

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ



ΣΧΟΛΗ ΤΡΟΦΙΜΩΝ, ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΓΕΝΙΚΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

***«Αυθεντικότητα τροφίμων: Ανάπτυξη αναλυτικών
μεθόδων για τον προσδιορισμό σπανίων γαιών
ως δείκτη γεωγραφικής προέλευσης»***

ΓΕΩΡΓΙΟΣ Π. ΔΑΝΕΖΗΣ

Επιβλέπων: Καθηγητής Κωνσταντίνος Α. Γεωργίου

ΑΘΗΝΑ 2016

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ



ΣΧΟΛΗ ΤΡΟΦΙΜΩΝ, ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΓΕΝΙΚΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

*«Αυθεντικότητα τροφίμων: Ανάπτυξη αναλυτικών
μεθόδων για τον προσδιορισμό σπανίων γαιών
ως δείκτη γεωγραφικής προέλευσης»*

ΓΕΩΡΓΙΟΣ Π. ΔΑΝΕΖΗΣ

Επιβλέπων: Καθηγητής Κωνσταντίνος Α. Γεωργίου

ΑΘΗΝΑ 2016

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

***«Αυθεντικότητα τροφίμων: Ανάπτυξη αναλυτικών
μεθόδων για τον προσδιορισμό σπανίων γαιών
ως δείκτη γεωγραφικής προέλευσης»***

ΓΕΩΡΓΙΟΣ Π. ΔΑΝΕΖΗΣ

M.Sc. Χημικός

Επιβλέπων: Καθηγητής κ. Κωνσταντίνος Α. Γεωργίου

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή:

Κωνσταντίνος Α. Γεωργίου, Καθηγητής Γ.Π.Α. (Επιβλέπων)

Σέρκο Χαρουτουιάν, Καθηγητής Γ.Π.Α. (μέλος)

Χρήστος Παππάς, Επίκουρος Καθηγητής Γ.Π.Α. (μέλος)

Επταμελής Εξεταστική Επιτροπή:

Κωνσταντίνος Α. Γεωργίου, Καθηγητής Γ.Π.Α.

Σέρκο Χαρουτουιάν, Καθηγητής Γ.Π.Α.

Χρήστος Παππάς, Επίκουρος Καθηγητής Γ.Π.Α.

Μιχαήλ Κουμπάρης, Καθηγητής Ε.Κ.Π.Α.

Ιωάννης Χατζηγεωργίου, Επίκουρος Καθηγητής Γ.Π.Α.

Ευάγγελος Ζωίδης, Επίκουρος Καθηγητής Γ.Π.Α.

Αθανάσιος Παππάς, Λέκτορας Γ.Π.Α.

Στους γονείς μου,
Πάυλο - Ελευθερία
και στη Μαριάννα

Ευχαριστίες

Η παρούσα διδακτορική διατριβή εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Γενικής Χημείας του τμήματος Επιστήμης Τροφίμων & Διατροφής του Ανθρώπου.

Θα ήθελα να εκφράσω τις ειλικρινείς μου ευχαριστίες από καρδιάς στον κ. Κώστα (κ. Γεωργίου) για όλες τις ευκαιρίες που μου πρόσφερε αυτά τα χρόνια. Κατ' αρχήν για την ερευνητική μου εργασία στα προγράμματα "ΠΑΜΕΔΥ" - *Πανελλαδική Μελέτη Διατροφής και Υγείας*, Υπουργείο Υγείας - ΕΣΠΑ, "Urban BioRoof" - *Ερευνητική και τεχνολογική συνεργασία για την επιλογή και σύσταση υποστρωμάτων και φυτικών συνθέσεων για φυτοδώματα*, ΓΓΕΤ - ΕΣΠΑ και "BIOYMENIA" - Βιολογική Ολιστική Προσέγγιση της Δυναμικής Μορφής Επιβίωσης Παθογόνων Βακτηριακών Σχηματισμών, Θαλής, ΓΓΕΤ - ΕΣΠΑ, αλλά και για την διοικητική μου εργασία στα προγράμματα *LeanGreenFood - Enzyme technology for Lean and Green food processing*, FP 7 (Marie Curie Actions - Networks for Initial Training, ITN) και *SPECTRAOIL, Rapid spectroscopic methods for assessment of olive oil quality and adulteration*, Διακρατικό ερευνητικό πρόγραμμα Ελλάδας-Ρουμανίας, ΓΓΕΤ. Από τα οποία αποκόμισα πολλές χρήσιμες γνώσεις αλλά και εμπειρία. Φυσικά του είμαι ευγνώμων για όλη την καθοδήγηση και την βοήθεια του για την ολοκλήρωση της διατριβής μου. Τέλος επηρέασε καθοριστικά την ερευνητική μου αντίληψη, καθώς και τον τρόπο αντιμετώπισης των διαφόρων προβλημάτων που αναπόφευκτα προκύπτουν.

Επίσης ευχαριστώ τον κ. Σέρκο Χαρουτουιάν και τον κ. Χρήστο Παππά για τις συμβουλές τους, τις εύστοχες υποδείξεις τους, αλλά και για την συμμετοχή τους στην τριμελή συμβουλευτική επιτροπή.

Ιδιαίτερος θα ήθελα να ευχαριστήσω τον κ. Μιχάλη Κουμπάρη, για την τιμή που μου έκανε να συμμετέχει στην κρίση της διδακτορικής διατριβής όπως και για την στήριξη του και την καθοδήγηση στις προσπάθειές μου, όλα αυτά τα χρόνια. Ακόμη ευχαριστώ τον κ. Γιάννη Χαντζηγεωργίου για την παραχώρηση των δειγμάτων και των προτύπων υλικών αναφοράς αλλά και για την συνεργασία μας και σε άλλες ερευνητικές εργασίες όπως και την συμμετοχή του στην επταμελή επιτροπή.

Πολλά ευχαριστώ πρέπει να δώσω στον κ. Θανάση Παππά και στον κ. Βαγγέλη Ζωΐδη, όχι μόνο για την παροχή των δειγμάτων και τις συμβουλές τους, αλλά κυρίως γιατί ήταν πάντα πρόθυμοι να με βοηθήσουν σε ότι χρειαζόμουν και να με ενθαρρύνουν στις δύσκολες στιγμές.

Ακόμη ευχαριστώ τον κ. Vladimir Brusic, την κα Ping Zhang, τον κ. Γιώργο Παπαδομιχελάκη και τον υποψήφιο διδάκτορα Σπύρο Δρίβελο για την βοήθεια στην στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων. Επίσης, όλο το προσωπικό του εργαστηρίου Γενικής Χημείας και του εργαστηρίου Φυσιολογίας Θρέψεως και Διατροφής για την άψογη συνεργασία που είχαμε αυτά τα χρόνια. Όπως ευχαριστώ τον κ. Ζέρβα, την κα Ελένη Παππά, την κα Ελένη Τσιπλάκου, και την κα Μαρία Γεωργιάδου γιατί βοήθησαν με διάφορους τρόπους για να ολοκληρωθεί αυτή η εργασία.

Θερμά, επίσης, ευχαριστώ τον μεταπτυχιακό φοιτητή Αριστείδη Τσάγκαρη για την άριστη συνεργασία που είχαμε στις ερευνητικές μας εργασίες, για την υποστήριξη του στις προσπάθειές μου, αλλά και για όλα όσα περάσαμε, ευχάριστα, μαζί όπως και στις κοινές μας επιστημονικές αναζητήσεις. Ακόμη ευχαριστώ όλους τους προπτυχιακούς φοιτητές με τους οποίους συνεργαστήκαμε όλα αυτά τα χρόνια: Κωνσταντίνο Παπαχρηστίδη, Στελλίνα Μεγρέμη, Μαρία Ζαχαριουδάκη, Χρήστο Βάββα, Σπύρο Τσέγκα, Παρασκευή Καπλάνη, Βαλεντίνα Θεοδουλίδου, Στέφανο Ρωξάνη και Κώστα Πανουργιά.

Τέλος ιδιαίτερες ευχαριστίες οφείλω στους γονείς μου Παύλο και Ελευθερία και την αδερφή μου Κατερίνα καθώς και τον Τριαντάφυλλο, για την αγάπη τους την υποστήριξη, τη συμπαράσταση και την κατανόηση σε όλη αυτή την πορεία.

Γιώργος Δανέζης,
Αθήνα, Ιανουάριος 2016

Περίληψη

Στόχος της παρούσας διατριβής ήταν να μελετηθεί η χρήση αποτυπωμάτων των σπανίων γαιών ως δείκτες αυθεντικότητας. Η αυθεντικότητα των τροφίμων είναι ένα ραγδαίως ανερχόμενο πεδίο, κυρίως λόγω της ανησυχίας και ευαισθητοποίησης των καταναλωτών σχετικά με την ποιότητα και ασφάλεια των τροφίμων. Ιδιαίτερης σημασίας είναι η δήλωση συγκεκριμένων χαρακτηριστικών ποιότητας σε προϊόντα υψηλής αξίας. Ως εκ τούτου, υπάρχει ανάγκη για νέες μεθοδολογίες ανάλυσης σε προϊόντα προστιθέμενης αξίας. Έτσι, οι αναλυτικοί χημικοί, με βάση τις γνώσεις τους σχετικά με τις τεχνικές και μεθοδολογίες, οδηγούν την έρευνα της αυθεντικότητας των τροφίμων.

Στο θεωρητικό μέρος παρουσιάζονται οι ερευνητικές τάσεις του τομέα, υπογραμμίζοντας τις προοπτικές των αναλυτικών τεχνικών στο τομέα μαζί με τις συνηθέστερες εφαρμογές που έχει η κάθε μία στο πεδίο. Ακόμη, δίνεται αναλυτική εξήγηση στο γιατί τα στοιχειακά αποτυπώματα, και ιδιαίτερα οι σπάνιες γαίες, αποτελούν αξιόπιστους δείκτες αυθεντικότητας, ειδικά μάλιστα για τον προσδιορισμό της γεωγραφικής προέλευσης.

Το πειραματικό μέρος χωρίζεται σε τρία κύρια συστατικά: Αυθεντικότητα κρέατος κυνηγιού (διάκριση των αγριοκούνελων από οικόσιτα και εμπορικά), αυθεντικότητα για το ΠΟΠ «Τοματάκι Σαντορίνης» (διαφοροποίηση από άλλα μικρά τοματάκια) και αυθεντικότητα Ελληνικών ΠΟΠ και παραδοσιακών τυριών (διάκριση απομιμήσεων), μέσω στοιχειακών αποτυπωμάτων. Τα στοιχειακά προφίλ ελήφθησαν με τη χρήση της τεχνικής φασματομετρίας μαζών - επαγωγικά συζευγμένου πλάσματος (ICP-MS). Οι πολύ-στοιχειακές μέθοδοι που εφαρμόστηκαν επικυρώθηκαν σύμφωνα με τους Κανονισμούς της Ε.Ε. Έγινε εκτίμηση της γραμμικότητας της ακρίβειας, της πιστότητας και της αβεβαιότητας καθώς και προσδιορισμός των ορίων ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης για κάθε αναλύτη σε κάθε υπόστρωμα.

Όσον αφορά την αυθεντικότητα κρέατος κυνηγιού, η διάκριση των δειγμάτων πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας πολυδιάστατα στοιχειακά αποτυπώματα. Αξιοποιήθηκαν οι Ευκλείδειες και γωνιακές αποστάσεις μεταξύ των επιμέρους δειγμάτων ώστε να καθοριστούν οι ομάδες και υποομάδες των δειγμάτων. Οι σπάνιες γαίες ταξινομήσαν κατά 100% σωστά τα δείγματα μεταξύ των κατηγοριών άγρια με μη άγρια. Επιπροσθέτως, αξιολογήθηκε η κατανομή των σπανίων γαιών σε διάφορους ιστούς κουνελιών (μυς, ήπαρ, τρίχες, αίμα). Οι σπάνιες γαίες συσσωρεύονται κυρίως στις τρίχες, ενώ οι μύες και το ήπαρ των αγριοκούνελων παρουσίασαν μεγαλύτερες συγκεντρώσεις σπανίων γαιών από ότι αντίστοιχα τα οικόσιτα και εμπορικά κουνέλια. Αυτό πιθανότατα οφείλεται στην διατροφή τους. Τα δείγματα ΠΟΠ «Τοματάκι Σαντορίνης» ταξινομήθηκαν σωστά κατά 96% σε σχέση με τα δείγματα μη Σαντορίνης χρησιμοποιώντας μόνο 12 στοιχεία (6 εκ των οποίων σπάνιες γαίες) μέσω διακριτικής ανάλυσης. Αντίστοιχα, χρησιμοποιώντας το συνολικό στοιχειακό προφίλ, το 99% των δειγμάτων κατηγοριοποιήθηκε σωστά. Σχετικά με την αυθεντικότητα Ελληνικών ΠΟΠ και παραδοσιακών τυριών τα αποτελέσματα ήταν αρκετά ενθαρρυντικά, αφού τα ποσοστά ορθής ταξινόμησης των δειγμάτων ήταν πάνω από 97% για τις περισσότερες συγκρίσεις, αξιοποιώντας το συνολικό στοιχειακό αποτύπωμα. Σύμφωνα με τη γνωστή σε εμάς βιβλιογραφία, αυτή είναι η πρώτη προσπάθεια όπου αναφέρεται η επιβεβαίωση της αυθεντικότητας κρέατος και τυριών μέσω των στοιχειακών αποτυπωμάτων. Επιπλέον, αυτή είναι η πρώτη προσπάθεια αξιολόγησης της αυθεντικότητας κρέατος κυνηγιού μέσω στοιχειακών αποτυπωμάτων. Επιπλέον, δημιουργήθηκαν αξιόπιστες βάσεις δεδομένων για το ΠΟΠ «Τοματάκι Σαντορίνης», τα Ελληνικά ΠΟΠ και παραδοσιακά τυριά, αξιοποιώντας το προφίλ των σπανίων γαιών. Με την αναπτυχθείσα μεθοδολογία, πολλά προϊόντα διατροφής μπορούν να αξιολογηθούν για την επαλήθευση της συμμόρφωσής τους με τις επισημάνσεις ποιότητας και προέλευσης αλλά και για την ανίχνευση πιθανών δόλιων πρακτικών όπως η νοθεία.

«Αυθεντικότητα τροφίμων: Ανάπτυξη αναλυτικών μεθόδων για τον προσδιορισμό σπανίων γαιών ως δείκτη γεωγραφικής προέλευσης»

Επιστημονικό πεδίο: 1 Φυσικές Επιστήμες

1.4 Χημεία

Λέξεις- Κλειδιά: Αυθεντικότητα Τροφίμων, Επικύρωση Μεθόδων, Σπάνιες Γαίες, Ιχνοστοιχεία, Στοιχειακά Αποτυπώματα, Φασματομετρία μαζών με Επαγωγικά Συζευγμένο Πλάσμα, ΠΟΠ, ΠΓΕ, ΕΠΠΙ, Βιολογικά προϊόντα, Γεωγραφική Προέλευση, Νοθεία Τροφίμων

Abstract

The aim of this thesis was to investigate the use of rare earth elements fingerprints as authenticity indicators. Food authentication is a rapidly growing field mostly due to public awareness concerning food quality and safety. Of special concern is the declaration of specific quality attributes in high-value products. Therefore, there is a need for new analytical methodologies to specifically and unequivocally assess authentication and high-value products. Thus, analytical chemists, based on their knowledge on techniques and methodologies, are leading the research on food authentication.

The theoretical part provides a scientometric evaluation of the field, highlighting the research trends and giving insight on emerging approaches of this evolving field. Explanation on why rare earths elemental fingerprint is useful for authentication of geographical origin, production method and cultivation practice is also provided.

The experimental part is divided in three major components: Game meat authentication (wild rabbit's discrimination from commercial and backyard rabbits), PDO "Tomataki Santorinis" authentication (discrimination from other cherry tomatoes) and Greek PDO and traditional cheeses authentication (fraud discrimination) through elemental fingerprints. Concerning game meat authentication, the sample discrimination was performed using multi-dimensional signatures where samples are described as high-dimensional vectors. We utilized Euclidian and angular distances between individual samples and signatures to determine sample groups and subgroups. Rare earth elements discriminate 100% wild from non wild rabbits. In addition, the rare earth elements distribution on rabbit's tissues (muscle, liver, blood and hair) was assessed and it was found that REEs were accumulated greatly in hair, while muscle and liver of wild rabbits presented higher REEs concentrations than backyard and commercial rabbits. PDO "Tomataki Santorinis" was correctly classified (96%) against non-Santorini samples using only 12 elements (6 of which were REEs) through discriminant analysis. Respectively, using the total elemental profile, 99% of samples was classified correctly. It was also possible to discriminate organic from conventionally grown cherry tomatoes with 98% correct classification. Regarding, Greek PDO and traditional cheeses authentication, the results were also promising after correct classification of more than 97% of the samples in most comparisons, utilizing total elemental fingerprints.

Elemental profiles were obtained through inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). The implemented multi-element methods were validated according to EU regulations. Linearity, accuracy, precision, uncertainty along with the limits of detection and quantification were estimated, for each analyte per studied substrate.

According to the best of our knowledge this is the first effort that reports meat and cheeses authentication through rare earth element signatures. In addition, this is the first attempt of investigating game meat authenticity according to its elemental fingerprint. Robust and reliable authentication databases for PDO "Tomataki Santorinis", Greek PDO and traditional cheeses were created, utilizing rare earth elements fingerprint. With the developed methodology, several food products can be evaluated to verify labeling compliance and the existence of fraudulent practices.

“Food authentication: Analytical methods for rare earth elements to determine geographical origin”

Scientific Discipline: Natural Sciences

Chemistry

Keywords: Food Authentication, Methods Development and Validation, Rare Earth Elements, Trace Elements, Elemental Fingerprinting, ICP-MS, Inductively Coupled Plasma – Mass Spectrometry, PDO, PGI, TSG, Organic products, Geographical Origin, Food Fraud

Περιεχόμενα

1. Αυθεντικότητα Τροφίμων	14
1.1 Εισαγωγή – Νομοθεσία.....	14
1.2. Τάσεις της έρευνας.....	21
2. Ανόργανα στοιχεία	35
2.1 Γενικά.....	35
2.2 Σπάνιες Γαίες.....	38
2.1 Εισαγωγή	38
2.2 Ομαδοποίηση.....	40
2.3 Φυσικοχημικές Ιδιότητες	40
2.4 Εφαρμογές	43
2.5 Φυσική Αφθονία	46
2.6 Κανόνας Oddon - Harkins.....	48
2.7 Η επίδραση των σπανίων γαιών στη λειτουργία των οργανισμών	48
2.8 Αντικατάσταση μετάλλων	49
2.9 Τοξικότητα - Επιπτώσεις στην Υγεία	50
3. Στοιχειακές τεχνικές	52
3.1 Προκατεργασία δείγματος	52
3.1.1 Χώνευση.....	53
3.1.2 Απευθείας ανάλυση στερεών δειγμάτων	56
3.2 Φασματομετρία Μαζών με Επαγωγικά Συζευγμένο Πλάσμα (ICP-MS).....	56
3.2.1 Αρχές Λειτουργίας του ICP-MS	57
3.2.2 Παρεμποδίσεις.....	68
3.3 Άλλες στοιχειακές τεχνικές	69
3.4 Τεχνικές συνδιασμού (hyphenated techniques).....	69
3.5 Σύγκριση ICP-MS με άλλες τεχνικές	70
3.6 Εφαρμογές, Προοπτικές και Τάσεις της έρευνας.....	73
4. Στοιχειακά αποτυπώματα	78
4.1 Θεωρία και προοπτικές	78
4.2 Εφαρμογές στην αυθεντικότητα τροφίμων	81
4.3 Χημειομετρία - Βιοπληροφορική (Chemometrics – Bioinformatics):.....	88
5. Επικύρωση μεθόδου ICP-MS για πολυστοιχειακούς προσδιορισμούς σε ζωϊκούς ιστούς.....	89
5.1 Εκτίμηση της γραμμικότητας.....	89
5.2 Εκτίμηση της ακρίβειας (ορθότητα)	94
5.3 Εκτίμηση της πιστότητας	103

5.4 Εκτίμηση των ορίων ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης	122
5.5 Εκτίμηση της αβεβαιότητας	129
6. Μέθοδος εκτίμησης αυθεντικότητας κρέατος κυνηγιού	140
6.1. Εισαγωγή	140
6.2. Υλικά & Μέθοδοι.....	143
6.2.1 Στοιχειακή ανάλυση.....	143
6.2.2. Συλλογή δειγμάτων και προετοιμασία	144
6.2.3. Στατιστική ανάλυση	147
6.3. Αποτελέσματα	149
6.4. Συζήτηση	165
7. Κατανομή των σπανίων γαιών σε ιστούς κουνελιών διαφορετικού τύπου εκτροφής (κυνήγι, οικόσιτα, εμπορικά)	168
7.1. Εισαγωγή	168
7.2. Υλικά & Μέθοδοι.....	168
7.2.1. Συλλογή δειγμάτων.....	168
7.2.2. Αντιδραστήρια	168
7.2.3. Προετοιμασία των δειγμάτων.....	169
7.2.4. Ανάλυση με ICP-MS.....	169
7.2.5. Στατιστική ανάλυση	170
7.3. Αποτελέσματα & Συζήτηση	170
8. Επικύρωση μεθόδου ICP-MS για πολυστοιχειακούς προσδιορισμούς σε ντοματάκια.....	179
8.1 Εκτίμηση της γραμμικότητας.....	179
8.2 Εκτίμηση της ακρίβειας (ορθότητα).....	182
8.3 Εκτίμηση της πιστότητας	188
8.4 Εκτίμηση των ορίων ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης	200
8.5 Εκτίμηση της αβεβαιότητας	203
9. Μέθοδος εκτίμησης αυθεντικότητας για τα ΠΟΠ Ντοματάκια Σαντορίνης	212
9.1. Εισαγωγή	212
9.2. Υλικά & Μέθοδοι.....	218
9.2.1. Συλλογή δειγμάτων.....	218
9.2.2. Αντιδραστήρια	222
9.2.3. Προετοιμασία των δειγμάτων.....	222
9.2.4. Ανάλυση με ICP-MS.....	223
9.2.5. Στατιστική ανάλυση	224
9.3. Αποτελέσματα και Συζήτηση.....	225
9.3.1. Διάκριση δειγμάτων Σαντορίνης από Μη Σαντορίνης.....	225
9.3.2. Διάκριση μεταξύ Βιολογικών και Μη Βιολογικών δειγμάτων - Έλεγχος για χρήση συνθετικών λιπασμάτων.....	236

10. Επικύρωση μεθόδου ICP-MS για πολυστοιχειακούς προσδιορισμούς σε τυριά.....	241
10.1 Εκτίμηση της γραμμικότητας.....	241
10.2 Εκτίμηση της ακρίβειας (ορθότητα).....	244
10.3 Εκτίμηση της πιστότητας	250
10.4 Εκτίμηση των ορίων ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης	262
10.5 Εκτίμηση της αβεβαιότητας	265
11. Μέθοδος εκτίμησης αυθεντικότητας για τα Ελληνικά ΠΟΠ και παραδοσιακά τυριά.....	274
11.1. Εισαγωγή	274
11.2. Υλικά & Μέθοδοι.....	277
11.2.1. Συλλογή δειγμάτων.....	277
11.2.2. Αντιδραστήρια	278
11.2.3. Προετοιμασία των δειγμάτων	278
11.2.4. Ανάλυση με ICP-MS.....	278
11.2.5. Στατιστική ανάλυση	280
11.3. Αποτελέσματα & Συζήτηση	280
11.3.1 Γενική διάκριση μεταξύ των τυριών ανά όνομα	280
11.3.2. Διάκριση μεταξύ των τύπων τυριών	293
11.3.3. Διάκριση μεταξύ των τύπων γάλακτος	298
Συμπεράσματα	303

1. Αυθεντικότητα Τροφίμων

1.1 Εισαγωγή – Νομοθεσία

Η αυθεντικότητα των τροφίμων αφορά την διαδικασία με την οποία ένα τρόφιμο πιστοποιείται ότι ανταποκρίνεται στην ετικέτα περιγραφής, για παράδειγμα για την προέλευσή του, γεωγραφική και γενετική, τον τρόπο παραγωγής του, π.χ. βιολογική καλλιέργεια, παραδοσιακές διαδικασίες, ζώα ελευθέρως βοσκής και προϊόντα τους καθώς και τεχνολογίες επεξεργασίας (π.χ. ακτινοβόληση, κατάψυξη κ.ά.). Ιδιαίτερου ενδιαφέροντος είναι η διευκρίνιση συγκεκριμένων ποιοτικών χαρακτηριστικών σε τρόφιμα μεγάλης αξίας. Η απόδειξη της προέλευσης έχει γίνει ένα σημαντικό θέμα στο πλαίσιο της ασφάλειας και της ποιότητας των τροφίμων αλλά και της προστασίας του καταναλωτή, σε συμφωνία με την εθνική νομοθεσία, τα διεθνή πρότυπα και τις κατευθυντήριες γραμμές. Πολύ σημαντική, επίσης, είναι η αναγνώριση και η διασφάλιση της προέλευσης ενός αγροτικού προϊόντος συνεπώς και της περιοχής που αυτό παρήχθη [1]. Λόγω της παγκοσμιοποίησης της αγοράς τροφίμων και της αυξημένης εισαγωγής προϊόντων από άλλες χώρες, οι καταναλωτές ενδιαφέρονται για τη γεωγραφική προέλευση και την επακόλουθη ποιότητα των προϊόντων που καλύπτουν την διατροφή τους [2-6]. Επίσης από την οικονομική και νομική πλευρά, η ποιότητα των τροφίμων και ποτών καθώς και οι μέθοδοι που χρησιμοποιούνται για τον έλεγχο και τη διασφάλιση τους, χρήζουν ιδιαίτερης σημασίας.

Οι καταναλωτές πάντα ήθελαν να γνωρίζουν από που προήλθαν τα τρόφιμα τους. Πρόσφατα, ειδικά στις πιο οικονομικά ανεπτυγμένες χώρες, οι καταναλωτές απαιτούν να γνωρίζουν χωρίς αμφιβολίες την προέλευση και την σύσταση των τροφίμων, καθώς και ότι είναι ασφαλή για κατανάλωση, και ειδικά σε συγκεκριμένες περιπτώσεις όπου είναι πρόθυμοι να πληρώσουν επιπλέον για ορισμένα ποιοτικά χαρακτηριστικά [7]. Πέραν της γνώσης για την ποιότητα του προϊόντος που αγοράζουν, υπάρχει και έντονη ανησυχία για τυχόν νοθείες και απάτες, οι οποίες σε συγκεκριμένες περιπτώσεις, εκτός από οικονομική ζημία, μπορεί να επιφέρουν και σημαντικές επιπτώσεις στην υγεία.

Η κατάλληλη περιγραφή ενός τροφίμου και των συστατικών του είναι επιβεβλημένη με νομοθεσίες που αφορούν την ετικέτα, έχοντας ως στόχο την εξασφάλιση στον καταναλωτή ότι πράττει την σωστή επιλογή, με την παροχή όλων των διαθέσιμων πληροφοριών που απαιτούνται, καθώς και με την θεσμοθέτηση οδηγιών για την κατάλληλη περιγραφή ενός τροφίμου. Για να ενισχυθεί η συγκεκριμένη νομοθεσία, τα αρμόδια κρατικά όργανα ελέγχου χρησιμοποιούν ποικίλες επιστημονικές μεθόδους για να επαληθεύσουν ότι τα τρόφιμα που βρίσκονται στην αγορά είναι πλήρως έγκυρα και ανταποκρίνονται με την περιγραφή της ετικέτας τους.

Η αυθεντικότητα υπήρξε πάντα υψηλής σημασίας για πολλούς καταναλωτές και αποκτά ολοένα και μεγαλύτερη σημασία. Για αυτό από τις αρχές του 20ου αιώνα έχουν εγκαθιδρυθεί σε όλο τον κόσμο οργανισμοί που καθορίζουν τα πρότυπα και ελέγχουν την προέλευση των συστατικών και τη διαδικασία παραγωγής των τροφίμων, όπως το Γαλλικό Ινστιτούτο INAO (Institut National des Appellations d'Origine (INAO)), το Ιταλικό 'Denominazione di Origine Controllata', το Ισπανικό 'Denominación de Origen', της Νότιας Αφρικής το 'Wine of Origin' ή το Αμερικανικό 'American Viticultural Areas'. Αν και η παραγωγή προϊόντων για κατανάλωση, σύμφωνα με αυτές τις καθιερωμένες διαδικασίες, μπορεί να ανταμείβεται με υψηλότερες τιμές αγοράς, δυστυχώς ακόμη και σήμερα η παραγωγή νοθευμένων τροφίμων και η παράνομη εμπορεία τροφίμων είναι μια συνήθης πρακτική. Έτσι εμφανίζεται μια αυξανόμενη ανάγκη ώστε τα όργανα ελέγχου να έχουν πρόσβαση σε αξιόπιστες αναλυτικές μεθόδους οι οποίες να μπορούν να δώσουν μια αποφασιστική απάντηση για τη γνησιότητα των προϊόντων [8-11].

Στην Ευρώπη η προέλευση των τροφίμων είναι ένα από τα κύρια ζητήματα αυθεντικότητας. Η νομοθεσία της Ευρωπαϊκής Ένωσης (Ε.Ε.) εξασφαλίζει συγκεκριμένες ετικέτες για τα τρόφιμα και τα

ποτά μιας συγκεκριμένης-ιδιαίτερης ποιότητας ή φήμης. Έτσι με τον κανονισμό 2081/92 ΕΟΚ εισήχθη ένα ρυθμιστικό πλαίσιο για προϊόντα: Προστατευόμενης Ονομασίας Προέλευσης (Π.Ο.Π., protected denominations of origin (PDO)), Προστατευόμενης Γεωγραφικής Προέλευσης, (Π.Γ.Ε., protected geographical indication (PGI)) και Εγγυημένα Παραδοσιακά Ιδιότυπα Προϊόντα (Ε.Π.Ι.Π., traditional specialities guaranteed (TSG)) εικόνα 1.1. Πρόσφατα με τον κανονισμό 1151/2012, θεσπίστηκαν προαιρετικοί όροι ποιότητας (optional quality terms, OQT) για τα «προϊόντα ορεινής παραγωγής» (“mountain product”) και «προϊόντα νησιωτικής γεωργίας» (“product of island farming”). Ο στόχος αυτών των νέων σχημάτων ποιότητας της Ε.Ε. είναι να προστατεύσουν τη φήμη των τοπικών τροφίμων, να προάγουν την γεωργική και κτηνοτροφική δραστηριότητα, πιθανότατα να βοηθήσουν παραγωγούς να κερδίσουν προστιθέμενη αξία για τα αυθεντικά προϊόντα και να εξαλείψουν τον άδικο ανταγωνισμό και την παραπληροφόρηση των καταναλωτών από τα μη γνήσια προϊόντα που συνήθως είναι υποδεέστερης ποιότητας και διαφορετικής γεύσης. Αυτοί οι νέοι όροι ποιότητας πηγάζουν από την αντίληψη του καταναλωτή για τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά των προϊόντων από ορεινές και νησιωτικές περιοχές. Τέλος, η Ε.Ε. υποδεικνύει ότι πρέπει να γίνεται αναφορά στη χώρα στην οποία το προϊόν υφίσταται το τελικό στάδιο της επεξεργασίας.

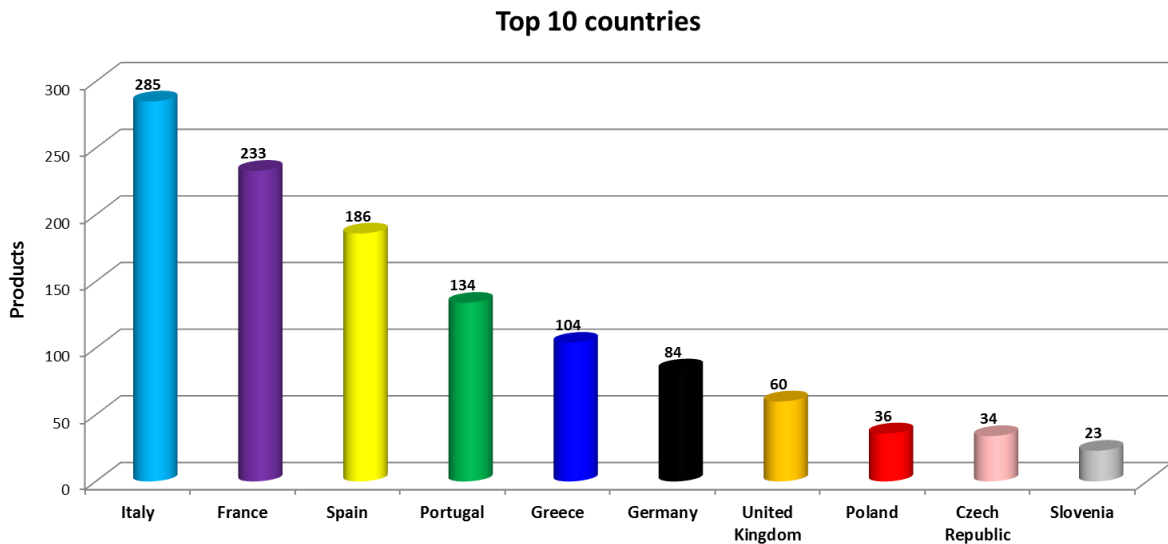


Εικόνα 1.1. Ετικέτες των ΠΟΠ, ΠΓΕ και ΕΠΙΠ προϊόντων σύμφωνα με τον κανονισμό εφαρμογής της Ευρωπαϊκής Επιτροπής (EU, No 668/2014).

Μέχρι σήμερα, στην Ευρωπαϊκή Ένωση, υπάρχουν 590 ΠΟΠ, 640 ΠΓΕ και 49 ΕΠΙΠ καταγεγραμμένα προϊόντα, ενώ 41 ΠΟΠ, 83 ΠΓΕ και 8 ΕΠΙΠ προϊόντα δεν έχουν γίνει δεκτά ακόμα και παρουσιάζονται στην DOOR, στην επίσημη βάση δεδομένων για καταγραφή τροφίμων της Ευρωπαϊκής Επιτροπής, αρχικά θεσπισμένη από την ρύθμιση της επιτροπής (EEC) No. 2081/92 και 2082/92. Όλα τα είδη προϊόντων που αναφέρθηκαν παραπάνω ανέρχονται στα 1411. Από τα παραπάνω νούμερα, και όπως ο A. Tosato [12], η κατηγορία ΕΠΙΠ έχει μια αρκετή περιορισμένη επιτυχία λόγω δομικών μειονεκτημάτων της νομοθεσίας και δεν έχει αποκτήσει την πλήρη δυνατότητά της [13].

Στο σχήμα 1.1 παρουσιάζεται ο αριθμός των καταχωρημένων προϊόντων ανά χώρα (Κανονισμός, ΕΕ No 1151/2012). Όπως παρατηρείται εύκολα, οι περισσότερες αιτήσεις αφορούν τις Μεσογειακές χώρες. Ένας λόγος, στον οποίο μπορεί να οφείλεται το φαινόμενο αυτό, είναι ότι χώρες όπως η Ιταλία, η

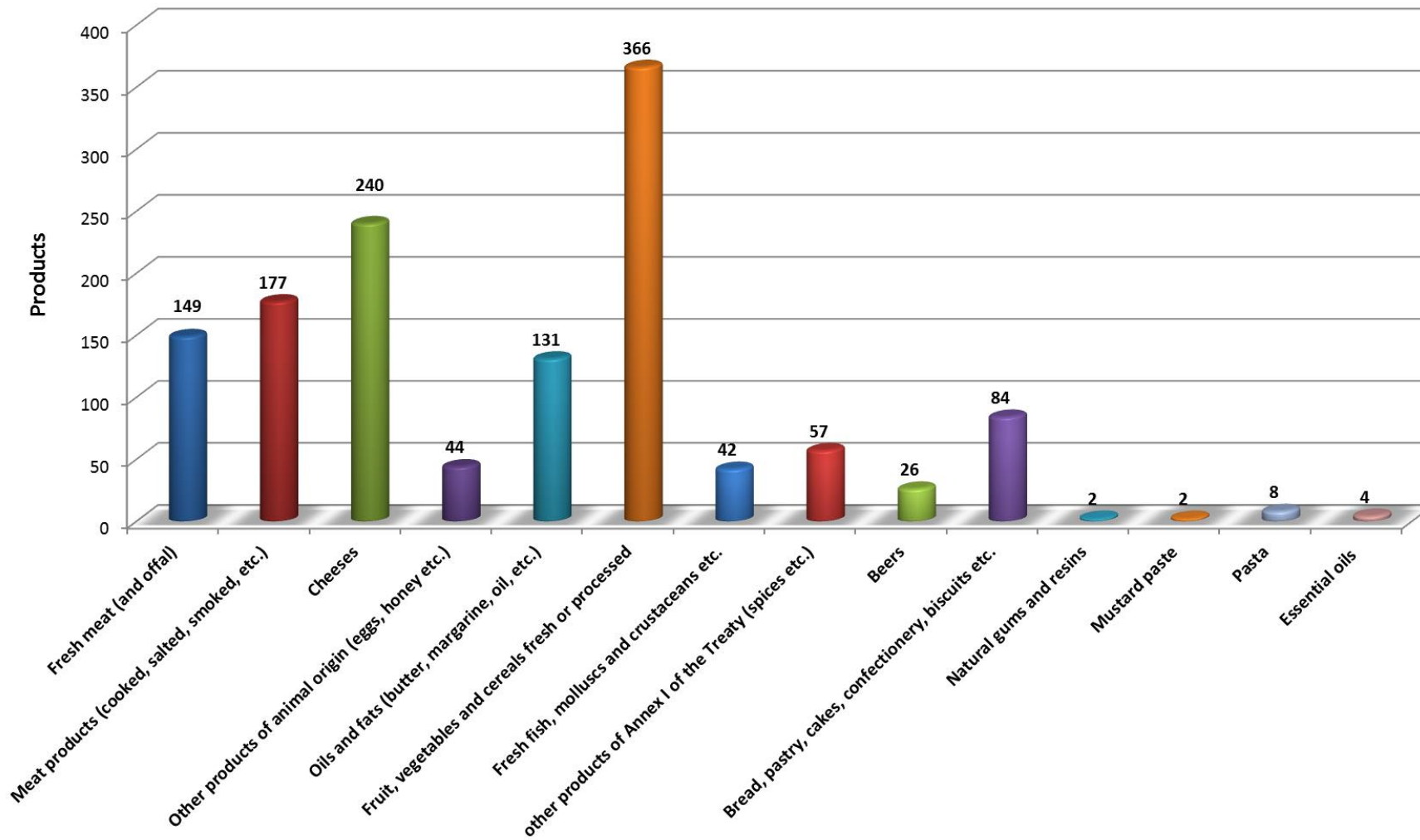
Γαλλία, η Ισπανία, η Ελλάδα και η Πορτογαλία χαρακτηρίζονται από ιδιαίτερες εδαφοκλιματικές συνθήκες στην μεγάλη ποικιλία αυτόχθονων ειδών για πολλά χρόνια, ακόμη αρκετές από αυτές τις χώρες έχουν ήδη υπάρχουσες νομοθεσίες περί γεωγραφικών ενδείξεων τροφίμων, βασιζόμενες κυρίως στο σκεπτικό της AOC που έχει επηρεασθεί από προτού πριν τις πρώτες αποδοχές ΠΟΠ και ΠΓΕ προϊόντων το 1992 στην Ευρωπαϊκή Ένωση. Για παράδειγμα, ακόμα και το 1990, το εύρος των AOC τυριών που παραγόταν ήταν παραπάνω από το 10% των ολικών παραγόμενων τυριών στην Γαλλία, ενώ 49% στην Ιταλία [14].



Σχήμα 1.1. Αριθμός καταχωρημένων ΠΟΠ, ΠΓΕ, ΕΠΠΠ προϊόντων ανά χώρα των δέκα «πρώτων» (top ten, EU DOOR 6-2015)

Στο σχήμα 1.2 παρουσιάζονται τα καταχωρημένα προϊόντα ανά κατηγορία τροφίμων, με βάση την επίσημη κατηγοριοποίηση (E.E. No 1151/2012)

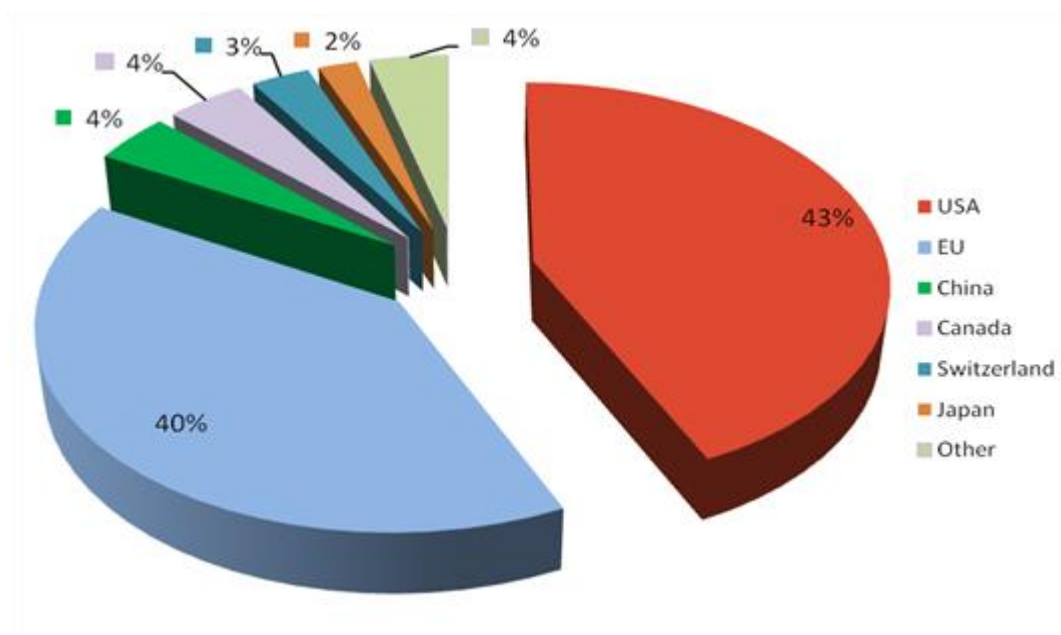
Products' per Food Category



Σχήμα 1.2. Καταχωρημένα προϊόντα ανά κατηγορία τροφίμων (EU DOOR 6-2015)

Βιολογικά τρόφιμα

Το Ερευνητικό Ινστιτούτο Βιολογικής Γεωργίας (FiBL) και η Διεθνής Ομοσπονδία Βιολογικών Κινημάτων (IFOAM) εκτιμούν ότι το μέγεθος της παγκόσμιας αγοράς βιολογικών (ή αλλιώς οργανικών) προϊόντων αυξήθηκε στα 72 δισεκατομμύρια δολάρια το 2013, μια εκτίμηση που βασίζεται σε πληροφορίες από 170 χώρες (FiBL & IFOAM, 2015). Ένα σύνολο του 90% των πωλήσεων έγιναν στην Βόρεια Αμερική και Ευρώπη, οι οποίες είναι οι ηγετικές αγορές στον τομέα των οργανικών προϊόντων. Οι πωλήσεις της ευρωπαϊκής αγοράς στο σύνολο εκτιμούνται στα 24.3 δισεκατομμύρια δολάρια, των χωρών της Ευρωπαϊκής Ένωσης στα 22.3 δισεκατομμύρια δολάρια, ενώ της Βόρειας Αμερικής στα 27 δισεκατομμύρια δολάρια (επειδή οι πληροφορίες συλλέχθηκαν από διάφορες χώρες με διαφορετικό νόμισμα, στην έρευνα των δύο οργανισμών χρησιμοποιήθηκε η μέση αναλογία ανταλλαγής του 2013 ότι 1 ευρώ ισούται με 1.3281 αμερικανικά δολάρια με βάση την Ευρωπαϊκή Κεντρική Τράπεζα). Στο σχήμα 1.3 παρουσιάζονται οι μεγαλύτερες αγορές, με βάση τις λιανικές πωλήσεις.



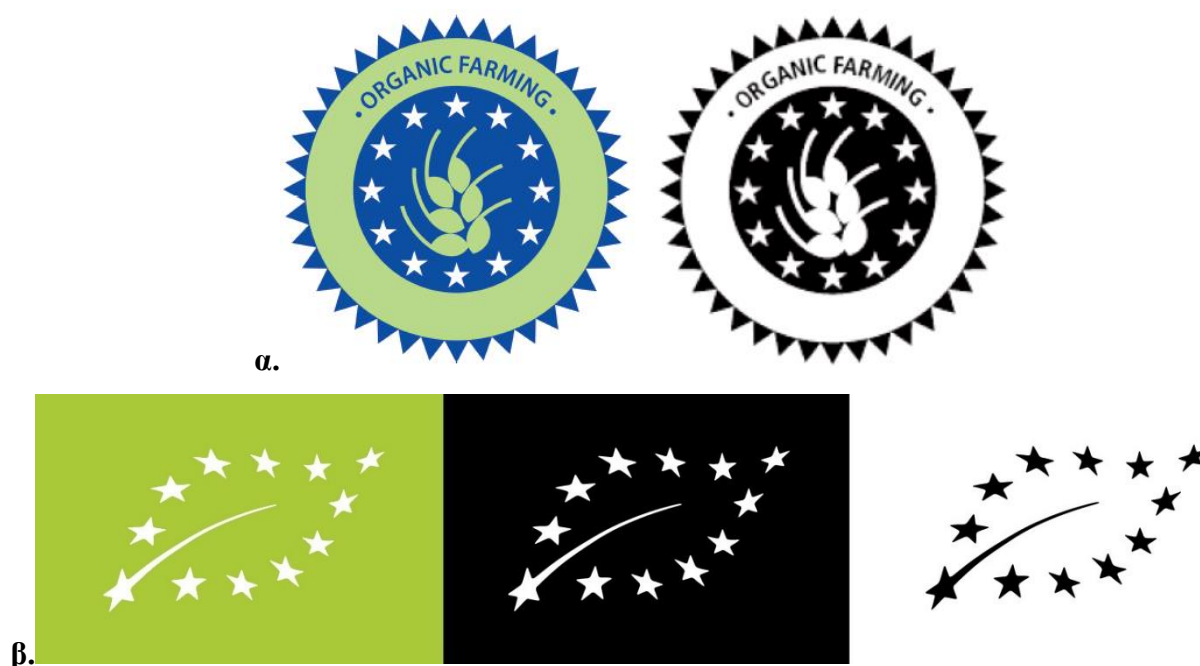
Σχήμα 1.3. Παγκόσμια αγορά των βιολογικών τροφίμων: Κατανομή των λιανικών πωλήσεων ανά χώρα (FiBL & IFOAM, 2015).

Με βάση τον Συνεταιρισμό Βιολογικών Συναλλαγών (OTA, Organic Trade Association) των ΗΠΑ, το 2014 οι πωλήσεις βιολογικών προϊόντων στην Αμερική ξεπέρασαν τα 39 δισεκατομμύρια δολάρια, με 35.9 δισεκατομμύρια δολάρια από βιολογικά τρόφιμα να εκπροσωπούν το 5% των ολικών πωλήσεων τροφίμων της Αμερικής (OTA, 2015).

Η παραγωγή των βιολογικών προϊόντων στην Ευρώπη, ρυθμίζεται κυρίως από την Κανονισμό της Ευρωπαϊκής Επιτροπής (EC) No 834/2007 που θεσμοποιήθηκε στις 28 Ιουνίου το 2007, αντικαθιστώντας τον παλαιότερο (EEC) No 2092/91, παρέχοντας τον βασικό νομοθετικό σκελετό Κανονισμός (EC) No 889/2008 και μια αναλυτική περιγραφή

των κανόνων παραγωγής των οργανικών προϊόντων με τον Κανονισμό εφαρμογής (EC) Νο 1235/2008. Με την ρύθμιση της Επιτροπής (EU) Νο. 271/2010 στις 24 Μαρτίου 2010, για την τροποποίηση της ρύθμισης (EC) Νο. 889/2008. Τέλος με τον Κανονισμό (EU) Νο. 271/2010 αναδιαρθρώνονται οι κανόνες παραγωγής του (EC) Νο. 889/2008.

Όσον αφορά το λογότυπο της βιολογικών προϊόντων της Ευρωπαϊκής Ένωσης, είναι αναγκαία η παρουσία του λογότυπου του "ευρωπαϊκού φύλλου" (Euro-leaf) σε κάθε συσκευασμένο βιολογικό προϊόν της Ευρωπαϊκής Ένωση που έχει τοποθετηθεί στην αγορά "με βάση τις απαιτήσεις των ρυθμίσεων (EEC) Νο 2092/91 και την εκτέλεση των διατάξεων της ρύθμισης (EC) Νο 834/2000 από τον Ιούλιο το 2010". Το προηγούμενο και τωρινό λογότυπο, με βάση την νομοθεσία της Ευρωπαϊκής Ένωσης παρουσιάζονται στην ακόλουθη εικόνα (Εικόνα 1.2):



Εικόνα 1.2. α. Παλαιό λογότυπο των βιολογικών προϊόντων (σε ισχύ μέχρι τον Ιούλιο 2010, σύμφωνα με τον Κανονισμό (EC) Νο. 889/2008) β. Νέο λογότυπο των βιολογικών προϊόντων "Euro-leaf".

Στις ΗΠΑ, τα αγροτικά προϊόντα, που είναι επισημασμένα ως βιολογικά, πρέπει να είναι πιστοποιημένα με βάση το νομοσχέδιο του Εθνικού Οργανικού Προγράμματος (NOP, National Organic Program) του USDA. Το πρόγραμμα αυτό είναι θεσμοποιημένο από την Δράση Παραγωγής Οργανικών Τροφίμων (OCFPA, Organic Foods Production Act) του 1990, ως τμήμα του Αγροτικού Λογαριασμού το 1990. Τα κριτήρια του Εθνικού Οργανικού Προγράμματος ανακοινώθηκε το 2000 και τέθηκαν σε ισχύ στις 21 Οκτωβρίου 2002. Όλα τα προϊόντα προς πώληση ως βιολογικά πρέπει να περιέχουν τουλάχιστον 95% παραγόμενα με οργανικό τρόπο συστατικά, ενώ το υπόλοιπο 5% πρέπει να περιλαμβάνεται στην λίστα των Αποδεκτών Συστατικών (List of Approved Substances) [15, 16]. Παρακάτω, παρατίθεται η "βιολογική" επισήμανση του USDA που τα αγροτικά προϊόντα μπορούν να φέρουν όταν

παράγονται και χειρίζονται με τρόπο ώστε να πληρούν τα κριτήρια των ρυθμίσεων περί οργανικών προϊόντων του USDA (Εικόνα 1.3)



Εικόνα 1.3. Λογότυπο για τα βιολογικά προϊόντα στις ΗΠΑ (NOP Regulations, § 205.311 USDA Seal).

Στις περισσότερες περιπτώσεις, για να χρησιμοποιηθεί το παραπάνω λογότυπο των οργανικών προϊόντων, ο παραγωγός θα πρέπει να είναι κατάλληλα πιστοποιημένος. Υπάρχει εξαίρεση από το κανόνα αυτό για ορισμένες δραστηριοποιήσεις, για παράδειγμα για αγρότες οργανικών προϊόντων που πουλάνε 5000 δολάρια ή λιγότερο.

Οι παραγωγοί αναζητούν αναγνώριση στην αγορά με στόχο τις καλύτερες τιμές. Έτσι θέλουν τα προϊόντα τους, μεταξύ άλλων, να είναι πιστοποιημένα για την γεωγραφικές προέλευσή τους ή για άλλα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά αποσκοπώντας σε συγκεκριμένα τμήματα της αγοράς. Η προέλευση ενός τροφίμου παίζει ρόλο στις επιλογές των καταναλωτών [17]. Επίσης τα βιολογικά προϊόντα συνήθως έχουν υψηλότερες τιμές ως αποτέλεσμα της μεγαλύτερης επιθυμίας του καταναλωτή να πληρώσει για αυτά (willingness-to-pay, WTP). Προϊόντα που φέρουν το λογότυπο βιολογικού προϊόντος μπορεί να προσελκύσουν την εμπιστοσύνη του καταναλωτή προς ένα συγκεκριμένο προϊόν, καθώς το εκτιμούν ως υψηλότερης ποιότητας και πιο ασφαλές [18]. Παρόμοιο μοτίβο φαίνεται να υπάρχει και σε προϊόντα με ισχυρισμούς που αφορούν την υγεία, καθώς τα εκτιμούν ως πιο θετικά για την διατροφή τους [19]. Γενικά, όλοι οι επιπρόσθετοι ισχυρισμοί, προστιθέμενης αξίας των τροφίμων, δημιουργούν προκλήσεις για τους αντίστοιχους αρμόδιους οργανισμούς που ελέγχουν την αυθεντικότητα των τροφίμων.

Η συμμόρφωση ενός τροφίμου στην περιγραφή του ελέγχεται κυρίως από τις κρατικές αρχές, χρησιμοποιώντας ποικίλες αναλυτικές τεχνικές. Από μια απλή ζύγιση έως μια πολύπλοκη - τεχνολογικά προηγμένη - ανάλυση με χρήση ακριβών οργάνων και έπειτα την χρήση κατάλληλων χημειομετρικών εργαλείων καθώς και ειδικευμένων υπολογιστικών προγραμμάτων για επεξεργασία και ανάλυση των συλλεγόμενων πληροφοριών. Άλλες πάλι φορές μια μακροσκοπική εξέταση ή ένας οργανοληπτικός έλεγχος μπορεί να επικυρώσει την συμμόρφωση του προϊόντος. Τέτοια χαρακτηριστικά παραδείγματα είναι οι περιπτώσεις του κρασιού και του ελαιολάδου όπου ένας οργανοληπτικός έλεγχος είναι η βασική διαδικασία που περιλαμβάνεται στον χαρακτηρισμό ποιότητάς τους. Άλλο ένα πρόβλημα είναι τα όρια

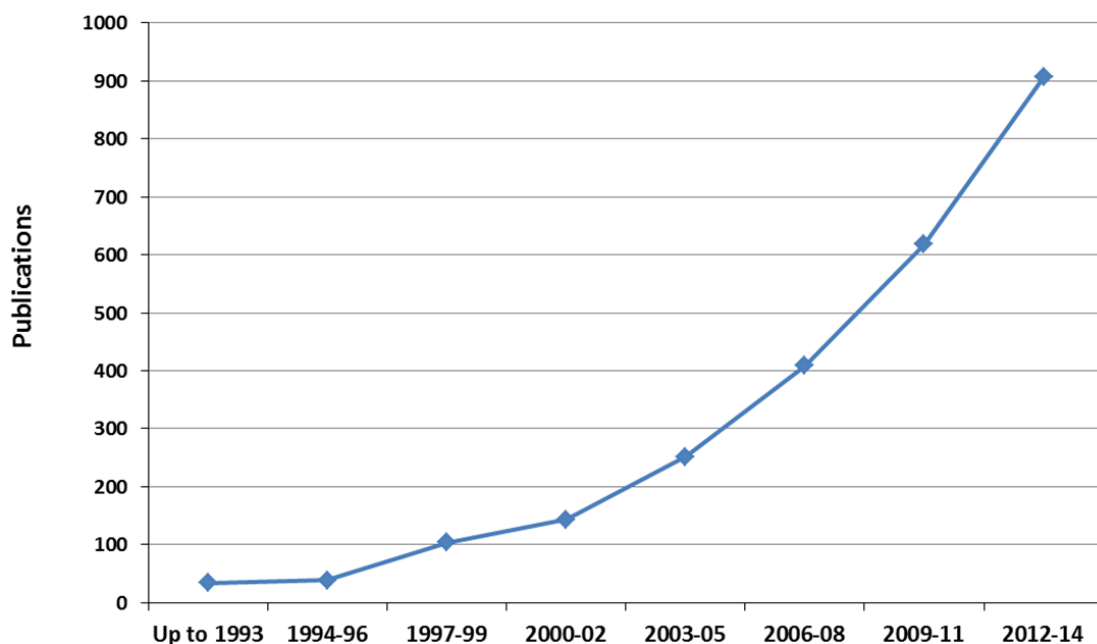
ανίχνευσης που χαρακτηρίζουν ορισμένες αναλυτικές μεθόδους σε ορισμένα ποιοτικά και ποσοτικά κριτήρια. Για παράδειγμα σε ορισμένες περιπτώσεις, οι υπάρχουσες μέθοδοι δεν μπορούν να επαληθεύσουν ότι ένα τρόφιμο είναι 100% μη γενετικά τροποποιημένο λόγω των ορίων ανίχνευσής που διαθέτουν αυτές οι μέθοδοι. Τέλος, ακόμα και να αναπτυχθεί το τέλει αναλυτικό πρωτόκολλο, για να μπορέσει να καταστεί αποτελεσματικό στην πράξη θα πρέπει να γίνει αποδεχτό από το δικαστήριο που στις περισσότερες περιπτώσεις σημαίνει ότι πρέπει να είναι υιοθετημένο από υπάρχουσες ρυθμιστικές αρχές.

Τέλος το αυξανόμενο ενδιαφέρον των καταναλωτών για την ποιότητα και την προέλευση των τροφίμων οδήγησε την Ε.Ε. στην προκήρυξη διαφόρων ερευνητικών προγραμμάτων. Τα σημαντικότερα από αυτά ήταν τα "Food Integrity", "MoniQa" και "TRACE" προσφέροντας νέες αναλυτικές μεθόδους και τρόπους ελέγχου της αυθεντικότητας. Η Ε.Ε. ακολουθεί αυτή την τάση, συνεχίζοντας τη χρηματοδότηση διαφορετικών προτάσεων που αφορούν την αυθεντικότητα των τροφίμων στο HORIZON 2020.

1.2. Τάσεις της έρευνας

1.2.1 Εισαγωγή

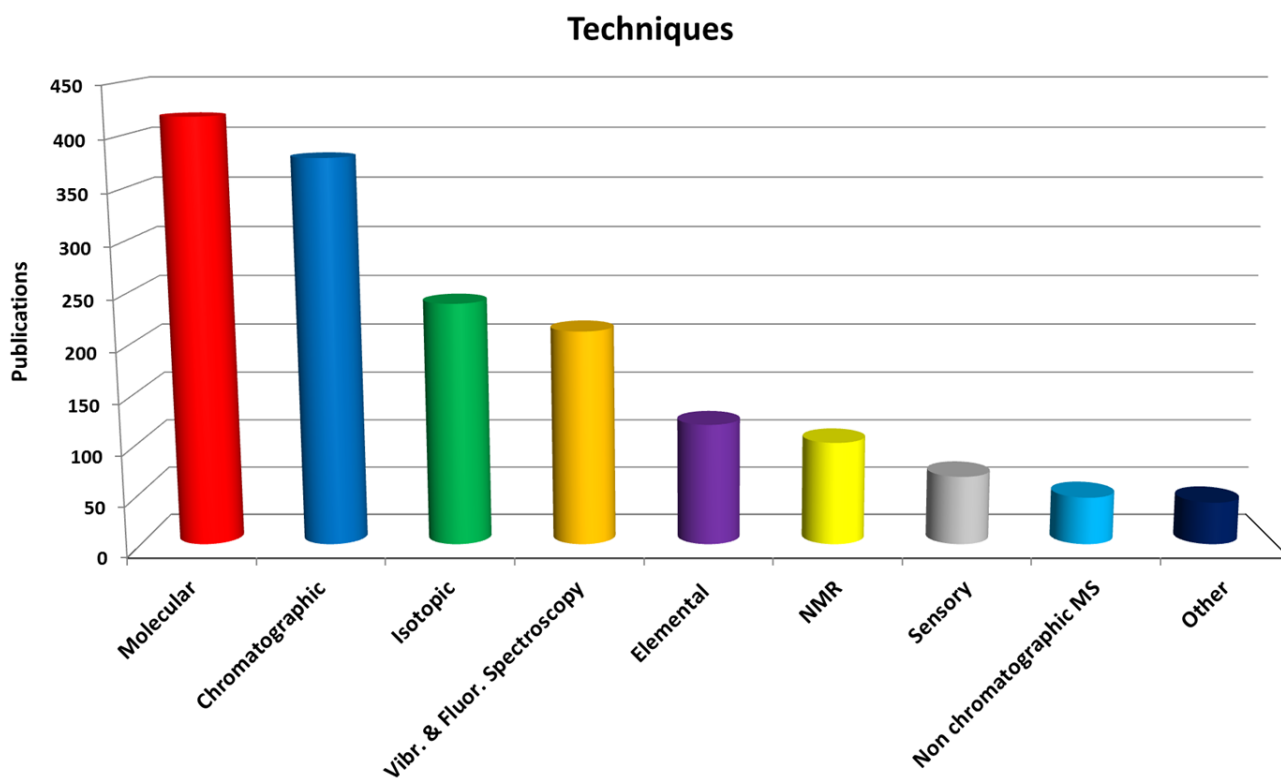
Πραγματοποιήθηκε εκτενής βιβλιογραφική μελέτη αξιοποιώντας την επιστημονική βάση δεδομένων scopus με κατάλληλη αναζήτηση και αξιολόγηση των άρθρων. Περισσότερο από το 80% των δημοσιεύσεων που αφορούν την αυθεντικότητα των τροφίμων είναι πρωτότυπες εργασίες που δημοσιεύθηκαν σε ερευνητικά περιοδικά, ενώ άρθρα ανασκόπησης και πρακτικά συνεδρίων αντιπροσωπεύουν περίπου το 7-8% το κάθε ένα. Λόγω του αυξημένου ενδιαφέροντος διάφορα κεφάλαια βιβλίων και ολόκληρα βιβλία εμφανίστηκαν συνολικά στο 5%. Όλα τα κεφάλαια βιβλίων / βιβλία έχουν δημοσιευθεί μετά το 2006 αν και το πρώτο βιβλίο που αφορούσε εξ'ολοκλήρου την αυθεντικότητα τροφίμων εκδόθηκε ήδη από το 1996 από τον M. Dennis και τον P. Ashurst ανοίγοντας το δρόμο [20]. Σήμερα, ο προσδιορισμός της γεωγραφικής προέλευσης, της νοθείας, η εσφαλμένη επισήμανση και η ασφάλεια των τροφίμων είναι από τις σημαντικότερες πτυχές του έλεγχου των τροφίμων. Ο αριθμός των δημοσιευμένων εργασιών στην αυθεντικότητα των τροφίμων απεικονίζεται στο σχήμα 1.4 και παρουσιάζει εκθετική ανάπτυξη μετά το 2000. Είναι ενδιαφέρον να σημειωθεί ότι 409 άρθρα δημοσιεύθηκαν την περίοδο 2006-2008, ενώ 907 για την περίοδο 2012-2014, δηλαδή σε 3 χρόνια είχαμε διπλασιασμό των εργασιών!



Σχήμα 1.4. Χρονική εξέλιξη των δημοσιευμένων εργασιών πάνω στην αυθεντικότητα τροφίμων (Scopus 9-2015).

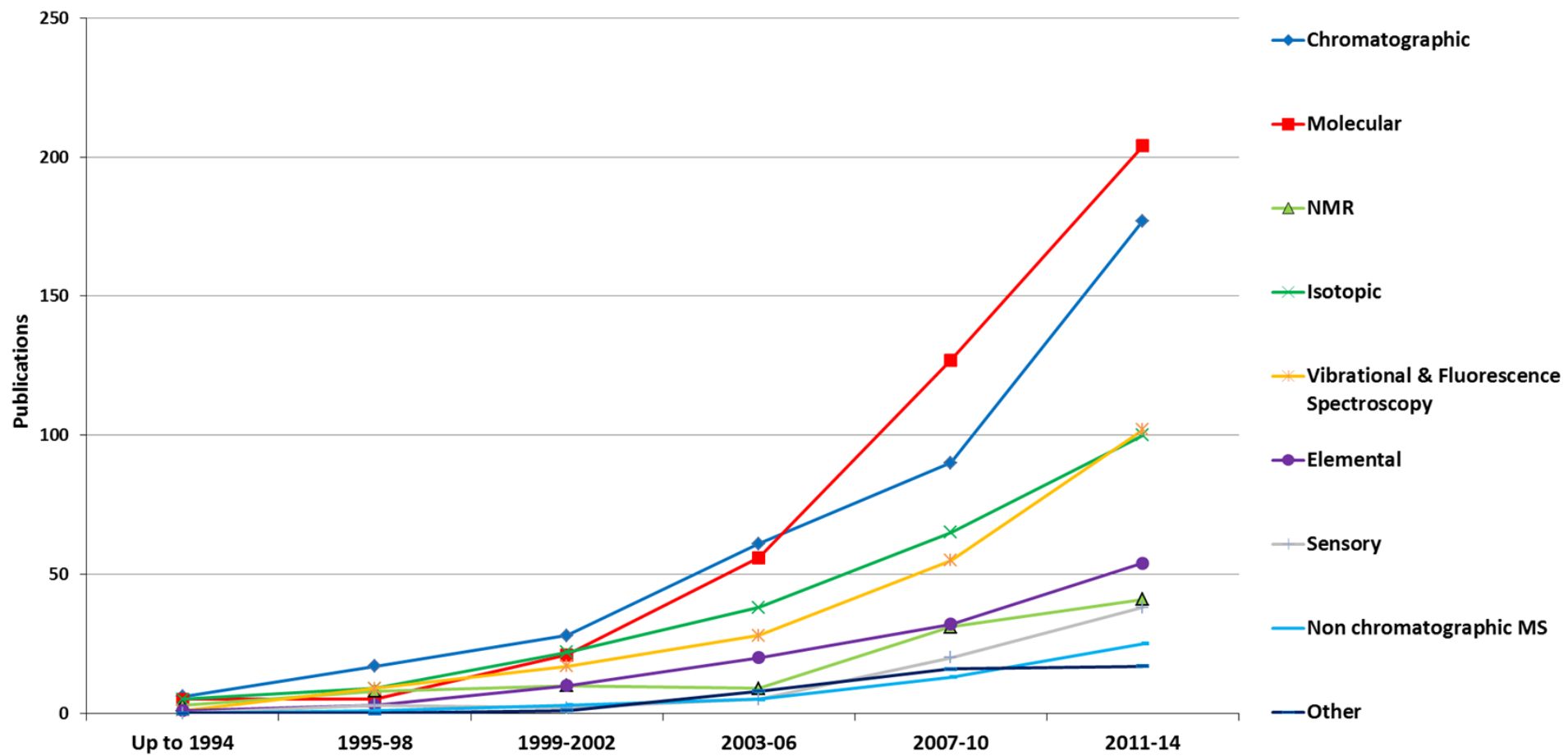
1.2.2 Αναλυτικές τεχνικές που χρησιμοποιούνται για τον έλεγχο της αυθεντικότητας των τροφίμων

Ο προσδιορισμός της αυθεντικότητας περιλαμβάνει ένα ευρύ φάσμα προσεγγίσεων / τεχνικών ελέγχου. Όσον αφορά τον προσδιορισμό της γεωγραφικής προέλευσης, οι αναλυτικές μέθοδοι βασίζονται σε μεγάλο βαθμό στον προσδιορισμό της χημικής σύνθεσης, η οποία μπορεί να είναι αρκετά παρόμοια, ακόμη και όταν τα ίδια τρόφιμα προέρχονται από διαφορετικές γεωγραφικές περιοχές. Έχουν γίνει προσπάθειες για τον προσδιορισμό ορισμένων ενώσεων / στοιχείων ως δείκτες για ορισμένες περιοχές ή / και μεθόδους παραγωγής, για παράδειγμα βιολογική γεωργία. Άλλες μέθοδοι που εφαρμόζονται περιλαμβάνουν τις μοριακές μεθόδους για παράδειγμα την PCR (αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης) όταν ενδιαφερόμαστε να προσδιορίσουμε διαφορετικά στελέχη / είδη.



Σχήμα 1.5. Κατανομή των δημοσιεύσεων στις διάφορες τεχνικές.

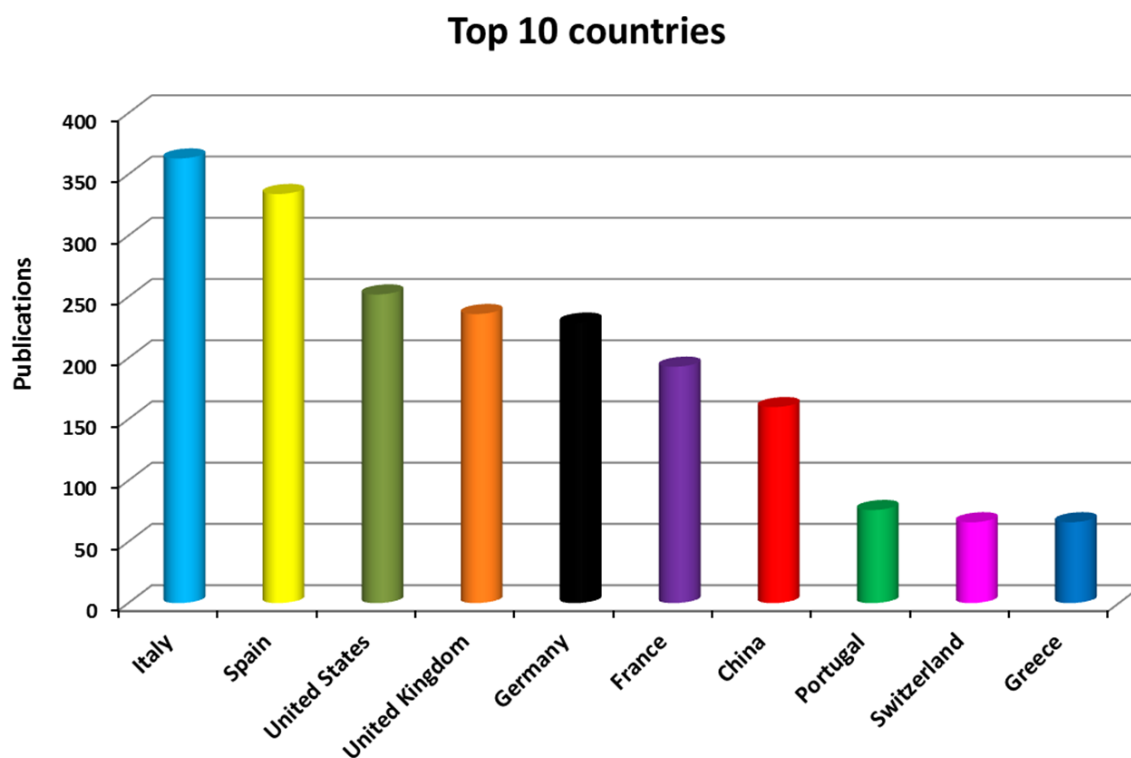
Στο πέρασμα των ετών, διάφορες αναλυτικές τεχνικές έχουν αξιολογηθεί για την καταλληλότητά τους ως προς τις μελέτες αυθεντικότητας των τροφίμων. Όπως φαίνεται στο σχήμα 1.5, οι χρωματογραφικές και μοριακές είναι οι κύριες τεχνικές που παρέχουν απαντήσεις στα ζητήματα αυθεντικότητας των τροφίμων. Αυτές οι δύο ομάδες τεχνικών αντιπροσωπεύουν σχεδόν το ήμισυ των δημοσιευμένων εργασιών. Ακολουθούν οι ισοτοπικές τεχνικές, οι τεχνικές δονητικής φασματοσκοπίας και φθορισμομετρίας, οι UV – Vis, οι πολύστοιχιακές και η φασματοσκοπία NMR. Κάποιες άλλες τεχνικές, όπως μη-χρωματογραφικές τεχνικές φασματομετρίας μαζών (non chromatographic MS), το μικροβιακό αποτύπωμα, και οι οργανοληπτικές αναλύσεις, δεν έχουν αξιοποιηθεί στο μέγιστο, αλλά η γνώμη μας είναι ότι θα βρουν εκτεταμένη χρήση στο άμεσο μέλλον. Αυτό δικαιολογεί την προσοχή της αναλυτικής κοινότητας που έχει να επωφεληθεί από διεπιστημονικές συνεργασίες και συνδυασμό των τεχνικών. Ακόμη όπως παρατηρούμε στο σχήμα 1.6 κατά τη διάρκεια των τεσσάρων τελευταίων ετών οι τεχνικές της χρωματογραφίας, της φασματοσκοπίας δόνησης & φθορισμού καθώς και οι μοριακές τεχνικές αναδύονται σημαντικά στον έλεγχο της αυθεντικότητας.



Σχήμα 1.6. Χρονική εξέλιξη ανά τεχνική.

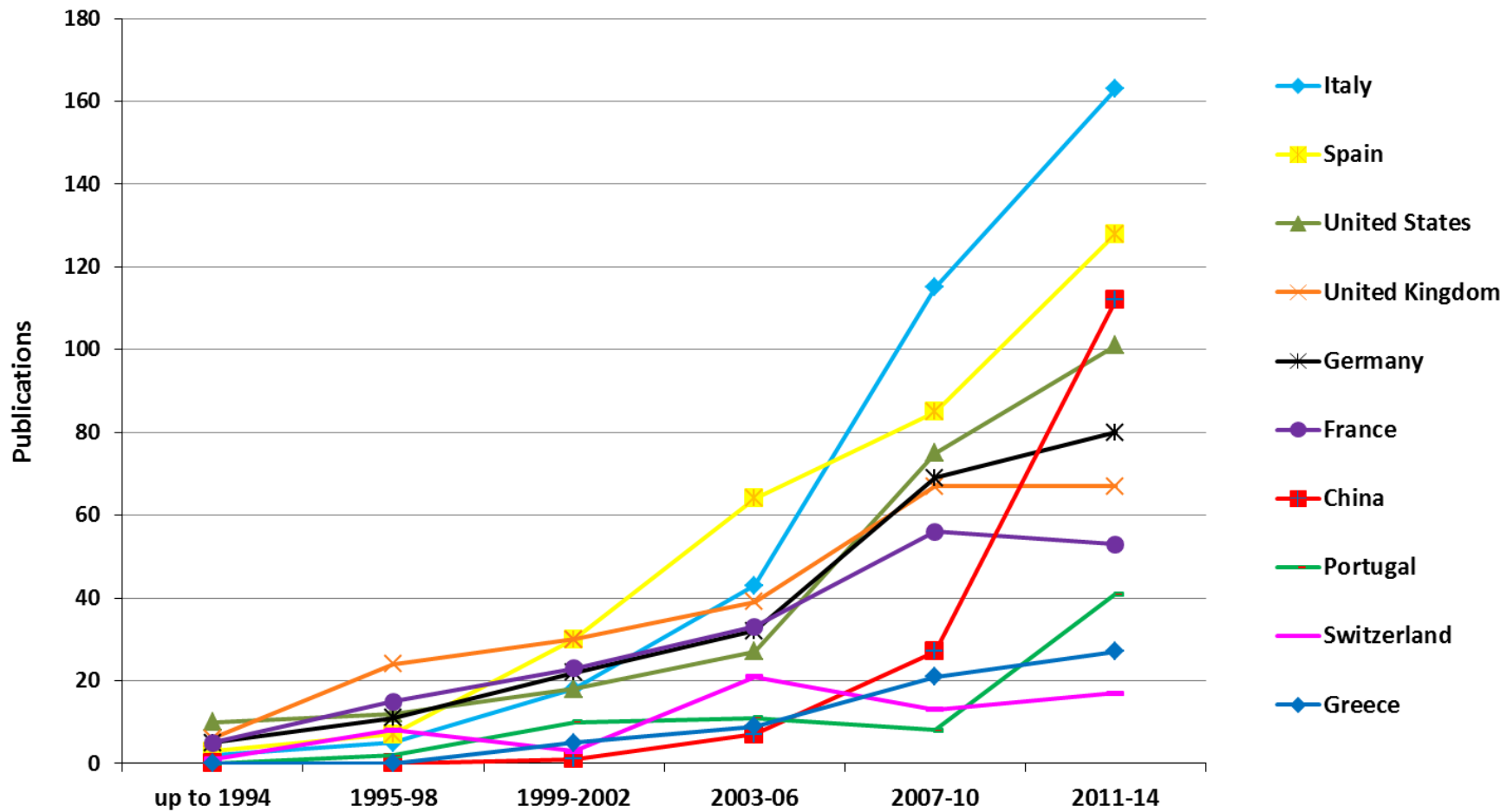
1.2.3 Η ερευνητική δραστηριότητα σε διάφορες χώρες

Όπως παρουσιάζεται στο σχήμα 1.7, οι ευρωπαϊκές χώρες του Νότου, όπως η Ιταλία, η Ισπανία, η Γαλλία, η Πορτογαλία και η Ελλάδα ασχολούνται με μελέτες αυθεντικότητας τροφίμων. Αυτό είναι φυσιολογικό καθώς οι χώρες αυτές παράγουν πληθώρα τροφίμων και κρασιών που έχουν καταχωρηθεί ως ΠΟΠ, ΠΓΕ κλπ. Χώρες με υψηλές επιστημονικές υποδομές και ερευνητικό προσωπικό, όπως για παράδειγμα οι Η.Π.Α., μένουν πίσω στα θέματα της αυθεντικότητας των τροφίμων. Επιπλέον, η Κίνα είναι μια αναδυόμενη χώρα στον τομέα αυτό, όπως φαίνεται στο σχήμα 1.8 αφού υπάρχει μεγάλη αύξηση του αριθμού των δημοσιεύσεων από την Κίνα κατά τα τελευταία 5 έτη. Είναι ενδιαφέρον να σημειωθεί ότι όλες οι χώρες στη λίστα των 10 πιο «δραστήριων», πέρα από τις ΗΠΑ και την Κίνα, είναι ευρωπαϊκές. Αυτό δείχνει το ενδιαφέρον των Ευρωπαίων για την αυθεντικότητα που ήδη είχε ξεκινήσει από την εθνική νομοθεσία σε διάφορες χώρες, όπως η Γαλλία και η Ιταλία αλλά και εδώ και 20 χρόνια στη νομοθεσία της Ε.Ε. Το ενδιαφέρον της Ευρώπης όσον αφορά τα θέματα αυθεντικότητας φαίνεται επίσης και από τη συνεχή χρηματοδότηση σε αντίστοιχες προτάσεις από το FP 5 μέχρι τα σημερινά ερευνητικά προγράμματα του Horizon 2020.



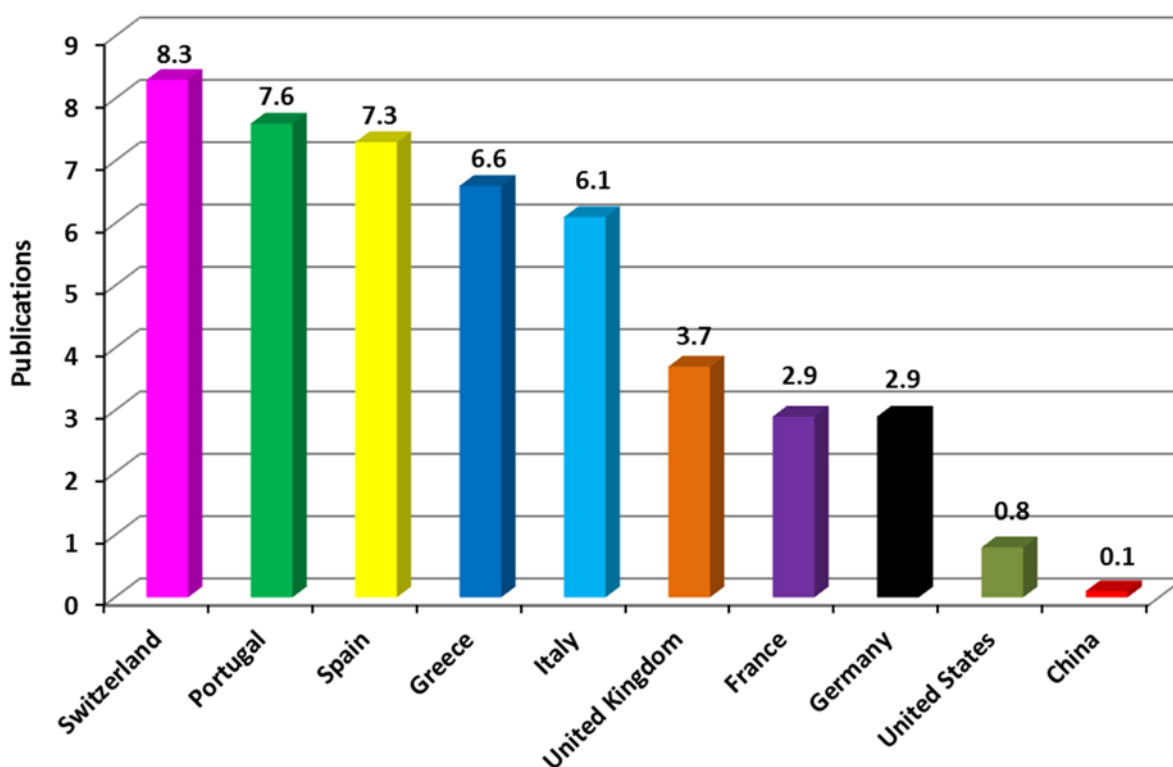
Σχήμα 1.7. Οι 10 χώρες με τις περισσότερες δημοσιεύσεις.

Το σχήμα 1.8 απεικονίζει την διαχρονική εξέλιξη της έρευνας στην αυθεντικότητα των τροφίμων ανά χώρα. Είναι σαφές ότι οι Ιταλοί επιστήμονες είναι πιο δραστήριοι, Αυτό θα μπορούσε να συσχετιστεί με τον υψηλό αριθμό ιταλικών αυθεντικών προϊόντων διατροφής. Η Ιταλία παράγει περισσότερα προϊόντα τροφίμων ΠΟΠ-ΠΓΕ-ΕΠΙΠ από όλους τις άλλες χώρες (σχήμα 1.1). Επίσης οι Κινέζοι συμμετέχουν ενεργά στις μέρες μας. Μια πιθανή εξήγηση για τις εντατικά αναπτυσσόμενες δραστηριότητες στην Κίνας θα μπορούσε να αποδοθεί στην αύξηση του ακαθάριστου εγχώριου προϊόντος ανά κάτοικο και το ενδιαφέρον που συνδέεται με την ποιότητα των προϊόντων διατροφής, όπως για παράδειγμα το ελαιόλαδο. Μια ειδική σημείωση πρέπει να δοθεί και στην Ισπανία, καθώς υπάρχουν και εκεί πολλά αυθεντικά προϊόντα διατροφής.



Σχήμα 1.8. Χρονική εξέλιξη των δημοσιεύσεων ανά χώρα

Ένας διαφορετικός δείκτης που παρέχει χρήσιμες πληροφορίες για τις ερευνητικές προσπάθειες των μεμονωμένων χωρών είναι ο αριθμός των σχετικών δημοσιεύσεων ανά εκατομμύριο πληθυσμού, το οποίο φαίνεται στο σχήμα 1.9. Τα στοιχεία που παρουσιάζονται με αυτό τον τρόπο κανονικοποιούνται σχετικά με το μέγεθος της χώρας. Αξίζει να αναφερθεί το γεγονός ότι ως επί το πλείστον ευρωπαϊκές χώρες δραστηριοποιούνται σχετικά με την αυθεντικότητα των τροφίμων, ενώ οι ΗΠΑ και η Κίνα υστερούν. Επιπλέον, οι χώρες της Νότιας Ευρώπης σύμφωνα με τον δείκτη αυτό είναι πιο δραστήριες από ό, τι οι χώρες της Βόρειας Ευρώπης. Είναι σημαντικό να σημειωθεί εδώ ότι οι χώρες της Νότιας Ευρώπης έχουν μεγάλη βιοποικιλότητα και τα μοναδικά κλιματικά χαρακτηριστικά που συμβάλλουν στην παραγωγή ποιοτικών / αυθεντικών τροφίμων. Αξιοσημείωτη είναι η 1η θέση της Ελβετίας. Θα μπορούσε αυτό να σημαίνει ότι η Ελβετία ενδιαφέρεται περισσότερο στη παράγωγή ποιοτικών προϊόντων διατροφής και αυτό θα μπορούσε να συμβαδίζει με το πλούτο της χώρας;

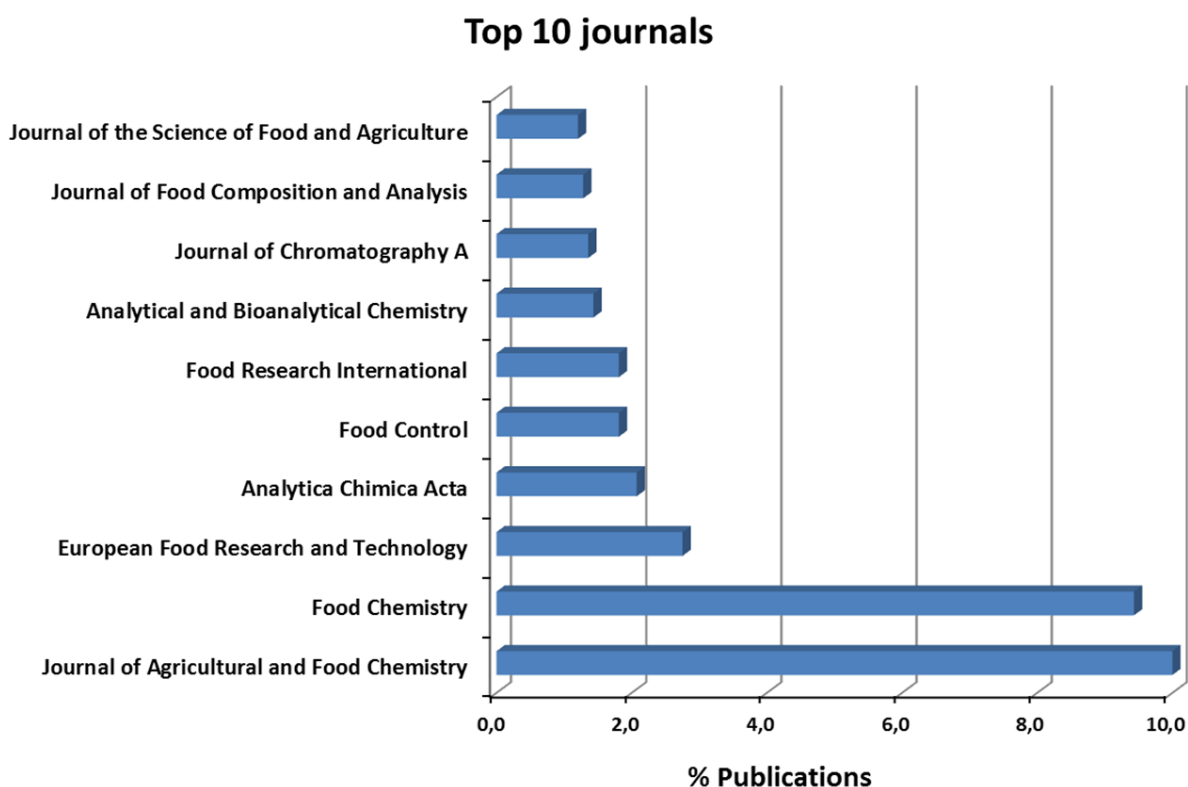


Σχήμα 1.9. Δημοσιεύσεις ανά εκατομμύριο κατοίκων.

1.2.4 Επιστημονικά Περιοδικά

Οι δημοσιεύσεις σχετικά με την αυθεντικότητα των τροφίμων είναι διάσπαρτες σε περισσότερα από 150 επιστημονικά περιοδικά! Οι μελέτες αυθεντικότητας εκτιμώνται ιδιαίτερα από ποικιλία περιοδικών. Ωστόσο, υπάρχει κάποια προτίμηση για συγκεκριμένα

περιοδικά. Ένας σχετικά μεγάλος όγκος των δημοσιεύσεων που αντιπροσωπεύει το 20% του συνόλου (σχήμα 1.10) έχει δημοσιευτεί στα περιοδικά «Journal of Agricultural and Food Chemistry» και «Food Chemistry». Αυτά τα δύο περιοδικά έχουν τους μεγαλύτερους συντελεστές απήχησης (impact factor) στο τομέα των τροφίμων. Αυτό υπογραμμίζει την μεγάλη σημασία των μελετών αυθεντικότητας. Επίσης, το γεγονός ότι η αυθεντικότητα των τροφίμων βασίζεται έντονα στις αναλυτικές τεχνικές φαίνεται από την παρουσία πολλών άρθρων σε περιοδικά που ασχολούνται "καθαρά" με την αναλυτική χημεία, όπως τα "Analytica Chimica Acta", "Analytical & Bioanalytical Chemistry" και "Journal of Chromatography A". Αυτό υποδεικνύει την αναγκαιότητα για αξιόπιστες νέες αναλυτικές μεθόδους για τον έλεγχο της αυθεντικότητας.



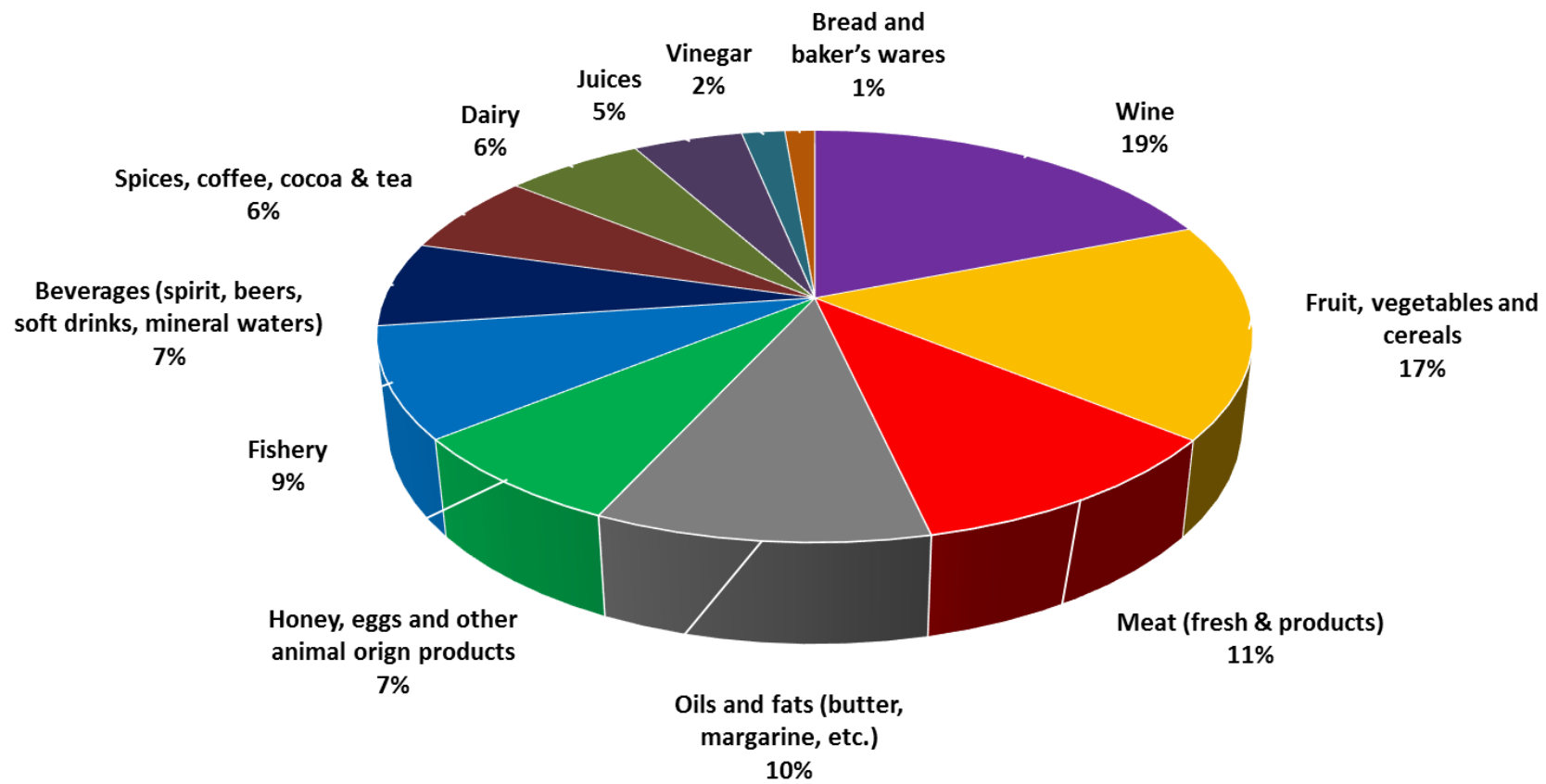
Σχήμα 1.10. Τα 10 «πρώτα» περιοδικά (top 10) στο αντικείμενο της αυθεντικότητας.

1.2.5 Κατηγορίες τροφίμων

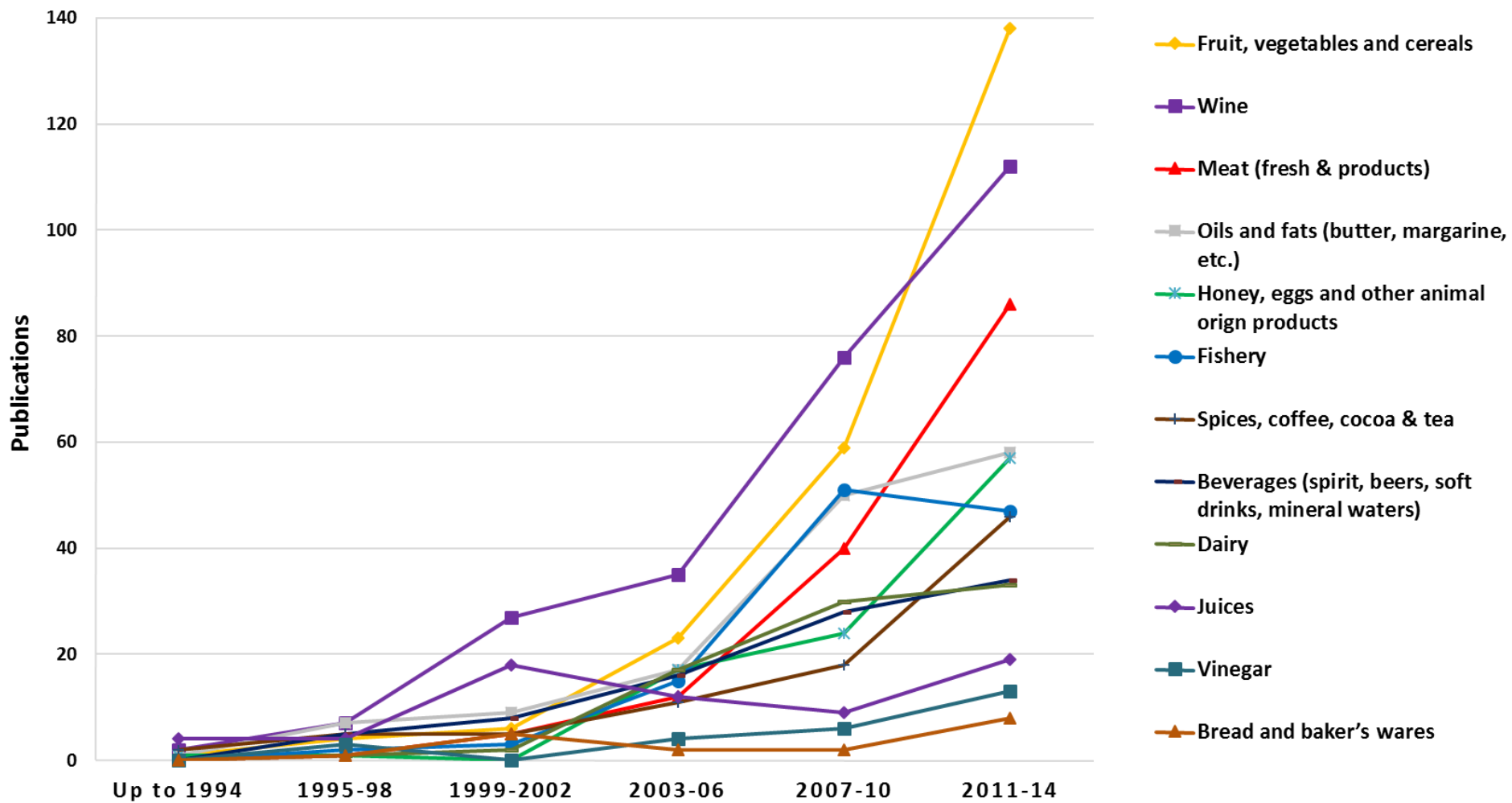
Έχει ιδιαίτερο ενδιαφέρον να δούμε σε ποιες κατηγορίες τροφίμων επικεντρώνονται οι έρευνες σχετικά με την αυθεντικότητα. Έτσι στο σχήμα 11 παρατηρούμε ότι οι κατηγορίες τροφίμων που μελετώνται περισσότερο είναι τα κρασιά, τα φρούτα-λαχανικά-δημητριακά, τα κρέατα (νωπά και προϊόντα κρέατος) καθώς και λίπη και έλαια. Ενδιαφέρον παρουσιάζουν ο σχετικά υψηλός αριθμός δημοσιεύσεων της κατηγορίας των μπαχαρικών-καφέ-κακάο-τσάι καθώς και μελιών. Αυτό ήταν αναμενόμενο αφού αυτά τα προϊόντα παρουσιάζουν πολύ υψηλές τιμές αναλογικά με το βάρος αυτών των προϊόντων. Είναι πολύ φυσικό αφού όλα τα προαναφερθέντα προϊόντα «προτιμούνται» για νοθεία μιας και το οικονομικό κέρδος θα είναι μεγαλύτερο.

Στο σχήμα 1.12 παρουσιάζεται η χρονική εξέλιξη των δημοσιεύσεων ανά κατηγορία τροφίμου. Παρατηρούμαι ιδιαίτερη αύξηση την τελευταία τετραετία στις εξής κατηγορίες: φρούτα-λαχανικά-δημητριακά, κρέατα (νωπά και προϊόντα κρέατος) μπαχαρικά-καφές-κακάο-τσάι, μέλι κλπ. αλλά και τα κρασιά. Μάλιστα σε αυτές τις κατηγορίες, εκτός από τα κρασιά, έχουμε υπερδιπλασιασμό των δημοσιεύσεων σε μόλις 4 χρόνια! Σε άλλες κατηγορίες, όπως λίπη και έλαια, γαλακτοκομικά και ποτά (πλην κρασιών), ο αριθμός των δημοσιεύσεων μένει σχεδόν σταθερός την τελευταία τετραετία. Ακόμη ο αριθμός των δημοσιεύσεων για τα ιχθυηρά μειώνεται ελαφρά. Γενικά πάντως σε όλες σχεδόν τις κατηγορίες τροφίμων ο αριθμός των δημοσιεύσεων αυξάνεται στο πέρασμα των χρόνων, με μία «έκρηξη» την τελευταία δεκαετία!

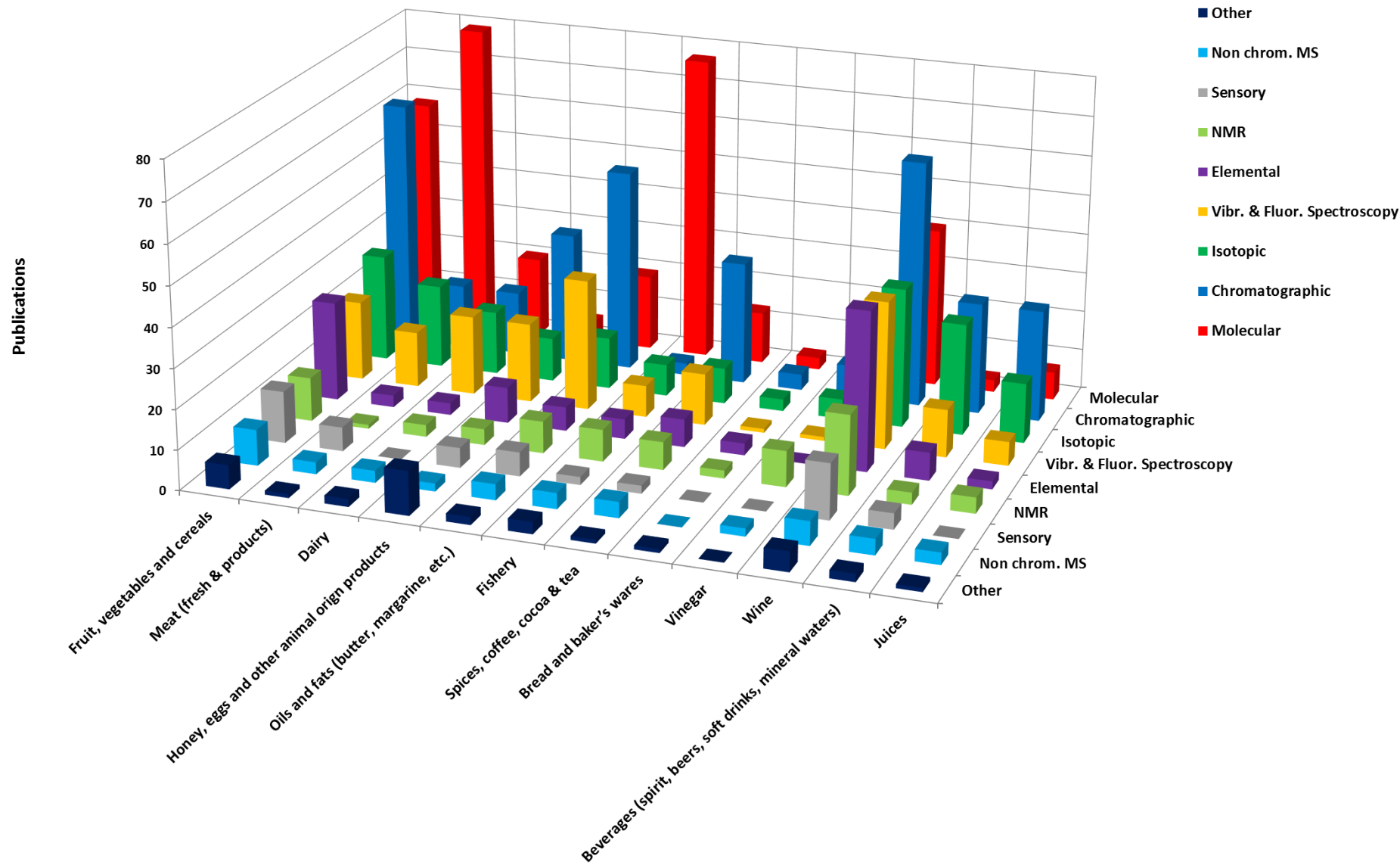
Πολύ ενδιαφέρουσα, επίσης, είναι η αντιστοίχιση των κατηγοριών τροφίμων με τις τεχνικές με τις οποίες προτιμούνται για την αξιολόγηση της αυθεντικότητας των τροφίμων (σχήμα 1.13). Όπως ήταν αναμενόμενο τα για κρέατα και ιχθυηρά προτιμώνται κυρίως οι μοριακές τεχνικές. Ομοίως και για τα γαλακτοκομικά σε μικρότερο όμως βαθμό. Αυτή η αυξημένη χρήση των μοριακών τεχνικών γι' αυτά τα προϊόντα είναι λογική. Αυτό γιατί οι τύποι νοθείας σε αυτά αφορούν συνήθως την χρησιμοποίηση διαφορετικών τύπων ζώων, όπως το σκάνδαλο με το κρέας αλόγου, ή ακόμη και διαφορετικών ειδών ή υποειδών από αυτά που λένε οι ετικέτες των τροφίμων. Οι χρωματογραφικές τεχνικές καταλαμβάνουν ένα πολύ σημαντικό μέρος των εργασιών σε όλους τους τύπους τροφίμων. Έτσι καταλαμβάνουν την πρώτη – πιο επιλεγόμενη κατηγορία τεχνικών για την εκτίμηση της αυθεντικότητας στα εξής: φρούτα-λαχανικά-δημητριακά, μέλι κλπ., λίπη & έλαια, μπαχαρικά-καφές-κακάο-τσάι, κρασιά, χυμούς και ποτά (πλην κρασιών). Αξιοσημείωτη επίσης είναι η παρουσία των ισοτοπικών τεχνικών σε όλες τις κατηγορίες τροφίμων. Ιδιαίτερα στα κρασιά, στα κρέατα, στα ποτά (πλην κρασιών), στα γαλακτοκομικά προϊόντα, στα φρούτα-λαχανικά-δημητριακά και στους χυμούς. Μάλιστα στα ποτά (πλην κρασιών) οι ισοτοπικές τεχνικές είναι στην πρώτη θέση. Αυτό εξηγείται από το γεγονός ότι το ισοτοπικό προφίλ επηρεάζεται κυρίως από περιβαλλοντικούς και γεωλογικούς παράγοντες. Παρομοίως όπως οι ισοτοπικές τεχνικές, έτσι η δονητική φασματοσκοπία και η φασματοσκοπία φθορισμού αποτελούν άλλον ένα σημαντικό τύπο τεχνικών για τις μελέτες αυθεντικότητας. Περισσότερο χρησιμοποιούνται στα λίπη & έλαια (όπου αποτελούν από ιδανικότερες λύσεις), μέλια κλπ., κρασιά και γαλακτοκομικά. Οι στοιχειακές τεχνικές χρησιμοποιούνται περισσότερο για τα κρασιά και για φρούτα-λαχανικά-δημητριακά. Η τεχνική NMR χρησιμοποιείται περισσότερο για κρασιά και ξύδια. Τέλος οι οργανοληπτικές εξετάσεις εφαρμόζονται περισσότερο σε κρασιά (όπως ήταν αναμενόμενο) και σε φρούτα-λαχανικά-δημητριακά.



Σχήμα 1.11 Κατανομή των δημοσιεύσεων παγκοσμίως που αφορούν την αυθεντικότητα ανά κατηγορία τροφίμων



Σχήμα 1.12 Χρονική εξέλιξη των δημοσιεύσεων παγκοσμίως ανά κατηγορία τροφίμων



Σχήμα 1.13 Κατανομή των δημοσιεύσεων παγκοσμίως ανά κατηγορία τροφίμων και τεχνική

1.2.6 Συμπεράσματα

Ο προσδιορισμός της αυθεντικότητας τροφίμων είναι ένα σημαντικό ζήτημα στον έλεγχο ποιότητας και την ασφάλειας των τροφίμων. Τα τελευταία χρόνια, πολλές ασθένειες παρουσιάστηκαν να σχετίζονται με την κατανάλωση κάποιων τροφίμων, γεγονός που ώθησε την επιστημονική κοινότητα να εργαστεί εκτενώς σε αυτόν τον τομέα. Η αυθεντικότητα είναι ένα κριτήριο ποιότητας για τρόφιμα και συστατικά τροφίμων, που αναφέρεται όλο και περισσότερο παγκοσμίως, σαν αποτέλεσμα της νομοθετικής προστασίας των «τοπικών» προϊόντων. Συνεπώς υπάρχει επιτακτική ανάγκη για μεθόδους ελέγχου της αυθεντικότητας των τροφίμων, έτσι ώστε οι καταναλωτές να γνωρίζουν τι τρόφιμα τρώνε, βελτιώνοντας την ασφάλεια και την ποιότητα στο εμπόριο των τροφίμων. Επιπλέον, βιομηχανίες ψάχνουν την ευκαιρία να διασφαλίσουν την αυθεντικότητα των τροφίμων τους και να αποκομίσουν όφελος από αυτή ή/και ακόμη να αιτιολογήσουν το αυξημένο κόστος παραγωγής. Τέλος, ρυθμιστικοί φορείς και αρχές τροφίμων αναζητούν μια εκτεταμένη και ενημερωμένη λίστα αναλυτικών μεθόδων με τις οποίες θα μπορούσαν να επιβεβαιώσουν τα γνήσια προϊόντα.

Οι Αναλυτικοί Χημικοί, με βάση τις γνώσεις τους στις αναλυτικές τεχνικές και μεθόδους, θα πρέπει να οδηγούν την έρευνα για τον έλεγχο της αυθεντικότητας των τροφίμων. Επιπλέον, με το προηγούμενα κομμάτια παρέχεται μια ενημερωμένη επιστημονομετρική (scientometric) αξιολόγηση του τομέα, δίνοντας τις τάσεις που φαίνεται ότι θα κυριαρχούν στο μέλλον. Για το σκοπό αυτό, οι αναγνώστες θα πρέπει να κατανοήσουν ότι ο τομέας απαιτεί τη δι-επιστημονική συνεργασία. Όσον αφορά τις τεχνικές, η χρήση μοριακών τεχνικών είναι πιο εκτεταμένη για τον προσδιορισμό των ειδών και της βοτανικής προέλευσης, ενώ όλες οι άλλες τεχνικές ασχολούνται κατά κύριο λόγο με τη γεωγραφική προέλευση και τη νοθεία. Η Φασματομετρία Μαζών βρίσκεται στη πρώτη γραμμή της τεχνολογίας, αντικαθιστώντας άλλες παραδοσιακές τεχνικές σε πολλούς τομείς της επιστήμης των τροφίμων. Η τάση αυτή επεκτείνεται και στο έλεγχο της αυθεντικότητας των τροφίμων, λόγω των αξεπέραστων πλεονεκτημάτων της Φασματομετρίας Μαζών, όπως υψηλή ευαισθησία, εκλεκτικότητα, ταχύτητα και η δυνατότητα ταυτόχρονων προσδιορισμών πολλών αναλυτών διαφορετικών ιδιοτήτων (π.χ. πολυ-υπολειμματικές, πολυ-στοιχειακές μέθοδοι) [1]. Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι αυτή η δυνατότητα ταυτόχρονου προσδιορισμού πολλών αναλυτών είναι απαραίτητη για τις μελέτες αυθεντικότητας τροφίμων καθώς όσο αυξάνονται οι δείκτες αυθεντικότητας τόσο αυξάνονται και οι πιθανότητες επιτυχίας των μοντέλων για διαφοροποίηση των τροφίμων [21]. Ως αποτέλεσμα, φτάνουμε σε ένα σημείο με ένα τεράστιο όγκο δεδομένων, τα οποία πρέπει να διαχειριστούν. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιούνται διάφορες χημειομετρικές τεχνικές και η βιοπληροφορική για την καλύτερη αξιοποίηση των δεδομένων.

2. Ανόργανα στοιχεία

2.1 Γενικά

2.1.1 Τοξικά στοιχεία

Επιμόλυνση

Όσο αφορά στην ασφάλεια των τροφίμων, υπάρχει πλήθος επιμολυντών-ρυπαντών που προκύπτουν κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας των τροφίμων ή προέρχονται από το περιβάλλον ή από τα υλικά της συσκευασίας. Τα τοξικά στοιχεία και ιδιαίτερα τα βαρέα μέταλλα αποτελούν ένα σημαντικό μέρος αυτών των επιμολυντών. Η επιμόλυνση των τροφίμων από βαρέα μέταλλα είναι ένα συχνό πρόβλημα στις μέρες μας. Βαρέα μέταλλα υπάρχουν παντού στη φύση και δεν μπορούν να αποσυντεθούν ή να καταστραφούν. Η ρύπανση του αέρα, του εδάφους και του νερού συμβάλλουν στην παρουσία επικίνδυνων στοιχείων στα τρόφιμα. Ο «εμπλουτισμός» των οικοσυστημάτων με τα βαρέα μέταλλα προέκυψε από την ταχεία βιομηχανική ανάπτυξη, τη χρήση χημικών στη γεωργία και τις αστικές δραστηριότητες των ανθρώπων. Επιπλέον η πιθανή επαφή μεταξύ του τροφίμου και των μεταλλικών επένδυσης της επιφάνειας της συσκευασίας ή του εξοπλισμού της επεξεργασίας του τροφίμου είναι μια σημαντική πηγή επιμόλυνσης με τοξικά στοιχεία στα τρόφιμα. Συνεπώς, οι πηγές μόλυνσης στα τρόφιμα περιλαμβάνουν την περιβαλλοντική και βιομηχανική ρύπανση, τις γεωργικές πρακτικές, την επεξεργασία του τροφίμου και τη μεταφορά από τη συσκευασία [22-24].

Τοξικότητα μεταξύ «χημικών μορφών»

Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως τα μέταλλα καταλήγουν στα τρόφιμα είτε φυσικά είτε ως αποτέλεσμα ρύπανσης ή/και της επεξεργασίας. Ενώ πολύ μικρές ποσότητες κάποιων μετάλλων (π.χ. Fe, Mg, Mn, Mo, Zn, Co, Ni, Cr) είναι απαραίτητα στοιχεία, μεγαλύτερες ποσότητες αυτών ή και άλλα μέταλλα (π.χ. Cd, Hg, Pb, Sn, Sb) ή μεταλλοειδή (As, Po) μπορεί να είναι εξαιρετικά τοξικά. Κάποια παραδείγματα είναι ο μεθυλδράργυρος και το κάδμιο σε ψάρια και οστρακοειδή [22, 25-27], το αρσενικό στο ρύζι και το νερό [28, 29], ο μόλυβδος στο νερό [30] και ο κασσίτερος στα τρόφιμα με μεταλλικές συσκευασίες [31]. Η τοξικότητα συνήθως ποικίλει μεταξύ των «χημικών μορφών» των μετάλλων (στοιχειακή-ιοντική-οργανική) και μεταξύ των οξειδωτικών καταστάσεών τους. Για παράδειγμα ο μεθυλδράργυρος είναι πολύ περισσότερο τοξικός από τον στοιχειακό υδράργυρο, το ανόργανο αρσενικό είναι πολύ πιο τοξικό από το οργανικό αρσενικό και το Cr (VI) είναι πιο τοξικό από το Cr (III) αντίστοιχα [1, 32, 33].

Προβλήματα υγείας

Τόσο η έλλειψη τροφής όσο και η κακή ποιότητά της έχουν δημιουργήσει σοβαρά προβλήματα στην ανθρώπινη υγεία στο πέρασμα των αιώνων. Σήμερα, υπολογίζεται ότι 3 δισεκατομμύρια άνθρωποι παγκοσμίως υποφέρουν είτε από ανεπάρκεια κάποιων απαραίτητων ιχνοστοιχείων είτε από τοξικότητα των βαρέων μετάλλων από επιμολυσμένα

τρόφιμα. Τα τοξικά στοιχεία μπορούν να βιοσυσσωρεύονται στο σώμα και να προκαλούν καταστροφές στα όργανα και ιδιαίτερα σε ευαίσθητες ομάδες του πληθυσμού όπως τα έμβρυα και τα νεογνά παιδιά. Χρόνια συσσώρευση τοξικών μετάλλων στο ανθρώπινο σώμα μπορεί να προκαλέσει σοβαρά προβλήματα υγείας: κατεστραμμένη ή μειωμένη λειτουργία του κεντρικού νευρικού συστήματος, χαμηλά επίπεδα ενέργειας και προβλήματα στη σύσταση του αίματος, στους πνεύμονες, τα νεφρά, το συκώτι και άλλα ζωτικά όργανα. Επίσης η έκθεση για μεγάλα χρονικά διαστήματα μπορεί να οδηγήσει σε σταδιακές εκφυλιστικές διαδικασίες στους μύες και το νευρικό σύστημα που ομοιάζουν με την ασθένεια του Alzheimer, του Parkinson, τη μυϊκή δυστροφία, πολλαπλή σκλήρωση και καρκίνο. Ακόμα, οι αλλεργίες από αυτές τις αιτίες δεν σπανίζουν. Πολλές από αυτές τις ασθένειες προκαλούνται διότι τοξικά στοιχεία μιμούνται τη δράση ενός απαραίτητου στοιχείου στο σώμα, παρεμβαίνοντας στη μεταβολική διαδικασία. Για παράδειγμα το As, στην οξειδωτική κατάσταση +3 έχει εμφανή ικανότητα να δρα σαν λειτουργικός μιμητής του οιστρογόνου (εστραδιόλη) στα σημεία του υποδοχέα του οιστρογόνου. Επίσης το ράδιο μιμείται το ασβέστιο σε τέτοιο βαθμό ώστε να ενσωματώνεται στο ανθρώπινα οστά. Γι αυτό, όλα τα τοξικά στοιχεία χρήζουν εξαιρετικής προσοχής στα τρόφιμα εξαιτίας της υψηλής τοξικότητάς τους, ιδιαίτερα όταν πρόκειται για μακροχρόνια πρόσληψη [22, 23, 34-40].

Νομοθεσία

Με στόχο να περιορίσει τους κινδύνους που αφορούν στην ανθρώπινη υγεία, η Ευρωπαϊκή Επιτροπή έχει ορίσει μέγιστα επίπεδα βαρέων μετάλλων όπως ο μόλυβδος, ο υδράργυρος και το κάδμιο σε διάφορα τρόφιμα, από τον Κανονισμό της Επιτροπής (EC) No 1881/2006 [41] την τροπολογία του Κανονισμού της επιτροπής (EC) No 629/2008 [42] και επιπλέον στις ζωοτροφές από την Οδηγία της επιτροπής (EC) No 2002/32 [43]. Επιπρόσθετα, η Ευρωπαϊκή Επιτροπή κατέθεσε όρια μεταναστεύσης για το μόλυβδο και το κάδμιο που μπορεί να μεταφερθούν από κεραμικά αντικείμενα στα τρόφιμα καθώς και δήλωση συμμόρφωσης μαζί τα κριτήρια απόδοσης της αναλυτικής μεθόδου με κοινοτική οδηγία (EEC) 84/500 [44] και την τροπολογία της (EC) 2005/31 [45]. Επιπλέον, η ευρωπαϊκή επιτροπή κατέθεσε όρια μεταναστεύσης για το βάριο, το κοβάλτιο, το χαλκό, το σίδηρο, το λίθιο, το μαγγάνιο, και τον ψευδάργυρο όσον αφορά στα πλαστικά υλικά που πρόκειται να έρθουν σε επαφή με τα τρόφιμα και ακόμα όρια για ψευδάργυρο, χαλκό, μόλυβδο, αρσενικό, χρώμιο όσον αφορά στη σύνθεση της πολυμερικής σκόνης από την οποία θα κατασκευαστεί το πλαστικό, με βάση τον κανονισμό της επιτροπής (EC) No 10/2011 [46]. Η Ευρωπαϊκή Επιτροπή έχει ορίσει μεθόδους δειγματοληψίας και ανάλυσης για τον επίσημο έλεγχο των επιπέδων των βαρέων μετάλλων και άλλων προσμείξεων από με τον Κανονισμό της Επιτροπής (EC) No 333/2007 [47]. Όσον αφορά το νερό που προορίζεται για ανθρώπινη κατανάλωση, η Ευρωπαϊκή Επιτροπή έχει επίσης ορίσει τα μέγιστα επίπεδα με την Κοινοτική Οδηγία (EEC) 98/83 [48]. Παγκόσμια υπάρχουν επίσης όρια που αφορούν τα βαρέα μέταλλα στα τρόφιμα και το νερό. Κάποια από αυτά αναφέρονται παρακάτω:

Διεθνώς: WHO, FAO, Codex Alimentarius Commission (CODEX) General standard for contaminants and toxins in food and feed CODEX STAN 193-1995 με την τροποποίησή του 2010 και στα νερά [49, 50].

Εθνικά: ΗΠΑ, Food and Drug Administration (FDA), EPA National Primary Drinking Water Regulations [51]

Αυστραλία και Νέα Ζηλανδία, FSANZ: Standard 1.4.1 - Contaminants and Natural Toxicants [52]

Κίνα, National Food Safety Standard-Maximum Levels of Contaminants in Food, Standard 2762 [53].

2.1.2 Θρεπτικά - Απαραίτητα στοιχεία

Βιολογική λειτουργία, προβλήματα ανεπάρκειας & βιοδιαθεσιμότητα

Όσον αφορά στην ποιότητα των τροφίμων, όπως προαναφέρθηκε, πολύ μικρές ποσότητες αυτών των στοιχείων: Fe, Mn, Mo, Zn, Co, Ni, Cr, Se, Cu, Si, I και F είναι απαραίτητα για τη σωστή υγεία του ανθρώπου, πέρα από τα H, C, N, O, Na, K, S, Cl, Mg, Ca και P που χρειάζονται σε σχετικά μεγάλες ποσότητες σε ένα διαιτολόγιο. Υπάρχει επίσης μία ομάδα στοιχείων που ονομάζονται ύπερ-ιχνοστοιχεία (ultra-trace) και περιλαμβάνει τα V, Sn, Ni, As και B τα οποία ερευνούνται για πιθανή βιολογική δράση αλλά προς το παρόν δεν έχουν προσδιοριστεί ξεκάθαρα οι βιοχημικοί τους ρόλοι [54].

Παγκόσμια κατάσταση, κατευθυντήριες γραμμές – προσλήψεις αναφοράς (reference intake)

Παγκοσμίως, περισσότεροι από 2 δισεκατομμύρια άνθρωποι βρίσκονται σε υψηλό κίνδυνο από την έλλειψη τουλάχιστον ενός ιχνοστοιχείου, ιδιαίτερα σε χώρες με χαμηλά εισοδήματα. Σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (WHO, World Health Organization) οι συχνότερες ελλείψεις είναι αυτές του σιδήρου, του ιωδίου και του ψευδαργύρου ακολουθούμενες από αυτές του σεληνίου και του χαλκού. Παρόλο που τα μέταλλα γενικά υπάρχουν στα τρόφιμα, απαντώνται συνήθως σε περιορισμένες ποσότητες. Για να καλύψουμε τις ημερήσιες ανάγκες μας σε μέταλλα, οι δίαιτες πρέπει να περιέχουν ευρεία ποικιλία τροφίμων. Παρόλα αυτά, πολλά από τα μέταλλα που περιέχονται στα τρόφιμα απορροφώνται σε μικρές ποσότητες από το σώμα. Ειδικότερα οι άνθρωποι που ακολουθούν δίαιτες χαμηλές σε θερμίδες για παρατεταμένες περιόδους βρίσκονται σε υψηλό κίνδυνο για να αναπτύξουν ελλείψεις σε μέταλλα.

