήθηκαν ευρέως, ιδιαίτερα σε λειτουργίες full scan ή SIM.

6.4.2 Τριπλός τετραπολικός αναλυτής

Ο τριπλός τετραπολικός αναλυτής (QqQ) αποτελεί σήμερα το πρότυπο για στοχευμένη ποσοτική ανάλυση φυτοφαρμάκων. Ο πρώτος τετραπολικός αναλυτής επιλέγει το πρόδρομο ιόν, ο δεύτερος λειτουργεί ως κυψέλη συγκρούσεων όπου προκαλείται collision-induced dissociation και ο τρίτος αναλύει τα ιόντα προϊόντα. Η διάταξη αυτή επιτρέπει λειτουργίες SRM/MRM με εξαιρετικά υψηλή εκλεκτικότητα και ευαισθησία. Με βάση συγκριτικές μελέτες, τα QqQ συστήματα εμφανίζουν συνήθως ανώτερη ευαισθησία, μεγαλύτερο δυναμικό εύρος και καλύτερη αναπαραγωγικότητα από άλλα συστήματα, όπως τα ion traps και τα QqTOF, όταν ο στόχος είναι η ακριβής ποσοτικοποίηση γνωστών αναλυτών (Soler et al., 2006b· Soler, James, & Picó, 2007· Botitsi et al., 2011).

6.4.3 Ion trap

Οι αναλυτές ion trap παγιδεύουν τα ιόντα μέσα σε ηλεκτρικά πεδία και τα απελευθερώνουν σταδιακά ανάλογα με το m/z. Ένα σημαντικό πλεονέκτημά τους είναι η δυνατότητα εκτέλεσης πολλαπλών σταδίων κατακερματισμού, δηλαδή MSⁿ πειραμάτων, γεγονός που προσδίδει μεγάλη δομική πληροφορία. Για αυτόν τον λόγο έχουν χρησιμοποιηθεί εκτεταμένα σε επιβεβαιωτικές και ερευνητικές εφαρμογές. Εντούτοις, σε πολλές αναλύσεις ρουτίνας φυτοφαρμάκων, οι τριπλοί τετραπόλοι προτιμώνται λόγω καλύτερης ποσοτικής επίδοσης και αντοχής σε πολύπλοκες μήτρες.

6.4.4 Time of flight (TOF)

Ο αναλυτής TOF βασίζεται στη μέτρηση του χρόνου που απαιτούν τα ιόντα για να διανύσουν μια περιοχή χωρίς πεδίο αφού επιταχυνθούν στην ίδια κινητική ενέργεια. Τα ιόντα μικρότερου m/z φτάνουν ταχύτερα στον ανιχνευτή. Οι TOF αναλυτές διαθέτουν υψηλή ταχύτητα, μεγάλο εύρος μαζών και δυνατότητα μέτρησης ακριβούς μάζας. Τα συστήματα LC-TOF-MS και GC-TOF-MS είναι ιδιαίτερα ελκυστικά για screening και

αναγνώριση αγνώστων, επειδή καταγράφουν δεδομένα πλήρους σάρωσης με αυξημένη αναλυτική πληροφορία. Στον χώρο των φυτοφαρμάκων, η χρήση τους έχει αναπτυχθεί ιδιαίτερα για προκαταρκτικό έλεγχο, για επιβεβαίωση με ακριβή μάζα και για διερεύνηση μεταβολιτών και προϊόντων αποδόμησης (Botitsi et al., 2011).

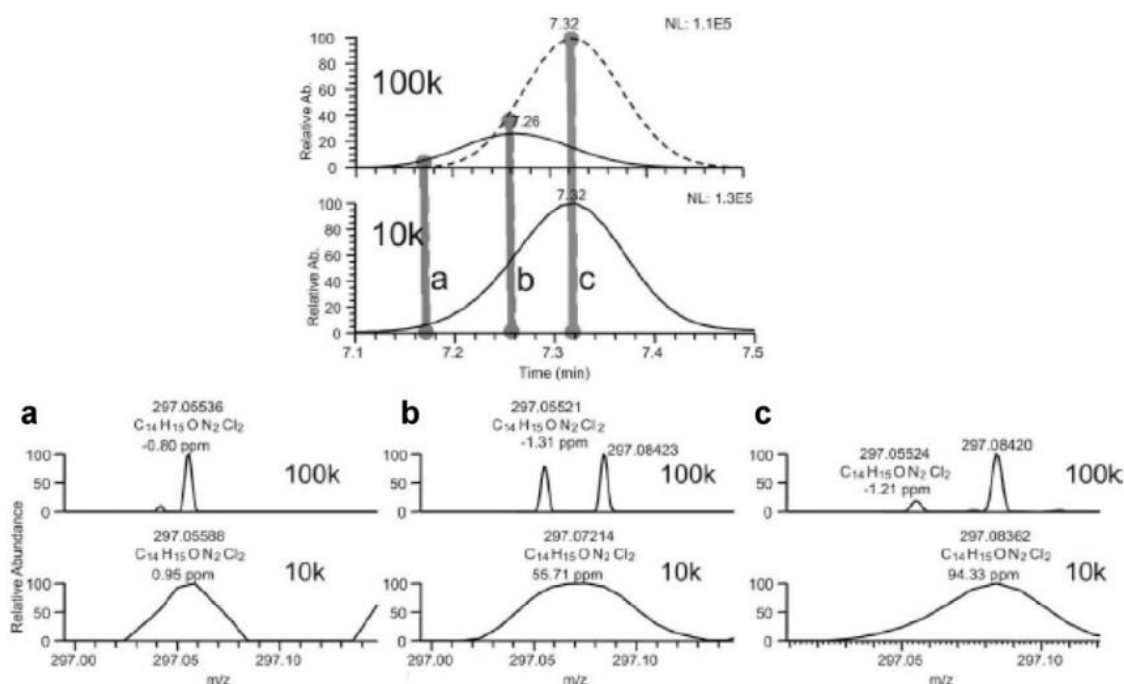
Ιδιαίτερα ενδεικτική είναι η εφαρμογή LC-TOF-MS για screening υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων σε μήτρα μήλου. Σε σχετική μελέτη, το total ion chromatogram συνδυάστηκε με extracted ion chromatograms στενών μαζικών παραθύρων 5 mDa για ενώσεις όπως acetamiprid, ethoxyquin, imazalil, iprodione και thiabendazole. Η δυνατότητα εξαγωγής ιοντοχρωματογραφημάτων με εξαιρετικά στενά παράθυρα ακριβούς μάζας επέτρεψε την καθαρή ανάδειξη των κορυφών αυτών μέσα από πολύπλοκη μήτρα, ενώ τα αντίστοιχα ακριβή φάσματα μάζας σε συγκεκριμένους χρόνους κατακράτησης συνέβαλαν στην επιβεβαίωση της ταυτότητάς τους (Mezcua et al., 2009a, όπως αναφέρεται στους Botitsi et al., 2011). Η προσέγγιση αυτή αποτυπώνει εύστοχα τον τρόπο με τον οποίο η ακριβής μάζα και ο χρόνος κατακράτησης συνδυάζονται σε μία ισχυρή στρατηγική screening.

6.4.5 Orbitrap και υβριδικά συστήματα

Ο Orbitrap αποτελεί μία νεότερη αλλά εξαιρετικά σημαντική εξέλιξη στον χώρο της φασματομετρίας μάζας υψηλής διακριτικής ικανότητας. Η λειτουργία του βασίζεται στην παγίδευση ιόντων σε ηλεκτροστατικό πεδίο και στη μέτρηση της συχνότητας ταλάντωσής τους, η οποία σχετίζεται άμεσα με το m/z . Μέσω μετασχηματισμού Fourier, οι συχνότητες αυτές μετατρέπονται σε φάσματα μάζας. Τα Orbitrap συστήματα παρέχουν πολύ υψηλή διακριτική ικανότητα, η οποία μπορεί να φτάσει ή και να υπερβεί τα 100.000–150.000 FWHM, καθώς και ακρίβεια μάζας της τάξης των 2–5 ppm (Makarov et al., 2006· Perry, Cooks, & Noll, 2008, όπως αναφέρονται στους Botitsi et al., 2011).

Η αξία αυτών των χαρακτηριστικών είναι εξαιρετικά μεγάλη σε πολύπλοκες μήτρες τροφίμων και περιβάλλοντος, όπου συχνά συνυπάρχουν ισοβαρείς ενώσεις. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί η επίδραση της διακριτικής ικανότητας στην ορθή μαζική ανάθεση συν-εκλουόμενων ενώσεων. Όπως έχει αναφερθεί, δύο φυτοφάρμακα, το imazalil και το flunixin, με διαφορά ακριβούς μάζας μόλις 30 mDa και πολύ κοντινούς χρόνους κατακράτησης, μπορούσαν να διακριθούν επαρκώς μόνο όταν η ανάλυση γινόταν

σε resolving power 100.000 και όχι σε 10.000. Σε χαμηλότερη διακριτική ικανότητα, οι μερικώς συγχωνευμένες κορυφές οδηγούσαν σε λανθασμένη ανάθεση μάζας, ενώ στη μεγαλύτερη ανάλυση οι δύο ενώσεις εμφανίζονταν διακριτά και οι μάζες τους αποδίδονταν σωστά (Kellmann et al., 2009, όπως αναφέρεται στους Botitsi et al., 2011). Η σημασία της υψηλής διακριτικής ικανότητας γίνεται ιδιαίτερα εμφανής όταν δύο ενώσεις συν-εκλούνται ή έχουν πολύ μικρή διαφορά στην ακριβή μάζα τους. Σε τέτοιες περιπτώσεις, χαμηλότερη διακριτική ικανότητα μπορεί να οδηγήσει σε συγχώνευση των σημάτων και σε εσφαλμένη ανάθεση μάζας, ενώ υψηλότερη διακριτική ικανότητα επιτρέπει την καθαρότερη διάκριση των ιοντικών κορυφών. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί όπως φαίνεται στο Διάγραμμα 8 η σύγκριση δύο συν-εκλούμενων ενώσεων, του imazalil και του flunixin, σε σύστημα Orbitrap, όπου η ανάλυση σε 100.000 resolving power επιτρέπει ακριβέστερη ταυτοποίηση σε σχέση με την ανάλυση σε 10.000 resolving power.



Διάγραμμα 8. Επίδραση της διακριτικής ικανότητας στην ακρίβεια μάζας και στη διάκριση δύο συν-εκλούμενων ενώσεων, του imazalil και του flunixin, οι οποίες διαφέρουν κατά περίπου 30 mDa στην ακριβή μάζα τους. Σε ανάλυση Orbitrap, η αύξηση της διακριτικής ικανότητας από 10.000 σε 100.000 επιτρέπει σαφέστερο διαχωρισμό των σημάτων και ακριβέστερη ανάθεση μάζας, γεγονός ιδιαίτερα σημαντικό για την ταυτοποίηση φυτοφαρμάκων σε σύνθετες μήτρες (Πηγή: Botitsi et al., 2011, από Kellmann et al., 2009).

Τα υβριδικά συστήματα, όπως τα QqTOF και LTQ-Orbitrap, συνδυάζουν διαφορετικά πλεονεκτήματα: προεπιλογή ιόντων, κατακερματισμό, ακριβή μάζα, υψηλή διακριτική ικανότητα και δυνατότητες MSⁿ. Για τον λόγο αυτό έχουν καταστεί εξαιρετικά χρήσιμα σε suspect και non-target screening εφαρμογές, αλλά και στην ανίχνευση μετασχηματισμένων ή άγνωστων υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων.

6.5 Τρόποι απόκτησης και επεξεργασίας δεδομένων

Η αξία της φασματομετρίας μάζας δεν εξαρτάται μόνο από την οργανολογία, αλλά και από τη στρατηγική απόκτησης δεδομένων. Οι κυριότερες λειτουργίες είναι οι full scan, SIM, SRM/MRM και οι νεότερες προσεγγίσεις target, suspect και non-target screening.

6.5.1 Full scan

Στη λειτουργία full scan το όργανο καταγράφει ευρύ φάσμα m/z, παρέχοντας συνολική εικόνα του φάσματος. Η λειτουργία αυτή είναι θεμελιώδης για screening, για ανίχνευση αγνώστων και για μεταγενέστερη αναδρομική διερεύνηση. Παρόλο που η ευαισθησία της είναι συχνά χαμηλότερη από αυτήν των στοχευμένων λειτουργιών, η πληροφοριακή της αξία είναι πολύ μεγάλη, κυρίως όταν συνδυάζεται με αναλυτές υψηλής ακρίβειας μάζας.

6.5.2 SIM

Το selected ion monitoring χρησιμοποιείται κυρίως σε μονοτετραπολικά GC-MS συστήματα. Αντί να παρακολουθείται όλο το φάσμα, επιλέγονται συγκεκριμένα ιόντα ενδιαφέροντος, αυξάνοντας έτσι την ευαισθησία και βελτιώνοντας τον λόγο σήματος προς θόρυβο. Η προσέγγιση αυτή χρησιμοποιήθηκε ευρέως σε αναλύσεις φυτοφαρμάκων πριν την επικράτηση των MS/MS διατάξεων και εξακολουθεί να έχει αξία σε επιλεγμένες εφαρμογές.

6.5.3 SRM/MRM

Οι λειτουργίες selected reaction monitoring και multiple reaction monitoring είναι θεμελιώδεις στα tandem MS συστήματα, ιδίως στους τριπλούς τετραπόλους. Σε αυτές,

επιλέγεται ένα πρόδρομο ιόν και ανιχνεύεται ένα ή περισσότερα ιόντα-προϊόντα μετά από collision-induced dissociation. Η παρακολούθηση συγκεκριμένων μεταβάσεων προσδίδει εξαιρετικά υψηλή εκλεκτικότητα και ευαισθησία, καθιστώντας τη μέθοδο ιδανική για ποσοτικό προσδιορισμό φυτοφαρμάκων σε πολύπλοκες μήτρες. Οι MRM μεταβάσεις παρέχουν ταυτόχρονα πληροφορία ταυτότητας και ποσοτικό σήμα, γεγονός που εξηγεί γιατί τα LC-MS/MS και GC-MS/MS συστήματα τύπου QqQ κυριαρχούν στις αναλύσεις συμμόρφωσης.

6.5.4 Target, suspect και non-target screening

Η σύγχρονη αναλυτική στρατηγική έχει υπερβεί τις κλασικές στοχευμένες λίστες αναλυτών. Στο target screening αναζητούνται συγκεκριμένες γνωστές ενώσεις με διαθέσιμα πρότυπα και προκαθορισμένα κριτήρια ταυτότητας. Στο suspect screening αναζητούνται ενώσεις για τις οποίες υπάρχει θεωρητική γνώση, όπως ακριβής μάζα, μοριακός τύπος ή αναμενόμενο μοτίβο κατακερματισμού, χωρίς να υπάρχει πάντοτε πρότυπο αναφοράς. Στο non-target screening επιδιώκεται η όσο το δυνατόν ευρύτερη αποτύπωση άγνωστων ενώσεων, προϊόντων μετασχηματισμού ή απρόβλεπτων καταλοίπων. Οι προσεγγίσεις αυτές έχουν γίνει εφικτές κυρίως χάρη στα HRMS συστήματα και σε εξελιγμένα λογισμικά επεξεργασίας (Bauer et al., 2018· Wang et al., 2016).

6.6 GC-MS και GC-MS/MS

Η σύζευξη αέριας χρωματογραφίας με φασματομετρία μάζας διατηρεί ακόμη και σήμερα πολύ σημαντικό ρόλο στην ανάλυση φυτοφαρμάκων, παρά την ευρεία διάδοση των LC-MS τεχνικών. Η GC-MS παραμένει ιδιαίτερα χρήσιμη για ενώσεις που είναι πτητικές, ημιπτητικές ή θερμοσταθερές, όπως πολλές οργανοχλωριωμένες ενώσεις, πυρεθροειδή και ορισμένα οργανοφωσφορικά. Ένα σημαντικό της πλεονέκτημα είναι η δυνατότητα αντιστοίχισης φασμάτων EI με εμπορικές βιβλιοθήκες, γεγονός που επιταχύνει την προκαταρκτική ταυτοποίηση.

Τα τελευταία χρόνια, η χρήση GC-QqQ-MS/MS και GC-IT-MS/MS έχει ενισχύσει σημαντικά τις δυνατότητες της τεχνικής. Οι GC-MS/MS πλατφόρμες επιτρέπουν

προσδιορισμό πολλών δεκάδων ή και εκατοντάδων φυτοφαρμάκων σε μία μόνο ανάλυση, ακόμη και υπό συνθήκες μερικής χρωματογραφικής συν-έκλουσης, καθώς η διάκριση επιτυγχάνεται στο επίπεδο των MRM μεταβάσεων. Επιπλέον, η ταχεία GC, η low-pressure GC και η χρήση μεγάλου όγκου έγχυσης έχουν συμβάλει στη μείωση του χρόνου ανάλυσης και στην αύξηση της εργαστηριακής παραγωγικότητας (Walorczyk & Gnusowski, 2006· Fernández Moreno et al., 2008· Botitsi et al., 2011).

6.7 LC-MS/MS και UHPLC-MS/MS

Η LC-MS/MS έχει εξελιχθεί στην πιο κύρια πλατφόρμα προσδιορισμού φυτοφαρμάκων, ιδιαίτερα για πολικές, μη πτητικές και θερμικά ασταθείς ενώσεις. Με την επικράτηση του ESI και του APCI κατέστη δυνατή η απευθείας ανάλυση πολλών ουσιών που δεν μπορούσαν να προσδιοριστούν αποτελεσματικά με GC. Η εισαγωγή της UHPLC βελτίωσε περαιτέρω τη διαχωριστική ικανότητα, μείωσε τους χρόνους ανάλυσης και οδήγησε σε στενότερες κορυφές, κάτι που συνδυάζεται ιδανικά με τις γρήγορες δυνατότητες απόκτησης των σύγχρονων φασματογράφων μάζας.

Τα LC-QqQ-MS/MS συστήματα αποτελούν σήμερα τον βασικό εξοπλισμό ρουτίνας για πολυπολεμιματικές μεθόδους. Παράλληλα, τα LC-QqTOF-MS και Orbitrap-MS χρησιμοποιούνται ολοένα περισσότερο ως συστήματα screening και επιβεβαίωσης. Η LC-TOF-MS προσέγγιση έχει αποδειχθεί ιδιαίτερα χρήσιμη σε μήτρες τροφίμων, καθώς επιτρέπει την εξαγωγή ακριβούς μάζας και τη συνδυαστική αξιοποίηση χρόνου κατακράτησης, μαζικού παραθύρου, ισοτοπικού προτύπου και χαρακτηριστικών ιόντων για τη γρήγορη ανάδειξη πιθανών θετικών δειγμάτων (Mezcua et al., 2009a· Botitsi et al., 2011).

6.8 HRMS στη σύγχρονη ανάλυση φυτοφαρμάκων

Η φασματομετρία μάζας υψηλής διακριτικής ικανότητας έχει αναδιαμορφώσει καταλυτικά το πεδίο της ανάλυσης φυτοφαρμάκων και βασικό της πλεονέκτημα είναι ότι δεν

περιορίζεται στην ποσοτικοποίηση ενός μικρού συνόλου γνωστών ενώσεων, αλλά μπορεί να υποστηρίξει ολοκληρωμένες στρατηγικές screening, αναδρομικής ανάλυσης και ταυτοποίησης προϊόντων μετασχηματισμού. Χαρακτηριστικές εφαρμογές περιλαμβάνουν τον εντοπισμό γνωστών και άγνωστων μεταβολιτών του amitraz σε εκχυλίσματα αχλαδιού με UPLC-QqTOF-MS, όπου εκτός από τους τρεις γνωστούς μεταβολίτες ανιχνεύθηκε και τέταρτος, ο BDMPF, χωρίς να υπάρχει πρότυπο αναφοράς (Picó et al., 2008, όπως αναφέρεται στους Botitsi et al., 2011). Αντίστοιχα, η διερεύνηση προϊόντων αποδόμησης του fenthion σε πορτοκάλια, ή μετασχηματισμών του diazinon και τριαζινών σε υδατικά συστήματα, ανέδειξε τον ουσιαστικό ρόλο της ακριβούς μάζας και των δεδομένων MS/MS στην επιβεβαίωση στοιχειακής σύστασης και δομής (Ibáñez et al., 2006· Brix et al., 2008· Hernández et al., 2008a, όπως αναφέρονται στους Botitsi et al., 2011).

