



**ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΑΘΗΝΩΝ**

**ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ**

**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΠΟΥΔΩΝ «ΧΗΜΕΙΑΣ»
ΕΙΔΙΚΕΥΣΗ «ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΗ ΧΗΜΕΙΑ»**

ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ ΔΙΠΛΩΜΑΤΟΣ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ

**Προσδιορισμός Πολυστοιχειακού Προφίλ Οίνων με Χρήση
ICP-MS και Ανάπτυξη Μοντέλου με σκοπό τη Διάκριση
Ποικιλιών.**

ΝΟΤΣΙΚΑ ΦΩΤΕΙΝΗ

**ΑΘΗΝΑ
ΟΚΤΩΒΡΗΣ 2016**

ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ ΔΙΠΛΩΜΑΤΟΣ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ

Προσδιορισμός Πολυστοιχειακού Προφίλ Οίνων με Χρήση
ICP-MS και Ανάπτυξη Μοντέλου με σκοπό τη Διάκριση Ποικιλιών.

ΝΟΤΣΙΚΑ ΦΩΤΕΙΝΗ

A.M.: 41308

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Μ. Λιούνη, Αναπληρώτρια καθηγήτρια ΕΚΠΑ (επιβλέπουσα)

Σπύρος Κοϊνης

Αναστασία Δέτση

ΟΚΤΩΒΡΗΣ 2016

Σας ευχαριστώ κυρία Μαρία Λιούνη, χωρίς την παρότρυνσή σας δεν θα είχα αποφασίσει να προχωρήσω με τις σπουδές μου. Ευχαριστώ απείρως τον Χάρη Αλεξόπουλο ο οποίος με ενθάρρυνε καθ' όλη τη διάρκεια της έρευνας και παρ' όλα τα προβλήματα που συναντήσαμε, με εμπύχωνε να συνεχίσω. Ευχαριστώ πολύ την Κα Ευγενία Λαμπή, χωρίς την υποστήριξη της οποίας δεν θα είχα φτάσει ποτέ στο σημείο που είμαι σήμερα, και έπειτα την οικογένεια μου, συγγενείς, φίλους και συναδέλφους. Με βοηθήσατε όλοι πολύ με την στήριξή σας.

Σας ευχαριστώ.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η προέλευση και η ποικιλία ενός κρασιού καθορίζει την ποιότητά του, καθώς και την τιμή στην οποία θα προωθηθεί στο εμπόριο. Διάφοροι είναι οι παράγοντες οι οποίοι μπορούν να μελετηθούν χρησιμοποιώντας τις κατάλληλες αναλυτικές τεχνικές, για την ταξινόμηση των οίνων με βάση την ποικιλία και την προέλευσή τους με στόχευση στην αυθεντικότητα. Τα τελευταία χρόνια η ταξινόμηση οίνων από διαφορετικές ποικιλίες ή/και περιοχές, με βάση το πολυστοιχειακό προφίλ/αποτύπωμα, έχει περιγραφεί με τη χρήση κατάλληλων αναλυτικών τεχνικών.

Στην παρούσα εργασία έγινε ανάπτυξη και επικύρωση μεθόδου προσδιορισμού της στοιχειακής σύνθεσης οίνων μετά από χώνευση με HNO_3 με τη βοήθεια μικροκυμάτων και τη χρήση οργανολογίας ICP-MS. Με την χρήση φασματογράφου μάζας με επαγωγικά συζευγμένο πλάσμα (ICP-MS) μελετήθηκαν οι περιεκτικότητες των εξής στοιχείων (Li, B, Be, Ti, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Ge, As, Se, Rb, Sr, Mo, Rh, Pd, Ag, Cd, In, Sn, Sb, Re, Os, Pt, Tl, Pb, Eu, Gd, Th, V, U) σε δείγματα οίνου. Επιπλέον, μελετήθηκε το μονοποικιλιακό ξινόμαυρο, ένας ελληνικός οίνος Π.Ο.Π. με σκοπό τη δημιουργία της στοιχειακής του “ταυτότητας”. Ακολουθεί σύγκριση και συσχετισμός με άλλες ποικιλίες οίνων από διάφορες περιοχές της Ελλάδος. Σκοπός είναι ο έλεγχος της δυνατότητας διάκρισης μεταξύ των ποικιλιών για τον έλεγχο της αυθεντικότητας.

Λέξεις κλειδιά: Ξινόμαυρο, ICP-MS, πολυστοιχειακή ανάλυση, στοιχειακό αποτύπωμα, αυθεντικότητα

ABSTRACT

The origin and the variety of a wine can determine its quality and the price the consumer will be willing to pay. Many factors can be studied in order to be able to discriminate wines by their destination of origin or by variety, using lots of analytical methods. Multielement analysis of wines has been applied, the latest years, in order to classificate wines by their variety or their origin.

A method of determination of the elemental content of wines after microwave assisted digestion with nitric acid using Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometer (ICP-MS), has been developed. The data received have been used in order to create an elemental fingerprint of “xinomavro” wines produced in Greece. Xinomavro is a PDO wine and its elemental content has been compared to this of other wine samples produced in Greece in order to achieve wine classification, whilst investigating wine authenticity. Calculations included the following elements: Li, B, Ti, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Ge, As, Se, Rb, Sr, Mo, Rh, Pd, Ag, Cd, In, Sn, Sb, Re, Os, Ir, Pt, Au, Tl, Pb, Eu, Gd, Th determined by High Resolution ICP-MS.

Key words: ICP-MS, elemental fingerprint, Xinomavro, authenticity, metal analysis

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ.....	2
ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	3
ABSTRACT.....	4
ΠΙΝΑΚΕΣ.....	8
ΣΧΗΜΑΤΑ.....	9
ΕΙΚΟΝΕΣ.....	10
ΠΡΟΛΟΓΟΣ.....	11

ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 Εισαγωγή.....	13
1.1 ΓΕΝΙΚΗ ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	13
1.2 ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ ΜΕΛΕΤΗΣ.....	15
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 Αυθεντικότητα.....	15
2.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	15
2.2 ΑΥΘΕΝΤΙΚΟΤΗΤΑ ΓΕΩΓΡΑΦΙΚΗΣ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ.....	17
2.2.1 Προσδιορισμός Ισοτοπικών Λόγων.....	18
2.2.2 Πολυστοιχειακή Ανάλυση Οίνων.....	18
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3 Ανόργανα Συστατικά στον Οίνο.....	19
3.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	19
3.2 ΜΕΤΑΛΛΑ - ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΣΤΟΝ ΟΙΝΟ.....	20
3.3 ΚΥΡΙΕΣ ΠΗΓΕΣ ΜΕΤΑΛΛΙΚΗΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΣΤΟΥΣ ΟΙΝΟΥΣ.....	21
3.3.1 Βασικοί παράγοντες που καθορίζουν την περιεκτικότητα σε μεταλλικά ιόντα.....	22
3.3.2 Διαχωρισμός στοιχείων σε ομάδες, ανάλογα με την προέλευσή τους.....	22
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4 Η ΠΟΙΚΙΛΙΑ ΞΙΝΟΜΑΥΡΟ.....	23
4.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	23
4.2 ΟΝΟΜΑΣΙΑ ΠΟΙΚΙΛΙΑΣ.....	24
4.3 ΙΣΤΟΡΙΚΑ.....	24
4.4 ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΠΟΙΚΙΛΙΑΣ.....	25
4.5 ΠΕΡΙΟΧΕΣ ΟΙΝΩΝ Ο.Π.Α.Π. ΤΗΣ ΠΟΙΚΙΛΙΑΣ ΞΙΝΟΜΑΥΡΟ....	25
4.5.1 Ο.Π.Α.Π Νάουσα.....	26
4.5.2 Ο.Π.Α.Π Γουμένισα – Πέλλα.....	26
4.5.3 Ο.Π.Α.Π Αμύνταιο.....	27
4.5.4 Ο.Π.Α.Π Ραψάνη.....	28
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5 ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ.....	28
5.1 ΜΕΛΕΤΕΣ ΣΕ ΕΥΡΩΠΗ ΚΑΙ ΥΠΟΛΟΙΠΟ ΚΟΣΜΟ.....	28
5.1.1 Ευρώπη.....	28
5.1.2 Υπόλοιπος Κόσμος.....	32
5.2 ΠΙΝΑΚΑΣ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗΣ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗΣ.....	36
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6 ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΙΧΝΟΣΤΟΙΧΕΙΩΝ ΜΕ ΤΗΝ ΤΕΧΝΙΚΗ ΤΗΣ ΦΑΣΜΑΤΟΜΕΤΡΙΑΣ ΜΑΖΩΝ ΜΕ ΕΠΑΓΩΓΙΚΑ ΣΥΖΕΥΓΜΕΝΟ ΠΛΑΣΜΑ.....	51
6.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	51
6.2 ΕΠΑΓΩΓΙΚΑ ΣΥΖΕΥΓΜΕΝΟ ΠΛΑΣΜΑ.....	53
6.3 ΦΑΣΜΑΤΟΜΕΤΡΙΑ ΜΑΖΑΣ.....	56
6.4 ΟΡΓΑΝΟΛΟΓΙΑ ICP-MS.....	57
6.4.1 Σύστημα εισαγωγής δείγματος.....	58

6.4.2 Σύστημα ατομοποίησης ICP.....	61
6.4.3 Διασύνδεση.....	62
6.4.4 Εστίαση ιόντων.....	62
6.4.5 Φασματογράφος μάζας.....	63
6.4.6 Σύστημα ανίχνευσης ιόντων.....	65
6.4.6.1 Κύπελλο Faraday.....	65
6.4.6.2 Ηλεκτρονιοπολλαπλασιαστής.....	65
6.4.7 Σύστημα καταγραφής και εξόδου αποτελεσμάτων σε H/Y.....	67
6.5 ΠΑΡΕΜΠΟΔΙΣΕΙΣ ΣΤΗΝ ICP-MS.....	67
6.5.1 Μη φασματοσκοπικές παρεμποδίσεις – επιδράσεις συστατικών της μήτρας.....	67
6.5.2 Φασματοσκοπικές παρεμποδίσεις.....	67
6.5.2.1 Ισοβαρικές παρεμποδίσεις.....	68
6.5.2.2 Παρεμποδίσεις πολυατομικών ιόντων.....	68
6.5.2.3 Παρεμποδίσεις από οξείδια και υπεροξείδια.....	68
6.6 ΠΟΙΟΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ.....	69
6.7 ΠΟΣΟΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ.....	69
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7 ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ.....	70
7.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	70
7.2 ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ ΑΝΑΛΥΣΗΣ.....	70
7.2.1 ANOVA.....	70
7.2.2 PCA.....	71
7.2.3 LDA.....	71
7.2.4 CA.....	72
7.2.5 SDA.....	72
7.2.6 CDA.....	72
7.2.7 CC.....	72
7.2.8 HCA.....	72
7.2.9 RDA.....	73
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8 ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΜΕΘΟΔΟΥ.....	75
8.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	75
8.2 ΟΡΓΑΝΟΛΟΓΙΑ.....	75
8.2.1 Φασματόμετρο μαζών με επαγωγικά συζευγμένο πλάσμα (ICP-MS).....	75
8.2.2 Χώνευση με τη βοήθεια μικροκυμάτων (MICROWAVE DIGESTION).....	75
8.3 ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ ΚΑΙ ΠΡΟΤΥΠΑ ΔΙΑΛΥΜΑΤΑ.....	78
8.4 ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΕΙΣ ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΣΗΣ.....	79
8.4.1 Καμπύλες βαθμονόμησης- Έλεγχος γραμμικότητας.....	80
8.4.2 Ορθότητα καμπύλης βαθμονόμησης.....	81
8.5 ΕΠΙΚΥΡΩΣΗ ΜΕΘΟΔΟΥ.....	84
8.5.1 Υπολογισμός αποτελεσμάτων –συγκεντώσεων.....	84
8.5.2 Προσδιορισμός ορίου ανίχνευσης (LOD, Limit of Detection) – προσδιορισμός ορίου ποσοτικοποίησης (LOQ, Limit of Quantification).....	84
8.5.3 Ορθότητα μεθόδου.....	86
8.5.4 Επαναληψιμότητα – Αναπαραγωγιμότητα.....	89
8.6 ΧΕΙΡΙΣΜΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ.....	90
8.6.1 Επιλογή δειγμάτων.....	90
8.6.2 Προετοιμασία δειγμάτων.....	91

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 9 ΠΟΛΥΣΤΟΙΧΕΙΑΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΟΙΝΩΝ –	
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	98
9.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	98
9.2 Η ΠΟΙΚΙΛΙΑ ΞΙΝΟΜΑΥΡΟ.....	98
9.2.1 Προσδιορισμός μεταλλικής σύνθεσης.....	98
9.2.2 Διαγραμματική απεικόνιση των δεδομένων.....	100
9.2.3 Κατάρτιση στοιχειακού αποτυπώματος.....	102
9.3 ΥΠΟΛΟΙΠΕΣ ΠΟΙΚΙΛΙΕΣ.....	102
9.3.1 Προσδιορισμός μεταλλικής σύνθεσης.....	102
9.4 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	104
9.4.1 Ανάλυση αποτελεσμάτων για 13 μεταλλικά στοιχεία μελέτης.....	104
9.4.2 Ανάλυση αποτελεσμάτων για 7 μεταλλικά στοιχεία μελέτης.....	105
9.4.3 Παραγοντική ανάλυση.....	105
9.5 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ – ΣΥΖΗΤΗΣΗ – ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ.....	106
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑΤΑ	
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Α.....	108
Πιστοποιητικό Υλικού Αναφοράς TM-15.2.....	108
Πιστοποιητικό Υλικού Αναφοράς TM-23.4.....	109
Πιστοποιητικό Υλικού Αναφοράς TM-25.4.....	110
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Β.....	111
Proficiency Test SCHEMA 62 03.....	111
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Γ.....	112
Έλεγχος Q.....	112
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Δ.....	113
ΠΟΣΤΕΡ – ΣΥΝΕΔΡΙΟ ΜΕΤΡΟΛΟΓΙΑΣ 2016.....	113
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	114

ΠΙΝΑΚΕΣ

ΠΙΝΑΚΑΣ 1.1 Τα συστατικά του οίνου.....	14
ΠΙΝΑΚΑΣ 3.1 Περιεκτικότητα μετάλλων στους οίνους.....	20
ΠΙΝΑΚΑΣ 5.1 Πίνακας Βιβλιογραφικής Ανασκόπησης.....	37
ΠΙΝΑΚΑΣ 6.1 Όρια ανίχνευσης για την ICP-MS.....	51
ΠΙΝΑΚΑΣ 8.1 Χαρακτηριστικά οργάνου και ιδανικές συνθήκες λειτουργίας, σύμφωνα με τον κατασκευαστή.....	75
ΠΙΝΑΚΑΣ 8.2 Παράμετροι λειτουργίας οργάνου ICP-MS.....	76
ΠΙΝΑΚΑΣ 8.3 Η ισχύς του φασματόμετρου μαζών που εφαρμόστηκε για κάθε στοιχείο.....	78
ΠΙΝΑΚΑΣ 8.4 Συνθήκες χώνευσης-καθαρισμού. Θερμοκρασιακά προγράμματα συσκευής MARS6.....	78
ΠΙΝΑΚΑΣ 8.5 Καμπύλες βαθμονόμησης για 30 στοιχεία και ανακτήσεις δ/τος QC 5μg/L για τον έλεγχο της ορθότητας.....	82
ΠΙΝΑΚΑΣ 8.6 Καμπύλες βαθμονόμησης για τα στοιχεία Li, Be, U, V.....	83
ΠΙΝΑΚΑΣ 8.7 Ανακτήσεις πιστοποιημένων υλικών αναφοράς, μετά από ποσοτικοποίησή τους πάνω στις καμπύλες βαθμονόμησης που έχουν κατασκευαστεί.....	83
ΠΙΝΑΚΑΣ 8.8 Υπολογισμός ορίων ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης της μεθόδου..	85
ΠΙΝΑΚΑΣ 8.9: Όρια ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης ενέσιμων διαλυμάτων.....	86
ΠΙΝΑΚΑΣ 8.10: Υπολογισμός (%) ανάκτησης στον προσδιορισμό μετάλλων σε οίνους.....	87
ΠΙΝΑΚΑΣ 8.11 Υπολογισθείσες τιμές διεργαστηριακού SCHEMA 62 03 μετά από χώνευση σε μικροκύματα για Cd, Pb, Fe, Cu, Zn, As.....	88
ΠΙΝΑΚΑΣ 8.12. Σχετική τυπική αβεβαιότητα (%) υπό συνθήκες αναπαραγωγιμότητας.....	89
ΠΙΝΑΚΑΣ 8.13: Στοιχεία Οίνων που συμπεριλήφθησαν στην μελέτη.....	92
ΠΙΝΑΚΑΣ 8.14: Καταγραφή πειραματικών συνθηκών κατεργασίας δειγμάτων οίνου.....	95
ΠΙΝΑΚΑΣ 9.1: Προσδιορισμός μεταλλικής σύνθεσης δειγμάτων οίνου της ποικιλίας Ξινόμαυρο μετά από χώνευση με μικροκύματα και χρήση ICP-MS.....	99
ΠΙΝΑΚΑΣ Πίνακας 9.2: Κατάρτιση στοιχειακού αποτυπώματος για την ποικιλία Ξινόμαυρο.....	102
ΠΙΝΑΚΑΣ 9.3: Προσδιορισμός μεταλλικής σύνθεσης δειγμάτων οίνου διαφόρων ποικιλιών μετά από χώνευση με μικροκύματα και χρήση οργανολογίας ICP-MS.....	103
ΠΙΝΑΚΑΣ 9.4: Α' μοντέλο διάκρισης- 13 μεταλλικά στοιχεία.....	104
ΠΙΝΑΚΑΣ 9.5: Β' μοντέλο διάκρισης - 7 μεταλλικά στοιχεία.....	105

ΣΧΗΜΑΤΑ

ΣΧΗΜΑ 8.1 % Ανακτήσεις πιστοποιημένων υλικών αναφοράς TM Canada και δ/τος ελέγχου (QC) 5μg/L πάνω στις καμπύλες που κατασκευάστηκαν και σύγκριση των 3 προσεγγίσεων βαθμονόμησης για το Co και για το Cr.....	80
ΣΧΗΜΑ 8.2 Γραφικές παραστάσεις των καμπυλών βαθμονόμησης υδατικών διαλυμάτων Cd και Ni.....	81
ΣΧΗΜΑ 8.3 Διάγραμμα ελέγχου SCHEMA 62 03 για τον μόλυβδο.....	88
ΣΧΗΜΑ 8.4 Σύγκριση μεθόδων προκατεργασίας οίνου.....	96
ΣΧΗΜΑ 8.5 Προσδιορισμός Sr σε δείγματα οίνου που έχουν προκατεργαστεί με δύο διαφορετικές τεχνικές: χώνευση και αραίωση/παραμονή.....	96
ΣΧΗΜΑ 8.6 Προσδιορισμός Sr σε δείγματα οίνου με 2 διαφορετικές τεχνικές προκατεργασίας των δειγμάτων. Χ-άξονας: χώνευση με μικροκύματα, ψ-άξονας: αραίωση με πυκνό νιτρικό (40 min παραμονή).....	97
ΣΧΗΜΑ 9.1 Προσδιορισμοί B, Rb, Fe. Διαφοροποιήσεις στα περιεχόμενα ποσοστά των μετάλλων στα δείγματα οίνου που εξετάστηκαν.....	98
ΣΧΗΜΑ 9.2 Σχηματική απεικόνιση μεταλλικής σύνθεσης των δειγμάτων για B, Sr, Fe, Mn.....	100
ΣΧΗΜΑ 9.3 Σχηματική απεικόνιση μεταλλικής σύνθεσης των δειγμάτων για Li, V.	100
ΣΧΗΜΑ 9.4 Σχηματική απεικόνιση μεταλλικής σύνθεσης των δειγμάτων για Pd, Th, In, Co, Be.....	101
ΣΧΗΜΑ 9.5 Σχηματική απεικόνιση μεταλλικής σύνθεσης των δειγμάτων για Cr και Ni.....	101
ΣΧΗΜΑ 9.6 Παραγοντική ανάλυση (Factor Analysis) των δεδομένων για την κατάρτιση του στοιχειακού προφίλ τους ποικιλίας Ξινόμαυρο με 7 παράγοντες.....	106

ΕΙΚΟΝΕΣ

EIKONA 4.1 Το σταφύλι της ποικιλίας Ξινόμαυρο.....	24
EIKONA 6.1 α) οπτικό φάσμα ICP δ/τος δημητρίου 100ppm, β) φάσμα μαζών ICP δ/τος δημητρίου 10ppm.....	52
EIKONA 6.2 Δομή και λειτουργία ενός πυρσού παραγωγής πλάσματος	54
EIKONA 6.3 Διαδικασία ατομοποίησης.....	55
EIKONA 6.4 Σχηματική αναπαράσταση της λειτουργίας ενός οργάνου ICP-MS.....	57
EIKONA 6.5 Σχηματική απεικόνιση του εσωτερικού ενός οργάνου ICP-MS.....	58
EIKONA 6.6 Φάσμα ICP - MS πρότυπου δείγματος ορυκτού μετά από θερμική αποσύνθεση με λείζερ.....	59
EIKONA 6.7 Σχηματική απεικόνιση ενός εκνεφωτή.....	59
EIKONA 6.8 Σχηματική απεικόνιση του θαλάμου ψεκασμού.....	60
EIKONA 6.9 Διάμετρος σωλήνα έγχυσης του πυρσού. Α) σωλήνας ανεπαρκούς αποσύνθεσης του υποστρώματος. Β) σωλήνας επαρκούς αποσύνθεσης του υποστρώματος.....	62
EIKONA 6.10 Τετραπολικό φασματόμετρο μαζών.....	64
EIKONA 6.11 Σχηματική απεικόνιση ενός πολλαπλασιαστή ηλεκτρονίων συνεχούς δυνάδου.....	66
EIKONA 8.1 Η ευρύτερη περιοχή τους Νάουσας πάνω στον χάρτη της Ελλάδος..	90
EIKONA 8.2 Περιοχές καλλιέργειας της ποικιλίας Ξινόμαυρο.....	91

Πρόλογος

Η μελέτη που παρουσιάζεται στην παρούσα εργασία, πραγματοποιήθηκε στα πλαίσια του Μεταπτυχιακού Διπλώματος Ειδίκευσης, στον τομέα της Βιομηχανικής Χημείας του Τμήματος Χημείας της σχολής Θετικών Επιστημών, του Πανεπιστημίου Αθηνών. Όλες οι πειραματικές διαδικασίες που πραγματοποιήθηκαν, έλαβαν χώρα στο κτίριο της Υπηρεσίας της Χημικής Μετρολογίας, του Γενικού Χημείου του Κράτους των Αθηνών. Στα πλαίσια της μελέτης, υπήρξε συμμετοχή στο ετήσιο Συνέδριο Μετρολογίας 2016, με την ανάρτηση/παρουσίαση Πόστερ. Η συμμετοχή είναι καταγεγραμμένη στα πρακτικά του συνεδρίου όπου περιέχεται και η περίληψη της εργασίας.

ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ

ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 ΓΕΝΙΚΗ ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το κρασί αποτελεί ένα πολύ διαδεδομένο ποτό το οποίο καταναλώνεται ευρέως ανά τον κόσμο^[1], με εμφανή οικονομικά οφέλη για τις χώρες που το παράγουν^[9]. Αποτελεί ένα πολύπλοκο μίγμα καθώς εκτός από νερό, περιέχει σάκχαρα, αιθανόλη και μια ποικιλία οργανικών και ανόργανων συστατικών^[1].

Η περιεκτικότητα στα συστατικά αυτά εξαρτάται από πολλούς παράγοντες που συνδέονται άμεσα με τον τόπο καλλιέργειας, την ποικιλία του αμπελιού, το έδαφος, το κλίμα, την κουλτούρα του τόπου, τις ζύμες, την πρακτική οινοποίησης καθώς και τη μεταφορά και αποθήκευση του οίνου. Όλα τα χαρακτηριστικά αυτά, επηρεάζουν την ποιότητα και τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του, και αποτελούν σημαντικά στοιχεία για τη διαφοροποίηση και το χαρακτηρισμό του, με ενδιαφέρον στην ανίχνευση νοθείας^[2]. Οι απαιτήσεις για οίνους υψηλής ποιότητας αυξάνονται όλο και περισσότερο και κρίνουν απαραίτητη την κατανόηση της γεωγραφικής προέλευσης τους^[6].

Το κρασί αποτελεί ένα προϊόν το οποίο μπορεί να νοθευθεί πολύ εύκολα^[5] με σκοπό τη μείωση του κόστους και την ταυτόχρονη αύξηση του κέρδους. Αυτό μπορεί να επιτευχθεί με την προσθήκη εξωγενών σακχάρων πριν ή κατά τη διάρκεια της αλκοολικής ζύμωσης για αύξηση του αλκοολικού βαθμού ή με την ανάμιξη ακριβών και καλής ποιότητας οίνων με οίνους κατώτερης ποιότητας (διαφορετικής ποικιλίας ή προερχόμενων από άλλη περιοχή). Πολλοί παράγοντες μπορούν να μελετηθούν χρησιμοποιώντας τις κατάλληλες αναλυτικές τεχνικές για την ταξινόμηση των οίνων με βάση την ποικιλία ή/και την προέλευσή τους (προσδιορισμός αποτυπώματος-στόχευση στην αυθεντικότητα). Τέτοια είναι τα ανόργανα συστατικά, οι πτητικές ουσίες, το στοιχειακό προφίλ, ισοτοπικοί λόγοι μετάλλων, τα αμινοξέα, τα οργανικά οξέα, προφίλ πολυφαινόλων και τα σάκχαρα^[10]. Οι αρμόδιες αρχές κάθε χώρας είναι υπεύθυνες για την εγγύηση της αυθεντικότητας του οίνου και λειτουργούν με πολύ αυστηρές προδιαγραφές^[9].

Πίνακας 1.1 Τα συστατικά του οίνου

ΚΥΡΙΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ ΟΙΝΟΥ ⁽²⁶⁾	
	Περιεκτικότητα
Νερό	80-85 %
Οργανικά οξέα:	
Τρυγικό οξύ	2-5g/l
Μηλικό οξύ	0-4g/l
Κιτρικό οξύ	0-1g/l
(ηλεκτρικό, γαλακτικό, οξικό κ.α.)	ποικίλει
Αλκοόλες:	
Μεθανόλη	36-350mg/l
Αιθανόλη	10-16%
Ανώτερες αλκοόλες (προπανόλη, βουτανόλη κ.λπ.)	150-500mg/l
Πολυαλκοόλες (γλυκερόλη, μαννιτόλη κ.α.)	5,5-22,1g/l
Εστέρες (οξικός αιθυλεστέρας κ.α.)	2-10meq/l
Καρβονυλικές ενώσεις	
Ακεταλδεΐδη	50-1000mg/l
(ακετάλη κ.α.)	5-420mg/l
Τερπενικές ενώσεις (λιναλόλη, γερανιόλη κ.α.)	Ποικίλει
Σάκχαρα	ποικίλει

Τα τελευταία χρόνια, μεγάλο ενδιαφέρον παρουσιάζει η πολυστοιχειακή ανάλυση οίνων, με τη χρήση διαφόρων τεχνικών προσδιορισμού. Στη βιβλιογραφία έχουν αναφερθεί μελέτες οι οποίες έχουν ως στόχο τον έλεγχο της ποιότητας του οίνου, τον προσδιορισμό της ποικιλίας του οίνου, τον έλεγχο της συμφωνίας με τη νομοθεσία και τη συσχέτιση οίνου – εδάφους καλλιέργειας του αμπελιού από το οποίο προέρχεται ο οίνος. Η φασματοσκοπία ατομικής απορρόφησης (AAS, Atomic Absorption Spectroscopy) (με τις διάφορες μορφές της, φλόγα, υδρίδια, φούρνος γραφίτη: FAAS, HGAAS, GF AAS αντίστοιχα) έχει χρησιμοποιηθεί εκτεταμένα, δίνοντας πολύ ικανοποιητικά αποτελέσματα (1, 2, 3, 15, 16, 17, 19, 20, 25, 29, 36, 40), όπως επίσης και η φασματομετρία μάζας με επαγωγικά συζευγμένο πλάσμα (ICP-MS, Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometer) (4, 5, 6, 11, 22, 23, 24, 29, 30, 33, 34, 35, 37, 39, 41, 42, 45, 47). Οι τιμές των μακρο-στοιχείων (π.χ. K, P,

Na, Mg, κτλ) φαίνεται να επηρεάζονται κυρίως από την ακολουθούμενη γεωργική πρακτική και την πρακτική οινοποίησης, χωρίς να περιέχουν κρίσιμη για την αυθεντικότητα πληροφορία, σε αντίθεση με τους προσδιορισμούς μικρο-στοιχείων και σπάνιων γαιών. Επιπλέον, θα πρέπει να αναφερθούν και οι ICP-AES (7, 21, 41) και ICP-OES (9, 10, 12, 14, 30, 31, 32). Η ταξινόμηση οίνων από διαφορετικές περιοχές ή και χώρες έχει αποπειραθεί δίνοντας, τις περισσότερες φορές, πολύ ικανοποιητικά αποτελέσματα.

1.2 ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ ΜΕΛΕΤΗΣ ΤΗΣ ΠΑΡΟΥΣΑΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Στην παρούσα εργασία μελετάται το μονοποικιλιακό Ξινόμαυρο, ένας ελληνικός οίνος Π.Ο.Π. με σκοπό τη δημιουργία της στοιχειακής του “ταυτότητας” και τη δημιουργία μοντέλου με σκοπό τη διάκρισή του από άλλες ποικιλίες. Ακολουθεί σύγκριση και συσχετισμός με άλλες ποικιλίες οίνων από διάφορες περιοχές της Ελλάδος. Η μελέτη αυτή πραγματοποιήθηκε με την χρήση φασματομέτρου μάζας με επαγωγικά συζευγμένο πλάσμα (ICP-MS) και μελετήθηκαν οι περιεκτικότητες των εξής στοιχείων (Li, B, Be, Ti, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Ge, As, Se, Rb, Sr, Mo, Rh, Pd, Ag, Cd, In, Sn, Sb, Re, Os, Pt, Tl, Pb, Eu, Gd, Th, V, U) σε δείγματα οίνου. Η επεξεργασία των δεδομένων πραγματοποιήθηκε με τη χρήση στατιστικής ανάλυσης, για την εξαγωγή συμπερασμάτων.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

ΑΥΘΕΝΤΙΚΟΤΗΤΑ

2.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το κρασί είναι ένα από τα πιο σύνθετα αλκοολούχα ποτά, με μεγάλο οικονομικό αντίκτυπο για κάποιες διεθνούς φήμης τυπικές γεωγραφικές περιοχές. Για το λόγο αυτό η ανάπτυξη αναλυτικών μεθόδων για την ταξινόμηση των οίνων, είναι πολύ σημαντική, κυρίως για την εκχώρηση εμπορικού σήματος όπως είναι η προστατευόμενη ονομασία προέλευσης (Π.Ο.Π. ή PDO, protected designation of origin), η ελεγχόμενη ονομασία προέλευσης (Ο.Ε.Ο.Π ή CDO , controlled

designation of origin), προστατευόμενη γεωγραφική ένδειξη Π.Γ.Ε. (PGI, protected geographic indication), για οίνους υψηλής ποιότητας. Υπάρχουν διάφορες αναλυτικές μέθοδοι που έχουν αναπτυχθεί για το σκοπό αυτό, ώστε να είναι δυνατόν να προστατευθεί το σήμα κατατεθέν ποιοτικών οίνων από παράνομες νοθεύσεις. Η αυθεντικότητα των οίνων πρέπει να είναι εγγυημένη από αυστηρές κατευθυντήριες γραμμές, τις οποίες θέτουν οι αρμόδιες αρχές κάθε κράτους. Αυτές περιλαμβάνουν, την επίσημη αξιολόγηση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών των οίνων, χημικές αναλύσεις και τον έλεγχο του πρωτόκολλου που ακολουθείται από τον οινοπαραγωγό.^[48]

Τα τελευταία χρόνια μεγάλο ενδιαφέρον παρουσιάζει η απάτη της ετικέτας-παραπλάνηση/εξαπάτηση, καθώς πλαστές ετικέτες από σπάνια και ακριβά κρασιά, τοποθετούνται σε φιάλες με κατώτερο περιεχόμενο. Οίνοι που προέρχονται από περιοχές λιγότερο αναγνωρίσιμες επισημαίνονται ως οίνοι από διάσημες περιοχές, όπως το Μπορντώ και η Τοσκάνη, με στόχο το κέρδος. Μια πρακτική νοθείας που σήμερα θεωρείται αποδεκτή, είναι η προσθήκη μιας ποικιλίας για την ενίσχυση μιας άλλης πιο αδύναμης, με την υποχρέωση όμως να υπάρχει και η αντίστοιχη επισήμανση στην ετικέτα.^[50] Καθώς η γεωγραφική προέλευση, η ποικιλία και η ηλικία του οίνου είναι τα χαρακτηριστικά εκείνα τα οποία καθορίζουν την τιμή του, η δυνατότητα ελέγχου και προσδιορισμού τους, καθίσταται αναγκαία.^[48]

Ο γενικός όρος «ΝΟΘΕΥΣΗ» περιλαμβάνει διάφορα είδη απάτης τα σημαντικότερα από τα οποία είναι:

- (1) η αραίωση των οίνων με νερό,
- (2) η προσθήκη αιθανόλης, και διαφόρων άλλων συστατικών για τη βελτιστοποίηση του χρώματος, όψης και της γεύσης,
- (3) η ανάμειξη ή η αντικατάσταση με οίνους κατώτερης ποιότητας,
- (4) η τοποθέτηση ψευδούς ετικέτας (ποικιλία και γεωγραφική προέλευση) και
- (5) η προσθήκη εξωγενών σακχάρων για αύξηση του αλκοολικού τίτλου.

Ο έλεγχος της νόθευσης είναι ένα ιδιαίτερα πολύπλοκο ζήτημα, καθώς η νομοθεσία για τους οίνους διαφέρει από χώρα σε χώρα. Για παράδειγμα η προσθήκη νερού σε συγκεκριμένα επίπεδα επιτρέπεται σε κάποιες πολιτείες της Αμερικής, κάτι το οποίο απαγορεύεται από τους νόμους της Ευρωπαϊκής Ένωσης.^[46]

Ο ευρωπαϊκός Κανονισμός του Συμβουλίου (Commission Regulation, EC, No 753/2002) καθορίζει τους κανόνες για την εφαρμογή του Κανονισμού του Συμβουλίου (EC) No 1493/1999 όσον αφορά στην περιγραφή, στην ονομασία, στην παρουσίαση και στην προστασία συγκεκριμένων προϊόντων οίνου. Ο εν λόγω κανονισμός EC 753/2002 ελέγχει την επωνυμία, την ονομασία και την προστασία των οίνων, έχει τροποποιηθεί από τους Κανονισμούς No 316/2004 και No 1429/2004.^[48]

Η Ευρωπαϊκή Ένωση έχει θεσπίσει κανόνες για την αντιμετώπιση του προβλήματος της νόθευσης του οίνου, μέσα στους οποίους περιλαμβάνεται η επικύρωση της αυθεντικότητας οίνων που μεταφέρονται σε εμπορευματοκιβώτια με την συνοδεία εγγράφων πιστοποίησης. Επιπλέον, έχει αναπτυχθεί μια online βάση δεδομένων η οποία συνεχώς ενημερώνεται με όλες τις γεωγραφικές ενδείξεις και τις ονομασίες προέλευσης που προστατεύονται από την Ε.Ε..^[46]

2.2 ΑΥΘΕΝΤΙΚΟΤΗΤΑ ΓΕΩΓΡΑΦΙΚΗΣ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ

Οι κλιματικοί και εδαφικοί παράγοντες μιας γεωγραφικής περιοχής επηρεάζουν την διαδικασία ωρίμανσης του αμπελιού και την ποσότητα και ποιότητα των σταφυλιών κατά τη συγκομιδή. Ως αποτέλεσμα, η σύνθεση/σύσταση και τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του οίνου επηρεάζονται άμεσα. Λαμβάνοντας υπόψη ότι η περιοχή παραγωγής παίζει καθοριστικό ρόλο για τα ποιοτικά χαρακτηριστικά του οίνου, τα οποία αντικατοπτρίζονται στην τελική τιμή του προϊόντος, η πιστοποίηση της αυθεντικότητας του οίνου μέσω του καθορισμού της γεωγραφικής του προέλευσης είναι καθοριστικής σημασίας.

Ο όρος “terroir” έχει χρησιμοποιηθεί για να περιγράψει γεωγραφικές τοποθεσίες στις οποίες υπάρχει παραγωγή οίνου με συγκεκριμένα μεταξύ των άλλων οργανοληπτικά χαρακτηριστικά. Οι εκτάσεις Π.Ο.Π., είναι περιοχές με καθορισμένα όρια, παραδοσιακές, τα κρασιά των οποίων έχουν εξαιρετικά χαρακτηριστικά και προσωπικότητα, τα οποία τα καθιστούν μοναδικά. Για την προστασία αυτών των περιοχών, οι περισσότερες χώρες έχουν αναπτύξει νόμους.

Για τον καθορισμό της αυθεντικότητας της γεωγραφικής προέλευσης των οίνων θα πρέπει να μπορεί να υπάρξει σύνδεση μεταξύ των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών και αναλυτικών δεδομένων, με παράγοντες που αφορούν το οικοσύστημα του

αμπελιού, το οποίο όμως μπορεί να εμφανίσει σημαντικές μεταβολές. Μέχρι πρόσφατα βέβαια, ο μόνος τρόπος για τον καθορισμό της γεωγραφικής προέλευσης οίνων ήταν οι αισθητήριες εκτιμήσεις από γευσιγνώστες. Παρά την μεγάλη εξειδίκευση, σε αυτό τον τομέα, τα τελευταία χρόνια, η μέθοδος αυτή περιλαμβάνει μεγάλο ποσοστό αβεβαιότητας και αποτυχίας. Έτσι, η επεξεργασία του οίνου και ο διαχωρισμός των συστατικών, τα οποία βρίσκονται σε πολύ μικρές ποσότητες ή και ίχνη, μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον επιτυχή καθορισμό της προέλευσης. Οι κύριες μέθοδοι που έχουν χρησιμοποιηθεί για τον καθορισμό της αυθεντικότητας της προέλευσης είναι:

- Η ανάλυση του προφίλ των πτητικών συστατικών,
- Η ανάλυση αμινοξικού προφίλ (περιεχόμενο σε αμινοξέα),
- Η στοιχειακή ανάλυση και
- Η ανάλυση σταθερών ισοτόπων και ισοτοπικών λόγων.^[48]

2.2.1 Προσδιορισμός Ισοτοπικών Λόγων

Μια πορεία προσέγγισης της αυθεντικότητας του οίνου περιλαμβάνει τον προσδιορισμό ισοτόπων. Ο προσδιορισμός της περιεκτικότητας ^{14}C σε οίνους μπορεί να προσδιορίσει επιτυχώς τον χρόνο της εσοδείας. Ο ισοτοπικός λόγος $^2\text{H}/^1\text{H}$ της αιθανόλης είναι επίσης συνδεδεμένος με τις περιβαλλοντικές συνθήκες της χρονιάς που έγινε η σοδειά, ενώ ο προσδιορισμός αυτού του ισοτοπικού λόγου με τη χρήση SNIF (specific natural isotope fractionation) - NMR μπορεί να ανιχνεύσει την προσθήκη κάποιων σακχάρων, κυρίως από τα ζαχαρότευτλα. Ο προσδιορισμός των ισοτόπων του οξυγόνου μπορεί να εφαρμοσθεί για τον προσδιορισμό της προέλευσης του οίνου και για τον έλεγχο νόθευσης. Ο προσδιορισμός του ισοτοπικού λόγου $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ μπορεί να δώσει πολύ ικανοποιητικά αποτελέσματα όσον αφορά την προέλευση του οίνου, καθώς δεν μεταβάλλεται κατά τις διαδικασίες της ζύμωσης και της παλαίωσης του οίνου. Ο ισοτοπικός λόγος $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ μπορεί επίσης να διερευνηθεί για τον προσδιορισμό της προέλευσης οίνων.^[8]

2.2.2 Πολυστοιχειακή ανάλυση οίνων

Εξαιτίας της χημικής σταθερότητας μερικών μεταλλικών στοιχείων, η μέθοδος της αποτύπωσης του στοιχειακού προφίλ, είναι η πιο πολύτιμη για τον προσδιορισμό της γεωγραφικής προέλευσης. Η φυσικοχημική ανάλυση ενός οίνου αντανακλά τη σύνθεση/σύσταση του εδάφους, αν και εξαρτάται και από άλλους κρίσιμους παράγοντες. Αυτό ισχύει κυρίως για τα σταφύλια και τις ζύμες και λιγότερο για το κρασί, γιατί αυτό υφίσταται σημαντικές αλλαγές κατά τη μετατροπή των σταφυλιών σε κρασί, εξαιτίας των επιπτώσεων των διαφόρων τεχνολογικών διαδικασιών, καθώς και λόγω συνθηκών συντήρησης και αποθήκευσης του οίνου.

Καθ' ό τι μερικά από τα μακρο- και μικροθρεπτικά συστατικά, όπως είναι το Na, K, Ca, Fe, Cu, Zn και άλλα, υφίστανται σημαντικές μεταβολές κατά την διάρκεια των τεχνολογικών διαδικασιών επεξεργασίας (καλλιέργεια, τεχνικές οινοποίησης, κτλ), οι μελέτες έχουν επικεντρωθεί στα στοιχεία αυτά που εμφανίζουν ελάχιστες μεταβολές. Τα στοιχεία αυτά βέβαια, βρίσκονται σε πολύ μικρές ποσότητες ή σε ίχνη (Cr, Co, Sb, Cs, Sc, Eu, Hf, Ta κ.λπ.). Η περιεκτικότητα κάποιων ιχνοστοιχείων, όπως είναι οι αλκαλικές γαίες και το λίθιο και το ρουβίδιο, επηρεάζεται λιγότερο από τις τεχνολογικές διαδικασίες παρασκευής κρασιού, έτσι αποτελούν τα πιο κατάλληλα εργαλεία για τον προσδιορισμό της αυθεντικότητας της γεωγραφικής προέλευσης των οίνων.^[48]

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

ΑΝΟΡΓΑΝΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ ΣΤΟΝ ΟΙΝΟ

3.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Στον οίνο περιέχονται 2-4 g/l ανόργανων συστατικών, στα οποία περιλαμβάνονται κυρίως ανόργανα οξέα, αλλά και μερικά οργανικά. Τα ανόργανα συστατικά σχηματίζονται στους βλαστούς της αμπέλου και μεταφέρονται στο σταφύλι, απ' όπου τελικά περνούν στο γλεύκος και στη συνέχεια στον οίνο. Η περιεκτικότητα και η αναλογία των ανόργανων συστατικών διαφέρει στο σταφύλι και στον οίνο. Οι διακυμάνσεις αυτές οφείλονται στην ανομοιογενή εγκατάστασή τους στα διάφορα μέρη του σταφυλιού (βόστρυγες, ράγες (φλοιός, σάρκα, γίγαρτα)) και στο διαφορετικό βαθμό διαλυτότητάς τους.^[26]

3.2 ΜΕΤΑΛΛΑ – ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΣΤΟΝ ΟΙΝΟ

Συνήθως όλα τα μεταλλικά ιόντα εμφανίζονται φυσικά στο κρασί, σε μη τοξικά/επιβλαβή επίπεδα. Κάποια από τα στοιχεία αυτά είναι απαραίτητα για τη σωστή πορεία της ζύμωσης, ενώ επηρεάζουν την καθαρότητα, το άρωμα και τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του οίνου^[52] (γεύση, φρεσκάδα, χρώμα)^[38]. Τα Ca, K, Mg και Na συμμετέχουν στη ρύθμιση του κυτταρικού μεταβολισμού των ζυμών, διατηρώντας το απαιτούμενο pH και την ιοντική ισορροπία. Λιγότερο σημαντικά μέταλλα όπως τα Cu, Fe, Mn, Zn και κάποια ιχνοστοιχεία λειτουργούν ευνοϊκά για τις ζύμες καθώς είναι απαραίτητα για την ενεργοποίηση κάποιων ενζύμων^[38]. Γενικά τα ερυθρά σταφύλια, παρουσιάζουν μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε μέταλλα, σε σχέση με τα λευκά, ενώ το κρασί που παράγεται έχει μικρότερη περιεκτικότητα απ' ό,τι τα σταφύλια από τα οποία παράχθηκε.^[50] Στον παρακάτω πίνακα φαίνεται η περιεκτικότητα που αναμένεται στους οίνους, για τα πιο σημαντικά στοιχεία.