Με σκοπό να προλάβει τις ελλείψεις σε μέταλλα καθώς επίσης και για να μειώσει τον κίνδυνο χρόνιων ασθενειών όπως η οστεοπόρωση, ο καρκίνος και οι καρδιαγγειακές παθήσεις, η Scientific Committee on Food (SCF) της Ευρωπαϊκής Επιτροπής έχει καθιερώσει από το 1993 τις μέσες απαιτήσεις (AR, Average Requirements), τις προσλήψεις αναφοράς πληθυσμού (PRI, Population Reference Intakes), τις ελάχιστες δυνατές προσλήψεις (LTI, Lowest Threshold Intake) και τις μέγιστες ασφαλείς προσλήψεις (MSI, maximum safe intake) για κάθε στοιχείο. Στις μέρες μας η Ευρωπαϊκή αρχή για την ασφάλεια των τροφίμων (EFSA, European Food Safety Authority) έχοντας λάβει υπόψιν τα νέα επιστημονικά στοιχεία και τις πρόσφατες συστάσεις που εκδόθηκαν σε εθνικό και διεθνές επίπεδο, ανανέωσε όλα αυτά τα όρια και πρόσθεσε τις επαρκείς ποσότητες πρόσληψης (AI, adequate intake) καθώς και τα όρια πρόσληψης για τα μακροστοιχεία (RI, Reference Intake). Οι απαιτήσεις στα απαραίτητα

στοιχεία διαφέρουν ανάλογα με την ηλικία, το φύλο και τη σωματική κατάσταση. Επίσης, ξεχωριστές τιμές αναφοράς έχουν καθοριστεί για εγκύους και θηλάζουσες γυναίκες. Όμως τα περισσότερα κράτη-μέλη της ευρωπαϊκής ένωσης (EU) έχουν δημιουργήσει τις δικές τους ποσοτικές διαιτολογικές προτάσεις με ποικίλα ονόματα (π.χ. Dietary Reference Values, UK), με τιμές προσαρμοσμένες στις διαφορετικές πληθυσμιακές ομάδες (παιδιά, έφηβοι, έγκυες γυναίκες ή ηλικιωμένοι). Παρόλα αυτά η EFSA «πιέζει» για να καθιερωθούν κοινές διαιτητικές τιμές αναφοράς σχεδιασμένες ώστε να διασφαλίσουν μία δίαιτα που να παρέχει ενέργεια και θρεπτικά στοιχεία για τη βέλτιστη ανάπτυξη, λειτουργία και υγεία εφ' όρου ζωής. Επιθυμεί να μετατοπίσει την υπάρχουσα σύγχυση σχετικά με τα υπάρχοντα συστήματα, όπως τα European Dietary Reference Values (DRV) και Recommended Dietary Allowances (RDA) που χρησιμοποιούνται στις διαιτητικές τιμές αναφοράς (DRVs, Dietary reference values) των Η.Π.Α. και υποδεικνύουν την ποσότητα ενός συγκεκριμένου στοιχείου που οι άνθρωποι χρειάζονται για να είναι υγιείς με βάση την ηλικία και το φύλο τους. Τέλος, με τον κανονισμό της επιτροπής (EC) No 1169/2011, η Ευρωπαϊκή Ένωση καθιέρωσε τις ημερήσιες τιμές πρόσληψης (DRI, daily reference intakes) για βιταμίνες και μέταλλα που μπορούν να αναγράφονται στις ετικέτες των τροφίμων [55-57].

Άλλοι τρόποι έκφρασης των τιμών αναφοράς που χρησιμοποιούνται για την διατροφική αξία των τροφίμων είναι τα Recommended Dietary Allowances (RDA) και το μέγιστο ανεκτό επίπεδο πρόσληψης (UL, upper intake levels). Τα RDA είναι η ημερήσια διαιτολογική πρόσληψη ενός στοιχείου που θεωρείται επαρκής σε κάθε ηλικιακή ομάδα και φύλο. Το UL είναι το μέγιστο επίπεδο της συνολικής ημερήσιας πρόσληψης ενός στοιχείου (από όλες τις πηγές) που κρίνεται μη ικανό να προκαλέσει κίνδυνο για δυσμενείς επιπτώσεις στην υγεία του ανθρώπου. Αυτό είναι το υψηλότερο επίπεδο ημερήσιας κατανάλωσης που τα τωρινά στοιχεία έχουν δείξει ότι δεν προκαλεί παρενέργειες στον άνθρωπο όταν χρησιμοποιούνται χωρίς ιατρική παρακολούθηση. Οι WHO/FAO και USDA (United States Department of Agriculture) έχουν επίσης προσδιορίσει τις τιμές για τα RDA και UL. Το τμήμα διατροφής για την υγεία και την ανάπτυξη WHO (Department of Nutrition for Health and Development) σε συνεργασία με το FAO συνεχώς επανεξετάζει τις νέες έρευνες και πληροφορίες από ολόκληρο τον κόσμο σχετικά με τις ανθρώπινες απαιτήσεις σε θρεπτικά στοιχεία και τις συνιστώμενες τιμές πρόσληψής τους. Αυτό είναι ένα σχεδόν απέραντο και ατελείωτο εγχείρημα δεδομένου του μεγάλου αριθμού των απαραίτητων για τον άνθρωπο θρεπτικών ενώσεων και στοιχείων. Σε όλα αυτά συμπεριλαμβάνονται πρωτεΐνες, ενέργεια (θερμίδες), υδρογονάνθρακες, λιπίδια, ένα εύρος βιταμινών και πλήθος ιχνοστοιχείων [58, 59].

2.2 Σπάνιες Γαίες

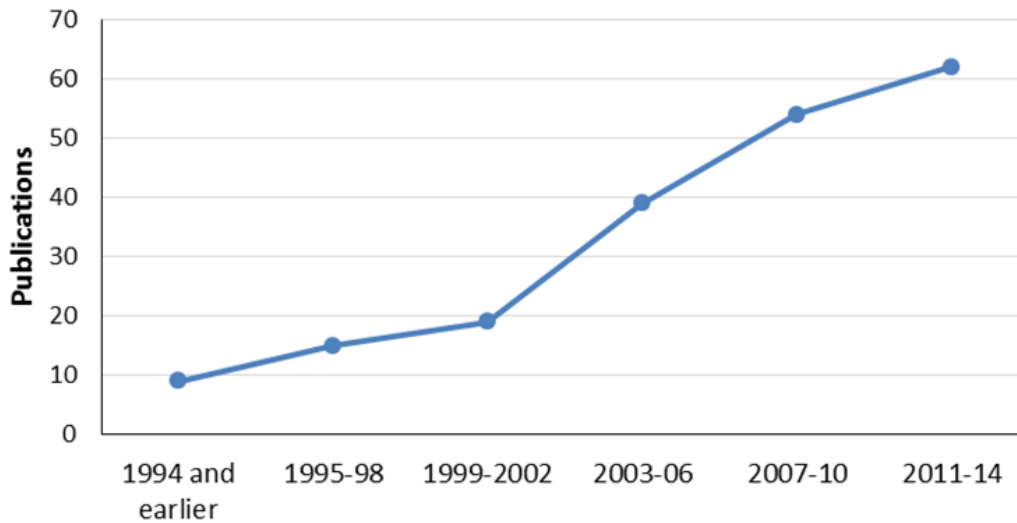
2.1 Εισαγωγή

Η Διεθνής Ένωση Καθαρής και Εφαρμοσμένης Χημείας (International Union of Pure and Applied Chemistry, IUPAC), η οποία είναι υπεύθυνη για την διεθνή ονοματολογία στη χημεία, αναγνωρίζει 15 στοιχεία μετάπτωσης ως λανθανίδες. Τα στοιχεία αυτά έχουν

ατομικούς αριθμούς από 57 (λανθάνιο) έως 71 (λουτέτιο) και παρουσιάζουν παρόμοιες φυσικοχημικές ιδιότητες. Επίσης είναι γνωστά και ως σπάνιες γαίες (Rare earth elements, REEs). Από αυτά μόνο ένα δεν βρίσκεται φυσικά στον φλοιό της Γης, το προμήθειο, ${}_{61}\text{Pm}$. Το προμήθειο παράγεται σε πυρηνικούς αντιδραστήρες, με νετρονική διάσπαση του ουρανίου (U^{235}) ή με βομβαρδισμό του πυρήνα νεοδυμίου με νετρόνια που προέρχονται από τη σχάση του πυρήνα Ουρανίου. Στις σπάνιες γαίες εκτός από τις λανθανίδες περιλαμβάνονται επιπλέον το σκάνδιο ${}_{21}\text{Sc}$ και το ύτριο ${}_{39}\text{Y}$. Τα στοιχεία αυτά βρίσκονται συνήθως στα ίδια ορυκτά με τις λανθανίδες και παρουσιάζουν κοινές φυσικοχημικές ιδιότητες.

Οι σπάνιες γαίες μέχρι και την δεκαετία του 90' δεν απασχολούσαν ιδιαίτερα την επιστημονική κοινότητα των τροφίμων. Αντιθέτως σήμερα βρίσκονται στο ενδιαφέρον της επιστήμης τροφίμων. Υπάρχει μια αυξανόμενη τάση ενασχόλησης με τις σπάνιες γαίες κάτι το οποίο γίνεται αντιληπτό και από τον συνεχώς αυξανόμενο αριθμό δημοσιεύσεων που σχετίζονται με το συγκεκριμένο θέμα, όπως φαίνεται και στο πιο κάτω διάγραμμα, σχήμα 2.1 Αυτό συμβαίνει διότι οι σπάνιες γαίες επιδρούν στην ανθρώπινη υγεία. Φαίνεται πως αντικαθιστούν ιχνοστοιχεία που συμμετέχουν σε μεταβολικά και άλλα βιοχημικά μονοπάτια αλλά και στα ένζυμα, με αδιευκρίνιστες έως σήμερα επιπτώσεις. Εκτός από αυτό, οι σπάνιες γαίες εμφανίζουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον για την αυθεντικότητα των τροφίμων, ειδικά για τον προσδιορισμό της γεωγραφικής προέλευσης. Αυτό διότι συνδέονται άμεσα με την γεωλογία της κάθε περιοχής και μπορούν να δώσουν διαφοροποίηση μεταξύ διαφορετικών γεωγραφικών περιοχών. Άρα οι σπάνιες γαίες θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν σαν δείκτες γεωγραφικής προέλευσης. Επιπλέον, οι σπάνιες γαίες χρησιμοποιούνται σαν πρόσθετα σε ζωοτροφές. Έχει παρατηρηθεί αύξηση εναπόθεσης βάρους σε ζώα που κατανάλωσαν σιτηρέσια εμπλουτισμένα με σπάνιες γαίες [60]. Ακόμα χρησιμοποιούνται σε διάφορα λιπάσματα, ως προωθητικά ανάπτυξης των φυτών [61]. Τέλος θα πρέπει να αναφερθεί πως ο μεγαλύτερος όγκος της βιβλιογραφίας που σχετίζεται με τις σπάνιες γαίες προέρχεται από την Κίνα, η οποία χρησιμοποιεί και εξορύσσει άλλωστε τις σπάνιες γαίες περισσότερο από κάθε άλλη χώρα στον κόσμο, μιας και διαθέτει τα μεγαλύτερα κοιτάσματα στο κόσμο [62]. Στο σημείο αυτό αξίζει να σημειωθεί ότι η κύρια βιομηχανική χρήση των σπανίων γαιών είναι κατά την κατασκευή μαγνητών. Για αυτήν την χρήση, μάλιστα, οι σπάνιες γαίες χαρακτηρίζονται ως στρατηγικά μέταλλα μια και δεν είναι δυνατή η κατασκευή μέσων επικοινωνίας και στρατιωτικών μέσων χωρίς σπάνιες γαίες.

REEs & food



Σχήμα 2.1. Ερευνητικό ενδιαφέρον για τις σπάνιες γαίες και τα τρόφιμα

2.2 Ομαδοποίηση

Στο πέρασμα των χρόνων έχουν προταθεί διάφοροι τρόποι κατάταξης των REEs σε ομάδες που εξυπηρετούν διάφορες ανάγκες. Παρουσιάζονται τρεις από αυτούς [63]:

- ❖ Κατά Kramers (1961)
 - Ελαφρές λανθανίδες (ομάδα του Δημητρίου) – από La μέχρι και Sm
 - Μεσαίες λανθανίδες (ομάδα του Τερβίου) – από Eu μέχρι και Dy
 - Βαρείς λανθανίδες (ομάδα του Υτρίου) – από Ho μέχρι και Lu, συμπεριλαμβανομένου του Y
- ❖ Κατά Jackson Christiansen (1993)
 - Ελαφρές λανθανίδες (ομάδα του Δημητρίου) – από La μέχρι και Gd
 - Βαρείς λανθανίδες (ομάδα του Υτρίου) – από Tb μέχρι και Lu, συμπεριλαμβανομένου του Y
- ❖ Κατά Sabot και Maestro (1995)
 - Ελαφρές λανθανίδες – από La μέχρι και Nd
 - Μεσαίες λανθανίδες – από Sm μέχρι και Dy
 - Βαρείς λανθανίδες – από Ho μέχρι και Lu, συμπεριλαμβανομένου του Y

2.3 Φυσικοχημικές Ιδιότητες

Οι φυσικοχημικές ιδιότητες, η γεωχημεία και οι παράγοντες που καθορίζουν την βιοδιαθεσιμότητα τους των REEs δεν είναι πλήρως κατανοητές. Ο προσδιορισμός των σπάνιων γαιών σε περιβαλλοντικά υποστρώματα είναι προβληματικός λόγω των ιδιαίτερων φυσικοχημικών τους ιδιοτήτων. Γενικά μπορούν να υπάρχουν σε διάφορες μορφές, ανάλογα με τις χημικές συνθήκες του περιβάλλοντος (pH, οργανικό άνθρακα, παρουσία άλλων

χημικών). Η χημική μορφή που βρίσκεται μία σπάνια γαία (στοιχειακή, ανόργανη, οργανική) διαδραματίζει καθοριστικό ρόλο στην βιοδιαθεσιμότητα και την τοξικότητά της [64-66]. Στον Πίνακα 2.1, παρουσιάζονται οι κύριες φυσικοχημικές ιδιότητες των λανθανίδων που βρίσκονται φυσικά στον φλοιό της Γης.

Πίνακας 2.1. Φυσικοχημικές ιδιότητες των λανθανίδων που υπάρχουν στη φύση

Στοιχείο	Ατομικός αριθμός	Ατομικό βάρος	Ιοντική ακτίνα (pm)	Πυκνότητα (g cm ⁻³)	Φορτίο ^a	Χρώμα Τρισθενούς κατιόντος	Σημείο Τήξης (°C)
Λανθάνιο, La	57	138,9	117	6,15	+3	Άχρωμο	918
Δημητριο, Ce	58	140,2	115	6,77	+3,+4	Άχρωμο	798
Πρασεοδύμιο, Pr	59	140,9	113	6,77	+3,+4	Κίτρινο, Πράσινο	931
Νεοδύμιο, Nd	60	144,2	143	7,00	+2,+3,+5	Κοκκινωπό	1021
Σαμάριο, Sm	62	150,4	135	7,52	+3,+2	Κίτρινο	1074
Ευρώπιο, Eu	63	151,9	131	5,24	+3,+2	Σχεδόν άχρωμο	822
Γαδολίνιο, Gd	64	157,3	108	5,90	+3,+2,+1	άχρωμο	1313
Τέρβιο, Tb	65	158,9	106	8,23	+3,+4	Σχεδόν άχρωμο	1356
Δυσπρόσιο, Dy	66	162,5	121	8,55	+2,+3,+4	Κίτρινο	1412
Χόλμιο, Ho	67	164,9	104	8,79	+3	Ροζ, κίτρινο	1474
Έρβιο, Er	68	167,3	103	9,06	+3	Κοκκινωπό	1529
Θούλιο, Tm	69	168,9	117	9,32	+3,+2	Ανοιχτό πράσινο	1545
Υττέρβιο, Yb	70	173,0	116	6,97	+3,+2	Άχρωμο	819
Λουτέτιο, Lu	71	174,9	100	9.84	+3	Άχρωμο	1663

a: ο κύριος αριθμός οξείδωσης του στοιχείου είναι με **bold**

Στον Πίνακα 2.2 παρουσιάζονται οι κύριες φυσικοχημικές ιδιότητες του σκανδίου και του υττρίου.

Πίνακας 2.2. Φυσικοχημικές ιδιότητες του σκανδίου και του υττρίου

Στοιχείο	Ατομικός αριθμός	Ατομικό βάρος	Ιοντική ακτίνα (pm)	Πυκνότητα (g cm ⁻³)	Φορτίο	Σημείο Τήξης (°C)
Σκάνδιο, Sc	21	44,96	88,5 - 102	2,9	+3	1541
Υττριο, Y	39	88,91	104 – 121,5	4,4	+3	1522

Οι REEs είναι τόσο όμοιες χημικά μεταξύ τους, που ο διαχωρισμός του κάθε στοιχείου ξεχωριστά, από ένα ορυκτό είναι δύσκολος. Η ομοιότητα τους αποδεικνύεται ακόμα και στο ότι βρίσκονται στις ίδιες γεωλογικές αποθέσεις. Ωστόσο, αυτή η ομοιότητα

δεν σημαίνει πως τα μέταλλα ανταποκρίνονται και με τον ίδιο τρόπο στις μεταβολές του περιβάλλοντος [67]. Οι λανθανίδες έχουν παρόμοιες ηλεκτρονιακές κατανομές (f τομέας). Όμως λόγω της πολυπλοκότητας των φασμάτων ηλεκτρονίων και της δυσκολίας της ανάλυσης, η ηλεκτρονιακή κατανομή δεν είναι γνωστή με απόλυτη βεβαιότητα [64].

Οι χημικές ιδιότητες των στοιχείων καθορίζονται από τα ηλεκτρόνια σθένους και από τους δεσμούς που μπορούν να σχηματιστούν από ένα άτομο. Οι REEs διαφέρουν από τα άλλα μέταλλα, καθώς τα ηλεκτρόνια σθένους τους είναι κατανεμημένα στην 4f στοιβάδα. Η 4f στοιβάδα βρίσκεται εσωτερικά, καθώς εξωτερικά βρίσκονται οι μεγαλύτερες στοιβάδες 5s² και 5p⁶. Σε αυτό οφείλονται οι παρόμοιες χημικές ιδιότητες των σπάνιων γαιών.

Στον περιοδικό πίνακα επικρατεί η τάση να αυξάνεται η ιοντική ακτίνα, με την αύξηση του ατομικού αριθμού. Στις σπάνιες γαίες παρατηρείται το αντίθετο. Το λανθάνιο έχει τη μεγαλύτερη ατομική ακτίνα, ενώ το λουτέτιο τη μικρότερη. Αυτό συμβαίνει λόγω της βαθμιαίας αύξησης των ηλεκτρονίων στην 4f στοιβάδα. Όπως ήδη αναφέρθηκε, η 4f στοιβάδα είναι εσωτερικά, δεν είναι η εξώτατη ηλεκτρονιακή στοιβάδα παρόλο που εκεί κατανέμονται τα ηλεκτρόνια σθένους. Η μείωση της ιοντικής ακτίνας με αύξηση του ατομικού αριθμού των λανθανίδων είναι γνωστή με τον όρο «συστολή των λανθανίδων» (“lanthanides contraction”). Η διαφορά στην ιοντική ακτίνα των γειτονικών σπάνιων γαιών είναι πολύ μικρή. Αυτό γίνεται αντιληπτό και στον Πίνακα 2.1, όπου παρουσιάζονται οι ιοντικές ακτίνες όλων των REEs. Η «συστολή των λανθανίδων» ελέγχει πολλά από τα χαρακτηριστικά των REEs. Οι σπάνιες γαίες σχηματίζουν δεσμούς ιοντικής φύσης. Ομοιοπολικοί δεσμοί παρατηρούνται με αύξηση του ατομικού αριθμού των σπάνιων γαιών αλλά σε περιορισμένο βαθμό. Σε χερσαία περιβάλλοντα όλες οι σπάνιες γαίες έχουν αριθμό οξειδωσης 3+. Ωστόσο μερικές REEs εμφανίζουν και άλλους ιοντικούς αριθμούς όπως το samάριο (Sm²⁺), το θούλιο (Tm²⁺), το δημήτριο (Ce⁺⁴) και το ευρώπιο (Eu²⁺).

Μία σημαντική χημική ιδιότητα των λανθανίδων είναι ότι μπορούν να σχηματίσουν σύμπλοκα με διάφορους υποκαταστάτες. Το νερό είναι ισχυρός υποκαταστάτης των τρισθενών σπανίων γαιών. Η ισχυρή συγγένεια των τρισθενών λανθανίδων (Ln³⁺) με το νερό επιτρέπει το σχηματισμό ενός «κέλυφους ενυδάτωσης» (hydration shell) γύρω από το κατιόν. Κάθε τρισθενές κατιόν μπορεί να συνδεθεί με 8 έως 9 μόρια νερού, αναλόγως το στοιχείο.

Σε υδατικό περιβάλλον τα μόρια του νερού μπορούν να αντικατασταθούν από άλλους υποκαταστάτες μικρής ιοντικής ακτίνας, υψηλής οξειδωτικής κατάστασης, υψηλής ηλεκτραρνητικότητας και σε περιπτώσεις που τα υψηλά κατειλημμένα μοριακά τροχιακά (highest occupied molecular orbitals, HOMO) είναι χαμηλής ενέργειας. Παραδείγματα τέτοιων υποκαταστατών είναι ιόντα του φθορίου (F⁻), χλωρίου (Cl⁻), το υδροξύλιο (OH⁻), αλκοόλες (ROH), αμίνες (RNH₂), οξικό οξύ (CH₃COO⁻), καρβονικό οξύ (CO₃²⁻), νιτρικά (NO₃⁻), φωσφορικά (PO₄³⁻), οξειδία (O²⁻). Αυτοί οι υποκαταστάτες σχηματίζουν ιοντικούς δεσμούς με τις σπάνιες γαίες μέσω των χαμηλότερων μη κατειλημμένων μοριακών τροχιακών (lowest unoccupied molecular orbitals, LUMO) υψηλής ενέργειας. Οι λανθανίδες «προτιμούν» να σχηματίζουν δεσμούς με το οξυγόνο στα υδατικά διαλύματα. Αντίθετα δεσμοί με άλλους υποκαταστάτες είναι λιγότερο σταθεροί σε σχέση με αυτούς με το οξυγόνο

ή το φθόριο και υδρολύονται σχετικά εύκολα. Ωστόσο πολυσχιδείς υποκαταστάτες, οι οποίοι διαθέτουν πολλά ζεύγη ηλεκτρονίων συνδέονται με το κατιόν μιας σπάνιας γαίας σχηματίζοντας ισχυρότερους δεσμούς σε υδατικά περιβάλλοντα. Γενικά, οι λανθανίδες προτιμούν ως δότες ηλεκτρονίων κατά σειρά O>N>S [63, 68].

Σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, οι σπάνιες γαίες δεν επηρεάζονται από τον αέρα με τον ίδιο τρόπο. Οι ενέργειες ιοντισμού των λανθανίδων είναι σχετικά χαμηλές και άρα τα ηλεκτρόνια σθένους τους απομακρύνονται με δαπάνη λίγης ενέργειας. Συνεπώς αυτά τα στοιχεία είναι εξαιρετικά ηλεκτροθετικά και οι ενώσεις τους κυρίως ιοντικές στη φύση. Όπως όλα τα μέταλλα έτσι και οι REEs έχουν ασημένια εμφάνιση. Το λανθάνιο, το δημήτριο, το πρασεοδύμιο, το νεοδύμιο και το ευρώπιο δίνουν πολύ εύκολα αντιδράσεις. Όταν έρχονται σε επαφή με τον αέρα, σχηματίζουν οξειδία τα οποία έχουν σκούρο γκρι χρώμα.

2.4 Εφαρμογές

Αν και οι σπάνιες γαίες δεν είναι ευρέως διαδεδομένες και ο περισσότερος κόσμος αγνοεί την παρουσία τους, βρίσκουν πολλές και χρήσιμες εφαρμογές. Έτσι, χρησιμοποιούνται σε διάφορους κλάδους. Παρακάτω αναπτύσσονται μερικές από τις πιο ενδιαφέρουσες εφαρμογές των σπανίων γαιών.

Εμπορικές – Βιομηχανικές Εφαρμογές

Οι σπάνιες γαίες χρησιμοποιούνται σε καταναλωτικά προϊόντα, στο μεγαλύτερο ποσοστό από κάθε άλλη ομάδα στοιχείων. Χάρη την χρήση των σπανίων γαιών σε διάφορα προϊόντα, επιτυγχάνεται προστασία του περιβάλλοντος και εξέλιξη της τεχνολογίας. Χαρακτηριστικά προϊόντα που χρησιμοποιούνται σπάνιες γαίες είναι: οι μαγνήτες, οι καταλύτες, τα μεταλλουργικά κράματα, οι φακοί, οι ηλεκτρικοί κινητήρες, τα laser, οι φθορίζουσες ουσίες, οι βαφές, τα κεραμικά. Επιπλέον εξαιτίας της εξάρτησης ορισμένων στρατιωτικών εφαρμογών από τις REEs, θεωρούνται πόροι στρατηγικής σημασίας από αρκετά κράτη (ΗΠΑ, Κίνα κ.α) [68, 69].

Λιπάσματα

Από την δεκαετία του 80' έχει ξεκινήσει στην Κίνα η χρήση των σπανίων γαιών ως λιπάσματα. Αυτό συνέβη καθώς παρατηρήθηκε πως οι σπάνιες γαίες ήταν ωφέλιμες για τα φυτά και μάλιστα παρατηρήθηκαν αυξημένες αποδόσεις και βελτιωμένη ποιότητα. Μάλιστα παρατηρείται συνεχόμενη αύξηση των εκτάσεων οι οποίες λιπαίνονται με σπάνιες γαίες. Τα λιπάσματα που περιέχουν σπάνιες γαίες χωρίζονται σε τρεις κατηγορίες. Αυτά που περιέχουν νιτρικά άλατα των σπανίων γαιών και ονομάζονται *Changle-Yizhisu (CY)*, αυτά που περιέχουν χλωριούχα άλατα των σπανίων γαιών και ονομάζονται *Nongle (NL)* και αυτά που περιέχουν 17 αμινοξέα μαζί με τα ακόλουθα στοιχεία La, Ce, Pr και Nd και ονομάζονται MAR [70]. Στην Κίνα υπάρχουν περίπου 100 εργοστάσια παραγωγής λιπασμάτων σπανίων γαιών, ενώ τα συγκεκριμένα λιπάσματα βρίσκουν διάφορους τρόπους εφαρμογής. Συνήθως η εφαρμογή τέτοιων λιπασμάτων γίνεται στα πρώτα στάδια ανάπτυξης του φυτού. Αυτό εξαρτάται από το καλλιεργούμενο είδος και το στάδιο ανάπτυξης [71-73].

Εμπλουτισμένα σιτηρέσια

Ύστερα από την χρήση των σπανίων γαιών σε λιπάσματα και την θετική επίδραση τους στα φυτά, οι κινέζοι επιστήμονες διαπίστωσαν την βελτίωση των επιδόσεων και σε διάφορα ζώα [60, 74-77]. Στην Κίνα οι σπάνιες γαίες πλέον χρησιμοποιούνται με επιτυχία στον εμπλουτισμό των σιτηρεσίων σχεδόν όλων των αγροτικών ζώων. Μερικές από τις ωφέλιμες επιδράσεις των σπανίων γαιών είναι: αύξηση του σωματικού βάρους, καλύτερη απόδοση στη μετατροπή της τροφής από τα ζώα, αύξηση της γαλακτοπαραγωγής σε αγελάδες γαλακτοπαραγωγής, καλύτερες αποδόσεις από όρνιθες ωοπαραγωγής, αυξημένη γονιμότητα στις όρνιθες ωοπαραγωγής, καλύτερη ποιότητα κρέατος [76, 78, 79]. Όσο αφορά τις ιχθυοκαλλιέργειες έχει παρατηρηθεί επίσης βελτίωση στην ποιότητα του κρέατος, αύξηση της παραγωγής και μεγαλύτερος βαθμός επιβίωσης σε διάφορα είδη ιχθυρών [80-83].

Οι σπάνιες γαίες χορηγούνται στα σιτηρέσια τόσο σε ανόργανη μορφή (άλατα των σπανίων γαιών, συνήθως νιτρικά ή χλωριούχα) όσο και σε οργανική (βιταμίνη C, κιτρικά άλατα των σπανίων γαιών). Τα καλύτερα αποτελέσματα στα ζώα παρατηρήθηκαν ύστερα από την χορήγηση οργανικών ενώσεων (οργανικά αλατα) των σπανίων γαιών [84]. Οι σπάνιες γαίες έχουν γενικά αντιμικροβιακή δράση. Αυτός είναι και ένας από τους λόγους που χρησιμοποιούνται για τον εμπλουτισμό των ζωοτροφών. Έτσι ευνοούν την ανάπτυξη των αγροτικών ζώων μέσω της παρεμπόδισης της ανάπτυξης μη επιθυμητών μικροοργανισμών στον γαστρεντερικό σωλήνα [76, 83]. Στη Κίνα το ίδιο έχει παρατηρηθεί και στις ιχθυοκαλλιέργειες, όπου τα ψάρια παρουσίασαν αυξημένη ανάπτυξη και ανθεκτικότητα σε προσβολές [76, 83].

Τα παραπάνω στοιχεία, όπως θα ήταν αναμενόμενο, έχουν κεντρίσει το ενδιαφέρον του Δυτικού κόσμου. Τα οφέλη από την χορήγηση των σπανίων γαιών στα σιτηρέσια των ζώων ήταν άγνωστα για πολύ καιρό στην Ευρώπη. Η ανάγκη για παραγωγικά αγροτικά ζώα και ταυτόχρονα ασφαλή για τον καταναλωτή είναι από τις μεγαλύτερες ανάγκες στην Ευρώπη. Η ασφάλεια είναι από τους πυλώνες της Ευρωπαϊκής Ένωσης και το νομοθετικό πλαίσιο ιδιαίτερος αυστηρό. Με τον Κανονισμό 178/2002 της Ε.Ε., ή κατά πολλούς το «Σύνταγμα για τα τρόφιμα», ορίστηκαν βασικές αρχές που εξασφαλίζουν την ασφάλεια και την υγεία του καταναλωτή. Μία από τις αρχές του Κανονισμού 178/2002 είναι αυτή της «Ολιστικής Προσέγγισης». Έτσι, ζωοτροφές και τρόφιμα τυγχάνουν παρόμοιας μεταχείρισης. Στο πνεύμα που όρισε αυτός ο Κανονισμός, ακολουθεί ο Κανονισμός 183/2003 της ΕΕ για την υγιεινή των ζωοτροφών, όπου σύμφωνα με το άρθρο 11 παράγραφο 2 απαγορεύεται η χρήση αντιβιοτικών σαν συμπληρώματα στη διατροφή των ζώων. Ο λόγος αυτής της απαγόρευσης είναι ότι ενώ τα αντιβιοτικά είχαν θετική επίδραση στα ζώα, δημιουργούσαν ανθεκτικά στελέχη κυρίως βακτηρίων που μεταφέρονταν μέσω της τροφής στον άνθρωπο. Για αυτό το λόγο, ο WHO (World Health Organization ή Διεθνής Οργανισμός Υγείας) και η ΕΕ αποφάσισαν τα αντιβιοτικά να χορηγούνται μόνο σε συγκεκριμένες περιπτώσεις οι οποίες ορίζονται από τον Κανονισμό 183/2003 [85].

Όπως γίνεται αντιληπτό από τα παραπάνω, οι σπάνιες γαίες ίσως θα μπορούσαν να βοηθήσουν στην ευρωπαϊκή ζωοτεχνία. Από τη στιγμή μάλιστα που χρησιμοποιούνται με επιτυχία για πάνω από 25 χρόνια στην Κίνα. Ωστόσο οι συνθήκες της ζωικής παραγωγής στην Ευρώπη είναι πολύ διαφορετικές από την Κίνα. Οι φυλές που χρησιμοποιούνται είναι οι

πλέον παραγωγικές και οι συνθήκες διαβίωσης των ζώων, οι βέλτιστες. Είναι γενικά αποδεκτό ότι η αποδοτικότητα των προσθέτων στις ζωοτροφές συσχετίζεται σε μεγάλο βαθμό με τη στέγαση, την υγιεινή και τις συνθήκες σίτισης. Τέλος, πρέπει να αναφερθεί πως ήδη έχει δοθεί προσωρινή άδεια για την χρήση των σπανίων γαιών σαν πρόσθετα σιτηρεσίων (στην Ελβετία από το 2003), ενώ υπάρχουν και ευρωπαϊκές εταιρείες (π.χ. η ελβετική Zehentmayer) παραγωγής ζωοτροφών που περιέχουν σπάνιες γαίες [76].

Φαρμακευτικές Εφαρμογές

Οι σπάνιες γαίες έχουν χρησιμοποιηθεί από την φαρμακευτική βιομηχανία με διάφορους τρόπους. Οι φαρμακευτικές εφαρμογές που βρίσκουν οφείλονται κατά κύριο λόγο στην επίδραση που ασκούν στις διαδικασίες που συμμετέχει το Ca^{2+} . Αρχικά, οι σπάνιες γαίες χρησιμοποιήθηκαν ως αντιεμετικά φάρμακα. Το οξαλικό δημήτριο ήταν η χημική ένωση που χορηγείτο σε εγκύους για την καταπολέμηση του εμετού [68, 86]. Ωστόσο αυτή η χρήση του ξεπεράστηκε από πιο σύγχρονα φάρμακα. Επιπλέον οι σπάνιες γαίες χρησιμοποιούνταν σαν αντιπηκτικοί παράγοντες στο αίμα. Η αντιπηκτική – αντιθρομβωτική ιδιότητα των σπανίων γαιών στο αίμα οφείλεται στην παρεμπόδιση τεσσάρων τουλάχιστον ενζυμικών αντιδράσεων που συμμετέχει το Ca^{2+} και σχετίζονται με την πήξη του αίματος. Επίσης οφείλεται και στο ότι προκαλούν συσσώρευση αιμοπεταλίων. Ωστόσο αυτή τους η χρήση εγκαταλείφθηκε λόγω των παρενεργειών που προκαλούσαν [68, 87].

Ωστόσο ακόμα και σήμερα οι σπάνιες γαίες χρησιμοποιούνται σε διάφορα φάρμακα. Έτσι, η δέσμευση του φωσφόρου από το ανθρακικό λανθάνιο εφαρμόζεται για ασθενείς που πάσχουν από χρόνια νεφρική ανεπάρκεια. Η χρόνια νεφρική ανεπάρκεια έχει ως συνέπεια την ανάπτυξη υπερφωσφαταιμίας και τα φάρμακα που χορηγούνται στους νεφροπαθείς δεν πρέπει να περιέχουν φώσφορο. Το ανθρακικό λανθάνιο δεσμεύει φώσφορο αποτελεσματικά (σχηματίζει μια αδιάλυτη ένωση, μειώνοντας τα επίπεδα φωσφόρου στον ορρό), ενώ ταυτόχρονα είναι χαμηλής τοξικότητας. Ακόμη μία εφαρμογή είναι η θεραπεία εγκαυμάτων, μέσω της αντισηπτικής δράσης των σπανίων γαιών ειδικά εναντίον των αρνητικών κατά Gram βακτηρίων και των μυκήτων. Η πλέον χρησιμοποιούμενη ένωση για αυτό το σκοπό είναι το νιτρικό δημήτριο. Επιπλέον, σπάνιες γαίες έχουν την ικανότητα να συσσωρεύονται από όγκους. Χρησιμοποιούνται, τόσο για την διάγνωση όσο και την θεραπεία του καρκίνου. Σημαντικό ρόλο σε αυτό παίζει η ικανότητα των ραδιοισοτόπων των σπανίων γαιών να εκπέμπουν α-, β- και γ- ακτινοβολία. Τέλος, μελλοντικές εφαρμογές των σπανίων γαιών στην φαρμακευτική θα μπορούσαν να είναι η καταπολέμηση της τερηδόνας, ασθενειών των αρθρώσεων, αντιμετώπιση της αθηροσκλήρωσης και η θεραπεία της οστεοπόρωσης [76, 88-90].

Αυθεντικότητα τροφίμων

Η αυθεντικότητα των τροφίμων απασχολεί τους καταναλωτές στον δυτικό κόσμο, καθώς επιθυμούν να γνωρίζουν την πραγματική προέλευση των τροφίμων και να μην πέφτουν θύματα απάτης που συνεπάγεται μειωμένη ποιότητα. Επίσης η θέσπιση των ΠΟΠ (Προστατευόμενης Ονομασίας Προέλευσης) και ΠΓΕ (Προστατευόμενης Γεωγραφικής

Ένδειξης) προϊόντων από την ΕΕ, φέρνει στο προσκήνιο το θέμα της γεωγραφικής προέλευσης και της συσχέτισης του με την ποιότητα του κάθε προϊόντος. Μία από τις πλέον πρόσφατες και καινοτόμες εφαρμογές των σπάνιων γαιών είναι η χρησιμοποίησή τους σαν δείκτες γεωγραφικής προέλευσης. Οι σπάνιες γαίες συνδέονται άμεσα με την γεωλογία της κάθε περιοχής και επηρεάζονται ελάχιστα από τις διάφορες γεωργικές πρακτικές και το έτος της συγκομιδής της σοδιάς. Το ίδιο ισχύει και για τα τρόφιμα ζωικής προέλευσης. Έτσι η στοιχειακή σύνθεση του ζωικού ιστού, αντανακλά ως ένα βαθμό, την στοιχειακή σύσταση της τροφής που κατανάλωσε το ζώο. Συνεπώς οι σπάνιες γαίες θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν σαν αξιόπιστοι γεωγραφικοί δείκτες [91, 92].

2.5 Φυσική Αφθονία

Η παρουσία και η κατανομή των σπάνιων γαιών είναι ενδιαφέρουσα τόσο λόγω της χρήσης τους στην βιομηχανία όσο και γιατί είναι αμφιλεγόμενη η δράση τους στα φυτά, τα ζώα και τον άνθρωπο. Τα πλέον άφθονα στοιχεία των σπάνιων γαιών, το δημήτριο και το ύτριο, βρίσκονται σε μεγαλύτερη αφθονία στον φλοιό της Γης από άλλα στοιχεία όπως το μολυβδαίνιο, ο μόλυβδος ή το αρσενικό. Ακόμα και το θούλιο και το λουτέτιο, οι πιο σπάνιες από τις σπάνιες γαίες, βρίσκονται σε μεγαλύτερη συγκέντρωση από στοιχεία όπως ο χρυσός, ο λευκόχρυσος και το ιώδιο. Ο όρος «σπάνιες» καθιερώθηκε την δεκαετία του 40' από τους χημικούς που ασχολούνταν με την μεταλλουργία. Οι μεταλλουργικές διαδικασίες που απαιτούνταν για την απομόνωση των μετάλλων σε συνδυασμό με τα περιορισμένα μέσα της εποχής, εμπόδιζαν την παραγωγή σε εμπορικό επίπεδο. Σαν αποτέλεσμα, οι λανθανίδες και διάφορα οξειδιά τους ήταν δύσκολο να απομονωθούν και χαρακτηρίστηκαν ως σπάνια. Υπάρχουν περισσότερα από 200 ορυκτά που περιέχουν σπάνιες γαίες, όμως λίγα από αυτά είναι χρήσιμα για την βιομηχανία. Ο μοναζίτης (monazite) και ο μπαστναζίτης (bastnasite) είναι τα δύο κύρια ορυκτά από τα οποία εξορύσσονται οι σπάνιες γαίες [63, 86, 93].

Πίνακας 2.3 Μέση αφθονία σε λανθανίδες σε διάφορα εδάφη mg kg⁻¹

Στοιχείο	A	B	Γ	Δ	E
La	26,1	35,1	35,2	8,4 – 31,4	33
Ce	48,7	75,1	97,4	15,8 – 64,4	60
Pr	7,6	5,4	8,4	1,5 – 5,0	7,7
Nd	19	3,6	29,3	7,6 – 28,6	29
Sm	3,1	6,7	5,5	1,8 – 4,0	4,5
Eu	4,8	1,2	0,8	0,44 – 1,43	0,8
Gd	1,23	3,2	4,8	1,77 – 4,54	3,4
Tb	6,03	0,5	0,6	0,27 – 0,83	0,5
Dy	0,71	4,3	2,9	1,68 – 4,68	4,1
Ho	1,08	1,0	0,5	0,36 – 0,95	0,9
Er	1,58	2,6	1,4	1,1 – 2,72	2,2
Tm	0,46	0,3	0,2	0,16 – 0,40	0,3
Yb	2,06	2,4	1,1	1,11 – 2,64	2,9
Lu	0,34	0,4	0,2	0,16 – 0,40	0,4

A : δεδομένα από διάφορα εδάφη κυρίως της Ευρώπης, [94]

B: δεδομένα από εδάφη αναφοράς,[95]

Γ: δεδομένα από 27 δείγματα εδαφών στην Κίνα,[86]

Δ: δεδομένα από 77 δείγματα εδαφών στην Ιαπωνία (εύρος της μέσης τιμής), [96]

E: δεδομένα από επιφανειακό χόμα από την Σουηδία, [97]

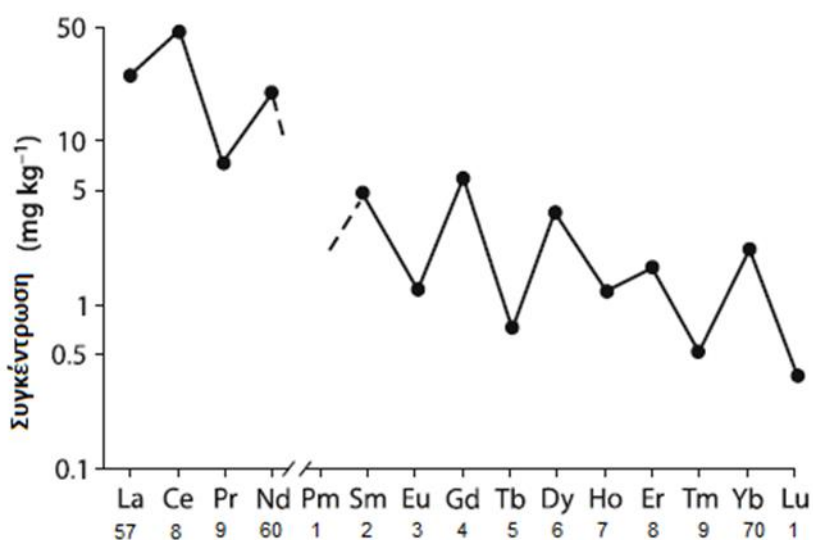
Εκτός από τις λανθανίδες , οι σπάνιες γαίες αποτελούνται από το σκάνδιο και το ύτριο. Στον επόμενο πίνακα παρουσιάζεται η αφθονία των 2 στοιχείων στον φλοιό της Γης.

Πίνακας 2.4 Μέση φυσική αφθονία σε σκάνδιο και ύτριο

Αφθονία στον φλοιό της γης (mg kg⁻¹)	Sc	Y
	16 - 30	20 - 33

2.6 Κανόνας Oddon - Harkins

Η κατανομή των REEs στον φλοιό της Γης παρουσιάζει την εξής ιδιαιτερότητα, η συγκέντρωσή τους μειώνεται με την αύξηση του ατομικού τους αριθμού. Επίσης τα στοιχεία με άρτιο ατομικό αριθμό είναι σε μεγαλύτερη αφθονία από αυτά με περιττό. Το τελευταίο αποτελεί τον κανόνα των Oddon-Harkins, ο οποίος ισχύει γενικά για όλα τα στοιχεία, αλλά πολύ πιο έντονα στην περίπτωση των σπάνιων γαιών. Ακολουθεί διαγραμματική απεικόνιση του κανόνα των Oddon-Harkins, σχήμα 2.2 [63].



Σχήμα 2.2. Η αφθονία των λανθανίδων.

2.7 Η επίδραση των σπάνιων γαιών στη λειτουργία των οργανισμών

Η αντιμικροβιακή δράση των σπάνιων γαιών είναι ήδη γνωστή από πιο παλιές μελέτες [98, 99]. Παρόλα αυτά η παρεμποδιστική τους δράση είναι σε άμεση συσχέτιση με τη χορηγούμενη δόση. Έτσι, έχει παρατηρηθεί παρεμπόδιση της βακτηριακής ανάπτυξης όταν οι σπάνιες γαίες βρίσκονται σε συγκεντρώσεις μεταξύ 10^{-4} και 10^{-2} M, ενώ σε συγκέντρωση της τάξης των 10^{-5} M η βακτηριακή ανάπτυξη ενισχύεται [76, 99]. Η αντιμικροβιακή δράση του κάθε στοιχείου ποικίλει αναλόγως τον μικροοργανισμό στόχο αλλά και τον υποκαταστάτη [100, 101].

Εκτός από τα βακτήρια, οι σπάνιες γαίες φαίνεται να παρεμποδίζουν τον σχηματισμό και την εκβλάστηση των σπορίων των μυκήτων. Επίσης, τα βακτήρια, κυρίως τα αρνητικά κατά Gram, είναι περισσότερο ανεχτικά στις σπάνιες γαίες από τους μύκητες και τις ζύμες. Σε πείραμα, [102], ερευνήθηκε η τοξικότητα των σπάνιων γαιών σε *E. Coli* και σε 5 διαφορετικούς μύκητες. Χορήγησαν 11 mM $\text{Ln}(\text{NO}_3)_3$ και η μειούμενη σειρά τοξικότητας ήταν η εξής: Lu, Y, Er, Ho, Dy, Eu, Nd, Ce. Συνεπώς οι βαρείς σπάνιες γαίες, είναι περισσότερο τοξικές από τις ελαφρές.

Ενώ είναι γενικά αποδεκτή η αντιμικροβιακή δράση των σπανίων γαιών από ότι φαίνεται μέσα από τη βιβλιογραφία, υπάρχει διχασμός ως προς τον τρόπο με τον οποίο γίνεται η παρεμπόδιση. Ένας πιθανός τρόπος είναι ότι οι σπάνιες γαίες μεταβάλλουν το επιφανειακό φορτίο των βακτηριακών μεμβρανών, ενώ αλλάζουν και την δομή τους. Σύμφωνα με τον Peng, [103], το La^{3+} , το οποίο χρησιμοποιήθηκε σαν δείκτης για όλες τις σπάνιες γαίες, άλλαξε σημαντικά τη δομή της εξωτερικής κυτταρικής μεμβράνης της *E. Coli* με συνέπεια στην διαπερατότητα των κυττάρων. Οι σημαντικές ζημιές που προκάλεσε το λανθάνιο είχαν σαν συνέπεια την ευκολότερη προσβολή του κυττάρου από την λυσοζύμη. Τα αρνητικά κατά Gram βακτήρια καλύπτονται εξωτερικά από ένα στρώμα πεπτιδογλυκάνης, το οποίο τα καθιστά περισσότερο ανθεκτικά στην λυσοζύμη. Επίσης η ανάλυση με ICP – MS στο υπερκείμενο υγρό των κυττάρων έδειξε υψηλή ποσότητα Ca^{2+} . Έτσι, πιθανώς γίνεται αντικατάσταση του Ca^{2+} από το La^{3+} λόγω της κοινής ιοντικής τους ακτίνας και άλλων παραπλήσιων ιδιοτήτων τους. Μία άλλη άποψη σχετικά με τον τρόπο παρεμπόδισης των σπανίων γαιών στην ανάπτυξη των μικροοργανισμών έχει να κάνει με την παρεμπόδιση της κυτταρικής αναπνοής και του μεταβολισμού των φωσφορικών αλάτων. Έτσι σχηματιζόταν αδιάλυτο LaPO_4 , με ταυτόχρονη εξάντληση του διαλυτού φωσφόρου από το μέσο ανάπτυξης [98].

Επιπλέον, έχει αναφερθεί ότι οι σπάνιες γαίες μπορούν να έχουν αντι-ική δράση [104-107]. Αυτό μπορεί να οφείλεται είτε στην υψηλή παραγωγή ιντερφερόνης (οι ιντερφερόνες είναι ένα σύνολο φυσικών πρωτεϊνών οι οποίες αποτελούν βασικό μέρος του ανοσοποιητικού μας συστήματος), [107], είτε στην άμεση αντι-ική δραστηριότητα των σπανίων γαιών [105]. Παρόλα αυτά πρέπει να γίνει περαιτέρω μελέτη για το θέμα, ώστε να υπάρχουν πιο ασφαλή συμπεράσματα.

2.8 Αντικατάσταση μετάλλων

Οι σπάνιες γαίες, και ειδικά οι λανθανίδες, έχουν την ικανότητα να υποκαθιστούν άλλα μεταλλικά ιόντα όπως το Ca^{2+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} , Mg^{2+} και το Mn^{2+} . Η πιο σημαντική υποκατάσταση είναι αυτή του Ca^{2+} , λόγω της συμμετοχής του στον κυτταρικό μεταβολισμό. Όμως πιθανή υποκατάσταση του Ca^{2+} σε ένζυμα δεν σημαίνει και απώλεια της λειτουργικότητας. Οι λανθανίδες άλλοτε ενεργοποιούν την λειτουργία πρωτεϊνών και ενζύμων και άλλοτε παρεμποδίζουν τη λειτουργία των Ca^{2+} και Mg^{2+} . Παρόλα αυτά οι σπάνιες γαίες δεν μπορούν να εισέλθουν στα ζωντανά κύτταρα όπως το Ca^{2+} , γεγονός που περιορίζει τη βιολογική τους δραστηριότητα. Ωστόσο επηρεάζουν διαμεμβρανικές διαδικασίες [68, 108]. Ακολουθεί πίνακας, Πίνακας 2.5, στον οποίο γίνεται σύγκριση των ιδιοτήτων του ασβεστίου με των σπανίων γαιών.

Πίνακας 2.5 Σύγκριση των ιδιοτήτων του Ca με τις λανθανίδες

Ιδιότητα	Ca²⁺	Ln³⁺
Αριθμός υποκαταστατών	6 - 12, συνήθως 6 ή 7	6 - 12, συνήθως 8 ή 9
Γεωμετρία	Ποικίλει	Ποικίλει
Προτίμηση υποκαταστάτη	O >> N >> S	O >> N >> S
Ιονική ακτίνα (Å)	1,00 – 1,18	0,86 -1,22
Τύπος δεσμού	Ιοντικός	Ιοντικός
Αριθμός ενυδάτωσης	6	8 ή 9
Σταθερά ταχύτητας ανταλλαγής νερού (s ⁻¹)	~ 5 x 10 ⁸	~ 5 x 10 ⁷
Συντελεστής διάχυσης (cm / s x 10 ⁵)	1,33	1,30 για το λανθάνιο

Παρόλο που τα ιόντα Ca²⁺ και Ln³⁺ έχουν παρόμοια συμπεριφορά και ιδιότητες, έχουν διαπιστωθεί δύο σημαντικές διαφορές μεταξύ τους. Πρώτον, οι λανθανίδες σχηματίζουν σταθερότερους δεσμούς γιατί προτιμούν υψηλότερους αριθμούς συντονισμού (coordination number). Μεγαλύτερος λόγος φορτίου προς όγκο από αυτόν του ασβεστίου οδηγεί σε σύμπλοκα με μεγαλύτερο αριθμό υποκαταστατών. Δεύτερη διαφορά είναι ότι σε αντίθεση με το Ca²⁺ το οποίο είναι φασματοσκοπικά «σιωπηλό», τα Ln³⁺ δίνουν φάσματα. Η χρήση των λανθανίδων σαν ανιχνευτές ιόντων αποτελεί πολύτιμο εργαλείο στην ανάλυση βιομοριακών δομών και λειτουργιών [68, 108].

2.9 Τοξικότητα - Επιπτώσεις στην Υγεία

Σύμφωνα με το σύστημα κατάταξης Hodge – Sterner οι σπάνιες γαίες θεωρούνται χαμηλής τοξικότητας. Όπως θα έχει γίνει ήδη αντιληπτό από προηγούμενες παραγράφους που σχετίζονταν με τον μεταβολισμό των σπανίων γαιών, η τοξικότητά τους ποικίλει ανάλογα με τρόπο και την χημική μορφή χορήγησης [109].

Θα πρέπει να έχουμε υπόψη μας πως τα στοιχεία που αποτελούν τον πίνακα, έχουν συλλεχθεί από διάφορες έρευνες όπου χρησιμοποιούνταν σπάνιες γαίες με διαφορετική καθαρότητα, για αυτό παρατηρούνται και διαφορές. Η χαμηλή τοξικότητα ύστερα από στόματος χορήγηση με τιμές LD₅₀ πέραν του 1 g / kg βάρους σώματος, οφείλεται στην χαμηλή γαστρεντερική απορρόφηση. Αντίθετα, αν οι σπάνιες γαίες χορηγηθούν με διαφορετικό τρόπο, η LD₅₀ είναι αρκετά μικρότερη και συνεπώς η τοξικότητά τους μεγαλύτερη. Στον επόμενο πίνακα, Πίνακας 2.6, παρουσιάζονται οι LD₅₀ για διάφορους τρόπους χορήγησης.

Πίνακας 2.6. Οι LD₅₀ για διάφορους τρόπους χορήγησης

Τρόπος Χορήγησης	LD₅₀ (mg / Kg)
Από στόματος	>1000
Υποδόρια	100 - 1000
Ενδομυϊκά	100 – 1000
Ενδοπεριτοναϊκή	50 – 500
Ενδοφλέβια	3 - 100

Όπως γίνεται αντιληπτό από τον παραπάνω πίνακα η τοξικότητα των σπανίων γαιών ακολουθεί παρόμοια τάση με την απορρόφησή τους. Η τοξικότητα των σπανίων γαιών, ανάλογα με τον τρόπο χορήγησης τους, αυξάνεται σύμφωνα με την ακόλουθη ανισότητα: διατροφική πρόσληψη \ll υποδόρια χορήγηση-ενδομυϊκή χορήγηση $<$ ενδοπεριτοναϊκή χορήγηση \ll ενδοφλέβια χορήγηση [30].

3. Στοιχειακές τεχνικές

Η ανάλυση τροφίμων είναι ένα συνεχώς εξελισσόμενο πεδίο, που παρακινείται από την αυξανόμενη απαίτηση των καταναλωτών για ασφαλή και ποιοτικά τρόφιμα. Αυτό αποτελεί μοχλό πίεσης για τις αρχές επιθεώρησης τροφίμων για να διασφαλίζουν ασφαλή τρόφιμα με την καλύτερη δυνατή ποιότητα. Οι παραγωγοί τροφίμων και οι βιομηχανίες ακολουθούν, με το να ικανοποιούν αυτές τις απαιτήσεις. Οι καταναλωτές επιθυμούν ποικιλία προϊόντων που έχουν υψηλή ποιότητα και διατροφική αξία στην χαμηλότερη δυνατή τιμή. Επίσης ενδιαφέρονται για την ασφάλεια των τροφίμων, γεγονός που αύξησε τους ελέγχους για τοξικά στοιχεία, φυτοφάρμακα και υπολείμματα κτηνιατρικών φαρμάκων, αλλεργιογόνα, μυκοτοξίνες κτλ. σε αυτά. Επιπλέον πολλοί καταναλωτές ενδιαφέρονται για τη σχέση μεταξύ διατροφής και υγείας. Έτσι αξιοποιούν τις πληροφορίες για το θρεπτικό περιεχόμενο, οι οποίες βρίσκονται στις ετικέτες των τροφίμων, ώστε να κάνουν τις επιλογές των αγορών τους. Επομένως οι καταναλωτές απαιτούν ολοένα και περισσότερο διασφάλιση, όσον αφορά το περιεχόμενο και την προέλευση των τροφίμων φοβούμενοι πιθανά ζητήματα νοθείας. Τα προβλήματα αυτά μπορούν να συμβούν λόγω ενός πλήθους αιτιών, συνήθως συνδεδεμένα με οικονομικά οφέλη.

Ο προσδιορισμός του στοιχειακού περιεχομένου είναι μια από τις πιο σημαντικούς τύπους αναλύσεων που εφαρμόζονται στα τρόφιμα, σε ότι αφορά την ποιότητα και την ασφάλεια αυτών.

3.1 Προκατεργασία δείγματος

Ένα σημαντικό βήμα στην αναλυτική διαδικασία είναι η προ-κατεργασία δείγματος. Η επιλογή του είδους της επεξεργασίας εξαρτάται κυρίως από τον τύπο του δείγματος. Τα τρόφιμα πρέπει να προετοιμάζονται, χρησιμοποιώντας καθαρές πλαστικές επιφάνειες κοπής και μαχαίρια από ανοξείδωτο ατσάλι ώστε να επιτευχθεί ελαχιστοποίηση των πιθανοτήτων επιμόλυνσης. Ομογενοποιητές τροφίμων εξοπλισμένοι με λεπίδες ανοξείδωτου χάλυβα, τιτανίου ή κεραμικές λεπίδες μπορεί να είναι εξαιρετικά αποτελεσματικά στην ομογενοποίηση των δειγμάτων τροφίμων καθώς και στην ελαχιστοποίηση των μολύνσεων [110].

Παρά την ύπαρξη των γρήγορων αναλυτικών τεχνικών ένας σημαντικός περιοριστικός παράγοντας της ταχύτητας των αναλύσεων είναι η προκατεργασία των δειγμάτων πριν από τη μέτρηση. Οι τεχνικές ICP-MS και ICP-AES αναπτύχθηκαν αρχικά για την ανάλυση υγρών δειγμάτων. Έτσι απαιτούν τα δείγματα που θα αναλυθούν να βρίσκονται σε υγρή κατάσταση. Περαιτέρω, το γάλα, το κρασί ή οι χυμοί (υγρά τρόφιμα με υψηλή περιεκτικότητα σε οργανική ύλη) χρειάζονται κατάλληλη επεξεργασία ώστε να μειωθούν δραστικά τα φαινόμενα επίδρασης μήτρας. Αν το δείγμα δεν είναι υγρό θα πρέπει να διεξαχθεί κάποιο είδος κατάλληλης κατεργασίας. Δεν υπάρχει καμία αμφιβολία ότι η συλλογή ενός στερεού δείγματος και η προετοιμασία του αντιπροσωπεύουν από τα πιο κρίσιμα βήματα στη συνολική στοιχειακή αναλυτική μεθοδολογία, λόγω των πιθανών πηγών

μόλυνσης κατά την άλεση, το κοσκίνισμα, το ζύγισμα, τη χώνευση και την αραίωση του δείγματος [111].

3.1.1 Χώνευση

Το δείγμα πρέπει να υποστεί την κατάλληλη προκατεργασία ώστε να είναι δυνατόν να προσδιοριστεί ο αναλύτης. Η ανάλυση μας είναι ανόργανη στοιχειακή ανάλυση οπότε είναι επιθυμητή η απομάκρυνση του οργανικού φορτίου. Για να επιτευχθεί αυτό συνήθως χρησιμοποιείται υγρή χώνευση σε φούρνο μικροκυμάτων με ισχυρά οξειδωτικά οξέα. Σκοπός της χώνευσης είναι η πλήρης αποσύνθεση της μήτρας του δείγματος. Σημαντικό ζητούμενο είναι η μείωση του χρόνου προκατεργασίας καθώς η χώνευση είναι το πλέον χρονοβόρο κομμάτι της ανάλυσης, το οποίο επίσης έχει και σημαντικό μέρος του κόστους.

Οι φούρνοι μικροκυμάτων βρήκαν ευρεία χρήση στα χημικά εργαστήρια κατά την δεκαετία του 80. Η χρήση τους έγινε ολοένα και πιο δημοφιλής και εν τέλει καθιερώθηκε λόγω των αυξημένων αποδόσεων στις χημικές αντιδράσεις, γεγονός που οφείλεται στην ενέργεια που παρέχουν τα μικροκύματα. Μια όξινη χώνευση σε φούρνο μικροκυμάτων μπορεί να τελειώσει σε μερικά λεπτά, σε αντίθεση με την συμβατική μέθοδο όπου διαρκεί ώρες. Επίσης οι μέθοδοι, χώνευσης σε κλειστές οβίδες PTFE ελαχιστοποιούν την περίπτωση επιμόλυνσης και απώλειας δείγματος. Συνήθως πριν τη χώνευση προηγείται προχώνευση, διαδικασία κατά την οποία το δείγμα τοποθετείται για κάποιο χρονικό διάστημα με οξύ ή διαλύματα οξέων. Με αυτό τον τρόπο καταστρέφεται τμήμα του οργανικού φορτίου και διευκολύνεται η διαδικασία της κυρίως χώνευσης. Η διαδικασία της χώνευσης υποβοηθείτε εκτός από τα μικροκύματα και από την υψηλή θερμοκρασία. Υπάρχει μεγάλη ποικιλία θερμοκρασιακών προγραμμάτων αναλόγως τις ανάγκες κάθε τύπου δείγματος. Έτσι η θερμοκρασία μπορεί να διατηρείται σταθερή ή να αυξομειώνεται αναλόγως του πόσο δύσκολα αποσυντίθενται η μήτρα του δείγματος. Ωστόσο, θα πρέπει να υπογραμμιστεί πως οι φούρνοι μικροκυμάτων έχουν αυστηρούς κανόνες ασφαλείας που πρέπει να τηρούνται στο ακέραιο ώστε να μην υπάρχουν ατυχήματα και ανεπιθύμητες παρενέργειες (εκρήξεις, απώλεια δείγματος κ.α).

Το δείγμα εισάγεται στον φούρνο μικροκυμάτων μέσα σε οβίδες πολυτετραφθοροαιθυλενίου (PTFE) ή όπως είναι εμπορικά γνωστό, teflon. Ανακαλύφθηκε το 1930 στην εταιρία DuPont στην Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής και κυκλοφορεί στην αγορά από το 1949. Το τεφλόν είναι χημικά αδρανές, αντέχει σε υψηλές θερμοκρασίες (μέχρι και 260 °C) και είναι άκαυστο. Όταν τελειώσει η διαδικασία της χώνευσης, ολόκληρο το οργανικό φορτίο θα έχει απομακρυνθεί. Στη συνέχεια, τα δείγματα φιλτράρονται με φίλτρα PTFE συγκεκριμένων πόρων και διαμέτρου αναλόγως της περίπτωσης. Το φιλτράτισμα αποτελεί προστατευτική δικλίδα για το ICP-MS. Με αυτό τον τρόπο απομακρύνονται πιθανά στερεά που δεν αποσυντέθηκαν κατά την διαδικασία της χώνευσης [112-114].

Σημαντικό κομμάτι της υγρής χώνευσης αποτελεί η χρήση οξέων. Τα οξέα που χρησιμοποιούνται είναι ανόργανα και πολύ πυκνά. Σκοπός τους είναι η αποσύνθεση της οργανικής μήτρας του δείγματος. Τα πλέον χρησιμοποιούμενα αντιδραστήρια στην υγρή

χώνευση είναι το νιτρικό οξύ (HNO_3), το υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2), το υδροχλωρικό οξύ (HCl), το υδροφθόριο (HF), το θειικό οξύ (H_2SO_4) και μίγματα τους. Αναλόγως του δείγματος και της εφαρμοζόμενης μεθόδου χρησιμοποιούνται διαφορετικά οξέα, σε διαφορετικές συγκεντρώσεις και διαφορετικούς όγκους. Τα κλειστά συστήματα με μικροκύματα, όπως αυτό που χρησιμοποιήσαμε στην συγκεκριμένη μελέτη, σε συνδυασμό με την υψηλή θερμοκρασία επιτρέπουν καλύτερες οξειδωτικές συνθήκες για τις οργανικές ενώσεις.

Το πυκνό νιτρικό οξύ είναι το πλέον χρησιμοποιούμενο οξύ για την χώνευση μεγάλης ποικιλίας δειγμάτων. Το νιτρικό οξύ είναι ένα ισχυρά οξειδωτικό μέσο και τα περισσότερα στοιχεία (αναλύτες) είναι διαλυτά σε αυτό, ο Sn και το Sb είναι μερικώς διαλυτά στο νιτρικό οξύ. Η οξειδωτική του δράση ενισχύεται από τις υψηλές θερμοκρασίες που επικρατούν μέσα στην οβίδα teflon στον φούρνο μικροκυμάτων [112].

Γενικά, το υπεροξείδιο του υδρογόνου δρα τόσο σαν οξειδωτικός όσο και ως αναγωγικός παράγοντας στην χώνευση των δειγμάτων. Ωστόσο, οι οξειδωτικές του ιδιότητες χρησιμοποιούνται, συνήθως, για να ενισχύσουν την οξειδωτική δράση του HNO_3 . Το υπεροξείδιο του υδρογόνου είναι εμπορικά διαθέσιμο σε υψηλή καθαρότητα αλλά σπανίως χρησιμοποιείται μόνο του για την χώνευση. Συνήθως χρησιμοποιείται επικουρικά μαζί με το HNO_3 ή το HCl [112].

Για τα στερεά τρόφιμα, ο προσδιορισμός των στοιχείων με τη χρήση συμβατικής, δηλαδή εισαγωγής σε υγρή κατάσταση του δείγματος, απαιτεί ένα στάδιο χώνευσης προκειμένου να επιτευχθεί η απελευθέρωση των επιθυμητών στοιχείων από τη μήτρα του τροφίμου. Η υποβοηθούμενη από ειδικούς φούρνους μικροκυμάτων (MW) χώνευση με νιτρικό οξύ (HNO_3), γενικά σε συνδυασμό με υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2), είναι μια ευρέως χρησιμοποιούμενη μέθοδος για τη διαλυτοποίηση των δειγμάτων τροφίμων. Συγκεκριμένα, η χώνευση μέσω μικροκυμάτων σε κλειστά συστήματα έχει αποκτήσει ιδιαίτερη δημοφιλία καθώς είναι μια απλή και γρήγορη τεχνική χώνευσης που ελαχιστοποιεί την κατανάλωση οξέων, τον κίνδυνο μόλυνσης του δείγματος και την απώλεια των πτητικών στοιχείων. Το HNO_3 είναι το κυρίως επιλεγόμενο οξύ για την ανάλυση με ICP-MS λόγω του ότι προκαλεί ελάχιστες παρεμποδίσεις. Μικρές ποσότητες άλλων οξέων μπορούν να προστίθενται για ειδικούς αναλυτικούς σκοπούς, π.χ. το υδροφθόριο (HF) για τη διαλυτοποίηση συγκεκριμένων στοιχείων (Al, Co, Cr, Ni, Th, U, V) σε φυτικές μήτρες τροφίμων που περιέχουν σημαντικές ποσότητες πυριτίου. Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, η χρήση του HCl του HClO_4 και του H_2SO_4 , γενικά αποκλείεται, ώστε να αποφευχθούν οι παρεμποδίσεις Cl και S αλλά και πιθανό «φράξιμο» των κώνων λόγω σχηματισμού αλάτων, εξαιτίας του H_2SO_4 [115-117].

Για την εξάλειψη των χρονοβόρων διαδικασιών χώνευσης του δείγματος, για στερεά δείγματα σε μορφή σκόνης μπορεί να χρησιμοποιηθεί η τεχνική LA-ICP-MS (Laser Ablation). Ωστόσο, αυτό απαιτεί την παρασκευή ομογενών δειγμάτων σε σκόνη. Ένα άλλο πρόβλημα είναι η προετοιμασία των κατάλληλων προτύπων βαθμονόμησης [118].

Ο τύπος του οξέος που χρησιμοποιείται στη διαδικασία παρασκευής μπορεί να έχει σημαντικές επιπτώσεις στο στάδιο της μέτρησης. Το πιο συχνά χρησιμοποιούμενο αντιδραστήριο σε όλες τις ατομικές τεχνικές είναι το νιτρικό οξύ. Παρά το γεγονός ότι περιστασιακά παρατηρείται καταστολή του σήματος με την παρουσία του, δεν αντιμετωπίζονται σοβαρά αναλυτικά προβλήματα κατά τη χρήση του νιτρικού οξέως σε συγκεντρώσεις μέχρι και 10% και αρκετές φορές υψηλότερες, όσο βέβαια η συγκέντρωση του είναι παρόμοια στα διαλύματα της βαθμονόμησης και του δείγματος. Η προσθήκη υπεροξειδίου του υδρογόνου και υδροχλωρικού οξέος σε διαδικασίες χώνευσης είναι επίσης αρκετά καλά αποδεκτές. Ενώ συνήθως αποφεύγεται η χρησιμοποίηση του θεικού οξέος, εξαιτίας του υψηλού ιξώδους του. Η προκατεργασία του δείγματος αυξάνει σημαντικά το κόστος της ανάλυσης λόγω της απαίτησης για υπερκάθαρα οξέα. Αυτό είναι απαραίτητο ως προϋπόθεση, όχι μόνο επειδή προσδιορίζουμε συγκεντρώσεις επιπέδου ppt αλλά λόγω του ότι πρέπει να προστατέψουμε το σύστημα της φασματομετρίας μαζών από πιθανές επιμολύνσεις.

Οι μέθοδοι χώνευσης μπορούν πραγματοποιηθούν σε ανοικτά συστήματα σε σωλήνες ή σε θερμαινόμενες πλάκες ή σε θερμαινόμενα μπλοκ αλουμίνιου ή σε κλειστά δοχεία με αυξημένη πίεση (σωλήνες χώνευσης, digestion vessels) με θερμικό ή υποβοηθούμενη από μικροκύματα κάψιμο. Η χώνευση υποβοηθούμενη από μικροκύματα είναι μια ελκυστική μεθοδολογία. Εξαιρετική προσοχή πρέπει να δίνεται στην ποιότητα των σωλήνων χώνευσης υπό πίεση, δεδομένου ότι υπάρχουν περιπτώσεις που αναφέρουν περιστασιακές εκρήξεις από τα δοχεία αυτά κατά τη διάρκεια της συμβατικής ή υποβοηθούμενης από μικροκύματα χώνευσης των οργανικών υλικών. Η δυνατότητα εφαρμογής αυτής της τεχνικής εξαρτάται αυστηρά από τον τύπο των τροφίμων: οι υδατάνθρακες διασπώνται εύκολα με νιτρικό οξύ στους 180 °C, ενώ τα λίπη, οι πρωτεΐνες και τα αμινοξέα εμφανίζουν ατελή πέψη λόγω του σχετικά χαμηλού δυναμικού οξειδωσης του νιτρικού οξέος στους 200 °C. Αυτά τα δείγματα απαιτούν την προσθήκη του υπερχλωρικού ή / και θεικού οξέος με όλα τα προβλήματα που σχετίζονται με τη χρήση τους σε υψηλή θερμοκρασία και πίεση.

Οι υποβοηθούμενες από συσκευές μικροκυμάτων (MW) διαδικασίες χώνευσης που βασίζονται στη χρήση των πυκνών οξέων είναι ένας αποτελεσματικός και ασφαλής τρόπος για να την αποσύνθεση πολλών ειδών δειγμάτων με στόχο τον προσδιορισμό του στοιχειακού αποτυπώματος. Η θέρμανση με μικροκύματα έχει αρκετά πλεονεκτήματα έναντι των συμβατικών τεχνικών σε θερμή πλάκα κ.λ.π. Ανάμεσα στα βασικά πλεονεκτήματα των MW είναι οι πολύ μικρότεροι χρόνοι που απαιτούνται για τη χώνευση και η μειωμένη ανάγκη για πολύ ισχυρά αντιδραστήρια-οξέα ή μίγματα αυτών ώστε να πραγματοποιηθεί πλήρης χώνευση. Υπάρχουν δύο διαφορετικά συστήματα διαθέσιμα για χώνευση υποβοηθούμενη με μικροκύματα, αυτά που λειτουργούν υπό πίεση κλειστού δοχείου αλλά αυτά που λειτουργούν κάτω από ατμοσφαιρική πίεση. Η χώνευση υποβοηθούμενη από μικροκύματα σε κλειστά δοχεία υπό πίεση, έχει αποκτήσει ιδιαίτερη δημοφιλία ως μια απλή και γρήγορη τεχνική λύση που ελαχιστοποιεί την κατανάλωση οξέων, τον κίνδυνο μόλυνσης του δείγματος αλλά και την απώλεια των πτητικών στοιχείων του δείγματος. Ένας από τους περιορισμούς της είναι ο

χρόνος που απαιτείται για την ψύξη προτού μπορεί να ανοιχτούν τα δοχεία χώνευσης. Τα κύρια πλεονεκτήματα της θέρμανσης με μικροκύματα είναι η ασφάλεια, ευελιξία, ο έλεγχος της θερμοκρασίας αλλά και η δυνατότητα για προγραμματισμένη αλλαγή της ενέργειας των μικροκυμάτων που στέλνονται στο δείγμα.

3.1.2 Απευθείας ανάλυση στερεών δειγμάτων

Μεταξύ των τεχνικών που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την απευθείας ανάλυση στερεών δειγμάτων είναι η laser ablation (LA) και η ηλεκτροθερμική εξάτμιση (ETV). Η άμεση ανάλυση στερεών προσφέρει μια σειρά από πλεονεκτήματα, όπως είναι η εξαιρετική μείωση του χρόνου προετοιμασίας του δείγματος και συνεπώς η ταχύτερη ανάλυση, η μεγαλύτερη ακρίβεια καθώς τα σφάλματα λόγω της απώλειας ή / και μόλυνσης του αναλύτη μειώνεται κατά πολύ, η υψηλότερη ευαισθησία λόγω της απουσίας οποιασδήποτε αραίωσης καθώς και η απουσία οποιωνδήποτε διαβρωτικών και τοξικών απόβλητων. Παρά το γεγονός ότι μέχρι τις μέρες μας η βιβλιογραφία είναι ελάχιστη, η τεχνική laser ablation αναφέρεται εδώ, καθώς θα μπορούσε να έχει τη δυνατότητα να παρακάμψει το εμπόδιο της προκατεργασίας του δείγματος με αποτέλεσμα την πραγματική υψηλής απόδοσης στοιχειακή ανάλυση. Παρ' όλα αυτά θα πρέπει να τονιστεί και πάλι η απαίτηση ύπαρξης «matrix-matched» προτύπων. Αυτό αποτελεί κυρίαρχο εμπόδιο στη χρήση των τεχνικών απευθείας ανάλυσης στερεών δειγμάτων στα τρόφιμα. Ωστόσο, αυτή η μέθοδος θα μπορούσε να αποδεδειχθεί χρήσιμη στο μέλλον αξιοποιώντας την ικανότητά της να παρέχει πληροφορίες μικροκλίμακας που θα μπορούσαν να είναι εξαιρετικά ενδιαφέρουσες για συγκεκριμένα τρόφιμα [117, 119, 120]. Επίσης, η τεχνική φθορισμού με ακτίνες X (X-ray Fluorescence, XRF) είναι ιδιαίτερα βολική για την στοιχειακή ανάλυση αλλά η έλλειψη ευαισθησίας την κάνουν μη αποτελεσματική για μελέτες αυθεντικότητας τροφίμων [111].

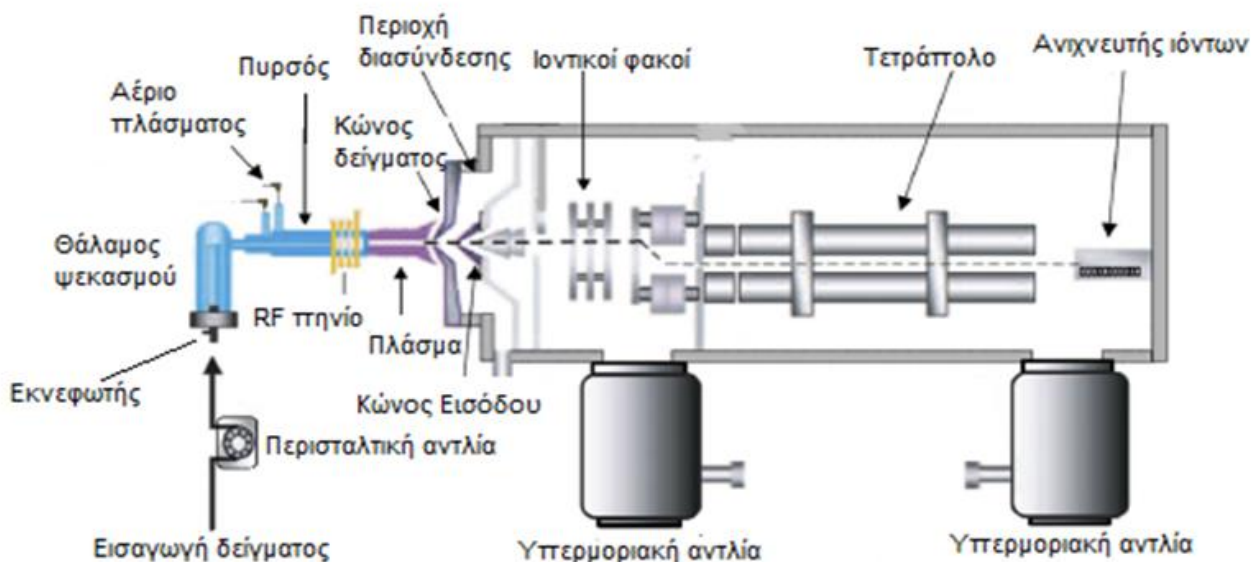
3.2 Φασματομετρία Μαζών με Επαγωγικά Συζευγμένο Πλάσμα (ICP-MS)

Η Φασματομετρία Μαζών με Επαγωγικά Συζευγμένο Πλάσμα (Inductively Coupled Plasma – Mass Spectrometry, ICP-MS) είναι, δίχως αμφιβολία, η πιο γρήγορα εξελισσόμενη τεχνική για την ανάλυση ιχνοστοιχείων και σπάνιων γαιών σήμερα. Η πρώτη εργασία με ICP-MS έγινε το 1980 από τον G. Houk [121]. Από το 1983 που ξεκινά η εμπορική χρήση του ICP-MS από την καναδική εταιρεία Sciex, το όργανο χρησιμοποιείται παγκοσμίως και βρίσκει εφαρμογή σε διάφορους επιστημονικούς κλάδους. Οι κύριοι κλάδοι είναι τα τρόφιμα, η βιοιατρική, το περιβάλλον και η γεωλογία. Ο λόγος για τον οποίο αυτή η αναλυτική τεχνική εξελίσσεται και προτιμάται, είναι η ταχεία και πολυστοιχειακή ανάλυση ιχνοστοιχείων και σπάνιων γαιών σε επίπεδα έως και κάτω από ppt (parts per trillion). Αν και υπάρχουν και άλλες αναλυτικές τεχνικές οι οποίες προσδιορίζουν ιχνοστοιχεία όπως η Ατομική Απορρόφηση με Φλόγα (Flame Atomic Absorption, FAA), η Ηλεκτροθερμική Ατομοποίηση (Electrothermal Atomization, ETA), η Φασματομετρία Ατομικής Εκπομπής με Επαγωγικά Συζευγμένο Πλάσμα (Inductively Coupled Plasma – Atomic Emission Spectrometry, ICP-

AES), το ICP-MS έχει ξεκάθαρα πλεονεκτήματα. Αυτά είναι η ταχεία ανάλυση, τα πολύ χαμηλά όρια ανίχνευσης, η αποκλειστική δυνατότητα ανάλυσης σπάνιων γαιών και ισοτοπικής ανάλυσης, η μεγάλη δυναμική περιοχή, και οι μικρότερες παρεμποδίσεις. Τα τελευταία 10 χρόνια, η τεχνική έχει εξαπλωθεί και εκτός από τα ερευνητικά εργαστήρια, σε αυτά των ρυθμιστικών αρχών και στη βιομηχανία [122-124].

3.2.1 Αρχές Λειτουργίας του ICP-MS

Γενικά, υπάρχουν διάφοροι οργανολογικοί σχεδιασμοί για το ICP-MS. Ωστόσο, παρόλες τις διαφορές κάποια τμήματα του αναλυτικού οργάνου είναι σταθερά. Αυτά είναι ο εκνεφωτής (nebulizer), ο θάλαμος ψεκασμού (spray chamber), ο πυρσός του πλάσματος (plasma torch) και ο ανιχνευτής (detector). Τμήματα του οργάνου που παρατηρούνται διαφοροποιήσεις είναι στον τρόπο διασύνδεσης (interface), στο σύστημα ιοντισμού (ion focusing system), στο σύστημα διαχωρισμού των ατομικών μαζών (mass separation device) και στο θάλαμο κενού (vacuum chamber). Μια σχηματική απεικόνιση του ICP-MS φαίνεται στην Εικόνα 3.1.



Εικόνα 3.1 Η βασική οργανολογία του ICP-MS

Το δείγμα, το οποίο συνήθως βρίσκεται σε υγρή μορφή, αντλείται συνήθως με μια περισταλτική αντλία στον εκνεφωτή, όπου μετατρέπεται σε ένα λεπτό αερόλυμα μαζί με αέριο αργό. Οι λεπτές σταγόνες του αερόλυματος, που αποτελούν 1-2% του δείγματος, διαχωρίζονται από τις μεγαλύτερες σταγόνες στο θάλαμο ψεκασμού. Ο θάλαμος ψεκασμού μπορεί να είναι είτε ομόκεντρος είτε πνευματικός. Στη συνέχεια, το λεπτό αερόλυμα εξέρχεται από τον σωλήνα εξόδου του θαλάμου ψεκασμού και μεταφέρεται στον πυρσό του πλάσματος. Το πλάσμα σχηματίζεται από την αλληλεπίδραση ενός έντονου μαγνητικού πεδίου (το οποίο σχηματίζεται από την την γεννήτρια ραδιοσυχνότητας, radio frequency RF,

που δημιουργείται από το πηνίο χαλκού) στην επαπτομενική ροή ενός αερίου (συνήθως αργού) μέσω ενός ομόκεντρου σωλήνα χαλαζία (πυρσός). Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα τον ιοντισμό του αερίου σε πολύ υψηλή θερμοκρασία (~ 10000 K), κατά τον «εμβολιασμό» με πηγή ηλεκτρονίων από έναν σπινθήρα υψηλής τάσης [110].

Ως πλάσμα ορίζεται ένα αέριο, ηλεκτρικά αγώγιμο μίγμα, που περιέχει σημαντικές συγκεντρώσεις κατιόντων και ηλεκτρονίων. Οι συγκεντρώσεις αυτών των δύο συστατικών είναι τέτοιες που το σύνολο εμφανίζεται ηλεκτρικά ουδέτερο. Το πλάσμα έχει αρκετά υψηλή ενέργεια ώστε να ιοντίσει και να ατομοποιήσει όλα τα στοιχεία του περιοδικού πίνακα. Στην παρακάτω εικόνα, Εικόνα 3.2, φαίνονται τα όρια ανίχνευσης για τα διάφορα στοιχεία του περιοδικού πίνακα.

PERIODIC TABLE OF THE ELEMENTS

IA
1

IIA
2

Atomic Number 57

Name La

Symbol La

Atomic Weight 138.9055

Detection Limit Ranges

- < 0.1 ppt
- 0.1 - 1 ppt
- 1 - 10 ppt
- 10 - 100 ppt
- 0.1 - 1 ppb
- 1 - 10 ppb

IIIA
13

IVA
14

VA
15

VIA
16

VIIA
17

VIIIA
18

1	2											10	11	12	13	14	15	16	17	18									
1	2											10	11	12	13	14	15	16	17	18									
1	2											10	11	12	13	14	15	16	17	18									
3	4											19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36
3	4											19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36
5	6											37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54
5	6											37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54
6	7											55	56	57	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86
6	7											55	56	57	72	73	74	75	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86
7	8											87	88	89	104	105	106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	118	
7	8											87	88	89	104	105	106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	118	
		lanthanide series										58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71				
		actinide series										90	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103				

Εικόνα 3.2. Τα όρια ανίχνευσης ενός σύγχρονου ICP-MS

Όταν τα ιόντα σχηματιστούν στο πλάσμα, οδηγούνται στο φασματόμετρο μαζών μέσω της διασύνδεσης, η οποία βρίσκεται σε κενό 1-2 Torr. Η διασύνδεση αποτελείται από δύο μεταλλικούς κώνους (συνήθως από νικέλιο), που ονομάζονται κώνος δείγματος και κώνος εισόδου. Και οι δύο κώνοι διαθέτουν ένα μικρό στόμιο (0,6 -0,12 mm) για να επιτρέπουν την διέλευση των ιόντων μέσω των ιοντικών φακών προς το φασματόμετρο μαζών. Στα τελευταίας τεχνολογίας ICP-MS, έχει προστεθεί και ένας τρίτος κώνος.

Η περιοχή διασύνδεσης είναι από τις πιο κρίσιμες περιοχές ενός ICP-MS διότι τα ιόντα πρέπει να μεταφερθούν επιτυχώς και να είναι ηλεκτρονικά «ακέραια» από το πλάσμα, το οποίο βρίσκεται σε ατμοσφαιρική πίεση (760 Torr) στην περιοχή του φασματόμετρου μαζών που βρίσκεται υπό πίεση 10^{-6} Torr. Δυστυχώς, υπάρχει μια χωρητική σύζευξη μεταξύ του πηνίου ραδιοσυχνότητας και του πλάσματος, που παράγει μια διαφορά δυναμικού. Εάν αυτό δεν περιοριστεί, θα έχει ως αποτέλεσμα μια ηλεκτρική εκκένωση μεταξύ του πλάσματος και του κώνου του δείγματος. Αυτή η εκκένωση αυξάνει τις παρεμποδίσεις και την κινητική ενέργεια των ιόντων που εισέρχονται στο φασματόμετρο μαζών, κάνοντας την βελτιστοποίηση των ιοντικών φακών ασταθή και μη προβλέψιμη. Για αυτό το λόγο είναι πολύ κρίσιμο να μειώνεται αυτή η εκκένωση μέσω της γείωσης του πηνίου ραδιοσυχνότητας [125].

Όταν τα ιόντα εξέλθουν με επιτυχία από την περιοχή της διασύνδεσης, κατευθύνονται στον κύριο θάλαμο κενού από μια σειρά ηλεκτροστατικών φακών, που καλούνται ιοντικοί φακοί. Το κενό με το οποίο λειτουργεί το σύστημα είναι της τάξης των 10^{-3} Torr, το οποίο δημιουργείται από μια υπερμοριακή αντλία. Στην περιοχή των ιοντικών φακών εστιάζεται ηλεκτροστατικά η δέσμη των ιόντων η οποία κατευθύνεται προς τον αναλυτή μαζών, ενώ «σταματούν» τα φωτόνια και τα νετρόνια από το να προσεγγίσουν τον ανιχνευτή.

Η δέσμη των ιόντων, που περιλαμβάνει όλα τα κατιόντα του δείγματος, εξέρχεται από την περιοχή των ιοντικών φακών και κατευθύνεται στο φασματόμετρο μαζών / αναλυτή μαζών, το οποίο λειτουργεί υπό κενό της τάξης των 10^{-6} Torr που δημιουργείται από μια δεύτερη υπερμοριακή αντλία. Υπάρχουν αρκετοί τύποι αναλυτών μαζών, ο καθένας με τις αδυναμίες και τα πλεονεκτήματά του. Οι τρεις κυριότεροι αναλυτές μαζών είναι το ευρέως χρησιμοποιούμενο τετράπολο (quadrupole), το sector field και του χρόνου πτήσης (time of flight, TOF). Κάθε ένας από τους αναλυτές μαζών θα αναλυθεί εκτενέστερα σε επόμενες παραγράφους. Ο σκοπός ενός αναλυτή μαζών είναι να διαχωρίσει τα ιόντα με ένα συγκεκριμένο πηλίκιο m/z (μάζα / φορτίο) και να απορρίψει τα ιόντα της μήτρας και τυχόν άλλες παρεμποδίσεις. Επειδή συνήθως τα ιόντα που μετράμε είναι μονοφορτισμένα, ο διαχωρισμός βασίζεται στη μάζα των ιόντων.

Η τελική διαδικασία είναι η μετατροπή των ιόντων σε ηλεκτρικό σήμα με έναν ανιχνευτή ιόντων. Ο πιο κοινός ανιχνευτής ιόντων ονομάζεται διακριτός ανιχνευτής δυνόδου, ο οποίος περιέχει μια σειρά από μεταλλικές δυνόδους κατά μήκος του ανιχνευτή. Όταν τα ιόντα εξέρχονται από το αναλυτή μαζών προσκρούουν στη πρώτη δύνοδο και μετατρέπονται σε ηλεκτρόνια. Καθώς τα ηλεκτρόνια έλκονται στην επόμενη δύνοδο και από αυτήν στην επόμενη, πραγματοποιείται ο «πολλαπλασιασμός» των ηλεκτρονίων. Σαν αποτέλεσμα έχουμε μια ισχυρή δέσμη ηλεκτρονίων κατά την έξοδο από την τελευταία δύνοδο. Αυτό το ηλεκτρονικό σήμα επεξεργάζεται από το σύστημα διαχείρισης των δεδομένων και εν τέλει παρουσιάζεται η

συγκέντρωση του αναλύτη μέσω πρότυπων καμπύλων βαθμονόμησης. Το ICP-MS έχει μεγάλο δυναμικό εύρος, έως 9 τάξεις μεγέθους, το οποίο σημαίνει πως υπάρχει η δυνατότητα ανάλυσης δειγμάτων με εύρος συγκεντρώσεων από ppt έως και μερικές εκατοντάδες ppm (parts per million) [110, 125].

Στις επόμενες παραγράφους γίνεται μια αναλυτικότερη παρουσίαση του τρόπου λειτουργίας των τμημάτων του ICP-MS.

1.2 Εισαγωγή του δείγματος

Ο κύριος σκοπός της εισαγωγής του δείγματος είναι να δημιουργηθεί ένα λεπτό αερόλυμα του δείγματος. Αυτό επιτυγχάνεται με τον εκνεφωτή και τον θάλαμο ψεκασμού. Το δείγμα αντλείται με μια περισταλτική αντλία στον εκνεφωτή. Το πλεονέκτημα της περισταλτικής αντλίας είναι η συνεχής ροή που εξασφαλίζεται. Ακόμη δεν επηρεάζεται από τη διαφοράς στο ιξώδες μεταξύ των δειγμάτων, των πρότυπων διαλυμάτων και των τυφλών. Όταν το δείγμα εισέλθει στον εκνεφωτή, το υγρό σχηματίζει αερόλυμα από μικρά σταγονίδια. Με αντίστοιχο τρόπο λειτουργούν και τα αποσμητικά.

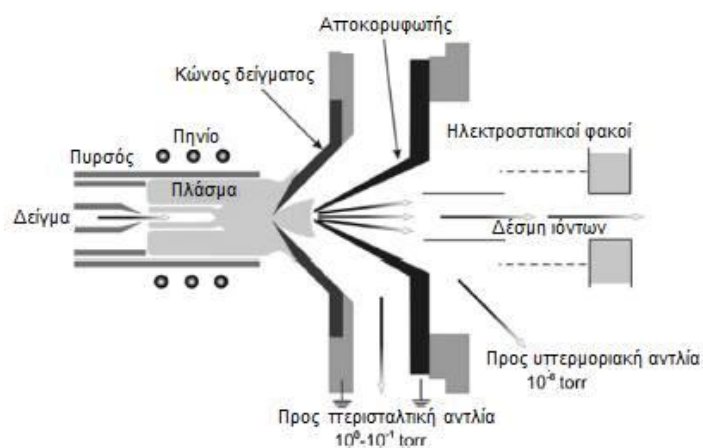
Η λειτουργία του θαλάμου ψεκασμού είναι να επιτρέπει μόνο σε μικρού μεγέθους σταγονίδια την είσοδο στο πλάσμα, επειδή το πλάσμα δεν είναι αρκετά αποτελεσματικό στη διαχείριση μεγάλων σταγονιδίων. Έτσι, χάρις στον θάλαμο ψεκασμού μόνο τα μικρά σταγονίδια ατομοποιούνται και τελικά ιοντίζονται. Η διέλευση μόνο των μικρών σταγονιδίων εξασφαλίζεται από ένα θάλαμο ψεκασμού διπλής διέλευσης. Σε αυτόν, το αερόλυμα αναδύεται από τον εκνεφωτή και κατευθύνεται σε έναν κεντρικό σωλήνα που εκτείνεται σε όλο το μήκος του θαλάμου. Τα σταγονίδια ταξιδεύουν κατά μήκος του σωλήνα και τα πιο μεγάλα (διαμέτρου $> \sim 10 \mu\text{m}$) απομακρύνονται, λόγω βαρύτητας, στο τέλος του σωλήνα. Τα μικρότερα σταγονίδια (διαμέτρου $< 10 \mu\text{m}$) περνούν μεταξύ του εξωτερικού τοιχώματος και του κεντρικού σωλήνα και εξέρχονται από τον θάλαμο ψεκασμού. Τελικά καταλήγουν στον πυρσό του πλάσματος.

Υπάρχουν αρκετοί τρόποι εισαγωγής του δείγματος στο πλάσμα. Αυτοί είναι: διάφοροι τύποι εκνεφωτών (ο πνευματικός εκνεφωτής μαζί με θάλαμο ψεκασμού, ο υπερηχητικός ή μικροσυγκεντρωτικός εκνεφωτής, ο εκνεφωτής υψηλής απόδοσης, ο εκνεφωτής άμεσης έγχυσης, η εφαρμογή της γεννήτριας υδριδίων), συνδυασμός τεχνικών (όπως το LC-ICP-MS) και οι τεχνικές slurry, σπινθήρα, laser ablation, LA και ηλεκτροθερμικής εξάτμισης (electrothermal evaporation) για την ανάλυση στερεών δειγμάτων [126].

1.3 Πηγή Ιόντων

Το επαγωγικά συζευγμένο πλάσμα έχει περιγραφεί σαν μια ιδανική πηγή ιόντων για την ανάλυση ανόργανων συστατικών με φασματομετρία μαζών. Σε σχέση με άλλες καθιερωμένες τεχνικές στοιχειακής ανάλυσης, η φασματομετρία μαζών με επαγωγικά συζευγμένο πλάσμα είναι μία σχετικά καινούργια αναλυτική τεχνική. Η ανάπτυξη της πηγής ιόντων με ICP συνδυάστηκε με θεμελιώδεις μελέτες για το πλάσμα σε σχέση με το πλάσμα αερίων, την ηλεκτρονιακή πυκνότητα, την κατανομή των μονοφορτισμένων και διφορτισμένων κατιόντων όπως επίσης και των ανιόντων. Η πηγή ιόντων του ICP σχηματίζεται σε ένα σχεδόν αδρανές

χημικά περιβάλλον με ένα ρεύμα ευγενούς αερίου. Στην επόμενη εικόνα, Εικόνα 3.3 δίνεται μια σχηματική απεικόνιση μιας πηγής ιόντων ICP. Στην εικόνα περιλαμβάνεται ο πυρσός του πλάσματος, το επαγωγικό πηνίο μαζί με τον κώνο του δείγματος και τον κώνο εισόδου και τη περιοχή διασύνδεσης με το φασματόμετρο μαζών [122, 126].



Εικόνα 3.3. Πηγή ιόντων ICP

1.4 Σχηματισμός Ιόντων

Ο ρόλος του πυρσού πλάσματος είναι καθοριστικός. Το πλάσμα σχηματίζεται από την αλληλεπίδραση ενός έντονου μαγνητικού πεδίου στην επαπτόμενη ροή ενός αερίου (συνήθως αργού) μέσω ενός ομόκεντρου σωλήνα χαλαζία (πυρσός). Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα τον ιοντισμό του αερίου και το σχηματισμό του πλάσματος (πολύ υψηλής θερμοκρασίας ~ 10000 K), όταν «εμβολιάζεται» με πηγή ηλεκτρονίων από έναν σπινθήρα υψηλής τάσης. Αυτή η υψηλή θερμοκρασία εξασφαλίζει σχεδόν απόλυτη αποσύνθεση του δείγματος στα άτομά του. Οι συνθήκες ιοντισμού μέσα στο ICP έχουν ως αποτέλεσμα τον επιτυχή ιοντισμό σχεδόν όλων των στοιχείων του περιοδικού πίνακα, ενώ το σημαντικότερο είναι πως σχεδόν όλα τα ιόντα είναι μονοφορτισμένα. Η αποτελεσματικότητα του ιοντισμού εξαρτάται από την ενέργεια ιοντισμού, E_i , του προς ανάλυση στοιχείου. Στοιχεία με ενέργεια ιοντισμού μικρότερη των 8eV, έχουν απόδοση ιοντισμού περίπου 100%. Καθώς αυξάνεται η πρώτη ενέργεια ιοντισμού, μειώνεται η απόδοσή του.

Ο πυρσός του πλάσματος τοποθετείται οριζοντίως και χρησιμοποιείται για να παράγει κατιόντα και όχι φωτόνια. Στη πράξη, γίνεται κάθε προσπάθεια ώστε τα φωτόνια να μην φτάσουν στον ανιχνευτή γιατί έχουν την τάση να αυξάνουν τον θόρυβο. Ο υψηλός αριθμός ιόντων που σχηματίζεται, σε συνδυασμό με το χαμηλό θόρυβο (background), παρέχει τα καλύτερα όρια ανίχνευσης για τα περισσότερα στοιχεία, συνήθως της τάξης μέρη στο τρισεκατομμύριο (ppt). Όπως φαίνεται και στην Εικόνα 3.2 πιο πάνω περισσότερο από το 85% των στοιχείων του περιοδικού πίνακα μπορούν να αναλυθούν από ένα σύγχρονο ICP-MS.

Μετά τον σχηματισμό των ιόντων στο ICP, τα κατιόντα εξάγονται από το πλάσμα μέσω της περιοχής διασύνδεσης, μεταξύ του κώνου του δείγματος και του κώνου εισόδου, στον

αναλυτή μαζών. Το πρόβλημα που υπήρχε ήταν ότι τα ιόντα σχηματίζονταν σε ατμοσφαιρική πίεση και έπρεπε να μεταφερθούν στο φασματόμετρο μαζών, που λειτουργεί υπό κενό. Ωστόσο το πρόβλημα αυτό λύθηκε. Οι δύο σταδίων διαφορετικές πιέσεις στην περιοχή διασύνδεσης εφαρμόζεται σε κάθε ICP-MS. Μια μηχανική αντλία δημιουργεί ένα κενό της τάξης των 1-2 Torr στην περιοχή της διασύνδεσης, όπου βρίσκεται ο κώνος του δείγματος και ο κώνος εισόδου. Στην συνέχεια τα ιόντα οδηγούνται μέσω της περιοχής διασύνδεσης, στους ιοντικούς φακούς που αποτελούν μέρος του αναλυτή μαζών που λειτουργεί υπό υψηλό κενό. Με την διαφορετική πίεση που επικρατεί στην περιοχή διασύνδεσης λύνεται το πρόβλημα της μεταφοράς των ιόντων από την ατμοσφαιρική πίεση της πηγής ιόντων (760 Torr) στο χαμηλό κενό που επικρατεί στο φασματόμετρο μαζών (10^{-6} Torr) [119, 125].

1.5 Ιοντικοί φακοί

Αφού τα ιόντα έχουν εξαχθεί με επιτυχία από την περιοχή διασύνδεσης, κατευθύνονται στον κύριο θάλαμο κενού από μια σειρά ηλεκτροστατικών φακών, που ονομάζονται ιοντικοί φακοί. Οι ιοντικοί φακοί μπορεί να είναι δίσκοι με οπή στο κέντρο τους, σωλήνες ή πλάκες. Το κενό σε αυτή τη περιοχή δημιουργείται από μια υπερμοριακή αντλία, και είναι της τάξης των 10^{-3} Torr. Σκοπός των ιοντικών φακών είναι να οδηγήσουν τα ιόντα του αναλύτη στον αναλυτή μαζών. Ακόμη στο χώρο των ιοντικών φακών απομακρύνονται από την δέσμη των θετικά φορτισμένων ιόντων, τυχόν ηλεκτρόνιων με την εφαρμογή κατάλληλου δυναμικού καθώς και τα φωτόνια. Πρέπει να τονισθεί ότι οι ιοντικοί φακοί λειτουργούν σαν ένα φίλτρο της ιοντικής ενέργειας και για αυτό θα πρέπει να είναι συμβατοί με το φάσμα της κινητικής ενέργειας των ιόντων [126].

1.6 Αναλυτής Μαζών

Ο αναλυτής μαζών αποτελεί καθοριστικό κομμάτι του φασματόμετρου μαζών και διαχωρίζει τα ιόντα με βάση τον διαφορετικό λόγο m/z . Οι δέσμες των κατιόντων οδηγούνται στο σύστημα αναγνώρισης ιόντων για χωρική ή με βάση το χρόνο ανίχνευση και καταγραφή. Γενικά, όλα τα είδη αναλυτών μαζών έχουν τις εξής δύο λειτουργίες : 1) να διαχωρίζουν τα ιόντα με βάση το m/z και 2) να μετρούν την σχετική αφθονία των ιόντων σε κάθε μάζα (ισοτοπική ανάλυση). Τα προηγούμενα μπορούν να επιτευχθούν με διάφορους τρόπους, αναλόγως του αναλυτή μαζών, όμως κοινός σκοπός τους είναι να διαχωρίσουν τα ιόντα που μας ενδιαφέρουν από άλλα ιόντα που προέρχονται από την μήτρα, τον διαλύτη και το αργό.

Υπάρχουν διάφοροι τύποι αναλυτών μαζών. Στην παρούσα εργασία θα παρουσιαστούν οι τρεις τύποι αναλυτών μαζών που χρησιμοποιούνται περισσότερο. Αυτοί είναι (i) το τετράπολο, (ii) sector field και (iii) το TOF.

1.6.1 Τετράπολο (quadrupole)

Το τετράπολο είναι η φθηνότερη επιλογή αναλυτή μαζών. Είναι ευέλικτο και παρουσιάζει τις υψηλότερες πωλήσεις από όλους τους αναλυτές μαζών για ICP-MS. Εργαστήρια που κάνουν αναλύσεις ρουτίνας συνήθως χρησιμοποιούν το τετράπολο λόγω της υψηλής του αποδοτικότητας.

Ένα τετράπολο αποτελείται από τέσσερις κυλινδρικούς ή υπερβολοειδούς σχήματος ράβδους, ίδιας διαμέτρου και μήκους. Συνήθως είναι κατασκευασμένες από ανοξείδωτο χάλυβα ή μολυβδαίνιο και κάποιες φορές καλύπτονται από μεταλλικό επίχρισμα για να είναι ανθεκτικές στη διάβρωση. Τα τετράπολα που χρησιμοποιούνται στο ICP-MS έχουν 15-20 cm μήκος, περίπου 1 cm διάμετρο και λειτουργούν σε συχνότητα 2–3 MHz.

Στην Εικόνα 3.1 γίνεται σχηματική απεικόνιση ενός ICP-MS που διαθέτει τετράπολο. Όπως φαίνεται το τετράπολο βρίσκεται μεταξύ των ιοντικών φακών και του ανιχνευτή και λειτουργεί υπό κενό της τάξης των 10^{-6} Torr, το οποίο σχηματίζεται από μια υπερμοριακή αντλία. Υποθέτοντας ότι τα ιόντα εξέρχονται από τους ιοντικούς φακούς με τη μέγιστη κινητική τους ενέργεια, είναι έτοιμα να διαχωριστούν με βάση τον m/z λόγο τους από τον αναλυτή μαζών. Αυτά τα φασματόμετρα μαζών έχουν ένα τετραπολικό φίλτρο μαζών, χαμηλής ανάλυσης της τάξης περίπου του 1 amu (atomic mass unit). Τα τετράπολα των εμπορικών ICP-MS έχουν διάφορες επιλογές λειτουργίας. Έτσι η συνολική μάζα ή επιλεγμένα εύρη μπορούν να αναγνωριστούν στην λειτουργία σάρωσης (scanning mode), ή επιλεγμένος αριθμός μαζών μπορεί να υπολογιστεί στην λειτουργία αναπήδησης κορυφών (peak hopping mode). Οι σαρώσεις γίνονται γρήγορα (μέσα σε λίγα λεπτά) και δίνουν ημιποσοτικό αποτέλεσμα.

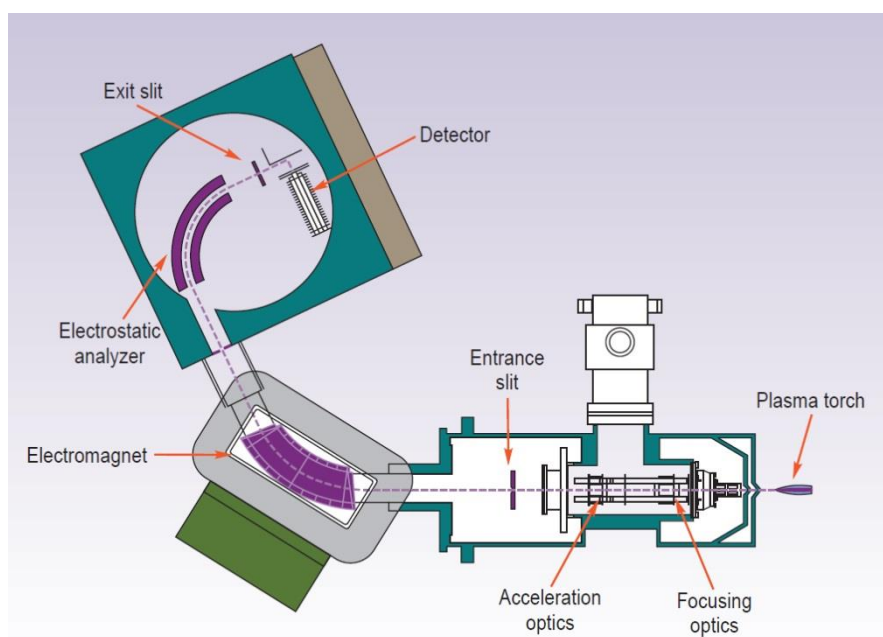
Τα τετράπολα παρουσιάζουν τα εξής πλεονεκτήματα: ταχεία ανάλυση, υψηλό δυναμικό εύρος, ικανότητα διασύνδεσης MS/MS, απλότητα, εύκολη εισαγωγή του δείγματος και σχετικά χαμηλό κόστος [119].

1.6.2 Sector field

Το sector field (SF) είναι ένας αρκετά πιο ακριβός αναλυτής μαζών και χρειάζεται πιο εξειδικευμένο χειριστή για το όργανο. Παρόλο που το τετράπολο είναι ο βασικός αναλυτής μαζών (85% παγκοσμίως), υπάρχουν περιορισμοί στην διακριτική του ικανότητα. Αυτό οδήγησε στην ανάπτυξη φασματομέτρων υψηλής ευκρίνειας (resolution) που η λειτουργία τους βασίζεται στο μαγνητικό πεδίο διπλής εστίασης. Ένα ICP-MS με αναλυτή μαζών απλό τετράπολο έχει ευκρίνεια 0,7 – 1 amu. Αυτό είναι επαρκές για αναλύσεις ρουτίνας, όμως ανεπαρκές για στοιχεία επιρρεπή σε παρεμποδίσεις από το αργό, τον διαλύτη και/ή τις φασματικές παρεμποδίσεις που προέρχονται από το δείγμα. Η τεχνολογία του μαγνητικού πεδίου χρησιμοποιείται για να βελτιώσει την ποσοτικοποίηση, αναλύοντας την μάζα του αναλύτη μακριά από την φασματική παρεμπόδιση. Η ευκρίνεια ενός SF είναι ανεξάρτητη από σήματα ιόντων, ιδιαίτερα αυτά που προέρχονται από χαμηλή μάζα. Τα όργανα SF που χρησιμοποιήθηκαν εμπορικά στα τέλη της δεκαετίας του 80' προσφέρουν διακριτική ικανότητα της τάξης του 10000.

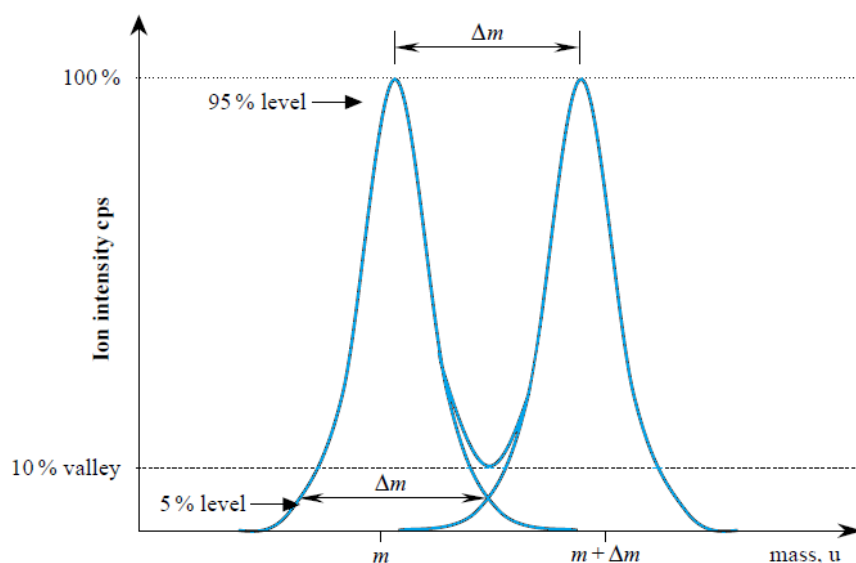
Τα τετράπολα διαθέτουν διακριτική ικανότητα της τάξης του 300. Αυτή η δραματική αύξηση στην διακριτική ικανότητα επέτρεψε τον προσδιορισμό, με σχετική ευκολία ακόμα και σε δείγματα με σύνθετη μήτρα, στοιχείων όπως Fe, K, As, V και Cr που είναι επιρρεπή σε ισοβαρείς παρεμποδίσεις.

Η οργανολογία του SF βασίζεται σε δύο διαφορετικές προσεγγίσεις, την τυπική και την αντίστροφη γεωμετρία των Nier-Johnson. Οι δύο αυτοί σχεδιασμοί βασίζονται σε κοινές βασικές αρχές λειτουργίας. Αποτελούνται από δύο αναλυτές, τον ηλεκτρομαγνητικό και τον ηλεκτροστατικό αναλυτή (ESA). Στην τυπική γεωμετρία, το ESA τοποθετείται πριν τον μαγνήτη, ενώ στην αντίστροφη μετά από αυτόν. Στην παρακάτω εικόνα, Εικόνα 3.4, παρουσιάζεται ένα αντίστροφο φασματομέτρο Nier-Johnson.



Εικόνα 3.4. Φασματόμετρο μαζών αντίστροφης γεωμετρίας Nier-Johnson (Thermo Scientific)

Τα πλεονεκτήματα του SF είναι: α) η πολύ υψηλή ευαισθησία του σε συνδυασμό με τα χαμηλά επίπεδα θορύβου, β) η ποσοτικοποίηση με εξαιρετική ακρίβεια, γ) η ισοτοπική ανάλυση με πολύ υψηλή ακρίβεια (RSD=0,002 %). Από την άλλη πλευρά τα SF-ICP-MS είναι πιο ακριβά από τα απλά ICP-MS. Τέλος, θα πρέπει να τονίσουμε πως όσο αυξάνεται η διακριτική ικανότητα, μειώνεται η ευαισθησία (εικόνα 3.5) Έτσι, λοιπόν, ακόμα και αν το SF προσφέρει εξαιρετικά υψηλή ευκρίνεια, μπορεί να επηρεάσει αρνητικά τα όρια ανίχνευσης [127].



Εικόνα 3.5. Διακριτική ικανότητα vs ευαισθησίας

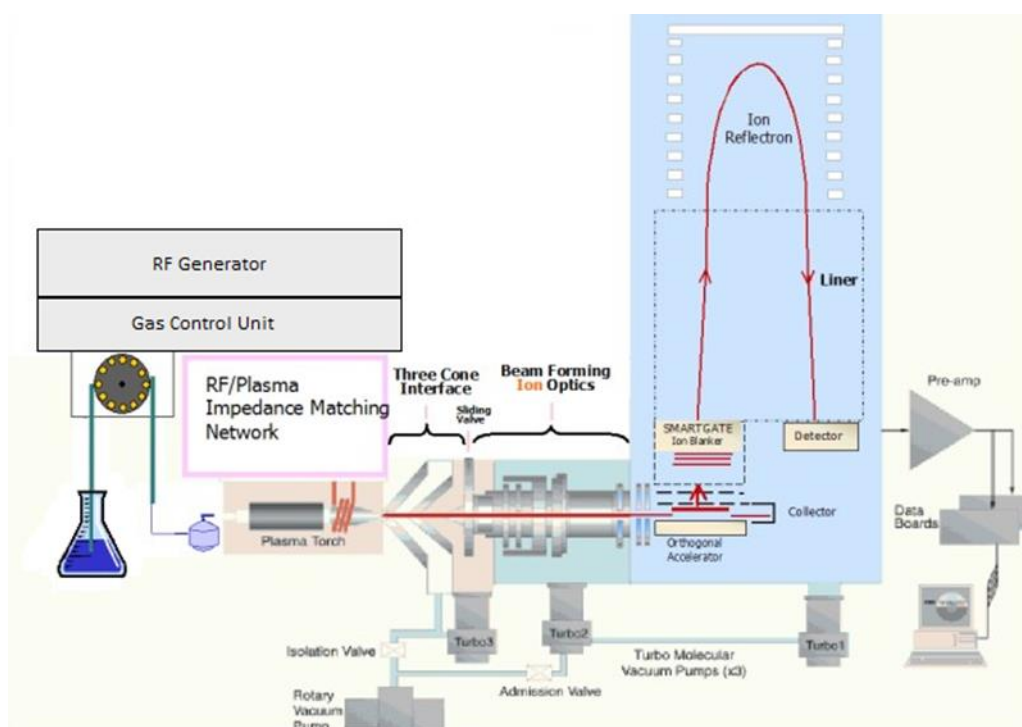
1.6.3 Αναλυτής Μαζών Χρόνου Πτήσης (Time of Flight, TOF)

Η αύξηση των πωλήσεων του ICP-TOF-MS (εικόνα 3.6) οφείλεται στην μοναδική του ικανότητα να αναλύει ταυτόχρονα όλα τα ιόντα που προκύπτουν από το πλάσμα. Αυτή του η ιδιότητα είναι ιδανική για πολυστοιχειακούς προσδιορισμούς κατά τους οποίους τα σήματα μεταβάλλονται εξαιρετικά γρήγορα, όπως στην περίπτωση διασύνδεσης με υγρή χρωματογραφία. Παρουσιάζει υψηλή διακριτική ικανότητα και ταχεία λήψη δεδομένων. Η ιδέα ενός αναλυτή μαζών TOF προτάθηκε για πρώτη φορά από τον Stephens το 1946. Οι αναλυτές μαζών TOF έχουν διαφορετικό τρόπο λειτουργίας από τους άλλους αναλυτές. Στους συμβατικούς αναλυτές, το σήμα των ιόντων είναι μια συνεχής δέσμη. Στη φασματομετρία μαζών με αναλυτή μαζών TOF η δέσμη των ιόντων είναι παλμική, με σκοπό τα ιόντα να εισάγονται στον αναλυτή μαζών σε «πακέτα». Αυτά τα πακέτα εισάγονται στην ελεύθερη περιοχή ενός σωλήνα πτήσης μήκους 30-100 cm. Η αρχή λειτουργίας του αναλυτή TOF είναι ότι όλα τα ιόντα επιταχύνονται με την ίδια κινητική ενέργεια και συνεπώς κάθε ιόν θα αποκτήσει ξεχωριστή ταχύτητα που θα εξαρτάται από τον λόγο m/z . Ιόντα με διαφορετική μάζα

διασχίζουν τον σωλήνα πτήσης με διαφορετική ταχύτητα. Έτσι λοιπόν τα γρηγορότερα ιόντα φτάνουν πρώτα στον ανιχνευτή και ακολουθούν τα βαρύτερα ιόντα.

Ένας αναλυτής TOF μπορεί να καταγράφει ταυτόχρονα πάνω από 30000 φάσματα μαζών. Αυτό βοηθάει στην παρακολούθηση ταχέως μεταβαλλόμενων σημάτων όπως αυτά που προκύπτουν από τεχνικές εισαγωγής δείγματος όπως οι laser ablation και οι χρωματογραφικές τεχνικές.

Σε σύγκριση με άλλους αναλυτές μαζών, τα SF-ICP-MS έχουν την υψηλότερη διακριτική ικανότητα που φτάνει περίπου το 10000, ενώ τα τετράπολα κυμαίνονται από 300-400. Επίσης, από τη στιγμή που λιγότερο από το 20% των ιόντων επιταχύνονται στον σωλήνα πτήσης, τα όρια ανίχνευσης ενός ICP-TOF-MS είναι μια τάξη μεγέθους μικρότερη από αντίστοιχα συστήματα που έχουν τετράπολο ως αναλυτή μαζών. Για αυτό το λόγο υπάρχουν περιορισμοί στην χρήση TOF αναλυτών μαζών που εξαρτάται από το είδος της ανάλυσης που σκοπεύουμε να κάνουμε [126, 128].



Εικόνα 3.6. Αναλυτής μαζών χρόνου πτήσης (GBC Scientific Equipment)

1.7.1 Συστήματα Ανίχνευσης Ιόντων

Η τελική διαδικασία είναι να μετατραπούν τα ιόντα σε ηλεκτρικό σήμα με έναν ανιχνευτή ιόντων. Όταν οι διαχωρισμένες δέσμες ιόντων αφήνουν τον ανιχνευτή μαζών, τα ιόντα συλλέγονται και ανιχνεύονται από ένα κατάλληλο σύστημα ανίχνευσης ιόντων. Η ένταση του ρεύματος των ιόντων στην έξοδο του αναλυτή μαζών είναι της τάξης από 10^{-8} έως 10^{-19} A. Η καταχώρηση ρευμάτων τόσο υψηλής όσο και χαμηλής έντασης, απαιτεί ένα γρήγορο σύστημα καταγραφής των ιόντων.

Ο πιο κοινός ανιχνευτής ιόντων είναι ο διακριτός ανιχνευτής δυνόδων, ο οποίος περιέχει μια σειρά από μεταλλικές δυνόδους κατά μήκος του ανιχνευτή. Όταν τα ιόντα εξέρχονται από το φίλτρο μάζας προσκρούουν στη πρώτη δύνοδο και μετατρέπονται σε ηλεκτρόνια. Καθώς τα ηλεκτρόνια έλκονται στην επόμενη δύνοδο και από αυτήν στην επόμενη, πραγματοποιείται ο «πολλαπλασιασμός» των ηλεκτρονίων. Σαν αποτέλεσμα έχουμε μια ισχυρή δέσμη ηλεκτρονίων κατά την έξοδο από την τελευταία δύνοδο.

Άλλα συχνά χρησιμοποιούμενα συστήματα ανίχνευσης ιόντων είναι το Φαρανταϊκό κύπελλο (Faraday cup) και ο δευτερεύον ηλεκτρονιακός πολλαπλασιαστής (secondary electron multiplier) [126].

3.2.2 Παρεμποδίσεις

Οι παρεμποδίσεις στο ICP-MS προκαλούνται όταν τα ιόντα που σχηματίζονται από το πλάσμα, το δείγμα ή συνδυασμό και των δύο και έχουν λόγο m/z παραπλήσιο με αυτό του ιόντος του αναλύτη. Οι παρεμποδίσεις στο ICP-MS χωρίζονται σε 2 κατηγορίες, τις φασματοσκοπικές και τις μη φασματοσκοπικές που προκύπτουν από τη μήτρα και τη φύση του δείγματος. Και τα δύο είδη παρεμποδίσεων αποτελούν εμπόδιο στην τεχνική ICP-MS, μειώνοντας τον αναλυτικό διαχωρισμό που μπορούμε να πετύχουμε. Παρόλα αυτά, χάρις την εξελιγμένη οργανολογία και το προηγμένο λογισμικό έχει επιτευχθεί ελαχιστοποίηση των παρεμποδίσεων τα τελευταία χρόνια. Στον Πίνακα 3.1 παρουσιάζονται οι πιο κοινές παρεμποδίσεις στο ICP-MS [129].