Ωστόσο, παρά τη μεγάλη τους πληροφοριακή ισχύ, τα HRMS συστήματα δεν έχουν πλήρως υποκαταστήσει τα QqQ συστήματα στην ποσοτική ρουτίνα. Οι συγκριτικές μελέτες δείχνουν ότι τα QqQ υπερτερούν συνήθως σε ευαισθησία, δυναμικό εύρος και αναπαραγωγιμότητα, ενώ τα QqTOF και Orbitrap υπερτερούν σε δυνατότητες ελέγχου διαλογής, σε εκλεκτικότητα υψηλής διακριτικής ικανότητας και σε ικανότητα ταυτοποίησης αγνώστων (Soler et al., 2006b· Soler, James, & Picó, 2007· Botitsi et al., 2011). Κατά συνέπεια, η σύγχρονη τάση δεν είναι η αντικατάσταση της μιας πλατφόρμας από την άλλη, αλλά η συμπληρωματική τους χρήση.

6.9 Πλεονεκτήματα και περιορισμοί της φασματομετρίας μάζας

Η φασματομετρία μάζας ως προς τα πλεονεκτήματα που φέρει, αρχικά έχει εξαιρετικά υψηλή ευαισθησία, επιτρέποντας την ανίχνευση καταλοίπων σε ίχνη, ενώ επίσης προσφέρει πολύ υψηλή εκλεκτικότητα, ιδιαίτερα όταν χρησιμοποιούνται tandem MS λειτουργίες ή HRMS πλατφόρμες. Επιπροσθέτως, παρέχει επιβεβαιωτική πληροφορία μέσω μοριακών ιόντων, ιόντων-προϊόντων, ακριβούς μάζας και ισοτοπικών προτύπων, ενώ κάτι άλλο που κάνει είναι πως επιτρέπει την ταυτόχρονη ανάλυση μεγάλου αριθμού ενώσεων σε μία μόνο μέτρηση, γεγονός καθοριστικό για τη σύγχρονη πολυπολειμματική ανάλυση. Τέλος, η σύζευξή της με τη χρωματογραφία την καθιστά κατάλληλη τόσο για στοχευμένες όσο και για μη στοχευμένες εφαρμογές.

Ωστόσο, υπάρχουν και μειονεκτήματα όπως ότι η οργανολογία είναι ακριβή, σύνθετη και απαιτεί συχνή συντήρηση και η σωστή λειτουργία της προϋποθέτει έμπειρο προσωπικό και αυστηρή εφαρμογή διαδικασιών ποιοτικού ελέγχου. Ειδικά στις LC-MS εφαρμογές, τα φαινόμενα matrix effect μπορούν να επηρεάσουν σημαντικά την ποσοτική αξιοπιστία, ενώ στις HRMS αναλύσεις ο τεράστιος όγκος δεδομένων αυξάνει τις απαιτήσεις σε λογισμικό, χρόνο επεξεργασίας και ορθή ερμηνεία. Επιπλέον, η ύπαρξη ακριβούς μάζας από μόνη της δεν εξασφαλίζει πάντοτε πλήρη ταυτοποίηση, ιδίως όταν συνυπάρχουν ισοβαρείς ή δομικά συγγενείς ενώσεις και γι' αυτό απαιτείται ο συνδυασμός φασματομετρικής, χρωματογραφικής και, όπου είναι δυνατόν, πρότυπης πληροφορίας.

6.10 Ο ρόλος της χρωματογραφίας-φασματομετρίας μάζας στον ασφαλή προσδιορισμό φυτοφαρμάκων

Η σύζευξη χρωματογραφίας και φασματομετρίας μάζας αποτελεί σήμερα την πλέον ολοκληρωμένη, αξιόπιστη και τεχνολογικά ώριμη προσέγγιση για τον προσδιορισμό φυτοφαρμάκων. Η χρωματογραφία επιτελεί τον αναγκαίο διαχωρισμό των αναλυτών από παρεμποδιστικά συστατικά της μήτρας και μεταξύ τους, ενώ η φασματομετρία μάζας προσφέρει τη μοριακή επιβεβαίωση που απαιτείται για ασφαλή ταυτοποίηση και ακριβή ποσοτικοποίηση. Ο συνδυασμός αυτός είναι καθοριστικός σε μήτρες υψηλής πολυπλοκότητας, όπου η απλή χρωματογραφική ανίχνευση δεν θα επαρκούσε.

Στη σύγχρονη πρακτική, η GC-MS/MS και η LC-MS/MS με τριπλό τετραπολικό αναλυτή αποτελούν τις κύριες πλατφόρμες ελέγχου συμμόρφωσης με τα νομοθετημένα MRLs. Παράλληλα, οι TOF, QqTOF και Orbitrap πλατφόρμες προσφέρουν δυνατότητες screening, ταυτοποίησης αγνώστων και διερεύνησης προϊόντων μετασχηματισμού, οι οποίες είναι εξαιρετικά σημαντικές για την περιβαλλοντική παρακολούθηση, την τοξικολογική αξιολόγηση και τη διεύρυνση του αναλυτικού πεδίου πέρα από τους προκαθορισμένους στόχους. Η δυνατότητα δημιουργίας βάσεων δεδομένων ακριβούς μάζας, η χρήση λογισμικών αποσυμφόρησης και οι στρατηγικές συνδυαστικής χρήσης διαφορετικών MS πλατφορμών ενισχύουν περαιτέρω τη χρησιμότητα αυτής της προσέγγισης (Thurman et al., 2006· Ferrer et al., 2006· Mezcua et al., 2009a· Botitsi et al., 2011).

Στον Πίνακα 2 παρουσιάζονται ενδεικτικές εφαρμογές χρωματογραφικών τεχνικών συζευγμένων με φασματομετρία μάζας στον προσδιορισμό φυτοφαρμάκων σε διαφορετικές μήτρες. Η συγκριτική αποτύπωση των τεχνικών δείχνει ότι οι LC-MS/MS και UPLC-MS/MS προσεγγίσεις χρησιμοποιούνται κυρίως για πολικά, μη πτητικά ή θερμικά ασταθή φυτοφάρμακα, ενώ οι GC-MS/MS και GC×GC-TOFMS τεχνικές παραμένουν ιδιαίτερα σημαντικές για πτητικές και θερμοσταθερές ενώσεις. Παράλληλα, η επιλογή της κατάλληλης προετοιμασίας δείγματος εξαρτάται άμεσα από τη μήτρα και από τα επίπεδα συγκέντρωσης που απαιτείται να προσδιοριστούν.

Πίνακας 2. Ενδεικτικές εφαρμογές χρωματογραφικών τεχνικών συζευγμένων με φασματομετρία μάζας στον προσδιορισμό φυτοφαρμάκων (Πηγή: Botitsi et al., 2010)

Τεχνική ή ανάλυση	Μήτρα δείγματος	Αριθμός φυτοφαρμάκων / αναλυτών	Προετοιμασία δείγματος	Αναλυτής MS	Όρια ανίχνευσης / ποσοτικοποίησης	Ενδεικτική εφαρμογή
HPLC-ESI-MS/MS	Δείγματα νερού	300 φυτοφάρμακα	Άμεση υδατική έγχυση	QqQ	LOD: 0,1 μg/L	Ταχεία πολυπολεμιματική ανάλυση φυτοφαρμάκων σε νερό
HPLC-ESI-MS/MS	Φρούτα, λαχανικά, δημητριακά	171 φυτοφάρμακα	Εκχύλιση με διαλύτη	QqQ	LOQ: 0,01 mg/kg	Έλεγχος υπολειμμάτων σε φυτικά τρόφιμα
UPLC-ESI-MS/MS	Φρουτοχυμοί	90 φυτοφάρμακα	QuEChERS	QqQ	LOD: 0,9–3,1 μg/L LOQ: 1,7–5,0 μg/L	Ταχεία ανάλυση φυτοφαρμάκων σε χυμούς

HPLC-ESI-MS/MS	Φρούτα και λαχανικά	160 φυτοφάρμακα	QuEChERS	QqQ	LOD: 0,1–10 µg/kg	Πολυπολεμιατική ανάλυση με υψηλή ευαισθησία
UPLC-ESI-MS/MS	Φρούτα και λαχανικά	53 φυτοφάρμακα	QuEChERS	QqQ	LOD ≤ 3 µg/kg, LOQ ≤ 10 µg/kg	Ταχεία και ευαίσθητη ανίχνευση σε φυτικές μήτρες
UPLC-ESI-MS/MS	Παιδικές τροφές, πορτοκάλια, πατάτες	52 φυτοφάρμακα	QuEChERS	QqQ	LOQ: 10 µg/kg	Έλεγχος σε ευαίσθητες κατηγορίες τροφίμων
HPLC-ESI-MS/MS	Νερό	37 φυτοφάρμακα	SPE Oasis HLB	QqQ	LOQ: 0,025 µg/L	Παρακολούθηση φυτοφαρμάκων σε υδατικά δείγματα
On-line SPE-LC-MS/MS	Νερό	27 φυτοφάρμακα	On-line SPE	QqQ	LOD < 5 ng/L, LOQ: 25 ng/L	Αυτοματοποιημένη ανάλυση ιχνών σε νερό
GC-MS/MS	Αγγούρι	130 φυτοφάρμακα	Εκχύλιση με διαλύτη	QqQ	LOD < 3 µg/kg, LOQ < 10 µg/kg	Ανάλυση φυτοφαρμάκων με GC-MS/MS σε νωπά λαχανικά

GC-MS/MS	Δημητριάκα και ζωοτροφές	144 φυτοφάρμακα	QuEChERS	QqQ	LOQ: 10–50 µg/kg	Έλεγχος φυτοφαρμάκων σε ξηρές μήτρες
LVI-GC-MS/MS	Φρούτα και λαχανικά	140 φυτοφάρμακα	QuEChERS	QqQ	LOD: 6–8 µg/kg, LOQ: 10 µg/kg	Πολυπολεμισματική GC-MS/MS με μεγάλη έγχυση δείγματος
GC×GC-TOFMS	Σταφύλια	51 φυτοφάρμακα	LLE-MSPD	TOF	LOQ: 10 µg/kg	Βελτιωμένος διαχωρισμός συν-εκλούμενων φυτοφαρμάκων
GC-MS	Νερό	85 φυτοφάρμακα	SBSE	Q	LOD < 10 ng/L	Προσυγκέντρωση και ανάλυση φυτοφαρμάκων σε νερό

Από τον Πίνακα 2 προκύπτει ότι οι τεχνικές τριπλού τετραπόλου, τόσο σε LC-MS/MS όσο και σε GC-MS/MS, κυριαρχούν στις ποσοτικές πολυπολεμισματικές εφαρμογές, λόγω της υψηλής ευαισθησίας και εκλεκτικότητάς τους. Αντίθετα, τεχνικές όπως η GC×GC-TOFMS προσφέρουν αυξημένη διαχωριστική ικανότητα και είναι ιδιαίτερα χρήσιμες σε περιπτώσεις συν-έκλυσης ενώσεων. Επιπλέον, οι υδατικές μήτρες απαιτούν συχνά τεχνικές προσυγκέντρωσης, όπως SPE, on-line SPE ή SBSE, ενώ οι φυτικές και τροφικές μήτρες βασίζονται συχνότερα σε QuEChERS ή σε τροποποιημένες εκχυλιστικές προσεγγίσεις. Συνεπώς, η σύγχρονη ανάλυση φυτοφαρμάκων στηρίζεται στην προσαρμογή της τεχνικής,

του αναλυτή μάζας και της προετοιμασίας δείγματος στα χαρακτηριστικά κάθε αναλυτικού προβλήματος.

Κεφάλαιο 7. Προετοιμασία δείγματος, εκχύλιση και επικύρωση αναλυτικών μεθόδων

7.1 Σημασία της δειγματοληψίας και της αντιπροσωπευτικότητας

Η αξιοπιστία κάθε αναλυτικής μεθόδου για τον προσδιορισμό υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων δεν εξαρτάται μόνο από την ευαισθησία του οργάνου ή την ποιότητα της χρωματογραφικής και φασματομετρικής ανίχνευσης, αλλά αρχίζει ήδη από το πρώτο στάδιο της συνολικής αναλυτικής αλυσίδας, δηλαδή από τη δειγματοληψία. Στην ανάλυση υπολειμμάτων, το δείγμα που εισέρχεται στο εργαστήριο οφείλει να είναι αντιπροσωπευτικό του συνόλου ή της μήτρας από την οποία προέρχεται, ώστε το τελικό αποτέλεσμα να αντανακλά ρεαλιστικά την πραγματική παρουσία και συγκέντρωση των φυτοφαρμάκων. Η απαίτηση αυτή είναι ιδιαίτερα κρίσιμη, διότι τα υπολείμματα δεν κατανέμονται πάντοτε ομοιόμορφα. Η εφαρμογή των φυτοπροστατευτικών προϊόντων στο πεδίο, η μορφολογία του φυτικού ιστού, οι καιρικές συνθήκες, ο χρόνος που μεσολαβεί μέχρι τη συγκομιδή, καθώς και οι διεργασίες μεταφοράς και αποθήκευσης, μπορούν να οδηγήσουν σε σημαντική ετερογένεια της κατανομής τους μέσα στην ίδια παρτίδα προϊόντος (Lambropoulou & Albanis, 2007; Wilkowska & Biziuk, 2011; Mandal et al., 2023).

Στο πλαίσιο αυτό, η δειγματοληψία δεν αντιμετωπίζεται ως μια απλή προκαταρκτική διαδικασία, αλλά ως ουσιαστικό τμήμα της αναλυτικής μεθοδολογίας. Ειδικά σε φρούτα, λαχανικά, δημητριακά, βρεφικές τροφές, έλαια ή προϊόντα φυτικής προέλευσης με πολύπλοκη σύσταση, ακόμη και μια άριστα επικυρωμένη μέθοδος μπορεί να οδηγήσει σε παραπλανητικά συμπεράσματα, εάν το αρχικό δείγμα δεν είναι επαρκώς αντιπροσωπευτικό. Για τον λόγο αυτό, απαιτούνται προκαθορισμένα πρωτόκολλα ως προς τον αριθμό των επιμέρους μονάδων που συλλέγονται, τον τρόπο ανάμειξης, την ομογενοποίηση, τη διαίρεση σε υποδείγματα και τις συνθήκες συντήρησης έως την ανάλυση. Η σωστή δειγματοληψία συμβάλλει στη μείωση της αβεβαιότητας μέτρησης και περιορίζει το σφάλμα που δεν προέρχεται από την οργανολογική φάση αλλά από την ίδια τη φύση του δείγματος.

Η έννοια της αντιπροσωπευτικότητας συνδέεται άμεσα και με τη σταθερότητα των αναλυτών. Πολλά φυτοφάρμακα και κυρίως ορισμένοι μεταβολίτες τους μπορεί να υποστούν αποδόμηση λόγω φωτός, θερμοκρασίας, οξείδωσης ή ενζυμικής δραστηριότητας της μήτρας. Συνεπώς, η λήψη, μεταφορά και αποθήκευση του δείγματος πρέπει να γίνονται υπό συνθήκες που προλαμβάνουν απώλειες ή μεταβολές στη χημική σύσταση. Η ψύξη, η κατάψυξη, η προστασία από το φως και η ταχεία προετοιμασία μετά τη συλλογή αποτελούν πρακτικές μεγάλης σημασίας. Η σύγχρονη βιβλιογραφία υπογραμμίζει ότι σε πολλές περιπτώσεις το μεγαλύτερο ποσοστό του συνολικού αναλυτικού σφάλματος δεν προκύπτει στο στάδιο της ανίχνευσης, αλλά πριν ακόμη αρχίσει η χρωματογραφική ανάλυση, δηλαδή κατά τη δειγματοληψία και την προετοιμασία του δείγματος (Lambropoulou & Albanis, 2007; Sandín-España & Dagnac, 2023).

Επιπλέον, σε μελέτες πολυυπολειμματικού προσδιορισμού, όπου αναζητούνται ταυτόχρονα δεκάδες ή εκατοντάδες δραστικές ουσίες με διαφορετικές φυσικοχημικές ιδιότητες, η δειγματοληψία οφείλει να λαμβάνει υπόψη αυτή την πολυπλοκότητα. Μία μόνο διαδικασία συλλογής και επεξεργασίας πρέπει να είναι κατάλληλη ώστε να διατηρεί αναλλοίωτες τόσο πολικές όσο και μη πολικές ενώσεις, τόσο πτητικά όσο και λιγότερο πτητικά φυτοφάρμακα. Αυτό καθιστά αναγκαία τη χρήση τυποποιημένων εργαστηριακών διαδικασιών, οι οποίες θα επιτρέπουν συγκρίσιμα και νομοθετικά αποδεκτά αποτελέσματα. Συνεπώς, η αντιπροσωπευτική δειγματοληψία αποτελεί τη βάση πάνω στην οποία οικοδομείται όλη η μεταγενέστερη αναλυτική διαδικασία.

7.2 Γενικά στάδια προετοιμασίας δείγματος

Η προετοιμασία δείγματος συνιστά ένα από τα πιο κρίσιμα στάδια στον αναλυτικό προσδιορισμό φυτοφαρμάκων, επειδή λειτουργεί ως γέφυρα ανάμεσα στην πραγματική, πολύπλοκη μήτρα και στο οργανολογικό σύστημα ανάλυσης. Στόχος της δεν είναι μόνο η απλή μεταφορά των αναλυτών στο όργανο, αλλά κυρίως η απομόνωσή τους από παρεμβαλλόμενα συστατικά, η διατήρηση της χημικής τους ακεραιότητας, η προσαρμογή τους στις απαιτήσεις της εκάστοτε τεχνικής και, όταν απαιτείται, η προσυγκέντρωσή τους σε επίπεδα που επιτρέπουν την αξιόπιστη ανίχνευση και ποσοτικοποίηση. Η διεθνής βιβλιογραφία αναγνωρίζει ότι η προετοιμασία δείγματος απορροφά μεγάλο μέρος του συνολικού αναλυτικού χρόνου και συνδέεται με σημαντικό ποσοστό των εργαστηριακών

σφαλμάτων, γεγονός που εξηγεί γιατί η βελτιστοποίησή της παραμένει κεντρικό πεδίο της σύγχρονης αναλυτικής χημείας (Lambropoulou & Albanis, 2007; Mandal et al., 2023; Ma et al., 2025).

Σε γενικές γραμμές, η προετοιμασία δείγματος περιλαμβάνει μια αλληλουχία σταδίων. Αρχικά, πραγματοποιείται ομογενοποίηση του δείγματος, ώστε να ελαχιστοποιηθεί η ετερογένεια και να εξασφαλιστεί ότι το προς ανάλυση τμήμα αντανakλά τη συνολική σύσταση. Ακολουθεί το στάδιο της εκχύλισης, κατά το οποίο οι στόχοι-ανaluύτες μεταφέρονται από τη στερεή ή ημιστερεή μήτρα σε κατάλληλο υγρό μέσο. Στη συνέχεια, εφαρμόζονται διαδικασίες καθαρισμού του εκχυλίσματος, με σκοπό την απομάκρυνση συστατικών όπως λιπίδια, χρωστικές, κηροί, πρωτεΐνες, οργανικά οξέα, σάκχαρα και άλλες ουσίες που μπορούν να επηρεάσουν τη χρωματογραφική συμπεριφορά ή να προκαλέσουν matrix effects στη φασματομετρία μάζας. Σε αρκετές περιπτώσεις, περιλαμβάνεται και στάδιο συμπύκνωσης ή ανασύστασης του δείγματος σε κατάλληλο διαλύτη, συμβατό με το τελικό αναλυτικό σύστημα, είτε αυτό είναι GC-MS/MS είτε LC-MS/MS.