Πίνακας 3.1: Περιεκτικότητα μετάλλων στους οίνους

Μέταλλο	Περιεκτικότητα σε ppm (mg/L)
K	100-1800
Na	20-200
Ca	80-100
Mg	80-120
Fe	40-50
Cu	0.1-5
Al	10
Zn	0.1-5
Mn	0.5-10
As	0.01
Pb	0.1-0.4 ^[26]

Τα μεταλλικά ιόντα: Fe, Cu, Mn συμμετέχουν στην αποσταθεροποίηση του οίνου, ενώ άλλα, συμπεριλαμβανομένων των Cu, Fe, Al, Zn και Ni, συνεισφέρουν στην ανάπτυξη του θολώματος και σε μη επιθυμητές μεταβολές του αρώματος και της γεύσης.^[52] Υψηλές συγκεντρώσεις σε Cu, Fe και Mn σε οίνους που παλαιώνονται,

προκαλούν την «αμαύρωση» του οίνου, ένα φαινόμενο που οδηγεί στην απώλεια της φρεσκάδας και του αρώματός του, καθώς επίσης και στην καθίζηση ταννινών.^[38]

Τα στοιχεία K, Ca, και Mg αναμένονται στο κρασί λόγω της υψηλής περιεκτικότητας ενδοκυτταρικά ^[50]. Κάποια από τα μέταλλα, μπορεί να εμφανισθούν σε μεγαλύτερα ποσοστά, λόγω των γεωργικών εργασιών στον αμπελώνα (π.χ. λίπανση, κτλ). Τα λιπάσματα και φυτοφάρμακα που χρησιμοποιούνται, είναι υπεύθυνα για την αυξημένη περιεκτικότητα στα κατιόντα Cu, Zn και Mn. Το κρασί και οι ζύμες, λόγω της οξύτητάς τους, είναι ικανά να διαλύουν τα Cu, Ni, Zn ακόμη και το Cr από τον οينوποιητικό εξοπλισμό (σωλήνες, πώματα).

Τα “βαρέα” μέταλλα είναι τοξικά για τα βιολογικά συστήματα εξαιτίας της αρνητικής επίδρασής τους στην φυσιολογική λειτουργία κάποιων ενζυμικών κυττάρων ^[52]. Ο όρος “βαρέα” μέταλλα περιλαμβάνει τα στοιχεία As, Cd, Cr, Cu, Fe, Pb, Mn, Hg, Mo, Ni, V, Zn, Al, Co, Sr και κάποια άλλα πιο σπάνια. ^[50]

Κατά τις διαδικασίες της οينوποίησης οι αλκαλικές γαίες, το Li, το Rb και κάποιες λανθανίδες (σπάνιες γαίες), δεν εμφανίζουν σημαντικές διαφοροποιήσεις, σε αντίθεση με τα μάκρο και κάποια μικρο θρεπτικά συστατικά (K, Ca, Fe, Cu, Zn). Κατά την προσθήκη μπετονίτη οι συγκεντρώσεις κάποιων σπάνιων γαιών (La, Ce, Pr, Nd, Sm, Eu, Gd, Tb, Dy, Ho, Er, Tm, Yb, Lu μπορούν να επηρεαστούν σημαντικά.^[46]

3.3 ΚΥΡΙΕΣ ΠΗΓΕΣ ΜΕΤΑΛΛΙΚΗΣ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΣΤΟΥΣ ΟΙΝΟΥΣ

Οι κύριες πηγές προέλευσης των μετάλλων στους οίνους χωρίζονται σε δύο μεγάλες κατηγορίες. Η πρώτη αφορά το μητρικό έδαφος καλλιέργειας και τα ιδιαίτερα χαρακτηριστικά του, ενώ η δεύτερη αφορά τις ανθρωπογενείς πηγές οι οποίες μπορούν να χωριστούν σε 3 υποκατηγορίες:

- 1) Η εφαρμογή οργανικών και μεταλλικών λιπασμάτων, ανόργανων φυτοφαρμάκων και άλλων συστατικών που χρησιμοποιούνται στις καλλιεργητικές πρακτικές. Για παράδειγμα, τα φωσφορικά λιπάσματα είναι γνωστό πως έχουν υψηλές συγκεντρώσεις καδμίου. Τα φυτοφάρμακα

μπορούν να αυξήσουν την περιεκτικότητα σε χαλκό, αρσενικό και ψευδάργυρο.

- 2) Η ρύπανση του περιβάλλοντος χώρου η οποία δεν σχετίζεται άμεσα με τις καλλιεργητικές τεχνικές που εφαρμόζονται στην άμπελο. Αυτή η πηγή σχετίζεται κυρίως με παράγοντες που είναι είτε γεωγενούς προέλευσης (περιεκτικότητα σε πετρώματα, εδαφολογική σύσταση, κτλ), οδηγώντας σε αύξηση λιθόφιλων στοιχείων (Sr, Mn, Al, Ti), είτε ανθρωπογενούς προέλευσης (π.χ. μόλυνση περιβάλλοντος με ανόργανους ρυπαντές, κτλ) οδηγώντας σε μεγαλύτερες περιεκτικότητες στοιχείων (Pb, V, Zn, Ni, Cd).
- 3) Οι εφαρμογές οινοποιητικών πρακτικών/τεχνικών και η χρήση του εξοπλισμού (π.χ. Fe, Al και Cr απελευθερώνονται από τον οινοποιητικό εξοπλισμό, τις σωληνώσεις και τις δεξαμενές φύλαξης). Ο μπετονίτης και άλλα πρόσθετα που χρησιμοποιούνται για τη διαύγαση του οίνου από τα συστατικά που προκαλούν θάμπωμα/θολερότητα, μπορούν να αποτελέσουν μια σημαντική πηγή Al και πηγή αλκαλικών κατιόντων ή/και σπάνιων γαιών.^[29]

3.3.1 Βασικοί παράγοντες που καθορίζουν την περιεκτικότητα σε μεταλλικά ιόντα

- Το έδαφος στο οποίο καλλιεργείται η άμπελος^[39] συμπεριλαμβανομένου και της ρύπανσής αυτού^[50].
- Η ικανότητα της αμπέλου να απορροφά ανόργανα συστατικά.
- Όλες οι διαδικασίες από τον κύκλο παραγωγής του οίνου (γεωργικές πρακτικές/τεχνικές, διαδικασία οινοποίησης, κτλ)^[39].

Αυτές περιλαμβάνουν τις κατεργασίες πριν τη συγκομιδή των σταφυλιών^[39] (χρήση φυτοφαρμάκων και λιπασμάτων^[50]), τη ζύμωση, την εμφιάλωση και την αποθήκευση του οίνου^[39].

3.3.2 Διαχωρισμός στοιχείων σε ομάδες, ανάλογα με την προέλευσή τους

- I. Στοιχεία τα οποία δεν προκύπτουν από την οινοποιητική διαδικασία αλλά προέρχονται από το έδαφος και από την ικανότητα της ρίζας να

απορροφά ανόργανα συστατικά από το χώμα. Σε αυτές συμπεριλαμβάνονται τα εξής: Al, B, Ba, Li, Mn, Mo, Rb, Si, Sr, Ti κ.α.

- II. Στοιχεία, η περιεκτικότητα των οποίων εξαρτάται εκτός από φυσικούς παράγοντες και από την διαδικασία της οινοποίησης. Ca και Mg προστίθενται ως ανθρακικά άλατα, Cu και Zn προκύπτουν από μυκητοκτόνα και από τον οινοποιητικό εξοπλισμό. Η περιεκτικότητα σε Fe επίσης αυξάνεται λόγω του οινοποιητικού εξοπλισμού, K προστίθενται στο κρασί ως μεταθειώδες ή ανθρακικό άλας, Na προστίθεται συχνά παράνομα ως NaCl και τέλος, P ως φωσφορικό άλας του ασβεστίου ή ως αμμωνιακό άλας.
- III. Στοιχεία, η περιεκτικότητα των οποίων εξαρτάται σχεδόν αποκλειστικά από την διαδικασία της οινοποίησης όπως είναι τα Pb, Co, Cr, Ni, V κ.α.^[39]

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

Η ΠΟΙΚΙΛΙΑ ΞΙΝΟΜΑΥΡΟ

4.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το Ξινόμαυρο είναι μια ποικιλία μακεδονικής προέλευσης και θεωρείται η ευγενέστερη ερυθρή ποικιλία του βορειοελλαδικού χώρου.^[58] Καλλιεργείται στη Βόρειο Ελλάδα, στις περιοχές Ναούσης, Γουμένισσας, Κοζάνης, Γρεβενών, Σιάτιστας και Αμυνταίου. Η καλλιέργεια της ποικιλίας αυτής φτάνει και νοτιότερα μέχρι τη βόρεια Θεσσαλία, στην περιοχή της Ραψάνης.^[55] Από την ποικιλία αυτή παράγονται οίνοι Ο.Π.Α.Π. (Ονομασία Προελεύσεως Ανωτέρας Ποιότητας) καθώς και διάφοροι Τοπικοί Οίνοι με την ανάμειξή του με άλλες ποικιλίες.^[58]



Εικόνα 4.1: Το σταφύλι της ποικιλίας Ξινόμαυρο

4.2 ΟΝΟΜΑΣΙΑ ΠΟΙΚΙΛΙΑΣ

Στους νεότερους χρόνους, το Ξινόμαυρο συναντάται με τις ονομασίες Μαύρο Ναούσης, Μαύρο Νταουστιανό, Ποπόλκα, Ξινόγκαλτσο,^[58] Μαύρο Ξινό^[56]). Το ερυθρό χρώμα του φλοιού των ραγών είναι τόσο σκούρο που για αυτό το λόγο το δεύτερο συνθετικό του ονόματος του είναι «μαύρο», ενώ το πρώτο συνθετικό οφείλεται στην έντονη ξινή γεύση, λόγω της μεγάλης περιεκτικότητας σε οξέα.^[58]

4.3 ΙΣΤΟΡΙΚΑ

Η αρχή της καλλιέργειας της ποικιλίας στην περιοχή της Νάουσας ξεκινά από πολύ παλιά, ενώ σύντομα η φήμη του εξαπλώθηκε στον κόσμο περνώντας τα σύνορα της χώρας. Στις αρχές του 20ού αιώνα, οι ναουσαίοι αμπελώνες προσβλήθηκαν από φυλλοξήρα και σταδιακά καταστράφηκαν. Στη δεκαετία του 1960, με τη βοήθεια ειδικών επιστημόνων, ξεκίνησε η προσπάθεια με σκοπό να ξαναζωντανέψει η αμπελοκαλλιέργεια στην περιοχή. Το 1968, η εταιρία Μπουτάρη μετέτρεψε 520 στρέμματα άγριων δένδρων και θάμνων σε αμπελώνα στο Γιαννακοχώρι Νάουσας, καλλιεργώντας, με τις τελευταίες μεθόδους αμπελοκαλλιέργειας, το σταφύλι της περιοχής, το Ξινόμαυρο.^[53]

4.4 ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΠΟΙΚΙΛΙΑΣ

Η ποικιλία αυτή είναι ζωνή, γόνιμη και παραγωγική. Τα σταφύλια της ποικιλίας είναι μέτρια ως μεγάλα και πυκνόραγα. Το μέγεθος των ραγών κυμαίνεται από μικρό ως μεσαίου μεγέθους, έχουν σχήμα σφαιρικό, είναι αρκετά χυμώδεις και ο φλοιός τους είναι παχύς, κυανομέλανου χρώματος.^[58] Η ποικιλία έχει γόνιμο τον τυφλό οφθαλμό, η βλάστηση της είναι ορθόκλαδη και σχετικά όψιμης ωρίμανσης. Κλαδεύεται συνήθως στα δύο μάτια.^[56] Η διαμόρφωση γινόταν παλαιότερα σε χαμηλόκορμα σχήματα. Τα τελευταία χρόνια άρχισε να διαμορφώνεται σε αμφίπλευρα γραμμοειδή.^[57] Είναι ευαίσθητη στον περονόσπορο, το ωίδιο, το βοτρυτή και τον μολυσματικό εκφυλισμό.^[56] Το Ξινόμαυρο γενικά προτιμά εδάφη ασβεστώδη, ξηρά και βαθιά.^[55] Για την παραγωγή υψηλής ποιότητας προϊόντος χρειάζεται εδάφη βαθιά, γόνιμα και με επάρκεια υγρασίας.^[56]

Οι οίνοι που παράγονται χαρακτηρίζονται από καλό ερυθρό χρώμα και από επιδεκτικότητα παλαίωσης. Το Ξινόμαυρο είναι μια πολυδυναμική ποικιλία με δύο βαθμούς τεχνολογικής ωριμότητας. Σε περιοχές όπως η Νάουσα, τα σταφύλια της ποικιλίας ωριμάζουν καλά. Για το λόγο αυτό, μπορούν να δώσουν θαυμάσιους ερυθρούς ξηρούς οίνους με υψηλό αλκοολικό τίτλο, χαρακτηριστική στυφάδα και οξύτητα, κάνοντας έτσι να ξεχωρίζουν από τους υπόλοιπους ελληνικούς οίνους. Οι οίνοι αυτοί είναι πλούσιοι σε χρώμα και εκχυλισματικές ύλες και όταν παλαιώνουν αποκτούν θαυμάσιο μπουκέτο. Σε περιοχές όπως το Αμύνταιο όπου τα σταφύλια της ποικιλίας δεν ωριμάζουν καλά, μπορούν να δώσουν αξιόλογους ροζέ αφρώδεις και ημιαφρώδεις οίνους ή οίνους ερυθρούς στους οποίους εξουδετερώνεται μερικά η υψηλή οξύτητα.^[58]

4.5 ΠΕΡΙΟΧΕΣ ΟΙΝΩΝ Ο.Π.Α.Π. ΤΗΣ ΠΟΙΚΙΛΙΑΣ ΞΙΝΟΜΑΥΡΟ

Φυτεμένο σε κάθε γωνιά της κεντρικής και της Βόρειας Ελλάδας, το Ξινόμαυρο είναι αποκλειστικά υπεύθυνο για τα κρασιά Ο.Π.Α.Π. Νάουσα (ερυθροί ξηροί οίνοι), οι οποία με παλαίωση αποκτούν περίφημο μπουκέτο όπου κυριαρχούν τα αρώματα μπαχαρικών και για τους οίνους Ο.Π.Α.Π. Αμύνταιο (ερυθροί ξηροί οίνοι, ροζέ αφρώδεις οίνοι, ξηροί και ημίγλυκοι). Η ποικιλία συμμετέχει επίσης στα κρασιά

Ο.Π.Α.Π. Γουμένισσα σε αναλογία 80:20 με την ποικιλία Νεγκόσκα, μια πρώιμη, ερυθρή, γηγενή ποικιλία που έχει πιο έντονο χρώμα και μικρή οξύτητα.^[58] Τα σταφύλια διαβρέχονται και οινοποιούνται μαζί^[54], ενώ ο οίνος που προκύπτει είναι πιο σκουρόχρωμος και πιο μαλακός και επιδέχεται παλαίωση^[58]. Στους οίνους Ο.Π.Α.Π. Ραψάνη αναμιγνύεται με τις ερυθρές ποικιλίες Κρασάτο και Σταυρωτό^[26]. Τέλος συμμετέχει σε ανάμειξη και με άλλες ποικιλίες στην παραγωγή ορισμένων Τοπικών Οίνων (Μακεδονικός, Πλαγιές Βερτίσκου, Χαλκιδικής κ.α.)^[58]

4.5.1 Ο.Π.Α.Π. Νάουσα

Η Νάουσα μαζί με τη Νεμέα αποτελούν τις σημαντικότερες περιοχές παραγωγής ερυθρών οίνων στην Ελλάδα. Το Ξινόμαυρο είναι η μοναδική ποικιλία που καλλιεργείται για την παραγωγή των Π.Ο.Π. οίνων της Νάουσας. Η οινοπεριοχή αυτή έχει μελετηθεί και έχει αξιολογηθεί εις βάθος, ώστε να συζητείται η νομική ταξινόμηση των διαφόρων τοποθεσιών της.^[53]

Οι οίνοι που φέρουν το όνομα Νάουσα, προϋποθέτουν απαραίτητα περιεκτικότητα του γλεύκους σε ζάχαρα τουλάχιστον ίση με 188g/L. Επίσης, οι στρεμματικές αποδόσεις των αμπελώνων δε θα πρέπει να ξεπερνούν τα 600kg σταφυλιών ανά στρέμμα, ενώ η παλαίωση του οίνου γίνεται σε δρύινα βαρέλια για ένα χρόνο τουλάχιστον.^[26]

Στη ζώνη παραγωγής Ο.Π.Α.Π. Νάουσα βρίσκονται περίπου 7000 στρέμματα αμπελιών. Οι οίνοι που παράγονται χαρακτηρίζονται από αισθητές και λίγο επιθετικές ταννίνες. Τα αρώματα που κυριαρχούν είναι τα κόκκινα φρούτα τα οποία συνδυάζονται συχνά με αρώματα ντομάτας και ελιάς, καθώς και γήινες και μεταλλικές νότες για τους παλαιωμένους οίνους. Κανένα άλλο κρασί στην Ελλάδα δεν επιδέχεται τόσο μεγάλη ικανότητα παλαίωσης, ενώ ειδικοί γευστιγνώστες παρομοιάζουν τις καλές «Νάουσες» με κρασιά της Βουργουνδίας στη Γαλλία και τα Μπαρόλο στο Πεδεμόντιο της Ιταλίας.^[53]

4.5.2 Ο.Π.Α.Π. Γουμένισσα- Πέλλα

Η παραγωγή παλαιωμένων κόκκινων οίνων, οινοποιημένων από τις ποικιλίες Ξινόμαυρο και Νεγκόσκα σε αναλογία 4:1. αφορά τη περιοχή καλλιέργειας της Γουμένισας.^[53]

Για τους οίνους που φέρουν το όνομα Γουμένισα, απαραίτητη προϋπόθεση είναι η απόδοση των αμπελώνων να μη ξεπερνά τα 1000kg σταφυλιών ανά στρέμμα. Επίσης, οι αμπελώνες θα πρέπει να έχουν ηλικία μεγαλύτερη από τα τέσσερα έτη και να μην αρδεύονται, η φυσική περιεκτικότητα του γλεύκους να είναι μεγαλύτερη από 196g/L και ο παραγόμενος οίνος να έχει φυσικό αποκτηθέντα αλκοολικό τίτλο, τουλάχιστον 11,5% κατ' όγκο. Τέλος, ο οίνος θα πρέπει να παραμένει σε δρύινα βαρέλια χωρητικότητας όχι μεγαλύτερης των 600L, τουλάχιστον για ένα χρόνο.^[26]

Οι οίνοι Π.Ο.Π. της Γουμένισας χαρακτηρίζονται από λεπτή ευωδία και εξαιρετικά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά.^[53]

Όλα σχεδόν τα μεγάλα και τα πιο μικρά οινοποιεία των περιοχών Γουμένισα και Νάουσα είναι επισκέψιμα και εντάσσονται στο «Δρόμο του Κρασιού των Μακεδόνων Βασιλέων», που αποτελεί μια διαδρομή των οινικών δρόμων της Μακεδονίας.

4.5.3 Ο.Π.Α.Π. Αμύνταιο

Το μεγάλο υψόμετρο, οι τέσσερις λίμνες που αγκαλιάζουν μορφολογικά την περιοχή και τα ψηλά βουνά, συνθέτουν ένα πολύ ιδιαίτερο *terroir* για τους αμπελώνες του Αμύνταιου. Στο Αμύνταιο επικρατούν συχνές βροχοπτώσεις και παγετοί.^[53] Τα Ξινόμαυρα της περιοχής (100% καλλιέργεια Ξινόμαυρο) έχουν λιγότερο επιθετικές ταννίνες απ' ό,τι αυτά της Νάουσας, έχουν χαμηλότερο αλκοολικό τίτλο, μεγαλύτερη οξύτητα και μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε μηλικό οξύ.^[26]

Οι οίνοι που φέρουν το όνομα Αμύνταιο, προϋποθέτουν περιεκτικότητα του γλεύκους σε ζάχαρα τουλάχιστον ίση με 179g/L. Οι στρεμματικές αποδόσεις των αμπελώνων δε θα πρέπει να ξεπερνούν τα 1000kg σταφυλιών ανά στρέμμα, ενώ η παλαίωση των ερυθρών ξηρών οίνων γίνεται σε δρύινα βαρέλια για ένα τουλάχιστον έτος.^[26]

Είναι η μόνη Π.Ο.Π. περιοχή που αφορά εκτός από ερυθρούς και ροζέ ήσυχους οίνους, ροζέ αφρώδεις οίνους (ξηροί και ημίγλυκοι).^[26]

4.5.4 Ο.Π.Α.Π. Ραψάνη

Οι οίνοι της Π.Ο.Π. περιοχής Ραψάνη θα πρέπει να συμπεριλαμβάνουν τις τρεις ποικιλίες Ξινόμαυρο, Κρασάτο και Σταυρωτό στο ίδιο ποσοστό. Πλέον βέβαια η ποικιλία που επικρατεί στους νέους αμπελώνες είναι το Ξινόμαυρο.^[53]

Η στρεμματική απόδοση των αμπελώνων δεν θα πρέπει να ξεπερνά τα 800g/L, ενώ η περιεκτικότητα σε σάκχαρα θα πρέπει να είναι τουλάχιστον 188g/L. Οι οίνοι Ραψάνη επιδέχονται υποχρεωτικά ένα χρόνο παλαίωσης σε δρύινα βαρέλια.^[26]

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ

5.1 ΜΕΛΕΤΕΣ ΣΕ ΕΥΡΩΠΗ ΚΑΙ ΥΠΟΛΟΙΠΟ ΚΟΣΜΟ

Η ταξινόμηση οίνων από διαφορετικές χώρες/περιοχές έχει περιγραφεί στη βιβλιογραφία, δίνοντας, τις περισσότερες φορές, πολύ ικανοποιητικά αποτελέσματα. Παρακάτω παρουσιάζεται συνοπτικά ένα μεγάλο μέρος της έρευνας που έχει πραγματοποιηθεί για την πολυστοιχειακή ανάλυση οίνων.

5.1.1 ΕΥΡΩΠΗ

- **ΕΛΛΑΔΑ**

Στην Ελλάδα (Κρήτη), η μοναδική εγγραφή αναφέρεται σε μια μελέτη του 2002, στην οποία ουσιαστικά περιγράφεται η συμμόρφωση των δειγμάτων με την νομοθεσία, όσον αφορά τη συγκέντρωση σε κάποια βαρέα μέταλλα (Al, As, Cd, Cr, Cu, Fe, Pb, Mn, Ni και Zn), σε δείγματα οίνου και τσικουδιάς. Η τεχνικές που χρησιμοποιήθηκαν ήταν η GFAAS και η X-ray φασματομετρία (TXRF) και τα αποτελέσματα της έρευνας έδειξαν ότι όλα τα δείγματα ήταν σύμφωνα με την νομοθεσία.^[15]

- **ΙΣΠΑΝΙΑ**

Το 2008 με την πολυστοιχειακή ανάλυση οίνων “sherry” που προέρχονταν από τρεις περιοχές της Ισπανίας (Jerez Xeres-Sherry, Montilla Moriles και Condado de Huelva) με FAAS και FAES, επιτεύχθηκε 100% διαχωρισμός. Πιο αναλυτικά, μελετήθηκαν 41 δείγματα για τον προσδιορισμό του μεταλλικού προφίλ των “sherry” οίνων. Τα μέταλλα που μελετήθηκαν είναι: Ca, Mg, Na, K, Fe, Cu, Mn, Zn, Al και Sr για τον έλεγχο της δυνατότητας διάκρισης της προέλευσης, μεταξύ των τριών περιοχών.^[2]

Οίνοι “sherry” είχαν μελετηθεί και το 1996 με την χρήση ICP-AES για τον προσδιορισμό 9 στοιχείων (Al, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Zn) και σύγκριση της τεχνικής ICP-AES σε σχέση με την FAAS.^[21]

Με την ανάλυση οίνων από τρεις περιοχές της Ισπανίας μελετήθηκε η ικανότητα διάκρισης των οίνων που προέρχονταν από την περιοχή της Βαλένθια μια Π.Ο.Π. περιοχή καλλιέργειας. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιήθηκε η τεχνική ICP-OES και αναλύθηκαν συνολικά 38 στοιχεία.^[27]

Η επίδραση της διαδικασίας της παλαίωσης των οίνων στο πολυστοιχειακό προφίλ τους μελετήθηκε για οίνους που προέρχονταν από την Ανδαλουσία στη Νότια Ισπανία. Η μελέτη περιελάμβανε 47 δείγματα παλαιωμένων και μη οίνων και έγινε με τη χρήση της FAAS και FAES για 10 μακρο στοιχεία, και τη χρήση στατιστικής ανάλυσης.^[36]

- ΙΤΑΛΙΑ

Το 2007 μελετήθηκαν ερυθροί οίνοι 18 ποικιλιών από την Ιταλία και καθορίστηκε βάση ποιών στοιχείων μπορεί να υπάρξει διάκριση μεταξύ των διαφορετικών περιοχών, με τη χρήση της τεχνικής ICP-MS και AAS. Τα δείγματα ήταν 120 συνολικά, 40 από κάθε περιοχή μελέτης (Basilicata, Calabria, Campania). Προσδιορίστηκαν αρχικά 61 στοιχεία (15 μακρο-στοιχεία, 32 μικρο-στοιχεία και 14 σπάνιες γαίες), από τα οποία μόνο τα δεδομένα για τα 29 μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν για την επιτυχή αποτύπωση των οίνων από τις τρεις αυτές περιοχές^[22].

Επίσης, ο συσχετισμός περιοχής προέλευσης-μεταλλικής σύνθεσης, με στόχο τον έλεγχο της αυθεντικότητας, 75 δειγμάτων οίνου από περιοχές της Ιταλίας προσδιορίστηκε με τη χρήση της τεχνικής ICP-MS. Συνολικά ελήφθησαν μετρήσεις για 39 μεταλλικά στοιχεία και ακολούθησε στατιστική ανάλυση για την επεξεργασία των δεδομένων.^[34]

Οίνοι που προέρχονται από την ποικιλία Νεμπιόλο μελετήθηκαν για το έλεγχο της διάκρισης της προέλευσής τους. Τα δείγματα που αναλύθηκαν ήταν 68 και προέρχονται από 5 περιοχές της Ιταλίας. Η διαφοροποίησή τους ήταν επιτυχής μετά από στατιστική ανάλυση του μεταλλικού προφίλ τους, που περιελάμβανε 28 παραμέτρους. Η ανάλυση των οίνων έγινε με τη χρήση ICP-MS.^[39]

- ΚΡΟΑΤΙΑ

Το 2010 με τη χρήση της τεχνικής ICP-MS προσδιορίστηκε η περιεκτικότητα σε As και άλλα στοιχεία, σε οίνους από την Ανατολική Κροατία. Για την ακρίβεια, προσδιορίστηκαν τα στοιχεία τα οποία εμφάνισαν τις μεγαλύτερες διαφοροποιήσεις για τρεις περιοχές (Istria, Vojvodina και Slavonia), ενώ εξετάστηκε και για κάθε στοιχείο η πιθανή προέλευση του (χώμα, υπόγεια ύδατα, λίπανση, τεχνολογίες παρασκευής οίνου-οινοποίηση, περιβαλλοντικοί παράγοντες - π.χ. εξατμίσεις βενζινοκινητήρων).^[6]

Η διάκριση των 9 πιο ευρέως γνωστών ποικιλιών οίνου της Κροατίας αποπειράθηκε με τη χρήση της τεχνικής ICP-MS και τις μετρήσεις για 31 μεταλλικά στοιχεία. Οι οίνοι προέρχονταν από 3 περιοχές καλλιέργειας και αφορούσαν συνολικά 25 δείγματα.^[45]

- ΙΣΠΑΝΙΑ-ΑΓΓΛΙΑ

Με την ανάλυση δειγμάτων λευκών και ερυθρών οίνων από Ισπανία και Αγγλία με τη τεχνική ICP-MS επιτεύχθηκε όχι μόνο διαχωρισμός μεταξύ οίνων της ίδιας χώρας (100%), αλλά και 100% διάκριση μεταξύ των οίνων των δύο χωρών. Η ποιότητα των μετρήσεων, ήταν απολύτως ικανοποιητική και τα χαρακτηριστικά τους όμοια με εκείνα που είχαν καθοριστεί προηγουμένως για την ICP - MS. Τα δεδομένα εξετάστηκαν χρησιμοποιώντας στατιστική τεχνική ανάλυσης. Αναλύθηκαν συνολικά 55 Ισπανικοί οίνοι (22 από το Somontano, 14 από τη Rioja και 19 από την Carinena) και 57 οίνοι από την Αγγλία για την περιεκτικότητά τους ως προς 48 στοιχεία. Ο διαχωρισμός των Ισπανικών οίνων μεταξύ των τριών περιοχών, ήταν επιτυχής με τη χρήση του προγράμματος Genstat, χρησιμοποιώντας δεδομένα και για τα 48 στοιχεία. Με τη χρήση του προγράμματος SPSS και δεδομένα για 35 στοιχεία επιτεύχθηκε ο πλήρης διαχωρισμός των Ισπανικών οίνων. Επιπλέον, η χρήση του τελευταίου προγράμματος μόνο για 7 στοιχεία (Cd, Cr, Cs, Er, Ga, Mn και ⁸⁶Sr) επέφερε ικανοποιητικό διαχωρισμό (94,7% για Carinena, 100% για Rioja και 86,4% για

Somontana). Στη συνέχεια χρησιμοποιήθηκαν τα δεδομένα από τα 48 στοιχεία με τα προγράμματα Genstat και SPSS, για τον έλεγχο του διαχωρισμού των οίνων μεταξύ των δύο χωρών, με επιτυχία 95% και 93% αντίστοιχα. Οι κατηγοριοποιήσεις αυτές έγιναν βέβαια χωρίς να ληφθεί υπ' όψιν το είδος του οίνου. Για το λόγο αυτό χρησιμοποιήθηκε το πρόγραμμα SPSS, για τον διαχωρισμό των Ισπανικών οίνων ανά είδος (λευκοί, ερυθροί και ροζέ), με πολύ ικανοποιητικά αποτελέσματα. Τέλος, με τη χρήση του προγράμματος Genstat (48 στοιχεία) μόνο για λευκούς οίνους από Ισπανία και Αγγλία επιτεύχθηκε πλήρης διαχωρισμός μεταξύ των οίνων των δύο χωρών.^[5]

- ΙΤΑΛΙΑ-ΣΛΟΒΕΝΙΑ

Το 2010 μελετήθηκε η διάκριση Ιταλικών οίνων (περιοχή Apulia) από Σλοβένικους οίνους με συνδυαστική ανάλυση ¹H NMR και ICP-OES σε σύγκριση με την HPICE. Με την μελέτη 11 συνολικών παραμέτρων και την χρήση στατιστικής ανάλυσης PCA, RDA και HCA ήταν δυνατή η διάκριση της προέλευσης των οίνων ακολουθώντας και τις δύο μεθοδολογίες.^[10]

- ΒΟΥΛΓΑΡΙΑ-F.Y.R.O.M.

Το 2002 μελετήθηκε η στοιχειακή σύνθεση οίνων από την Βουλγαρία και την F.Y.R.O.M. με την χρήση της ETAAS (φασματοσκοπία ατομικής απορρόφησης με τεχνική φούρνου γραφίτη). Συγκεκριμένα προσδιορίστηκαν οι περιεκτικότητες των στοιχείων As, Cd, Pb, Cr, Ni, Se και Tl και έγινε σύγκριση με οίνους από άλλες χώρες.^[20]

- ΤΣΕΧΙΑ

Η μελέτη αφορά 31 δείγματα οίνου και 31 δείγματα εδάφους από έξι περιοχές καλλιέργειας στην Τσεχία. Αναλύθηκαν 27 στοιχεία με την χρήση των τεχνικών ICP-MS και AAS και εφαρμόστηκαν στατιστικές μέθοδοι επεξεργασίας δεδομένων για τον έλεγχο της συσχέτισης εδάφους-οίνου και την διαφοροποίηση των παραμέτρων που επηρεάζουν την μεταλλική σύνθεση του οίνου.^[29]

Άλλη μια μελέτη που πραγματοποιήθηκε στην Τσεχία αφορούσε οίνους από 4 περιοχές της Βοημίας. Σκοπός της μελέτης αυτής ήταν ο έλεγχος της σωστής διαφοροποίησης των οίνων χρησιμοποιώντας δεδομένα για την μεταλλική σύνθεσή τους. Με την χρήση ICP-OES και ICP-MS ελήφθησαν μετρήσεις για 27 στοιχεία από

53 δείγματα οίνου. Έγινε επίσης διαφοροποίηση των συμπερασμάτων για τους λευκούς και ερυθρούς οίνους.^[30]

Η συσχέτιση των ισοτοπικών λόγων Pb οίνων – εδάφους τριών περιοχών της Τσεχίας μελετήθηκε το 2005 με την χρήση ICP-MS. Στους οίνους δεν παρατηρήθηκε ιδιαίτερη διαφοροποίηση, ενώ στα εδάφη η διαφοροποίηση εμφανίστηκε πιο σημαντική.^[44]

- **ΡΟΥΜΑΝΙΑ**

Στην Ρουμανία έγινε μια προσπάθεια κατηγοριοποίησης οίνων βάση ποικιλίας και περιοχής προέλευσης χρησιμοποιώντας την πολυστοιχειακή ανάλυση ICP-MS. Η μελέτη αφορούσε 60 δείγματα οίνου, από 18 διαφορετικές ποικιλίες που προέρχονταν από 3 διαφορετικές περιοχές καλλιέργειας και περίπου 60 δείγματα εδάφους.^[42]

- **ΠΟΡΤΟΓΑΛΙΑ**

Μια προσπάθεια για τον έλεγχο της ικανότητας διαχωρισμού της προέλευσης οίνων έγινε με τον προσδιορισμό 11 στοιχείων σε 64 δείγματα οίνου που προέρχονταν από τη Νήσο Μαδέιρα και το σύμπλεγμα νησιών Αζόρες της Πορτογαλίας. Η ανάλυση έγινε με οργανολογία AAS και AES και τα δεδομένα επεξεργάστηκαν με προγράμματα στατιστικής ανάλυσης. Η μελέτη εκτός από επιτραπέζιους οίνους περιελάμβανε και γλυκούς οίνους (liquor wines).^[40]

Στην Πορτογαλία αναπτύχθηκε και επαληθεύτηκε μέθοδος προσδιορισμού της περιεκτικότητας 17 μεταλλικών στοιχείων σε δείγματα οίνων με τη χρήση οργανολογίας ICP-MS. Σκοπός αυτής της μελέτης ήταν ο έλεγχος της δυνατότητας διάκρισης των οίνων βάση δύο χαρακτηριστικών τους. Τα χαρακτηριστικά αυτά αφορούσαν το είδος του οίνου (λευκός ή ερυθρός) και την περιοχή προέλευσης (4 περιοχές καλλιέργειας).^[47]

5.1.2 ΥΠΟΛΟΙΠΟΣ ΚΟΣΜΟΣ

- **ΝΟΤΙΑ ΑΦΡΙΚΗ**

Στη Νότια Αφρική έχουν πραγματοποιηθεί πολλές μελέτες για τον έλεγχο της διάκρισης οίνων μεταξύ περιοχών του Western Cape. Το 2005 μελετήθηκε η ικανότητα διαχωρισμού διαφορετικών ποικιλιών οίνου από διάφορες περιοχές του

Western Cape (ICP-AES). Οι περιφέρειες που μελετήθηκαν είναι οι εξής: Worcester, Robertson, Paarl και Stellenbosch, ενώ τα δείγματα προέρχονταν από διάφορα κελάρια και ποικιλίες οίνου. Συνολικά 31 στοιχεία προσδιορίστηκαν με την τεχνική της ICP-AES για την κατηγοριοποίηση λευκών και ερυθρών οίνων των παραπάνω περιοχών. Με τη χρήση στατιστικής ανάλυσης CDA (Canonical Discriminant Analysis), η μελέτη ήταν επιτυχής χρησιμοποιώντας μόνο τα στοιχεία: Mg, K, Fe, Zn, Ba, Sn, B, Al, Se, Cu, P, Na, Sr. Το ποσοστό επιτυχίας κυμάνθηκε από 38% για την ερυθρή ποικιλία Pinotage έως και 100% για την λευκή ποικιλία Chenin Blanc (Merlot 68%, Shiraz 55%, Cabernet Sauvignon 75%, Sauvignon Blanc 93%, Chardonnay 68%). Τα ποσοστά αυτά αφορούν τα κτήματα καλλιέργειας συνολικά, ενώ ξεχωριστά για κάθε ένα διέφεραν σημαντικά.^[7]

Το 2006 η πολυστοιχειακή ανάλυση λευκών και ερυθρών οίνων και επεξεργασία των δεδομένων, έδωσε ποσοστό 100% διάκρισης οίνων μεταξύ των περιοχών Stellenboch, Robertson και Swartland. Με τη χρήση στατιστικής ανάλυσης SPSS χρησιμοποιήθηκαν δεδομένα για 15 στοιχεία: Li, B, Al, Sc, Mn, Ni, Ga, Se, Rb, Sr, Nb, Cs, Ba, La, W, Tl και U. Η μελέτη αυτή οδήγησε επίσης στο συμπέρασμα πως οι ερυθροί οίνοι εμφανίζουν αυξημένες περιεκτικότητες στα προς μελέτη στοιχεία, σε σχέση με τους λευκούς οίνους^[11]. Η τεχνική ICP-MS χρησιμοποιήθηκε επίσης για την μελέτη οίνων των ίδιων περιοχών, συν του Walker Bay, το 2010. Στην έρευνα αυτή μελετήθηκαν 67 δείγματα ερυθρών και λευκών οίνων (29 λευκοί και 38 ερυθροί, από 22 κελάρια), καθώς και αντίστοιχα δείγματα του εδάφους. Προσδιορίστηκαν συνολικά 26 στοιχεία εκ των οποίων επεξεργάστηκαν, με το πρόγραμμα SPSS, τα δεδομένα για 8 μέταλλα (Li, B, Sc, Mn, Co, Ni, Cu, Rb), καθώς εμφάνιζαν μεγαλύτερη ικανότητα διαχωρισμού των οίνων. Η επιτυχία του διαχωρισμού έφτασε το 96%, ενώ δεν κρίθηκε απαραίτητη η ξεχωριστή μελέτη λευκών και ερυθρών δειγμάτων^[12].

Επιπλέον, το 2008 με την χρήση της ICP-MS προσδιορίστηκαν οι ισοτοπικοί λόγοι $^{11}\text{B}/^{10}\text{B}$, και $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ σε δείγματα οίνου από την Νότια Αφρική σε δύο ξεχωριστές μελέτες. Σκοπός ήταν ο έλεγχος της ικανότητας διαχωρισμού των οίνων ανά περιοχή καλλιέργειας, χρησιμοποιώντας μόνο τον αντίστοιχο ισοτοπικό λόγο και κανένα άλλο δεδομένο.^[23,24]

- ΑΙΘΙΟΠΙΑ

Ο έλεγχος της συμφωνίας με τη Νομοθεσία εξετάσθηκε το 2011 για οίνους από την Αιθιοπία με τη χρήση FAAS για 13 στοιχεία (K, Na, Ca, Mg, Zn, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb, Cd, Co, Cr). Στην ίδια μελέτη επίσης, έγινε σύγκριση της περιεκτικότητας των στοιχείων αυτών, με οίνους από άλλες χώρες.^[16]

- ΙΑΠΩΝΙΑ-ΧΙΛΗ-ΓΑΛΛΙΑ-ΙΤΑΛΙΑ

Το 2011 μελετήθηκε η επιτυχία της διάκρισης Ιαπωνέζικων οίνων από οίνους προερχόμενους από Αμερική, Χιλή, Γαλλία και Ιταλία με την χρήση ICP-OES και την μελέτη 21 στοιχείων συνολικά. Η ανάλυση έδειξε πως ο διαχωρισμός είχε επιτυχία >97,6% όταν στην μελέτη χρησιμοποιήθηκαν τα δεδομένα και για τα 21 στοιχεία (LDA), ενώ είχε επιτυχία 89% με την μελέτη μόνο των 5 στοιχείων εξ αυτών (LDA).^[9] Η τεχνική ICP-OES χρησιμοποιήθηκε και το 2012 για τον προσδιορισμό 11 στοιχείων (Ca, Cd, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Ni, Pb και Zn) σε 6 δείγματα οίνου από την Κίνα με σκοπό την διαφοροποίησή τους μεταξύ δύο περιοχών. Παρότι η έρευνα ήταν επιτυχής, ο αριθμός των δειγμάτων ήταν πολύ μικρός για την λήψη σημαντικών πληροφοριών/συμπερασμάτων.^[14]

- ΑΡΓΕΝΤΙΝΗ

Διάκριση σε ποσοστό 100% της περιοχής προέλευσης, μεταξύ διαφόρων ποικιλιών οίνου από τρεις περιοχές καλλιέργειας της Αργεντινής έχει επιτευχθεί με τη χρήση της FAAS. Συγκεκριμένα αναλύθηκαν 31 δείγματα οίνου διαφόρων ποικιλιών, καθώς και 137 δείγματα εδάφους από κάθε περιοχή καλλιέργειας. Συνολικά 6 δείγματα οίνου προέρχονταν από την περιοχή της Cordoba (Cabernet Sauvignon, Malbec, Chardonnay-Frambua, Isabella-Merlot, PinotBlack-Ancellota), 14 δείγματα από την περιοχή της La Rioja (Cabernet Sauvignon – Malbec, Bonarda – Syrah, Torrontes Riojano – Alicant) και 11 δείγματα από την περιοχή του San Juan (Cabernet Sauvignon, Malbec, Bonarda, Syrah, Chardonnay). Ο βασικός σκοπός της μελέτης ήταν η εκτίμηση της αντιστοιχίας της πολυστοιχειακής σύστασης μεταξύ οίνων και εδάφους. Για το σκοπό αυτό μελετήθηκαν 11 στοιχεία: K, Na, Ca, Mg, Fe, Cu, Zn, Mn, Ni, Co, Cr, για να εντοπιστούν εκείνα που επιτρέπουν τη διαφοροποίηση των οίνων μεταξύ των τριών περιοχών με τη χρήση χημειομετρίας και στατιστικής ανάλυσης.^[1]

- ΒΡΑΖΙΛΙΑ

Η χρήση ισοτοπικών λόγων (IRMS) σε συνδυασμό με μετρήσεις μακροστοιχείων με φασματοσκοπία ατομική απορρόφηση-τεχνική φλόγας (ASS) έδωσε ικανοποιητικό βαθμό διαχωρισμού (80%) για οίνους που καλλιεργούνται σε 3 περιοχές της νότιας Βραζιλίας.^[25]

- ΚΙΝΑ

Στην Κίνα το 2012 αναπτύχθηκε επιτυχώς μέθοδος προσδιορισμού 11 μακροστοιχείων σε οίνους με την χρήση ICP-OES. Αναλύθηκαν μόνο 6 δείγματα οίνων καθιστώντας αβέβαιη την εξαγωγή ασφαλών συμπερασμάτων, κρίνοντας απαραίτητη την περαιτέρω διερεύνηση.^[14]

Η δυνατότητα διάκρισης της προέλευσης “rice” οίνων (από ρύζι), από 3 περιοχές καλλιέργειας στην Κίνα, μελετήθηκε με τη χρήση 117 δειγμάτων οίνου και τον προσδιορισμό της περιεκτικότητας σε 19 μακρο και μικρο στοιχεία. Μετά από στατιστική ανάλυση των δεδομένων η διαφοροποίηση ήταν επιτυχής σε ποσοστό >97,4%.^[43]

- ΑΥΣΤΡΑΛΙΑ

Εκτενής έρευνα έχει πραγματοποιηθεί στην Αυστραλία για την διάκριση της περιοχής προέλευσης 1397 δειγμάτων οίνου με την χρήση ICP-MS και ICP-OES. Συγκεκριμένα προσδιορίστηκαν οι συγκεντρώσεις 59 μεταλλικών στοιχείων και τα δεδομένα αναλύθηκαν στατιστικά για τον έλεγχο του επιτυχούς διαχωρισμού. Έγινε επίσης σύγκριση λευκών και ερυθρών οίνων, καθώς και των οίνων που προέρχονταν από διαφορετικές ποικιλίες και έτος παραγωγής χωρίς όμως να προκύψουν σημαντικές διαφοροποιήσεις^[41]

- ΟΥΓΓΑΡΙΑ – ΡΟΥΜΑΝΙΑ – ΤΣΕΧΙΑ – ΝΟΤΙΑ ΑΦΡΙΚΗ

Η δημιουργία μιας βάσης δεδομένων για οίνους που προέρχονται από τις 4 χώρες, πραγματοποιήθηκε με την μελέτη 400 δειγμάτων οίνου. Οι οίνοι που μελετήθηκαν προέρχονταν είτε απ’ ευθείας από την παραγωγή, πιστοποιώντας έτσι την αυθεντικότητά τους, είτε από το εμπόριο. Η μελέτη αυτή αφορούσε 63 παραμέτρους και περιελάμβανε μακρο και μικρο στοιχεία, κλασσικές παραμέτρους, ισοτοπικούς λόγους και βιογενείς αμίνες. Σκοπός ήταν η επιτυχής διαφοροποίηση των οίνων βάση περιοχής προέλευσης με τη χρήση όσο το δυνατόν λιγότερων παραμέτρων. Η μελέτη

αυτή πραγματοποιήθηκε με τη βοήθεια μοντέλων στατιστικής ανάλυσης και διαγράμματα δένδρων.^[28]

Ο προσδιορισμός του πολυστοιχειακού αποτυπώματος σε ένα δείγμα οίνου, με επαγωγικά συζευγμένο πλάσμα με ανιχνευτή φασματομέτρο μάζας (ICP-MS) είναι η πλέον χρησιμοποιούμενη τεχνική ανάλυση, καθώς προσφέρει πολλά πλεονεκτήματα έναντι άλλων τεχνικών. Δεν απαιτεί χρονοβόρα προεπεξεργασία των δειγμάτων, καθώς αυτά μπορούν να αναλυθούν και με απλή αραίωση του υποστρώματος, προσφέρει χαμηλά όρια ανίχνευσης για μεγάλη γκάμα στοιχείων, διαθέτει μεγάλη δυναμική περιοχή, έχει σε γενικές γραμμές πολύ απλό λογισμικό χρήσης, ενώ επιτρέπει την ταυτόχρονη λήψη μετρήσεων έως και για 30 στοιχεία. (4, 5, 6, 11, 18, 22, 23, 24, 29, 30, 33, 34, 35, 37, 39, 41, 42, 45, 47).