Πίνακας 3.1 Οι πιο κοινές παρεμποδίσεις στην ICP-MS

Παρεμποδίσεις	Αναλύτης που παρεμποδίζεται
$^{12}\text{C}^{15}\text{N}^+$, $^1\text{H}^{12}\text{C}^{14}\text{N}^+$, $^{13}\text{C}^{14}\text{N}^+$, $^{14}\text{N}^2$	^{27}Al
$^{38}\text{Ar}^1\text{H}^+$	^{39}K
$^{40}\text{Ar}^+$	^{40}Ca
$^{35}\text{Cl}^{16}\text{O}^+$, $^{34}\text{S}^{16}\text{O}^1\text{H}^+$, $^{35}\text{Cl}^{16}\text{O}^+$, $^{38}\text{Ar}^{13}\text{C}^+$, $^{36}\text{Ar}^{15}\text{N}^+$, $^{36}\text{Ar}^{14}\text{N}^1\text{H}^+$, $^{37}\text{Cl}^{14}\text{N}^+$, $^{36}\text{S}^{15}\text{N}^+$, $^{33}\text{S}^{18}\text{O}^+$, $^{34}\text{S}^{17}\text{O}^+$	^{51}V
$^{35}\text{Cl}^{16}\text{O}^1\text{H}^+$, $^{40}\text{Ar}^{12}\text{C}^+$, $^{36}\text{Ar}^{16}\text{O}^+$, $^{37}\text{Cl}^{15}\text{N}^+$, $^{34}\text{S}^{18}\text{O}^+$, $^{36}\text{S}^{16}\text{O}^+$, $^{38}\text{Ar}^{14}\text{N}^+$, $^{36}\text{Ar}^{15}\text{N}^1\text{H}^+$, $^{35}\text{Cl}^{17}\text{O}^+$	^{52}Cr
$^{38}\text{Ar}^{16}\text{O}^1\text{H}^+$, $^{40}\text{Ar}^{14}\text{N}^1\text{H}^+$, $^{39}\text{K}^{16}\text{O}^+$, $^{37}\text{Cl}^{18}\text{O}^+$, $^{40}\text{Ar}^{15}\text{N}^+$, $^{38}\text{Ar}^{17}\text{O}^+$, $^{36}\text{Ar}^{18}\text{O}^1\text{H}^+$, $^{37}\text{Cl}^{17}\text{O}^1\text{H}^+$, $^{23}\text{Na}^{32}\text{S}^+$, $^{36}\text{Ar}^{19}\text{F}^+$	^{55}Mn
$^{40}\text{Ar}^{16}\text{O}^+$, $^{40}\text{Ca}^{16}\text{O}^+$, $^{40}\text{Ar}^{15}\text{N}^1\text{H}^+$, $^{38}\text{Ar}^{18}\text{O}^+$, $^{38}\text{Ar}^{17}\text{O}^1\text{H}^+$, $^{37}\text{Cl}^{18}\text{O}^1\text{H}^+$	^{56}Fe
$^{40}\text{Ar}^{16}\text{O}^1\text{H}^+$, $^{40}\text{Ca}^{16}\text{O}^1\text{H}^+$, $^{40}\text{Ar}^{17}\text{O}^+$, $^{38}\text{Ar}^{18}\text{O}^1\text{H}^+$, $^{38}\text{Ar}^{19}\text{F}^+$	^{57}Fe

$^{40}\text{Ar}^{35}\text{Cl}^+$, $^{59}\text{Co}^{16}\text{O}^+$, $^{36}\text{Ar}^{38}\text{Ar}^1\text{H}^+$, $^{38}\text{Ar}^{37}\text{Cl}^+$, $^{36}\text{Ar}^{39}\text{K}$, $^{43}\text{Ca}^{16}\text{O}^2$, $^{23}\text{Na}^{12}\text{C}^{40}\text{Ar}$, $^{12}\text{C}^{31}\text{P}^{16}\text{O}^{2+}$	^{75}As
$^{40}\text{Ar}^{2+}$, $^{32}\text{S}^{16}\text{O}^{3+}$	^{80}Se

3.3 Άλλες στοιχειακές τεχνικές

Αν και σήμερα η τεχνική ICP-MS είναι από τις πιο επιλεγόμενες τεχνικές για στοιχειακή ανάλυση, η τεχνική ICP-AES είναι μια αξιόλογη εναλλακτική λύση για υψηλής απόδοσης πολύ-στοιχειακή ανάλυση γεγονός που οφείλεται κυρίως στο χαμηλότερο κόστος του οργάνου. Έτσι η ICP-AES χρησιμοποιείται και αυτή για μελέτες αυθεντικότητας τροφίμων [130-132]. Σε σύγκριση με τις τεχνικές ατομικής απορρόφησης, η ICP-AES είναι μια γρήγορη πολύ-στοιχειακή τεχνική με εκτεταμένο δυναμικό εύρος και μέτρια έως χαμηλά όρια ανίχνευσης.

Η ICP-AES χρησιμοποιεί τον ίδιο τύπο πηγής πλάσματος που χρησιμοποιείται και στην ICP-MS. Έτσι, μετά την δημιουργία των ιόντων, αυτά διεγείρονται σε ένα επίπεδο όπου μπορούν να εκπέμπουν φως σε ένα χαρακτηριστικό μήκος κύματος. Η τεχνική ICP-AES χαρακτηρίζεται από εξαιρετικά πλούσια φάσματα. Η ICP-AES επιτρέπει επίσης τη δυνατότητα παρακολούθησης μηκών κύματος έως και 165 nm παρέχοντας υψηλή ευαισθησία για τον φώσφορο και το θείο [111, 123].

Μια άλλη, λιγότερο χρησιμοποιούμενη ομάδα αναλυτικών τεχνικών στις μελέτες αυθεντικότητας είναι οι τεχνικές Ατομικής Απορρόφησης, από τις οποίες οι πιο συχνά χρησιμοποιούμενες τεχνικές είναι η GFAAS (ατομικής απορρόφησης με φούρνο γραφίτη) και η FAAS (ατομικής απορρόφησης με φλόγα). Οι συγκεντρώσεις των στοιχείων προσδιορίζονται με τη χρήση μηκών κύματος φωτός που απορροφώνται ειδικά από ένα στοιχείο, τα οποία αντιστοιχούν στις ενέργειες που απαιτούνται για την μετάπτωση των ηλεκτρονίων από ένα ενεργειακό επίπεδο σε ένα άλλο υψηλότερο. Η φασματοσκοπία ατομικής απορρόφησης με Φούρνο Γραφίτη (GFAAS) είναι τόσο ευαίσθητη, ώστε να μπορεί να μετρήσει έως και συγκεντρώσεις της τάξης των μερών στο δισεκατομμύριο (ppb). Άλλες τεχνικές, όπως η φασματοσκοπία φθορισμού ακτινών X (XRF), η ανάλυση ενεργοποίησης νετρονίων (NAA, neutron activation analysis), εκπομπή ακτινών-X (proton-induced X-ray emission) έχουν χρησιμοποιηθεί ελάχιστα για μελέτες αυθεντικότητας και έτσι δεν καλύπτονται εκτενέστερα [133, 134].

3.4 Τεχνικές συνδιασμού (hyphenated techniques)

Οι τεχνικές συνδιασμού που περιλαμβάνουν την ICP-MS είναι από τους ταχύτερα αναπτυσσόμενους τομείς στην ατομική φασματοσκοπία. Αυτό συμβαίνει διότι, από μόνη της, η τεχνική ICP-MS δεν παρέχει πληροφορίες για τη χημική μορφή (ανόργανη ή οργανική ή οξειδωτική κατάσταση) ή δομική μορφή (π.χ. οργανομεταλλικών ενώσεων) των στοιχείων που υπάρχουν, αφού όλες οι μορφές των αναλυτών μετατρέπονται σε θετικά φορτισμένα ατομικά ιόντα στο πλάσμα. Ωστόσο, εκτός από εξαιρετικούς στοιχειακούς αναλυτές η ICP-MS, είναι,

επίσης, ένας πολύ καλός ανιχνευτής για τη χρωματογραφία. Έτσι, είναι σήμερα εμπορικά διαθέσιμα υβριδικά ICP-MS μέσω της σύζευξης μιας τεχνική διαχωρισμού (π.χ. χρωματογραφικές τεχνικές) με την ICP-MS. Με τον τρόπο αυτό, οι αναλύτες στόχοι, π.χ. οργανομεταλλικές ενώσεις, διαχωρίζονται με βάση το οργανικό τους «κομμάτι» ή στις καταστάσεις οξείδωσης πριν τη στοιχειακή ανάλυση. Οι πιο κοινές τεχνικές διαχωρισμού είναι η υγρή χρωματογραφία (LC, Liquid Chromatography) και η αέρια χρωματογραφία (GC, Gas Chromatography). Σε αυτές συμπεριλαμβάνονται η ιοντική χρωματογραφία (IC, Ion Chromatography) και άλλες τεχνικές διαχωρισμού, όπως η τριχοειδής ηλεκτροφόρηση (CE, Capillary Electrophoresis) και η κλασμάτωση ροής πεδίου (FFF, Field Flow Fractionation). Η δυνατότητα του ICP-MS να διακρίνει με ακρίβεια ισότοπα του ίδιου στοιχείου, ιδιαίτερα σήμερα με τα σύγχρονα όργανα υψηλής διακριτικής ικανότητας καθώς και αυτά με την τεχνολογία της κυψελίδας συγκρούσεων για την εξάλειψη των παρεμποδίσεων, μας επιτρέπει την ποσοτικοποίηση με ισοτοπική αραίωση (ID, isotopic dilution), χωρίς να είναι έτσι απαραίτητα τα πρότυπα υλικά.

3.5 Σύγκριση ICP-MS με άλλες τεχνικές

Αναμφισβήτητα η τεχνική ICP-MS είναι η ταχύτερα αναπτυσσόμενη στοιχειακή τεχνική σήμερα. Χωρίς καμία αμφιβολία ότι ο κύριος λόγος για την απaráμιλλη ανάπτυξη της είναι η ικανότητά της να πραγματοποιεί γρήγορους πολύ-στοιχειακούς προσδιορισμούς σε ultra – trace επίπεδα. Κατά τη διάρκεια των τελευταίων 10-15 ετών, η τεχνική έχει επεκταθεί έξω από τα ερευνητικά εργαστήρια και χρησιμοποιείται πια από κρατικά εργαστήρια ελέγχου αλλά και από τη βιομηχανία. Σε αυτή την επιτυχία συνέβαλαν μια σειρά από επιθυμητά χαρακτηριστικά. Σε αυτά περιλαμβάνονται η υψηλή ευαισθησία, η δυνατότητα ταχύτατης πολύ-στοιχειακής ανάλυσης, η ευρεία δυναμική περιοχή και η ικανότητα διάκρισης μεταξύ ισότοπων. Στα σύγχρονα ICP-MS και με την απουσία των φασματοσκοπικών παρεμβολών, τα όρια ανίχνευσης (LOD) των περισσότερων στοιχείων βρίσκονται κάτω από 1 ppt. Ένα άλλο πλεονέκτημα είναι η καταλληλότητα του ICP-MS ως εκλεκτικός ανιχνευτής πραγματικού χρόνου σε υβριδικές τεχνικές όπως LC-ICP-MS, GC-ICP-MS κλπ. κυρίως για μελέτες speciation [115, 135, 136]. Για μια δίκαιη παρουσίαση της ανωτέρω τεχνικής παρέχονται επίσης και οι περιορισμοί και τα μειονεκτήματα της, οι περισσότεροι από τους οποίους αφορούν το κόστος της ανάλυσης.

Πλεονεκτήματα του ICP-MS

- Εξαιρετικά χαμηλά όρια ανίχνευσης (< ppt)
- Ευρεία στοιχειακή κάλυψη (73 στοιχεία)
- Ταχεία ανάλυση (73 στοιχεία σε 3 λεπτά)
- Υψηλή απόδοση σε αναλύσεις (160 δείγματα x 73 = 11680 στοιχεία αναλύσεων σε 8 ώρες)

- Κατάλληλη για υψηλό αριθμό των δειγμάτων και/ή στοιχείων
- Ευρεία δυναμική περιοχή (μέχρι 9 τάξεις μεγέθους)
- Δυνατότητα παροχής ισοτοπικών δεδομένων (π.χ. MC-ICP-MS)
- Υβριδικές τεχνικές

LA-ICP-MS (Laser ablation) για στερεά

LC-ICP-MS, GC-ICP-MS, κλπ για ανίχνευση χημικών ειδών (speciation)

- Εύκολη ερμηνεία φασμάτων
- Προσδιορισμός Σπάνιων Γαιών

Μειονεκτήματα του ICP-MS

- Αρχικό κόστος κεφαλαίου, ~150.000 € για ένα ICP-MS με απλό τετράπολο
- Κόστος λειτουργίας, ~250 € / 10 ώρες
- Αν και υπάρχουν κάποιες φασματικές παρεμβολές είναι σαφώς προσδιορισμένες
- Για να αναλυθούν υγρά θα πρέπει να περιέχουν λιγότερο από <0,2% διαλυμένα στερεά
- Απαιτήση για καθαρές συνθήκες δωματίου για να επιτευχθεί ultra-trace ανάλυση
- Ανάγκη για υπερκάθαρα οξέα για την υγρή χώνευση

Η τεχνική της φασματομετρίας μαζών με επαγωγικά συζευγμένο πλάσμα (ICP-MS) προσφέρει όχι μόνο εξαιρετικά χαμηλά όρια ανίχνευσης σε επίπεδα κάτω από μέρη στο τρισεκατομμύριο (ppt) αλλά επιτρέπει και την ποσοτικοποίηση μέχρι αυτά τα επίπεδα. Αυτή η μοναδική δυνατότητα καθιστά τη τεχνική να είναι ελκυστικότερη σε σύγκριση με άλλες ατομικές τεχνικές, όπως η φασματοσκοπία ατομικής απορρόφησης (AAS) στις διάφορες μορφές της, όπως Ηλεκτροθερμικής (ET-AAS), φούρνου γραφίτη (GF-AAS), γεννήτριας υδριδίων (HG-AAS), ψυχρών ατμών (CV-AAS) και φασματοσκοπία ατομικής εκπομπής με επαγωγικά συζευγμένο πλάσμα (ICP-AES), που αναφέρεται επίσης και ως φασματοσκοπία οπτικής εκπομπής με επαγωγικά συζευγμένο πλάσμα (ICP-OES). Η τεχνική ICP-MS έχει σαφή πλεονεκτήματα όσον αφορά, την ταχύτητα της ανάλυσης, τα όρια ανίχνευσης, την δυνατότητα για πολύ-στοιχειακή ανάλυση, την ισοτοπική ικανότητα και την υψηλή ευελιξία (π.χ. υβριδικές τεχνικές, LC-ICP-MS κλπ.). Σε σύγκριση με την ICP-AES, η οποία είναι επίσης μια τεχνική με την δυνατότητα πολύ-στοιχειακής ανάλυσης, η τεχνική ICP-MS παρέχει επιπλέον ισοτοπικές πληροφορίες, πολύ χαμηλότερα όρια ανίχνευσης και εξαιτίας αυτού ικανότητα προσδιορισμού σπάνιων γαιών.

Έτσι αν και εκτιμούμε το έργο που έγινε με άλλες τεχνικές, όπως η AAS, που χρονολογείται ήδη έναν αιώνα και εξακολουθεί να χρησιμοποιείται. Ωστόσο, το κόστος αγοράς για ένα βασικό όργανο ICP-MS έχει μειωθεί σημαντικά κατά τη διάρκεια της τελευταίας δεκαετίας, καθιστώντας το προσιτό σε πολλά εργαστήρια που δεν θα μπορούσαν να υπολογίζουν στην τεχνική στο παρελθόν. Θα πρέπει να σημειωθεί εδώ ότι ορισμένες ειδικές τεχνικές, όπως η GFAAS έχουν ακόμη να προσφέρουν, αν και δεν είναι υψηλής απόδοσης, έχει ορισμένα ιδιαίτερα πλεονεκτήματα, όπως η αξεπέραστη ευαισθησία για κάποια συγκεκριμένα στοιχεία όπως το As, Ca, Cr, Fe, K, Mg, Mn, Na, Zn.

Το κύριο μειονέκτημα της τεχνικής ICP-MS σε σύγκριση με τις τεχνικές ατομικής απορρόφησης είναι το κόστος για την αγορά του οργάνου καθώς και το κόστος λειτουργίας όσον αφορά τα αναλώσιμα, δηλαδή κατά κύριο λόγο το αργό υψηλής καθαρότητας αλλά και τα υπερκάθαρα οξέα που απαιτούνται. Επιπλέον, είναι υποχρεωτική η ύπαρξη εκπαιδευμένου προσωπικού για τη διενέργεια των εργασιών ανάλυσης και συντήρησης. Μια σύντομη σύγκριση με άλλες τεχνικές παρουσιάζεται στον πίνακα 3.2 [115, 116, 137].

Συμπερασματικά, σήμερα η ICP-MS είναι η κύρια τεχνική για την στοιχειακή ανάλυση των τροφίμων. Η καθοριστική πρόοδος και η τεχνολογική βελτίωση καθιστά την ICP-MS σχεδόν απαραίτητη. Είναι δημοφιλής όχι μόνο στην έρευνα αλλά και σε εργαστήρια ρουτίνας.

Πίνακας 3.2. Η τεχνική ICP-MS σε σύγκριση με άλλες φασματοσκοπικές τεχνικές

Τεχνική Χαρακτηριστικά	AAS	GF-AAS	ICP-AES	ICP-MS
Όρια Ανίχνευσης	Πολύ καλή για κάποια στοιχεία	Άριστη για κάποια στοιχεία	Πολύ καλή για τα περισσότερα στοιχεία	Άριστη για τα περισσότερα στοιχεία
Απόδοση δειγμάτων	10-15 s/στοιχείο	3-4 min/στοιχείο	1-60 στοιχεία σε χρόνο < 3 min	73 στοιχεία σε χρόνο < 3 min
Δυναμική περιοχή	10 ³	10 ²	10 ⁶	10 ⁸
Ακρίβεια (%RSD)				
short term	0.1-1.0%	0.5-5%	0.1-2%	0.5-2%
long term	1-2%	1-10%	1-5%	2-4%
Παρεμποδίσεις				

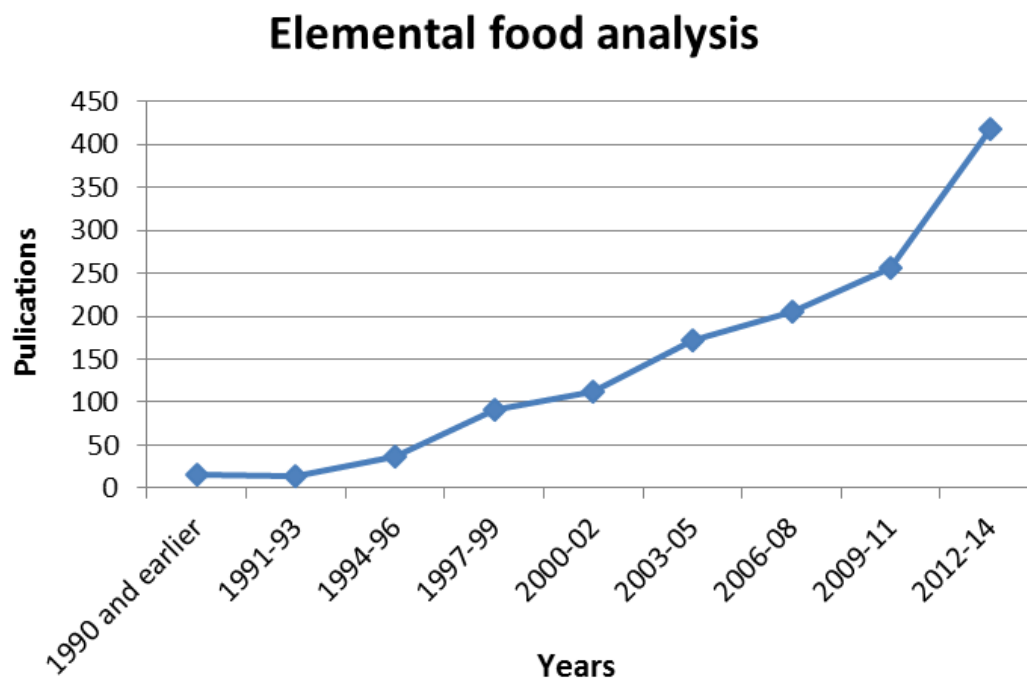
Φασματοσκοπικές, Χημικές, μήτρας Φυσικές, μήτρας	Αρκετές Πολλές Μερικές	Αρκετές Πολλές Πολύ Λίγες	Πολλές Αρκετές Αρκετές	Αρκετές Πολύ λίγες Πολύ λίγες
Διαλυμένα στερεά	0.5-5%	> 20%	0-20%	0.1-0.4%
Όγκος δείγματος	Μεγάλος	Πολύ μικρός	Μικρός	Πολύ μικρός
Ημι-ποσοτική ανάλυση	Όχι	Όχι	Ναι	Ναι
Ισοτοπική Ανάλυση	Όχι	Όχι	Όχι	Ναι
Ευκολία χρήσης	Πολύ εύκολη	Μετρίως Εύκολη	Εύκολη	Μετρίως Εύκολη
Ανάπτυξη μεθόδου	Εύκολη	Δύσκολη	Μετρίως Εύκολη	Δύσκολη
Ανάλυση Σπάνιων Γαιών	Όχι	Όχι	Όχι	Ναι
Κόστος κεφαλαίου	Χαμηλό	Χαμηλό έως μέτριο	Υψηλό	Πολύ υψηλό
Κόστος για:				
Ένα στοιχείο	Χαμηλό	Μέτριο	Υψηλό	Υψηλό
Πολλαπλά στοιχεία	Μέτριο	Υψηλό	Χαμηλό	Χαμηλό

3.6 Εφαρμογές, Προοπτικές και Τάσεις της έρευνας

Σήμερα, η τεχνική ICP-MS έχει γίνει ιδιαίτερα δημοφιλής για την στοιχειακή ανάλυση τροφίμων, παρά το υψηλό κόστος απόκτησης των οργάνων και τα υψηλά τρέχοντα έξοδα που αφορούν τα αναλώσιμα και τη συντήρηση. Πολλά ερευνητικά ινστιτούτα αλλά και εργαστήρια των ρυθμιστικών αρχών έχουν στραφεί στην ICP-MS. Από την άλλη, η τεχνική χρησιμοποιείται ολοένα και περισσότερο για έλεγχο και συμμόρφωση με τους κανονισμούς των τροφίμων από μεγάλες βιομηχανίες τροφίμων ή ιδιωτικά εργαστήρια ανάλυσης. Ως αποτέλεσμα η φασματοσκοπία ατομικής απορρόφησης (AAS) δεν υπαγορεύεται πλέον ως η αποκλειστική μέθοδος στοιχειακής ανάλυσης από τη νομοθεσία που αναφέρεται στις πρότυπες αναλυτικές μεθόδους του επίσημου ελέγχου τροφίμων.

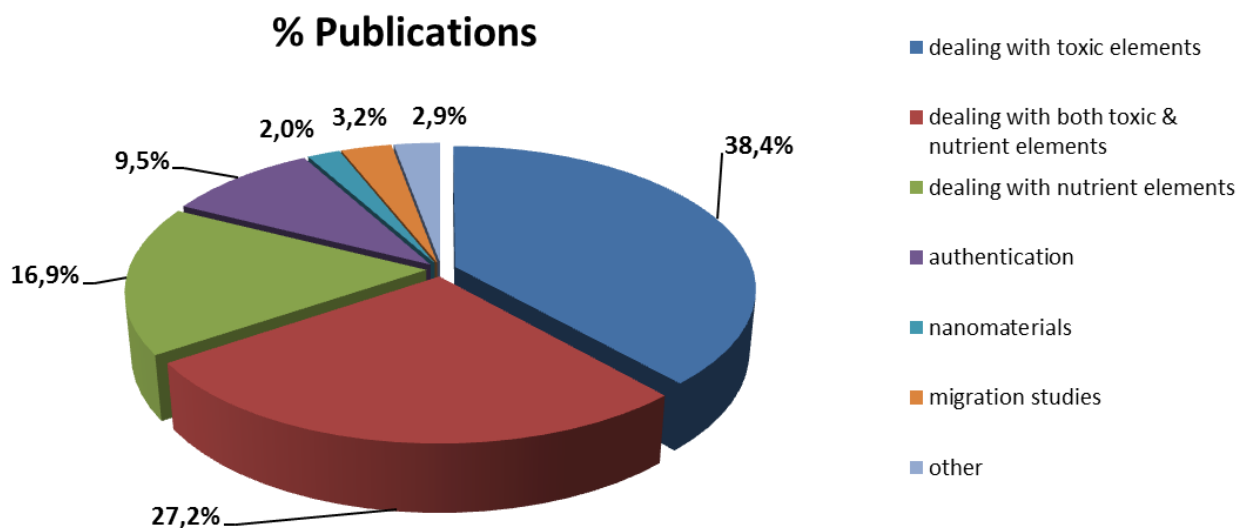
Όπως μπορούμε να δούμε στο σχήμα 3.1, οι δημοσιεύσεις που αφορούν τη στοιχειακή ανάλυση τροφίμων με την ICP-MS αυξάνονται συνεχώς. Υπήρξε μια ταχεία αύξηση δημοσιεύσεων που αφορούν την στοιχειακή ανάλυση (ICP-MS), ιδιαίτερα τα τελευταία 4

χρόνια, όπου σχεδόν διπλασιάστηκαν, από 312 σε 521. Αυτό συμβαίνει λόγω του εκτεταμένου τομέα/πεδίου των σχετικών ερευνών που μπορούν να πραγματοποιηθούν με την ICP-MS. Θα πρέπει να σημειωθεί ότι το ένα πέμπτο των άρθρων σχετικά με στοιχειακή ανάλυση των τροφίμων αφορούν την υβριδική τεχνική LC-ICP-MS.



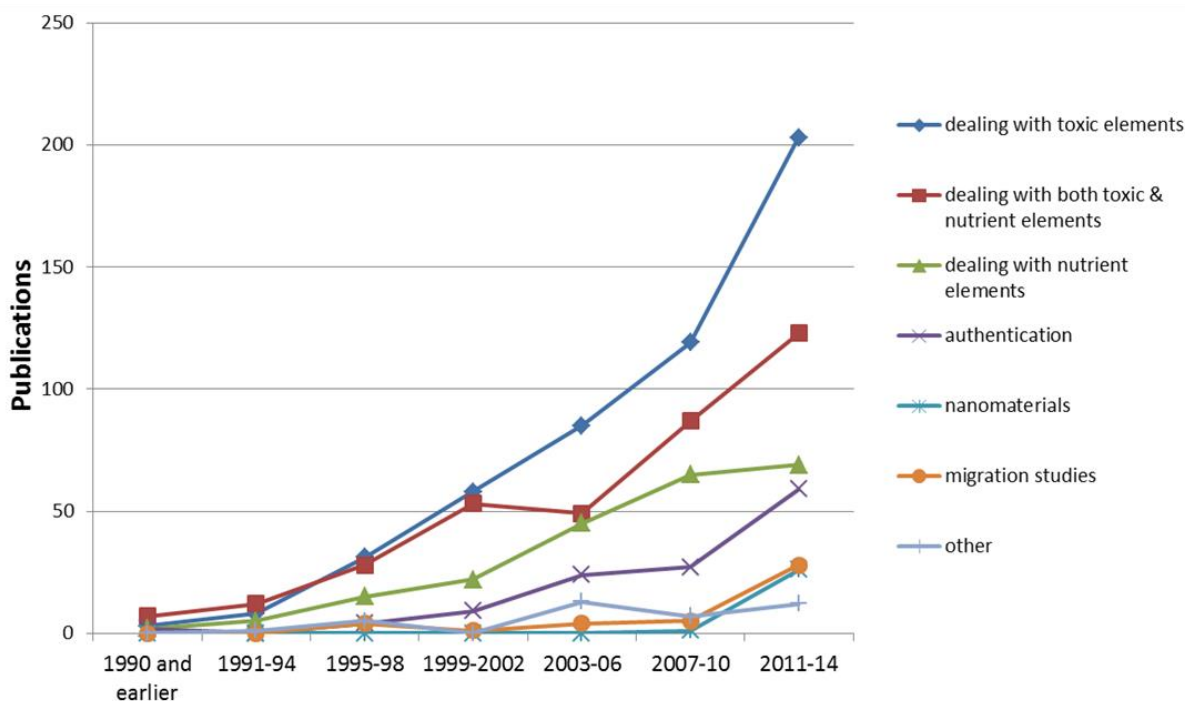
Σχήμα 3.1. Χρονική εξέλιξη της έρευνας όσον αφορά την στοιχειακή ανάλυση (ICP-MS) τροφίμων (scopus, 1-2015).

Η στοιχειακή ανάλυση των τροφίμων αφορά κυρίως προσδιορισμούς τοξικών και θρεπτικών στοιχείων αλλά και μελέτες αυθεντικότητας (σχήμα 3.2). Το μεγαλύτερο μέρος του εργασιών, περίπου 1100 δημοσιεύσεις, ασχολείται με τοξικά και θρεπτικά στοιχεία. Από αυτά, περίπου 510 άρθρα αφορούν μελέτες τοξικών στοιχείων, όπως βαρέα μέταλλα (π.χ. Cd, Hg, Pb, Sn, Sb), μεταλλοειδή (π.χ. As, Po) και ραδιενεργά στοιχεία (π.χ. ^{226}Ra , ^{226}Th , ^{235}U). Περισσότερα από 220 αφορούν μελέτες για τα θρεπτικά στοιχεία όπως Fe, Mg, Mn, Mo, Zn και Co, ενώ περίπου 360 ασχολούνται και με τοξικά και με θρεπτικά στοιχεία «μαζί». Αυτό μπορεί πιθανώς να οφείλεται στη δύσκολη διάκριση των τοξικότητας από την θρεπτική δράση στοιχεία, καθώς υπάρχει πάντα η πτυχή της ποσότητας/κατανάλωσης, καθώς ένα πάρα πολύ ωφέλιμο στοιχείο μετατρέπεται σε τοξικό σε πολύ υψηλές δόσεις. Η αυθεντικότητα των τροφίμων είναι επίσης μείζονος ενδιαφέροντος, με 120 άρθρα. Δηλαδή είναι ο πιο ενεργός τομέας πέρα από την αξιολόγηση των τοξικών και των θρεπτικών συστατικών των τροφίμων. Μία άλλη αναδυόμενη τάση είναι τα νανοϋλικά με μεταλλικά στοιχεία που χρησιμοποιούνται στα τρόφιμα, απαντάται σε 30 δημοσιεύσεις. Τέλος οι μελέτες μετανάστευσης τοξικών στοιχείων από υλικά της συσκευασίας στα τρόφιμα εμφανίζουν επίσης ενδιαφέρον.



Σχήμα 3.2 % Κατανομή των στόχων των εφαρμογών των στοιχειακών αναλύσεων τροφίμων, όσον αφορά την ICP-MS.

Η χρονική εξέλιξη των δημοσιεύσεων απεικονίζεται στο σχήμα 3.3. Οι έρευνες σχετικά με την περιεκτικότητα τοξικών και θρεπτικών στοιχείων και την αυθεντικότητα των τροφίμων αυξάνονται συνεχώς, ειδικά από το 1995 και μετά. Θα πρέπει να σημειωθεί (τα δεδομένα προέρχονται από βιβλιογραφική αναζήτηση στο Scopus 6-2015) ότι οι δημοσιεύσεις για τον έλεγχο της αυθεντικότητας των τροφίμων που χρησιμοποιούν τα στοιχειακό αποτύπωμα μεταξύ του 2011 και του 2014 έχουν διπλασιαστεί από 27 σε 59. Υπάρχει επίσης μια αυξημένη ενασχόληση σχετικά με έρευνες προσδιορισμού μεταλλικών σωματιδίων στα ναουϊλικά τροφίμων όπως και σε μελέτες μετανάστευσης κατά τα 4 τελευταία έτη. Η ώθηση της έρευνας στα ναουϊλικά στα τρόφιμα αντικατοπτρίζει αυτή την «απότομη» αύξηση του αριθμού των σχετικών άρθρων.



Σχήμα 3.3. Χρονική εξέλιξη των εφαρμογών της ICP-MS στις διάφορες κατηγορίες εφαρμογών.

3.2 Τοξικά και θρεπτικά στοιχεία

Η στοιχειακή περιεκτικότητα των τροφίμων είναι υπό διεξοδική συζήτηση ως παράμετρος ποιότητας και ασφάλειας. Τα τρόφιμα είναι η κύρια πηγή απαραίτητων στοιχείων για τους ανθρώπους και ταυτόχρονα αποτελούν μια σημαντική πηγή έκθεσης σε τοξικά στοιχεία. Η πρόσληψη θρεπτικών στοιχείων που παίζουν σημαντικό ρόλο στην ανθρώπινη βιολογία θα μπορούσε να είναι ανεπαρκής λόγω της χαμηλής περιεκτικότητας ορισμένων τροφίμων. Από την άλλη πλευρά, η περιεκτικότητα τοξικών στοιχείων θα μπορούσε να καταστήσει ορισμένα τρόφιμα επικίνδυνα, ιδιαίτερα για τα βρέφη και άλλα ευάλωτα άτομα. Στο πλαίσιο αυτό, τα επίπεδα των απαραίτητων και τοξικών στοιχείων πρέπει να προσδιορίζονται γρήγορα και αξιόπιστα σε προϊόντα τροφίμων, έτσι η ICP-MS έχει πολλά να προσφέρει σε αυτούς τους τομείς. Η πλειοψηφία των εφαρμογών της ICP-MS αφορούν τον πολύ σημαντικό τομέα των τοξικών και θρεπτικών στοιχείων (σχήμα 3.2) όπου οι δυνατότητες που προσφέρει η φασματομετρία μαζών (MS) όπως η ανυπέβλητη ευαισθησία και η ικανότητα για μελέτη σπάνιων γαιών καθώς και ισοτόπων σε ορισμένες περιπτώσεις είναι σχεδόν απαράμιλλες. Η σχεδόν ανυπέβλητη αυτή ευαισθησία, είναι σχεδόν απαραίτητη για τον προσδιορισμό των τοξικών και θρεπτικών ιχνοστοιχείων σε τρόφιμα για βρέφη και άλλες ευάλωτες κατηγορίες ανθρώπων [138]. Όσον αφορά τον προσδιορισμό των απαραίτητων στοιχείων, η βιβλιογραφία εστιάζεται κυρίως στα απαραίτητα ιχνοστοιχεία, όπως ο σίδηρος, ο ψευδάργυρος και ο χαλκός, καθώς και υπερ-ιχνοστοιχεία όπως το κοβάλτιο, το μαγγάνιο και το σελήνιο.

Ο προσδιορισμός των θρεπτικών και τοξικών ιχνοστοιχείων στη διατροφή έχει αποκτήσει μεγάλη σημασία. Ωστόσο, τα στοιχεία μπορεί να υπάρχουν στα τρόφιμα σε πολλές χημικές μορφές, για π.χ. σαν δομικά συστατικά από απαραίτητα μακρο-θρεπτικά (π.χ. πρωτεΐνες, υδατάνθρακες, λιπίδια), απαραίτητα μικρο-θρεπτικά (π.χ. βιταμίνες, ένζυμα) και σαν ιχνοστοιχεία. Σήμερα είναι ευρέως αποδεκτό, ότι η «μορφή» (speciation) ενός χημικού στοιχείου στη μήτρα ενός τροφίμου (συνδεδεμένο σε οργανικές ενώσεις ή ελεύθερο, οξειδωτική κατάσταση), θα καθορίσει τη βιοδιαθεσιμότητα του (π.χ. στο ανθρώπινο γάλα), το μεταβολισμό του, τη μεταφορά/αποθήκευσή του στο σώμα και τελικά τον βιοχημικό ρόλο του και τη διατροφική του αξία. Με άλλα λόγια, οι πληροφορίες των διαφόρων ειδών χημικών ειδών (speciation) των στοιχείων (πέρα από την ολική τους συγκέντρωση) χρειάζονται για τη σωστή αξιολόγηση για το πώς ένα συγκεκριμένο στοιχείο απορροφάται, κατακρατείται, μεταβολίζεται κτλ. αλλά και για να αποφασίσουμε αν οι επιδράσεις του είναι ωφέλιμες (απαραίτητα στοιχεία, essential elements), τοξικές, ή αν ακόμα το στοιχείο δεν έχει καμιά δυσμενή επίπτωση σε δεδομένη συγκέντρωση, αλλά μπορεί να φανεί «θεραπευτικό» ή τοξικό σε υψηλότερα επίπεδα συγκέντρωσης. Εν συντομία, η μελέτη της ευεργετικότητας/θεραπευτικότητας ή τοξικότητας ενός δεδομένου ιχνοστοιχείου είναι στενά συνδεδεμένη με τη χημική του μορφή (speciation) στο τρόφιμο. Έτσι για την αξιολόγηση του ρόλου των ιχνοστοιχείων στα τρόφιμα και τη διατροφή είναι σημαντικός ο προσδιορισμός των ειδών των στοιχείων (speciation) και όχι μόνο ο προσδιορισμός της ολικής συγκέντρωσης. Πεδία έρευνας έχουν συμπεριλάβει την αναγνώριση μεταλλοπρωτεϊνών και μεταλλοενζύμων με την επακόλουθη ανάλυση της δομής και λειτουργίας τους, τον εντοπισμό των βιολογικών μεταλλο-συμπλεκτικών υποκαταστατών και τη διαφοροποίηση μεταξύ των οξειδωτικών καταστάσεων των μετάλλων όπως το χρώμιο, για το οποίο η οξειδωτική κατάσταση Cr (III) είναι απαραίτητη σε ιχνοποσότητες ενώ η οξειδωτική κατάσταση Cr (VI) τοξική. Ο καλύτερος και σχεδόν ο μόνος τρόπος για αυτές τις μελέτες είναι οι υβριδικές (hybrid ή αλλιώς hyphenated) τεχνικές με ICP-MS.

Τα αναδύομενα ερευνητικά πεδία των metallomics [139-141] και foodomics [142-144], προϋποθέτουν προηγμένες τεχνολογίες φασματομετρίας μαζών, όπως υβριδικές τεχνικές με ICP-MS. Τα πλεονεκτήματα της φασματομετρίας μαζών περιλαμβάνουν την ικανότητα πραγματοποίησης μελετών speciation όταν συνδυαστούν με τεχνικές διαχωρισμού. Υπάρχει επίσης ενδιαφέρον για την ασφάλεια των νανο-υλικών που χρησιμοποιούνται στα τρόφιμα καθώς και για την μετανάστευση από τα υλικά συσκευασίας. Έτσι, το ICP -MS χρησιμοποιείται τα τελευταία χρόνια για να διεκρινίσει πιθανούς κινδύνους ως αποτέλεσμα των μεταλλικών σωματιδίων που εισάγονται στα τρόφιμα από τα νανο - υλικά που χρησιμοποιούνται.

Συμπεράσματα

Στις μέρες μας, οι στοιχειακές τεχνικές αποτελούν τη βασική επιλογή για την αξιολόγηση της ποιότητας και της ασφάλειας των τροφίμων αλλά και της επιβεβαίωσης χαρακτηριστικών όπως η γεωγραφική τους προέλευση. Οι τεχνικές ICP-MS και ICP-AES είναι αυτές που χρησιμοποιούνται κατά κύριο λόγο για την παραλαβή των στοιχειακών αποτυπωμάτων, λόγω της ικανότητάς τους για πολύ-στοιχειακή ανάλυση. Η τεχνική ICP-MS έχει σαφή πλεονεκτήματα σε σύγκριση με την ICP-AES όπως είναι στα χαμηλότερα όρια ανίχνευσης, η

ισοτοπική ικανότητα και η ικανότητα προσδιορισμού των σπάνιων γαιών. Τα όρια ανίχνευσης φτάνουν κάτω από τα επίπεδα του ppt γεγονός που καθιστά την τεχνική ICP-MS ιδιαίτερα χρήσιμη για τον προσδιορισμό χαμηλής αφθονίας στοιχείων όπως είναι οι σπάνιες γαίες, οι ακτινίδες και τα πολύτιμα μέταλλα. Επιπλέον, η πρόσφατη αύξηση του ενδιαφέροντος για την χρήση των σπάνιων γαιών ως δείκτες αυθεντικότητας θα μεγαλώσει ακόμη στο εγγύς μέλλον. Επί του παρόντος, η γνώση του στοιχειακού αποτυπώματος των τροφίμων φαίνεται ως ένας αξιόλογος τρόπος για τον καθορισμό της γεωγραφικής προέλευσης των τροφίμων. Θα ήταν παράλειψη, αν δεν αναφερθεί σε αυτό το σημείο ότι οι μελέτες αυθεντικότητας που βασισμένες στο στοιχειακό αποτύπωμα μπορούν να ενισχυθούν σημαντικά αν υπάρχουν δεδομένα του ισοτοπικού αποτυπώματος, αλλά και γενικότερα δεδομένα από άλλες τεχνικές που χρησιμοποιούνται στις μελέτες αυθεντικότητας.

4. Στοιχειακά αποτυπώματα

4.1 Θεωρία και προοπτικές

Το στοιχειακό περιεχόμενο των τροφίμων βρίσκεται υπό διεξοδική συζήτηση ως παράμετρος ποιότητας και ασφάλειας για τη θρεπτική και τοξική τους επίδραση. Οι πολυστοιχειακές τεχνικές αποτελούν σημαντικά αναλυτικά εργαλεία για την απάντηση ενός ευρέως φάσματος ερωτήσεων στην έρευνα της επιστήμης τροφίμων. Η τεχνική ICP-MS έχει μετατραπεί στην τεχνολογία που επιτρέπει ταυτόχρονα την ανίχνευση και τον ποσοτικό προσδιορισμό των χαμηλών σε περιεκτικότητα χημικών υπολειμμάτων και ρύπων σε μια από τις πιο συνθέτες βιολογικές μήτρες: το τρόφιμο. Η χρήση της στοιχειακής ανάλυσης εφαρμόζεται σε πολλά θέματα αυθεντικότητας, όπως ο προσδιορισμός της γεωγραφικής προέλευσης [145], ο εντοπισμός των οικονομικά ωθούμενων παρατυπιών [146] και η διαφοροποίηση μεταξύ οργανικών και συμβατικών προϊόντων [147].

Το αποτύπωμα των οργανικών ενώσεων θα μπορούσε να είναι χαρακτηριστικό της γεωγραφικής τους προέλευσης. Ωστόσο, το προφίλ των οργανικών ενώσεων μπορεί να ποικίλλει ανάλογα με τις διάφορες γεωργικές και κτηνοτροφικές πρακτικές (όπως η διατροφή των ζώων, η λίπανση και η χρήση φυτοπροστατευτικών προϊόντων) τις κλιματικές συνθήκες, την ιστορία των καλλιεργητικών εκτάσεων, την ποικιλία των φυτών ή το είδος των ζώων, καθώς και τη γεωγραφική θέση και τα χαρακτηριστικά του εδάφους. Έτσι είναι μερικές φορές δύσκολο να υπάρχει μια σίγουρη εκτίμηση για την προέλευση των τροφίμων από το αποτύπωμα των οργανικών ενώσεων. Η λήψη των στοιχειακών αποτυπώματων, και ιδιαίτερα το προφίλ των σπάνιων γαιών, έχει αποδειχθεί μια εξαιρετική εναλλακτική λύση σε αυτού του είδους τα προβλήματα [111].

Το στοιχειακό αποτύπωμα μπορεί να περιέχει όχι μόνο μακρο-στοιχεία (όπως το νάτριο, το ασβέστιο και το κάλιο) και ιχνοστοιχεία (όπως ο χαλκός, ο ψευδάργυρος και το σελήνιο), αλλά και σπάνιες γαίες (όπως το λανθάνιο, το δημήτριο και το σαμάριο) ή άλλα στοιχεία που βρίσκονται σε πολύ χαμηλή φυσική αφθονία (όπως το ιρίδιο και ο χρυσός). Το αποτύπωμα των σπάνιων γαιών έχει αποδειχθεί ότι είναι ενδεικτικό της γεωγραφικής προέλευσης σε αρκετές περιπτώσεις [145, 146, 148, 149]. Σε γενικές γραμμές, η υψηλή περιεκτικότητα σε νάτριο ή

χλώριο (πάντοτε αναφερόμενοι στο ίδιο προϊόν από διάφορες περιοχές), μπορεί να υποδεικνύει θαλάσσια προέλευση, υψηλή περιεκτικότητα σε κάλιο μπορεί να υποδεικνύει μια προέλευση από γρανιτικά πετρώματα ενώ υψηλή περιεκτικότητα σε ασβέστιο μια προέλευση από ιζηματογενή πετρώματα ή βασαλτικά. Η περίπτωση άλλων όχι και τόσο άφθονων στοιχείων όπως το νικέλιο, το βανάδιο και το χρώμιο, μπορεί να είναι το αποτέλεσμα των διάφορων τεχνολογικών διαδικασιών που χρησιμοποιήθηκαν για την παραγωγή των τροφίμων [150].

Τα τρόφιμα φυτικής προέλευσης αντλούν το στοιχειακό τους περιεχόμενο από το έδαφος στο οποίο αναπτύσσονται. Έτσι δεν υπάρχει πάντα κάποια άμεση σχέση με το ολικό περιεχόμενο ανόργανων στοιχείων του εδάφους, αφού τα φυτά προσλαμβάνουν τα ανόργανα στοιχεία ανάλογα με τις ανάγκες τους αλλά και το είδος τους (γενετική προέλευση). Με βάση τα παραπάνω μια άλλη επιλογή είναι να παίρνουμε είναι το βιοδιαθέσιμο κλάσμα των ανόργανων συστατικών του εδάφους. Η διαθεσιμότητα των στοιχείων εξαρτάται από πολλούς παράγοντες, όπως το pH του εδάφους, η υγρασία, το πορώδες, ο πηλός, τα χουμικά σύμπλοκα, κ.λ.π. Οι περιβαλλοντικές συνθήκες ανάπτυξης των φυτών παίζουν επίσης ρόλο. Ένα ερώτημα που τίθεται εδώ είναι το πώς μπορεί να αξιολογηθεί το βιοδιαθέσιμο κλάσμα των ανόργανων συστατικών του εδάφους. Γενικά δεν υπάρχει μια καθολική λύση (συγκεκριμένο εκχυλιστικό μέσο) που να παρέχει μια σαφή εικόνα για όλα αυτά τα στοιχεία, γι' αυτό και απαιτείται περαιτέρω διερεύνηση. Αυτό επεκτείνεται αν σκεφτούμε το μεγάλο φάσμα των εκχυλιστικών μέσων που χρησιμοποιούνται για την εξαγωγή του βιοδιαθέσιμου κλάσματος των ανόργανων συστατικών. Μερικά από τα μέσα που χρησιμοποιούνται είναι το οξικό οξύ, το EDTA, το οξικό αμμώνιο, το χλωριούχο ασβέστιο, το νιτρικό νάτριο και το νιτρικό αμμώνιο. Για ορισμένα από αυτά τα μέσα έχουν αναπτυχθεί και πρότυπα υλικά αναφοράς εδάφους (π.χ. BCR-483, BCR-484, BCR-700). Το έδαφος σε μια συγκεκριμένη περιοχή σε συνδυασμό με τη βιοδιαθεσιμότητα συγκεκριμένων στοιχείων θα μπορούσε να αποδειχθεί πολύ καλός γεωγραφικός δείκτης προέλευσης των φυτικών τροφίμων.

Οι αλκαλικές γαίες, ιδίως το ρουβίδιο και το καίσιο που μεταφέρονται εύκολα στα φυτά από το έδαφος, αποτελούν καλούς δείκτες γεωγραφικής ταυτότητας. Βέβαια, όπως είναι λογικό, υπάρχουν και κάποιοι περιοριστικοί παράγοντες για τα στοιχειακά αποτυπώματα ως δείκτες αυθεντικότητας. Αυτοί είναι η λίπανση, οι εποχικές διακυμάνσεις, η βοτανική προέλευση, το είδος του εδάφους και το έτος παραγωγής, καθώς προκαλούν αλλαγές στη συγκέντρωση πολλών στοιχείων. Παρ' όλα αυτά μπορούν να επιλεγθούν τα κατάλληλα στοιχεία που δεν επηρεάζονται από αυτούς τους παράγοντες. Οι σπάνιες γαίες τηρούν αυτές τις προϋποθέσεις καθώς συνδέονται άμεσα με τη γεωλογία της περιοχής και συνήθως επηρεάζονται ελάχιστα από τις καλλιεργητικές πρακτικές και το έτος συγκομιδής. Έτσι αποδεικνύονται ιδιαίτερα αξιόπιστοι δείκτες γεωγραφικής προέλευσης [145, 146, 148, 149].

Όσον αφορά τα τρόφιμα ζωϊκής προέλευσης, η στοιχειακή τους σύνθεση των ζωικών ιστών εξαρτάται σε σημαντικό βαθμό από την στοιχειακή σύνθεση της βλάστησης ή των ζωοτροφών που κατανάλωσαν τα ζώα. Έτσι οι τροφές - βλάστηση που καταναλώνουν τα ζώα είναι η είναι η αντανάκλαση των βιο-διαθέσιμων στοιχείων που υπάρχουν στα υποκείμενα εδάφη από τα οποία προέρχεται η τροφή τους. [91, 151, 152].

Έτσι το στοιχειακό προφίλ είναι μια από τις πιο σημαντικούς δείκτες για τις μελέτες της αυθεντικότητας των τροφίμων. Παρόλο που εκτιμώνται οι τεχνικές της Ατομικής Απορρόφησης, οι κύριες στοιχειακές τεχνικές για εκτίμηση της αυθεντικότητας είναι η Φασματομετρία Μαζών Επαγωγικά Συζευγμένου Πλάσματος (ICP - MS) και η Φασματοσκοπία Ατομικής Εκπομπής Επαγωγικά Συζευγμένου Πλάσματος (ICP - AES). Επιπλέον το κόστος αγοράς για ένα βασικό όργανο ICP - MS ή ICP - AES έχει πέσει αρκετά την τελευταία δεκαετία, καθιστώντας τα πιο προσιτά από οικονομική άποψη, σε πολλά εργαστήρια. Ειδικά το ICP-MS λόγω της υψηλής του ευαισθησίας, της απόδοσης και της ακρίβειας του είναι ιδανικό για μελέτες αυθεντικότητας.

Στοιχειακά αποτυπώματα

Το στοιχειακό αποτύπωμα των τροφίμων εφαρμόζεται ολοένα και περισσότερο στον έλεγχο της αυθεντικότητας. Το στοιχειακό προφίλ αναφέρεται όχι μόνο στα μακρό-στοιχεία (όπως το νάτριο, το ασβέστιο και το κάλιο) και ιχνοστοιχεία (όπως ο χαλκός, ο ψευδάργυρος και το σελήνιο) αλλά και στις σπάνιες γαίες (όπως το λανθάνιο, το δημήτριο και το σαμάριο) και στα άλλα στοιχεία τα οποία βρίσκονται σε πολύ χαμηλή φυσική αφθονία (όπως το ιρίδιο και ο χρυσός). Υπάρχει μια βασική διαφορά μεταξύ τροφίμων φυτικής και ζωικής προέλευσης. Τα φυτά αντλούν τα ανόργανα συστατικά τους από το έδαφος στο οποίο αναπτύσσονται. Η λίπανση, η βοτανική προέλευση, το είδος του εδάφους, οι κλιματικές συνθήκες, η εποχή της εσοδείας και το έτος παραγωγής προκαλούν παραλλακτικότητα στις συγκεντρώσεις πολλών στοιχείων. Ωστόσο, αυτές οι διαφορές είναι μικρότερες από αυτές που παρατηρήθηκαν μεταξύ των περιχών παραγωγής, όταν επιλέγονται τα κατάλληλα στοιχεία.

Οι Σπάνιες γαίες εμφανίζονται ως ιδανικοί εν δυνάμει δείκτες για τον προσδιορισμό της γεωγραφικής προέλευσης. Το στοιχειακό αποτύπωμα των σπανίων γαιών συνδέεται άμεσα με τη γεωλογία μιας συγκεκριμένης περιοχής και γενικά επηρεάζετε ελάχιστα από διαφορετικές γεωργικές πρακτικές και το έτος συγκομιδής. Η στοιχειακή σύνθεση των ζώων αντανάκλα, σε κάποιο βαθμό, τη βλάστηση με την οποία τρέφονται. Πέρα από την πρόσληψη τροφής, το στοιχειακό περιεχόμενο εξαρτάται από διάφορους παράγοντες, όπως το νερό και η πιθανή ρύπανση, τα οποία όλα εξαρτώνται από τη γεωγραφική προέλευση. Έτσι, η στοιχειακή σύνθεση της βλάστησης είναι η «αντανάκλαση» των βιο-διαθέσιμων συστατικών που υπάρχουν στα υποκείμενα εδάφη από τα οποία είχαν καλλιεργηθεί [1].

Οι πολυστοιχειακές αναλυτικές τεχνικές χρησιμοποιούνται ολοένα και περισσότερο στον έλεγχο της αυθεντικότητας των τροφίμων. Το στοιχειακό αποτύπωμα των τροφίμων μπορεί να μετρηθεί με διάφορες αναλυτικές τεχνικές. Παρ' ότι η Ατομικής Απορρόφηση έχει χρησιμοποιηθεί κατά το παρελθόν [153], σήμερα οι τεχνικές επαγωγικά συζευγμένου πλάσματος με φασματομετρία μαζών (ICP-MS) και επαγωγικά συζευγμένου πλάσματος με φασματοσκοπία ατομικής εκπομπής (ICP-AES) χρησιμοποιούνται σχεδόν αποκλειστικά λόγω της ικανότητάς τους για πολυστοιχειακές ανάλυσεις [10, 147, 154]. Συγκεκριμένα, η λήψη των στοιχειακών αποτυπωμάτων δίνει απαντήσεις σε θέματα αυθεντικότητας σε διάφορες περιπτώσεις αυθεντικότητας όπως είναι η διαφοροποίηση της γεωγραφικής προέλευσης [10,

154], η διάκριση των βιολογικών έναντι συμβατικών προϊόντων [147] καθώς και η διάκριση των ελευθέρως βοσκής ζώων έναντι ζώων εκτροφής [155]. Άλλα παραδείγματα όπου η στοιχειακή ανάλυση χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό της αυθεντικότητας των τροφίμων είναι: η διάκριση της προέλευσης οίνου [156, 157], μελιού [158], ελαιόλαδου [148], καφέ [159], τυριού [160], φρούτων και λαχανικών [146, 152], καθώς και μπαχαρικών αλλά και συστατικών των τροφίμων γενικότερα [161].

Οι σπάνιες γαίες έχουν πρόσφατα αποδειχθεί ότι είναι ισχυροί δείκτες εξακρίβωσης της αυθεντικότητας των τροφίμων. Αυτό βασίζεται στο γεγονός ότι το προφίλ των σπάνιων γαιών είναι άμεσα συνδεδεμένο με τη γεωλογία της περιοχής και θα μπορούσε να επηρεαστεί ελαφρώς από τη χρονιά της συγκομιδής και τις διαφορετικές γεωργικές πρακτικές. Έτσι, το προφίλ των σπάνιων γαιών αντιπροσωπεύει τα γεωγραφικά χαρακτηριστικά της περιοχής παραγωγής ή καλλιέργειας [145, 146, 148, 149].

4.2 Εφαρμογές στην αυθεντικότητα τροφίμων

Το πρώτο βήμα στις μελέτες αυθεντικότητας τροφίμων είναι ο προσδιορισμός του προβλήματος. Έτσι είναι αναγκαία η διαπίστωση μίας πιθανής νοθείας σε τρόφιμα. Ύστερα από αυτό, είναι αναγκαία η επιλογή των κατάλληλων δειγμάτων (σχεδιασμός δειγματοληψίας) καθώς και η επιλογή της κατάλληλης αναλυτικής διαδικασίας. Η αναλυτική διαδικασία δεν συμπεριλαμβάνει μόνο την επιλογή αναλυτικής τεχνικής, αλλά και το στάδιο προκατεργασίας του δείγματος. Στα ακόλουθα βήματα συμπεριλαμβάνεται μία ολοκληρωμένη στατιστική ανάλυση ώστε να ερμηνευτούν και να αξιολογηθούν τα αποτελέσματα. Έτσι, μετά από όλα αυτά θα πρέπει να μπορούμε να απαντήσουμε στην ερώτηση: Αν ένα άγνωστο δείγμα είναι αυθεντικό ή όχι.

Με τις τεχνικές ICP-MS και ICP-AES μπορεί να αξιολογηθεί η αυθεντικότητα των τροφίμων με την ανάλυση πολλών ανόργανων στοιχείων και καθορίζοντας την προέλευση από τα στοιχειακά αποτυπώματα. Αυτές οι τεχνικές έχουν αποδειχθεί αξιόπιστες λύσεις για τις έρευνες της προέλευσης όλων των τύπων τροφίμων. Ακολουθούν επιλεγμένα παραδείγματα:

Οίνοι

Το στοιχειακό προφίλ είναι ένας από τους πιο χρησιμοποιούμενους δείκτες γεωγραφικής προέλευσης των κρασιών, ως αποτέλεσμα της μοναδικότητας της καλλιεργούμενης οينو-παραγωγικής περιοχής. Οι κύριοι παράγοντες που επιδρούν στη στοιχειακά αποτυπώματα τους είναι ονομαστικά η το έδαφος, η βοτανική προέλευση, οι καλλιεργητικές τεχνικές και το κλίμα, διαμορφώνοντας το μοναδικό προφίλ των οίνων.

Ο προσδιορισμός της αυθεντικότητας οίνων συγκεκριμένης περιοχής επιτεύχθηκε σε Ισπανικής προέλευσης οίνους τριών διαφορετικών περιοχών με βάση την σύσταση τους σε ιχνοστοιχεία. Επίσης, διαφοροποιήθηκαν πλήρως Αγγλικής και Ισπανικής προέλευσης λευκοί οίνοι [162]. Το στοιχειακό προφίλ των οίνων στην περιοχή Okanagan Valley του Καναδά συσχετίζεται σε μεγάλο βαθμό με τον αμπελώνα προέλευσής τους [163]. Οι αναλογίες και οι συγκεντρώσεις των ισοτόπων του μολύβδου που υπολογίστηκαν με ICP-TOF-MS διαφοροποίησαν είκοσι διαφορετικούς οίνους από τις πέντε διαφορετικές ηπείρους [164]. Η αναλογία $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ αποτελεί

μία άλλη καλή επιλογή για τον προσδιορισμό της γεωγραφικής προέλευσης οίνων με την τεχνική SF-ICP-MS [165]. Πρόσφατα επιτεύχθηκε η ταξινόμηση οίνων της ίδιας περιοχής με βάση το στοιχειακό προφίλ, χρησιμοποιώντας τα B, Ba, Cs, Cu, Mg, Rb, Sr, Tl and Zn ως δείκτες. Τα αποτελέσματα για την οινοπαραγωγική περιοχή Stellenbosch της περιοχής Western Cape στην Νότια Αφρική, αποτελούμενη από λιγότερα από 1000 km², απέδειξαν πως ήταν δυνατός ο διαχωρισμός 120 διαφορετικών οίνων από 23 διαφορετικά κτήματα [166].

Beverages

Υπάρχουν διάφορα σημαντικά προϊόντα που συμπεριλαμβάνονται στην ομάδα (*beverages*) των ποτών και ροφημάτων. Το Yerba mate (*Ilex paraguariensis*) καταναλώνεται ευρέως στην Νότια Αφρική ως ρόφημα και εξαπλώνεται η χρήση του παγκοσμίως. Η κατηγοριοποίηση στη χώρα καταγωγής βασίζεται στα στοιχειακά αποτυπώματα χρησιμοποιώντας διάφορα χημειομετρικά εργαλεία [167]. Το στοιχειακό προφίλ και η αναλογία ⁸⁷Sr/⁸⁶Sr φανερώουν την γεωγραφική προέλευση μηλίτη [168].

Φρούτα και λαχανικά

Τα φρούτα και τα λαχανικά αποτελούν βασικό μέρος της καθημερινής διατροφής παγκοσμίως, με συνέπεια την αναγκαιότητα ύπαρξης μέσων πιστοποίησης της αυθεντικότητας τους, καθώς είναι απαραίτητα, παρέχοντας έναν υγιεινό τρόπο ζωής. Από αυτή την άποψη, η παραγωγή υψηλής ποιότητας φρούτων και λαχανικών είναι αρκετά κερδοφόρα, κάνοντάς την σε βασικό πεδίο εφαρμογών στις μελέτες αυθεντικότητας. Σε ότι αφορά τις μεθόδους για τα ιχνοστοιχεία, οι σχετικές μελέτες ξεκίνησαν στις αρχές της δεκαετίας του 1980 αφορώντας τα φρούτα και τα λαχανικά. Οι περισσότερες από τις πρώτες μελέτες βασίζονταν στην Ατομική Απορρόφηση (AAS), περιλαμβάνοντας πολύ περιορισμένο αριθμό στοιχείων εξαιτίας των περιορισμών για πολύ-στοιχειακή ανάλυση της τεχνικής. Συνεπώς αρχικά οι έρευνες εστιάστηκαν στα βασικά θρεπτικά των φυτών και στα βαρέα μέταλλα (Cd και Pb) [169]. Οι πρώτες μελέτες αυθεντικότητας χρησιμοποιούσαν την AAS ανάλυση κυρίως για να εκτιμηθεί ο αντίκτυπος της καλλιεργητικής τεχνικής και του τύπου λιπάσματος στην ποιότητα του φυτού, καταλήγοντας από αυτές τις έρευνες ότι η επιρροή της γεωγραφικής περιοχής, του είδους του φυτού, την καλλιεργητική ποικιλία και η εποχή της σοδειάς είναι σημαντικότερες από την καλλιεργητική τεχνική. Αργότερα, μέθοδοι με χρήση ICP-MS και ICP-AES εφαρμόστηκαν σε διάφορες μελέτες, φυσικά με μεγαλύτερο αριθμό αναλυτών.

Ο προσδιορισμός του στοιχειακού προφίλ βοήθησε στον διαχωρισμό των ιαπωνικών και κινέζικων κρεμμυδιών τύπου «welsh» διαφόρων περιοχών [170]. Η διαφοροποίηση ως προς την γεωγραφική προέλευση επιτεύχθηκε για τομάτες και πελτέδες τριπλής συμπύκνωσης για διαφορετικές περιοχές της Ιταλίας, της Κίνας, της Ελλάδας και της Καλιφόρνια. Η προέλευση των τοματών καθώς και των περιοχών παραγωγής πελτέδων τριπλής συμπύκνωσης ως Ιταλικές και μη Ιταλικές αξιολογήθηκαν με τρεις διαδικασίες αναγνώρισης τις LDA, SIMCA και KNN [171]. Η διάκριση της γεωγραφικής προέλευσης του κόκκινου κρεμμυδιού Tropea (*Allium cera* L. var. Tropea, PGI) με τη μελέτη του στοιχειακού προφίλ επιτεύχθηκε με τη χρήση των

χημειομετρικών τεχνικών LDA, SIMCA και BP-ANN. Το κόκκινο κρεμμύδι τύπου Tropea είναι ανάμεσα στα Ιταλικά προϊόντα υψηλότερης προστιθέμενης αξίας [172]. Η διαφοροποίηση του γένους Euterpe με αναλύσεις σπάνιων γαιών και της χημειομετρικής τεχνικής LDA επιτεύχθηκε για τα είδη αçaí (Euterpe oleracea Mart.) και juçara (Euterpe edulis Mart.). Αυτά τα φρούτα είναι πλούσια σε ενέργεια, βιταμίνες, μέταλλα και φυσικά συστατικά με αντιοξειδωτικές και αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες. Το προφίλ των σπανίων γαιών και συγκεκριμένα τα Sm, Th, La, Pr, Gd και ειδικότερα το Ce και το Nd ήταν οι σημαντικότεροι δείκτες [173].

Όσον αφορά τα φρούτα, η έρευνα επικεντρώνεται στην γεωγραφική προέλευση. Για παράδειγμα, δείγματα ΠΓΕ Clementine, ένα τοπικό εσπεριδοειδές στην περιοχή της Καλαβρίας της νότιας Ιταλίας διαφοροποιήθηκε από παρόμοια προϊόντα διαφορετικής προέλευσης, συγκεκριμένα καλλιεργήθηκαν στην Αλγερία, την Τυνησία και την Ισπανία, με τη χρήση του προφίλ των ιχνοστοιχείων [174]. Στην έρευνα του Perez et al. χρησιμοποιήθηκαν η ICP-OES και πραγματοποιήθηκε ανάλυση των αναλογιών ισοτόπων αζώτου και άνθρακα για να διασαφηνιστεί η προέλευση δειγμάτων φρούτων (φράουλα, βατόμουρο και αχλάδι). 13 στοιχεία προσδιορίστηκαν αλλά τα εννέα (Ca, Cu, Fe, Mg, Mn, K, Na, P και Zn) αρκούσαν για την κατάταξη των φρούτων ως προς τη γεωγραφική τους προέλευση [175]. Δείγματα πορτοκαλιών Navel από τρεις περιοχές της Κίνας, ταξινομήθηκαν «σωστά» όσον αφορά την προέλευσή τους με τη χρήση της ICP-MS [176]. Τέλος έχει πραγματοποιηθεί, διαφοροποίηση της τοπικής (regional) προέλευσης χυμών και εκχυλισμάτων φλούδας πορτοκαλιών με βάση το στοιχειακό προφίλ, παράλληλα έγινε συσχέτιση με τη σύσταση των εδαφών [177].

Ελαια

Το ελαιόλαδο αποτελεί ένα προϊόν που τελευταία έχει αποκτήσει ιδιαίτερη δυναμική, όχι μόνο λόγω της σημασίας του για τη μεσογειακή διατροφή, αλλά επίσης για την υψηλή θρεπτική του αξία και τις ευνοϊκές για την υγεία επιδράσεις στον οργανισμό. Για τα περισσότερα ελαιόλαδα και ειδικότερα για τα ΠΟΠ και τα βιολογικά, το γεγονός αυτό οδήγησε σε πολλούς κανονισμούς της Ευρωπαϊκής Επιτροπής σχετικά με τη διευκρίνιση της καταγωγής του ελαιολάδου που πρέπει να δηλώνεται στην ετικέτα του προϊόντος. Η βιολογική παραγωγή είναι συνήθως περιορισμένη σε καθορισμένες περιοχές και κάθε προσθήκη με σκοπό τη νοθεία με ελαιόλαδο από διαφορετική περιοχή της προκαθορισμένης, αλλάζει τη ποιότητα και την ασφάλεια του προϊόντος. Ακόμη ένα συχνό φαινόμενο είναι η νοθεία των υψηλής ποιότητας ελαίων, όπως το ελαιόλαδο με φτηνά έλαια. Στην περίπτωση του ελαιολάδου, το οποίο είναι το ποιο μελετημένο βρώσιμο έλαιο, το διεθνές συνέδριο ελαιολάδου (IOOC) προωθεί το ελαιόλαδο σε όλο τον κόσμο προσδιορίζοντας την προέλευση της παραγωγής του, τα ποιοτικά όρια και προτείνοντας πρότυπες μεθόδους για την αξιολόγηση της αυθεντικότητας του [91, 175, 178].

Η διάκριση ελαιολάδων που παρήχθησαν σε τέσσερις περιοχές της Ελλάδας με βάση την γεωγραφική τους προέλευση επιτεύχθηκε προσδιορίζοντας το περιεχόμενο σε σπάνιες γαίες και χρησιμοποιώντας επιλεγμένες χημειομετρικές τεχνικές. Διαφορετικά ANNs, MLPs, RBF μοντέλα αναπτύχθηκαν και αξιολογήθηκαν [148]. Η πολυστοιχειακή ανάλυση παρθένων

ελαιολάδων από διαφορετικές περιοχές της Ιταλίας με χρήση της LDA έδωσε πολύ καλή διάκριση των αγνώστων δειγμάτων [178]. Η εξακρίβωση της γεωγραφικής προέλευσης ελαίου σπόρων κολοκύθας από τη Στυρία (Styria) της Αυστρίας, ενός τοπικού προϊόντος με υψηλή τιμή το οποίο προστατεύεται από την Ευρωπαϊκή Ένωση, επιτεύχθηκε μέσω του προφίλ των σπάνιων γαιών και χρήση DA [179].

Δημητριακά-όσπρια

Η διάκριση μεταξύ της «Φάβας Σαντορίνης» (ΠΟΠ) από φάβες με άλλη γεωγραφική προέλευση, χρησιμοποιώντας τέσσερις μεθόδους ταξινόμησης OPA, MD, PLS-DA και KNN πραγματοποιήθηκε συνδυάζοντας τα δεδομένα από τις αναλύσεις σπανίων γαιών και ιχνοστοιχείων [146]. Σε άλλη έρευνα τα βόριο, όλμιο, γαδολίνιο, μαγνήσιο, ρουβίδιο, σελήνιο και βολφράμιο συνδυάστηκαν με τις αναλογίες των $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ και $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ διέκριναν δείγματα ρυζιού μεταξύ Η.Π.Α., Ευρώπης και της περιοχής Μπασμάτι [180]. Η διάκριση των φουντουκιών ποικιλίας Piedmont της Ιταλίας (ΠΓΕ) από άλλα επιτεύχθηκε με το αποτύπωμα των λανθανίδων. Η ποικιλία 'Tonda Gentile delle Langhe' (TGL) είναι γνωστή σε όλο τον κόσμο ως η καλύτερη, ιδιαίτερα όταν χρησιμοποιείται σε προϊόντα σοκολάτας. Η αυθεντικότητα αποτελεί προϋπόθεση για την προφύλαξη της ποικιλίας αυτής εναντίον της εξαπάτησης, που συμβαίνει όταν το προϊόν αντικατασταθεί τμηματικά ή εξ ολοκλήρου από φουντούκια κατώτερης ποιότητας [181]. Τέλος, η διαφοροποίηση σιταριού από τέσσερις κύριες σιτοπαραγωγικές περιοχές της Κίνας επιτεύχθηκε μέσω του στοιχειακού προφίλ [182].

Γαλακτοκομικά προϊόντα

Τα γαλακτοκομικά προϊόντα αποτελούν σημαντική κατηγορία τροφίμων όπου το στοιχειακό προφίλ χρησιμοποιείται ως δείκτης αυθεντικότητας. Παρόλο που το γάλα αποτελεί το κύριο γαλακτοκομικό προϊόν που καταναλώνεται παγκοσμίως, το τυρί είναι αυτό που έχει μελετηθεί περισσότερο, το οποίο κυρίως παράγεται στις Η.Π.Α. ακολουθούμενη από τις Γερμανία, Γαλλία, Ιταλία, οι οποίες με βάση τον Οργανισμό Τροφίμων και Γεωργίας (Food and Agricultural Organization, FAO) των Ηνωμένων Εθνών, και παράγονται πάνω από 18 εκατομμύρια μετρικούς τόνους τυριού παγκοσμίως. Ξεπερνώντας έτσι, την ετήσια παραγωγή κόκκων καφέ, φύλλων τσαγιού, κόκκων κακάο και φύλλων καπνού μαζί. Όπως προαναφέρθηκε το ενδιαφέρον των καταναλωτών για τα τοπικά προϊόντα, των οποίων η ποιότητα σχετίζεται με την περιοχή και την παραδοσιακή διαδικασία παραγωγής, οδήγησε στην ανάγκη για προστασία των καταναλωτών ως προς τη διάκριση τους με άλλα προϊόντα χαμηλότερης τιμής. Στην περίπτωση του τυριού, ένα τυρί ΠΟΠ πρέπει να προέρχεται από το γάλα ζώων που αναπαράχθηκαν στην «ΠΟΠ» περιοχή και το περιβάλλον της περιοχής προέλευσης πρέπει να καθορίζει τα βασικά του χαρακτηριστικά, ώστε να εγγυάται ότι δεν είναι νοθευμένο το προϊόν. Υπάρχουν χώρες όπως η Ελλάδα όπου τα ΠΟΠ προϊόντα έχουν μεγάλη σημασία, όπως το δημοφιλές ΠΟΠ τυρί γνωστό ως φέτα [91, 175]. Το πολυστοιχειακό προφίλ (P, S, K, Ca, V, Cr, Mn, Fe, Co, Zn, Ga, Rb, Sr, Mo, Cs και Ba) διαφοροποίησε αγελαδινό και βουβαλίσιο γάλα. Οι πηγές τροφίμων και νερού που είναι διαθέσιμες για τα ζώα μελετήθηκαν επίσης [183]. Επομένως, το πολυστοιχειακό «αποτύπωμα» μπορεί να μας δώσει απευθείας πληροφορίες για

την γεωγραφική προέλευση ενός γαλακτοκομικού προϊόντος αν γνωρίζουμε με ακρίβεια την διατροφή των ζώων [184-187].

Κρέατα

Τα τελευταία χρόνια, ως αποτέλεσμα των ανησυχιών σχετικά με τη σπογγώδη εγκεφαλοπάθεια των βοοειδών (BSE), την ανθρώπινη «παραλλαγή» της ασθένειας Creutzfeldt - Jacob (CJD) και την επίπτωση στην εσωτερική αγορά, η Ευρωπαϊκή Ένωση ίδρυσε εκτεταμένη νομοθεσία όσον αφορά την ετικέτα του βοείου κρέατος. Ως συνέπεια αυτής της νομοθεσίας, η χρήση των αναλύσεων πολλαπλών ισοτόπων ή / και πολλαπλών στοιχείων για την παροχή πληροφοριών σχετικά με την προέλευση του βοείου κρέατος αποκτά ευρύτερη αποδοχή. Γνωστά ΠΟΠ νωπά κρέατα είναι τα ΠΟΠ βοδινό ή αρνίσιο κρέας ΠΟΠ (π.χ. ΠΟΠ βοείου κρέατος του Orkney και ΠΓΕ βοδινού κρέατος Ουαλίας). Πρόσφατα δημοσιεύτηκαν κάποια άρθρα σχετικά με τον προσδιορισμό της γεωγραφικής προέλευσης βοείου κρέατος και του τρόπου παραγωγής τους με την χρήση αναλύσεων ιχνοστοιχείων και αναλογιών ισοτόπων των βιο-στοιχείων H, C, N, O και S [91, 188].

Ο προσδιορισμός της γεωγραφικής προέλευσης πουλερικών και βοείου κρέατος επιτεύχθηκε από τα στοιχειακά αποτυπώματα μέσω της SF-ICP-MS. 25 δείγματα από φιλέτο στήθους πουλερικών που προέρχονταν από την Ελβετία, τη Γαλλία, τη Γερμανία, την Ουγγαρία, τη Βραζιλία και την Ταϊλάνδη και 23 δείγματα βοείου κρέατος, από την Ελβετία, την Αυστρία, την Αυστραλία, τις Ηνωμένες Πολιτείες και τον Καναδά. Τόσο για το κρέας πουλερικών όσο και για το βόειο κρέας, η διαφοροποίηση της προέλευσης ήταν δυνατή χρησιμοποιώντας τα στοιχεία As, Na, Rb, και Tl στα πουλερικά και B, Ca, Cd, Cu, Dy, Eu, Ga, Li, Ni, Pd, Rb, Sr, Te, Tl, Tm, V, Yb, και Zn στο βόειο κρέας [189]. Επίσης ο προσδιορισμός της γεωγραφικής προέλευσης του κρέατος προβάτου από διάφορες περιοχές της Κίνας επιτεύχθηκε μέσω του στοιχειακού προφίλ [190].

Ιχθυηρά

Η διάκριση ιχθυηρών από τη θάλασσα της Ανατολικής Κίνας, σύμφωνα με τη γεωγραφική τους προέλευση από τα στοιχειακά αποτυπώματα τους χρησιμοποιώντας την πολυμεταβλητή (multivariate) στατιστική ανάλυση. PLS-DA και τα νευρωνικά δίκτυα (PNN) προέβλεψαν με ακρίβεια την προέλευση των ιχθυηρών [191].

Μέλι

Το μέλι είναι ένα ακόμη προϊόν υψηλής προστιθέμενης αξίας με πολύτιμες θεραπευτικές και φαρμακευτικές ιδιότητες. Αυτές οι ιδιότητες οφείλονται, μεταξύ άλλων, στα ανόργανα συστατικά του, τα οποία εξαρτώνται από τον τύπο και την προέλευση του. Έτσι προσελκύεται το ενδιαφέρον των ερευνητών στην αξιολόγηση της γεωγραφικής τους προέλευσης. Είναι γνωστό ότι κάποια από τα συστατικά του μελιού οφείλονται σε διάφορους παράγοντες, άλλα προστίθενται από τις μέλισσες και κάποια από αυτά προέρχονται από φυτά. Μία από τις κύριες

μεθόδους νοθείας μελιού συνίσταται σε αραίωση μελιού με νερό και προσθήκη σακχάρων και σιροπιών. Ωστόσο, τα τελευταία χρόνια, υπήρξε μια αυξανόμενη παρουσία των «μονοανθικών» (mono-floral) μελιών στην αγορά, τα οποία είναι ακριβότερα από τα πολυανθικά, έτσι η πιθανή νοθεία από μείγματα μελιού πρέπει να ελέγχεται [91, 175].

Η διάκριση μεταξύ μελιτώματος, σίκαλης buckwheat μελιού και μελιού από ελαιοκράμβη (rapeseed, rape honey), και επίσης μεταξύ διαφορετικών περιοχών στην Πολωνία επιτεύχθηκε μέσω του μεταλλικού προφίλ με τη βοήθεια των CA και PCA. Η CA έδειξε τρεις συστάδες που αντιστοιχούν στις τρεις βοτανικές προελεύσεις του μελιού. Ενώ η PCA επέτρεψε τη μείωση των 13 μεταβλητών σε τέσσερις κύριες συνιστώσες εξηγώντας το 77.19% της συνολικής μεταβλητότητας. Η πρώτη σημαντικότερη κύρια συνιστώσα συσχετίστηκε ισχυρά με τα K, Al, Nί και Cd [192].

Καφές και τσάι

Ο καφές, ο οποίος είναι το κυρίαρχο «ρόφημα» στον κόσμο, εξάγεται από περισσότερες από 50 χώρες, εξασφαλίζοντας εργασία για πάνω από 100 εκατομμύρια ανθρώπους σε όλο τον κόσμο. Όσον αφορά την χρήση μεθόδων ιχνοστοιχείων για την αυθεντικότητα των προϊόντων καφέ, το 1993 ο Krivan et al. πραγματοποίησε τον πρώτο προσδιορισμό της προέλευσης του καφέ με βάση το προφίλ 21 ιχνοστοιχείων σε δείγματα από τη Νότια Αμερική. Τα αποτελέσματα από τη έρευνα αυτή απέδειξαν ότι το Mn ήταν ο καλύτερος δείκτης αφού ως μεταβλητή διαχώρισε τις περιοχές παραγωγής καφέ με ακρίβεια 84% [193]. Η διάκριση μεταξύ πράσινων καρπών καφέ από διαφορετικές γεωγραφικές προελεύσεις επιτεύχθηκε μέσω αναλογιών των ισοτόπων Sr και O. Τα τελικά αποτελέσματα επέτρεψαν τη διάκριση των τοπικών προελεύσεων που εξετάζονται σε αυτή την έρευνα με την ανάλυση κύριων συνιστωσών (PCA) και παρέχοντας τη δυνατότητα για αξιολόγηση της αυθεντικότητας καφέ σε παγκόσμιο επίπεδο [194].

Τα προϊόντα τσαγιού αποτελούν τη δεύτερη δημοφιλέστερη επιλογή μη αλκοολούχων ποτών, εκτιμάται ότι 18-20 δισεκατομμύρια φλιτζάνια να καταναλώνονται καθημερινά. Πρώτες χώρες σε παραγωγή τσαγιού είναι η Ινδία, η Σρι Λάνκα, η Ινδονησία, το Μαλάουι, η Κένυα, η Ζιμπάμπουε, η Τανζανία και η Κίνα. Έτσι σε μία μελέτη τα δείγματα τσαγιού, από τις παραπάνω χώρες, ταξινομήθηκαν ανάλογα με τη γεωγραφική προέλευση μέσω στοιχειακών αποτυπωμάτων με PCA και CA, ως διερευνητικές, και έπειτα με την LDA και την SIMCA [195].

Μπαχαρικά - συστατικά τροφίμων

Όσον αφορά την κατηγορία των μπαχαρικών, αν και δεν υπάρχουν πολλές σχετικές έρευνες, όπως και για τις άλλες κατηγορίες τροφίμων, έχει σημειωθεί σημαντική πρόοδος στην εξακρίβωση της αυθεντικότητας των μπαχαρικών μέσω μεθόδων ιχνοστοιχείων. Υπήρξε κυρίως εστίαση για μπαχαρικά υψηλών τιμών, π.χ. ΠΟΠ μπαχαρικά, όπως το σαφράν (*Crocus sativus* L. stigmas), η πάπρικα Szegedi και η μαστίχα Χίου. Αυτό οφείλεται στο ότι συνήθως, όσο «σπανιότερο» είναι ένα μπαχαρικό, τόσο μεγαλύτερες είναι οι πιθανότητες νοθείας με άλλα φθηνότερα μπαχαρικά. Η πολύ-στοιχειακή ανάλυση πολλαπλών στοιχείων υπήρξε ένα επιτυχές εργαλείο στην αυθεντικότητα των μπαχαρικών σχετικά με τη γεωγραφική τους προέλευση [91].

Ένα παράδειγμα της έρευνας στον τομέα αυτό είναι η διάκριση δειγμάτων κρόκου (σαφράν) που παράγονται σε τρεις Ιταλικές περιφέρειες, την Abruzzo (L'Aquila), την Ούμπρια και τη Σαρδηνία, μέσω των στοιχειακών αποτυπωμάτων που λήφθηκαν με την ICP-MS. Η LDA με βάση τις συγκεντρώσεις 4 στοιχείων, B, Na, Sr και Rb επιτρέπει περισσότερο από 90% των σωστές προβλέψεις. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι, η στοιχειακή σύνθεση λειτουργεί ως ένας υποσχόμενος δείκτης της γεωγραφικής προέλευσης του σαφράν [196].

Μια άλλη μελέτη παρουσιάζει την χρησιμότητα του συνδυασμού της ισοτοπικής αναλογίας του στροντίου ($^{87}\text{Sr} / ^{86}\text{Sr}$) μαζί με τον προσδιορισμό ανοργάνων στοιχείων (Rb, Sr, Y, Zr, Mo, Cd, Ba, Pb, Th, U, Mg, Ca, Sc, Ti, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, As και σπάνιες γαίες) μέσω της ICP-MS για την κατοχύρωση ενός μοναδικού δακτυλικού αποτυπώματος της αυθεντικής Szegedi (Fűszer) (ΠΟΠ) πάπρικας και την διάκρισή από άλλες πάπρικες γνωστές αλλά και άγνωστης γεωγραφικής προέλευσης. Δεδομένου ότι η πάπρικα αποτελεί ένα επεξεργασμένο μπαχαρικό, ερευνήθηκαν οι μεταβολές στο στοιχειακό περιεχόμενο και την ισοτοπική σύσταση του Sr σε όλη τη διαδικασία παραγωγής. Η πηγή του Sr στο τελικό προϊόν ταυτοποιήθηκε ότι προέρχεται από βιο-διαθέσιμες πηγές Sr στο έδαφος. Έτσι αποδείχθηκε ότι η εκχύλιση του εδάφους με νιτρικό αμμώνιο είναι αρκετή για να δημιουργήσει ένα δακτυλικό αποτύπωμα του Sr για τα γεωργικά προϊόντα της περιοχής. Κατά συνέπεια, για την πάπρικα μπορεί να εξακριβωθεί η γεωγραφική της προέλευση ακόμη και μετά την επεξεργασία [197].

Βιολογικά τρόφιμα

Τα βιολογικά τρόφιμα παράγονται με τρόπους που να συνάδουν με βιολογικά πρότυπα που ορίζονται από τις εθνικές κυβερνήσεις και τους διεθνείς οργανισμούς. Επί του παρόντος, η Ευρωπαϊκή Ένωση, οι Ηνωμένες Πολιτείες, ο Καναδάς, το Μεξικό, η Ιαπωνία και πολλές άλλες χώρες απαιτούν από τους παραγωγούς να λαμβάνουν ειδική πιστοποίηση έτσι ώστε να μπορούν να πωλούν τα προϊόντα τους ως βιολογικά εντός των συνόρων τους. Η παραγωγή βιολογικών τροφίμων είναι μια έντονα ελεγχόμενη διαδικασία. Ως εκ τούτου, τα συνθετικά φυτοφάρμακα και τα χημικά λιπάσματα δεν επιτρέπονται, αν και ορισμένα βιολογικά εγκεκριμένα φυτοφάρμακα (βιολογική φυτοπροστασία) μπορούν να χρησιμοποιηθούν κάτω από περιορισμένες συνθήκες. Επίσης, γενικά, τα βιολογικά προϊόντα δεν πρέπει να έχουν επεξεργαστεί με χρήση ακτινοβολίας ή χημικά πρόσθετα τροφίμων. Το ενδιαφέρον των καταναλωτών για τα βιολογικά προϊόντα προέρχεται κυρίως σε εκτιμήσεις υγείας και περιβάλλοντος, αυξάνοντας τη δημοτικότητα της βιολογικής γεωργίας και κτηνοτροφίας. Έτσι τα βιολογικά τρόφιμα θεωρούνται πιο ασφαλή και ποιοτικά, παραγόμενα με παραδοσιακές και φιλό-περιβαλλοντικές καλλιεργητικές πρακτικές που προάγουν την ανακύκλωση των πόρων, την προώθηση της οικολογικής ισορροπίας και τη διατήρηση της βιοποικιλότητας, με την χρήση τοπικών ποικιλιών συνήθως.

Η πρόσληψη στοιχείων μιας συγκεκριμένης καλλιέργειας και, επομένως, η στοιχειακή της σύνθεση επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες, συμπεριλαμβανομένων των φυτικών ειδών, της ποικιλίας, της ηλικίας, της γονιμότητας του εδάφους, του κλίματος, της αμειψισποράς όπως και της διαχείρισης των παρασίτων και των ζιζανίων. Η βιολογική και συμβατική γεωργία διαφέρουν έντονα στους δυο τελευταίους παράγοντες. Πιο συγκεκριμένα, η βιολογική γεωργία

περιορίζει αυστηρά τη χρήση τεχνητών λιπασμάτων. Αντίθετα, γίνεται χρήση βιολογικών λιπασμάτων και συγκεκριμένων φυτών που λειτουργούν ως αζωτοδεσμευτικά. Η έκταση και ο ρυθμός απελευθέρωσης των θρεπτικών ουσιών είναι, συνεπώς, διαφορετική στις δύο γεωργικές πρακτικές, και αυτό έχει αντίκτυπο στη συνολική χημική σύνθεση των καλλιεργειών [198].

Προχωρώντας σε συγκεκριμένες μελέτες όπου χρησιμοποιήθηκαν στα στοιχειακά αποτυπώματα για μελέτες αυθεντικότητας βιολογικών προϊόντων, το βιολογικό σιτάρι, το κριθάρι, η φάβα και η πατάτα χαρακτηρίστηκαν με βάση τα στοιχειακά τους προφίλ. Οι καλλιεργείες πραγματοποιήθηκαν σε δύο χρόνια σε τρεις διαφορετικές τοποθεσίες, όπου η μια εξυπηρετούσε την συμβατική και οι άλλες δύο την βιολογικής καλλιέργεια [152]. Σε άλλη μελέτη, μόνο οκτώ από τα μέταλλα ερευνήθηκαν (Zn, Se, Ba, U, Dy, Tl, Θ, Mo) βρέθηκαν σημαντικά για την γνησιότητα του βιολογικού καφέ μέσω του στοιχειακού προφίλ [199]. Σε άλλο άρθρο πραγματοποιήθηκε αξιολόγηση της αυθεντικότητας των αυγών ελευθέρως βοσκής με βάση το προφίλ 15 στοιχείων (As, Ba, Cd, Co, Cs, Cu, Fe, Mg, Mn, Mo, Pb, Se, Sr, V και Zn). Η διαφοροποίηση των αυγών, σε αυγά ελευθέρως βοσκής και σε συμβατικά αυγά, ήταν δυνατή με την χρήση χημειομετρικών εργαλείων [200]. Όπως παρατηρήθηκε, οι μέθοδοι προσδιορισμού ιχνοστοιχείων αποτελούν ένα αναδυόμενο τρόπο αξιολόγησης των βιολογικών προϊόντων με ιδιαίτερη προοπτική. Υπάρχουν δύο πολύ ενδιαφέροντα άρθρα ανασκόπησης που αφορούν την αυθεντικότητα των βιολογικών τροφίμων με βάση τα στοιχειακά αποτυπώματα [198, 201]. Αυτά τα δύο άρθρα έχουν αποτυπώσει σε μεγάλο βαθμό την εξέλιξη που υπήρξε στον τομέα αυτό.

4.3 Χημειομετρία - Βιοπληροφορική (Chemometrics – Bioinformatics):

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, όλες αυτές οι τεχνικές «δακτυλικών» αποτυπωμάτων παράγουν ένα ιδιαίτερα μεγάλο όγκο δεδομένων. Τα εργαλεία της Χημειομετρίας [21] και της βιο-πληροφορικής [202] είναι θεμελιώδους σημασίας για τις μελέτες αυθεντικότητας των τροφίμων, ώστε να γίνει η καλύτερη δυνατή διαχείριση όλων αυτών των δεδομένων. Η συγχώνευση δεδομένων (data fusion) από διαφορετικές τεχνικές και η εξόρυξη των πιο χρήσιμων πληροφοριών (data mining και feather selection) είναι απαραίτητα για την αξιοποίηση του τεράστιου συνόλου δεδομένων που προκύπτει από την εκπόνηση των διαφόρων αναλυτικών μεθόδων. Εκτός από αυτό, η ανάγκη να εξεταστεί περαιτέρω η μεταβλητότητα λόγω της εποχικότητας, των γεωργικών πρακτικών και της επεξεργασίας των τροφίμων, (στοιχεία που παίζουν σημαντικό ρόλο στις μελέτες αυθεντικότητας) εξηγεί γιατί η χημειομετρία είναι σχεδόν απαραίτητη. Επιπλέον, οι περισσότερες από αυτές τις πληροφορίες μπορεί να μην είναι χρήσιμες για την επίλυση του προβλήματος της αυθεντικότητας και επιβεβαίωσης της ταυτότητας. Ως εκ τούτου, πρέπει να εφαρμόζονται μαθηματικά εργαλεία για την εξαγωγή της πληροφορίας που είναι χρήσιμη για την επίλυση του προβλήματος που διερευνάται [203].

5. Επικύρωση μεθόδου ICP-MS για πολυστοιχειακούς προσδιορισμούς σε ζωϊκούς ιστούς

Η επικύρωση της μεθόδου αναφέρεται στην επιβεβαίωση, μέσω εξέτασης και παροχής αντικειμενικών αποδείξεων (τεκμηρίων), ότι η μέθοδος ικανοποιεί τις ιδιαίτερες απαιτήσεις για τη συγκεκριμένη σκοπούμενη χρήση. Πιο αναλυτικά επικύρωση είναι η αξιολόγηση των χαρακτηριστικών ποιότητας της μεθόδου μέσω πειραματικής τεκμηρίωσης και η εξέταση της ανταπόκρισής της προς προδιαγραφές (specifications) για να αποδειχθεί ότι είναι κατάλληλη για τον σκοπό για τον οποίο προορίζεται (fitness for purpose).

Κατά την επικύρωση της μεθόδου για τον προσδιορισμό των ουσιών, (μετά από σειρά πειραμάτων) μελετήθηκαν τα εξής χαρακτηριστικά ποιότητας: γραμμικότητα (linearity), πιστότητα (precision) υπό συνθήκες επαναληψιμότητας (repeatability) και υπό συνθήκες ενδοεργαστηριακής αναπαραγωγιμότητας (reproducibility), ακρίβεια (accuracy), όριο ανίχνευσης (Limit of Detection, LOD) και όριο ποσοτικοποίησης (Limit of Quantification, LOQ). Επίσης έγινε εκτίμηση της αβεβαιότητας σύμφωνα με την EURACHEM. Η μέθοδος επικυρώθηκε σύμφωνα με τις απαιτήσεις που έχει θεσπίσει η Ευρωπαϊκή Ένωση για τον επίσημο έλεγχο των επιπέδων των βαρέων μετάλλων και άλλων προσμείξεων από με τον Κανονισμό της Επιτροπής (EC) No 333/2007 [204] αλλά και τον (EC) No 657/2002 [33].

5.1 Εκτίμηση της γραμμικότητας

Η γραμμικότητα της μεθόδου αποδεικνύεται με οπτική εξέταση του διαγράμματος αναλυτικό σήμα προς συγκέντρωση ή περιεκτικότητα του αναλύτη και αξιολογείται με στατιστικές μεθόδους όπως ο υπολογισμός της εξίσωση της ευθείας παλινδρόμησης με την μέθοδο των ελαχίστων τετραγώνων. Η γραμμικότητα εξετάζεται σε όλο το εύρος (range) της περιοχής συγκεντρώσεων της αναλυτικής μεθόδου.

Έγινε εκτίμηση της δυναμικής περιοχής της καμπύλης βαθμονόμησης. Προσδιορίστηκε με τη μέθοδο των ελαχίστων τετραγώνων η ευθεία παλινδρόμησης και οι συντελεστές συσχέτισης r^2 . Στην εξίσωση παλινδρόμησης που προκύπτει το y αντιστοιχεί στα counts του αναλύτη που παίρνουμε από το όργανο και το x στην συγκέντρωσή του, εκφρασμένη σε $\mu\text{g/L}$.

Πιο συγκεκριμένα η γραμμικότητα της καμπύλης αναφοράς μελετήθηκε στις συγκεντρώσεις 0,0001, 0,001, 0,01, 0,05, 0,1, 0,5, 1, 10 και 100 $\mu\text{g/L}$ για τις σπάνιες γαίες, τις ακτινίδες, τα πολύτιμα μέταλλα και άλλα πολύ μικρής φυσικής αφθονίας ιχνοστοιχεία. Ενώ για τα υπόλοιπα ιχνοστοιχεία και τα μακρο-στοιχεία οι συγκεντρώσεις ήταν 0,001, 0,01, 0,1, 0,5, 1, 5, 10, 50, 100, 1000 και 10000 $\mu\text{g/L}$. Τα αποτελέσματα παρατίθενται στους παρακάτω πίνακες. Όπως φαίνεται οι περισσότεροι αναλύτες και στα 2 υποστρώματα εμφανίζουν συντελεστή συσχέτισης μεγαλύτερο από 0,98.

Πίνακας 5.1: Αποτελέσματα γραμμικότητας μιών.

Κατηγορία στοιχείων	Αναλύτης	Γραμμική περιοχή μg/L	Συντελεστής Συσχέτισης (r^2)	
Σπάνιες Γαίες	Ce	0,001-100	0,987	
	Dy	0,001-100	0,999	
	Er	0,001-100	0,989	
	Eu	0,001-100	0,990	
	Gd	0,01-100	0,997	
	Ho	0,001-100	0,997	
	La	0,01-100	0,993	
	Lu	0,001-100	0,989	
	Nd	0,01-100	0,991	
	Pr	0,001-100	0,993	
	Sc	0,01-100	0,981	
	Sm	0,001-100	0,997	
	Tb	0,001-100	0,991	
	Tm	0,001-100	0,994	
	Y	0,001-100	0,987	
	Yb	0,001-100	0,997	
	Ακτινίδες	Th	0,001-100	0,991
		U	0,001-100	0,994
	Πολύτιμα μέταλλα	Au	0,01-100	0,979
Ir		0,001-100	0,991	
Pd		0,01-100	0,990	
Pt		0,01-100	0,980	
Re		0,001-100	0,991	
Rh		0,001-100	0,994	
Ru		0,01-100	0,991	
Ιχνοστοιχεία	Ag	0,01-10000	0,991	
	Al	0,1-10000	0,987	

	As	0,01-10000	0,989
	B	1-10000	0,991
	Ba	0,01-10000	0,991
	Be	0,01-10000	0,987
	Bi	0,01-10000	0,989
	Cd	0,1-10000	0,989
	Cs	0,01-10000	0,991
	Cr	0,1-10000	0,987
	Co	0,1-10000	0,991
	Cu	0,1-10000	0,992
	Fe	10-10000	0,991
	Ga	0,01-10000	0,989
	Hf	0,01-100	0,994
	In	0,01-1000	0,989
	Pb	0,01-10000	0,987
	Li	0,1-10000	0,987
	Mn	0,1-10000	0,987
	Mo	0,01-10000	0,991
	Nb	0,001-100	0,994
	Ni	0,01-10000	0,990
	Rb	0,01-10000	0,998
	Sb	0,001-100	0,994
	Se	0,01-10000	0,981
	Si	10-10000	0,990
	Sn	0,001-100	0,990
	Sr	0,01-10000	0,997
	Ta	0,001-100	0,990
	Tl	0,01-10000	0,991
	Ti	0,5-10000	0,990
	V	0,1-10000	0,991

	W	0,01-100	0,994
	Zn	0,1-10000	0,989
	Zr	0,001-100	0,990
Μάκρο-στοιχεία	Ca	10-10000	0,989
	K	10-10000	0,989
	Mg	10-10000	0,980
	Na	1-10000	0,979
	P	100-10000	0,979

Πίνακας 5.2: Αποτελέσματα γραμμικότητας για προσδιορισμούς στο ήπαρ.

Κατηγορία στοιχείων	Αναλύτης	Γραμμική περιοχή µg/L	Συντελεστής Συσχέτισης (r²)	
Σπάνιες Γαίες	Ce	0,001-100	0,984	
	Dy	0,001-100	0,997	
	Er	0,001-100	0,987	
	Eu	0,001-100	0,981	
	Gd	0,01-100	0,990	
	Ho	0,001-100	0,987	
	La	0,01-100	0,990	
	Lu	0,001-100	0,979	
	Nd	0,01-100	0,989	
	Pr	0,001-100	0,987	
	Sc	0,01-100	0,977	
	Sm	0,001-100	0,990	
	Tb	0,001-100	0,987	
	Tm	0,001-100	0,990	
	Y	0,001-100	0,979	
	Yb	0,001-100	0,980	
	Ακτινίδες	Th	0,001-100	0,980
		U	0,001-100	0,990

Πολύτιμα μέταλλα	Au	0,01-100	0,971
	Ir	0,001-100	0,984
	Pd	0,01-100	0,980
	Pt	0,01-100	0,993
	Re	0,001-100	0,990
	Rh	0,001-100	0,989
	Ru	0,01-100	0,991
Ιχνοστοιχεία	Ag	0,01-10000	0,987
	Al	0,1-10000	0,979
	As	0,01-10000	0,980
	B	1-10000	0,989
	Ba	0,01-10000	0,981
	Be	0,01-10000	0,980
	Bi	0,01-10000	0,980
	Cd	0,1-10000	0,979
	Cs	0,01-10000	0,989
	Cr	0,1-10000	0,987
	Co	0,1-10000	0,989
	Cu	0,1-10000	0,984
	Fe	10-10000	0,989
	Ga	0,01-10000	0,980
	Hf	0,01-100	0,991
	In	0,01-1000	0,981
	Pb	0,01-10000	0,979
	Li	0,1-10000	0,979
	Mn	0,1-10000	0,980
	Mo	0,01-10000	0,989
	Nb	0,001-100	0,989
	Ni	0,01-10000	0,979
	Rb	0,01-10000	0,994

	Sb	0,001-100	0,994
	Se	0,01-10000	0,974
	Si	10-10000	0,978
	Sn	0,001-100	0,989
	Sr	0,01-10000	0,991
	Ta	0,001-100	0,984
	Tl	0,01-10000	0,981
	Ti	0,5-10000	0,981
	V	0,1-10000	0,984
	W	0,01-100	0,989
	Zn	0,1-10000	0,974
	Zr	0,001-100	0,980
Μάκρο-στοιχεία	Ca	10-10000	0,980
	K	10-10000	0,979
	Mg	10-10000	0,979
	Na	1-10000	0,974
	P	100-10000	0,971

5.2 Εκτίμηση της ακρίβειας (ορθότητα)

Η ακρίβεια (accuracy) αφορά τη διαφορά μεταξύ του μέσου όρου μιας σειράς μετρήσεων και της τιμής που γίνεται αποδεκτή ως αληθής ή ορθή τιμή της μετρούμενης ποσότητας. Η αληθής τιμή λαμβάνεται: α) ως η ποσότητα που προστίθεται σε ειδικά παρασκευασμένο (εμβολιασμένο) δείγμα, β) από το αποτελέσματα άλλης μεθόδου (γνωστής ορθότητας και ακρίβειας), γ) από το υλικό αναφοράς (γνωστής αποδεκτής σύνθεσης). Οι κυριότεροι περιορισμοί στην ακρίβεια προέρχονται από: α) τα τυχαία σφάλματα και β) τα συστηματικά σφάλματα μίας αναλυτικής μεθόδου. Μία ακριβής μέτρηση θεωρείται αυτή που στερείται συστηματικού σφάλματος και είναι επαναλήψιμη.

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

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

Όπου:

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

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

Επειδή στα υποστρώματά μας ήδη υπήρχε κάποια συγκέντρωση των αναλυτών έγινε η κατάλληλη αφαίρεση της συνεισφοράς τους από το $C_{πειρ}$. Η ακρίβεια (ορθότητα) της μεθόδου εξετάστηκε σε τουλάχιστον δύο επίπεδα εμβολιασμού για τον κάθε αναλύτη. Στους παρακάτω πίνακες παρουσιάζονται αναλυτικά τα αποτελέσματα σε μύες και ήπαρ αγριοκούνελων.

Πίνακας 5.3: Μέση τιμή των ανακτήσεων των αναλυτών για τα δύο επίπεδα εμβολιασμού (1^ο επίπεδο εμβολιασμού 0,1 ppb και 2^ο επίπεδο εμβολιασμού 1 ppb) σε υπόστρωμα μιών αγριοκούνελων (N=5) για τις σπάνιες γαίες, τις ακτινίδες, τα πολύτιμα μέταλλα και ιχνοστοιχεία με πολύ μικρή φυσική αφθονία.

Κατηγορία στοιχείων	Αναλύτης	Μέση Τιμή Ανάκτησης %	
		1 ^ο Επίπεδο 0,1 ppb	2 ^ο Επίπεδο 1 ppb
Σπάνιες Γαίες	Ce	99,4	110,0
	Dy	106,0	84,4
	Er	84,7	75,5
	Eu	149,4	81,7
	Gd	114,6	96,6
	Ho	55,6	95,0
	La	94,8	114,1
	Lu	70,3	83,9
	Nd	117,2	119,2
	Pr	120,0	114,4
	Sc	82,6	113,1
	Sm	123,0	79,7
	Tb	86,5	83,4
	Tm	103,2	95,0
	Y	111,1	116,2
	Yb	104,9	103,6
	Ακτινίδες	Th	74,0
U		98,7	100,7
Πολύτιμα μέταλλα	Au	96,1	76,2

	Ir	115,5	112,2
	Pd	140,2	67,9
	Pt	120,4	110,7
	Re	107,2	101,4
	Rh	103,4	95,8
	Ru	96,2	87,4
Ιχνοστοιχεία	Hf	135,8	72,1
	Nb	123,9	79,1
	Sb	106,7	79,0
	Sn	93,5	114,0
	Ta	97,2	88,7
	W	112,5	86,3
	Zr	131,9	69,0

Πίνακας 5.4: Μέση τιμή των ανακτήσεων των αναλυτών για τα τρία επίπεδα εμβολιασμού (1^ο επίπεδο εμβολιασμού 10 ppb, 2^ο επίπεδο εμβολιασμού 100 ppb και 3^ο επίπεδο εμβολιασμού 1000 ppb) σε υπόστρωμα μυών αγριοκούνελων (N=5) για τα ιχνοστοιχεία.

Κατηγορία στοιχείων	Αναλύτης	1^ο Επίπεδο 10 ppb	2^ο Επίπεδο 100 ppb	3^ο Επίπεδο 1000 ppb
Ιχνοστοιχεία	Ag	95,8	96,0	90,9
	Al	107,7	86,8	91,6
	As	105,5	75,5	51,5
	B	95,1	103,3	137,0
	Ba	65,7	88,8	129,6
	Be	66,6	66,8	74,3
	Bi	83,0	75,5	73,6
	Cd	99,9	87,9	96,4
	Cr	78,4	52,3	66,3
	Cs	108,7	92,6	79,0
	Co	56,8	49,3	39,1

	Cu	71,3	59,3	80,7
	Fe	119,1	95,1	122,9
	Ga	79,3	101,5	178,7
	In	47,3	65,2	50,3
	Li	79,7	95,1	50,1
	Mn	67,8	74,7	71,7
	Mo	103,0	91,9	58,9
	Ni	88,6	91,8	30,7
	Pb	74,9	119,3	82,5
	Rb	68,1	90,1	67,1
	Se	99,6	71,6	60,4
	Si	95,9	118,5	90,2
	Sr	106,1	82,4	90,6
	Tl	79,0	79,3	68,3
	Ti	99,5	103,0	96,1
	V	103,2	104,9	73,5
	Zn	98,3	112,1	60,7

Πίνακας 5.5: Μέση τιμή των ανακτήσεων των αναλυτών για τα δύο επίπεδα εμβολιασμού (1^ο επίπεδο εμβολιασμού 1 ppm και 2^ο επίπεδο εμβολιασμού 10 ppm) σε υπόστρωμα μών αγριοκούνελων (N=5) για τα μακρο-στοιχεία.

Κατηγορία στοιχείων	Αναλύτης	Μέση Τιμή Ανάκτησης %	
		1 ^ο Επίπεδο 1 ppm	2 ^ο Επίπεδο 10 ppm
Μάκρο-στοιχεία	Ca	131,5	88,4
	K	115,8	64,2
	Mg	84,8	78,0
	Na	104,2	116,7
	P	88,4	131,1

Πίνακας 5.6: Μέση τιμή των ανακτήσεων των αναλυτών για τα δύο επίπεδα εμβολιασμού (1^ο επίπεδο εμβολιασμού 0,1 ppb και 2^ο επίπεδο εμβολιασμού 1 ppb) σε υπόστρωμα ηπάτων αγριοκούνελων (N=5) για τις σπάνιες γαίες, τις ακτινίδες, τα πολύτιμα μέταλλα και ιχνοστοιχεία με πολύ μικρή φυσική αφθονία.

Κατηγορία στοιχείων	Αναλύτης	Μέση Τιμή Ανάκτησης %	
		1 ^ο Επίπεδο 0,1 ppb	2 ^ο Επίπεδο 1 ppb
Σπάνιες Γαίες	Ce	121,5	112,7
	Dy	129,6	129,6
	Er	98,2	83,0
	Eu	145,3	82,2
	Gd	136,2	94,0
	Ho	87,4	91,1
	La	118,8	136,6
	Lu	101,7	91,5
	Nd	129,7	117,2
	Pr	137,1	100,0
	Sc	99,3	117,6
	Sm0	146,3	82,5
	Tb	106,4	85,6
	Tm	111,5	99,3
	Y	126,0	126,7
	Yb	125,6	86,2
Ακτινίδες	Th	100,2	99,3
	U	112,8	89,1
Πολύτιμα μέταλλα	Au	107,9	86,5
	Ir	132,9	86,4
	Pd	159,6	65,2
	Pt	141,6	101,3
	Re	119,1	99,2

	Rh	117,2	94,3
	Ru	115,2	83,6
Ιχνοστοιχεία	Hf	149,8	76,3
	Nb	130,2	81,4
	Sb	114,7	88,6
	Sn	110,0	118,0
	Ta	111,8	92,9
	W	124,1	86,1
	Zr	146,5	74,4

Πίνακας 5.7: Μέση τιμή των ανακτήσεων των αναλυτών για τα τρία επίπεδα εμβολιασμού (1^ο επίπεδο εμβολιασμού 10 ppb, 2^ο επίπεδο εμβολιασμού 100 ppb και 3^ο επίπεδο εμβολιασμού 1000 ppb) σε υπόστρωμα ηπάτων αγριοκούνελων (N=5) για τα ιχνοστοιχεία.

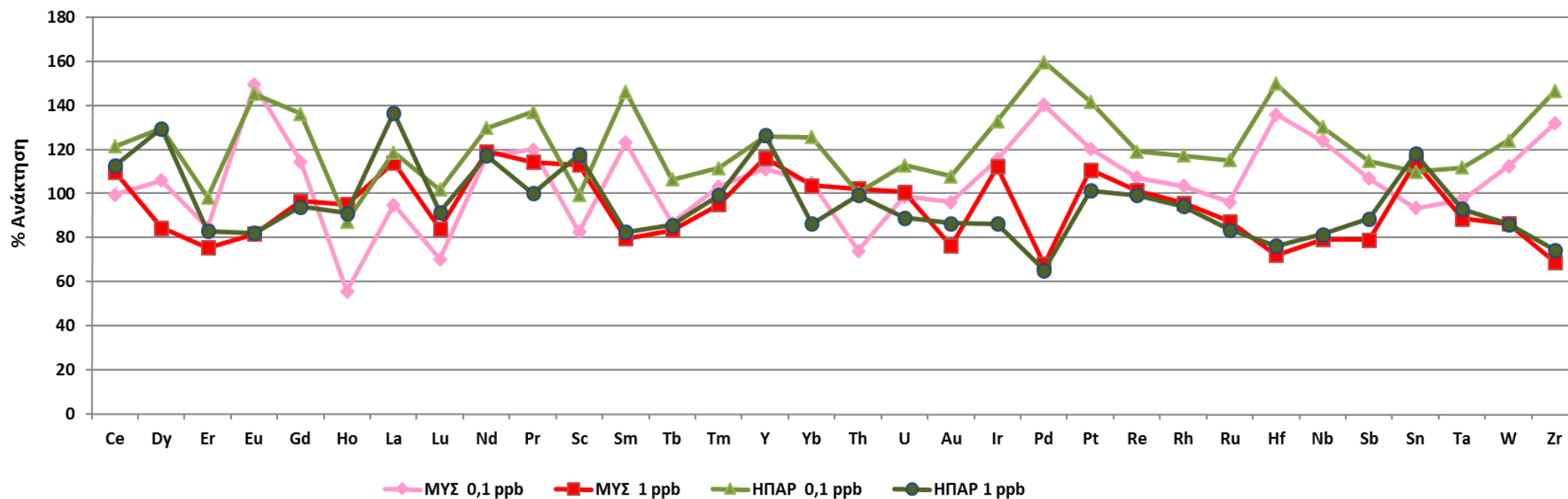
Κατηγορία στοιχείων	Αναλύτης	1^ο Επίπεδο 10 ppb	2^ο Επίπεδο 100 ppb	3^ο Επίπεδο 1000 ppb
Ιχνοστοιχεία	Ag	113,9	118,1	111,8
	Al	122,6	125,5	132,5
	As	105,5	89,8	62,9
	B	115,2	120,9	158,9
	Ba	100,5	88,0	126,1
	Be	79,6	79,5	85,9
	Bi	116,7	112,2	109,3
	Cd	112,1	102,1	121,9
	Cr	89,2	75,7	97,7
	Cs	105,8	105,4	90,0
	Co	67,5	58,0	44,7
	Cu	112,1	72,5	90,6
	Fe	149,2	111,3	139,9
	Ga	114,6	100,6	179,0
	In	53,8	77,5	58,1

	Li	96,4	117,0	74,4
	Mn	82,1	111,0	88,2
	Mo	117,2	111,4	85,2
	Ni	83,7	104,5	35,9
	Pb	86,6	112,8	103,4
	Rb	98,2	104,1	97,0
	Se	122,5	109,4	69,8
	Si	138,6	145,8	99,8
	Sr	120,8	122,5	90,6
	Tl	95,5	91,9	82,8
	Ti	129,1	121,1	146,9
	V	122,7	121,2	87,8
	Zn	117,5	124,0	82,9

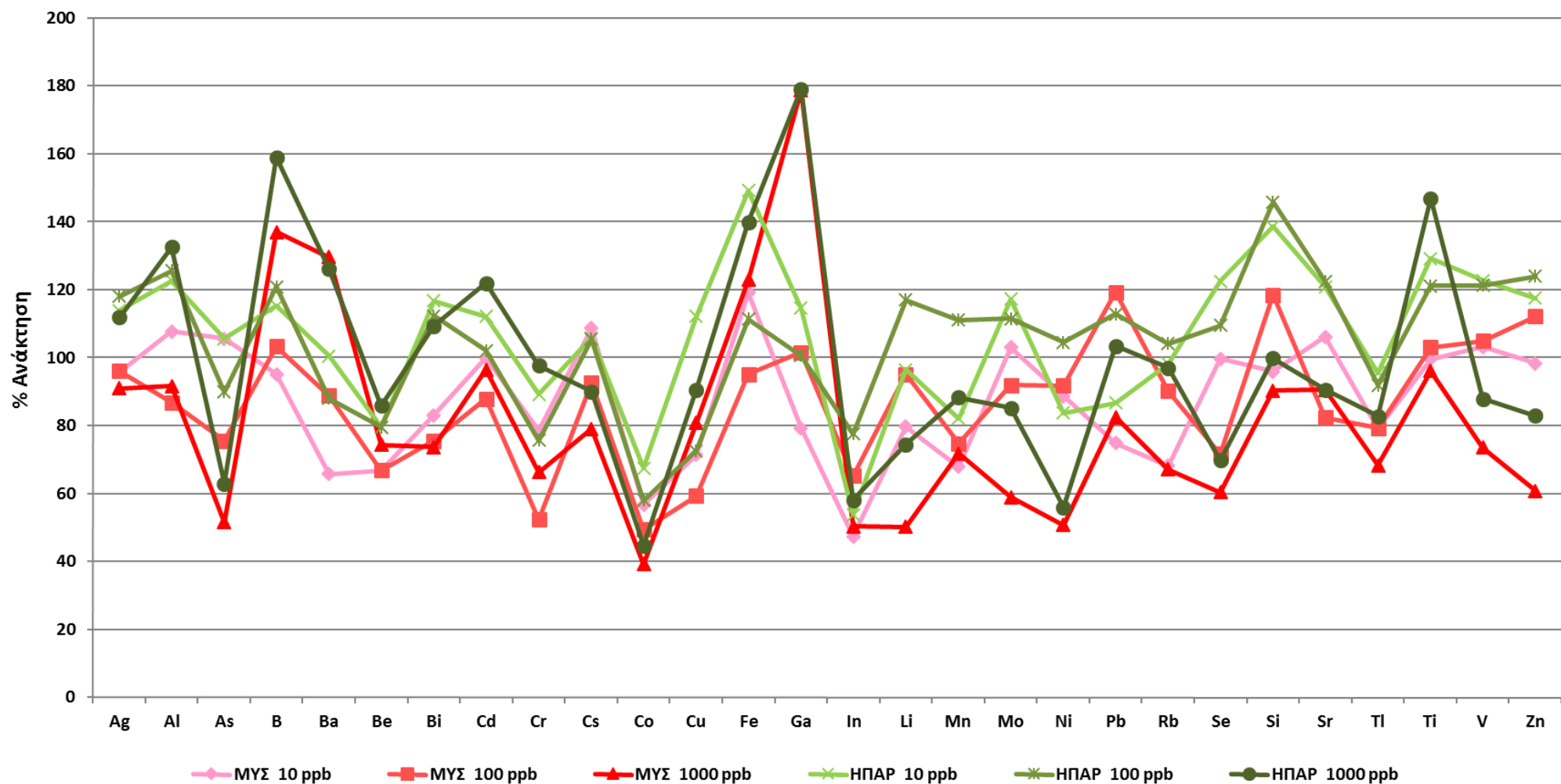
Πίνακας 5.8: Μέση τιμή των ανακτήσεων των αναλυτών για τα δύο επίπεδα εμβολιασμού (1^ο επίπεδο εμβολιασμού 1 ppm και 2^ο επίπεδο εμβολιασμού 10 ppm) σε υπόστρωμα ηπάτων αγριοκούνελων (N=5) για τα μάκρο-στοιχεία.

Κατηγορία στοιχείων	Αναλύτης	Μέση Τιμή Ανάκτησης %	
		1 ^ο Επίπεδο 1 ppm	2 ^ο Επίπεδο 10 ppm
Μάκρο-στοιχεία	Ca	131,5	100,7
	K	140,2	75,5
	Mg	129,7	92,7
	Na	128,1	136,6
	P	131,3	131,1

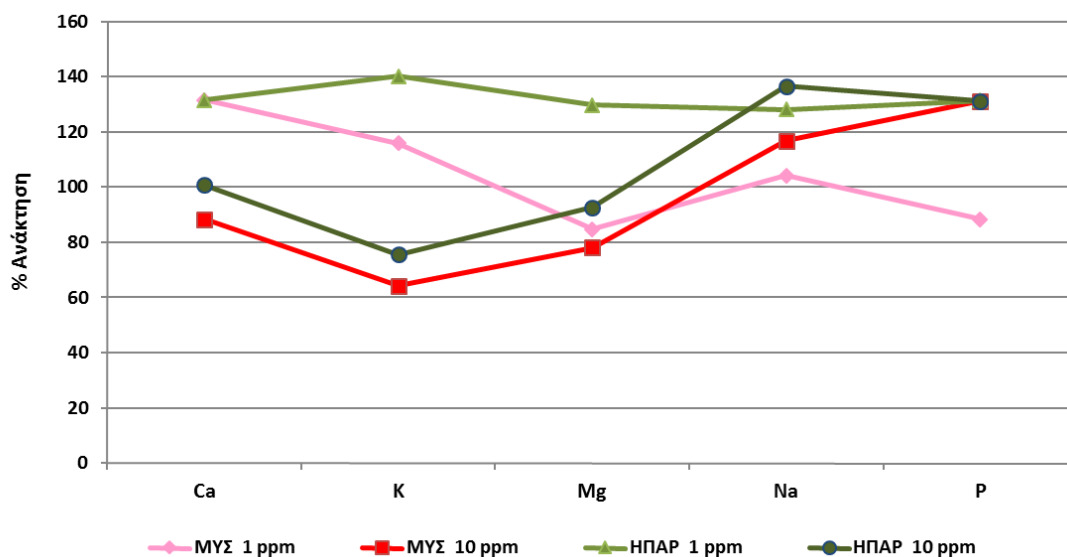
Διάγραμμα 5.1. Ανακτήσεις για τις σπάνιες γαίες, τις ακτινίδες, τα πολύτιμα μέταλλα και ιχνοστοιχεία με πολύ μικρή φυσική αφθονία στα 2 επίπεδα εμβολιασμού σε μύες και ήπαρ αγριοκούνελων.



Διάγραμμα 5.2. Ανακτήσεις για τα ιχνοστοιχεία στα 3 επίπεδα εμβολιασμού σε μύες και ήπαρ αγριοκούνελων.



Διάγραμμα 5.3. Ανακτήσεις για τα μακρο-στοιχεία στα 2 επίπεδα εμβολιασμού σε μύες και ήπαρ αγριοκούνελων.



Στα διαγράμματα 5.1-5.3 παρατηρούμε ότι οι περισσότεροι αναλύτες παρουσίασαν ανάκτηση εντός των επιπέδων 70%-120%. Επίσης, οι περισσότερες τιμές εκτός 70%-120% αφορούν κυρίως το πρώτο-χαμηλό επίπεδο εμβολιασμού. Πιο συγκεκριμένα όσον αφορά τις σπάνιες γαίες, τις ακτινίδες, τα πολύτιμα μέταλλα και ιχνοστοιχεία με πολύ μικρή φυσική αφθονία εμφάνισαν γενικά υψηλές ανακτήσεις στο πρώτο επίπεδο επικύρωσης. Όσον αφορά τα ιχνοστοιχεία βρέθηκαν χαμηλές ανακτήσεις στο Αρσενικό, το Χρώμιο, το Κοβάλτιο, το Ίνδιο, το Λίθιο και το Νικέλιο. Αντίθετα βρέθηκαν υψηλές ανακτήσεις στο Βόριο, το Σίδηρο, το Γάλλιο, το Πυρίτιο και το Τιτάνιο κυρίως στο ήπαρ. Τα μακρο-στοιχεία έδωσαν υψηλές ανακτήσεις στο πρώτο επίπεδο εμβολιασμού και κυρίως στο ήπαρ. Τέλος για όλα τα στοιχεία γενικά το υπόστρωμα ήπατος εμφάνισε υψηλότερες ανακτήσεις από ότι οι μύες.

5.3 Εκτίμηση της πιστότητας

Η πιστότητα εκφράζει την προσέγγιση της συμφωνίας (εγγύτητας) μεταξύ των αποτελεσμάτων ανεξάρτητων εφαρμογών της μεθόδου υπό ρητά καθορισμένες (προκαθορισμένες) συνθήκες. Ως παράμετρος ποιότητας της ανάλυσης, η πιστότητα μπορεί ποιοτικά να περιγραφεί ως η ποσότητα που μετρά τη διασπορά (dispersion) (μη πιστότητα) των αποτελεσμάτων, όταν η αναλυτική μεθοδολογία επαναλαμβάνεται σε ένα δείγμα. Η διασπορά των αποτελεσμάτων μπορεί να προκαλείται από πολλές πηγές και βρίσκεται γύρω από την αναμενόμενη τιμή του αποτελέσματος εάν δεν υπάρχει συστηματικό σφάλμα. Η

πιστότητα μίας αναλυτικής μεθόδου εκφράζεται με την τυπική απόκλιση μιας σειράς αποτελεσμάτων που λαμβάνονται από ένα δείγμα υπό καθορισμένες συνθήκες, τόσο υπό συνθήκες επαναληψιμότητας (repeatability) όσο και υπό συνθήκες ενδοεργαστηριακής αναπαραγωγιμότητας (reproducibility).

Η επαναληψιμότητα και η αναπαραγωγιμότητα αποτελούν υποσύνολα του όρου πιστότητα. Επαναληψιμότητα είναι η πιστότητα υπό συνθήκες επαναληψιμότητας, δηλαδή το μέτρο της διασποράς των αποτελεσμάτων διαδοχικών ανεξάρτητων ελέγχων στο ίδιο δείγμα, που εκτελούνται κάτω από τις ίδιες συνθήκες, δηλαδή ίδια μέθοδος ελέγχου, ίδιος αναλυτής, ίδια συσκευή, ίδιο εργαστήριο και βραχύ χρονικό διάστημα. Η αναπαραγωγιμότητα είναι το μέτρο της διασποράς μεταξύ των αποτελεσμάτων ανεξάρτητων ελέγχων που λαμβάνονται με την ίδια μέθοδο, στο ίδιο δείγμα, κάτω όμως από διαφορετικές συνθήκες (π.χ. διαφορετική ημέρα).

A) Επαναληψιμότητα

Για τον υπολογισμό της επαναληψιμότητας μεθόδου χρησιμοποιήθηκαν έξι εμβολιασμένα δείγματα σε τουλάχιστον 2 επίπεδα συγκέντρωσης για τον κάθε αναλύτη. Η ανάλυση έγινε κατά την ίδια εργαστηριακή μέρα.

Στη συνέχεια υπολογίστηκε η τυπική απόκλιση (Standard Deviation, SD)

$$SD = \pm \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (\bar{x} - x_i)^2}{n-1}}$$

και η εκατοστιαία σχετική τυπική απόκλιση (%Relative Standard Deviation, %RSD)

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

για τον κάθε υπό εξέταση αναλύτη. Τα αποτελέσματα της επαναληψιμότητας δίνονται στους παρακάτω πίνακες.