Η επιλογή των επιμέρους σταδίων εξαρτάται από τη φύση της μήτρας και από τα χαρακτηριστικά των φυτοφαρμάκων. Σε υδαρείς μήτρες, για παράδειγμα, προέχει συχνά η προ-συγκέντρωση, ενώ σε λιπαρές μήτρες δίνεται μεγαλύτερη έμφαση στην αποτελεσματική απολίπανση και στον καθαρισμό του εκχυλίσματος. Αντίστοιχα, σε φυτικά δείγματα πλούσια σε χλωροφύλλη ή πολυφαινόλες, είναι απαραίτητη η απομάκρυνση των χρωστικών και των ισχυρά συνεκχυλιζόμενων φυσικών συστατικών, προκειμένου να προστατευθεί η στήλη και η πηγή ιονισμού και να βελτιωθεί η εκλεκτικότητα της μεθόδου. Αυτό αποδεικνύει ότι δεν υπάρχει ένα εντελώς καθολικό σχήμα προετοιμασίας για όλες τις περιπτώσεις, αν και ορισμένες στρατηγικές, όπως η QuEChERS, έχουν πλησιάσει περισσότερο από κάθε άλλη προς αυτή την κατεύθυνση (Anastassiades et al., 2003; Lehotay et al., 2005; Wilkowska & Biziuk, 2011).

Ιδιαίτερη σημασία έχει και η συμβατότητα του τελικού εκχυλίσματος με την τεχνική ανάλυσης. Στην αέρια χρωματογραφία, το δείγμα πρέπει να είναι απαλλαγμένο από μη πτητικά και θερμικά ασταθή συστατικά, ενώ στην υγρή χρωματογραφία η έμφαση μετατοπίζεται κυρίως στην καθαρότητα και στη μείωση της ιοντικής καταστολής ή ενίσχυσης. Ως εκ τούτου, η προετοιμασία δείγματος δεν αποτελεί ουδέτερο ή τυπικό βήμα,

αλλά ενσωματώνει ένα σύνολο αποφάσεων που επηρεάζουν άμεσα την ακρίβεια, την ορθότητα, την ευαισθησία και τη συνολική εγκυρότητα της αναλυτικής μεθόδου.

7.3 Εκχύλιση φυτοφαρμάκων από σύνθετες μήτρες

Η εκχύλιση αποτελεί τον πυρήνα της προετοιμασίας δείγματος, καθώς μέσω αυτής επιτυγχάνεται η μεταφορά των φυτοφαρμάκων από τη μήτρα στο κατάλληλο υγρό μέσο, από όπου μπορούν στη συνέχεια να καθαριστούν και να προσδιοριστούν αναλυτικά. Στην πράξη, το στάδιο αυτό είναι ιδιαίτερα απαιτητικό, διότι τα υπολείμματα φυτοφαρμάκων απαντούν συνήθως σε ίχνη, μέσα σε δείγματα υψηλής χημικής πολυπλοκότητας. Τα φρούτα και τα λαχανικά περιέχουν μεγάλες ποσότητες νερού, σακχάρων, οργανικών οξέων και χρωστικών, ενώ τα δημητριακά χαρακτηρίζονται από άμυλο και πρωτεΐνες. Αντίστοιχα, το ελαιόλαδο και οι ελαιούχοι σπόροι αποτελούν τυπικές λιπαρές μήτρες, οι οποίες δημιουργούν ειδικές δυσκολίες λόγω της παρουσίας μεγάλου φορτίου λιπιδίων. Τα βρεφικά τρόφιμα, τα βότανα, τα μπαχαρικά και τα ειδικά φυτικά προϊόντα μπορεί να περιέχουν επιπλέον πολυφαινόλες, αιθέρια έλαια και άλλες δραστικές ενώσεις, οι οποίες δυσχεραίνουν ακόμη περισσότερο την εκχύλιση και την ανάλυση (Hercegoná et al., 2007; Rajski et al., 2013; Parrilla Vázquez et al., 2019; Ma et al., 2025).

Η κατάλληλη εκχύλιση πρέπει να επιτυγχάνει δύο βασικούς στόχους. Πρώτον, να εξασφαλίζει ικανοποιητική ανάκτηση για όσο το δυνατόν περισσότερα φυτοφάρμακα διαφορετικών χημικών κατηγοριών. Δεύτερον, να περιορίζει τη συνεκχύλιση ανεπιθύμητων συστατικών της μήτρας, τα οποία θα μπορούσαν να επηρεάσουν το αναλυτικό σήμα. Οι στόχοι αυτοί είναι συχνά ανταγωνιστικοί, αφού η ισχυρή εκχυλιστική ικανότητα ενός διαλύτη μπορεί να οδηγεί ταυτόχρονα και σε αυξημένη μεταφορά παρεμβολών. Η βελτιστοποίηση, επομένως, της εκχύλισης βασίζεται σε λεπτή ισορροπία ανάμεσα στην αποδοτικότητα και στην εκλεκτικότητα.

Οι παραδοσιακές τεχνικές εκχύλισης, όπως η υγρο-υγρή εκχύλιση, η εκχύλιση με οργανικούς διαλύτες, η Soxhlet και άλλες συμβατικές διαδικασίες, έθεσαν τα θεμέλια της χημείας υπολειμμάτων, αλλά σταδιακά περιορίστηκαν λόγω μεγάλης κατανάλωσης διαλυτών, χρονοβόρων βημάτων και μικρότερης ευελιξίας σε πολυπολειμματικές εφαρμογές. Στη θέση τους αναπτύχθηκαν σύγχρονες προσεγγίσεις που συνδυάζουν γρήγορη εκχύλιση, περιορισμένο όγκο διαλυτών, μεγαλύτερη δυνατότητα

αυτοματοποίησης και καλύτερη συμβατότητα με χρωματογραφία–φασματομετρία μάζας. Στο πλαίσιο αυτό, η QuEChERS αναδείχθηκε σε κυρίαρχη μέθοδο για νωπά προϊόντα φυτικής προέλευσης, ενώ η SPE, η LLE, η dispersive SPE, η MSPD, η SPME, η DLLME και άλλες τεχνικές εξακολουθούν να έχουν σημαντικό ρόλο είτε ως εναλλακτικές είτε ως συμπληρωματικές επιλογές, ανάλογα με τη μήτρα και τον στόχο της ανάλυσης (Anastassiades et al., 2003; Lambropoulou & Albanis, 2007; Wilkowska & Biziuk, 2011; Ma et al., 2025).

Τα τελευταία χρόνια, η εξέλιξη της εκχύλισης συνδέεται όλο και περισσότερο και με τις αρχές της πράσινης αναλυτικής χημείας. Η χρήση λιγότερο τοξικών διαλυτών, η ελαχιστοποίηση της κατανάλωσης υλικών, η μικροκλίμακα, η επαναχρησιμοποίηση προσροφητικών υλικών και η ανάπτυξη «έξυπνων» λειτουργικών νανοϋλικών αποτελούν σημαντικές τάσεις. Παρότι η διπλωματική αυτή εργασία εστιάζει στον προσδιορισμό φυτοφαρμάκων με χρωματογραφικές τεχνικές και φασματομετρία μάζας, η ευρύτερη βιβλιογραφία για τις προχωρημένες τεχνικές προετοιμασίας δείγματος σε φυτικές μήτρες είναι ιδιαίτερα χρήσιμη, επειδή αναδεικνύει τη γενική κατεύθυνση της αναλυτικής τεχνολογίας: προς μεθόδους ταχύτερες, καθαρότερες, εκλεκτικότερες και περισσότερο φιλικές προς το περιβάλλον (Ma et al., 2025).

7.4 Μέθοδος QuEChERS

Η μέθοδος QuEChERS αποτελεί σήμερα μία από τις σημαντικότερες και πιο διαδεδομένες προσεγγίσεις προετοιμασίας δείγματος για τον πολυπολειμματικό προσδιορισμό φυτοφαρμάκων σε τρόφιμα και γεωργικά προϊόντα. Το ακρωνύμιο προέρχεται από τις λέξεις *Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe*, αποτυπώνοντας τη φιλοσοφία μιας μεθόδου που σχεδιάστηκε ώστε να είναι γρήγορη, απλή, οικονομική, αποδοτική, ανθεκτική και σχετικά ασφαλής στη χρήση. Από την πρώτη παρουσίασή της από τους Anastassiades και συν. το 2003, η QuEChERS εξελίχθηκε σε σημείο αναφοράς για την προετοιμασία δειγμάτων φρούτων, λαχανικών και πολλών άλλων φυτικών μητρών, ενώ στη συνέχεια τροποποιήθηκε και επεκτάθηκε σε πιο απαιτητικά υποστρώματα, όπως δημητριακά, βρεφικές τροφές, έλαια, βότανα και μπαχαρικά (Anastassiades et al., 2003; Lehotay et al., 2005; Payá et al., 2007; Wilkowska & Biziuk, 2011).

7.4.1 Βασικές αρχές

Η βασική δομή της QuEChERS περιλαμβάνει αρχικά εκχύλιση του ομογενοποιημένου δείγματος με ακετονιτρίλιο και στη συνέχεια προσθήκη ανόργανων αλάτων, όπως θειικό μαγνήσιο και άλατα ρύθμισης του pH, ώστε να επιτευχθεί διαχωρισμός φάσεων και αφυδάτωση του εκχυλίσματος. Με τον τρόπο αυτό, οι αναλύτες μεταφέρονται κυρίως στην οργανική φάση, ενώ περιορίζεται η παρουσία νερού. Στη συνέχεια, εφαρμόζεται ένα στάδιο *dispersive solid phase extraction*, κατά το οποίο στο εκχύλισμα προστίθενται μικρές ποσότητες προσροφητικών υλικών, όπως PSA, C18 ή graphitized carbon black, για την απομάκρυνση σακχάρων, λιπαρών ουσιών, οργανικών οξέων, χρωστικών και άλλων παρεμβολών της μήτρας (Anastassiades et al., 2003; Lehotay et al., 2005).

Η αποτελεσματικότητα της μεθόδου οφείλεται στο ότι συνδυάζει εκχύλιση και καθαρισμό σε μια σχετικά σύντομη και λειτουργική διαδικασία, η οποία είναι συμβατή με χιλιάδες εφαρμογές σε GC-MS/MS και LC-MS/MS. Επιπλέον, η QuEChERS βασίζεται σε μια λογική «γενικής εκχυλιστικής προσέγγισης», που δεν στοχεύει αποκλειστικά μια μόνο κατηγορία φυτοφαρμάκων, αλλά επιδιώκει ικανοποιητική ανάκτηση για μεγάλο εύρος αναλυτών με διαφορετική πολικότητα και χημική συμπεριφορά. Αυτός ακριβώς ο πολυπολεμιατικός της χαρακτήρας την ανέδειξε σε κυρίαρχο εργαλείο της σύγχρονης ανάλυσης καταλοίπων.

7.4.2 Πλεονεκτήματα

Το μεγαλύτερο πλεονέκτημα της QuEChERS είναι η ισορροπία που επιτυγχάνει ανάμεσα στην απλότητα και στην αναλυτική αποδοτικότητα. Σε σύγκριση με παλαιότερες μεθόδους, απαιτεί μικρότερο όγκο διαλυτών, λιγότερα στάδια χειρισμού και σημαντικά μικρότερο χρόνο προετοιμασίας. Ταυτόχρονα, προσφέρει ικανοποιητικές ανακτήσεις για μεγάλο αριθμό φυτοφαρμάκων και επιτρέπει την εύκολη ενσωμάτωσή της σε εργαστήρια ρουτίνας με υψηλό αριθμό δειγμάτων. Η χαμηλότερη κατανάλωση διαλυτών και αναλωσίμων μειώνει το κόστος και περιορίζει την περιβαλλοντική επιβάρυνση, ενώ η σχετικά τυποποιημένη μορφή της βοηθά στη συγκρισιμότητα μεταξύ εργαστηρίων (Lehotay, 2007; Wilkowska & Biziuk, 2011; Mandal et al., 2023).

Επιπλέον, η μέθοδος είναι αρκετά ευέλικτη ώστε να προσαρμόζεται σε διαφορετικές μήτρες μέσω επιλογής κατάλληλων αλάτων, ρυθμιστικών συστημάτων και προσροφητικών υλικών. Το στοιχείο αυτό την καθιστά ιδιαίτερα χρήσιμη όχι μόνο για απλά φυτικά δείγματα, αλλά και για πιο σύνθετα τρόφιμα. Η QuEChERS συνδυάζεται ιδανικά με LC-MS/MS για πιο πολικά και θερμικά ασταθή φυτοφάρμακα, αλλά και με GC-MS/MS για πτητικότερες και θερμοσταθερές ενώσεις, ενισχύοντας έτσι τη συμπληρωματικότητα των αναλυτικών τεχνικών.

Οι εφαρμογές της QuEChERS σε βότανα και μπαχαρικά παρουσιάζουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον, επειδή οι μήτρες αυτές είναι πλούσιες σε αιθέρια έλαια, χρωστικές, πολυφαινόλες και άλλα συνεκχυλιζόμενα συστατικά που ενισχύουν τα φαινόμενα μήτρας. Στον Πίνακα 3 συνοψίζονται ενδεικτικές εφαρμογές της QuEChERS σε τέτοιες σύνθετες φυτικές μήτρες, με έμφαση στο είδος του καθαρισμού, τον αριθμό των αναλυτών, την τεχνική ανίχνευσης και τα επιτυγχανόμενα όρια ποσοτικοποίησης.

Πίνακας 3. Ενδεικτικές εφαρμογές της μεθόδου QuEChERS στον προσδιορισμό φυτοφαρμάκων σε βότανα και μπαχαρικά (Πηγή: Parrilla Vazquez et al., 2019)

Καθαρισμός SPE / SPE	d- Αναλύτες	Μήτρα δείγματος	Ανάκτη ση (%)	RS D (%)	Αναλυτι κή τεχνική	Matr ix effect (%)	LO Q
		Βότανα:					
PSA/Florisil	160 φυτοφάρμ ακα	χαμομήλι, θυμάρι, μαντζουρά να	60–140	<20	GC- MS/MS	>100	10– 250
C18/MgSO ₄	28 καρβαμιδι κά	Αρωματικ ά βότανα	72–97	<15	UHPLC- MS/MS	20– 70	2
PSA/ENVI- Carb/MgSO ₄	235 φυτοφάρμ ακα	Αποξηραμ ένα βότανα	60–130	<18	GC- MS/MS	59– 69	1–2

Μπαχαρικό							
PSA/C18/MgSO ₄	38 φυτοφάρμακα	ά: capsicum, κύμινο, brinjal	70–130	—	LC- MS/MS	5– 661	50
C18/MgSO ₄	23 φυτοφάρμακα	Πάπρικα και μαύρο πιπέρι	70–120	<20	UHPLC- MS/MS	30– 70	11– 50
PSA/MgSO ₄	154 φυτοφάρμακα	Κάρδαμο	70–120	<20	LC- MS/MS	20– 98	1– 10
PSA/C18/GCB/MgSO ₄	243 φυτοφάρμακα	Αρωματικό ά βότανα / κάρδαμο	70–120	≤20	GC- MS/MS	—	10– 50
Μαύρο πιπέρι, κάρδαμο, τσίλι, κόλιανδρο ς, κύμινο, κουρκουμ άς							
HLB cartridge	199 φυτοφάρμακα		60–140	<20	UHPLC- Orbitrap -MS	20– 50	10– 20
EMR-Lipid	205 φυτοφάρμακα	Μαύρο πιπέρι, cayenne	70–120	<20	GC- MS/MS	20– 50	50

Από τον Πίνακα 3 προκύπτει ότι η QuEChERS μπορεί να εφαρμοστεί σε μεγάλο αριθμό φυτοφαρμάκων σε βότανα και μπαχαρικά, όμως η επιτυχία της εξαρτάται αποφασιστικά από το στάδιο καθαρισμού. Συνδυασμοί όπως PSA/C18/MgSO₄, PSA/ENVI-Carb/MgSO₄, EMR-Lipid ή HLB-SPE χρησιμοποιούνται για τη μείωση των παρεμβολών, χωρίς όμως να εξαλείφουν πλήρως τα matrix effects. Τα δεδομένα δείχνουν ότι, παρά τις ικανοποιητικές

ανακτήσεις και RSD, οι μήτρες αυτές παραμένουν αναλυτικά απαιτητικές και συχνά χρειάζονται τροποποιημένες εκδοχές της QuEChERS.

7.4.3 Περιορισμοί

Παρά τη μεγάλη επιτυχία της, η QuEChERS δεν αποτελεί απόλυτα καθολική λύση. Ένας σημαντικός περιορισμός της είναι ότι δεν εξαλείφει πλήρως τα matrix effects, ιδιαίτερα σε μήτρες πλούσιες σε λιπίδια, χρωστικές ή αιθέρια έλαια. Ακόμη και μετά τον καθαρισμό με dispersive SPE, ενδέχεται να παραμένουν συνεκχυλιζόμενα συστατικά που προκαλούν καταστολή ή ενίσχυση του σήματος στη φασματομετρία μάζας. Επίσης, ορισμένα ιδιαίτερα πολικά, πολύ υδρόφιλα ή ασταθή φυτοφάρμακα δεν εκχυλίζονται πάντοτε με τον ίδιο ικανοποιητικό τρόπο με την κλασική QuEChERS, ενώ κάποιες ενώσεις μπορεί να παρουσιάζουν προβλήματα σταθερότητας σε συγκεκριμένες τιμές pH (Lehotay et al., 2005; Lehotay et al., 2005b; Wilkowska & Biziuk, 2011).

Η μέθοδος εμφανίζει επίσης μειωμένη αποδοτικότητα σε ορισμένες εξαιρετικά λιπαρές ή πολύ ξηρές μήτρες, όπου απαιτούνται πρόσθετα στάδια ή σημαντική προσαρμογή του πρωτοκόλλου. Για παράδειγμα, στα έλαια, στα μπαχαρικά, στα βότανα και σε υλικά με υψηλό φορτίο χρωστικών ή ρητινωδών ουσιών, συχνά απαιτείται ενισχυμένος καθαρισμός ή συνδυασμός με άλλες τεχνικές.

7.4.4 Τροποποιήσεις και εφαρμογές

Ακριβώς λόγω των περιορισμών αυτών, έχουν αναπτυχθεί πολλές τροποποιήσεις της QuEChERS. Μεταξύ των συνηθέστερων είναι η χρήση ρυθμισμένων εκδόσεων με οξικά ή κιτρικά άλατα για βελτίωση της σταθερότητας προβληματικών φυτοφαρμάκων, η προσαρμογή της ποσότητας νερού σε ξηρά δείγματα, η ενίσχυση του σταδίου καθαρισμού με ειδικά προσροφητικά υλικά και η χρήση matrix-matched βαθμονόμησης ή ισοτοπικά επισημασμένων προτύπων για την αντιστάθμιση των matrix effects. Ειδικές παραλλαγές έχουν χρησιμοποιηθεί επιτυχώς σε βρώμη, αμύγδαλα, ελαιόλαδο, βρεφικές τροφές, κατεψυγμένα φρούτα και λαχανικά, μπαχαρικά και δημητριακά, αποδεικνύοντας ότι η

QuEChERS παραμένει ένα δυναμικό και εξελισσόμενο εργαλείο (Hercegová et al., 2007; Rajski et al., 2013; de Matos et al., 2019; Balkan et al., 2023; Iosif et al., 2023).

Η εφαρμογή της σε νέες κατηγορίες φυτικών μητρών, όπως φαρμακευτικά και εδώδιμα φυτά, βότανα και λειτουργικά φυτικά προϊόντα, καταδεικνύει ότι η γενική φιλοσοφία της QuEChERS μπορεί να αξιοποιηθεί και πέρα από τα συμβατικά τρόφιμα, αρκεί να προηγείται προσεκτική βελτιστοποίηση και επικύρωση για τη συγκεκριμένη μήτρα. Από αυτή την άποψη, η σχετική βιβλιογραφία για την προετοιμασία δείγματος σε σύνθετα φυτικά υλικά είναι ιδιαίτερα χρήσιμη, καθώς αναδεικνύει την αυξανόμενη σημασία της προσαρμοσμένης και «πράσινης» προσέγγισης στην αναλυτική πράξη (Ma et al., 2025).