Η πολυστοιχειακή ανάλυση για τον έλεγχο της συμμόρφωσης με τη νομοθεσία, έχει μελετηθεί, καθώς τούτο κρίνεται απαραίτητο, λόγω της ευρείας κατανάλωσης του οίνου. Επειδή το κρασί θεωρείται πως βελτιώνει την υγεία και προωθεί την μακροζωία, περιέχει όμως σε κάποιο ποσοστό τοξικά μέταλλα (βαρέα μέταλλα)-ρυπαντές τα οποία μεταβάλλουν τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του και εξαιτίας της αυξανόμενης ρύπανσης του πλανήτη, γίνεται επιτακτική η ανάγκη της διερεύνησης της συμμόρφωσης των δειγμάτων οίνου με τη νομοθεσία^[15].

5.2 ΠΙΝΑΚΑΣ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗΣ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗΣ

Στον παρακάτω πίνακα συνοψίζονται τα σημαντικότερα στοιχεία της διεθνούς βιβλιογραφίας. Ο Πίνακας περιλαμβάνει τον σκοπό της κάθε μελέτης, την τεχνική ανάλυσης που χρησιμοποιήθηκε, τις παραμέτρους που έχουν αναλυθεί, τον αριθμό και το είδος των δειγμάτων, όπου αυτό αναφέρεται, και άλλα στοιχεία που συνθέτουν μια πλήρη εικόνα της έρευνας που αφορά στην πολυστοιχειακή ανάλυση οίνων.

Πίνακας 5.1: Πίνακας Βιβλιογραφικής Ανασκόπησης

<u>Σκοπός – Τεχνική</u>	<u>Τύπος οίνου – Αριθμός δειγμάτων</u>	<u>Στοιχεία</u>		<u>Χειρισμός Δειγμάτων</u>	<u>Ανάλυση δεδομένων</u>	<u>Σημειώσεις – Συμπεράσματα</u>	<u>Αναφορά</u>
Γεωγραφική προέλευση, Συσχετισμός χόμα- οίνος, Αργεντινή. FAAS	Μονοποικιλιακοί και μη, (Cabernet Sauvignon, Malbec, Chardonnay, Frambua, Isabella, Pinot Black, Merlot, Ancellota, Bonarda, Syrah, Torontes Riojano, Alicant) 31 δείγματα (6 Cordoba, 14 La Rioja, 11 San Juan)	LOD(mg/L) Ca: 0,17 Cr: 0,07 Fe: 0,16 K : 0,31 Mg: 0,006 Mn: 0,08 Zn: 0,014	LOQ(mg/L) Ca: 0,51 Cr: 0,21 Fe: 0,48 K : 0,93 Mg: 0,018 Mn: 0,24 Zn: 0,042	Αραιώση με 1% HNO ₃ (Ca: 1/250, Mg, K,Na: 1/500, Zn, Mn: 1/5)	LDA, CC, Statistica 7 Stafsot 2005	1) Προσθήκη χημικών τροποποιητών για την αποφυγή προβλημάτων μήτρας (CsCl, La ₂ O ₃ , CaCl ₂ , H ₂ O ₂ . 2) Γυάλινα σκεύη – επεξεργασία με σουλφονιτρικό overnight. 3) Κρίσιμα για το διαχωρισμό στοιχεία: Ca,Fe, Cr.	1
Γεωγραφική προέλευση, Ισπανία. AAS, AES	Οίνοι “sherry” 41 δείγματα (15 Jeres -Xeres Sherry, 12 Montilla Moriles, 14 Condado de Huelva)	Al, Ca, Cu, K, Fe, Mg, Mn, Na, Sr, Zn		Θέρμανση 80°C (25ml οίνου + 15ml H ₂ O ₂) έως όγκο 20ml, προσθήκη 1ml HNO ₃ και θέρμανση (80°C) έως όγκο 2ml. Αραιώση με υπερκάθαρο H ₂ O στον αρχικό όγκο.	STATISTIC A 7 Stafsoft, CA, LDA	Περιέκτες- προεπεξεργασία με μίγμα χρωμικού οξέος. Κρίσιμα για το διαχωρισμό στοιχεία: Sr, Na, Fe, Al, Mg.	2
Προσδιορισμός Cu και Fe στο κρασί. FAAS	(Cabernet Sauvignon) 3 ετών παλαίωσης. 8 μπουκάλια από το ίδιο βαρέλι ζύμωσης – 1 τελικό δείγμα.	Cu, Fe		Φιλτράρισμα οίνου διαμέσου πόρων κυτταρίνης 0,45μm. Cu:αποαλκοολοποίηση ή χώνευση (10ml οίνου + 2ml H ₂ O ₂ + 1ml HNO ₃) Fe: αραιώση τουλάχιστον 1/6.	Μονοδιάστα τη ANOVA	1) Cu: ισχυρή παρεμπόδιση αιθανόλης – μη δυνατή η αραιώση λόγω χαμηλής συγκέντρωσης. 2) Για τον προσδιορισμό Fe αρκεί η αραιώση γιατί 1%-2% αιθανόλη δεν παρεμποδίζει.	3

<u>Σκοπός – Τεχνική</u>	<u>Τύπος οίνου – Αριθμός δειγμάτων</u>	<u>Στοιχεία</u>	<u>Χειρισμός Δειγμάτων</u>	<u>Ανάλυση δεδομένων</u>	<u>Σημειώσεις – Συμπεράσματα</u>	<u>Αναφορά</u>
Πολυστοιχειακή ανάλυση οίνων ICP-MS	ερυθροί, λευκοί, κρασί πόρτο και μίγματα αιθανόλης και νερού. Δύο μελέτες, 8 και 16 δείγματα.	Εύρος μεθόδου (mg/L) Al: 0,25-5,0 B: 10-40 Na: 5-30 Br: 0,20-2,5 Cu: 0,10-2,0 Co: 0,002-0,050 Cd: 0,001-0,040 Sr: 0,30-1,0 Fe: 0,80 -5,0 V: 0,003-0,20 Ru: 0,50-1,2 Li: 0,010-0,050 Mg: 50-300 Zn: 0,30-1,0 Ni: 0,010-0,20 Mn: 0,50-1,5 Pb: 0,010-0,20	1) Προσθήκη εσωτερικού προτύπου: In ή Rh. 2) Οίνοι >100g/L σακχάρων – χώνευση με HNO ₃ 3) Αφρώδεις οίνοι - degas με φουσαλίδες αζώτου ή με υπέρηχους.		1) Η συγκέντρωση των οξέων, στα ενέσιμα διαλύματα ≤ 5%. 2) Για το Br: αραίωση 1/50 λόγω υψηλού δυναμικού ιοντισμού.	4
Αυθεντικότητα οίνων. Ισπανία – Αγγλία. ICP-MS	Λευκοί και ερυθροί 112 δείγματα (55 από Ισπανία (22 Somontano, 14 La Rioja, 19 Carinena], 57 από Αγγλία.	LOD (μg/L): Al, Ti, Ni: 1 As, Cd: 0,05 Cr: 8 Nd: 0,04 Co: 0,03 Ga: 0,06 Ce, Pr, Tb, Ho, Tm: 0,005 Fe: 5 Cu, Zn, Li, ⁸⁶Sr: 0,2 Rb, W: 0,07 Cs, ⁸⁷Sr, Zr: 0,03 Ge: 0,17 Ba: 0,3 Er, Eu, Sm, Dy, Yb, Ta, U: 0,01 Gd, Nb, Ru, Sb, Tl, Th: 0,02 La, Lu, Rh: 0,007 Sr: 0,10 Mn, Pb, V: 0,1 Mo: 0,4 Sn: 0,08	5ml οίνου - αραίωση 1:1 με δ/μα 1% HNO ₃ που περιέχει εσωτερικό πρότυπο In (20ppb).	Genstat, SPSS	1) Σημαντικές διαφορές μεταξύ διαφόρων τύπων οίνου (λευκοί, ερυθροί και ροζέ) 2) Απόλυτη διάκριση (100%) λευκών οίνων μεταξύ των δύο χωρών. 3) Κρίσιμα για το διαχωρισμό στοιχεία: Cd, Cr, Cs, Er, Ga, Mn, ⁸⁶ Sr.	5
Πολυστοιχειακή ανάλυση οίνων. Ανατολική Κροατία. ICP-MS	Λευκοί και ερυθροί οίνοι. 14 ποικιλίες 26 δείγματα (17 Slavonia, 5 Istria, 4 Vojvodina)	LOD (μg/L): Al: 0,03, Ba: 0,005 As, Cr: 0,004 Be, Cd, Li, Tl, U: 0,001 Zn: 0,15 Bi, Co, V: 0,002 Cu, Ti: 0,04, Fe: 0,20, Mn: 0,010, Mo: 0,003 Ni: 0,01, Pb: 0,007 Sb, Se, Sn: 0,005 Sr: 0,017	Αραίωση, με H ₂ O 1:10 και προσθήκη π. HNO ₃ έως 2% και προσθήκη In (εσωτερικό πρότυπο) 1μg/L	Δισδιάστατη ANOVA, PCA	1) Περιέκτες: προεπεξεργασία με 10% HNO ₃ για ημέρες. 2) Κρίσιμα για το διαχωρισμό στοιχεία: Al, As, Be, Bi, Li, Pb, Ti	6

<u>Σκοπός – Τεχνική</u>	<u>Τύπος οίνου – Αριθμός δειγμάτων</u>	<u>Στοιχεία</u>	<u>Χειρισμός Δειγμάτων</u>	<u>Ανάλυση δεδομένων</u>	<u>Σημειώσεις – Συμπεράσματα</u>	<u>Αναφορά</u>
Γεωγραφική διάκριση οίνων. Western Cape, Νότια Αφρική ICP-AES	Λευκοί και ερυθροί οίνοι μονοποικιλιακοί και μη (7 ποικιλίες). 96 δείγματα (4 περιοχές καλλιέργειας Worcester, Robertson, Paarl, Stellenbosch)	Ag, Al, As, Au, B, Ba, Be, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, La, Li, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, P, Pb, Pd, Pt, Sb, Se, Si, Sn, Sr, Tl, V, Y, Zn, Zr	Καμία προεπεξεργασία. Απ' ευθείας εισαγωγή στο όργανο.	SAS, SDA, CDA, LDA	1) Γυάλινα σκεύη- έκπλυση με 3% HNO ₃ + H ₂ O και στέγνωμα στους 80 °C. 2) Κρίσιμα για το διαχωρισμό στοιχεία: Mg, K, Fe, Zn, Ba, Sn, B, Al, Se, Cu, P, Na, Sr	7
Προσδιορισμός προέλευσης οίνου – Ανασκόπηση ICP-MS, NMR	Μελέτη διάκρισης οίνων με πολυστοιχειακή ανάλυση. 1) 18 Γερμανικοί οίνοι (Na, K, Rb, Cs, Cr, Fe, Co, Zn, Ag) (Siegmond & Bachmann, 1977). 2) 14 Γαλλικοί οίνοι (Ca και Ba) και 14 Γαλλικοί από 26 Αμερικάνικους οίνους με 17 στοιχεία (Kwan et al., 1979). 3) Γαλλικοί οίνοι από 2 περιοχές (Rb και Li) (Lacasta, 1982). 4) Ισπανικοί οίνοι (Rb και Li) (Medina 1996). 5) Οίνοι από 3 περιοχές στη Γαλλία (Li, K, Ca, Cu, Ni) (Medina, 1996). 6) Ισπανικοί οίνοι από 3 περιοχές (Mn, Li, K, Fe) (Medina, 1996). 7) Canary Islands (K, Na, Ca, Mg, Fe, Cu, Yn, Mn, Sr, I, Rb (Frias et al., 2002). 8) 55 Ισπανικοί από 67 Αγγλικούς οίνους με 48 στοιχεία (Baxter et al., 1997). 9) Ουγγρικοί οίνοι (Al, B, Ba, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, P, Sr, Zn) (Szentmihalyi et al., 2000). 10) Οίνοι από Σλοβακία (As, Cd, Cr, Ni, Pb) (Suhaj et al., 2003). 11) Γαλλικοί από Αμερικάνικους (Ba, Ca, Mg), Αμερικάνικοι (Ba, Ni, B, Sr, Ca, Al, K), Γερμανικοί (Rb, Na, Fe), Γαλλικοί (Rb, Li, Mg), Ρουμάνικοι (Mn, Sr), Ουγγρικοί (Mn, P, Ag, Ni, Cr) (Day et al., 1994). 12) Γερμανικοί (Mosel, Rhein-Pfalz) – (Rb, Fe) (Maarse et al., 1987). 13) Αυθεντικότητα (σπάνιες γαίες-λανθανίδες) (Thiel et al., 1999; Klimmek, 2003). Ισοτοπικοί λόγοι 1) Γαλλικοί από Πορτογαλικούς οίνους (⁸⁷ Sr/ ⁸⁶ Sr) (Almeida & Vasconcelos, 2003). 2) Οίνοι από Τυνησία, Πορτογαλία, Ελλάδα, Ιταλία, Ισπανία, και Ουγγαρία (¹⁸ O/ ¹⁶ O) (Holbach et al., 1994). Συνδυασμός πολυστοιχειακής ανάλυσης με αναλύσεις ισοτόπων.					8

<u>Σκοπός – Τεχνική</u>	<u>Τύπος οίνου – Αριθμός δειγμάτων</u>	<u>Στοιχεία</u>	<u>Χειρισμός Δειγμάτων</u>	<u>Ανάλυση δεδομένων</u>	<u>Σημειώσεις – Συμπεράσματα</u>	<u>Αναφορά</u>
Γεωγραφική διάκριση οίνων. Ιαπωνία, Αμερική, Χιλή, Γαλλία, Ιταλία. ICP-OES	ερυθροί, λευκοί, ροζέ 99 δείγματα	LOD (mg/L) Al: 0,024, B: 0,050, Ba, Cd, Cs: 0,007 Ca: 5,814, Cr, Mn, Ni: 0,003, Cu: 0,071, Fe: 0,068, K: 0,945, Li, V: 0,001, Mg: 1,496, Mo: 0,002 Na: 3,026, P: 0,418, Pb: 0,006, Sr: 0,005, Zn: 0,027	2ml οίνου: εξάτμιση αλκοόλης με θέρμανση (100°C), προσθήκη 5ml HNO ₃ 60% και 1ml H ₂ O ₂ 30%, χώνευση με μικροκύματα, αραίωση με δ/μα 1% HNO ₃ σε τελικό όγκο 10ml. Εσ. Πρότυπο: Y(0,05mg/L)	PCA LDA (21 στοιχεία) LDA (5 στοιχεία)	1) Για τα στοιχεία Ca, K, Mg, Na, P, έγινε αραίωση του οίνου. 1/8: λευκοί οίνοι, 1/20: ερυθροί οίνοι. 2) Κρίσιμα για το διαχωρισμό στοιχεία: B, Ca, Cr, K, Mg	9
Διάκριση προέλευσης οίνων. Νότια Ιταλία, Σλοβενία. ICP-OES, HPICE, ¹ H, ¹³ C NMR,	23 ερυθροί και 10 λευκοί οίνοι (17 ποικιλίες) 33 δείγματα (15 Apulia, 18 Σλοβενία)	Al, B, Ba, Cu, Fe, Mn, Zn	Αποτέφρωση 50ml οίνου και λήψη 0,05g, προσθήκη 5ml HNO ₃ 70% και 2ml H ₂ O ₂ 40% και χώνευση με μικροκύματα.	PCA, HCA, RDA, SIMCA, KANN, LDA	Μη ικανοποιητικός διαχωρισμός, πιθανώς λόγω μικρής διαφοροποίησης των εδαφολογικών συνθηκών μεταξύ των δύο περιοχών.	10
Κατηγοριοποίηση οίνων από Νότια Αφρική, βάση γεωγραφικής προέλευσης. ICP-MS	λευκοί και ερυθροί οίνοι 40 δείγματα (14 Stellenbosch, 10 Robertson, 16 Swartland)	Al, B, Ba, Cs, Ga, Li, Mn, Ni, Rb, Sc, Se, Sr, Tl, W	1) Αραίωση 1:1 με 0,14M HNO ₃ 2) 1,5ml οίνου, προσθήκη 150μL HNO ₃ 65% και 1,5ml H ₂ O ₂ 30% και χώνευση με μικροκύματα. Επαναδιαλυτοποίηση σε 12ml 0,14M HNO ₃ .	SPSS	1) Υπεροχή της αραίωσης έναντι της χώνευσης (χαμηλότερα όρια ανίχνευσης, μικρότερο ρίσκο επιμόλυνσης, μικρότερες απώλειες ασταθών στοιχείων, λιγότερος χρόνος προετοιμασίας και απλότητα. 2) Κρίσιμα για το διαχωρισμό στοιχεία: Li, B, Al, Sc, Mn, Ni, Ga, Se, Rb, Sr, Nb, Cs, Ba, La, W, Tl, U.	11

<u>Σκοπός – Τεχνική</u>	<u>Τύπος οίνου – Αριθμός δειγμάτων</u>	<u>Στοιχεία</u>	<u>Χειρισμός Δειγμάτων</u>	<u>Ανάλυση δεδομένων</u>	<u>Σημειώσεις – Συμπεράσματα</u>	<u>Αναφορά</u>
Γεωγραφική προέλευση. Οίνοι-χρώματα. Νότια Αφρική. ICP-OES	29 λευκοί και 38 ερυθροί οίνοι (12 ποικιλίες) 67 δείγματα (17 Stellenbosch, 16 Robertson, 22 Swartland, 12 Walker Bay)	Al, , B , Ba, Cd, Ce, Co , Cr, Cu , Li , Mn , Mo, Nb, Nd, Ni , Pb, Rb , Sb, Sc , Sn, Sr, Tl, U, V, W, Zn, Zr	Χώνευση με μικροκύματα με την προσθήκη H ₂ O ₂ και αραιώση 1:2 με 1% HNO ₃ . Προσθήκη εσωτερικού προτύπου: In	LDA, PCA,	Κρίσιμα για το διαχωρισμό στοιχεία: Li, B, Sc, Co, Mn, Ni, Cu και Rb.	12
Προσδιορισμός προέλευσης οίνου – REVIEW ICP-MS, AAS, ² H NMR	Μελέτη διάκρισης προέλευσης οίνων. 1) Ιταλία (Abruzzo) 28 οίνοι (Li, P, Rb) (A. Del Signore, 2003). 2) Ιταλία οίνοι από 3 περιοχές - 60 στοιχεία από τα οποία επιλέχθηκαν τα εξής (Sr, Li, B, Rb, As, Ba, Ga, Nb, Zn, Cd, Zr, Sb, Te, K, Al, Pb, Ce, Cr, Sn, Ca) (Nicolini et al., 2003). 3) Ιταλία οίνοι από 3 περιοχές (Ag, B, Ca, Cd, Eu, Fe, Ga, La, Lu Mn, Nd, Pr, Sm, Th, Tm, V, Yb, Zr, Al, Mg, Ti, Tl, Sc, Ba, K, I, Rb) (F. Galgano et al., 2008). 4) Γαλλία, 96 δείγματα οίνων και μούστων από 5 περιοχές (συνδυασμός πολυστοιχειακής ανάλυσης και ανάλυσης σταθερών ισοτόπων) (M. P. Day et al., 1994). 5) Γαλλία, 165 δείγματα από 4 περιοχές (συνδυασμός πολυστοιχειακής ανάλυσης και ανάλυσης σταθερών ισοτόπων) (M. P. Day et al., 1995). 6) Γαλλία (Bordeaux) (συνδυασμός πολυστοιχειακής ανάλυσης και ανάλυσης σταθερών ισοτόπων για τον έλεγχο της αυθεντικότητας) (G.J. Martin et al., 1999). 7) Ισπανία 64 δείγματα οίνων από διάφορες περιοχές - 18 στοιχεία (C. Fernandez-Pereira et al., 1987). 8) Ισπανία 42 λευκοί οίνοι από την περιοχή Galicia (Ca, Na, K, Fe, Li, Rb) (M. Latorre et al., 1994). 9) Canary Islands 161 δείγματα οίνων (λευκών, ερυθρών, ροζέ και γλυκών) από 4 νησιά (Tenerife, El Hierro, La Palma, Lanzarote) – σπάνιες γαίες (La, Ce, Pr, Nd, Sm, Eu, Gd, Tb, Dy, Ho, Er, Tm, Yb, Lu, Th, U), ισοτοπικοί λόγοι μολύβδου (208/206Pb, 208/204Pb, 207/204Pb, 206/207Pb, 206/204Pb, 208/207Pb) και άλλα μέταλλα (Te, Re, Pt, Au, Tl, Be, Pd, Cd, Sn, Sb, Cs, Co, Gs, As, Zr, W, Li, V, Ni, Pb, Ti, Cu, Zn, Rb, Sr, Ba) (M. Barbaste et al., 2002). 10) Canary Islands 83 ερυθροί οίνοι (K, Na, Ca, Mg, Fe, Cu, Zn, Mn, Sr, Li, Rb) (C. Diaz et al., 2003). 11) Ισπανικοί και Βρετανικοί οίνοι, 112 δείγματα και 48 στοιχεία (M. J. Baxter et al., 1997). 12) Γερμανία 70 οίνοι από 4 περιοχές (Pfalz, Rheinhessen, Nahe and Franken) (H. Siegmund et al., 1977) 13) Γερμανία 88 δείγματα οίνου από 4 περιοχές – (As, Be, Co, Cs, Ga, Li, Nb, Ni, Rb, Te, Ti, W, Y, Zr, Mo, Cd, Sb, Tl, U και οι σπάνιες γαίες) (G. Thiel et al., 2004). 14) Πορτογαλία (δείγματα από το χωράφι μέχρι το τελικό προϊόν για τον έλεγχο της επίδρασης των οινοποιητικών τεχνικών στην πολυστοιχειακή σύνθεση του οίνου) (C. M. R. Almeida et al., 2003).					13

	15) Νότια Αφρική 40 οίνοι, 40 στοιχεία από τα οποία τα 20 (Li, B, Mg, Al, Si, Cl, Sc, Mn, Ni, Ga, Se, Rb, Sr, Nb, Cs, Ba, La, W, Ti, U) εμφάνισαν διαφοροποίηση. (P. P. Coetzee et al., 2005). 16) Ευρώπη (Ουγγαρία, Ρουμανία, Τσεχία) και Νότια Αφρική (συνολικά 400 δείγματα οίνου) – πολυστοιχειακή ανάλυση, ισοτοπικοί λόγοι, κλασσικές παράμετροι και βιογενείς αμίνες) (X. Capron et al., 2007).					
<u>Σκοπός – Τεχνική</u>	<u>Τύπος οίνου – Αριθμός δειγμάτων</u>	<u>Στοιχεία</u>	<u>Χειρισμός Δειγμάτων</u>	<u>Ανάλυση δεδομένων</u>	<u>Σημειώσεις – Συμπεράσματα</u>	<u>Αναφορά</u>
Προσδιορισμός ανόργανων στοιχείων στο κρασί. Κίνα. ICP-OES	ερυθροί και λευκοί οίνοι (5 ποικιλίες) 6 δείγματα	Ca, Cd, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Ni, Pb, Zn	5ml οίνου , προσθήκη 5 ml π.HNO ₃ και 1ml HClO ₄ και χώνευση με μικροκύματα και αραίωση με H ₂ O σε τελικό όγκο 25ml.	HCA, DA	Μικρός αριθμός δειγμάτων, απαιτείται περαιτέρω έρευνα.	14
Περιεκτικότητες μετάλλων σε οίνους και σύγκριση με τη Νομοθεσία. Κρήτη, Ελλάδα. GFAAS, X-ray spectrometry (TXRF)	45 δείγματα οίνου, 34 δείγματα τσικουδιάς	LOD (µg/L) As: 0.5 Al: 3, Cd: 0,25 Pb: 1 Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn: 10	10ml οίνου, προσθήκη 10ml HNO ₃ 65% , αφήνεται για 18h και χώνευση με μικροκύματα και αραίωση με υπερκάθαρο νερό σε τελικό όγκο 50ml.	-	Προσθήκη χημικών τροποποιητών: 1) Για την ανάλυση Pb, Cd: διωδρο-φωσφορικό αμμώνιο. 2) Για την ανάλυση As: Ni.	15
Πολυστοιχειακή ανάλυση οίνων. Σύγκριση με τη Νομοθεσία. Σύγκριση με άλλες χώρες. Αιθιοπία FAAS	ερυθροί (Axumite, Gouder), λευκοί (Awash Crystal, Kemila) 20 δείγματα (5 από κάθε ποικιλία)	Ca, Fe, Mg, Na, Pb, Ni: 0,10 Cd: 0,01 Co: 0,06 Cr: 0,07 Cu: 0,03 K: 0,09 Mn: 0,02 Zn: 0,05	10ml οίνου, προσθήκη 7ml μίγματος HNO ₃ / H ₂ O ₂ (2:5) και θέρμανση (60-180°C) μέχρι να διαυγασθεί. Αραίωση με υπερκάθαρο νερό σε τελικό όγκο 50ml.	SPSS (ONE-Way ANOVA)	1) Προσθήκη νιτρικού υδροξειδίου του λανθανίου 99% για την απελευθέρωση των Ca και Mg από τα φωσφορικά άλατα. 2) Blank : δ/μα 12 % αιθανόλης και χώνευση όπως τα δείγματα.	16

Ανάλυση οίνων με AAS-REVIEW HGAAS, CV AAS, ETAAS	LOD (μg/L) Για την τεχνική ETAAS ανάλογα με την προεπεξεργασία του δείγματος τα όρια ανίχνευσης κυμαίνονται ως εξής: Al: 0,4-40; As: 5-6.6; Ag:0,20; Co: 1,6; Cd: 0,008-0,5; Cr: 0,1-1; Cu: 5-30; Hg: 0,2; Ni:1,0; Pb: 0,9-19; Pt: 10; Se: 0,2-9; Tl: 0,05; V: 4.2	Χειρισμός δειγμάτων οίνου. 1) Χώνευση σε μικροκύματα σε σύγκριση με την αποτέφρωση. 2) Πεντοξείδιο του βαναδίου - ως καταλύτης, για την βελτιστοποίηση της ολοκλήρωσης της χώνευσης. 3) Για την αποφυγή απώλειας αναλύτη, έχουν χρησιμοποιηθεί περιέκτες PTFE ή δοχεία Savillex. 4) UV – φωτόλυση δείγματος. (ελαχιστοποιεί τις απώλειες αναλύτη). 5) On-line χώνευση για τον προσδιορισμό Pb με την τεχνική «Flow injection HGAAS». 6) Χώνευση με μίγμα HNO₃/HClO₄ σε θερμοστατούμενο δοχείο για την ανάλυση Se με HGAAS. 7) Χώνευση με HNO₃ για τον προσδιορισμό Hg και Se. 8) Χώνευση με μίγμα HNO₃/H₂O₂ για τον προσδιορισμό Cd (CVAAS) και Pb (HGAAS). 9) Παρουσία K₂Fe(CN)₆, χρήση tetrahydridoborate ως αναγωγικό μέσο για τον προσδιορισμό Pb. 10) Επεξεργασία οίνου με όζον για την τεχνική CV AAS. 11) Εξάτμιση της αιθανόλης για τον προσδιορισμό As με την HGAAS. 12) Χαμηλή συγκέντρωση χημικών τροποποιητών Pd και Ni έχει προταθεί για την αποτελεσματική θερμική σταθεροποίηση των As, Sb και Se κατά την χώνευση. 13) Προσθήκη χημικών τροποποιητών για τον προσδιορισμό Pd και Cd (Pd(NO₃)₂, Pd(NO₃)₂ + Mg(NO₃)₂, NH₄H₂PO₄, NH₄H₂PO₄ + Mg(NO₃)₂). 14) Προσθήκη Bi ως εσωτερικό πρότυπο για τον προσδιορισμό Pb. 15) Εκχύλιση υγρού/υγρού για τον προσδιορισμό στοιχείων που η συγκέντρωσή τους είναι μικρότερη από το LOD (Se, Hg, Tl) ή εκχύλιση στερεής φάσης για την επίτευξη γρήγορων αυτόματων αναλύσεων.	17
Προσδιορισμός προέλευσης τροφίμων με πολυστοιχειακή ανάλυση και ισοτοπικούς λόγους- REVIEW	ICP-MS IRMS, TIMS, AAS, SNIF- NMR, Q- ICP-MS, TOF-ICP- MS, MC- ICP-MS, ICP-AES, HPIC, ¹H NMR	Ισοτοπικοί λόγοι: • ⁸⁷Sr/⁸⁶Sr (εξαρτάται από την “ηλικία” των πετρωμάτων και τον λόγο Rb/Sr) • ²H/ ¹H (μείωση δευτερίου από παραθαλάσσιες περιοχές προς την ενδοχώρα) • ¹³C/ ¹²C (μείωση ισοτοπικού λόγου όσο αυξάνεται το υψόμετρο) • ¹⁵N/ ¹⁴N (αυξάνεται με τις γεωργικές πρακτικές) • ¹⁸O/ ¹⁶O (¹⁸O παρόμοια απόκριση με το δευτέριο) • ³⁴S/ ³²S (οι ανόργανες θεικές ενώσεις δεν δίνουν ³⁴S ισότοπο, άρα ο λόγος μειώνεται με τις γεωργικές πρακτικές) • ²⁰⁷Pb/ ²⁰⁶Pb Στοιχεία με το υψηλότερο ενδιαφέρον για την γεωγραφική αποτύπωση Cd, Cs, Cr, Er, Ga, Mn, Sr.	18

<u>Σκοπός – Τεχνική</u>	<u>Τύπος οίνου – Αριθμός δειγμάτων</u>	<u>Στοιχεία</u>	<u>Χειρισμός Δειγμάτων</u>	<u>Ανάλυση δεδομένων</u>	<u>Σημειώσεις – Συμπεράσματα</u>	<u>Αναφορά</u>
Προσδιορισμός περιεκτικότητας μετάλλων σε οίνους. Σύγκριση μεθόδων FAAS, GFAAS, ICPAES	-	Al, Cu, Fe, Mn, Zn, Cr, Li, Ni, Pb, Ti, V, As, Cd, Hg,	Προσθήκη 1ml HNO ₃ σε 100ml οίνου για την ελάττωση του pH. Καμία άλλη προεπεξεργασία των δειγμάτων.	-	Έλεγχος παρεμποδίσεων. 1) Λόγω υψηλής συγκέντρωσης Κ. 2) Λόγω φωσφορικών αλάτων. 3) Λόγω αιθανόλης.	19
Πολυστοιχειακή ανάλυση οίνων. Βουλγαρία, F.Y.R.O.M. ETAAS	Λευκοί, ερυθροί και ροζέ >50 (26 F.Y.R.O.M., 25 Βουλγαρία κ.α)	As, Cd, Cr, Ni, Pb, Se, Tl	1) Χώνευση με μικροκύματα (HNO ₃ , H ₂ O ₂)(As) 2) χώνευση με μικροκύματα και υγρή/υγρή εκχύλιση με HCL 1M (Se, Tl) 3) απευθείας προσδιορισμός (Cd, Cr, Ni, Pb)	-	Χημικοί τροποποιητές: Tl: υδατικό δ/μα τρυγικού οξέος, Se: AgNO ₃ , Ni+Mg(NO ₃) ₂ , As: Pd	20
Προσδιορισμός μετάλλων σε οίνους. Jeres, Ισπανία. Σύγκριση ICP-AES με (G)FAAS	Οίνοι “Sherry” 10 δείγματα	LOD (μg/L) Al: 15,2 Ca: 39,9 Cu: 20,1 Fe: 19,1 K: 116,4 Mg: 20,3 Mn: 20,2 Na: 34,6 Zn: 25,4	Αποαλκοολοποίηση 100ml οίνου (80°C) και αραιώση με H ₂ O σε τελικό όγκο 100ml. Αραιώσεις: 1/5 για Al, Cu, Fe, Mn, Na, Zn. 1/25 για K και Mg. 1/15 για Ca με δ/μα 0,5% lanthanum.	-	1) Χημικός τροποποιητής Mg(NO ₃) ₂ . 2) pH δειγμάτων και standard solutions 2,8 – 3,1.	21

<u>Σκοπός – Τεχνική</u>	<u>Τύπος οίνου – Αριθμός δειγμάτων</u>	<u>Στοιχεία</u>	<u>Χειρισμός Δειγμάτων</u>	<u>Ανάλυση δεδομένων</u>	<u>Σημειώσεις – Συμπεράσματα</u>	<u>Αναφορά</u>
Κατηγοριοποίηση οίνων βάση γεωγραφικής προέλευσης. Ιταλία. AAS, ICP-MS	Ερυθροί οίνοι (18 ποικιλίες) 120 δείγματα (40 Basilicata, 40 Clabria, 40 Campania)	LOD (μg/L) Al:1,43 B:14 Br:34,1 Ba:0,03 Fe:4 Mg:10 Mn:0,1 K:5 Na: 2 P:11 S:3538 Si:475 Sr: 0,057 Zn:0,45 Ag, Ni:0,08 As:0,02 Bi, Cd:0,008 Gd, La:0,003 Be, Cs, In, Th, Zr:0,002 Ca:60 Co, Rb:0,006 Cr:0,024 Ti: 0,07 Cu, I:0,021 Ga:0,025 Ge:0,011 Li:0,022 Mo:0,058 Nb:0,007 Pb, Nd:0,005 Sb:0,109 Sc:0,66 Se:0,017 Sn:0,198 Te:0,031 Tl, U, Y, Ce, Dy, Er, Eu, Ho, Lu, Pr, Tb, Tm, Yb:0,001 Sm:0,004 V: 0,160 W:0,029	10ml οίνου, προσθήκη 100μl HNO ₃ 70% και 100μl εσ. πρότυπο Rh (1ppm). Fe, Mn, Zn: απευθείας μέτρηση, Na: αραίωση 1:100 με CsCl 0,15%, Mg και K: αραίωση με La(NO ₃) ₃ 0,1% (Mg 1:100, K 1:1000), Ca: αραίωση 1:50 με δ/μα CsCl και La(NO ₃) ₃ , Sn: αραίωση 1:1 με HCl 3% + 50μl εσ. πρότυπο, Se: εσ. πρότυπο Rn (1ppm).	ANOVA, CA, CVA, LDA	Κρίσιμα για τον διαχωρισμό στοιχεία: Eu, Lu, La, Nd, Pr, Sm, Tm, Yb	22
Προσδιορισμός προέλευσης οίνων. Νότια Αφρική. ICP-MS	Λευκοί (4 ποικιλίες), Ερυθροί (8 ποικιλίες) 56 δείγματα (17 Robertson, 18 Stellenbosch, 21 Swartland)	¹¹ B/ ¹⁰ B isotope ratio	1)Αραίωση: με δ/μα 1% HNO ₃ 50-fold, 100-fold, 200-fold, 400-fold, 600-fold, 800-fold. ή 2)1ml οίνου, προσθήκη 1ml HNO ₃ 65% και 2ml H ₂ O ₂ 30% σε δοχείο PTFE και αφήνονται για 30' και χώνευση με μικροκύματα, αραίωση σε τελικό όγκο 100ml.	Στατιστική Ανάλυση	1) Σύγκριση αραίωσης έναντι χώνευσης. 2) Παρεμποδίσεις ¹² C πάνω στο ¹¹ B. 3) Επιρροές NaCl και CaCl ₂ .	23

<u>Σκοπός – Τεχνική</u>	<u>Τύπος οίνου – Αριθμός δειγμάτων</u>	<u>Στοιχεία</u>	<u>Χειρισμός Δειγμάτων</u>	<u>Ανάλυση δεδομένων</u>	<u>Σημειώσεις – Συμπεράσματα</u>	<u>Αναφορά</u>
Προσδιορισμός προέλευσης οίνων. Νότια Αφρική. ICP-MS	Λευκοί (5 ποικιλίες), Ερυθροί (9 ποικιλίες) 68 δείγματα (17 Robertson, 18 Stellenbosch, 21 Swartland και 12 Walkerbay)	$^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ isotope ratio	10ml οίνου, εξάτμιση στους 70°C έως 1ml όγκο, προσθήκη 2ml H_2O_2 και 4ml HNO_3 και χώνευση με μικροκύματα και αραιώση με H_2O σε τελικό όγκο 100ml .	Στατιστική Ανάλυση, ANOVA	1) Παρεμποδίσσεις ^{87}Rb πάνω στο ^{87}Sr –διόρθωση των μετρήσεων Ion Exchange Chromatography. 2) Έλεγχος επίδρασης DCTA, Ca, Mg, B, Na.	24
Προσδιορισμός γεωγραφικής προέλευσης οίνων.Βραζιλία. IRMS, AAS	2 ποικιλίες 100 δείγματα (Serra Gaucha, Serra do Sudeste και Campanha)	$^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$, $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$, Mg, Rb, Mn, Ca, Li	-	ANOVA	Επίτευξη διαχωρισμού με συνδυασμό των δύο τεχνικών IRMS, AAS.	25
Γεωγραφική προέλευση οίνων. Ισπανία. ICP-OES	Ερυθροί 67 δείγματα (6 Utiel-Requena PDO, 2 Yelca PDO, 3 Jumilla PDO, 56 Valencia PDO)	Al, Ba, Be, Ca, CD, Ce, Co, Cr, Cu, Dy, Er, Eu, Fe, Gd, Ho, K, La, Li, Lu, Mg, Mn, Mo, Na, Nd, Ni, Pb, Pr, Sc, Se, Sm, Sr, Tb, Ti, Tm, V, Y, Yb, Zn	2ml οίνου, προσθήκη 8ml π. HNO_3 και χώνευση με μικροκύματα και αραιώση στα 25ml. Υπέρηχοι για την εκδίωξη των νιτρικών ατμών	DA, HCA, PCA, CARTS	100% διαχωρισμός με τη συνεισφορά όλων των μελετούμενων στοιχείων.	27
Διάκριση προέλευσης οίνων.	400 δείγματα (Ουγγαρία, Τσεχία, Ρουμανία, Νότια Αφρική)	Na, Mg, Si, P, S, Cl, K, Ca, Li, B, Al, Ti, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, As, Br, Rb, Sr, Y, Cd, Cs, Ba, Pb, U, La, Gd, Er, Yb, Gd/La, Er/La, Yb/La, Gd/Er, Er/Yb	-	PLS –DA, PLS –UVE, PLS- UVE-SEL, CART	Σύγκριση πολυπαραγοντικών τεχνικών ανάλυσης για την διάκριση οίνων.	28
Συσχέτιση εδάφους – οίνου. Τσεχία ICP-MS, AAS	Ερυθροί και λευκοί από 6 περιοχές καλλιέργειας 31 δείγματα	LOD ($\mu\text{g/l}$) Li: 5, Be: 0.1, Al: 2, V: 0.02, Cr: 0.2, Co: 0.02, Ni: 0.3, Cu: 0.5, Zn: 0.5, As: 0.05, Rb: 0.05, Sr: 0.01, Ag: 0.01, Cd: 0.05, Sb: 0.07, Cs: 0.03, Ba: 0.02, Tl: 0.02, Pb: 0.1, U: 0.07	Σταθεροποίηση δειγμάτων με π. HNO_3 για την ICP-MS και με π. HCl για την AAS. ICP-MS: 5ml οίνου, προσθήκη 2ml π. HNO_3 και 1ml H_2O_2 και θέρμανση στους 150°C για 3h.	NCSS 2001, CA, PCA, FA	Μόνο η περιεκτικότητα σε Mg μπορεί στατιστικά να συσχετίσει χρώμα-οίνο.	29