Πίνακας 5.9: Τυπική απόκλιση (SD) και % σχετική τυπική απόκλιση (% RSD) υπό συνθήκες επαναληψιμότητας για τα δυο επίπεδα εμβολιασμού σε υπόστρωμα μιών αγριοκούνελων (N=5), για τις σπάνιες γαίες, τις ακτινίδες, τα πολύτιμα μέταλλα και ιχνοστοιχεία με πολύ μικρή φυσική αφθονία.

Κατηγορία στοιχείων	Αναλύτης	1 ^ο Επίπεδο 0,1 ppb		2 ^ο Επίπεδο 1 ppb		
		Τυπική απόκλιση, SD	Σχετική Τυπική Απόκλιση, % RSD _R	Τυπική απόκλιση, SD	Σχετική Τυπική Απόκλιση, % RSD _R	
Σπάνιες Γαίες	Ce	26,3	17,1	24,1	19,5	
	Dy	15,4	2,4	7,6	9,0	
	Er	14,9	6,8	3,2	3,5	
	Eu	19,6	16,5	4,4	4,7	
	Gd	20,7	7,4	2,9	2,8	
	Ho	3,5	2,9	1,1	1,2	
	La	16,5	13,1	7,7	4,4	
	Lu	0,6	0,4	0,6	0,8	
	Nd	19,1	2,7	25,1	18,0	
	Pr	15,7	1,3	4,4	4,1	
	Sc	42,3	20,1	10,3	1,3	
	Sm	19,8	13,1	4,5	5,7	
	Tb	10,2	8,3	3,2	3,7	
	Tm	4,1	4,2	0,4	0,8	
Ακτινίδες	Y	34,9	21,8	5,3	5,0	
	Yb	7,9	3,1	1,2	1,7	
	Th	49,4	27,8	39,0	26,9	
	U	16,9	5,6	3,7	1,2	
	Πολύτιμα μέταλλα	Au	34,0	14,9	6,9	4,5
		Ir	8,1	1,2	15,2	12,2
Pd		29,6	5,4	2,0	3,7	
Pt		14,1	1,1	1,5	1,2	

	Re	20,8	18,0	3,2	3,2
	Rh	29,3	16,5	2,0	2,3
	Ru	38,0	15,7	8,5	3,2
Ιχνοστοιχεία	Hf	20,8	15,9	1,7	0,4
	Nb	29,5	19,5	7,1	7,7
	Sb	21,6	7,5	4,7	7,5
	Sn	51,5	14,7	20,8	18,0
	Ta	6,5	8,9	14,5	15,3
	W	28,5	20,8	16,3	3,4
	Zr	46,5	27,2	2,6	17,6

Πίνακας 5.10: Τυπική απόκλιση (SD) και % σχετική τυπική απόκλιση (% RSD) υπό συνθήκες επαναληψιμότητας για τα τρία επίπεδα εμβολιασμού σε υπόστρωμα μιών αγριοκούνελων (N=5), για τα ιχνοστοιχεία.

Κατηγορία στοιχείων	Αναλύτης	1 ^ο Επίπεδο 10 ppb		2 ^ο Επίπεδο 100 ppb		3 ^ο Επίπεδο 1000 ppb	
		Τυπική απόκλιση, SD	Σχετική Τυπική Απόκλιση, % RSD _R	Τυπική απόκλιση, SD	Σχετική Τυπική Απόκλιση, % RSD _R	Τυπική απόκλιση, SD	Σχετική Τυπική Απόκλιση, % RSD _R
Ιχνοστοιχεία	Ag	21,4	7,2	8,1	7,1	7,4	6,3
	Al	74,4	25,8	44,2	33,0	57,5	32,1
	As	54,0	20,8	21,0	27,7	6,6	9,9
	B	60,6	48,2	34,5	18,2	40,0	24,1
	Ba	17,4	3,9	30,4	24,9	20,9	16,1
	Be	24,6	7,9	3,3	3,7	19,9	22,3
	Bi	24,0	4,1	1,4	1,3	3,6	2,9
	Cd	3,2	2,5	0,8	0,8	6,1	5,0
	Cr	41,4	13,5	43,1	26,5	15,5	18,0
	Cs	4,5	3,0	5,0	3,3	6,2	3,7
	Co	5,4	12,0	6,9	15,7	6,2	12,6

	Cu	46,9	36,9	16,8	31,4	13,9	11,4
	Fe	31,8	19,5	26,5	16,0	46,6	23,1
	Ga	12,4	5,1	24,0	16,0	19,6	8,6
	In	7,7	9,9	1,8	3,2	2,8	5,7
	Li	4,4	2,5	9,1	6,8	11,4	10,9
	Mn	42,1	21,5	41,1	30,1	17,4	16,0
	Mo	55,5	29,8	41,0	41,4	19,6	18,2
	Ni	16,8	6,3	6,4	5,6	6,4	5,7
	Pb	14,2	0,8	0,3	0,2	1,9	1,7
	Rb	41,7	31,8	47,2	29,1	11,3	8,8
	Se	45,4	45,4	32,6	26,4	7,6	12,9
	Si	35,1	31,6	48,1	16,0	33,6	20,6
	Sr	72,5	46,2	62,4	32,7	20,3	18,6
	Tl	9,9	4,7	2,1	3,1	4,3	4,6
	Ti	47,3	35,3	46,8	35,4	34,8	27,4
	V	53,7	41,1	44,2	26,8	25,6	21,2
	Zn	48,5	33,0	42,4	28,9	25,1	27,9

Πίνακας 5.11: Τυπική απόκλιση (SD) και % σχετική τυπική απόκλιση (% RSD) υπό συνθήκες επαναληψιμότητας για τα δύο επίπεδα εμβολιασμού σε υπόστρωμα μών αγριοκούνελων (N=5), για τα μακρο-στοιχεία.

Κατηγορία στοιχείων	Αναλύτης	1 ^ο Επίπεδο 1 ppm		2 ^ο Επίπεδο 10 ppm	
		Τυπική απόκλιση, SD	Σχετική Τυπική Απόκλιση, % RSD _R	Τυπική απόκλιση, SD	Σχετική Τυπική Απόκλιση, % RSD _R
Μάκρο-στοιχεία	Ca	35,4	21,3	32,5	25,1
	K	30,7	15,5	32,6	13,0
	Mg	15,7	5,0	19,9	13,0
	Na	16,4	8,6	12,8	6,2

	P	32,2	18,2	16,3	8,9
--	----------	------	------	------	-----

Πίνακας 5.12: Τυπική απόκλιση (SD) και % σχετική τυπική απόκλιση (% RSD) υπό συνθήκες επαναληψιμότητας για τα δυο επίπεδα εμβολιασμού σε υπόστρωμα ηπάτων αγριοκούνελων (N=5), για τις σπάνιες γαίες, τις ακτινίδες, τα πολύτιμα μέταλλα και ιχνοστοιχεία με πολύ μικρή φυσική αφθονία.

Κατηγορία στοιχείων	Αναλύτης	1 ^ο Επίπεδο 0,1 ppb	1 ^ο Επίπεδο 0,1 ppb	2 ^ο Επίπεδο 1 ppb	2 ^ο Επίπεδο 1 ppb
		Τυπική απόκλιση, SD	Σχετική Τυπική Απόκλιση, % RSD _R	Τυπική απόκλιση, SD	Σχετική Τυπική Απόκλιση, % RSD _R
Σπάνιες Γαίες	Ce	37,6	18,8	22,4	16,8
	Dy	20,0	3,5	9,1	12,9
	Er	16,3	8,8	4,6	3,9
	Eu	25,5	18,6	6,4	6,7
	Gd	29,7	10,3	3,1	3,6
	Ho	3,9	3,9	1,6	1,3
	La	23,1	14,4	10,0	5,7
	Lu	0,7	0,6	0,6	0,8
	Nd	23,1	3,0	33,5	19,8
	Pr	20,4	1,4	4,8	4,5
	Sc	51,1	22,1	11,4	1,4
	Sm	21,8	18,3	5,9	6,3
	Tb	11,4	10,0	3,6	4,1
	Tm	5,7	5,9	0,5	1,1
Ακτινίδες	Y	39,3	26,3	5,8	6,0
	Yb	11,1	4,3	1,7	2,3
	Th	59,3	31,3	47,1	30,3
	U	22,0	7,9	5,2	1,7
Πολύτιμα μέταλλα	Au	52,3	21,3	9,1	5,0
	Ir	9,0	1,3	19,7	17,1

	Pd	45,5	7,6	2,3	5,7
	Pt	20,2	1,3	1,7	1,3
	Re	22,9	25,3	4,6	4,9
	Rh	41,9	18,6	2,2	2,6
	Ru	42,8	22,0	11,9	4,5
Ιχνοστοιχεία	Hf	24,9	19,3	2,2	0,4
	Nb	38,4	27,3	7,8	10,8
	Sb	30,9	9,1	5,2	9,1
	Sn	62,2	20,6	29,1	25,3
	Ta	9,1	11,6	17,6	18,5
	W	34,5	23,5	22,8	4,8
	Zr	52,3	38,0	3,2	19,4

Πίνακας 5.13: Τυπική απόκλιση (SD) και % σχετική τυπική απόκλιση (% RSD) υπό συνθήκες επαναληψιμότητας για τα τρία επίπεδα εμβολιασμού σε υπόστρωμα ηπάτων αγριοκούνελων (N=5), για τα ιχνοστοιχεία.

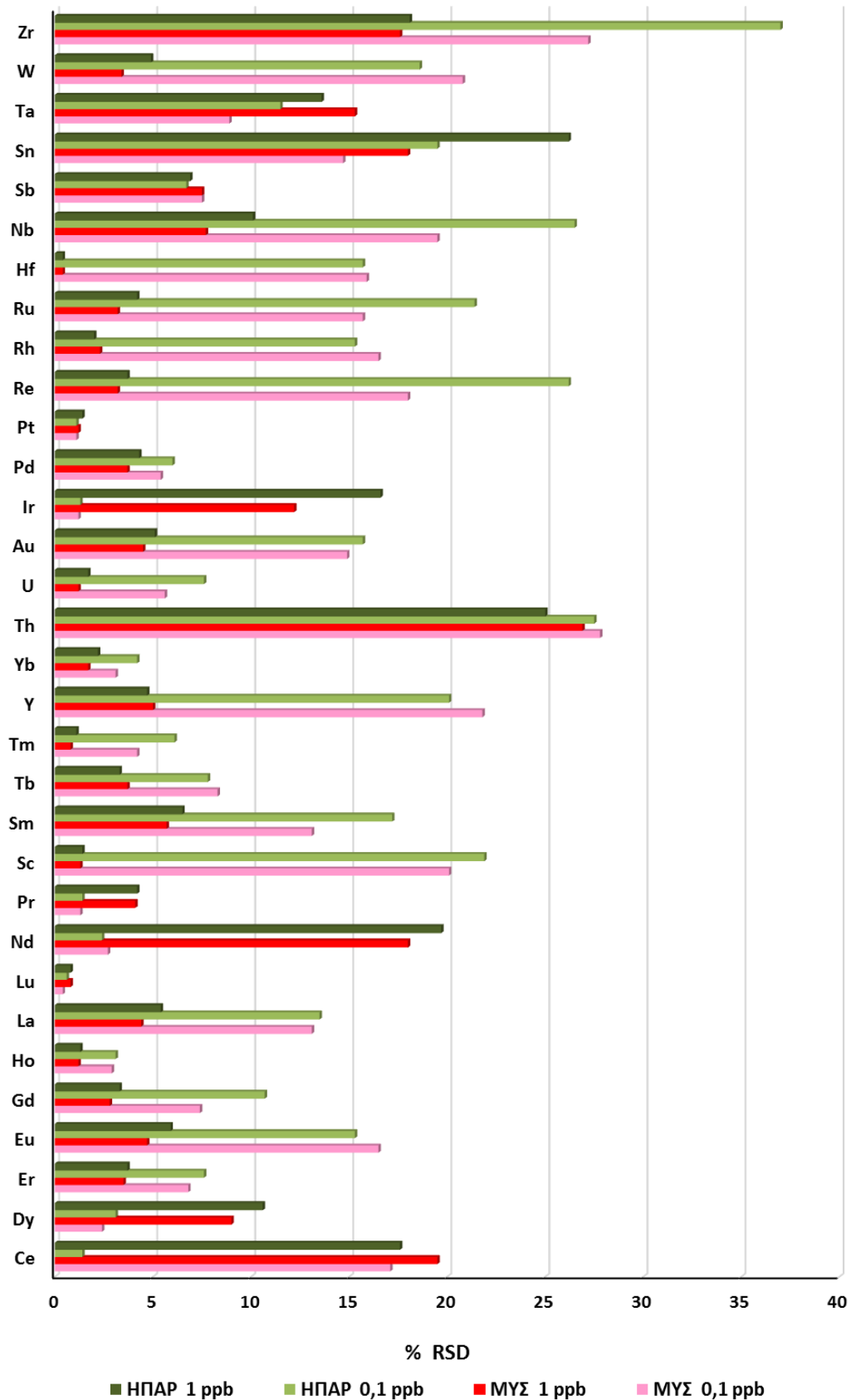
Κατηγορία στοιχείων	Αναλύτης	1 ^ο Επίπεδο 10 ppb		2 ^ο Επίπεδο 100 ppb		3 ^ο Επίπεδο 1000 ppb	
		Τυπική απόκλιση, SD	Σχετική Τυπική Απόκλιση, % RSD _R	Τυπική απόκλιση, SD	Σχετική Τυπική Απόκλιση, % RSD _R	Τυπική απόκλιση, SD	Σχετική Τυπική Απόκλιση, % RSD _R
Ιχνοστοιχεία	Ag	18,4	8,0	6,4	6,5	6,4	5,7
	Al	78,7	20,2	56,7	28,6	66,4	27,8
	As	59,9	26,6	19,1	32,0	5,7	11,4
	B	47,6	43,7	29,9	15,7	40,0	20,9
	Ba	22,3	3,4	35,1	24,9	20,9	16,1
	Be	22,4	9,1	2,9	3,7	25,5	25,8
	Bi	20,8	3,5	1,4	1,7	2,9	2,5
	Cd	3,7	2,5	0,8	0,8	6,1	5,7
	Cr	35,9	13,5	45,6	20,8	19,9	15,6
	Cs	4,5	3,8	5,5	4,2	5,6	4,3

	Co	5,4	9,5	5,4	14,2	5,4	10,9
	Cu	60,1	47,2	21,6	27,2	16,0	11,4
	Fe	28,8	15,3	24,0	18,4	40,4	23,1
	Ga	13,8	6,5	20,8	13,9	19,6	11,0
	In	6,1	9,0	2,0	3,2	3,0	5,8
	Li	5,6	2,2	7,9	6,8	12,1	8,6
	Mn	38,2	24,8	41,1	38,6	19,3	20,4
	Mo	48,1	25,9	41,0	32,6	15,4	16,5
	Ni	19,4	6,3	8,2	5,6	7,4	5,0
	Pb	12,3	0,8	0,3	0,3	1,7	1,7
	Rb	41,7	40,7	40,9	25,2	11,3	11,3
	Se	45,4	35,6	37,6	26,4	8,3	13,0
	Si	40,5	31,6	41,7	16,0	35,6	16,2
	Sr	62,8	46,2	62,4	41,9	22,6	21,5
	Tl	9,9	6,1	2,1	2,4	3,4	3,6
	Ti	47,3	27,7	59,9	35,4	34,8	23,8
	V	53,7	41,1	34,8	26,8	25,6	21,2
	Zn	58,1	44,2	48,9	28,9	27,4	20,5

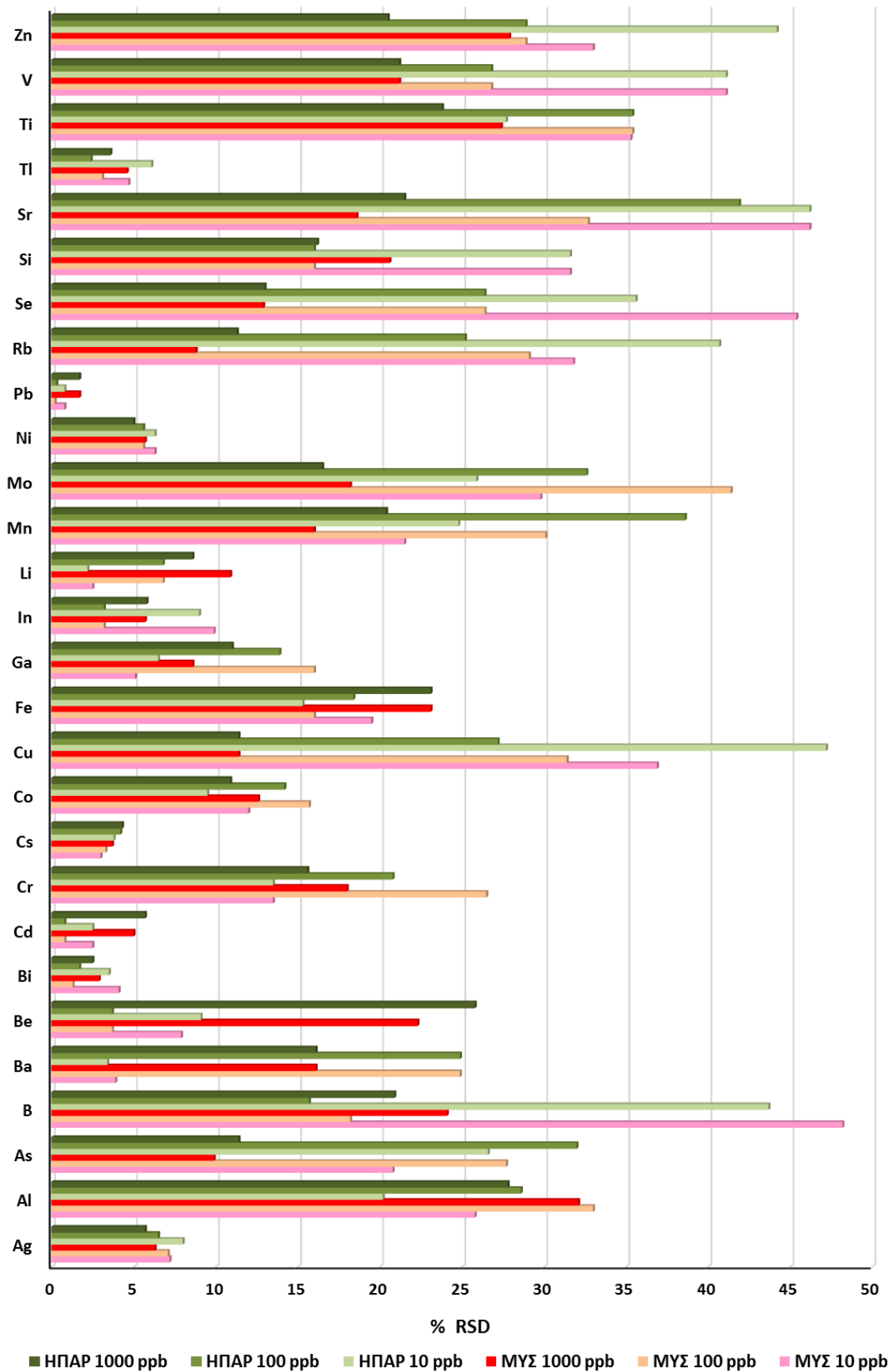
Πίνακας 5.14: Τυπική απόκλιση (SD) και % σχετική τυπική απόκλιση (% RSD) υπό συνθήκες επαναληψιμότητας για τα δύο επίπεδα εμβολιασμού σε υπόστρωμα ηπάτων αγριοκούνελων (N=5), για τα μακρο-στοιχεία.

Κατηγορία στοιχείων	Αναλύτης	1 ^ο Επίπεδο 1 ppm		2 ^ο Επίπεδο 10 ppm	
		Τυπική απόκλιση, SD	Σχετική Τυπική Απόκλιση, % RSD _R	Τυπική απόκλιση, SD	Σχετική Τυπική Απόκλιση, % RSD _R
Μάκρο- στοιχεία	Ca	30,7	21,3	34,4	19,7
	K	30,7	19,9	36,2	16,6
	Mg	15,7	4,0	15,6	11,8
	Na	16,4	8,6	12,8	5,4
	P	37,2	18,2	17,8	10,4

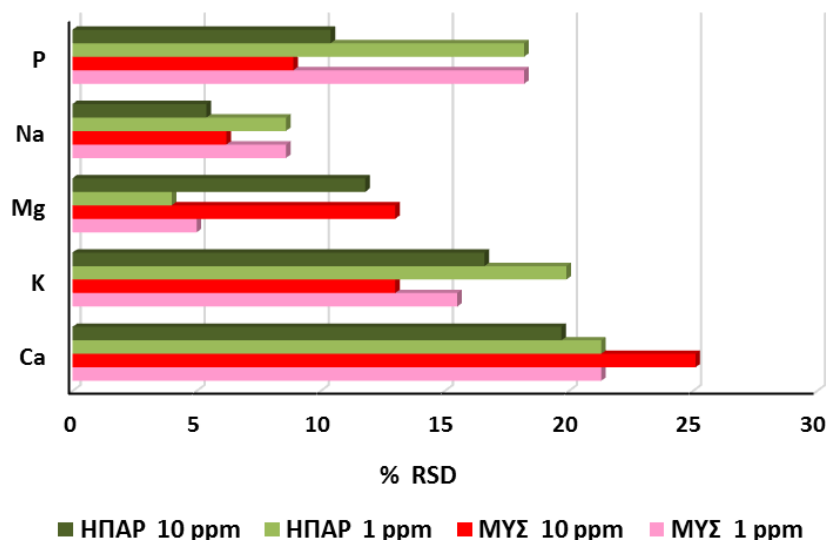
Διάγραμμα 5.4. % Σχετική τυπική απόκλιση (% RSD) υπό συνθήκες επαναληψιμότητας για τα δύο επίπεδα εμβολιασμού για τις σπάνιες γαίες, τις ακτινίδες, τα πολύτιμα μέταλλα και ιχνοστοιχεία με πολύ μικρή φυσική αφθονία.



Διάγραμμα 5.5. % Σχετική τυπική απόκλιση (% RSD) υπό συνθήκες επαναληψιμότητας για τα τρία επίπεδα εμβολιασμού για τα ιχνοστοιχεία.



Διάγραμμα 5.6. % Σχετική τυπική απόκλιση (% RSD) υπό συνθήκες επαναληψιμότητας για τα δύο επίπεδα εμβολιασμού για τα μακρο-στοιχεία.



Στα διαγράμματα 5.4-5.6 παρουσιάζεται η % σχετική τυπική απόκλιση (% RSD) υπό συνθήκες επαναληψιμότητας. Παρατηρείται ότι οι περισσότεροι αναλύτες είναι κάτω από το επίπεδο του 20% που απαιτείται από τον Κανονισμό 657/2002 της Ε.Ε. για επίπεδα ≥ 10 ppm έως 100 ppb. Κυρίως τα χαμηλά επίπεδα επικύρωσης ήταν αυτά που παρουσίασαν υψηλές τιμές % σχετικής τυπικής απόκλισης τόσο στο ήπαρ όσο και στο μυ. Πιο συγκεκριμένα τα στοιχεία που έδωσαν υψηλές τιμές % RSD ήταν το Θώριο, το Ζιρκόνιο, το Αργίλιο, το Βόριο, ο Χαλκός, το Μαγγάνιο, το Μολυβδαίνιο, το Ρουβίδιο, το Σελήνιο, το Αντιμόνιο, το Στρόντιο, το Τιτάνιο, το Βανάδιο, ο Ψευδάργυρος και το Ασβέστιο κυρίως στα χαμηλά επίπεδα επικύρωσης. Όσον αφορά την σύγκριση των 2 υποστρωμάτων το ήπαρ έδινε γενικά υψηλότερες τιμές % σχετικής τυπικής απόκλισης στα περισσότερα στοιχεία από ότι οι μύες.

B) Ενδοεργαστηριακή αναπαραγωγικότητα

Για τον υπολογισμό της ενδοεργαστηριακής αναπαραγωγικότητας της μεθόδου αναλύθηκαν 3 δείγματα για το κάθε επίπεδο εμβολιασμού σε 2 διαφορετικές εργαστηριακές ημέρες ($N=3*2=6$)

Τα αποτελέσματα της ενδοεργαστηριακής αναπαραγωγικότητας δίνονται στους παρακάτω πίνακες.

Πίνακας 5.15: Τυπική απόκλιση (SD) και % σχετική τυπική απόκλιση (% RSD) υπό συνθήκες ενδοεργαστηριακής αναπαραγωγιμότητας για τα δυο επίπεδα εμβολιασμού σε υπόστρωμα μυών αγριοκούνελων (N=2*3), για τις σπάνιες γαίες, τις ακτινίδες, τα πολύτιμα μέταλλα και ιχνοστοιχεία με πολύ μικρή φυσική αφθονία.

Κατηγορία στοιχείων	Αναλύτης	1 ^ο Επίπεδο 0,1 ppb	1 ^ο Επίπεδο 0,1 ppb	2 ^ο Επίπεδο 1 ppb	2 ^ο Επίπεδο 1 ppb
		Τυπική απόκλιση, SD	Σχετική Τυπική Απόκλιση, % RSD _r	Τυπική απόκλιση, SD	Σχετική Τυπική Απόκλιση, % RSD _r
Σπάνιες Γαίες	Ce	10,6	1,4	28,1	17,6
	Dy	17,4	3,1	8,5	10,6
	Er	15,0	7,6	3,5	3,7
	Eu	24,1	15,3	5,1	5,9
	Gd	26,0	10,7	3,3	3,3
	Ho	3,6	3,1	1,3	1,3
	La	22,5	13,5	9,7	5,4
	Lu	0,7	0,6	0,6	0,8
	Nd	17,7	2,4	27,5	19,7
	Pr	20,3	1,4	4,8	4,2
	Sc	37,6	21,9	10,7	1,4
	Sm	20,4	17,2	5,5	6,5
	Tb	9,2	7,8	2,9	3,3
	Tm	5,9	6,1	0,5	1,1
Ακτινίδες	Y	33,0	20,1	5,8	4,7
	Yb	10,8	4,2	1,6	2,2
	Th	57,7	27,5	36,0	25,0
	U	21,8	7,6	5,2	1,7
Πολύτιμα μέταλλα	Au	42,6	15,7	7,4	5,1
	Ir	8,7	1,3	19,2	16,6
	Pd	34,8	6,0	1,9	4,3
	Pt	16,5	1,1	1,8	1,4

	Re	22,2	26,2	3,7	3,7
	Rh	30,8	15,3	2,0	2,0
	Ru	34,2	21,4	11,2	4,2
Ιχνοστοιχεία	Hf	24,7	15,7	1,7	0,4
	Nb	32,9	26,5	6,7	10,1
	Sb	25,5	6,7	5,1	6,9
	Sn	50,7	19,5	30,2	26,2
	Ta	8,8	11,5	13,4	13,6
	W	28,1	18,6	23,6	4,9
	Zr	41,5	37,0	3,0	18,1

Πίνακας 5.16: Τυπική απόκλιση (SD) και % σχετική τυπική απόκλιση (% RSD) υπό συνθήκες ενδοεργαστηριακής αναπαραγωγιμότητας για τα τρία επίπεδα εμβολιασμού σε υπόστρωμα μύων αγριοκούνελων (N=2*3), για τα ιχνοστοιχεία.

Κατηγορία στοιχείων	Αναλύτης	1° Επίπεδο 10 ppb		2° Επίπεδο 100 ppb		3° Επίπεδο 1000 ppb	
		Τυπική απόκλιση, SD	Σχετική Τυπική Απόκλιση, % RSD _r	Τυπική απόκλιση, SD	Σχετική Τυπική Απόκλιση, % RSD _r	Τυπική απόκλιση, SD	Σχετική Τυπική Απόκλιση, % RSD _r
Ιχνοστοιχεία	Ag	17,5	7,5	7,2	7,0	6,8	6,3
	Al	94,7	25,6	55,9	30,6	72,2	30,3
	As	55,6	27,1	20,7	35,1	7,2	12,4
	B	60,2	41,2	32,0	21,2	41,6	26,4
	Ba	22,7	4,7	38,1	25,6	28,2	18,3
	Be	21,1	10,0	3,6	4,7	20,5	27,2
	Bi	28,9	3,8	1,5	1,4	3,1	2,6
	Cd	4,0	3,4	1,0	0,7	6,2	5,3
	Cr	38,4	14,5	40,7	22,7	20,2	19,0
	Cs	6,1	3,2	4,6	4,1	5,2	4,0
	Co	5,6	10,3	5,6	12,8	6,8	11,3
	Cu	50,1	46,2	21,9	37,7	14,8	13,0

	Fe	25,7	15,9	22,7	16,6	50,7	29,0
	Ga	14,1	7,0	26,1	19,2	21,0	9,2
	In	6,6	8,1	2,0	3,5	3,5	5,7
	Li	6,1	2,9	10,7	8,9	14,1	10,0
	Mn	38,6	24,5	54,6	38,1	15,5	20,5
	Mo	58,5	33,7	43,9	35,5	19,5	14,7
	Ni	21,3	7,9	8,3	7,6	6,6	5,1
	Pb	13,4	0,9	0,3	0,2	2,2	2,3
	Rb	52,3	40,2	56,8	32,8	12,3	9,2
	Se	57,4	36,7	34,8	28,8	10,5	13,4
	Si	48,7	40,0	54,3	22,2	33,0	18,4
	Sr	67,2	50,4	77,6	35,0	22,1	24,2
	Tl	13,7	5,9	2,5	3,2	4,2	4,7
	Ti	53,1	29,7	60,9	47,0	41,3	27,1
	V	69,1	53,6	42,3	33,4	31,2	27,7
	Zn	60,9	41,7	45,3	36,6	31,7	26,6

Πίνακας 5.17: Τυπική απόκλιση (SD) και % σχετική τυπική απόκλιση (% RSD) υπό συνθήκες ενδοεργαστηριακής αναπαραγωγιμότητας για τα τρία επίπεδα εμβολιασμού σε υπόστρωμα μύων αγριοκούνελων (N=2*3), για τα μακροστοιχεία.

Κατηγορία στοιχείων	Αναλύτης	1 ^ο Επίπεδο 1 ppm		2 ^ο Επίπεδο 10 ppm	
		Τυπική απόκλιση, SD	Σχετική Τυπική Απόκλιση, % RSD _r	Τυπική απόκλιση, SD	Σχετική Τυπική Απόκλιση, % RSD _r
Μάκρο-στοιχεία	Ca	42,6	29,1	40,2	20,3
	K	35,0	17,7	38,5	16,0
	Mg	21,4	5,4	17,8	11,7
	Na	18,4	8,8	16,7	7,1
	P	39,6	24,0	19,8	8,9

Πίνακας 5.18: Τυπική απόκλιση (SD) και % σχετική τυπική απόκλιση (% RSD) υπό συνθήκες ενδοεργαστηριακής αναπαραγωγιμότητας για τα δυο επίπεδα εμβολιασμού σε υπόστρωμα ηπάτων αγριοκούνελων (N=2*3), για τις σπάνιες γαίες, τις ακτινίδες, τα πολύτιμα μέταλλα και ιχνοστοιχεία με πολύ μικρή φυσική αφθονία.

Κατηγορία στοιχείων	Αναλύτης	1 ^ο Επίπεδο 0,1 ppb		2 ^ο Επίπεδο 1 ppb	
		Τυπική απόκλιση, SD	Σχετική Τυπική Απόκλιση, % RSD _r	Τυπική απόκλιση, SD	Σχετική Τυπική Απόκλιση, % RSD _r
Σπάνιες Γαίες	Ce	40,2	19,4	24,0	17,4
	Dy	20,6	3,7	9,4	14,1
	Er	17,5	9,1	4,9	4,0
	Eu	26,5	22,1	6,6	7,2
	Gd	35,3	10,6	3,7	4,3
	Ho	4,0	4,2	1,7	1,4
	La	24,7	14,8	10,7	5,9
	Lu	0,7	0,6	0,6	0,9
	Nd	24,7	3,3	35,8	20,4
	Pr	22,3	1,5	5,3	4,8
	Sc	52,7	23,0	11,7	1,6
	Sm	22,4	21,8	6,0	6,5
	Tb	11,9	10,4	3,7	4,5
	Tm	6,8	7,0	0,6	1,3
Ακτινίδες	Y	42,9	28,7	6,3	6,4
	Yb	11,9	4,6	1,8	2,5
	Th	63,4	33,5	50,4	36,1
	U	24,0	8,6	5,7	1,8
Πολύτιμα μέταλλα	Au	62,3	25,3	10,8	5,1
	Ir	9,6	1,4	21,1	17,8
	Pd	48,7	8,2	2,4	6,2
	Pt	24,0	1,5	2,0	1,5

	Re	24,5	27,0	4,9	5,8
	Rh	43,1	19,1	2,2	2,8
	Ru	44,5	22,9	12,3	4,8
Ιχνοστοιχεία	Hf	27,2	21,0	2,4	0,5
	Nb	39,5	28,1	8,0	11,5
	Sb	33,1	9,7	5,6	9,4
	Sn	74,0	24,6	34,6	26,3
	Ta	9,7	11,9	18,8	20,1
	W	41,1	27,9	27,1	4,9
	Zr	53,9	39,2	3,3	20,7

Πίνακας 5.19: Τυπική απόκλιση (SD) και % σχετική τυπική απόκλιση (% RSD) υπό συνθήκες ενδοεργαστηριακής αναπαραγωγιμότητας για τα τρία επίπεδα εμβολιασμού σε υπόστρωμα ηπάτων αγριοκούνελων (N=2*3), για τα ιχνοστοιχεία.

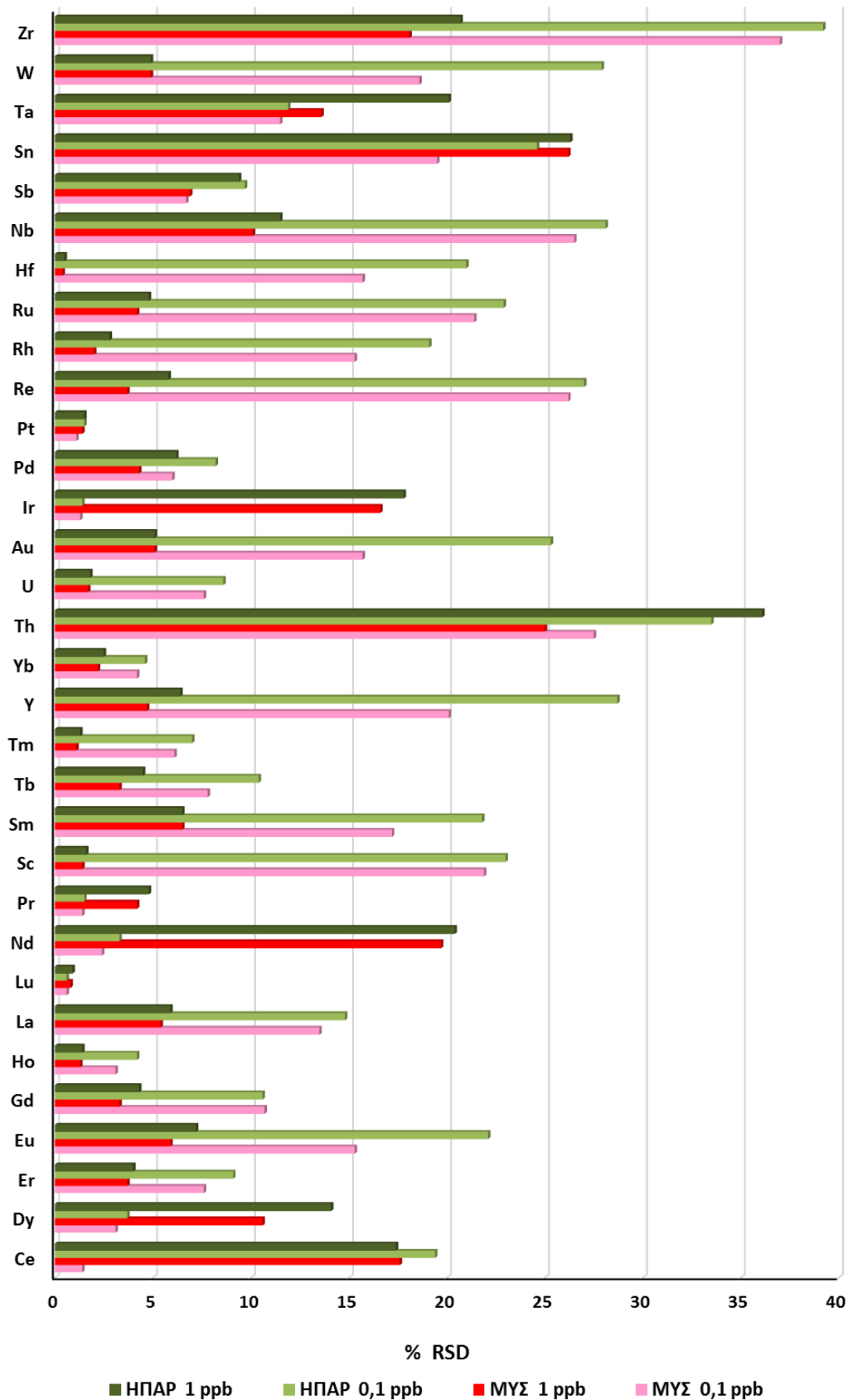
Κατηγορία στοιχείων	Αναλύτης	1 ^ο Επίπεδο 10 ppb		2 ^ο Επίπεδο 100 ppb		3 ^ο Επίπεδο 1000 ppb	
		Τυπική απόκλιση, SD	Σχετική Τυπική Απόκλιση, % RSD _r	Τυπική απόκλιση, SD	Σχετική Τυπική Απόκλιση, % RSD _r	Τυπική απόκλιση, SD	Σχετική Τυπική Απόκλιση, % RSD _r
Ιχνοστοιχεία	Ag	18,9	8,6	6,6	6,7	7,0	5,9
	Al	84,3	20,8	61,8	34,0	71,1	29,8
	As	62,3	28,5	19,6	34,9	6,1	11,8
	B	56,7	45,4	32,0	16,8	43,6	22,4
	Ba	22,9	4,1	41,7	26,6	24,9	16,5
	Be	23,9	9,4	2,9	4,1	27,3	27,6
	Bi	21,4	3,8	1,5	2,0	3,1	2,6
	Cd	3,9	2,6	0,9	0,9	7,2	6,8
	Cr	39,1	14,5	47,0	22,2	21,3	16,1
	Cs	4,6	4,1	5,9	5,0	6,0	4,6
	Co	5,6	9,7	5,6	14,7	5,9	11,2
	Cu	71,5	50,5	25,7	29,1	16,5	12,2

	Fe	30,0	15,7	24,7	19,0	42,0	25,2
	Ga	16,4	6,9	22,2	14,8	23,3	11,3
	In	6,6	9,4	2,1	3,5	3,1	6,0
	Li	6,0	2,6	8,5	8,1	13,2	10,2
	Mn	40,9	25,5	44,8	41,3	23,0	22,3
	Mo	52,4	27,7	42,3	33,5	16,5	17,7
	Ni	23,1	6,5	8,5	5,8	7,9	5,3
	Pb	13,2	0,8	0,3	0,3	2,0	1,8
	Rb	44,6	44,4	42,6	25,9	12,1	13,4
	Se	49,5	42,4	41,0	28,2	8,5	13,9
	Si	48,2	33,8	49,6	19,0	37,0	17,3
	Sr	67,2	47,6	66,7	44,8	24,6	25,5
	Tl	10,6	6,3	2,2	2,9	3,5	3,7
	Ti	51,6	30,2	71,3	36,5	37,2	25,4
	V	63,9	42,4	37,2	29,3	27,4	21,9
	Zn	62,1	47,3	58,2	31,5	32,6	21,9

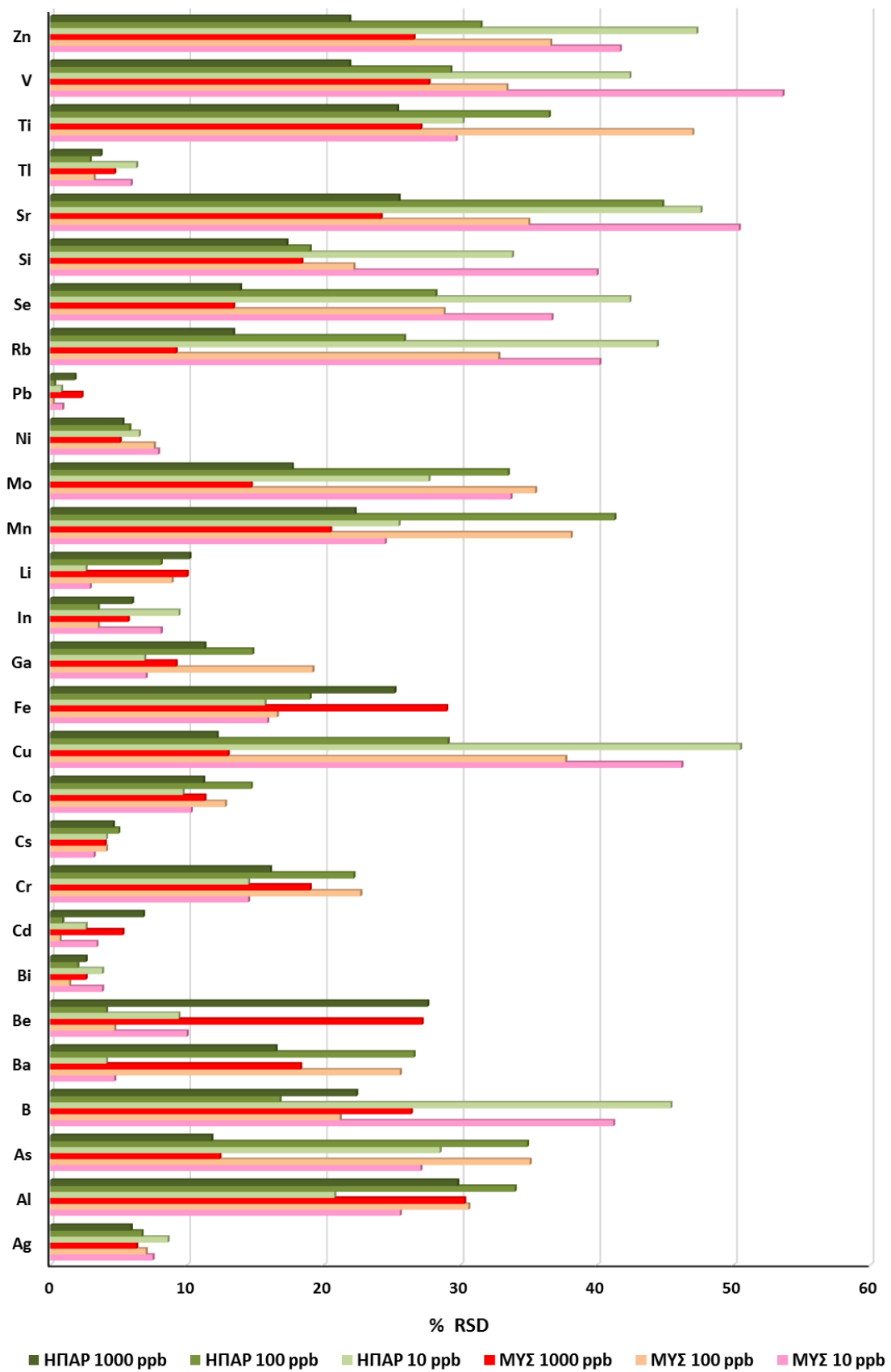
Πίνακας 5.20: Τυπική απόκλιση (SD) και % σχετική τυπική απόκλιση (% RSD) υπό συνθήκες ενδοεργαστηριακής αναπαραγωγιμότητας για τα τρία επίπεδα εμβολιασμού σε υπόστρωμα ηπάτων αγριοκούνελων (N=2*3), για τα μακρο-στοιχεία.

Κατηγορία στοιχείων	Αναλύτης	1 ^ο Επίπεδο 1 ppm		2 ^ο Επίπεδο 10 ppm	
		Τυπική απόκλιση, SD	Σχετική Τυπική Απόκλιση, % RSD _r	Τυπική απόκλιση, SD	Σχετική Τυπική Απόκλιση, % RSD _r
Μάκρο-στοιχεία	Ca	31,9	22,0	36,8	21,5
	K	33,5	21,3	37,3	19,8
	Mg	18,7	4,7	16,2	12,6
	Na	17,5	9,2	13,9	5,6
	P	39,8	21,6	18,3	10,9

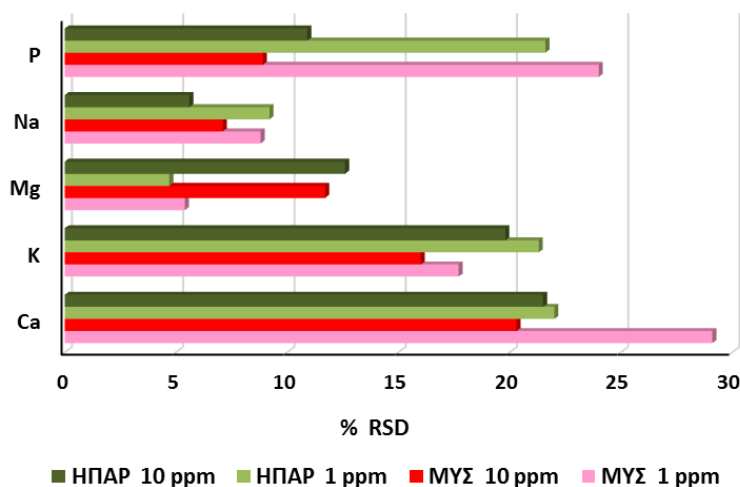
Διάγραμμα 5.7. % Σχετική τυπική απόκλιση (% RSD) υπό συνθήκες αναπαραγωγιμότητας για τα δύο επίπεδα εμβολιασμού για τις σπάνιες γαίες, τις ακτινίδες, τα πολύτιμα μέταλλα και ιχνοστοιχεία με πολύ μικρή φυσική αφθονία.



Διάγραμμα 5.8. % Σχετική τυπική απόκλιση (% RSD) υπό συνθήκες αναπαραγωγιμότητας για τα τρία επίπεδα εμβολιασμού για τα ιχνοστοιχεία.



Διάγραμμα 5.9. % Σχετική τυπική απόκλιση (% RSD) υπό συνθήκες αναπαραγωγιμότητας για τα δύο επίπεδα εμβολιασμού για τα μακρο-στοιχεία.



Στα διαγράμματα 5.7-5.9 παρουσιάζεται η % σχετική τυπική απόκλιση (% RSD) υπό συνθήκες αναπαραγωγιμότητας. Γενικά παρατηρούμε υψηλότερες τιμές % RSD από ότι είχαμε υπό συνθήκες επαναληψιμότητας. Παρ' όλα αυτά και πάλι οι περισσότεροι αναλύτες είναι κάτω από το επίπεδο του 20%. Οι σπάνιες γαίες, οι ακτινίδες, τα πολύτιμα μέταλλα και τα ιχνοστοιχεία με πολύ μικρή φυσική αφθονία παρουσίασαν χαμηλότερες τιμές % σχετικής τυπικής απόκλισης από ότι τα υπόλοιπα ιχνοστοιχεία. Όπως και υπό συνθήκες επαναληψιμότητας έτσι και υπό συνθήκες αναπαραγωγιμότητας υψηλότερες τιμές % RSD έδωσαν τα χαμηλότερα επίπεδα εμβολιασμού για τα περισσότερα στοιχεία. Ακόμη πάλι το ήπαρ έδωσε υψηλότερες τιμές % σχετικής τυπικής απόκλισης στα περισσότερα στοιχεία από ότι οι μύες. Τέλος και με βάση τα αποτελέσματα των ανακτήσεων μπορούμε να πούμε ότι το ήπαρ είναι μια «δυσκολότερη» μήτρα.

5.4 Εκτίμηση των ορίων ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης

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

α) Όριο ανιχνεύσεως (Detection Limit, DL ή LOD)

και β) Όριο ποσοτικοποίησης (Quantitation Limit, QL ή LOQ)

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

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

Ο προσδιορισμός των ορίων ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης με βάση την τυπική απόκλιση της αναλυτικής απόκρισης και την κλίση των καμπυλών αναφοράς δίνεται από τους τύπους:

$$LOD = (3,3 \times S_a) / b$$

και

$$LOQ = (10 \times S_a) / b$$

Όπου:

S_a : η τυπική απόκλιση της τομής

b : η κλίση της καμπύλης αναφοράς

Στους πίνακες 5.21 και 5.22 παρατίθενται αναλυτικά τα όρια και ανίχνευσης ποσοτικοποίησης για όλους αναλύτες σε μύες και ήπαρ αγριοκούνελων καθώς και τα μέγιστα επιτρεπτά επίπεδα που έχει ορίσει η Ε.Ε. (Κανονισμό της Επιτροπής (EC) No 1881/2006 και η τροπολογία του, Κανονισμός (EC) No 629/2008), τον FAO (Codex Alimentarius Commission, CODEX, General standard for contaminants and toxins in food and feed CODEX STAN 193-1995 με την τροποποίησή του 2010 και την νομοθεσία της Αυστραλίας - Νέας Ζηλανδίας (Australia New Zealand Food Standards Code - Standard 1.4.1 - Contaminants and Natural Toxicants - F2011C00542. Παρατηρείται ότι τα όρια ποσοτικοποίησης είναι πολύ χαμηλότερα από τα αντίστοιχα μέγιστα επιτρεπτά επίπεδα για όσα στοιχεία έχουν οριστεί.

Πίνακας 5.21: Όρια ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης της μεθόδου σε μύες αγριοκούνελων μαζί με τα αντίστοιχα μέγιστα επιτρεπτά επίπεδα σε ppb.

† για κρέας σε κονσέρβα

†† για κονσερβοποιημένα τρόφιμα

Κατηγορία στοιχείων	Αναλύτης	Limit of Detection, LOD	Limit of Quantification, LOQ	Maximum Levels		
				EU	FAO	Australia & NZ
Σπάνιες Γαίες	Ce	0,019	0,059			
	Dy	0,017	0,052			
	Er	0,027	0,082			
	Eu	0,012	0,035			
	Gd	0,017	0,050			
	Ho	0,002	0,006			
	La	0,582	1,764			
	Lu	0,003	0,010			
	Nd	0,008	0,025			
	Pr	0,016	0,048			
	Sc	0,668	2,026			
	Sm	0,006	0,018			
	Tb	0,008	0,024			
	Tm	0,002	0,006			
Ακτινίδες	Y	0,008	0,023			
	Yb	0,012	0,036			
Πολύτιμα μέταλλα	Th	0,034	0,102			
	U	0,030	0,092			
Πολύτιμα μέταλλα	Au	0,020	0,061			
	Ir	0,001	0,003			
	Pd	0,051	0,155			
	Pt	0,008	0,024			

	Re	0,0004	0,0012			
	Rh	0,0004	0,0011			
	Ru	0,008	0,024			
Ιχνοστοιχεία	Ag	0,024	0,071			
	Al	0,42471	1,287			
	As	0,08	0,23			
	B	65	196			
	Ba	0,075	0,228			
	Be	0,090	0,272			
	Bi	0,010	0,031			
	Cd	0,338	1,023	50		50
	Cs	0,008	0,024			
	Cr	0,113	0,342			
	Co	0,023	0,068			
	Cu	25,8	78,0			
	Fe	2,1	6,2			
	Ga	0,027	0,083			
	Hf	0,001	0,003			
	In	0,005	0,015			
	Pb	0,048	0,145	100	100	100
	Li	0,105	0,319			
	Mn	0,2	0,6			
	Mo	0,48	1,47			
	Nb	0,003	0,010			
	Ni	0,034	0,104			
	Rb	27,3	82,6			
	Sb	0,218	0,661			
	Se	1,0	2,9			
	Si	160	486			
	Sn	0,048	0,146	200†	50†	250††

	Sr	2,62	7,93			
	Ta	0,003	0,010			
	Tl	0,005	0,014			
	Ti	133	402			
	V	29	88			
	W	0,064	0,195			
	Zn	151	457			
	Zr	0,003	0,009			
Μάκρο-στοιχεία	Ca	29	88			
	K	3,31	10,02			
	Mg	83	251			
	Na	34	103			
	P	128	387			

Πίνακας 5.22: Όρια ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης της μεθόδου σε ήπαρ αγριοκούνελων μαζί με τα αντίστοιχα μέγιστα επιτρεπτά επίπεδα σε ppb.

† για κρέας σε κονσέρβα

†† για κονσερβοποιημένα τρόφιμα

Κατηγορία στοιχείων	Αναλύτης	Limit of Detection, LOD	Limit of Quantification, LOQ	Maximum Levels		
				EU	FAO	Australia & NZ
Σπάνιες Γαίες	Ce	0,021	0,065			
	Dy	0,020	0,060			
	Er	0,032	0,096			
	Eu	0,013	0,040			
	Gd	0,022	0,065			
	Ho	0,002	0,006			
	La	0,640	1,940			
	Lu	0,004	0,011			
	Nd	0,010	0,029			

	Pr	0,018	0,054			
	Sc	0,755	2,289			
	Sm	0,008	0,023			
	Tb	0,008	0,026			
	Tm	0,002	0,007			
	Y	0,008	0,026			
	Yb	0,013	0,039			
Ακτινίδες	Th	0,038	0,116			
	U	0,036	0,108			
Πολύτιμα μέταλλα	Au	0,023	0,069			
	Ir	0,001	0,004			
	Pd	0,055	0,166			
	Pt	0,009	0,026			
	Re	0,0004	0,0013			
	Rh	0,0004	0,0012			
	Ru	0,009	0,027			
Ιχνοστοιχεία	Ag	0,028	0,083			
	Al	0,48	1,45			
	As	0,08	0,25			
	B	71	216			
	Ba	0,083	0,251			
	Be	0,096	0,291			
	Bi	0,012	0,036			
	Cd	0,395	1,197	500		1250
	Cs	0,009	0,027			
	Cr	0,124	0,377			
	Co	0,025	0,075			
	Cu	27,6	83,5			
	Fe	2,1	6,5			
	Ga	0,031	0,094			

	Hf	0,001	0,004			
	In	0,006	0,017			
	Pb	0,053	0,159	500	500	500
	Li	0,116	0,351			
	Mn	0,2	0,6			
	Mo	0,55	1,67			
	Nb	0,004	0,011			
	Ni	0,039	0,118			
	Rb	30,0	90,9			
	Sb	0,240	0,727			
	Se	1,0	3,1			
	Si	167	505			
	Sn	0,050	0,152	200†	250††	250††
	Sr	2,98	9,04			
	Ta	0,004	0,012			
	Tl	0,005	0,016			
	Ti	172	522			
	V	31	94			
	W	0,071	0,214			
	Zn	166	503			
	Zr	0,003	0,009			
Μάκρο-στοιχεία	Ca	30	92			
	K	3,77	11,42			
	Mg	88	268			
	Na	35	107			
	P	166	503			

5.5 Εκτίμηση της αβεβαιότητας

Σύμφωνα με την EURACHEM η αβεβαιότητα (uncertainty) ορίζεται ως «μία παράμετρος που συνδέεται με το αποτέλεσμα της μέτρησης, η οποία χαρακτηρίζει την διασπορά των τιμών που λογικά μπορούν να αποδοθούν στο προσδιοριζόμενο συστατικό». Όταν η αβεβαιότητα εκφράζεται ως τυπική απόκλιση, τότε αναφέρεται ως τυπική αβεβαιότητα (standard uncertainty, u). Ως συνδυασμένη τυπική αβεβαιότητα (combined standard uncertainty, u_c) ορίζεται η αβεβαιότητα που προκύπτει από τον συνδυασμό των τυπικών αβεβαιοτήτων και δίνεται ως η τετραγωνική ρίζα του αθροίσματος των τετραγώνων των τυπικών αβεβαιοτήτων κάθε συνιστώσας, σταθμισμένων ανάλογα με το πώς το αποτέλεσμα της μέτρησης μεταβάλλεται από τις συνιστώσες. Επειδή οι πηγές της αβεβαιότητας έχουν διαφορετικές μονάδες η συνδυασμένη αβεβαιότητα υπολογίζεται συνήθως ως σχετική τυπική αβεβαιότητα. Η εκτεταμένη αβεβαιότητα (expanded uncertainty, U) χρησιμοποιείται συνήθως για να καλύψει τις απαιτήσεις των τελικών χρηστών της μέτρησης και εκφράζει ένα μεγαλύτερο διάστημα από τη συνδυασμένη τυπική αβεβαιότητα, στο οποίο η τιμή του μετρούμενου μεγέθους έχει μεγαλύτερη πιθανότητα να υπάρξει. Υπολογίζεται πολλαπλασιάζοντας τη συνδυασμένη τυπική αβεβαιότητα με έναν συντελεστή κάλυψης (coverage factor) k , ο οποίος λαμβάνει την τιμή 2 στις χημικές μετρήσεις και αντιστοιχεί σε επίπεδο εμπιστοσύνης περίπου 95%.

Τα συστατικά της αβεβαιότητας χωρίζονται σε δύο κατηγορίες, ανάλογα με τη μέθοδο εκτίμησής τους. Η αβεβαιότητα τύπου A εκτιμάται από μία σειρά επαναλαμβανόμενων μετρήσεων χρησιμοποιώντας στατιστικές μεθόδους. Η αβεβαιότητα τύπου B υπολογίζεται με άλλες τεχνικές εκτός στατιστικής, όπως δεδομένα από πιστοποιητικά διακριβώσεων, δεδομένα προηγούμενων πειραματικών μετρήσεων σε σχετικά μεγάλο χρονικό διάστημα, εμπειρία και οποιαδήποτε άλλη σχετική πληροφορία.

Αβεβαιότητα τύπου A (από τα πειράματα αναπαραγωγιμότητας)

Η αβεβαιότητα σε αυτή την περίπτωση παρέχεται από τις τιμές της σχετικής τυπικής απόκλισης, $RSDr$, που υπολογίστηκε στους πίνακες 5.15-5.20.

Αβεβαιότητα τύπου B (συστηματικά σφάλματα)

Έχουμε πλήρη χώνευση, γι' αυτό και δεν χρησιμοποιούμε κάποιο σχετικό συντελεστή διόρθωσης. Η εκτίμηση του συστηματικού σφάλματος δεν έγινε με τη χρήση CRM (certified reference material) αλλά με βάση τα εμβολιασμένα δείγματα. Μιας και δεν ήταν πάντα διαθέσιμο ένα CRM που να προσομοιάζει στη πλήρως στη μήτρα του δείγματος.

Αβεβαιότητα στον όγκο:

1) Προσθήκη 10 mL υπερκάθαρου νιτρικού οξέος για την χώνευση με dispenser

Dispenser των 10 mL: από το πιστοποιητικό η ακρίβεια είναι 0,5% και θέλουμε 10 mL, οπότε η απόκλιση είναι $\pm (0,5 \times 10) / 100 = \pm 0,05$ mL

Η αβεβαιότητα υπολογίζεται θεωρώντας ότι υπακούει σε τετραγωνική κατανομή στην οποία η μέση τιμή έχει την ίδια πιθανότητα εμφάνισης με τις ακραίες τιμές, οπότε η τιμή της δίνεται ως $u(x) = a / \sqrt{3}$.

$$u_1(V) = \pm 0,05 \text{ mL} / \sqrt{3} = 0,02887 \text{ mL}$$

Η θερμοκρασία του εργαστηρίου από μετρήσεις παρακολούθησης έχει βρεθεί ότι κυμαίνεται σε εύρος $\pm 4^\circ\text{C}$, ενώ σύμφωνα με τον κατασκευαστή ο πιστοποιημένος όγκος είναι στους 20°C . Η αβεβαιότητα από την επίδραση αυτή υπολογίζεται από την εκτιμώμενη μέγιστη διακύμανση της θερμοκρασίας και από το συντελεστή διαστολής του όγκου. Ο συντελεστής διαστολής του όγκου για το νιτρικό οξύ ισούται με $0,00028/^\circ\text{C}$. Η αβεβαιότητα που οφείλεται στην επίδραση της θερμοκρασίας u_2 , θεωρείται ότι υπακούει σε τετραγωνική κατανομή, δηλαδή υπάρχει η ίδια πιθανότητα εμφάνισης της μέσης τιμής και των ακραίων τιμών, οπότε έχουμε και πάλι $u(x) = a / \sqrt{3}$.

$$\Delta V = V_{20} \times \alpha_{\text{HNO}_3} \times \Delta T$$

$$\Delta V = 10 \times 0,00028 \times 4 = 0,0112 \text{ mL}$$

Άρα η αβεβαιότητα θα είναι αυτής της πηγής θα είναι

$$u_2(V) = 0,0112 \text{ mL} / \sqrt{3} = 0,00647 \text{ mL}$$

Αβεβαιότητα από την επαναληψιμότητα του dispenser: Κατά την εκτέλεση 10 κύκλων γέμισμα – ζύγιση, η τυπική απόκλιση βρέθηκε 0,0310 mL

$$\text{Άρα } u_3(V) = 0,0310 \text{ mL}$$

Άρα η συνολική τυπική αβεβαιότητα είναι:

$$u_{\text{disp1}}(V) = \sqrt{(u_1(V))^2 + u_2(V)^2 + u_3(V)^2} = \sqrt{(0,02887^2 + 0,00647^2 + 0,0310^2)}$$

$$u_{\text{disp1}}(V) = 0,042852 \text{ mL}$$

Η αδιάστατη σχετική αβεβαιότητα θα είναι:

$$\alpha. \alpha._{\text{disp1}} = 0,042852 / 10 = 0,0042852$$

2) Αραίωση 1-10 με υπερκάθαρο νερό, πιπέτα 1 mL

Ακόμη μετά το κάψιμο πραγματοποιείται αραίωση 1-10 με υπερκάθαρο νερό

Οπότε παίρνουμε 1 mL από το χωνευμένο δείγμα με πιπέτα του 1 mL. Από το πιστοποιητικό η ακρίβεια της πιπέτας είναι 0,05%, οπότε η απόκλιση είναι $\pm (0,05 \times 1) / 100 = \pm 0,0005$ mL. Όπως και προηγουμένως η αβεβαιότητα υπολογίζεται θεωρώντας ότι υπακούει σε τετραγωνική κατανομή, οπότε $u_1(V) = \pm 0,0005 \text{ mL} / \sqrt{3} = 0,000289 \text{ mL}$

Ομοίως με προηγουμένως $\Delta V = V_{20} \times \alpha_{\text{HNO}_3} \times \Delta T$

$$\Delta V = 1 \times 0,00028 \times 4 = 0,00112 \text{ mL}$$

Άρα η αβεβαιότητα θα είναι αυτής της πηγής θα είναι

$$u_2(V) = 0,00112 \text{ mL} / \sqrt{3} = 0,000647 \text{ mL}$$

Αβεβαιότητα από την επαναληψιμότητα της πιπέτας: Κατά την εκτέλεση 10 κύκλων γέμισμα – ζύγιση, η τυπική απόκλιση βρέθηκε 0,0101 mL

Άρα $u_3(V) = 0,0101 \text{ mL}$

Άρα η συνολική τυπική αβεβαιότητα είναι:

$$u_{\text{ππ}}(V) = \sqrt{(u_1(V))^2 + u_2(V)^2 + u_3(V)^2} = \sqrt{(0,000289)^2 + 0,000647^2 + 0,0101^2}$$

$$u_{\text{ππ}}(V) = 0,010125 \text{ mL}$$

Η αδιάστατη σχετική αβεβαιότητα θα είναι:

$$\text{α.α.}_{\text{ππ}} = 0,010125 / 1 = 0,010125$$

3) Αραίωση 1-10 με υπερκάθαρο νερό, dispenser 9 mL

Για τα 9 mL υπερκάθαρο νερό με το dispenser έχουμε $\pm (0,5 \times 9) / 100 = \pm 0,045$ mL

Οπότε $u_1(V) = \pm 0,045 \text{ mL} / \sqrt{3} = 0,02598 \text{ mL}$

Ομοίως με παραπάνω για το υπερκάθαρο νερό. Η αβεβαιότητα από την επίδραση αυτή υπολογίζεται από την εκτιμώμενη μέγιστη διακύμανση της θερμοκρασίας και από το συντελεστή διαστολής του όγκου. Ο συντελεστής διαστολής του όγκου για το νερό ισούται με $0,000214/^\circ\text{C}$. Η αβεβαιότητα που οφείλεται στην επίδραση της θερμοκρασίας u_2 , θεωρείται ότι υπακούει σε τετραγωνική κατανομή, δηλαδή υπάρχει η ίδια πιθανότητα εμφάνισης της μέσης τιμής και των ακραίων τιμών, οπότε έχουμε και πάλι $u(x) = \alpha / \sqrt{3}$.

$$\Delta V = V_{20} \times \alpha_{\text{H}_2\text{O}} \times \Delta T$$

$$\Delta V = 9 \times 0,000214 \times 4 = 0,007704 \text{ mL}$$

Άρα η αβεβαιότητα θα είναι αυτής της πηγής θα είναι

$$U_2(V) = 0,007704 \text{ mL} / \sqrt{3} = 0,00445 \text{ mL}$$

Αβεβαιότητα από την επαναληψιμότητα του dispenser: Κατά την εκτέλεση 10 κύκλων γέμισμα – ζύγιση, η τυπική απόκλιση βρέθηκε 0,0301 mL

$$\text{Άρα } u_2(V) = 0,0301 \text{ mL}$$

Άρα η συνολική τυπική αβεβαιότητα στον όγκο είναι:

$$u_{\text{disp2}}(V) = \sqrt{(u_1(V))^2 + u_2(V)^2 + u_3(V)^2} = \sqrt{(0,02598^2 + 0,00445^2 + 0,0301^2)}$$

$$u_{\text{disp2}}(V) = 0,040010 \text{ mL}$$

Η αδιάστατη σχετική αβεβαιότητα θα είναι:

$$\alpha.\alpha._{\text{disp2}} = 0,040010 / 9 = 0,004446$$

Αβεβαιότητα στη μάζα:

Η αβεβαιότητα στον προσδιορισμό της μάζας υπολογίζεται από τα δεδομένα της διακρίβωσης του ζυγού και υπάρχουν στο πιστοποιητικό διακρίβωσης. Επίσης εξαρτάται από τη μάζα που ζυγίζουμε.

Από το πιστοποιητικό λοιπόν έχουμε:

$$u_1(m) = 0,02 + (3,719 \times 10^{-5} \times m) = 0,02 + (3,719 \times 10^{-5} \times 1)$$

$$u_1(m) = 0,020037 \text{ g}$$

$$\text{Άρα } u(m) = \sqrt{u_1(m)^2} = 0,020037 \text{ g}$$

Η αδιάστατη σχετική αβεβαιότητα θα είναι:

$$\alpha.\alpha._{\text{μαζ}} = 0,020037 / 1 = 0,0200372$$

Αβεβαιότητα προτύπου υλικού αναφοράς:

Έχουμε την αβεβαιότητα από το πιστοποιητικό $\pm 0,5\%$ και ακόμη πάλι έχουμε τετραγωνική κατανομή οπότε:

$$u_{\text{std}} = 0,5 / (100 \times \sqrt{3}) = 0,002887$$

Η αδιάστατη σχετική αβεβαιότητα θα είναι:

$$\alpha.\alpha._{\text{std}} = 0,002887$$

Ολική αδιάστατη αβεβαιότητα τύπου B της μεθόδου

$$u_B = \sqrt{(0,0042852^2 + 0,010125^2 + 0,006289^2 + 0,0200372^2 + 0,002887^2)} = 0,023462 \text{ ή αλλιώς } 2,34\%$$

Αφού $u_A = u_{\text{RSDr}}$, η συνδυασμένη τυπική αβεβαιότητα δίνεται από τη σχέση

$$u_C = \sqrt{u_A^2 + u_B^2}$$

Από τις τιμές τις u_A και της u_B , συμπεραίνεται ότι η αβεβαιότητα τύπου B, η οποία σχετίζεται με τις μετρήσεις του όγκου, τις ζυγίσεις και τα πρότυπα, είναι σχεδόν αμελητέα σε σχέση με την αβεβαιότητα τύπου A. Ακόμη από τα παραπάνω αποτελέσματα παρατηρούμε ότι στη αβεβαιότητα τύπου B στην περίπτωση μας συνεισφέρουν περισσότερο η αβεβαιότητα από τη μάζα και από το πρότυπο υλικό αναφοράς.

Για ένα συντελεστή κάλυψης $k=2$ (95%), η διευρυμένη αβεβαιότητα U είναι:

$$U = 2 \times u_C$$

Με βάση τα πειραματικά δεδομένα έγινε υπολογισμός της συνδυασμένης τυπικής αβεβαιότητας και της διευρυμένης αβεβαιότητας (Πίνακες 5.23 – 5.28).

Πίνακας 5.23: Συνδυασμένη τυπική αβεβαιότητα (%) και διευρυμένη τυπική αβεβαιότητα (%) της μεθόδου σε εμβολιασμένα δείγματα μιών αγριοκούνελων, στα δύο επίπεδα συγκεντρώσεων για τις σπάνιες γαίες, τις ακτινίδες, τα πολύτιμα μέταλλα και ιχνοστοιχεία με πολύ μικρή φυσική αφθονία.

Κατηγορία στοιχείων	Αναλύτης	1 ^ο Επίπεδο 0,1 ppb		2 ^ο Επίπεδο 1 ppb	
		Συνδυασμένη Αβεβαιότητα %	Διευρυμένη Αβεβαιότητα %	Συνδυασμένη Αβεβαιότητα %	Διευρυμένη Αβεβαιότητα %
Σπάνιες Γαίες	Ce	2,7	5,5	17,8	35,5
	Dy	3,9	7,8	10,9	21,7
	Er	8,0	15,9	4,4	8,8
	Eu	15,5	31,0	6,3	12,7
	Gd	11,0	21,9	4,0	8,1
	Ho	3,9	7,8	2,7	5,4
	La	13,7	27,4	5,9	11,8
	Lu	2,4	4,8	2,5	5,0
	Nd	3,4	6,7	19,8	39,7
	Pr	2,7	5,5	4,8	9,6
	Sc	22,0	44,1	2,7	5,5
	Sm	17,4	34,7	6,9	13,8

	Tb	8,1	16,3	4,0	8,1
	Tm	6,5	13,1	2,6	5,2
	Y	20,2	40,5	5,3	10,5
	Yb	4,8	9,6	3,2	6,4
Ακτινίδες	Th	27,6	55,2	25,1	50,2
	U	8,0	15,9	2,9	5,8
Πολύτιμα μέταλλα	Au	15,9	31,7	5,6	11,2
	Ir	2,7	5,4	16,8	33,5
	Pd	6,4	12,9	4,9	9,8
	Pt	2,6	5,2	2,7	5,5
	Re	26,3	52,6	4,4	8,8
	Rh	15,5	31,0	3,1	6,2
	Ru	21,5	43,1	4,8	9,6
Ιχνοστοιχεία	Hf	15,9	31,7	2,4	4,8
	Nb	26,6	53,2	10,4	20,7
	Sb	7,1	14,2	7,3	14,6
	Sn	19,6	39,3	26,3	52,6
	Ta	11,7	23,5	13,8	27,6
	W	18,7	37,5	5,4	10,9
	Zr	37,1	74,1	18,3	36,5

Πίνακας 5.24. Συνδυασμένη τυπική αβεβαιότητα (%) και διευρυμένη τυπική αβεβαιότητα (%) της μεθόδου σε εμβολιασμένα δείγματα μών αγριοκούνελων, στα τρία επίπεδα συγκεντρώσεων για τα ιχνοστοιχεία.

Κατηγορία στοιχείων	Αναλύτης	1 ^ο Επίπεδο 10 ppb		2 ^ο Επίπεδο 100 ppb		3 ^ο Επίπεδο 1000 ppb	
		Συνδυασμένη Αβεβαιότητα %	Διευρυμένη Αβεβαιότητα %	Συνδυασμένη Αβεβαιότητα %	Διευρυμένη Αβεβαιότητα %	Συνδυασμένη Αβεβαιότητα %	Διευρυμένη Αβεβαιότητα %
Ιχνοστοιχεία	Ag	7,9	15,7	7,4	14,8	6,7	13,4

	Al	25,7	51,4	30,7	61,4	30,4	60,8
	As	27,2	54,4	35,2	70,4	12,6	25,2
	B	41,3	82,5	21,3	42,7	26,5	53,0
	Ba	5,3	10,5	25,7	51,4	18,4	36,9
	Be	10,3	20,5	5,3	10,5	27,3	54,6
	Bi	4,5	8,9	2,7	5,5	3,5	7,0
	Cd	4,1	8,3	2,4	4,9	5,8	11,6
	Cr	14,7	29,4	22,8	45,6	19,1	38,3
	Cs	4,0	7,9	4,7	9,4	4,6	9,3
	Co	10,6	21,1	13,0	26,0	11,5	23,1
	Cu	46,3	92,5	37,8	75,5	13,2	26,4
	Fe	16,1	32,1	16,8	33,5	29,1	58,2
	Ga	7,4	14,8	19,3	38,7	9,5	19,0
	In	8,4	16,9	4,2	8,4	6,2	12,3
	Li	3,7	7,5	9,2	18,4	10,3	20,5
	Mn	24,6	49,2	38,2	76,3	20,6	41,3
	Mo	33,8	67,6	35,6	71,2	14,9	29,8
	Ni	8,2	16,5	8,0	15,9	5,6	11,2
	Pb	2,5	5,0	2,4	4,7	3,3	6,6
	Rb	40,3	80,5	32,9	65,8	9,5	19,0
	Se	36,8	73,5	28,9	57,8	13,6	27,2
	Si	40,1	80,1	22,3	44,6	18,5	37,1
	Sr	50,5	100,9	35,1	70,2	24,3	48,6
	Tl	6,3	12,7	4,0	7,9	5,3	10,5
	Ti	29,8	59,6	47,1	94,1	27,2	54,4
	V	53,7	107,3	33,5	67,0	27,8	55,6
	Zn	41,8	83,5	36,7	73,4	26,7	53,4

Πίνακας 5.25: Συνδυασμένη τυπική αβεβαιότητα (%) και διευρυμένη τυπική αβεβαιότητα (%) της μεθόδου σε εμβολιασμένα δείγματα μών αγριοκούνελων, στα τρία επίπεδα συγκεντρώσεων για τα μακροστοιχεία.

Κατηγορία στοιχείων	Αναλύτης	1 ^ο Επίπεδο 1 ppm		2 ^ο Επίπεδο 10 ppm	
		Συνδυασμένη Αβεβαιότητα %	Διευρυμένη Αβεβαιότητα %	Συνδυασμένη Αβεβαιότητα %	Διευρυμένη Αβεβαιότητα %
Μάκρο-στοιχεία	Ca	29,2	58,4	20,4	40,9
	K	17,9	35,7	16,2	32,3
	Mg	5,9	11,8	11,9	23,9
	Na	9,1	18,2	7,5	15,0
	P	24,1	48,2	9,2	18,4

Πίνακας 5.26: Συνδυασμένη τυπική αβεβαιότητα (%) και διευρυμένη τυπική αβεβαιότητα (%) της μεθόδου σε εμβολιασμένα δείγματα ηπάτων αγριοκούνελων, στα δύο επίπεδα συγκεντρώσεων για τις σπάνιες γαίες, τις ακτινίδες, τα πολύτιμα μέταλλα και ιχνοστοιχεία με πολύ μικρή φυσική αφθονία.

Κατηγορία στοιχείων	Αναλύτης	1 ^ο Επίπεδο 0,1 ppb		2 ^ο Επίπεδο 1 ppb	
		Συνδυασμένη Αβεβαιότητα %	Διευρυμένη Αβεβαιότητα %	Συνδυασμένη Αβεβαιότητα %	Διευρυμένη Αβεβαιότητα %
Σπάνιες Γαίες	Ce	19,5	39,1	17,6	35,1
	Dy	4,4	8,8	14,3	28,6
	Er	9,4	18,8	4,6	9,3
	Eu	22,2	44,4	7,6	15,1
	Gd	10,9	21,7	4,9	9,8
	Ho	4,8	9,6	2,7	5,5
	La	15,0	30,0	6,3	12,7
	Lu	2,4	4,8	2,5	5,0
	Nd	4,0	8,1	20,5	41,1
	Pr	2,8	5,6	5,3	10,7
	Sc	23,1	46,2	2,8	5,7

	Sm	21,9	43,9	6,9	13,8
	Tb	10,7	21,3	5,1	10,1
	Tm	7,4	14,8	2,7	5,4
	Y	28,8	57,6	6,8	13,6
	Yb	5,2	10,3	3,4	6,9
Ακτινίδες	Th	33,6	67,2	36,2	72,4
	U	8,9	17,8	3,0	5,9
Πολύτιμα μέταλλα	Au	25,4	50,8	5,6	11,2
	Ir	2,7	5,5	18,0	35,9
	Pd	8,5	17,1	6,6	13,3
	Pt	2,8	5,6	2,8	5,6
	Re	27,1	54,2	6,3	12,5
	Rh	19,2	38,5	3,7	7,3
	Ru	23,0	46,0	5,3	10,7
Ιχνοστοιχεία	Hf	21,1	42,3	2,4	4,8
	Nb	28,2	56,4	11,7	23,5
	Sb	10,0	20,0	9,7	19,4
	Sn	24,7	49,4	26,4	52,8
	Ta	12,1	24,3	20,2	40,5
	W	28,0	56,0	5,4	10,9
	Zr	39,3	78,5	20,8	41,7

Πίνακας 5.27: Συνδυασμένη τυπική αβεβαιότητα (%) και διευρυμένη τυπική αβεβαιότητα (%) της μεθόδου σε εμβολιασμένα δείγματα ηπάτων αγριοκούνελων, στα τρία επίπεδα συγκεντρώσεων για τα ιχνοστοιχεία.

Κατηγορία στοιχείων	Αναλύτης	1 ^ο Επίπεδο 10 ppb		2 ^ο Επίπεδο 100 ppb		3 ^ο Επίπεδο 1000 ppb	
		Συνδυασμένη Αβεβαιότητα %	Διευρυμένη Αβεβαιότητα %	Συνδυασμένη Αβεβαιότητα %	Διευρυμένη Αβεβαιότητα %	Συνδυασμένη Αβεβαιότητα %	Διευρυμένη Αβεβαιότητα %
Ιχνοστοιχεία	Ag	8,9	17,8	7,1	14,2	6,3	12,7
	Al	20,9	41,9	34,1	68,2	29,9	59,8
	As	28,6	57,2	35,0	70,0	12,0	24,1
	B	45,5	90,9	17,0	33,9	22,5	45,0
	Ba	4,7	9,4	26,7	53,4	16,7	33,3
	Be	9,7	19,4	4,7	9,4	27,7	55,4
	Bi	4,5	8,9	3,1	6,2	3,5	7,0
	Cd	3,5	7,0	2,5	5,0	7,2	14,4
	Cr	14,7	29,4	22,3	44,6	16,3	32,5
	Cs	4,7	9,4	5,5	11,0	5,2	10,3
	Co	10,0	20,0	14,9	29,8	11,4	22,9
	Cu	50,6	101,1	29,2	58,4	12,4	24,8
	Fe	15,9	31,7	19,1	38,3	25,3	50,6
	Ga	7,3	14,6	15,0	30,0	11,5	23,1
	In	9,7	19,4	4,2	8,4	6,4	12,9
	Li	3,5	7,0	8,4	16,9	10,5	20,9
	Mn	25,6	51,2	41,4	82,7	22,4	44,8
	Mo	27,8	55,6	33,6	67,2	17,9	35,7
	Ni	6,9	13,8	6,3	12,5	5,8	11,6
	Pb	2,5	5,0	2,4	4,7	3,0	5,9
	Rb	44,5	88,9	26,0	52,0	13,6	27,2
	Se	42,5	84,9	28,3	56,6	14,1	28,2

	Si	33,9	67,8	19,1	38,3	17,5	34,9
	Sr	47,7	95,3	44,9	89,7	25,6	51,2
	Tl	6,7	13,4	3,7	7,5	4,4	8,8
	Ti	30,3	60,6	36,6	73,2	25,5	51,0
	V	42,5	84,9	29,4	58,8	22,0	44,1
	Zn	47,4	94,7	31,6	63,2	22,0	44,1

Πίνακας 5.28: Συνδυασμένη τυπική αβεβαιότητα (%) και διευρυμένη τυπική αβεβαιότητα (%) της μεθόδου σε εμβολιασμένα δείγματα ηπάτων αγριοκούνελων, στα τρία επίπεδα συγκεντρώσεων για τα μακροστοιχεία.

Κατηγορία στοιχείων	Αναλύτης	1 ^ο Επίπεδο 1 ppm		2 ^ο Επίπεδο 10 ppm	
		Συνδυασμένη Αβεβαιότητα %	Διευρυμένη Αβεβαιότητα %	Συνδυασμένη Αβεβαιότητα %	Διευρυμένη Αβεβαιότητα %
Μάκρο-στοιχεία	Ca	22,1	44,2	21,6	43,3
	K	21,4	42,9	19,9	39,9
	Mg	5,3	10,5	12,8	25,6
	Na	9,5	19,0	6,1	12,1
	P	21,7	43,5	11,1	22,3

Στους πίνακες 5.23-5.28 παρατηρούμε υψηλότερες τιμές διευρυμένης αβεβαιότητας στα χαμηλά επίπεδα εμβολιασμού. Αυτό οφείλεται στις υψηλότερες τιμές % RSD_f που εμφάνισαν τα χαμηλά επίπεδα. Επίσης το ήπαρ εμφάνισε υψηλότερες τιμές % U από ότι οι μύες, και πάλι αυτό οφείλεται στις υψηλότερες τιμές % RSD_f που εμφάνισε το ήπαρ. Οι περισσότεροι αναλύτες τόσο στο μυ όσο και στο ήπαρ έδωσαν % διευρυμένη αβεβαιότητα χαμηλότερη από 50%.

6. Μέθοδος εκτίμησης αυθεντικότητας κρέατος κυνήγιού

6.1. Εισαγωγή

Η επισήμανση των τροφίμων είναι μια σημαντική διαδικασία που αποσκοπεί να εξασφαλίσει ότι τα τρόφιμα παράγονται και παραδίδονται στους καταναλωτές, σύμφωνα με τους κανονισμούς που καθορίζουν τα πρότυπα ποιότητας και οι απαιτήσεις υγείας. Οι περισσότερες χώρες έχουν αυστηρούς κανονισμούς επισήμανσης που περιγράφουν ειδικές διατάξεις για συγκεκριμένα τρόφιμα - οι εν λόγω κανόνες περιλαμβάνουν υποχρεωτικά και προαιρετικά στοιχεία επισήμανσης [205]. Οι πληροφορίες σχετικά με τη σύνθεση, την ποιότητα, τη μέθοδο παραγωγής, και την προέλευση των τροφίμων αποκτούν όλο και μεγαλύτερη σημασία για την απόφαση των καταναλωτών για αγορά και την προθυμία τους να πληρώσουν παραπάνω για συγκεκριμένα προϊόντα [206]. Η αυθεντικότητα των τροφίμων είναι η διαδικασία με την οποία ένα τρόφιμο είναι ελεγμένο για τη συμμόρφωση με την περιγραφή της ετικέτας του. Παραδείγματα περιλαμβάνουν το περιεχόμενο (π.χ. πηγή οργανισμών, τα μέρη τους, τη φυλή, οι θρεπτικές ουσίες, τα πρόσθετα), τη γεωγραφική προέλευση (π.χ. χώρα προέλευσης, την επεξεργασία, την προστατευόμενη γεωγραφική ένδειξη), τη γενετική προέλευση (π.χ. γενετικά τροποποιημένοι οργανισμοί), τη μέθοδο παραγωγής (π.χ. βιολογική, ελευθέρως βοσκής, κνήγι), τις τεχνολογίες επεξεργασίας (π.χ. ακτινοβολία, κατάψυξη, θέρμανση με μικροκύματα). Η ειλικρινής και ακριβής επισήμανση των τροφίμων είναι αναγκαία για να εξασφαλιστεί ότι οι καταναλωτές μπορούν να κάνουν συνειδητές επιλογές. Τα χαρακτηριστικά ποιότητας των τροφίμων και οι μέθοδοι που χρησιμοποιούνται για την επαλήθευση και τη διασφάλιση της ποιότητας και της προέλευσης των τροφίμων έχει όλο και μεγαλύτερη σημασία για τους παραγωγούς τροφίμων, τους διανομείς, τους καταναλωτές και τις ρυθμιστικές αρχές [1]. Ο χαρακτηρισμός των κρεάτων και των προϊόντων τους έχει μεγάλη σημασία, δεδομένου ότι πολλοί καταναλωτές επιλέγουν να αγοράσουν τα προϊόντα αυτά σύμφωνα με τη γεωγραφική τους προέλευση, την καλή διαβίωση των ζώων και με βάση άλλα ειδικά χαρακτηριστικά, όπως άγρια ή ελευθέρως βοσκής ζώα. Οι καταναλωτές σε όλο τον κόσμο είναι πρόθυμοι να πληρώσουν ακριβότερα για κρέας γνωστής προέλευσης, για βιολογικά κρέατα [207, 208], και ακόμη περισσότερο για κρέας από κνήγι.

Η κατανάλωση του κρέατος από κνήγι αυξάνεται. Η ετήσια αξία των θηραμάτων που συγκομίζονται στην Ευρωπαϊκή Ένωση μόνον εκτιμάται ότι θα είναι περίπου 450 εκατομμύρια ευρώ [209]. Το κνήγι είναι δημοφιλές μεταξύ τμημάτων των καταναλωτών και πετυχαίνει υψηλότερες τιμές από ό, τι το κρέας εκτρεφόμενων ζώων. Τα χαρακτηριστικά που κάνουν τα θηράματα να προτιμώνται από τους καταναλωτές σε σχέση με τα

εκτρεφόμενα ζώα περιλαμβάνουν τη γεύση και την υφή αλλά και υγειονομολογικές πεποιθήσεις όπως τα ευεργετικά αποτελέσματα τη χαμηλής χοληστερόλη, του χαμηλού λίπους, την καλύτερη αναλογία των ω-6 προς ω-3 λιπαρών οξέων καθώς και την απουσία υπολειμμάτων όπως τα αντιβιοτικά και οι ορμόνες [210, 211]. Οι ανησυχίες σχετικά με το κρέας των θηραμάτων περιλαμβάνουν τη μικροβιολογική ασφάλεια και τη δυσκολία εφαρμογής διαδικασιών τυποποίησης για τα άγρια θηράματα. Πέρα από την άμεση συμβολή του στην ανθρώπινη κατανάλωση τροφίμων, η διαχείριση της παραγωγής και της διανομής του κρέατος θηραμάτων είναι ένα σημαντικό μέρος της παραδοσιακής χρήσης των φυσικών πόρων, της προστασίας των πολιτιστικών αξιών όπως τα παραδοσιακά φαγητά και οι συνταγές καθώς και της προστασίας των απειλούμενων ειδών [212-215].

Η αυθεντικότητα των τροφίμων χρησιμοποιεί αναλυτικές τεχνικές που ελέγχουν κατά πόσον οι πληροφορίες που παρέχονται στις ετικέτες των τροφίμων είναι σωστές και ακριβείς. Πολυάριθμες μέθοδοι είναι διαθέσιμες για την ταυτοποίηση των τροφίμων, αλλά οι περισσότερες απαιτούν συνδυασμό πολλών τεχνικών και πολύπλοκες αναλύσεις δεδομένων [216, 217]. Οι στόχοι της ταυτοποίησης του κρέατος και των προϊόντων κρέατος εμπίπτουν σε τέσσερις κύριες ομάδες (προέλευση, υποκατάσταση, μεταποίηση/επεξεργασία και πρόσθετες ύλες).

Με την ταχεία ανάπτυξη της βιομηχανίας τροφίμων και την αύξηση του ποσοστού των υψηλής προστιθέμενης αξίας προϊόντων οι δόλιες πρακτικές αυξάνονται. Οι πρακτικές αυτές περιλαμβάνουν τη νοθεία τροφίμων ή υποκατάσταση του προϊόντος που δηλώνεται καθώς και τη χρήση παράνομων πρόσθετων. Πρόσφατα χαρακτηριστικά παραδείγματα περιλαμβάνουν τη νόθευση του γάλακτος για βρέφη με μελαμίνη [218] και την υποκατάσταση του βοείου κρέατος με κρέας αλόγου στην Ευρώπη [219]. Σε έρευνες της αγοράς σχετικά με την συμμόρφωση προϊόντων με την επισήμανσή τους εντοπίστηκαν ζητήματα αυθεντικότητας στα οποία περιλαμβάνονται: αδήλωτη φυτική πρωτεΐνη, αδήλωτο είδος ζώων, η απουσία ή η υποκατάσταση των δηλωθέντων θηραμάτων [213, 217, 220] κ.α.

Προς το παρόν, οι σπάνιες γαίες έχουν προταθεί ως δείκτες αυθεντικότητας για τις διακρίσεις ψαριών αλμυρού νερού από αυτά του γλυκού νερού [221]. Ευρύ φάσμα στατιστικών μεθόδων και προτύπων έχουν χρησιμοποιηθεί για την ανάλυση των τροφίμων [222]. Η πιστοποίηση της γεωγραφικής προέλευσης του κρέατος πραγματοποιείται μεταξύ άλλων με βάση τις ισοτοπικές αναλογίες [223, 224] ή τα ιχνοστοιχεία [190, 225]. Η πιστοποίηση των ειδών προέλευσης γίνεται συνήθως μέσω ανάλυσης DNA και πρωτεϊνών ή με ανάλυση των τριγλυκεριδίων με NMR [214, 226, 227]. Η πιστοποίηση του κρέατος των θηραμάτων έχει δύο βασικά ζητήματα α) τον προσδιορισμό του είδους του ζώου καθώς και β) την διάκριση των εκτρεφόμενων έναντι των άγριων ζώων. Η ταυτοποίηση των ειδών στα

θηράματα γίνεται επίσης μέσω ανάλυσης DNA και πρωτεϊνών [214, 228], ενώ η διάκριση εκτρεφόμενων θηραμάτων (συμπεριλαμβανομένων των κουνελιών, φασιανών, στρουθοκαμήλων, ελαφιών και αγριογούρουνων) από άγρια θηράματα μπορεί να γίνει χρησιμοποιώντας το προφίλ των λιπαρών οξέων [229].

Κάθε μία από αυτές τις μεθόδους έχει τα πλεονεκτήματα και τις αδυναμίες της. Για παράδειγμα η μελέτη των λιπαρών οξέων είναι χρήσιμη όχι μόνο για έλεγχο της αυθεντικότητας, αλλά επίσης και για την αξιολόγηση των ωφελειών για την υγεία [230]. Οι μέθοδοι που βασίζονται στην ανάλυση DNA ενώ είναι χρήσιμες για την ταυτοποίηση των ειδών και υποειδών των ζωικών προϊόντων, περιλαμβάνουν την ενίσχυση/πολλαπλασιασμό του DNA και δεν είναι ποσοτικές μέθοδοι. Ωστόσο, οι μέθοδοι που βασίζονται στο DNA είναι τόσο ευαίσθητες που μπορεί να ανιχνεύσουν ίχνη άλλων κρεάτων που μπορεί να προκύψουν ακόμη και σε μικρές ποσότητες διασταυρούμενης μόλυνσης από ανεπαρκώς καθαρισμένο εξοπλισμό επεξεργασίας τροφίμων [220]. Η ανάλυση των ισοτόπων παρουσιάζει υψηλή ακρίβεια και είναι χρήσιμη, βεβαίως τα ισοτοπικά αποτυπώματα μπορεί να χρησιμοποιηθούν για τον προσδιορισμό της ευρείας γεωγραφικής προέλευσης (ήπειρος) αλλά ο ακριβέστερος προσδιορισμός της προέλευσης με τη χρήση σταθερών ισοτόπων είναι εξαιρετικά προκλητική διαδικασία. Τα ιχνοστοιχεία είναι συνήθως εύκολα προσδιορίσιμοι αναλύτες όπου μικρές στοιχειακές διαφορές μεταξύ των δειγμάτων μπορούν να ανιχνευθούν με ακρίβεια. Τα στοιχειακά αποτυπώματα είναι δυνατόν να περιλαμβάνουν μεγάλο αριθμό στοιχείων, έως ακόμη και 65 ή περισσότερα [225, 231].

Οι τρέχουσες στατιστικές μέθοδοι [154] επικεντρώνονται στην στοιχειώδη ομαδοποίηση και ταξινόμηση και μέχρι στιγμής δεν έχουν συμπεριλάβει τις συγκρίσεις με πρότυπα υλικά αναφοράς ή βάσεις δεδομένων των στοιχειακών αποτυπωμάτων. Οι σπάνιες γαίες έχουν αναφερθεί σε έρευνες αυθεντικότητας φυτικών προϊόντων [146, 148, 149, 181]. Το στοιχειακό αποτύπωμα των σπάνιων γαιών εμφανίζεται ως εργαλείο ελέγχου ταυτότητας του κρέατος λόγω της τεχνικής ICP-MS που είναι εξαιρετικά ευαίσθητη - μπορούν να μετρηθούν μέρη στο δισεκατομμύριο ή στο τρισεκατομμύριο. Οι αναλυτικές τεχνολογίες υψηλής απόδοσης που χρησιμοποιούνται επιτρέπουν την ανάλυση μεγάλου αριθμού δειγμάτων ανά ημέρα. Επιπλέον, οι λανθανίδες και οι ακτινίδες απορροφούνται ελάχιστα μέσω της γαστρεντερικής οδού (λιγότερο από 1%) [232], οπότε η παραλλακτικότητα τους αναμένεται να είναι χαμηλότερη από ό,τι των ιχνοστοιχείων καθιστώντας τους πιο αξιόπιστους δείκτες αυθεντικότητας του κρέατος.

Αυτές οι αναλυτικές μέθοδοι εξαρτώνται από τη χρήση των υλικών αναφοράς για τον έλεγχο της ακρίβειας. Η πλειοψηφία αν όχι το σύνολο, των δημοσιεύσεων που εστιάζουν στην πιστοποίηση της γεωγραφικής προέλευσης συγκρίνουν τα δείγματα ώστε να αποδείξουν ότι μπορούν να διακριθούν από την ομαδοποίηση, την ανάλυση κύριων συνιστωσών, τη

γραμμική διακριτική ανάλυση, ή χρησιμοποιώντας μοντέλα δικτύου, όπως τα τεχνητά νευρωνικά δίκτυα. Από όσα γνωρίζουμε, καμία από τις μελέτες δε συνέκρινε τα αποτελέσματα με υλικά αναφοράς. Με τον τρόπο αυτό τα αποτελέσματα των διαφόρων μελετών δεν είναι συγκρίσιμα. Ως εκ τούτου, τα αποτελέσματα αυτών των μελετών δείχνουν ότι τα δείγματα κρέατος μπορεί να διακριθούν ως προς την προέλευσή τους σε κάθε μελέτη, αλλά δεν είναι σαφές κατά πόσον αυτά τα επιμέρους αποτελέσματα είναι δυνατόν να γενικευθούν και πώς μπορούν να επαναχρησιμοποιηθούν για μελλοντικές εφαρμογές.

Παρά τα ισχυρά αναλυτικά εργαλεία που διατίθενται για τον έλεγχο της αυθεντικότητας στο κρέας, σοβαρά ζητήματα παραμένουν για την εφαρμογή του στοιχειακού αποτυπώματος για την ακριβή πιστοποίηση της προέλευσης των κρεάτων. Τα θέματα αυτά περιλαμβάνουν τη φυσική διακύμανση των ιχνοστοιχείων, τις εισαγόμενες προσμείξεις, την έλλειψη ολοκληρωμένων και τυποποιημένων υλικών αναφοράς και τον σχεδιασμό της μελέτης. Η διακύμανση των επιπέδων των ιχνοστοιχείων στο κρέας εξαρτάται από:

- βιολογικούς παράγοντες όπως τα είδη και υποείδη των ζώων, το είδος του δειγματοζόμενου ιστού, την ηλικία του απογαλακτισμού, και την ηλικία των ζώων κατά τη σφαγή
- συντελεστές παραγωγής, συμπεριλαμβανομένων των ζωοτροφών, του διαθέσιμου νερού, της δυνατότητας των ζώων να κινούνται, τα πρόσθετα και τα φάρμακα
- περιβαλλοντικούς παράγοντες, συμπεριλαμβανομένων της σύνθεσης του εδάφους, των καιρικών συνθηκών, της εποχής και των περιβαλλοντικών ρύπων.

Στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιήσαμε τα στοιχειακά προφίλ από 39 στοιχεία ώστε να γίνει διάκριση μεταξύ του κρέατος από άγρια, οικόσιτα και εκτρεφόμενα (εμπορικά) κουνέλια, και αναπτύξαμε ένα μοντέλο που πραγματοποιεί διάκριση μεταξύ αυτών των τύπων. Η μέθοδός μας χρησιμοποιεί πιστοποιημένα υλικά αναφοράς για την ανάλυση τόσο σπάνιων γαιών όσο και άλλων ιχνοστοιχείων για να εξασφαλιστεί ότι οι μελλοντικές μελέτες μπορούν να συγκριθούν με τα αποτελέσματά μας.

6.2. Υλικά & Μέθοδοι

6.2.1 Στοιχειακή ανάλυση

Όλα τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιούνται στη μελέτη μας ήταν αναλυτικής καθαρότητας, τουλάχιστον. Οι χημικές ουσίες που χρησιμοποιούνται στην πειραματική εργασία ήταν υπερκάθαρο νιτρικό οξύ (65% w/v, Merck, Darmstadt, Γερμανία), ICP εσωτερικά πρότυπα Ge και In (Inorganic Ventures, New Jersey, USA), ICP-MS πιστοποιημένα πολύ-στοιχειακά πρότυπα για τα ιχνοστοιχεία (Inorganic Ventures, New

Jersey, USA) και ICP-MS πολύ-στοιχειακά πρότυπα σπάνιων γαιών (Inorganic Ventures, New Jersey, USA). Ακόμη χρησιμοποιήθηκε υπέρ-καθαρό νερό αντίστροφης ώσμωσης, με αντίσταση 18,2 MΩ cm⁻¹ που λαμβάνεται από ένα MilliQ plus σύστημα (Millipore, Saint Quentin Yvelines, Γαλλία).

Το στοιχειακό περιεχόμενο προσδιορίστηκε χρησιμοποιώντας ένα φασματομέτρο μαζών - επαγωγικά συζευγμένου πλάσματος, ICP-MS της Perkin Elmer (SCIEX, Καναδάς) 9000 Series. Οι συνθήκες λειτουργίας του ICP-MS ήταν οι ακόλουθες: ροή αερίου στον εκνεφωτή 0.75 L min⁻¹, ισχύς του ICP RF 950 W, τάση των ιοντικών φακών 7 V, τάση στο παλμικό στάδιο 950 V και 26 rpm ο ρυθμός πρόσληψης δείγματος από την περισταλτική αντλία. Οι καμπύλες αναφοράς των σπάνιων γαιών ελήφθησαν από 1 ppt έως 10 ppb και των ιχνοστοιχείων από 0.1 ppb έως 1 ppm, αντίστοιχα. Τα στοιχεία In και Ge χρησιμοποιήθηκαν ως εσωτερικά πρότυπα για τις σπάνιες γαίες και τα ιχνοστοιχεία, αντίστοιχα. Όλες οι μετρήσεις των δειγμάτων συμπεριλαμβανομένων των προτύπων υλικών αναφοράς έγιναν εις τριπλούν για όλα τα στοιχεία που αναλύθηκαν.

6.2.2. Συλλογή δειγμάτων και προετοιμασία

Σε αυτή τη μελέτη χρησιμοποιήθηκαν 32 αγριοκούνελα και 5 οικόσιτα από το νησί της Λήμνου στην Ελλάδα, καθώς και 12 εμπορικά εκτρεφόμενα κουνέλια. Τα οικόσιτα και εκτρεφόμενα κουνέλια, μεγάλωσαν σε κλουβιά. Τα άγρια κουνέλια κυνηγήθηκαν με κυνηγετικό όπλο στην περιοχή διαβίωσής τους, ενώ όλα τα άλλα ζώα θανατώθηκαν με σφαγή. Τα άγρια κουνέλια συλλέχθηκαν σε δυο χρονικά σημεία, τον Σεπτέμβριο και τον Νοέμβριο. Οι ονομασίες των ομάδων / υποομάδων των κουνελιών ήταν: WR για τα αγριοκούνελα, NWR για μη αγριοκούνελα (οικόσιτα και εκτροφής), WR-Nov για τα αγριοκούνελα που μαζεύτηκαν το Νοέμβριο, WR-Sep για τα αγριοκούνελα που μαζεύτηκαν το Σεπτέμβριο, BR για τα οικόσιτα κουνέλια, και FR για τα εκτρεφόμενα κουνέλια.

Όλα τα ζώα ανήκουν στο είδος *Oryctolagus cuniculus* (Linnaeus, 1758) και κατατάσσονται στην κλάση των λαγόμορφων (*Lagomorpha*). Τα δείγματα των μυικών ιστών προήλθαν από τον επιμήκη ραχιαίο μυ των ζώων. Ο επιμήκης ραχιαίος μυς (*Longissimus lumborum*) σε κάθε σφάγιο αφαιρέθηκε και κλείστηκε σε αεροστεγή σακουλάκια. Όλα τα δείγματα διατηρήθηκαν σε καταψύκτη στους -32 °C πριν από την στοιχειακή ανάλυση.

Η χώνευση των δειγμάτων πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας υποβοηθούμενο από μικροκύματα σύστημα χώνευσης (CEM, Mars X-Press, Matthews, NC, USA). Σε κάθε δείγμα (1,00 g) προστέθηκαν 10 mL πυκνού HNO₃. Τα δείγματα στη συνέχεια θερμάνθηκαν

στο σύστημα χώνευσης με μικροκύματα, σύμφωνα με το ακόλουθο πρόγραμμα: η ισχύς αυξήθηκε κατά την διάρκεια 20 λεπτών από 100W έως 1200W και διατηρήθηκε για 15 λεπτά. Η θερμοκρασία έφθασε ένα μέγιστο 200°C, που ακολουθείται από μια διαδικασία ψύξης για 15 λεπτά. Οι σωλήνες σφραγίζονται κατά τη διάρκεια της θέρμανσης για την πρόληψη απωλειών πτητικών ενώσεων. Τα δείγματα στη συνέχεια διηθήθηκαν με φίλτρα σύριγγας μιας χρήσεως 0.20μm / 15 mm (Chromafil, Macherey-Nagel, Duren, Germany) και αραιώνονται 5 φορές με νερό αντίστροφης ώσμωσης πριν περάσουν από το όργανο ICP-MS.

Για τον έλεγχο της μεθόδου χρησιμοποιήθηκαν πρότυπα υλικά αναφοράς: RM 8414 (bovine muscle powder), RM 8415 (whole egg powder), και του ERM-BB186 (pig kidney) για τα ιχνοστοιχεία, καθώς και BCR-668 (mussel tissue) για τις σπάνιες γαίες. Τα RM 8414 και RM 8415 ελήφθησαν από το Εθνικό Ινστιτούτο Προτύπων και Τεχνολογίας (NIST), ΗΠΑ, ενώ τα ERM-BB186 και BCR-668 ελήφθησαν από το Ινστιτούτο Υλικών Αναφοράς και Μετρήσεων (IRMM), Βέλγιο. Επιπλέον, μετρήσαμε και στοιχεία εκτός του πάνελ των REEs στο RM 8414 και των TREs στο BCR-668 για τις ανάγκες της ανάλυσης δεδομένων (Πίνακες 6.1, 6.2 και 6.3).

Πίνακας 6.1. Απόλυτες τιμές των σπανίων γαιών και των ακτινίδων στα πρότυπα υλικά αναφοράς BCR 668 και RM 8414.

	BCR 668			RM 8414		
	Πιστοποιημένες Τιμές (μg/kg)	Ευρεθείσες Τιμές (μg/kg)	Ανάκτηση (%)	Πιστοποιημένες Τιμές (μg/kg)	Ευρεθείσες τιμές (μg/kg)	Ανάκτηση (%)
Ce	89±7	83±3	93,3%	50 ^a	3,3±0,3	6,6%
Dy	8,9±0,6	8,0±0,7	89,9%	NA	0,13±0,02	NA
Er	4,5±0,5	3,9±0,4	86,7%	NA	0,14±0,02	NA
Eu	2,79±0,16	2,6±0,10	93,2%	NA	0,14±0,02	NA
Gd	13,0±0,6	12,4±0,7	95,4%	NA	0,74±0,17	NA
Ho	1,8±0,6a	1,2±0,2	66,7%	NA	0,04±0,01	NA
La	80±6	74±5	92,5%	NA	7,9±0,4	NA
Lu	0,389±0,024	0,383±0,010	98,5%	NA	0,040±0,010	NA
Nd	54±4	50±1	92,6%	NA	1,8±0,2	NA
Pr	12,3±1,1	11,2±0,2	91,1%	NA	0,34±0,04	NA
Sc	8,5±1,8a	10,3±1,5	121,2%	NA	11,7±3,7	NA
Sm	11,2±0,8	10,7±0,4	95,5%	NA	2,57±0,04	NA
Tb	1,62±0,12	1,63±0,07	100,6%	NA	0,04±0,01	NA
Tm	0,48±0,08	0,569±0,03	118,5%	NA	0,031±0,009	NA
Y	59±5	54±3	91,5%	NA	0,77±0,02	NA
Yb	2,8±0,5 ^a	2,3±0,1	82,1%	NA	0,13±0,04	NA
Th	10,7±1,2	9,5±0,4	88,8%	NA	2,5±0,7	NA
U	56±5	50,8±3	90,7%	NA	5,4±0,9	NA

^aindicative values, ενδεικτικές τιμές - NA - not available, μη διαθέσιμες

Πίνακας 6.2. Απόλυτες τιμές των ιχνοστοιχείων στα πρότυπα υλικά αναφοράς BCR 668 και RM 8414.

	BCR 668			RM 8414		
	Πιστοποιημένες Τιμές (μg/kg)	Ευρεθείσες τιμές (μg/kg)	Ανάκτηση (%)	Πιστοποιημένες Τιμές (μg/kg)	Ευρεθείσες τιμές (μg/kg)	Ανάκτηση (%)
As	7100±500 ^a	5003±453	70,5%	9±3	9,7±0,1	107,8%
Cd	275±11 ^a	409±37	148,7%	13±11	20±10	153,9%
Co	335 ^b	196±9	58,5%	7±3	9±2	128,6%
Cr	370±60 ^a	730±67	197,3%	71±38	93±5	131,0%
Cu	NA	9874±889	NA	2840±450	2670±127	94,0%
Fe	89100 ^b	36157±3257	66,7%	71200±9200	50952±5400	71,6%
Mn	NA	3670±331	NA	370±90	514±127	138,9%
Mo	1990±150 ^a	1539±139	77,3%	80±60	86±41	107,5%
Ni	NA	397±37	NA	50±40	36±20	72,0%
Pb	NA	1054±97	NA	380±240	186±14	48,9%
Se	NA	5170±469	NA	76±10	63±3	82,9%
Sr	NA	31781±2867	NA	52±15	39±20	75,0%
V	NA	2634±237	NA	5 ^a	101±27	2020,0%
Zn	70700±400 ^a	98937±8904	139,9%	142000±14000	141909±2000	99,9%
Sb	NA	9,9±1,7	NA	10 ^a	7,0±1,7	70,0%
Li	NA	864±131	NA	NA	30,7±5,3	NA
Be	NA	11172±1003	NA	NA	351±54	NA
Ti	NA	56914±5401	NA	NA	54937±5040	NA
Tl	NA	20,3±3,4	NA	NA	7,7±1,9	NA
Ca	NA	1548557±139367	NA	145000±20000	137421±13400	94,8%
Mg	NA	3833041±344974	NA	960000±95000	1026877±131000	107,0%
^a indicative values; ^b indicative values, middle of the range; NA-not available						

Πίνακας 6.3. Απόλυτες τιμές των ιχνοστοιχείων στα πρότυπα υλικά αναφοράς RM 8415 και ERM BB186.

	RM 8415			ERM BB186		
	Πιστοποιημένες Τιμές (μg/kg)	Ευρεθείσες τιμές (μg/kg)	Ανάκτηση (%)	Πιστοποιημένες Τιμές (μg/kg)	Ευρεθείσες τιμές (μg/kg)	Ανάκτηση (%)
As	10 ^a	NA	NA	8±6 ^a	13±5	162,5%
Cd	5 ^a	NA	NA	1,09±0.1	2,0±0,7	183,5%
Co	12±5	20±4	166,7%	106 ^a	NA	NA
Cr	370±180	263±43	71,1%	133 ^a	NA	NA
Cu	2700±350	3112±200	115,3%	36500±1800	35382±2400	96,9%
Fe	112000±16000	159202±4400	142,1%	255000±13000	280912±6900	110,2%
Mn	1780±380	1695±477	95,2%	7260±250	6818±944	93,9%
Mo	247±23	230±31	93,1%	NA	NA	NA
Ni	NA	NA	NA	203,5 ^a	NA	NA
Pb	61±12	53±21	86,9%	40±5	44±8	110,00%
Se	1390±170	1039±110	74,7%	10300±900	9300±90	90,3%
Sr	5630±460	5790±700	102,8%	NA	NA	NA
V	459±81	355,9±30	77,3%	NA	NA	NA
Zn	67500±7600	60889±7400	90,2%	134000±5000	129531±11000	96,7%
Sb	2 ^a	NA	NA	NA	NA	NA
Li	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Be	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Ti	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Tl	NA	NA	NA	NA	NA	NA
Ca	NA	NA	NA	288000 ^a	NA	NA
Mg	305000±27400	462032±7400	151,5%	6021000 ^a	NA	NA

^aindicative values;

6.2.3. Στατιστική ανάλυση

Όλες οι αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν είτε χρησιμοποιώντας το Microsoft Excel. Τα ακατέργαστα δεδομένα αντιπροσωπεύουν τις απόλυτες ποσότητες για κάθε στοιχείο σε κάθε δείγμα. Για τον ορισμό του στοιχειακού αποτυπώματος τα δεδομένα κανονικοποιήθηκαν ως «σχετικές ποσότητες» έναντι συγκεντρώσεων των στοιχείων στην εικονική κλιμάκωση των δειγμάτων χρησιμοποιώντας τον τύπο:

$$RQ_E = \frac{AQ_E \times 100}{AQ_E(SCALING)} \quad (1)$$

Όπου RQ_E (Relative Quantity) είναι η σχετική ποσότητα του κάθε στοιχείου σε ένα δεδομένο δείγμα, AQ_E (Absolute Quantity) είναι η απόλυτη ποσότητα του μετρούμενου

στοιχείου στο ίδιο δείγμα και $AQ_{E(SCALING)}$ είναι ένα εικονικό προφίλ που υπολογίζεται για κάθε στοιχείο ως ο μέσος όρος της μέσης τιμής της ποσότητας των μετρούμενων στοιχείων σε όλα τα δείγματα κουνελιών και στο πρότυπο υλικό αναφοράς RM 8414.

Η μήτρα συσχέτισης Pearson (Pearson correlation matrix) χρησιμοποιήθηκε για την εκτίμηση των στοιχειακών μεταβολών και την εκτίμηση των γραμμικών σχέσεων ανάμεσα στα ζεύγη των στοιχείων. Η ιεραρχική ομαδοποίηση (Hierarchical clustering) πραγματοποιήθηκε για να αναλυθεί το πώς συνδέονται τα δείγματα. Χρησιμοποιήσαμε τον αλγόριθμο K-means που επικεντρώνεται γύρω από τιμές των προτύπων υλικών αναφοράς μετά από την αναγωγή τους με τον τύπο (1). Για να κάνουμε τα δεδομένα μεταξύ των διαφόρων δειγμάτων και μετρήσεων πιο συγκρίσιμα, χρησιμοποιήθηκαν οι λογάριθμοι των μετρήσεων και υπολογίζεται το Z-score που υπολογίζεται από όλα τα δείγματα για κάθε στοιχείο. Ακόμη χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος ομαδοποίησης (clustering) [233]. Η απεικόνιση των τιμών όλων των δειγμάτων έγινε με χάρτες ομαδοποίησης (heat maps) μαζί με τα δενδρογράμματα της ομαδοποίησης.

Η ομοιότητα μεταξύ κάθε δείγματος και της ομάδας των αποτυπωμάτων μετρήθηκε χρησιμοποιώντας την γωνιακή απόσταση (Angle distance, A_d), και την Ευκλείδεια απόσταση (E_d), μέθοδοι που χρησιμοποιούνται συνήθως για πολυδιάστατη ανάλυση δεδομένων, όπως η ανάλυση της γονιδιακής έκφρασης [234]. Ας ορίσουμε ότι το σύνολο $\{X_1, \dots, X_n\}$ αντιπροσωπεύει το κάθε δείγμα και ότι το $\{Y_1, \dots, Y_n\}$ αποτελεί ένα σύνολο αποτυπωμάτων (WR, NWR, WR-Nov, WR-Sep, BR, FR), όπου n είναι ο αριθμός των μετρούμενων στοιχείων ($n = 18$ για 16 REEs+2 ακτινίδες και $n = 21$ για TREs). Το A_d μπορεί να υπολογιστεί από τον τύπο (2):

$$A_d = \arccos\left(\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sqrt{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2} \sqrt{\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2}}\right) \quad (2)$$

Το E_d είναι το μήκος της γραμμής που συνδέει το σημείο x_i , που αντιπροσωπεύει ένα δείγμα, και το σημείο y_i , που αντιπροσωπεύει μια υποομάδα αποτυπώματος, σε ένα σύστημα συντεταγμένων του N-διάστατου χώρου. Το E_d υπολογίζεται από τον τύπο (3):

$$E_d = \sqrt{\sum_{i=1}^n (x_i - y_i)^2} \quad (3)$$

Τα στοιχειακά αποτυπώματα προσδιορίστηκαν ως μια σειρά από μέσες τιμές των RQ_E για κάθε υποομάδα (WR, WR-Nov, WR-Sep, NWR, BR, και FR), από δείγματα κρέατος κουνελιού. Για τις ανάγκες της κανονικοποίησης (normalization), όλες οι τιμές του RQ_{SCALED} εικονικού αποτυπώματος αναφοράς τέθηκαν στο 100. Το κάθε δείγμα x αναλύθηκε για να εξετασθεί η ομοιότητά του με όλες τις ομάδες αποτυπωμάτων y χρησιμοποιώντας την συνδιαστική απόσταση του προϊόντος ($AE_{d(x,y)}$, Τύπος 4):

$$AE_{d(x,y)} = A_{d(x,y)} \times E_{d(x,y)} \quad (4)$$

Η ακρίβεια των μοντέλων πρόβλεψης χρησιμοποιώντας τα αποτυπώματα εκτιμήθηκε για τις μεγάλες ομάδες (WR και NWR) και τις υποομάδες (WR-Nov, WR-Sep, BR, και FR) με τη χρήση του μέτρου AE_d . Τέλος, χρησιμοποιήσαμε και ένα σύντομο αποτύπωμα που αποτελείται από μόλις έξι TREs για να αξιολογηθεί η απόσταση των αποτυπωμάτων από αυτή τη μελέτη [235].

6.3. Αποτελέσματα

Οι απόλυτες ποσότητες των στοιχείων των προτύπων υλικών αναφοράς BCR 668 και RM 8414 φαίνονται στον πίνακα 6.1 (REEs) και 6.2 (TREs). Τα αποτελέσματα των προτύπων υλικών αναφοράς RM 8415 και του ERM-BB186 παρουσιάζονται στον πίνακα 6.3. Οι ανάκτησεις των προτύπων υλικών αναφοράς κυμάνθηκαν από 66,67% έως 121,7%, με μέσο όρο 93,82% (REEs) και 48,95% έως 153,85%, με μέσο όρο 100,91% (TREs). Τα συνολικά αποτελέσματα δείχνουν υψηλή πιστότητα στις μετρήσεις των πιστοποιημένων υλικών. Τα ποσοστά ανάκτησης των στοιχείων με ενδεικτικές τιμές ήταν σε παρόμοιες περιοχές εκτός από το Ce και το V, αφού διαφέρουν κατά μία τάξη μεγέθους. Τα ποσοστά ανάκτησης για τις πιστοποιημένες τιμές για το Ce (πίνακας 6.1) και το V (πίνακας 6.3) ήταν 93,3% και 77,4%, αντίστοιχα. Ο έλεγχος της μεθόδου μας δείχνει ότι οι μετρήσεις μας συνδυάζουν την υψηλή ακρίβεια, ταχύτητα και την επαναληψιμότητα στην στοιχειακή ανάλυση. Αυτή η ακρίβεια αποτελεί το ουσιαστικό βήμα προς την κατεύθυνση της ανάπτυξης πρότυπων υλικών αναφοράς για την αυθεντικότητα των τροφίμων με βάση το κρέας που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την ακριβή μοντελοποίηση, πρόβλεψη, και τον εντοπισμό της προέλευσης του κρέατος.

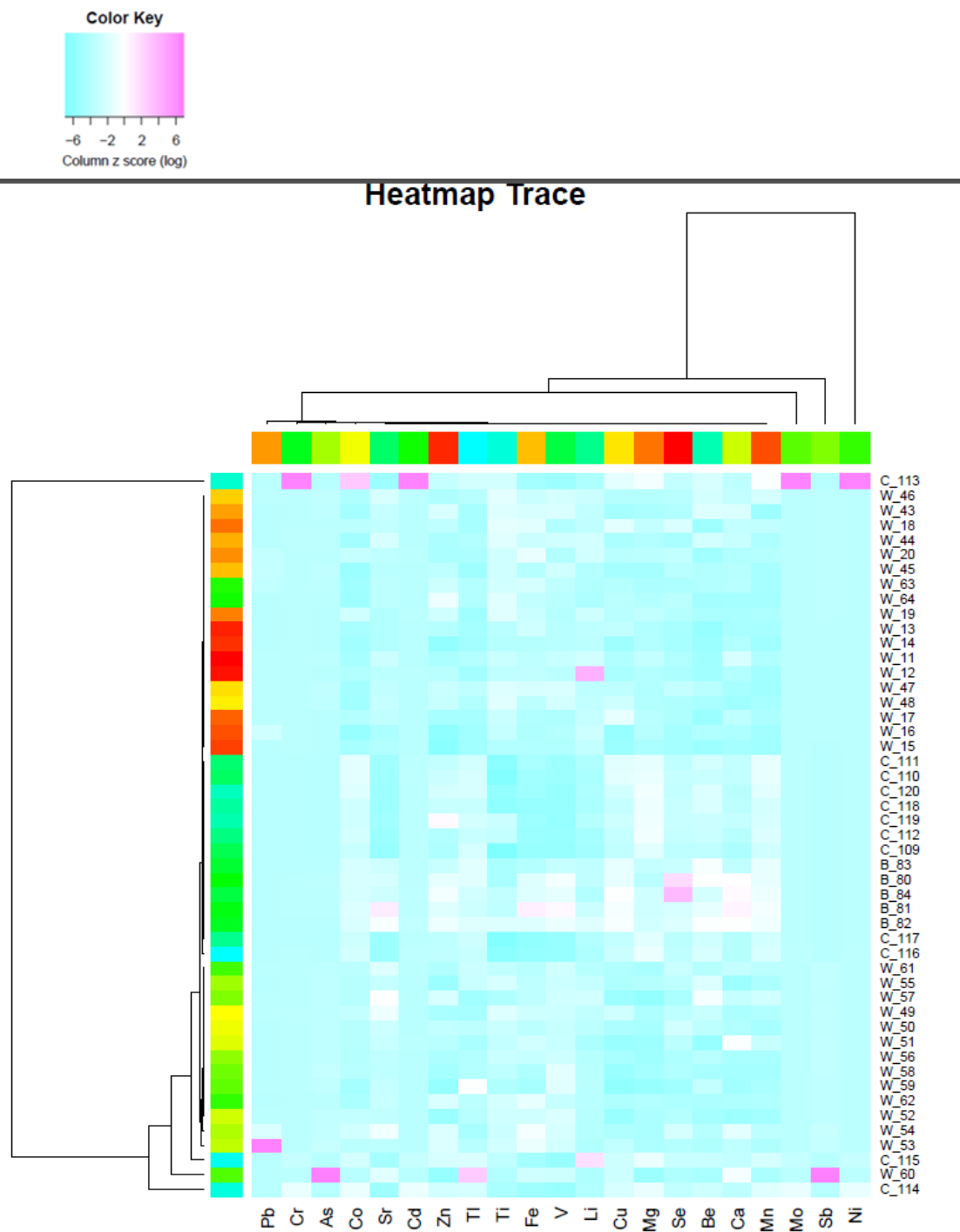
Τα ανεπεξέργαστα δεδομένα ανήχθησαν έναντι των εικονικών αποτυπωμάτων αναφοράς για τη δημιουργία ανηγμένων τιμών REEs και TREs με τη χρήση του τύπου 1.

Η μήτρα συσχέτισης Pearson's υπολογίστηκε για την αξιολόγηση των πιθανών συσχετίσεων μεταξύ της στοιχειακής μεταβλητότητας (variation) σε δείγματα κρέατος κουνελιού. Υπήρξε μια πολύ ισχυρή θετική συσχέτιση ($r > 0.95$, $n = 49$, $p < 0,0005$) για τα ζεύγη των σπάνιων γαιών/ακτινιδών: Dy-Er, Dy-Tm, Dy-Yb, Er-Eu, Er-Ho, Er-Lu, Er-Tm, Er-Yb, Eu-Lu, Eu-Tm, Eu-Ho, Ho-Lu, Ho-Tm, Ho-Yb, Lu-Tm, Lu-Yo, Th-Tm, Tm-Yb, και Sc-U. Μια πολύ ισχυρή αρνητική συσχέτιση ($r < -0,95$, $n = 49$, $p < 0,0005$) βρέθηκε για το ζευγάρι Tm-U. Πιθανώς οι συσχετίσεις με το U εξηγούνται από δεδομένα σχετικά με μικτά ορυκτά με τις συγκεκριμένες σπάνιες γαίες.