7.5 Solid phase extraction (SPE)

Η στερεά εκχύλιση φάσης αποτελεί μία από τις πιο κλασικές και αξιόπιστες τεχνικές καθαρισμού και προσυγκέντρωσης στην αναλυτική χημεία καταλοίπων. Η βασική αρχή της στηρίζεται στην κατακράτηση των αναλυτών ή/και των παρεμβολών σε κατάλληλο προσροφητικό υλικό, το οποίο βρίσκεται συνήθως σε φυσίγγιο ή δίσκο. Μέσω διαδοχικών σταδίων ενεργοποίησης, φόρτωσης του δείγματος, πλύσης και τελικής έκλουσης, επιτυγχάνεται διαχωρισμός των φυτοφαρμάκων από συστατικά της μήτρας και, σε πολλές περιπτώσεις, σημαντική βελτίωση της καθαρότητας και της ευαισθησίας της μεθόδου.

Η SPE προσφέρει υψηλή εκλεκτικότητα, δυνατότητα αυτοματοποίησης και αποτελεσματική αντιμετώπιση δύσκολων μητρών, ιδίως όταν η QuEChERS δεν επαρκεί. Έχει εφαρμοστεί εκτεταμένα σε έλαια, βρεφικές τροφές, υδατικά δείγματα και μήτρες με υψηλό φορτίο λιπιδίων ή χρωστικών, ενώ χρησιμοποιείται τόσο ως αυτόνομο στάδιο προετοιμασίας όσο και σε συνδυασμό με άλλες τεχνικές. Η επιλογή της κατάλληλης φάσης, όπως C18, HLB, PSA, πολυμερικά προσροφητικά ή εξειδικευμένα υβριδικά υλικά, εξαρτάται από τη φύση των αναλυτών και της μήτρας. Το κύριο μειονέκτημα της SPE είναι ότι συχνά απαιτεί περισσότερο χρόνο και μεγαλύτερη κατανάλωση υλικών σε σχέση με την QuEChERS, ενώ χρειάζεται προσεκτική βελτιστοποίηση ώστε να αποφεύγονται απώλειες αναλυτών ή ανεπαρκής καθαρισμός (Lambropoulou & Albanis, 2007; Rajski et al., 2013; Ma et al., 2025).

7.6 Liquid-liquid extraction (LLE)

Η υγρο-υγρή εκχύλιση είναι μια από τις παλαιότερες και θεμελιωδέστερες τεχνικές εκχύλισης, βασισμένη στη διαφορική κατανομή των αναλυτών μεταξύ δύο μη αναμίξιμων φάσεων, συνήθως μιας υδατικής και μιας οργανικής. Παρά την ανάπτυξη νεότερων τεχνικών, η LLE διατηρεί τη σημασία της σε συγκεκριμένες εφαρμογές, κυρίως όταν απαιτείται απλό και αποτελεσματικό διαχωριστικό βήμα ή όταν η φύση της μήτρας ευνοεί αυτή την προσέγγιση.

Στην ανάλυση φυτοφαρμάκων, η LLE υπήρξε ιστορικά ιδιαίτερα σημαντική, αλλά η χρήση της έχει μειωθεί λόγω ορισμένων μειονεκτημάτων: απαιτεί μεγαλύτερους όγκους διαλυτών, μπορεί να είναι χρονοβόρα, ενίοτε εμφανίζει προβλήματα γαλακτωματοποίησης και δεν προσφέρεται πάντα εύκολα για υψηλή αυτοματοποίηση ή για πολύ μεγάλες πολυπολειμματικές εφαρμογές. Ωστόσο, εξακολουθεί να αξιοποιείται σε ορισμένα πρωτόκολλα ή ως μέρος συνδυαστικών στρατηγικών εκχύλισης, ιδίως όταν χρειάζεται ήπια απομόνωση αναλυτών από υγρές ή ημι-υγρές μήτρες. Επιπλέον, οι μικροεκδοχές της, όπως η DLLME και άλλες παραλλαγές μικροεκχύλισης, αποτελούν σύγχρονες επεκτάσεις της ίδιας θεμελιώδους αρχής, προσαρμοσμένες στις απαιτήσεις της πράσινης αναλυτικής χημείας και της μικροκλίμακας (Lambropoulou & Albanis, 2007; Jiang et al., 2023; Ma et al., 2025).

7.7 Dispersive SPE και καθαρισμός εκχυλισμάτων

Η dispersive solid phase extraction αποτελεί βασικό στοιχείο του καθαρισμού εκχυλισμάτων, κυρίως στο πλαίσιο της QuEChERS, αλλά και σε άλλες αναλυτικές προσεγγίσεις. Σε αντίθεση με την κλασική SPE, εδώ το προσροφητικό υλικό προστίθεται απευθείας στο εκχύλισμα, αναμιγνύεται έντονα και κατόπιν απομακρύνεται, συνήθως με φυγοκέντρωση. Η λογική αυτής της προσέγγισης είναι να αυξηθεί η επιφάνεια επαφής ανάμεσα στο εκχύλισμα και στο προσροφητικό, ώστε να απομακρυνθούν ταχύτερα και αποτελεσματικότερα οι παρεμβολές.

Τα συνήθη προσροφητικά περιλαμβάνουν το PSA για αφαίρεση οργανικών οξέων, σακχάρων και πολικών παρεμβολών, το C18 για λιπίδια και μη πολικές ουσίες, καθώς και το graphitized carbon black για χρωστικές όπως η χλωροφύλλη. Η σωστή επιλογή ή ο συνδυασμός αυτών των υλικών καθορίζει σε μεγάλο βαθμό την ποιότητα του τελικού εκχυλίσματος. Ωστόσο, η χρήση ισχυρών προσροφητικών μπορεί σε ορισμένες περιπτώσεις να οδηγήσει και σε απώλειες συγκεκριμένων φυτοφαρμάκων, ιδίως πιο επίπεδων ή έντονα πολικών μορίων, γι' αυτό απαιτείται προσεκτική αξιολόγηση κατά την ανάπτυξη της μεθόδου.

Ο καθαρισμός των εκχυλισμάτων είναι καθοριστικός όχι μόνο για την ποιότητα του χρωματογραφήματος αλλά και για τη μακροχρόνια σταθερότητα του οργάνου. Η παρουσία λιπιδίων, σακχάρων, χρωστικών και άλλων φυσικών συστατικών μπορεί να προκαλέσει ρύπανση της στήλης, επιβάρυνση της πηγής ιονισμού και αστάθεια του σήματος. Επομένως, το στάδιο αυτό δεν έχει μόνο αναλυτικό αλλά και πρακτικό-λειτουργικό χαρακτήρα, αφού συνδέεται με τη συντήρηση και τη βιωσιμότητα της εργαστηριακής διαδικασίας.

7.8 Matrix effects και στρατηγικές αντιμετώπισης

Τα matrix effects αποτελούν μία από τις σημαντικότερες προκλήσεις στη σύγχρονη ανάλυση υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων, ιδιαίτερα όταν χρησιμοποιούνται συστήματα LC-MS/MS και, σε μικρότερο βαθμό, GC-MS/MS. Ο όρος περιγράφει την επίδραση συνεκχυλιζόμενων συστατικών της μήτρας στην ένταση του αναλυτικού σήματος. Η επίδραση αυτή μπορεί να οδηγήσει είτε σε καταστολή είτε σε ενίσχυση του ιοντικού σήματος, με αποτέλεσμα υποεκτίμηση ή υπερεκτίμηση της πραγματικής συγκέντρωσης των αναλυτών. Η παρουσία σακχάρων, λιπιδίων, φωσφολιπιδίων, οργανικών οξέων, χρωστικών, αιθέριων ελαίων και πολυφαινολών είναι χαρακτηριστικές πηγές τέτοιων φαινομένων σε φυτικές και τροφικές μήτρες (Masiá et al., 2016; Sandín-España & Dagnac, 2023).

Η ένταση των matrix effects εξαρτάται από τρεις βασικούς παράγοντες: από τη φύση της μήτρας, από το είδος του αναλύτη και από τις συνθήκες ιονισμού ή διαχωρισμού. Αυτό σημαίνει ότι το ίδιο φυτοφάρμακο μπορεί να εμφανίζει διαφορετική συμπεριφορά σε μήλα,

σταφύλια, έλαιο, δημητριακά ή βρεφική τροφή. Αντίστοιχα, διαφορετικά φυτοφάρμακα στην ίδια μήτρα μπορεί να επηρεάζονται με εντελώς διαφορετικό τρόπο. Γι' αυτό και τα matrix effects δεν μπορούν να αντιμετωπιστούν μόνο θεωρητικά, αλλά χρειάζονται πειραματική αξιολόγηση στο πλαίσιο της ανάπτυξης και επικύρωσης κάθε μεθόδου.

Οι σημαντικότερες στρατηγικές αντιμετώπισης περιλαμβάνουν, καταρχάς, την αποτελεσματικότερη προετοιμασία δείγματος και τον καλύτερο καθαρισμό των εκχυλισμάτων. Όσο μειώνεται το φορτίο συνεκχυλιζόμενων συστατικών, τόσο περιορίζονται συνήθως και οι επιδράσεις της μήτρας. Δεύτερον, χρησιμοποιείται matrix-matched βαθμονόμηση, δηλαδή παρασκευή προτύπων μέσα σε κενό εκχύλισμα της ίδιας μήτρας, ώστε τα πρότυπα και τα δείγματα να υφίστανται ανάλογη επίδραση. Τρίτον, εξαιρετικά αποτελεσματική είναι η χρήση ισοτοπικά επισημασμένων εσωτερικών προτύπων, τα οποία διορθώνουν τόσο τη μεταβλητότητα της εκχύλισης όσο και τις επιδράσεις της μήτρας. Τέλος, σε ορισμένες περιπτώσεις επιλέγεται αραίωση του εκχυλίσματος, όταν αυτό είναι εφικτό χωρίς σημαντική απώλεια ευαισθησίας, ή τροποποίηση των χρωματογραφικών συνθηκών και της πηγής ιονισμού (Balkan et al., 2023; Kim et al., 2024).

Η κατανόηση και η διαχείριση των matrix effects είναι κρίσιμη, διότι από αυτήν εξαρτάται η πραγματική ορθότητα των αποτελεσμάτων. Μια μέθοδος με καλό χρωματογραφικό διαχωρισμό και υψηλή ευαισθησία μπορεί να αποδειχθεί ανακριβής, αν δεν έχει ληφθεί υπόψη η επίδραση της μήτρας. Για τον λόγο αυτό, η αξιολόγησή τους θεωρείται σήμερα αναπόσπαστο μέρος της επικύρωσης.

7.9 Βαθμονόμηση και ποσοτικοποίηση

Η ποσοτική ανάλυση των υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων βασίζεται στη μετατροπή του αναλυτικού σήματος σε συγκέντρωση μέσω κατάλληλης διαδικασίας βαθμονόμησης. Η βαθμονόμηση είναι καθοριστικής σημασίας, διότι συνδέει το σήμα που προκύπτει από τον ανιχνευτή με γνωστές συγκεντρώσεις προτύπων και επιτρέπει την αξιόπιστη εκτίμηση της ποσότητας των αναλυτών στα πραγματικά δείγματα. Στην πράξη, η γραμμική ή σχεδόν

γραμμική σχέση μεταξύ συγκέντρωσης και απόκρισης αποτελεί θεμελιώδη προϋπόθεση για την εγκυρότητα της ποσοτικοποίησης.

Στις σύγχρονες μεθόδους LC-MS/MS και GC-MS/MS, η εξωτερική βαθμονόμηση σε καθαρό διαλύτη συχνά δεν επαρκεί, ιδίως όταν τα matrix effects είναι σημαντικά. Για τον λόγο αυτό, η matrix-matched βαθμονόμηση αποτελεί συνήθη επιλογή σε πολυπολειμματικές εφαρμογές. Ακόμη πιο αξιόπιστη θεωρείται η χρήση εσωτερικών προτύπων και ιδιαίτερα ισοτοπικά επισημασμένων αναλόγων, αν και η εφαρμογή τους σε ευρύ φάσμα αναλυτών μπορεί να είναι κοστοβόρα. Σε αρκετές περιπτώσεις χρησιμοποιείται και η μέθοδος standard addition, κυρίως σε δύσκολες μήτρες ή όταν απουσιάζει πραγματικά «κενή» μήτρα για την παρασκευή προτύπων.

Η ποσοτικοποίηση πρέπει να λαμβάνει υπόψη όχι μόνο το μέγεθος του σήματος αλλά και την επαναληψιμότητα, τη σταθερότητα του οργάνου, την ορθότητα της καμπύλης αναφοράς και τη συμπεριφορά των προτύπων στον χρόνο. Συχνά εξετάζεται αν η καμπύλη χρειάζεται στάθμιση, ιδίως όταν καλύπτεται μεγάλο εύρος συγκεντρώσεων. Επιπλέον, σε πολυπολειμματικές εφαρμογές με πολύ χαμηλά επίπεδα, κοντά στα MRLs ή στα LOQs, απαιτείται ιδιαίτερη προσοχή ώστε η βαθμονόμηση να παραμένει αξιόπιστη και στο κατώτερο τμήμα της καμπύλης.

7.10 Επικύρωση αναλυτικών μεθόδων

Η επικύρωση μιας αναλυτικής μεθόδου αποτελεί την τυπική και επιστημονικά τεκμηριωμένη διαδικασία με την οποία αποδεικνύεται ότι η μέθοδος είναι κατάλληλη για τον σκοπό για τον οποίο προορίζεται. Στον προσδιορισμό υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων, η επικύρωση έχει ιδιαίτερη βαρύτητα, επειδή τα αποτελέσματα συνδέονται άμεσα με νομοθετικές απαιτήσεις, με την ασφάλεια των τροφίμων και με αποφάσεις συμμόρφωσης ή μη συμμόρφωσης προϊόντων. Η επικύρωση δεν αφορά μόνο την οργανολογική απόκριση, αλλά ολόκληρη τη μεθοδολογία, από την εκχύλιση και τον καθαρισμό μέχρι την τελική ποσοτικοποίηση.

Οι βασικές παράμετροι που αξιολογούνται περιλαμβάνουν την ανάκτηση, τη γραμμικότητα, την ακρίβεια, την επαναληψιμότητα, την ενδοεργαστηριακή και διεργαστηριακή αναπαραγωγιμότητα, τα όρια ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης, την εκλεκτικότητα και την αβεβαιότητα μέτρησης. Η μεθοδολογική αυτή αξιολόγηση επιτρέπει να διαπιστωθεί αν μια μέθοδος μπορεί να εφαρμοστεί με επάρκεια σε συγκεκριμένη μήτρα και για συγκεκριμένη ομάδα αναλυτών. Η ανάγκη αυτή είναι ακόμη μεγαλύτερη σε πολυπολεμιματικές μεθόδους, όπου δεν αρκεί να αποδειχθεί ότι η μέθοδος λειτουργεί συνολικά, αλλά πρέπει να τεκμηριωθεί ότι ικανοποιεί τα σχετικά κριτήρια για κάθε αναλύτη ή τουλάχιστον για καλά ορισμένες κατηγορίες αναλυτών.

7.10.1 Ανάκτηση

Η ανάκτηση εκφράζει το ποσοστό του αναλύτη που ανακτάται από τη μήτρα μετά την πλήρη διαδικασία προετοιμασίας και ανάλυσης. Αποτελεί έναν από τους πλέον ουσιαστικούς δείκτες της αποτελεσματικότητας της μεθόδου, διότι δείχνει κατά πόσο η εκχύλιση και ο καθαρισμός οδηγούν σε απώλειες ή όχι. Στην πράξη, η ανάκτηση αξιολογείται με εμπλουτισμό κενών ή χαμηλού υποβάθρου δειγμάτων σε γνωστά επίπεδα συγκέντρωσης και σύγκριση του μετρούμενου αποτελέσματος με τη θεωρητική προσθήκη. Για τις μεθόδους υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων, αποδεκτές θεωρούνται συνήθως ανακτήσεις εντός συγκεκριμένων ορίων, με παράλληλη εξέταση της σχετικής τυπικής απόκλισης. Η ανάκτηση δεν πρέπει να εξετάζεται απομονωμένα αλλά σε συνδυασμό με την επαναληψιμότητα, διότι μια μέτρια ανάκτηση μπορεί να είναι αποδεκτή αν είναι σταθερή και καλά τεκμηριωμένη.

7.10.2 Γραμμικότητα

Η γραμμικότητα αναφέρεται στην ικανότητα της μεθόδου να παράγει αναλυτικό σήμα ανάλογο της συγκέντρωσης του αναλύτη μέσα σε καθορισμένο εύρος. Η αξιολόγησή της γίνεται μέσω καμπύλης βαθμονόμησης με πολλαπλά επίπεδα συγκέντρωσης, συνήθως κατανεμημένα γύρω από τα επίπεδα ενδιαφέροντος, όπως τα MRLs ή τα αναμενόμενα επίπεδα καταλοίπων. Η απλή ύπαρξη υψηλού συντελεστή συσχέτισης δεν αρκεί από μόνη της· απαιτείται εξέταση της κατανομής των υπολοίπων, της πιθανής ανάγκης για στάθμιση και της πραγματικής συμπεριφοράς της καμπύλης στο χαμηλό και υψηλό άκρο. Στις

πολύπλοκες μήτρες, η γραμμικότητα πρέπει να εξετάζεται με matrix-matched πρότυπα, ώστε να αποτυπώνεται πιο ρεαλιστικά η λειτουργία της μεθόδου.

7.10.3 Ενδοεργαστηριακή και διεργαστηριακή ακρίβεια

Η ακρίβεια περιγράφει τον βαθμό συμφωνίας επαναλαμβανόμενων μετρήσεων υπό καθορισμένες συνθήκες. Η ενδοεργαστηριακή ακρίβεια ή επαναληψιμότητα αφορά μετρήσεις που γίνονται στο ίδιο εργαστήριο, από τον ίδιο ή παρόμοιο χειριστή, με το ίδιο όργανο και σε σύντομο χρονικό διάστημα. Αντίθετα, η διεργαστηριακή ή διευρυμένη αναπαραγωγιμότητα εξετάζει τη συμπεριφορά της μεθόδου κάτω από ευρύτερη μεταβλητότητα, η οποία μπορεί να περιλαμβάνει διαφορετικές ημέρες, αναλυτές, σειρές αντιδραστηρίων ή ακόμη και διαφορετικά εργαστήρια. Η τεκμηρίωση αυτών των παραμέτρων είναι κρίσιμη για να αποδειχθεί ότι η μέθοδος δεν είναι μόνο θεωρητικά σωστή αλλά και πρακτικά σταθερή στην εφαρμογή της.

7.10.4 LOD και LOQ

Το όριο ανίχνευσης αντιστοιχεί στη μικρότερη ποσότητα αναλύτη που μπορεί να διακριθεί αξιόπιστα από τον θόρυβο του υποβάθρου, χωρίς απαραίτητα να μπορεί να ποσοτικοποιηθεί με ικανοποιητική ακρίβεια. Το όριο ποσοτικοποίησης, αντίθετα, αντιπροσωπεύει το κατώτατο επίπεδο στο οποίο ο αναλύτης μπορεί να ποσοτικοποιηθεί με αποδεκτή ορθότητα και ακρίβεια. Στην ανάλυση φυτοφαρμάκων, οι παράμετροι αυτές είναι υψίστης σημασίας, καθώς οι μέθοδοι καλούνται να αποδίδουν αξιόπιστα σε εξαιρετικά χαμηλές συγκεντρώσεις, συχνά κοντά ή κάτω από τα νομοθετικά όρια. Η εκτίμησή τους δεν πρέπει να γίνεται μόνο θεωρητικά από λόγους σήματος προς θόρυβο, αλλά να επιβεβαιώνεται πειραματικά σε πραγματικές μήτρες.