<u>Σκοπός – Τεχνική</u>	<u>Τύπος οίνου – Αριθμός δειγμάτων</u>	<u>Στοιχεία</u>	<u>Χειρισμός Δειγμάτων</u>	<u>Ανάλυση δεδομένων</u>	<u>Σημειώσεις – Συμπεράσματα</u>	<u>Αναφορά</u>
Γεωγραφική προέλευση οίνων. Βοημία – Τσεχική Δημοκρατία. ICP-MS, ICP-OES	Ερυθροί και λευκοί από 13 ποικιλίες από 4 περιοχές καλλιέργειας της Βοημίας 53 δείγματα	Al, As, Ba, Ce, Co, Cr, Cs, Cu, Li, Mn, Mo, Ni, Pb, Rb, Sb, Sn, Sr, Th, U, V, Y, Zn (ICP-MS), Ca, Fe, K, Na, Mg (ICP-OES)	70ml οίνου και εξάτμιση σχεδόν μέχρι ξηρού. Επαναδιαλυτοποίηση στο μισό όγκο (35ml). Συντελεστές αραιώσης ανά ομάδα στοιχείων: 10 (Al, Ba, Mn, Rb, Sr, Zn, Ca, Fe, Mg), 4 (As, Co, Cr, Cu, Ni, Pb, V), 2 (Ce, Cs, Li, Mo, Sb, Sn, Th, U, Y), 20 (Na, K).	PCA, DA, XLSTAT Pro (Addinsoft), ANOVA, MANOVA	Κρίσιμα για το διαχωρισμό στοιχεία: Al, Ba, Ca, Co, K, Li, Mg, Mn, Mo, Rb, Sr, V, στοιχειακοί λόγοι: Sr/Ba, Sr/Ca, Sr/Mg.	30
Χειρισμός δειγμάτων οίνου. ICP-OES	Ερυθροί 5 δείγματα	Al, Ba, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, Sr, Zn	1) Ξηρά αποτέφρωση: 25ml οίνου στους 50°C overnight, σταδιακά αύξηση θ. έως τους 450 °C για 18-24h, διάλυση σε 5% HNO ₃ και στο φούρνο για 24h, αραιώση στα 25ml με 5% HNO ₃ . 2) Υγρή αποτέφρωση : 25ml οίνου και 15ml π.H ₂ O ₂ και θέρμανση στους 80 °C έως όγκο 20ml, προσθήκη 1ml π.HNO ₃ και εξάτμιση έως όγκο 2ml, αραιώση στα 25ml με 5% HNO ₃ . 3) Αποαλκοολοποίηση: 25ml οίνου και θέρμανση στους 80 °C έως όγκο 10ml, και αραιώση στα 25ml με 5% HNO ₃ . 4)			31
Διάκριση οίνων. Ανδαλουσία. ICP-OES	‘fino’ wines 150 δείγματα	Al, Ba, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, Na, P, Sr, Zn	25ml οίνου, προσθήκη 15ml H ₂ O ₂ και θέρμανση στους 80°C έως όγκο 20ml, προσθήκη 1ml π.HNO ₃ και θέρμανση έως όγκο 2ml, αραιώση στα 25ml με υπερκάθαρο νερό.	LDA, Artificial Neural Networks (ANN)	Διερεύνηση των 2 τεχνικών ανάλυσης δεδομένων. (LDA, ANN)	32

<u>Σκοπός – Τεχνική</u>	<u>Τύπος οίνου – Αριθμός δειγμάτων</u>	<u>Στοιχεία</u>	<u>Χειρισμός Δειγμάτων</u>	<u>Ανάλυση δεδομένων</u>	<u>Σημειώσεις – Συμπεράσματα</u>	<u>Αναφορά</u>	<u>Σκοπός – Τεχνική</u>
Επίδραση θερμοκρασίας και συσκευασίας αποθήκευσης οίνων. ICP-MS	Cabernet Sauvignon 2009 1 δείγμα οίνου.	LOD (μg/L) V: 0.001 Cr: 0.007 Cu: 0.044 Sn: 0.018 Pb: 0.001	LOQ (μg/L) V: 0.003 Cr: 0.023 Cu: 0.14 Sn: 0.057 Pb: 0.003	Αραίωση δειγμάτων 1:3 με δ/μα 1% HNO ₃ .	PCA	Αποθήκευση για 6 μήνες σε 4 διαφορετικά είδη συσκευασίας και σε 3 επίπεδα θερμοκρασίας (10°, 20°, 40°). Συνολικός αριθμός δειγμάτων 4X3= 12.	33
Γεωγραφική προέλευση οίνων. Ιταλία. ICP-MS	Ερυθροί διαφόρων ποικιλιών 75 δείγματα	39 στοιχεία (Ag, Al, As, B, Ba, Be, Ca, Cd, Ce, Co, Cu, Cs, Dy, Er, Fe, Fr, Gd, Ho, La, Li, Mn, Mo, Nd, P, Pb, Rb, Sb, Se, Sn, Sr, Tb, Tl, Tm, U, W, Y, Yb, Zn		Διήθηση και αραίωση δειγμάτων 1:4 με δ/μα 2% HNO ₃ .	PCA, TIBCO Spotfire Software	Απαιτείται διερεύνηση προέλευσης μετάλλων (χώμα, βροχή, οινοποιητικές τεχνικές)	34
Σύγκριση ποσοτικής και ημι-ποσοτικής πολυστοιχειακής ανάλυσης ICP-MS	Λευκοί, ερυθροί, 3 δείγματα	Al, Ba, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Ga, Li, Mn, Ni, Pb, Rb, Sr, V, Zn, La, Ce, Pr, Nd, Sm, Eu, Gd, Tb, Dy, Ho, Er, Tm, Yb, Lu		5ml οίνου, προσθήκη 5ml H ₂ O ₂ 30% και επί μια ώρα έκθεση σε UV ακτινοβολία και προσθήκη 1ml δ/τος Rh 20ppb σε δ/μα 1% HNO ₃ .	-	LOD's και LOQ's ποσοτικού προσδιορισμού < κατά 2 έως 6 φορές σε σχέση με τον ημι-ποσοτικό προσδιορισμό	35
Κατηγοριοποίηση οίνων με βάση την προέλευση και την παλαίωση τους. Ισπανία. FAAS, FAES	Λευκοί οίνοι 47 δείγματα (26 Montilla – Moriles DO, 21 Vinos de la Tierra de Villaviciosa)	Ca, Mg, Na, K, Fe, Cu, Mn, Zn, Al, Sr		25ml οίνου, προσθήκη 15ml H ₂ O ₂ , θέρμανση στους 80°C έως όγκο 20ml, προσθήκη 1ml π.HNO ₃ και θέρμανση στους 80°C έως όγκο 2ml και αραίωση στον αρχικό όγκο με νερό.	Statistica 7 (Stafsoft), PCA, CA, LDA	Κρίσιμα στοιχεία για την διάκριση παλαιωμένων από νέους οίνους: Mg, K, Sr, Zn και Mn.	36

<u>Σκοπός – Τεχνική</u>	<u>Τύπος οίνου – Αριθμός δειγμάτων</u>	<u>Στοιχεία</u>	<u>Χειρισμός Δειγμάτων</u>	<u>Ανάλυση δεδομένων</u> <u>γ</u>	<u>Σημειώσεις – Συμπεράσματα</u>	<u>Αναφορά</u>
Σύγκριση ποσοτικής και ημι-ποσοτικής πολυστοιχειακής ανάλυσης ICP-MS	Λευκοί και ερυθροί 4 δείγματα	Li, Be, Al, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Ga, As, Se, Rb, Sr, Ag, Cd, In, Cs, Ba, Hg, Tl, Pb, Bi, U	10% αραιώση με δ/μα 1% HNO ₃ και προσθήκη I.S. Rh και Re (10ppb) και Au 200ppb	-	1) Ο Au προστέθηκε για να μειωθεί το memory effect που προκαλείται από τον Hg και U. 2) LOD's και LOQ's ποσοτικού προσδιορισμού < σε σχέση με τον ημι-ποσοτικό προσδιορισμό.	37
Μελέτη δυνατότητας διάκρισης οίνων της Ποικιλίας Nebbiolo. ICP-MS	Ερυθρός Ποικιλίας Nebbiolo 68 δείγματα (από 4 περιοχές καλλιέργειας που διαφέρουν στον χρόνο παλαίωσης)	Al, As, B, Ba, Be, Ca, Cd, Ce, Co, Cr, Cs, Cu, Dy, Er, Eu, Fe, Ga, Gd, Ge, Hf, Ho, I, K, La, Li, Mg, Mn, Mo, Na, Nb, Nd, Ni, P, Pb, Pd, Pr, Rb, Rh, Sb, Si, Sm, Sn, Sr, Tb, Te, Th, Ti, Tl, Tm, U, V, W, Y, Yb, Zn, Zr	1ml οίνου, προσθήκη 4ml δ/τος 1% HNO ₃ .	PCA, LDA, STATIST ICA 5.1	1) Η καμπύλη βαθμονόμησης έγινε με υδροαλκοολικά διαλύματα μετάλλων που περιείχαν 2,5% αιθανόλης. 2) Κρίσιμα για τον διαχωρισμό στοιχεία: Si, Mg, Ti, Mn και Mo.	39
Διάκριση οίνων. Πορτογαλία. AAS, AES	Επιτραπέζιοι οίνοι και 'liquor' οίνοι 64 δείγματα (28 Azores αρχιπέλαγος, 36 Madeira)	Na, K, Ca, Mg, Fe, Cu, Zn, Mn, Sr, Li, Rb	Απλή αραιώση ή χώνευση με μικροκύματα με τη προσθήκη HNO ₃ .	PCA, LDA	Κρίσιμα για το διαχωρισμό στοιχεία: Fe, Cu, Zn, Mn, Rb, και Ca.	40
Γεωγραφική προέλευση οίνων. Αυστραλία. ICP-MS / ICP-AES	Λευκοί και ερυθροί διαφόρων ποικιλιών 1397 δείγματα	Li, Be, Al, Ti, V, Cr, Mn, Co, Ni, Cu, Zn, Ga, Ge, As, Se, Rb, Sr, Y, Z, Nb, Mo, Cd, In, Sn, Sb, Ta, Cs, Ba, La, Ce, Pr, Nd, Sm, Eu, Gd, Tb, Dy, Ho, Er, Lu, Hf, Ta, W, Tl, Pb, Bi, Th, U (ICP-MS) Na, K, Mg, Si, P, S, Ca, Fe (ICP-AES)	10% αραιώση με διάλυμα 2% HNO ₃ και προσθήκη I.S. Rh και Ir(2ppb).	LDA	1) Η καμπύλη βαθμονόμησης έγινε με υδροαλκοολικά διαλύματα μετάλλων που περιείχαν 1% αιθανόλη. 2) Κρίσιμα για το διαχωρισμό στοιχεία: Na, Li, Mg, Si, P, K, Ca, Mn, Fe, Ni, Zn, Rb, Sr, Cs και Ba.	41

<u>Σκοπός – Τεχνική</u>	<u>Τύπος οίνου – Αριθμός δειγμάτων</u>	<u>Στοιχεία</u>	<u>Χειρισμός Δειγμάτων</u>	<u>Ανάλυση δεδομένων</u>	<u>Σημειώσεις – Συμπεράσματα</u>	<u>Αναφορά</u>
Γεωγραφική ταυτοποίηση οίνων. Ρουμανία. ICP-MS	Λευκοί και ερυθροί διαφόρων ποικιλιών 60 (20 Valea Galugareasca, 22 Moldova, 18 Murfatlar)	Ni, Ag, Cr, Sr, Zn, Cu, Rb, Be, Mn, Pb, Co, V 0,010>LOD's >0.854 µg/l	2,5ml οίνου, προσθήκη 2,5ml π.HNO ₃ και χώνευση σε μικροκύματα και αραίωση με υπερκάθαρο νερό σε τελικό όγκο 50ml.	PCA, CC	Κρίσιμα για τον διαχωρισμό στοιχεία: Mn, Cr, Sr, Ag και Co.	42
Γεωγραφική διάκριση 'rice' οίνων. Κίνα. ICP-MS.	'rice' οίνοι 117 δείγματα (από 3 μεγάλα οινοποιεία)	LOD (mg/L): Na:0.82, Mg:1.11, Al:0.135, K:5.17, Ca:8.75, Mn:0.017, Fe:5.20, Cu:0.035, Zn:0.032 LOD (µg/L): V:0.018, Cr:0.014, Co:0.0036, Ni:0.051, As:0.11, Se:0.22, Mo:0.92, Cd:0.031, Ba:0.95, Pb:0.027	1ml οίνου, προσθήκη 8ml π.HNO ₃ και χώνευση σε μικροκύματα και εξάτμιση στους 140°C και διαλυτοποίηση στα 25ml με δ/μα 2% HNO ₃ .	ANOVA, LSD, PCA, LDA, PLS-DA,	Κρίσιμα για τον διαχωρισμό στοιχεία: Cu, Na, Mn, Mg, K, Mo, Ca και Ni.	43
Σύγκριση οίνων με διαφορετική γεωλογία και ρύπανση. Τσεχία. ICP-MS	Οίνοι από 3 οινοποιεία	²⁰⁶ Pb/ ²⁰⁷ Pb ²⁰⁸ Pb/ ²⁰⁶ Pb Isotope ratio	Σταθεροποίηση οίνων: 1ml π. HNO ₃ /50ml οίνου. Εξάτμιση οίνων στους 150°C με προσθήκη HNO ₃ και H ₂ O ₂ .	-	Σύγκριση επιπέδων ²⁰⁶ Pb/ ²⁰⁷ Pb αντίστοιχα σε οίνους και δείγματα εδαφών από τα οποία προέρχονται.	44
Γεωγραφική προέλευση οίνων. Κροατία. ICP-MS	Λευκοί κ ερυθροί οίνοι 9 ποικιλιών 75 δείγματα (Slavonia, Vojvodina, Istria)	Al, As, Ba, Be, Bi, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Ga, Li, Mn, Mo, Ni, Pb, Sb, Se, Sn, Sr, Ti, Tl, U, V, Zn	Αραίωση 10% με υπερκάθαρο νερό και προσθήκη 2% v/v HNO ₃ και προσθήκη εσωτερικού προτύπου In.	ANOVA, PCA, CLU, LDA,	Διάκριση ποικιλιών. Κρίσιμα για τον διαχωρισμό στοιχεία: Al, As, Be, Li, Sr, Ti και Tl.	45
Γεωγραφική προέλευση οίνων. Πορτογαλία. ICP-MS	Λευκοί κ ερυθροί οίνοι διαφόρων ποικιλιών 85 δείγματα (24 Alentejo, 16 Bairrada, 14 Dao, 31 Vinho Verde)	LOD (µg/L): Al:0.394, As:0.324, B:5.70, Ba:0.0349, Ca:398, Co:0.00255, Cu:0.560, Fe:2.03, K:9.84, Mg:2.07, Mn:6.21, Na:7.77, Ni:0.0225, P:3.27, Pb:0.0488, Sr:0.0445, Zn:1.12	Αραίωση 10% με διάλυμα 2% HNO ₃ σε υπερκάθαρο νερό και προσθήκη In ως εσωτερικό πρότυπο.	Box Plots, GLM, PCA, FA, DA,	Κρίσιμα για τον διαχωρισμό στοιχεία: B, Ba, Fe, K, Mg, Mn, Ni, Sr, Al, Ca, και Na.	47

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6

ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΙΧΝΟΣΤΟΙΧΕΙΩΝ ΜΕ ΤΗΝ ΤΕΧΝΙΚΗ ΤΗΣ ΦΑΣΜΑΤΟΜΕΤΡΙΑΣ ΜΑΖΩΝ ΜΕ ΕΠΑΓΩΓΙΚΑ ΣΥΖΕΥΓΜΕΝΟ ΠΛΑΣΜΑ.

6.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η τεχνική ICP-MS (Inductively Coupled Plasma – Mass Spectrometry) αναπτύχθηκε στα τέλη της δεκαετίας του '80 συνδυάζοντας την εύκολη εισαγωγή δείγματος και τη γρήγορη ανάλυση της τεχνολογίας ICP με τα χαμηλά όρια ανίχνευσης της φασματομετρίας μάζας.^[62]

Η ICP-MS είναι μια ακριβής και εξαιρετικά ευαίσθητη πολυστοιχειακή αναλυτική τεχνική και χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό ιχνοστοιχείων σε ποικιλία υγρών και στερεών δειγμάτων.^[63] Επιτυγχάνει χαμηλά όρια ανίχνευσης (έως και σε βαθμό ppt (partpertrillion)^[62], (Πίνακας 6.1)) για τα περισσότερα στοιχεία, υψηλό βαθμό εκλεκτικότητας και σχετικά καλή επαναληψιμότητα.^[59] Η χημική ανάλυση με επαγωγικά συζευγμένο πλάσμα (μια κατάσταση της ύλης που περιέχει ηλεκτρόνια και ιοντισμένα άτομα) βασίζεται στις αρχές της εξαέρωσης, της διάστασης και του ιοντισμού χημικών στοιχείων όταν εισέλθουν μέσα στο ζεστό πλάσμα. Αυτά τα ιόντα μπορούν στη συνέχεια να διαχωριστούν ανάλογα με το λόγο m/z (μάζα/φορτίο) μέσω ενός υψηλής ανάλυσης φασματομέτρου μάζας, να ανιχνευθούν και να μετρηθούν χρησιμοποιώντας έναν ηλεκτρονικό υπολογιστή.^[63]

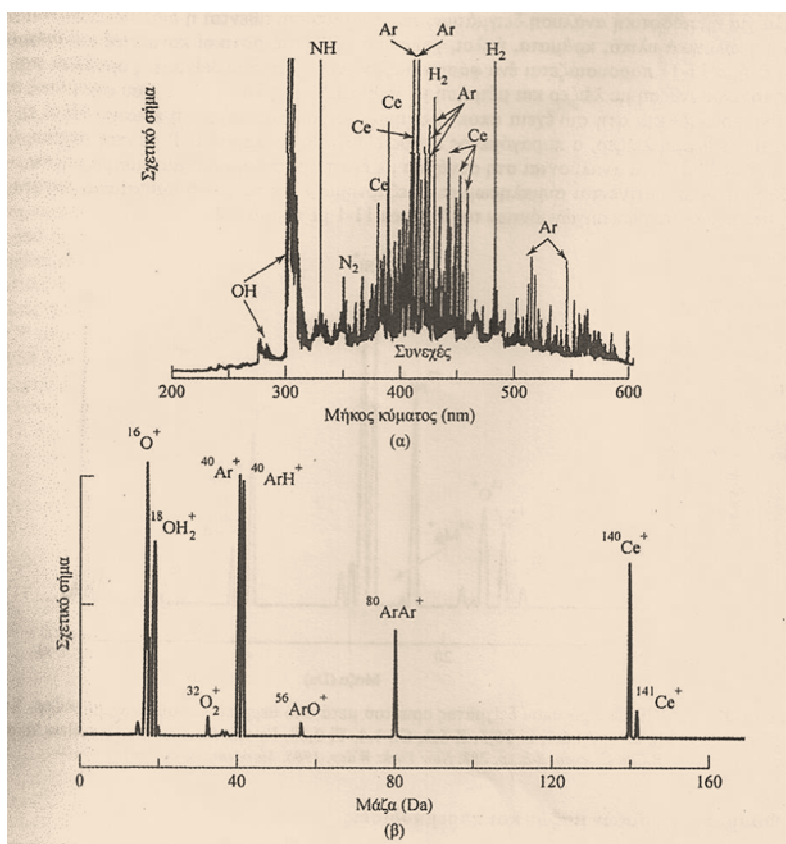
Πίνακας 6.1: Όρια ανίχνευσης για την ICP - MS^[62]

Στοιχείο	Όριο ανίχνευσης (ppt)
U, Cs, Bi	< 10
Ag, Be, Cd, Rb, Sn, Sb, Au	10 - 50
Ba, Pb, Se, Sr, Co, W, Mo, Mg	50 - 100
Cr, Cu, Mn	100 - 200
Zn, As, Ti	400 - 500

Li, P	1 - 3 ppb
Ca	< 20 ppb

Η τεχνική αυτή επιλέγεται σήμερα ολοένα και περισσότερο έναντι άλλων ευρέως χρησιμοποιούμενων τεχνικών όπως η AAS (Atomic Absorption Spectrometry), η ICP - AES (ICP – Atomic Emission Spectrometry) και η NAA (Neutron Activation Analysis), καθώς υπερσχύει όσον αφορά σε ευαισθησία, ταχύτητα και ευκολία ανάλυσης (Εικόνα 6.1) καθώς και επειδή μπορεί να χρησιμοποιηθεί για μεγάλο εύρος στοιχείων και σε μεγάλη ποικιλία δειγμάτων.^[63]

Μερικές από τις εφαρμογές της τεχνικής αυτής αφορούν στο πόσιμο νερό, στα απόβλητα, σε συστήματα φυσικού νερού, στη γεωλογία, εδαφολογία, μεταλλουργία, τεχνολογία τροφίμων και στη φαρμακολογία.^[62]



Εικόνα 6.1: α) οπτικό φάσμα ICP δ/τος δημητρίου 100ppm, β) φάσμα μαζών ICP δ/τος δημητρίου 10ppm.^[59]

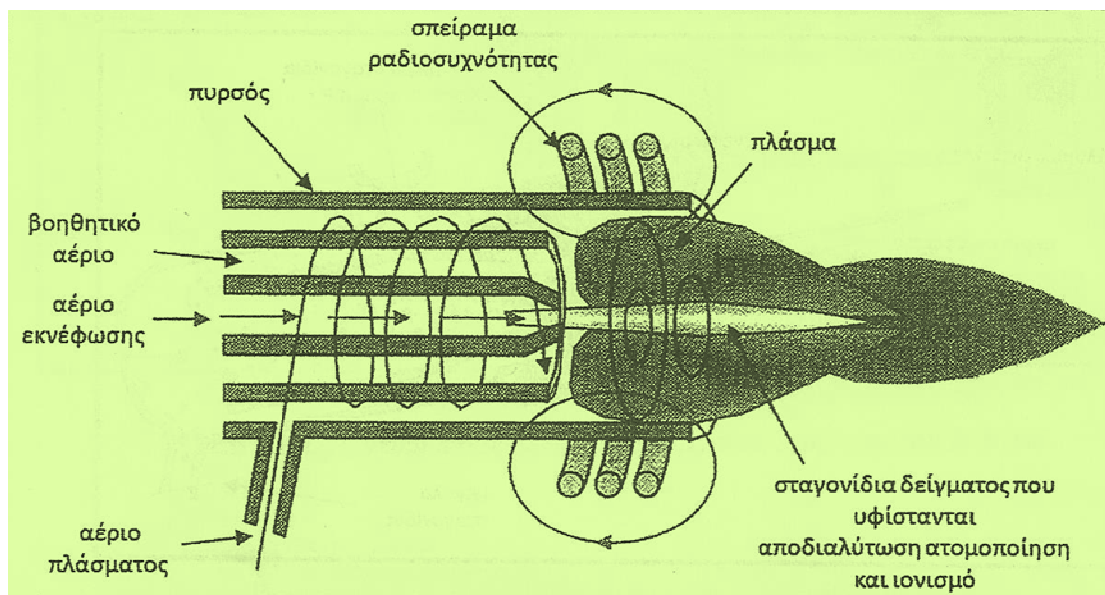
6.2 ΕΠΑΓΩΓΙΚΑ ΣΥΖΕΥΓΜΕΝΟ ΠΛΑΣΜΑ

Ως πλάσμα ορίζεται ένα μερικώς ιονισμένο αέριο υψηλής θερμοκρασίας ικανό να ατομοποιήσει και να διεγείρει τα περισσότερα στοιχεία του περιοδικού πίνακα.^[60]

Ανάλογα με τον τρόπο σχηματισμού του διακρίνονται διάφοροι τύποι πλάσματος αλλά ο πιο κοινός είναι το επαγωγικά συζευγμένο πλάσμα (ICP – Inductively Coupled Plasma). Το επαγωγικά συζευγμένο πλάσμα είναι ένας ειδικός τύπος πλάσματος που τροφοδοτείται με ισχύ από μια γεννήτρια ραδιοσυχνότητας εξ' επαγωγής. Τα αέρια που μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως ύλη του πλάσματος είναι το αργό, το ήλιο, το οξυγόνο και ο αέρας. Από τα παραπάνω το αργό είναι το πιο διαδεδομένο, αφού έχει ικανοποιητικά χαρακτηριστικά ατομοποίησης, ιονισμού και διέγερσης. Ταυτόχρονα λαμβάνεται σε καθαρή μορφή, έχει λογικό κόστος και είναι εύκολα διαθέσιμο εμπορικά γιατί ο ατμοσφαιρικός αέρας περιέχει αργό σε ποσοστό περίπου 0,8% v/v.^[60]

Ο ρόλος του πλάσματος στην τεχνική ICP-MS είναι η παραγωγή θετικά φορτισμένων ιόντων από το αεροδιάλυμα (aerosol).^[60]

Το επαγωγικά συζευγμένο πλάσμα είναι ένα πλάσμα το οποίο ιονίζεται μέσω της επαγωγικής θέρμανσης του αερίου με ένα ηλεκτρομαγνητικό πηνίο και περιέχει επαρκή συγκέντρωση ιόντων και ηλεκτρονίων έτσι ώστε το αέριο να είναι ηλεκτρικά αγωγίμο. Έστω και ένα μερικώς ιονισμένο πλάσμα στο οποίο έστω και το 1% το μορίων έχει ιονιστεί, μπορεί να έχει χαρακτηριστικά ενός πλάσματος (απόκριση σε μαγνητικά πεδία και υψηλή ηλεκτρική αγωγιμότητα). Το πλάσμα που χρησιμοποιείται στη φασματομετρική ανάλυση είναι στην ουσία ηλεκτρικά ουδέτερο, καθώς κάθε θετικά φορτισμένο ιόν αντισταθμίζεται από ένα ελεύθερο ηλεκτρόνιο. Σε αυτό το πλάσμα τα θετικά ιόντα είναι σχεδόν όλα μονοφορτισμένα και υπάρχουν πολύ λίγα αρνητικά ιόντα. Έτσι υπάρχουν σχεδόν ίσες ποσότητες ιόντων και ηλεκτρονίων σε κάθε μονάδα όγκου του πλάσματος.

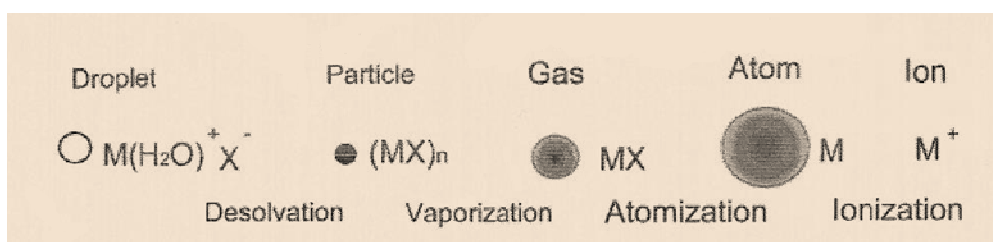


Εικόνα 6.2: Δομή και λειτουργία ενός πυρσού παραγωγής πλάσματος ^[60]

Το επαγωγικά συζευγμένο πλάσμα που χρησιμοποιείται στην φασματομετρία διατηρείται σε έναν πυρσό (Εικόνα 6.2) που περιέχει τρεις ομοαξονικούς σωλήνες, συνήθως από χαλαζία (για να αντέχουν στις υψηλές θερμοκρασίες του πλάσματος ^[60]). Η ροή αέριου αργού (συνήθως 14-18 λίτρα ανά λεπτό) εισάγεται μεταξύ των δύο εξωτερικών σωλήνων του πυρσού και ένας ηλεκτρικός σπινθήρας εφαρμόζεται για μικρό χρονικό διάστημα ώστε να εισαχθούν ελεύθερα ηλεκτρόνια μέσα στο αέριο. Στην κορυφή του εξωτερικού σωλήνα είναι τυλιγμένο ένα χάλκινο σπείραμα μορφής πηνίου, το οποίο δημιουργεί επαγωγικά ένα ηλεκτρομαγνητικό πεδίο στον πυρσό. ^[60] Τα ηλεκτρόνια αλληλεπιδρούν με τις ραδιοσυχνότητες του μαγνητικού πεδίου του επαγωγικού πηνίου και επιταχύνουν τα ηλεκτρόνια αρχικά προς τη μια κατεύθυνση και στη συνέχεια στην άλλη. Τα επιταχυνόμενα ηλεκτρόνια συγκρούονται με τα άτομα του αργού και η σύγκρουσή τους έχει ως αποτέλεσμα άτομα αργού να χάνουν ένα από τα ηλεκτρόνια τους. Τότε το απολεσθέν ηλεκτρόνιο επιταχύνεται από το ταχέως μεταβαλλόμενο μαγνητικό πεδίο. Η διαδικασία συνεχίζεται έως ότου το ποσοστό απώλειας ηλεκτρονίων από τις συγκρούσεις να έρθει σε ισορροπία με το ποσοστό επαναπρόσληψης ηλεκτρονίων από τα ιόντα αργού. Έτσι παράγεται ένα μείγμα που περιέχει κυρίως άτομα αργού και ένα μικρό ποσοστό ελεύθερων ηλεκτρονίων και ιόντων αργού. Το μαγνητικό πεδίο θερμαίνει επαγωγικά το σχηματιζόμενο πλάσμα σε θερμοκρασία της τάξης των 5000-10000 K. Η θερμοκρασία του πλάσματος εξαρτάται από πολλούς παράγοντες, όπως είναι:

- οι συνθήκες εισαγωγής του δείγματος,
- η απόσταση ανάμεσα στο σπείραμα ραδιοσυχνότητας και τον κώνο δειγματοληψίας και
- η συχνότητα RF που εφαρμόζεται.^[60]

Το ζεστό πλάσμα μπορεί να διατηρηθεί μέσα στον πυρσό καθώς η ροή του αερίου μεταξύ των δύο εξωτερικών σωλήνων το συγκρατεί μακριά από τα τοιχώματα του πυρσού^[63], ενώ παράλληλα το ψύχει (γι αυτό το λόγο ονομάζεται αέριο ψύξης (coolant or outer gas))^[60]. Μια δεύτερη ροή αργού (περίπου 1 λίτρο ανά λεπτό) εισάγεται μεταξύ του κεντρικού και του ενδιάμεσου σωλήνα, ώστε να αποτρέπεται το πλάσμα από το άκρο του κεντρικού σωλήνα, καθώς και για την αποφυγή σχηματισμού στοιβάδας άνθρακα κατά την ατομοποίηση οργανικών δειγμάτων (βοηθητικό ή ενδιάμεσο αέριο (auxiliary or intermediate gas))^[60]. Μια τρίτη ροή αργού εισάγεται μέσα στον κεντρικό σωλήνα του πυρσού (περίπου 1 λίτρο ανά λεπτό) (αέριο έγχυσης ή νεφοποίησης (injector or carrier or inner gas))^[60]. Αυτή η ροή αερίου περνά μέσα από το κέντρο του πλάσματος, όπου σχηματίζει ένα κανάλι το οποίο είναι χαμηλότερης θερμοκρασίας από το περιβάλλον πλάσμα αλλά ακόμη αρκετά θερμότερο από μια χημική φλόγα. Δείγματα προς ανάλυση εισάγονται στο κεντρικό κανάλι, συνήθως ως εκνέφωμα υγρού αφού πρώτα έχουν περαστεί από εκνεφωτή.



Εικόνα 6.3: Διαδικασία ατομοποίησης^[23]

Καθώς ένα σταγονίδιο του δείγματος εισέρχεται στο κεντρικό κανάλι του ICP, εξατμίζεται και ατομοποιείται. Η όλη διεργασία της ατομοποίησης στο πλάσμα γίνεται σχεδόν ακαριαία, αφού κάθε σταγονίδιο του δείγματος παραμένει στο χώρο του πλάσματος μόνο για μερικά χιλιοστά του δευτερολέπτου (έτσι αποφεύγεται ο σχηματισμός ενώσεων που παρεμποδίζουν). Η ατομοποίηση και διέγερση των

συστατικών του δείγματος περιλαμβάνει την απομάκρυνση του διαλύτη από το δείγμα, τη διάσπαση των συστατικών του δείγματος, την ατομοποίηση των στοιχείων και τέλος τη διέγερσή τους.^[60] Στις θερμοκρασίες που επικρατούν μέσα στο πλάσμα ιονίζεται ένα σημαντικό ποσοστό ατόμων πολλών χημικών στοιχείων, κάθε ένα από τα οποία χάνει το πιο χαλαρά συνδεδεμένο ηλεκτρόνιο του ώστε να σχηματίσει μονοφορτισμένα ιόντα.

6.3 ΦΑΣΜΑΤΟΜΕΤΡΙΑ ΜΑΖΑΣ

Η φασματομετρία ατομικών μαζών είναι μια πολλαπλά χρήσιμη και ευρύτατα χρησιμοποιούμενη τεχνική για την ταυτοποίηση στοιχείων σε δείγματα και για τον προσδιορισμό των συγκεντρώσεών τους. Σχεδόν όλα τα στοιχεία του περιοδικού πίνακα μπορούν να προσδιοριστούν με την φασματομετρία μαζών. Παρουσιάζει πολλά πλεονεκτήματα έναντι άλλων τεχνικών ατομικής φασματοσκοπίας, όπως:

- Χαμηλά όρια ανίχνευσης έως και τρεις τάξεις μεγέθους χαμηλότερα.
- Φάσματα αξιοσημείωτης απλότητας και εύκολα στην ερμηνεία τους.
- Δυνατότητα μέτρησης ατομικών ισοτοπικών λόγων.^[59]

Παράλληλα παρουσιάζει και αρκετά μειονεκτήματα, όπως:

- Υψηλό κόστος αγοράς οργάνων έως και τρεις τάξεις μεγέθους υψηλότερο.
- Ολίσθηση οργάνων που μπορεί να φτάσει το 5% έως 10% για κάθε ώρα λειτουργίας.
- Φασματοσκοπικές παρεμποδίσεις.^[59]

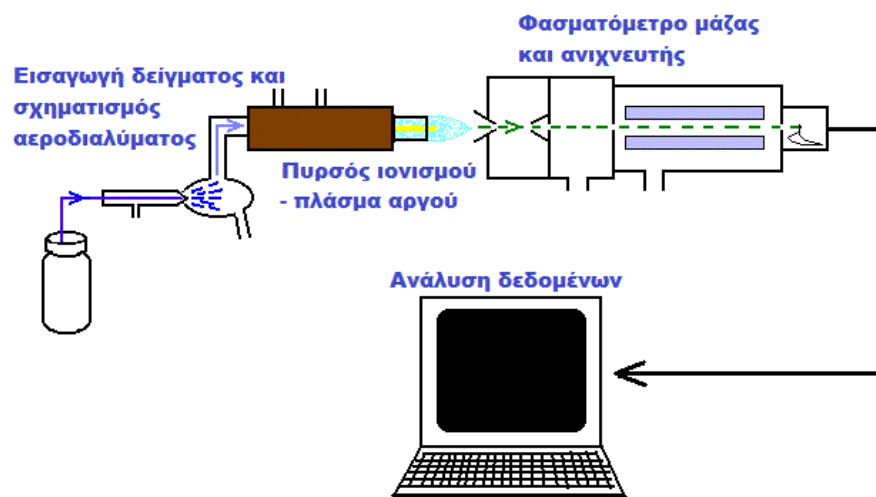
Η ανάλυση με φασματομετρία ατομικών μαζών περιλαμβάνει τα ακόλουθα στάδια:

1. ατομοποίηση,
2. μετατροπή ενός σημαντικού κλάσματος των ατόμων, που σχηματίζονται κατά το πρώτο στάδιο, σε ρεύμα ιόντων (συνήθως μονοφορτισμένα θετικά ιόντα),
3. διαχωρισμό των ιόντων που σχηματίζονται κατά το δεύτερο στάδιο με βάση τον λόγο μάζας/φορτίου (m/z) – με τη βοήθεια μαγνητικού πεδίου-τετράπολο,
4. απαρίθμηση των ιόντων κάθε κατηγορίας ή μέτρηση του ρεύματος που παράγεται, όταν τα σχηματιζόμενα από το δείγμα ιόντα προσπίπτουν σε

κατάλληλο ανιχνευτή. Ο ανιχνευτής/μεταλλάκτης μετατρέπει την ιοντική δέσμη σε ηλεκτρικό σήμα, το οποίο μπορεί να υποστεί περαιτέρω επεξεργασία, να αποθηκευτεί στη μνήμη ενός ηλεκτρονικού υπολογιστή και να παρουσιαστεί ή να καταγραφεί με διάφορους τρόπους.^[59]

Ο ποσοτικός προσδιορισμός συνήθως βασίζεται σε καμπύλες βαθμονόμησης, που αποδίδουν το λόγο του σήματος των ιόντων του αναλύτη προς το σήμα των ιόντων ενός εσωτερικού προτύπου, ως συνάρτηση της συγκέντρωσης.^[59]

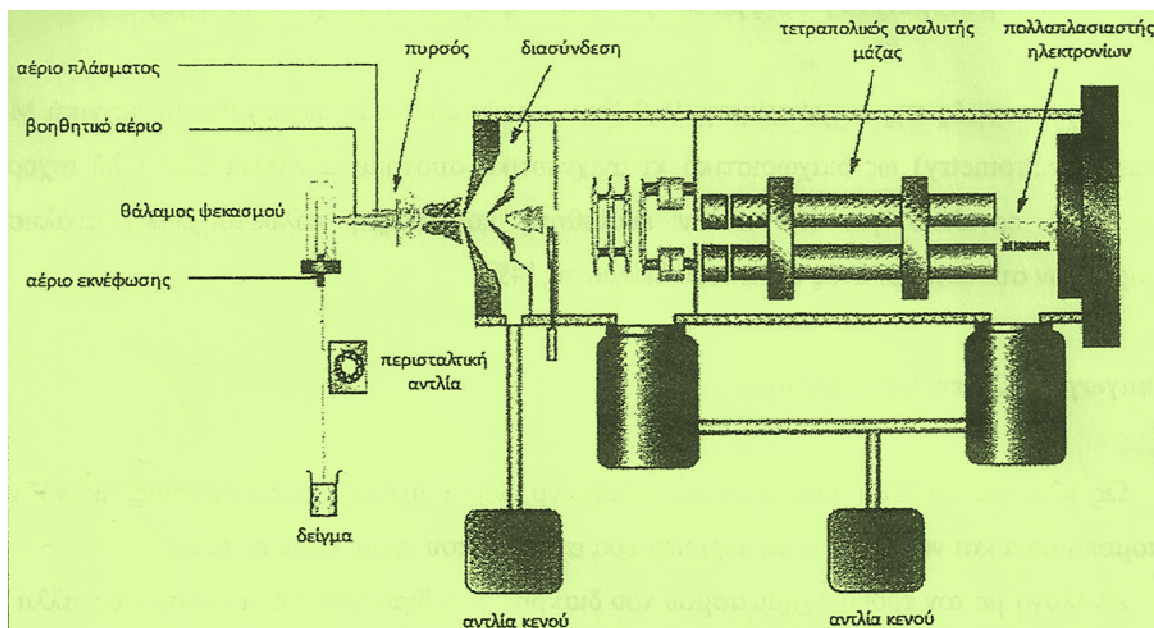
6.4 ΟΡΓΑΝΟΛΟΓΙΑ ICP - MS



Εικόνα 6.4: Σχηματική αναπαράσταση της λειτουργίας ενός οργάνου ICP-MS ^[62]

Τα κυριότερα μέρη ενός οργάνου ICP-MS είναι (Εικόνα 6.3):

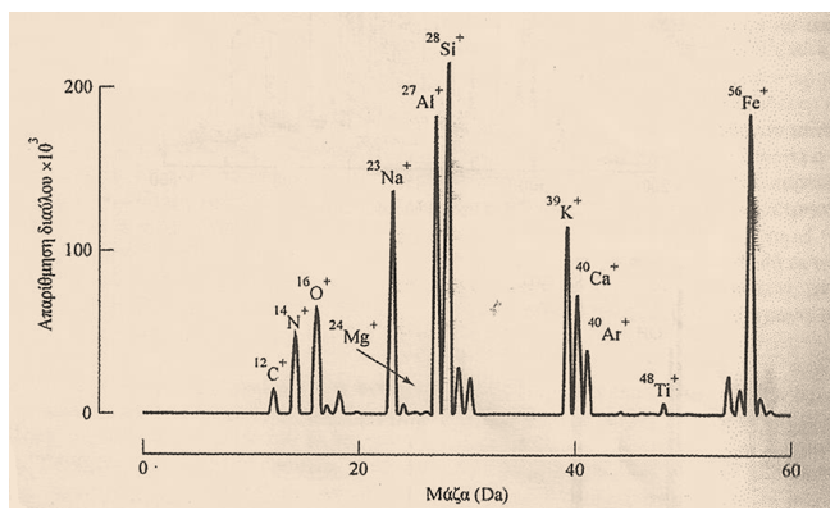
- Σύστημα εισαγωγής δείγματος
- Σύστημα ατομοποίησης ICP
- Σύστημα εισαγωγής ιόντων
- Διασύνδεση
- Σύστημα εστίασης ιόντων
- Αναλυτής μάζας
- Σύστημα ανίχνευσης ιόντων
- Σύστημα καταγραφής κι εξόδου των αποτελεσμάτων σε H/Y.^[61,62]



Εικόνα 6.5: Σχηματική απεικόνιση του εσωτερικού ενός οργάνου ICP-MS.^[60]

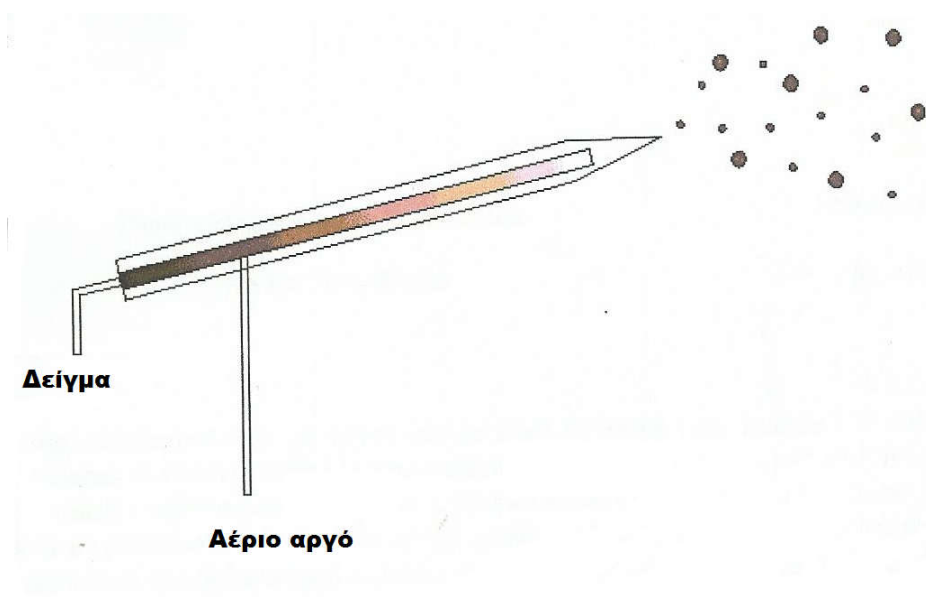
6.4.1 Σύστημα εισαγωγής δείγματος

Η ICP-MS μπορεί να δεχθεί στερεά καθώς και υγρά δείγματα. Τα στερεά δείγματα εισάγονται στο ICP μέσω ενός συστήματος λείζερ το οποίο μπορεί συνήθως να αγοραστεί ως εξάρτημα^[62]. Στα όργανα αυτά δέσμες παλμικού λείζερ πυκνότητας ισχύος ύψους 10^{12} W/cm^2 εστιάζονται σε επιφάνεια μερικών τετραγωνικών μικρομέτρων του στερεού δείγματος. Ακτινοβολίες υψηλής έντασης αυτού του είδους εξαερώνουν ταχύτατα τα περισσότερα υλικά, ακόμη και τα πιο δύστηκτα, καθώς πραγματοποιείται αποσύνθεση και μετατροπή του δείγματος σε ένα θύσανο ατμού και κονιορτού μάζας, ο οποίος στη συνέχεια οδηγείται προς τον ατομοποιητή. Όργανα αυτού του τύπου φαίνεται να είναι ιδιαίτερα κατάλληλα για ημιποσοτική ανάλυση δειγμάτων, τα οποία αποσυντίθενται ή διαλυτοποιούνται δύσκολα όπως είναι γεωλογικά υλικά, κράματα, ύαλοι, γεωργικά προϊόντα, αστικοί κονιορτοί και δείγματα εδαφών (Εικόνα 6.5). Η αποσύνθεση με λείζερ είναι μια ευπροσάρμοστη σε ειδικές συνθήκες τεχνική, επειδή εφαρμόζεται τόσο σε αγωγίμα όσο και σε μη αγωγίμα στερεά, σε ανόργανα και οργανικά δείγματα, καθώς και σε σκόνες και μεταλλικά υλικά. Επιπλέον, σε περιπτώσεις ανάλυσης ογκωδών δειγμάτων, μια εστιασμένη δέσμη λείζερ επιτρέπει τη δειγματοληψία και ανάλυση μιας μικρής περιοχής της επιφάνειας του στερεού δείγματος.^[59]