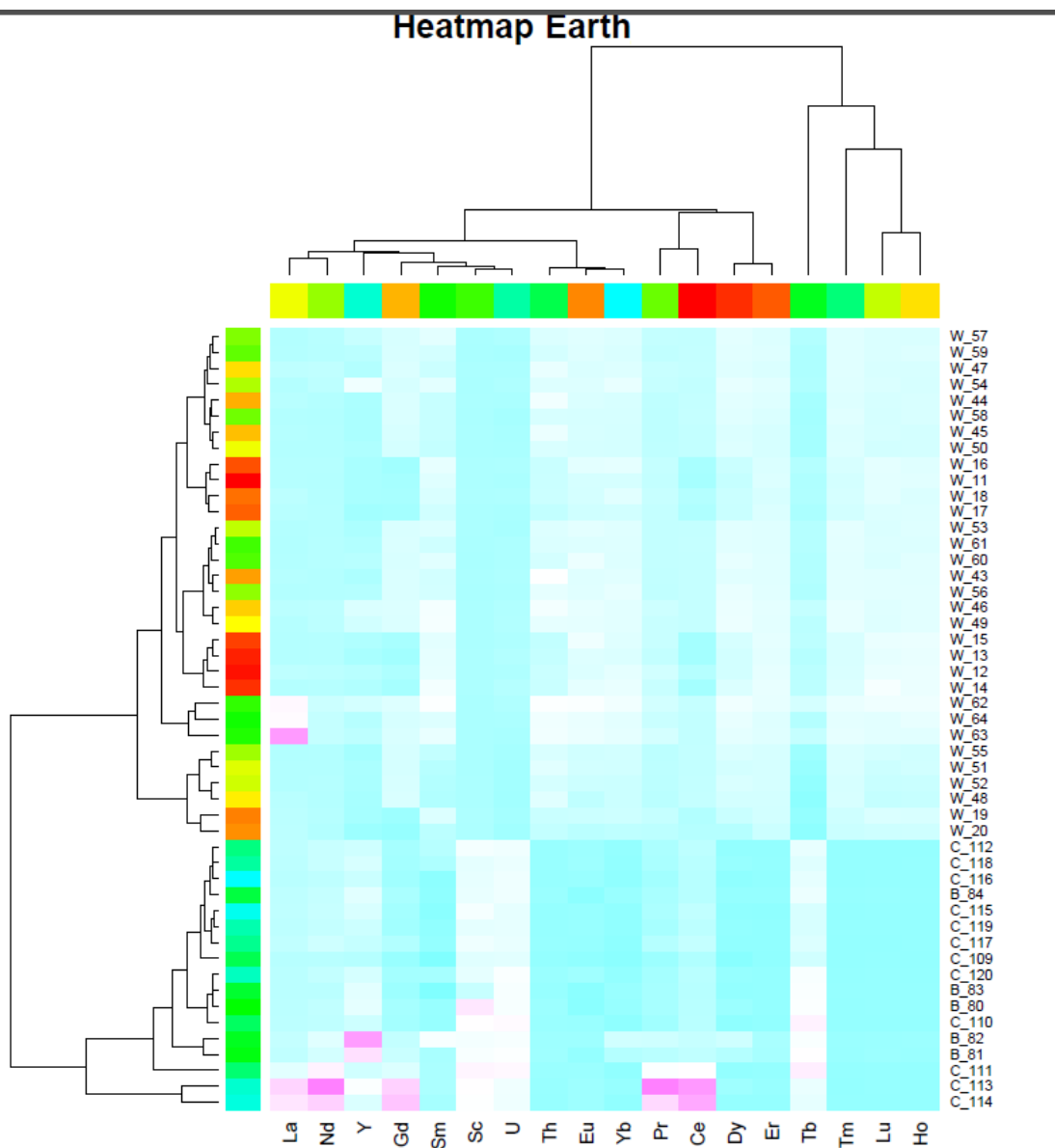
Οι χάρτες ομαδοποίησης (Σχήμα 6.1) δείχνουν μοτίβα δεδομένων με βάση την ομοιότητα των προφίλ για τα δείγματα (οριζόντιες λωρίδες) έναντι των προφίλ για τα στοιχεία (κάθετες λωρίδες). Οι τιμές υψηλού z-score (τιμές πάνω από το μέσο όρο) αντιπροσωπεύονται τη ροζ κλίμακα, ενώ του χαμηλού z-score (τιμές κάτω του μέσου όρου) αντιπροσωπεύονται από τη μπλε κλίμακα. Οι σχέσεις των ομάδων υποδεικνύονται από δένδρογράμματα δίπλα στους χάρτες ομαδοποίησης, ενώ τα μοτίβα του χρώματος υποδεικνύουν ιδιότητες της ομάδας. Οι χάρτες ομαδοποίησης δείχνουν τα ακόλουθα πρότυπα:

- Η διάκριση μεταξύ WR και NWR μπορεί να επιτευχθεί με τη χρήση Dy, Er, Eu, Ho, Lu, Sm, Th, Tm, και Yb (υψηλό z-score στο WR και χαμηλό στα NWR), καθώς και Sc και U (χαμηλό z-score στα WR και υψηλό στα NWR),
- τα μοτίβα στα WR υποδεικνύουν μια μοναδική υποομάδα WR-Nov, ενώ υπάρχουν δύο υποομάδες WR-Sep κουνελιών,
- τα μοτίβα στα NWR δείχνουν ότι η Ευκλείδεια απόσταση μόνη της δεν επαρκεί για την διάκριση BR και FR κουνελιών και τα δείγματα από αυτές τις δύο υποομάδες φαίνεται να επικαλύπτονται
- τα μοτίβα των TREs είναι πιο περίπλοκα, αλλά επίσης εμφανίζουν καλύτερη διάκριση μεταξύ WR και NWR ομάδων μέσω As, Sb, Sr, και V (υψηλό z-score στα WR και χαμηλό στα NWR), καθώς και τη Co και Ti (χαμηλό z-score στα WR και υψηλό στα NWR),
- ο χάρτης ομαδοποίησης δείχνει ότι τα TREs δίνουν καλή διάκριση μεταξύ BR και FR ομάδων, αλλά όχι τόσο καλή μεταξύ WR-Nov και WR-Sep υποομάδων.

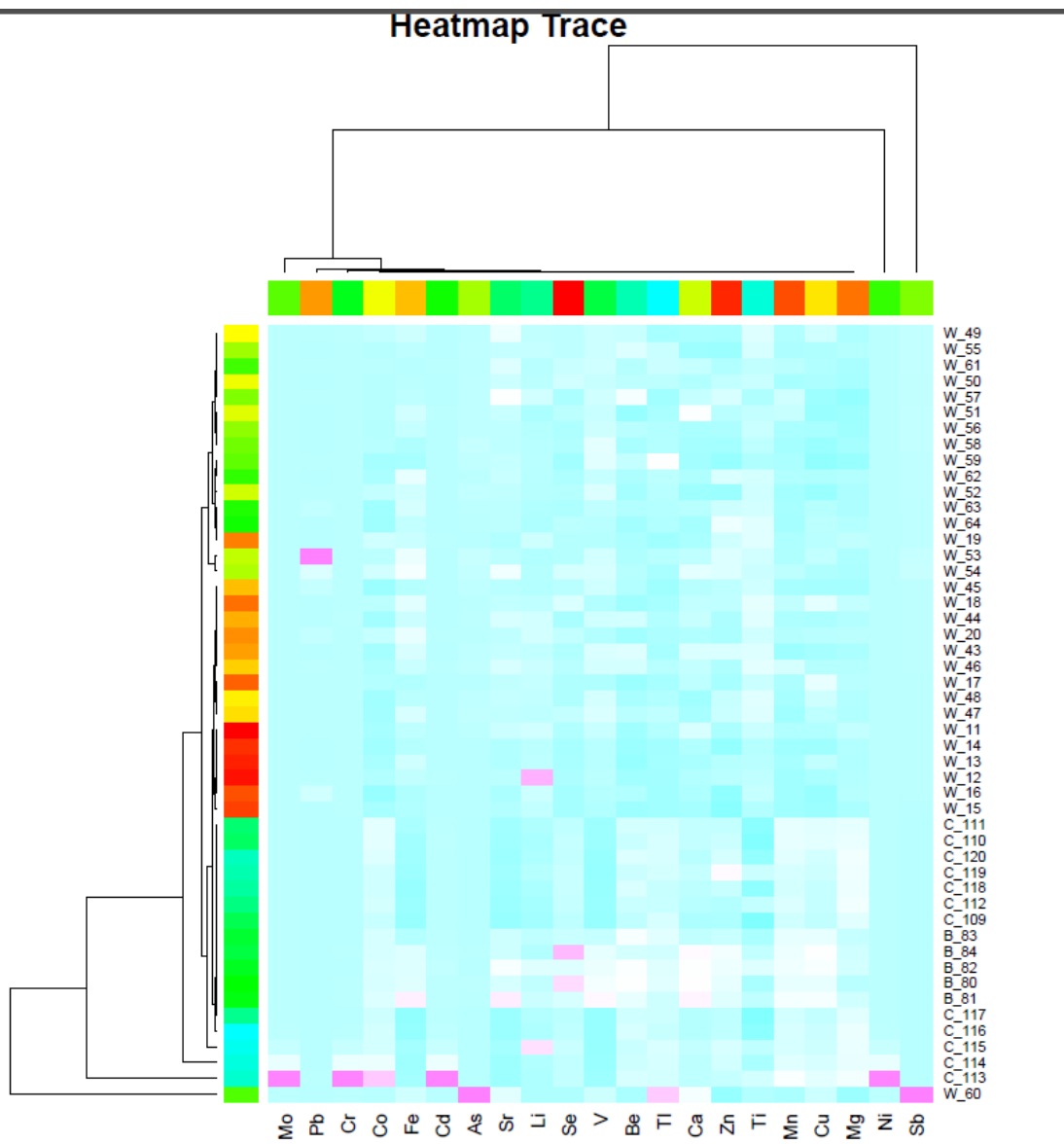
Σχήμα 6.1.A. Χάρτης ομαδοποίησης για τα ιχνοστοιχεία με βάση το BCR668.



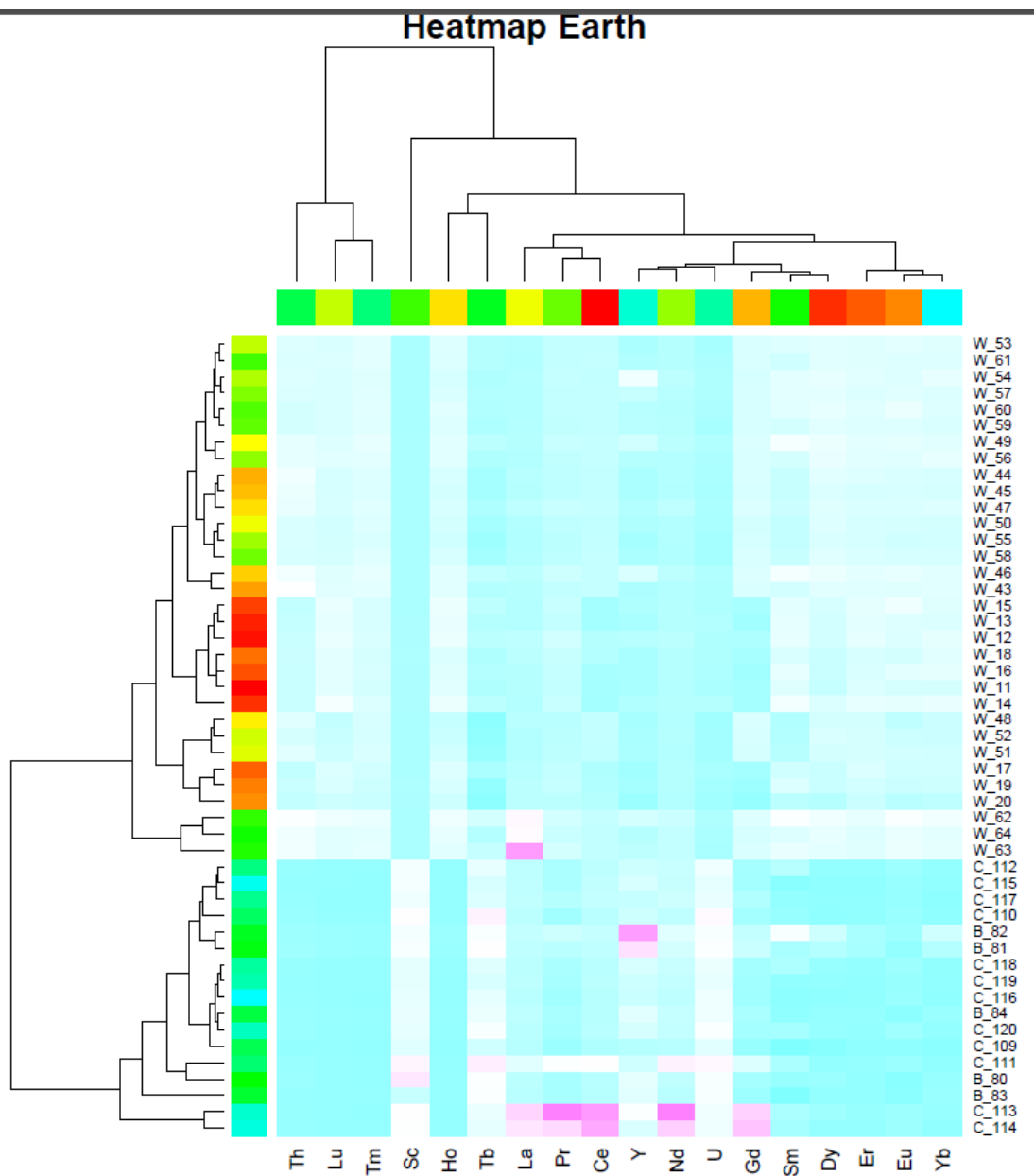
Σχήμα 6.1.B. Χάρτης ομαδοποίησης για τις σπάνιες γαίες και τις ακτινίδες με βάση το BCR668.



Σχήμα 6.1.C. Χάρτης ομαδοποίησης για τα ιχνοστοιχεία με βάση το RM8414.



Σχήμα 6.1.D. Χάρτης ομαδοποίησης για τις σπάνιες γαίες και τις ακτινίδες με βάση το RM8414



Ορίσαμε τα στοιχειακά αποτυπώματα για κάθε υποομάδα ως τη μέση τιμή τους για κάθε στοιχείο (βλέπε κεφάλαιο Μέθοδοι). Επειδή δείγματα πιστοποίησης της αυθεντικότητας του κρέατος δεν είναι διαθέσιμα για την ομάδα των στοιχείων μας, χρησιμοποιούνται υφιστάμενα πιστοποιημένα πρότυπα υλικά αναφοράς ως “ψευδο-αναφοράς”, ώστε να γίνει η αξιολόγηση της ακρίβειας στην κατάταξη στις ομάδες WR, NWR και των υποσυνόλων τους. Η μέθοδος που αναπτύξαμε θα πρέπει να ισχύει επίσης και για τη χαρτογράφηση δειγμάτων ανώνυμου κρέατος κουνελιού με τα αποτυπώματα των κουνελιών. Τα αποτυπώματα δείχνονται στον πίνακα 6.4.

Πίνακας 6.4. Στοιχειακά αποτυπώματα της κάθε κατηγορίας δειγμάτων που μελετήθηκε, καθώς και των προτύπων υλικών αναφορά. Α) Απόλυτες τιμές των σπανίων γαιών, Β) Σχετικές τιμές των σπανίων γαιών με βάση την κανονικοποίηση ως προς το RM8414, C) Απόλυτες τιμές των ιχνοστοιχείων, D) Σχετικές τιμές των ιχνοστοιχείων με βάση την κανονικοποίηση ως προς το RM8414. RM8414: bovine muscle, BCR 668: mussel tissue, BCR 670: duckweed, WR: wild rabbits, NWR: non-wild rabbits, WR-N: wild rabbits Nov, WR-S: wild rabbits Sep, BR: backyard rabbits, FR: farmed rabbits. Τα μελετηθέντα δείγματα κρέατος παρουσιάζουν σχετικά χαμηλές συγκεντρώσεις σπανίων γαιών, ο ιστός μυδιού έχει υψηλότερες συγκεντρώσεις και το duckweed ακόμη υψηλότερες συγκεντρώσεις μέσα στο πάνελ.

A)

$\mu\text{g/kg}$	Ce	Dy	Er	Eu	Gd	Ho	La	Lu	Nd	Pr	Sc	Sm	Tb	Th	Tm	Y	U	Yb
RM 8414	3.3	0.13	0.14	0.14	0.74	0.04	7.9	0.04	1.8	0.34	11.7	2.57	0.04	2.5	0.03	0.77	5.4	0.13
BCR 668	83	8	3.9	2.6	12.4	1.2	74	0.38	50	11.2	10.3	10.7	1.63	9.5	0.57	54	50.8	2.3
BCR 670	987	78.9	44	23.2	97.8	15.8	487	6.33	473	121	191	94.2	14	159	5.7	462	81.7	39.9
WR	13.24	0.81	0.96	0.49	1.02	0.61	2.58	0.43	0.96	1.23	1.2	0.77	0.63	8.13	0.74	1.04	2.76	0.47
NWR	10.71	0.23	0.15	0.15	0.43	0.03	6.15	0.02	2.36	0.63	10.98	0.44	0.87	2.18	0.03	1.8	6.83	0.1
WR-N	4.55	0.65	0.93	0.46	0.42	0.63	3.23	0.48	0.96	1.26	1.36	0.8	0.63	6.58	0.67	0.95	2.9	0.47
WR-S	13.51	0.83	0.96	0.49	1.04	0.59	2.18	0.42	0.97	1.21	1.16	0.73	0.63	8.69	0.77	1.13	2.72	0.47
BR	9.16	0.29	0.16	0.09	0.48	0.03	6.15	0.03	2.2	0.62	10.98	0.44	0.94	2.57	0.04	2.05	7.26	0.14
FR	10.94	0.23	0.14	0.16	0.41	0.03	5.9	0.02	2.38	0.66	10.62	0.47	0.86	2.13	0.03	1.65	6.75	0.1

B)

Relative value	Ce	Dy	Er	Eu	Gd	Ho	La	Lu	Nd	Pr	Sc	Sm	Tb	Th	Tm	Y	U	Yb
RM 8414	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
BCR 668	2515	6154	2786	1857	1676	3000	937	958	2778	3294	88	416	4075	380	1835	7013	941	1769
BCR 670	298	60692	31429	16571	13216	39500	6165	15825	26278	35588	1632	3665	35000	6360	18387	60000	1513	30692
WR	401	622	683	347	138	1526	33	1068	53	363	10	30	1566	325	2391	135	51	360
NWR	324	197	106	127	78	73	92	65	131	264	79	21	2031	87	101	229	118	84
WR-N	138	504	665	330	56	1586	41	1191	53	371	12	31	1585	263	2170	124	54	360
WR-S	409	640	685	348	141	1470	28	1054	54	355	10	28	1565	348	2485	146	50	360
BR	278	226	114	64	65	87	78	75	122	182	94	17	2356	103	125	267	134	106
FR	331	177	97	114	55	66	75	55	132	193	91	18	2139	85	90	215	125	77

C)

$\mu\text{g/kg}$	Se	Zn	Mn	Mg	Pb	Fe	Cu	Co	Ca	As	Sb	Mo	Ni	Cd	Cr	V	Sr	Li	Be	Ti	Tl
RM 8414	63	141909	514	1026877	186	50952	2670	9	137421	9.7	7	86	36	20	93	101	39	31	351	54937	7.7
BCR 668	5170	98937	3670	3833041	1054	36157	9874	196	1548557	5003	9.9	1539	397	409	730	2634	31781	864	11172	56914	20.3
WR	45.31	4267	219	300809	18.51	8341	638	29.46	53289	11.09	192	7.84	44	2.1	37	42	80	7	242	6408	0.42
NWR	74.28	50267	502	460776	10.51	3969	946	45.43	66208	0.83	0.03	23.86	215	3.5	12	8.7	30.5	5.5	372	4798	0.86
WR-N	41.08	4003	214	326069	19.33	7397	682	26.85	52706	4.39	110	8.18	46	2.2	37	27	65.4	8.5	192	6163	0.23
WR-S	50.29	4517	219	292396	18.51	8615	635	31.32	55350	12.64	275	7.15	44	2.1	37	44	85.5	6.3	270	6568	0.45
BR	106.9	5950	573	389198	13.56	11002	1183	46.23	120993	5.47	0.03	20.14	146	3.7	29	63	109	7.4	491	5813	1
FR	71.18	4871	460	463800	9.79	3580	872	44.56	62683	0.72	0.02	43.46	274	3.3	7.6	7.6	267	5	352	3726	0.86

D)

Relative value	Se	Zn	Mn	Mg	Pb	Fe	Cu	Co	Ca	As	Sb	Mo	Ni	Cd	Cr	V	Sr	Li	Be	Ti	Tl
RM 8414	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
BCR 668	8206	70	714	373	567	71	370	2178	1127	51577	141	1790	1103	2045	785	2608	81490	2814	3183	104	264
WR	72	3	43	29	10	16	24	327	39	114	2742	9	122	11	40	42	204	23	69	12	5
NWR	118	4	98	45	6	8	35	505	48	9	0	28	596	17	13	9	78	18	106	9	11
WR-N	65	3	42	32	10	15	26	298	38	45	1565	10	127	11	40	27	168	28	55	11	3
WR-S	80	3	43	28	10	17	24	348	40	130	3929	8	122	10	40	44	219	20	77	12	6
BR	170	4	111	38	7	22	44	514	88	56	0	23	406	18	31	62	280	24	140	11	13
FR	113	3	90	45	5	7	33	495	46	7	0	51	761	16	8	7	69	16	100	7	11

Κάθε δείγμα αξιολογήθηκε για ομοιότητα με τον πίνακα των στοιχειακών αποτυπωμάτων: μοσχαρίσιο κρέας (RM8414), αγριοκούνελα (WR) δηλαδή αγριοκούνελα Νοεμβρίου (WR-Nov) και αγριοκούνελα Σεπτεμβρίου (WR-Sep) και μη-αγριοκούνελα (NWR) δηλαδή οικόσιτα κουνέλια (BR) και εκτρεφόμενα κουνέλια (FR). Για την ανάλυση χρησιμοποιήθηκαν τα αποτυπώματα που περιέχουν τις σχετικές ποσότητες των στοιχείων για τα REEs και TREs. Η ανάλυση με τη χρήση των αποστάσεων πίνακας 6.5 και σχήματα 6.2-6.5 έδειξε ότι γίνεται εξαιρετική ταξινόμηση των δειγμάτων σε άγρια και μη-άγρια κουνέλια μετά από εύρεση του αποτυπώματος που έχει ελάχιστη απόσταση με το δείγμα που εξετάζεται.

Πίνακας 6.5. Στοιχειακά αποτυπώματα μεταξύ των ομάδων: Σύσχετιση Pearson' μεταξύ των δειγμάτων για τα αποτυπώματα A) των σπανίων γαιών και C) των ιχνοστοιχείων. Ευκλείδειες αποστάσεις (Euclidean distances) μεταξύ των δειγμάτων για τα αποτυπώματα B) των σπανίων γαιών και D) των ιχνοστοιχείων.

A) Average correlation coefficients

		REE SIGNATURES								
Group		WR	WR-Nov	WR-Sep	NWR	BR	FR	RM8414	BCR 668	BCR 670
SAMPLES	WR	0.993	0.986	0.992	0.349	0.363	0.345	0.231	0.148	0.248
	WR-Nov	0.988	0.998	0.984	0.362	0.378	0.358	0.194	0.143	0.273
	WR-Sep	0.995	0.981	0.996	0.343	0.357	0.339	0.248	0.150	0.236
	NWR	0.330	0.336	0.324	0.958	0.955	0.959	0.304	0.316	0.193
	BR	0.383	0.397	0.378	0.993	0.995	0.993	0.343	0.362	0.270
	FR	0.307	0.311	0.302	0.944	0.938	0.945	0.288	0.296	0.161
	RM8414	0.227	0.204	0.242	0.342	0.347	0.336	1	0.185	0.084
	BCR 668	0.154	0.139	0.152	0.310	0.319	0.306	0.185	1	0.906
	BCR 670	0.247	0.268	0.240	0.204	0.227	0.200	0.084	0.906	1

B) Average Euclidean distances

		REE SIGNATURES								
Group		WR	WR-Nov	WR-Sep	NWR	BR	FR	RM8414	BCR 668	BCR 670
SAMPLES	WR	414	544	429	3113	3119	3116	3393	10959	120580
	WR-Nov	505	267	591	2959	2960	2961	3231	11072	120694
	WR-Sep	267	552	243	3134	3140	3137	3410	10940	120564
	NWR	3107	2988	3152	215	349	257	2254	11666	121790
	BR	3068	2954	3113	212	157	258	2282	11627	121742
	FR	3107	2988	3152	215	349	257	2254	11666	121790
	RM8414	3368	3258	3411	2107	2277	2063	0	12360	122515
	BCR 668	10954	11071	10951	11681	11613	11703	12360	0	110674
	BCR 670	120606	120677	120600	121827	121728	121854	122515	110674	0

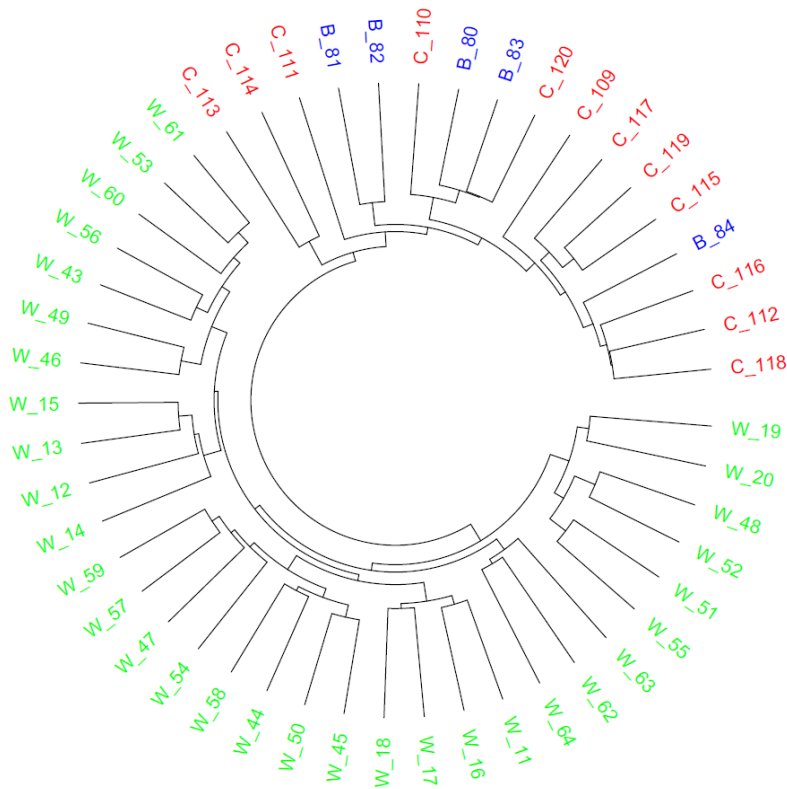
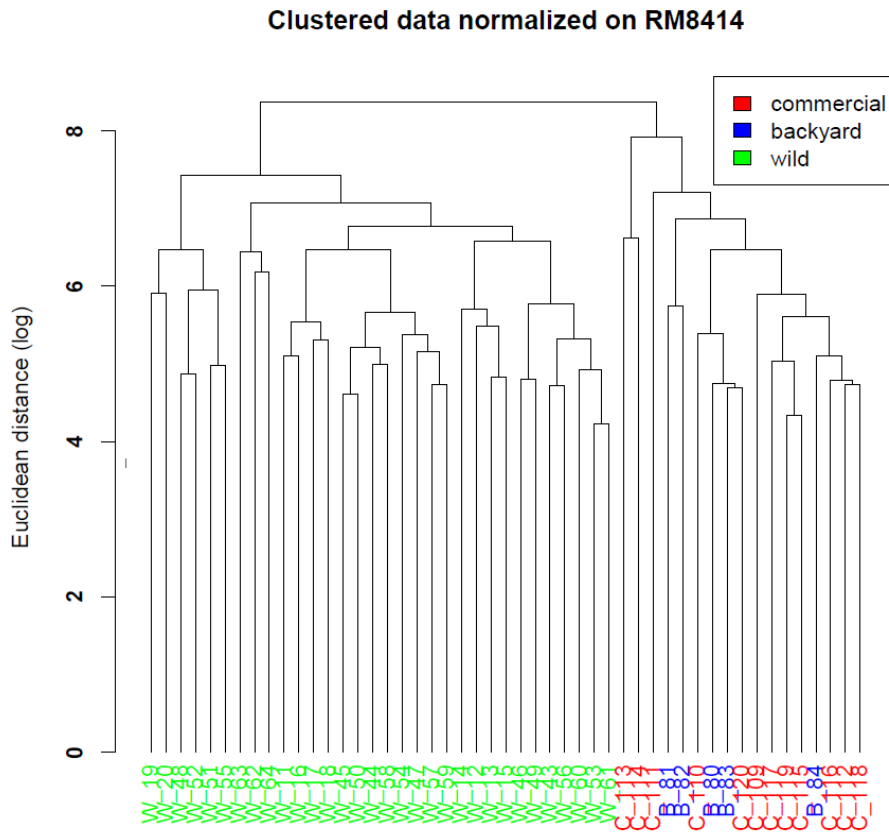
C) Average correlation coefficients

		TRE SIGNATURES							
Group		WR	WR-Nov	WR-Sep	NWR	BR	FR	RM8414	BCR 668
SAMPLES	WR	0.988	0.985	0.988	-0.023	-0.041	-0.023	-0.193	-0.025
	WR-Nov	0.989	0.991	0.987	0.027	0.015	0.022	-0.187	-0.021
	WR-Sep	0.987	0.982	0.988	-0.045	-0.066	-0.043	-0.196	-0.026
	NWR	-0.032	0.026	-0.054	0.894	0.821	0.902	-0.027	0.036
	BR	-0.041	0.031	-0.072	0.875	0.969	0.834	0.059	0.289
	FR	-0.028	0.024	-0.047	0.902	0.759	0.930	-0.062	-0.070
	RM8414	-0.400	-0.396	-0.397	0.185	-0.018	-0.133	1.000	-0.265
	BCR 668	-0.023	-0.015	-0.037	-0.052	0.245	-0.067	0.046	1.000

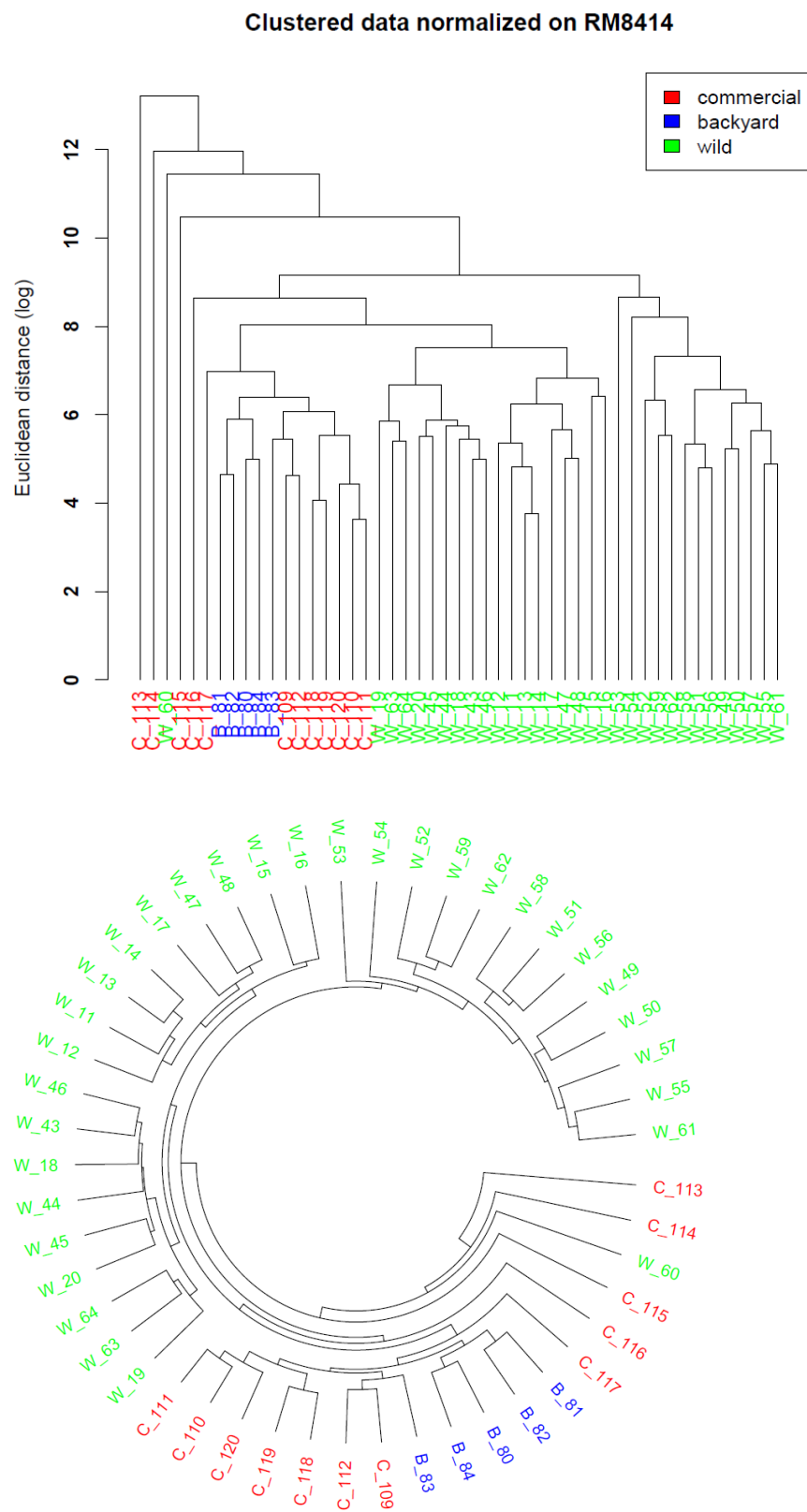
D) Average Euclidean distances

		TRE SIGNATURES							
Group		WR	WR-Nov	WR-Sep	NWR	BR	FR	BCR 668	RM8414
SAMPLES	WR	1183	1188	1627	2799	2777	2830	2665	96798
	WR-Nov	1183	459	2368	1651	1618	1703	1514	96831
	WR-Sep	1201	2377	968	3969	3945	3991	3859	96786
	NWR	2799	1670	3969	315	303	410	761	96909
	BR	2783	1647	3956	372	223	468	696	96668
	FR	2826	1703	3988	191	429	296	824	96914
	RM8414	2671	1512	3851	719	622	837	0	96837
	BCR 668	96785	96830	96802	96901	96699	96908	96837	0

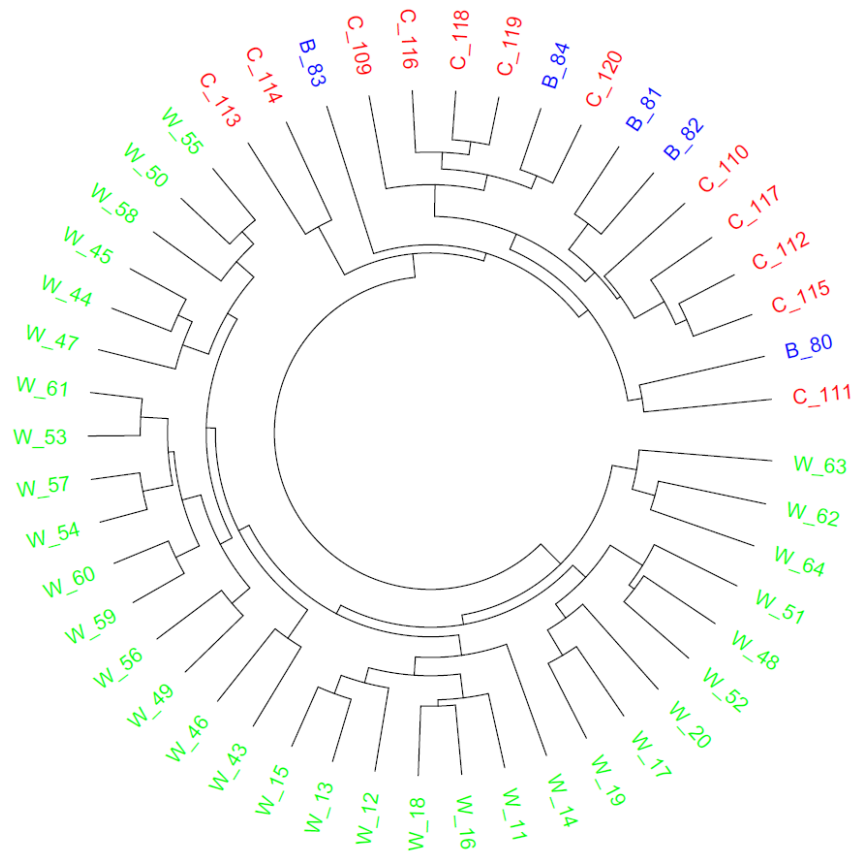
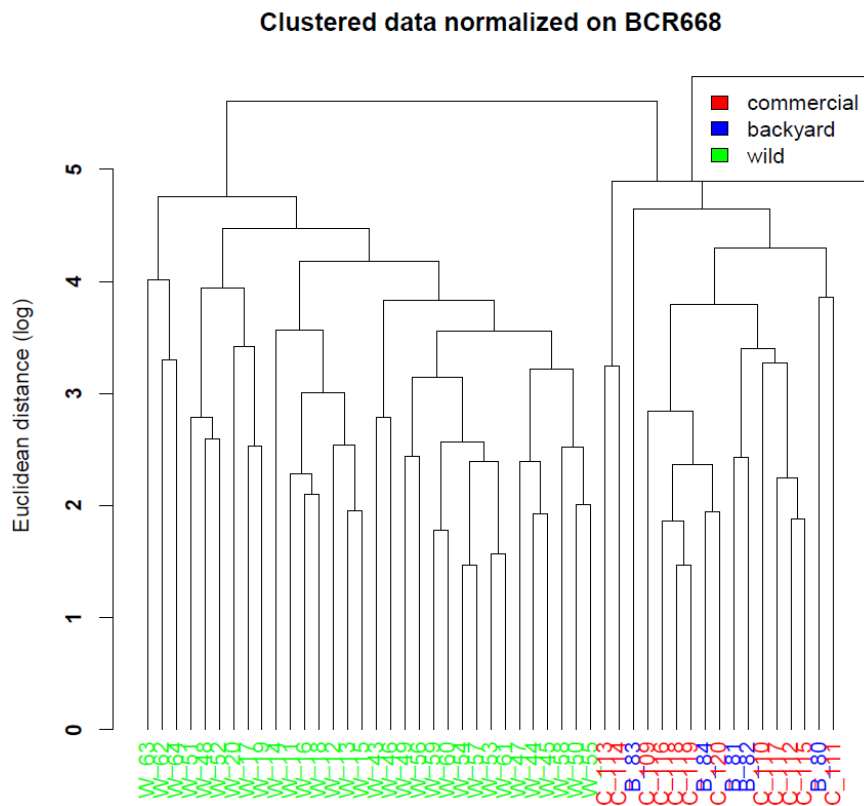
Σχήμα 6.2. Ταξινόμηση των δειγμάτων μετά από κανονικοποίηση με χρήση του RM8414 για τις σπάνιες γαίες.



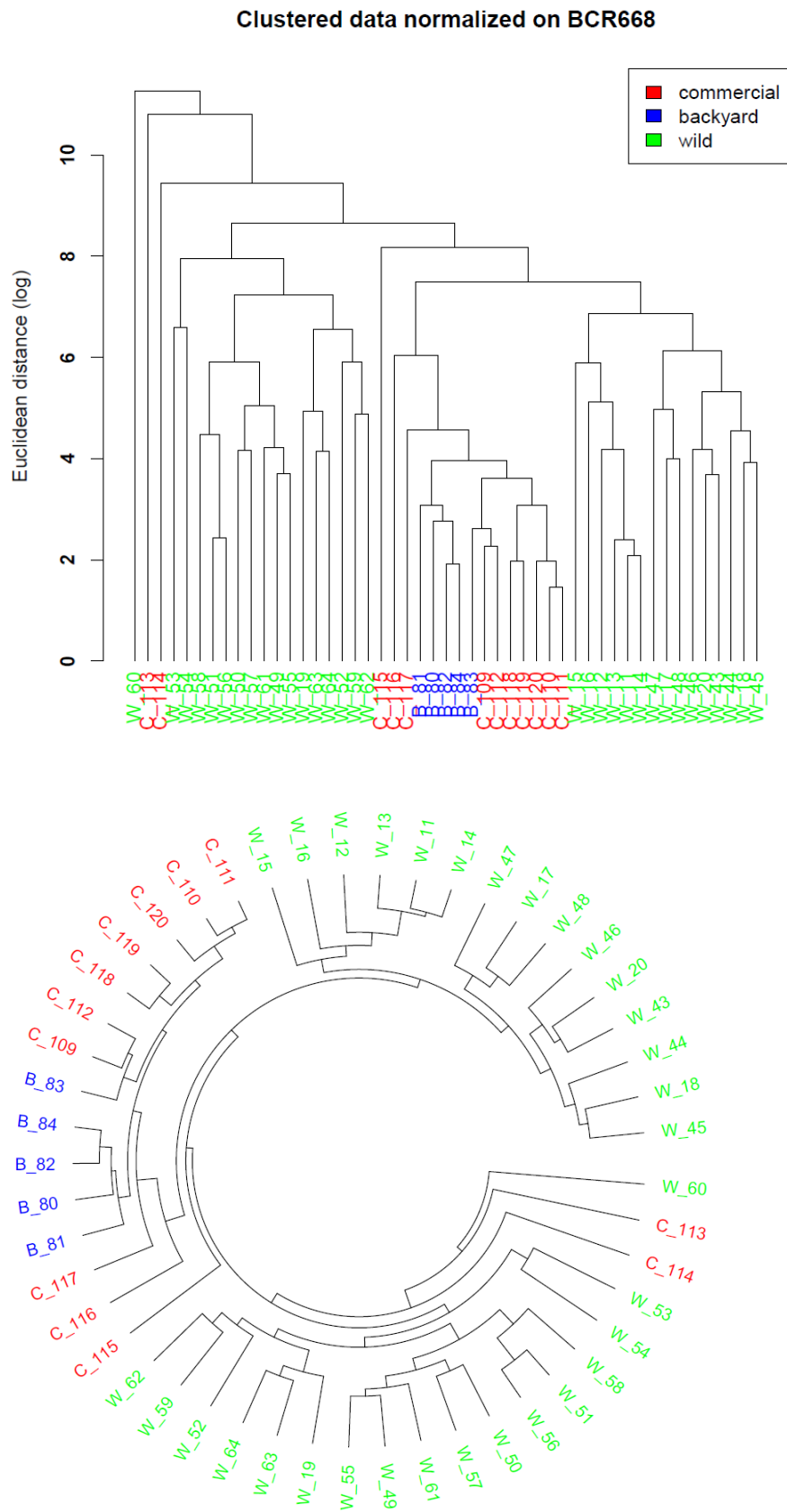
Σχήμα 6.3. Ταξινόμηση των δειγμάτων μετά από κανονικοποίηση με χρήση του RM8414 για τα ιχνοστοιχεία.



Σχήμα 6.4. Ταξινόμηση των δειγμάτων μετά από κανονικοποίηση με χρήση του BCR668 για τις σπάνιες γαίες.



Σχήμα 6.5 Ταξινόμηση των δειγμάτων μετά από κανονικοποίηση με χρήση του BCR668 για τα ιχνοστοιχεία.



Ο συνδυασμός των REEs και TREs παρέχει ένα εξαιρετικά ακριβές σύστημα για την πιστοποίηση των κρεάτων. Όλα τα κουνέλια WR-Nov ταξινομήθηκαν ορθώς και από τα 22 WR-Sep κουνέλια 17 ταξινομήθηκαν ως WR-Sep και 5 ως WR. Και τα πέντε BR κουνέλια ταξινομήθηκαν σωστά, ενώ από τα 12 FR, 9 ταξινομήθηκαν ορθώς ως FR, ένα ταξινομήθηκε ως NWR, και τα δύο υπόλοιπα δεν μπορεί να υπαχθούν σε κάποια ομάδα. Τα αποτελέσματα της ταξινόμησης των δειγμάτων κουνελιών σε κατηγορίες και υποκατηγορίες παρουσιάζονται στον πίνακα 6.6. Η ταξινόμηση είναι αρκετά ακριβής, - η συνολική ακρίβεια ταξινόμησης με τις REEs είναι 85,7%, με τα TREs είναι 81,6%, ενώ η ακρίβεια των συνδυασμένων αποτυπωμάτων είναι 95,9%. Όσον αφορά τις σπάνιες γαίες μόνο δύο δείγματα δεν ταξινομήθηκαν σωστά μεταξύ των κατηγοριών BR και FR. Πάντως ακόμη και έτσι με το αποτύπωμα των σπανίων γαιών μπορούμε να διακρίνουμε κατά 100% αν ένα δείγμα είναι άγριο (WR) ή όχι (NWR). Όσον αφορά τα ιχνοστοιχεία διακρίνουν και αυτά 100% τις κατηγορίες άγριο (WR) μη άγριο (NWR). Τέλος με βάση τα ιχνοστοιχεία, 3 δείγματα αγριοκούνελων δεν ταξινομήθηκαν σωστά στις υπο-ομάδες τους WR-Sep και WR-Nov. Αυτό είναι αποδεκτό και λογικό, δεδομένου ότι οι υποομάδες δεν είναι σαφώς διακριτές αλλά έχουν επικαλύψεις.

Πίνακας 6.6. Πίνακας ταξινόμησης (classification table) χρησιμοποιώντας τα στοιχειακά αποτυπώματα είτε τις σπάνιες γαίες είτε τα ιχνοστοιχεία.

		REE r	TRUE CLASS			
			WR-Nov	WR-Sep	BR	FR
PREDICTED CLASS	WR-Nov	10	-	-	-	-
	WR-Sep	-	22	-	-	-
	BR	-	-	-	5	2
	FR	-	-	-	-	10
		TOTAL	10	22	5	12
		TRE r	TRUE CLASS			
			WR-Nov	WR-Sep	BR	FR
PREDICTED CLASS	WR-Nov	9	2	-	-	-
	WR-Sep	1	20	-	-	-
	BR	-	-	-	5	-
	FR	-	-	-	-	12
			TOTAL	10	22	5

Σε άλλη μελέτη μετρήθηκαν οι συγκεντρώσεις για έξι μέταλλα για κουνέλια (*Oryctolagus cuniculus*) στο Ελσίνκι [235]. Αυτά τα κουνέλια προήλθαν από διαφυγόντα κατοικίδια κουνέλια που έγιναν άγρια. Οι διαθέσιμες στοιχειακές μετρήσεις ήταν (μg / kg): Cd - 13, Cr - 78, Cu - 563, Mn - 314, Pb - 37, Zn - 11291. Η μέτρηση στην εν λόγω μελέτη επίσης βαθμονομήθηκε έναντι του RM 8414 έτσι αυτές οι μετρήσεις θα μπορούσαν είναι συγκρίσιμες με τα αποτελέσματα από τη μελέτη μας. Τα ανηγμένα αποτυπώματα των κουνελιών από το Ελσίνκι ήταν: Cd - 81, Cr - 205, Cu - 400, Mn - 262, Pb - 3, και Zn - 58. Το αποτύπωμα των αγριοκούνελων του Ελσίνκι ήταν πιο κοντά σε αυτό των WR-Sep. Ο αλγόριθμος μας χαρακτήρισε το «μικρό» (λίγα στοιχεία) αποτύπωμα των κουνελιών του Ελσίνκι ως αγριοκούνελα [235] που είναι το αναμενόμενο.

6.4. Συζήτηση

Προσδιορίσαμε τα στοιχειακά αποτυπώματα στο κρέας κουνελιών και αναπτύξαμε μια νέα μέθοδο η οποία μας επιτρέπει να αξιολογήσουμε την προέλευση των δειγμάτων κουνελιών. Η μεθόδός μας είναι εξαιρετικά ευαίσθητη - κατατάσσει σωστά τις ομάδες των δειγμάτων και ακόμη και τις επικαλυπτόμενες υποομάδες των δειγμάτων αυτών - τα επικαλυπτόμενα δείγματα ταξινομούνται σωστά μέσα στις ομάδες υψηλότερου επιπέδου. Η επιτευχθείσα διακριτικότητα είναι πολύ υψηλή, θα μπορούσαμε να διακρίνουμε τα άγρια θηράματα από τα εκτρεφόμενα, την χρονική μεταβολή στα άγρια θηράματα (αγριοκούνελα Σεπτεμβρίου και Νοεμβρίου), καθώς και οικόσιτα κουνέλια έναντι εμπορικά εκτρεφόμενων κουνελιών. Από τη στιγμή που οι υποομάδες επικαλύπτονται, ήμασταν σε θέση να εκχωρήσουμε τα δείγματα στη κατάλληλη κατηγορία (WR έναντι NWR) με 100% ακρίβεια. Το πλεονέκτημα των αποτυπωμάτων είναι ότι μπορούν να προέρχονται από έναν μικρό αριθμό δειγμάτων (τόσο λίγα όσο πέντε για το BR) και εξακολουθούν να παρέχουν ένα εξαιρετικό μοντέλο ταξινόμησης. Η αύξηση του αριθμού των δειγμάτων σε κάθε ομάδα / υποομάδα δεν επηρεάζει την ακρίβεια της ταξινόμησης, αλλά επιτρέπει τον ορισμό των πρόσθετων υποομάδων.

Τα στοιχειακά αποτυπώματα ήταν σε θέση να διαφοροποιήσουν την κάθε υποομάδα και να αξιολογήσουν κατά πόσον αυτά αντιπροσωπεύουν φυσικές διαφορές και επομένως επιπλέον υποκατηγορίες. Η χρήση των πρότυπων υλικών αναφοράς παρέχει αρκετά σημαντικά πλεονεκτήματα. Πρώτον, είμαστε σε θέση να παρέχουμε επαρκή κλιμάκωση. Κλιμακώσαμε τα αποτελέσματα σε εικονικά δείγματα με πρότυπα υλικά αναφοράς. Μας επέτρεψε να παρέχουμε τη σύγκριση από ένα σημείο αναφοράς που επιτρέπει τη διάκριση των παρόμοιων υποομάδων των δειγμάτων. Επιπλέον, η χρήση των προτύπων υλικών αναφοράς θα μας επιτρέψει να συνδυάσουμε μελλοντικές μελέτες που θα έχουν βαθμονομηθεί έναντι των ίδιων υλικών αναφοράς με τις προηγούμενες μελέτες. Αυτό θα οδηγήσει στην ενοποίηση της υπάρχουσας γνώσης σε μια κοινόχρηστη βάση δεδομένων. Οι προοπτικές της χρήσης των πρότυπων υλικών

αναφοράς για τον έλεγχο της αυθεντικότητας των τροφίμων είναι σημαντικές. Τα δείγματα από διαφορετικές μελέτες θα μπορούσαν να διακριθούν μεταξύ τους με βάση τη γεωγραφική προέλευση ή κάποια άλλη ιδιότητα. Ωστόσο, οι μελέτες αυτές γενικά δεν παρέχουν τα μέσα για τη σύγκριση. Ήμασταν σε θέση να συγκρίνουμε τη μελέτη μας με μια άλλη μελέτη [235], η οποία παρουσίαζε το αποτύπωμα έξι μετάλλων στα άγρια κουνέλια από το Ελσίνκι, και απέδειξε ότι η χρήση κανονικοποιημένων τιμών θα μπορούσε να κατατάξει σωστά τα άγρια κουνέλια από το Ελσίνκι, χρησιμοποιώντας το αποτύπωμα των κουνελιών της Λήμνου. Η ανθεκτικότητα της μεθόδου φαίνεται από το γεγονός ότι το αποτύπωμα μόνο έξι TREs ήταν επαρκές για τη σωστή ταξινόμηση.

Η αυθεντικότητα των τροφίμων θέτει ένα πολύπλοκο σύνολο ερωτήσεων. Η διακύμανση σε δείγματα τροφίμων εξαρτάται από πολλούς παράγοντες: βιολογικοί, παραγωγή, γεωγραφικοί, περιβαλλοντικοί, επεξεργασία και αποθήκευση, μόλυνση και άλλους παράγοντες. Έχουμε αποδείξει ότι το στοιχειακό αποτύπωμα μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την ανίχνευση τέτοιων λεπτών διαφορών στα δείγματα. Οι αναλυτικές μέθοδοι και τα όργανα είναι σήμερα πολύ ακριβή και παρέχουν επαναλήψιμες μετρήσεις και αναπαραγώγιμα αποτελέσματα. Πολυάριθμες μελέτες, συμπεριλαμβανομένης αυτής της έκθεσης, έχουν δείξει ότι οι εξελιγμένες μέθοδοι στατιστικής και η αναγνώριση των μοτίβων μπορούν να επεξεργαστούν τα αναλυτικά δεδομένα και με μεγάλη ακρίβεια να ταξινομήσουν τα δείγματα τροφίμων για διάφορους σκοπούς επαλήθευσης της προέλευσης. Δύο κύρια εμπόδια για την προώθηση της διαπίστωσης της αυθεντικότητας των τροφίμων είναι η έλλειψη πρότυπων υλικών αναφοράς για μελέτες αυθεντικότητας τροφίμων και η έλλειψη βάσεων δεδομένων. Τα πρότυπα υλικά αναφοράς για τον έλεγχο της αυθεντικότητας που χρησιμοποιούνται για την αξιολόγηση των μετρήσεων μπορούν να παρέχουν ένα βασικό σύνολο σημείων επαφής για τον καθορισμό της αυθεντικότητας διάφορων ειδών κρεάτων (μοσχάρι, πουλερικά, αρνί, χοιρινό κλπ) και των φυσιολογικών ορίων τους. Η βάση δεδομένων θα προσφέρει ένα σύνολο από πραγματικές παρατηρήσεις - μετρήσεις που παρέχονται από πρότυπη μεθοδολογία, έτσι ώστε να μπορεί να καθοριστεί ένα σύνολο αποτυπωμάτων αυθεντικότητας.

Περαιτέρω ανάπτυξη του αλγορίθμου μας θα περιλαμβάνει βελτιστοποίηση της κλιμάκωσης μέσω του ορισμού εικονικών κλιμακώσεων αναφοράς, την επέκταση της μελέτης σε άλλα κρέατα και άλλα τρόφιμα, τη μελέτη του βέλτιστου μεγέθους των αποτυπωμάτων και την ανάλυση των επιπτώσεων των φυσικών στοιχειακών διακυμάνσεων και ρυπαντών. Ένα κοινό θέμα των ερευνών αυθεντικότητας είναι η απαίτηση για μια «τράπεζα» αυθεντικών δειγμάτων με τα οποία το κάθε άγνωστο μελετώμενο δείγμα μπορεί να συγκριθεί ώστε να διαπιστώσει η γνησιότητά του. Η εφαρμογή προηγμένων στατιστικών και μαθηματικών τεχνικών είναι διαρκώς αυξανόμενη στις μελέτες των τροφίμων, για την εξαγωγή, την ταυτοποίηση και ανάλυση των σημαντικών χαρακτηριστικών από σύνθετες μήτρες δεδομένων

[236]. Τα χημειομετρικά εργαλεία και τα εργαλεία δεδομένων είναι θεμελιώδους σημασίας για τον έλεγχο της αυθεντικότητας αλλά και σε πιο εξελιγμένες μεθόδους που απαιτούν τον χειρισμό τεράστιων ποσοτήτων δεδομένων [203, 237, 238]. Το κλειδί για τη βελτίωση στον τομέα αυτό, εκτός από τη ρύθμιση, είναι η τυποποίηση των μεθόδων και η δημιουργία της κατάλληλης υποδομής: τυποποίηση της μεθοδολογίας, κατάλληλα υλικά αναφοράς, και μια κοινή βάση δεδομένων. Στην έκθεση αυτή, περιγράφουμε μια νέα μέθοδο ανάλυσης δεδομένων για την πιστοποίηση των κρεάτων και προτείνουμε τη χρήση προτύπων υλικών αναφοράς για αυτές τις έρευνες. Καθορίσαμε τρεις στοιχειακές υπογραφές για αγριοκούνελα, οικόσιτα και εμπορικά εκτρεφόμενα κουνέλια. Αυτή είναι η πρώτη έκθεση που χρησιμοποιεί τις σπάνιες γαίες για τον έλεγχο της αυθεντικότητας των τροφίμων με βάση το κρέας, και η πρώτη που συνδυάζει αποτυπώματα σπανίων γαιών και ιχνοστοιχείων για τη διαφοροποίηση δειγμάτων κουνελιών.

7. Κατανομή των σπανίων γαιών σε ιστούς κουνελιών διαφορετικού τύπου εκτροφής (κυνήγι, οικόσιτα, εμπορικά)

7.1. Εισαγωγή

Οι σπάνιες γαίες βρίσκουν εφαρμογές και στην γεωπονία και τη ζωοτεχνία. Έτσι, χρησιμοποιούνται λιπάσματα που περιέχουν σπάνιες γαίες [239, 240] όπως επίσης και εμπλουτισμένα σιτηρέσια για την διατροφή των αγροτικών ζώων [241]. Σαν αποτέλεσμα του εμπλουτισμού των σιτηρεσίων παρατηρήθηκε αυξημένη ανάπτυξη σε χοίρους [241, 242], βοοειδή [76] and χήνες [243]. Η χρησιμοποίηση των σπανίων γαιών στην διατροφή των αγροτικών ζώων βασίζεται πιθανώς στην αντιμικροβιακή τους δράση [244] αντικαθιστώντας σε κάποιο βαθμό τα αντιβιοτικά τα οποία έχουν απαγορευτεί εδώ και χρόνια σαν προωθητικά ανάπτυξης. Στην Ευρώπη, η ασφάλεια και η αποτελεσματικότητα των κιτρικών αλάτων των λανθανίδων, σαν πρόσθετα στις ζωοτροφές των απογαλακτισμένων χοιριδίων έχει εξεταστεί από την EFSA (European Food Safety Agency) [245]. Έτσι έχει κυκλοφορήσει στην αγορά το Lancer[®] ως προωθητικό ανάπτυξης.

Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν να ερευνηθεί η κατανομή των σπανίων γαιών στους ιστούς των κουνελιών. Από ότι γνωρίζουμε στο συγκεκριμένο είδος ζώου δεν έχει μελετηθεί κάτι τέτοιο. Έγινε προσδιορισμός των συγκεντρώσεων των La, Ce, Pr, Nd, Sm, Eu, Gd, Tb, Dy, Ho, Er, Tm, Yb, Lu, Sc, Y and Th, U σε τέσσερις διαφορετικούς ιστούς κουνελιών που έχουν εκτραφεί με διαφορετικό τρόπο και συγκεκριμένα, κυνήγι, οικόσιτα και εμπορικά κουνέλια.

7.2. Υλικά & Μέθοδοι

7.2.1. Συλλογή δειγμάτων

Για τους σκοπούς της μελέτης έγινε συλλογή διαφορετικών ιστών από 36 άγρια κουνέλια (κυνήγι) και 5 οικόσιτα κουνέλια που προέρχονταν από την νήσο Λήμνο, καθώς και από 12 εμπορικά κουνέλια. Τα άγρια κουνέλια πιάστηκαν χρησιμοποιώντας κυνηγετικό όπλο στην περιοχή διαβίωσης τους κατά την κυνηγετική περίοδο, ενώ τα υπόλοιπα ζώα σφαγιάστηκαν. Τα δείγματα προέρχονταν από τον επιμήκη ραχιαίο μυ, ήπαρ, αίμα και τρίχωμα. Όλα τα ζώα ανήκαν στο είδος *Oryctolagus Cuniculus* (Linnaeus, 1758) το οποίο ανήκει στη κλάση λαγόμορφα (Lagomorpha). Οι μετρήσεις του σωματικού βάρους πραγματοποιήθηκαν σε όλα τα δείγματα. Στην συνέχεια, όλα τα δείγματα συντηρήθηκαν στην κατάψυξη (-32°C).

7.2.2. Αντιδραστήρια

Τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν στο πειραματικό σκέλος ήταν το νιτρικό οξύ (Suprapur 65% w/v, Merck, Darmstadt, Germany), ίνδιο (In) ως εσωτερικό πρότυπο (Inorganic Ventures, New Jersey, USA) και ένα πρότυπο πολυστοιχειακό διάλυμα σπανίων γαιών

(Inorganic Ventures, New Jersey, USA). Τα πρότυπα διαλύματα παρακαταθήκης χρησιμοποιήθηκαν για την βαθμονόμηση του ICP-MS, ενώ είχε γίνει κατάλληλη αραίωση με 1.0% v/v HNO₃ και υπερ-κάθαρο νερό που προέρχεται από σύστημα αντίστροφης όσμωσης MilliQ plus system (Millipore, Saint Quentin Yvelines, France) με αντίσταση 18,2 MΩ cm⁻¹.

7.2.3. Προετοιμασία των δειγμάτων

Αρχικά, πραγματοποιήθηκε πλήρης χώνευση των δειγμάτων σε κλειστό σύστημα χώνευσης υποβοηθούμενο από μικροκύματα (CEM, Mars X-Press, Matthews, NC, USA). Στα δείγματα (1,00 g) προστέθηκαν 10 ml πυκνού νιτρικού οξέος. Στη συνέχεια, η θέρμανση τους επιταχύνθηκε στο υποβοηθούμενο από μικροκύματα σύστημα, ακολουθώντας το ακόλουθο θερμοκρασιακό πρόγραμμα: η ισχύς ανεβαίνει για 20 min από 100 στα 1200W και μένει σταθερή για 15 min. Η θερμοκρασία φτάνει στη μέγιστη τιμή της, 200°C, και ακολουθεί θερμοκρασιακή πτώση για 15 min. Πρέπει να τονιστεί ότι δεν έχουμε απώλειες πτητικών συστατικών καθώς οι οβίδες από teflon είναι σφραγισμένες κατά τη διάρκεια της χώνευσης. Ακολούθως, τα δείγματα φιλτράρονται χρησιμοποιώντας σύριγγα μιας χρήσης με φίλτρα 0,20μm/15mm (Chromafil, Macherey-Nagel, Duren, Germany) και αραιώνονται με νερό που προέρχεται από σύστημα αντίστροφης όσμωσης προτού αναλυθούν με την τεχνική ICP-MS. Τέλος, τα πρότυπα διαλύματα που χρησιμοποιήθηκαν για την βαθμονόμηση του οργάνου είναι υψηλής καθαρότητας πρότυπα υλικά.

7.2.4. Ανάλυση με ICP-MS

Έγινε προσδιορισμός των συγκεντρώσεων 16 σπανίων γαιών Ce, Dy, Er, Eu, Gd, Ho, La, Lu, Nd, Pr, Sc, Sm, Tb, Th, Tm, U, Y, Yb και δύο ακτινίδων, Th & U. Η τεχνική της Φασματομετρίας Μαζών με Επαγωγικά Συζευγμένο Πλάσμα (ICP-MS) διαθέτει, σχεδόν, αποκλειστική δυνατότητα προσδιορισμού των σπανίων γαιών προσφέροντας μεγάλη γραμμική περιοχή και όρια ανίχνευσης σε επίπεδο συγκεντρώσεων έως και ppt. Τα όρια ποσοτικοποίησης LOQ's (limits of quantification) είναι χαμηλότερα από τις συγκεντρώσεις των στοιχείων που προσδιορίστηκαν για όλα τα στοιχεία.

Το στοιχειακό προφίλ προσδιορίστηκε χρησιμοποιώντας ένα Perkin Elmer (SCIEX, Canada) 9000 Series, φασματόμετρο μαζών με επαγωγικά συζευγμένο πλάσμα, ICP-MS. Οι συνθήκες λειτουργίας του ICP-MS ήταν οι ακόλουθες: ροή αερίου στον εκνεφωτή 0.75 L min⁻¹, ισχύς του ICP RF 950 W, τάση των ιοντικών φακών 7 V, τάση στο παλμικό στάδιο 950 V και 26 rpm η συχνότητα πρόσληψης δείγματος από την περισταλτική αντλία. Η βαθμονόμηση για τις σπάνιες γαίες έγινε από 1 ppt έως 10 ppb. Για να επιτευχθεί η κατάλληλη ακρίβεια στην διαδικασία της μέτρησης χρησιμοποιήθηκε το ακόλουθο πιστοποιημένο υλικό αναφοράς: CRM-668 mussel tissue (European Commission, Joint Research Center, institute for reference materials and measurements IRMM, Belgium) για σπάνιες γαίες, με ικανοποιητική ανάκτηση, γενικά της

τάξης 70-120%. Τα πρότυπα υλικά αναφοράς ακολούθησαν επακριβώς την πειραματική πορεία και αναλύθηκαν εις τριπλούν.

7.2.5. Στατιστική ανάλυση

Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας το λογισμικό SAS (SAS Institute Inc., Cary NC, USA) πραγματοποιήθηκε Ανάλυση Διακύμανσης (ANOVA). Επιπλέον παρουσιάζονται στοιχεία περιγραφικής στατιστικής, μέση τιμή και τυπική απόκλιση. Η στατιστική ανάλυση έχει γίνει σε στάθμη εμπιστοσύνης 95% ($P \leq 0,05$), εκτός αν αναφέρεται σε κάποιο σημείο κάτι διαφορετικό.

7.3. Αποτελέσματα & Συζήτηση

Η συγκέντρωση των σπανίων γαιών και των ακτινίδων στο ήπαρ και τον μυ των άγριων κουνελιών παρουσιάζονται στον πίνακα 7.1. Στο συκώτι των άγριων κουνελιών, το λουτέτιο, Lu ($0,47 \pm 0,04 \mu\text{g/Kg}$), παρουσίασε την χαμηλότερη συγκέντρωση και το δημήτριο, Ce ($32,2 \pm 5,7 \mu\text{g/Kg}$), την υψηλότερη. Τα υπόλοιπα στοιχεία κυμάνθηκαν μεταξύ των δύο προαναφερθέντων, Eu ($0,65 \pm 0,05 \mu\text{g/Kg}$), Ho ($0,67 \pm 0,06 \mu\text{g/Kg}$), Tm ($0,67 \pm 0,05 \mu\text{g/Kg}$), Nd ($9,8 \pm 1,9 \mu\text{g/Kg}$), Th ($15,7 \pm 3,1 \mu\text{g/Kg}$) και La ($17,8 \pm 3,1 \mu\text{g/Kg}$). Στον μυ των άγριων κουνελιών, οι συγκεντρώσεις των στοιχείων σε αύξουσα σειρά ήταν Lu ($0,37 \pm 0,03 \mu\text{g/Kg}$), Eu ($0,44 \pm 0,02 \mu\text{g/Kg}$), Ho ($0,52 \pm 0,04 \mu\text{g/Kg}$), Tm ($0,63 \pm 0,04 \mu\text{g/Kg}$) Sc ($3,3 \pm 1,1 \mu\text{g/Kg}$), Th ($7,2 \pm 0,4 \mu\text{g/Kg}$) La ($7,5 \pm 2,3 \mu\text{g/Kg}$) και Ce ($10,89 \pm 0,79 \mu\text{g/Kg}$) (πίνακας 7.1). Η στατιστική ανάλυση εμφάνισε σημαντικά μεγαλύτερη συσσώρευση των στοιχείων αυτών στο ήπαρ από ότι στον μυ των άγριων κουνελιών. Συνεπώς, η συμπεριφορά των στοιχείων αυτών εναρμονίζονται με την τάση συσσώρευσης των βαρέων μετάλλων στους αντίστοιχους ιστούς κουνελιών [246]. Μόνο τα Lu, Sc, Tm και U είχαν παρόμοιες συγκεντρώσεις στους δύο ιστούς ($P > 0,05$).

Πίνακας 7.1. Μέση συγκέντρωση ($\mu\text{g/kg}$) και τυπική απόκλιση των σπανίων γαιών και των ακτινίδων σε άγρια κουνέλια (κυνήγι).

Αναλύτες	Άγρια		P-value
	Ήπαρ	Μυς	
Ce	32,2±5,7	10,89±0,79	0,001
Dy	1,09±0,07	0,74±0,03	<0,001
Er	1,09±0,06	0,84±0,04	0,002
Eu	0,65±0,05	0,44±0,02	<0,001

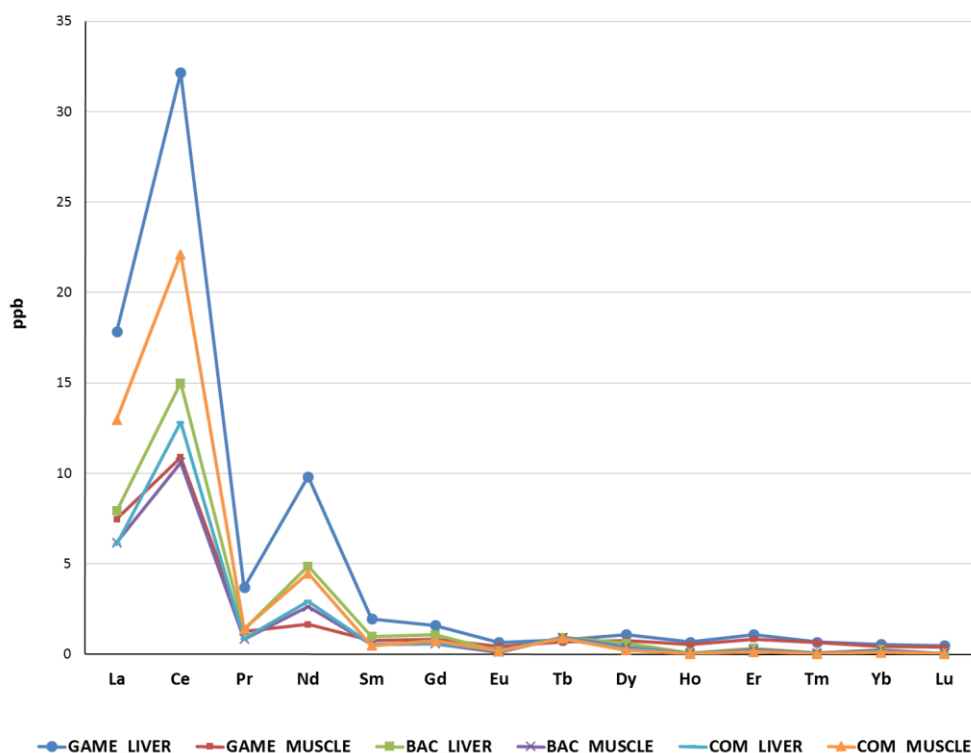
Gd	1,60±0,22	0,82±0,05	0,001
Ho	0,67±0,06	0,52±0,04	0,039
La	17,8±3,1	7,5±2,3	0,010
Lu	0,47±0,04	0,37±0,03	0,058
Nd	9,8±1,9	1,66±0,24	<0,001
Pr	3,69±0,54	1,24±0,04	<0,001
Sc	3,9±1,2	3,3±1,1	0,731
Sm	1,95±0,22	0,77±0,02	<0,001
Tb	0,78±0,04	0,67±0,02	0,021
Th	15,7±3,1	7,16±0,38	0,009
Tm	0,67±0,05	0,63±0,04	0,509
U	4,11±0,32	3,42±0,30	0,115
Y	2,93±0,36	1,54±0,19	0,001
Yb	0,55±0,03	0,43±0,02	0,001

Η συγκέντρωση των σπανίων γαιών και των ακτινίδων στο ήπαρ και τον μυ των οικόσιτων κουνελιών παρουσιάζονται στον πίνακα 7.2. Σχετικά με το ήπαρ, οι συγκεντρώσεις που προσδιορίστηκαν ήταν μεταξύ $0,05 \pm 0,01$ $\mu\text{g/Kg}$ (Lu) και $15,0 \pm 6,0$ $\mu\text{g/Kg}$ (Ce). Ανάμεσα στα 18 στοιχεία που προσδιορίστηκαν αυτά με τις υψηλότερες συγκεντρώσεις ήταν Ce ($15,0 \pm 6,0$ $\mu\text{g/Kg}$), La ($7,9 \pm 3,0$ $\mu\text{g/Kg}$), U ($7,04 \pm 0,06$ $\mu\text{g/Kg}$), Nd ($5,9 \pm 2,6$ $\mu\text{g/Kg}$), ενώ εκείνα με τις χαμηλότερες ήταν Lu ($0,05 \pm 0,01$ $\mu\text{g/Kg}$), Tm ($0,06 \pm 0,02$ $\mu\text{g/Kg}$), Ho ($0,07 \pm 0,03$ $\mu\text{g/Kg}$), Eu ($0,19 \pm 0,08$ $\mu\text{g/Kg}$). Σε ότι αφορά τον μυ των οικόσιτων κουνελιών, οι συγκεντρώσεις κυμάνθηκαν μεταξύ $0,04 \pm 0,01$ $\mu\text{g/Kg}$ (Lu) και $10,6 \pm 1,1$ $\mu\text{g/Kg}$ (Ce). Τα στοιχεία με τις υψηλότερες συγκεντρώσεις που προσδιορίστηκαν ήταν σε φθίνουσα σειρά Ce ($10,6 \pm 1,1$ $\mu\text{g/Kg}$), U ($7,22 \pm 0,11$ $\mu\text{g/Kg}$), La ($6,16 \pm 0,71$ $\mu\text{g/Kg}$), Y ($2,69 \pm 0,46$ $\mu\text{g/Kg}$), ενώ με τις χαμηλότερες Lu ($0,04 \pm 0,01$ $\mu\text{g/Kg}$), Tm ($0,05 \pm 0,01$ $\mu\text{g/Kg}$), Ho ($0,05 \pm 0,01$ $\mu\text{g/Kg}$), Eu ($0,11 \pm 0,02$ $\mu\text{g/Kg}$). Θα πρέπει να τονιστεί πως στα οικόσιτα κουνέλια, δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο ιστών που εξετάστηκαν. Επιπλέον, οι συγκεντρώσεις των σπανίων γαιών και ακτινίδων στα άγρια κουνέλια ήταν υψηλότερες από ότι στα οικόσιτα, πιθανώς λόγω διαφορετικής διατροφής (Σχήμα 7.1). Φαίνεται, λοιπόν, ότι τα άγρια κουνέλια είναι περισσότερο εκτεθειμένα σε σπάνιες γαίες και ακτινίδες, προφανώς λόγω της τροφής που καταναλώνουν, το στοιχειακό περιεχόμενο της οποίας είναι άμεσα εξαρτώμενο από τα χαρακτηριστικά του εδάφους σε κάθε περιοχή. Από ότι φαίνεται τα οικόσιτα κουνέλια λαμβάνουν χαμηλότερες ποσότητες σπανίων γαιών από την διατροφή τους και αυτός είναι ο λόγος που δεν παρουσιάζουν συσσώρευση στο ήπαρ όπως τα άγρια.

Πίνακας 7.2. Μέση συγκέντρωση (μg/kg) και τυπική απόκλιση των σπανίων γαιών και των ακτινιδών σε οικόσιτα κουνέλια.

Αναλύτες	Οικόσιτα		P-value
	Ήπαρ	Μυς	
Ce	15,0±6,0	10,6±1,1	0,508
Dy	0,61±0,26	0,39±0,09	0,464
Er	0,33±0,13	0,24±0,05	0,545
Eu	0,19±0,08	0,11±0,02	0,363
Gd	1,07±0,55	0,57±0,10	0,418
Ho	0,07±0,03	0,05±0,01	0,421
La	7,9±3,0	6,16±0,71	0,589
Lu	0,05±0,001	0,04±0,001	0,761
Nd	4,87±2,56	2,62±0,53	0,435
Pr	1,35±0,70	0,84±0,17	0,515
Sc	18,8±4,8	10,5±1,7	0,166
Sm	0,97±0,46	0,52±±0,10	0,391
Tb	0,92±0,01	0,93±0,01	0,585
Th	2,70±0,41	2,50±0,13	0,660
Tm	0,06±0,02	0,05±0,01	0,628
U	7,04±0,06	7,22±0,12	0,243
Y	3,5±1,2	2,69±0,46	0,564
Yb	0,25±0,09	0,22±0,05	0,741

Σχήμα 7.1. Συγκέντρωση των σπανίων γαιών, ανά ιστό, σε άγρια, οικόσιτα και εμπορικά κουνέλια.



Επιπροσθέτως, προσδιορίστηκε η συγκέντρωση των σπανίων γαιών και των ακτινίδων σε 4 διαφορετικούς ιστούς (ήπαρ, μυς, αίμα, τρίχωμα) εμπορικών κουνελιών. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον πίνακα 7.3. Αναφορικά με το ήπαρ των εμπορικών κουνελιών, οι συγκεντρώσεις που προσδιορίστηκαν ήταν μεταξύ $0,03 \pm 0,001 \mu\text{g/Kg}$ (Lu) και $13,05 \pm 0,49 \mu\text{g/Kg}$ (Ce). Όσον αφορά τον μυ, οι συγκεντρώσεις που προσδιορίστηκαν ήταν μεταξύ $0,02 \pm 0,001 \mu\text{g/Kg}$ (Lu) και $22,1 \pm 6,7 \mu\text{g/Kg}$ (Ce). Οι συγκεντρώσεις των σπανίων γαιών στο ήπαρ ήταν χαμηλότερες συγκρινόμενες με αυτές στα άγρια κουνέλια και στα ίδια επίπεδα συγκρινόμενες με τα οικόσιτα. Αυτό μάλλον οφείλεται στις μικρές ποσότητες που λαμβάνουν με την διατροφή τους. Αυτό πιθανώς οφείλεται σε παραπλήσια διατροφή εμπορικών και οικόσιτων. Παραπλήσια επίπεδα σπανίων γαιών επίσης παρατηρήθηκαν στον μυ των εμπορικών και οικόσιτων κουνελιών. Τα παραπάνω αποτελέσματα αποτελούν ένδειξη ότι η συσσώρευση των σπανίων γαιών στα εμπορικά και οικόσιτα κουνέλια έχει κοινή τάση, πιθανώς λόγω ομοιοτήτων στη διατροφή. Οι συγκεντρώσεις όλων των στοιχείων, εκτός από το Pr, ήταν στατιστικώς σημαντικά διαφορετικές για τους διαφορετικούς ιστούς ($P \leq 0,001$). Από την άλλη πλευρά, οι συγκεντρώσεις στο ήπαρ και το αίμα δεν ήταν σημαντικά διαφορετικές για 11 στοιχεία, συγκεκριμένα για τα Dy, Ho, La, Lu, Pr, Tb, Th, U, Y and Yb.

Πίνακας 7.3. Μέση συγκέντρωση (μg/kg) και τυπική απόκλιση των σπανίων γαιών και των ακτινίδων σε εμπορικά κουνέλια.

	Εμπορικά				P-Value
	Ήπαρ	Μυς	Αίμα	Τρίχωμα	
Ce	12,8±1,4 ^a	22,1±6,7 ^{ac}	55,05±3,3 ^b	27,2±2,5 ^c	<0,001
Dy	0,31±0,01 ^a	0,23±0,01 ^b	0,41±0,05 ^a	0,64±0,05 ^c	<0,001
Er	0,19±0,01 ^a	0,14±0,01 ^b	0,24±0,03 ^c	0,37±0,02 ^d	<0,001
Eu	0,20±0,01 ^a	0,16±0,01 ^b	0,29±0,01 ^c	0,38±0,02 ^d	<0,001
Gd	0,62±0,06 ^a	0,75±0,20 ^{ac}	1,82±0,12 ^b	1,33±0,12 ^{bc}	<0,001
Ho	0,040±0,001 ^a	0,030±0,001 ^b	0,05±0,01 ^a	0,08±0,01 ^c	<0,001
La	6,09±0,83 ^a	13,0±4,4 ^{ab}	7,85±0,95 ^a	14,8±1,5 ^b	<0,001
Lu	0,030±0,001 ^a	0,020±0,001 ^b	0,040±0,002 ^a	0,060±0,003 ^c	<0,001
Nd	2,94±0,28 ^a	4,5±1,4 ^a	4,20±0,29 ^b	6,00±0,60 ^b	0,001
Pr	0,85±0,11 ^a	1,40±0,47 ^a	1,09±0,10 ^a	1,68±0,18 ^b	0,007
Sc	13,05±0,49 ^a	10,66±0,51 ^b	20,2±1,0 ^c	35,9±1,2 ^d	<0,001
Sm	0,55±0,02 ^a	0,47±0,02 ^a	0,81±0,06 ^b	1,18±0,09 ^c	<0,001
Tb	0,91±0,03 ^a	0,87±0,03 ^a	0,850±0,002 ^a	1,82±0,02 ^b	<0,001
Th	2,47±0,07 ^a	2,12±0,05 ^b	2,40±0,07 ^a	4,66±0,12 ^c	<0,001
Tm	0,04±0,001 ^a	0,03±0,001 ^b	0,050±0,004 ^a	0,08±0,004 ^c	<0,001
U	7,22±0,20 ^a	6,84±0,19 ^a	6,73±0,03 ^a	14,93±0,14 ^b	<0,001
Y	2,40±0,12 ^a	1,70±0,09 ^b	3,17±0,28 ^a	4,59±0,29 ^c	<0,001
Yb	0,15±0,01 ^a	0,10±0,01 ^b	0,19±0,02 ^a	0,31±0,02 ^c	<0,001

Αυτή η μελέτη έρχεται να προστεθεί στην πολύ περιορισμένη βιβλιογραφία που υπάρχει για την κατανομή των σπανίων γαιών στους ιστούς των ζώων. Επιπλέον, σύμφωνα με αυτά που γνωρίζουμε, αυτή είναι η πρώτη μελέτη προσδιορισμού σπανίων γαιών σε ιστούς κουνελιών. Προηγούμενες μελέτες είχαν ασχοληθεί με την συσσώρευση αυτών των στοιχείων σε χοίρους [247], χοιρίδια [242], όρνιθες ωοπαραγωγής [248] και ταύρους [249]. Οι τιμές των σπανίων γαιών που προσδιορίστηκαν σε προηγούμενες μελέτες συγκρινόμενες με τις συγκεντρώσεις της παρούσας μελέτης παρουσιάζονται στον πίνακα 7.4 και στον πίνακα 7.5. Έτσι, το La και το Ce ήταν τα πλέον άφθονα στοιχεία στο ήπαρ, σύμφωνα με τις προηγούμενες μελέτες (Πίνακας 7.4). Επιπλέον, μόνο το La και το Ce έχουν προσδιοριστεί στον μυ (Πίνακας 7.5). Οι Schwabe et. al. [249], προσδιόρισαν την πλειονότητα των σπανίων γαιών στο ήπαρ και τους νεφρούς παχυνόμενων ταύρων. Το συκώτι των άγριων κουνελιών, παρουσίασε τις υψηλότερες

συγκεντρώσεις για τις περισσότερες από τις σπάνιες γαίες, όπως φαίνεται στον Πίνακα 7.4. Το τελευταίο, είναι πιθανώς ανησυχητικό για αυτούς που καταναλώνουν κυνήγι, καθώς ο διατροφικός ρόλος των σπανίων γαιών δεν έχει αποσαφηνιστεί. Έτσι, δεν έχει εξεταστεί επαρκώς η τοξικότητα τους μέσω της διατροφής και ούτε έχουν οριστεί όρια Αποδεκτής Ημερήσιας Πρόσληψης (Acceptable Daily Intake, ADI). Το 1991, η Κίνα θέσπισε κανονισμό για όρια των συνολικών οξειδίων των σπανίων γαιών (Rare Earth Oxides, REOs) στα δημητριακά και τα λαχανικά [250]. Στην ΕΕ σύμφωνα με όσα γνωρίζουμε δεν υπάρχει παρόμοια νομοθεσία, στην οποία να αξιολογείται ο πιθανός κίνδυνος από τις σπάνιες γαίες στην διατροφή. Στην Κίνα, δεν έχουν οριστεί ακόμα όρια για τη συγκέντρωση των συνολικών οξειδίων των σπανίων γαιών στο κρέας, ωστόσο είναι υπό έρευνα. Η θέσπιση ορίων πρόσληψης των οξειδίων των σπανίων γαιών για προϊόντα ζωικής προέλευσης θα πρέπει να γίνει όχι μόνο στην Κίνα, αλλά και στην ΕΕ.

Πίνακας 7.4. Μέση συγκέντρωση (μg/Kg) των σπανίων γαιών στο ήπαρ κουνελιών και άλλων ζώων από προηγούμενες μελέτες.

Ήπαρ	άγρια	οικόσιτα	εμπορικά	Schwabe et. al. 2012	He et. al. 2000	He et. al. 2001	He et. al. 2010
Αριθμός δειγμάτων	36	5	12	11	12	7	12
Ζώο	κουνέλια	κουνέλια	κουνέλια	ταύροι	χοιρίδια	χοίροι	όρνηθες ωοπαραγωγής
La	17,8	7,9	6,09	22	1,1	2,8	20
Ce	32,2	15,0	12,8	37	<17	<52	20
Pr	3,69	1,35	0,85	4			
Nd	9,83	4,87	2,94	8,7			
Sm	1,95	0,97	0,55	0,96			
Eu	0,65	0,19	0,20	0,23			
Gd	1,60	1,07	0,62	1,6			
Tb	0,78	0,92	0,91	0,07			
Dy	1,09	0,61	0,31	0,23			
Ho	0,67	0,07	0,04	0,03			
Er	1,09	0,33	0,19	0,15			
Tm	0,67	0,06	0,04	n, d,*			
Yb	0,55	0,25	0,15	0,05			
Lu	0,47	0,05	0,03	n, d,*			
Y	2,93	3,48	1,70	4			
Sc	3,92	18,8	13,1	292			

* not detected

Πίνακας 7.5. Μέση συγκέντρωση (μg/Kg) των σπανίων γαιών στον μυ κουνελιών και άλλων ζώων από προηγούμενες μελέτες.

Μυς	άγρια	οικόσιτα	εμπορικά	He et. al. 2001	He et. al. 2010
Ζώο	κουνέλια	κουνέλια	κουνέλια	χοίροι	όρνηθες ωοπαραγωγής
Αριθμός δειγμάτων	36	5	12	7	12
La	7,48	6,16	13,0	3	40
Ce	32,2	10,6	22,1	<33	20

Η στοιχειακή σύσταση των ιστών των ζώων αντανακλά και σχετίζεται σε μεγάλο βαθμό με την βοσκή ή την τροφή φυτικής προέλευσης που καταναλώνουν, αναλόγως του τύπου εκτροφής. Έτσι, η στοιχειακή σύσταση της τροφής σχετίζεται άμεσα με το έδαφος στο οποίο καλλιεργείται, όπου ανάλογα με την περιοχή και τις εδαφοκλιματικές συνθήκες αλλάζει η βιοδιαθεσιμότητα των ιχνοστοιχείων [1]. Έτσι, η μετανάστευση των σπανίων γαιών με την αποσάθρωση από πετρώματα στο περιβάλλον επιταχύνεται από διάφορες ανθρωπογενείς δραστηριότητες, οι οποίες τελικά μπορούν να οδηγήσουν στην είσοδο τους στα ζώα και τους ανθρώπους μέσω της διατροφής [251]. Η συνεχώς αυξανόμενη εξόρυξη των σπανίων γαιών και ακολούθως η χρησιμοποίησή τους έχει ως αποτέλεσμα τις ασυνήθιστα υψηλές τους συγκεντρώσεις τους στο περιβάλλον [252, 253]. Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης έχουν εξαχθεί από την νήσο Λήμνο, μια περιοχή η οποία δεν είναι επιβαρυνμένη περιβαλλοντικά με σπάνιες γαίες. Από την στιγμή που, τα άγρια ζώα τρέφονται μόνο με την βλάστηση της περιοχής πιθανώς να έχουν επιμολυνθεί με τοξικά επίπεδα σπανίων γαιών. Επιπροσθέτως, ακόμα ένα γεγονός που αντανακλά το ενδιαφέρον της επιστημονικής κοινότητας για την μελέτη της βιοσυσώρευσης των σπανίων γαιών από το ζωικό βασίλειο είναι μια πρόσφατα δημοσιευμένη εργασία στα ψάρια [254]. Θα πρέπει να αναφερθεί πως ενώ υπάρχουν αρκετές μελέτες που προσδιορίζουν οξειδία των σπανίων γαιών σε διάφορα τρόφιμα, η συντριπτική τους πλειοψηφία είναι γραμμένη στα κινέζικα. Το 2012, οι Jiang et. al., προσδιόρισαν σπάνιες γαίες και οξειδία των σπανίων γαιών σε 16 διαφορετικές κατηγορίες τροφίμων [250]. Τα όρια ασφαλείας που έχουν δημοσιευτεί, αναφέρονται σε οξειδία των σπανίων γαιών (rare earth oxides, REOs,) ή συνολικά οξειδία των σπανίων γαιών (total rare earth oxides, TREOs). Αυτό διότι έτσι αναφέρονται στην Κινέζικη νομοθεσία. Σημειώνεται ότι, λόγω των μεγάλων ποσοτήτων που παράγονται και των μεγάλων αποθεμάτων (85% της παγκόσμιας ποσότητας), η βιβλιογραφία είναι σε Κινέζικα επιστημονικά περιοδικά που ασχολούνται από την δεκαετία του 80 ενώ στον δυτικό κόσμο δεν υπάρχουν αποθέματα και μελέτες. Είναι χρήσιμος ο προσδιορισμός τιμών αναφοράς για της σπάνιες γαίες στα τρόφιμα [76]. Στον πίνακα 7.6, παρουσιάζονται οι συγκεντρώσεις για τις συνολικές σπάνιες γαίες (total REEs) και τα συνολικά οξειδία των σπανίων γαιών (TREOs) που προσδιορίστηκαν στο ήπαρ και το συκώτι των άγριων κουνελιών. Επιπλέον γίνεται σύγκριση με τα αποτελέσματα της μελέτης των Jiang et. al. (2012) [249]. Τα οξειδία των σπανίων γαιών έχουν υπολογιστεί με κατάλληλους συντελεστές μετατροπής όπως παρουσιάζεται στις παραπομπές [76, 250]. Η συγκέντρωση των συνολικών σπανίων γαιών και των συνολικών οξειδίων των σπανίων γαιών που προσδιορίστηκαν στο ήπαρ είναι στα ίδια επίπεδα με τις τιμές που είχαν δημοσιευτεί για το φρέσκο κρέας από Jiang et. al. [249], ενώ για

το μυ οι αντίστοιχες συγκεντρώσεις είναι σημαντικά χαμηλότερες. Λόγω έλλειψης ορίων ασφαλείας για το φρέσκο κρέας, τα οξειδία των σπανίων γαιών που υπολογίστηκαν για το ήπαρ και τον μυ συγκρίθηκαν με τα όρια για τα δημητριακά και τα φρέσκα λαχανικά. Τα κινέζικα όρια ασφαλείας των οξειδίων των σπανίων γαιών για τα δημητριακά είναι 2.0 mg/Kg και για τα φρέσκα λαχανικά 0,7 mg/Kg. Έχοντας υπόψη όσα προαναφέρθηκαν, η κατανάλωση του κρέατος από κυνήγι είναι ασφαλής καθώς τα οξειδία των σπανίων γαιών είναι για το μεν ήπαρ 97,03 μg/Kg, ενώ για τον μυ, 39.83 μg/Kg. Σε αμφοτέρους περιπτώσεις χαμηλότερα από τα υπάρχοντα όρια ασφαλείας. Ωστόσο, αν και η μελέτη μας αποτελεί μια εκτίμηση της ασφάλειας του κρέατος από κυνήγι και για να είναι πλήρως τεκμηριωμένη θα πρέπει να γίνει περαιτέρω έρευνα επί του θέματος.

Πίνακας 7.6. Συγκεντρώσεις των συνολικών σπανίων γαιών και των συνολικών οξειδίων των σπανίων γαιών (μg/Kg) σε ήπαρ και μυ άγριων κουνελιών και φρέσκου κρέατος από την κινέζικη αγορά.

	Liver	muscle	Jiang et al. (fresh meat) [249]
Total REEs	79,9	32,4	80
TREOs	97,0	39,8	98

Σύμφωνα με όσα γνωρίζουμε, είναι η πρώτη φορά που γίνεται προσδιορισμός των σπανίων γαιών σε τρίχωμα και αίμα ζώων. Συνεπώς, τα αποτελέσματα μας μπορούν να προταθούν σαν τιμές αναφοράς για τα ζώα. Ο πίνακας 7.3 εμφανίζει ότι το τρίχωμα είναι ο ιστός με την υψηλότερη συγκέντρωση σε όλα τα στοιχεία που έχουν προσδιοριστεί, εκτός των Ce και Gd που παρουσίασαν υψηλότερες συγκεντρώσεις στο αίμα. Σχετικά με το τρίχωμα των εμπορικών κουνελιών τα επίπεδα των σπανίων γαιών κυμάνθηκαν μεταξύ $35,86 \pm 1,21$ μg/Kg (Sc) και $0,06 \pm 0,003$ μg/Kg (Lu). Τα στοιχεία με την υψηλότερη συγκέντρωση ήταν με τη σειρά Sc ($35,86 \pm 1,21$ μg/Kg), Ce ($27,17 \pm 2,54$ μg/Kg), U ($14,93 \pm 0,14$ μg/Kg), La ($14,78 \pm 1,47$ μg/Kg), ενώ με τη χαμηλότερη ήταν τα Lu ($0,05 \pm 0,01$ μg/Kg), Tm ($0,08 \pm 0,01$ μg/Kg), Ho ($0,04 \pm 0,01$ μg/Kg), Yb ($0,31 \pm 0,02$ μg/Kg). Αντίθετα το αίμα περιείχε περισσότερο Ce ($55,05 \pm 3,26$ μg/Kg) και Gd ($1,82 \pm 0,12$ μg/Kg).

Τα αποτελέσματα δείχνουν πως οι λανθανίδες με την υψηλότερη συγκέντρωση ήταν με φθίνουσα σειρά Ce, La, Nd and Pr (Σχήμα 7.1). Το γεγονός αυτό έρχεται σε συμφωνία με τον κανόνα των Oddon-Harkins ο οποίος περιγράφει την φυσική αφθονία των λανθανίδων. Σύμφωνα με τον κανόνα, η συγκέντρωση των λανθανίδων μειώνεται με την αύξηση του ατομικού τους αριθμού. Επίσης τα στοιχεία με άρτιο ατομικό αριθμό είναι σε μεγαλύτερη αφθονία από αυτά με περιττό. Αυτό σημαίνει πως ο κανόνας επεκτείνεται στο ήπαρ και τον μυ των ζώων. Μάλιστα, το αποτέλεσμα αυτό ήταν κοινό ανεξαρτήτως του τρόπου εκτροφής των ζώων.

Ο προσδιορισμός των σπανίων γαιών στους ιστούς των κουνελιών δεν αποσκοπεί μόνο στο να αναδείξει την ανάγκη για θέσπιση ορίων ασφαλείας μέσω της διατροφής στις δυτικές χώρες, αλλά και να υποδείξει το κενό που υπάρχει στις γνώσεις γύρω από την συμπεριφορά των σπανίων γαιών στους ζώντες ανώτερους οργανισμούς. Η επιστημονική κοινότητα έχει ασχοληθεί με τις φυσιολογικές και βιοχημικές επιδράσεις των σπανίων γαιών σε μικροοργανισμούς [103, 255] και φυτά [72, 73], όμως όχι επαρκώς με τις επιδράσεις στα ζώα και τον άνθρωπο. Η βιβλιογραφία γύρω από αυτό το θέμα είναι περιορισμένη και κυρίως γραμμένη στα κινέζικα. Αξιοσημείωτη ιδιότητα των σπανίων γαιών και κυρίως των λανθανίδων είναι η ικανότητά τους να υποκαθιστούν μεταλλικά ιόντα όπως τα Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{3+} , Fe^{2+} ή Mn^{2+} . Ειδική προσοχή πρέπει να δοθεί στην υποκατάσταση του ασβεστίου, λόγω της συμμετοχής του στοιχείου αυτού στον κυτταρικό μεταβολισμό [108]. Οι λανθανίδες παρουσιάζουν ομοιότητες με το Ca^{2+} στον αριθμό υποκαταστατών, στο μέγεθος αλλά και τη γεωμετρία, που τους επιτρέπουν να το υποκαθιστούν σε διάφορες φυσιολογικές διαδικασίες [256]. Παρ' όλα αυτά, μέχρι στιγμής δεν είναι ξεκάθαρο το υπό ποιες συνθήκες η υποκατάσταση ενεργοποιεί μεταβολικά μονοπάτια ή προκαλεί προβλήματα όπως δυσλειτουργίες στην διαμεμβρανική μεταφοράς ασβεστίου [76, 257].

8. Επικύρωση μεθόδου ICP-MS για πολυστοιχειακούς προσδιορισμούς σε ντοματάκια

Κατά την επικύρωση της μεθόδου για τον προσδιορισμό των αναλυτών, (μετά από σειρά πειραμάτων) μελετήθηκαν τα εξής χαρακτηριστικά ποιότητας: γραμμικότητα (linearity), πιστότητα (precision) υπό συνθήκες επαναληψιμότητας (repeatability) και υπό συνθήκες ενδοεργαστηριακής αναπαραγωγιμότητας (reproducibility), ακρίβεια (accuracy), όριο ανίχνευσης (Limit of Detection, LOD) και όριο ποσοτικοποίησης (Limit of Quantification, LOQ). Επίσης έγινε εκτίμηση της αβεβαιότητας σύμφωνα με την EURACHEM. Η μέθοδος επικυρώθηκε σύμφωνα με τις απαιτήσεις που έχει θεσπίσει η Ευρωπαϊκή Ένωση για τον επίσημο έλεγχο των επιπέδων των βαρέων μετάλλων και άλλων προσμείξεων από με τον Κανονισμό της Επιτροπής (EC) Νο 333/2007 [204] αλλά και τον (EC) Νο 657/2002 [33]. Η επικύρωση πραγματοποιήθηκε σε ΠΟΠ « Τοματάκι Σαντορίνης».

8.1 Εκτίμηση της γραμμικότητας

Η γραμμικότητα της καμπύλης αναφοράς για τα πρότυπα σε διαλύματα που προσομοιάζαν την μήτρα μελετήθηκε στις συγκεντρώσεις 0,0001, 0,001, 0,01, 0,05, 0,1, 0,5, 1, 10 και 100 µg/L για τις σπάνιες γαίες, τις ακτινίδες, τα πολύτιμα μέταλλα και άλλα πολύ μικρής φυσικής αφθονίας ιχνοστοιχεία. Ενώ για τα υπόλοιπα ιχνοστοιχεία και τα μακρο-στοιχεία οι συγκεντρώσεις ήταν 0,001, 0,01, 0,1, 0,5, 1, 5, 10, 50, 100, 1000 και 10000. Τα αποτελέσματα παρατίθενται στον παρακάτω πίνακα. Όπως φαίνεται οι περισσότεροι αναλύτες εμφανίζουν συντελεστή συσχέτισης μεγαλύτερο από 0,98.

Πίνακας 8.1: Αποτελέσματα γραμμικότητας.

Κατηγορία στοιχείων	Αναλύτης	Γραμμική περιοχή μg/L	Συντελεστής Συσχέτισης (r^2)	
Σπάνιες Γαίες	Ce	0,001-100	0,984	
	Dy	0,001-100	0,997	
	Er	0,001-100	0,988	
	Eu	0,001-100	0,987	
	Gd	0,01-100	0,995	
	Ho	0,001-100	0,994	
	La	0,01-100	0,991	
	Lu	0,001-100	0,988	
	Nd	0,01-100	0,988	
	Pr	0,001-100	0,991	
	Sc	0,01-100	0,980	
	Sm	0,001-100	0,994	
	Tb	0,001-100	0,989	
	Tm	0,001-100	0,993	
	Y	0,001-100	0,984	
	Yb	0,001-100	0,995	
	Ακτινίδες	Th	0,001-100	0,988
		U	0,001-100	0,992
	Πολύτιμα μέταλλα	Au	0,01-100	0,978
Ir		0,001-100	0,988	
Pd		0,01-100	0,988	
Pt		0,01-100	0,977	
Re		0,001-100	0,989	
Rh		0,001-100	0,993	
Ru		0,01-100	0,988	
Ιχνοστοιχεία	Ag	0,01-10000	0,989	
	Al	0,1-10000	0,984	

	As	0,01-10000	0,987
	B	1-10000	0,990
	Ba	0,01-10000	0,988
	Be	0,01-10000	0,985
	Bi	0,01-10000	0,988
	Cd	0,1-10000	0,986
	Cs	0,01-10000	0,989
	Cr	0,1-10000	0,986
	Co	0,1-10000	0,988
	Cu	0,1-10000	0,990
	Fe	10-10000	0,990
	Ga	0,01-10000	0,986
	Hf	0,01-100	0,992
	In	0,01-1000	0,988
	Pb	0,01-10000	0,984
	Li	0,1-10000	0,985
	Mn	0,1-10000	0,986
	Mo	0,01-10000	0,988
	Nb	0,001-100	0,992
	Ni	0,01-10000	0,987
	Rb	0,01-10000	0,996
	Sb	0,001-100	0,993
	Se	0,01-10000	0,978
	Si	10-10000	0,988
	Sn	0,001-100	0,989
	Sr	0,01-10000	0,994
	Ta	0,001-100	0,988
	Tl	0,01-10000	0,990
	Ti	0,5-10000	0,987
	V	0,1-10000	0,989

	W	0,01-100	0,993
	Zn	0,1-10000	0,986
	Zr	0,001-100	0,988
Μάκρο-στοιχεία	Ca	10-10000	0,987
	K	10-10000	0,988
	Mg	10-10000	0,978
	Na	1-10000	0,978
	P	100-10000	0,976

8.2 Εκτίμηση της ακρίβειας (ορθότητα)

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

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

Όπου:

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

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

Επειδή στα υποστρώματά μας ήδη υπήρχε κάποια συγκέντρωση των αναλυτών έγινε η κατάλληλη αφαίρεση της συνεισφοράς τους από το $C_{\text{πειρ}}$. Η ακρίβεια (ορθότητα) της μεθόδου εξετάστηκε σε τουλάχιστον δύο επίπεδα εμβολιασμού για τον κάθε αναλύτη. Στους παρακάτω πίνακες παρουσιάζονται αναλυτικά τα αποτελέσματα.

Πίνακας 8.2: Μέση τιμή των ανακτήσεων των αναλυτών για τα δύο επίπεδα εμβολιασμού (1^ο επίπεδο εμβολιασμού 0,1 ppb και 2^ο επίπεδο εμβολιασμού 1 ppb) σε υπόστρωμα ντοματακιών (N=6) για τις σπάνιες γαίες, τις ακτινίδες, τα πολύτιμα μέταλλα και ιχνοστοιχεία με πολύ μικρή φυσική αφθονία.

Κατηγορία στοιχείων	Αναλύτης	Μέση Τιμή Ανάκτησης %	
		1 ^ο Επίπεδο 0,1 ppb	2 ^ο Επίπεδο 1 ppb
Σπάνιες Γαίες	Ce	110,43	105,3
	Dy	117,8	88,1

	Er	90,1	75,5
	Eu	135,8	75,4
	Gd	127,3	87,8
	Ho	79,5	85,2
	La	109,0	124,1
	Lu	95,0	83,9
	Nd	124,7	109,6
	Pr	131,9	96,1
	Sc	98,3	113,1
	Sm	136,7	77,1
	Tb	99,5	80,0
	Tm	104,2	90,2
	Y	114,6	116,2
	Yb	115,3	80,6
Ακτινίδες	Th	93,6	95,5
	U	108,5	85,7
Πολύτιμα μέταλλα	Au	106,8	78,7
	Ir	124,2	79,3
	Pd	149,1	60,9
	Pt	132,3	97,4
	Re	108,3	98,2
	Rh	106,6	88,1
	Ru	105,7	78,1
Ιχνοστοιχεία	Hf	140,0	71,3
	Nb	125,2	74,0
	Sb	113,6	80,6
	Sn	102,8	108,3
	Ta	104,5	86,8
	W	116,0	82,8
	Zr	133,2	67,6

Πίνακας 8.4: Μέση τιμή των ανακρίσεων των αναλυτών για τα τρία επίπεδα εμβολιασμού (1^ο επίπεδο εμβολιασμού 10 ppb, 2^ο επίπεδο εμβολιασμού 100 ppb και 3^ο επίπεδο εμβολιασμού 1000 ppb) σε υπόστρωμα ντοματακιών (N=6) για τα ιχνοστοιχεία.

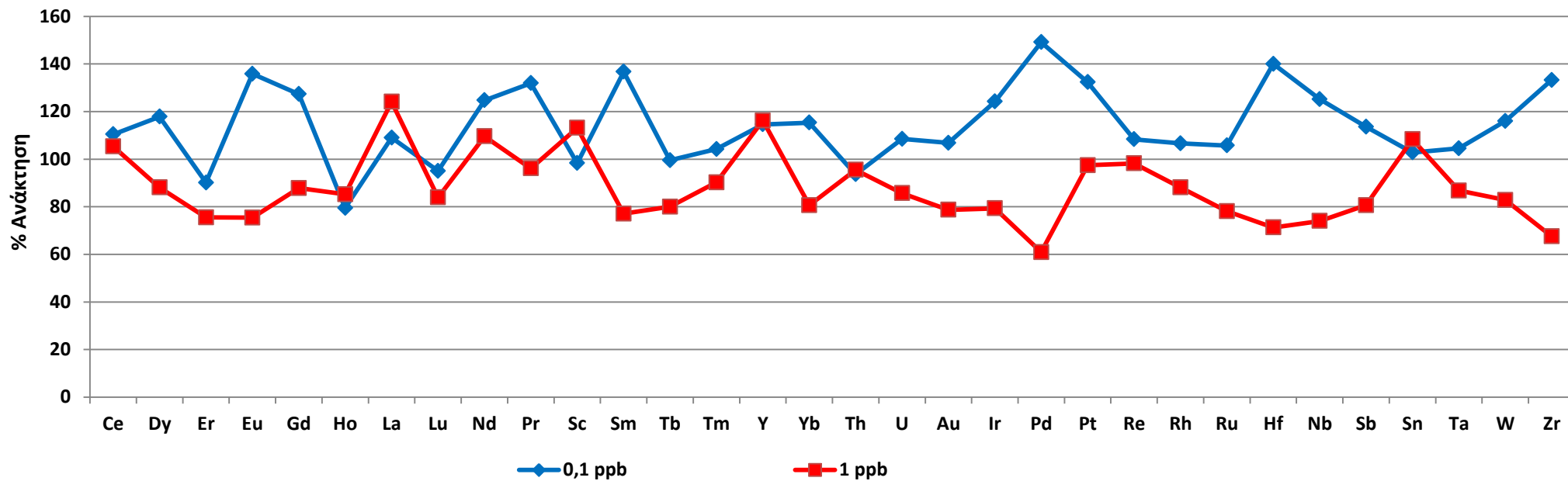
Κατηγορία στοιχείων	Αναλύτης	1^ο Επίπεδο 10 ppb	2^ο Επίπεδο 100 ppb	3^ο Επίπεδο 1000 ppb
Ιχνοστοιχεία	Ag	106,4	110,4	104,5
	Al	114,6	117,3	123,8
	As	96,0	83,9	57,2
	B	105,7	109,9	145,8
	Ba	93,9	80,7	117,9
	Be	76,6	74,3	82,6
	Bi	112,2	107,9	105,1
	Cd	111,0	101,1	110,8
	Cr	83,4	70,7	89,6
	Cs	98,8	98,5	84,1
	Co	63,1	54,2	43,0
	Cu	101,9	65,9	89,7
	Fe	136,9	101,2	130,7
	Ga	107,1	92,3	189,1
	In	50,3	72,5	55,9
	Li	87,6	109,3	71,5
	Mn	75,3	100,9	82,4
	Mo	109,5	102,2	79,7
	Ni	80,5	97,6	49,7
	Pb	83,2	108,5	94,8
Rb	97,2	100,1	90,7	
Se	114,5	102,2	67,1	
Si	129,6	136,2	96,0	
Sr	112,9	111,3	82,4	

	Tl	86,8	84,3	75,9
	Ti	118,4	113,2	137,3
	V	114,7	116,6	84,4
	Zn	113,0	119,2	82,1

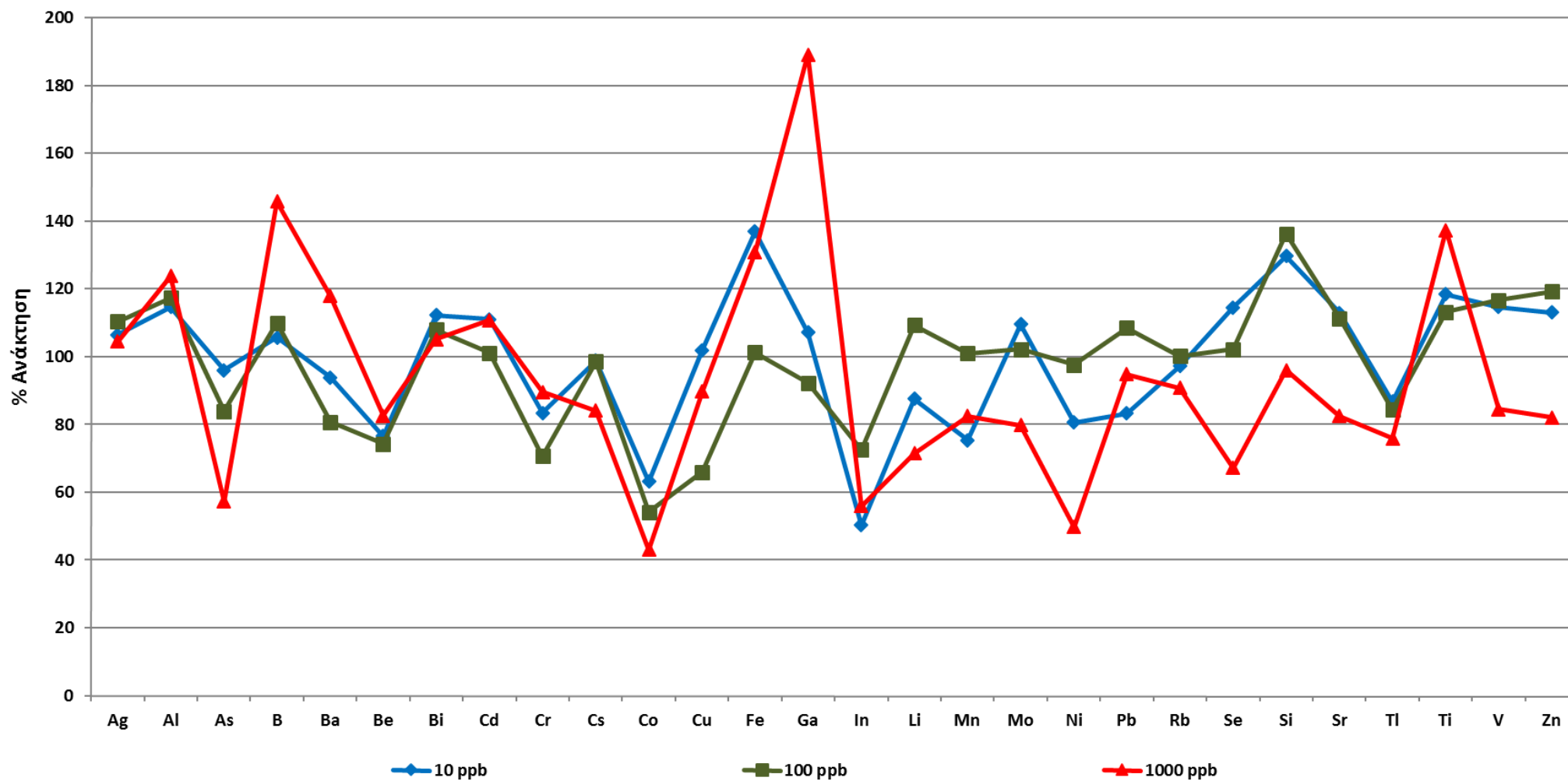
Πίνακας 8.4: Μέση τιμή των ανακτήσεων των αναλυτών για τα δύο επίπεδα εμβολιασμού (1^ο επίπεδο εμβολιασμού 1 ppm και 2^ο επίπεδο εμβολιασμού 10 ppm) σε υπόστρωμα ντοματακίων (N=6) για τα μακρο-στοιχεία.

Κατηγορία στοιχείων	Αναλύτης	Μέση Τιμή Ανάκτησης %	
		1 ^ο Επίπεδο 1 ppm	2 ^ο Επίπεδο 10 ppm
Μάκρο-στοιχεία	Ca	119,6	94,1
	K	128,6	70,5
	Mg	121,2	86,6
	Na	119,8	124,1
	P	119,4	119,2

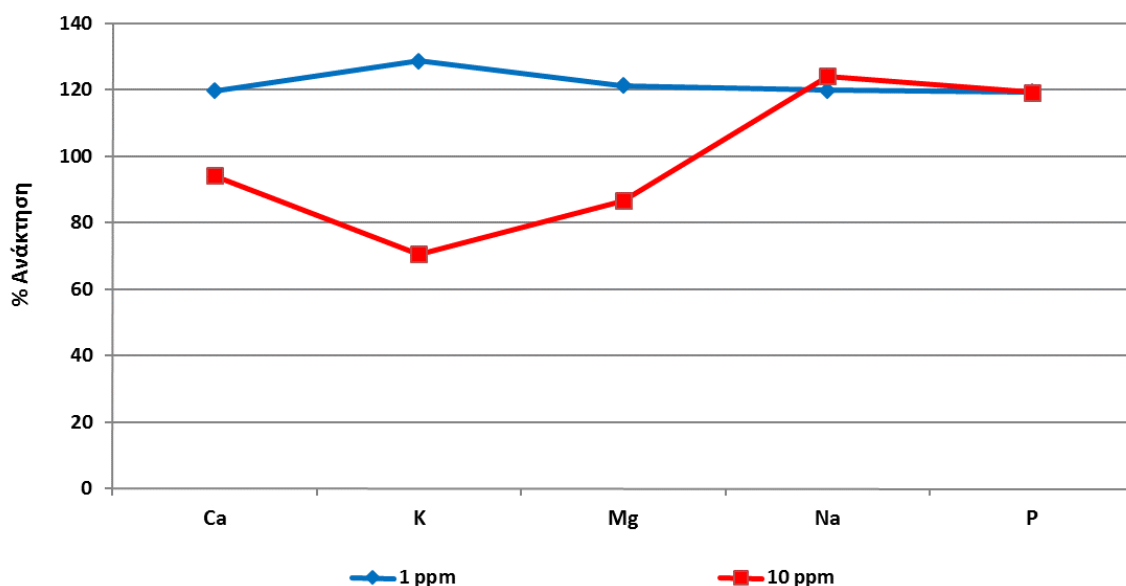
Διάγραμμα 8.1. Ανακτήσεις για τις σπάνιες γαίες, τις ακτινίδες, τα πολύτιμα μέταλλα και ιχνοστοιχεία με πολύ μικρή φυσική αφθονία στα 2 επίπεδα εμβολιασμού σε ντοματάκια.



Διάγραμμα 8.2. Ανακτήσεις για τα ιχνοστοιχεία στα 3 επίπεδα εμβολιασμού σε ντοματάκια.



Διάγραμμα 8.3. Ανακτήσεις για τα μάκρο-στοιχεία στα 2 επίπεδα εμβολιασμού σε ντοματάκια.



Στα διαγράμματα 8.1-8.3 παρατηρούμε ότι οι περισσότεροι αναλύτες παρουσίασαν ανάκτηση εντός των επιπέδων 70%-120%. Επίσης, οι περισσότερες τιμές εκτός 70%-120% αφορούν κυρίως το πρώτο-χαμηλό επίπεδο εμβολιασμού, ιδιαίτερα για τις σπάνιες γαίες.

8.3 Εκτίμηση της πιστότητας

Α) Επαναληψιμότητα

Για τον υπολογισμό της επαναληψιμότητας μεθόδου χρησιμοποιήθηκαν έξι εμβολιασμένα δείγματα σε τουλάχιστον 2 επίπεδα συγκέντρωσης για τον κάθε αναλύτη. Η ανάλυση έγινε κατά την ίδια εργαστηριακή μέρα.

Στη συνέχεια υπολογίστηκε η τυπική απόκλιση (Standard Deviation, SD)

$$SD = \pm \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (\bar{x} - x_i)^2}{n-1}}$$

και η εκατοστιαία σχετική τυπική απόκλιση (%Relative Standard Deviation, %RSD)

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

για τον κάθε υπό εξέταση αναλύτη. Τα αποτελέσματα της επαναληψιμότητας δίνονται στους παρακάτω πίνακες.

Πίνακας 8.5: Τυπική απόκλιση (SD) και % σχετική τυπική απόκλιση (% RSD) υπό συνθήκες επαναληψιμότητας για τα δυο επίπεδα εμβολιασμού σε υπόστρωμα ντοματακιών (N=6), για τις σπάνιες γαίες, τις ακτινίδες, τα πολύτιμα μέταλλα και ιχνοστοιχεία με πολύ μικρή φυσική αφθονία.

Κατηγορία στοιχείων	Αναλύτης	1 ^ο Επίπεδο 0,1 ppb		2 ^ο Επίπεδο 1 ppb	
		Τυπική απόκλιση, SD	Σχετική Τυπική Απόκλιση, % RSD _R	Τυπική απόκλιση, SD	Σχετική Τυπική Απόκλιση, % RSD _R
Σπάνιες Γαίες	Ce	9,9	1,3	26,3	17,1
	Dy	16,9	2,9	8,3	9,9
	Er	14,0	7,4	3,3	3,5
	Eu	23,1	14,3	4,9	5,2
	Gd	22,8	9,4	2,9	3,3
	Ho	3,5	3,0	1,3	1,2
	La	21,0	13,1	9,1	5,2
	Lu	0,7	0,5	0,6	0,8
	Nd	16,5	2,3	25,7	18,0
	Pr	18,6	1,3	4,4	4,1
	Sc	36,5	20,1	10,3	1,3
	Sm	19,8	16,7	5,3	5,7
	Tb	8,8	7,2	2,8	3,2
	Tm	5,2	5,3	0,4	1,0
Ακτινίδες	Y	30,3	18,8	5,3	4,3
	Yb	10,1	3,9	1,5	2,1
	Th	53,9	24,1	33,7	23,3
	U	20,0	7,1	4,8	1,5
Πολύτιμα μέταλλα	Au	37,4	15,2	6,5	4,5
	Ir	8,1	1,2	17,9	15,5
	Pd	32,5	5,5	1,8	4,1

	Pt	14,4	1,0	1,5	1,2
	Re	20,8	23,0	3,5	3,5
	Rh	29,9	14,3	2,0	2,0
	Ru	32,9	20,0	10,8	4,1
Ιχνοστοιχεία	Hf	22,7	13,8	1,6	0,3
	Nb	32,0	24,8	6,5	9,8
	Sb	23,8	6,5	4,7	6,5
	Sn	44,4	18,8	26,5	23,0
	Ta	8,3	10,5	12,5	13,2
	W	24,6	18,0	20,7	4,3
	Zr	40,3	34,6	2,9	17,6

Πίνακας 8.6: Τυπική απόκλιση (SD) και % σχετική τυπική απόκλιση (% RSD) υπό συνθήκες επαναληψιμότητας για τα τρία επίπεδα εμβολιασμού σε υπόστρωμα ντοματακιών (N=6), για τα ιχνοστοιχεία.