7.10.5 Αβεβαιότητα μέτρησης

Η αβεβαιότητα μέτρησης εκφράζει το εύρος μέσα στο οποίο αναμένεται να βρίσκεται η πραγματική τιμή του μετρούμενου μεγέθους γύρω από το αποτέλεσμα που αναφέρεται από το εργαστήριο. Πρόκειται για έννοια κεντρική στη σύγχρονη μετρολογία, επειδή κανένα αναλυτικό αποτέλεσμα δεν είναι απολύτως ακριβές. Στην πράξη, η αβεβαιότητα επηρεάζεται από τη δειγματοληψία, την ομογενοποίηση, την εκχύλιση, τη βαθμονόμηση,

την επαναληψιμότητα, τη σταθερότητα του οργάνου και πλήθος άλλων παραγόντων. Η εκτίμησή της είναι απαραίτητη όταν λαμβάνονται κανονιστικές αποφάσεις σχετικά με το αν ένα δείγμα υπερβαίνει ή όχι ένα MRL, καθώς επιτρέπει πιο ορθολογική ερμηνεία των οριακών περιπτώσεων. Σε εργαστηριακό επίπεδο, η τεκμηριωμένη εκτίμηση της αβεβαιότητας ενισχύει την αξιοπιστία των αποτελεσμάτων και αποτελεί δείκτη ωριμότητας του συστήματος ποιότητας.

Κεφάλαιο 8. Εφαρμογές των χρωματογραφικών τεχνικών και της φασματομετρίας μάζας στον προσδιορισμό φυτοφαρμάκων

8.1 Προσδιορισμός φυτοφαρμάκων σε φρούτα και λαχανικά

Τα φρούτα και τα λαχανικά αποτελούν την πιο εκτεταμένα μελετημένη κατηγορία τροφίμων για τον προσδιορισμό υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων, επειδή καταναλώνονται σε μεγάλες ποσότητες, συχνά χωρίς έντονη θερμική επεξεργασία, και εμφανίζουν μεγάλη ποικιλία ως προς τη χημική σύσταση της μήτρας τους. Μήτρες με υψηλή περιεκτικότητα σε νερό, όπως το αγγούρι, όξινες μήτρες όπως τα εσπεριδοειδή, αλλά και δείγματα πλούσια σε σάκχαρα, χρωστικές ή φαινολικά, όπως οι φράουλες και άλλα φρούτα, δημιουργούν διαφορετικές αναλυτικές απαιτήσεις και επιβάλλουν ευέλικτες στρατηγικές προετοιμασίας και ανίχνευσης (Garrido-Frenich et al., 2008; Gómez-Ramos et al., 2013).

Στο πεδίο αυτό, ο συνδυασμός QuEChERS εκχύλισης με υγρή χρωματογραφία–φασματομετρία μαζών σε διαδοχικά στάδια (LC-MS/MS) έχει καθιερωθεί ως η κυρίαρχη προσέγγιση για τον προσδιορισμό πολικών, θερμικά ασταθών και μη πτητικών φυτοφαρμάκων. Παράλληλα, η GC-MS/MS παραμένει πολύτιμη για πτητικές και θερμοσταθερές ενώσεις, ιδίως πυρεθροειδή, οργανοχλωριωμένα και ορισμένα οργανοφωσφορικά. Η πρακτική εμπειρία δείχνει ότι η επιλογή της τεχνικής δεν εξαρτάται μόνο από το τρόφιμο αλλά και από το φυσικοχημικό προφίλ των αναλυτών (Stachniuk & Fornal, 2016; Hernández-Mesa & Moreno-González, 2022).

Ιδιαίτερη σημασία είχε η ανάπτυξη μεθόδων υψηλής απόδοσης με UPLC-MS/MS, οι οποίες επέτρεψαν τον γρήγορο διαχωρισμό και ποσοτικό προσδιορισμό μεγάλου αριθμού φυτοφαρμάκων σε μικρό χρόνο ανάλυσης. Χαρακτηριστικά, οι Garrido-Frenich et al. (2008) ανέπτυξαν πολυυπολειμματική μέθοδο για 53 φυτοφάρμακα σε φρούτα και λαχανικά με UPLC-MS/MS και QuEChERS, επιτυγχάνοντας χρωματογραφικό διαχωρισμό σε λιγότερο από 10 λεπτά. Οι ανακτήσεις κυμάνθηκαν από 70% έως 109%, με RSD μικρότερα του 20% σε τέσσερις αντιπροσωπευτικές μήτρες, γεγονός που ανέδειξε τη δυνατότητα της τεχνικής να χρησιμοποιείται σε εργαστήρια ρουτίνας υψηλής παραγωγικότητας.

Η σύγχρονη βιβλιογραφία δείχνει επίσης ότι τα φρούτα και τα λαχανικά αποτέλεσαν το πεδίο όπου αναδείχθηκαν οι δυνατότητες της φασματομετρίας μαζών υψηλής ανάλυσης. Η LC-HRMS επιτρέπει όχι μόνο τον στοχευμένο έλεγχο αλλά και screening προσέγγιση, διευκολύνοντας την αναζήτηση μη αναμενόμενων ουσιών ή μεταβολιτών. Οι Gómez-Ramos et al. (2013) έδειξαν ότι η LC-HRMS μπορεί να χρησιμοποιηθεί τόσο για screening όσο και για ποσοτικές εφαρμογές σε φρούτα και λαχανικά, ενώ οι García López et al. (2014) απέδειξαν ότι η LC-QTOF-MS με αυτοματοποιημένη ανίχνευση μπορεί να χρησιμοποιηθεί αποτελεσματικά για την ανάλυση φυτοφαρμάκων σε αυτές τις μήτρες.

Σε πρακτικό επίπεδο, η σημαντικότερη αναλυτική πρόκληση στα φρούτα και τα λαχανικά είναι τα matrix effects. Η συν-εκχύλιση σακχάρων, οργανικών οξέων, χρωστικών ή κηρωδών ουσιών μπορεί να οδηγήσει είτε σε καταστολή είτε σε ενίσχυση του σήματος, ιδίως σε ESI πηγές. Για τον λόγο αυτό, η χρήση matrix-matched calibration ή εσωτερικών προτύπων παραμένει ουσιώδης, ακόμη και όταν η εκχύλιση είναι θεωρητικά “καθαρή” (Garrido-Frenich et al., 2008; Gómez-Ramos et al., 2013).

Συνολικά, τα φρούτα και τα λαχανικά αποτελούν το βασικό μοντέλο ανάπτυξης και αξιολόγησης των σύγχρονων χρωματογραφικών και φασματομετρικών τεχνικών για τα φυτοφάρμακα, επειδή συνδυάζουν υψηλή αναλυτική δυσκολία, μεγάλη ποικιλία μήτρας και αυξημένες απαιτήσεις ελέγχου.

8.2 Προσδιορισμός φυτοφαρμάκων σε δημητριακά και σπόρους

Τα δημητριακά και οι σπόροι διαφοροποιούνται ουσιαστικά από τα νωπά οπωροκηπευτικά λόγω της χαμηλότερης υγρασίας, της υψηλής περιεκτικότητας σε άμυλο, πρωτεΐνες και, σε ορισμένες περιπτώσεις, λιπίδια. Αυτή η σύσταση επηρεάζει τόσο την αποδέσμευση των φυτοφαρμάκων κατά την εκχύλιση όσο και τη συμπεριφορά των αναλυτών κατά τον ιονισμό, με αποτέλεσμα να απαιτούνται συχνά προσαρμογές της μεθοδολογίας σε σχέση με τις τυπικές QuEChERS εφαρμογές για φρέσκα προϊόντα (Lambropoulou & Albanis, 2007; Mandal et al., 2023).

Στις μήτρες αυτές, η LC-MS/MS έχει αποκτήσει κεντρικό ρόλο, ιδίως για ενώσεις που δεν είναι εύκολα προσδιορίσιμες με GC. Το ρύζι αποτελεί χαρακτηριστικό παράδειγμα, καθώς πρόκειται για βασικό τρόφιμο με συχνές εφαρμογές φυτοφαρμάκων στην καλλιέργεια και

στην αποθήκευση. Οι Mardani et al. (2021) ανέπτυξαν και επικύρωσαν πολυπολεμιατική μέθοδο LC-MS/MS για 108 φυτοφάρμακα σε δείγματα ρυζιού, χρησιμοποιώντας QuEChERS προετοιμασία δείγματος και ποσοτικοποίηση με πολλαπλές μεταβάσεις αντίδρασης. Η μέθοδος έδειξε πολύ καλή γραμμικότητα στην περιοχή 0.01–1.00 mg/kg, με $R^2 > 0.990$, όρια ανίχνευσης 0.005–0.060 mg/kg και ανακτήσεις 72–117%, με RSD μικρότερα από 20% (Mardani et al., 2021).

Η ίδια μελέτη ανέδειξε με σαφήνεια το πρόβλημα των matrix effects στο ρύζι. Παρατηρήθηκαν τόσο φαινόμενα καταστολής όσο και ενίσχυσης σήματος για όλους τους εξεταζόμενους αναλύτες, γεγονός που οδήγησε στη χρήση καμπυλών βαθμονόμησης εντός μήτρας. Αυτό είναι ιδιαίτερα σημαντικό για τα δημητριακά, όπου η χαμηλή υγρασία και τα μακρομόρια της μήτρας μπορούν να μεταβάλουν έντονα την απόδοση της πηγής ιονισμού (Mardani et al., 2021).

Σε σπόρους και ξηρούς καρπούς, η αναλυτική δυσκολία εντείνεται όταν η μήτρα έχει αυξημένη λιπαρότητα. Σε αυτές τις περιπτώσεις, η LC-MS/MS χρησιμοποιείται συχνά σε συνδυασμό με τροποποιημένες QuEChERS διαδικασίες ή με επιπλέον καθαρισμό. Παράλληλα, η ανάπτυξη διασταυρούμενων στρατηγικών ελέγχου με LC-MS/MS και GC-MS/MS επιτρέπει την κάλυψη ευρύτερου φάσματος δραστικών ουσιών. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί πρόσφατη μέθοδος cross-checking για 426 φυτοφάρμακα σε αγροτικά προϊόντα, όπου οι αναλύτες κατανέμονται αναλόγως της καταλληλότητάς τους στις δύο πλατφόρμες (Kim et al., 2024).

Επομένως, η ανάλυση φυτοφαρμάκων σε δημητριακά και σπόρους δείχνει πως η επιτυχία της μεθόδου δεν εξαρτάται μόνο από το όργανο αλλά και από την κατάλληλη αναπροσαρμογή της προετοιμασίας δείγματος στις ιδιαιτερότητες της ξηρής μήτρας.

8.3 Προσδιορισμός φυτοφαρμάκων σε βρεφικές τροφές και ειδικές τροφικές μήτρες

Οι βρεφικές τροφές αποτελούν από τις πιο ευαίσθητες κατηγορίες τροφίμων ως προς την παρουσία φυτοφαρμάκων, καθώς απευθύνονται σε βρέφη και μικρά παιδιά, δηλαδή σε πληθυσμούς με αυξημένη ευαλωτότητα. Για τον λόγο αυτό, τα απαιτούμενα όρια ποσοτικοποίησης είναι ιδιαίτερα χαμηλά, ενώ η αναλυτική αξιοπιστία πρέπει να είναι

υψηλή. Επιπλέον, οι βρεφικές τροφές είναι συχνά σύνθετες μήτρες, αφού περιλαμβάνουν πολτοποιημένα φρούτα, λαχανικά, δημητριακά, γάλα ή φυτικά έλαια, γεγονός που δυσκολεύει τον καθαρισμό του εκχυλίσματος και αυξάνει την πιθανότητα matrix effects (Hercegová et al., 2007; Hernández-Mesa & Moreno-González, 2022).

Η LC-MS/MS είναι η πιο συχνά χρησιμοποιούμενη τεχνική σε αυτή την κατηγορία, επειδή επιτρέπει πολύ χαμηλά LOQs και υψηλή εκλεκτικότητα για πολικές και θερμικά ασταθείς ενώσεις. Παράλληλα, τα τελευταία χρόνια έχει αυξηθεί σημαντικά η χρήση τεχνικών υψηλής ανάλυσης, όπως Q-Orbitrap και Orbitrap HRMS, για screening και επιβεβαίωση φυτοφαρμάκων σε baby food. Οι Jia et al. (2014) έδειξαν ότι η LC-Q-Orbitrap μπορεί να χρησιμοποιηθεί για ταχεία ανίχνευση υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων και κτηνιατρικών φαρμάκων σε βρεφικές τροφές, ενώ οι Gómez-Pérez et al. (2015) αξιοποίησαν Orbitrap HRMS για ανάλυση φυτοφαρμάκων και κτηνιατρικών φαρμάκων σε baby food με ιδιαίτερα υψηλή επιβεβαιωτική ικανότητα.

Οι ειδικές τροφικές μήτρες, όπως βότανα, μπαχαρικά, λειτουργικά τρόφιμα ή τρόφιμα για ειδικούς διατροφικούς σκοπούς, εμφανίζουν αντίστοιχα υψηλό βαθμό πολυπλοκότητας. Τα αιθέρια έλαια, οι φυσικές χρωστικές, τα αλκαλοειδή και άλλες βιοδραστικές ουσίες μπορούν να επηρεάσουν τόσο την εκχύλιση όσο και τη μαζική ανίχνευση. Σε τέτοιες μήτρες, οι HRMS τεχνικές προσφέρουν πλεονέκτημα, επειδή δίνουν ακριβή μάζα, ισοτοπικά πρότυπα και δυνατότητα αναζήτησης ύποπτων ενώσεων χωρίς να περιορίζονται σε αυστηρά προκαθορισμένες μεταβάσεις (Bauer et al., 2018; Wang et al., 2016).

Άρα, στα baby foods και στις ειδικές μήτρες, η ανάγκη για υψηλή ευαισθησία συνδυάζεται με την ανάγκη για αυξημένη βεβαιότητα ταυτοποίησης, γεγονός που εξηγεί γιατί οι LC-MS/MS και HRMS προσεγγίσεις έχουν αποκτήσει κεντρική θέση.

8.4 Προσδιορισμός φυτοφαρμάκων σε ελαιόλαδο και λιπαρές μήτρες

Οι λιπαρές μήτρες αποτελούν από τις δυσκολότερες εφαρμογές στην ανάλυση φυτοφαρμάκων, διότι τα συν-εκχυλιζόμενα λιπίδια μπορούν να προκαλέσουν έντονα προβλήματα τόσο στη χρωματογραφία όσο και στη φασματομετρία μάζας. Το ελαιόλαδο είναι η πλέον χαρακτηριστική περίπτωση, καθώς έχει υψηλή περιεκτικότητα σε

τριγλυκερίδια και χρησιμοποιείται ευρέως σε μεσογειακές χώρες όπου οι καλλιέργειες ελιάς υπόκεινται σε εκτεταμένη χρήση φυτοφαρμάκων (Ferrer et al., 2005).

Η κλασική αντιμετώπιση του προβλήματος στηρίχθηκε σε χρονοβόρες διαδικασίες όπως gel permeation chromatography ή εκτεταμένη liquid-liquid extraction. Ωστόσο, τέτοιες μέθοδοι είναι αργές, απαιτούν μεγάλη ποσότητα οργανικών διαλυτών και δεν είναι πάντοτε πρακτικές για ανάλυση ρουτίνας. Σημαντική συμβολή στην απλούστευση της διαδικασίας είχε η ανάπτυξη της matrix solid-phase dispersion για ελιές και ελαιόλαδο. Οι Ferrer et al. (2005) ανέπτυξαν μέθοδο βασισμένη σε MSPD, με χρήση aminopropyl ως προσροφητικού υλικού και Florisil ως co-column cleanup, σε συνδυασμό με GC-MS και LC-MS/MS.

Στη συγκεκριμένη μελέτη, εξετάστηκαν φυτοφάρμακα όπως dimethoate, simazine, atrazine, diuron, terbutylazine, methyl-parathion, methyl-pirimiphos, endosulfan I, endosulfan II, endosulfan sulfate, cypermethrin και deltamethrin. Οι ανακτήσεις κυμάνθηκαν γενικά από 85% έως 115%, ενώ οι RSD τιμές ήταν κάτω από 10% στις περισσότερες περιπτώσεις. Τα όρια ανίχνευσης με LC-MS/MS ήταν κάτω από 5 µg/kg, ενώ με GC-MS κυμάνθηκαν από 10 έως 60 µg/kg, επαρκή για τις απαιτήσεις των σχετικών προγραμμάτων ελέγχου του ελαιολάδου (Ferrer et al., 2005).

Η μελέτη αυτή ανέδειξε επίσης την ανάγκη χρήσης matrix-matched calibration, καθώς παρατηρήθηκαν φαινόμενα καταστολής σήματος στην LC-MS και τόσο καταστολή όσο και ενίσχυση στη GC-MS. Το εύρημα αυτό επιβεβαιώνει ότι σε λιπαρές μήτρες η αφαίρεση των λιπιδίων δεν αρκεί από μόνη της· απαιτείται και προσεκτική στρατηγική ποσοτικοποίησης (Ferrer et al., 2005).

Μεταγενέστερες εφαρμογές με Orbitrap HRMS σε ελαιόλαδο έδειξαν ότι η σύγχρονη ανάλυση δεν περιορίζεται στην επιβεβαίωση γνωστών στόχων αλλά μπορεί να επεκταθεί και σε screening μεγάλου εύρους φυτοφαρμάκων. Οι Iosif et al. (2023) έδειξαν ότι η LC-Orbitrap HRMS, σε συνδυασμό με κατάλληλη QuEChERS προετοιμασία, μπορεί να χρησιμοποιηθεί αποτελεσματικά για ανάλυση υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων σε ελαιόλαδο και για σύγκριση διαφορετικών sorbents καθαρισμού.

Συνεπώς, το ελαιόλαδο και γενικότερα οι λιπαρές μήτρες αναδεικνύουν καθαρά την ανάγκη συνδυασμού εξειδικευμένης προετοιμασίας δείγματος με κατάλληλη χρωματογραφική και μαζοφασματομετρική τεχνική.

8.5 Προσδιορισμός φυτοφαρμάκων σε χυμούς και μεταποιημένα προϊόντα

Οι χυμοί και τα μεταποιημένα προϊόντα αποτελούν ιδιαίτερη κατηγορία, επειδή η τεχνολογική επεξεργασία μπορεί να μεταβάλει τη συγκέντρωση, τη χημική μορφή ή και τη σταθερότητα των φυτοφαρμάκων. Οι χυμοί περιέχουν μεγάλες ποσότητες σακχάρων, οργανικών οξέων και αρωματικών συστατικών, ενώ στα μεταποιημένα προϊόντα μπορεί να υπάρχουν συμπυκνωμένες ή θερμικά τροποποιημένες ενώσεις. Έτσι, ο προσδιορισμός υπολειμμάτων δεν είναι απλή προέκταση της ανάλυσης της πρώτης ύλης.

Η LC-MS/MS και η GC-MS/MS έχουν εφαρμοστεί επιτυχώς σε χυμούς φρούτων. Οι Tran et al. (2012) έδειξαν ότι ο συνδυασμός LC-MS/MS και GC-MS/MS είναι κατάλληλος για την ανίχνευση φυτοφαρμάκων σε χυμούς φρούτων, επιτρέποντας την κάλυψη αναλυτών διαφορετικής πτητικότητας και πολικότητας. Παρόμοια, οι Souza et al. (2016) ανέπτυξαν μέθοδο για χυμούς σταφυλιού με QuEChERS και LC-MS/MS, αναδεικνύοντας την ανάγκη ελέγχου σε μεταποιημένα προϊόντα που προέρχονται από σταφύλια. Πρόσφατη εφαρμογή σε χυμούς παρουσιάστηκε από τους Ago et al. (2024), οι οποίοι ανέπτυξαν μέθοδο προσδιορισμού οργανοχλωριωμένων φυτοφαρμάκων σε εμφιαλωμένους χυμούς μήλου, μάνγκο και πορτοκαλιού. Η μέθοδος συνδύασε dispersive micro-solid phase extraction με μαγνητικό βιοάνθρακα από σπόρους αβοκάντο και dispersive liquid-liquid microextraction, πριν από την τελική ανάλυση με GC-MS. Η προσέγγιση αυτή παρουσιάζει ενδιαφέρον, επειδή συνδυάζει καθαρισμό της μήτρας, προσυγκέντρωση των αναλυτών και χαμηλά όρια ανίχνευσης.