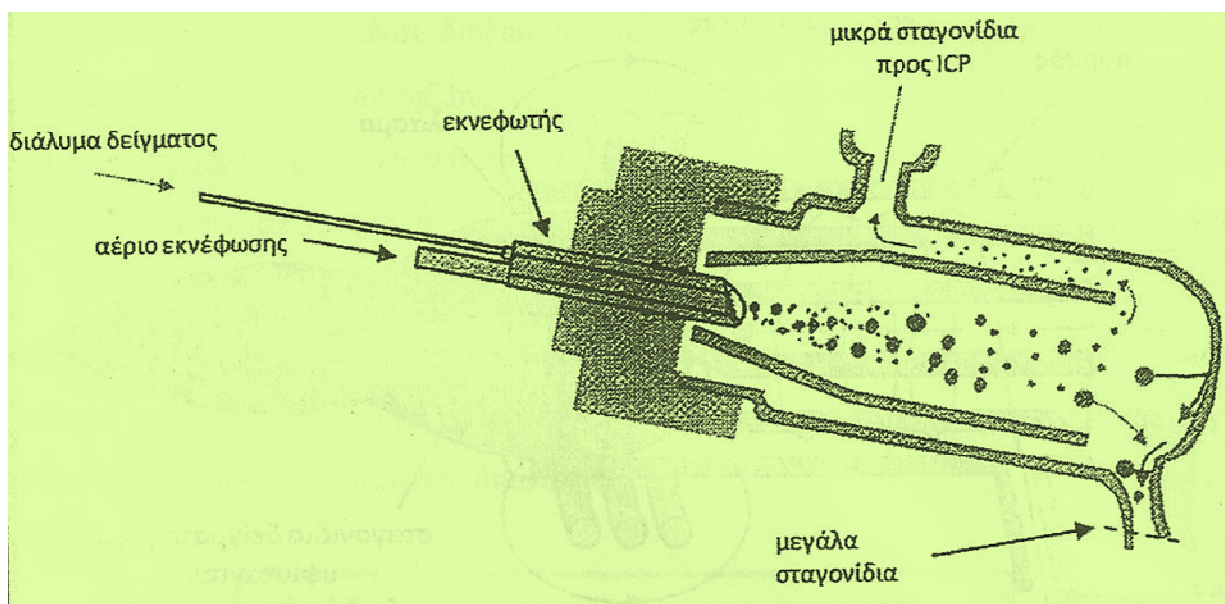
Εικόνα 6.6: Φάσμα ICP - MS πρότυπου δείγματος ορυκτού μετά από θερμική αποσύνθεση με λέιζερ.^[59]

Τα υδατικά δείγματα εισάγονται μέσω ενός εκνεφωτή που αναρροφά το δείγμα με υψηλής ταχύτητας αργό, σχηματίζοντας μια λεπτή ομίχλη^[62] (Εικόνα 6.6). Το διάλυμα μπορεί εναλλακτικά να οδεύσει προς τον εκνεφωτή, με τη βοήθεια περισταλτικής αντλίας.^[60]



Εικόνα 6.7: Σχηματική απεικόνιση ενός εκνεφωτή.^[62]

Το αερόλυμα περνά στη συνέχεια μέσα σε ένα θάλαμο ψεκασμού όπου μεγαλύτερα σταγονίδια απομακρύνονται μέσω αποστράγγισης. Συνήθως, μόνο το 2% της σχηματιζόμενης ομίχλης περνάει μέσα από το θάλαμο ψεκασμού. Η διαδικασία αυτή είναι αναγκαία για την παραγωγή σταγονιδίων αρκετά μικρών ώστε να μπορούν να εξατμιστούν στον πυρσό ICP.^[62] Ο θάλαμος ψεκασμού επιτρέπει την εισαγωγή μόνο σε σταγονίδια με μέγεθος 2-5μm. Η εισαγωγή μεγάλων σταγονιδίων προκαλεί αποσταθεροποίηση του πλάσματος και συνεπώς ελάττωση της ακρίβειας. Επιπλέον η παρουσία του θαλάμου ψεκασμού αυξάνει το λόγο σήματος προς θόρυβο σε περίπτωση που γίνεται χρήση της περισταλτικής αντλίας. Τα μεγάλα σταγονίδια εξέρχονται από το στόμιο εξόδου των αποβλήτων, το οποίο συνδέεται απευθείας με περισταλτική αντλία, σε αντίθεση με τα μικρά σταγονίδια που οδεύουν προς τον πυρσό και το πλάσμα (Εικόνα 6.8). Οι θάλαμοι ψεκασμού χωρίζονται σε δύο κατηγορίες, μονής και διπλής κατεύθυνσης. Στην πρώτη κατηγορία η φορά εξόδου του νέφους είναι ίδια με τη φορά εισόδου, ενώ στην δεύτερη συμβαίνει το αντίθετο. Η θερμοκρασία του θαλάμου ψεκασμού έχει καθοριστική σημασία στη σταθερότητα του πλάσματος επηρεάζοντας την ποσότητα ατμών διαλύτη που εισέρχονται σε αυτό. Έτσι είναι γενικά επιθυμητό η θερμοκρασία στο θάλαμο ψεκασμού να διατηρείται σε χαμηλότερα επίπεδα σε σχέση με τη θερμοκρασία περιβάλλοντος. Τα σύγχρονα όργανα ICP-MS ενσωματώνουν ειδικά συστήματα ψύξης για το σκοπό αυτό.^[61]



Εικόνα 6.8: Σχηματική απεικόνιση του θαλάμου ψεκασμού.^[60]

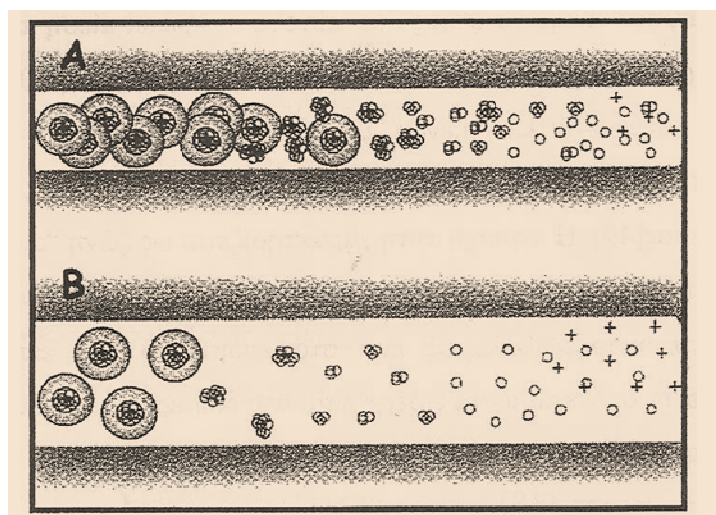
6.4.2 Σύστημα ατομοποίησης ICP

Το αεροδιάλυμα του δείγματος εισάγεται μέσα στο πλάσμα και ακολουθούν οι εξής διεργασίες:

- το διάλυμα του προσδιοριζόμενου συστατικού νεφοποιείται,
- το νέφος σταγόνων υφίσταται αποδιαλύτωση,
- εξάτμιση,
- ατομοποίηση και
- ιονισμός.

Η ικανότητα ιονισμού είναι διαφορετική για κάθε στοιχείο του περιοδικού πίνακα. Ειδικότερα είναι συνάρτηση του πρώτου δυναμικού ιονισμού του στοιχείου, δηλαδή της ενέργειας που απαιτείται για την απομάκρυνση ενός ηλεκτρονίου από ένα ουδέτερο άτομο. Το πρώτο δυναμικό ιονισμού ενός ατόμου κάθε στοιχείου είναι καθορισμένο.^[60]

Όσο μεγαλύτερη είναι η διάμετρος του πυρσού τόσο μεγαλύτερη είναι η διάχυση, κάτι το οποίο οδηγεί σε αποδοτικότερη αποσύνθεση του υποστρώματος (Εικόνα 6.9). Αυτό οδηγεί συχνά σε μείωση της ευαισθησίας αλλά μειώνει τις εναποθέσεις στερεών στους κώνους διασύνδεσης.^[61] Απαραίτητη είναι η συνεχής λειτουργία απαγωγού καθώς το πλάσμα δεν προέρχεται από την οξειδωτική καύση κάποιου καύσιμου αερίου, επομένως τα παραγόμενα προϊόντα δεν είναι διοξείδιο του άνθρακα και νερό, αλλά αργό και πλήθος ιονισμένων και μη ελεύθερων ριζών που προέρχονται από την ατομοποίηση του δείγματος.^[60]



Εικόνα 6.9: Διάμετρος σωλήνα έγχυσης του πυρσού. Α) σωλήνας ανεπαρκούς αποσύνθεσης του υποστρώματος. Β) σωλήνας επαρκούς αποσύνθεσης του υποστρώματος.^[61]

6.4.3 Διασύνδεση

Κρίσιμο τμήμα του οργάνου ICP - MS είναι το σημείο διασύνδεσης του πυρσού ICP, ο οποίος λειτουργεί σε ατμοσφαιρική πίεση, με το φασματόμετρο μαζών, όπου η πίεση πρέπει να είναι μικρότερη των 10^{-4} torr. Η σύζευξη αυτή επιτυγχάνεται με ένα διαφορετικά αντλούμενο συζεύκτη ο οποίος αποτελείται από έναν κώνο δειγματοληψίας, που είναι ένας υδρόψυκτος κώνος νικελίου με ένα μικρό στόμιο ($<1, 0$ mm) στο κέντρο του. Το θερμό αέριο πλάσμα μεταφέρεται μέσω του στομίου σε μια περιοχή, η οποία διατηρείται σε πίεση περίπου 1 torr με μια μηχανική αντλία. Στην περιοχή αυτή πραγματοποιείται μια ταχεία διαστολή του αερίου με αποτέλεσμα την ψύξη του.^[59] Η ζώνη αυτή ονομάζεται ζώνη «σιωπής» επειδή οι συνθήκες ιονισμού έχουν παγώσει και δε δημιουργούνται άλλα ιόντα.^[61] Ένα κλάσμα του αερίου της περιοχής αυτής μεταφέρεται στη συνέχεια μέσω μιας μικρής οπής σε έναν δεύτερο κώνο, ο οποίος ονομάζεται αποκορυφωτής (skimmer: απομάκρυνση επιπλέοντος υλικού από ένα υγρό, «ξάφρισμα») και στη συνέχεια σε ένα θάλαμο ο οποίος διατηρείται στην πίεση του φασματόμετρου μαζών.^[59]

6.4.4 Εστίαση ιόντων

Εδώ τα θετικά ιόντα διαχωρίζονται από τα ηλεκτρόνια και τα μοριακά σωματίδια με ένα αρνητικό δυναμικό, επιταχύνονται και εστιάζονται με μαγνητικό φακό ιόντων στο

στόμιο εισόδου ενός τετραπολικού αναλυτή μάζας.^[1] Οι φακοί αυτοί διατηρούν τα ιόντα σε μια συμπαγή δέσμη, είναι κυλινδρικοί και εφαρμόζεται πάνω τους μια ηλεκτρική τάση με σκοπό τη μεταβολή της τροχιάς των θετικών ιόντων.^[2] Το στάδιο αυτό είναι καθοριστικό για την τελική ευαισθησία του οργάνου, καθώς τα ιόντα που θα διαφύγουν της εστίασης δεν θα ανιχνευθούν.^[3]

6.4.5 Φασματογράφος μάζας

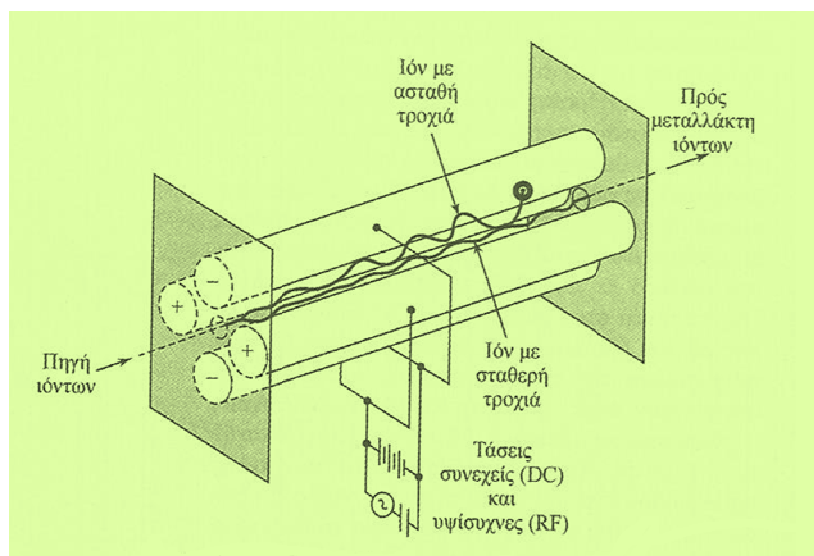
Στις προδιαγραφές απόδοσης ενός τυπικού εμπορικού φασματομέτρου μαζών εξοπλισμένου με πυρσό ICP αναφέρονται: περιοχή μαζών 3 έως 300, δυνατότητα διάκρισης ιόντων που διαφέρουν κατά μια μονάδα λόγου m/z και δυναμική περιοχή σήματος 6 τάξεων μεγέθους. Με αυτόν τον τύπο οργάνου έχουν μετρηθεί πάνω από το 90% του περιοδικού πίνακα. Οι χρόνοι μέτρησης είναι 10s για κάθε στοιχείο και τα όρια ανίχνευσης για τα περισσότερα στοιχεία βρίσκονται στην περιοχή 0,1 έως 10 ppb. Οι σχετικές τυπικές αποκλίσεις στο μέσο της καμπύλης αναφοράς είναι 2% έως 4%.^[59]

Υπάρχουν 3 τύποι αναλυτών μάζας που έχουν χρησιμοποιηθεί για την τεχνική ICP - MS:

- Τετραπολικοί αναλυτές,
- Αναλυτές μαζών τύπου «χρόνου πτήσης» και
- Αναλυτές διπλής εστίασης.

Τετραπολικός αναλυτής μάζας: Ο συνηθέστερος τύπος φασματόμετρου μαζών, που χρησιμοποιείται στην ICP - MS, είναι ο τετραπολικός αναλυτής μαζών (quadrupole mass analyzer). Το όργανο αυτό έχει μικρό μέγεθος, μικρότερο κόστος και είναι μηχανικά ανθεκτικότερο από τους περισσότερους τύπους φασματόμετρων μαζών. Επίσης έχει το πλεονέκτημα των υψηλών ταχυτήτων σάρωσης, ώστε ολόκληρο το φάσμα μαζών να λαμβάνεται σε χρόνο μικρότερο των 100 ms. Καρδιά του τετραπολικού φασματομέτρου είναι οι τέσσερις παράλληλες κυλινδρικές ράβδοι, οι οποίες δρουν ως ηλεκτρόδια (Εικόνα 6.9). Οι διαγώνιες ράβδοι συνδέονται ηλεκτρικά μεταξύ τους. Για να ληφθεί το φάσμα μαζών με αυτή τη συσκευή, τα ιόντα επιταχύνονται στο χώρο ανάμεσα στις ράβδους με ένα δυναμικό 5-10V. Τα εναλλασσόμενα και συνεχή δυναμικά των ράβδων αυξάνουν συγχρόνως διατηρώντας

όμως τον λόγο τους σταθερό. Σε κάποια χρονική στιγμή όλα τα ιόντα, εκτός από αυτά που έχουν μια συγκεκριμένη τιμή λόγου m/z , φθάνουν στις ράβδους και μετατρέπονται σε ουδέτερα μόρια. Έτσι φθάνουν στο μεταλλάκτη μόνον τα ιόντα, των οποίων οι τιμές m/z βρίσκονται σε μια στενή περιοχή τιμών του λόγου m/z . Με τα τετραπολικά όργανα μπορούν εύκολα να διακριθούν ιόντα που διαφέρουν κατά μια μονάδα μάζας.



Εικόνα 6.10: Τετραπολικό φασματομέτρο μαζών.^[59]

Το συνολικό τετράπολο επιτρέπει τη διέλευση ζώνης ιόντων, των οποίων η τιμή του λόγου m/z βρίσκεται σε μια στενή περιοχή τιμών. Το κέντρο της ζώνης αυτής μπορεί να μεταβάλλεται με ρύθμιση των δυναμικών AC και DC. Για να σαρωθεί ένα φάσμα μαζών με ένα τετραπολικό όργανο, τόσο το δυναμικό AC V , όσο και το δυναμικό DC U , αυξάνουν συγχρόνως από το μηδέν έως μια μέγιστη τιμή, ενώ ο λόγος του V/U παραμένει λίγο μικρότερος του 6. Η διάρκεια μιας σάρωσης είναι μερικά ms ενώ τα δυναμικά DC μεταβάλλονται από μηδέν έως περίπου ± 250 V, τα δυναμικά AC αυξάνουν γραμμικά από το μηδέν έως 1500V περίπου. Από διάφορους κατασκευαστές οργάνων διατίθενται τετραπολικά φασματομέτρα μαζών, που καλύπτουν περιοχή τιμών m/z μέχρι 3000 ή και 4000. Τα όργανα αυτά διακρίνουν εύκολα ιόντα, που διαφέρουν κατά μια μονάδα μάζας.^[59]

6.4.6 Σύστημα ανίχνευσης ιόντων

Τα κυριότερα χαρακτηριστικά που σχετίζονται με τις επιδόσεις του ανιχνευτή σε ένα όργανο ICP- MS είναι:

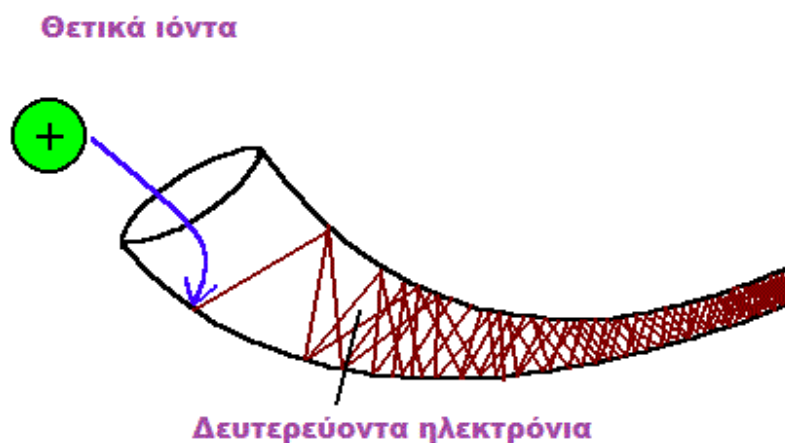
- η υψηλή ευαισθησία (παλμοί ανά δευτερόλεπτο, ανά μονάδα συγκέντρωσης),
- το μεγάλο εύρος γραμμικής περιοχής και
- ο χαμηλός θόρυβος υποβάθρου.

Υπάρχουν δύο διατάξεις ανίχνευσης ιόντων: Ο κλωβός ή κύπελλο Faraday και ο πολλαπλασιαστής ηλεκτρονίων.^[60]

6.4.6.1 Κύπελλο FARADAY: Ο μεταλλάκτης ευθυγραμμίζεται έτσι ώστε τα ιόντα που εξέρχονται από τον αναλυτή να προσπίπτουν σε ένα ηλεκτρόδιο - συλλέκτη, το οποίο περιβάλλεται από έναν κλωβό Faraday. Ο κλωβός αποτρέπει τη διαφυγή τυχόν ανακλώμενων ιόντων και δευτερογενών ηλεκτρονίων. Το ηλεκτρόδιο συλλογής έχει μια κλίση ως προς τη διαδρομή των εισερχομένων ιόντων, ώστε τα σωματίδια, που προσπίπτουν ή εγκαταλείπουν το ηλεκτρόδιο, να ανακλώνται προς τα τοιχώματα του κλωβού και όχι προς την είσοδο του. Το ηλεκτρόδιο-συλλέκτης και ο κλωβός συνδέονται με τη γείωση μέσω μιας αντίστασης μεγάλης τιμής. Το φορτίο των θετικών ιόντων που φθάνουν στο συλλέκτη εξουδετερώνονται με ροή ηλεκτρονίων από τη γείωση μέσω της αντίστασης. Η δημιουργούμενη πτώση τάσης κατά μήκος της αντίστασης ενισχύεται με έναν ενισχυτή υψηλής εμπέδωσης. Η απόκριση αυτού του μεταλλάκτη είναι ανεξάρτητη της ενέργειας, της μάζας και της χημικής φύσης του ιόντος. Το κύπελλο του Faraday είναι φθινό και απλό ως προς τη μηχανική και ηλεκτρική κατασκευή του. Το κύριο μειονέκτημά του είναι ότι απαιτείται και ενισχυτής υψηλής εμπέδωσης, ο οποίος περιορίζει την ταχύτητα σάρωσης του φάσματος. Ο μεταλλάκτης αυτού του τύπου είναι επίσης λιγότερο ευαίσθητος από τους ηλεκτρονιοπολλαπλασιαστές, επειδή λείπει η ενδογενής ενίσχυση.^[59]

6.4.6.2 Ηλεκτρονιοπολλαπλασιαστής: Ο ηλεκτρονιοπολλαπλασιαστής μοιάζει με τον φωτοπολλαπλασιαστή υπεριώδους/ορατής ακτινοβολίας, όπου κάθε δύνοδος βρίσκεται σε υψηλότερο δυναμικό από την προηγούμενη. Η κάθοδος και οι πολλαπλές δύνοδοι έχουν επιφάνειες Cu/Be από τις οποίες εκπέμπονται ριπές

ηλεκτρονίων, όταν προσκρούουν σε αυτές ιόντα ή ηλεκτρόνια υψηλών ενεργειών. Υπάρχουν ηλεκτρονιοπολλαπλασιαστές ακόμα και με 20 δυνόδους, οι οποίοι παρέχουν τυπικές ενισχύσεις ρεύματος της τάξης 10^7 .^[59]



Εικόνα 6.11: Σχηματική απεικόνιση ενός πολλαπλασιαστή ηλεκτρονίων συνεχούς δυνόδου.^[62]

Ένας ηλεκτρονιοπολλαπλασιαστής συνεχούς δυνόδου έχει σχήμα τρομπέτας (Εικόνα 6.11) και κατασκευάζεται από ύαλο υψηλής περιεκτικότητας σε μόλυβδο. Κατά μήκος του μεταλλάκτη εφαρμόζεται ένα δυναμικό 1,8 έως 2 kV.^[59] Τα θετικά ιόντα που εξέρχονται από το φασματόμετρο μάζας έλκονται στην εσωτερική επιφάνεια του σωλήνα. Όταν προσκρούουν στην επιφάνεια του, (λόγω της κινητικής ενέργειάς τους^[59]) πρόσθετα δευτερεύοντα ηλεκτρόνια εκπέμπονται μακρύτερα μέσα στο σωλήνα και αυτά με τη σειρά τους εκπέμπουν πρόσθετα δευτερεύοντα ηλεκτρόνια όλο και πιο βαθιά στον σωλήνα. Καθώς η διαδικασία συνεχίζεται ακόμη περισσότερα ηλεκτρόνια αναπηδούν, με αποτέλεσμα την εσωτερική ενίσχυση του ρεύματος έως και 10^8 όταν τα ηλεκτρόνια φθάσουν στο τέλος του σωλήνα.^[62]

Τα σύγχρονα όργανα ICP - MS χρησιμοποιούν ως ανιχνευτή τον πολλαπλασιαστή ηλεκτρονίων καθώς επιτυγχάνεται υψηλή ευαισθησία και χαμηλός θόρυβος υποβάθρου.^[60] Οι ηλεκτρονιοπολλαπλασιαστές επίσης, είναι αξιόπιστοι, ανθεκτικοί στη χρήση, έχουν υψηλή ενίσχυση ρεύματος και χαρακτηρίζονται από χρόνους απόκρισης της τάξης του ενός ns (10^{-9} s).^[59]

6.4.7 Σύστημα καταγραφής και εξόδου των αποτελεσμάτων σε Η/Υ

Το όργανο ICP-MS ελέγχεται από υπολογιστή. Ο υπολογιστής ελέγχει διάφορες συσκευές υλικού, καθώς και την απόκτηση, την αποθήκευση, την απεικόνιση και την επεξεργασία των δεδομένων.^[60]

6.5 ΠΑΡΕΜΠΟΔΙΣΕΙΣ ΣΤΗΝ ICP – MS

Οι παρεμποδίσεις στη φασματομετρία ατομικών μαζών διαιρούνται σε δύο μεγάλες κατηγορίες, φασματοσκοπικές και μη φασματοσκοπικές παρεμποδίσεις. Οι μη φασματοσκοπικές παρεμποδίσεις είναι παρόμοιες με αυτές της μήτρας του δείγματος (υπόστρωμα), τις οποίες συναντούμε στις οπτικές μεθόδους εκπομπής και απορρόφησης.^[59]

6.5.1 Μη φασματοσκοπικές παρεμποδίσεις – επιδράσεις των συστατικών της μήτρας

Οι επιδράσεις της μήτρας του δείγματος (του υποστρώματος) γίνονται αντιληπτές στις τεχνικές ICP - MS σε συγκεντρώσεις μεγαλύτερες των 500 - 1000 μg/ml. Συνήθως αυτές οι επιδράσεις μειώνουν το σήμα του αναλύτη, αν και κάτω από ορισμένες πειραματικές συνθήκες μπορεί να παρατηρηθεί και ενίσχυση του σήματος. Κάθε συστατικό του δείγματος σε υψηλή συγκέντρωση οδηγεί σε παρεμπόδιση αυτού του τύπου. Οι επιδράσεις των συστατικών της μήτρας μπορούν γενικά να ελαχιστοποιηθούν με χρήση αραιότερων δειγμάτων, με αλλαγή της πορείας εισαγωγής του δείγματος ή με απομάκρυνση των ουσιών που προκαλούν πρόβλημα. Επίσης οι παρεμποδίσεις αυτές μπορούν να εξουδετερωθούν με χρήση εσωτερικού προτύπου, το οποίο θα πρέπει να είναι ένα στοιχείο με μάζα και δυναμικό ιοντισμού περίπου ίδια με εκείνα του αναλύτη.^[59]

6.5.2 Φασματοσκοπικές παρεμποδίσεις

Προκύπτουν όταν ένα ιοντικό σωματίδιο στο πλάσμα έχει τον ίδιο λόγο m/z με το ιόν του αναλύτη. Διακρίνονται οι εξής κατηγορίες φασματοσκοπικών παρεμποδίσεων:

ισοβαρικά ιόντα, ιόντα πολυατομικά ή σύνθετα, διπλοφορτισμένα ιόντα και ιόντα δύστηκτων οξειδίων.

6.5.2.1 Ισοβαρικές παρεμποδίσεις: Ισοβαρικά σωματίδια είναι δύο στοιχεία με ισότοπα, που έχουν ουσιαστικά την ίδια μάζα. Για τη φασματομετρία ατομικών μαζών με τετραπολικό φασματόμετρο μαζών ισοβαρικά σωματίδια είναι ισότοπα, που διαφέρουν ως προς τη μάζα τους λιγότερο από μια μονάδα. Με όργανα υψηλότερης διακριτικής ικανότητας (High Resolution) είναι ανεκτές ακόμη μικρότερες διαφορές. Επειδή οι ισοβαρικές επικαλύψεις είναι προβλέψιμες από τους πίνακες φυσικής αφθονίας των ισοτόπων, μπορούν να πραγματοποιηθούν διορθώσεις με χρήση κατάλληλου λογισμικού. Σε ορισμένα σύγχρονα όργανα πλέον, οι διορθώσεις αυτές πραγματοποιούνται αυτόματα.

6.5.2.2 Παρεμποδίσεις πολυατομικών ιόντων: Δημιουργείται από διάφορα πολυατομικά σωματίδια, που σχηματίζονται από αλληλεπιδράσεις μεταξύ σωματιδίων του πλάσματος και σωματιδίων της μήτρας του δείγματος ή της ατμόσφαιρας. Συνέπεια των αλληλεπιδράσεων αυτών είναι ο σχηματισμός διαφόρων μοριακών ιόντων, τα οποία είναι δυνατόν να παρεμποδίζουν. Αυτός ο τύπος παρεμπόδισης συναντάται συχνότερα σε περιοχές τιμών λόγου m/z μικρότερων από 82 περίπου. Μερικές από τις παρεμποδίσεις αυτές μπορούν να διορθωθούν με μέτρηση τυφλού.

6.5.2.3 Παρεμποδίσεις από οξείδια και υδροξείδια: Οι σοβαρότερες παρεμποδίσεις στην ICP-MS οφείλονται στα οξείδια και υδροξείδια που σχηματίζονται, από τον ίδιο τον αναλύτη, από τα συστατικά της μήτρας, από τον διαλύτη και από τα αέρια του πλάσματος. Ακόμα σοβαρότερες παρεμποδίσεις, αυτού του τύπου, φαίνεται να προέρχονται από τα οξείδια και υδροξείδια του αναλύτη και των συστατικών της μήτρας του δείγματος. Σχεδόν όλα αυτά τα χημικά σωματίδια σχηματίζουν σε κάποιο βαθμό ιόντα MO^+ και MOH^+ , όπου το M αντιπροσωπεύει τον αναλύτη ή ένα στοιχείο της μήτρας. Υπάρχει πιθανότητα οι κορυφές ενός από τα ιόντα του αναλύτη να επικαλύπτονται από τις κορυφές των σωματιδίων αυτών.

Ο σχηματισμός ενός οξειδίου εξαρτάται από πειραματικές συνθήκες, όπως η ταχύτητα ροής του εκτοξευτή, η ισχύς της ακτινοβολίας, ραδιοσυχνότητες, η τοποθέτηση του αποκορυφωτή του δείγματος, το μέγεθος του στομίου εισαγωγής του δείγματος, η σύσταση των αερίων του πλάσματος, ο αποκλεισμός του οξυγόνου και

το ποσοστό του απομακρυνόμενου διαλύτη. Όλες αυτές οι πειραματικές μεταβλητές μπορούν να ρυθμισθούν, ώστε να εξουδετερωθεί το πρόβλημα των επικαλύψεων από κορυφές οξειδίων και υδροξειδίων.^[59]

6.6 ΠΟΙΟΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Η τεχνική ICP - MS μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον ποιοτικό και ημιποσοτικό προσδιορισμό ενός ή περισσότερων στοιχείων σε δείγματα διαφόρων υλικών. Ενδείκνυται για τον ταχύ χαρακτηρισμό διαφόρων τύπων φυσικών ή τεχνητών υλικών πολύπλοκης σύνθεσης. Τα φάσματα ατομικών μαζών είναι απλούστερα και ερμηνεύονται ευκολότερα σε σχέση με τα φάσματα οπτικής εκπομπής. Ένας από τους λόγους που προτιμάται η τεχνική ICP - MS είναι τα χαμηλά όρια ανίχνευσης που επιτυγχάνονται με τους ανιχνευτές φασματομετρίας μαζών, σε σχέση με άλλες τεχνικές. Γενικά τα όρια ανίχνευσης με τη φασματομετρία μαζών για τα περισσότερα στοιχεία, βρίσκονται στην περιοχή 0,02-0,1 ppb.

Η ημιποσοτική ανάλυση για ένα ή περισσότερα συστατικά ενός μίγματος είναι δυνατή μετά από μέτρηση του ιοντικού ρεύματος κορυφής σε διάλυμα του στοιχείου με γνωστή συγκέντρωση. Η συγκέντρωση του αναλύτη στο δείγμα υπολογίζεται προϋποθέτοντας αναλογική σχέση μεταξύ ιοντικού ρεύματος και συγκέντρωσης.^[59]

6.7 ΠΟΣΟΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Η περισσότερο χρησιμοποιούμενη μέθοδος ποσοτικής ανάλυσης με την τεχνική ICP - MS βασίζεται στην κατασκευή εξωτερικών καμπυλών βαθμονόμησης με πρότυπα διαλύματα. Η χρήση υδατικών πρότυπων διαλυμάτων είναι ικανοποιητική, εάν τα διαλύματα των αγνώστων είναι αρκετά αραιά και η συγκέντρωσή του συνολικά διαλυμένου στερεού είναι μικρότερη από 2000μg/mL. Εάν οι συγκεντρώσεις των συστατικών της μήτρας του δείγματος είναι μεγαλύτερες, καταβάλλεται προσπάθεια να προσομοιάσουν τα πρότυπα δείγματα κατά το δυνατόν με τα άγνωστα, με την προσθήκη στα πρότυπα των ίδιων συστατικών που υπάρχουν στα δείγματα. Για να αντισταθμιστούν ολισθήσεις του οργάνου, αστάθειες και επιδράσεις συστατικών της μήτρας προστίθεται συνήθως στα πρότυπα και στα άγνωστα δείγματα ένα εσωτερικό πρότυπο. Το εσωτερικό πρότυπο είναι ένα στοιχείο, που απουσιάζει από τα δείγματα

και έχει ατομική μάζα και δυναμικό ιοντισμού παραπλήσια με αυτά του αναλύτη. Δύο στοιχεία που χρησιμοποιούνται ως εσωτερικά πρότυπα είναι το ίνδιο και το ρόδιο, καθώς και τα δύο βρίσκονται στην κεντρική περιοχή μαζών και δεν βρίσκονται συχνά σε φυσικά δείγματα.

Για ποσοτικές αναλύσεις μεγαλύτερων απαιτήσεων σε ακρίβεια μπορεί να εφαρμοσθεί η μέθοδος ισοτοπικής αραίωσης. Η βασική αρχή της τεχνικής αυτής είναι η μέτρηση της μεταβολής του λόγου εντάσεων δύο ισοτόπων ενός στοιχείου, που επέρχεται κατά την προσθήκη γνωστής ποσότητας (spike) ενός πρότυπου διαλύματος εμπλουτισμένου σε ένα από τα δύο ισότοπα. Τα πλεονεκτήματα της μεθόδου ισοτοπικής αραίωσης είναι η βελτίωση στην ακρίβεια και η ανθεκτικότητα της σε μια ποικιλία χημικών και φυσικών παρεμποδίσεων, ενώ το κύριο μειονέκτημά της είναι ο χρόνος που απαιτείται για την ολοκλήρωσή της.^[59]

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7

ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ

7.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η διαφοροποίηση των οίνων βάση αυθεντικότητας είναι πολύ δύσκολο να επιτευχθεί μόνο με την απλή σύγκριση των δεδομένων της μεταλλικής σύνθεσης αυτών. Για το σκοπό αυτό λοιπόν, έχουν εφαρμοσθεί διάφορες στατιστικές μέθοδοι, έτσι ώστε να μπορούν να αποτυπωθούν οι τάσεις των δεδομένων, και να μπορούν να ληφθούν πληροφορίες και συμπεράσματα για τις ομοιότητες και διαφορές μεταξύ των δειγμάτων οίνου που μελετώνται κάθε φορά.

7.2 ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ ΑΝΑΛΥΣΗΣ

7.2.1 ANOVA

Η ANOVA (ANalysis Of VAriables) είναι η πιο απλή τεχνική. Εφαρμόζεται για όλες τις μεταβλητές ώστε να δείξει τη δυνατότητα συσχετισμού μεταξύ δύο μεταβλητών διαφορετικών κατηγοριών. Για την πολυστοιχειακή ανάλυση, κάθε δείγμα οίνου λαμβάνεται υπ' όψιν ως ένα αντικείμενο μεταβλητών που αντιπροσωπεύεται από τη

συνολική μεταλλική σύνθεσή του. Αυτές οι μεταβλητές σχηματίζουν ένα διάνυσμα δεδομένων και όλα τα διανύσματα δεδομένων που ανήκουν στην ίδια κατηγορία αναλύονται χρησιμοποιώντας τεχνικές μοτίβου-αναγνώρισης (PCA, LDA, CA).^[38]

7.2.2 PCA

Η πιο ευρέως χρησιμοποιούμενη στατιστική τεχνική είναι η PCA (Principal Component Analysis^[6]), η οποία αποτελεί έναν ορθογώνιο γραμμικό μετασχηματισμό, ο οποίος έχει ως στόχο να σχηματίζει ένα μοτίβο για τα δεδομένα υψηλού μεγέθους, εκφρασμένο έτσι ώστε να επισημαίνονται ομοιότητες/διαφορές. Αυτό μπορεί να γίνει με τη μείωση ενός αριθμού μεταβλητών μετασχηματίζοντας τους σε ένα σύνολο νέων συντεταγμένων για τα οποία η μεγαλύτερη διακύμανση των αρχικών δεδομένων ασκείται με μια ελάχιστη απώλεια πληροφοριών. Η PCA είναι πολύ πρακτική για την αναγνώριση των ομάδων, ακραίων τιμών ή άλλων δομών στα δεδομένα.^[38] Αυτοί οι γραμμικοί συνδυασμοί που σχηματίζονται βάσει ενός κριτηρίου μέγιστης διακύμανσης ονομάζονται κύριες συνιστώσες (PC). Οι συντελεστές, με τους οποίους οι αρχικές μεταβλητές θα πρέπει να πολλαπλασιαστούν για να εξισωθούν με τις κύριες συνιστώσες αναφέρονται ως “loadings”. Η αριθμητική τιμή τους δείχνει πόσο οι μεταβλητές αυτές συσχετίζονται με την κύρια συνιστώσα.^[10] Στην ουσία η PCA χρησιμοποιείται για την ελάττωση των προς ανάλυση μεταβλητών.^[6]

7.2.3 LDA

Η LDA (Linear Discriminant Analysis) είναι μια τεχνική που παρέχει μια σειρά από ορθογώνιες γραμμικές λειτουργίες διάκρισης, αντίστοιχες με τον αριθμό των επιμέρους κατηγοριών ελαττωμένων κατά 1. Έχει ως σκοπό να μεγιστοποιήσει την διακύμανση μεταξύ των κατηγοριών και την ελαχιστοποίηση της διακύμανσης εντός των κατηγοριών, έτσι είναι πολύτιμη κατά την εξερεύνηση της δομής των δεδομένων.^[38] Χρησιμοποιείται για τη διαφοροποίηση μεταξύ των ομάδων, καθώς παρέχει μια διακριτική λειτουργία, η οποία είναι ένα χρήσιμο εργαλείο για την ταξινόμηση.^[7]

7.2.4 CA

Η CA (Cluster Analysis) είναι μια μέθοδος που χρησιμοποιείται για την ταξινόμηση των αντικειμένων σε υποσύνολα (Clusters) η οποία αντιπροσωπεύεται από ένα δένδrogramma το οποίο είναι χρήσιμο για τον σχηματισμό ομάδων με παρόμοια χαρακτηριστικά.^[38]

7.2.5 SDA

Η SDA θεωρείται προκαταρκτική ανάλυση από την οποία προκύπτουν υποσύνολα τα οποία στην συνέχεια χρησιμοποιούνται στην κανονική διακριτική ανάλυση (CDA) και στη γραμμική διακριτική ανάλυση (LDA).^[7]

7.2.6 CDA

Η CDA (Canonical discriminant analysis) είναι μια παραμετρική τεχνική μείωσης των διαστάσεων η οποία σχετίζεται με την PCA. Η CDA κάνει διακρίσεις ανάμεσα σε ένα δεδομένο σύνολο ή μια ομάδα (π.χ. γεωγραφική προέλευση), βασιζόμενη σε λίγους γραμμικούς συνδυασμούς των μεταβλητών (π.χ. μεταλλικά στοιχεία). Αυτοί οι γραμμικοί συνδυασμοί είναι γνωστοί ως κανονικές μεταβλητές, οι οποίες μπορούν να απεικονίζονται σε έναν άξονα για να υπάρξει μια δισδιάστατη γραφική παράσταση, η οποία απεικονίζει τη διάκριση μεταξύ των ομάδων. Οι δύο πρώτες κανονικές μεταβλητές συνήθως καταγράφονται η μια έναντι της άλλης, δεδομένου ότι αντιπροσωπεύουν τη σημαντικότερη διάκριση μεταξύ των ομάδων. Η CDA μπορεί να εφαρμοστεί για κάθε ποικιλία, χρησιμοποιώντας το υποσύνολο των μεταβλητών που έχουν ταυτοποιηθεί με την SDA.^[7]

7.2.7 CC

Η CC (Canonical Correlation) χρησιμοποιείται για τη σύγκριση συγκεκριμένου συνόλου μεταβλητών που αφορούν 2 διαφορετικές παραμέτρους (π.χ. συσχέτιση μεταλλικής σύνθεσης εδάφους-οίνου).^[38]

7.2.8 HCA

Η HCA (Hierarchical Cluster Analysis) ταξινομεί αντικείμενα σε συστάδες με βάση τις αποστάσεις-διαφορές των χαρακτηριστικών τους σε υψηλές διαστάσεις. Τα αποτελέσματα φαίνονται σε ένα δενδρόγραμμα, το οποίο μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την ανίχνευση ομάδων παρόμοιων ατόμων.^[10] Στην ιεραρχική συμπλεγματική ανάλυση, οι ομοιότητες μεταξύ των δειγμάτων καθορίζονται με βάση την έννοια της απόστασης, και υπολογίζονται από τις μαθηματικές σχέσεις της αριθμητικής ιδιότητας των δειγμάτων. Κάθε δείγμα συνδέεται με το πλησιέστερο δείγμα ή την ομάδα των δειγμάτων, και η απόσταση αυτή χρησιμοποιείται για να περιγράψει αυτή την ένωση. Οι αποστάσεις μεταξύ των διαφορετικών ομάδων των δειγμάτων αξιολογείται με τρόπους διαφορετικούς από τις κοινές μεθόδους σύνδεσης και αναπαρίστανται γραφικά σε ένα δενδρόγραμμα, το οποίο δείχνει την απόσταση κάθε δείγματος από τα άλλα.^[14]

7.2.1 RDA

Η RDA (Regularized Discriminant Analysis) περιλαμβάνει λειτουργίες διάκρισης οι οποίες ρυθμίζονται έτσι ώστε να μεγιστοποιούν τις αποστάσεις μεταξύ προκαθορισμένων ομάδων. Σκοπός της είναι να υπολογίζει μοντέλα κατάταξης και όρια, δίνοντας έναν κανόνα ταξινόμησης ο οποίος βασίζεται σε ένα σύνολο γνωστών αντικειμένων. Ο κανόνας αυτός μπορεί να εφαρμοστεί για να καθορίσει την ταξινόμηση άγνωστων αντικειμένων (σύνολο ελέγχου), αφού πρώτα επικυρωθεί. Δύο προσεγγίσεις επικύρωσης που μπορούν να εφαρμοστούν είναι οι εξής: η ενδοπιστοποίηση και η μέθοδος ενός συνόλου ελέγχου. Για την πρώτη μέθοδο, ένα άτομο κάθε φορά, αφαιρείται από τον αρχικό πληθυσμό και εφαρμόζεται η RDA για τα υπόλοιπα άτομα. Αυτή η μέθοδος δίνει μια ένδειξη της επίδρασης του κάθε ατόμου. Οι συντεταγμένες του ατόμου που έχουν αφαιρεθεί υπολογίζονται, και έτσι επαληθεύεται η καταχώριση του ατόμου σε κάποια ομάδα. Για τη μέθοδο ενός συνόλου ελέγχου, τα δείγματα χωρίζονται τυχαία σε ένα σύνολο που ονομάζεται training set (υπόδειγμα) και σχηματίζεται από το 66% των δειγμάτων. Έτσι αναπτύσσεται ένα μοντέλο διάκρισης και ένα σύνολο επικύρωσης, το οποίο σχηματίζεται από το υπόλοιπο 33% των δειγμάτων και το οποίο δοκιμάζεται πάνω στο υπόδειγμα.^[10]

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ

ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8

ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΜΕΘΟΔΟΥ

8.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Αναπτύχθηκε μέθοδος προσδιορισμού της μεταλλικής σύνθεσης οίνων, με τη χρήση οργανολογίας ICP-MS, μετά από χώνευση σε μικροκύματα με π.ΗΝΟ₃ οξύ λαμβάνοντας 1ml οίνου και 2ml π.ΗΝΟ₃. Η χώνευση πραγματοποιείται σε δοχεία χώνευσης PTFE και τα διαλύματα αραιώνονται σε τελικό όγκο 10ml (επιτυγχάνεται 1:10 αραιώση του δείγματος οίνου). Κατασκευάζεται καμπύλη βαθμονόμησης για κάθε στοιχείο χρησιμοποιώντας 5 πρότυπα διαλύματα (1ppb, 5ppb, 20ppb, 100ppb και 500ppb σε διάλυμα ΗΝΟ₃ 1%). Στη συνέχεια ακολουθεί η ανάλυση των τυφλών διαλυμάτων και των δειγμάτων. Όλες οι πειραματικές δοκιμές και αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν σε συνεργασία με το Γενικό Χημείο του Κράτους, στις εγκαταστάσεις της Χημικής Υπηρεσίας Μετρολογίας Αθηνών, υπό την επίβλεψη του Προϊστάμενου της εν λόγω υπηρεσίας, Χαράλαμπου Αλεξόπουλου.