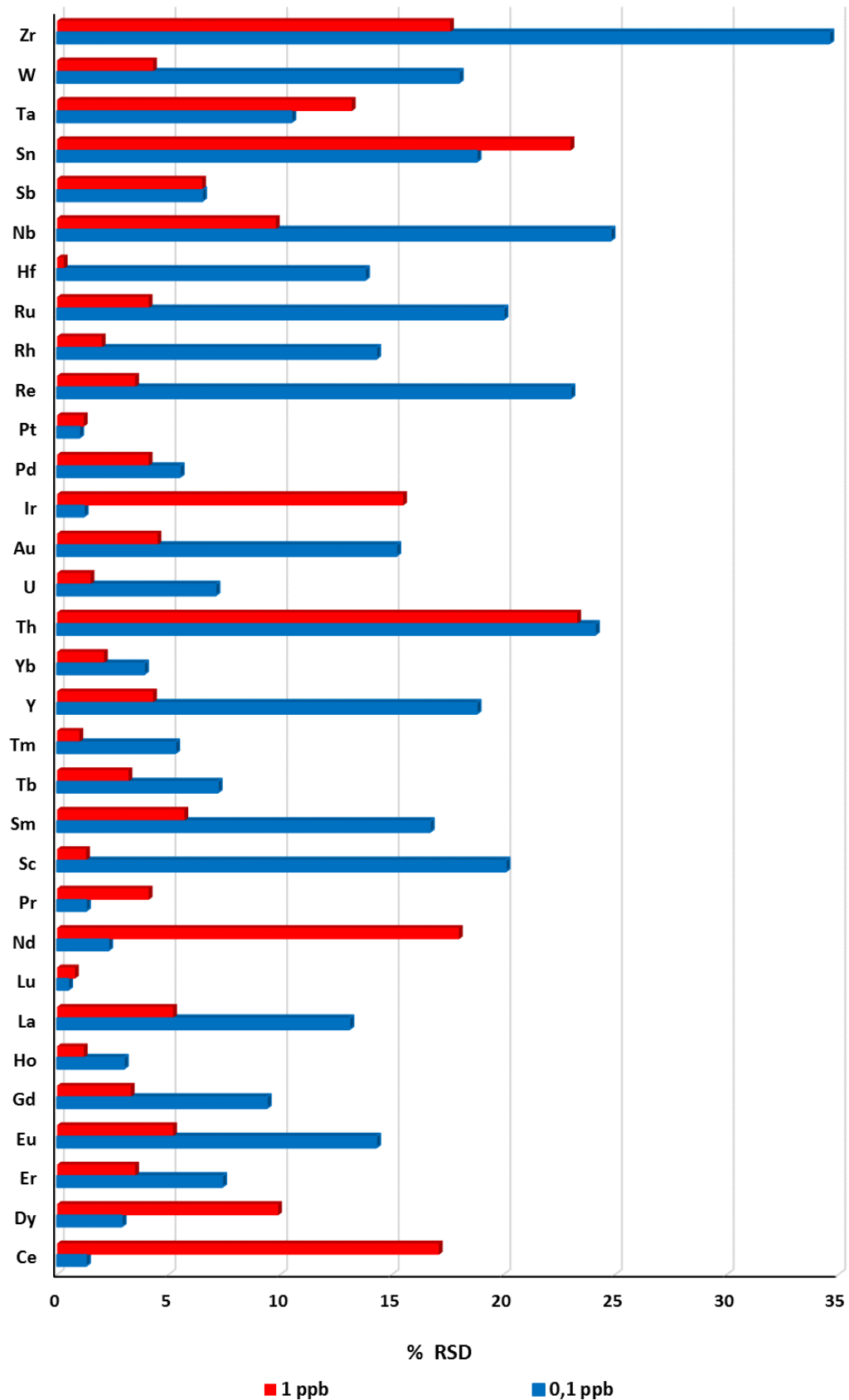
Κατηγορία στοιχείων	Αναλύτης	1 ^ο Επίπεδο 10 ppb		2 ^ο Επίπεδο 100 ppb		3 ^ο Επίπεδο 1000 ppb	
		Τυπική απόκλιση, SD	Σχετική Τυπική Απόκλιση, % RSD _R	Τυπική απόκλιση, SD	Σχετική Τυπική Απόκλιση, % RSD _R	Τυπική απόκλιση, SD	Σχετική Τυπική Απόκλιση, % RSD _R
Ιχνοστοιχεία	Ag	16,8	6,8	7,0	6,8	6,4	6,0
	Al	83,1	23,9	52,3	28,6	70,1	27,8
	As	51,0	25,3	20,1	33,8	6,8	12,1
	B	56,3	37,8	29,9	18,6	40,0	24,7
	Ba	21,2	4,2	37,0	24,9	24,7	16,1
	Be	19,4	9,4	3,4	4,4	19,9	26,4
	Bi	25,3	3,5	1,4	1,3	2,9	2,5
	Cd	3,8	3,0	0,9	0,7	6,1	5,0
	Cr	35,9	13,5	39,5	20,8	18,9	18,5
	Cs	5,3	3,0	4,3	4,0	4,8	3,7
	Co	5,4	9,5	5,4	12,3	6,6	10,9

	Cu	46,9	44,9	20,5	33,1	13,9	11,4
	Fe	25,0	15,3	20,8	16,0	49,2	28,1
	Ga	13,1	6,2	25,3	16,9	19,6	8,6
	In	6,1	7,8	1,9	3,2	3,4	5,5
	Li	5,4	2,7	9,4	8,3	12,4	9,4
	Mn	36,1	21,5	50,1	35,6	15,1	18,9
	Mo	56,8	31,5	41,0	32,6	18,2	14,3
	Ni	20,5	7,4	7,8	6,6	6,4	5,0
	Pb	12,3	0,8	0,3	0,2	2,0	2,0
	Rb	50,8	37,6	49,8	30,7	11,3	8,8
	Se	53,7	35,6	32,6	26,4	9,2	12,3
	Si	42,7	38,5	50,8	19,4	30,8	16,2
	Sr	62,8	46,2	68,0	32,7	21,4	22,6
	Tl	12,1	5,8	2,5	2,9	4,0	4,4
	Ti	51,6	27,7	57,0	43,1	37,9	23,8
	V	63,4	50,1	41,1	29,3	30,3	25,9
	Zn	59,1	39,0	42,4	34,2	29,6	25,9

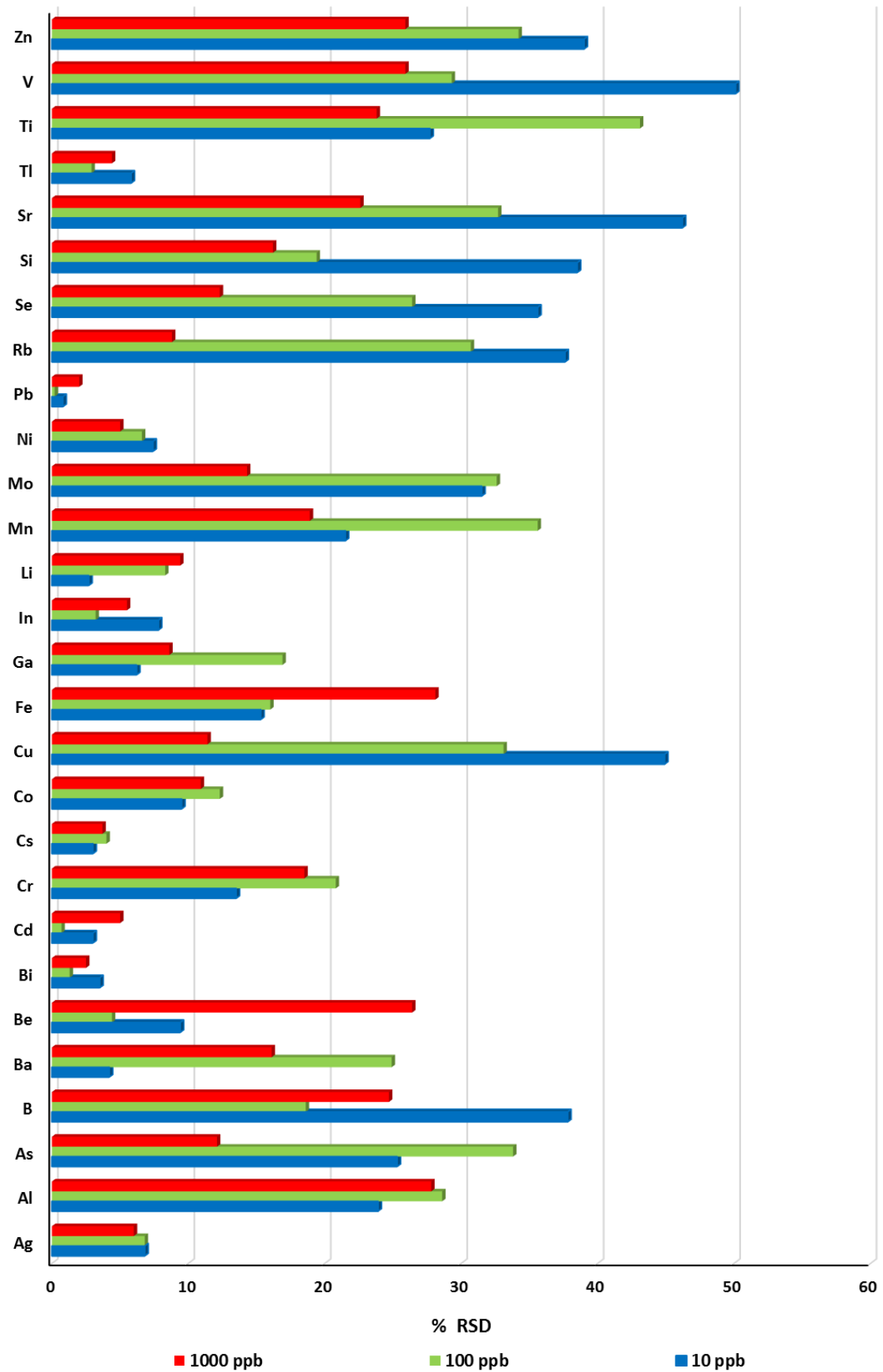
Πίνακας 8.7: Τυπική απόκλιση (SD) και % σχετική τυπική απόκλιση (% RSD) υπό συνθήκες επαναληψιμότητας για τα τρία επίπεδα εμβολιασμού σε υπόστρωμα ντοματακιών (N=6), για τα μακροστοιχεία.

Κατηγορία στοιχείων	Αναλύτης	1 ^ο Επίπεδο 1 ppm		2 ^ο Επίπεδο 10 ppm	
		Τυπική απόκλιση, SD	Σχετική Τυπική Απόκλιση, % RSD _R	Τυπική απόκλιση, SD	Σχετική Τυπική Απόκλιση, % RSD _R
Μάκρο-στοιχεία	Ca	39,1	27,2	35,2	19,7
	K	30,7	15,5	36,0	15,3
	Mg	20,0	5,0	15,6	10,2
	Na	17,9	8,6	16,2	6,9
	P	38,1	23,1	19,2	8,1

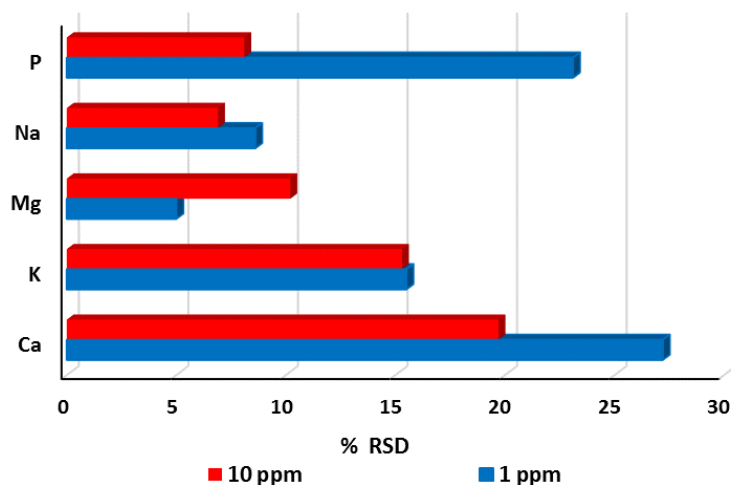
Διάγραμμα 8.4. % Σχετική τυπική απόκλιση (% RSD) υπό συνθήκες επαναληψιμότητας για τα δύο επίπεδα εμβολιασμού για τις σπάνιες γαίες, τις ακτινίδες, τα πολύτιμα μέταλλα και ιχνοστοιχεία με πολύ μικρή φυσική αφθονία.



Διάγραμμα 8.5. % Σχετική τυπική απόκλιση (% RSD) υπό συνθήκες επαναληψιμότητας για τα τρία επίπεδα εμβολιασμού για τα ιχνοστοιχεία.



Διάγραμμα 8.6. % Σχετική τυπική απόκλιση (% RSD) υπό συνθήκες επαναληψιμότητας για τα δύο επίπεδα εμβολιασμού για τα μακρο-στοιχεία.



Στα διαγράμματα 8.4-8.6 παρουσιάζεται η % σχετική τυπική απόκλιση (% RSD) υπό συνθήκες επαναληψιμότητας. Παρατηρείται ότι οι περισσότεροι αναλύτες είναι κάτω από το επίπεδο του 20% που απαιτείται από τον Κανονισμό 657/2002 της Ε.Ε. για επίπεδα ≥ 10 ppb έως 100 ppb. Κυρίως τα χαμηλά επίπεδα επικύρωσης ήταν αυτά που παρουσίασαν υψηλές τιμές % σχετικής τυπικής απόκλισης.

B) Ενδοεργαστηριακή αναπαραγωγιμότητα

Για τον υπολογισμό της ενδοεργαστηριακής αναπαραγωγιμότητας της μεθόδου αναλύθηκαν 3 δείγματα για το κάθε επίπεδο εμβολιασμού σε 2 διαφορετικές εργαστηριακές ημέρες ($N=3*2=6$)

Τα αποτελέσματα της ενδοεργαστηριακής αναπαραγωγιμότητας δίνονται στους παρακάτω πίνακες.

Πίνακας 8.8: Τυπική απόκλιση (SD) και % σχετική τυπική απόκλιση (% RSD) υπό συνθήκες ενδοεργαστηριακής αναπαραγωγιμότητας για τα δυο επίπεδα εμβολιασμού σε υπόστρωμα ντοματακιών ($N=3*2$), για τις σπάνιες γαίες, τις ακτινίδες, τα πολύτιμα μέταλλα και ιχνοστοιχεία με πολύ μικρή φυσική αφθονία.

Κατηγορία στοιχείων	Αναλύτης	1 ^ο Επίπεδο 0,1 ppb	1 ^ο Επίπεδο 0,1 ppb	2 ^ο Επίπεδο 1 ppb	2 ^ο Επίπεδο 1 ppb
		Τυπική απόκλιση, SD	Σχετική Τυπική Απόκλιση, % RSD _r	Τυπική απόκλιση, SD	Σχετική Τυπική Απόκλιση, % RSD _r
Σπάνιες Γαίες	Ce	27,1	18,3	25,1	20,9

	Dy	16,5	2,5	8,3	9,3
	Er	15,5	7,2	3,3	3,8
	Eu	22,3	17,2	4,8	4,9
	Gd	21,3	8,4	3,3	3,1
	Ho	3,8	3,0	1,2	1,2
	La	17,0	14,0	7,9	4,7
	Lu	0,6	0,5	0,6	0,8
	Nd	20,8	2,9	25,9	19,3
	Pr	16,2	1,4	4,7	4,4
	Sc	44,0	20,7	11,3	1,4
	Sm	22,6	13,5	4,6	5,9
	Tb	10,6	8,6	3,5	3,8
	Tm	4,6	4,8	0,5	0,9
	Y	38,1	23,7	5,6	5,4
	Yb	8,5	3,3	1,3	1,8
Ακτινίδες	Th	52,8	29,8	44,4	28,8
	U	18,5	6,1	4,0	1,3
Πολύτιμα μέταλλα	Au	38,8	17,0	7,1	5,1
	Ir	8,7	1,3	15,8	13,1
	Pd	31,6	5,7	2,2	4,0
	Pt	16,1	1,3	1,7	1,4
	Re	22,2	19,3	3,6	3,4
	Rh	30,2	17,0	2,1	2,4
	Ru	39,5	16,4	9,1	3,3
Ιχνοστοιχεία	Hf	22,7	17,4	1,9	0,4
	Nb	30,4	20,1	7,6	7,9
	Sb	23,1	8,0	4,9	8,0
	Sn	58,7	16,8	21,6	20,6
	Ta	6,7	9,5	15,8	16,4
	W	32,5	23,7	16,8	3,9

	Zr	47,9	28,0	2,8	18,1
--	-----------	------	------	-----	------

Πίνακας 8.9: Τυπική απόκλιση (SD) και % σχετική τυπική απόκλιση (% RSD) υπό συνθήκες ενδοεργαστηριακής αναπαραγωγιμότητας για τα τρία επίπεδα εμβολιασμού σε υπόστρωμα ντοματακιών (N=3*2), για τα ιχνοστοιχεία.

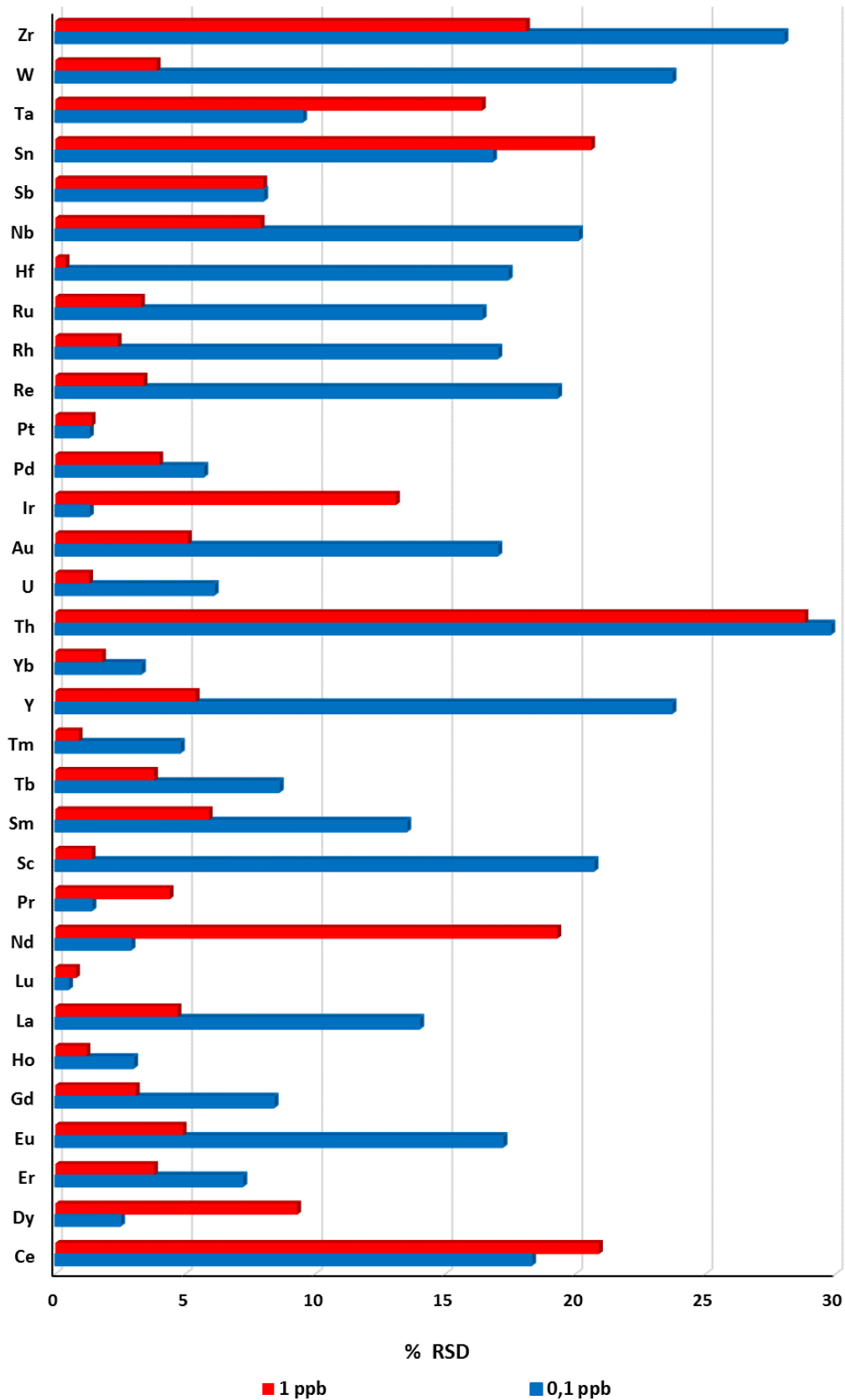
Κατηγορία στοιχείων	Αναλύτης	1° Επίπεδο 10 ppb		2° Επίπεδο 100 ppb		3° Επίπεδο 1000 ppb	
		Τυπική απόκλιση, SD	Σχετική Τυπική Απόκλιση, % RSD _r	Τυπική απόκλιση, SD	Σχετική Τυπική Απόκλιση, % RSD _r	Τυπική απόκλιση, SD	Σχετική Τυπική Απόκλιση, % RSD _r
Ιχνοστοιχεία	Ag	22,3	7,5	8,9	7,4	7,6	6,7
	Al	81,1	29,4	47,3	35,3	61,6	33,1
	As	55,6	22,7	22,5	28,6	6,9	10,6
	B	64,9	51,5	37,7	19,4	45,6	25,1
	Ba	19,8	4,2	34,6	25,6	21,5	18,3
	Be	25,4	8,6	3,5	4,0	21,3	23,0
	Bi	24,7	4,6	1,5	1,4	3,7	3,1
	Cd	3,4	2,7	0,9	1,0	6,5	5,1
	Cr	42,6	14,5	46,1	27,3	16,9	19,3
	Cs	4,8	3,4	5,3	3,5	6,3	4,0
	Co	5,6	12,4	7,5	16,2	6,5	13,0
	Cu	53,4	39,4	17,3	33,6	15,8	12,2
	Fe	32,7	20,0	27,5	17,4	48,5	23,8
	Ga	13,3	5,4	27,4	16,5	22,3	9,2
	In	7,9	10,8	1,8	3,3	3,0	6,0
	Li	4,7	2,9	10,0	7,8	12,2	12,4
	Mn	45,9	23,0	46,9	32,9	18,6	16,4
	Mo	57,2	30,7	43,9	44,3	21,4	19,5
	Ni	17,5	6,5	6,8	6,0	7,3	5,9
	Pb	16,2	0,8	0,3	0,2	2,0	1,8
	Rb	43,4	32,7	50,6	33,2	12,1	9,6

	Se	49,5	48,5	33,5	28,2	8,3	14,7
	Si	40,0	36,0	50,1	17,1	38,3	22,0
	Sr	77,6	49,4	68,0	37,2	21,7	19,1
	Tl	10,6	5,4	2,2	3,2	4,6	4,8
	Ti	53,9	36,3	50,0	37,9	37,9	29,9
	V	57,4	44,8	47,3	27,6	29,2	21,9
	Zn	50,0	34,0	45,3	31,0	26,8	29,8

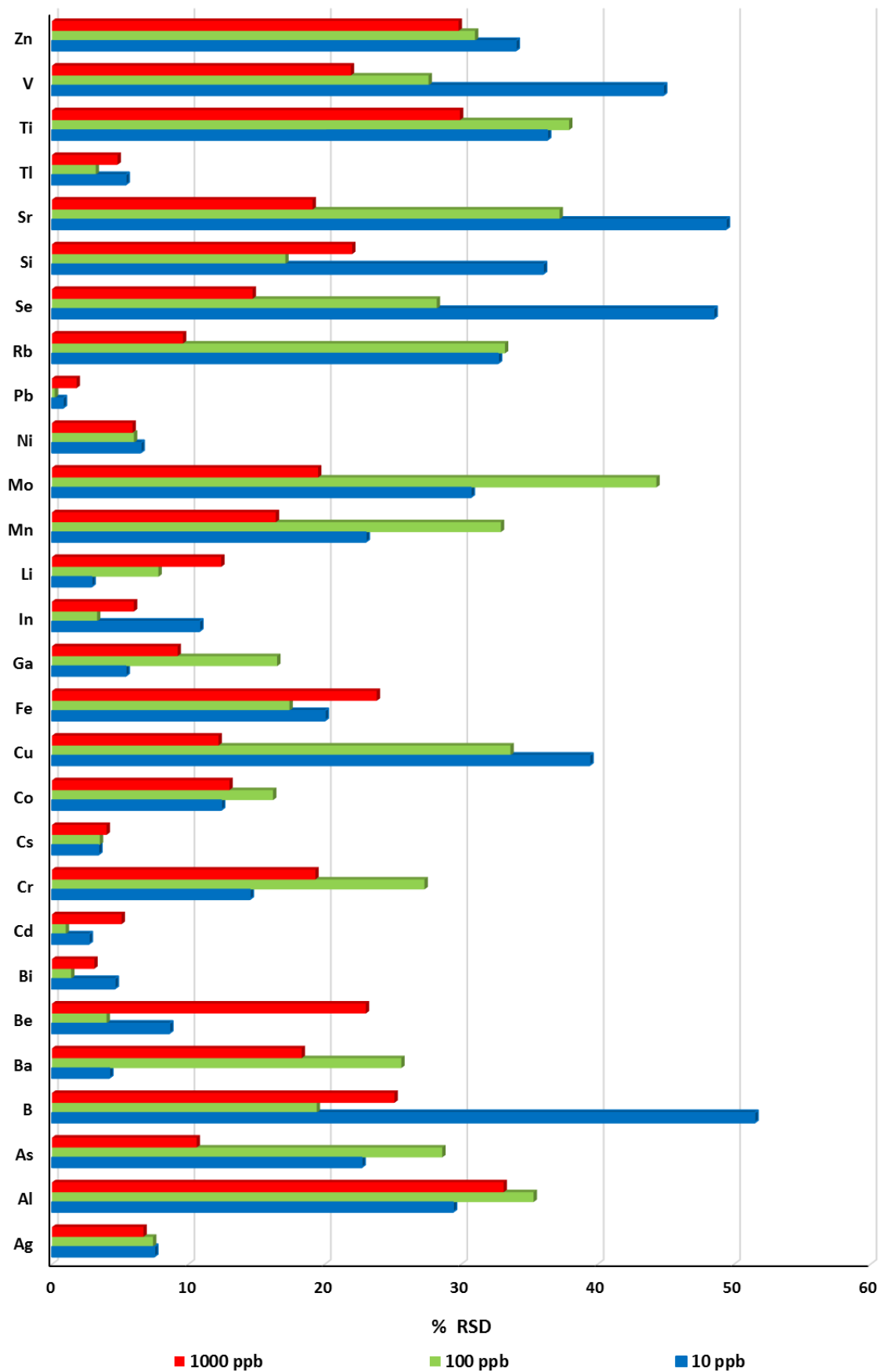
Πίνακας 8.10: Τυπική απόκλιση (SD) και % σχετική τυπική απόκλιση (% RSD) υπό συνθήκες ενδοεργαστηριακής αναπαραγωγιμότητας για τα τρία επίπεδα εμβολιασμού σε υπόστρωμα ντοματακιών (N=3*2), για τα μακρο-στοιχεία.

Κατηγορία στοιχείων	Αναλύτης	1 ^ο Επίπεδο 1 ppm		2 ^ο Επίπεδο 10 ppm	
		Τυπική απόκλιση, SD	Σχετική Τυπική Απόκλιση, % RSD _r	Τυπική απόκλιση, SD	Σχετική Τυπική Απόκλιση, % RSD _r
Μάκρο- στοιχεία	Ca	36,5	23,3	34,8	28,6
	K	35,0	17,7	37,2	13,9
	Mg	16,8	5,4	21,3	14,8
	Na	18,7	8,8	13,1	6,4
	P	36,7	18,9	16,9	9,1

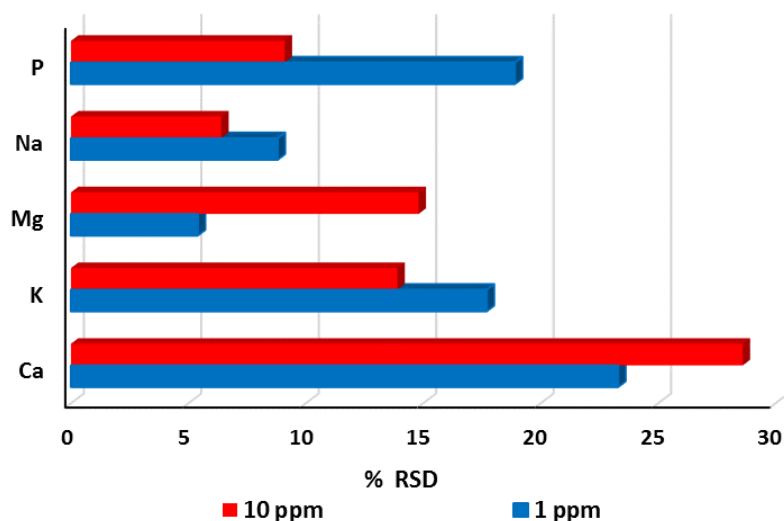
Διάγραμμα 8.7. % Σχετική τυπική απόκλιση (% RSD) υπό συνθήκες αναπαραγωγιμότητας για τα δύο επίπεδα εμβολιασμού για τις σπάνιες γαίες, τις ακτινίδες, τα πολύτιμα μέταλλα και ιχνοστοιχεία με πολύ μικρή φυσική αφθονία.



Διάγραμμα 8.8. % Σχετική τυπική απόκλιση (% RSD) υπό συνθήκες αναπαραγωγιμότητας για τα τρία επίπεδα εμβολιασμού για τα ιχνοστοιχεία.



Διάγραμμα 8.9. % Σχετική τυπική απόκλιση (% RSD) υπό συνθήκες αναπαραγωγιμότητας για τα δύο επίπεδα εμβολιασμού για τα μακρο-στοιχεία.



Στα διαγράμματα 8.7-8.9 παρουσιάζεται η % σχετική τυπική απόκλιση (% RSD) υπό συνθήκες αναπαραγωγιμότητας. Γενικά παρατηρούμε υψηλότερες τιμές % RSD από ότι είχαμε υπό συνθήκες επαναληψιμότητας. Παρ' όλα αυτά και πάλι οι περισσότεροι αναλύτες είναι κάτω από το επίπεδο του 20%. Οι σπάνιες γαίες, οι ακτινίδες, τα πολύτιμα μέταλλα και τα ιχνοστοιχεία με πολύ μικρή φυσική αφθονία παρουσίασαν χαμηλότερες τιμές % σχετικής τυπικής απόκλισης από ότι τα υπόλοιπα ιχνοστοιχεία. Όπως και υπό συνθήκες επαναληψιμότητας έτσι και υπό συνθήκες αναπαραγωγιμότητας υψηλότερες τιμές % RSD έδωσαν τα χαμηλότερα επίπεδα εμβολιασμού για τα περισσότερα στοιχεία.

8.4 Εκτίμηση των ορίων ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης

Στους πίνακες 8.11 και 8.12 παρατίθενται αναλυτικά τα όρια και ανίχνευσης ποσοτικοποίησης για όλους αναλύτες σε μύες και ήπαρ αγριοκούνελων καθώς και τα μέγιστα επιτρεπτά επίπεδα που έχει ορίσει η Ε.Ε. (Κανονισμός της Επιτροπής (EC) No 1881/2006 και η τροπολογία του, Κανονισμός (EC) No 629/2008), τον FAO (Codex Alimentarius Commission, CODEX, General standard for contaminants and toxins in food and feed CODEX STAN 193-1995 με την τροποποίησή του 2010 και την νομοθεσία της Αυστραλίας - Νέας Ζηλανδίας (Australia New Zealand Food Standards Code - Standard 1.4.1 - Contaminants and Natural Toxicants - F2011C00542). Παρατηρείται ότι τα όρια ποσοτικοποίησης είναι πολύ χαμηλότερα από τα αντίστοιχα μέγιστα επιτρεπτά επίπεδα για όσα στοιχεία έχουν οριστεί.

Πίνακας 8.11: Όρια ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης της μεθόδου σε ντοματάκια μαζί με τα αντίστοιχα μέγιστα επιτρεπτά επίπεδα σε ppb.

† για ντομάτες σε κονσέρβα

†† για κονσερβοποιημένα τρόφιμα

Κατηγορία στοιχείων	Αναλύτης	Limit of Detection, LOD	Limit of Quantification, LOQ	Maximum Levels		
				EU	FAO	Australia & NZ
Σπάνιες Γαίες	Ce	0,017	0,051			
	Dy	0,016	0,048			
	Er	0,024	0,072			
	Eu	0,010	0,030			
	Gd	0,015	0,045			
	Ho	0,002	0,005			
	La	0,436	1,322			
	Lu	0,002	0,008			
	Nd	0,006	0,017			
	Pr	0,011	0,034			
	Sc	0,607	1,838			
	Sm	0,005	0,016			
	Tb	0,006	0,020			
	Tm	0,002	0,005			
Ακτινίδες	Y	0,006	0,018			
	Yb	0,008	0,024			
Πολύτιμα μέταλλα	Th	0,028	0,084			
	U	0,023	0,069			
Πολύτιμα μέταλλα	Au	0,017	0,052			
	Ir	0,001	0,003			
	Pd	0,041	0,123			
	Pt	0,006	0,019			

	Re	0,0003	0,0010			
	Rh	0,0002	0,0007			
	Ru	0,006	0,019			
Ιχνοστοιχεία	Ag	0,020	0,061			
	Al	0,297	0,9			
	As	0,07	0,20			
	B	55	167			
	Ba	0,059	0,177			
	Be	0,074	0,225			
	Bi	0,010	0,029			
	Cd	0,269	0,816	50	50	
	Cs	0,006	0,019			
	Cr	0,096	0,291			
	Co	0,015	0,046			
	Cu	20,6	62,3			
	Fe	1,8	5,3			
	Ga	0,019	0,058			
	Hf	0,001	0,003			
	In	0,005	0,014			
	Pb	0,038	0,116	100	100 & 1000†	100
	Li	0,084	0,255			
	Mn	0,2	0,5			
	Mo	0,33	0,99			
	Nb	0,003	0,009			
	Ni	0,029	0,089			
	Rb	21,2	64,2			
	Sb	0,180	0,546			
	Se	0,7	2,2			
	Si	131	398			
	Sn	0,040	0,122	200†	250†	250††

	Sr	2,11	6,38			
	Ta	0,003	0,009			
	Tl	0,004	0,013			
	Ti	106	320			
	V	25	77			
	W	0,059	0,180			
	Zn	116	352			
	Zr	0,002	0,006			
Μάκρο-στοιχεία	Ca	26	80			
	K	2,82	8,53			
	Mg	64	195			
	Na	30	90			
	P	119	361			

8.5 Εκτίμηση της αβεβαιότητας

Αβεβαιότητα τύπου A (από τα πειράματα επαναληψιμότητας)

Η αβεβαιότητα σε αυτή την περίπτωση παρέχεται από τις τιμές της σχετικής τυπικής απόκλισης, RSD_r, που υπολογίστηκε στους πίνακες 8.8-8.10

Αβεβαιότητα τύπου B (συστηματικά σφάλματα)

Έχουμε πλήρη χώνευση, γι' αυτό και δεν χρησιμοποιούμε κάποιο σχετικό συντελεστή διόρθωσης. Η εκτίμηση του συστηματικού σφάλματος δεν έγινε με τη χρήση CRM (certified reference material) αλλά με βάση τα εμβολιασμένα δείγματα. Μιας και δεν ήταν πάντα διαθέσιμο ένα CRM που να προσομοιάζει στη πλήρως στη μήτρα του δείγματος.

Αβεβαιότητα στον όγκο:

1) Προσθήκη 6 mL υπερκάθαρου νιτρικού οξέος για την χώνευση με dispenser

Dispenser των 10 mL: από το πιστοποιητικό η ακρίβεια είναι 0,5% και θέλουμε 6 mL, οπότε η απόκλιση είναι $\pm (0,5 \times 6) / 100 = \pm 0,03$ mL

Η αβεβαιότητα υπολογίζεται θεωρώντας ότι υπακούει σε τετραγωνική κατανομή στην οποία η μέση τιμή έχει την ίδια πιθανότητα εμφάνισης με τις ακραίες τιμές, οπότε η τιμή της δίνεται ως $u(x) = a / \sqrt{3}$.

$$u_1(V) = \pm 0,03 \text{ mL} / \sqrt{3} = 0,01732 \text{ mL}$$

Η θερμοκρασία του εργαστηρίου από μετρήσεις παρακολούθησης έχει βρεθεί ότι κυμαίνεται σε εύρος $\pm 4^{\circ}\text{C}$, ενώ σύμφωνα με τον κατασκευαστή ο πιστοποιημένος όγκος είναι στους 20°C . Η αβεβαιότητα από την επίδραση αυτή υπολογίζεται από την εκτιμώμενη μέγιστη διακύμανση της θερμοκρασίας και από το συντελεστή διαστολής του όγκου. Ο συντελεστής διαστολής του όγκου για το νιτρικό οξύ ισούται με $0.00028/^{\circ}\text{C}$. Η αβεβαιότητα που οφείλεται στην επίδραση της θερμοκρασίας u_2 , θεωρείται ότι υπακούει σε τετραγωνική κατανομή, δηλαδή υπάρχει η ίδια πιθανότητα εμφάνισης της μέσης τιμής και των ακραίων τιμών, οπότε έχουμε και πάλι $u(x) = a / \sqrt{3}$.

$$\Delta V = V_{20} \times \alpha_{\text{HNO}_3} \times \Delta T$$

$$\Delta V = 6 \times 0,00028 \times 4 = 0,00672 \text{ mL}$$

Άρα η αβεβαιότητα θα είναι αυτής της πηγής θα είναι

$$u_2(V) = 0,00672 \text{ mL} / \sqrt{3} = 0,00388 \text{ mL}$$

Αβεβαιότητα από την επαναληψιμότητα του dispenser: Κατά την εκτέλεση 10 κύκλων γέμισμα – ζύγιση, η τυπική απόκλιση βρέθηκε $0,0297 \text{ mL}$

$$\text{Άρα } u_3(V) = 0,0297 \text{ mL}$$

Άρα η συνολική τυπική αβεβαιότητα είναι:

$$u_{\text{disp1}}(V) = \sqrt{(u_1(V))^2 + u_2(V)^2 + u_3(V)^2} = \sqrt{(0,01732)^2 + 0,00388^2 + 0,0297^2}$$

$$u_{\text{disp1}}(V) = 0,034600 \text{ mL}$$

Η αδιάστατη σχετική αβεβαιότητα θα είναι:

$$a.a._{\text{disp1}} = 0,034600 / 6 = 0,00577$$

2) Προσθήκη 2 mL υπερκάρθου υπεροξειδίου του υδρογόνου για την χώνευση με πιπέτα 1 mL

Η πιπέτα χρησιμοποιείται 2 φορές γιατί θέλουμε 2 mL δηλαδή:

$$2 \times 1 \text{ mL} = 2 \text{ mL}$$

Από το πιστοποιητικό η ακρίβεια της πιπέτας είναι $0,05\%$, οπότε η απόκλιση είναι $\pm (0,05 \times 1) / 100 = \pm 0,0005 \text{ mL}$

Όπως και προηγουμένως η αβεβαιότητα υπολογίζεται θεωρώντας ότι υπακούει σε τετραγωνική κατανομή, οπότε $u_1(V) = \pm 0,0005 \text{ mL} / \sqrt{3} = 0,000289 \text{ mL}$

Ομοίως με προηγουμένως $\Delta V = V_{20} \times \alpha_{\text{H}_2\text{O}_2} \times \Delta T$

$$\Delta V = 1 \times 0,000514 \times 4 = 0,002056 \text{ mL}$$

Άρα η αβεβαιότητα θα είναι αυτής της πηγής θα είναι

$$u_2(V) = 0,002056 \text{ mL} / \sqrt{3} = 0,001187 \text{ mL}$$

Αβεβαιότητα από την επαναληψιμότητα της πιπέτας: Κατά την εκτέλεση 10 κύκλων γέμισμα – ζύγιση, η τυπική απόκλιση βρέθηκε 0,0101 mL

$$\text{Άρα } u_3(V) = 0,0101 \text{ mL}$$

Άρα η συνολική τυπική αβεβαιότητα είναι:

$$u_{\pi\pi 1}(V) = \sqrt{2(u_1(V)^2 + u_2(V)^2 + u_3(V)^2)} = \sqrt{2(0,000289^2 + 0,001187^2 + 0,0101^2)}$$

$$u_{\pi\pi 1}(V) = 0,014388 \text{ mL}$$

Η αδιάστατη σχετική αβεβαιότητα θα είναι:

$$\text{α.α.}_{\pi\pi 1} = 0,014319 / 2 = 0,014319$$

3) Προσθήκη 0,2 mL υπερκάθαρου υδροφθορίου για την χώνευση με πιπέτα των 100 μL

Από το πιστοποιητικό η ακρίβεια της πιπέτας είναι 0,05%, οπότε η απόκλιση είναι $\pm (0,05 \times 0,1) / 100 = \pm 0,00005 \text{ mL}$

Όπως και προηγουμένως η αβεβαιότητα υπολογίζεται θεωρώντας ότι υπακούει σε τετραγωνική κατανομή, οπότε $u_1(V) = \pm 0,00005 \text{ mL} / \sqrt{3} = 0,0000289 \text{ mL}$

Ομοίως με προηγουμένως $\Delta V = V_{20} \times \alpha_{\text{H}_2\text{O}_2} \times \Delta T$

$$\Delta V = 0,1 \times 0,00046 \times 4 = 0,000184 \text{ mL}$$

Άρα η αβεβαιότητα θα είναι αυτής της πηγής θα είναι

$$u_2(V) = 0,000184 \text{ mL} / \sqrt{3} = 0,000106 \text{ mL}$$

Αβεβαιότητα από την επαναληψιμότητα της πιπέτας: Κατά την εκτέλεση 10 κύκλων γέμισμα – ζύγιση, η τυπική απόκλιση βρέθηκε 0,0101 mL

$$\text{Άρα } u_3(V) = 0,0071 \text{ mL}$$

Άρα η συνολική τυπική αβεβαιότητα είναι:

$$u_{\pi\pi 2}(V) = \sqrt{2(u_1(V)^2 + u_2(V)^2 + u_3(V)^2)} = \sqrt{2(0,0000289^2 + 0,000106^2 + 0,0071^2)}$$

$$u_{\pi\pi 2}(V) = 0,007101 \text{ mL}$$

Η αδιάστατη σχετική αβεβαιότητα θα είναι:

$$\text{α.α.}_{\pi\pi 2} = 0,007101 / 0,1 = 0,00710$$

4) Αραίωση 1-10 με υπερκάθαρο νερό, πιπέτα 1 mL

Ακόμη μετά το κάψιμο πραγματοποιείται αραίωση 1-10 με υπερκάθαρο νερό

Οπότε παίρνουμε 1 mL από το χωνευμένο δείγμα με πιπέτα του 1 mL. Από το πιστοποιητικό η ακρίβεια της πιπέτας είναι 0,05%, οπότε η απόκλιση είναι $\pm (0,05 \times 1) / 100 = \pm 0,0005$ mL. Όπως και προηγουμένως η αβεβαιότητα υπολογίζεται θεωρώντας ότι υπακούει σε τετραγωνική κατανομή, οπότε $u_1(V) = \pm 0,0005 \text{ mL} / \sqrt{3} = 0,000289 \text{ mL}$.

Ομοίως με προηγουμένως $\Delta V = V_{20} \times \alpha_{\text{HNO}_3} \times \Delta T$

$$\Delta V = 1 \times 0,00028 \times 4 = 0,00112 \text{ mL}$$

Άρα η αβεβαιότητα θα είναι αυτής της πηγής θα είναι

$$u_2(V) = 0,00112 \text{ mL} / \sqrt{3} = 0,000647 \text{ mL}$$

Αβεβαιότητα από την επαναληψιμότητα της πιπέτας: Κατά την εκτέλεση 10 κύκλων γέμισμα – ζύγιση, η τυπική απόκλιση βρέθηκε 0,0101 mL

Άρα $u_3(V) = 0,0101 \text{ mL}$

Άρα η συνολική τυπική αβεβαιότητα είναι:

$$u_{\text{πιν3}}(V) = \sqrt{(u_1(V))^2 + u_2(V)^2 + u_3(V)^2} = \sqrt{(0,000289)^2 + 0,000647^2 + 0,0101^2}$$

$$u_{\text{πιν3}}(V) = 0,010125 \text{ mL}$$

Η αδιάστατη σχετική αβεβαιότητα θα είναι:

$$\text{α.α.}_{\text{πιν3}} = 0,010125 / 1 = 0,010125$$

5) Αραίωση 1-10 με υπερκάθαρο νερό, dispenser 9 mL

Για τα 9 mL υπερκάθαρο νερό με το dispenser έχουμε $\pm (0,5 \times 9) / 100 = \pm 0,045$ mL

Οπότε $u_1(V) = \pm 0,045 \text{ mL} / \sqrt{3} = 0,02598 \text{ mL}$

Ομοίως με παραπάνω για το υπερκάθαρο νερό. Η αβεβαιότητα από την επίδραση αυτή υπολογίζεται από την εκτιμώμενη μέγιστη διακύμανση της θερμοκρασίας και από το συντελεστή διαστολής του όγκου. Ο συντελεστής διαστολής του όγκου για το νερό ισούται με $0,000214/^\circ\text{C}$. Η αβεβαιότητα που οφείλεται στην επίδραση της θερμοκρασίας u_2 , θεωρείται ότι υπακούει σε τετραγωνική κατανομή, δηλαδή υπάρχει η ίδια πιθανότητα εμφάνισης της μέσης τιμής και των ακραίων τιμών, οπότε έχουμε και πάλι $u(x) = \alpha / \sqrt{3}$.

$$\Delta V = V_{20} \times \alpha_{\text{H}_2\text{O}} \times \Delta T$$

$$\Delta V = 9 \times 0,000214 \times 4 = 0,007704 \text{ mL}$$

Άρα η αβεβαιότητα θα είναι αυτής της πηγής θα είναι

$$u_2(V) = 0,007704 \text{ mL} / \sqrt{3} = 0,00445 \text{ mL}$$

Αβεβαιότητα από την επαναληψιμότητα του dispenser: Κατά την εκτέλεση 10 κύκλων γέμισμα – ζύγιση, η τυπική απόκλιση βρέθηκε 0,0301 mL

$$\text{Άρα } u_3(V) = 0,0301 \text{ mL}$$

Άρα η συνολική τυπική αβεβαιότητα στον όγκο είναι:

$$u_{\text{disp2}}(V) = \sqrt{(u_1(V))^2 + u_2(V)^2 + u_3(V)^2} = \sqrt{(0,02598^2 + 0,00445^2 + 0,0301^2)}$$

$$u_{\text{disp2}}(V) = 0,040010 \text{ mL}$$

Η αδιάστατη σχετική αβεβαιότητα θα είναι:

$$\alpha.\alpha._{\text{disp2}} = 0,040010 / 9 = 0,004446$$

Αβεβαιότητα στη μάζα:

Η αβεβαιότητα στον προσδιορισμό της μάζας υπολογίζεται από τα δεδομένα της διακρίβωσης του ζυγού και υπάρχουν στο πιστοποιητικό διακρίβωσης. Επίσης εξαρτάται από τη μάζα που ζυγίζουμε.

Από το πιστοποιητικό λοιπόν έχουμε:

$$u_1(m) = 0,02 + (3,719 \times 10^{-5} \times m) = 0,02 + (3,719 \times 10^{-5} \times 0,5)$$

$$u_1(m) = 0,020019 \text{ g}$$

$$\text{Άρα } u(m) = \sqrt{u_1(m)^2} = 0,020019 \text{ g}$$

Η αδιάστατη σχετική αβεβαιότητα θα είναι:

$$\alpha.\alpha._{\text{μαζ}} = 0,020019 / 0,5 = 0,040038$$

Αβεβαιότητα προτύπου υλικού αναφοράς:

Έχουμε την αβεβαιότητα από το πιστοποιητικό $\pm 0,5\%$ και ακόμη πάλι έχουμε τετραγωνική κατανομή οπότε:

$$u_{\text{std}} = 0,5 / (100 \times \sqrt{3}) = 0,002887$$

Η αδιάστατη σχετική αβεβαιότητα θα είναι:

$$\alpha.\alpha._{\text{std}} = 0,002887$$

Ολική αδιάστατη αβεβαιότητα τύπου B της μεθόδου

$$u_B = \sqrt{(0,00577^2 + 0,014319^2 + 0,000710^2 + 0,010125^2 + 0,004446^2 + 0,040038^2 + 0,002887^2)}$$
$$= 0,044413 \text{ ή αλλιώς } 4,44\%$$

Αφού $u_A = u_{\text{RSDr}}$, η συνδυασμένη τυπική αβεβαιότητα δίνεται από τη σχέση

$$u_C = \sqrt{u_A^2 + u_B^2}$$

Από τις τιμές τις u_A και της u_B , συμπεραίνεται ότι η αβεβαιότητα τύπου B, η οποία σχετίζεται με τις μετρήσεις του όγκου, τις ζυγίσεις και τα πρότυπα, είναι σχεδόν αμελητέα σε σχέση με την αβεβαιότητα τύπου A. Ακόμη από τα παραπάνω αποτελέσματα παρατηρούμε ότι στη αβεβαιότητα τύπου B στην περίπτωση μας συνεισφέρει περισσότερο η αβεβαιότητα από τη μάζα.

Για ένα συντελεστή κάλυψης $k=2$ (95%), η διευρυμένη αβεβαιότητα U είναι:

$$U = 2 \times u_C$$

Με βάση τα πειραματικά δεδομένα έγινε υπολογισμός της συνδυασμένης τυπικής αβεβαιότητας και της διευρυμένης αβεβαιότητας (Πίνακες 10.23 – 10.29).

Πίνακας 8.12: Συνδυασμένη τυπική αβεβαιότητα (%) και διευρυμένη τυπική αβεβαιότητα (%) της μεθόδου σε εμβολιασμένα δείγματα ντοματακιών, στα δύο επίπεδα συγκεντρώσεων για τις σπάνιες γαίες, τις ακτινίδες, τα πολύτιμα μέταλλα και ιχνοστοιχεία με πολύ μικρή φυσική αφθονία.

Κατηγορία στοιχείων	Αναλύτης	1 ^ο Επίπεδο 0,1 ppb		2 ^ο Επίπεδο 1 ppb	
		Συνδυασμένη Αβεβαιότητα %	Διευρυμένη Αβεβαιότητα %	Συνδυασμένη Αβεβαιότητα %	Διευρυμένη Αβεβαιότητα %
Σπάνιες Γαίες	Ce	18,8	37,7	21,4	42,7
	Dy	5,1	10,2	10,3	20,6
	Er	8,5	16,9	5,8	11,7
	Eu	17,8	35,5	6,6	13,2
	Gd	9,5	19,0	5,4	10,8
	Ho	5,4	10,7	4,6	9,2
	La	14,7	29,4	6,5	12,9
	Lu	4,5	8,9	4,5	9,0
	Nd	5,3	10,6	19,8	39,6
	Pr	4,7	9,3	6,3	12,5
	Sc	21,2	42,3	4,7	9,3

	Sm	14,2	28,4	7,4	14,8
	Tb	9,7	19,4	5,8	11,7
	Tm	6,5	13,1	4,5	9,1
	Y	24,1	48,2	7,0	14,0
	Yb	5,5	11,1	4,8	9,6
Ακτινίδες	Th	30,1	60,3	29,1	58,3
	U	7,5	15,1	4,6	9,3
Πολύτιμα μέταλλα	Au	17,6	35,1	6,8	13,5
	Ir	4,6	9,3	13,8	27,7
	Pd	7,2	14,5	6,0	12,0
	Pt	4,6	9,3	4,7	9,3
	Re	19,8	39,6	5,6	11,2
	Rh	17,6	35,1	5,0	10,1
	Ru	17,0	34,0	5,5	11,1
Ιχνοστοιχεία	Hf	18,0	35,9	4,5	8,9
	Nb	20,6	41,2	9,1	18,1
	Sb	9,2	18,3	9,2	18,3
	Sn	17,4	34,8	21,1	42,1
	Ta	10,5	21,0	17,0	34,0
	W	24,1	48,2	5,9	11,8
	Zr	28,4	56,7	18,6	37,3

Πίνακας 8.13: Συνδυασμένη τυπική αβεβαιότητα (%) και διευρυμένη τυπική αβεβαιότητα (%) της μεθόδου σε εμβολιασμένα δείγματα ντοματακιών, στα τρία επίπεδα συγκεντρώσεων για τα ιχνοστοιχεία.

Κατηγορία στοιχείων	Αναλύτης	1 ^ο Επίπεδο 10 ppb		2 ^ο Επίπεδο 100 ppb		3 ^ο Επίπεδο 1000 ppb	
		Συνδυασμένη Αβεβαιότητα %	Διευρυμένη Αβεβαιότητα %	Συνδυασμένη Αβεβαιότητα %	Διευρυμένη Αβεβαιότητα %	Συνδυασμένη Αβεβαιότητα %	Διευρυμένη Αβεβαιότητα %
Ιχνοστοιχεία	Ag	8,7	17,4	8,6	17,3	8,0	16,1
	Al	29,7	59,5	35,6	71,2	33,4	66,8
	As	23,1	46,3	28,9	57,9	11,5	23,0
	B	51,7	103,4	19,9	39,8	25,5	51,0
	Ba	6,1	12,2	26,0	52,0	18,8	37,7
	Be	9,7	19,4	6,0	12,0	23,4	46,8
	Bi	6,4	12,8	4,7	9,3	5,4	10,8
	Cd	5,2	10,4	4,6	9,1	6,8	13,5
	Cr	15,2	30,3	27,7	55,3	19,8	39,6
	Cs	5,6	11,2	5,7	11,3	6,0	12,0
	Co	13,2	26,3	16,8	33,6	13,7	27,5
	Cu	39,6	79,3	33,9	67,8	13,0	26,0
	Fe	20,5	41,0	18,0	35,9	24,2	48,4
	Ga	7,0	14,0	17,1	34,2	10,2	20,4
	In	11,7	23,4	5,5	11,1	7,5	14,9
	Li	5,3	10,6	9,0	18,0	13,2	26,3
	Mn	23,4	46,8	33,2	66,4	17,0	34,0
	Mo	31,0	62,0	44,5	89,0	20,0	40,0
	Ni	7,9	15,7	7,5	14,9	7,4	14,8
	Pb	4,5	9,0	4,4	8,9	4,8	9,6
	Rb	33,0	66,0	33,5	67,0	10,6	21,2
	Se	48,7	97,4	28,5	57,1	15,4	30,7

	Si	36,3	72,5	17,7	35,3	22,4	44,9
	Sr	49,6	99,2	37,5	74,9	19,6	39,2
	Tl	7,0	14,0	5,5	10,9	6,5	13,1
	Ti	36,6	73,1	38,2	76,3	30,2	60,5
	V	45,0	90,0	28,0	55,9	22,3	44,7
	Zn	34,3	68,6	31,3	62,6	30,1	60,3

Πίνακας 8.14: Συνδυασμένη τυπική αβεβαιότητα (%) και διευρυμένη τυπική αβεβαιότητα (%) της μεθόδου σε εμβολιασμένα δείγματα ντοματακιών, στα τρία επίπεδα συγκεντρώσεων για τα μακροστοιχεία.

Κατηγορία στοιχείων	Αναλύτης	1 ^ο Επίπεδο 1 ppm		2 ^ο Επίπεδο 10 ppm	
		Συνδυασμένη Αβεβαιότητα %	Διευρυμένη Αβεβαιότητα %	Συνδυασμένη Αβεβαιότητα %	Διευρυμένη Αβεβαιότητα %
Μάκρο-στοιχεία	Ca	23,7	47,4	28,9	57,9
	K	18,2	36,5	14,6	29,2
	Mg	7,0	14,0	15,5	30,9
	Na	9,9	19,7	7,8	15,6
	P	19,4	38,8	10,1	20,3

Στους πίνακες 8.12-8.14 παρατηρούμε υψηλότερες τιμές διευρυμένης αβεβαιότητας στα χαμηλά επίπεδα εμβολιασμού. Αυτό οφείλεται στις υψηλότερες τιμές % RSD_f που εμφάνισαν τα χαμηλά επίπεδα. Οι περισσότεροι αναλύτες έδωσαν % διευρυμένη αβεβαιότητα χαμηλότερη από 50%.

9. Μέθοδος εκτίμησης αυθεντικότητας για τα ΠΟΠ Ντοματάκια Σαντορίνης

9.1. Εισαγωγή

Το τοματάκι Σαντορίνης από την 21/12/2013 είναι ΠΟΠ προϊόν. Η αρχική αίτηση έγινε στις 26/8/2011, με αριθμό φακέλου EL/PDO/005/0088, δημοσιοποιήθηκε στις 13/6/2013 με τη «Δημοσίευση αίτησης σύμφωνα με το άρθρο 50 παράγραφος 2 στοιχείο α) του κανονισμού (ΕΕ) αριθ. 1151/2012 του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου, της για τα συστήματα ποιότητας των γεωργικών προϊόντων και τροφίμων (2013/C 167/08)» και καταχωρήθηκε στο μητρώο των ΠΟΠ προϊόντων στην Κλάση 1.6 (Φρούτα, λαχανικά και δημητριακά, νωπά ή μεταποιημένα) με την έκδοση του «Εκτελεστικού Κανονισμού (ΕΕ) αριθ. 1400/2013 της Επιτροπής της 18ης Δεκεμβρίου 2013 για την καταχώριση ονομασίας στο μητρώο προστατευόμενων ονομασιών προέλευσης και προστατευόμενων γεωγραφικών ενδείξεων [Τοματάκι Σαντορίνης (Tomataki Santorinis) (ΠΟΠ)]». Επίσης το ντοματάκι Σαντορίνης αποτελεί «προϊόν νησιωτικής γεωργίας» (κανονισμός 1151/2012) σύμφωνα με τις νέες προαιρετικές ενδείξεις ποιότητας (optional quality term, OQT).

Ιστορικά στοιχεία

Η πρώτη πιστοποιημένη μαρτυρία καλλιέργειας της τομάτας στη Σαντορίνη ανάγεται στα τέλη του 19ου αιώνα, τοποθετώντας την έναρξή της στη δεκαετία 1870-1880. Μια δεκαετία αργότερα (έτος 1899), στο πλαίσιο της πρώτης συστηματικής μελέτης της χλωρίδας και της γεωργικής παραγωγής της Σαντορίνης, έγινε η πρώτη επίσημη καταγραφή της καλλιέργειας της τομάτας στη Σαντορίνη. Η συστηματική καλλιέργεια της τομάτας στη Σαντορίνη πραγματοποιήθηκε, όταν, με την Οκτωβριανή επανάσταση, έκλεισαν οι εμπορικοί δρόμοι των κρασιών της Σαντορίνης προς τη Ρωσία, με αποτέλεσμα να συρρικνωθεί το αμπελουργικό εισόδημα και να δημιουργηθεί η ανάγκη ανάπτυξης νέων αποδοτικότερων καλλιεργειών. Έτσι, τα έτη 1919-1920, υπάρχουν αναφορές στην τοπική εφημερίδα «Σαντορίνη» ότι η τοματο-καλλιέργεια εξαπλώνεται σε βάρος της αμπελοκαλλιέργειας, ενώ το 1922, ως αίτιο της εξάπλωσης αυτής προσδιορίζεται η πενταπλάσια πρόσδοδος της τομάτας σε σχέση με το αμπέλι. Περιγράφεται ότι σε όλες τις περιοχές με κίσηρη καλλιεργούνταν τομάτες, αναφέροντας ότι η συνολική παραγωγή του πελτέ έφτασε, το 1928, περίπου τους 1 300 τόνους. Έτσι η τοματοποιία της Σαντορίνης αποτελούσε τη μια από τις δύο κύριες

πλουτοπαραγωγικές πηγές της αγροτικής παραγωγής του νησιού. Την εποχή αυτή, η τομάτα στη Σαντορίνη καλλιεργείται ήδη επί 50 έτη, ένα χρονικό διάστημα ικανό για την προσαρμογή της καλλιέργειας στο ιδιαίτερο εδαφοκλιματικό περιβάλλον και την τοπική παραδοσιακή τεχνογνωσία, αλλά και την ανάδειξη των συγκριτικών πλεονεκτημάτων του παραγόμενου προϊόντος.

Σήμερα, το προϊόν έχει καθιερωθεί στη συνείδηση του καταναλωτή ως ένα προϊόν εξαιρετικής ποιότητας, γεγονός που προκύπτει και από τις πάρα πολλές αναφορές στο διαδίκτυο, την πραγματοποίηση συνεδρίων (1^ο 2002, 2^ο 2005 και 3^ο Συνέδριο για το Τοματάκι Σαντορίνης, 8-9/7/2011), ενώ υπάρχουν πολλές συνταγές με κύριο συστατικό το ΠΟΠ «Τοματάκι Σαντορίνης».

Περιγραφή του προϊόντος

Ως «Τοματάκι Σαντορίνης» (εικόνα 9.1) ορίζεται ο νωπός καρπός ενός τοπικού οικότυπου του φυτού *Lycopersicon esculentum* Mill., της οικογένειας των Σολανωδών (*Solanaceae*), που εντάσσεται στην κατηγορία των μικρόκαρων ποικιλιών τομάτας με μέσο κύκλο ανάπτυξης 80 έως 90 ημέρες. Το «Τοματάκι Σαντορίνης» έχει σχήμα καρπού ελαφρώς πεπλατυσμένο σφαιρικό και βάρος που κυμαίνεται από 15g (ελάχιστο) έως 27g (μέγιστο). Ο καρπός έχει έντονες έως ασθενές πτυχώσεις, οι οποίες είναι ιδιαίτερα έντονες στους καρπούς της βάσης του φυτού (ριζίτες). Το «Τοματάκι Σαντορίνης» έχει βαθύ κόκκινο χρώμα, και συνεκτική σάρκα με ελάχιστα υγρά και υψηλή παρουσία σπόρων. Το ποσοστό των διαλυτών στερεών συστατικών του κυμαίνεται στο εύρος 7-10 °Brix, ενώ η συγκέντρωση των διαλυτών στερεών συστατικών είναι χαμηλότερη σε σχέση με τα ολικά στερεά και κυμαίνεται στο εύρος 73-87 % (13-27 % στερεό υπόλοιπο). Επιπλέον, έχει αυξημένη περιεκτικότητα σε ασκορβικό οξύ (κυμαίνεται από 14 έως 18 mg ανά 100 g νωπού βάρους), συνολικές διαλυτές φαινολικές ουσίες (54-57 mg/100 g v.β.) και λυκοπένιο (3,8-7,5 mg/100 g v.β.). Συγχρόνως, το νωπό «Τοματάκι Σαντορίνης» χαρακτηρίζεται από υψηλή οξύτητα (pH = 4-4,5), η οποία σε συνδυασμό με την υψηλή συγκέντρωση υδατανθράκων του προσδίδει μια γλυκιά με έντονη οξύτητα γεύση.

Εικόνα 9.1. Ντοματάκι Σαντορίνης



Ο περιορισμός της παραγωγής, επεξεργασίας και μεταποίησης του προϊόντος εντός της οριοθετημένης γεωγραφικής ζώνης που πρέπει να τηρείται για όλα τα ΠΟΠ προϊόντα κρίνεται αναγκαίος προκειμένου να διασφαλιστεί η ποιότητα του προϊόντος που φέρει την ονομασία «Τοματάκι Σαντορίνης» και να εξασφαλιστεί, κατά το δυνατόν, ο έλεγχος της προέλευσης του τελικού προϊόντος. Πλέον συγκεκριμένα, ο περιορισμός της συσκευασίας εντός της ζώνης παραγωγής είναι απαραίτητος λόγω του ιδιαίτερα σημαντικού κινδύνου υποβάθμισης της ποιότητας, που συνεπάγεται η υποχρεωτική θαλάσσια χύδην μεταφορά ενός τόσο ευαίσθητου προϊόντος, όπως είναι η τομάτα, με σοβαρό ενδεχόμενο την πρόσληψη υγρασίας και την επιμόλυνση από μετασυλλεκτικούς εχθρούς και ασθένειες. Επιπλέον, στοχεύει στη μείωση της νοθείας. Η μικρή στρεμματική απόδοση (περίπου 500 κιλά ανά στρέμμα, όταν η απόδοση υπαίθριας τομάτας στην ενδοχώρα κυμαίνεται στους 10 τόνους περίπου ανά στρέμμα) εξασφαλίζει στο «Τοματάκι Σαντορίνης» σημαντική αξία και πολλαπλάσια τιμή (3 φορές ακριβότερο από τα κοινά ντοματάκια), στοιχείο που αποτελεί σημαντικό κίνητρο για τη νοθεία του προϊόντος. Έτσι, διαφυλάσσεται και η εξαιρετική φήμη του προϊόντος με την προστατευόμενη ονομασία.

Ιδιαιτερότητα της γεωγραφικής περιοχής

Κοινά χαρακτηριστικά όλης της γεωγραφικής ζώνης είναι το ηφαιστειογενές έδαφος και το πολύ ιδιαίτερο μικροκλίμα που χαρακτηρίζεται από ιδιαίτερα ισχυρούς ανέμους, σημαντική ηλιοφάνεια καθ' όλο το έτος και εξαιρετικά άνυδρες συνθήκες (μικρή συνολική ετήσια βροχόπτωση). Πιο συγκεκριμένα:

α) Κλίμα: Τα κλιματικά δεδομένα που παρουσιάζονται ακολούθως θεωρούνται ως ιδιαίτεροι κλιματικοί παράγοντες, υπεύθυνοι για την ποιότητα του προϊόντος:

- 1) η σχετική υγρασία της ατμόσφαιρας, η οποία διατηρείται σε μία μέση ετήσια τιμή 71 %,

- 2) η βροχόπτωση, της οποίας το συνολικό ετήσιο ύψος φτάνει τα 370 χιλιοστά του μέτρου,
- 3) οι βόρειοι άνεμοι, που επικρατούν καθ' όλη τη διάρκεια του έτους,
- 4) η θερμοκρασία, που διατηρεί μία μέση ετήσια τιμή 17,5 °C
- 5) η ηλιοφάνεια, η οποία επικρατεί για 202 ημέρες το χρόνο, και
- 6) η ουσιαστική απουσία παγετών.

β) Έδαφος: Το μητρικό υλικό του ηφαιστειογενούς εδάφους, που απαντάται στο σύνολο σχεδόν της Σαντορίνης, αποτελείται από τριτογενείς αποθέσεις θηραϊκής γης, κίσηρη και λάβα. Τα εδάφη αυτά χαρακτηρίζονται ως βαθιά, με μέτριες έως καθόλου χαραδρωτικές διαβρώσεις και ελαφρές κλίσεις. Γενικότερα, το έδαφος παρουσιάζει λεπτή δομή, έλλειψη του βασικού ανόργανου στοιχείου αζώτου (N) και είναι εξαιρετικά φτωχό σε οργανική ύλη. Επιπλέον, είναι χαρακτηριστική η παρουσία Νατρίου (Na) - που προκαλεί συνθήκες υδατικής καταπόνησης - και η ικανότητα του εδάφους να συγκεντρώνει την υγρασία της ατμόσφαιρας και να την αποδίδει σιγά-σιγά στα φυτά την ημέρα (η κίσηρη είναι γνωστή για την υδατοχωρητικότητά της). Έτσι, τα φυτά βρίσκονται σε καθεστώς υδατικής καταπόνησης, η οποία σε συνδυασμό με την αλκαλικότητα του εδάφους, δίνει ιδιαίτερα χαρακτηριστικά στο προϊόν. Τέλος, οι εδαφικοί υδάτινοι πόροι είναι από ελάχιστοι έως ανύπαρκτοι.

γ) Ανθρώπινοι παράγοντες: Υπάρχουν τρεις ιδιαίτερες διαδικασίες οι οποίες είναι εξαιρετικά σημαντικές στην παραγωγή του προϊόντος και από τις οποίες φαίνεται η συμμετοχή του ανθρώπινου παράγοντα στον παραδοσιακό τρόπο καλλιέργειας:

- 1) Η συλλογή - επιλογή του σπόρου που θα χρησιμοποιηθεί για την επόμενη σοδειά (ιδιοπαραγόμενος σπόρος).
- 2) Η καλλιέργεια του φυτού έχει προσαρμοστεί στις ιδιαίτερες εδαφοκλιματικές συνθήκες της περιοχής (άνυδρες συνθήκες, μεγάλη ηλιοφάνεια και ισχυρότατοι άνεμοι). Πιο συγκεκριμένα, στο πέρασμα των χρόνων έχει επιλεγεί από τους παραγωγούς για άνυδρη καλλιέργεια, ένας πληθυσμός με πρωιμότητα, γεγονός που έλυσε σε μεγάλο βαθμό το πρόβλημα των ισχυρών βόρειων ανέμων και της έλλειψης υδάτινων πόρων δίνοντας τη δυνατότητα να ολοκληρωθεί η καλλιέργεια, ιδίως στα εδάφη στο επίπεδο της θάλασσας, στο χρονικό διάστημα των μηνών Μαρτίου, Απριλίου και Μαΐου. Οι μήνες αυτοί είναι οι πλέον υπήνεμοι στη Σαντορίνη και επιπλέον παρατηρούνται και κάποιες βροχοπτώσεις οι οποίες προσφέρουν πολύτιμους υδάτινους πόρους.
- 3) Μία ιδιαίτερη τεχνική προσαρμογή αφορά στον τρόπο καλλιέργειας και συγκεκριμένα στην απευθείας σπορά στην θηραϊκή γη. Η διαδικασία αυτή εξασφαλίζει τη διατήρηση της

βαθιάς «πασαλώδους» ρίζας, σε αντίθεση με τη συμβατική καλλιέργεια τομάτας, στην οποία μεσολαβεί η μεταφύτευση και το κόψιμο της ρίζας.

Ιδιαίτερα χαρακτηριστικά του προϊόντος

Η ιδιαιτερότητα του προϊόντος συνίσταται στο φυτικό υλικό σε συνδυασμό με τις ιδιαίτερες εδαφοκλιματικές συνθήκες που υπάρχουν στο νησί της Σαντορίνης και τα γύρω νησιά και τις παραδοσιακές μεθόδους καλλιέργειας που εφαρμόζουν οι παραγωγοί.

α) Το «Τοματάκι Σαντορίνης» αποτελεί τοπικό οικότυπο του είδους *Lycopersicon esculentum* Mill., αφού διαθέτει ιστορική καταγωγή, διακριτή ταυτότητα, γενετική παραλλακτικότητα, ειδική προσαρμοστικότητα στην ξηρασία και στην ασβεστο-αλκαλική σύσταση της θηραϊκής γης. Παράγεται σε εμπορική κλίμακα μόνο στην οριοθετημένη γεωγραφική περιοχή. Αποτελεί μια τοπική ιδιοπαραγόμενη καλλιέργεια από τους παραγωγούς της Σαντορίνης, και η οποία είναι συνδεδεμένη με το παραδοσιακό σύστημα καλλιέργειας χαμηλών εισροών. Τα χαρακτηριστικά αυτά έχουν με τα χρόνια σφυρηλατηθεί και μεταλαμπαδευτεί μέσω της διαδικασίας συλλογής-επιλογής των σπόρων για την επόμενη καλλιεργητική περίοδο. Έτσι, έχει μεγάλη ικανότητα να ανέχεται βιοτικές και αβιοτικές καταπονήσεις, με αποτέλεσμα να διατηρεί υψηλή σταθερότητα ικανοποιητικής απόδοσης στο καθεστώς άνυδρης καλλιέργειας στη θηραϊκή γη.

β) Το «Τοματάκι Σαντορίνης», όπως αναφέρεται και στην περιγραφή του προϊόντος, παρουσιάζει ένα ιδιαίτερο χαρακτηριστικό που αφορά στη σύσταση των διαλυτών στερεών του, τα οποία συμβάλλουν θετικά συγχρόνως στα διατροφικά και γευστικά χαρακτηριστικά του. Έχει χαμηλότερη συγκέντρωση διαλυτών στερεών συστατικών σε σχέση με τα ολικά στερεά, η οποία κυμαίνεται στο εύρος 73-87 % (13-27 % στερεό υπόλοιπο), όταν στις κλασσικές ποικιλίες τομάτας το εύρος είναι 95-98 % (2-5 % στερεό υπόλοιπο). Αυτό σημαίνει ότι διαθέτει μεγαλύτερο στερεό υπόλοιπο. Σχετικά πειράματα σύγκρισης των παραμέτρων αυτών με αντίστοιχες της μεγαλόκαρπης ποικιλίας τομάτας τύπου «Gs 67», που πραγματοποιήθηκαν σε συνθήκες συγκριτικής συμβατικής καλλιέργειας έδειξαν ότι το «Τοματάκι Σαντορίνης» υπερέχει και σε περιεκτικότητα σε ασκορβικό οξύ, ολικές διαλυτές φαινόλες και λυκοπένιο, τα οποία αποτελούν μέρος των διαλυτών στερεών. Συγκεκριμένα, ανά 100g νωπού βάρους οι τιμές των παραπάνω συστατικών στο «Τοματάκι Σαντορίνης» είναι αντιστοίχως 14-18 mg, 54-57 mg και 3,8-7,5 mg, όταν στην κλασσική ποικιλία τομάτας «Gs 67» είναι αντιστοίχως 8-12 mg, 30-35 mg, 1,8-7 mg. Αντίστοιχες μελέτες για τα γευστικά του χαρακτηριστικά έδειξαν ότι το «Τοματάκι Σαντορίνης» έχει υψηλότερο ποσοστό στερεών διαλυτών συστατικών και υψηλότερες τιμές τιτλοδοτούμενης οξύτητας.

Το σύνολο των ιδιαιτεροτήτων της τομάτας με την ονομασία «Τοματάκι Σαντορίνης», όπως εκφράζονται από τα φυσικά, χημικά και οργανοληπτικά του

χαρακτηριστικά, είναι αποτέλεσμα της συνδυασμένης επίδρασης των περιβαλλοντικών χαρακτηριστικών, της τοπικής τεχνογνωσίας και του δυναμικού των γενετικών πόρων. Έτσι, τα κύρια ποιοτικά χαρακτηριστικά που συνδέουν το «Τοματάκι Σαντορίνης» με την περιοχή είναι:

α) Το ιδιόμορφο γενετικό υλικό, το οποίο έχει πλέον αποκτήσει τα χαρακτηριστικά μιας τοπικής ποικιλίας, ως αποτέλεσμα του μακροχρόνιου εγκλιματισμού του στις πολύ ιδιαίτερες συνθήκες της περιοχής και του παραδοσιακού τρόπου συλλογής-επιλογής των σπόρων που θα σπαρούν κατά το επόμενο έτος. Η προσαρμογή του φυτού στο περιβάλλον της Σαντορίνης οδήγησαν στη διαμόρφωση ορισμένων ιδιαίτερων χαρακτηριστικών που έχουν προσδώσει στο «Τοματάκι Σαντορίνης» μια ξεχωριστή φήμη στην αγορά, ως ένα προϊόν με υψηλές ποιοτικές προδιαγραφές. Τα χαρακτηριστικά αυτά αφορούν στη διακριτή ταυτότητα, γενετική παραλλακτικότητα και ειδική προσαρμοστικότητα στην ξηρασία και στην ασβεστο-αλκαλική σύσταση του εδάφους, και είναι συνδεδεμένα με το παραδοσιακό σύστημα καλλιέργειας. Πρόσφατες μελέτες έδειξαν ότι:

α) η διερεύνηση των φυλογενετικών σχέσεων μεταξύ δύο διαλογών της τομάτας Σαντορίνης και εφτά εγχώριων ποικιλιών τομάτας, με τη μελέτη 38 χαρακτηριστικών του φυτού, έδειξε σαφή γενετική διάκριση (γενετική απόσταση) της αυθεντικής τομάτας της Σαντορίνης από όλες τις άλλες ποικιλίες, γεγονός το οποίο της προσδίδει διακριτή ταυτότητα (μοναδικότητα), και β) η παράλληλη αξιολόγηση επιλεγέντων γενοτύπων στη Σαντορίνη (εφαρμόζοντας το παραδοσιακό σύστημα καλλιέργειας χαμηλών εισροών) και στο αγρόκτημα του Εθνικού Ιδρύματος Αγροτικής Έρευνας, στη Θεσσαλονίκη (εφαρμόζοντας συμβατική καλλιέργεια υψηλών εισροών), έδειξε ισχυρή επίδραση του περιβάλλοντος στα παραγωγικά χαρακτηριστικά, και η συσχέτιση της κατάταξης έδειξε πλήρη έκφραση της παραγωγής και των συστατικών της μόνο στο *in situ* περιβάλλον, δηλαδή στη Σαντορίνη, ενδείξεις ότι η *in situ* επιλογή είναι πιο αξιόπιστη. Επιπλέον σημειώνεται ότι η αντίδραση της τομάτας στις συνθήκες υψηλής αλκαλικότητας του εδάφους εκδηλώνεται και ως αυξημένο επίπεδο σακχάρων στον ώριμο καρπό.

Συμπεραίνεται λοιπόν ότι ο τοπικός αυτός οικότυπος έχει αποκτήσει υψηλή αγρονομική αξία, αφού παρουσιάζει αξιοθαύμαστη αντοχή στην ξηρασία και σε αρκετές ασθένειες, όπως αλτερνάρια, ωίδιο, φουζάριο και βερτισίλλιο, ενώ έχει αποκτήσει και σημαντική προσαρμοστικότητα στα ηφαιστειογενή εδάφη του νησιού και την ασβεστο-αλκαλική σύσταση της θηραϊκής γης. Οι αποδόσεις του στα άνδρα εδάφη της Σαντορίνης κυμαίνονται κατά μέσο όρο περί τα 500 κιλά ανά στρέμμα και μόνο σε εξαιρετες περιπτώσεις προσεγγίζουν τα 1.000 κιλά.

Στα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του καρπού, τα οποία αφορούν σε ιδιαίτερα υψηλό ποσοστό σακχάρων και ολικών στερεών, γεγονός που αντανακλάται στα

οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του προϊόντος. Σε αυτό συμβάλλει αφενός η παρουσία του Νατρίου που προκαλεί συνθήκες υδατικής καταπόνησης και αφετέρου το γεγονός ότι τα ιδιόμορφα εδάφη της Σαντορίνης συγκεντρώνουν την υγρασία της ατμόσφαιρας (λόγω της καλντέρας τη νύχτα), την οποία αποδίδουν σιγά-σιγά στα φυτά την ημέρα (η κίσηρη είναι γνωστή για την υδατοχωρητικότητά της). Επιπλέον, το φυτό δεν λιπαίνεται, δηλαδή βρίσκεται σε καθεστώς υδατικής καταπόνησης, η οποία σε συνδυασμό με την αυξημένη αλκαλικότητα του εδάφους, αποτελεί τη σημαντικότερη αιτία για το αυξημένο ποσοστό σακχάρων και ολικών στερεών και γενικότερα των στοιχείων που προσδίδουν γεύση και διατροφική αξία.

Συμπερασματικά, το κυριότερο πλεονέκτημα της τομάτας που παράγεται στη Σαντορίνη αποτελεί το αυξημένο επίπεδο σακχάρων και ολικών διαλυτών στερεών στον καρπό της. Το ιδιαίτερο αυτό ποιοτικό χαρακτηριστικό αποτελεί συνδυαστικό αποτέλεσμα που απορρέει από το γενετικό υλικό της τοπικής ποικιλίας, τον τρόπο καλλιέργειας και φυσικά τις ιδιαίτερες εδαφοκλιματικές συνθήκες της Σαντορίνης. Το «Τοματάκι Σαντορίνης» αποτελεί χαρακτηριστικό παράδειγμα ενός τοπικού προϊόντος που εμπεριέχει την έννοια της αιφορικής αξιοποίησης μοναδικών φυσικών πόρων και θέτει τις κατάλληλες παραμέτρους για την παραγωγή προϊόντων υψηλής ποιότητας και αναγνωσιμότητας.

9.2. Υλικά & Μέθοδοι

9.2.1. Συλλογή δειγμάτων

Για τους σκοπούς της μελέτης έγινε συλλογή δειγμάτων (τοματάκια) από διάφορες περιοχές της Σαντορίνης (Πίνακας 9.1 και Χάρτης 9.1) συνολικά 119 δείγματα Σαντορίνης. Τα δείγματα με προέλευση διαφορετική ήταν 59, αναλυτικά παρουσιάζονται στον πίνακα 9.2 και χάρτη 9.2. Όλα τα δείγματα συντηρήθηκαν στην κατάψυξη (-32°C) πριν την προκατεργασία.

Πίνακας 9.1. Δείγματα ντοματακιών από την Σαντορίνης

A/A	Τοποθεσία	Γεωγραφικό Πλάτος	Γεωγραφικό Μήκος	Υψόμετρο (m)	Βιολογικής ή Συμβατικής Καλλιέργειας	Αριθμός δειγμάτων
1	Αγ. Γεώργιος_1	36°20'24.47"B	25°27'12.29"A	2	Συμβατικής	5
2	Αγ. Γεώργιος_2	36°20'24.94"B	25°27'12.13"A	2	Συμβατικής	5
3	Αγ. Γεώργιος_3	36°20'28.01"B	25°26'40.41"A	17	Συμβατικής	5
4	Βλυχάδα	36°20'36.78"B	25°26'0.55"A	34	Συμβατικής	5
5	Εμπορείο	36°21'30.27"B	25°25'46.27"A	111	Συμβατικής	5
6	Ακρωτήρι_1	36°21'40.57"B	25°23'35.85"A	133	Συμβατικής	5
7	Ακρωτήρι_2	36°21'43.27"B	25°22'27.93"A	96	Συμβατικής	5
8	Προφ. Ηλίας	36°21'57.87"B	25°27'43.18"A	463	Συμβατικής	5
9	Μεγαλοχώρι	36°22'23.55"B	25°26'31.15"A	216	Συμβατικής	5
10	Πύργος	36°23'1.98"B	25°26'44.50"A	304	Συμβατικής	5
11	Καρτεράδος	36°24'44.99"B	25°27'18.54"A	90	Συμβατικής	10
12	Καρτεράδος_2	36°24'14.06"B	25°27'1.46"A	128	Συμβατικής	5
13	Ημεροβίγλι	36°26'8.92"B	25°25'37.37"A	287	Συμβατικής	5
14	Βουρβούλος_1	36°25'40.76"B	25°26'17.07"A	132	Συμβατικής	5
15	Βουρβούλος_2	36°27'54.52"B	25°25'25.70"A	10	Συμβατικής	5
16	Φινικιά	36°28'19.64"B	25°22'43.83"A	31	Συμβατικής	4
17	Μονόλιθος_1	36°24'41.11"B	25°28'52.58"A	14	Συμβατικής	7
18	Μονόλιθος_2	36°24'37.45"B	25°28'13.08"A	42	Συμβατικής	4
19	Μεσσαριά_1	36°23'46.83"B	25°26'49.45"A	157	Συμβατικής	10
20	Μεσσαριά_2	36°23'43.19"B	25°26'46.64"A	170	Συμβατικής	4
21	Βόθωνας	36°23'35.56"B	25°27'23.32"A	122	Βιολογικής	10

Χάρτης 9.1. Προέλευση δειγμάτων Σαντορίνης.



Πίνακας 9.2. Δείγματα ντοματακιών από άλλες περιοχές.

A/A	Ευρύτερη Περιοχή / Χώρα	Τοποθεσία	Βιολογικής ή Συμβατικής Καλλιέργειας	Αριθμός δειγμάτων
1	Λήμνος	Καλλιόπη	Βιολογικής	10
2	Κρήτη	Τυμπάκι	Συμβατικής	2
3	Κρήτη	Κουντουράς Χανίων	Συμβατικής	2
4	Κρήτη	Κουντουράς Χανίων	Συμβατικής	2
5	Κρήτη	-	Συμβατικής	2
6	Κρήτη	Ιεράπετρα	Συμβατικής	2
7	Κρήτη	Χανιά	Βιολογικής	3
8	Κρήτη	Χανιά	Βιολογικής	2
9	Κρήτη	Ιεράπετρα	Συμβατικής	2
10	Κρήτη	Νομός Λασιθίου	Συμβατικής	2
11	Κρήτη	Νομός Λασιθίου	Συμβατικής	2
12	Κρήτη	Νομός Λασιθίου	Συμβατικής	1
13	Κρήτη	-	Συμβατικής	2
14	Κρήτη	-	Συμβατικής	2
15	Πόρος	-	Συμβατικής	2
16	Σάμος	-	Συμβατικής	2
17	Σύρος	-	Συμβατικής	2
18	Ημαθία	Αλεξάνδρεια	Συμβατικής	3
19	Ημαθία	-	Συμβατικής	2
20	Αττική	Κορωπί	Συμβατικής	2
21	Ιταλία	-	Συμβατικής	5
22	Βέλγιο	-	Συμβατικής	5

Χάρτης 9.2. Προέλευση ελληνικών δειγμάτων εκτός Σαντορίνης.



9.2.2. Αντιδραστήρια

Τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν στο πειραματικό σκέλος ήταν το νιτρικό οξύ (HNO_3 , Suprapur 65% w/v, Merck, Darmstadt, Germany), το υπεροξείδιο του υδρογόνου (H_2O_2 , Suprapur, 30% w/v, Merck, Darmstadt, Germany), το υδροφθόριο (HF , Suprapur 40% w/v, Merck, Darmstadt, Germany) και πρότυπα πολυστοιχειακά διαλύματα όλων των στοιχείων που μελετήθηκαν (Inorganic Ventures, New Jersey, USA). Σε όλη την διαδικασία χρησιμοποιήθηκε υπερ-κάθαρο νερό που προέρχεται από σύστημα αντίστροφης ώσμωσης MilliQ plus system (Millipore, Saint Quentin Yvelines, France) με αντίσταση $18.2 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$.

9.2.3. Προετοιμασία των δειγμάτων

Αρχικά, πραγματοποιήθηκε πλήρης χώνευση των δειγμάτων σε κλειστό σύστημα χώνευσης υποβοηθούμενο από μικροκύματα (CEM, Mars X-Press, Matthews, NC, USA). Στα δείγματα (0,5 g) προστέθηκαν 6 mL πυκνού νιτρικού οξέος, 2 mL πυκνού υπεροξειδίου

του υδρογόνου και 0,2 mL υδροφθορίου. Στη συνέχεια, η θέρμανση τους επιταχύνθηκε στο υποβοηθούμενο από μικροκύματα σύστημα, ακολουθώντας το ακόλουθο θερμοκρασιακό πρόγραμμα του πίνακα 9.3.[258] Πρέπει να τονιστεί ότι δεν έχουμε απώλειες πτητικών συστατικών καθώς οι οβίδες από teflon είναι σφραγισμένες κατά τη διάρκεια της χώνευσης. Ακολούθως, τα δείγματα φιλτράρονται χρησιμοποιώντας σύριγγα μιας χρήσης με φίλτρα 0.20μm/15mm (Chromafil, Macherey-Nagel, Duren, Germany) και αραιώνονται με νερό που προέρχεται από σύστημα αντίστροφης ώσμωσης προτού αναλυθούν με την τεχνική ICP-MS. Τέλος, τα πρότυπα διαλύματα που χρησιμοποιήθηκαν για την βαθμονόμηση του οργάνου είναι υψηλής καθαρότητας πρότυπα υλικά.

Πίνακας 9.3. Συνθήκες λειτουργίας συστήματος μικροκυμάτων

Βήματα	1	2	3	4
Ισχύς (W)	240	360	420	600
Χρόνος (min)	5	5	10	15
Πίεση (psi)	40	90	120	130

9.2.4. Ανάλυση με ICP-MS

Έγινε προσδιορισμός των συγκεντρώσεων των σπανίων γαιών Ce, Dy, Er, Eu, Gd, Ho, La, Lu, Nd, Pr, Sc, Sm, Tb, Th, Tm, U, Y, Yb των ακτινιδών, Th & U των πολύτιμων μετάλλων Au, Ir, Pd, Pt, Re, Rh, Ru των ιχνοστοιχείων Ag, As, B, Ba, Be, Bi, Cd, Cs, Cr, Co, Cu, Fe, Ga, Hf, Pb, Li, Mn, Mo, Nb, Ni, Rb, Sb, Se, Si, Sn, Sr, Ta, Tl, Ti, V, W, Zn, Zr και των μάκρο στοιχείων Ca, K, Mg, Na, P. Τα όρια ποσοτικοποίησης LOQ's (limits of quantification) ήταν χαμηλότερα από τις τιμές των δειγμάτων για όλα τα στοιχεία εκτός των B, Se και W σε ελάχιστα δείγματα. Αναλυτικά τα όρια ποσοτικοποίησης της μεθόδου στο κεφάλαιο 8 Για τον έλεγχο της μεθόδου χρησιμοποιήθηκαν τα παρακάτω πρότυπα υλικά αναφοράς NIST-SRM 1573a – tomato leaves, για τα ιχνοστοιχεία και τα μάκρο στοιχεία και το BCR-668 mussel tissue για τις σπάνιες γαίες. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται αναλυτικά στον πίνακα 9.4. Οι ανακτήσεις για τα περισσότερα στοιχεία κυμάνθηκαν μεταξύ 70-120%. Τα πρότυπα υλικά αναφοράς υποβλήθηκαν ακριβώς στην ίδια διαδικασία με τα δείγματα και αναλύθηκαν εις τριπλούν.

Πίνακας 9.4. Αποτελέσματα προτύπων υλικών αναφοράς (n=3)

	BCR 668			SRM 1573a	
Σπάνιες Γαίες	Πιστοποιημένη τιμή, ppb	Ευρεθείσα τιμή, ppb	Trace elements	Πιστοποιημένη τιμή, ppm	Ευρεθείσα τιμή, ppm
Ce	89 ± 7	82 ± 3	Al	598 ± 12	613 ± 17
Dy	8.9 ± 0.6	7.9 ± 0.9	As	0,112 ± 0,004	0,170 ± 0,040
Er	4.5 ± 0.5	3.7 ± 0.7	B	33,3 ± 0,7	27,4 ± 1,7
Eu	2,79 ± 0,16	2,4 ± 0,10	Cd	1,52 ± 0,04	1,63 ± 0,23
Gd	13,0 ± 0,6	12,1 ± 0,7	Cr	1,99 ± 0,06	1,81 ± 0,30
Ho	1,8 ± 0,6 ^a	1,2 ± 0,2	Co	0,57 ± 0,02	0,50 ± 0,10
La	80 ± 6	71 ± 5	Cu	4,70 ± 0,14	4,9 ± 0,91
Lu	0,389 ± 0,024	0,379 ± 0,010	Fe	368 ± 7	310 ± 40
Nd	54 ± 4	49 ± 1	Ni	1,59 ± 0,07	2,5 ± 0,9
Pr	12,3 ± 1,1	11,1 ± 0,2	Rb	14,89 ± 0,27	17,1 ± 4,10
Sc	8,5 ± 1,8	10,3 ± 1,5	Sb	0,063 ± 0,006	0,057 ± 0,007
Sm	11,2 ± 0,8	10,4 ± 0,4	Se	0,054 ± 0,003	0,034 ± 0,010
Tb	1,62 ± 0,12	1,60 ± 0,07	V	0,835 ± 0,010	0,937 ± 0,107
Tm	0,48 ± 0,08	0,571 ± 0,03	Zn	30,9 ± 0,2	34,7 ± 1,1
Y	59 ± 5	53 ± 3			
Yb	2,8 ± 0,5 ^a	2,1 ± 0,1			
Actinides			Macro elements		
Th	10,7 ± 1,2	9,7 ± 0,3	Mg	246 ± 8	197 ± 40
U	56 ± 5	50,9 ± 4	Na	136 ± 4	121 ± 17

^a Ενδεικτικές τιμές

Το στοιχειακό προφίλ προσδιορίστηκε χρησιμοποιώντας ένα Perkin Elmer (SCIEX, Canada) 9000 Series, φασματόμετρο μαζών με επαγωγικά συζευγμένο πλάσμα, ICP-MS. Οι συνθήκες λειτουργίας του ICP-MS ήταν οι ακόλουθες: ροή αερίου στον εκνεφωτή 0.75 L min⁻¹, ισχύς του ICP RF 950 W, τάση των ιοντικών φακών 7 V, τάση στο παλμικό στάδιο 950 V και 26 rpm η συχνότητα πρόσληψης δείγματος από την περισταλτική αντλία.

9.2.5. Στατιστική ανάλυση

Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας το λογισμικό SPSS της (IBM). Έτσι παρουσιάζονται στοιχεία περιγραφικής στατιστικής, μέση τιμή και τυπικό σφάλμα. Η στατιστική ανάλυση έχει γίνει σε στάθμη εμπιστοσύνης 95% ($P \leq 0.05$), εκτός αν

αναφέρεται σε κάποιο σημείο κάτι διαφορετικό. Ακόμη χρησιμοποιήθηκε το StatgraphicsCenturion XVI (Statpoint technologies, Virginia, USA) για την ανάλυση και την οπτικοποίηση δεδομένων αλλά και προγνωστικών στατιστικών αναλύσεων.

9.3. Αποτελέσματα και Συζήτηση

9.3.1. Διάκριση δειγμάτων Σαντορίνης από Μη Σαντορίνης

Στόχος της μελέτης ήταν η διάκριση των δειγμάτων Σαντορίνης από τα Μη Σαντορίνης μέσω του στοιχειακού αποτυπώματος. Όπως παρατηρούμε στο παρακάτω πίνακα όλα τα στοιχεία έδωσαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές μεταξύ των δειγμάτων, εκτός του Ιριδίου, του Λευκοχρύσου, του Ρηνίου, του Μολύβδου, του Κασσιτέρου, του Στροντίου, του Τιτανίου και του Βολφραμίου. Μία ακόμη σημαντική παρατήρηση είναι το ότι και οι 16 σπάνιες γαίες διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά στις 2 κατηγορίες Σαντορίνης και Μη Σαντορίνης. Παρομοίως σημαντικές διαφορές υπήρχαν στο προφίλ των μακροστοιχείων των ακτινίδων και των περισσοτέρων ιχνοστοιχείων. Παρακάτω με την στατιστική ανάλυση, φαίνεται καλύτερα ποια στοιχεία αποτελούν τους πιο «ισχυρούς» δείκτες στην συγκεκριμένη μελέτη.

Πίνακας 9.5. Μέση τιμή και τυπικό σφάλμα των αναλυτών σε δείγματα Σαντορίνης και Μη Σαντορίνης. Όλα τα αποτελέσματα είναι σε $\mu\text{g}/\text{kg}$.

Αναλύτες		Σαντορίνης		Μη Σαντορίνης		P-value
		Μέση τιμή	Τυπικό Σφάλμα	Μέση τιμή	Τυπικό Σφάλμα	
Σπάνιες Γαίες	Ce	10,26	0,74	3,27	0,23	<0,001
	Dy	1,015	0,071	0,254	0,014	<0,001
	Er	0,667	0,047	0,182	0,009	<0,001
	Eu	0,24	0,01	0,12	0,01	<0,001
	Gd	1,06	0,07	0,31	0,02	<0,001
	Ho	0,231	0,016	0,063	0,003	<0,001
	La	11,18	0,35	8,45	0,24	<0,001
	Lu	0,053	0,004	0,015	0,001	<0,001
	Nd	4,16	0,30	1,14	0,08	<0,001
	Pr	1,097	0,078	0,318	0,020	<0,001
	Sc	5,8	0,1	3,7	0,1	<0,001
	Sm	0,99	0,06	0,37	0,02	<0,001
	Tb	0,137	0,007	0,045	0,002	<0,001
	Tm	0,079	0,004	0,036	0,001	<0,001
	Y	6,29	0,46	0,97	0,07	<0,001
	Yb	0,652	0,045	0,210	0,009	<0,001
Ακτινίδες	Th	3,03	0,25	0,78	0,06	<0,001

	U	2,05	0,12	1,24	0,09	<0,001
Πολύτιμα μέταλλα	Au	0,14	0,02	0,04	0,00	<0,001
	Ir	0,011	0,001	0,011	0,001	0,905
	Pd	1,12	0,07	0,61	0,02	<0,001
	Pt	0,022	0,001	0,023	0,001	0,381
	Re	0,0032	0,0001	0,0031	0,0002	0,841
	Rh	0,0078	0,0002	0,0063	0,0005	0,001
	Ru	0,18	0,01	0,34	0,02	<0,001
Ιχνοστοιχεία	Ag	2,61	0,14	1,78	0,07	<0,001
	As	6,1	0,2	4,7	0,1	<0,001
	B	416	8	237	13	<0,001
	Ba	34	1	12	1	<0,001
	Be	67	2	39	2	<0,001
	Bi	3,72	0,57	1,02	0,19	0,001
	Cd	51,33	2,20	21,95	0,73	<0,001
	Co	21,6	1,9	1,1	0,2	<0,001
	Cr	97	4	36	5	<0,001
	Cs	18,97	0,79	5,78	0,26	<0,001
	Cu	1380	65	528	48	<0,001
	Fe	11544	450	4034	211	<0,001
	Ga	22,7	0,5	13,9	0,3	<0,001
	Hf	0,093	0,006	0,029	0,001	<0,001
	In	1	0	1	0	<0,001
	Li	25,4	0,8	28,9	1,7	0,033
	Mn	23	1	11	1	<0,001
	Mo	2749	133	1335	101	<0,001
	Nb	90,22	3,93	50,14	6,93	<0,001
	Ni	0,443	0,031	0,144	0,011	<0,001
	Pb	107,7	33,5	56,0	3,1	0,280
	Rb	4097	170	429	41	<0,001
	Sb	80,82	14,12	4,86	0,34	<0,001
	Se	31	1	22	2	<0,001
	Si	71770	1707	53260	1644	<0,001
	Sn	7	1	16	10	0,167
	Sr	269	17	281	35	0,721
	Ta	0,026	0,001	0,019	0,001	<0,001
	Tl	0,64	0,03	0,35	0,04	<0,001
	Ti	6031	80	5835	111	0,157
	V	247	8	183	5	<0,001
	W	0,52	0,04	2,90	1,80	0,063
Zn	7889	199	5585	128	<0,001	
Zr	3,12	0,24	0,79	0,05	<0,001	
Μάκρο- στοιχεία	Ca	134249	3782	82716	3288	<0,001
	K	4879309	178689	4078104	324800	0,020

	Mg	188553	13094	53534	2750	<0,001
	Na	184742	11530	57147	2748	<0,001
	P	350317	11201	210838	8616	<0,001

Πολυμεταβλητή στατιστική ανάλυση (Multivariate statistical analysis)

Κατ' αρχήν χρησιμοποιήθηκε η PCA (Principal Component Analysis, Ανάλυση Κυρίων Συνιστώσων) για να την μείωση των διαστάσεων από τις πολλές μεταβλητές σε κύριες συνιστώσες χωρίς να χάνετε το σύνολο της πληροφορίας. Έτσι παρατηρούμε μια πρώτη αξιολόγηση της ομοιότητας μεταξύ των τάξεων. Η PCA είναι μια μέθοδος προβολής που επιτρέπει την εύκολη απεικόνιση όλων των πληροφοριών που περιέχονται σε ένα σύνολο δεδομένων. Επιπλέον, η PCA βοηθάει στο να βρεθεί στο κατά πόσο ένα δείγμα είναι διαφορετικό από το άλλο καθώς και ποιες μεταβλητές συμβάλλουν περισσότερο τη διαφορά αυτή. Τέλος αξιοποιήθηκαν οι χρήσιμες πληροφορίες, «διώχνοντας» τις παραλλακτικότητες που δεν είχαν νόημα και δεν συνεισφέρουν [259].

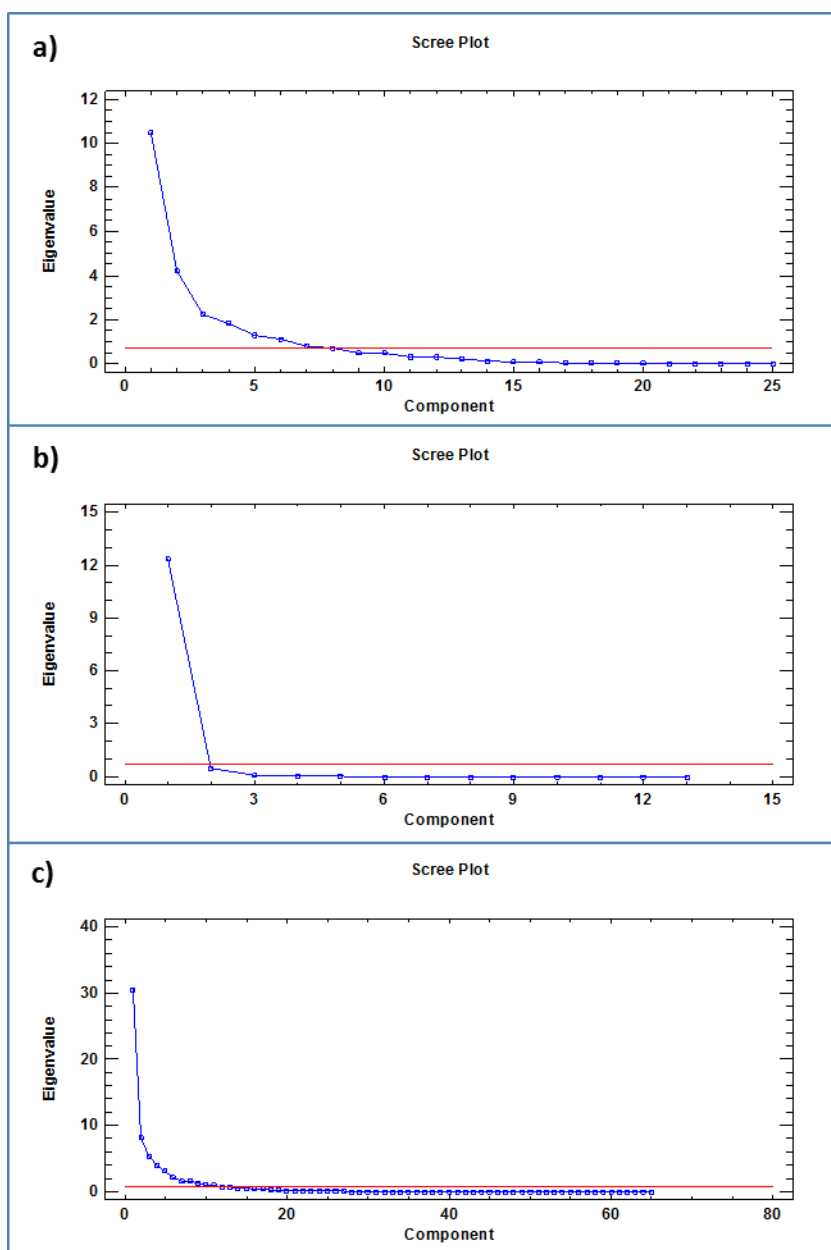
Η διακριτική ανάλυση (*Discriminant Analysis, DA*) έχει σχεδιαστεί για να βοηθάει στη διάκριση ανάμεσα σε δύο ή περισσότερες ομάδες των δεδομένων που βασιζόμενη σε ένα σύνολο ποσοτικών μεταβλητών. Αυτό επιτυγχάνεται με την κατασκευή παραγόντων διάκρισης (*discriminant functions*) που είναι γραμμικοί συνδυασμοί των μεταβλητών. Ο στόχος μιας τέτοιας ανάλυσης είναι να διακριθούν και ταξινομηθούν τα δείγματα σε ομάδες όσο το δυνατόν καλύτερα. Όστε μια νέα παρατήρηση (άγνωστο δείγμα) να ταξινομηθεί σωστά στην ομάδα που ανήκει. Κατά την κατασκευή των παραγόντων διάκρισης (*discriminant functions*), η διαδικασία επιτρέπει να συμπεριληφθούν όλες τις μεταβλητές ή να χρησιμοποιηθεί μια σταδιακή διαδικασία επιλογής που περιλαμβάνει μόνο εκείνες τις μεταβλητές που είναι στατιστικά σημαντικές για την διαφοροποίηση των ομάδων [259-261].

Αξιολόγηση των δεδομένων με την PCA

Στο παρακάτω διάγραμμα παρατηρούμε τα PCA scree plots χρησιμοποιώντας ως συνιστώσες τα a) ιχνοστοιχεία, b) τις σπάνιες γαίες και c) όλα τα στοιχεία που μετρήθηκαν. Η κόκκινη γραμμή στα σχήματα αντιπροσωπεύει τον αριθμό των συνιστώσων που αντιπροσώπευε περισσότερο από 90% της συνολικής διακύμανσης. Με βάση αυτό, μπορούμε να δούμε ότι οι πρώτες επτά κύριες συνιστώσες (PCs) αντιπροσωπεύουν άνω του 90% της συνολικής διακύμανσης στα δεδομένα των ιχνοστοιχείων. Αυτό σημαίνει ότι με τις 8 πρώτες κύριες συνιστώσες μπορεί να εξηγήσει πάνω από το 90% της πληροφορίας από τα ιχνοστοιχεία. Επιπλέον, το Σχήμα 2.b με τις 2 πρώτες κύριες συνιστώσες φαίνεται ότι μπορεί να εξηγήσει πάνω από το 90% της πληροφορίας από τις σπάνιες γαίες. Οι πληροφορίες που θα ληφθούν χρησιμοποιώντας περισσότερες κύριες συνιστώσες δεν αυξηθεί δραστικά,

υποδεικνύοντας ελάχιστη συμβολή των σπάνιων γαιών στη συνολική διακύμανση, αποτελώντας έτσι ισχυρούς δείκτες γεωγραφικής προέλευσης. Τέλος στο διάγραμμα 2.c μπορούμε να παρατηρήσουμε ότι χρησιμοποιώντας το συνολικό στοιχειακό αποτύπωμα, μόνο 12 στοιχεία είναι επαρκή για να εξηγήσουν περισσότερο από 90% του συνόλου των πληροφοριών. Αυτά τα 12 στοιχεία ήταν τα Ce, Er, Gd, Lu, Y, Yb, Th, As, Hf, Li και Ti. Οι πληροφορίες από την PCA αξιοποιούνται περαιτέρω παρακάτω.

Διάγραμμα 9.1 PCA scree plots για τα a) ιχνοστοιχεία, b) σπάνιες γαίες και c) όλα τα στοιχεία.



Αξιολόγηση των δεδομένων με την Διακριτική Ανάλυση (DA)

Η διακριτική ανάλυση χρησιμοποιήθηκε για την ταξινόμηση των δειγμάτων που αναλύθηκαν στις ομάδες της γεωγραφικής τους προέλευσης. Είναι ιδιαίτερα ενδιαφέρον ότι με το συνολικό στοιχειακό αποτύπωμα των δειγμάτων ταξινομούνται σωστά το 99,44% των δειγμάτων (πίνακας 9.6) στις 10 διαφορετικές περιοχές. Μόνο ένα δείγμα από την Κρήτη δεν ταξινομήθηκε σωστά. Όσο αφορά τα 119 δείγματα από την Σαντορίνη ταξινομήθηκαν όλα σωστά. Στο διάγραμμα 9.2, με την χρήση 2 παραγόντων διάκρισης (discriminant functions), φαίνεται και οπτικά το πόσο καλά διακρίθηκαν τα ντοματάκια Σαντορίνης (κάτω δεξιά) από τα υπόλοιπα Μη Σαντορίνης.

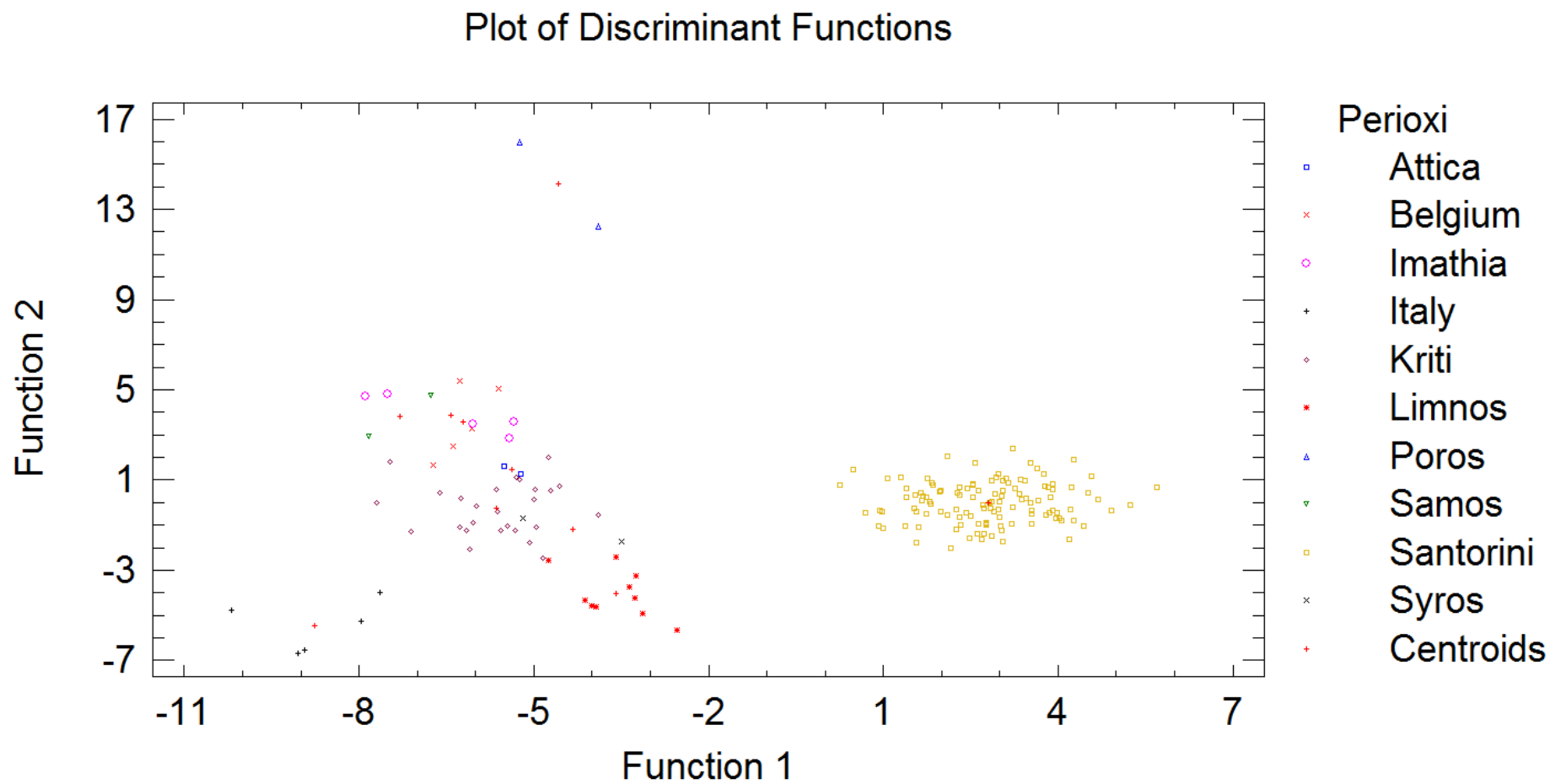
Πίνακας 9.6. Πίνακας ταξινόμησης των δειγμάτων ανά γεωγραφική προέλευση με βάση το συνολικό στοιχειακό αποτύπωμα.

Classification Table

<i>Actual</i>	<i>Group</i>	<i>Predicted</i>	<i>Perioxi</i>								
<i>Perioxi</i>	<i>Size</i>	<i>Attica</i>	<i>Belgium</i>	<i>Imathia</i>	<i>Italy</i>	<i>Kriti</i>	<i>Limnos</i>	<i>Poros</i>	<i>Samos</i>	<i>Santorini</i>	<i>Syros</i>
Attica	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		(100,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)
Belgium	5	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0
		(0,00%)	(100,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)
Imathia	5	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0
		(0,00%)	(0,00%)	(100,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)
Italy	5	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0
		(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(100,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)
Kriti	26	0	1	0	0	25	0	0	0	0	0
		(0,00%)	(3,85%)	(0,00%)	(0,00%)	(96,15%)	(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)
Limnos	10	0	0	0	0	0	10	0	0	0	0
		(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(100,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)
Poros	2	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0
		(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(100,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)
Samos	2	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0
		(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(100,00%)	(0,00%)	(0,00%)
Santorini	119	0	0	0	0	0	0	0	0	119	0
		(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(100,00%)	(0,00%)
Syros	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
		(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(100,00%)

Percent of cases correctly classified: 99,44%

Διάγραμμα 9.2. Απεικόνιση των δειγμάτων με βάση τους 2 κύριους παράγοντες διάκρισης για το συνολικό στοιχειακό αποτύπωμα.



Στη συνέχεια εκλέχθηκαν τα αποτελέσματα ανά ομάδα στοιχείων και μας έδωσαν τα παρακάτω ποσοστά διάκρισης:

Σπάνιες γαίες & ακτινίδες (18 στοιχεία): 70,22%

Πολύτιμα μέταλλα (7 στοιχεία): 69,10%

Ιχνοστοιχεία (34 στοιχεία): 94,94%

Μάκρο-στοιχεία (5 στοιχεία): 60,67%

Τα ιχνοστοιχεία έδωσαν το μεγαλύτερο ποσοστό ταξινόμησης 94,94% (αναλυτικά πίνακας 9.7 και διάγραμμα 9.3), αναμενόμενο καθώς υπήρχαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές όπως είδαμε στον πίνακα 9.5 αλλά και επειδή σε αυτή την κατηγορία στοιχείων ανήκουν τα 34 από τα συνολικά 64 στοιχεία που μετρήθηκαν. Στον πίνακα 9.7 παρατηρούμε ότι μόνο ένα δείγμα Σαντορίνης ταξινομήθηκε λάθος ως Κρήτης. Τα περισσότερα λάθος ταξινομημένα δείγματα ήταν από την Κρήτη και ταξινομήθηκαν σε άλλες περιοχές της Ελλάδας. Το ειδικό ποσοστό σωστής ταξινόμησης για την Κρήτη ήταν μόνο 76,92%. Στο διάγραμμα 9.3 φαίνεται οπτικά η διάκριση μεταξύ των δειγμάτων Σαντορίνης (κέντρο και δεξιά) και Μη Σαντορίνης.

Αν και ποσοστά της τάξης του 70% δεν θεωρούνται ικανοποιητικά είναι ενδιαφέρον πως μόνα τους τα πολύτιμα μέταλλα (7 στοιχεία) έδωσαν σωστή ταξινόμηση κατά 69,10% ενώ τα μάκρο-στοιχεία (5 στοιχεία) έδωσαν 60,67%

Ακόμη ελέχθηκαν διάφοροι συνδυασμοί στοιχείων:

Σπάνιες γαίες, ακτινίδες & πολύτιμα μέταλλα (25 στοιχεία): 86,52%

Ιχνοστοιχεία & μάκρο-στοιχεία (39 στοιχεία): 98,88%

Όπως είναι λογικό αυξήθηκαν τα ποσοστά ταξινόμησης στους παραπάνω συνδυασμούς αφού προστέθηκαν και άλλα στοιχεία που συνεισφέρουν στην διάκριση.

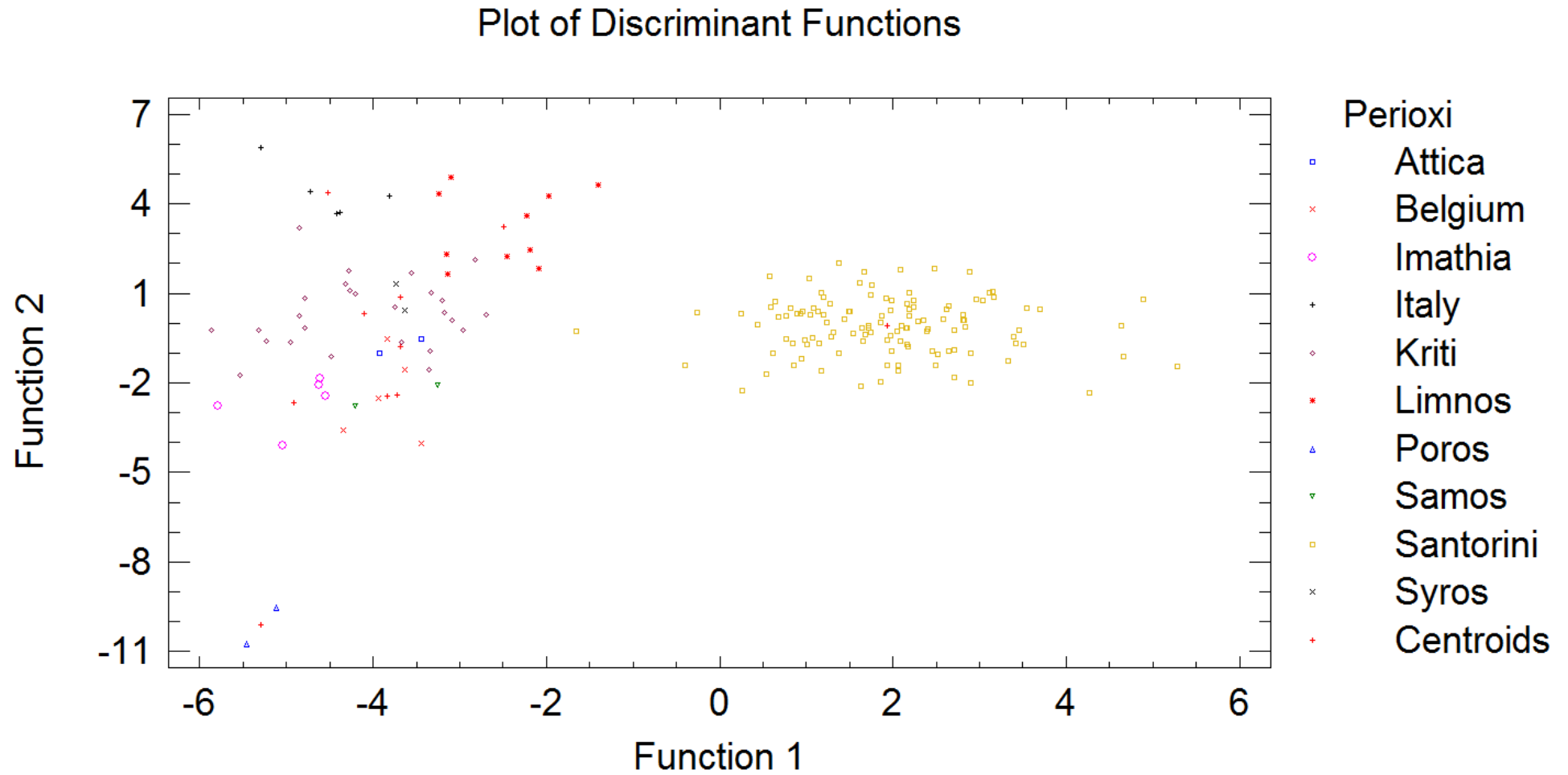
Πίνακας 9.7 Πίνακας ταξινόμησης των δειγμάτων ανά γεωγραφική προέλευση με βάση τα ιχνοστοιχεία.

Classification Table

<i>Actual</i>	<i>Group</i>	<i>Predicted</i>	<i>Perioxi</i>								
<i>Perioxi</i>	<i>Size</i>	<i>Attica</i>	<i>Belgium</i>	<i>Imathia</i>	<i>Italy</i>	<i>Kriti</i>	<i>Limnos</i>	<i>Poros</i>	<i>Samos</i>	<i>Santorini</i>	<i>Syros</i>
Attica	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		(100,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)
Belgium	5	0	4	0	0	0	0	0	1	0	0
		(0,00%)	(80,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(20,00%)	(0,00%)	(0,00%)
Imathia	5	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0
		(0,00%)	(0,00%)	(100,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)
Italy	5	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0
		(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(100,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)
Kriti	26	2	0	1	0	20	0	0	0	0	3
		(7,69%)	(0,00%)	(3,85%)	(0,00%)	(76,92%)	(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(11,54%)
Limnos	10	0	0	0	0	1	9	0	0	0	0
		(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(10,00%)	(90,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)
Poros	2	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0
		(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(100,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)
Samos	2	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0
		(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(100,00%)	(0,00%)	(0,00%)
Santorini	119	0	0	0	0	1	0	0	0	118	0
		(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(0,84%)	(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(99,16%)	(0,00%)
Syros	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
		(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(100,00%)

Percent of cases correctly classified: 94,94%

Διάγραμμα 9.3. Απεικόνιση των δειγμάτων με βάση τους 2 κύριους παράγοντες διάκρισης για τα ιχνοστοιχεία.



Τέλος μελετήθηκαν μόνο τα 12 στοιχεία (Ce, Er, Gd, Lu, Y, Yb, Th, As, Hf, Li και Ti) που επηρεάζουν περισσότερο την διάκριση, για να δούμε τη διαφοροποίηση δίνουν μεταξύ των δειγμάτων Σαντορίνης και Μη Σαντορίνης με την διακριτική ανάλυση αν χρησιμοποιηθούν μόνο τους. Όπως φαίνεται στον πίνακα 9.8 το ποσοστό σωστής ταξινόμησης είναι 96,07%, πολύ ικανοποιητικό. Δεν ταξινομήθηκαν σωστά 6 από τα 119 δείγματα Σαντορίνης και 1 από τα 59 Μη Σαντορίνης. Ακόμη στο διάγραμμα 9.4 βλέπουμε και οπτικά την διαφοροποίηση των δειγμάτων στις 2 κατηγορίες. Έτσι δεν υπάρχει ανάγκη για τον προσδιορισμό του συνολικού στοιχειακού αποτυπώματος (64 στοιχεία) αλλά μόνο των στοιχείων που αποτελούν τους ισχυρότερους δείκτες, 12 στοιχεία στην περίπτωση μας. Ακόμη παρατηρούμε ακόμη ότι τα 6 (Ce, Er, Gd, Lu, Y, Yb) από αυτά τα 12 στοιχεία ανήκουν στις σπάνιες γαίες. Αυτό ενισχύει την θεωρία και τα αποτελέσματα ερευνών σε άλλα προϊόντα ότι οι σπάνιες γαίες αποτελούν ισχυρούς δείκτες γεωγραφικής προέλευσης [145, 146, 148].

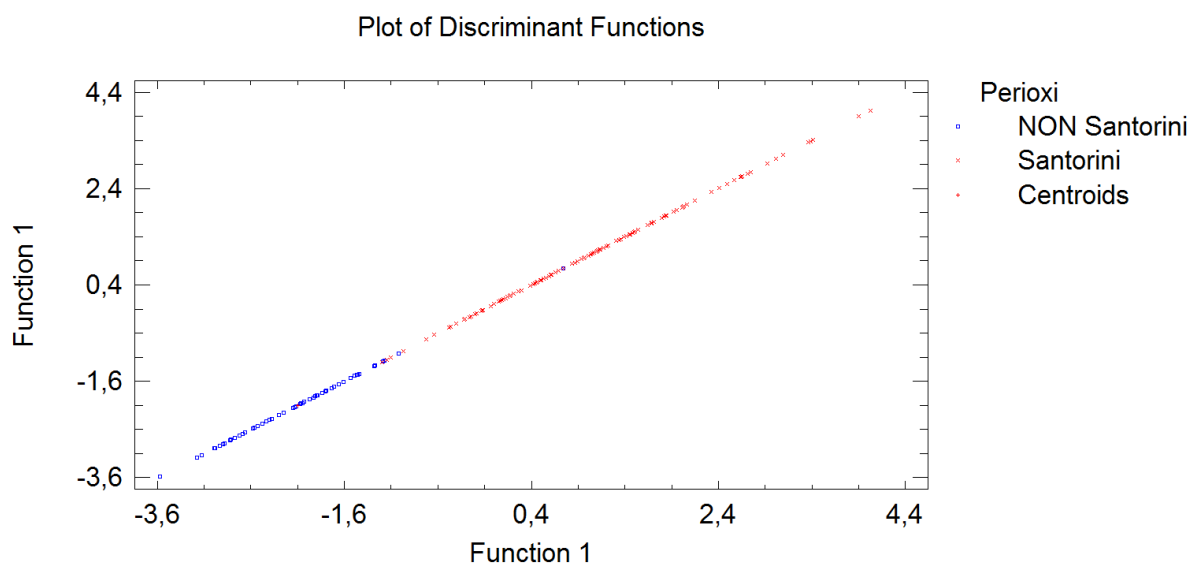
Πίνακας 9.8 Πίνακας ταξινόμησης των δειγμάτων σε Σαντορίνης και Μη Σαντορίνης με βάση τα 12 στοιχεία που επηρεάζουν περισσότερο την διάκριση.