Πίνακας 4. Εφαρμογή μαγνητικού βιοάνθρακα και DLLME στον προσδιορισμό οργανοχλωριωμένων φυτοφαρμάκων σε χυμούς (Πηγή: Προσαρμογή από Ago et al., 2024)

Παράμετρος	Περιγραφή / τιμή
------------	------------------

Μήτρες δείγματος	Χυμός μήλου, χυμός μάνγκο, χυμός πορτοκαλιού
Κατηγορία φυτοφαρμάκων	Οργανοχλωριωμένα φυτοφάρμακα
Αριθμός αναλυτών	13 ενώσεις
Ενδεικτικοί αναλύτες	BHC ισομερή, aldrin, heptachlor epoxide, γ-chlordane, DDE, endrin, DDT, endosulfan sulfate, dieldrin, methoxychlor, dibutyl chlorindate
Προετοιμασία δείγματος	Magnetic biochar-based dispersive micro-solid phase extraction σε συνδυασμό με DLLME
Προσροφητικό υλικό	Μαγνητικός βιοάνθρακας από σπόρους αβοκάντο
Τελική αναλυτική τεχνική	GC-MS
Τρόπος ιονισμού	ιονισμός ηλεκτρονίων / electron ionization (EI), 70 eV
Τρόπος παρακολούθησης	Selected ion monitoring
Γραμμικότητα	$r^2 \geq 0,9984$
LOD	0,02–0,69 ng/L
LOQ	0,06–2,10 ng/L
Συντελεστής εμπλουτισμού	96–313
Ανακτήσεις σε πραγματικά δείγματα	87–100%
Επαναληψιμότητα / ενδιάμεση ακρίβεια	RSD έως 4,4%
Κύριο πλεονέκτημα	Πράσινη, οικονομική και ευαίσθητη μέθοδος προσυγκέντρωσης και καθαρισμού για οργανοχλωριωμένα φυτοφάρμακα σε χυμούς

Η συγκεκριμένη εφαρμογή δείχνει ότι οι τεχνικές μικροεκχύλισης μπορούν να ενισχύσουν σημαντικά την ανάλυση φυτοφαρμάκων σε χυμούς, όπου η παρουσία σακχάρων, οργανικών οξέων και άλλων συστατικών της μήτρας μπορεί να επηρεάσει την ανίχνευση. Η χρήση μαγνητικού βιοάνθρακα διευκολύνει τον γρήγορο διαχωρισμό του

προσροφητικού, ενώ η DLLME συμβάλλει στην περαιτέρω προσυγκέντρωση των αναλυτών. Τα χαμηλά LOD και LOQ, οι υψηλοί συντελεστές εμπλουτισμού και οι ικανοποιητικές ανακτήσεις δείχνουν ότι η μέθοδος είναι κατάλληλη για ευαίσθητο προσδιορισμό οργανοχλωριωμένων φυτοφαρμάκων σε σύνθετες υγρές τροφικές μήτρες.

8.6 Πολυπολειμματικές μέθοδοι ευρείας κάλυψης

Οι πολυπολειμματικές μέθοδοι ευρείας κάλυψης αποτελούν το βασικό πλαίσιο της σύγχρονης επιτήρησης φυτοφαρμάκων. Στόχος τους είναι η ταυτόχρονη ανίχνευση δεκάδων έως εκατοντάδων δραστικών ουσιών, χωρίς να απαιτείται διαφορετική αναλυτική διαδικασία για κάθε κατηγορία. Η ανάπτυξη αυτών των μεθόδων κατέστη δυνατή χάρη στη QuEChERS εκχύλιση και στη σημαντική πρόοδο των μαζοφασματομετρικών πλατφορμών (Lehotay et al., 2005; Anastassiades et al., 2003).

Σύγχρονες εφαρμογές δείχνουν ότι η ευρεία κάλυψη δεν είναι πλέον θεωρητικός στόχος αλλά καθημερινή πρακτική. Οι Wang et al. (2016) περιέγραψαν ευρείας εμβέλειας ελέγχους σε φρούτα και λαχανικά με UHPLC-QTOF-MS και αυτοματοποιημένη αναζήτηση βιβλιοθηκών MS/MS, ενώ οι Ma et al. (2023) ανέπτυξαν ταχεία μέθοδο για 420 υπολείμματα σε φρούτα και λαχανικά με UPLC-QTOF-MS. Αντίστοιχα, οι Kim et al. (2024) παρουσίασαν μέθοδο διασταυρούμενου ελέγχου LC-MS/MS και GC-MS/MS για 426 φυτοφάρμακα σε γεωργικά προϊόντα.

Η μεγάλη αυτή κάλυψη είναι κρίσιμη για τα επίσημα εργαστήρια, διότι το πραγματικό προφίλ υπολειμμάτων ενός δείγματος είναι συνήθως άγνωστο εκ των προτέρων. Άρα, η πολυπολειμματική ανάλυση δεν είναι απλώς ζήτημα τεχνικής ικανότητας, αλλά αναγκαιότητα για την ασφάλεια τροφίμων.

8.7 Target screening, suspect screening και HRMS εφαρμογές

Το target screening βασίζεται στην αναζήτηση συγκεκριμένων ουσιών με γνωστό χρόνο κατακράτησης, γνωστές μεταβάσεις ή ακριβείς μάζες και διαθέσιμα πρότυπα αναφοράς.

Είναι η κατεξοχήν προσέγγιση των τριπλών τετραπολικών αναλυτών σε λειτουργία MRM και αποτελεί το πρότυπο της ποσοτικής συμμόρφωσης με νομοθετικά όρια (Soler et al., 2007; Hernández-Mesa & Moreno-González, 2022).

Το suspect screening κινείται ένα βήμα παραπέρα. Σε αυτή την περίπτωση υπάρχει μια λίστα πιθανών ενώσεων, αλλά όχι πάντοτε αναλυτικά πρότυπα για όλες. Η ταυτοποίηση βασίζεται σε ακριβή μάζα, ισοτοπικό πρότυπο, θραυσματοποίηση και μερικές φορές χρόνο κατακράτησης. Η προσέγγιση αυτή έχει γίνει εφικτή χάρη στις πλατφόρμες TOF, QTOF και Orbitrap. Οι Bauer et al. (2018) ανέπτυξαν suspect screening στρατηγική για μεταβολίτες φυτοφαρμάκων σε φρούτα και λαχανικά με UPLC-QTOF-MS, δείχνοντας ότι η HRMS είναι κατάλληλη όχι μόνο για γονικές ενώσεις αλλά και για μεταβολικά προϊόντα.

Οι εφαρμογές HRMS έχουν ιδιαίτερη αξία όταν αναζητούνται προϊόντα αποδόμησης ή άγνωστα υπολείμματα. Οι Concha-Meyer et al. (2019) χρησιμοποίησαν Orbitrap MS για προσδιορισμό φυτοφαρμάκων σε κατεψυγμένα φρούτα και λαχανικά, ενώ οι Crocoli et al. (2023) αξιοποίησαν HPLC-HRMS για υπολείμματα σε σταφύλια. Παράλληλα, η αναγνώριση μεταβολιτών και προϊόντων αποδόμησης σε τρόφιμα ή νερά με QTOF και Orbitrap έχει αποδείξει ότι η υψηλή ανάλυση επιτρέπει πολύ βαθύτερη κατανόηση του πραγματικού χημικού αποτυπώματος ενός δείγματος (Soler et al., 2008; Gómez-Ramos et al., 2013).

8.8 Σύγκριση GC-MS/MS, LC-MS/MS και Orbitrap/QTOF προσεγγίσεων

Η GC-MS/MS, η LC-MS/MS και οι HRMS πλατφόρμες δεν λειτουργούν ανταγωνιστικά αλλά συμπληρωματικά. Η GC-MS/MS υπερέχει σε πτητικά και θερμοσταθερά φυτοφάρμακα και επωφελείται από τη δομική πληροφορία του ΕΙ ιονισμού και από τις φασματικές βιβλιοθήκες. Η LC-MS/MS υπερέχει σε πολικά, θερμικά ασταθή και μη πτητικά φυτοφάρμακα και αποτελεί την πρώτη επιλογή για ποσοτική ρουτίνα λόγω της εξαιρετικής ευαισθησίας και της ισχυρής εκλεκτικότητας σε MRM λειτουργία (Stachniuk & Fornal, 2016; Hernández-Mesa & Moreno-González, 2022).

Οι QTOF και Orbitrap πλατφόρμες υπερέχουν κυρίως σε ακριβή μάζα, διακριτική ικανότητα και δυνατότητα full-scan απόκτησης. Οι QTOF αναλυτές είναι ιδιαίτερα χρήσιμοι για suspect screening και μεταβολίτες, ενώ οι Orbitrap προσφέρουν ακόμη υψηλότερη resolving power και σταθερότητα μάζας σε σύνθετες μήτρες. Οι Feng et al. (2020) έδειξαν τη χρησιμότητα μιας συνδυασμένης στρατηγικής GC-MS/MS και UPLC-Q-Orbitrap, επισημαίνοντας ότι οι δύο προσεγγίσεις καλύπτουν διαφορετικές αλλά συμπληρωματικές ανάγκες.

Συνεπώς, εάν ζητούμενο είναι η αυστηρή ποσοτική συμμόρφωση, το LC-MS/MS ή το GC-MS/MS είναι συνήθως η καλύτερη επιλογή. Εάν όμως ζητούμενο είναι η διερεύνηση άγνωστων, μεταβολιτών ή η αναδρομική επανεξέταση δεδομένων, τότε το Orbitrap ή το QTOF αποκτούν σαφές πλεονέκτημα.

8.9 Εφαρμογές ανάλογα με την καλλιέργεια και τη δραστική ουσία στόχο

Η εφαρμογή της αναλυτικής στρατηγικής εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από το είδος της καλλιέργειας και τη δραστική ουσία που αναζητείται. Σε φρούτα και λαχανικά θερμοκηπίου κυριαρχούν συχνά νεονικοτινοειδή, καρβαμιδικά και σύγχρονα μυκητοκτόνα, άρα η LC-MS/MS είναι συνήθως η καταλληλότερη επιλογή. Σε ελιές και ελαιόλαδο, η λιπαρή φύση της μήτρας απαιτεί ιδιαίτερη προσοχή στον καθαρισμό, ενώ για ορισμένα πυρεθροειδή και θερμοσταθερά εντομοκτόνα η GC-MS/MS είναι ιδιαίτερα αποτελεσματική (Ferrer et al., 2005).

Στα δημητριακά και ειδικά στο ρύζι, η LC-MS/MS έχει αποδειχθεί πολύ χρήσιμη για πολυπολειμματικό έλεγχο, αλλά η ερμηνεία των αποτελεσμάτων πρέπει πάντα να λαμβάνει υπόψη τα matrix effects και τη χρήση κατάλληλης βαθμονόμησης (Mardani et al., 2021). Σε προϊόντα υψηλής λιπαρότητας, όπως έλαια ή ξηροί καρποί, οι μέθοδοι cleanup είναι εξίσου σημαντικές με την ίδια την ανάλυση.

Κεφάλαιο 9. Συζήτηση και συμπεράσματα

9.1 Σύνθεση των βιβλιογραφικών δεδομένων

Η βιβλιογραφική επισκόπηση που προηγήθηκε ανέδειξε ότι ο προσδιορισμός υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων στα τρόφιμα έχει εξελιχθεί σε ένα ιδιαίτερα απαιτητικό και ταχέως αναπτυσσόμενο πεδίο της αναλυτικής χημείας. Η πολυπλοκότητα του αντικειμένου δεν οφείλεται μόνο στον μεγάλο αριθμό δραστικών ουσιών που χρησιμοποιούνται στη σύγχρονη γεωργία, αλλά και στη χημική ποικιλομορφία τους, στη μεγάλη διακύμανση των τροφικών μητρών και στις συνεχώς αυξανόμενες απαιτήσεις της νομοθεσίας για χαμηλότερα όρια ανίχνευσης και υψηλότερη βεβαιότητα ταυτοποίησης. Από τη μελέτη της βιβλιογραφίας προκύπτει ότι η ανάλυση φυτοφαρμάκων δεν μπορεί πλέον να βασίζεται σε μία μόνο τεχνική ή σε μία απλή μεθοδολογική λογική, αλλά απαιτεί συνδυαστική προσέγγιση, όπου η προετοιμασία δείγματος, ο χρωματογραφικός διαχωρισμός και η φασματομετρία μάζας λειτουργούν ως αλληλοσυμπληρούμενα στάδια.

Ιδιαίτερα εμφανής είναι η μετατόπιση της αναλυτικής πρακτικής από κλασικές, χρονοβόρες διαδικασίες μονοϋπολειμματικής ανάλυσης σε πολυυπολειμματικές μεθόδους ευρείας κάλυψης. Η ανάπτυξη τεχνικών όπως η QuEChERS, η βελτίωση των GC και LC συστημάτων και η ενσωμάτωση προηγμένων ανιχνευτών μάζας επέτρεψαν την ταυτόχρονη ανίχνευση δεκάδων ή και εκατοντάδων φυτοφαρμάκων σε ένα μόνο αναλυτικό πρωτόκολλο. Η βιβλιογραφία δείχνει επίσης ότι η επιλογή της κατάλληλης τεχνικής εξαρτάται έντονα από το φυσικοχημικό προφίλ των ενώσεων-στόχων αλλά και από τη φύση της μήτρας. Έτσι, η ανάλυση φυτοφαρμάκων σε φρούτα και λαχανικά, σε δημητριακά, σε baby food, σε έλαια ή σε μεταποιημένα προϊόντα δεν μπορεί να ακολουθεί απολύτως ενιαία στρατηγική, αλλά προσαρμόζεται στις ιδιαιτερότητες κάθε κατηγορίας.

9.2 Η συμβολή της χρωματογραφίας–φασματομετρίας μάζας στη σύγχρονη ανάλυση φυτοφαρμάκων

Η σημαντικότερη ίσως διαπίστωση από τη συνολική μελέτη είναι ότι η σύζευξη χρωματογραφίας με φασματομετρία μάζας έχει καταστεί ο πυρήνας της σύγχρονης ανάλυσης φυτοφαρμάκων. Η χρωματογραφία από μόνη της προσφέρει τον απαραίτητο διαχωρισμό σύνθετων μειγμάτων, αλλά η φασματομετρία μάζας προσθέτει εκείνο το κρίσιμο επίπεδο εκλεκτικότητας και επιβεβαίωσης που απαιτείται όταν οι αναλύτες βρίσκονται σε ίχνη μέσα σε πολύπλοκες μήτρες. Ο συνδυασμός αυτός επιτρέπει όχι μόνο την ποσοτική μέτρηση αλλά και την ασφαλή ταυτοποίηση, μειώνοντας σημαντικά την πιθανότητα ψευδώς θετικών ή ψευδώς αρνητικών αποτελεσμάτων.

Η χρωματογραφία–φασματομετρία μάζας άλλαξε ουσιαστικά τον τρόπο με τον οποίο προσεγγίζεται το πρόβλημα των υπολειμμάτων. Σε παλαιότερα σχήματα, η ανάλυση βασιζόταν περισσότερο στη χρωματογραφική συμπεριφορά και λιγότερο στη δομική πληροφορία. Σήμερα, με τις τεχνικές GC-MS, GC-MS/MS, LC-MS/MS, UHPLC-MS/MS, QTOF και Orbitrap, η ταυτότητα κάθε ουσίας δεν στηρίζεται μόνο στον χρόνο κατακράτησης αλλά και στη μάζα του μοριακού ιόντος, στα ιόντα θραυσμάτων, στα ισοτοπικά πρότυπα και, στις HRMS πλατφόρμες, στην ακριβή μάζα με εξαιρετικά μικρό σφάλμα. Αυτή η πολυεπίπεδη πληροφορία προσφέρει πολύ υψηλότερο επίπεδο αναλυτικής ασφάλειας.

Επιπλέον, η συνεισφορά της χρωματογραφίας–φασματομετρίας μάζας δεν περιορίζεται στις στοχευμένες αναλύσεις. Οι σύγχρονες πλατφόρμες, κυρίως οι HRMS, επιτρέπουν και την αναζήτηση μεταβολιτών, προϊόντων αποδόμησης ή μη αναμενόμενων ρύπων, επεκτείνοντας την έννοια του ελέγχου από τον στενό προσδιορισμό γνωστών στόχων στη συνολικότερη διερεύνηση του χημικού προφίλ ενός δείγματος. Κατά συνέπεια, η χρωματογραφία–φασματομετρία μάζας δεν είναι απλώς μία αναλυτική επιλογή, αλλά το βασικό τεχνολογικό υπόβαθρο πάνω στο οποίο στηρίζεται η σύγχρονη ασφάλεια τροφίμων ως προς τα φυτοφάρμακα.

9.3 Τα σημαντικότερα πλεονεκτήματα των τεχνικών GC-MS και LC-MS/MS

Οι τεχνικές GC-MS και LC-MS/MS αποτελούν σήμερα τις δύο πιο καθιερωμένες πλατφόρμες για τον προσδιορισμό φυτοφαρμάκων, καθεμία με ιδιαίτερα πλεονεκτήματα. Η GC-MS παρουσιάζει μεγάλη ισχύ στον προσδιορισμό πτητικών και θερμοσταθερών ενώσεων. Διαθέτει ώριμη τεχνολογική βάση, ευρεία διαθεσιμότητα φασματικών βιβλιοθηκών, καλή αναπαραγωγιμότητα και σημαντική διακριτική ικανότητα, ιδιαίτερα όταν χρησιμοποιείται σε tandem μορφή. Για ομάδες φυτοφαρμάκων όπως τα οργανοχλωριωμένα, πολλά οργανοφωσφορικά και αρκετά πυρεθροειδή, η GC-MS/MS παραμένει εξαιρετικά αποτελεσματική. Επιπλέον, η ιοντοποίηση με ηλεκτρονιακή πρόσκρουση παρέχει πλούσια πρότυπα θραυσματοποίησης, τα οποία είναι πολύ χρήσιμα για επιβεβαιωτική ταυτοποίηση.

Από την άλλη πλευρά, η LC-MS/MS υπερέχει για πολικές, μη πτητικές και θερμικά ασταθείς ενώσεις, οι οποίες είναι δύσκολο ή αδύνατο να αναλυθούν με GC χωρίς χημική παραγωγή. Η τεχνική αυτή έχει ουσιαστικά διευρύνει πολύ το πεδίο των φυτοφαρμάκων που μπορούν να προσδιοριστούν με αξιοπιστία. Επιπλέον, η λειτουργία MRM στα τριπλά τετραπολικά όργανα παρέχει εξαιρετική ευαισθησία και υψηλή εκλεκτικότητα, γεγονός που την καθιστά ιδανική για ποσοτική ανάλυση ρουτίνας και συμμόρφωση με πολύ χαμηλά νομοθετικά όρια. Η LC-MS/MS συνδυάζεται επίσης πολύ αποτελεσματικά με απλές και γρήγορες τεχνικές εκχύλισης όπως η QuEChERS, μειώνοντας τον χρόνο προετοιμασίας δείγματος και αυξάνοντας την παραγωγικότητα του εργαστηρίου.

Είναι φανερό ότι τα πλεονεκτήματα των δύο τεχνικών δεν είναι αμοιβαία αποκλειόμενα. Αντίθετα, η βιβλιογραφία υποστηρίζει έντονα ότι η καλύτερη πρακτική στα σύγχρονα εργαστήρια είναι η συμπληρωματική χρήση τους. Η GC-MS/MS και η LC-MS/MS δεν ανταγωνίζονται, αλλά καλύπτουν διαφορετικά υποσύνολα φυτοφαρμάκων και, όταν χρησιμοποιούνται μαζί, παρέχουν πολύ ευρύτερη αναλυτική κάλυψη.