8.2 ΟΡΓΑΝΟΛΟΓΙΑ

8.2.1 ΦΑΣΜΑΤΟΜΕΤΡΟ ΜΑΖΩΝ ΜΕ ΕΠΑΓΩΓΙΚΑ ΣΥΖΕΥΓΜΕΝΟ ΠΛΑΣΜΑ (ICP-MS)

Το φασματόμετρο μάζας, με επαγωγικά συζευγμένο πλάσμα, που χρησιμοποιήθηκε είναι της Thermo Scientific με την επωνυμία ELEMENT 2. (Πίνακας 8.1) Οι συνθήκες που εφαρμόστηκαν σε αυτή τη μελέτη παρουσιάζονται στον Πίνακα 8.2.

Πίνακας 8.1: Χαρακτηριστικά οργάνου και ιδανικές συνθήκες λειτουργίας, σύμφωνα με τον κατασκευαστή.

Ευαισθησία (Concentric Nebulizer)	> 1x10 ⁹ counts per second (cps)/ppm In
Δυναμικό Ανίχνευσης	< ppq for non-interfered nuclides
Θόρυβος	< 0.2cps
Δυναμική Περιοχή	> 10 ⁹ linear with automatic gain calibration
Mass Resolution	300, 4000, 10000, (10% valley, equivalent to 5% height) 600, 800, 20000 (FWHM)
Σταθερότητα Σήματος	<1% RSD over 10 minutes <2% RSD over 1 hour
Ταχύτητα Σάρωσης (magnetic)	m/z 7 to 240 to 7 < 150 ms

Ταχύτητα Σάρωσης (electric)	1 ms/jump, independent of mass range
Οξειδία και δισθενή ιόντα	λόγος μέτρηση BaO ⁺ /Ba ⁺ <0.002 Ba ²⁺ /Ba ⁺ <0.03
Ενέργεια	3-phase, 230/400 V ±10%, 50/60 Hz fused 32A per phase Κατανάλωση Ενέργειας:~9KVA
Environment	Θερμοκρασία 18-24 °C (64-75 °F) Υγρασία 50-60% , non condensing, non-corrosive
Cooling Water	~200 l/h Temperature 10-20 °C 4-6 bar (43-65 psi)
Argon	Καθαρότητα 99.996 min. 18 L/min Ρύθμιση Πίεσης 8-10 bar (116-145 psi) Συνιστάται η συνεχής ροή αργού
Plasma Exhaust	1 x 6 cm Ø; 90 m ³ /h (Argon + suspended sample)
Electronics Exhaust	2 x 15 cm Ø; 800 90 m ³ /h

Πίνακας 8.2: Παράμετροι λειτουργίας οργάνου ICP-MS

Auxiliary Gas Flow (L/min)	0,01
Sample Gas Flow Rate (L/min)	0,01
Cool gas (L/min)	0,46
Argon Middle (bar)	3,21
Argon Max (bar)	5,36
Take up time (min)	2
Washing time between samples (min)	1
Quantification type	External Calibration
Fore Pump (mbar)	2,31 X 10 ⁻⁴
High Vacuum (mbar)	9,46 X 10 ⁻⁸
Peltier Temperature (°C)	20

Στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 8.3) παρουσιάζεται η ανάλυση του φασματομέτρου μάζας που χρησιμοποιήθηκε για κάθε στοιχείο. Η ισχύς ενός φασματομέτρου μάζων μπορεί να ρυθμιστεί ως χαμηλή, μεσαία ή υψηλή (Low, Medium ή High Resolution) για την αποφυγή προβλημάτων αλληλεπικάλυψης μάζων. Η ανάλυση των τυπικών τετραπολικών φασματομέτρων μάζων που χρησιμοποιούνται στην ICP-MS κυμαίνεται μεταξύ 0,7 - 1,0 amu. Για εφαρμογές ρουτίνας η ανάλυση αυτή των μάζων αρκεί για να διαχωρίσει επικαλυπτόμενες μοριακές ή ισοβαρικές παρεμβολές στοιχειωδών ισοτόπων. Η ισχύς διαχωρισμού (R) ενός φασματομέτρου μάζας υπολογίζεται ως $R = m / (|m_1 - m_2|) = m / \Delta m$, όπου m_1 είναι η μάζα ενός είδους ή ισοτόπου και m_2 είναι η μάζα του είδους ή του ισοτόπου το οποίο αλληλεπικαλύπτει και θέλουμε να διαχωρίσουμε και m είναι η ονομαστική μάζα^[63].

Πίνακας 8.3: Η ισχύς του φασματομέτρου μάζων που εφαρμόστηκε για κάθε στοιχείο.

LR	LR	LR	MR	MR	HR
Ag	Mo	Rh	Al	Mg	As
Au	Na	Sb	Ca	Mn	Ge
B	Os	Sr	Co	Ni	Se
Be	Pb	Th	Cr	Sn	
Cd	Pd	Tl	Cu	Ti	
Eu	Pt	U	Fe	V	
Gd	Rb		In		
Li	Re				

8.2.2 ΧΩΝΕΥΣΗ ΜΕ ΤΗ ΒΟΗΘΕΙΑ ΜΙΚΡΟΚΥΜΑΤΩΝ (MICROWAVE DIGESTION)

Τα δείγματα χωνεύθηκαν σε φούρνο με τη βοήθεια μικροκυμάτων στη συσκευή MARS 6, One Touch Technology CEM Corporation, ακολουθώντας προτεινόμενο από την εταιρεία θερμοκρασιακό πρόγραμμα.

Το MARS 6 είναι ένα σύγχρονο σύστημα μικροκυμάτων που πραγματοποιεί πλήρεις χωνεύσεις δειγμάτων για στοιχειακή ανάλυση με ICP , ICP - MS , ή AAS. Δείγματα εδαφών, φυτά, τρόφιμα, φαρμακευτικά προϊόντα, πλαστικά, μέταλλα και περισσότερα μπορούν να αφομοιωθούν εύκολα χρησιμοποιώντας προ-φορτωμένες μεθόδους. Η χώνευση μικροκυμάτων είναι μια τεχνική που χρησιμοποιείται για να διαλυθούν σε οξύ, μέταλλα τα οποία είναι δεσμευμένα εντός της μήτρας του δείγματος. Αυτό επιτυγχάνεται με την έκθεση ενός δείγματος σε ένα ισχυρό οξύ σε κλειστό δοχείο με την αύξηση της θερμοκρασίας και της πίεσης, μέσω ακτινοβολίας μικροκυμάτων. Τόσο η ταχύτητα της θερμικής αποσύνθεσης του δείγματος όσο και η διαλυτότητα των βαρέων μετάλλων στο διάλυμα είναι αυξημένες κατά τη διάρκεια της χώνευσης. Μόλις ολοκληρωθεί η διαδικασία της χώνευσης τα διαλύματα μπορούν να ποσοτικοποιηθούν με τις κατάλληλες στοιχειακές τεχνικές. Η διαδικασία διαρκεί περίπου 40 λεπτά, ανάλογα με τον τύπο του δείγματος (η διάρκεια αφορά στις προ-φορτωμένες μεθόδους).

Οι συνθήκες που εφαρμόστηκαν σε αυτή τη μελέτη για τα δείγματα οίνου καθώς και για τον καθαρισμό των δοχείων PTFE παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 8.4):

Πίνακας 8.4: Συνθήκες χώνευσης-καθαρισμού. Θερμοκρασιακά προγράμματα συσκευής MARS6.

Βήμα	Ενέργεια W	Διάρκεια θέρμανσης min	Τελική Θερμοκρασία °C	Χρόνος παραμονής min
Χώνευση δειγμάτων	1200	15	180	10
Καθαρισμός δοχείων	1600	15	200	10

8.3 ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ ΚΑΙ ΠΡΟΤΥΠΑ ΔΙΑΛΥΜΑΤΑ

- Όπου χρησιμοποιήθηκε νερό αυτό ήταν υπερκάθαρο από τη συσκευή Direct-Q UV, Millipore.
- Το πυκνό νιτρικό που χρησιμοποιήθηκε ήταν υψηλής καθαρότητας (Nitric Acid 65% ultra pure, ChemLab), κατάλληλο για προσδιορισμό μικρών συγκεντρώσεων μετάλλων σε δείγματα, κατάλληλο για προσδιορισμούς με ICP-MS.
- Τα πυκνά πρότυπα (μητρικά) διαλύματα που χρησιμοποιήθηκαν για τις καμπύλες βαθμονόμησης και τους εμβολιασμούς, ήταν υψηλής καθαρότητας και πιστοποιημένης συγκέντρωσης 1000mg/L από την Merk (με ιχνηλασιμότητα σε πιστοποιημένα υλικά αναφοράς).
- Από τα μητρικά δ/τα στοιχείων, παρασκευάστηκαν πολυστοιχειακά πρότυπα δ/τα και στη συνέχεια διαλύματα εργασίας και βαθμονόμησης.
- Πολυστοιχειακό πρότυπο διάλυμα αναφοράς 10μg/L, (Multi-element calibration standard-2A: Ag, Al, As, Ba, Be, Ca, Cd, Co, Cr, Cs, Cu, Fe, Ga, Hg, K, Li, Mg, Mn, Na, Ni, Pb, Rb, Se, Sr, Tl, U, V, Zn matrix=5% HNO₃) της Agilent.
- Από το πολυστοιχειακό πρότυπο διάλυμα αναφοράς και μητρικά δ/τα διαφορετικής παρτίδας, παρασκευάζεται διάλυμα ποιοτικού ελέγχου (QC δείγμα), ονομαστικής συγκέντρωσης 5 μg/L.
- Ο γυάλινος εξοπλισμός που χρησιμοποιήθηκε ήταν κλάσης A.
- Όλα τα δείγματα μετά την επεξεργασία τους φυλάσσονταν σε ειδικά δοχεία των 50ml (ultra-low trace metal content polypropylene) μέχρι την στιγμή της μέτρησης.

- Ο γυάλινος εξοπλισμός που χρησιμοποιείται παραμένει σε διάλυμα HNO_3 2% και εκπλένεται αρκετές φορές με υπερκάθαρο νερό πριν από κάθε χρήση.

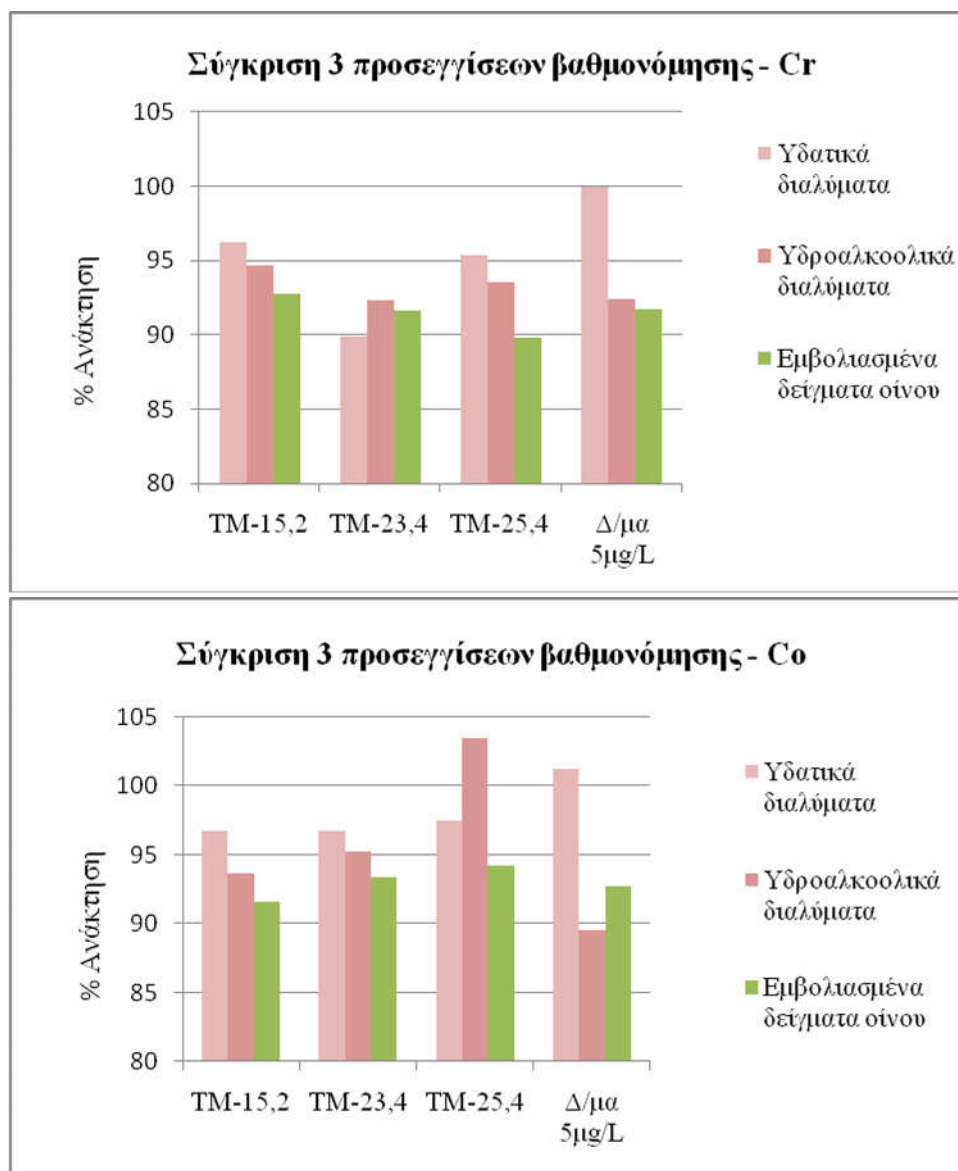
8.4 ΠΡΟΣΕΓΓΙΣΕΙΣ ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΣΗΣ

Για την κατασκευή της καμπύλης βαθμονόμησης δοκιμάστηκαν τρεις διαφορετικές προσεγγίσεις:

- (1) με χρήση υδατικών προτύπων διαλυμάτων βαρέων μετάλλων,
- (2) υδραλκοολικών (10% αιθανόλη) προτύπων διαλυμάτων μετάλλων και
- (3) με χρήση εμβολιασμένων δειγμάτων αραιωμένου 1/10 οίνου.

Από τις παραπάνω προσεγγίσεις, τα καλύτερα αποτελέσματα έδωσε η χρήση υδατικών διαλυμάτων των στοιχείων που προσδιορίστηκαν. Στο σχήμα 8.1 παρουσιάζονται ενδεικτικά για το Co & το Cr οι ανακτήσεις για τα πιστοποιημένα υλικά αναφοράς (TM-15,2, TM-23,4, TM-25,4) και για δείγμα ελέγχου ποιότητας (Quality Control sample), συγκέντρωσης 5μg/L όπως υπολογίσθηκαν σύμφωνα με τις 3 διαφορετικές προσεγγίσεις βαθμονόμησης. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα οι καλύτερες ανακτήσεις προέκυψαν για την καμπύλη βαθμονόμησης με υδατικά διαλύματα. Για το λόγο αυτό, αποφασίστηκε οι καμπύλες βαθμονόμησης να κατασκευασθούν σε υδατικά διαλύματα μετάλλων.

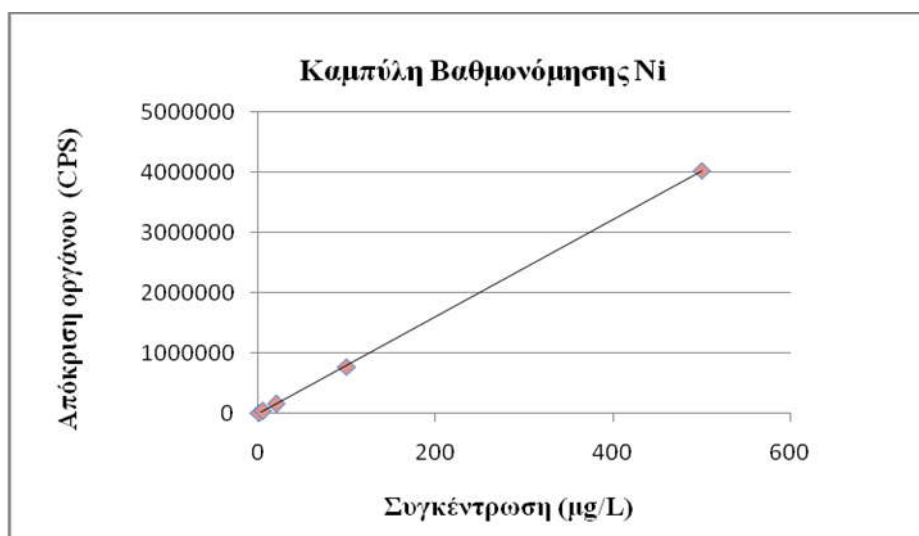
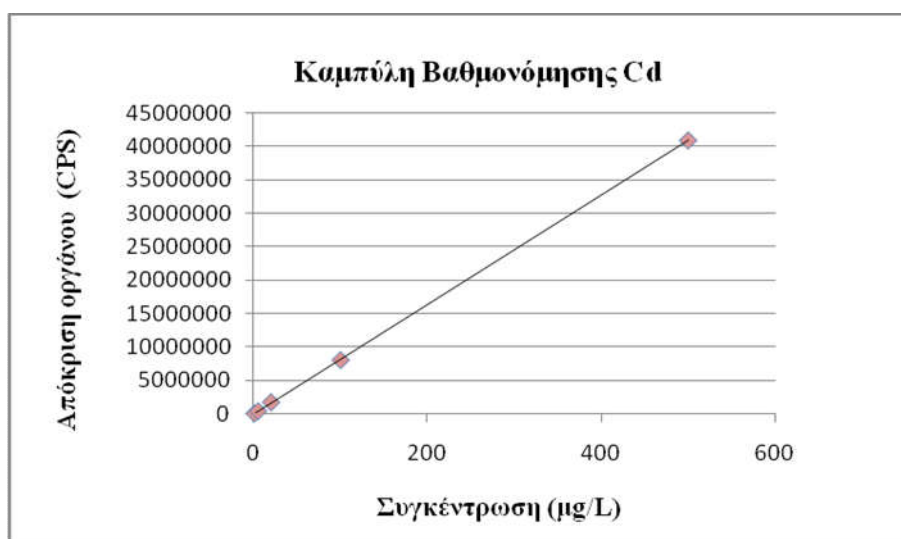
Από τα πυκνά μονοστοιχειακά διαλύματα βαρέων μετάλλων 1000mg/L, παρασκευάστηκε πολυστοιχειακό διάλυμα αναφοράς (10ppm) σε 1% HNO_3 και τα πρότυπα διαλύματα εργασίας και βαθμονόμησης για να κατασκευαστεί η εξωτερική καμπύλη βαθμονόμησης. Οι συγκεντρώσεις των προτύπων δ/των των στοιχείων Ag, As, B, Cd, Co, Cr, Cu, Eu, Fe, Gd, Ge, In, Mn, Mo, Ni, Os, Pb, Pd, Pt, Re, Rh, Sb, Se, Sn, Sr, Th, Ti, Tl, Zn, που χρησιμοποιήθηκαν για την καμπύλη βαθμονόμησης καταγράφονται παρακάτω: 1ppb, 5ppb, 20ppb, 100ppb και 500ppb σε διάλυμα HNO_3 1%. Για την κατασκευή της καμπύλης βαθμονόμησης ως προς Li, Be, Rb, V και U, λόγω μη διαθεσιμότητας μητρικών διαλυμάτων, χρησιμοποιήθηκαν τα πιστοποιημένα υλικά αναφοράς της σειράς TM, Environment Canada.



Σχήμα 8.1: % Ανακτήσεις πιστοποιημένων υλικών αναφοράς TM Canada και δ/τος ελέγχου (QC) 5μg/L πάνω στις καμπύλες που κατασκευάστηκαν και σύγκριση των 3 προσεγγίσεων βαθμονόμησης για το Co και για το Cr.

8.4.1 Καμπύλες βαθμονόμησης - Έλεγχος Γραμμικότητας

Για την αξιολόγηση της γραμμικότητας, κατασκευάστηκαν γραφικές παραστάσεις $y=f(x)$, όπου ενδεικτικά απεικονίζονται οι καμπύλες βαθμονόμησης για τα στοιχεία Cd και Ni (Σχήμα 8.2). Για κάθε στοιχείο, υπολογίστηκαν οι τετμημένη και τεταγμένη επί την αρχήν της εξίσωσης ευθείας της καμπύλης βαθμονόμησης και υπολογίστηκε και ο συντελεστής συσχέτισης (correlation coefficient) (Πίνακας 8.5). Για όλα τα στοιχεία οι καμπύλες ήταν γραμμικές από 1-500μg/L ικανοποιώντας το κριτήριο γραμμικότητας ($R^2 > 0.99$).



Σχήμα 8.2: Γραφικές παραστάσεις των καμπυλών βαθμονόμησης υδατικών διαλυμάτων Cd και Ni.

8.4.2 Ορθότητα Καμπύλης Βαθμονόμησης

Για τον έλεγχο της ορθότητας της καμπύλης βαθμονόμησης χρησιμοποιήθηκε διάλυμα ελέγχου (QC) ονομαστικής συγκέντρωσης 5μg/L, καθώς και τα πιστοποιημένα υλικά αναφοράς: Εθνικό εργαστήριο για περιβαλλοντικές αναλύσεις, Οντάριο, Καναδάς TM-15.2, TM-23.4 και TM-25.4. Στους παρακάτω πίνακες παρουσιάζονται οι ανακτήσεις οι οποίες κυμαίνονται μεταξύ 80-120% για τα περισσότερα στοιχεία. (Πίνακες 8.5, 8.7)

Πίνακας 8.5: Καμπύλες βαθμονόμησης για 30 στοιχεία και ανακτήσεις δ/τος QC 5μg/L για τον έλεγχο της ορθότητας.

ΣΤΟΙΧΕΙΟ	a	b	R ²	Δ/μα QC (5μg/L)	Ανάκτηση %
Ag(LR)	364937,3	75512,6	0,99940	5,93	118,6
As(HR)	297,6	110,8	0,99996	5,28	105,6
B(LR)	82713,8	-187600,0	0,99998	4,23	84,7
Cd(LR)	81864,3	13515,8	0,99998	5,34	106,9
Co(MR)	39837,9	-5164,5	0,99998	5,06	101,2
Cr(MR)	23790,2	-2703,4	0,99988	5,00	100,0
Cu(MR)	18930,9	26045,2	1,00000	4,07	81,5
Eu(LR)	8484,7	-382,4	0,99998	5,19	103,7
Fe(MR)	40749,3	-150855,3	0,99987	-	-
Gd(LR)	2020,0	248,7	1,00000	5,32	106,3
Ge(HR)	578,9	-7,1	1,00000	5,04	100,7
In(MR)	63930,8	-8501,1	0,99996	5,11	102,1
Mn(MR)	40515,4	-28966,8	0,99999	5,53	110,7
Mo(LR)	102236,0	185417,3	0,99981	4,86	97,2
Ni(MR)	7979,0	-647,4	0,99991	5,24	104,7
Os(LR)	31513,5	-2605,1	0,99999	6,01	120,2
Pb(LR)	1265659,4	-165124,6	1,00000	5,24	104,8
Pd(LR)	143221,2	-143794,8	0,99939	5,15	103,1
Pt(LR)	251735,6	-10708,3	1,00000	5,55	111,0
Re(LR)	391803,5	63027,0	0,99968	5,35	107,0
Rh(LR)	816124,5	84249,3	0,99986	5,11	102,2
Sb(LR)	194658,4	41802,6	0,99977	4,95	99,0
Se(HR)	106,0	-67,5	1,00000	5,91	118,2
Sn(MR)	14221,1	4255,3	0,99997	5,94	118,8
Sr(LR)	1008435,2	-791918,1	0,99991	4,89	97,8
Th(LR)	911371,5	-507228,5	0,99921	4,94	98,9
Ti(MR)	2155,4	-26,5	0,99995	5,16	103,2
Tl(LR)	994737,1	-26719,8	0,99995	5,81	116,3
Zn(MR)	3423,5	-2021,8	0,99998	-	-

Πίνακας 8.6: Καμπύλες βαθμονόμησης για τα στοιχεία Li, Be, U, V.

	Li (μg/L)	Be (μg/L)	U (μg/L)	Rb(μg/L)	V (μg/L)
TM-23.4	2,04	2,02	5,01	0,76	1,93
TM-15.2	15	15,3	15,3	0,75	13,1
TM-25.4	23,9	25,9	27,3	19	27,5
a	146856	45375	1183850	740249	26545
b	-49575	-10760	372765	34632	1061
R	0,99996	0,99982	0,99962	0,99987	0,99988

Πίνακας 8.7: Ανακτήσεις πιστοποιημένων υλικών αναφοράς, μετά από ποσοτικοποίησης τους πάνω στις καμπύλες βαθμονόμησης που έχουν κατασκευαστεί.

Στοιχείο	Αληθείς συγκεντρώσεις μg/L			% Ανάκτηση		
	TM-15.2	TM-23.4	TM-25.4	TM-15.2	TM-23.4	TM-25.4
As	15,6	8,16	27,1	116,2	114,0	117,3
B	23,1	18,1	40,6	81,9	82,5	89,8
Cd	13,0	2,92	23,6	104,3	110,4	104,8
Cr	16,4	6,8	24,0	96,2	89,9	95,4
Co	15,1	7,09	27,5	96,7	96,7	97,4
Cu	17,3	8,51	26,6	93,5	93,3	99,3
Fe	25,8	14,4	31,1	98,6	106,4	97,6
Pb	11,6	2,97	27,1	96,3	87,7	88,3
Mn	18,1	8,75	25,2	94,0	96,6	94,0
Mo	14,1	4,23	27,5	105,9	114,5	113,8
Ni	17,7	4,95	16,2	98,0	93,1	98,6
Sr	111	111	73,5	106,7	105,1	105,0
Ti	14,7	3,19	25,4	81,6	79,8	83,7
Sn	14,7	2,79	23,8	100,2	100,2	100,9
Zn	35,4	2,47	44,4	103,1	-	105,8

8.5 ΕΠΙΚΥΡΩΣΗ ΜΕΘΟΔΟΥ

Για την επικύρωση, υπολογίστηκαν τα θεωρητικά όρια ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης της μεθόδου (LOD & LOQ), και ελέγχθηκε η ορθότητα των μετρήσεων και η επαναληψιμότητα - αναπαραγωγιμότητά τους.

8.5.1 Υπολογισμός αποτελεσμάτων-συγκεντρώσεων

Με βάση τα δεδομένα του Πίνακα 8.5, υπολογίζονται οι συγκεντρώσεις του κάθε μετάλλου στο δείγμα οίνου, σύμφωνα με την παρακάτω σχέση:

$$C_{\text{οίνου}} = \frac{C_{\text{χωνεμένου δ/τος}} * V_{\text{τελικό}}}{V_{\text{οίνου}}}$$

Όπου,

- $C_{\text{χωνεμένου}}$ είναι η συγκέντρωση του χωνεμένου δ/τος 10ml, όπως αυτή υπολογίζεται με βάση την καμπύλη βαθμονόμησης για κάθε στοιχείο (μg/L).
- $V_{\text{τελικό}}$ = τελικός όγκος 10ml (αραίωση)
- $V_{\text{οίνου}}$ = 1ml δείγματος οίνου

8.5.2 Προσδιορισμός ορίου ανίχνευσης (LOD, Limit Of Detection)-προσδιορισμός ορίου ποσοτικού προσδιορισμού (LOQ, Limit Of Quantification)

Για τον προσδιορισμό του ορίου ανίχνευσης της μεθόδου (LOD) για κάθε μέταλλο, χρησιμοποιήθηκε η τυπική απόκλιση μετρήσεων πολλαπλών τυφλών δειγμάτων υπό συνθήκες αναπαραγωγιμότητας (επτά δείγματα τυφλών χρησιμοποιήθηκαν). Κάθε σειρά χώνευσης περιελάμβανε ένα τυφλό δείγμα το οποίο αντί για 1ml οίνου περιείχε 1ml υπερκάθαρου νερού για το οποίο ακολουθείται η ίδια διαδικασία με τα δείγματα (προσθήκη οξέων και χώνευση). Υπολογίζεται η συγκέντρωση των τυφλών διαλυμάτων για κάθε στοιχείο, σύμφωνα με την καμπύλη βαθμονόμησης και από τις τιμές αυτές υπολογίζεται η τυπική απόκλισή τους. (Πίνακας 8.8) Σε όλα τα δεδομένα εφαρμόστηκε το Q-test για την απόρριψη των ακραίων τιμών, που πιθανά οφείλονται σε επιμολύνσεις. Τα όρια ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης υπολογίζονται από τους παρακάτω τύπους:

$$LOD = 3 \times SD,$$

$$LOQ = 10 \times SD.$$

Πίνακας 8.8: Υπολογισμός ορίων ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης της μεθόδου.

	Blk1	Blk2	Blank3	Blk4	Blk5	Blank6	Blk7	SD	LOD	LOQ	Q-test (Q 90% for 7 variables >0,51)
Ag	-1,63	-1,72	-2,08	-2,10	-2,12	-1,68	-1,98	0,22	0,66	2,2	
As	-3,43	-3,75	-3,71	-3,78	-3,75	-3,73	-3,77	0,12	0,36	1,21	
B	110	47,7	25,8	13,7	16,3	-4,79	-8,25	21	62	206	0,53
Cd	-1,60	-1,60	-1,61	-1,63	-1,73	-1,68	-1,75	0,06	0,19	0,62	
Co	1,50	1,50	1,60	1,58	1,37	1,57	1,34	0,10	0,31	1,02	
Cr	3,21	3,22	3,22	3,2144\	1,42	4,26	4,55	1,1	3,3	11,0	
Cu	-10,3	-10,4	-12,3	-9,49	-12,5	-9,91	-10,6	1,2	3,5	11,6	0,67
Eu	2,37	1,30	0,31	0,95	0,63	1,44	0,46	0,7	2,1	7,1	
Fe	197	189	127	122	117	138	133	33	98	328	
Gd	4,12	3,72	0,95	3,84	1,28	7,06	1,82	1,6	4,9	16	0,53
Ge	0,11	0,16	0,14	0,16	0,09	0,10	0,09	0,03	0,09	0,30	
In	1,40	1,43	1,43	1,35	1,35	1,37	1,35	0,04	0,11	0,36	
Mn	60,5	61,0	58,7	60,2	59,6	61,9	58,9	1,1	3,4	11	
Mo	26,4	19,8	17,2	22,3	16,0	21,6	16,7	3,7	11,2	37	
Ni	8,62	5,86	7,65	8,49	5,33	7,15	8,54	1,3	4,0	13,4	
Os	10,2	1,22	0,66	0,44	0,38	0,31	0,29	0,35	1,1	3,5	0,91
Pb	1,97	1,15	0,54	-0,26	2,94	0,34	-0,05	1,1	3,4	11,3	
Pd	14,2	10,2	10,1	10,0	9,95	9,92	9,86	0,13	0,40	1,3	0,92
Pt	0,63	0,57	0,46	0,45	0,42	0,42	0,43	0,08	0,25	0,83	
Rb	-0,65	1,45	0,50	1,92	0,92	0,84	-0,26	0,9	2,7	9,0	
Re	-1,60	-1,39	-1,51	-1,58	-1,60	-1,60	-1,60	0,08	0,23	0,78	
Rh	-1,03	-0,89	-0,93	-1,02	-1,04	-1,07	-1,07	0,07	0,20	0,67	
Sb	-1,27	-2,28	-2,28	-2,24	-2,29	-2,26	-2,35	0,39	1,2	3,9	
Se	-2,67	0,54	-5,31	-0,26	-2,29	2,79	-4,24	2,8	8,5	28,3	
Sn	5,15	6,81	7,48	3,76	2,42	3,12	5,30	1,9	5,6	18,8	
Sr	44,1	11,1	-2,66	-2,50	-1,41	-4,67	-5,39	6,1	18,2	60,8	0,67
Th	8,11	5,53	5,45	5,49	5,45	5,46	5,43	0,04	0,11	0,36	0,96
Ti	4,18	2,89	2,18	3,22	5,13	5,05	3,07	1,1	3,4	11,3	
Tl	1,50	0,45	0,28	0,25	0,24	0,21	0,22	0,09	0,27	0,89	0,82
Zn	-64,7	-57,8	-99,6	-90,3	-88,8	-81,6	-75,8	15	44	148	

Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται τα όρια ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης που υπολογίσθηκαν, σύμφωνα με τα παραπάνω, για τα ενέσιμα διαλύματα με την ICP-MS.

Πίνακας 8.9: Όρια ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης ενέσιμων διαλυμάτων για την ICP-MS.

	LOD (µg/L)	LOQ (µg/L)		LOD (µg/L)	LOQ (µg/L)
Ag(LR)	0,07	0,22	Os(LR)	0,11	0,35
As(HR)	0,04	0,12	Pb(LR)	0,3	1,1
B(LR)	6,2	20,6	Pd(LR)	0,04	0,13
Be(LR)	0,003	0,009	Pt(LR)	0,02	0,08
Cd(LR)	0,02	0,06	Rb(LR)	0,3	0,9
Co(MR)	0,03	0,10	Re(LR)	0,02	0,08
Cr(MR)	0,3	1,1	Rh(LR)	0,02	0,07
Cu(MR)	0,4	1,2	Sb(LR)	0,12	0,39
Eu(LR)	0,21	0,71	Se(HR)	0,85	2,8
Fe(MR)	9,8	33	Sn(MR)	0,6	1,9
Gd(LR)	0,5	1,6	Sr(LR)	1,8	6,1
Ge(HR)	0,01	0,03	Th(LR)	0,01	0,04
In(MR)	0,01	0,04	Ti(MR)	0,3	1,1
Li(LR)	0,03	0,09	Tl(LR)	0,03	0,09
Mn(MR)	0,3	1,1	U(LR)	0,02	0,05
Mo(LR)	1,1	3,7	V(MR)	0,04	0,15
Ni(MR)	0,4	1,3	Zn(MR)	4,4	14,8

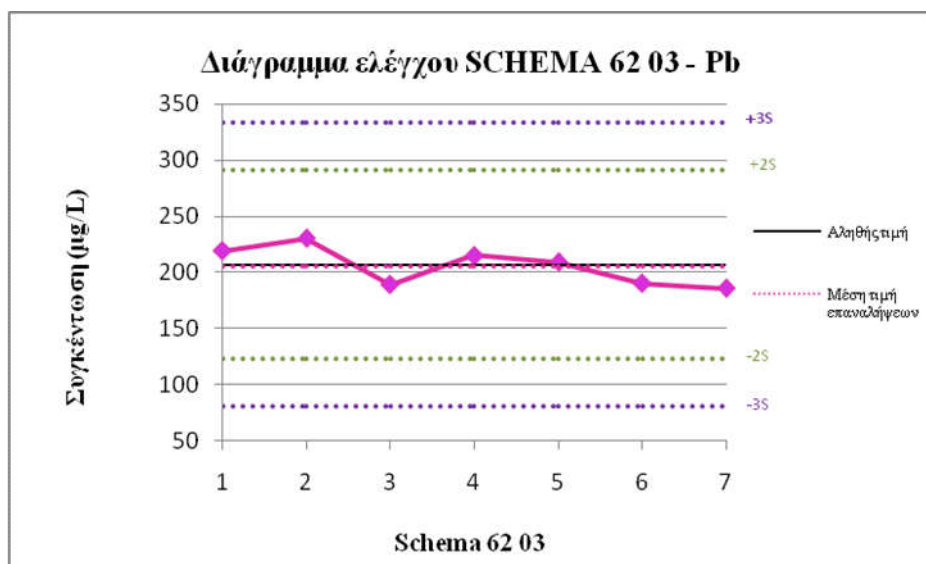
8.5.3 Ορθότητα Μεθόδου

Για την αξιολόγηση της ορθότητας της μεθόδου προσδιορισμού στοιχείων σε οίνους χρησιμοποιήθηκε το υπόλοιπο υλικό της διεργαστηριακής δοκιμής SCHEMA 62 03, το οποίο διαθέτει χαρακτηρισμένες τιμές αναφοράς και εμβολιασμένα δείγματα οίνου. Τα αποτελέσματα καταγράφονται στον Πίνακα 8.10. Για τον έλεγχο της ορθότητας χρησιμοποιήθηκαν στοιχεία που να καλύπτουν την κλίμακα μαζών αλλά να περιλαμβάνουν και τις τρεις κατηγορίες resolution του οργάνου (low, medium, high).

Πίνακας 8.10: Υπολογισμός (%) ανάκτησης στον προσδιορισμό μετάλλων σε οίνους

Στοιχείο	Resolution	Υλικό	Αναμενόμενη τιμή (μg/L)	Ανάκτηση (%)
Cd	Low	SCHEMA 62 03	104	107
Pb	Low	SCHEMA 62 03	207	99
Fe	Medium	SCHEMA 62 03	7950	94
Cu	Medium	SCHEMA 62 03	580	95
Zn	Medium	SCHEMA 62 03	4300	97
As	High	SCHEMA 62 03	216	94
Eu	Low	Εμβολιασμένο δείγμα	100	101
Cr	Medium	Εμβολιασμένο δείγμα	150	98
Ge	High	Εμβολιασμένο δείγμα	100	102
Co	Medium	Εμβολιασμένο δείγμα	10	95
In	Medium	Εμβολιασμένο δείγμα	10	102
Th	Low	Εμβολιασμένο δείγμα	20	102
Pd	Low	Εμβολιασμένο δείγμα	20	98

Σε κάθε σειρά χώνευσης υπάρχει ένα δείγμα ελέγχου QC (SCHEMA 62 03) για το οποίο ακολουθείται η ίδια διαδικασία με τα δείγματα. Παρακάτω παρουσιάζονται οι συγκεντρώσεις που υπολογίστηκαν και οι ανακτήσεις για κάθε υπολογισθείσα τιμή. (Πίνακας 8.11). Κατασκευάζονται και διαγράμματα ελέγχου QC (ενδεικτικά για Pb, ΣΧΗΜΑ 8.3)



Σχήμα 8.3: Διάγραμμα ελέγχου SCHEMA 62 03 για τον μόλυβδο.

Πίνακας 8.11: Υπολογισθείσες τιμές διεργαστηριακού SCHEMA 62 03 μετά από χώνευση σε μικροκύματα για Cd, Pb, Fe, Cu, Zn, As

Cd	Αληθής τιμή (μg/L)							104
	Schema 1	Schema 2	Schema 3	Schema 4	Schema 5	Schema 6	Schema 7	
Συγκέντρωση μg/L	113	106	111	108	111	117	110	
Ανάκτηση %	109	102	107	104	107	112	106	
SD	3,5							
AVERAGE	111							
% RSQ	3,2							

Pb	Αληθής τιμή (μg/L)							207
	Schema 1	Schema 2	Schema 3	Schema 4	Schema 5	Schema 6	Schema 7	
Συγκέντρωση μg/L	219	230	189	215	209	190	186	
Ανάκτηση %	106	111	91	104	101	92	90	
SD	17,2							
AVERAGE	206							
% RSQ	8,4							

Fe	Αληθής τιμή (μg/L)							7950
	Schema 1	Schema 2	Schema 3	Schema 4	Schema 5	Schema 6	Schema 7	
Συγκέντρωση μg/L	7530	7761	7485	7423	8036	7755	7166	
Ανάκτηση %	95	98	94	93	101	98	90	
SD	282,1							
AVERAGE	7594							
% RSQ	3,7							

Cu	Αληθής τιμή (μg/L)							580
	Schema 1	Schema 2	Schema 3	Schema 4	Schema 5	Schema 6	Schema 7	
Συγκέντρωση μg/L	566	523	540	607	538	518	560	
Ανάκτηση %	98	90	93	105	93	89	96	
SD	30,6							
AVERAGE	550							
% RSQ	5,6							

Zn	Αληθής τιμή (μg/L)							4300
	Schema 1	Schema 2	Schema 3	Schema 4	Schema 5	Schema 6	Schema 7	
Συγκέντρωση μg/L	4186	3949	4111	4159	4479	4167	4221	
Ανάκτηση %	97	92	96	97	104	97	98	
SD	158,0							
AVERAGE	4182							
% RSQ	3,8							

As	Αληθής τιμή (μg/L)							216
	Schema 1	Schema 2	Schema 3	Schema 4	Schema 5	Schema 6	Schema 7	
Συγκέντρωση μg/L	205	213	196	206	198	209	202	
Ανάκτηση %	95	99	91	96	91	97	94	
SD	6,1							
AVERAGE	204							
% RSQ	3,0							

8.5.4 Επαναληψιμότητα-Αναπαραγωγιμότητα

Για το έλεγχο της επαναληψιμότητας και αναπαραγωγιμότητας ως υλικό ελέγχου χρησιμοποιήθηκε το υπόλοιπο διεργαστηριακής δοκιμής SCHEMA 62 03. Επιπλέον, έγιναν πολλαπλοί προσδιορισμοί σε εμβολιασμένα δείγματα οίνου υπό συνθήκες επαναληψιμότητας και αναπαραγωγιμότητας. Από τους μετρήσεις που προκύπτουν, υπολογίζεται η τυπική απόκλιση και η % σχετική τυπική απόκλιση και τα αποτελέσματα καταγράφονται στον πίνακα 8.12.

Πίνακας 8.12. Σχετική τυπική αβεβαιότητα (%) υπό συνθήκες αναπαραγωγιμότητας.

Στοιχείο	RSD%	Στοιχείο	RSD%
As(HR)	12,2	Li(LR)	11,0
B(LR)	15,0	Mg(MR)	9,6
Be(LR)	1,5	Mn(MR)	8,4
Cd(LR)	7,0	Ni(MR)	6,6
Co(MR)	18,4	Pb(LR)	12,1
Cr(MR)	10,6	Pd(LR)	9,3
Cu(MR)	12,9	Sr(LR)	11,5
Eu(LR)	10,9	Th(LR)	3,9
Fe(MR)	11,3	V(MR)	13,9
Gd(LR)	6,6	Zn(MR)	12,5

8.6 ΧΕΙΡΙΣΜΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

8.6.1 Επιλογή δειγμάτων

Μελετήθηκαν συνολικά 39 δείγματα οίνου, εσοδείας 2007-2014, από τα οποία τα 24 αφορούσαν την ποικιλία Ξινόμαυρο, η οποία καλλιεργείται στην ευρύτερη περιοχή τους Νάουσας (επιπλέον ποικιλίες οίνων που αναλύθηκαν: merlot, refosco, μαυροτράγανο, κυδωνίτσα, carbernet sauvignon, κτλ). Από τα 39 δείγματα οίνου, 6 δείγματα αφορούσαν λευκούς οίνους, 3 δείγματα ροζέ και τα υπόλοιπα 29 δείγματα, ερυθρούς οίνους με αλκοολικό τίτλο 12-14,5⁰. Τα 38 από τα 39 δείγματα αφορούσαν 100% μονοποικιλιακούς οίνους και μόνο το δείγμα “E11” αφορούσε πολυποικιλιακό οίνο. Όλα τα δείγματα ήταν εμφιαλωμένα και φυλάσσονταν τους 4-10 ⁰C μέχρι την ανάλυση. (Πίνακας 8.13)



Εικόνα 8.1.: Η ευρύτερη περιοχή τους Νάουσας πάνω στον χάρτη της Ελλάδας.