Classification Table

<i>Actual</i>	<i>Group</i>	<i>Predicted</i>	<i>Perioxi</i>
<i>Perioxi</i>	<i>Size</i>	<i>NON Santorini</i>	<i>Santorini</i>
NON Santorini	59	58	1
		(98,31%)	(1,69%)
Santorini	119	6	113
		(5,04%)	(94,96%)

Percent of cases correctly classified: **96,07%**

Διάγραμμα 9.4. Απεικόνιση των δειγμάτων με βάση τον παράγοντα διάκρισης για τα 12 στοιχεία που επηρεάζουν περισσότερο την διάκριση.



9.3.2. Διάκριση μεταξύ Βιολογικών και Μη Βιολογικών δειγμάτων - Έλεγχος για χρήση συνθετικών λιπασμάτων

Παράλληλα με τα παραπάνω έγινε μελέτη εάν το στοιχειακό αποτύπωμα μπορεί να διακρίνει βιολογικά ντοματάκια από μη βιολογικά ντοματάκια. Τα βιολογικά τρόφιμα θεωρούνται πιο ασφαλή, ποιοτικά και πιο φιλικά προς το περιβάλλον από τα αντίστοιχα συμβατικά. Αυτό έχει αυξήσει σημαντικά τη ζήτηση των καταναλωτών για τα βιολογικά τρόφιμα και τον αριθμό των παραγωγών βιολογικών προϊόντων. Ως εκ τούτου, και λόγω του μεγαλύτερου κόστους παραγωγής τους πωλούνται σε υψηλότερες τιμές. Έτσι οι περιπτώσεις απάτης με βιολογικά προϊόντα αυξάνονται, συνήθως μέσω παραπλανητικής επισήμανσης συμβατικών τροφίμων ως βιολογικά.

Τα βιολογικά φυτικά προϊόντα εντός της Ευρωπαϊκής Ένωσης πρέπει να παράγονται σύμφωνα με τους κανονισμούς 834/2007 και 889/2008. Παρόμοια νομοθεσία ισχύει και σε άλλες χώρες στις ΗΠΑ (National Organic Program, NOP). Σε αυτούς τους κανονισμούς η χρήση συνθετικών λιπασμάτων και φυτοφαρμάκων απαγορεύεται στη βιολογική γεωργία. Αντιθέτως, η βιολογική γεωργία βασίζεται στη χρήση οργανικών λιπασμάτων, όπως η κοπριά ζώων, χλωρή λίπανση και τα κομποστοποιημένα λιπάσματα.

Σήμερα, ο έλεγχος για την αυθεντικότητα των βιολογικών τροφίμων, φυτικής προέλευσης, βασίζεται σχεδόν αποκλειστικά στον προσδιορισμό φυτοπροστατευτικών προϊόντων. Όμως έτσι, δεν μπορούν να πιστοποιηθούν όλες οι παράμετροι της βιολογικής καλλιέργειας, όπως η μη χρησιμοποίηση συνθετικών λιπασμάτων, η χρήση αειφόρων πρακτικών καλλιέργειας, η διατήρηση της βιοποικιλότητας, η ενίσχυση της γονιμότητας των εδαφών μέσω της εναλλαγής καλλιεργειών και η συνετή χρήση υδάτινων πόρων. Επομένως υπάρχει ανάγκη για πρόσθετες μεθοδολογίες πιστοποίησης των βιολογικών τροφίμων που θα υποστηρίζονται από νέες αναλυτικές τεχνολογίες και δείκτες. Για αυτό είναι ιδιαίτερα σημαντική η εύρεση νέων δεικτών χρησιμοποιώντας πρωτότυπες αναλυτικές τεχνολογίες και αρχές. Το στοιχειακό προφίλ είναι υπό διεξοδική συζήτηση ως παράμετρος ποιότητας, και ασφάλειας, αυθεντικότητας των τροφίμων [1]. Εκτός αυτού το στοιχειακό αποτύπωμα αποδεικνύεται αξιόπιστος δείκτης για την ανίχνευση της χρήσης συνθετικών λιπασμάτων [201].

Συνολικά τα βιολογικά δείγματα ήταν 25 με τις εξής προελεύσεις: 10 Σαντορίνη, 10 Λήμνος και 5 Κρήτη και τα μη βιολογικά ήταν 154, αναλυτικά παρουσιάζονται στους πίνακες 9.1 και 9.2. Διερευνήθηκε πιθανή διάκριση μεταξύ Βιολογικών και Μη Βιολογικών δειγμάτων μέσω του στοιχειακού αποτύπωματος. Όπως αναμενόταν, δεν έχουμε τόσες πολλές και τόσο μεγάλες στατιστικώς σημαντικές διαφορές όπως προηγουμένως στις τιμές p, μιας και η γεωγραφική προέλευση επηρεάζει πιο πολύ το στοιχειακό αποτύπωμα των φυτικών προϊόντων από ότι το αν είναι βιολογικής ή συμβατικής καλλιέργειας. Παρ' όλα αυτά υπάρχουν διαφορές σε όλες τις ομάδες στοιχείων μεταξύ Βιολογικών και Μη Βιολογικών δειγμάτων. Είναι πολύ ενδιαφέρον το ότι έδωσαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές στοιχεία όπως το βόριο, ο φώσφορος, το μολυβδαίνιο, ο σίδηρος, το κοβάλτιο και το ασβέστιο. Αυτά τα στοιχεία συμπεριλαμβάνονται στη σύνθεση των συνθετικών λιπασμάτων που χρησιμοποιούνται στις συμβατικές καλλιέργειες κηπευτικών. Έτσι παρατηρούμε σημαντικώς υψηλότερες συγκεντρώσεις του βορίου, του φωσφόρου, του μολυβδαίνιου, του σιδήρου, του κοβαλτίου και του ασβεστίου στα δείγματα συμβατικής καλλιέργειας από ότι στα βιολογικής.

Πίνακας 9.9. Μέση όρος και τυπικό σφάλμα των αναλυτών σε Βιολογικά και Μη Βιολογικά δείγματα. Όλα τα αποτελέσματα είναι σε µg/kg.

Αναλύτες		Βιολογικά		Μη Βιολογικά		P-value
		Μέση τιμή	Τυπικό Σφάλμα	Μέση τιμή	Τυπικό Σφάλμα	
Σπάνιες Γαίες	Ce	4,75	0,47	8,44	0,63	0,021
	Dy	0,420	0,038	0,816	0,062	0,011
	Er	0,283	0,026	0,540	0,040	0,012
	Eu	0,14	0,01	0,21	0,01	0,008
	Gd	0,47	0,04	0,86	0,06	0,010
	Ho	0,098	0,009	0,187	0,014	0,009
	La	8,87	0,44	10,50	0,30	0,034
	Lu	0,022	0,002	0,043	0,003	0,009
	Nd	1,91	0,17	3,36	0,26	0,027
	Pr	0,517	0,046	0,889	0,067	0,028
	Sc	4,1	0,2	5,3	0,1	0,002
	Sm	0,51	0,03	0,83	0,05	0,012
	Tb	0,060	0,004	0,114	0,006	0,001
	Tm	0,044	0,003	0,068	0,004	0,010
	Y	2,06	0,25	4,90	0,41	0,006
	Yb	0,301	0,026	0,537	0,039	0,016
Ακτινίδες	Th	1,39	0,16	2,42	0,21	0,053
	U	1,19	0,08	1,87	0,10	0,007
Πολύτιμα μέταλλα	Au	0,039	0,002	0,117	0,014	0,024
	Ir	0,009	0,001	0,012	0,001	0,206
	Pd	0,69	0,04	0,99	0,06	0,034
	Pt	0,021	0,002	0,022	0,001	0,562
	Re	0,0027	0,0001	0,0032	0,0001	0,042
	Rh	0,0069	0,0003	0,0073	0,0002	0,509
	Ru	0,28	0,01	0,22	0,01	0,037
Ιχνοστοιχεία	Ag	2,45	0,48	2,31	0,09	0,628
	As	4,6	0,2	5,8	0,1	0,001
	B	273	17	369	10	<0,001
	Ba	24	3	27	1	0,501
	Be	51	4	59	2	0,123
	Bi	2,43	0,39	2,89	0,45	0,685
	Cd	29,69	1,46	43,39	2,05	0,008
	Co	4,7	1,0	16,4	1,6	0,004
	Cr	49	5	81	4	0,002
	Cs	10,20	0,94	15,26	0,80	0,013
	Cu	917	127	1134	60	0,171
	Fe	6057	737	9518	444	0,003
	Ga	16,8	1,1	20,2	0,5	0,014
	Hf	0,041	0,004	0,076	0,005	0,010

	In	0,73	0,02	0,96	0,03	0,003
	Li	22,9	1,7	27,2	0,9	0,055
	Mn	19	2	19	1	0,772
	Mo	1244	149	2439	117	<0,001
	Nb	57,55	10,13	79,72	3,99	0,040
	Ni	0,169	0,014	0,371	0,027	0,003
	Pb	67,0	8,7	94,3	25,9	0,673
	Rb	1605	324	3072	189	0,003
	Sb	6,02	0,52	63,36	11,21	0,041
	Se	22	3	29	1	0,059
	Si	57698	3069	66829	1548	0,025
	Sn	3,9	0,5	10,7	3,8	0,476
	Sr	409	41	250	17	<0,001
	Ta	0,016	0,001	0,025	0,001	0,001
	Tl	0,32	0,02	0,58	0,03	0,002
	Ti	5753	131	5997	72	0,191
	V	179	7	233	7	0,001
	W	4,5	4,1	0,8	0,2	0,033
	Zn	6465	323	7218	179	0,105
	Zr	1,23	0,15	2,52	0,20	0,012
Μάκρο- στοιχεία	Ca	99516	7246	119749	3593	0,033
	K	3999259	561159	4695653	165173	0,138
	Mg	108951	37711	148848	9823	0,166
	Na	166697	32794	137791	8942	0,264
	P	228055	19553	315461	10116	0,001

Για την ταξινόμηση των δειγμάτων που αναλύθηκαν σε Βιολογικά και Μη Βιολογικά χρησιμοποιήθηκε η διακριτική ανάλυση. Με το συνολικό στοιχειακό αποτύπωμα των δειγμάτων ταξινομείται σωστά το 98,32% των δειγμάτων (πίνακας 9.10) στις 2 κατηγορίες. Μόνο 1 από 25 Βιολογικά δείγματα δεν ταξινομήθηκε σωστά και 2 από τα 154 Μη Βιολογικά. Στο διάγραμμα 9.6 βλέπουμε και οπτικά την διαφοροποίηση των δειγμάτων στις 2 κατηγορίες.

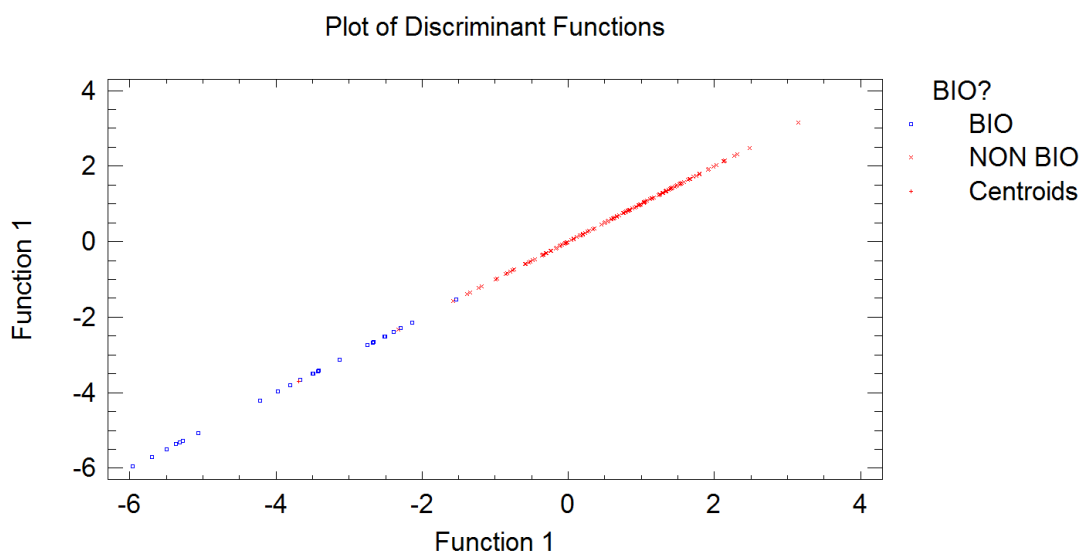
Πίνακας 9.10. Πίνακας ταξινόμησης των δειγμάτων σε Βιολογικά και Μη Βιολογικά με βάση όλο το στοιχειακό αποτύπωμα.

Classification Table

<i>Actual</i>	<i>Group</i>	<i>Predicted</i>	<i>BIO?</i>
<i>BIO?</i>	<i>Size</i>	<i>BIO</i>	<i>NON BIO</i>
BIO	25	24	1
		(96,00%)	(4,00%)
NON BIO	154	2	152
		(1,30%)	(98,70%)

Percent of cases correctly classified: 98,32%

Διάγραμμα 9.6. Απεικόνιση των δειγμάτων με βάση τον παράγοντα διάκρισης για όλο το στοιχειακό αποτύπωμα.



Στη συνέχεια ελέγχθησαν τα αποτελέσματα ανά ομάδα στοιχείων και μας έδωσαν τα παρακάτω ποσοστά διάκρισης:

Σπάνιες γαίες & ακτινίδες (18 στοιχεία): 75,98%

Πολύτιμα μέταλλα (7 στοιχεία): 65,92%

Ιχνοστοιχεία (34 στοιχεία): 96,09%

Μάκρο-στοιχεία (5 στοιχεία): 75,42%

Ακόμη ελέχθησαν διάφοροι συνδιασμοί στοιχείων:

Σπάνιες γαίες, ακτινίδες & πολύτιμα μέταλλα (25 στοιχεία): 82,12%

Ιχνοστοιχεία & μάκρο-στοιχεία (39 στοιχεία): 97,77%

Τα ιχνοστοιχεία μαζί με τα μάκρο-στοιχεία έδωσαν το μεγαλύτερο ποσοστό ταξινόμησης 97,77% (αναλυτικά πίνακας 9.11), αναμενόμενο καθώς υπήρχαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές σε αυτά τα στοιχεία όπως είδαμε στον πίνακα 9.9. Στον πίνακα 9.11 παρατηρούμε ότι μόνο ένα Βιολογικό δείγμα Σαντορίνης ταξινομήθηκε λάθος ως Μη Βιολογικό και 3 Μη βιολογικά δείγματα ταξινομήθηκαν λάθος ως Βιολογικά.

Πίνακας 9.11. Πίνακας ταξινόμησης των δειγμάτων σε Βιολογικά και Μη Βιολογικά με βάση τα ιχνοστοιχεία και τα μακρο-στοιχεία.

Classification Table

<i>Actual</i>	<i>Group</i>	<i>Predicted</i>	<i>BIO?</i>
<i>BIO?</i>	<i>Size</i>	<i>BIO</i>	<i>NON BIO</i>
BIO	25	24	1
		(96,00%)	(4,00%)
NON BIO	154	3	151
		(1,95%)	(98,05%)

Percent of cases correctly classified: **97,77%**

10. Επικύρωση μεθόδου ICP-MS για πολυστοιχειακούς προσδιορισμούς σε τυριά

Κατά την επικύρωση της μεθόδου για τον προσδιορισμό των ουσιών, (μετά από σειρά πειραμάτων) μελετήθηκαν τα εξής χαρακτηριστικά ποιότητας: γραμμικότητα (linearity), πιστότητα (precision) υπό συνθήκες επαναληψιμότητας (repeatability) και υπό συνθήκες ενδοεργαστηριακής αναπαραγωγιμότητας (reproducibility), ακρίβεια (accuracy), όριο ανίχνευσης (Limit of Detection, LOD) και όριο ποσοτικοποίησης (Limit of Quantification, LOQ). Επίσης έγινε εκτίμηση της αβεβαιότητας σύμφωνα με την EURACHEM. Η μέθοδος επικυρώθηκε σύμφωνα με τις απαιτήσεις που έχει θεσπίσει η Ευρωπαϊκή Ένωση για τον επίσημο έλεγχο των επιπέδων των βαρέων μετάλλων και άλλων προσμείξεων από με τον Κανονισμό της Επιτροπής (EC) No 333/2007 [204] αλλά και τον (EC) No 657/2002 [33]. Η επικύρωση πραγματοποιήθηκε σε ΠΟΠ φέτα.

10.1 Εκτίμηση της γραμμικότητας

Η γραμμικότητα της καμπύλης αναφοράς για τα πρότυπα σε διαλύματα που προσομοιάζαν την μήτρα μελετήθηκε στις συγκεντρώσεις 0,0001, 0,001, 0,01, 0,05, 0,1, 0,5, 1, 10 και 100 µg/L για τις σπάνιες γαίες, τις ακτινίδες, τα πολύτιμα μέταλλα και άλλα πολύ μικρής φυσικής αφθονίας ιχνοστοιχεία. Ενώ για τα υπόλοιπα ιχνοστοιχεία και τα μακρο-στοιχεία οι συγκεντρώσεις ήταν 0,001, 0,01, 0,1, 0,5, 1, 5, 10, 50, 100, 1000 και 10000. Τα αποτελέσματα παρατίθενται στον παρακάτω πίνακα. Όπως φαίνεται οι περισσότεροι αναλύτες εμφανίζουν συντελεστή συσχέτισης μεγαλύτερο από 0,98.

Πίνακας 10.1: Αποτελέσματα γραμμικότητας

Κατηγορία στοιχείων	Αναλύτης	Γραμμική περιοχή μg/L	Συντελεστής Συσχέτισης (r ²)
Σπάνιες Γαίες	Ce	0,0001-100	0,985
	Dy	0,0001-100	0,998
	Er	0,0001-100	0,986
	Eu	0,0001-100	0,988
	Gd	0,001-100	0,994
	Ho	0,0001-100	0,995
	La	0,001-100	0,992
	Lu	0,0001-100	0,986
	Nd	0,001-100	0,989
	Pr	0,0001-100	0,992
	Sc	0,01-100	0,978
	Sm	0,0001-100	0,995
	Tb	0,0001-100	0,989
	Tm	0,0001-100	0,993
	Y	0,0001-100	0,984
	Yb	0,0001-100	0,995
Ακτινίδες	Th	0,0001-100	0,990
	U	0,0001-100	0,991
Πολύτιμα μέταλλα	Au	0,001-100	0,977
	Ir	0,0001-100	0,988
	Pd	0,001-100	0,988
	Pt	0,001-100	0,979
	Re	0,0001-100	0,988
	Rh	0,0001-100	0,992
	Ru	0,001-100	0,988
Ιχνοστοιχεία	Ag	0,001-10000	0,989
	Al	0,1-10000	0,986

	As	0,01-10000	0,987
	B	1-10000	0,990
	Ba	0,001-10000	0,988
	Be	0,01-10000	0,985
	Bi	0,001-10000	0,986
	Cd	0,01-10000	0,987
	Cs	0,001-10000	0,990
	Cr	0,01-10000	0,984
	Co	0,01-10000	0,989
	Cu	0,01-10000	0,991
	Fe	10-10000	0,988
	Ga	0,001-10000	0,987
	Hf	0,001-100	0,993
	In	0,001-1000	0,986
	Pb	0,001-10000	0,985
	Li	0,01-10000	0,986
	Mn	0,01-10000	0,984
	Mo	0,001-10000	0,989
	Nb	0,0001-100	0,992
	Ni	0,001-10000	0,987
	Rb	0,001-10000	0,996
	Sb	0,0001-100	0,993
	Se	0,001-10000	0,978
	Si	10-10000	0,988
	Sn	0,0001-100	0,989
	Sr	0,001-10000	0,994
	Ta	0,0001-100	0,988
	Tl	0,001-10000	0,990
	Ti	0,5-10000	0,987
	V	0,1-10000	0,989

	W	0,001-100	0,993
	Zn	0,1-10000	0,988
	Zr	0,0001-100	0,989
Μάκρο-στοιχεία	Ca	10-10000	0,986
	K	1-10000	0,987
	Mg	1-10000	0,979
	Na	0,1-10000	0,976
	P	10-10000	0,977

10.2 Εκτίμηση της ακρίβειας (ορθότητα)

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

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

Όπου:

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

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

Επειδή στα υποστρώματά μας ήδη υπήρχε κάποια συγκέντρωση των αναλυτών έγινε η κατάλληλη αφαίρεση της συνεισφοράς τους από το $C_{\text{πειρ}}$. Η ακρίβεια (ορθότητα) της μεθόδου εξετάστηκε σε τουλάχιστον δύο επίπεδα εμβολιασμού για τον κάθε αναλύτη. Στους παρακάτω πίνακες παρουσιάζονται αναλυτικά τα αποτελέσματα.

Πίνακας 10.2: Μέση τιμή των ανακτήσεων των αναλυτών για τα δύο επίπεδα εμβολιασμού (1^ο επίπεδο εμβολιασμού 0,1 ppb και 2^ο επίπεδο εμβολιασμού 1 ppb) σε υπόστρωμα τυριών (N=6) για τις σπάνιες γαίες, τις ακτινίδες, τα πολύτιμα μέταλλα και ιχνοστοιχεία με πολύ μικρή φυσική αφθονία.

Κατηγορία στοιχείων	Αναλύτης	Μέση Τιμή Ανάκτησης %	
		1 ^ο Επίπεδο 0,1 ppb	2 ^ο Επίπεδο 1 ppb
Σπάνιες Γαίες	Ce	122,7	117,0
	Dy	130,9	90,8

	Er	128,7	80,3
	Eu	123,5	89,8
	Gd	141,4	97,6
	Ho	113,5	97,9
	La	125,3	125,4
	Lu	118,8	86,5
	Nd	132,7	120,4
	Pr	144,9	121,7
	Sc	117,0	124,3
	Sm	151,9	85,7
	Tb	114,3	86,0
	Tm	105,3	96,0
	Y	118,1	119,8
	Yb	126,7	115,1
Ακτινίδες	Th	118,5	109,8
	U	119,2	107,1
Πολύτιμα μέταλλα	Au	118,7	83,7
	Ir	133,6	113,3
	Pd	158,6	70,0
	Pt	145,4	121,7
	Re	109,4	104,5
	Rh	109,9	96,8
	Ru	116,1	93,0
Ιχνοστοιχεία	Hf	144,3	79,2
	Nb	126,4	85,1
	Sb	120,8	81,4
	Sn	112,9	115,2
	Ta	112,4	95,4
	W	119,6	89,0
	Zr	134,6	69,7

Πίνακας 10.3: Μέση τιμή των ανακτήσεων των αναλυτών για τα τρία επίπεδα εμβολιασμού (1^ο επίπεδο εμβολιασμού 10 ppb, 2^ο επίπεδο εμβολιασμού 100 ppb και 3^ο επίπεδο εμβολιασμού 1000 ppb) σε υπόστρωμα τυριών (N=6) για τα ιχνοστοιχεία.

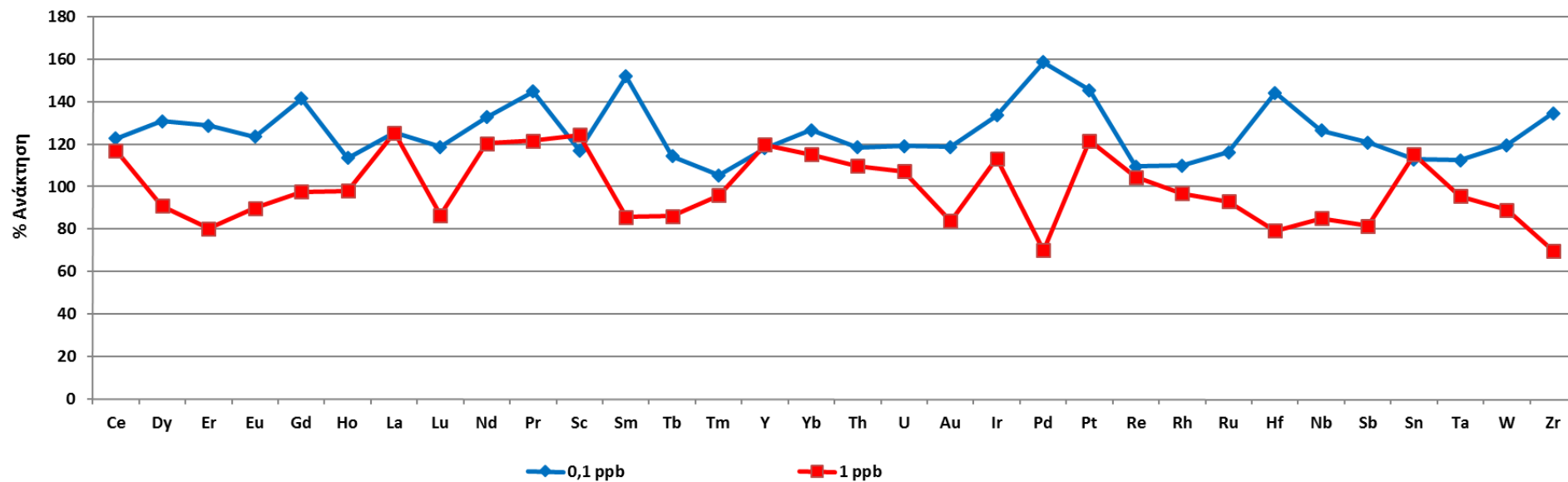
Κατηγορία στοιχείων	Αναλύτης	1^ο Επίπεδο 10 ppb	2^ο Επίπεδο 100 ppb	3^ο Επίπεδο 1000 ppb
Ιχνοστοιχεία	Ag	113,2	113,8	116,1
	Al	121,9	118,5	114,0
	As	114,2	89,3	77,7
	B	117,4	120,7	105,1
	Ba	107,9	86,8	109,5
	Be	77,4	76,6	88,8
	Bi	115,7	109,0	108,4
	Cd	121,9	112,3	111,9
	Cr	105,5	101,0	99,6
	Cs	108,6	113,2	111,1
	Co	70,1	73,2	79,4
	Cu	109,6	70,1	96,4
	Fe	145,6	111,2	104,8
	Ga	110,5	109,9	101,7
	In	71,9	80,5	82,1
	Li	100,7	117,5	102,2
	Mn	94,2	107,4	94,7
	Mo	116,5	112,3	107,7
	Ni	115,0	98,6	74,8
	Pb	95,7	111,8	104,2
	Rb	121,5	110,0	107,9
	Se	121,8	105,4	74,6
	Si	142,4	137,6	127,1
	Sr	129,8	114,8	94,7

	Tl	108,5	92,7	94,9
	Ti	126,0	116,7	106,1
	V	126,0	117,7	110,6
	Zn	129,9	126,9	94,4

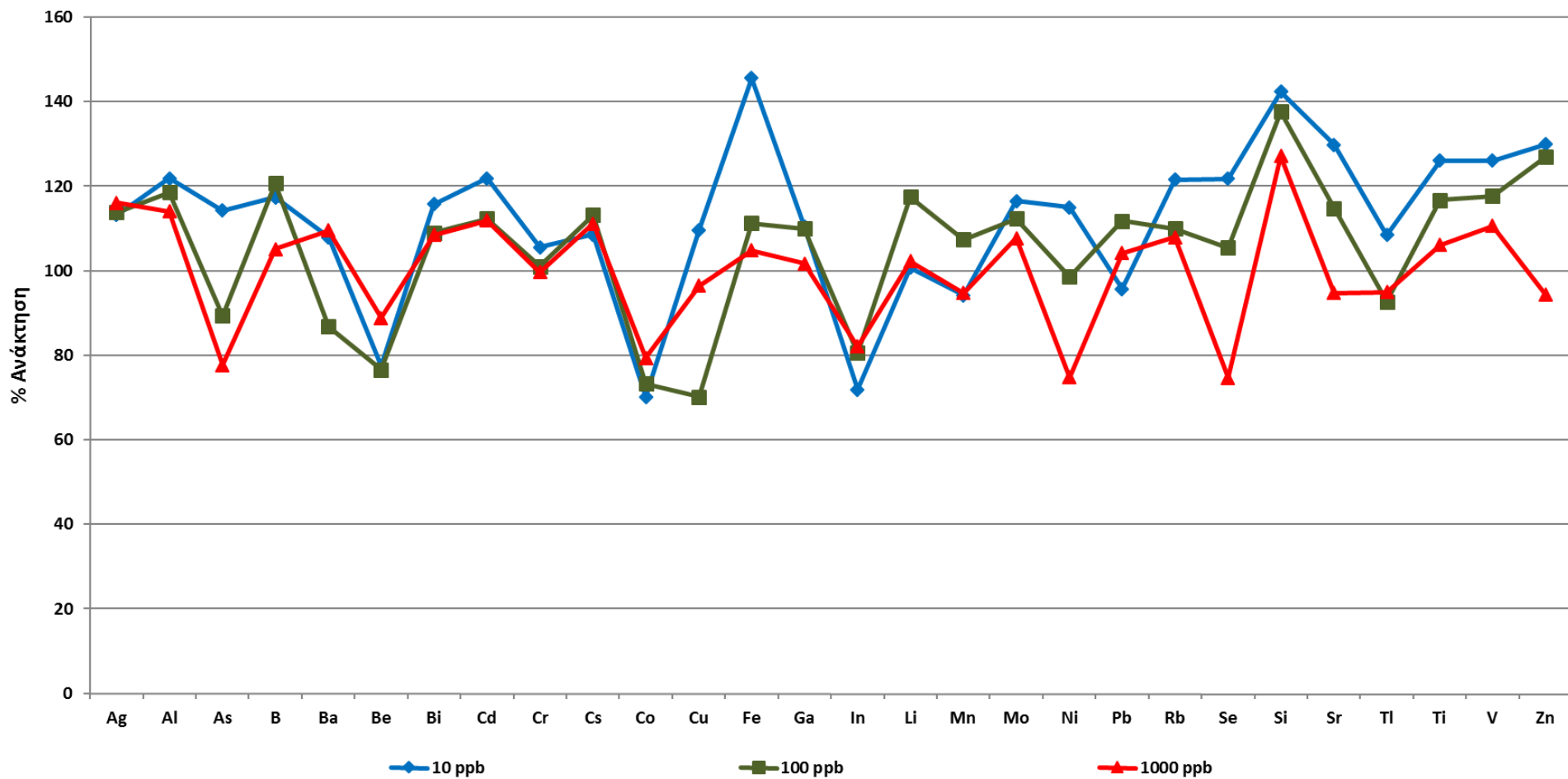
Πίνακας 10.4: Μέση τιμή των ανακτήσεων των αναλυτών για τα δύο επίπεδα εμβολιασμού (1^ο επίπεδο εμβολιασμού 1 ppm και 2^ο επίπεδο εμβολιασμού 10 ppm) σε υπόστρωμα τυριών (N=6) για τα μακρο-στοιχεία.

Κατηγορία στοιχείων	Αναλύτης	Μέση Τιμή Ανάκτησης %	
		1 ^ο Επίπεδο 1 ppm	2 ^ο Επίπεδο 10 ppm
Μάκρο-στοιχεία	Ca	128,6	117,6
	K	136,9	77,5
	Mg	130,3	89,3
	Na	127,4	125,4
	P	131,2	122,9

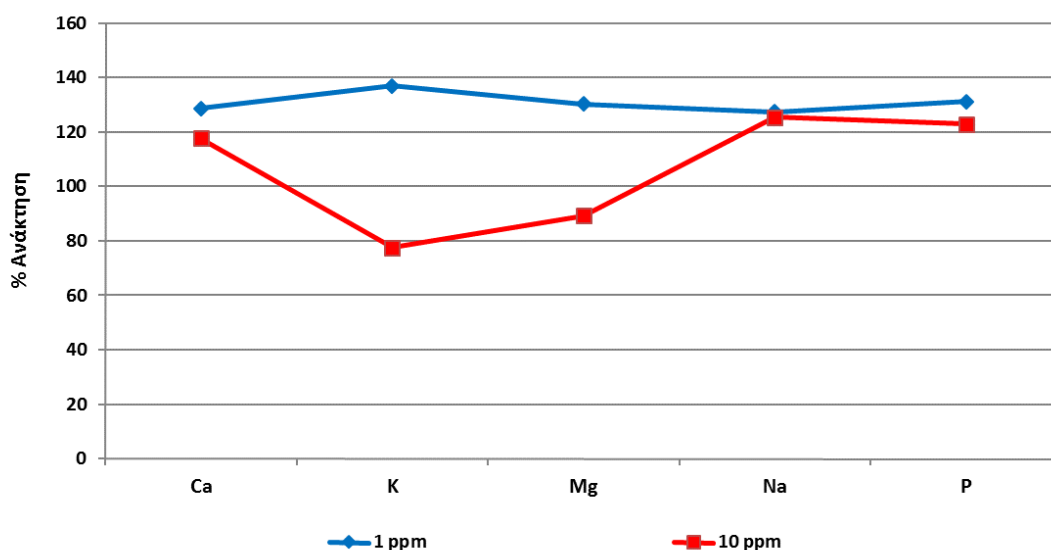
Διάγραμμα 10.1. Ανακτήσεις για τις σπάνιες γαίες, τις ακτινίδες, τα πολύτιμα μέταλλα και ιχνοστοιχεία με πολύ μικρή φυσική αφθονία στα 2 επίπεδα εμβολιασμού σε τυριά.



Διάγραμμα 10.2. Ανακτήσεις για τα ιχνοστοιχεία στα 3 επίπεδα εμβολιασμού σε τυριά.



Διάγραμμα 10.3. Ανακτήσεις για τα μακρο-στοιχεία στα 2 επίπεδα εμβολιασμού σε τυριά.



Στα διαγράμματα 10.1-10.3 παρατηρούμε ότι οι περισσότεροι αναλύτες παρουσίασαν ανάκτηση εντός των επιπέδων 70%-120%. Επίσης, οι περισσότερες τιμές εκτός 70%-120% αφορούν κυρίως το πρώτο-χαμηλό επίπεδο εμβολιασμού, ιδιαίτερα για τις σπάνιες γαίες.

10.3 Εκτίμηση της πιστότητας

Α) Επαναληψιμότητα

Για τον υπολογισμό της επαναληψιμότητας μεθόδου χρησιμοποιήθηκαν έξι εμβολιασμένα δείγματα σε τουλάχιστον 2 επίπεδα συγκέντρωσης για τον κάθε αναλύτη. Η ανάλυση έγινε κατά την ίδια εργαστηριακή μέρα.

Στη συνέχεια υπολογίστηκε η τυπική απόκλιση (Standard Deviation, SD)

$$SD = \pm \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (\bar{x} - x_i)^2}{n-1}}$$

και η εκατοστιαία σχετική τυπική απόκλιση (%Relative Standard Deviation, %RSD)

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

για τον κάθε υπό εξέταση αναλύτη. Τα αποτελέσματα της επαναληψιμότητας δίνονται στους παρακάτω πίνακες.

Πίνακας 10.5: Τυπική απόκλιση (SD) και % σχετική τυπική απόκλιση (% RSD) υπό συνθήκες επαναληψιμότητας για τα δυο επίπεδα εμβολιασμού σε υπόστρωμα τυριών (N=6), για τις σπάνιες γαίες, τις ακτινίδες, τα πολύτιμα μέταλλα και ιχνοστοιχεία με πολύ μικρή φυσική αφθονία.

Κατηγορία στοιχείων	Αναλύτης	1 ^ο Επίπεδο 0,1 ppb		2 ^ο Επίπεδο 1 ppb	
		Τυπική απόκλιση, SD	Σχετική Τυπική Απόκλιση, % RSD _R	Τυπική απόκλιση, SD	Σχετική Τυπική Απόκλιση, % RSD _R
Σπάνιες Γαίες	Ce	9,0	1,1	0,5	0,4
	Dy	12,1	2,2	6,9	7,1
	Er	11,7	5,3	2,5	3,2
	Eu	17,8	13,0	3,5	3,7
	Gd	16,3	6,7	2,6	2,5
	Ho	3,2	2,3	0,9	1,1
	La	15	11,9	7,0	4,0
	Lu	0,5	0,4	0,5	0,7
	Nd	15,0	2,1	19,8	16,4
	Pr	14,3	1,2	4,0	3,7
	Sc	33,2	18,3	9,4	1,2
	Sm	18,0	11,9	4,1	5,2
	Tb	8,0	6,5	2,5	2,9
	Tm	3,7	3,8	0,4	0,7
Y	27,5	17,1	4,8	3,9	
Yb	7,2	2,8	1,1	1,5	
Ακτινίδες	Th	44,9	21,9	30,6	21,2
	U	15,4	5,1	3,4	1,1
Πολύτιμα μέταλλα	Au	26,7	11,7	5,4	4,1
	Ir	7,4	1,1	13,8	11,1
	Pd	23,2	4,2	1,6	2,9
	Pt	11,1	0,9	1,4	1,1

	Re	18,9	16,4	2,5	2,5
	Rh	23,0	13,0	1,8	1,8
	Ru	29,9	14,3	7,7	2,9
Ιχνοστοιχεία	Hf	18,9	12,5	1,3	0,3
	Nb	24,6	17,7	5,9	7,0
	Sb	17,0	5,9	4,3	5,9
	Sn	40,4	13,4	18,9	16,4
	Ta	5,9	8,1	11,4	12,0
	W	22,4	16,4	14,8	3,1
	Zr	36,6	24,7	2,4	16,0

Πίνακας 10.6: Τυπική απόκλιση (SD) και % σχετική τυπική απόκλιση (% RSD) υπό συνθήκες επαναληψιμότητας για τα τρία επίπεδα εμβολιασμού σε υπόστρωμα τυριών (N=6), για τα ιχνοστοιχεία.

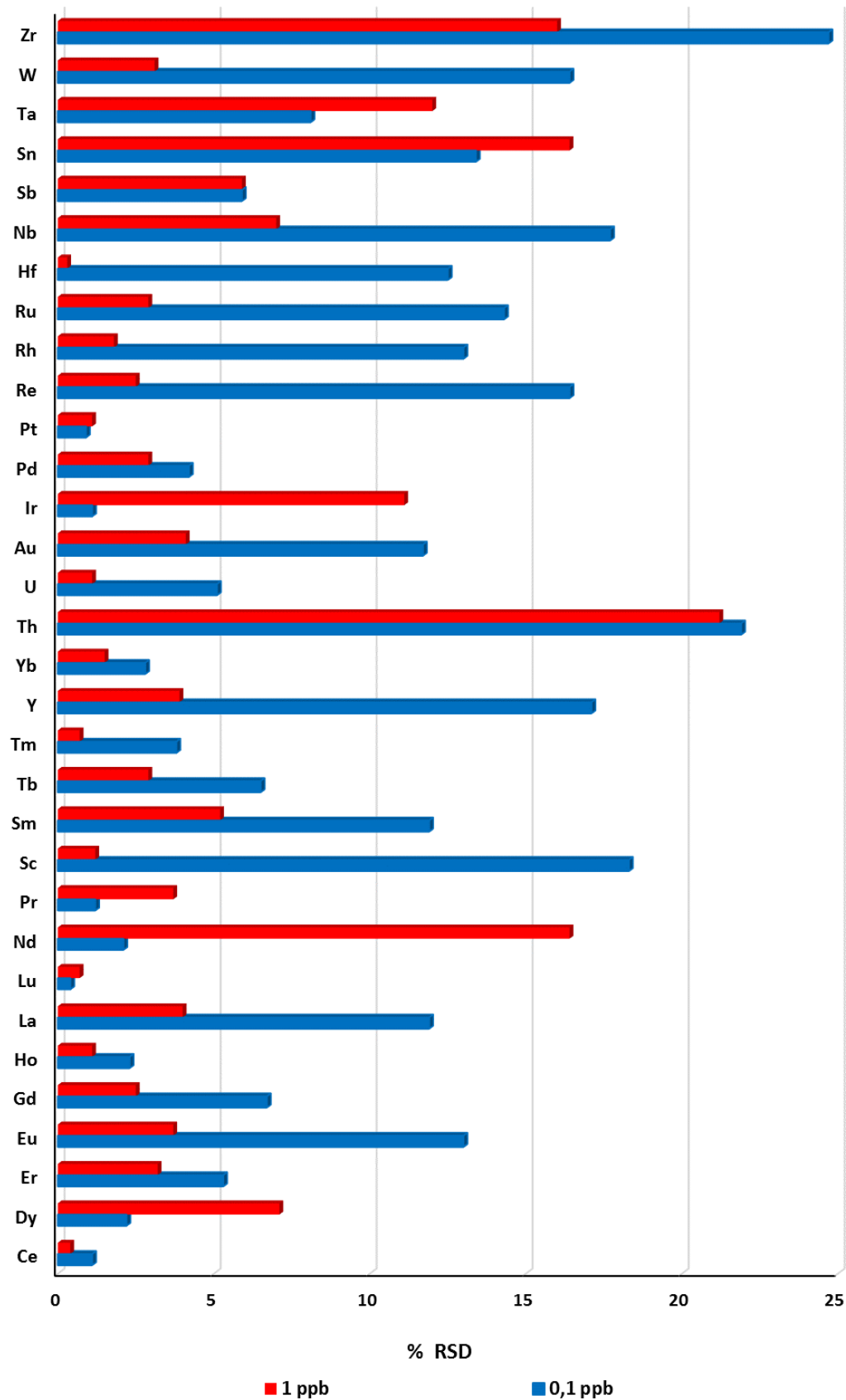
Κατηγορία στοιχείων	Αναλύτης	1° Επίπεδο 10 ppb		2° Επίπεδο 100 ppb		3° Επίπεδο 1000 ppb	
		Τυπική απόκλιση, SD	Σχετική Τυπική Απόκλιση, % RSD _R	Τυπική απόκλιση, SD	Σχετική Τυπική Απόκλιση, % RSD _R	Τυπική απόκλιση, SD	Σχετική Τυπική Απόκλιση, % RSD _R
Ιχνοστοιχεία	Ag	15,3	5,7	5,8	5,1	5,8	4,5
	Al	62,0	18,4	40,2	26,0	52,3	25,3
	As	42,5	18,9	15,0	25,2	5,2	9,0
	B	43,3	34,4	27,2	14,3	36,4	19,0
	Ba	15,8	3,1	27,6	22,6	19,0	14,6
	Be	17,6	7,2	2,6	3,4	18,1	20,3
	Bi	18,9	3,2	1,3	1,2	2,6	2,3
	Cd	2,9	2,3	0,7	0,6	5,5	4,5
	Cr	32,6	12,3	35,9	18,9	14,1	14,2
	Cs	4,1	2,7	3,9	3,0	4,4	3,4
	Co	4,9	8,6	4,9	11,2	4,9	9,9
	Cu	42,6	33,5	15,3	24,7	12,6	10,4

	Fe	22,7	13,9	18,9	14,5	36,7	21,0
	Ga	9,8	4,6	18,9	12,6	17,8	7,8
	In	5,5	7,1	1,6	2,9	2,5	4,1
	Li	4,0	2,0	7,2	6,2	9,5	7,8
	Mn	30,1	19,5	37,4	27,4	13,7	14,5
	Mo	43,7	23,5	37,3	29,6	14,0	13,0
	Ni	15,3	5,7	5,8	5,1	5,8	4,5
	Pb	11,2	0,7	0,2	0,2	1,5	1,5
	Rb	37,9	28,9	37,2	22,9	10,3	8,0
	Se	41,3	32,4	29,6	24,0	6,9	9,2
	Si	31,9	28,7	37,9	14,5	28,0	14,7
	Sr	57,1	42,0	56,7	29,7	16,0	16,9
	Tl	9,0	4,3	1,9	2,2	3,1	3,3
	Ti	43,0	25,2	42,5	32,2	31,6	21,6
	V	48,8	37,4	31,6	24,4	23,3	19,3
	Zn	44,1	30,0	38,5	26,3	22,8	19,9

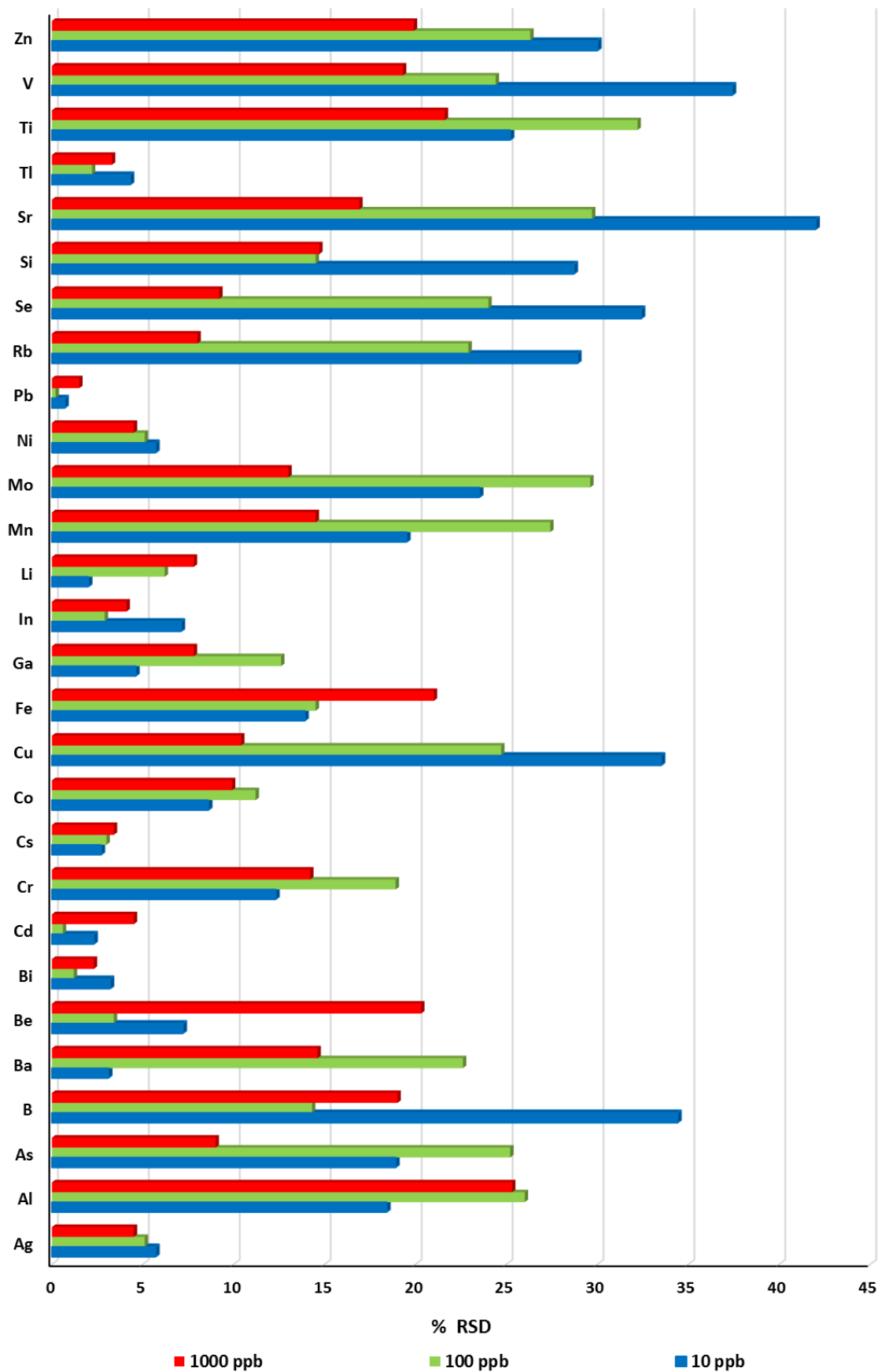
Πίνακας 10.7: Τυπική απόκλιση (SD) και % σχετική τυπική απόκλιση (% RSD) υπό συνθήκες επαναληψιμότητας για τα τρία επίπεδα εμβολιασμού σε υπόστρωμα τυριών (N=6), για τα μακροστοιχεία.

Κατηγορία στοιχείων	Αναλύτης	1 ^ο Επίπεδο 1 ppm		2 ^ο Επίπεδο 10 ppm	
		Τυπική απόκλιση, SD	Σχετική Τυπική Απόκλιση, % RSD _R	Τυπική απόκλιση, SD	Σχετική Τυπική Απόκλιση, % RSD _R
Μάκρο-στοιχεία	Ca	27,9	19,4	27,1	17,9
	K	27,9	14,1	25,7	11,8
	Mg	14,3	3,6	14,2	9,3
	Na	14,9	7,8	11,6	4,9
	P	29,3	16,5	14,8	7,4

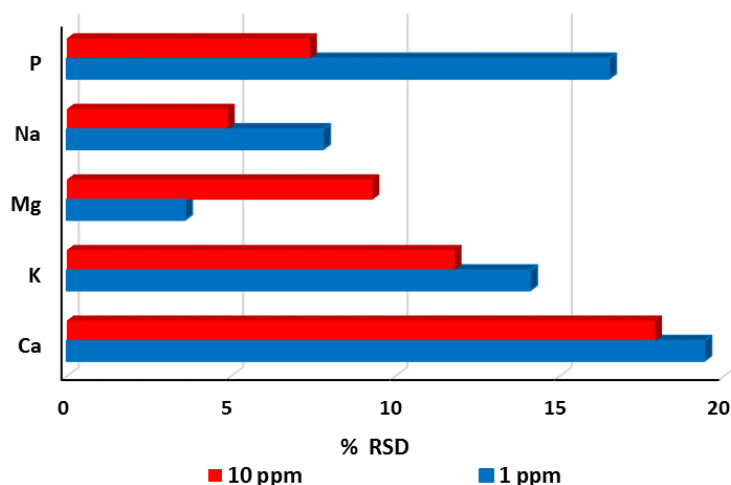
Διάγραμμα 10.4. % Σχετική τυπική απόκλιση (% RSD) υπό συνθήκες επαναληψιμότητας για τα δύο επίπεδα εμβολιασμού για τις σπάνιες γαίες, τις ακτινίδες, τα πολύτιμα μέταλλα και ιχνοστοιχεία με πολύ μικρή φυσική αφθονία.



Διάγραμμα 10.5. % Σχετική τυπική απόκλιση (% RSD) υπό συνθήκες επαναληψιμότητας για τα τρία επίπεδα εμβολιασμού για τα ιχνοστοιχεία.



Διάγραμμα 10.6. % Σχετική τυπική απόκλιση (% RSD) υπό συνθήκες επαναληψιμότητας για τα δύο επίπεδα εμβολιασμού για τα μακρο-στοιχεία.



Στα διαγράμματα 10.4-10.6 παρουσιάζεται η % σχετική τυπική απόκλιση (% RSD) υπό συνθήκες επαναληψιμότητας. Παρατηρείται ότι οι περισσότεροι αναλύτες είναι κάτω από το επίπεδο του 20% που απαιτείται από τον Κανονισμό 657/2002 της Ε.Ε. για επίπεδα \geq 10 ppb έως 100 ppb. Κυρίως τα χαμηλά επίπεδα επικύρωσης ήταν αυτά που παρουσίασαν υψηλές τιμές % σχετικής τυπικής απόκλισης.

B) Ενδοεργαστηριακή αναπαραγωγικότητα

Για τον υπολογισμό της ενδοεργαστηριακής αναπαραγωγικότητας της μεθόδου αναλύθηκαν 3 δείγματα για το κάθε επίπεδο εμβολιασμού σε 2 διαφορετικές εργαστηριακές ημέρες ($N=3*2=6$)

Τα αποτελέσματα της ενδοεργαστηριακής αναπαραγωγικότητας δίνονται στους παρακάτω πίνακες.

Πίνακας 10.8: Τυπική απόκλιση (SD) και % σχετική τυπική απόκλιση (% RSD) υπό συνθήκες ενδοεργαστηριακής αναπαραγωγικότητας για τα δυο επίπεδα εμβολιασμού σε υπόστρωμα τυριών ($N=2*3$), για τις σπάνιες γαίες, τις ακτινίδες, τα πολύτιμα μέταλλα και ιχνοστοιχεία με πολύ μικρή φυσική αφθονία.

Κατηγορία στοιχείων	Αναλύτης	1 ^ο Επίπεδο 0,1 ppb		2 ^ο Επίπεδο 1 ppb	
		Τυπική απόκλιση, SD	Σχετική Τυπική Απόκλιση, % RSD _r	Τυπική απόκλιση, SD	Σχετική Τυπική Απόκλιση, % RSD _r
Σπάνιες Γαίες	Ce	49,5	20,4	24,0	17,4

	Dy	28,9	5,1	9,4	14,1
	Er	19,9	9,3	4,9	4,0
	Eu	29,7	19,9	6,6	7,2
	Gd	32,6	11,7	3,2	3,6
	Ho	7,9	4,6	1,7	1,4
	La	28,2	18,2	10,7	5,9
	Lu	1,4	0,7	0,6	0,9
	Nd	27,9	4,7	35,8	20,4
	Pr	23,0	1,5	5,3	4,8
	Sc	49,1	23,0	11,7	1,6
	Sm	23,3	18,5	6,0	6,5
	Tb	15,0	10,4	3,7	4,5
	Tm	7,9	5,9	0,5	1,1
	Y	40,9	28,7	6,3	6,4
	Yb	11,2	4,6	1,8	2,5
Ακτινίδες	Th	64,6	33,5	50,4	30,6
	U	23,6	8,6	5,7	1,8
Πολύτιμα μέταλλα	Au	56,0	21,5	9,2	5,1
	Ir	9,8	1,4	21,1	17,8
	Pd	45,9	8,2	2,4	6,2
	Pt	21,6	1,3	1,7	1,5
	Re	24,5	27,0	4,9	4,9
	Rh	42,3	19,1	2,2	2,8
	Ru	45,7	22,9	12,3	4,8
Ιχνοστοιχεία	Hf	25,7	21,0	2,4	0,4
	Nb	39,9	28,1	8,0	11,5
	Sb	33,7	9,7	5,6	9,4
	Sn	64,1	20,8	29,4	26,3
	Ta	9,7	11,9	18,8	20,1
	W	34,8	23,7	23,0	4,9

	Zr	53,9	39,2	3,3	20,7
--	-----------	------	------	-----	------

Πίνακας 10.9: Τυπική απόκλιση (SD) και % σχετική τυπική απόκλιση (% RSD) υπό συνθήκες ενδοεργαστηριακής αναπαραγωγιμότητας για τα τρία επίπεδα εμβολιασμού σε υπόστρωμα τυριών (N=3*2), για τα ιχνοστοιχεία.

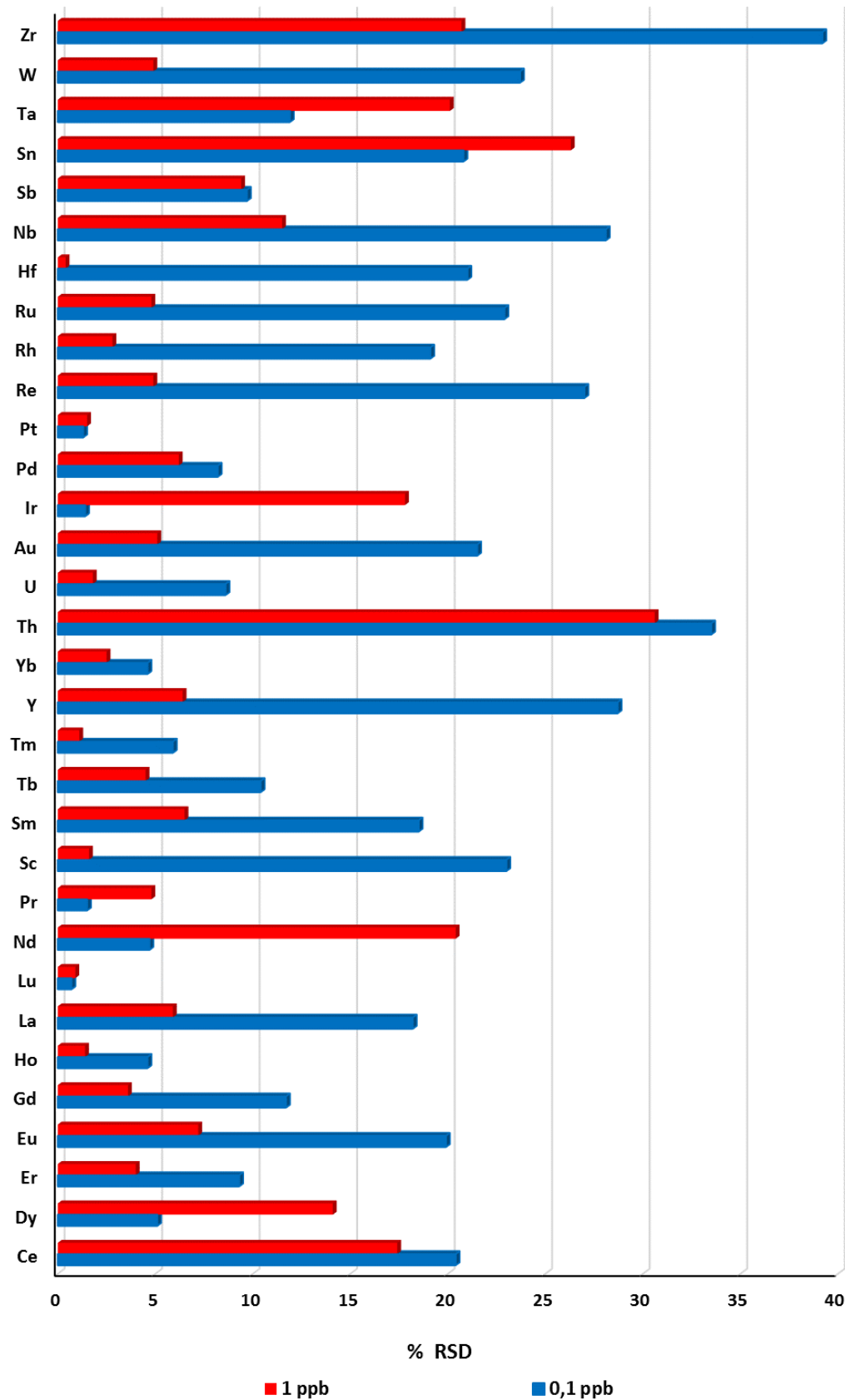
Κατηγορία στοιχείων	Αναλύτης	1° Επίπεδο 10 ppb		2° Επίπεδο 100 ppb		3° Επίπεδο 1000 ppb	
		Τυπική απόκλιση, SD	Σχετική Τυπική Απόκλιση, % RSD _r	Τυπική απόκλιση, SD	Σχετική Τυπική Απόκλιση, % RSD _r	Τυπική απόκλιση, SD	Σχετική Τυπική Απόκλιση, % RSD _r
Ιχνοστοιχεία	Ag	15,9	5,9	6,2	5,3	6,0	4,9
	Al	66,3	19,7	41,4	28,3	52,8	27,1
	As	43,8	19,7	16,1	26,0	5,7	9,6
	B	46,3	34,7	28,3	15,3	38,9	20,7
	Ba	16,3	3,2	27,9	22,8	20,3	14,7
	Be	18,8	7,7	2,7	3,5	19,7	21,7
	Bi	19,7	3,3	1,4	1,2	2,6	2,5
	Cd	2,9	2,5	0,7	0,6	5,9	4,5
	Cr	33,6	13,4	38,4	19,5	15,1	15,2
	Cs	4,4	2,8	4,2	3,2	4,4	3,6
	Co	5,0	8,9	5,0	11,6	5,0	10,8
	Cu	45,6	33,8	16,4	24,9	13,5	10,7
	Fe	24,7	14,5	19,5	14,9	37,8	21,8
	Ga	10,1	4,6	20,2	13,5	19,0	7,9
	In	5,7	7,7	1,7	3,0	2,7	4,3
	Li	4,0	2,1	7,3	6,6	9,6	8,5
	Mn	32,8	20,9	38,5	29,9	14,7	14,6
	Mo	46,8	25,6	39,9	30,5	14,4	13,9
	Ni	16,4	5,8	6,0	5,3	6,0	4,8
	Pb	12,2	0,7	0,2	0,2	1,6	1,5
	Rb	38,3	30,9	40,5	23,8	10,6	8,6

	Se	44,2	32,7	29,9	26,2	7,4	9,5
	Si	34,1	30,7	40,6	14,6	28,3	15,3
	Sr	57,7	43,3	58,4	31,8	17,1	18,4
	Tl	9,6	4,5	2,0	2,4	3,1	3,4
	Ti	44,3	27,5	46,3	32,5	32,5	23,1
	V	50,8	38,5	32,5	26,1	25,4	20,7
	Zn	48,1	32,1	41,2	27,1	23,5	21,3

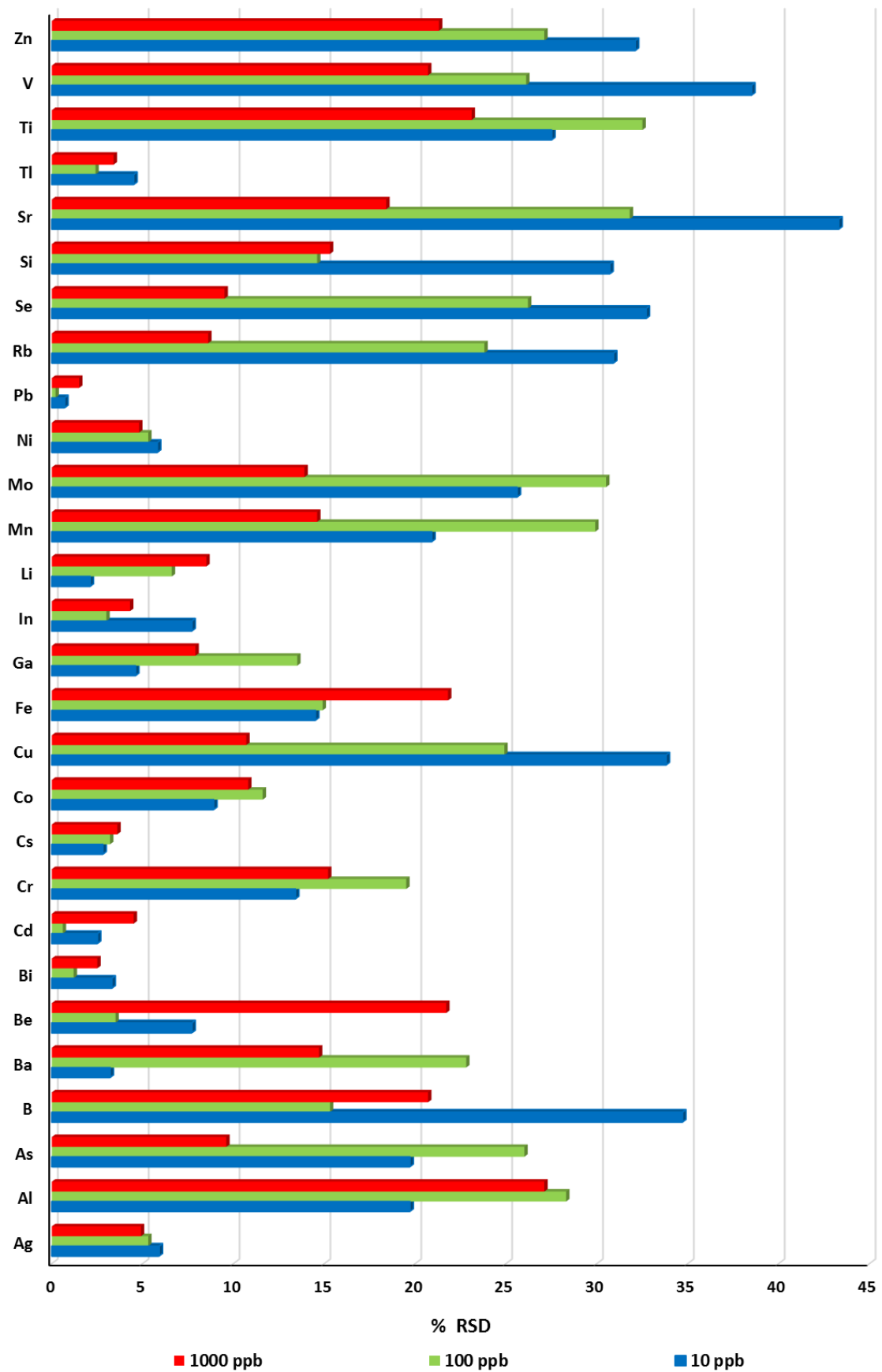
Πίνακας 10.10: Τυπική απόκλιση (SD) και % σχετική τυπική απόκλιση (% RSD) υπό συνθήκες ενδοεργαστηριακής αναπαραγωγιμότητας για τα τρία επίπεδα εμβολιασμού σε υπόστρωμα τυριών (N=3*2), για τα μακροστοιχεία.

Κατηγορία στοιχείων	Αναλύτης	1 ^ο Επίπεδο 1 ppm		2 ^ο Επίπεδο 10 ppm	
		Τυπική απόκλιση, SD	Σχετική Τυπική Απόκλιση, % RSD _r	Τυπική απόκλιση, SD	Σχετική Τυπική Απόκλιση, % RSD _r
Μάκρο-στοιχεία	Ca	28,2	20,2	28,2	18,4
	K	29,9	15,4	26,7	11,9
	Mg	14,4	3,7	14,3	10,0
	Na	15,3	8,3	12,6	4,9
	P	30,2	17,7	16,1	7,5

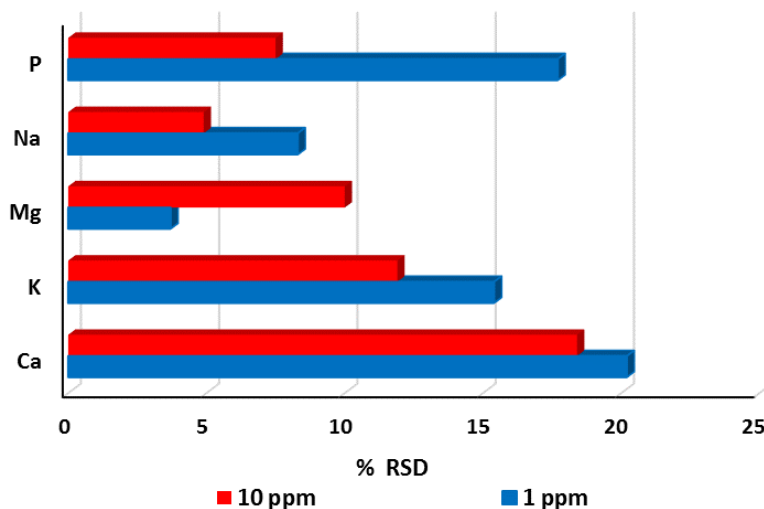
Διάγραμμα 10.7. % Σχετική τυπική απόκλιση (% RSD) υπό συνθήκες αναπαραγωγιμότητας για τα δύο επίπεδα εμβολιασμού για τις σπάνιες γαίες, τις ακτινίδες, τα πολύτιμα μέταλλα και ιχνοστοιχεία με πολύ μικρή φυσική αφθονία.



Διάγραμμα 10.8. % Σχετική τυπική απόκλιση (% RSD) υπό συνθήκες αναπαραγωγιμότητας για τα τρία επίπεδα εμβολιασμού για τα ιχνοστοιχεία.



Διάγραμμα 10.9. % Σχετική τυπική απόκλιση (% RSD) υπό συνθήκες αναπαραγωγιμότητας για τα δύο επίπεδα εμβολιασμού για τα μακρο-στοιχεία.



Στα διαγράμματα 10.7-10.9 παρουσιάζεται η % σχετική τυπική απόκλιση (% RSD) υπό συνθήκες αναπαραγωγιμότητας. Γενικά παρατηρούμε υψηλότερες τιμές % RSD από ότι είχαμε υπό συνθήκες επαναληψιμότητας. Παρ' όλα αυτά και πάλι οι περισσότεροι αναλύτες είναι κάτω από το επίπεδο του 20%. Οι σπάνιες γαίες, οι ακτινίδες, τα πολύτιμα μέταλλα και τα ιχνοστοιχεία με πολύ μικρή φυσική αφθονία παρουσίασαν χαμηλότερες τιμές % σχετικής τυπικής απόκλισης από ότι τα υπόλοιπα ιχνοστοιχεία. Όπως και υπό συνθήκες επαναληψιμότητας έτσι και υπό συνθήκες αναπαραγωγιμότητας υψηλότερες τιμές % RSD έδωσαν τα χαμηλότερα επίπεδα εμβολιασμού για τα περισσότερα στοιχεία.

10.4 Εκτίμηση των ορίων ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης

Στους πίνακες 10.11 και 10.12 παρατίθενται αναλυτικά τα όρια και ανίχνευσης ποσοτικοποίησης για όλους αναλύτες σε μύες και ήπαρ αγριοκούνελων καθώς και τα μέγιστα επιτρεπτά επίπεδα που έχει ορίσει η Ε.Ε. (Κανονισμός της Επιτροπής (EC) No 1881/2006 και η τροπολογία του, Κανονισμός (EC) No 629/2008), τον FAO (Codex Alimentarius Commission, CODEX, General standard for contaminants and toxins in food and feed CODEX STAN 193-1995 με την τροποποίησή του 2010 και την νομοθεσία της Αυστραλίας - Νέας Ζηλανδίας (Australia New Zealand Food Standards Code - Standard 1.4.1 - Contaminants and Natural Toxicants - F2011C00542). Παρατηρείται ότι τα όρια ποσοτικοποίησης είναι πολύ χαμηλότερα από τα αντίστοιχα μέγιστα επιτρεπτά επίπεδα για όσα στοιχεία έχουν οριστεί.

Πίνακας 10.11: Όρια ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης της μεθόδου σε τυριά μαζί με τα αντίστοιχα μέγιστα επιτρεπτά επίπεδα σε *ppb*.

† για το γάλα

• για το γάλα σε κονσέρβα

†† για κονσερβοποιημένα τρόφιμα

Κατηγορία στοιχείων	Αναλύτης	Limit of Detection, LOD	Limit of Quantification, LOQ	Maximum Levels		
				EU	FAO	Australia & NZ
Σπάνιες Γαίες	Ce	0,018	0,054			
	Dy	0,016	0,049			
	Er	0,026	0,080			
	Eu	0,011	0,032			
	Gd	0,016	0,047			
	Ho	0,002	0,006			
	La	0,511	1,547			
	Lu	0,003	0,008			
	Nd	0,007	0,022			
	Pr	0,012	0,037			
	Sc	0,625	1,893			
	Sm	0,006	0,017			
	Tb	0,007	0,021			
	Tm	0,002	0,005			
Ακτινίδες	Y	0,007	0,021			
	Yb	0,009	0,028			
	Th	0,031	0,095			
Πολύτιμα μέταλλα	U	0,030	0,090			
	Au	0,018	0,056			
	Ir	0,001	0,003			
	Pd	0,045	0,136			

	Pt	0,007	0,020			
	Re	0,0003	0,0010			
	Rh	0,0003	0,0009			
	Ru	0,007	0,022			
Ιχνοστοιχεία	Ag	0,023	0,069			
	Al	0,3861	1,17			
	As	0,07	0,21			
	B	57	172			
	Ba	0,064	0,195			
	Be	0,080	0,241			
	Bi	0,010	0,030			
	Cd	0,307	0,930			
	Cs	0,007	0,022			
	Cr	0,109	0,329			
	Co	0,020	0,060			
	Cu	22,0	66,7			
	Fe	1,8	5,5			
	Ga	0,021	0,064			
	Hf	0,001	0,003			
	In	0,005	0,015			
	Pb	0,043	0,132	20†	20	20†
	Li	0,098	0,298			
	Mn	0,2	0,5			
	Mo	0,42	1,29			
	Nb	0,003	0,009			
	Ni	0,030	0,092			
	Rb	23,3	70,6			
	Sb	0,193	0,585			
	Se	0,7	2,2			
	Si	150	454			

	Sn	0,047	0,142	50•	150†	250††
	Sr	2,38	7,21			
	Ta	0,003	0,009			
	Tl	0,005	0,014			
	Ti	116	353			
	V	27	82			
	W	0,062	0,187			
	Zn	132	401			
	Zr	0,002	0,007			
Μάκρο-στοιχεία	Ca	28	85			
	K	2,90	8,79			
	Mg	71	214			
	Na	32	96			
	P	124	376			

10.5 Εκτίμηση της αβεβαιότητας

Αβεβαιότητα τύπου Α (από τα πειράματα επαναληψιμότητας)

Η αβεβαιότητα σε αυτή την περίπτωση παρέχεται από τις τιμές της σχετικής τυπικής απόκλισης, RSD_r, που υπολογίστηκε στους πίνακες 10.8-10.10

Αβεβαιότητα τύπου Β (συστηματικά σφάλματα)

Έχουμε πλήρη χώνευση, γι' αυτό και δεν χρησιμοποιούμε κάποιο σχετικό συντελεστή διόρθωσης. Η εκτίμηση του συστηματικού σφάλματος δεν έγινε με τη χρήση CRM (certified reference material) αλλά με βάση τα εμβολιασμένα δείγματα. Μιας και δεν ήταν πάντα διαθέσιμο ένα CRM που να προσομοιάζει στη πλήρως στη μήτρα του δείγματος.

Αβεβαιότητα στον όγκο:

1) Προσθήκη 8 mL υπερκάθαρου νιτρικού οξέος για την χώνευση με dispenser

Dispenser των 10 mL: από το πιστοποιητικό η ακρίβεια είναι 0,5% και θέλουμε 8 mL, οπότε η απόκλιση είναι $\pm (0,5 \times 8) / 100 = \pm 0,04$ mL

Η αβεβαιότητα υπολογίζεται θεωρώντας ότι υπακούει σε τετραγωνική κατανομή στην οποία η μέση τιμή έχει την ίδια πιθανότητα εμφάνισης με τις ακραίες τιμές, οπότε η τιμή της δίνεται ως $u(x) = a / \sqrt{3}$.

$$u_1(V) = \pm 0,04 \text{ mL} / \sqrt{3} = 0,02309 \text{ mL}$$

Η θερμοκρασία του εργαστηρίου από μετρήσεις παρακολούθησης έχει βρεθεί ότι κυμαίνεται σε εύρος $\pm 4^\circ\text{C}$, ενώ σύμφωνα με τον κατασκευαστή ο πιστοποιημένος όγκος είναι στους 20°C . Η αβεβαιότητα από την επίδραση αυτή υπολογίζεται από την εκτιμώμενη μέγιστη διακύμανση της θερμοκρασίας και από το συντελεστή διαστολής του όγκου. Ο συντελεστής διαστολής του όγκου για το νιτρικό οξύ ισούται με $0.00028/^\circ\text{C}$. Η αβεβαιότητα που οφείλεται στην επίδραση της θερμοκρασίας u_2 , θεωρείται ότι υπακούει σε τετραγωνική κατανομή, δηλαδή υπάρχει η ίδια πιθανότητα εμφάνισης της μέσης τιμής και των ακραίων τιμών, οπότε έχουμε και πάλι $u(x) = a / \sqrt{3}$.

$$\Delta V = V_{20} \times \alpha_{\text{HNO}_3} \times \Delta T$$

$$\Delta V = 8 \times 0,00028 \times 4 = 0,00896 \text{ mL}$$

Άρα η αβεβαιότητα θα είναι αυτής της πηγής θα είναι

$$u_2(V) = 0,00896 \text{ mL} / \sqrt{3} = 0,00517 \text{ mL}$$

Αβεβαιότητα από την επαναληψιμότητα του dispenser: Κατά την εκτέλεση 10 κύκλων γέμισμα – ζύγιση, η τυπική απόκλιση βρέθηκε $0,0307 \text{ mL}$

$$\text{Άρα } u_3(V) = 0,0307 \text{ mL}$$

Άρα η συνολική τυπική αβεβαιότητα είναι:

$$u_{\text{disp1}}(V) = \sqrt{(u_1(V))^2 + u_2(V)^2 + u_3(V)^2} = \sqrt{(0,02309^2 + 0,00517^2 + 0,0307^2)}$$

$$u_{\text{disp1}}(V) = 0,038760 \text{ mL}$$

Η αδιάστατη σχετική αβεβαιότητα θα είναι:

$$\alpha. \alpha._{\text{disp1}} = 0,038760 / 8 = 0,00485$$

2) Προσθήκη 2 mL υπερκάθαρου υπεροξειδίου του υδρογόνου για την χώνευση με πιπέτα 1 mL

Η πιπέτα χρησιμοποιείται 2 φορές γιατί θέλουμε 2 mL δηλαδή:

$$2 \times 1 \text{ mL} = 2 \text{ mL}.$$

Από το πιστοποιητικό η ακρίβεια της πιπέτας είναι 0,05%, οπότε η απόκλιση είναι $\pm (0,05 \times 1) / 100 = \pm 0,0005 \text{ mL}$

Όπως και προηγουμένως η αβεβαιότητα υπολογίζεται θεωρώντας ότι υπακούει σε τετραγωνική κατανομή, οπότε $u_1(V) = \pm 0,0005 \text{ mL} / \sqrt{3} = 0,000289 \text{ mL}$

Ομοίως με προηγούμενως $\Delta V = V_{20} \times \alpha_{\text{H}_2\text{O}_2} \times \Delta T$

$$\Delta V = 1 \times 0,000514 \times 4 = 0,002056 \text{ mL}$$

Άρα η αβεβαιότητα θα είναι αυτής της πηγής θα είναι

$$u_2(V) = 0,002056 \text{ mL} / \sqrt{3} = 0,001187 \text{ mL}$$

Αβεβαιότητα από την επαναληψιμότητα της πιπέτας: Κατά την εκτέλεση 10 κύκλων γέμισμα – ζύγιση, η τυπική απόκλιση βρέθηκε 0,0101 mL

$$\text{Άρα } u_3(V) = 0,0101 \text{ mL}$$

Άρα η συνολική τυπική αβεβαιότητα είναι:

$$u_{\text{ππ1}}(V) = \sqrt{2(u_1(V)^2 + u_2(V)^2 + u_3(V)^2)} = \sqrt{2(0,000289^2 + 0,001187^2 + 0,0101^2)}$$

$$u_{\text{ππ1}}(V) = 0,014388 \text{ mL}$$

Η αδιάστατη σχετική αβεβαιότητα θα είναι:

$$\alpha.\alpha._{\text{ππ1}} = 0,014319 / 2 = 0,014319$$

3) Αραίωση 1-10 με υπερκάθαρο νερό, πιπέτα 1 mL

Ακόμη μετά το κάψιμο πραγματοποιείται αραίωση 1-10 με υπερκάθαρο νερό

Οπότε παίρνουμε 1 mL από το χωνευμένο δείγμα με πιπέτα του 1 mL. Από το πιστοποιητικό η ακρίβεια της πιπέτας είναι 0,05%, οπότε η απόκλιση είναι $\pm (0,05 \times 1) / 100 = \pm 0,0005 \text{ mL}$

Όπως και προηγούμενως η αβεβαιότητα υπολογίζεται θεωρώντας ότι υπακούει σε τετραγωνική κατανομή, οπότε $u_1(V) = \pm 0,0005 \text{ mL} / \sqrt{3} = 0,000289 \text{ mL}$

Ομοίως με προηγούμενως $\Delta V = V_{20} \times \alpha_{\text{HNO}_3} \times \Delta T$

$$\Delta V = 1 \times 0,00028 \times 4 = 0,00112 \text{ mL}$$

Άρα η αβεβαιότητα θα είναι αυτής της πηγής θα είναι

$$u_2(V) = 0,00112 \text{ mL} / \sqrt{3} = 0,000647 \text{ mL}$$

Αβεβαιότητα από την επαναληψιμότητα της πιπέτας: Κατά την εκτέλεση 10 κύκλων γέμισμα – ζύγιση, η τυπική απόκλιση βρέθηκε 0,0101 mL

$$\text{Άρα } u_3(V) = 0,0101 \text{ mL}$$

Άρα η συνολική τυπική αβεβαιότητα είναι:

$$u_{\text{ππ2}}(V) = \sqrt{(u_1(V)^2 + u_2(V)^2 + u_3(V)^2)} = \sqrt{(0,000289^2 + 0,000647^2 + 0,0101^2)}$$

$$u_{\text{ππ2}}(V) = 0,010125 \text{ mL}$$

Η αδιάστατη σχετική αβεβαιότητα θα είναι:

$$\alpha. \alpha. \pi_{\pi 2} = 0,010125 / 1 = 0,010125$$

4) Αραίωση 1-10 με υπερκάθαρο νερό, dispenser 9 mL

Για τα 9 mL υπερκάθαρο νερό με το dispenser έχουμε $\pm (0,5 \times 9) / 100 = \pm 0,045$ mL

$$\text{Οπότε } u_1(V) = \pm 0,045 \text{ mL} / \sqrt{3} = 0,02598 \text{ mL}$$

Ομοίως με παραπάνω για το υπερκάθαρο νερό. Η αβεβαιότητα από την επίδραση αυτή υπολογίζεται από την εκτιμώμενη μέγιστη διακύμανση της θερμοκρασίας και από το συντελεστή διαστολής του όγκου. Ο συντελεστής διαστολής του όγκου για το νερό ισούται με $0.000214/^{\circ}\text{C}$. Η αβεβαιότητα που οφείλεται στην επίδραση της θερμοκρασίας u_2 , θεωρείται ότι υπακούει σε τετραγωνική κατανομή, δηλαδή υπάρχει η ίδια πιθανότητα εμφάνισης της μέσης τιμής και των ακραίων τιμών, οπότε έχουμε και πάλι $u(x) = \alpha / \sqrt{3}$.

$$\Delta V = V_{20} \times \alpha_{\text{H}_2\text{O}} \times \Delta T$$

$$\Delta V = 9 \times 0,000214 \times 4 = 0,007704 \text{ mL}$$

Άρα η αβεβαιότητα θα είναι αυτής της πηγής θα είναι

$$u_2(V) = 0,007704 \text{ mL} / \sqrt{3} = 0,00445 \text{ mL}$$

Αβεβαιότητα από την επαναληψιμότητα του dispenser: Κατά την εκτέλεση 10 κύκλων γέμισμα – ζύγιση, η τυπική απόκλιση βρέθηκε 0,0301 mL

$$\text{Άρα } u_3(V) = 0,0301 \text{ mL}$$

Άρα η συνολική τυπική αβεβαιότητα στον όγκο είναι:

$$u_{\text{disp}2}(V) = \sqrt{(u_1(V))^2 + u_2(V)^2 + u_3(V)^2} = \sqrt{(0,02598^2 + 0,00445^2 + 0,0301^2)}$$

$$u_{\text{disp}2}(V) = 0,040010 \text{ mL}$$

Η αδιάστατη σχετική αβεβαιότητα θα είναι:

$$\alpha. \alpha. \text{ disp}2 = 0,040010 / 9 = 0,004446$$

Αβεβαιότητα στη μάζα:

Η αβεβαιότητα στον προσδιορισμό της μάζας υπολογίζεται από τα δεδομένα της διακρίβωσης του ζυγού και υπάρχουν στο πιστοποιητικό διακρίβωσης. Επίσης εξαρτάται από τη μάζα που ζυγίζουμε.

Από το πιστοποιητικό λοιπόν έχουμε:

$$u_1(m) = 0,02 + (3,719 \times 10^{-5} \times m) = 0,02 + (3,719 \times 10^{-5} \times 0,5)$$

$$u_1(m) = 0,020019 \text{ g}$$

$$\text{Άρα } u(m) = \sqrt{u_1(m)^2} = 0,020019 \text{ g}$$

Η αδιάστατη σχετική αβεβαιότητα θα είναι:

$$a.a._{\mu\alpha\zeta} = 0,020019 / 0,5 = 0,040038$$

Αβεβαιότητα προτύπου υλικού αναφοράς:

Έχουμε την αβεβαιότητα από το πιστοποιητικό $\pm 0,5\%$ και ακόμη πάλι έχουμε τετραγωνική κατανομή οπότε:

$$u_{\text{std}} = 0,5 / (100 \times \sqrt{3}) = 0,002887$$

Η αδιάστατη σχετική αβεβαιότητα θα είναι:

$$a.a._{\text{std}} = 0,002887$$

Ολική αδιάστατη αβεβαιότητα τύπου B της μεθόδου

$$u_B = \sqrt{(0,00485^2 + 0,014319^2 + 0,010125^2 + 0,004446^2 + 0,040038^2 + 0,002887^2)} = 0,044297$$

ή αλλιώς 4,43%

Αφού $u_A = u_{\text{RSDr}}$, η συνδυασμένη τυπική αβεβαιότητα δίνεται από τη σχέση

$$u_C = \sqrt{u_A^2 + u_B^2}$$

Από τις τιμές τις u_A και της u_B , συμπεραίνεται ότι η αβεβαιότητα τύπου B, η οποία σχετίζεται με τις μετρήσεις του όγκου, τις ζυγίσεις και τα πρότυπα, είναι σχεδόν αμελητέα σε σχέση με την αβεβαιότητα τύπου A. Ακόμη από τα παραπάνω αποτελέσματα παρατηρούμε ότι στη αβεβαιότητα τύπου B στην περίπτωσή μας συνεισφέρει περισσότερο η αβεβαιότητα από τη μάζα.

Για ένα συντελεστή κάλυψης $k=2$ (95%), η διευρυμένη αβεβαιότητα U είναι:

$$U = 2 \times u_C$$

Με βάση τα πειραματικά δεδομένα έγινε υπολογισμός της συνδυασμένης τυπικής αβεβαιότητας και της διευρυμένης αβεβαιότητας (Πίνακες 10.12 – 10.14).

Πίνακας 10.12: Συνδυασμένη τυπική αβεβαιότητα (%) και διευρυμένη τυπική αβεβαιότητα (%) της μεθόδου σε εμβολιασμένα δείγματα τυριών, στα δύο επίπεδα συγκεντρώσεων για τις σπάνιες γαίες, τις ακτινίδες, τα πολύτιμα μέταλλα και ιχνοστοιχεία με πολύ μικρή φυσική αφθονία.

Κατηγορία στοιχείων	Αναλύτης	1 ^ο Επίπεδο 0,1 ppb		2 ^ο Επίπεδο 1 ppb	
		Συνδυασμένη Αβεβαιότητα %	Διευρυμένη Αβεβαιότητα %	Συνδυασμένη Αβεβαιότητα %	Διευρυμένη Αβεβαιότητα %
Σπάνιες Γαίες	Ce	20,9	41,8	18,0	35,9
	Dy	6,8	13,5	14,8	29,6
	Er	10,3	20,6	6,0	11,9
	Eu	20,4	40,8	8,5	16,9
	Gd	12,5	25,0	5,7	11,4
	Ho	6,4	12,8	4,6	9,3
	La	18,7	37,5	7,4	14,8
	Lu	4,5	9,0	4,5	9,0
	Nd	6,5	12,9	20,9	41,8
	Pr	4,7	9,4	6,5	13,1
	Sc	23,4	46,8	4,7	9,4
	Sm	19,0	38,0	7,9	15,7
	Tb	11,3	22,6	6,3	12,6
	Tm	7,4	14,8	4,6	9,1
Y	29,0	58,1	7,8	15,6	
Yb	6,4	12,8	5,1	10,2	
Ακτινίδες	Th	33,8	67,6	30,9	61,8
	U	9,7	19,3	4,8	9,6
Πολύτιμα μέταλλα	Au	22,0	43,9	6,8	13,5
	Ir	4,6	9,3	18,3	36,7
	Pd	9,3	18,6	7,6	15,2
	Pt	4,6	9,2	4,7	9,4
	Re	27,4	54,7	6,6	13,2

	Rh	19,6	39,2	5,2	10,5
	Ru	23,3	46,6	6,5	13,1
Ιχνοστοιχεία	Hf	21,5	42,9	4,4	8,9
	Nb	28,4	56,9	12,3	24,6
	Sb	10,7	21,3	10,4	20,8
	Sn	21,3	42,5	26,7	53,3
	Ta	12,7	25,4	20,6	41,2
	W	24,1	48,2	6,6	13,2
	Zr	39,4	78,9	21,2	42,3

Πίνακας 10.13: Συνδυασμένη τυπική αβεβαιότητα (%) και διευρυμένη τυπική αβεβαιότητα (%) της μεθόδου σε εμβολιασμένα δείγματα τυριών, στα τρία επίπεδα συγκεντρώσεων για τα ιχνοστοιχεία.

Κατηγορία στοιχείων	Αναλύτης	1 ^ο Επίπεδο 10 ppb		2 ^ο Επίπεδο 100 ppb		3 ^ο Επίπεδο 1000 ppb	
		Συνδυασμένη Αβεβαιότητα %	Διευρυμένη Αβεβαιότητα %	Συνδυασμένη Αβεβαιότητα %	Διευρυμένη Αβεβαιότητα %	Συνδυασμένη Αβεβαιότητα %	Διευρυμένη Αβεβαιότητα %
Ιχνοστοιχεία	Ag	7,4	14,8	6,9	13,8	6,6	13,2
	Al	20,2	40,4	28,6	57,3	27,5	54,9
	As	20,2	40,4	26,4	52,7	10,6	21,1
	B	35,0	70,0	15,9	31,9	21,2	42,3
	Ba	5,5	10,9	23,2	46,5	15,4	30,7
	Be	8,9	17,8	5,6	11,3	22,1	44,3
	Bi	5,5	11,0	4,6	9,2	5,1	10,2
	Cd	5,1	10,2	4,5	8,9	6,3	12,6
	Cr	14,1	28,2	20,0	40,0	15,8	31,7
	Cs	5,2	10,5	5,5	10,9	5,7	11,4
	Co	9,9	19,9	12,4	24,8	11,7	23,3
	Cu	34,1	68,2	25,3	50,6	11,6	23,2
	Fe	15,2	30,3	15,5	31,1	22,2	44,5

	Ga	6,4	12,8	14,2	28,4	9,1	18,1
	In	8,9	17,8	5,3	10,7	6,2	12,3
	Li	4,9	9,8	7,9	15,9	9,6	19,2
	Mn	21,4	42,7	30,2	60,5	15,3	30,5
	Mo	26,0	52,0	30,8	61,6	14,6	29,2
	Ni	7,3	14,6	6,9	13,8	6,5	13,1
	Pb	4,5	9,0	4,4	8,9	4,7	9,4
	Rb	31,2	62,4	24,2	48,4	9,7	19,3
	Se	33,0	66,0	26,6	53,1	10,5	21,0
	Si	31,0	62,0	15,3	30,5	15,9	31,9
	Sr	43,5	87,1	32,1	64,2	18,9	37,9
	Tl	6,3	12,6	5,0	10,1	5,6	11,2
	Ti	27,9	55,7	32,8	65,6	23,5	47,0
	V	38,8	77,5	26,5	52,9	21,2	42,3
	Zn	32,4	64,8	27,5	54,9	21,8	43,5

Πίνακας 10.14: Συνδυασμένη τυπική αβεβαιότητα (%) και διευρυμένη τυπική αβεβαιότητα (%) της μεθόδου σε εμβολιασμένα δείγματα τυριών, στα τρία επίπεδα συγκεντρώσεων για τα μακρο-στοιχεία.

Κατηγορία στοιχείων	Αναλύτης	1 ^ο Επίπεδο 1 ppm		2 ^ο Επίπεδο 10 ppm	
		Συνδυασμένη Αβεβαιότητα %	Διευρυμένη Αβεβαιότητα %	Συνδυασμένη Αβεβαιότητα %	Διευρυμένη Αβεβαιότητα %
Μάκρο-στοιχεία	Ca	19,9	39,8	18,4	36,9
	K	14,8	29,6	12,6	25,2
	Mg	5,7	11,4	10,3	20,6
	Na	9,0	17,9	6,6	13,2
	P	17,1	34,2	8,6	17,2

Στους πίνακες 10.12-10.14 παρατηρούμε υψηλότερες τιμές διευρυμένης αβεβαιότητας στα χαμηλά επίπεδα εμβολιασμού. Αυτό οφείλεται στις υψηλότερες τιμές %

RSD_r που εμφάνισαν τα χαμηλά επίπεδα. Οι περισσότεροι αναλύτες έδωσαν % διευρυμένη αβεβαιότητα χαμηλότερη από 50%.

11. Μέθοδος εκτίμησης αυθεντικότητας για τα Ελληνικά ΠΟΠ και παραδοσιακά τυριά

11.1. Εισαγωγή

Τα ΠΟΠ τυριά της Ελλάδος χαρακτηρίζονται από την υψηλή τους ποιότητα και τα πρωτότυπα χαρακτηριστικά τους, στα οποία οφείλουν και την καλή φήμη τους. Για την παρασκευή των τυριών αυτών χρησιμοποιείται, σχεδόν αποκλειστικά, πρόβειο και γίδινο γάλα τα οποία διαφέρουν σημαντικά στη σύσταση και στα οργανοληπτικά τους χαρακτηριστικά από το αγελαδινό. Πέραν αυτού, οι ιδιόρρυθμες εδαφοκλιματικές συνθήκες της χώρας, οι εκτρεφόμενες φυλές προβάτων, η μεγάλη ποικιλία των ενδημικών φυτών της, οι συνθήκες παραγωγής και επεξεργασίας του γάλακτος σε συνδυασμό με την μακρόχρονη εμπειρία των ελλήνων τυροκόμων στην αξιοποίηση αιγοπρόβειου γάλακτος είναι παράγοντες που επηρεάζουν και διαμορφώνουν τα πρωτότυπα χαρακτηριστικά τους. Κάτι άλλο που είναι σημαντικό και πρέπει να επισημανθεί ιδιαίτερα είναι ότι τα ελληνικά παραδοσιακά τυριά, σχεδόν στο σύνολό τους, παρασκευάζονται από γάλα ζώων που διατρέφονται με ελεύθερη βόσκηση σε περιοχές που δεν χρησιμοποιούνται λιπάσματα, ζιζανιοκτόνα, εντομοκτόνα και άλλοι ρυπαντές.

Τα τελευταία χρόνια, γαλακτοβιομηχανίες διαφόρων χωρών προκειμένου να αυξήσουν το μερίδιό τους στην αγορά παρασκευάζουν απομιμήσεις ελληνικών παραδοσιακών τυριών. Συχνά μάλιστα για να πείσουν τους καταναλωτές ότι τα προϊόντα τους έχουν σχέση με την Ελλάδα, χρησιμοποιούν στη συσκευασία τους ελληνικά ονόματα, τοπωνύμια και παραστάσεις που παραπέμπουν στην Ελλάδα, μια πρακτική που εκτός του ότι είναι αντιδεδοντολογική και παράνομη, δημιουργεί σύγχυση στον καταναλωτή και δυσχεραίνει το διεθνές εμπόριο. Χαρακτηριστικό είναι το παράδειγμα της Φέτας. Η Ελλάδα είναι τέταρτη στην σειρά σε αριθμό ΠΟΠ τυριών (εικόνα 11.1) με 21 προϊόντα (Ανεβατό, Γαλοτύρι, Γραβιέρα Αγράφων, Γραβιέρα Κρήτης, Γραβιέρα Νάξου, Καλαθάκι Λήμνου, Κασέρι, Κατίκι Δομοκού, Κεφαλογραβιέρα, Κοπανιστή, Λαδοτύρι Μυτιλήνης, Μανούρι, Μετσοβόνη, Μπάτζος, Ξυνομυζήθρα Κρήτης, Πηχτόγαλο Χανίων, Σαν Μιχάλη, Φέτα, Σφέλα, Φορμαέλλα Αράχωβας Παρνασσού και Ξύγαλο Σητείας) μετά την Γαλλία 53, την Ιταλία 50 και την Ισπανία 29. Επιπλέον, αποτελούν ισχυρά εξαγωγίμα προϊόντα με “ευεργετικά” αποτελέσματα για την εθνική οικονομία και πηγή ικανού εισοδήματος για τους Έλληνες κτηνοτρόφους. Στη μελέτη μας συμπεριλήφθηκαν εκτός από τα 21 ΠΟΠ τυριά και διάφορα άλλα παραδοσιακά τυριά τα οποία αποτελούν εν δυνάμει μελλοντικά ΠΟΠ προϊόντα όπως το Μαστέλο Χίου και το Κρασοτύρι από την Κω. Τέλος πρέπει να αναφερθεί ότι τα περισσότερα από Ελληνικά ΠΟΠ και παραδοσιακά τυριά πληρούν τις προϋποθέσεις των 2 νέων προαιρετικών

επισημάνσεων ποιότητας, Κανονισμός 1151/2012 Ε.Ε, «προϊόντα ορεινής παραγωγής» και «προϊόντα νησιωτικής γεωργίας».

Εικόνα 11.1 Ελληνικά ΠΟΠ τυριά



Προδιαγραφές & ιδιαίτερα χαρακτηριστικά των ελληνικών ΠΟΠ τυριών

Τα 21 Ελληνικά ΠΟΠ τυριά έχουν ορισμένες κοινές προδιαγραφές. Παρασκευάζονται με παραδοσιακή τεχνολογία από γάλα το οποίο προέρχεται από φυλές αιγών, προβάτων ή / και αγελάδων οι οποίες εκτρέφονται σε οριοθετημένη γεωγραφική περιοχή, έχουν προσαρμοστεί πλήρως στο περιβάλλον και η διατροφή τους βασίζεται στη χλωρίδα της περιοχής. Οι φυλές αυτές είναι πλήρως προσαρμοσμένες στις τοπικές συνθήκες και αξιοποιούν άριστα τους φτωχούς ελληνικούς βοσκοτόπους, με την εκπληκτική όμως ποικιλία ενδημικής βλάστησης. Οι ντόπιες φυλές ζώων χαρακτηρίζονται για τη χαμηλή γαλακτοπαραγωγή τους αλλά και για το ιδιαίτερα πλούσια χημικής σύστασης και εξαιρετικών οργανοληπτικών ιδιοτήτων γάλα τους.

Η παρασκευή και ωρίμανση των τυριών πραγματοποιούνται σε εγκαταστάσεις που βρίσκονται εντός της οριοθετημένης γεωγραφικής περιοχής. Κατά την Παρασκευή τους απαγορεύεται η συμπίκνωση, η προσθήκη σκόνης ή συμπυκνώματος γάλακτος, πρωτεϊνών γάλακτος, καζεϊνικών αλάτων, χρωστικών, συντηρητικών και αντιβιοτικών ουσιών. Οι ονομασίες στις οποίες έχει δοθεί προστασία υπάγονται σε σύστημα ελέγχου, ώστε να κατοχυρώνονται, τόσο οι παραγωγοί από τις απομιμήσεις, όσο και οι καταναλωτές από παραπλανητικές ενδείξεις στα τρόφιμα. Οι έλεγχοι αφορούν στην ορθή τήρηση των προδιαγραφών και την ορθή χρήση της επισήμανσης. Απαγορεύεται η παραγωγή, εισαγωγή,

εξαγωγή, διακίνηση και εμπορία τυριού με κάποια από τις Προστατευόμενες Ονομασίες Προέλευσης, εφόσον δεν πληρούνται όλες οι προδιαγραφές παραγωγής του. Περισσότερες πληροφορίες για τα Ελληνικά ΠΟΠ τυριά, αναλυτικές προδιαγραφές, φυσικοχημικές ιδιότητες και τρόπους παρασκευής υπάρχουν στον οδηγό «Ελληνικά Τυριά Προστατευόμενης Ονομασίας Προέλευσης» από το Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων καθώς και στην βάση δεδομένων της Ευρωπαϊκής Ένωσης «EU DOOR».

Η πολυστοιχειακή σύσταση των γαλακτοκομικών προϊόντων οφείλεται κατά κύριο λόγο στις τροφές με τις οποίες τράφηκαν τα ζώα. Επομένως, το πολυστοιχειακό «αποτύπωμα» μπορεί να μας δώσει απευθείας πληροφορίες για την γεωγραφική προέλευση ενός γαλακτοκομικού προϊόντος [184-187] αν γνωρίζουμε με ακρίβεια την διατροφή των ζώων. Εδώ πρέπει να επισημανθεί η πρωτοτυπία της μελέτης αυτής πάνω στον προσδιορισμό της αυθεντικότητας γαλακτοκομικών προϊόντων, καθώς δεν υπάρχει καμία αναφορά μέσω του αποτυπώματος των περιεχομένων σπανίων γαιών.

11.2. Υλικά & Μέθοδοι

11.2.1. Συλλογή δειγμάτων

Τα δείγματα που χρησιμοποιήθηκαν ήταν ΠΟΠ και παραδοσιακά ελληνικά τυριά από διάφορους πιστοποιημένους παραγωγούς καθώς και άλλα τυριά που θα μπορούν να αποτελέσουν απομιμήσεις τους. Αναλυτικά τα δείγματα παρουσιάζονται στον πίνακα 11.1 Όλα τα δείγματα αναλύθηκαν 2 φορές το κάθε ένα. Όλα τα δείγματα συντηρήθηκαν στην κατάψυξη (-32°C) πριν την προκατεργασία.

Πίνακας 11.1. Δείγματα τυριών

Α/Α	Όνομα	ΠΟΠ	Τύπος	Αριθμός
1	Φέτα	Ναι	Μαλακό	17
2	Κατίκι Δομοκού	Ναι	Μαλακό	3
3	Καλαθάκι Λήμνου	Ναι	Μαλακό	3
4	Ανεβατό	Ναι	Μαλακό	3
5	Κοπανιστή	Ναι	Μαλακό	5
6	Κασέρι	Ναι	Ημίσκληρο	8
7	Μετσοβόνη	Ναι	Ημίσκληρο	2
8	Σφέλα	Ναι	Ημίσκληρο	2
9	Φορμαέλα Αράχωβας Παρνασσού	Ναι	Ημίσκληρο	4
10	Κεφαλογραβιέρα	Ναι	Σκληρό	11
11	Γραβιέρα Κρήτης	Ναι	Σκληρό	11
12	Γραβιέρα Νάξου	Ναι	Σκληρό	3
13	Γραβιέρα Αγράφων	Ναι	Σκληρό	2
14	Λαδοτύρι Μυτιλήνης	Ναι	Σκληρό	3
15	Σαν Μιχάλη	Ναι	Σκληρό	2
16	Μπάντζος	Ναι	Σκληρό	2
17	Πηχτόγαλο Χανίων	Ναι	Αλοιφώδες	5
18	Ξίγαλο	Ναι	Αλοιφώδες	1
19	Γαλοτύρι	Ναι	Αλοιφώδες	4
20	Ευνομυζήθρα Κρήτης	Ναι	Ορρού γάλακτος	4
21	Μανούρι	Ναι	Ορρού γάλακτος	4
22	Λευκό τυρί	Όχι		7
23	Μαστέλο Χίου	Όχι		2
24	Κρασοτύρι	Όχι		2
25	Βουβαλινό	Όχι		1
26	Βοτανοτύρι	Όχι		1
27	Κατσικίσιο τυρί	Όχι		1
28	Τσαλαφούτη	Όχι		1
29	Αγελαδινό τυρί	Όχι		1
30	Μανούρα	Όχι		1
31	Φορμαέλα Μεσσηνίας	Όχι		1
32	Χαλούμι	Όχι		1

11.2.2. Αντιδραστήρια

Τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιήθηκαν στο πειραματικό σκέλος ήταν το νιτρικό οξύ (HNO₃, Suprapur 65% w/v, Merck, Darmstadt, Germany), το υπεροξειδίο του υδρογόνου (H₂O₂, Suprapur, 30% w/v, Merck, Darmstadt, Germany), και πρότυπα πολυστοιχειακά διαλύματα όλων των στοιχείων που μελετήθηκαν (Inorganic Ventures, New Jersey, USA). Σε όλη την διαδικασία χρησιμοποιήθηκε υπερ-κάθαρο νερό που προέρχεται από σύστημα αντίστροφης ώσμωσης MilliQ plus system (Millipore, Saint Quentin Yvelines, France) με αντίσταση 18.2 MΩ cm⁻¹.

11.2.3. Προετοιμασία των δειγμάτων

Αρχικά, πραγματοποιήθηκε πλήρης χώνευση των δειγμάτων σε κλειστό σύστημα χώνευσης υποβοηθούμενο από μικροκύματα (CEM, Mars X-Press, Matthews, NC, USA). Στα δείγματα (0,5 g) προστέθηκαν 8 mL πυκνού νιτρικού οξέος και 2 mL πυκνού υπεροξειδίου του υδρογόνου και αφήθηκαν 30 ώρα για προχώνευση. Στη συνέχεια, η θέρμανση τους επιταχύνθηκε στο υποβοηθούμενο από μικροκύματα σύστημα, ακολουθώντας το ακόλουθο θερμοκρασιακό πρόγραμμα: η ισχύς ανεβαίνει για 20 min από 100 στα 1200W και μένει σταθερή για 15 min. Η θερμοκρασία φτάνει στη μέγιστη τιμή της, 200°C, και ακολουθεί θερμοκρασιακή πτώση για 15 min. Πρέπει να τονιστεί ότι δεν έχουμε απώλειες πτητικών συστατικών καθώς οι οβίδες από teflon είναι σφραγισμένες κατά τη διάρκεια της χώνευσης. Ακολούθως, τα δείγματα φιλτράρονται χρησιμοποιώντας σύριγγα μιας χρήσης με φίλτρα 0.20μm/15mm (Chromafil, Macherey-Nagel, Duren, Germany) και αραιώνονται με νερό που προέρχεται από σύστημα αντίστροφης ώσμωσης προτού αναλυθούν με την τεχνική ICP-MS. Τέλος, τα πρότυπα διαλύματα που χρησιμοποιήθηκαν για την βαθμονόμηση του οργάνου είναι υψηλής καθαρότητας πρότυπα υλικά.

11.2.4. Ανάλυση με ICP-MS

Έγινε προσδιορισμός των συγκεντρώσεων των σπανίων γαιών Ce, Dy, Er, Eu, Gd, Ho, La, Lu, Nd, Pr, Sc, Sm, Tb, Th, Tm, U, Y, Yb των ακτινίδων, Th & U των πολύτιμων μετάλλων Au, Ir, Pd, Pt, Re, Rh, Ru των ιχνοστοιχείων Ag, As, B, Ba, Be, Bi, Cd, Cs, Cr, Co, Cu, Fe, Ga, Hf, Pb, Li, Mn, Mo, Nb, Ni, Rb, Sb, Se, Si, Sn, Sr, Ta, Tl, Ti, V, W, Zn, Zr και των μάκρο στοιχείων Ca, K, Mg, Na, P. Τα όρια ποσοτικοποίησης LOQ's (limits of quantification) ήταν χαμηλότερα από τις τιμές των δειγμάτων για όλα τα στοιχεία. Αναλυτικά τα όρια ποσοτικοποίησης της μεθόδου στο κεφάλαιο 10 Για τον έλεγχο της μεθόδου χρησιμοποιήθηκαν τα παρακάτω πρότυπα υλικά αναφοράς ERM-BD151 skimmed milk powder, για τα ιχνοστοιχεία και τα μάκρο στοιχεία και το BCR-668 mussel tissue για τις σπάνιες γαίες. Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται αναλυτικά στον πίνακα 11.3. Οι ανακτήσεις για τα περισσότερα στοιχεία κυμάνθηκαν μεταξύ 70-120%. Τα πρότυπα υλικά αναφοράς υποβλήθηκαν ακριβώς στην ίδια διαδικασία με τα δείγματα και αναλύθηκαν εις τριπλούν.

Πίνακας 11.3. Αποτελέσματα προτύπων υλικών αναφοράς (n=3)

	BCR 668			ERM-BD151	
Σπάνιες Γαίες	Πιστοποιημένη τιμή, ppb	Ευρεθείσα τιμή, ppb	Trace elements	Πιστοποιημένη τιμή, ppm	Ευρεθείσα τιμή, ppm
Ce	89 ± 7	82 ± 3	Cd	0,106 ± 0,013	0,121 ± 0,041
Dy	8,9 ± 0,6	7,9 ± 0,9	Cu	5,00 ± 0,23	5,77 ± 0,97
Er	4,5 ± 0,5	3,7 ± 0,7	Fe	53 ± 4	50 ± 13
Eu	2,79 ± 0,16	2,4 ± 0,10	Mn	0,29 ± 0,03	0,34 ± 0,09
Gd	13,0 ± 0,6	12,1 ± 0,7	Pb	0,207 ± 0,014	0,201 ± 0,049
Ho	1,8 ± 0,6 ^a	1,2 ± 0,2	Se	0,19 ± 0,04	0,27 ± 0,09
La	80 ± 6	71 ± 5	Zn	44,9 ± 2,3	54,0 ± 7,9
Lu	0,389 ± 0,024	0,379 ± 0,010	Macro elements		
Nd	54 ± 4	49 ± 1	Ca	13,9 ± 0,7	9,9 ± 1,4
Pr	12,3 ± 1,1	11,1 ± 0,2	K	17,0 ± 0,8	14,0 ± 1,7
Sc	8,5 ± 1,8	10,3 ± 1,5	Mg	1,26 ± 0,07	1,20 ± 0,13
Sm	11,2 ± 0,8	10,4 ± 0,4	Na	4,19 ± 0,23	3,89 ± 0,7
Tb	1,62 ± 0,12	1,60 ± 0,07	P	11,0 ± 0,6	12,3 ± 2,4
Tm	0,48 ± 0,08	0,571 ± 0,03			
Y	59 ± 5	53 ± 3			
Yb	2,8 ± 0,5 ^a	2,1 ± 0,1			
Actinides					
Th	10,7 ± 1,2	9,7 ± 0,3			
U	56 ± 5	50,9 ± 4			

^a Ενδεικτικές τιμές

Το στοιχειακό προφίλ προσδιορίστηκε χρησιμοποιώντας ένα Perkin Elmer (SCIEX, Canada) 9000 Series, φασματόμετρο μαζών με επαγωγικά συζευγμένο πλάσμα, ICP-MS. Οι συνθήκες λειτουργίας του ICP-MS ήταν οι ακόλουθες: ροή αερίου στον εκνεφωτή 0.75 L min⁻¹, ισχύς του ICP RF 950 W, τάση των ιοντικών φακών 7 V, τάση στο παλμικό στάδιο 950 V και 26 rpm η συχνότητα πρόσληψης δείγματος από την περισταλτική αντλία.

11.2.5. Στατιστική ανάλυση

Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας το λογισμικό SPSS της IBM. Έτσι παρουσιάζονται στοιχεία περιγραφικής στατιστικής, μέση τιμή και τυπικό σφάλμα. Η στατιστική ανάλυση έχει γίνει σε στάθμη εμπιστοσύνης 95% ($P \leq 0,05$), εκτός αν αναφέρεται σε κάποιο σημείο κάτι διαφορετικό. Ακόμη χρησιμοποιήθηκε το StatgraphicsCenturion για την ανάλυση και την οπτικοποίηση δεδομένων αλλά και προγνωστικών στατιστικών αναλύσεων.

11.3. Αποτελέσματα & Συζήτηση

11.3.1 Γενική διάκριση μεταξύ των τυριών ανά όνομα

Στόχος της μελέτης ήταν η δημιουργία μιας βάσης δεδομένων των στοιχειακών αποτυπωμάτων των Ελληνικών ΠΟΠ και παραδοσιακών τυριών. Όπως παρατηρούμε στο πίνακα 11.2 τα στοιχεία έδωσαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές μεταξύ των δειγμάτων, ήταν το Σκάνδιο από τις σπάνιες γαίες, το Θώριο από τις ακτινίδες, ο Χρυσός, το Ιρίδιο, ο Λευκόχρυσος και το Ρουθίνιο από τα πολύτιμα μέταλλα, ο Άργυρος, το Αργίλιο, το Αρσενικό, το Βόριο, το Κάδμιο, το Κοβάλτιο, το Χρώμιο, ο Χαλκός, ο Σίδηρος, το Γάλλιο, το Άφνιο, το Ίνδιο, το Λίθιο, το Μολυβδαίνιο, το Αντιμόνιο, το Σελήνιο, το Πιρύτιο, το Ταντάλιο και το Θάλλιο από τα ιχνοστοιχεία καθώς και το Κάλιο από τα μακρο-στοιχεία. Είναι σημαντικό να αναφέρουμε ότι 4 από 7 πολύτιμα μέταλλα που προσδιορίστηκαν έδωσαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές.

Πίνακας 11.2. Μέση τιμή και τυπικό σφάλμα των αναλυτών σε όλες τις κατηγορίες τυριών. Όλα τα αποτελέσματα είναι σε $\mu\text{g}/\text{kg}$ εκτός από τα μακρο-στοιχεία που είναι σε mg/kg .