9.4 Ο ρόλος των HRMS συστημάτων στις νεότερες αναλυτικές στρατηγικές

Τα συστήματα υψηλής ανάλυσης και ακριβούς μάζας, όπως τα QTOF και Orbitrap, έχουν εισαγάγει μία νέα εποχή στην ανάλυση φυτοφαρμάκων. Ενώ οι κλασικές MS/MS τεχνικές είναι ιδανικές για στοχευμένο ποσοτικό έλεγχο, οι HRMS πλατφόρμες προσθέτουν δυνατότητες που ξεπερνούν την παραδοσιακή λογική της «στοχευμένης ανάλυσης». Με τα όργανα αυτά γίνεται εφικτός ο ταυτόχρονος full-scan έλεγχος πλήθους ενώσεων, η αναζήτηση ύποπτων ουσιών χωρίς υποχρεωτική ύπαρξη προτύπου και η αναδρομική επεξεργασία δεδομένων, εφόσον προκύψει αργότερα ενδιαφέρον για κάποια επιπλέον ένωση.

Αυτή η δυνατότητα είναι ιδιαίτερα σημαντική σε ένα πεδίο όπως τα φυτοφάρμακα, όπου συνεχώς εμφανίζονται νέες δραστικές ουσίες, μεταβολίτες και προϊόντα αποδόμησης. Τα HRMS συστήματα επιτρέπουν τον προσδιορισμό μοριακών τύπων με βάση την ακριβή μάζα, τη σύγκριση θεωρητικών και πειραματικών ισοτοπικών προτύπων και την ασφαλέστερη ερμηνεία φασμάτων θραυσματοποίησης. Έτσι, η ταυτοποίηση μπορεί να στηρίζεται σε ισχυρότερα αποδεικτικά στοιχεία από ό,τι σε απλές unit-mass πλατφόρμες.

Παρά τα σημαντικά αυτά πλεονεκτήματα, τα HRMS συστήματα δεν έχουν καταργήσει τις τριπλές τετραπολικές πλατφόρμες. Αυτό συμβαίνει επειδή, σε καθαρά ποσοτικές εφαρμογές ρουτίνας, τα QqQ όργανα παραμένουν συχνά πιο ευαίσθητα, πιο οικονομικά και περισσότερο εδραιωμένα στις εργαστηριακές διαδικασίες. Ωστόσο, ο ρόλος των HRMS γίνεται ολοένα πιο κεντρικός σε στρατηγικές screening, σε έρευνα μεταβολιτών, σε επιβεβαίωση πολύπλοκων περιπτώσεων και σε σενάρια όπου απαιτείται ευρύτερη χημική επιτήρηση.

9.5 Περιορισμοί, δυσκολίες και βασικά αναλυτικά προβλήματα

Παρά τη σημαντική πρόοδο της τεχνολογίας, η ανάλυση φυτοφαρμάκων εξακολουθεί να συνοδεύεται από ουσιαστικές δυσκολίες. Πρώτο και σημαντικότερο πρόβλημα είναι η πολυπλοκότητα της μήτρας. Τα τρόφιμα δεν είναι απλά χημικά διαλύματα αλλά πολύπλοκα

βιολογικά συστήματα με σάκχαρα, λιπίδια, πρωτεΐνες, οργανικά οξέα, φαινολικά, χρωστικές και άλλα συστατικά, που επηρεάζουν την εκχύλιση, τον διαχωρισμό και κυρίως τον ιονισμό. Τα matrix effects, είτε ως καταστολή είτε ως ενίσχυση σήματος, αποτελούν έναν από τους σημαντικότερους περιορισμούς, ιδίως στις ESI πηγές.

Δεύτερο βασικό πρόβλημα είναι ότι δεν υπάρχει μία ενιαία μέθοδος κατάλληλη για όλα τα φυτοφάρμακα. Οι διαφορές στην πτητικότητα, στην πολικότητα, στη θερμική σταθερότητα και στη συμπεριφορά ιονισμού σημαίνουν ότι ο πλήρης αναλυτικός έλεγχος απαιτεί συχνά περισσότερες από μία πλατφόρμες. Έτσι, ένα εργαστήριο που επιδιώκει πραγματικά ευρεία κάλυψη καλείται να διαχειριστεί μεγαλύτερο τεχνολογικό και οικονομικό βάρος.

Επιπλέον, ιδιαίτερα στις HRMS εφαρμογές, η επεξεργασία των δεδομένων αποτελεί πρόκληση. Η παραγωγή μεγάλου όγκου full-scan δεδομένων απαιτεί εξειδικευμένο λογισμικό, σωστή ανάπτυξη βιβλιοθηκών και έμπειρη ερμηνεία, ώστε να αποφεύγονται εσφαλμένες ταυτοποιήσεις. Η αναλυτική ισχύς των συστημάτων αυτών είναι μεγάλη, αλλά συνοδεύεται από αυξημένες απαιτήσεις σε υπολογιστική υποδομή, τεχνογνωσία και ποιοτικό έλεγχο.

Τέλος, δεν πρέπει να παραβλέπεται το κόστος. Τα προηγμένα συστήματα MS/MS και HRMS, μαζί με τα αναλώσιμα, τις βιβλιοθήκες, τη συντήρηση και την ανάγκη εξειδικευμένου προσωπικού, καθιστούν τις αναλύσεις υψηλής ποιότητας απαιτητικές τόσο οικονομικά όσο και οργανωτικά.

9.6 Σχέση αναλυτικής τεχνολογίας, νομοθεσίας και ασφάλειας τροφίμων

Η πρόοδος της αναλυτικής τεχνολογίας και η εξέλιξη της νομοθεσίας βρίσκονται σε διαρκή αλληλεπίδραση. Από τη μία πλευρά, οι νομοθετικές απαιτήσεις για ανώτατα όρια καταλοίπων, επιβεβαιωτικά κριτήρια και επικύρωση μεθόδων οδηγούν τα εργαστήρια στην υιοθέτηση πιο εξελιγμένων τεχνικών. Από την άλλη, η τεχνολογική πρόοδος επιτρέπει στις ρυθμιστικές αρχές να θεσπίζουν αυστηρότερα και πιο τεκμηριωμένα όρια, αφού πλέον υπάρχουν τα μέσα για να μετρηθούν με αξιοπιστία πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις.

Η ασφάλεια τροφίμων εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από αυτή τη σχέση. Χωρίς αξιόπιστη αναλυτική τεχνολογία, η νομοθεσία θα παρέμενε θεωρητική. Αντίστροφα, χωρίς σαφές νομοθετικό πλαίσιο, η τεχνολογία δεν θα είχε ενιαίο σημείο αναφοράς για την αξιολόγηση της απόδοσης των μεθόδων. Επομένως, η χρωματογραφία-φασματομετρία μάζας δεν είναι απλώς ένα επιστημονικό εργαλείο, αλλά μέρος ενός ευρύτερου μηχανισμού δημόσιας υγείας, εμπορικού ελέγχου και προστασίας του καταναλωτή.

9.7 Προοπτικές για μελλοντική έρευνα και εφαρμογή

Οι μελλοντικές προοπτικές στον τομέα αυτό είναι ιδιαίτερα σημαντικές. Αρχικά, αναμένεται περαιτέρω ενίσχυση των πολυπολεμιατικών και μη στοχευμένων προσεγγίσεων, ιδίως με HRMS τεχνολογίες. Η δυνατότητα ταυτόχρονης αξιολόγησης γνωστών, ύποπτων και άγνωστων ενώσεων θα αποκτά ολοένα μεγαλύτερη σημασία, ιδιαίτερα σε περιβάλλον αυξημένης κανονιστικής επιτήρησης. Επίσης, η αυτοματοποίηση της προετοιμασίας δείγματος και η ανάπτυξη περιβαλλοντικά φιλικότερων αναλυτικών στρατηγικών αναμένεται να βελτιώσουν σημαντικά την αποδοτικότητα. Μικρότερη κατανάλωση διαλυτών, ταχύτερα πρωτόκολλα, καλύτερη τυποποίηση και μικρότερη ανθρώπινη παρέμβαση θα ενισχύσουν την επαναληψιμότητα και θα μειώσουν το κόστος. Επιπροσθέτως, η ενσωμάτωση εξελιγμένων αλγορίθμων επεξεργασίας δεδομένων, υπολογιστικών βιβλιοθηκών και εργαλείων τεχνητής νοημοσύνης μπορεί να βελτιώσει ουσιαστικά την ερμηνεία των HRMS δεδομένων και να καταστήσει πιο ρεαλιστική τη ρουτινική εφαρμογή suspect και non-target screening. Τέλος, ιδιαίτερη σημασία θα έχει η καλύτερη σύνδεση αναλυτικών δεδομένων με τοξικολογική και κανονιστική αξιολόγηση. Δεν αρκεί μόνο να ανιχνεύεται μία ουσία· θα πρέπει να αναπτύσσονται και πλαίσια ερμηνείας που να συνδέουν το αναλυτικό εύρημα με την πραγματική έκθεση και τον κίνδυνο.

9.8 Συμπεράσματα

Από τη συνολική διπλωματική διατριβή προκύπτει ότι η σύγχρονη ανάλυση φυτοφαρμάκων είναι ένα σύνθετο, πολυπαραγοντικό και διαρκώς εξελισσόμενο επιστημονικό πεδίο. Η χρωματογραφία σε σύζευξη με τη φασματομετρία μάζας αποτελεί σήμερα τον θεμελιώδη

τεχνολογικό άξονα για την αξιόπιστη ανίχνευση, ταυτοποίηση και ποσοτικοποίηση υπολειμμάτων σε τρόφιμα. Οι τεχνικές GC-MS και LC-MS/MS έχουν αναδείξει τη χρησιμότητά τους ως βασικά εργαλεία ρουτίνας, ενώ τα HRMS συστήματα ανοίγουν νέους δρόμους για ευρύτερο screening και εις βάθος χημική διερεύνηση. Παράλληλα, η επιτυχία κάθε αναλυτικής στρατηγικής εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τη σωστή προετοιμασία του δείγματος, από την κατανόηση των matrix effects και από την προσαρμογή της μεθοδολογίας στα χαρακτηριστικά της μήτρας και των αναλυτών. Οι περιορισμοί παραμένουν υπαρκτοί, όμως η κατεύθυνση της έρευνας δείχνει σαφώς προς πιο γρήγορες, πιο ευαίσθητες, πιο επιβεβαιωτικές και πιο ολοκληρωμένες προσεγγίσεις.

Βιβλιογραφία

Ξενόγλωσση βιβλιογραφία

- Abdollahdokht, D., Gao, Y., Faramarz, S., Poustforoosh, A., Abbasi, M., Asadikaram, G., & Nematollahi, M. H. (2022). Conventional agrochemicals towards nano-biopesticides: An overview on recent advances. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 9, Article 13. <https://doi.org/10.1186/s40538-021-00285-0>
- Agüera, A., Contreras, M., Crespo, J., & Fernández-Alba, A. R. (2004). One-year routine application of a new method based on liquid chromatography-tandem mass spectrometry to the analysis of 16 multiclass pesticides in vegetable samples. *Journal*

of *Chromatography* *A*, 1045(1–2), 125–135.
<https://doi.org/10.1016/j.chroma.2004.06.039>

Akashe, M. M., Pawade, U. V., & Nikam, A. V. (2018). Classification of pesticides: A review. *International Journal of Research in Ayurveda and Pharmacy*, 9(4), 144–150.
<https://doi.org/10.7897/2277-4343.094131>

Anastassiades, M., Lehotay, S. J., Stajnbaher, D., & Schenck, F. J. (2003). Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and dispersive solid-phase extraction for the determination of pesticide residues in produce. *Journal of AOAC International*, 86(2), 412–431. <https://doi.org/10.1093/jaoac/86.2.412>

Andreu, V., & Picó, Y. (2004). Determination of pesticides and their degradation products in soil: Critical review and comparison of methods. *Trends in Analytical Chemistry*, 23(10–11), 772–789. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2004.07.008>

Araújo, M. F., Castanheira, E. M. S., & Sousa, S. F. (2023). The buzz on insecticides: A review of uses, molecular structures, targets, adverse effects, and alternatives. *Molecules*, 28(8), 3641. <https://doi.org/10.3390/molecules28083641>

Balkan, T., Kara, K., Yılmaz, Ö., Kızılarıslan, M., & Özbek, Ö. F. (2023). Determination of pesticide residues in almonds by LC-MS/MS and GC-MS: A study of method validation and matrix effects. *Food Chemistry Advances*, 3, 100442.
<https://doi.org/10.1016/j.focha.2023.100442>

Bauer, A., Luetjohann, J., Rohn, S., Jantzen, E., & Kuballa, J. (2018). Development of a suspect screening strategy for pesticide metabolites in fruit and vegetables by UPLC-Q-ToF-MS. *Food Analytical Methods*, 11(6), 1591–1607.
<https://doi.org/10.1007/s12161-017-1143-4>

Bertomeu-Sánchez, J. R. (2019). Introduction. Pesticides: Past and present. *HoST: Journal of History of Science and Technology*, 13(1), 1–27. <https://doi.org/10.2478/host-2019-0001>

Botitsi, H. V., Garbis, S. D., Economou, A., & Tsipi, D. F. (2011). Current mass spectrometry strategies for the analysis of pesticides and their metabolites in food and water matrices. *Mass Spectrometry Reviews*, 30(5), 907–939.
<https://doi.org/10.1002/mas.20307>

- Brain, R. A., & Anderson, J. C. (2019). The agro-enabled urban revolution, pesticides, politics, and popular culture: A case study of land use, birds, and insecticides in the USA. *Environmental Science and Pollution Research*, 26, 21717–21735. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-05305-9>
- Brêda-Alves, F., Fernandes, V. de O., & Chia, M. A. (2021). Understanding the environmental roles of herbicides on cyanobacteria, cyanotoxins, and cyanoHABs. *Aquatic Ecology*, 55, 347–361. <https://doi.org/10.1007/s10452-021-09849-2>
- Caldas, E. D., Conceição, M. H., Miranda, M. C. C., Souza, L. C. K. R. de, & Lima, J. F. (2001). Determination of dithiocarbamate fungicide residues in food by a spectrophotometric method using a vertical disulfide reaction system. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(10), 4521–4525. <https://doi.org/10.1021/jf010124a>
- Cervera, M. I., Portolés, T., López, F. J., Beltrán, J., & Hernández, F. (2014). Screening and quantification of pesticide residues in fruits and vegetables making use of gas chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry with atmospheric pressure chemical ionization. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 406(27), 6843–6855. <https://doi.org/10.1007/s00216-014-7853-1>
- Concha-Meyer, A., Grandón, S., Sepúlveda, G., Díaz, R., Yuri, J. A., & Torres, C. (2019). Pesticide residues quantification in frozen fruit and vegetables in Chilean domestic market using QuEChERS extraction with ultra-high-performance liquid chromatography electrospray ionization Orbitrap mass spectrometry. *Food Chemistry*, 295, 64–71. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.05.046>
- Crocoli, L. C., Ramires, N., & Moura, S. (2023). Determination of pesticide residues in grapes consumed in natura and for juice and wine production by high-performance liquid chromatography with high resolution mass spectrometry (HPLC-HRMS). *Analytical Letters*, 56(9), 1454–1464. <https://doi.org/10.1080/00032719.2022.2134413>
- Daraban, G. M., Hlihor, R.-M., & Suteu, D. (2023). Pesticides vs. biopesticides: From pest management to toxicity and impacts on the environment and human health. *Toxics*, 11(12), 983. <https://doi.org/10.3390/toxics11120983>

- Debler, F., Abrantes, N., Harkes, P., Campos, I., & Gandrass, J. (2024). Occurrence and distribution of pesticides and transformation products in ambient air in two European agricultural areas. *Science of the Total Environment*, 940, Article 173705. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.173705>
- de Matos, E. M. C., Ribeiro, C., Fernandes, V. C., & Delerue-Matos, C. (2019). Multiclass method for the determination of pesticide residues in oat using modified QuEChERS with alternative sorbent and liquid chromatography with tandem mass spectrometry. *Food Analytical Methods*, 13, 293–302. <https://doi.org/10.1007/s12161-019-01641-1>
- Dutt, M., Arigò, A., Famiglini, G., Zappia, G., Palma, P., & Cappiello, A. (2024). Exploring Negative Chemical Ionization of Per- and Polyfluoroalkyl Substances via a Liquid Electron Ionization LC-MS Interface. *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 35(5), 890–901. <https://doi.org/10.1021/jasms.3c00432>
- Eurostat. (2025, April). *Agri-environmental indicator - consumption of pesticides*. Statistics Explained. https://ec.europa.eu/eurostat/statistics-explained/index.php?title=Agri-environmental_indicator_-_consumption_of_pesticides
- FAO. (2002). *International code of conduct on the distribution and use of pesticides*. Food and Agriculture Organization of the United Nations. https://www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/documents/Pests_Pesticides/Code/code.pdf
- Farnsworth, C. A., Teese, M. G., Yuan, G., Li, Y., Scott, C., Zhang, X., Wu, Y., Russell, R. J., & Oakeshott, J. G. (2010). Esterase-based metabolic resistance to insecticides in heliothine and spodopteran pests. *Journal of Pesticide Science*, 35(3), 275–289. <https://doi.org/10.1584/jpestics.R10-13>
- Feng, C., Xu, Q., Qiu, X., Jin, Y., Ji, J., Lin, Y., Le, S., Wang, G., & Lu, D. (2020). Comprehensive strategy for analysis of pesticide multi-residues in food by GC-MS/MS and UPLC-Q-Orbitrap. *Food Chemistry*, 320, 126576. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126576>
- Ferrer, C., Gómez, M. J., García-Reyes, J. F., Ferrer, I., Thurman, E. M., & Fernández-Alba, A. R. (2005). Determination of pesticide residues in olives and olive oil by matrix solid-phase dispersion followed by gas chromatography/mass spectrometry and liquid

- chromatography/tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1069(2), 183-194. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2005.02.015>
- García López, M., Fussell, R. J., Stead, S. L., Roberts, D., McCullagh, M., & Rao, R. (2014). Evaluation and validation of an accurate mass screening method for the analysis of pesticides in fruits and vegetables using liquid chromatography-quadrupole-time of flight-mass spectrometry with automated detection. *Journal of Chromatography A*, 1373, 40–50. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2014.10.099>
- Garud, A., Pawar, S., Patil, M. S., Kale, S. R., & Patil, S. (2024). A scientific review of pesticides: Classification, toxicity, health effects, sustainability, and environmental impact. *Cureus*, 16(8), e67945. <https://doi.org/10.7759/cureus.67945>
- Garrido-Frenich, A., Martínez-Vidal, J. L., López-López, T., Cortés-Aguado, S., & Martínez-Salvador, I. (2004). Monitoring multi-class pesticide residues in fresh fruits and vegetables by liquid chromatography with tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1048(2), 199–206. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2004.07.027>
- Gilbert-López, B., García-Reyes, J. F., & Molina-Díaz, A. (2012). Determination of fungicide residues in baby food by liquid chromatography-ion trap tandem mass spectrometry. *Food Chemistry*, 135(2), 780–786. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.04.059>
- Gómez-Pérez, M. L., Romero-González, R., Martínez Vidal, J. L., & Garrido Frenich, A. (2015). Analysis of pesticide and veterinary drug residues in baby food by liquid chromatography coupled to Orbitrap high resolution mass spectrometry. *Talanta*, 131, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2014.07.066>
- Gómez-Ramos, M. M., Ferrer, C., Malato, O., Agüera, A., & Fernández-Alba, A. R. (2013). Liquid chromatography-high-resolution mass spectrometry for pesticide residue analysis in fruit and vegetables: Screening and quantitative studies. *Journal of Chromatography A*, 1287, 24–37. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2013.02.065>
- Grimalt, S., & Dehouck, P. (2016). Review of analytical methods for the determination of pesticide residues in grapes. *Journal of Chromatography A*, 1433, 1–23. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2015.12.076>