Όνομα Τυριού		Ανεβατό		Μπάτζος		Φέτα		Φορμαέλα Αράχ. Π.		Γαλοτύρι		Γραβιέρα Αγράφων	
		Μέση τιμή	Τυπικό Σφάλμα	Μέση τιμή	Τυπικό Σφάλμα	Μέση τιμή	Τυπικό Σφάλμα	Μέση τιμή	Τυπικό Σφάλμα	Μέση τιμή	Τυπικό Σφάλμα	Μέση τιμή	Τυπικό Σφάλμα
Σπάνιες Γαίες	Ce	0,73	0,08	0,74	0,00	4,97	1,16	1,16	0,42	2,93	0,57	3,47	2,34
	Dy	0,031	0,018	0,055	0,014	0,245	0,051	0,066	0,023	0,134	0,049	0,199	0,143
	Er	0,086	0,006	0,098	0,017	0,202	0,027	0,092	0,011	0,135	0,024	0,164	0,080
	Eu	0,28	0,08	0,29	0,01	0,58	0,08	0,33	0,15	0,86	0,44	0,32	0,07
	Gd	0,26	0,02	0,26	0,01	1,19	0,25	0,34	0,07	0,75	0,20	0,76	0,48
	Ho	0,029	0,003	0,028	0,003	0,061	0,007	0,032	0,002	0,045	0,010	0,055	0,029
	La	5,52	0,05	5,57	0,11	9,44	1,12	5,71	0,24	6,84	0,31	7,28	1,54
	Lu	0,028	0,002	0,028	0,005	0,044	0,003	0,028	0,003	0,031	0,002	0,033	0,009
	Nd	0,68	0,03	0,76	0,03	2,12	0,42	0,91	0,14	1,48	0,28	1,85	1,03
	Pr	0,115	0,017	0,124	0,000	0,519	0,113	0,142	0,033	0,311	0,071	0,398	0,238
	Sc	8,6	1,4	11,2	0,2	27,2	2,5	7,5	3,6	13,9	3,0	9,4	2,1
	Sm	2,79	0,15	2,86	0,00	3,52	0,16	2,88	0,26	3,93	0,75	3,04	0,02
	Tb	0,028	0,013	0,029	0,006	0,084	0,017	0,032	0,017	0,061	0,017	0,067	0,041
	Tm	0,026	0,001	0,026	0,001	0,038	0,003	0,028	0,002	0,029	0,003	0,035	0,009
	Y	0,31	0,01	0,33	0,02	1,55	0,28	0,40	0,10	0,93	0,26	1,11	0,77
	Yb	0,065	0,005	0,063	0,002	0,142	0,016	0,070	0,006	0,102	0,019	0,141	0,060
Ακτινίδες	Th	1,66	0,25	1,81	0,10	2,56	0,15	1,59	0,11	2,09	0,29	2,59	0,48
	U	5,41	0,15	4,14	0,74	5,95	0,31	5,43	0,34	4,59	0,45	5,16	1,16
Πολύτιμα μέταλλα	Au	1,11	0,08	1,35	0,10	1,95	0,12	1,13	0,02	1,39	0,16	1,06	0,00
	Ir	0,24	0,01	0,27	0,00	0,44	0,03	0,27	0,01	0,31	0,01	0,23	0,01
	Pd	0,67	0,06	0,62	0,05	3,66	0,46	0,75	0,07	1,25	0,10	1,01	0,20
	Pt	0,631	0,041	0,679	0,043	1,146	0,132	0,737	0,025	0,726	0,037	0,715	0,000
	Re	0,11	0,05	0,16	0,09	1,15	0,26	0,83	0,28	1,36	0,41	1,09	0,48
	Rh	0,083	0,050	0,150	0,023	0,183	0,033	0,106	0,050	0,164	0,085	0,092	0,018
	Ru	0,68	0,12	1,11	0,15	2,46	0,25	1,07	0,16	1,90	0,43	0,88	0,25
Ιχνοστοιχεία	Ag	2,39	0,19	2,29	0,09	4,84	0,50	1,47	0,08	2,44	0,08	2,20	0,08
	Al	595	163	1063	787	15993	3877	1082	432	2099	487	5124	4036
	As	46	31	78	11	126	17	84	36	73	34	67	1
	B	56103	2591	69028	1736	97199	7572	49785	19414	104457	17717	70400	817
	Ba	630	224	686	5	782	123	663	358	1585	892	687	265
	Be	48	12	57	11	148	19	98	24	106	10	263	192

	Bi	1,07	0,24	4,70	1,80	3,98	0,82	1,58	0,78	1,75	0,41	1,80	1,10
	Cd	4,22	0,18	4,45	0,89	6,07	0,29	4,16	0,34	4,67	0,41	4,85	0,73
	Co	9,5	3,9	15,5	0,2	17,7	3,2	10,8	5,0	11,1	3,7	6,6	0,9
	Cr	118	13	135	0	295	33	107	50	134	41	145	16
	Cs	3,23	1,14	3,93	1,70	7,28	0,88	2,14	0,47	7,43	2,54	7,21	1,46
	Cu	310	84	391	45	636	65	305	88	408	104	719	321
	Fe	11200	3693	16452	161	19328	2604	12184	4475	11400	3977	8536	1086
	Ga	12,8	1,8	14,7	0,3	24,9	2,2	13,8	4,2	22,0	8,4	15,9	0,1
	Hf	0,207	0,027	0,212	0,008	0,677	0,085	0,239	0,014	0,298	0,011	0,233	0,023
	In	779	34	749	4	227	87	745	15	117	3	757	30
	Pb	10,4	2,4	28,6	16,8	26,3	2,7	16,2	2,7	16,9	0,4	22,8	8,6
	Li	297	25	277	45	463	39	407	28	337	25	211	123
	Mn	971	347	1522	32	1532	255	1073	403	997	376	727	22
	Mo	0,50	0,08	0,59	0,11	1,89	0,28	0,62	0,14	0,70	0,12	0,84	0,31
	Nb	248	90	392	8	394	67	275	105	255	98	184	6
	Ni	30,5	7,9	28,2	0,4	43,0	2,3	33,1	6,0	40,4	2,0	42,7	9,5
	Rb	546	196	961	59	1909	285	963	253	1483	134	1184	178
	Sb	3,72	0,08	3,36	0,06	6,97	0,53	4,37	0,08	4,76	0,27	3,24	0,56
	Se	16	5	54	2	98	11	64	9	61	13	59	11
	Si	119948	3945	132806	1342	204869	15825	108354	29796	166460	25802	237324	69304
	Sn	8	2	7	0	17	4	8	0	14	3	7	1
	Sr	1148	442	2653	817	2887	551	1648	769	3327	1675	1542	694
	Ta	0,080	0,005	0,109	0,022	0,305	0,043	0,141	0,019	0,195	0,037	0,117	0,035
	Tl	0,78	0,12	0,87	0,00	1,58	0,07	0,85	0,07	1,23	0,02	1,34	0,34
	Ti	21049	5595	30823	366	31352	4648	21345	8383	19882	8087	17247	4570
	V	242	127	335	55	643	51	422	101	430	138	483	1
	W	0,76	0,18	2,22	1,13	3,92	0,35	1,29	0,25	8,79	5,40	1,23	0,53
	Zn	18330	4832	29026	2910	23524	4070	19369	8743	15047	6975	17687	5401
	Zr	0,10	0,01	0,15	0,00	1,33	0,19	0,12	0,04	0,30	0,06	0,20	0,07
Μάκρο-στοιχεία	Ca	3713	1454	5977	96	5321	938	4087	1737	3436	1524	2523	146
	K	523	94	583	136	680	56	765	98	643	41	1163	760
	Mg	171	62	288	29	260	44	264	112	192	65	169	53
	Na	5106	1999	7549	21	7023	659	7558	2103	7931	2291	10627	149
	P	3734	1070	5662	118	3687	572	3824	1581	3064	1352	3040	946

Όνομα Τυριού		Γραβιέρα Κρήτης		Γραβιέρα Νάξου		Καλαθάκι Λήμνου		Κασέρι		Κατίκι Δομοκού		Κεφαλογραβιέρα	
		Μέση τιμή	Τυπικό Σφάλμα	Μέση τιμή	Τυπικό Σφάλμα	Μέση τιμή	Τυπικό Σφάλμα	Μέση τιμή	Τυπικό Σφάλμα	Μέση τιμή	Τυπικό Σφάλμα	Μέση τιμή	Τυπικό Σφάλμα
Αναλύτες Σπάνιες Γαίες	Ce	1,13	0,19	1,26	0,13	1,02	0,21	1,66	0,29	1,29	0,30	2,86	1,21
	Dy	0,062	0,010	0,070	0,004	0,066	0,014	0,097	0,016	0,081	0,008	0,080	0,012
	Er	0,097	0,006	0,097	0,008	0,100	0,008	0,117	0,008	0,103	0,002	0,111	0,007
	Eu	0,35	0,07	0,95	0,41	0,17	0,05	0,80	0,22	0,13	0,01	0,77	0,15
	Gd	0,32	0,04	0,35	0,04	0,32	0,05	0,46	0,07	0,33	0,05	0,57	0,13
	Ho	0,034	0,001	0,032	0,002	0,034	0,001	0,038	0,003	0,033	0,001	0,037	0,002
	La	5,76	0,11	5,91	0,08	5,74	0,15	6,27	0,29	5,82	0,12	6,99	0,87
	Lu	0,029	0,001	0,031	0,003	0,026	0,003	0,032	0,002	0,027	0,000	0,031	0,002
	Nd	0,82	0,06	0,88	0,03	0,90	0,12	1,08	0,12	0,89	0,08	0,98	0,07
	Pr	0,151	0,014	0,157	0,012	0,150	0,023	0,209	0,031	0,177	0,015	0,191	0,019
	Sc	12,4	2,1	18,2	3,6	5,6	0,9	18,8	2,0	9,6	1,1	19,4	1,1
	Sm	2,97	0,15	4,02	0,71	2,65	0,08	3,77	0,39	2,59	0,05	3,75	0,27
	Tb	0,033	0,007	0,040	0,013	0,021	0,005	0,043	0,010	0,016	0,002	0,043	0,006
	Tm	0,025	0,001	0,024	0,003	0,024	0,001	0,028	0,001	0,023	0,002	0,026	0,001
	Y	0,47	0,06	0,54	0,05	0,44	0,08	0,72	0,12	0,46	0,01	0,64	0,07
	Yb	0,074	0,005	0,075	0,004	0,072	0,011	0,085	0,007	0,076	0,004	0,081	0,004
Ακτινίδες	Th	1,86	0,09	1,45	0,20	1,42	0,03	1,60	0,09	1,85	0,25	1,89	0,09
	U	4,96	0,30	4,70	0,31	4,53	0,67	5,39	0,61	5,73	1,09	4,64	0,23
Πολύτιμα μέταλλα	Au	1,33	0,12	1,35	0,15	1,20	0,07	1,31	0,04	1,17	0,19	1,33	0,06
	Ir	0,27	0,02	0,31	0,04	0,25	0,01	0,30	0,01	0,28	0,04	0,28	0,01
	Pd	2,70	1,77	1,07	0,04	0,80	0,08	1,10	0,08	0,86	0,02	1,09	0,08
	Pt	0,711	0,029	0,799	0,051	0,622	0,062	0,733	0,045	0,720	0,185	0,751	0,037
	Re	0,58	0,08	0,53	0,25	0,50	0,07	0,65	0,07	0,54	0,24	0,50	0,08
	Rh	0,132	0,029	0,236	0,075	0,063	0,021	0,196	0,040	0,029	0,005	0,194	0,025
	Ru	1,29	0,14	1,95	0,38	1,25	0,19	2,05	0,18	1,00	0,15	1,92	0,15
Ιχθυοστοιχεία	Ag	2,65	0,69	2,54	0,16	2,20	0,11	2,49	0,19	2,60	0,49	2,76	0,33
	Al	1762	622	1958	706	1512	456	1578	364	1138	178	1658	244
	As	94	14	115	31	37	3	112	18	20	8	135	11
	B	77376	14075	122174	14389	32985	11130	115970	6398	86194	17939	120424	5209
	Ba	679	131	1837	843	308	120	1463	422	173	41	1429	290
	Be	71	6	96	12	172	103	117	21	96	22	79	4

	Bi	3,20	1,82	10,83	8,43	0,90	0,35	2,34	0,33	1,67	0,55	10,96	8,36
	Cd	4,64	0,52	5,14	0,22	3,95	0,22	4,79	0,33	4,29	0,22	5,01	0,22
	Co	11,1	2,2	17,0	5,0	6,5	0,4	16,3	3,1	2,6	0,6	16,6	1,8
	Cr	153	21	202	20	43	18	195	25	104	27	209	10
	Cs	3,48	0,57	16,00	7,00	2,30	0,61	11,89	4,72	2,05	0,73	10,14	3,84
	Cu	487	44	559	21	343	58	486	47	229	24	538	77
	Fe	12143	1980	17720	4222	8774	460	17008	2753	5029	551	17154	1477
	Ga	15,1	1,7	24,9	7,1	9,9	1,2	22,3	4,1	8,8	0,5	22,7	2,8
	Hf	0,408	0,163	0,236	0,005	0,227	0,016	0,268	0,015	0,245	0,017	0,266	0,016
	In	516	119	339	228	571	224	113	3	341	223	111	4
	Pb	18,7	3,3	17,2	2,8	25,7	7,2	23,8	2,5	15,9	2,3	22,3	5,3
	Li	310	37	610	216	223	29	379	34	206	32	358	20
	Mn	1126	189	1619	411	729	48	1561	250	408	33	1582	145
	Mo	0,70	0,08	0,82	0,14	0,54	0,02	0,92	0,11	0,47	0,01	0,86	0,07
	Nb	289	49	417	107	185	12	402	65	101	9	407	38
	Ni	46,2	14,6	43,7	9,3	29,2	1,0	35,3	0,9	41,8	7,2	43,6	8,2
	Rb	894	87	1546	26	1074	411	1388	126	978	322	1115	97
	Sb	4,09	0,32	4,12	0,47	4,03	0,59	4,56	0,35	4,81	0,66	4,60	0,38
	Se	75	9	78	15	60	4	76	6	59	10	82	7
	Si	154201	25014	244008	61229	74816	4373	198286	21444	137642	27082	232834	25690
	Sn	17	8	23	16	43	37	9	1	13	5	20	10
	Sr	2064	338	4847	989	1268	312	4078	628	476	96	3676	470
	Ta	0,155	0,019	0,155	0,050	0,126	0,016	0,202	0,040	0,212	0,078	0,173	0,020
	Tl	1,13	0,24	1,26	0,22	0,88	0,05	1,19	0,10	0,96	0,03	1,20	0,10
	Ti	21577	3683	29852	7930	14768	2449	31004	5421	9385	2842	32390	2540
	V	540	47	524	95	266	26	552	68	218	65	662	35
	W	2,37	0,47	2,60	0,69	1,06	0,69	3,10	0,35	2,68	0,92	3,80	0,99
	Zn	19602	4077	24343	7248	9716	1780	23174	4327	6678	3197	24249	2327
	Zr	0,97	0,76	0,29	0,05	0,14	0,00	0,31	0,05	0,13	0,01	0,32	0,04
Μάκρο-στοιχεία	Ca	3786	702	5938	1634	2679	258	5548	989	1092	191	5690	580
	K	432	47	591	52	552	181	611	63	621	84	483	19
	Mg	172	30	278	43	122	7	271	39	93	8	268	30
	Na	9752	873	8807	1438	7111	1447	9465	921	6426	1271	11675	1074
	P	3397	562	4688	1264	2402	593	4559	799	1385	568	4944	377

Όνομα Τυριού		Κοπανιστή		Κρασοτύρι		Λαδοτύρι Μυτιλήν.		Λευκό τυρί		Μανούρι		Μαστέλο Χίου	
		Μέση τιμή	Τυπικό Σφάλμα	Μέση τιμή	Τυπικό Σφάλμα	Μέση τιμή	Τυπικό Σφάλμα	Μέση τιμή	Τυπικό Σφάλμα	Μέση τιμή	Τυπικό Σφάλμα	Μέση τιμή	Τυπικό Σφάλμα
Αναλύτες Σπάνιες Γαίες	Ce	0,78	0,08	0,71	0,11	1,16	0,14	14,51	9,35	3,65	1,95	1,13	0,27
	Dy	0,043	0,008	0,028	0,002	0,074	0,016	0,812	0,511	0,126	0,051	0,026	0,006
	Er	0,092	0,006	0,095	0,004	0,089	0,002	0,497	0,257	0,128	0,031	0,088	0,008
	Eu	0,18	0,03	0,30	0,09	0,26	0,15	0,90	0,15	0,30	0,20	0,16	0,08
	Gd	0,23	0,03	0,26	0,03	0,32	0,04	3,44	2,19	0,78	0,41	0,31	0,04
	Ho	0,030	0,002	0,030	0,002	0,028	0,002	0,154	0,079	0,040	0,006	0,028	0,003
	La	5,48	0,06	5,55	0,11	5,77	0,12	14,57	5,50	7,19	1,34	5,64	0,09
	Lu	0,023	0,002	0,026	0,002	0,029	0,003	0,072	0,024	0,030	0,004	0,024	0,000
	Nd	0,73	0,05	0,74	0,03	0,90	0,06	5,81	3,52	1,47	0,58	0,81	0,00
	Pr	0,120	0,013	0,121	0,016	0,153	0,022	1,411	0,851	0,325	0,170	0,161	0,010
	Sc	7,1	0,8	6,4	3,1	14,4	4,3	35,7	2,5	14,0	3,0	9,9	2,6
	Sm	2,65	0,06	2,81	0,18	2,81	0,26	4,53	0,70	2,93	0,41	2,65	0,14
	Tb	0,013	0,003	0,012	0,003	0,029	0,017	0,269	0,161	0,056	0,033	0,015	0,001
	Tm	0,021	0,001	0,024	0,001	0,025	0,003	0,067	0,023	0,027	0,003	0,022	0,001
	Y	0,33	0,04	0,31	0,03	0,49	0,11	5,13	3,04	0,79	0,28	0,31	0,03
	Yb	0,064	0,003	0,063	0,005	0,078	0,009	0,341	0,163	0,093	0,016	0,069	0,009
Ακτινίδες	Th	1,82	0,09	1,80	0,12	1,87	0,03	3,48	0,72	1,84	0,11	1,65	0,06
	U	4,59	0,76	4,15	0,38	4,79	0,27	5,46	0,27	5,03	0,23	4,97	1,37
Πολύτιμα μέταλλα	Au	1,62	0,37	1,15	0,06	1,07	0,15	1,98	0,17	1,19	0,11	1,33	0,07
	Ir	0,27	0,02	0,26	0,02	0,28	0,02	0,51	0,07	0,29	0,02	0,23	0,02
	Pd	0,77	0,03	0,76	0,05	1,02	0,10	4,83	0,45	0,91	0,20	0,80	0,09
	Pt	0,723	0,051	0,688	0,176	0,675	0,049	1,077	0,051	0,656	0,044	0,528	0,063
	Re	0,32	0,12	2,06	1,40	0,45	0,22	1,05	0,30	0,60	0,14	0,18	0,06
	Rh	0,062	0,015	0,056	0,019	0,126	0,075	0,265	0,031	0,109	0,078	0,047	0,025
	Ru	0,89	0,11	0,96	0,11	1,57	0,33	2,47	0,12	1,31	0,39	0,90	0,33
	Ag	2,28	0,18	1,73	0,27	2,45	0,24	5,72	0,70	2,13	0,05	2,47	0,04
Ιγνοστοιχεία	Al	467	227	507	343	3890	2235	23116	2672	4228	3068	993	575
	As	49	12	41	25	82	56	174	21	45	33	83	63
	B	54886	7459	36755	17887	98732	22042	135105	14502	117819	19067	103633	5145
	Ba	362	96	612	213	399	275	1042	166	436	355	294	236
	Be	76	27	145	42	125	33	154	10	86	17	87	41

	Bi	4,48	1,36	13,30	12,60	3,00	1,41	3,16	0,58	2,63	0,94	2,15	1,15
	Cd	4,27	0,35	3,53	0,08	4,62	0,25	6,38	0,29	4,81	0,40	5,32	0,43
	Co	6,5	2,2	7,8	3,5	9,3	5,5	28,5	4,0	7,0	5,3	7,5	6,5
	Cr	102	15	78	35	156	45	366	36	169	36	143	34
	Cs	2,65	0,63	2,03	0,05	3,51	0,71	6,66	0,94	4,07	1,40	1,05	0,13
	Cu	321	44	262	52	453	11	575	85	380	123	329	24
	Fe	8426	1948	9861	3347	10937	5041	27743	2852	8416	4283	9271	5815
	Ga	10,3	1,0	11,6	2,3	13,1	3,6	32,4	2,8	13,6	4,9	11,1	2,9
	Hf	0,216	0,015	0,244	0,019	0,237	0,022	0,719	0,050	0,266	0,031	0,254	0,019
	In	750	20	782	12	117	9	126	5	282	181	797	71
	Pb	16,3	2,7	20,8	4,6	24,9	6,9	31,5	1,8	17,7	3,4	11,6	1,8
	Li	258	61	305	46	343	5	817	238	279	66	205	4
	Mn	751	182	813	278	999	467	2231	269	799	427	867	566
	Mo	0,46	0,04	0,56	0,06	0,66	0,18	2,48	0,28	0,82	0,24	0,54	0,11
	Nb	191	48	207	73	255	122	577	70	203	111	221	148
	Ni	32,4	3,3	28,3	6,7	42,1	7,3	41,0	3,6	33,8	1,6	36,8	0,6
	Rb	967	118	668	80	1179	101	1662	481	1111	137	407	88
	Sb	2,95	0,10	3,86	0,36	4,35	0,68	6,33	0,65	3,59	0,61	2,90	0,04
	Se	54	17	42	18	78	3	119	9	64	10	97	31
	Si	143890	24513	92195	29566	159859	33863	279415	38141	180750	30609	158129	8098
	Sn	30	16	7	1	11	1	10	2	9	1	8	1
	Sr	1461	499	1536	430	2213	802	3412	389	1892	1261	977	575
	Ta	0,090	0,008	0,134	0,036	0,166	0,040	0,272	0,031	0,195	0,061	0,155	0,029
	Tl	0,87	0,05	0,81	0,12	1,13	0,08	1,57	0,10	1,03	0,06	0,89	0,01
	Ti	16236	3401	16892	6234	18223	10188	44509	5055	14677	8854	21933	11391
	V	323	47	222	104	446	212	751	64	275	118	481	227
	W	0,84	0,16	1,12	0,33	3,37	1,10	3,99	0,43	2,88	0,56	3,11	0,96
	Zn	12535	4388	11111	4317	11740	7249	32495	4562	9918	6882	20944	18057
	Zr	0,11	0,02	0,15	0,04	0,26	0,06	1,87	0,19	0,22	0,12	0,14	0,08
Μάκρο- στοιχεία	Ca	2810	857	3090	1219	3341	1907	8065	1000	2469	1649	2954	2413
	K	549	73	604	90	662	86	599	34	521	77	427	31
	Mg	154	48	183	82	186	83	338	51	136	63	115	57
	Na	8823	1438	4896	1092	8949	3352	6689	477	6384	1846	9983	5787
	P	2997	749	2850	1181	2723	1664	5370	679	2017	1353	3487	1998

Όνομα Τυριού		Μετσοβόνη		Πηχτόγαλο Χανίων		Σαν Μιγάλη		Σφέλα		Ξυνομυζήθρα Κρήτ.		P-value	
		Μέση τιμή	Τυπικό Σφάλμα	Μέση τιμή	Τυπικό Σφάλμα	Μέση τιμή	Τυπικό Σφάλμα	Μέση τιμή	Τυπικό Σφάλμα	Μέση τιμή	Τυπικό Σφάλμα		
Αναλύτες	Επάνιες Γαίες	Ce	1,43	0,25	1,23	0,55	1,69	0,76	0,84	0,01	1,31	0,31	0,850
		Dy	0,091	0,014	0,072	0,025	0,089	0,069	0,062	0,006	0,091	0,021	0,760
		Er	0,090	0,000	0,111	0,011	0,104	0,024	0,094	0,011	0,113	0,014	0,620
		Eu	0,66	0,57	0,27	0,06	0,26	0,15	0,26	0,05	0,27	0,06	0,052
		Gd	0,39	0,06	0,37	0,13	0,42	0,14	0,27	0,01	0,38	0,07	0,831
		Ho	0,039	0,003	0,038	0,004	0,035	0,003	0,032	0,004	0,035	0,005	0,642
		La	6,00	0,10	5,91	0,42	5,99	0,49	5,63	0,06	5,88	0,22	0,648
		Lu	0,033	0,005	0,029	0,003	0,023	0,002	0,024	0,004	0,029	0,002	0,136
		Nd	0,95	0,03	0,93	0,19	1,01	0,28	0,75	0,03	1,00	0,14	0,849
		Pr	0,196	0,021	0,166	0,052	0,187	0,057	0,133	0,003	0,175	0,024	0,756
		Sc	17,9	4,6	9,1	1,9	9,3	2,4	7,9	0,3	8,4	1,4	<0,001
		Sm	3,50	0,97	2,80	0,12	2,89	0,35	2,75	0,08	2,85	0,11	0,069
		Tb	0,018	0,002	0,036	0,007	0,030	0,020	0,016	0,000	0,034	0,017	0,736
		Tm	0,023	0,002	0,026	0,002	0,022	0,003	0,023	0,001	0,027	0,002	0,187
		Y	0,58	0,09	0,43	0,12	0,49	0,19	0,32	0,01	0,51	0,13	0,630
		Yb	0,077	0,007	0,078	0,009	0,074	0,017	0,071	0,001	0,077	0,008	0,447
Ακτινίδες	Th	2,02	0,21	2,06	0,24	2,07	0,47	1,54	0,05	1,78	0,22	0,005	
	U	5,83	1,37	4,39	0,31	4,22	0,41	7,27	3,05	5,77	0,65	0,213	
Πολύτιμα μέταλλα	Au	1,35	0,13	1,05	0,05	1,49	0,18	1,00	0,13	1,25	0,06	<0,001	
	Ir	0,36	0,03	0,27	0,02	0,24	0,02	0,25	0,04	0,26	0,01	<0,001	
	Pd	1,12	0,11	1,19	0,33	1,04	0,14	0,67	0,10	0,87	0,06	0,263	
	Pt	0,805	0,254	0,708	0,026	0,759	0,040	0,757	0,042	0,666	0,052	0,029	
	Re	0,51	0,21	0,46	0,18	0,85	0,13	1,04	0,69	0,99	0,31	0,407	
	Rh	0,105	0,075	0,130	0,028	0,120	0,065	0,078	0,005	0,105	0,047	0,148	
	Ru	1,81	0,71	1,04	0,11	1,24	0,16	0,83	0,07	1,10	0,14	<0,001	
	Ag	2,43	0,16	1,74	0,17	3,01	1,17	2,25	0,38	1,77	0,10	<0,001	
Ιχθυοστοιχεία	Al	1385	725	1363	831	4238	424	1027	465	1369	214	<0,001	
	As	71	58	79	16	68	12	64	7	96	30	0,011	
	B	123121	6688	53732	8047	76671	9821	52299	19457	48146	6096	<0,001	
	Ba	1146	1101	520	100	613	487	569	154	539	126	0,245	
	Be	168	103	69	19	131	68	64	17	62	9	0,072	

	Bi	2,35	0,75	0,82	0,07	0,80	0,00	0,90	0,10	0,88	0,13	1,000
	Cd	5,11	0,23	3,89	0,22	3,91	0,23	3,53	0,29	3,44	0,34	<0,001
	Co	11,9	11,1	10,7	3,0	10,2	4,8	5,7	0,4	7,1	1,7	0,015
	Cr	204	28	127	27	144	44	120	17	156	28	<0,001
	Cs	7,22	5,97	1,52	0,33	2,57	0,34	5,40	2,95	3,62	0,80	0,416
	Cu	398	141	329	42	344	63	306	52	384	87	0,004
	Fe	13020	9870	12386	2601	11660	3636	7845	512	9176	1625	0,004
	Ga	18,9	11,4	13,3	1,6	13,9	4,8	12,1	0,4	13,2	1,4	0,002
	Hf	0,341	0,043	0,273	0,032	0,234	0,015	0,183	0,004	0,229	0,010	0,011
	In	111	4	761	13	786	8	756	15	775	10	<0,001
	Pb	13,8	0,8	23,8	4,5	27,1	12,7	33,3	0,8	16,3	2,4	0,337
	Li	375	163	283	44	235	62	153	17	286	61	0,012
	Mn	1201	891	1090	256	1069	377	723	61	783	149	0,089
	Mo	0,85	0,45	0,62	0,07	0,60	0,14	0,53	0,04	0,60	0,06	<0,001
	Nb	308	233	279	67	274	98	183	16	199	39	0,089
	Ni	35,5	0,7	24,8	2,7	32,7	5,1	31,8	2,3	27,9	3,8	1,000
	Rb	943	327	563	82	1247	218	1028	300	868	158	0,099
	Sb	5,52	0,46	3,74	0,25	2,97	0,26	2,84	0,35	4,03	0,38	<0,001
	Se	96	45	63	18	73	6	70	14	53	8	0,015
	Si	200639	12761	117270	12113	199861	67741	125921	41602	114487	8708	0,001
	Sn	10	1	46	40	8	1	10	0	28	19	0,117
	Sr	2475	1730	1993	493	2928	1638	1200	15	2134	708	0,148
	Ta	0,296	0,004	0,093	0,013	0,145	0,066	0,088	0,037	0,133	0,037	0,024
	Tl	1,05	0,15	0,69	0,06	0,88	0,10	0,89	0,02	0,75	0,05	0,002
	Ti	22513	19414	22404	4659	19632	11224	14127	311	15745	2913	0,068
	V	372	166	446	82	381	4	444	55	630	139	0,001
	W	4,05	0,13	0,87	0,25	2,06	0,67	1,17	0,50	1,36	0,28	0,146
	Zn	17384	15768	18372	3971	11264	7308	10349	1624	11555	1790	0,257
	Zr	0,32	0,12	0,31	0,15	0,21	0,03	0,10	0,00	0,15	0,03	0,317
Μάκρο-στοιχεία	Ca	4105	3610	4172	970	3921	1708	2364	153	2860	605	0,121
	K	476	23	503	79	585	107	398	25	376	11	0,030
	Mg	181	125	183	52	341	230	114	14	139	29	0,329
	Na	8768	1168	8524	1653	8287	2239	8915	972	11881	2630	0,177
	P	3184	2879	3898	802	3431	2292	2191	128	2496	456	0,531

Η διακριτική ανάλυση χρησιμοποιήθηκε για την ταξινόμηση των δειγμάτων που αναλύθηκαν. Είναι ιδιαίτερα ενδιαφέρον το ότι με το συνολικό στοιχειακό αποτύπωμα των δειγμάτων ταξινομούνται σωστά το 99,07% των δειγμάτων (πίνακας 11.3) παρότι είχαμε 23 διαφορετικές κλάσεις τυριών. Δηλαδή κάποιο άγνωστο δείγμα που ανήκει σε κάποια από αυτές τις 23 κλάσεις μπορεί να ταξινομηθεί σωστά κατά 99,07%. Όπως βλέπουμε στον πίνακα 11.3 μόνο ένα δείγμα κεφαλογραβιέρας δεν ταξινομήθηκε σωστά. Στο διάγραμμα 11.1 παρουσιάζεται οπτικά η διάκριση με την χρήση των 2 κυριότερων παραγόντων διάκρισης (discriminant functions).

Στη συνέχεια ελέχθησαν τα αποτελέσματα ανά ομάδα στοιχείων και μας έδωσαν τα παρακάτω ποσοστά διάκρισης:

Σπάνιες γαίες & ακτινίδες (18 στοιχεία): 62,04%

Πολύτιμα μέταλλα (7 στοιχεία): 41,67%

Ιχνοστοιχεία (35 στοιχεία): 87,04%

Μάκρο-στοιχεία (5 στοιχεία): 25,00%

Ακόμη ελέχθησαν διάφοροι συνδιασμοί στοιχείων:

Σπάνιες γαίες, ακτινίδες & πολύτιμα μέταλλα (25 στοιχεία): 72,22%

Ιχνοστοιχεία & μάκρο-στοιχεία (40 στοιχεία): 93,52%

Τα ιχνοστοιχεία & μάκρο-στοιχεία έδωσαν το μεγαλύτερο ποσοστό ταξινόμησης 93,52%.

Τα στοιχεία με την μεγαλύτερη διακριτική ικανότητα, δηλαδή αυτά που επηρεάζουν περισσότερο την διαφοροποίηση είναι τα: Ce, Dy, Eu, Gd, Ho, La, Nd, Pr, Sm, Tb, Y, Yb, Pd, As, Ba, Co, Fe, Ga, Mo, Ni, Ti, Zr, Ca και P. Παρατηρούμε ότι τα 12 από τα 24 αυτά στοιχεία ανήκουν στις σπάνιες γαίες. Παρ' όλα αυτά η διακριτική ανάλυση με την χρήση μόνο αυτών των στοιχείων (24 στοιχεία) έδωσε ποσοστό ταξινόμησης μόλις 67,59%. Οπότε είναι απαραίτητη η χρήση περισσότερων στοιχείων για αξιόπιστα αποτελέσματα.

Πίνακας 11.3. Πίνακας ταξινόμησης των δειγμάτων με βάση το συνολικό στοιχειακό αποτύπωμα.

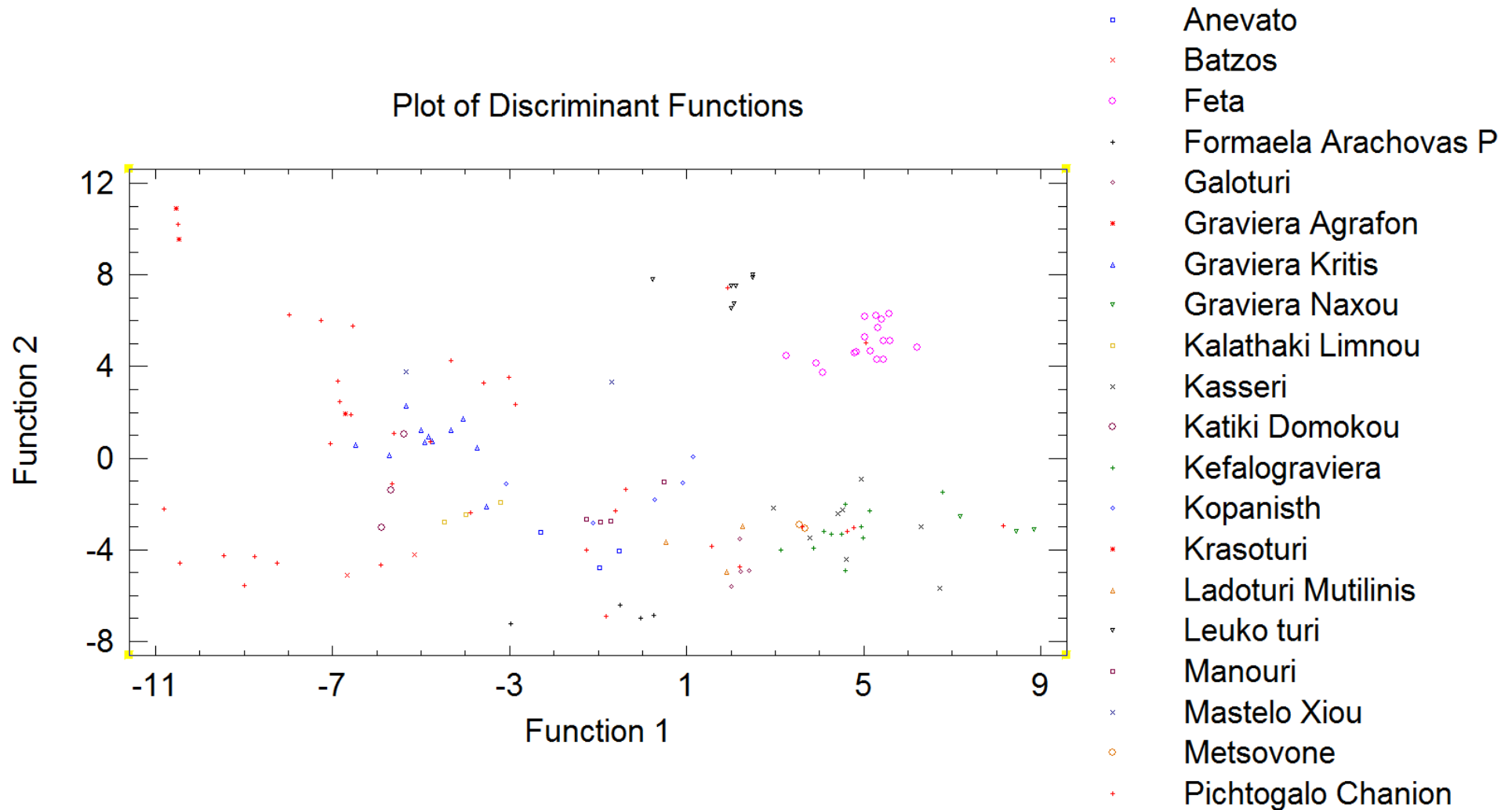
Classification Table

Predicted	ID																							
ID	Size	Anevato	Batzos	Feta	Formaela Arachovas P	Galoturi	Graviera Agrafon	Graviera Kritis	Graviera Naxou	Kalathaki Limnou	Kasseri	Katiki Domokou	Kefalograviera	Kopani sth	Krasoturi	Ladoturi Mutilinis	Leukoturi	Manouri	Masteloxiou	Metsovo	Pichtogalo Chanion	San Michali	Sfela	Xinomuzithra Kritis
Anevato	3	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		100%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
Batzos	2	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		0%	100%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
Feta	17	0	0	17	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		0%	0%	100%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
Formaela Arachovas P	4	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		0%	0%	0%	100%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
Galoturi	4	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		0%	0%	0%	0%	100%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
Graviera Agrafon	2	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		0%	0%	0%	0%	0%	100%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
Graviera Kritis	11	0	0	0	0	0	0	11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		0%	0%	0%	0%	0%	0%	100%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
Graviera Naxou	3	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	100%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
Kalathaki Limnou	3	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	100%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
Kasseri	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	100%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
Katiki Domokou	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	100%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
Kefalograviera	11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	9,1%	0%	91%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%

<i>Kopanisth</i>	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
<i>Krasoturi</i>	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	100%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
<i>Ladoturi Mutilinis</i>	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0
		0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	100%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
<i>Leuko turi</i>	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7	0	0	0	0	0	0	0
		0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	100%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
<i>Manouri</i>	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0
		0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	100%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
<i>Mastelo Xiou</i>	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0
		0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	100%	0%	0%	0%	0%	0%
<i>Metsovone</i>	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0
		0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	100%	0%	0%	0%	0%
<i>Pichtogalo Chanion</i>	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0
		0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	100%	0%	0%	0%
<i>San Michali</i>	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0
		0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	100%	0%	0%
<i>Sfela</i>	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0
		0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	100%	0%
<i>Xunomuzithra Kritis</i>	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0
		0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	100%

Percent of cases correctly classified: 99,07%

Διάγραμμα 11.1. Απεικόνιση των δειγμάτων με βάση τους 2 κύριους παράγοντες διάκρισης για το συνολικό στοιχειακό αποτύπωμα.



11.3.2. Διάκριση μεταξύ των τύπων τυριών

Όπως παρατηρούμε στο πίνακα 11.4 τα στοιχεία που έδωσαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές μεταξύ των τύπων των τυριών ήταν το Δυσπρόσιο, το Έρβιο, το Όλμιο, το Λουτέτιο, το Σκάνδιο, το Θούλιο, το Ύτριο και το Υτέρβιο από τις σπάνιες γαίες, το Θόριο και το Ουράνιο από τις ακτινίδες, ο Χρυσός, το Ιρίδιο και ο Λευκόχρυσος από τα πολύτιμα μέταλλα, ο Άργυρος, το Αργίλιο, το Κάδμιο, το Άφνιο και το Θάλλιο από τα ιχνοστοιχεία και το Νάτριο από τα μακρο-στοιχεία.

Παρακάτω με την Διακριτική Ανάλυση στον πίνακα 11.5. παρατηρούμε ότι με βάση το συνολικό στοιχειακό αποτύπωμα των δειγμάτων ταξινομούνται σωστά στον κάθε τύπο τυριού το 97,96% των δειγμάτων. Μόνο 2 τυριά ταξινομήθηκαν λάθος το ένα ήταν ημίσκληρο τυρί και ταξινομήθηκε ως μαλακό, ενώ το άλλο που ήταν τυρί ορρού γάλακτος ταξινομήθηκε ως σκληρό. Στο διάγραμμα 11.2 παρουσιάζεται οπτικά η διάκριση με την χρήση των 2 κυριότερων παραγόντων διάκρισης (discriminant functions).

Στη συνέχεια ελέγχθηκαν τα αποτελέσματα ανά ομάδα στοιχείων και μας έδωσαν τα παρακάτω ποσοστά διάκρισης:

Σπάνιες γαίες & ακτινίδες (18 στοιχεία): 56,12%

Πολύτιμα μέταλλα (7 στοιχεία): 48,98%

Ιχνοστοιχεία (35 στοιχεία): 71,43%

Μάκρο-στοιχεία (5 στοιχεία): 35,71%

Ακόμη ελέγχθηκαν διάφοροι συνδιασμοί στοιχείων:

Σπάνιες γαίες, ακτινίδες & πολύτιμα μέταλλα (25 στοιχεία): 59,18%

Ιχνοστοιχεία & μακρο-στοιχεία (40 στοιχεία): 78,57%

Τα ιχνοστοιχεία & μακρο-στοιχεία έδωσαν το μεγαλύτερο ποσοστό ταξινόμησης 78,57% αλλά δεν είναι ικανοποιητικό.

Τα στοιχεία με την μεγαλύτερη διακριτική ικανότητα, δηλαδή αυτά που επηρεάζουν περισσότερο την διαφοροποίηση είναι τα: Ce, Dy, Eu, Gd, Nd, Sc, Sm, Y, Yb, Pd, Al, As, Ba, Co, Fe, Ga, Mo, Ni, Pb, Tl, Ti, Zr, Ca και P. Τα περισσότερα από αυτά τα στοιχεία είχαν την μεγαλύτερη διακριτική ικανότητα και στην προηγούμενη σύγκριση που κάναμε στο υποκεφάλαιο 11.3.1. Πάλι τα περισσότερα στοιχεία ανήκουν στις σπάνιες γαίες. Παρ' όλα αυτά η διακριτική ανάλυση με την χρήση μόνο αυτών των στοιχείων (24 στοιχεία) έδωσε ποσοστό ταξινόμησης μόλις 67,35%. Οπότε είναι απαραίτητη η χρήση περισσότερων στοιχείων για αξιόπιστα αποτελέσματα.

Πίνακας 11.4 Μέση τιμή και τυπικό σφάλμα των αναλυτών σε όλους τους τύπους τυριών. Όλα τα αποτελέσματα είναι σε mg/kg εκτός από τα μακρο-στοιχεία που είναι σε mg/kg.

Τύπος Τυριού Αναλύτες		Σκληρό		Ημισκληρο		Μαλακό		Αλοιφώδες		Τυρί ορού γάλακτος		P-value
		Μέση τιμή	Τυπικό Σφάλμα	Μέση τιμή	Τυπικό Σφάλμα	Μέση τιμή	Τυπικό Σφάλμα	Μέση τιμή	Τυπικό Σφάλμα	Μέση τιμή	Τυπικό Σφάλμα	
Σπάνιες Γαίες	Ce	1,85	0,43	1,40	0,19	3,15	0,73	1,66	0,39	2,48	1,02	0,236
	Dy	0,079	0,010	0,084	0,010	0,159	0,033	0,082	0,022	0,109	0,027	0,054
	Er	0,105	0,005	0,105	0,006	0,153	0,018	0,115	0,010	0,120	0,016	0,021
	Eu	0,52	0,08	0,60	0,14	0,41	0,06	0,47	0,16	0,28	0,10	0,396
	Gd	0,43	0,05	0,40	0,04	0,78	0,16	0,47	0,10	0,58	0,21	0,108
	Ho	0,035	0,002	0,036	0,002	0,048	0,005	0,038	0,004	0,037	0,004	0,046
	La	6,26	0,30	6,02	0,17	7,71	0,70	6,13	0,25	6,53	0,67	0,102
	Lu	0,030	0,001	0,030	0,001	0,036	0,002	0,029	0,001	0,029	0,002	0,040
	Nd	0,95	0,07	0,98	0,07	1,52	0,26	1,06	0,15	1,23	0,29	0,102
	Pr	0,180	0,016	0,181	0,019	0,347	0,071	0,203	0,038	0,250	0,084	0,060
	Sc	14,9	1,1	14,5	1,9	18,4	2,2	10,0	1,6	11,2	1,8	0,047
	Sm	3,29	0,14	3,38	0,24	3,14	0,12	3,18	0,28	2,89	0,20	0,600
	Tb	0,038	0,004	0,034	0,007	0,055	0,011	0,038	0,008	0,045	0,018	0,433
	Tm	0,026	0,001	0,027	0,001	0,032	0,002	0,026	0,001	0,027	0,002	0,034
Y	0,56	0,05	0,57	0,07	1,02	0,18	0,57	0,12	0,65	0,15	0,038	
Yb	0,080	0,004	0,078	0,004	0,109	0,011	0,082	0,008	0,085	0,009	0,032	
Ακτινίδες	Th	1,89	0,06	1,64	0,07	2,18	0,12	2,00	0,14	1,81	0,11	0,008
	U	4,74	0,14	5,69	0,46	5,52	0,25	4,39	0,20	5,40	0,35	0,009
Πολύτιμα μέταλλα	Au	1,31	0,05	1,23	0,04	1,66	0,11	1,19	0,07	1,22	0,06	<0,001
	Ir	0,27	0,01	0,29	0,01	0,36	0,02	0,28	0,01	0,27	0,01	<0,001
	Pd	1,57	0,57	0,96	0,06	2,36	0,36	1,10	0,15	0,89	0,10	0,201
	Pt	0,729	0,017	0,746	0,033	0,936	0,085	0,709	0,041	0,661	0,032	0,015
	Re	0,56	0,06	0,73	0,10	0,79	0,16	1,16	0,38	0,80	0,17	0,189
	Rh	0,159	0,016	0,147	0,027	0,127	0,022	0,123	0,031	0,107	0,042	0,637
	Ru	1,54	0,10	1,62	0,17	1,78	0,19	1,31	0,19	1,21	0,20	0,266
Ιχνοστοιχεία	Ag	2,63	0,25	2,20	0,15	3,72	0,36	1,97	0,13	1,95	0,08	<0,001
	Al	2236	376	1361	224	9160	2508	1394	406	2799	1523	0,003
	As	104	8	94	14	87	13	67	14	70	23	0,323
	B	96197	6340	92359	10098	79118	6225	66396	11083	82982	16101	0,132
	Ba	996	145	1112	261	594	82	898	312	488	176	0,110
	Be	94	12	112	17	124	16	100	15	74	10	0,351

	Bi	6,23	2,84	1,97	0,28	3,26	0,55	4,25	3,12	1,75	0,55	0,620
	Cd	4,76	0,19	4,52	0,22	5,22	0,24	4,06	0,20	4,12	0,36	0,013
	Co	13,2	1,2	13,0	2,3	12,6	2,1	10,1	1,8	7,1	2,6	0,432
	Cr	174	10	165	20	204	26	117	19	163	21	0,129
	Cs	6,94	1,51	8,06	2,59	5,15	0,66	3,62	1,13	3,85	0,75	0,347
	Cu	507	34	407	40	486	48	338	41	382	70	0,096
	Fe	14163	1059	14158	2064	14378	1792	11426	1750	8796	2125	0,356
	Ga	18,2	1,4	18,5	2,7	18,4	1,8	15,7	3,0	13,4	2,3	0,635
	Hf	0,300	0,053	0,259	0,014	0,472	0,062	0,274	0,015	0,247	0,017	0,026
	In	378	60	351	80	409	68	552	93	528	125	0,473
	Li	21,6	2,3	21,9	2,0	22,1	1,9	20,7	2,2	17,0	1,9	0,827
	Mn	343	27	357	31	366	31	306	22	283	42	0,563
	Mo	1302	101	1289	188	1165	163	990	166	791	209	0,356
	Nb	0,76	0,04	0,79	0,08	1,26	0,20	0,63	0,05	0,71	0,12	0,011
	Ni	334	26	331	49	299	43	253	43	201	55	0,355
	Pb	42,7	5,4	34,3	1,5	38,7	1,9	30,9	2,8	30,8	2,2	0,287
	Rb	1090	54	1181	107	1454	187	896	137	990	107	0,072
	Sb	4,12	0,19	4,42	0,25	5,51	0,42	4,11	0,20	3,81	0,34	0,003
	Se	76	4	74	6	75	8	57	9	59	6	0,331
	Si	194381	14804	167051	16760	167724	12551	127398	14169	147618	19335	0,076
	Sn	16	4	9	1	21	5	26	17	19	10	0,608
	Sr	2899	276	2911	495	2099	351	2323	591	2013	671	0,354
	Ta	0,156	0,011	0,184	0,025	0,222	0,030	0,137	0,020	0,164	0,035	0,118
	Tl	1,15	0,09	1,05	0,06	1,26	0,08	0,90	0,08	0,89	0,06	0,042
	Ti	25684	2039	25418	3995	24186	3027	20185	3382	15211	4319	0,352
	V	545	31	483	47	475	46	385	64	453	108	0,278
	W	2,85	0,39	2,53	0,33	2,72	0,33	3,57	1,98	2,12	0,41	0,836
	Zn	20781	1889	19896	3385	18282	2617	15448	2901	10737	3306	0,276
	Zr	0,50	0,25	0,24	0,04	0,78	0,15	0,27	0,06	0,18	0,06	0,259
Μάκρο-στοιχεία	Ca	4615	399	4604	752	4095	600	3656	663	2664	816	0,409
	K	544	48	606	48	626	38	575	43	449	45	0,288
	Mg	230	20	238	36	204	28	186	33	138	32	0,375
	Na	10055	565	8832	692	7079	502	7420	1070	9133	1814	0,007
	P	4066	323	3907	621	3233	371	3358	589	2256	667	0,168

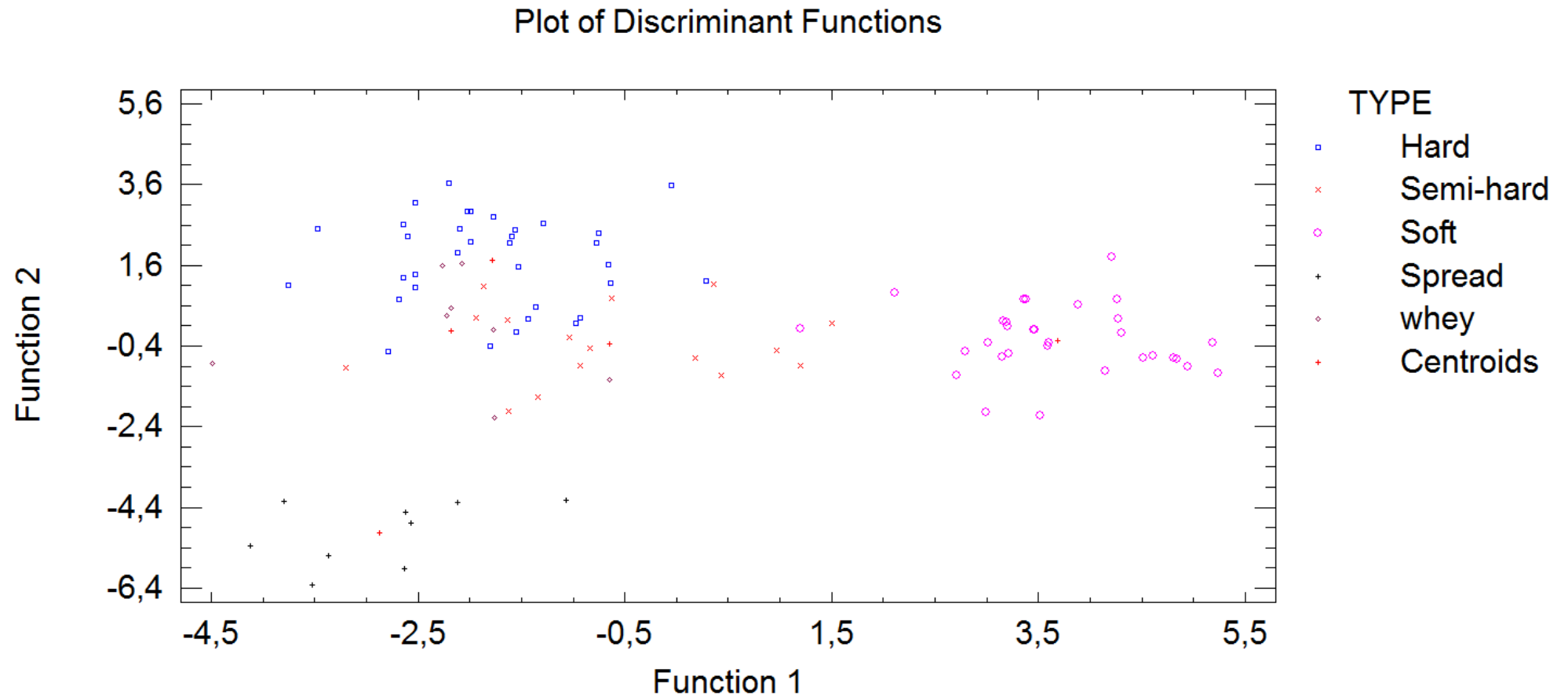
Πίνακας 11.5. Πίνακας ταξινόμησης των δειγμάτων ανά τύπο τυριού με βάση το συνολικό στοιχειακό αποτύπωμα.

Classification Table

<i>Actual</i>	<i>Group</i>	<i>Predicted</i>	<i>TYPE</i>			
<i>TYPE</i>	<i>Size</i>	<i>Hard</i>	<i>Semi-hard</i>	<i>Soft</i>	<i>Spread</i>	<i>whey</i>
Hard	34	34	0	0	0	0
		(100,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)
Semi-hard	16	0	15	1	0	0
		(0,00%)	(93,75%)	(6,25%)	(0,00%)	(0,00%)
Soft	31	0	0	31	0	0
		(0,00%)	(0,00%)	(100,00%)	(0,00%)	(0,00%)
Spread	9	0	0	0	9	0
		(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(100,00%)	(0,00%)
whey	8	1	0	0	0	7
		(12,50%)	(0,00%)	(0,00%)	(0,00%)	(87,50%)

Percent of cases correctly classified: **97,96%**

Διάγραμμα 11.2. Απεικόνιση των δειγμάτων ανά τύπο τυριών με βάση τους 2 κύριους παράγοντες διάκρισης για το συνολικό στοιχειακό αποτύπωμα.



11.3.3. Διάκριση μεταξύ των τύπων γάλακτος

Όπως παρατηρούμε στο πίνακα 11.6 τα στοιχεία που έδωσαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές μεταξύ των τύπων γάλακτος είναι το Ίνδιο και το Αντιμόνιο. Παρακάτω με την Διακριτική Ανάλυση στον πίνακα 11.7. παρατηρούμε ότι με βάση το συνολικό στοιχειακό αποτύπωμα των δειγμάτων ταξινομούνται σωστά στους τύπους γάλακτος το 93,16% των δειγμάτων. Συνολικά 8 τυριά ταξινομήθηκαν λάθος. Τα 6 που άνηκαν την κατηγορία Πρόβειο & Κατσικίσιο γάλα ταξινομήθηκαν στην κατηγορία Πρόβειο, Κατσικίσιο & Αγελαδινό. Συγκεκριμένα αυτά τα τυριά ήταν λευκό τυρί, κεφαλογραβιέρα, φέτα, μανούρα, φορμαέλλα Αράχωβας Παρνασού και Ξίγαλο. Ακόμη 1 τυρί από Πρόβειο & Κατσικίσιο γάλα ταξινομήθηκε στην κατηγορία μόνο Αγελαδινό, αυτό ήταν η Γραβιέρα Αγράφων. Ενώ τέλος ένα τυρί με Πρόβειο, Κατσικίσιο & Αγελαδινό γάλα ταξινομήθηκε ως από Πρόβειο και Κατσικίσιο γάλα αυτό ήταν το τυρί Ρούμελης. Στο διάγραμμα 11.3 παρουσιάζεται οπτικά η διάκριση με την χρήση των 2 κυριότερων παραγόντων διάκρισης (discriminant functions). Παρατηρούμε, όπως είναι αναμενόμενο, τα τυριά από Πρόβειο, Κατσικίσιο & Αγελαδινό γάλα να είναι πολύ κοντά στα τυριά από Πρόβειο & Κατσικίσιο γάλα. Αντίθετα τα τυριά από Αγελαδινό μόνο γάλα και τα τυριά από Κατσικίσιο μόνο γάλα είναι αρκετά μακριά από τις άλλες κατηγορίες καθώς και μεταξύ τους.

Στη συνέχεια ελέγχθησαν τα αποτελέσματα ανά ομάδα στοιχείων και μας έδωσαν τα παρακάτω ποσοστά διάκρισης:

Σπάνιες γαίες & ακτινίδες (18 στοιχεία): 55,56%

Πολύτιμα μέταλλα (7 στοιχεία): 58,97%

Ιχνοστοιχεία (35 στοιχεία): 75,21%

Μάκρο-στοιχεία (5 στοιχεία): 36,75%

Ακόμη ελέγχθησαν διάφοροι συνδιασμοί στοιχείων:

Σπάνιες γαίες, ακτινίδες & πολύτιμα μέταλλα (25 στοιχεία): 77,78%

Ιχνοστοιχεία & μάκρο-στοιχεία (40 στοιχεία): 82,91%

Τα ιχνοστοιχεία & μάκρο-στοιχεία έδωσαν το μεγαλύτερο ποσοστό ταξινόμησης 82,91% αλλά δεν είναι ικανοποιητικό.

Τα στοιχεία με την μεγαλύτερη διακριτική ικανότητα, δηλαδή αυτά που επηρεάζουν περισσότερο την διαφοροποίηση είναι τα: Ce, Dy, Er, Eu, Gd, Ho, La, Nd, Pr, Sc, Sm, Y, Pd, Rh, Ba, Co, Ga, Mo, Ni, Sr, Ti, Zn, Zr, Ca και P. Τα περισσότερα από αυτά τα στοιχεία είχαν την μεγαλύτερη διακριτική ικανότητα και στις προηγούμενες συγκρίσεις που κάναμε στα υποκεφάλαια 11.3.1 και 11.3.2. Πάλι τα περισσότερα στοιχεία ανήκουν στις σπάνιες γαίες. Παρ' όλα αυτά η διακριτική ανάλυση με την χρήση μόνο αυτών των στοιχείων έδωσε ποσοστό ταξινόμησης μόλις 64,10%. Οπότε είναι απαραίτητη η χρήση περισσότερων στοιχείων για αξιόπιστα αποτελέσματα.

Πίνακας 11.6. Μέση τιμή και τυπικό σφάλμα των αναλυτών στους διαφορετικούς τύπους γάλακτος. Όλα τα αποτελέσματα είναι σε μg/kg εκτός από τα μακρο-στοιχεία που είναι σε mg/kg.

Τύπος Γάλακτος		Αγελάδος (μόνο)		Πρόβειο + Κατσικίσιο		Πρόβειο+Κατσικίσιο+Αγελ.		Κατσικίσιο (μόνο)		P-value	
		Μέση τιμή	Τυπικό Σφάλμα	Μέση τιμή	Τυπικό Σφάλμα	Μέση τιμή	Τυπικό Σφάλμα	Μέση τιμή	Τυπικό Σφάλμα		
Σπάνιες Γαίες	Ce	2,05	0,72	3,18	0,77	1,06	0,10	0,92	0,11	0,838	
	Dy	0,092	0,046	0,161	0,041	0,060	0,007	0,048	0,007	0,874	
	Er	0,119	0,027	0,152	0,021	0,094	0,004	0,088	0,005	0,830	
	Eu	0,50	0,18	0,49	0,04	0,49	0,16	0,12	0,02	0,452	
	Gd	0,52	0,19	0,77	0,18	0,30	0,03	0,31	0,04	0,866	
	Ho	0,039	0,008	0,048	0,006	0,032	0,002	0,030	0,001	0,856	
	La	6,47	0,65	7,32	0,50	5,70	0,08	5,63	0,09	0,749	
	Lu	0,029	0,006	0,035	0,002	0,027	0,002	0,023	0,001	0,515	
	Nd	1,17	0,31	1,53	0,28	0,82	0,04	0,81	0,05	0,892	
	Pr	0,246	0,087	0,330	0,070	0,147	0,011	0,128	0,014	0,859	
	Sc	14,9	5,0	16,6	1,1	12,4	2,0	8,4	0,9	0,317	
	Sm	3,30	0,34	3,29	0,09	3,20	0,28	2,56	0,05	0,521	
	Tb	0,034	0,015	0,061	0,013	0,024	0,005	0,014	0,002	0,779	
	Tm	0,025	0,003	0,031	0,002	0,022	0,001	0,023	0,001	0,448	
Ακτινίδες	Y	0,76	0,38	1,04	0,24	0,44	0,04	0,32	0,02	0,875	
	Yb	0,092	0,021	0,109	0,013	0,069	0,003	0,074	0,002	0,837	
	Th	2,10	0,28	2,06	0,08	1,75	0,09	1,75	0,07	0,639	
	U	5,11	0,51	5,20	0,13	5,04	0,44	4,33	0,40	0,658	
	Πολύτιμα μέταλλα	Au	1,38	0,11	1,41	0,05	1,45	0,17	1,05	0,09	0,505
		Ir	0,37	0,14	0,31	0,01	0,29	0,02	0,44	0,15	0,185
Pd		1,51	0,56	1,88	0,25	0,92	0,05	0,75	0,05	0,599	
Pt		0,734	0,052	0,807	0,031	0,754	0,045	0,612	0,101	0,679	
Re		0,50	0,16	0,80	0,08	0,45	0,09	0,43	0,16	0,402	
Rh		0,127	0,035	0,147	0,011	0,120	0,031	0,026	0,002	0,193	
Ru		1,35	0,18	1,64	0,08	1,36	0,21	0,76	0,07	0,133	
Ιγνοστοιχεία	Ag	3,28	0,58	2,99	0,18	2,43	0,10	2,23	0,14	0,725	
	Al	6912	4655	5600	1004	1060	295	1191	275	0,483	
	As	101	23	97	6	75	15	42	14	0,202	
	B	97736	11259	88938	4099	88648	11238	100975	3213	0,955	
	Ba	966	289	825	77	935	318	169	63	0,393	
	Be	118	29	107	7	98	21	60	18	0,538	

	Bi	1,54	0,53	3,81	1,05	5,51	2,32	2,98	0,17	0,952
	Cd	4,72	0,53	4,84	0,13	4,66	0,21	4,83	0,19	0,948
	Co	14,7	4,9	13,1	1,0	10,5	2,5	2,6	0,9	0,161
	Cr	194	47	188	11	154	17	127	23	0,595
	Cs	3,07	0,93	5,79	0,68	7,25	2,56	1,48	0,15	0,508
	Cu	366	23	468	23	400	42	369	45	0,315
	Fe	15482	3997	14368	874	11901	2231	5014	842	0,138
	Ga	20,3	5,5	18,5	1,0	16,2	3,0	9,6	1,1	0,298
	Hf	0,323	0,077	0,373	0,030	0,246	0,017	0,218	0,007	0,507
	In	632	129	389	35	523	99	964	99	0,006
	Li	21,3	5,4	22,2	1,1	16,7	1,5	9,2	0,7	0,051
	Mn	266	61	371	24	368	79	193	13	0,430
	Mo	1385	340	1240	78	1084	208	460	77	0,206
	Nb	0,92	0,32	1,02	0,08	0,64	0,09	0,41	0,04	0,261
	Ni	356	89	318	20	277	54	115	20	0,206
	Pb	34,6	1,8	38,4	2,1	36,2	3,0	36,1	0,8	0,986
	Rb	1038	208	1212	78	1126	106	702	195	0,575
	Sb	3,49	0,54	4,76	0,18	3,77	0,33	2,77	0,15	0,017
	Se	91	19	74	3	68	12	61	4	0,683
	Si	193616	31323	174565	8188	181949	22450	191166	29820	0,927
	Sn	39	32	18	3	24	8	12	3	0,411
	Sr	2542	589	2519	185	2573	601	586	168	0,303
	Ta	0,148	0,036	0,188	0,012	0,144	0,027	0,117	0,006	0,457
	Tl	1,02	0,13	1,16	0,04	1,01	0,08	0,87	0,02	0,444
	Ti	27885	7634	24962	1533	21271	3957	11195	871	0,305
	V	512	73	517	24	412	49	376	88	0,228
	W	2,48	0,46	2,96	0,30	2,06	0,42	1,81	0,16	0,764
	Zn	22855	6880	19341	1308	16556	3675	6479	1918	0,224
	Zr	0,46	0,25	0,61	0,11	0,20	0,04	0,09	0,02	0,580
Μάκρο-στοιχεία	Ca	5073	1325	4385	297	3925	831	1190	347	0,150
	K	562	43	574	23	541	36	507	187	0,883
	Mg	315	107	213	13	190	33	71	10	0,063
	Na	9420	1792	8467	355	8995	741	6282	1399	0,210
	P	4267	1028	3628	213	3493	628	1782	176	0,340

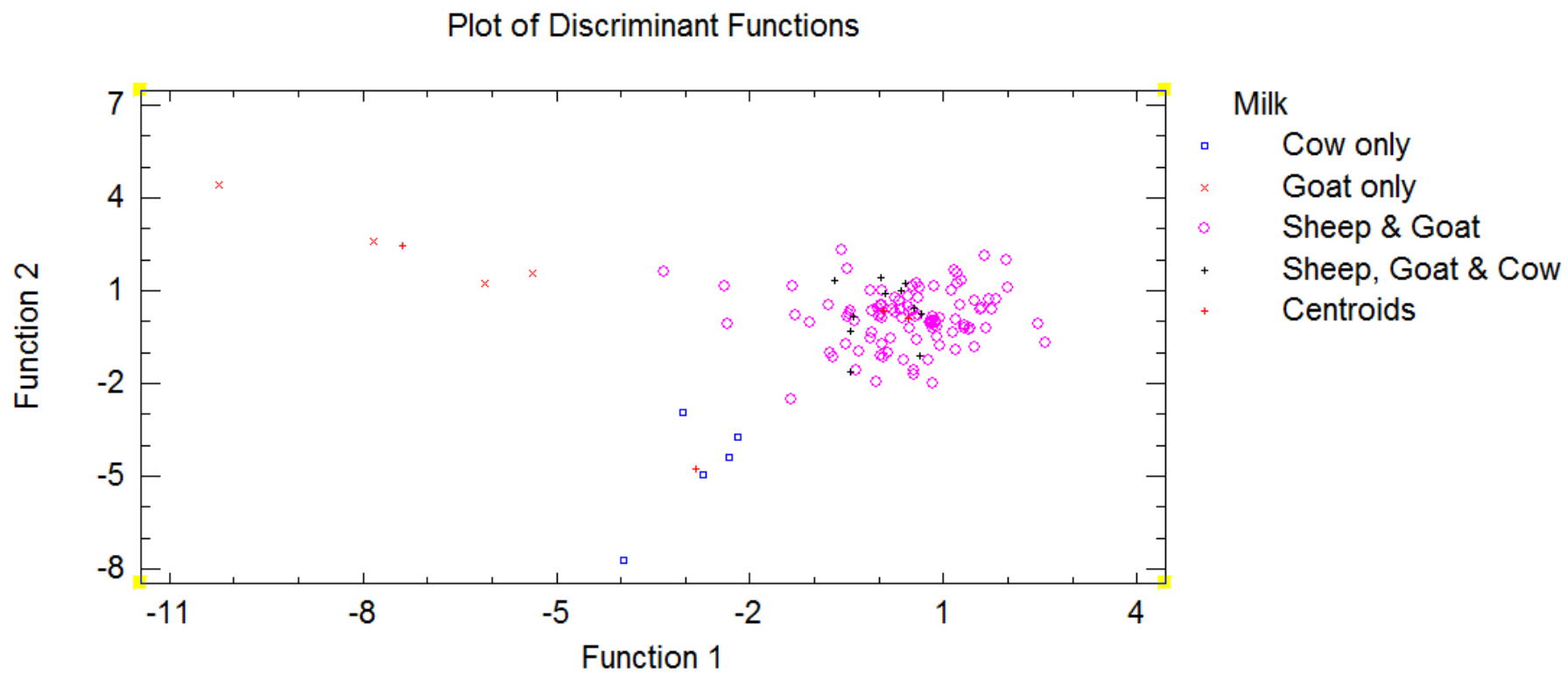
Πίνακας 11.7. Πίνακας ταξινόμησης των δειγμάτων στους διαφορετικούς τύπους γάλακτος με βάση το συνολικό στοιχειακό αποτύπωμα.

Classification Table

<i>Actual Milk</i>	<i>Group Size</i>	<i>Predicted Cow only</i>	<i>Milk Goat only</i>	<i>Sheep & Goat</i>	<i>Sheep, Goat & Cow</i>
Cow only	5	5 (100,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)
Goat only	4	0 (0,00%)	4 (100,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)
Sheep & Goat	97	1 (1,03%)	0 (0,00%)	90 (92,78%)	6 (6,19%)
Sheep, Goat & Cow	11	0 (0,00%)	0 (0,00%)	1 (9,09%)	10 (90,91%)

Percent of cases correctly classified: **93,16%**

Διάγραμμα 11.3. Απεικόνιση των δειγμάτων των τυριών που αναλύθηκαν ανά τύπου γάλακτος με βάση τους 2 κύριους παράγοντες διάκρισης για το συνολικό στοιχειακό αποτύπωμα.



Συμπεράσματα

Η αυθεντικότητα των τροφίμων είναι ένα ταχέως αναπτυσσόμενο πεδίο, κυρίως λόγω του ενδιαφέροντος και της ανησυχίας των καταναλωτών σχετικά με την ποιότητα και την ασφάλεια των τροφίμων. Η αυθεντικότητα των τροφίμων αφορά την διαδικασία με την οποία ένα τρόφιμο πιστοποιείται ότι ανταποκρίνεται στην ετικέτα περιγραφής, για παράδειγμα για την προέλευσή του, γεωγραφική και γενετική, τον τρόπο παραγωγής του, π.χ. βιολογική καλλιέργεια, παραδοσιακές διαδικασίες, ζώα ελεύθερας βοσκής και προϊόντα τους καθώς και τεχνολογίες επεξεργασίας (π.χ. ακτινοβόληση, κατάψυξη κ.ά.). Ιδιαίτερης σημασίας είναι η δήλωση συγκεκριμένων χαρακτηριστικών ποιότητας σε προϊόντα υψηλής αξίας. Ως εκ τούτου, υπάρχει ανάγκη για νέες μεθοδολογίες ανάλυσης σε προϊόντα προστιθέμενης αξίας. Έτσι, οι αναλυτικοί χημικοί, με βάση τις γνώσεις τους σχετικά με τις τεχνικές και μεθοδολογίες, οδηγούν την έρευνα της αυθεντικότητας των τροφίμων.

Στο θεωρητικό μέρος παρουσιάζονται οι τάσεις στην έρευνα πάνω στην αυθεντικότητα τροφίμων, υπογραμμίζοντας τις αναδυόμενες προσεγγίσεις (κεφάλαιο 1). Παράλληλα συζητούνται με κριτική ματιά οι προοπτικές των αναλυτικών τεχνικών στο τομέα μαζί με τις συνηθέστερες εφαρμογές που έχει η κάθε μία στο πεδίο. Ενώ γίνεται για πρώτη φορά αξιολόγηση της γεωγραφική κατανομή της σχετικής ερευνητικής δραστηριότητας και στα επιστημονικά περιοδικά που χρησιμοποιούνται για διάχυσης των πληροφοριών. Οι χώρες της Νότιας Ευρώπης είναι ιδιαίτερα δραστήριες σε έρευνα σχετική με την αυθεντικότητα των τροφίμων. Κυρίως λόγω της μεγάλης βιοποικιλότητας και των μοναδικών κλιματικών χαρακτηριστικών στις χώρες του Νότου που συμβάλλουν στην παραγωγή ποιοτικών τροφίμων. Ανερχόμενη χώρα σε σχετική έρευνα είναι η Κίνα, πιθανότατα λόγω της αύξησης του ακαθάριστου εγχώριου προϊόντος ανά κάτοικο αλλά και το ενδιαφέρον για ποιοτικά προϊόντα διατροφής, όπως για παράδειγμα το ελαιόλαδο. Σημαντικό μέρος των ερευνητικών προσπαθειών παρουσιάζεται όχι μόνο σε περιοδικά στα οποία δημοσιεύονται εργασίες για τρόφιμα αλλά και σε περιοδικά κλασσικής Αναλυτικής Χημείας.

Μεταξύ των άλλων πραγματοποιείται εκτενής αναφορά στις σπάνιες γαίες (κεφάλαιο 2). Καθώς εκτός από την αξιοποίησή τους ως δείκτες γεωγραφικής προέλευσης, βρίσκονται σήμερα στο γενικότερο ενδιαφέρον της επιστημονικής κοινότητας, λόγω της επίδρασής τους και της συμμετοχής τους σε μεταβολικά και βιοχημικά μονοπάτια. Επιπροσθέτως, παρέχονται όλες οι τελευταίες εξελίξεις, αναλυτικά επιτεύγματα και καινοτόμες τεχνικές πάνω στην στοιχειακή ανάλυση καθώς και στις εφαρμογές της στα τρόφιμα (κεφάλαιο 3). Τέλος, δίνεται αναλυτική εξήγηση στο γιατί το στοιχειακό αποτύπωμα, και ιδιαίτερα οι σπάνιες γαίες, αποτελούν

αξιόπιστους δείκτες αυθεντικότητας, ειδικά μάλιστα για τον προσδιορισμό της γεωγραφικής προέλευσης (κεφάλαιο 4).

Στο πειραματικό μέρος έγινε αξιολόγηση της αυθεντικότητας διαφόρων τροφίμων μέσω των στοιχειακών αποτυπωμάτων. Πιο συγκεκριμένα, μελετήθηκε η αυθεντικότητα κρέατος κυνηγιού (κεφάλαιο 6). Πραγματοποιήθηκε διάκριση μεταξύ άγριων (Λήμνος), οικόσιτων (Λήμνος) και εμπορικών κουνελιών χρησιμοποιώντας πολυδιάστατα στοιχειακά αποτυπώματα. Αξιοποιήσαμε τις ευκλείδειες και γωνιακές αποστάσεις μεταξύ των επιμέρους δειγμάτων ώστε να καθοριστούν οι ομάδες και υποομάδες των δειγμάτων. Οι σπάνιες γαίες ταξινομήσαν κατά 100% σωστά τα δείγματα μεταξύ των κατηγοριών άγρια με μη άγρια. Με βάση τις γνώσεις μας, αυτή είναι η πρώτη εργασία ελέγχου αυθεντικότητας κρέατος χρησιμοποιώντας το αποτύπωμα των σπάνιων γαιών και η πρώτη που χρησιμοποιεί το στοιχειακό αποτύπωμα για αυθεντικότητα κρέατος κυνηγιού. Τέλος, με τον αλγόριθμο που αναπτύχθηκε έγινε σύγκριση με μια εξωτερική μελέτη (6 ιχνοστοιχεία) άγριων κουνελιών από άλλη γεωγραφική θέση. Τα δείγματα ταξινομήθηκαν σωστά ως άγρια.

Παράλληλα, μελετήθηκε η κατανομή των σπανίων γαιών (κεφάλαιο 7) στους ιστούς των κουνελιών (μυς, ήπαρ, τρίχες, αίμα). Υπογραμμίζεται το σχετικό κενό που υπάρχει στη βιβλιογραφία σχετικά με την επίδραση των σπανίων γαιών στην φυσιολογία και βιοχημεία των ζώων καθώς και στην αξιολόγηση της τοξικότητάς τους. Οι συγκεντρώσεις για την πλειονότητα των σπανίων γαιών στο μυ και στο ήπαρ των αγριοκούνελων ήταν μεγαλύτερες από ότι αντίστοιχα στα οικόσιτα και εμπορικά κουνέλια, γεγονός που οφείλεται πιθανότατα στην διατροφή τους. Ακόμη, βρέθηκε ότι οι σπάνιες γαίες συσσωρεύονται κυρίως στις τρίχες. Συμπληρωματικά, τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας είναι επαρκή για να χαρακτηρίσουν το στοιχειακό περιεχόμενο σε σπάνιες γαίες και ακτινίδες των ζώων και έρχονται να προστεθούν στην πολύ περιορισμένη βιβλιογραφία.

Όσον αφορά τη μελέτη για το «Τοματάκι Σαντορίνης» (κεφάλαιο 9), το συνολικό στοιχειακό αποτύπωμα με χρήση της διακριτικής ανάλυσης έδωσε ποσοστό ορθής ταξινόμησης μεταξύ των δειγμάτων 99,44%. Πρέπει να επισημανθεί πως με την χρήση των 12 στοιχείων (Ce, Er, Gd, Lu, Y, Yb, Th, As, Hf, Li και Ti) που έχουν την υψηλότερη διακριτική ικανότητα, 6 εκ των οποίων ήταν σπάνιες γαίες, το ποσοστό ορθής κατηγοριοποίησης σε Σαντορίνης και Μη Σαντορίνης ήταν 96,07%. Οπότε δεν είναι αναγκαία η χρήση του συνολικού στοιχειακού αποτυπώματος για την απάντηση στο ερώτημα «Είναι αυτό το τοματάκι από την Σαντορίνη;», αλλά απλώς ο προσδιορισμός αυτών των 12 στοιχείων. Παράλληλα, ήταν δυνατός ο έλεγχος της καλλιεργητικής πρακτικής, βιολογική/συμβατική, με χρήση του στοιχειακού αποτυπώματος. Το συνολικό στοιχειακό αποτύπωμα με την χρήση της διακριτικής ανάλυσης μας έδωσε ορθή ταξινόμηση κατά 98,32% σε βιολογικής και συμβατικής

καλλιέργειας ενώ με την χρήση μόνο των ιχνοστοιχείων και των μακρο-στοιχείων 97,77%. Ιδιαίτερα ενδιαφέρον ήταν οι στατιστικώς υψηλότερες συγκεντρώσεις στοιχείων όπως το βόριο, ο φώσφορος, το μολυβδαίνιο, ο σίδηρος, το κοβάλτιο και το ασβέστιο στα μη βιολογικά δείγματα. Αυτά τα στοιχεία συμπεριλαμβάνονται στη σύνθεση των συνθετικών λιπασμάτων που χρησιμοποιούνται στις συμβατικές καλλιέργειες κηπευτικών.

Ένα άλλο κομμάτι της εργασίας αφορούσε τα ΠΟΠ τυριά της Ελλάδος καθώς και άλλα παραδοσιακά τυριά, εν δυνάμει ΠΟΠ, όπως το Μαστέλο Χίου και το κρασοτύρι από τη Κω (κεφάλαιο 11). Όλα αυτά τα τυριά χαρακτηρίζονται από την υψηλή τους ποιότητα και τα ενδιαφέροντα χαρακτηριστικά τους, ενώ αποτελούν ισχυρά εξαγωγίμα προϊόντα με θετικά αποτελέσματα για την εθνική οικονομία και τους Έλληνες κτηνοτρόφους. Έγινε λήψη του συνολικού στοιχειακού αποτύπωμα των 21 ΠΟΠ καθώς και άλλων παραδοσιακών Ελληνικών τυριών αλλά και τυριών που θα μπορούσαν να τα υποκαταστήσουν σε περιπτώσεις νοθείας. Έτσι δημιουργήθηκε βάση δεδομένων κατάλληλη για μελέτες αυθεντικότητας. Το συνολικό στοιχειακό αποτύπωμα με την διακριτική ανάλυση έδωσε σωστή ταξινόμηση των δειγμάτων κατά 99,07% ανά όνομα τυριού, ενώ οι μεμονωμένες ομάδες στοιχείων έδωσαν ποσοστά κάτω του 87%. Επίσης, τα δείγματα ταξινομήθηκαν σωστά κατά 97,96% ανά τύπο τυριού (μαλακό, ημί-σκληρο, σκληρό, αλοφώδες, τυρί ορρού γάλακτος) με βάση πάλι το συνολικό στοιχειακό αποτύπωμα. Τέλος, με βάση τον τύπο γάλακτος τα δείγματα ταξινομήθηκαν σωστά κατά 93,16% στις τέσσερις κατηγορίες: μόνο αγελαδινό, μόνο κατσικίσιο, πρόβειο & κατσικίσιο και πρόβειο, κατσικίσιο και αγελαδινό. Οι περισσότερες λάθος κατηγοριοποιήσεις βρέθηκε είναι μεταξύ των ομάδων πρόβειο & κατσικίσιο και πρόβειο, κατσικίσιο & αγελαδινό. Αυτό πιθανώς να οφείλεται στην μικρή περιεκτικότητα σε αγελαδινό γάλα των τυριών της κατηγορίας πρόβειο, κατσικίσιο & αγελαδινό γάλα.

Όλες οι πολύ-στοιχειακές μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν επικυρώθηκαν σύμφωνα με τις απαιτήσεις των Ευρωπαϊκών Κανονισμών (κεφάλαια 5, 8 και 10). Οι στοιχειακές αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν με τη χρήση της τεχνικής φασματομετρίας μαζών - επαγωγικά συζευγμένου πλάσματος (ICP-MS) η οποία είναι σχεδόν η μόνη κατάλληλη για μετρήσεις σπανίων γαιών, προσφέροντας γρήγορη πολύ-στοιχειακή ανάλυση κάτω από επίπεδα ppt. Οι επικυρώσεις αφορούσαν την εκτίμηση της γραμμικότητας, της ακρίβειας, της πιστότητας (επαναληψιμότητα και αναπαραγωγιμότητα) καθώς και τον προσδιορισμό των ορίων ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης. Επιπλέον, έγινε εκτίμηση της αβεβαιότητας των μεθόδων για κάθε αναλύτη ανά υπόστρωμα σύμφωνα τις οδηγίες της EURACHEM. Πιο συγκεκριμένα, οι ανακτήσεις για τους περισσότερους αναλύτες κυμάνθηκαν από 70% έως 120%, η % σχετική τυπική απόκλιση υπό συνθήκες επαναληψιμότητας και υπό συνθήκες αναπαραγωγιμότητας μικρότερη από 20%, ενώ η

% διευρυμένη αβεβαιότητα μικρότερη από 50%. Το ήπαρ έδωσε υψηλότερες ανακτήσεις και υψηλότερη % σχετική τυπική απόκλιση από ότι οι μύες των κουνελιών. Γενικά, για τους περισσότερους αναλύτες, τα υψηλά επίπεδα εμβολιασμού (υψηλότερες συγκεντρώσεις) σε όλα τα υποστρώματα έδωσαν καλύτερα αποτελέσματα για τα χαρακτηριστικά ποιότητας των μεθόδων.

Με την μεθοδολογία που αναπτύχθηκε, πολλά κύρια προϊόντα διατροφής μπορούν να αξιολογηθούν για την επαλήθευση της συμμόρφωσής τους με τις επισημάνσεις ποιότητας & προέλευσης αλλά και για την ανίχνευση πιθανών δόλιων πρακτικών όπως η νοθεία. Ακόμη, όλα αυτά τα στοιχειακά αποτυπώματα που προσδιορίστηκαν μπορούν να λειτουργήσουν ως βάση δεδομένων για μελέτες αυθεντικότητας, αξιοποιώντας τα χαρακτηριστικά των σπανίων γαιών.

Στις μελλοντικές προοπτικές εμπίπτει η αξιολόγηση της αυθεντικότητας μέσω στοιχειακών αποτυπωμάτων και άλλων προϊόντων, όχι κατ' ανάγκη μόνο τροφίμων. Τέλος, ενδιαφέρον θα ήταν να μελετηθούν οι παράγοντες που επηρεάζουν την βιοδιαθεσιμότητα των σπανών γαιών σε φυτικά και ζωικά προϊόντα.

Βιβλιογραφία

1. Georgiou, C.A. and G.P. Danezis, *Elemental and Isotopic Mass Spectrometry*, in *Comprehensive Analytical Chemistry*. 2015. p. 131-243.
2. Vecchio, R. and A. Annunziata, *The role of PDO/PGI labelling in Italian consumers' food choices*. *Agricultural Economics Review*, 2011. **12**(2): p. 80-98.
3. Klopčič, M., et al., *Consumer perceptions of home made, organic, EU certified, and traditional local products in Slovenia*, in *EAAP Scientific Series*. 2012. p. 179-194.
4. Fotopoulos, C. and A. Krystallis, *Are Quality Labels a Real Marketing Advantage? A Conjoint Application on Greek PDO Protected Olive Oil*. *Journal of International Food and Agribusiness Marketing*, 2001. **12**(1): p. 1-22.
5. Erraach, Y., et al., *Consumer-stated preferences towards Protected Designation of Origin (PDO) labels in a traditional olive-oil-producing country: The case of Spain*. *New Medit*, 2014. **13**(4): p. 11-19.
6. Di Vita, G., et al., *Quality Perception of PDO extra-virgin Olive Oil: Which attributes most influence Italian consumers?* *Agricultural Economics Review*, 2013. **14**(2): p. 46-58.
7. Aprile, M.C., V. Caputo, and R.M. Nayga Jr, *Consumers' valuation of food quality labels: the case of the European geographic indication and organic farming labels*. *International Journal of Consumer Studies*, 2012. **36**(2): p. 158-165.
8. Reinholds, I., et al., *Analytical techniques combined with chemometrics for authentication and determination of contaminants in condiments: A review*. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2015. **44**: p. 56-72.
9. Luykx, D.M.A.M. and S.M. van Ruth, *An overview of analytical methods for determining the geographical origin of food products*. *Food Chemistry*, 2008. **107**(2): p. 897-911.
10. Gonzalez, A., S. Armenta, and M. de la Guardia, *Trace-element composition and stable-isotope ratio for discrimination of foods with Protected Designation of Origin*. *TrAC - Trends in Analytical Chemistry*, 2009. **28**(11): p. 1295-1311.
11. Balcaen, L., L. Moens, and F. Vanhaecke, *Determination of isotope ratios of metals (and metalloids) by means of inductively coupled plasma-mass spectrometry for provenancing purposes—A review*. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 2010. **65**(9): p. 769-786.
12. Tosato, A., *The protection of traditional foods in the EU: traditional specialties guaranteed*. *European Law Journal*, 2013. **19**(4): p. 545-576.
13. Kelblová, H., *The New Community Regulation on Quality Schemes for Agricultural Products and Foodstuffs—Obligations and Opportunities for Producers*. *Procedia Economics and Finance*, 2014. **12**: p. 296-301.
14. Bertozzi, L. and G. Panari, *Cheeses with Appellation d'Origine Contrôlée (AOC): factors that affect quality*. *International Dairy Journal*, 1993. **3**(4): p. 297-312.
15. Winter, C.K. and S.F. Davis, *Organic foods*. *Journal of Food Science*, 2006. **71**(9): p. R117-R124.
16. Braden, D.T., *Food fraud and adulterated ingredients*. 2014.
17. Profeta, A., R. Balling, and J. Roosen, *The relevance of origin information at the point of sale*. *Food Quality and Preference*, 2012. **26**(1): p. 1-11.
18. Zanolli, R., et al., *Mediation and moderation in food-choice models: a study on the effects of consumer trust in logo on choice*. *NJAS-Wageningen Journal of Life Sciences*, 2015. **72**: p. 41-48.
19. Stolz, H., et al., *Preferences and determinants for organic, conventional and conventional-plus products—The case of occasional organic consumers*. *Food Quality and Preference*, 2011. **22**(8): p. 772-779.
20. Dennis, M., *Analytical methods of food authentication*. 1998: Springer Science & Business Media.

21. Borràs, E., et al., *Data fusion methodologies for food and beverage authentication and quality assessment - A review*. Analytica Chimica Acta, 2015.
22. Järup, L., *Hazards of heavy metal contamination*. British medical bulletin, 2003. **68**(1): p. 167-182.
23. Żukowska, J. and M. Biziuk, *Methodological evaluation of method for dietary heavy metal intake*. Journal of food science, 2008. **73**(2): p. R21-R29.
24. Demont, M., et al., *Migration of 18 trace elements from ceramic food contact material: Influence of pigment, pH, nature of acid and temperature*. Food and Chemical Toxicology, 2012. **50**(3): p. 734-743.
25. Mahaffey, K.R., *Fish and shellfish as dietary sources of methylmercury and the ω -3 fatty acids, eicosahexaenoic acid and docosahexaenoic acid: risks and benefits*. Environmental research, 2004. **95**(3): p. 414-428.
26. Sivaperumal, P., T. Sankar, and P.V. Nair, *Heavy metal concentrations in fish, shellfish and fish products from internal markets of India vis-a-vis international standards*. Food chemistry, 2007. **102**(3): p. 612-620.
27. Wang, X., et al., *Health risks of heavy metals to the general public in Tianjin, China via consumption of vegetables and fish*. Science of the Total Environment, 2005. **350**(1): p. 28-37.
28. Abedin, M.J., et al., *Arsenic accumulation and metabolism in rice (Oryza sativa L.)*. Environmental Science & Technology, 2002. **36**(5): p. 962-968.
29. Uchino, T., et al., *Intake of arsenic from water, food composites and excretion through urine, hair from a studied population in West Bengal, India*. Food and chemical toxicology, 2006. **44**(4): p. 455-461.
30. Hu, J., et al., *A historical review and bibliometric analysis of research on lead in drinking water field from 1991 to 2007*. Science of the Total Environment, 2010. **408**(7): p. 1738-1744.
31. Blunden, S. and T. Wallace, *Tin in canned food: a review and understanding of occurrence and effect*. Food and Chemical Toxicology, 2003. **41**(12): p. 1651-1662.
32. Baroni, M.V., et al., *How much do soil and water contribute to the composition of meat? A case study: Meat from three areas of Argentina*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2011. **59**(20): p. 11117-11128.
33. <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:32002D0657&from=EN>.
34. Kabata-Pendias, A. and A.B. Mukherjee, *Trace elements from soil to human*. Trace Elements from Soil to Human. 2007: Springer Berlin Heidelberg. 1-550.
35. Lynes, M.A., et al., *Heavy metal ions in normal physiology, toxic stress, and cytoprotection*. Annals of the New York Academy of Sciences, 2007. **1113**(1): p. 159-172.
36. Mudgal, V., et al., *Effect of toxic metals on human health*. The Open Nutraceuticals Journal, 2010. **3**: p. 94-99.
37. Koedrith, P. and Y.R. Seo, *Advances in carcinogenic metal toxicity and potential molecular markers*. International journal of molecular sciences, 2011. **12**(12): p. 9576-9595.
38. Bridges, C.C. and R.K. Zalups, *Molecular and ionic mimicry and the transport of toxic metals*. Toxicology and applied pharmacology, 2005. **204**(3): p. 274-308.
39. Wang, J., et al., *Rapid determination of the geographical origin of honey based on protein fingerprinting and barcoding using MALDI TOF MS*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2009. **57**(21): p. 10081-10088.
40. Hajeb, P., et al., *Toxic Elements in Food: Occurrence, Binding, and Reduction Approaches*. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2014. **13**(4): p. 457-472.

41. <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2006:364:0005:0024:EN:PDF> .
42. <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2008:173:0006:0009:EN:PDF>.
43. <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CONSLEG:2002L0032:20061020:EN:PDF>.
44. <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CONSLEG:1984L0500:20050520:EN:PDF>
45. <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2005:110:0036:0039:en:PDF>.
46. <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CONSLEG:2011R0010:20111230:EN:PDF>
47. <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CONSLEG:2005R0396:20110101:EN:PDF>
48. <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:1998:330:0032:0054:EN:PDF>.
49. Kunz, M.R., et al., *Updating a synchronous fluorescence spectroscopic virgin olive oil adulteration calibration to a new geographical region*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2011. **59**(4): p. 1051-1057.
50. Poulli, K.I., G.A. Mousdis, and C.A. Georgiou, *Rapid synchronous fluorescence method for virgin olive oil adulteration assessment*. Food Chemistry, 2007. **105**(1): p. 369-375.
51. <http://water.epa.gov/drink/contaminants/index.cfm#Inorganic>.
52. <http://www.comlaw.gov.au/Details/F2011C00542/Download>.
53. Borràs, E., et al., *Data fusion methodologies for food and beverage authentication and quality assessment - A review*. Analytica Chimica Acta, 2015. **891**: p. 1-14.
54. Bogden, J.D. and L.M. Klevay, *Clinical nutrition of the essential trace elements and minerals: the guide for health professionals*. 2000: Humana Press.
55. <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2011:304:0018:0063:EN:PDF>.
56. Łękańska-Andrinopoulou, L., et al., *Rapid enzymatic method for pectin methyl esters determination*. Journal of Analytical Methods in Chemistry, 2013. **2013**.
57. <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/doc/1458.pdf>.
58. <http://www.who.int/nutrition/topics/nutrecomm/en/>.
59. <http://fnic.nal.usda.gov/dietary-guidance/dietary-reference-intakes/dri-reports>.
60. Rosewell, D. *Feeding Rare Earths to Cashmeres*. in *Rare Earths in Agriculture Seminar*. 1995.
61. Wen, B., et al., *The influence of rare earth element fertilizer application on the distribution and bioaccumulation of rare earth elements in plants under field conditions*. Chemical Speciation & Bioavailability, 2001. **13**(2): p. 39-48.
62. Daneman, D., *Type 1 diabetes*. The Lancet, 2006. **367**(9513): p. 847-858.
63. Sonich-Mullin, C., *Rare Earth Elements: A Review of Production, Processing, Recycling, and Associated Environmental Issues*. 2012, United States Environmental Protection Agency, Engineering Technical Support Center-Land Remediation and Pollution Control Division-National Risk Management Research Laboratory-Office of Research and Development. Cincinnati, USA: EPA.
64. Langmuir, D. and E.R. Group, *Issue paper on the environmental chemistry of metals*. 2004: US Environmental Protection Agency.
65. Fairbrother, A., et al., *Framework for metals risk assessment*. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2007. **68**(2): p. 145-227.

66. Reiley, M.C., *Science, policy, and trends of metals risk assessment at EPA: How understanding metals bioavailability has changed metals risk assessment at US EPA*. *Aquatic toxicology*, 2007. **84**(2): p. 292-298.
67. Weber, R.J., *An experimental study of fractionation of the rare earth elements in poplar plants (*Populus euphratica*) grown in a calcium-bearing smectite soil*. 2008, Kansas State University.
68. C.H.Evans, *Biochemistry of the Lanthanides*. *Biochemistry*, 1990. **8**.
69. Humphries, M., *Rare earth elements: The global supply chain*. Congressional Research Service, 2012: p. 7-5700.
70. Pang, X., D. Li, and A. Peng, *Application of rare-earth elements in the agriculture of China and its environmental behavior in soil*. *Environmental Science and Pollution Research*, 2002. **9**(2): p. 143-148.
71. Diatloff, E., C. Asher, and F. Smith. *The effects of rare earth elements on the growth and nutrition of plants*. in *Materials Science Forum*. 1999. Trans Tech Publ.
72. Tyler, G., *Rare earth elements in soil and plant systems-A review*. *Plant and soil*, 2004. **267**(1-2): p. 191-206.
73. Hu, Z., et al., *Physiological and biochemical effects of rare earth elements on plants and their agricultural significance: a review*. *Journal of plant nutrition*, 2004. **27**(1): p. 183-220.
74. Duan, S., H. Zhao, and K. Chen, *A Study of feeding Rare Earth Elements to broiler-type breeding bird*. *Livestock and Poultry Industry*, 1998. **2**: p. 16-17.
75. Yang, Z. and L. Chen, *Effect of lanthanum on egg hatching of *Macrobrachium nipponense**. *Aquaculture*, 2000. **6**(1): p. 31-32.
76. Redling, K., *Rare earth elements in agriculture with emphasis on animal husbandry*. 2006, Imu.
77. Shen, Q., J. Zhang, and C. Wang, *Application of rare earth elements on animal production*. *Feed Industry*, 1991. **12**: p. 21-22.
78. Hu, Z., et al., *Effect of REE on the nutrients digestibility for growing pigs*. *Feed World*, 1999. **11**(1): p. 29-31.
79. Liu, L., et al., *Effect of different amino acid-metal coordination compound additives on quality of pork*. *Animal Husbandry and Veterinary Medicine*, 2003. **35**(8): p. 1-3.
80. Fuyan, X., Y. Youxian, and Q. Keming, *Effect of Lanthanum on Egg Hatching and Naupliar Metamorphosis of *Penaeus Chinensis* [J]*. *JOURNAL OF THE CHINESE RARE EARTH SOCIETY*, 1997. **1**.
81. Cui, L., et al., *Effects of dietary chitosan oligosaccharide complex with rare earth on growth performance and innate immune response of turbot, *Scophthalmus maximus* L.* *Aquaculture Research*, 2013. **44**(5): p. 683-690.
82. Tang, Y., et al., *Effect of dietary rare earth elements-amino acid compounds on growth performance of carp and rainbow trout*. *Chinese Journal of Fisheries*, 1997. **10**(2): p. 88-90.
83. Zohravi, M., *The Effect of Rare Earth Elements on Growth Performance, Tibia Mineralization and Blood Serum of Japanese Quails*. 2007, Imu.
84. Chen, H., *Influence of rare earth compounds on the growth of pigs*. *Journal of the Chinese Rare Earth Society*, 1997. **15**: p. 441-443.
85. Law, G.F., *Regulation (EC) No. 178/2002 of the European Parliament and of the Council of 28 January 2002, laying down the general principles and requirements of food law, establishing the European Food Safety Authority, and laying down procedures in matters of food safety*. *OJ L*, 2002. **31**(1.2).
86. Kabata-Pendias, A. and A.B. Mukherjee, *Trace elements from soil to human*. 2007: Springer Science & Business Media.

87. Deng, R.W., J.G. Wu, and L.S. Long, *Lanthanide Complexes of Di (4-Hydroxycoumarinyl-3)-Acetic Acid and Their Anticoagulant Action*. Bulletin des Sociétés Chimiques Belges, 1992. **101**(6): p. 439-443.
88. Hussain, A., et al., *Photoactivated DNA cleavage and anticancer activity of pyrenyl-terpyridine lanthanide complexes*. European journal of medicinal chemistry, 2012. **50**: p. 319-331.
89. Fricker, S.P., *The therapeutic application of lanthanides*. Chemical Society Reviews, 2006. **35**(6): p. 524-533.
90. Zhang, J., et al., *Recent progress in therapeutic and diagnostic applications of lanthanides*. Mini reviews in medicinal chemistry, 2011. **11**(8): p. 678-694.
91. Drivelos, S.A. and C.A. Georgiou, *Multi-element and multi-isotope-ratio analysis to determine the geographical origin of foods in the European Union*. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2012. **40**: p. 38-51.
92. Drivelos, S.A., et al., *Data fusion for food authentication. Combining rare earth elements and trace metals to discriminate "Fava Santorinis" from other yellow split peas using chemometric tools*. Food chemistry, 2014. **165**: p. 316-322.
93. Long, K.R., et al., *The principal rare earth elements deposits of the United States: a summary of domestic deposits and a global perspective*. 2012: Springer.
94. Kabata-Pendias, A., *Trace elements in soils and plants*. 2010: CRC press.
95. Govindaraju, K., *compilation of working values and samples description for 383*. Geostandards Newsletter, 1994. **18**.
96. Yoshida, S., et al., *Concentrations of lanthanide elements, Th, and U in 77 Japanese surface soils*. Environment International, 1998. **24**(3): p. 275-286.
97. Eriksson, J., *Concentrations of 61 trace elements in sewage sludge, farmyard manure, mineral fertiliser, precipitation and in oil and crops*. 2001: Swedish Environmental Protection Agency Stockholm, Sweden.
98. Wurm, M., *The effect of lanthanum on growth and metabolism of Streptococcus faecalis R*. Journal of Biological Chemistry, 1951. **192**(2): p. 707-714.
99. Muroma, A. *Studies in the bactericidal action of salts of certain rare earth metals*. in *Annales medicinae experimentalis et biologiae Fenniae*. 1957.
100. Patel, M.M., et al., *Lanthanides (III) Polychelates with Benzophenone-based Resin Derivatives: Study of Their Antimicrobial Activities*. Iranian Polymer Journal, 2007. **16**(2): p. 113.
101. Al Momani, W.M., et al., *A study of in vitro antibacterial activity of lanthanides complexes with a tetradentate Schiff base ligand*. Asian Pacific journal of tropical biomedicine, 2013. **3**(5): p. 367-370.
102. Talburt, D.E. and G. Johnson, *Some effects of rare earth elements and yttrium on microbial growth*. Mycologia, 1967: p. 492-503.
103. Peng, L., et al., *Study on biological effect of La 3+ on Escherichia coli by atomic force microscopy*. Journal of inorganic biochemistry, 2004. **98**(1): p. 68-72.
104. Björkman, S.E. and F.L. Horsfall, *The production of a persistent alteration in influenza virus by lanthanum or ultraviolet irradiation*. The Journal of experimental medicine, 1948. **88**(4): p. 445-461.
105. Liu, J., et al., *[Synthesis and anti-influenza virus activities of heteropoly compounds containing rare earth elements]*. Yao xue xue bao= Acta pharmaceutica Sinica, 1998. **33**(7): p. 544-547.
106. Ragul, R. and B. Sivasankar, *Synthesis, Structure, Antioxidant, and Antiviral Studies on N2H5 [Ln (edta)(H2O) 3]. 5H2O (Ln= Pr, Nd, and Sm)*. Synthesis and Reactivity in Inorganic, Metal-Organic, and Nano-Metal Chemistry, 2013. **43**(4): p. 382-389.

107. Sedmak, J.J., H.S. MacDonald, and V.M. Kushnaryov, *Lanthanide ion enhancement of interferon binding to cells*. Biochemical and biophysical research communications, 1986. **137**(1): p. 480-485.
108. Evans, C., *Interesting and useful biochemical properties of lanthanides*. Trends in Biochemical Sciences, 1983. **8**(12): p. 445-449.
109. Nordberg, G.F., B.A. Fowler, and M. Nordberg, *Handbook on the Toxicology of Metals*. 2014: Academic Press.
110. Hill, S.J., *Inductively coupled plasma spectrometry and its applications*. Vol. 8. 2008: John Wiley & Sons.
111. de la Guardia, M. and A.G. Illueca, *Food protected designation of origin: methodologies and applications*. Vol. 60. 2013: Newnes.
112. Flores, E.M.M., *Microwave-assisted Sample Preparation for Trace Element Determination*. 2014: Newnes.
113. Matusiewicz, H., R.E. Sturgeon, and S.S. Berman, *Vapour-phase acid digestion of inorganic and organic matrices for trace element analysis using a microwave heated bomb*. Journal of analytical atomic spectrometry, 1991. **6**(4): p. 283-287.
114. Kotz, L., et al., *Wet mineralization of organic matrices in glassy carbon vessels in a pressure-bomb system for trace element analysis*. Talanta, 1979. **26**(8): p. 681-691.
115. Thomas, R., *Practical Guide to ICP-MS, Series Practical Spectroscopy*. 2004, Marcel Dekker, New York.
116. Picó, Y., *Food toxicants analysis: techniques, strategies and developments*. 2007: Elsevier.
117. Nardi, E.P., et al., *The use of inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) for the determination of toxic and essential elements in different types of food samples*. Food Chemistry, 2009. **112**(3): p. 727-732.
118. Andrade Korn, M.D.G., et al., *Sample preparation for the determination of metals in food samples using spectroanalytical methods—a review*. Applied Spectroscopy Reviews, 2008. **43**(2): p. 67-92.
119. Becker, S., *Inorganic mass spectrometry: principles and applications*. 2008: John Wiley & Sons.
120. Pedrero, Z., et al., *Screening of selenium containing proteins in the Tris-buffer soluble fraction of African catfish (*Clarias gariepinus*) filets by laser ablation-ICP-MS after SDS-PAGE and electroblotting onto membranes*. Journal of Analytical Atomic Spectrometry, 2009. **24**(6): p. 775-784.
121. Houk, R.S., *Inductively Coupled Argon Plasma as an Ion Source for Mass Spectrometric Determination of Trace Elements*. Analytical Chemistry, 1980. **52**(14): p. 2283-2289.
122. Beauchemin, D., *Inductively coupled plasma mass spectrometry*. Analytical chemistry, 2006. **78**(12): p. 4111-4136.
123. Boss, C.B. and K.J. Fredeen, *Concepts, instrumentation and techniques in inductively coupled plasma optical emission spectrometry*. 1999: Perkin Elmer Norwalk.
124. Ebdon, L. and E.H. Evans, *An introduction to analytical atomic spectrometry*. 1998: John Wiley & Sons.
125. Nelms, S.M., *Inductively coupled plasma mass spectrometry handbook*. 2005: Wiley Online Library.
126. Thomas, R., *Practical guide to ICP-MS: a tutorial for beginners*. 2013: CRC press.
127. Yang, L., *Accurate and precise determination of isotopic ratios by MC-ICP-MS: A review*. Mass spectrometry reviews, 2009. **28**(6): p. 990-1011.
128. Bürger, S., L.R. Riciputi, and D.A. Bostick, *Determination of impurities in uranium matrices by time-of-flight ICP-MS using matrix-matched method*. Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry, 2007. **274**(3): p. 491-505.

129. May, T.W. and R.H. Wiedmeyer, *A table of polyatomic interferences in ICP-MS*. ATOMIC SPECTROSCOPY-NORWALK CONNECTICUT-, 1998. **19**: p. 150-155.
130. Cugnetto, A., et al., *Tracing the "terroirs" via the elemental composition of leaves, grapes and derived wines in cv Nebbiolo (Vitis vinifera L.)*. Scientia Horticulturae, 2014. **172**: p. 101-108.
131. Li, L., C.E. Boyd, and J. Odom, *Identification of Pacific white shrimp (Litopenaeus vannamei) to rearing location using elemental profiling*. Food Control, 2014. **45**: p. 70-75.
132. Osorio, M.T., A. Koidis, and P. Papademas, *Major and trace elements in milk and Halloumi cheese as markers for authentication of goat feeding regimes and geographical origin*. International Journal of Dairy Technology, 2015.
133. Otaka, A., A. Hokura, and I. Nakai, *Determination of trace elements in soybean by X-ray fluorescence analysis and its application to identification of their production areas*. Food Chemistry, 2014. **147**: p. 318-326.
134. Imai, A., et al., *Determination of trace elements in pumpkin seeds by X-ray fluorescence analysis and its application to identifying the geographic origin of individual pumpkins*. Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi, 2012. **59**(7): p. 338-347.
135. Houk, R.S., et al., *Inductively coupled argon plasma as an ion source for mass spectrometric determination of trace elements*. Analytical Chemistry, 1980. **52**(14): p. 2283-2289.
136. Cubadda, F., *Inductively coupled plasma-mass spectrometry for the determination of elements and elemental species in food: a review*. Journal of AOAC International, 2004. **87**(1): p. 173-204.
137. Hou, X. and B.T. Jones, *Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectrometry*. Encyclopedia of Analytical Chemistry, 2000.
138. Rintala, E.-M., et al., *The intake of inorganic arsenic from long grain rice and rice-based baby food in Finland—Low safety margin warrants follow up*. Food chemistry, 2014. **150**: p. 199-205.
139. Vogiatzis, C.G. and G.A. Zachariadis, *Tandem mass spectrometry in metallomics and the involving role of ICP-MS detection: A review*. Analytica Chimica Acta, 2014. **819**: p. 1-14.
140. Mounicou, S., J. Szpunar, and R. Lobinski, *Metallomics: the concept and methodology*. Chemical Society Reviews, 2009. **38**(4): p. 1119-1138.
141. Far, J., H. Preud'homme, and R. Lobinski, *Detection and identification of hydrophilic selenium compounds in selenium-rich yeast by size exclusion-microbore normal-phase HPLC with the on-line ICP-MS and electrospray Q-TOF-MS detection*. Analytica Chimica Acta, 2010. **657**(2): p. 175-190.
142. Capozzi, F. and A. Bordoni, *Foodomics: a new comprehensive approach to food and nutrition*. Genes & nutrition, 2013. **8**(1): p. 1-4.
143. Arroyo-Abad, U., et al., *Arsenolipids in commercial canned cod liver: An occurrence and distribution study*. European Journal of Lipid Science and Technology, 2014. **116**(10): p. 1381-1387.
144. Bomke, S., et al., *Liquid chromatography with complementary electrospray and inductively coupled plasma mass spectrometric detection of ferrocene-labelled peptides and proteins*. Analytical and bioanalytical chemistry, 2010. **397**(8): p. 3503-3513.
145. Hu, S., et al., *Determination of Rare Earth Elements in Navel Oranges from Different Geographical Regions of China by Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry*. Analytical Letters, 2014. **47**(8): p. 1400-1408.
146. Drivelos, S.A., et al., *Data fusion for food authentication. Combining rare earth elements and trace metals to discriminate "fava Santorinis" from other yellow split peas using chemometric tools*. Food Chemistry, 2014. **165**: p. 316-322.

147. Laursen, K.H., et al., *Authentication of organically grown plants - advantages and limitations of atomic spectroscopy for multi-element and stable isotope analysis*. TrAC - Trends in Analytical Chemistry, 2014. **59**: p. 73-82.
148. Farmaki, E.G., et al., *Geographical Characterization of Greek Olive Oils Using Rare Earth Elements Content and Supervised Chemometric Techniques*. Analytical Letters, 2012. **45**(8): p. 920-932.
149. Ma, G., et al., *Determining the geographical origin of Chinese green tea by linear discriminant analysis of trace metals and rare earth elements: Taking Dongting Biluochun as an example*. Food Control, 2016. **59**: p. 714-720.
150. Rossmann, A. and P. Brereton, *New approaches for verifying the geographical origin of foods*. New analytical approaches for verifying the origin of food, 2013: p. 41-59.
151. Kelly, S., K. Heaton, and J. Hoogewerff, *Tracing the geographical origin of food: The application of multi-element and multi-isotope analysis*. Trends in Food Science & Technology, 2005. **16**(12): p. 555-567.
152. Laursen, K.H., et al., *Multielemental fingerprinting as a tool for authentication of organic wheat, barley, faba bean, and potato*. Journal of Agricultural and Food chemistry, 2011. **59**(9): p. 4385-4396.
153. Oliveira, M., et al., *Intra- and interspecific mineral composition variability of commercial instant coffees and coffee substitutes: Contribution to mineral intake*. Food Chemistry, 2012. **130**(3): p. 702-709.
154. Drivelos, S.A. and C.A. Georgiou, *Multi-element and multi-isotope-ratio analysis to determine the geographical origin of foods in the European Union*. TrAC - Trends in Analytical Chemistry, 2012. **40**: p. 38-51.
155. Barbosa, R.M., et al., *The Use of Decision Trees and Naïve Bayes Algorithms and Trace Element Patterns for Controlling the Authenticity of Free-Range-Pastured Hens' Eggs*. Journal of Food Science, 2014. **79**(9): p. C1672-C1677.
156. Rodrigues, S.M., et al., *Elemental analysis for categorization of wines and authentication of their certified brand of origin*. Journal of Food Composition and Analysis, 2011. **24**(4): p. 548-562.
157. Suhaj, M. and M. Korenovska, *Application of elemental analysis for identification of wine origin: a review*. Acta Alimentaria, 2005. **34**(4): p. 393-401.
158. Baroni, M.V., et al., *Linking soil, water, and honey composition to assess the geographical origin of Argentinean honey by multielemental and isotopic analyses*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2015. **63**(18): p. 4638-4645.
159. Barbosa, R.M., et al., *The use of advanced chemometric techniques and trace element levels for controlling the authenticity of organic coffee*. Food Research International, 2014. **61**: p. 246-251.
160. Camin, F., et al., *H, C, N and S stable isotopes and mineral profiles to objectively guarantee the authenticity of grated hard cheeses*. Analytica Chimica Acta, 2012. **711**: p. 54-59.
161. Hondrogiannis, E.M., et al., *Use of Laser Ablation–Inductively Coupled Plasma–Time of Flight–Mass Spectrometry To Identify the Elemental Composition of Vanilla and Determine the Geographic Origin by Discriminant Function Analysis*. Journal of agricultural and food chemistry, 2013. **61**(47): p. 11332-11337.
162. J Baxter, M., et al., *The determination of the authenticity of wine from its trace element composition*. Food Chemistry, 1997. **60**(3): p. 443-450.
163. Greenough, J.D., H.P. Longerich, and S.E. Jackson, *Element fingerprinting of Okanagan Valley wines using ICP-MS: Relationships between wine composition, vineyard and wine colour*. Australian Journal of Grape and Wine Research, 1997. **3**(2): p. 75-83.

164. Tian, X., et al., *Accuracy and precision of lead isotope ratios in wines measured by axial inductively coupled plasma time of flight mass spectrometry*. Journal of Analytical Atomic Spectrometry, 2000. **15**(7): p. 829-835.
165. Almeida, C.M. and M.T.S. Vasconcelos, *ICP-MS determination of strontium isotope ratio in wine in order to be used as a fingerprint of its regional origin*. Journal of Analytical Atomic Spectrometry, 2001. **16**(6): p. 607-611.
166. Coetzee, P.P., F.P. Van Jaarsveld, and F. Vanhaecke, *Intraregional classification of wine via ICP-MS elemental fingerprinting*. Food Chemistry, 2014. **164**: p. 485-492.
167. Marcelo, M.C.A., et al., *Classification of yerba mate (Ilex paraguariensis) according to the country of origin based on element concentrations*. Microchemical Journal, 2014. **117**: p. 164-171.
168. García-Ruiz, S., et al., *Evaluation of strontium isotope abundance ratios in combination with multi-elemental analysis as a possible tool to study the geographical origin of ciders*. Analytica chimica acta, 2007. **590**(1): p. 55-66.
169. De Vries, M.P.C., K.G. Tiller, and R.S. Beckwith, *Sources of error in the determination of Cd and Pb in plant material by atomic absorption*. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 1975. **6**(6): p. 629-640.
170. Ariyama, K., H. Horita, and A. Yasui, *Application of inorganic element ratios to chemometrics for determination of the geographic origin of Welsh onions*. Journal of agricultural and food chemistry, 2004. **52**(19): p. 5803-5809.
171. Lo Feudo, G., et al., *Investigating the origin of tomatoes and triple concentrated tomato pastes through multielement determination by inductively coupled plasma mass spectrometry and statistical analysis*. Journal of agricultural and food chemistry, 2010. **58**(6): p. 3801-3807.
172. Furia, E., et al., *Multielement fingerprinting as a tool in origin authentication of pgi food products: tropea red onion*. Journal of agricultural and food chemistry, 2011. **59**(15): p. 8450-8457.
173. Santos, V.S., et al., *Identification of species of the Euterpe genus by rare earth elements using inductively coupled plasma mass spectrometry and linear discriminant analysis*. Food chemistry, 2014. **153**: p. 334-339.
174. Benabdelkamel, H., et al., *Authenticity of PGI "Clementine of Calabria" by multielement fingerprint*. Journal of agricultural and food chemistry, 2012. **60**(14): p. 3717-3726.
175. Gonzalez, A., S. Armenta, and M. De La Guardia, *Trace-element composition and stable-isotope ratio for discrimination of foods with Protected Designation of Origin*. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2009. **28**(11): p. 1295-1311.
176. Hu, S., et al., *Determination of rare earth elements in navel oranges from different geographical regions of China by inductively coupled plasma-mass spectrometry*. Analytical Letters, 2014. **47**(8): p. 1400-1408.
177. Simpkins, W.A., et al., *Trace elements in Australian orange juice and other products*. Food Chemistry, 2000. **71**(4): p. 423-433.
178. Benincasa, C., et al., *Determination of trace element in Italian virgin olive oils and their characterization according to geographical origin by statistical analysis*. Analytica Chimica Acta, 2007. **585**(2): p. 366-370.
179. Joebstl, D., et al., *Identification of the geographical origin of pumpkin seed oil by the use of rare earth elements and discriminant analysis*. Food chemistry, 2010. **123**(4): p. 1303-1309.
180. Kelly, S., et al., *The application of isotopic and elemental analysis to determine the geographical origin of premium long grain rice*. European Food Research and Technology, 2002. **214**(1): p. 72-78.
181. Oddone, M., et al., *Authentication and traceability study of hazelnuts from Piedmont, Italy*. Journal of agricultural and food chemistry, 2009. **57**(9): p. 3404-3408.

182. Zhao, H., et al., *Determining the geographic origin of wheat using multielement analysis and multivariate statistics*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2011. **59**(9): p. 4397-4402.
183. Benincasa, C., et al., *The use of multi element profiling to differentiate between cow and buffalo milk*. Food chemistry, 2008. **110**(1): p. 257-262.
184. Brescia, M.A., et al., *Characterisation of the geographical origin of buffalo milk and mozzarella cheese by means of analytical and spectroscopic determinations*. Food Chemistry, 2005. **89**(1): p. 139-147.
185. Moreno-Rojas, R., et al., *Multivariate analysis techniques as tools for categorization of Southern Spanish cheeses: Nutritional composition and mineral content*. European Food Research and Technology, 2010. **231**(6): p. 841-851.
186. Moreno-Rojas, R., et al., *Influence of manufacturing conditions and discrimination of Northern Spanish cheeses using multi-element analysis*. International Journal of Dairy Technology, 2012. **65**(4): p. 594-602.
187. Osorio, M.T., A. Koidis, and P. Papademas, *Major and trace elements in milk and Halloumi cheese as markers for authentication of goat feeding regimes and geographical origin*. International Journal of Dairy Technology, 2015. **68**(4): p. 573-581.
188. Heaton, K., et al., *Verifying the geographical origin of beef: The application of multi-element isotope and trace element analysis*. Food Chemistry, 2008. **107**(1): p. 506-515.
189. Franke, B.M., et al., *Indications for the applicability of element signature analysis for the determination of the geographic origin of dried beef and poultry meat*. European Food Research and Technology, 2007. **225**(3-4): p. 501-509.
190. Sun, S., et al., *Multi-element analysis for determining the geographical origin of mutton from different regions of China*. Food chemistry, 2011. **124**(3): p. 1151-1156.
191. Guo, L., et al., *Multi-element Fingerprinting as a Tool in Origin Authentication of Four East China Marine Species*. Journal of food science, 2013. **78**(12): p. C1852-C1857.
192. Chudzinska, M. and D. Baralkiewicz, *Estimation of honey authenticity by multielements characteristics using inductively coupled plasma-mass spectrometry (ICP-MS) combined with chemometrics*. Food and Chemical Toxicology, 2010. **48**(1): p. 284-290.
193. Krivan, V., P. Barth, and A.F. Morales, *Multielement analysis of green coffee and its possible use for the determination of origin*. Microchimica Acta, 1993. **110**(4-6): p. 217-236.
194. Rodrigues, C., C. Máguas, and T. Prohaska, *Strontium and oxygen isotope fingerprinting of green coffee beans and its potential to proof authenticity of coffee*. European Food Research and Technology, 2011. **232**(2): p. 361-373.
195. Moreda-Piñeiro, A., A. Fisher, and S.J. Hill, *The classification of tea according to region of origin using pattern recognition techniques and trace metal data*. Journal of Food Composition and Analysis, 2003. **16**(2): p. 195-211.
196. D'Archivio, A.A., et al., *Analysis of the mineral composition of Italian saffron by ICP-MS and classification of geographical origin*. Food chemistry, 2014. **157**: p. 485-489.
197. Brunner, M., et al., *Determination of the geographical origin of processed spice using multielement and isotopic pattern on the example of Szegedi paprika*. European Food Research and Technology, 2010. **231**(4): p. 623-634.
198. Capuano, E., et al., *Analytical authentication of organic products: an overview of markers*. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2013. **93**(1): p. 12-28.
199. Barbosa, R.M., et al., *The use of advanced chemometric techniques and trace element levels for controlling the authenticity of organic coffee*. Food Research International, 2014. **61**: p. 246-251.
200. Barbosa, R.M., et al., *The Use of Decision Trees and Naïve Bayes Algorithms and Trace Element Patterns for Controlling the Authenticity of Free-Range-Pastured Hens' Eggs*. Journal of Food Science, 2014.

201. Laursen, K., et al., *Authentication of organically grown plants—advantages and limitations of atomic spectroscopy for multi-element and stable isotope analysis*. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2014. **59**: p. 73-82.
202. Bloch, M.S., et al., *Labeling milk along its production chain with DNA encapsulated in silica*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2014. **62**(43): p. 10615-10620.
203. Bertacchini, L., et al., *The impact of chemometrics on food traceability*. *Chemometrics in Food Chemistry*, Elsevier, Oxford, UK, 2013: p. 371-410.
204. <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2007:088:0029:0038:EN:PDF>.
205. Woolfe, M. and J. Kerry, *Labelling of meat, poultry, seafood and their products in the EU*. *Advances in meat, poultry and seafood packaging*, 2012: p. 596-630.
206. Woolfe, M., T. Ditton, and P. Brereton, *Food origin labelling legislation and standards*. *New analytical approaches for verifying the origin of food*, 2013: p. 12-37.
207. Wang, Y., et al., *Willingness to pay for traceable pork: evidence from Beijing, China*. *China Agricultural Economic Review*, 2012. **4**(2): p. 200-215.
208. Husak, R., J. Sebranek, and K. Bregendahl, *A survey of commercially available broilers marketed as organic, free-range, and conventional broilers for cooked meat yields, meat composition, and relative value*. *Poultry Science*, 2008. **87**(11): p. 2367-2376.
209. Schulp, C.J., W. Thuiller, and P. Verburg, *Wild food in Europe: A synthesis of knowledge and data of terrestrial wild food as an ecosystem service*. *Ecological Economics*, 2014. **105**: p. 292-305.
210. La Neve, F., et al., *Authentication of meat from game and domestic species by SNaPshot minisequencing analysis*. *Meat science*, 2008. **80**(2): p. 216-224.
211. Silano, M. and V. Silano, *Food and Feed Chemical Contaminants in the European Union: Regulatory, Scientific and Technical Issues Concerning Chemical Contaminants Occurrence, Risk Assessment and Risk Management in the European Union*. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2015(just-accepted): p. 00-00.
212. Ljung, P.E., S.J. Riley, and G. Ericsson, *Game meat consumption feeds urban support of traditional use of natural resources*. *Society & Natural Resources*, 2015. **28**(6): p. 657-669.
213. D'Amato, M.E., et al., *Where is the game? Wild meat products authentication in South Africa: a case study*. *Investigative genetics*, 2013. **4**(1): p. 6.
214. Quinto, C.A., R. Tinoco, and R.S. Hellberg, *DNA barcoding reveals mislabeling of game meat species on the US commercial market*. *Food Control*, 2016. **59**: p. 386-392.
215. Nuñez, M.A., et al., *Invasive species: to eat or not to eat, that is the question*. *Conservation Letters*, 2012. **5**(5): p. 334-341.
216. Luykx, D.M. and S.M. Van Ruth, *An overview of analytical methods for determining the geographical origin of food products*. *Food Chemistry*, 2008. **107**(2): p. 897-911.
217. Ballin, N.Z., *Authentication of meat and meat products*. *Meat Science*, 2010. **86**(3): p. 577-587.
218. Xin, H. and R. Stone, *Tainted milk scandal. Chinese probe unmasks high-tech adulteration with melamine*. *Science (New York, NY)*, 2008. **322**(5906): p. 1310-1311.
219. Premanandh, J., *Horse meat scandal—A wake-up call for regulatory authorities*. *Food Control*, 2013. **34**(2): p. 568-569.
220. Chuah, L.-O., et al., *Mislabelling of beef and poultry products sold in Malaysia*. *Food Control*, 2016. **62**: p. 157-164.
221. Diake, S., *Report on the International Symposium and Educational Workshop on Fish Marking Techniques-Seattle, 27 June-1 July 1988*. 1988.
222. Berrueta, L.A., R.M. Alonso-Salces, and K. Héberger, *Supervised pattern recognition in food analysis*. *Journal of Chromatography A*, 2007. **1158**(1): p. 196-214.

223. Piasentier, E., et al., *Stable isotope ratio analysis for authentication of lamb meat*. Meat science, 2003. **64**(3): p. 239-247.
224. Zhao, Y., et al., *Recent developments in application of stable isotope analysis on agro-product authenticity and traceability*. Food chemistry, 2014. **145**: p. 300-305.
225. Franke, B.M., et al., *Indications for the applicability of element signature analysis for the determination of the geographic origin of dried beef and poultry meat*. European Food Research and Technology, 2007. **225**(3-4): p. 501-509.
226. Lockley, A. and R. Bardsley, *DNA-based methods for food authentication*. Trends in Food Science & Technology, 2000. **11**(2): p. 67-77.
227. Jakes, W., et al., *Authentication of beef versus horse meat using 60MHz 1 H NMR spectroscopy*. Food chemistry, 2015. **175**: p. 1-9.
228. Asensio, L., et al., *Determination of food authenticity by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)*. Food Control, 2008. **19**(1): p. 1-8.
229. Daszkiewicz, T., et al., *A Comparison of the Quality of the Longissimus lumborum Muscle from Wild and Farm-Raised Fallow Deer (Dama dama L.)*. Small Ruminant Research, 2015.
230. Dannenberger, D., et al., *The effects of gender, age and region on macro-and micronutrient contents and fatty acid profiles in the muscles of roe deer and wild boar in Mecklenburg-Western Pomerania (Germany)*. Meat science, 2013. **94**(1): p. 39-46.
231. Baroni, M.V., et al., *How much do soil and water contribute to the composition of meat? A case study: meat from three areas of Argentina*. J Agric Food Chem, 2011. **59**(20): p. 11117-28.
232. Cassatt, D.R., et al., *Medical countermeasures against nuclear threats: radionuclide decorporation agents*. 2009.
233. Murtagh, F. and P. Contreras, *Algorithms for hierarchical clustering: an overview*. Wiley Interdisciplinary Reviews: Data Mining and Knowledge Discovery, 2012. **2**(1): p. 86-97.
234. de Hoon, M.J., et al., *Open source clustering software*. Bioinformatics, 2004. **20**(9): p. 1453-1454.
235. Damerou, A., E. Venäläinen, and K. Peltonen, *Heavy metals in meat of Finnish city rabbits*. Food Additives and Contaminants: Part B, 2012. **5**(4): p. 246-250.
236. Granato, D., D. Cozzolino, and S.M. van Ruth, *Special issue: Authenticity, typicality, traceability and intrinsic quality of food products*. Food Research International, 2014. **60**: p. 1.
237. Ruiz Orduna, A., et al., *Assessment of meat authenticity using bioinformatics, targeted peptide biomarkers and high-resolution mass spectrometry*. Food Additives & Contaminants: Part A, 2015. **32**(10): p. 1709-1717.
238. Sarri, C., et al., *A new set of 16S rRNA universal primers for identification of animal species*. Food Control, 2014. **43**: p. 35-41.
239. Otero, N., et al., *Fertiliser characterisation: major, trace and rare earth elements*. Applied geochemistry, 2005. **20**(8): p. 1473-1488.
240. Zhang, S. and X.-q. Shan, *Speciation of rare earth elements in soil and accumulation by wheat with rare earth fertilizer application*. Environmental Pollution, 2001. **112**(3): p. 395-405.
241. Rambeck, W. and U. Wehr, *Use of rare earth elements as feed additives in pig production*. Pig News and Information, 2005. **26**(2): p. 41.
242. He, M. and W. Rambeck, *Rare earth elements-a new generation of growth promoters for pigs?* Archives of Animal Nutrition, 2000. **53**(4): p. 323-334.
243. Eleraky, A.W. and W. Rambeck, *Study on performance enhancing effect of rare earth elements as alternatives to antibiotic feed additives for Japanese Quails*. Journal of American Science, 2011. **7**(12): p. 211-215.

244. He, M., et al., *Effect of dietary rare earth elements on growth performance and blood parameters of rats*. Journal of animal physiology and animal nutrition, 2003. **87**(5-6): p. 229-235.
245. <http://www.efsa.europa.eu/de/efsajournal/pub/3206>.
246. Angelova, V.R., et al., *Lead, cadmium, zinc, and copper bioavailability in the soil-plant-animal system in a polluted area*. TheScientificWorldJournal, 2010. **10**: p. 273-285.
247. He, M., D. Ranz, and W. Rambeck, *Study on the performance enhancing effect of rare earth elements in growing and fattening pigs*. Journal of animal physiology and animal nutrition, 2001. **85**(7-8): p. 263-270.
248. He, M., U. Wehr, and W. Rambeck, *Effect of low doses of dietary rare earth elements on growth performance of broilers*. Journal of animal physiology and animal nutrition, 2010. **94**(1): p. 86-92.
249. Schwabe, A., et al., *Effect of rare earth elements (REE) supplementation to diets on the carry-over into different organs and tissues of fattening bulls*. Livestock Science, 2012. **143**(1): p. 5-14.
250. JIANG, D.G., et al., *A survey of 16 rare earth elements in the major foods in China*. Biomedical and Environmental Sciences, 2012. **25**(3): p. 267-271.
251. Qiu, G., et al., *Biological intelligence of rare earth elements in animal cells*. Journal of Rare Earths, 2005. **23**(SUPPL. 3): p. 554-573.
252. Pagano, G., et al., *Rare earth elements in human and animal health: State of art and research priorities*. Environmental research, 2015. **142**: p. 215-220.
253. Gonzalez, V., et al., *Environmental fate and ecotoxicity of lanthanides: Are they a uniform group beyond chemistry?* Environment International, 2014. **71**: p. 148-157.
254. Mayfield, D.B. and A. Fairbrother, *Examination of rare earth element concentration patterns in freshwater fish tissues*. Chemosphere, 2015. **120**: p. 68-74.
255. Inaoka, T. and K. Ochi, *Scandium stimulates the production of amylase and bacilysin in Bacillus subtilis*. Applied and environmental microbiology, 2011. **77**(22): p. 8181-8183.
256. Evans, C., *Biochemistry of the Lanthanides*. Biochemistry, 1990. **8**.
257. Hirano, S. and K.T. Suzuki, *Exposure, metabolism, and toxicity of rare earths and related compounds*. Environmental health perspectives, 1996. **104**(Suppl 1): p. 85.
258. Spalla, S., et al., *Determination of rare earth elements in tomato plants by inductively coupled plasma mass spectrometry techniques*. Rapid Communications in Mass Spectrometry, 2009. **23**(20): p. 3285-3292.
259. Brereton, R.G., *Chemometrics: data analysis for the laboratory and chemical plant*. 2003: John Wiley & Sons.
260. Roy, R.B., et al., *Instrumental testing of tea by combining the responses of electronic nose and tongue*. Journal of food engineering, 2012. **110**(3): p. 356-363.
261. Gómez, A.H., et al., *Monitoring storage shelf life of tomato using electronic nose technique*. Journal of Food Engineering, 2008. **85**(4): p. 625-631.