- Hakme, E., Lozano, A., Ferrer, C., & Fernández-Alba, A. R. (2018). High-throughput gas chromatography-mass spectrometry analysis of pesticide residues in spices by using the enhanced matrix removal-lipid and the sample dilution approach. *Journal of Chromatography A*, 1573, 28–41. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2018.08.046>
- Hernández-Mesa, M., García-Campaña, A. M., & Moreno-González, D. (2020). Determination of sulfonylurea pesticide residues in edible seeds used as nutraceuticals by QuEChERS in combination with ultra-high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1617, 460831. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2019.460831>
- Hernández-Mesa, M., & Moreno-González, D. (2022). Current role of mass spectrometry in the determination of pesticide residues in food. *Separations*, 9(6), 148. <https://doi.org/10.3390/separations9060148>
- Hercegová, A., Dömötörövá, M., & Matisová, E. (2007). Sample preparation methods in the analysis of pesticide residues in baby food with subsequent chromatographic determination. *Journal of Chromatography A*, 1153(1–2), 54–73. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2007.01.008>
- Hogenboom, A. C., Van Leerdam, J. A., & de Voogt, P. (2009). Accurate mass screening and identification of emerging contaminants in environmental samples by liquid chromatography-hybrid linear ion trap Orbitrap mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1216(3), 510–519.
- Hu, R., Shi, J., Tian, C., Chen, X., & Zuo, H. (2022). Nucleic acid aptamers for pesticides, toxins, and biomarkers in agriculture. *ChemPlusChem*, 87(12), e202200230. <https://doi.org/10.1002/cplu.202200230>
- Iosif, K., & Konstantinou, I. (2023). Determination of pesticide residues in olive oil using QuEChERS extraction and liquid chromatography–Orbitrap high-resolution mass spectrometry: Comparison of different clean-up sorbents and validation study. *Sustainability*, 15(11), 8714. <https://doi.org/10.3390/su15118714>
- Iosif, K., Riolo, R., De Rosa, R., Simonetta, I., et al. (2023). Determination of pesticide residues in olive oil using QuEChERS extraction and liquid chromatography-Orbitrap

- high-resolution mass spectrometry: Comparison of different clean-up sorbents and validation. *Sustainability*, 15(11), 8714. <https://doi.org/10.3390/su15118714>
- Jarman, W. M., & Ballschmiter, K. (2012). From coal to DDT: The history of the development of the pesticide DDT from synthetic dyes till *Silent Spring*. *Endeavour*, 36(4), 131–142. <https://doi.org/10.1016/j.endeavour.2012.10.003>
- Jia, W., Chu, X., Ling, Y., Huang, J., & Chang, J. (2014). High-throughput screening of pesticide and veterinary drug residues in baby food by liquid chromatography coupled to quadrupole Orbitrap mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1347, 122–128. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2014.04.081>
- Kellmann, M., Muenster, H., Zomer, P., & Mol, H. G. J. (2009). Full scan MS in comprehensive qualitative and quantitative residue analysis in food and feed matrices: How much resolving power is required? *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, 20(8), 1464–1476.
- Kim, Y.-K., Baek, J., et al. (2024). LC-MS/MS and GC-MS/MS cross-checking analysis method for 426 pesticide residues in agricultural products: A method validation and measurement of uncertainty. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Advance online publication. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.4c01992>
- Kovalczuk, T., Jech, M., Poustka, J., & Hajšlová, J. (2006). Ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry: A novel challenge in multiresidue pesticide analysis in food. *Analytica Chimica Acta*, 577(1), 8–17. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2006.06.023>
- Lambropoulou, D. A., & Albanis, T. A. (2007). Methods of sample preparation for determination of pesticide residues in food matrices by chromatography-mass spectrometry-based techniques: A review. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 389(6), 1663–1683. <https://doi.org/10.1007/s00216-007-1348-2>
- Lehotay, S. J. (2007). Determination of pesticide residues in foods by acetonitrile extraction and partitioning with magnesium sulfate: Collaborative study. *Journal of AOAC International*, 90(2), 485–520. <https://doi.org/10.1093/jaoac/90.2.485>
- Lehotay, S. J., de Kok, A., Hiemstra, M., & van Bodegraven, P. (2005). Validation of a fast and easy method for the determination of residues from 229 pesticides in fruits and

- vegetables using gas and liquid chromatography and mass spectrometric detection. *Journal of AOAC International*, 88(2), 595–614. <https://doi.org/10.1093/jaoac/88.2.595>
- Lehotay, S. J., Mastovska, K., & Lightfield, A. R. (2005). Use of buffering and other means to improve results of problematic pesticides in a fast and easy method for residue analysis of fruits and vegetables. *Journal of AOAC International*, 88(2), 615–629. <https://doi.org/10.1093/jaoac/88.2.615>
- López-Benítez, A., Guevara-Lara, A., Domínguez-Crespo, M. A., Andraca-Adame, J. A., & Torres-Huerta, A. M. (2024). Concentrations of organochlorine, organophosphorus, and pyrethroid pesticides in rivers worldwide (2014–2024): A review. *Sustainability*, 16(18), 8066. <https://doi.org/10.3390/su16188066>
- Lykogianni, M., Bempelou, E., Karamaouna, F., & Aliferis, K. A. (2021). Do pesticides promote or hinder sustainability in agriculture? The challenge of sustainable use of pesticides in modern agriculture. *Science of the Total Environment*, 795, 148625. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.148625>
- Ma, J., Zhang, Y., Li, Q., et al. (2023). Rapid screening of 420 pesticide residues in fruits and vegetables using ultra-high performance liquid chromatography combined with quadrupole-time of flight mass spectrometry. *Food Science and Human Wellness*, 12. <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2022.10.024>
- Makarov, A., Denisov, E., Kholomeev, A., Balschun, W., Lange, O., Strupat, K., & Horning, S. (2006). Performance evaluation of a hybrid linear ion trap/Orbitrap mass spectrometer. *Analytical Chemistry*, 78(7), 2113–2120.
- Mandal, S., Poi, R., & Mishra, H. N. (2023). Review of extraction and detection techniques for the analysis of pesticide residues in fruits to evaluate food safety and make legislative decisions: Challenges and anticipations. *Journal of Chromatography B*, 1225, 123587. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2022.123587>
- Mardani, Z., Shakoori, A., Peiravian, F., Nouri, L., & Salamzadeh, J. (2021). Development of a liquid chromatography-mass spectrometry technique for evaluation of multi-class pesticides in rice samples. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 20(1), 165–174. <https://doi.org/10.22037/ijpr.2020.113071.14095>

- Masiá, A., Morales Suarez-Varela, M., Llopis-Gonzalez, A., & Picó, Y. (2016). Determination of pesticides and veterinary drug residues in food by liquid chromatography-mass spectrometry: A review. *Analytica Chimica Acta*, 936, 40–61. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2016.07.023>
- Mishra, A. K., Singh, H., Kumar, A., Gupta, H., & Mishra, A. (2024). Recent Advancements in Liquid Chromatographic Techniques to Estimate Pesticide Residues Found in Medicinal Plants around the Globe. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 54(8), 2900–2914. <https://doi.org/10.1080/10408347.2023.2212049>
- Misra, A., & Srivastava, A. (2025). Types of major pesticides: Currently used and their effect on human health. *International Journal of Ecology and Environmental Sciences*, 7(1), 21–24.
- Moreno-González, D., Pérez-Ortega, P., Gilbert-López, B., & Molina-Díaz, A. (2017). Evaluation of nanoflow liquid chromatography high resolution mass spectrometry for pesticide residue analysis in food. *Journal of Chromatography A*, 1512, 78–87. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2017.07.019>
- Pathak, V. M., Verma, V. K., Rawat, B. S., Kaur, B., Babu, N., Sharma, A., Dewali, S., Yadav, M., Kumari, R., Singh, S., Mohapatra, A., Pandey, V., Rana, N., & Cunill, J. M. (2022). Current status of pesticide effects on environment, human health and its eco-friendly management as bioremediation: A comprehensive review. *Frontiers in microbiology*, 13, 962619. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.962619>
- Payá, P., Anastassiades, M., Mack, D., Sigalova, I., Tasdelen, B., Oliva, J., & Barba, A. (2007). Analysis of pesticide residues using the quick easy cheap effective rugged and safe (QuEChERS) pesticide multiresidue method in combination with gas and liquid chromatography and tandem mass spectrometric detection. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 389(6), 1697–1714. <https://doi.org/10.1007/s00216-007-1610-7>
- Perry, R. H., Cooks, R. G., & Noll, R. J. (2008). Orbitrap mass spectrometry: Instrumentation, ion motion and applications. *Mass Spectrometry Reviews*, 27(6), 661–699.

- Picó, Y., Blasco, C., & Font, G. (2000). Pesticide residue determination in fruit and vegetables by liquid chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 882(1–2), 153–173. [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(00\)00294-6](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(00)00294-6)
- Portolés, T., Mol, J. G. J., Sancho, J. V., López, F. J., & Hernández, F. (2014). Validation of a qualitative screening method for pesticides in fruits and vegetables by gas chromatography quadrupole-time of flight mass spectrometry with atmospheric pressure chemical ionization. *Analytica Chimica Acta*, 838, 76–85. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2014.06.006>
- Rajski, Ł., Lozano, A., Uclés, A., Ferrer, C., & Fernández-Alba, A. R. (2013). Determination of pesticide residues in high oil vegetal commodities by using various multi-residue methods and clean-ups followed by liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1304, 109–120. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2013.06.070>
- Ramadan, G., Al Jabir, M., Alabdulmalik, N., & Mohammed, A. (2016). Validation of a method for the determination of 120 pesticide residues in apples and cucumbers by LC-MS/MS. *Drug Testing and Analysis*, 8(5–6), 498–510. <https://doi.org/10.1002/dta.2008>
- Romero-González, R., Pastor-Montoro, E., Martínez-Vidal, J. L., & Garrido-Frenich, A. (2006). Application of hollow fiber supported liquid membrane extraction to the simultaneous determination of pesticide residues in vegetables by liquid chromatography/mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 20(18), 2701–2708. <https://doi.org/10.1002/rcm.2653>
- Saito-Shida, S., Nemoto, S., & Akiyama, H. (2021). Quantitative and confirmatory analysis of pesticide residues in cereal grains and legumes by liquid chromatography-quadrupole-time-of-flight mass spectrometry. *Foods*, 10(1), 78. <https://doi.org/10.3390/foods10010078>
- Samsidar, A., Siddiquee, S., & Shaarani, S. M. (2018). A review of extraction, analytical and advanced methods for determination of pesticides in environment and foodstuffs. *Trends in Food Science & Technology*, 71, 188–201. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.11.011>

- Sandín-España, P., & Dagnac, T. (2023). Development of analytical methods to analyze pesticide residues. *Molecules*, 28(7), 3074. <https://doi.org/10.3390/molecules28073074>
- Schleiffer, M., & Speiser, B. (2022). Presence of pesticides in the environment, transition into organic food, and implications for quality assurance along the European organic food chain – A review. *Environmental Pollution*, 313, Article 120116. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.120116>
- Silva, R. de O., de Castro, R. C., Milhome, M. A. L., & do Nascimento, R. F. (2014). Liquid chromatography-electrospray ionization-tandem mass spectrometry method for determination of twenty multi-class pesticide residues in cashew. *LWT - Food Science and Technology*, 59(1), 21-25. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.05.035>
- Sivaperumal, P., Anand, P., & Riddhi, L. (2015). Rapid determination of pesticide residues in fruits and vegetables, using ultra-high-performance liquid chromatography/time-of-flight mass spectrometry. *Food Chemistry*, 168, 356-365. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.07.072>
- Słowik-Borowiec, M., Szpyrka, E., Rupa, J., Matyaszek, A., Kurdziel, A., & Podbielska, M. (2022). Simultaneous determination of multi-class pesticide residues and polycyclic aromatic hydrocarbons in representative plant and soil matrices by GC-MS/MS. *Molecules*, 27(7), 2140. <https://doi.org/10.3390/molecules27072140>
- Soler, C., James, K. J., & Picó, Y. (2007). Capabilities of different liquid chromatography tandem mass spectrometry systems in determining pesticide residues in food. Application to estimate their daily intake. *Journal of Chromatography A*, 1157(1-2), 73–84. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2007.04.009>
- Soler, C., Mañes, J., & Picó, Y. (2006). Determination of carbosulfan and its metabolites in oranges by liquid chromatography ion-trap triple-stage mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1109(2), 228-241. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2006.01.026>
- Soler, C., Mañes, J., & Picó, Y. (2008). The role of liquid chromatography-mass spectrometry in pesticide residue determination in food. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 38(2), 93-117. <https://doi.org/10.1080/10408340801922250>
- Souza, D. F., Souza, E. L., & Borges, E. M. (2016). Determination of pesticides in grape juices by QuEChERS and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal*

of the Brazilian Chemical Society, 27(9), 1626-1635. <https://doi.org/10.5935/0103-5053.20160042>

Stachniuk, A., & Fornal, E. (2016). Liquid chromatography-mass spectrometry in the analysis of pesticide residues in food. *Food Analytical Methods*, 9(6), 1654-1665. <https://doi.org/10.1007/s12161-015-0342-0>

Stephanou, E. G. (n.d.). *Introduction to modern mass spectrometry* [Course notes]. Environmental Chemical Processes Laboratory, Environmental Science and Engineering Program.

Syrgabek, Y., & Alimzhanova, M. (2022). Modern analytical methods for the analysis of pesticides in grapes: A review. *Foods*, 11(11), 1623. <https://doi.org/10.3390/foods11111623>

Tostado, L. (2022, October 18). *Pesticide use in the EU: Noxious status quo for people and planet*. Heinrich-Böll-Stiftung European Union. <https://eu.boell.org/en/PesticideAtlas-use-EU>

Tran, K., Eide, D., Nickols, S. M., Cromer, M. R., Sabaa-Srur, A. U. O., & Smith, R. E. (2012). Finding of pesticides in fashionable fruit juices by LC-MS/MS and GC-MS/MS. *Food Chemistry*, 134(4), 2398-2405. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.04.034>

Tudi, M., Ruan, H. D., Wang, L., Lyu, J., Sadler, R., Connell, D., Chu, C., & Phung, D. T. (2021). Agriculture development, pesticide application and its impact on the environment. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(3), 1112. <https://doi.org/10.3390/ijerph18031112>

Wang, Z., Cao, Y., Ge, N., Liu, X., Chang, Q., Fan, C., & Pang, G.-F. (2016). Wide-scope screening of pesticides in fruits and vegetables using information-dependent acquisition employing UHPLC-QTOF-MS and automated MS/MS library searching. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 408(27), 7795-7810. <https://doi.org/10.1007/s00216-016-9883-3>

Wilkowska, A., & Biziuk, M. (2011). Determination of pesticide residues in food matrices using the QuEChERS methodology. *Food Chemistry*, 125(3), 803-812. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.09.094>

- Wu, Y., Han, L., Wu, X., Jiang, W., Liao, H., Xu, Z., & Pan, C. (2022). Trends and perspectives on general pesticide analytical chemistry. *Advanced Agrochem*, 1(2), 113-124. <https://doi.org/10.1016/j.aac.2022.11.002>
- Yu, Y., Luo, X., Wang, X., et al. (2018). A novel high-performance liquid chromatography-fluorescence analysis coupled with in situ degradation-derivatization technique for quantitation of organophosphorus thioester pesticide residues in tea. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 410, 6911-6922. <https://doi.org/10.1007/s00216-018-1294-1>
- Zacharia, J. T. (2011). Identity, physical and chemical properties of pesticides. In M. Stoytcheva (Ed.), *Pesticides in the modern world - Trends in pesticides analysis*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/17513>

Ελληνογλώσση βιβλιογραφία

- Βασιλείου, Β. (2004). *Φυτοφάρμακα: Πολύ χρήσιμα και επικίνδυνα*. Ινστιτούτο Γεωργικών Ερευνών.
[https://www.moa.gov.cy/moa/ari/ari.nsf/all/963DDF6C711CD89EC22589D4003EC238/\\$file/2004%20April-June.pdf](https://www.moa.gov.cy/moa/ari/ari.nsf/all/963DDF6C711CD89EC22589D4003EC238/$file/2004%20April-June.pdf)
- Κακού, Α. Θ. (2008). *Εφαρμογές ιοντικής χρωματογραφίας στον προσδιορισμό οργανικών ιοντικών ενώσεων* [Διδακτορική διατριβή, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Σχολή Θετικών Επιστημών, Τμήμα Χημείας].
<https://freader.ekt.gr/eadd/index.php?doc=23556&lang=el>
- Κουτρουλάκης, Δ. (2018). *Προσδιορισμός των οργανοφωσφορικών φυτοφαρμάκων και των μεταβολιτών τους στο αμνιακό υγρό και μελέτη της επίδρασής τους στην εμβρυϊκή ανάπτυξη* [Διδακτορική διατριβή, Πανεπιστήμιο Κρήτης].
<https://freader.ekt.gr/eadd/index.php?doc=43671&lang=el>
- Λιάπης, Κ. (2003). *Εφαρμογές της φασματομετρίας μάζας αρνητικού χημικού ιονισμού στη μελέτη δραστικών ουσιών γεωργικών φαρμάκων και των υπολειμμάτων αυτών σε γεωργικά προϊόντα* [Διδακτορική διατριβή, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων].
<https://freader.ekt.gr/eadd/index.php?doc=21832&lang=el>

Skoog, D. A., Holler, F. J., & Nieman, T. A. (2005). *Αρχές της ενόργανης ανάλυσης* (Μ. Καραγιάννης, Κ. Ευσταθίου, & Ν. Χανιωτάκης, Μεταφρ.). Κωσταράκης Α.Ε.

Ευρωπαϊκό Κοινοβούλιο και Συμβούλιο της Ευρωπαϊκής Ένωσης. (2005). *Κανονισμός (ΕΚ) αριθ. 396/2005 του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου, της 23ης Φεβρουαρίου 2005, για τα ανώτατα όρια καταλοίπων φυτοφαρμάκων μέσα ή πάνω στα τρόφιμα και τις ζωοτροφές φυτικής και ζωικής προέλευσης και για την τροποποίηση της οδηγίας 91/414/ΕΟΚ του Συμβουλίου. Επίσημη Εφημερίδα της Ευρωπαϊκής Ένωσης, L 70, 1-16. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EL/TXT/PDF/?uri=CELEX:32005R0396>*

Ευρωπαϊκό Κοινοβούλιο και Συμβούλιο της Ευρωπαϊκής Ένωσης. (2009a). *Κανονισμός (ΕΚ) αριθ. 1107/2009 του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου, της 21ης Οκτωβρίου 2009, σχετικά με τη διάθεση φυτοπροστατευτικών προϊόντων στην αγορά και για την κατάργηση των οδηγιών 79/117/ΕΟΚ και 91/414/ΕΟΚ του Συμβουλίου. Επίσημη Εφημερίδα της Ευρωπαϊκής Ένωσης, L 309, 1-50. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EL/TXT/PDF/?uri=CELEX:32009R1107>*

Ευρωπαϊκό Κοινοβούλιο και Συμβούλιο της Ευρωπαϊκής Ένωσης. (2009b). *Οδηγία 2009/128/ΕΚ του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου, της 21ης Οκτωβρίου 2009, σχετικά με τη θέσπιση πλαισίου κοινοτικής δράσης για την επίτευξη της ορθολογικής χρήσης των γεωργικών φαρμάκων. Επίσημη Εφημερίδα της Ευρωπαϊκής Ένωσης, L 309, 71-86. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EL/TXT/PDF/?uri=CELEX:02009L0128-20190726>*

Ευρωπαϊκή Επιτροπή. (2021). *SANTE/11312/2021: Analytical quality control and method validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed. https://www.eurl-pesticides.eu/docs/public/tmpl_article.asp?CntID=727*

Υπεύθυνη Δήλωση Συγγραφέα:

Δηλώνω ρητά ότι, σύμφωνα με το άρθρο 8 του Ν.1599/1986, η παρούσα εργασία αποτελεί αποκλειστικά προϊόν προσωπικής μου εργασίας, δεν προσβάλλει κάθε μορφής δικαιώματα διανοητικής ιδιοκτησίας, προσωπικότητας και προσωπικών δεδομένων τρίτων, δεν περιέχει έργα/εισφορές τρίτων για τα οποία απαιτείται άδεια των δημιουργών/δικαιούχων και δεν είναι προϊόν μερικής ή ολικής αντιγραφής, οι πηγές δε

που χρησιμοποιήθηκαν περιορίζονται στις βιβλιογραφικές αναφορές και μόνον και πληρούν τους κανόνες της επιστημονικής παράθεσης.