Εικόνα 8.1: Περιοχές καλλιέργειας της ποικιλίας Ξινόμαυρο.

8.6.2 Προετοιμασία δειγμάτων

Από κάθε φιάλη κρασιού απομακρύνθηκε προσεκτικά ο φελλός και λήφθηκε μέριμνα για την απομάκρυνση τυχόν υπολειμμάτων. Στη συνέχεια περίπου 50ml από κάθε δείγμα εισήχθησαν σε πλαστικούς PET περιέκτες των 50ml για τον περαιτέρω χειρισμό τους, αφού πρώτα απορρίφθηκαν τα πρώτα ~10ml.

Η κατεργασία των δειγμάτων πριν τον ποσοτικό προσδιορισμό μπορεί να γίνει με διάφορους τρόπους, με σκοπό να αντιμετωπιστούν προβλήματα τα οποία μπορεί να προκύψουν στην πορεία τους ανάλυσης, τους είναι προβλήματα μήτρας από το οργανικό υπόστρωμα και παρεμποδίσεις από την παρουσία τους αιθανόλης.

Στη βιβλιογραφία έχουν εκτενώς περιγραφεί διαφορετικοί τρόποι κατεργασίας των δειγμάτων οίνου πριν το στάδιο του ποσοτικού προσδιορισμού, τους εξάτμιση δειγμάτων και επαναδιαλυτοποίηση σε αραιό νιτρικό οξύ, εξάτμιση δ/των και χώνευση στερεού υπολείμματος με νιτρικό οξύ, απομάκρυνση τους αιθανόλης, αραιώση δειγμάτων με υπερ/ρο νερό, αραιώση με αραιό νιτρικό, αραιώση με αραιό HNO_3 και H_2O_2 , χώνευση δειγμάτων με τη βοήθεια μικροκυμάτων.

Στην παρούσα εργασία, με τη βοήθεια πειραματικού σχεδιασμού έγινε προσπάθεια ελέγχου & βελτιστοποίησης των κρίσιμων πειραματικών συνθηκών που επηρεάζουν άμεσα το τελικό αποτέλεσμα. Για το σκοπό αυτό εκτελέστηκε σειρά προκαταρτικών πειραμάτων κατεργασίας δειγμάτων οίνου, με διαφορετικές πειραματικές συνθήκες, ώστε να επιτευχθεί βελτιστοποίηση αυτών.

Πίνακας 8.13: Στοιχεία Οίνων που συμπεριλήφθησαν στην μελέτη.

№	ΕΤΟΣ	ΕΠΩΝΥΜΙΑ	ΠΟΙΚΙΛΙΑ	%ΕtOH	ΕΙΔΟΣ	ΠΕΡΙΟΧΗ	ΣΧΟΛΙΑ	ΚΩΔΙΚΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ
1	2014	GIKAS	ΜΑΛΑΓΟΥΖΙΑ	13	ΛΕΥΚΟΣ	(ΠΓΕ): Πλαγιές Κιθαιρώνας, Βοιωτία	ωρίμανση 2 μηνών σε δρύινα βαρέλια	Λ1
2	2014	GIKAS	ΜΑΛΑΓΟΥΖΙΑ	13	ΛΕΥΚΟΣ	(ΠΓΕ): Κιθαιρώνας, Βοιωτία		Λ2
3	2010	ΜΕΛΙΤΖΑΝΗ	ΞΙΝΟΜΑΥΡΟ	13,3	ΕΡΥΘΡΟΣ	ΠΟΠ Νάουσα		ΞΕ1
4	2000	ΜΕΛΙΤΖΑΝΗ	ΞΙΝΟΜΑΥΡΟ	13,3	ΕΡΥΘΡΟΣ	ΠΟΠ Νάουσα		ΞΕ2
5	2012	ΚΕΧΡΗΣ	ΞΙΝΟΜΑΥΡΟ	13-15	ΕΡΥΘΡΟΣ	ΠΓΕ Μακεδονία Γουμένισα, Κιλκίς		ΞΕ3
6	2014	ΘΕΟΔΩΡΑΚΑΚΟΥ	ΚΥΔΩΝΙΤΣΑ	12	ΛΕΥΚΟΣ	Λακωνία		Λ3
7	2014	ΣΙΓΑΛΑ	ΑΗΔΑΝΙ	13	ΛΕΥΚΟΣ	Σαντορίνη		Λ4
8	2012	ΒΟΓΙΑΤΖΗ	ΞΙΝΟΜΑΥΡΟ	13	ΕΡΥΘΡΟΣ	Βελβεντό Κοζάνη	ΒΙΟΛΟΓΙΚΟ	ΞΕ4
9	2012	ΠΑΝΑΓΙΩΤΑΤΟΣ /ΑΝΑΓΝΩΣΤΟΠΟΥΛΟΣ	MERLOT	13-15	ΕΡΥΘΡΟΣ	ΣΠΑΤΑ		E1
10	2010	ΑΡΤΕΜΗΣ ΚΑΡΑΜΟΛΕΓΚΟΣ	ΜαυροΤΡΑΓΑΝΟ	13,5	ΕΡΥΘΡΟΣ	Π.Γ.Ε. Κυκλάδες Σαντορίνη (Πύργος, Καμάρι, Μεγαλοχώρι)		E2
11	2010	ΤΕΧΝΗ ΟΙΝΟΥ	MERLOT	14,5	ΕΡΥΘΡΟΣ	ΠΓΕ Δράμα		E3
12	2011	ΟΙΝΟΙ ΑΔΑΜ	REFOSCO	14,5	ΕΡΥΘΡΟΣ	Χορτιάτης , Θεσσαλονίκη		E4
13	2009	ΚΙΚΟΝΕΣ	SYRAH	13,5	ΕΡΥΘΡΟΣ	Μαρώνεια, Θράκη, Π.Γ.Ε. Ίσμαρος		E5
14	2009	ΚΟΚΚΙΝΟΣ	ΞΙΝΟΜΑΥΡΟ	14	ΕΡΥΘΡΟΣ	Αρκοχώρι Νάουσα		ΞΕ5
15	2013	ΣΤΗ ΒΙΛΑ ΤΟΥ ΒΟΥΝΟΥ	ΑΥΓΟΥΣΤΙΑΤΗΣ	13,5	ΕΡΥΘΡΟΣ	Ζάκυνθος	6 μήνες σε γαλλικό βαρέλι	E6

16	2010	ΚΟΚΚΙΝΟΣ	ΞΙΝΟΜΑΥΡΟ	14	ΕΡΥΘΡΟΣ	Π.Ο.Π. Νάουσα ΑΡΚΟΧΩΡΙ		ΞΕ6
17	2011	ΚΟΚΚΙΝΟΣ	ΞΙΝΟΜΑΥΡΟ	14	ΕΡΥΘΡΟΣ	Π.Ο.Π. Νάουσα ΑΡΚΟΧΩΡΙ		ΞΕ7
18	2012	ΚΤΗΜΑ ΜΕΡΚΟΥΡΗ	REFOSCO	13	ΕΡΥΘΡΟΣ	Π.Γ.Ε. Λετρίνα		Ε7
19	2007	LYCOS	CABERNET SAUVIGNON	13,5	ΕΡΥΘΡΟΣ	Π.Γ.Ε. Στερεά Ελλάδα	UNFILTERED	Ε8
20	2014	MIGAS	ΜΟΣΧΑΤΟ Αμβούργου	13-15	ΕΡΥΘΡΟΣ	Π.Γ.Ε. Τύρναβος		Ε9
21		ARIOUSIOS	«ΑΥΣΤΗΡΟΣ» Χιώτικο κρασερό και Αγιαννίτης	12,5	ΕΡΥΘΡΟΣ	Π.Γ.Ε. ΧΙΟΣ		Ε10
22	2009	LIDL & ΣΙΑ Ο.Ε.	ΞΙΝΟΜΑΥΡΟ	13,5	ΕΡΥΘΡΟΣ	ΝΑΟΥΣΑ	παλαίωση 1 έτος σε δρύινα βαρέλια	ΞΕ8
23	2010	ΜΑΡΙΝΟΠΟΥΛΟΣ Α.Ε.	ΞΙΝΟΜΑΥΡΟ	12,5	ΕΡΥΘΡΟΣ	ΝΑΟΥΣΑ		ΞΕ9
24	2011	ΔΑΛΛΑΜΑΡΑΣ	ΞΙΝΟΜΑΥΡΟ ΠΑΛΙΟΚΑΛΙΑΣ	14	ΕΡΥΘΡΟΣ	ΝΑΟΥΣΑ		ΞΕ10
25	2014	ΒΑΕΝΙ	ΞΙΝΟΜΑΥΡΟ	13-15	ΛΕΥΚΟΣ	ΝΑΟΥΣΑ ΕΠΙΣΚΟΠΗ		ΞΛ1
26	2014	ΒΑΕΝΙ	ΞΙΝΟΜΑΥΡΟ	13-15	ΡΟΖΕ	ΝΑΟΥΣΑ ΕΠΙΣΚΟΠΗ		ΞΡ1
27	2014	ΒΑΕΝΙ	ΞΙΝΟΜΑΥΡΟ	13-15	ΕΡΥΘΡΟΣ	ΝΑΟΥΣΑ ΕΠΙΣΚΟΠΗ		ΞΕ11
28	2008	ΜΠΟΥΤΑΡΗ	ΞΙΝΟΜΑΥΡΟ RESERVE	13,5	ΕΡΥΘΡΟΣ	ΤΡΙΛΟΦΟ, ΗΜΑΘΙΑ	2 έτη παλαίωση σε γαλλικά δρύινα βαρέλια τύπου Alier & Nevers	ΞΕ12
29	2008	ΜΠΟΥΤΑΡΗ	ΞΙΝΟΜΑΥΡΟ GRANDE RESERVE	13,5	ΕΡΥΘΡΟΣ	ΝΑΟΥΣΑ	4 έτη παλαίωση σε δρύινα βαρέλια και φιάλες, από φυτά 25 ετών	ΞΕ13
30	2010	ΜΠΟΥΤΑΡΗ	ΞΙΝΟΜΑΥΡΟ	13	ΕΡΥΘΡΟΣ	ΝΑΟΥΣΑ		ΞΕ14
31	2010	ΚΥΡ- ΓΙΑΝΝΗ	ΞΙΝΟΜΑΥΡΟ	13,5	ΕΡΥΘΡΟΣ	ΡΑΜΝΙΣΤΑ ΝΑΟΥΣΑ	από φυτά 30 ετών	ΞΕ15
32	2011	ΚΥΡ- ΓΙΑΝΝΗ	ΞΙΝΟΜΑΥΡΟ ΚΑΛΗ ΡΙΖΑ	13	ΕΡΥΘΡΟΣ	ΑΜΥΝΤΑΙΟ	από φυτά 60 ετών	ΞΕ16

33	2013	ΚΥΡ- ΓΙΑΝΝΗ	ΞΙΝΟΜΑΥΡΟ ΑΚΑΚΙΕΣ	13	ΡΟΖΕ	ΑΜΥΝΤΑΙΟ		ΞΡ2
34	2007	ΚΑΤΩΓΙ ΑΒΕΡΩΦ	ΞΙΝΟΜΑΥΡΟ	13	ΕΡΥΘΡΟΣ	ΠΟΠ ΝΑΟΥΣΑ		ΞΕ17
35	2013	ΚΤΗΜΑ ΑΛΦΑ	ΞΙΝΟΜΑΥΡΟ	13-15	ΕΡΥΘΡΟΣ	ΠΓΕ Φλώρινα ΑΜΥΝΤΑΙΟ		ΞΕ18
36	2008	ΚΤΗΜΑ ΦΟΥΝΤΗ	ΞΙΝΟΜΑΥΡΟ ΝΑΟΥΣΑΙΑ	13	ΕΡΥΘΡΟΣ	ΡΑΜΝΙΣΤΑ ΝΑΟΥΣΑ Π.Ο.Π. Νάουσα		ΞΕ19
37	2013	ΚΤΗΜΑ ΦΟΥΝΤΗ	ΞΙΝΟΜΑΥΡΟ	13	ΡΟΖΕ	ΜΑΚΕΔΟΝΙΚΟΙ ΑΜΠΕΛΩΝΕΣ ΠΓΕ		ΞΡ3
38		ΚΤΗΜΑ ΦΟΥΝΤΗ	ΞΙΝΟΜΑΥΡΟ ΤΡΥΓΙΑΣ	13	ΛΕΥΚΟΣ	ΣΤΑΝΤΖΑ ΝΑΟΥΣΑΣ Π.Γ.Ε. Ημαθία	παλαιίωση σε γαλλικά δρύινα βαρέλια	ΞΛ2
39	2007	ΔΙΟΦΙΛΙ	ΠΟΛΥΠΟΙΚΙΛΙΑΚΟ	13	ΕΡΥΘΡΟΣ	ΣΙΑΤΙΣΤΑ		Ε11

Ως υλικό ελέγχου ποιότητας, χρησιμοποιήθηκε υπόλοιπο δείγμα τους διεργαστηριακής δοκιμής ελέγχου ικανότητας SCHEMA 62 03-προσδιορισμός βαρέων μετάλλων σε τρόφιμα, το οποίο διαθέτει πιστοποιημένες τιμές για το περιεχόμενο ποσοστό σε Pb, Cd, Fe, Zn, Cu και As.

Στον Πίνακα 8.14 καταγράφονται οι πειραματικές συνθήκες που εφαρμόστηκαν για την προκατεργασία των δειγμάτων πριν τον ποσοτικό προσδιορισμό/εισαγωγή τους στο ICP-MS.

Πίνακας 8.14: Καταγραφή πειραματικών συνθηκών κατεργασίας δειγμάτων οίνου.

Πειράματα	A	B	Γ	Δ	E	ΣΤ	Z	H
ποσότητα οίνου (mL)	0,5	2	1	1	1	1	1	1
ποσότητα νιτρικού οξέος 65% (mL)	2	2	1			2	2	2
τελικός όγκος δ/τος	10	10	10	10	10	10	10	10
παρατηρήσεις	40	40	40	Αραιώση με H ₂ O	Αραιώση με HNO ₃ 2%	Αραιώση χωρίς παραμονή	40	χώνευση μικροκύματα
άλλο	Παραμονή οξέος 40 min πριν αραιώση						40 min	

A: Σε 0.5 ml οίνου προστίθενται 2 ml π.HNO₃ , αφήνεται να δράσει για 40min και αραιώνεται σε τελικό όγκο 10ml με υπερκάθαρο νερό.

B: Σε 2 ml οίνου προστίθενται 2 ml π.HNO₃ , αφήνεται να δράσει για 40min και αραιώνεται σε τελικό όγκο 10ml με υπερκάθαρο νερό.

Γ: Σε 1 ml οίνου προστίθενται 1 ml π.HNO₃ , αφήνεται να δράσει για 40min και αραιώνεται σε τελικό όγκο 10ml με υπερκάθαρο νερό.

Δ: 1ml οίνου αραιώνεται σε τελικό όγκο 10ml με υπερκάθαρο νερό.

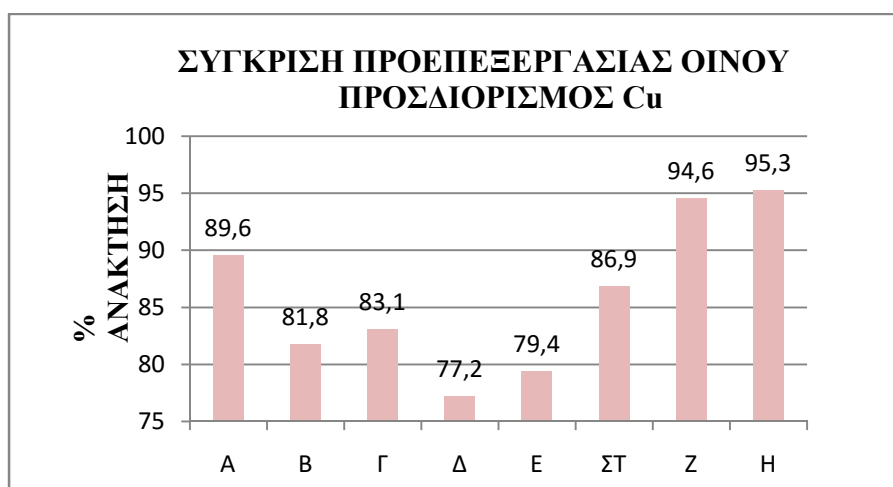
E: 1ml οίνου αραιώνεται σε τελικό όγκο 10ml με δ/μα HNO₃ 2%.

ΣΤ: Σε 0.5 ml οίνου προστίθενται 2 ml π.HNO₃ και αραιώνεται σε τελικό όγκο 10ml με υπερκάθαρο νερό.

Z: Σε 1 ml οίνου προστίθενται 2 ml π.HNO₃ , αφήνεται να δράσει για 40min και αραιώνεται σε τελικό όγκο 10ml με υπερκάθαρο νερό.

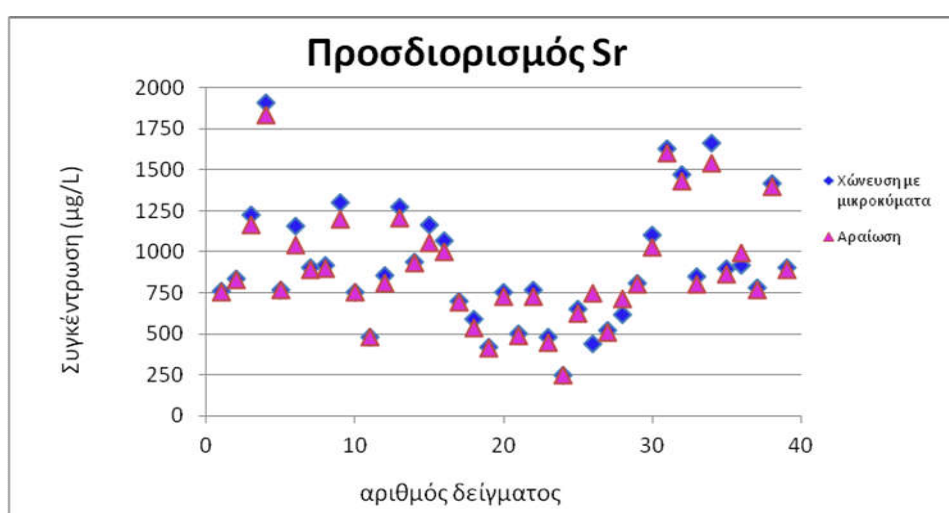
H: 1ml οίνου και 2ml π.HNO₃ χωνεύονται με τη βοήθεια μικροκυμάτων και αραιώνονται σε τελικό όγκο 10ml με υπερκάθαρο νερό.

Από τα αποτελέσματα που λήφθηκαν προκύπτει ότι τα αποτελέσματα μόνο των 2 τελευταίων πειραμάτων ήταν συγκρίσιμα και πολύ κοντά σε ποσοστό ανάκτησης 100% (Σχήμα 8.4).

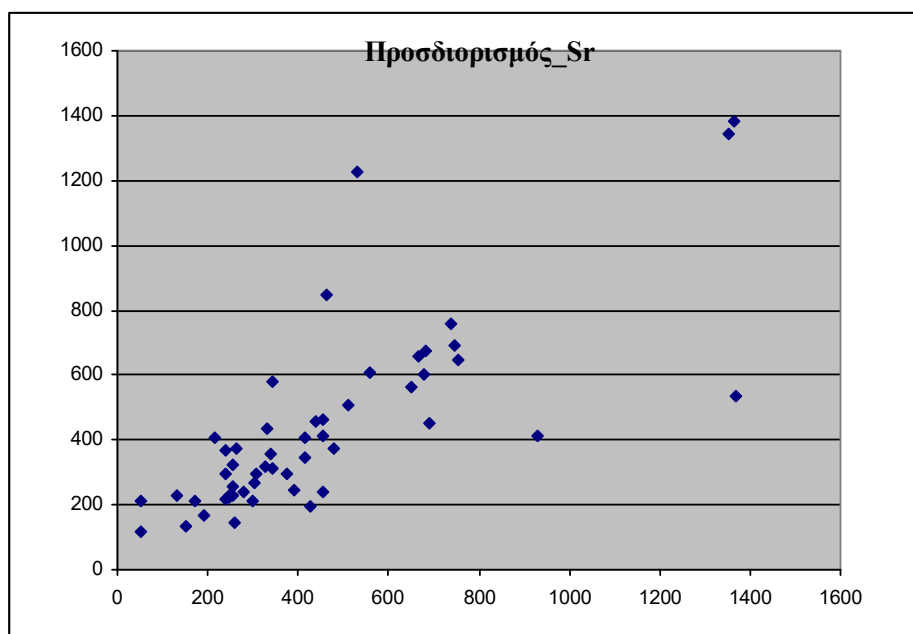


Σχήμα 8.4: Σύγκριση μεθόδων προκατεργασίας οίνου.

Για συγκριτικές μελέτες μεθόδων προκατεργασίας δειγμάτων οίνου, όλα τα δείγματα οίνου αναλύθηκαν χρησιμοποιώντας τις δύο επικρατέστερες μεθόδους: (1) χώνευση δειγμάτων με μικροκύματα και (2) αραιώση δειγμάτων, ως εξής: 1ml οίνου αφήνονται να δράσουν με 2ml π. HNO_3 για περίπου 40min και αραιώνονται στα 10ml. Μεγάλο ποσοστό συμφωνίας στους προσδιορισμούς εμφανίζεται μεταξύ των δύο επικρατέστερων πειραματικών συνθηκών προκατεργασίας δειγμάτων (Σχήματα 8.5, 8.6).



Σχήμα 8.5. Προσδιορισμός Sr σε δείγματα οίνου που έχουν προκατεργαστεί με δύο διαφορετικές τεχνικές: χώνευση και αραιώση/παραμονή



Σχήμα 8.6: Προσδιορισμός Sr σε δείγματα οίνου με 2 διαφορετικές τεχνικές προκατεργασίας των δειγμάτων. Χ-άξονας: χώνευση με μικροκύματα, ψ-άξονας: αραίωση με πυκνό νιτρικό (40 min παραμονή)

Αποφασίστηκε για τον προσδιορισμό του προφίλ μετάλλων σε οίνους να εφαρμοστεί η μέθοδος τους χώνευσης των δειγμάτων οίνου με τη βοήθεια μικροκυμάτων σε συσκευή MARS 6, CEM Corporation, ακολουθώντας προτεινόμενο από την εταιρεία θερμοκρασιακό πρόγραμμα. (Πίνακας 8.4).

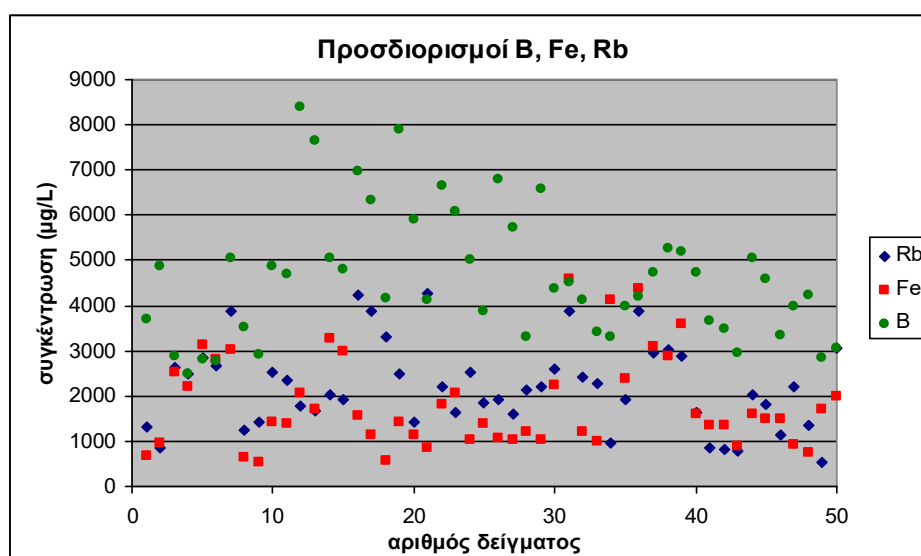
Για τον προσδιορισμό του προφίλ των μετάλλων στους οίνους με χώνευση των δειγμάτων, 1ml οίνου και 2ml π. HNO_3 μεταφέρονται σε δοχείο χώνευσης PTFE, και αφού χωνευτούν στη συσκευή, αραιώνονται σε τελικό όγκο 10ml (1:10 αραιώση του δείγματος). Σε κάθε αλληλουχία δειγμάτων χώνευσης (sequence) υπάρχει ένα τυφλό δείγμα (υπερκάθαρο νερό & 2ml π. HNO_3) και ένα δείγμα QC (υπόλοιπο δείγμα διεργαστηριακής δοκιμής SCHEMA 62 03) για τον έλεγχο ποιότητας της διαδικασίας χώνευσης. Σε περίπτωση που οι τιμές για τα βαρέα μέταλλα στο δείγμα QC είναι εκτός των επιτρεπομένων ορίων, κανένα δείγμα οίνου της αλληλουχίας δεν αναλύεται και η διαδικασία χώνευσης επαναλαμβάνεται. Διπλή χώνευση πραγματοποιήθηκε σε όλα τα δείγματα για τον έλεγχο της επαναληψιμότητας-αναπαραγωγιμότητας. Μετά την ολοκλήρωση τους χώνευσης, ακολουθεί καθαρισμός των δοχείων με πυκνό νιτρικό οξύ και χώνευση με κατάλληλο πρόγραμμα (Πίνακας 8.4). Στη συνέχεια τα δοχεία εκπλένονται με υπερκάθαρο νερό και είναι έτοιμα προς χρήση.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 9

ΠΟΛΥΣΤΟΙΧΕΙΑΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΟΙΝΩΝ – ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

9.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Προσδιορίστηκαν με την τεχνική ICP/MS (High Resolution ICP/MS, Thermo, Element 2) περισσότερα από 30 στοιχεία (μικρο-στοιχεία και σπάνιες γαίες) και τα δεδομένα χρησιμοποιήθηκαν για τον καθορισμό του πολυστοιχειακού αποτυπώματος των οίνων.



Σχήμα 9.1: Προσδιορισμοί B, Rb, Fe. Διαφοροποιήσεις στα περιεχόμενα ποσοστά των μετάλλων στα δείγματα οίνου που εξετάστηκαν.

9.2 Η ΠΟΙΚΙΛΙΑ ΞΙΝΟΜΑΥΡΟ

9.2.1 Προσδιορισμός μεταλλικής σύνθεσης

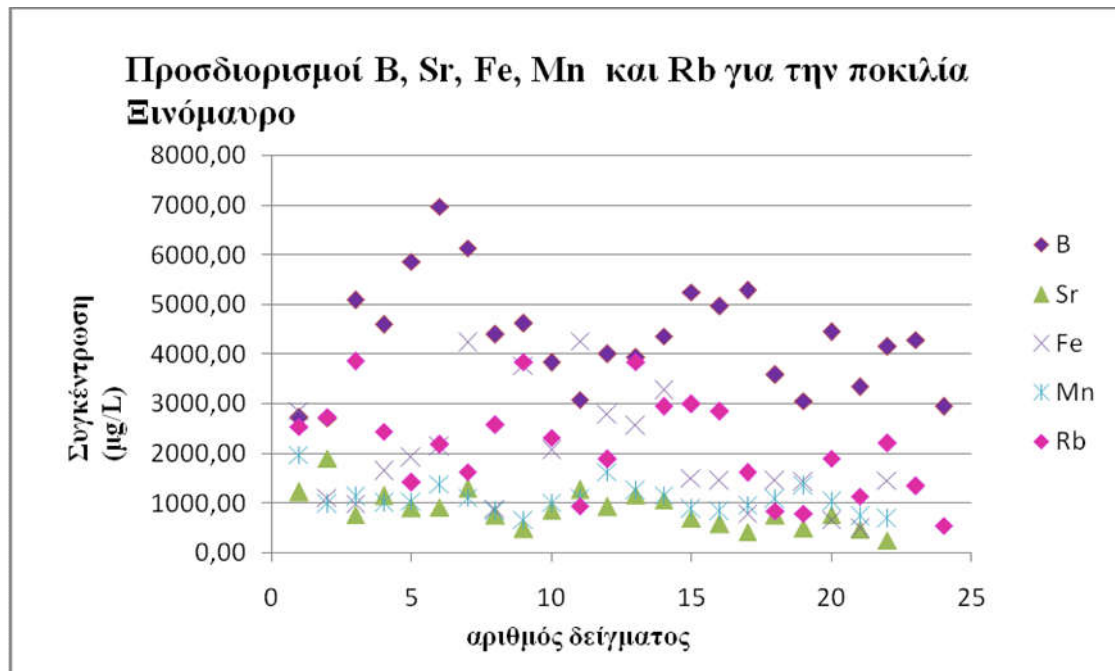
Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται οι συγκεντρώσεις που προσδιορίστηκαν στα δείγματα οίνου της ποικιλίας Ξινόμαυρο. (Πίνακας 9.1) Τα στοιχεία Ag, As, Cd, Mo, Os, Re, Rh, Sb, Se, Sn, U δεν ανιχνεύθηκαν, ενώ για τα στοιχεία Ge, Pt και Ti οι τιμές βρίσκονταν κάτω από το όριο ποσοτικοποίησης.

Για τα στοιχεία Cu, Gd, Tl, Zn, Pb οι περιεκτικότητες στα δείγματα είχαν πολύ μεγάλη διακύμανση με αποτέλεσμα να μην μπορεί να ληφθεί ασφαλές συμπέρασμα, καθώς οι τιμές κυμαίνονταν από μη ανιχνεύσιμες έως πολύ υψηλές.

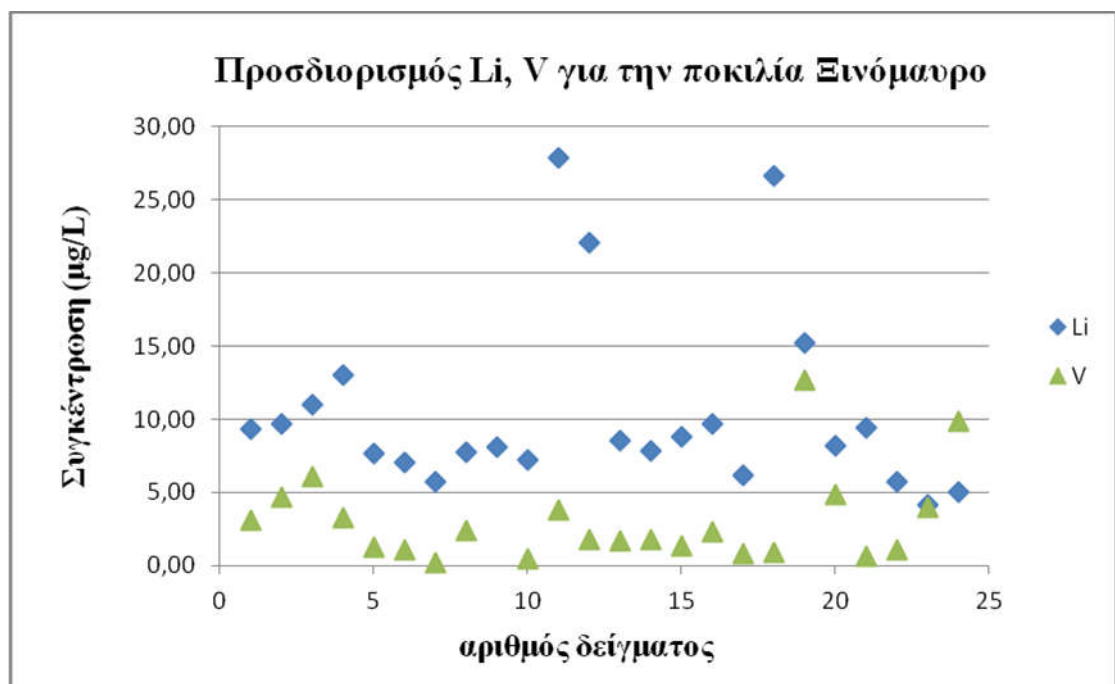
Πίνακας 9.1: Προσδιορισμός μεταλλικής σύνθεσης δειγμάτων οίνου της ποικιλίας Ξινόμαυρο μετά από χώνευση με μικροκύματα και χρήση ICP-MS.

Δείγμα	Συγκεντρώσεις οίνων (μg/L)														
	Pd(LR)	Eu(LR)	Th(LR)	Mn(MR)	Fe(MR)	Co(MR)	In(MR)	Li(LR)	Be(LR)	V(MR)	B(LR)	Sr(LR)	Rb(LR)	Cr(MR)	Ni(MR)
ΞΕ1	8,81	26,7	4,26	602	2217	4,02	1,28	9,32	2,38	3,09	2730	761	2543	39,7	58,9
ΞΕ2	10,1	61,3	4,97	825	2840	4,77	1,27	9,68	2,40	4,68	2713	835	2744	25,8	48,7
ΞΕ3	6,58	28,7	2,84	1974	2863	5,51	1,27	11,0	2,40	6,12	5086	1222	3866	231	103
ΞΕ4	9,23	29,9	3,71	984	1113	2,92	1,47	13,0	2,38	3,24	4606	1906	2442	62,9	73,8
ΞΕ5	10,2	10,7	5,34	1123	988	4,20	1,23	7,64	2,38	1,27	5869	767	1428	63,3	109
ΞΕ6	10,5	11,9	5,34	1000	1652	4,31	1,23	7,02	2,38	1,10	6972	1157	2184	36,9	83,8
ΞΕ7	10,4	10,7	5,31	1042	1913	3,93	1,23	5,76	2,35	0,19	6142	902	1629	21,6	56,0
ΞΕ8	10,2	14,5	5,40	1385	2144	4,92	1,30	7,76	2,36	2,39	4396	921	2577	18,6	49,6
ΞΕ9	10,7	30,2	5,53	1117	4235	6,71	1,30	8,13	2,45	37,9	4618	1301	3849	36,3	124
ΞΕ10	10,0	6,52	5,35	832	889	2,49	1,31	7,20	2,35	0,48	3838	754	2325	13,6	18,9
ΞΑ1	10,1	4,64	5,33	676	3772	4,59	1,30	27,9	2,68	3,82	3088	483	944	15,8	11,6
ΞΠ1	10,2	8,81	5,33	1017	2068	3,88	1,31	22,0	2,37	1,82	4015	855	1892	54,3	19,8
ΞΕ11	10,2	18,6	5,48	1115	4270	7,08	1,31	8,56	2,47	1,67	3941	1274	3851	31,3	65,6
ΞΕ12	10,0	12,8	5,32	1637	2776	4,72	1,31	7,82	2,38	1,81	4361	936	2943	31,6	43,4
ΞΕ13	10,3	10,5	5,32	1250	2562	4,85	1,32	8,84	2,36	1,37	5251	1163	2996	29,3	55,0
ΞΕ14	10,2	9,01	5,32	1167	3263	4,63	1,36	9,65	2,37	2,29	4963	1068	2853	32,2	42,4
ΞΕ15	10,2	16,0	5,41	886	1512	3,24	1,30	6,13	2,35	0,84	5286	697	1624	48,6	46,4
ΞΕ16	10,5	9,30	5,43	839	1443	4,32	1,35	26,6	2,37	0,90	3595	590	841	24,5	59,8
ΞΠ2	10,5	11,8	5,51	970	791	4,67	1,30	15,2	2,99	12,7	3063	421	794	11,6	20,6
ΞΕ17	10,2	12,0	5,41	1072	1444	9,07	1,31	8,16	2,37	4,86	4451	757	1904	23,8	88,0
ΞΕ18	10,1	8,32	5,37	1350	1417	5,13	1,30	9,42	2,37	0,67	3339	500	1140	14,9	57,4
ΞΕ19	10,1	13,2	5,42	1023	676	7,67	1,30	5,77	2,37	1,07	4152	768	2207	23,1	47,9
ΞΠ3	10,2	9,60	5,45	733	487	7,74	1,30	4,19	2,41	4,01	4290	477	1354	14,4	25,4
ΞΑ2	10,4	12,0	5,44	687	1462	7,25	1,31	5,00	2,47	9,83	2956	251	547	26,2	35,8

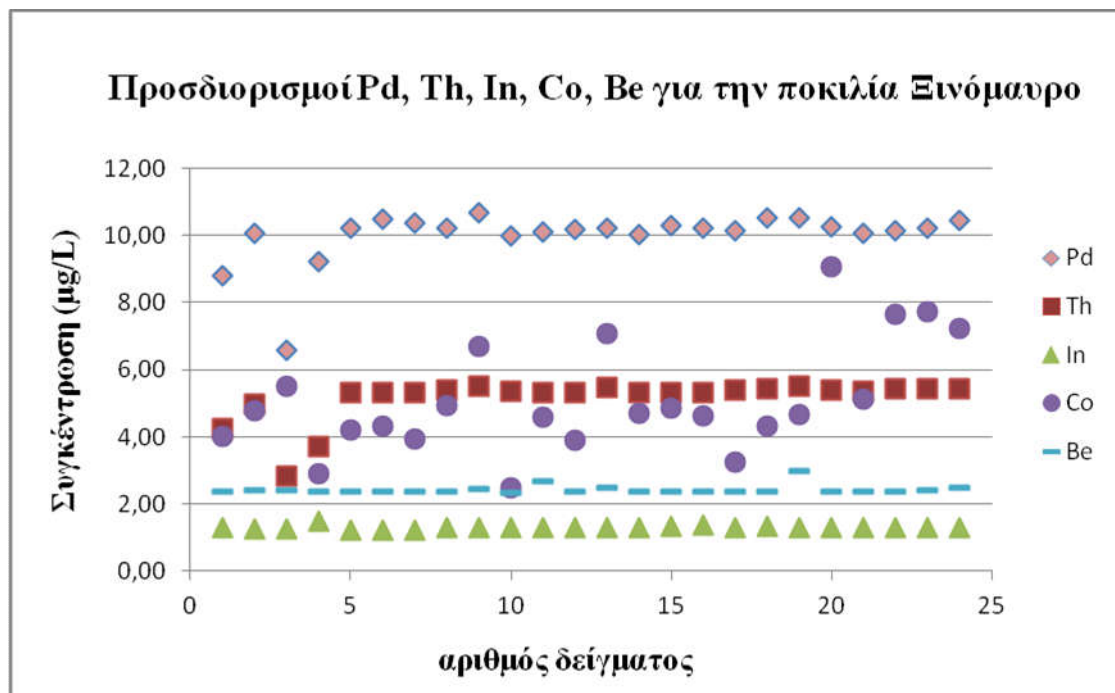
9.2.2 Διαγραμματική απεικόνιση δεδομένων



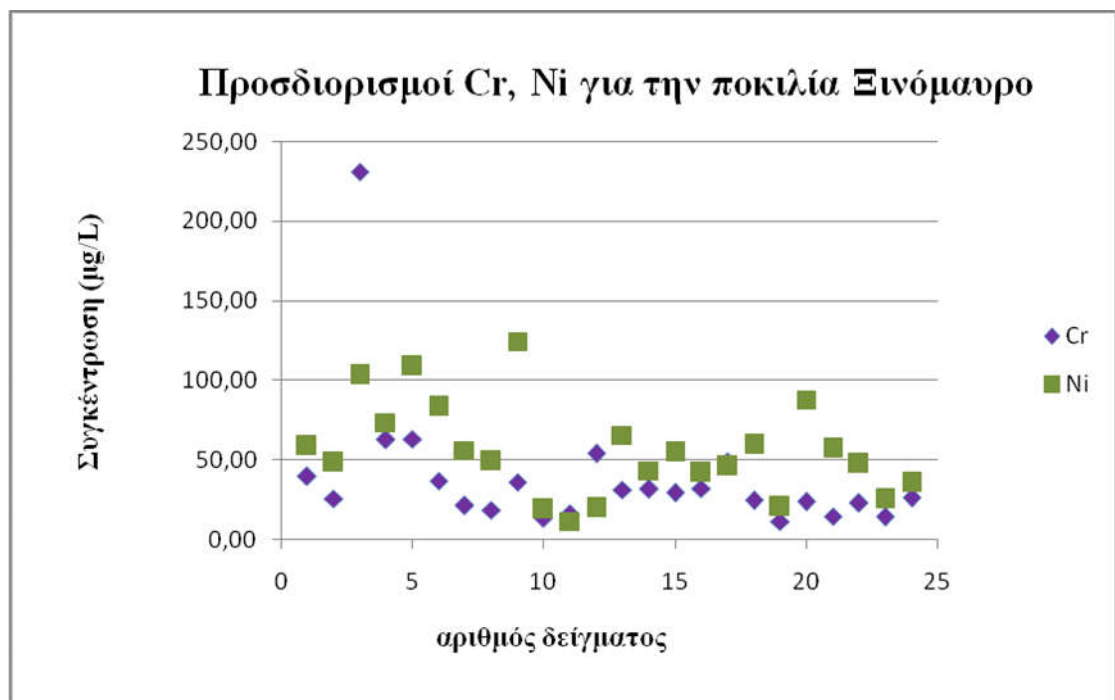
Σχήμα 9.2: Σχηματική απεικόνιση μεταλλικής σύνθεσης των δειγμάτων για B, Sr, Fe, Mn.



Σχήμα 9.3: Σχηματική απεικόνιση μεταλλικής σύνθεσης των δειγμάτων για Li, V.



Σχήμα 9.4: Σχηματική απεικόνιση μεταλλικής σύνθεσης των δειγμάτων για Pd, Th, In, Co, Be.



Σχήμα 9.5: Σχηματική απεικόνιση της μεταλλικής σύνθεσης δειγμάτων της ποικιλίας Ξινόμαυρο για Cr και Ni.

9.2.3 Κατάρτιση στοιχειακού αποτυπώματος

Με βάση τα δεδομένα των προσδιορισμών έγινε προσπάθεια κατάρτισης του στοιχειακού αποτυπώματος της ποικιλίας Ξινόμαυρο. Έγινε σύγκριση των τιμών για τα περιεχόμενα ποσοστά μετάλλων και τα κυριότερα στοιχεία διαφοροποίησης καταγράφονται στον Πίνακα 9.2.

Πίνακας 9.2: Κατάρτιση στοιχειακού αποτυπώματος για την ποικιλία Ξινόμαυρο.

	Στοιχείο	μg/L
1	B	2500-5500
2	Be	2,35-2,40
3	Co	4-8
4	Eu	7-13
5	Fe	1000-4000
6	Ni	40-110
7	Li	5-10
8	Mn	600-1100
9	Pd	9,0-10,7
10	Sr	400-1300
11	Th	5,0-5,5
12	Cr	10-40
13	Rb	1400-4000

9.3 ΥΠΟΛΟΙΠΕΣ ΠΟΙΚΙΛΙΕΣ

9.3.1 Προσδιορισμός μεταλλικής σύνθεσης

Προσδιορίστηκε η συγκέντρωση των μετάλλων σε 14 μονοποικιλιακούς οίνους και έναν πολυποικιλιακό. Έγινε μια προσπάθεια διάκρισης τους από την ποικιλία Ξινόμαυρο βάσει της μεταλλικής τους σύνθεσης.

Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται οι συγκεντρώσεις των στοιχείων που προσδιορίστηκαν.(Πίνακας 9.3) Τα στοιχεία Ag, As, Cd, Os, Re, Rh, Sb, Se, Sn, U δεν ανιχνεύθηκαν, ενώ για τα στοιχεία Mo, Pt, Ge, Ti και Tl οι τιμές βρίσκονταν κάτω από το όριο ποσοτικοποίησης. Για τα στοιχεία Cu, Zn, Pb οι περιεκτικότητες στα δείγματα είχαν πολύ μεγάλη διακύμανση (οι τιμές κυμαίνονταν από μη ανιχνεύσιμες έως πολύ υψηλές), γι' αυτό αποφασίστηκε να μην συμπεριληφθούν στην περαιτέρω μελέτη.

Πίνακας 9.3: Προσδιορισμός μεταλλικής σύνθεσης δειγμάτων οίνου διαφόρων ποικιλιών μετά από χώνευση με μικροκύματα και χρήση οργανολογίας ICP-MS.

Συγκεντρώσεις οίνων (μg/L)															
	Pd	Eu	Th	Mn	Fe	Co	In	Li	Be	V	B	Sr	Rb	Cr	Ni
Λ1	10,5	25,8	5,45	944	593	7,34	1,31	8,26	2,72	9,01	3715	650	1318	24,1	53,7
Λ2	10,5	20,6	5,49	963	868	3,37	1,31	7,42	2,88	5,58	4741	441	851	41,6	37,4
Λ3	10,4	10,4	5,40	914	551	4,55	1,31	3,76	2,42	46,3	3534	519	1254	14,2	10,0
Λ4	10,4	8,35	5,41	734	450	4,68	1,31	27,6	2,51	4,27	2972	614	1422	26,9	14,1
E1	8,36	10,4	4,15	1319	1751	3,26	1,25	14,7	2,35	1,98	8019	809	1704	51,9	50,6
E2	8,77	11,5	4,12	944	2996	3,28	1,25	49,4	2,45	9,26	4983	1103	1964	45,3	63,4
E3	8,85	31	4,09	1537	1218	4,54	1,69	10,7	2,40	1,55	6884	1629	4027	80,0	99,5
E4	7,00	33	2,78	1000	399	2,54	1,27	18,2	2,40	0,25	4243	1472	3289	25,8	52,5
E5	10,1	12,3	5,38	1108	1324	3,09	1,23	9,75	2,36	0,53	8045	847	2466	23,7	20,9
E6	10,5	7,09	5,31	964	717	3,27	1,22	23,0	2,39	0,15	3897	1661	4222	50,2	59,2
E7	10,3	9,12	5,35	920	1225	2,94	1,23	13,0	2,38	2,33	4048	897	1830	15,9	25,8
E8	10,3	19,5	5,33	1783	895	5,50	1,27	11,1	2,39	1,50	6634	915	1916	21,8	72,2
E9	10,1	14,9	5,34	1055	869	2,07	1,22	9,98	2,53	28,1	5406	783	1596	23,8	14,5
E10	11,0	23,3	5,41	1978	937	4,56	1,23	13,5	2,46	2,29	6528	1418	2183	16,1	19,3
E11	10,1	13,5	5,36	861	1735	4,29	1,30	4,96	2,37	1,95	3280	905	3042	26,8	49,8

9.4 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Αφού προσδιορίστηκε η συγκέντρωση των μετάλλων στα δείγματα οίνου, έγινε προσπάθεια εντοπισμού των κρίσιμων σημείων για τη διαφοροποίηση της ποικιλίας Ξινόμαυρο. Στους Πίνακες 9.1 και 9.3 έχουν επισημανθεί με πράσινο χρώμα οι τιμές που αποδείχθηκαν κρίσιμες για τη διάκριση των ποικιλιών. Μόνο ένας οίνος δεν παρουσίασε διαφοροποίηση σε σχέση με την ποικιλία Ξινόμαυρο πράγμα που μπορεί να δικαιολογηθεί, καθώς το συγκεκριμένο δείγμα αφορούσε πολυποικιλιακό οίνο. Το δείγμα αυτό εξαιρέθηκε από την περαιτέρω ανάλυση.

9.4.1 Ανάλυση αποτελεσμάτων για 13 μεταλλικά στοιχεία μελέτης.

Επετεύχθη η δημιουργία μοντέλου για τη διάκριση της ποικιλίας Ξινόμαυρο σε ποσοστό επιτυχίας 87,5% με τη χρήση δεδομένων για 13 στοιχεία (Pd, Eu, Fe, Mn, Th, B, Be, Li, Cr, Co, Ni, Rb, Sr). Παρατηρήθηκε πως η διάκριση των υπολοίπων οίνων ήταν εφικτή σε ποσοστό 64,3% με απλή σύγκριση των προσδιοριζόμενων συγκεντρώσεων. Αυτό έγινε εφικτό, λαμβάνοντας υπ' όψιν τα δεδομένα για τα 13 στοιχεία, και θεωρώντας κρίσιμη για το διαχωρισμό την διαφοροποίηση τουλάχιστον σε 5 από αυτά. Εάν από την εκτίμηση των αποτελεσμάτων εξαιρεθούν οι λευκοί και οι ροζέ οίνοι της ποικιλίας Ξινόμαυρο, το ποσοστό επιτυχούς διάκρισης αγγίζει το 90% για την ποικιλία, ενώ αντίστοιχα, η διάκριση των ερυθρών οίνων των υπολοίπων ποικιλιών, από την ποικιλία μελέτης, ήταν επιτυχής σε ποσοστό 80%. Συγκεκριμένα 2 από τους 10 ερυθρούς οίνους χαρακτηρίστηκαν λανθασμένα ως Ξινόμαυρα, ενώ αντίστοιχα 2 από τα 19 Ξινόμαυρα κρασιά βρέθηκαν εκτός μοντέλου.

Πίνακας 9.4: Α' μοντέλο διάκρισης- 13 μεταλλικά στοιχεία

Α' ΜΟΝΤΕΛΟ	13 στοιχεία μελέτης		
	Σύνολο δειγμάτων	Δείγματα που διακρίθηκαν επιτυχώς	% Ποσοστό διάκρισης
Ξινόμαυρα	24	21	87,5
Υπόλοιποι	14	9	64,3
Ερυθροί Ξινόμαυροι	19	17	89,5
Υπόλοιποι Ερυθροί	10	8	80,0

Παρατηρήθηκε επίσης, πως οι λευκοί Ξινόμαυροι οίνοι μπορούν να διαχωριστούν από τους υπόλοιπους λευκούς, μόνο μελετώντας τις συγκεντρώσεις του Mn και Fe καθώς εμφάνισαν σημαντική διαφοροποίηση. Θα πρέπει να σημειωθεί όμως πως οι λευκοί Ξινόμαυροι οίνοι αποτελούνταν από 2 δείγματα μόνο αναδεικνύοντας απαραίτητη την περαιτέρω διερεύνηση.

9.4.2 Ανάλυση αποτελεσμάτων για 7 μεταλλικά στοιχεία μελέτης.

Εάν για την εξαγωγή των αποτελεσμάτων χρησιμοποιηθούν τα δεδομένα μόνο για 7 στοιχεία (Pd, Fe, Co, Li, Be, B, και Ni), η διάκριση της ποικιλίας Ξινόμαυρο παραμένει σταθερή, με ποσοστό επιτυχίας 87,5% όταν συμπεριληφθούν όλοι οι οίνοι, και 89,5% εάν εξαιρεθούν οι λευκοί και οι ροζέ. Για την διάκριση όμως των υπολοίπων οίνων δεν ισχύει το ίδιο, καθώς αυτή αυξάνεται σε ποσοστό επιτυχίας 92,9%, ενώ εάν εξαιρεθούν οι λευκοί και οι ροζέ οίνοι επιτυγχάνεται 100% διαχωρισμός. Για τη διάκριση των οίνων σε αυτό το σημείο, κρίσιμη κρίθηκε η διαφοροποίηση τουλάχιστον για τις προσδιοριζόμενες συγκεντρώσεις 3 μεταλλικών στοιχείων.

Πίνακας 9.5: Β' μοντέλο διάκρισης - 7 μεταλλικά στοιχεία

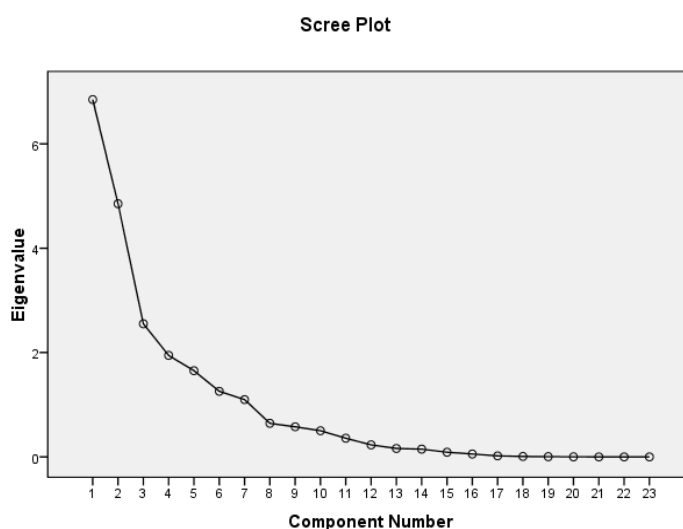
B'MONTELO	7 στοιχεία μελέτης		
	Σύνολο δειγμάτων	Δείγματα που διακρίθηκαν επιτυχώς	% Ποσοστό διάκρισης
Ξινόμαυρα	24	21	87,5
Υπόλοιποι	14	13	92,9
Ερυθροί Ξινόμαυροι	19	17	89,5
Υπόλοιποι Ερυθροί	10	10	100,0

9.4.3 Παραγοντική ανάλυση.

Οι τιμές από την πολυστοιχειακή ανάλυση των οίνων για την ποικιλία Ξινόμαυρο παραμετροποιήθηκαν με τη χρήση στατιστικού πακέτου SPSS – Factor Analysis- ανάλυση κατά παράγοντες. Έγινε προσπάθεια περιγραφής των δεδομένων του προφίλ μετάλλων σε οίνους της ποικιλίας Ξινόμαυρο με παραγοντικό μοντέλο. Με βάση τα

δεδομένα από τις ιδιοτιμές του πίνακα συσχέτισης των μεταβλητών-ScreePlot είναι δυνατή η περιγραφή του συστήματος με 7 παράγοντες που οδηγούν σε έκφραση/αποτύπωση τους πληροφορίας κατά 88% (Total Variance Explained) (Σχήμα 9.6). Το συμπέρασμα της παραγοντικής ανάλυσης επιβεβαιώνει το Β' Μοντέλο που αναπτύχθηκε, καθώς αποδεικνύει την δυνατότητα διάκρισης της ποικιλίας με την χρήση 7 μόνο παραγόντων/στοιχείων.

Total Variance Explained		
Component	Rotation Sums of Squared Loadings	
	% of Variance	Cumulative %
1	19,369	19,369
2	14,520	33,889
3	13,503	47,392
4	12,945	60,336
5	10,839	71,175
6	9,707	80,882
7	6,972	87,854
Extraction Method: PCA.		



Σχήμα 9.6. Παραγοντική ανάλυση (Factor Analysis) των δεδομένων για την κατάρτιση του στοιχειακού προφίλ της ποικιλίας Ξινόμαυρο με 7 παράγοντες

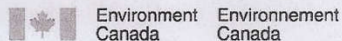
9.5 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ-ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ

Αναπτύχθηκε και επικυρώθηκε κατάλληλη μέθοδος προσδιορισμού >30 μετάλλων σε δείγματα οίνου. Αναλύθηκε μια σειρά από δείγματα οίνου της ποικιλίας Ξινόμαυρο και άλλων ποικιλιών. Από τα αποτελέσματα των προσδιορισμών κατασκευάστηκε το στοιχειακό αποτύπωμα της ποικιλίας και μοντέλο για την περιγραφή του αποτυπώματος, που προκαταρκτικές μελέτες ενισχύουν την ορθότητά του, αφού είναι δυνατή η εξαγωγή ασφαλών συμπερασμάτων για τη διάκριση οίνων με βάση το στοιχειακό τους αποτύπωμα. Παράλληλα έγινε προσπάθεια ελέγχου και διαφοροποίησης οίνων διαφορετικών ποικιλιών, από την ποικιλία ενδιαφέροντος, με ποσοστά επιτυχίας έως και 100%.

Θα ήταν πολύτιμο η μελέτη αυτή να επεκταθεί συμπεριλαμβάνοντας περισσότερα δείγματα οίνου. Δείγματα της ποικιλίας Ξινόμαυρο θα μπορούσαν να αναλυθούν ως “νέα” για τον έλεγχο της επιτυχούς διάκρισης τους πάνω στο μοντέλο που έχει κατασκευαστεί. Επίσης, η μελέτη περισσότερων λευκών οίνων της ποικιλίας θα μπορούσε να επιβεβαιώσει τη θεωρία που αναπτύχθηκε για την διάκριση των λευκών οίνων. Η βάση δεδομένων που δημιουργήθηκε θα μπορούσε στην πορεία να συγκριθεί και με ποικιλίες που προέρχονται από άλλες χώρες της Ευρώπης η/και του υπόλοιπου κόσμου.

Μια άλλη πορεία μελέτης θα μπορούσε να συμπεριλάβει τα εδάφη στα οποία καλλιεργούνται οι συγκεκριμένες ποικιλίες για να μπορέσει να γίνει συσχέτιση οίνου – εδάφους.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Α



CERTIFIED REFERENCE MATERIAL

TM-15.2, lot 1011

A trace element fortified sample

Trace element standards are made in filtered and diluted Lake Ontario water and are preserved with 0.2% nitric acid. This fortified bulk CRM has concentrations in the high range and is designed for calibration checks. Trace element standards are noted for their integrity and consistency, and are monitored in additional Proficiency Testing (PT) studies. "For Information" values indicate insufficient data exists to meet CRM certification criteria. The values and statistics for this CRM are derived from PT studies 91, 94, 96, and 98 dated March 2008, September 2009, September 2010, and September 2011 respectively. A more detailed report on the methods used in our PT studies for specific parameters is available upon request. Please note that expiry dates of 2 years from the date of shipping are not indicative of sample stability, but rather of sample transport, handling and storage. We strongly recommend that the CRM be tightly capped and refrigerated immediately after use.

Measurand	Value ^a in µg/L	±2σ ^b	C.I. ^c	Studies / Results (N)
Aluminum	33.9	4.7	0.44	4 / 110
Antimony	16.3	1.6	0.17	4 / 95
Arsenic	15.6	1.4	0.14	4 / 110
Barium	13.3	0.8	0.08	4 / 102
Beryllium	15.3	1.8	0.18	4 / 99
Boron	23.1	4.2	0.50	4 / 67
Cadmium	13.0	1.1	0.09	4 / 127
Chromium	16.4	1.4	0.13	4 / 126
Cobalt	15.1	1.4	0.13	4 / 113
Copper	17.3	1.6	0.14	4 / 122
Iron	25.8	4.8	0.48	4 / 101
Lead	11.6	1.2	0.11	4 / 105
Lithium	15.0	2.5	0.33	4 / 56
Manganese	18.1	1.4	0.13	4 / 114
Molybdenum	14.1	1.5	0.15	4 / 97
Nickel	17.7	1.7	0.15	4 / 115
Selenium	15.1	2.1	0.21	4 / 103
Silver	11.2	0.9	0.09	4 / 91
Strontium	111	8.0	0.77	4 / 107
Thallium	18.0	1.9	0.21	4 / 82
Tin	14.7	1.7	0.21	4 / 67
Titanium	14.7	1.3	0.15	4 / 78
Uranium	15.3	1.3	0.14	4 / 82
Vanadium	13.1	1.3	0.13	4 / 104
Zinc	35.4	4.2	0.37	4 / 123

For information

Bismuth	12.5	42 Results
Gallium	0.1	19 Results
Rubidium	0.75	32 Results
Tungsten	6.7	16 Results

^a Outliers of > 3 std. dev. excluded and are calculated with 'Robust Analysis' Annex C, ISO DIS 13528:2005(E).

^b 2-sigma limit for an individual measurement.

^c 95% confidence interval on the population mean ($\sigma \times 1.96$) ÷ $\sqrt{N}$.

Last Updated: October 2011

Canada



CERTIFIED REFERENCE MATERIAL

TM-23.4, lot 1010

A trace element fortified sample

Trace element standards are made in filtered and diluted Lake Ontario water and are preserved with 0.2% nitric acid. This fortified bulk CRM has concentrations in the high range and is designed for calibration checks. Trace element standards are noted for their integrity and consistency, and are monitored in additional Proficiency Testing (PT) studies. "For Information" values indicate insufficient data exists to meet CRM certification criteria. The values and statistics for this CRM are derived from PT studies 91, 94, and 96 dated March 2008, September 2009, and September 2010 respectively. A more detailed report on the methods used in our PT studies for specific parameters is available upon request. Please note that expiry dates of 1 year from the date of shipping are not indicative of sample stability, but rather of sample transport, handling and storage. We strongly recommend that the CRM be tightly capped and refrigerated immediately after use.

Measurand	Value ^a in µg/L	±2σ ^b	C.I. ^c	Studies / Results (N)
Aluminum	94.6	9.5	0.99	3 / 90
Antimony	3.27	0.32	0.04	3 / 69
Arsenic	8.16	0.67	0.08	3 / 78
Barium	14.3	1.0	0.11	3 / 81
Beryllium	2.02	0.21	0.02	3 / 75
Boron	18.1	2.9	0.41	3 / 49
Cadmium	2.92	0.27	0.03	3 / 89
Chromium	6.8	0.63	0.07	3 / 92
Cobalt	7.09	0.58	0.06	3 / 85
Copper	8.51	0.87	0.09	3 / 91
Iron	14.4	2.2	0.27	3 / 63
Lead	2.97	0.28	0.03	3 / 69
Lithium	2.04	0.35	0.06	3 / 35
Manganese	8.75	0.67	0.07	3 / 87
Molybdenum	4.23	0.43	0.05	3 / 64
Nickel	4.95	0.68	0.07	3 / 84
Selenium	4.59	0.71	0.08	3 / 75
Strontium	111	7.2	0.78	3 / 85
Thallium	3.99	0.36	0.05	3 / 57
Tin	2.79	0.35	0.05	3 / 46
Titanium	3.19	0.57	0.07	3 / 61
Uranium	5.01	0.45	0.06	3 / 61
Vanadium	1.93	0.22	0.03	3 / 70
Zinc	2.47	0.77	0.1	3 / 62
For information				
Bismuth	3.3	30 Results		
Gallium	2.11	15 Results		
Rubidium	0.76	24 Results		
Silver	4.8	70 Results		
Tungsten	4.7	12 Results		

^a Outliers of > 3 std. dev. excluded and are calculated with 'Robust Analysis' Annex C, ISO DIS 13528:2005(E).

^b 2-sigma limit for an individual measurement.

^c 95% confidence interval on the population mean ($\sigma \times 1.96$) ÷ $\sqrt{N}$.

Last Updated: October 2010

Canada

CERTIFIED REFERENCE MATERIAL

TM-25.4, lot 0412

A low level fortified standard for trace elements

Trace element standards are made in filtered and diluted Lake Ontario water and are preserved with 0.2% nitric acid. This fortified bulk CRM has concentrations in the low range and is designed for calibration checks. Trace element standards are noted for their integrity and consistency, and are monitored in additional Proficiency Testing (PT) studies. "For Information" values indicate insufficient data exists to meet CRM certification criteria. The values and statistics for this CRM are derived from PT studies 94, 97, and 99 dated March 2010, March 2011, and March 2012 respectively. A more detailed report on the methods used in our PT studies for specific parameters is available upon request. Please note that expiry dates of 2 years from the date of shipping are not indicative of sample stability, but rather of sample transport, handling and storage. We strongly recommend that the CRM be tightly capped and refrigerated immediately after use.

Measurand	Value ^a in µg/L	±2σ ^b	C.I. ^c	Studies / Results (N)
Aluminum	30.3	3.4	0.4	3 / 87
Antimony	23.7	2.4	0.3	3 / 84
Arsenic	27.1	2.7	0.3	3 / 105
Barium	27.0	1.9	0.2	3 / 95
Beryllium	25.9	3.0	0.3	3 / 91
Boron	40.6	4.7	0.6	3 / 52
Cadmium	23.6	1.9	0.2	3 / 112
Chromium	24.0	1.6	0.2	3 / 107
Cobalt	27.5	2.3	0.2	3 / 99
Copper	26.6	2.5	0.2	3 / 108
Iron	31.1	6.1	0.7	3 / 82
Lead	27.1	2.7	0.3	3 / 107
Lithium	23.9	2.5	0.4	3 / 40
Manganese	25.2	1.8	0.2	3 / 99
Molybdenum	27.5	2.2	0.2	3 / 95
Nickel	16.2	1.4	0.1	3 / 105
Selenium	28.9	4.3	0.4	3 / 94
Strontium	73.5	5.5	0.6	3 / 89
Thallium	30.5	3.3	0.4	3 / 83
Tin	23.8	2.1	0.3	3 / 63
Titanium	25.4	1.9	0.2	3 / 68
Uranium	27.3	2.4	0.3	3 / 73
Vanadium	27.5	2.6	0.3	3 / 95
Zinc	44.4	4.9	0.5	3 / 108
For information				
Rubidium	19	25 Results		
Silver	22	79 Results		

^a Outliers of > 3 std. dev. excluded and are calculated with 'Robust Analysis' Annex C, ISO DIS 13528:2005(E).

^b 2-sigma limit for an individual measurement.

^c 95% confidence interval on the population mean ($\sigma \times 1.96$) ÷ √ N.

Last Updated: April 2012

Canada

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Β

PROFICIENCY TEST

SCHEMA 62 03

Athens, November 2014

Determination of heavy metals in foodstuffs

SUMMARY

In the Proficiency Testing scheme (PTs) SCHEMA 62 03, twelve (12) laboratories participated. Each laboratory received one (1) rosé wine sample in a plastic PE container (250ml), for the determination of the total amount of the following six (6) heavy metals: Pb, Cd, Fe, Zn, Cu and As. The samples for SCHEMA 62 03 were dispatched to the participants in September 2014 (30.09.2014). Twelve (12) laboratories submitted their results.

The assigned value for each parameter was calculated from the median of the submitted results. The target-value of standard deviation for the proficiency assessment was calculated as from the appropriate modified Horwitz equation for each parameter.

The target standard deviations were used in conjunction to the assigned values to derive the z-scores for participants' results. z-scores are considered satisfactory if $|z| \leq 2$. The results are summarized in the following table:

Table 1

Parameter	assigned value, $\bar{X}$ (µg/L)	target standard deviation σ_p	submitted results	number of results with satisfactory z-score	satisfactory z-score %
Pb	207	42.0	9	8	89
Cd	104	22.9	11	11	100
Fe	7950	930.9	8	7	88
Zn	4300	552.3	7	6	86
Cu	580	100.7	9	9	100
As	216	43.4	8	6	75

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Γ

ΕΛΕΓΧΟΣ Q

Ο έλεγχος Q χρησιμοποιείται για την εύρεση ακραίων τιμών σε κάποια σειρά δεδομένων. Αυτός ο έλεγχος μπορεί να εφαρμοσθεί μόνο μια φορά για κάθε σειρά δεδομένων και γίνεται με τη βοήθεια του παρακάτω τύπου:

$$Q = \frac{|X_a - X_b|}{R},$$

Όπου:

X_a : η τιμή που ελέγχεται ως ακραία,

X_b : η τιμή που βρίσκεται πιο κοντά αριθμητικά στην τιμή X_a ,

R: το εύρος των τιμών

Η λήψη απόφασης με βαθμό εμπιστοσύνης 90% γίνεται μέσω του παρακάτω πίνακα για συγκεκριμένο αριθμό δεδομένων, και θα πρέπει να ισχύει: $Q > Q_{90\%}$.

Πίνακας 2

Q-Test decision level at 90% confidence interval								
N	3	4	5	6	7	8	9	10
Q	0.94	0.76	0.64	0.56	0.51	0.47	0.44	0.41

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Δ

ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ ΜΕ ΠΟΣΤΕΡ ΣΤΟ ΣΥΝΕΔΡΙΟ ΜΕΤΡΟΛΟΓΙΑΣ 2016

ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΠΟΛΥΣΤΟΙΧΕΙΑΚΟΥ ΠΡΟΦΙΛ ΟΙΝΩΝ ΜΕ ΧΡΗΣΗ ICP-MS & ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΜΟΝΤΕΛΟΥ ΜΕ ΣΚΟΠΟ ΤΗ ΔΙΑΚΡΙΣΗ ΠΟΙΚΙΛΙΩΝ

Φωτεινή Νότακα¹, Χαράλαμπος Αλεξάνδρου², Μιρλέα Λιαβου¹ και Ευγενία Λαμπή³,

¹ Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Ζωγράφου,

² Χημική Υπηρεσία Μετρολογίας, Γενικό Χημείο του Κράτους, Αν. Τσόχα 16, 115 21 Αθήνα,

³ Β' Χημική Υπηρεσία Αθηνών, Γενικό Χημείο του Κράτους, Αν. Τσόχα 16, 115 21 Αθήνα,

☎ 210-6479136-8 ☎ 210-6479114 ✉ elms@cpeslab.gr

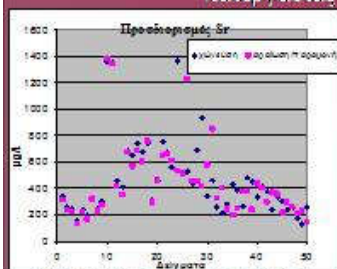
Στην παρούσα εργασία μελετάται το μονοποικιλιακό ξινόμαυρο, ένας ελληνικός οίνος Π.Ο.Π. με σκοπό τη δημιουργία της στοιχειακής του "ταυτότητας". Η μελέτη αυτή πραγματοποιήθηκε με φασματομετρία μάζας επαγωγικά συζευγμένου πλάσματος (High Resolution ICP-MS) και μελετήθηκαν οι περιεκτικότητες των εξής στοιχείων (Li, B, Ti, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Ge, As, Se, Rb, Sr, Mo, Rh, Pd, Ag, Cd, In, Sn, Sb, Re, Os, Ir, Pt, Au, Tl, Pb, Eu, Gd, Th) σε δείγματα οίνου. Η επεξεργασία των δεδομένων πραγματοποιήθηκε με τη χρήση στατιστικής ανάλυσης και χημειομετρίας, για την εξαγωγή συμπερασμάτων.

Προσδιορισμός πειραμ. συνθηκών-Πειραμ. σχεδιασμός

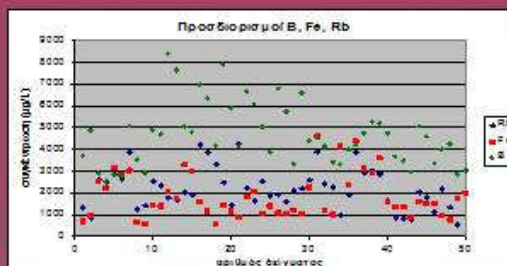
Καθορίστηκαν οι κρίσιμες πειραματικές παράμετροι.

Πραγματοποιήθηκε πλήθος συγκριτικών μελετών διαφορετικών τεχνικών συνθηκών προετοιμασίας & κατεργασίας δειγμ. οίνου.

Αναπτύχθηκε και επικυρώθηκε κατάλληλη μέθοδος προσδιορισμού μετάλλων σε δείγματα κρασιού με ICP-MS. Έλεγχος Ορθότητας (χρήση υπ. δειγμ. Διαγνωστ. δοκιμών: SCHEMA & εμβολ. δειγμάτων)



Διακριτικό προσδιορισμός Sr σε δείγματα οίνων ύστερα από χώνευση & αραιώση



Συγκεντρώσεις (μg/L) B, Fe και Rb στα δείγματα οίνου που αναλύθηκαν

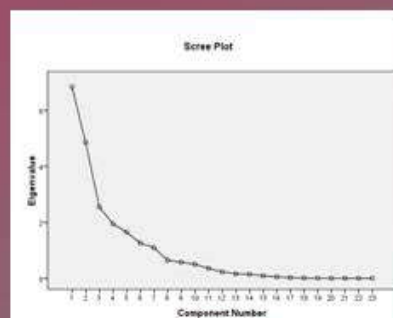
Στοιχείο	Υλικό	Ανάκτηση (%)
Cd111	SCHEMA 62 03	107
Pb208	SCHEMA 62 03	97
Fe56	SCHEMA 62 03	94
Cu63	SCHEMA 62 03	92
Zn66	SCHEMA 62 03	97
As75	SCHEMA 62 03	95
Ba137	Εμβολ. δείγμα	101
Ca42	Εμβολ. δείγμα	98
Ge72	Εμβολ. δείγμα	102

Αναλύθηκε μια σειρά από δείγματα οίνου της ποικιλίας 'ξινόμαυρο' (>25-βάση δεδομένων) και δείγματα διαφόρων άλλων ποικιλιών (λευκά και κόκκινα κρασιά, από διάφορες γεωγραφικές περιοχές).

Από τα αποτελέσματα των προσδιορισμών κατασκευάστηκε στοιχειακό αποτύπωμα της ποικιλίας 'ξινόμαυρο' και μοντέλο για την περιγραφή του στοιχειακού του αποτυπώματος.

Κατάρτιση στοιχειακού αποτυπώματος ποικιλίας ξινόμαυρου

τάξη	στοιχείο	Συγκέντρωση (μg/L)
1	Li	5-6
2	B	9500-5000
3	Be	2500-9500
4	Sr	250-400
5	Rb	25.7-26.3
6	Eu	10-20
7	Gd	18-25
8	Pb	10-25
9	Co	25-45
10	Mn	700-110
11	Fe	1000-9800
12	Ca	15-18
13	Ni	95-80



Οι τιμές από την πολυστοιχειακή ανάλυση των οίνων από ξινόμαυρο, παραμετροποιήθηκαν με τη χρήση στατιστικού πακέτου SPSS-Factor analysis. Με βάση τα δεδομένα από τις ιδιοτιμές του πίνακα συσχέτισης μεταβλητών ScreePlot, είναι δυνατή η περιγραφή του συστήματος με 7 παράγοντες: TVE 98%.

Προκαταρκτικές μελέτες ενισχύουν την ορθότητα του μοντέλου που αναπτύχθηκε, αφού είναι δυνατή η εξαγωγή ασφαλών συμπερασμάτων για τη διάκριση ποικιλιών οίνων με βάση το στοιχειακό τους αποτύπωμα (>90%). Πειράματα για τη συσχέτιση στοιχειακού αποτυπώματος οίνων και γεωγραφικής προέλευσης είναι σε εξέλιξη.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Maria P. Fabani, Ruth C. Arrua, Fabio Vazquez, Maria P. Diaz, Maria V. Baroni, Daniel A. Wunderlin, (2010) "Evaluation of elemental profile coupled to chemometrics to assess the geographical origin of Argentinian wines", Elsevier, Food Chemistry 119, 372-379.
2. Patricia Paneque, M. Teresa Alvarez-Sotomayor, Isidoro A. Gomez, (2009) "Metal contents in 'oloroso' sherry wines and their classification according to provenance", Elsevier, Food Chemistry 117, 302-305.
3. M. Espinoza, C. Olea Azar, G. Massiff, A. Villa, "Development of a reference material for copper and iron in wine" 684-688.
4. Federico Castellucci, "Multielemental Analysis using ICP-MS", OIV/OENO/ 2010.
5. Malcolm J. Baxter, Helen M Crews, M. John Dennis, Ian Goodall & Dorothy Anderson, (1997), "The Determination of the Authenticity of Wine from its Trace Element Composition", Elsevier, Food Chemistry 60, 443-450.
6. Zeljka Fiket, Nevenka Mikac, Goran Kniewald, (2011), "Arsenic and other trace elements in wines of eastern Croatia", Elsevier, Food Chemistry 126, 941-947.
7. P.P. Minnaar, E.R. Rohwer, M Booyse, (2005), "Investigating the use of Element Analysis for Differentiation between the Geographic Origins of Western Cape Wines", S. Afr.J.Enol.Vitic., Vol.26, No.2, 95-105.
8. M. Suhaj, M. Korenovska, (2005), "Application of Elemental Analysis for Identification of Wine Origin", Acta Alimentaria, Vol.34, 393-401.
9. Sachie Horii, Tomokazu Hashiguchi, Hanae Izu, Shigetoshi Sudo, (2011), "Analysis of element Composition of Japanese and Other Wine and their Classification", J. Japan Soc. Hort. Sci. 80, 506-511.
10. Maria Antonietta Brescia, Iztok J. Kosir, Vincenzo Caldarola, Jurkica Kidric, Antonio Sacco, (2003), "Chemometric Classification of Apulian and Slovenian Wines using ^1H NMR and ICP-OES together with HPICE Data, Journal Agricultural and Food Chemistry 51, 21-26.
11. Paul Coetzee, Ockert Augustyn, (2006), "Classification of South African wines according to Geographical Origin using Multi-element Chemical Analysis" WineLand Magazine.
12. G. van der Linde, J. L. Fischer, P.P. Voetsee, (2010), "Multi-element Analysis of South African Wines and their Provenance Soils by ICP-MS and their

- Classification according to Geographical Origin using Multivariate Statistics”, *S. Afr. J. Enol. Vitic.*, Vol. 31, No. 2, 143-153.
13. Mario Giaccio, Assia Vicentini, (2008), “Determination of the Geographical Origin of Wines by means of the Mineral Content and the Stable Isotope Ratios: A Review”, *J. Commodity Sci. Technol. Quality* 47, 267-284,
 14. Bin Du, Feng-Mei Zhu, Feng-Ying Li, (2012), “Measurement and Analysis of mineral Components in Grape Wine by Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectrometer”, *Advance Journal of Food Science and Technology*, 4, 277-280.
 15. S. Galani-Nikolakaki, N. Kallithrakas-Kontos, A. A. Katsanos, (2002), “Trace Element Analysis of Cretan wines and wine products”, *Elsevier The Science of the Total Environment*, 285, 155-163.
 16. Daniel Minilu Woldemariam, Bhagwan Singh Chandravanshi, (2011), “Concentration levels of Essential and non-Essential elements in Selected Ethiopian Wines”, *Bull. Chem. Soc. Ethiop.* 25(2), 169-180.
 17. Trajce Stafilov, Irina Karadjova, (2009), “Atomic Absorption Spectrometry in Wine Analysis – A Review - , *Macedonian Journal of Chemical Engineering*, 28(1), 17-31.
 18. Simon Kelly, Karl Heaton, Jurian Hoogewerff, (2005), “Tracing the Geographical Origin of Food: The Application of Multi-Element and Multi-Isotope Analysis”, *Trends in Food Science & Technology* 16, 555-567.
 19. Maurizio Aceto, Ornella Abollino, Maria Concetta Bruzzoniti, Edoardo Mentasti, Corrado Sarzanini, Mey Malandrino, (2002), “Determination of Metals in Wine with Atomic Spectroscopy (flame-AAS, GF-AAS and ICP-AES), A Review. *Food Additives and Contaminants*, 19(2), 126-133.
 20. T. Stafilov, J. Cvetkovic, S. Arpadjan, I. Karadjova, (2002), “ETAAS Determination of some Trace Elements in Wine”, *BAU Fen Bil. Enst. Dergisi*, 4.2, 90-95.
 21. Miguel Lopez- Artiguez, Ana M. Camean, Manuel Repetto, (1996), “Determination of nine Elements in Sherry Wine by Inductively Coupled Plasma- Atomic Emission Spectrometry”, *Journal of AOAC International*, 79(5), 1191-1197.
 22. Fernanda Galgano, Fabio Favati, Marisa Caruso, Teresa Scarpa, Achille Palma, (2008), “Analysis of Trace Elements in Southern Italian wines and their

- Classification according to Provenance”, Elsevier, Food Science and Technology 41, 1808-1815.
23. Riette de Bruyn, (2008), “Provenance Determination of South African Wines with Quadropole-based ICP-MS Measurements of $^{11}\text{B}/^{10}\text{B}$ Isotope Ratios”, University of Johannesburg, Faculty of Science.
 24. Clarisa Vorster, P.P. Coetzee, (2008), “Precise $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ Isotope Ratio Measurement by Quadrupole-based ICP-MS after Ion Exchange Separation of Rb for Provenance Determination of Agricultural Products”, University of Johannesburg, Faculty of Science.
 25. Dutra S.V.; Adami L.; Marcon A.R.; Carnieli G.; Roani C.; Spineli F.; Leonardelli S; Munaro D; Vanderlinde R, “Determination of Geographical Origin of Brazilian Wines Using Joint Isotopic and Mineral Elements”, Universidade de Caxias do Sul (UCS), Instituto de Biotecnologia, Rua Francisco Getulio Vargas, 1130, 95070-560, Caxias do Sul, Brasil; LAREN – Laboratorio de Referencia Enologica, Av. da Vindima, 1855, Caxias do Sul, Rio Grande do Sul, Brasil,.
 26. Ευάγγελος Ηρ. Σουφλερός, (1997), “Οινολογία, Επιστήμη και Τεχνογνωσία”, Τόμος Ι, Θεσσαλονίκη, .
 27. A. Gonzalez, A. Llorens, M.L. Cervera, S. Armenta, M. de la Guardia, (2009), “Elemental fingerprint of wines from the protected designation of origin Valencia”, Food Chemistry 112, 26-34,.
 28. X. Capron, J. Smeyers-Verbeke, D.L.Massart, (2007) “Multivariate determination of the geographical origin of wines from four different countries”, Food Chemistry 101, 1585-1597.
 29. Petr Kment, Martin Mihaljevic, Vojtech Ettler, Ondrej Sebek, Ladislav Strnad, Ladislava Rohlova, (2005), “Differentiation of Czech wines using multielement composition- A comparison with vineyard soil”, Food Chemistry 91, 157-165.
 30. Jaroslava Sperkova, Miloslav Suchanek, (2005), “Multivariate classification of wines from different Bohemian regions (Czech Republic), Food Chemistry 93, 659-663.
 31. Isabel M. Moreno, Dailos Gonzalez-Weller, Valerio Gutierrez, Marino Marino, Ana M. Camean, A. Gustavo Gonzalez, Arturo Hardisson, (2008), “Determination of Al, Ba, Ca, Cu, Fe, K, Mg,Mn, Na, Sr, Zn in red wine

- samples by Inductively coupled plasma optical emission spectroscopy: Evaluation of preliminary sample treatments”, *Microchemical Journal* 88, 56-61.
32. Mercedes Alvarez, Isabel M. Moreno, Angeles Jos, Ana M. Camean, A. Gustavo Gonzalez, (2007), “Differentiation of two Andalousian DO ‘fino’ wines according to their metal content from ICP-OES by using supervised pattern recognition methods”, *Microchemical Journal* 87, 72-76.
 33. Helene Hopfer, Jenny Nelson, Alyson E. Mitchell, Hildegard Heymann, Susan E. Ebeler, (2013), “Using ICP-MS and Mass Profiler Professional to determine the effect of storage temperature and packaging type on the trace metal composition of wine”, *J. Anal. At. Spectrom.* 28, 1288-1291.
 34. Catherine Stacey, Roberto Forlani, Angelo Piron, (2014), “Geographical Differences of trace elements in wine-analysis with NexION 300X/350X ICP-MS and Visualization with TIBCO Spotfire Software”, PerkinElmer Inc. Shelton CT.
 35. C. Marisa Almeida, M. Teresa S.D. Vasconcelos, (2002), “Advantages and limitations of the semi-quantitative operation mode of an inductively coupled plasma-mass spectrometer for multi-element analysis of wines”, *Analytica Chimica Acta* 463, 165-175.
 36. Patricia Paneque, M. Teresa Alvarez-Sotomayor, Almudena Clavijo, Isidoro A. Gomez, (2010), “Metal content in southern Spain wines and their classification according to origin and ageing”, *Microchemical Journal* 94, 175-179.
 37. Sofia Catarino, A.S. Curvelo- Garcia, R. Bruno de Sousa, (2006), «Measurements of contaminant elements of wines by inductively coupled plasma-mass spectrometry: A comparison of two calibration approaches”, *Talanta* 70, 1073- 1080.
 38. Pawel Pohl, (2007), “What do metals tell us about wine?”, *Trends in Analytical Chemistry* 26(9), 941-948.
 39. Emilio Marengo, Maurizio Aceto, (2003), “Statistical investigation of the differences in the distribution of metals in Nebbiolo-based wines”, *Food Chemistry* 81, 621-630.

40. Juan P. Perez Trujillo, Jose E. Conde, Maria L. Perez Pont, J. Camara, Jose C. Marques, (2011), "Content in metallic ions of wines from the Madeira and Azores archipelagos", *Food Chemistry* 124, 533-537.
41. Alexander E. Martin, R. John Watling, Garry S. Lee., (2012), "The multi-element determination and regional discrimination of Australian wines", *Food Chemistry* 133, 1081-1089.
42. Irina Geana, Andreea Iordache, Roxana Ionete, Adrian Marinescu, Aurora Ranca, Monica Culea, (2013), "Geographical origin identification of Romanian wines by ICP-MS elemental analysis", *Food Chemistry* 138, 1125-1134.
43. Fei Shen, Jian Wu, Yibin Ying, Bobin Li, Tao Jiang, (2013), "Differentiation of Chinese rice wines from different wineries based on mineral elemental fingerprinting", *Food Chemistry* 141, 4026-4030.
44. Martin Mihaljevic, Vojtech Ettler, Ondrej Sebek, Ladislav Strnad, Vladislav Chrastny, (2006), "Lead isotopic signatures of wine and vineyard soils-tracers of lead origin", *Journal of Geochemical Exploration* 88, 130-133.
45. Dasa Kruzlicova, Zeljka Fiket, Goran Kniewald, (2013), "Classification of Croatian wine varieties using multivariate analysis of data obtained by high resolution ICP-MS analysis", *Food Research International* 54, 621-626.
46. Andrea Versari, V. Felipe Laurie, Arianna Ricci, Luca Laghi, Giuseppina P. Parpinello, (2014), "Progress in authentication, typification, and traceability of grapes and wines by chemometric approaches", *Food Research International* 60, 2-18.
47. Sonia M. Rodrigues, Marta Otero, Andre A. Alves, Joana Coimbra, Manuel A. Coimbra, Eduarda Pereira, Armando C. Duarte, (2011), "Elemental analysis for categorization of wines and authentication of their certified brand of origin", *Journal of food composition and analysis* 24, 548-562.
48. Gabriela Rapeanu, Constanta Vicol, Cezar Bichescu, (2009), "Possibilities to asses the wines authenticity", *Inovative Romanian Food Biotechnology* 5, 1-9.
49. Mihai Palade, Mona-Elena Popa, (2014), "Wine traceability and authenticity- A literature Review", *Scientific Bulletin. Series F. Biotechnologies*, Vol. XVIII, 226-233.
50. Blackhurst DM, Marais AD, (2009), "Do heavy metals counter the potential health benefits of wine?" , *JEM DSA* 14(2), 77-79.

51. Toxicology FAST SHEET SERIES, (2009), “Mercury, Lead, Cadmium, Tin and Arsenic in Food”, Issue No.1.
52. R. Bukovcan, V. Bukanovic, M. Banovic, n. Vahcic, Lj. Gasparec-Skocic, “Determination of Selected Metallic Ions in Croatian White Wines by ICP-OES Method”, Croatian Institute of Viticulture and Enology, Faculty of Food Technology and Biotechnology - University of Zagreb, Croatia,.
53. Τρύφωνας Μακρίδης, «Ο Κόσμος του Κρασιού», Θεσσαλονίκη, Εκδόσεις NEW LINE.
54. ΕΔΟΑΟ, «Επώνυμο Ελληνικό κρασί, Γηγενείς ποικιλίες αμπέλου», Διαδυκτιακή Πύλη.
55. Άννα Ασημακοπούλου, Αλέξιος Αλεξόπουλος, (2013), Σημειώσεις Αμπελουργίας, Καλάματα.
56. Σ. Πετροπούλου, (2016), Σημειώσεις Αμπελουργίας, Καλάματα. 100.
57. Τσακίρης Αργύρης, (2003), «Ελληνική Οινογνωσία» Αθήνα, Εκδόσεις Ψυχάλου.
58. Μαρία Λιούνη, (2009), “Σημειώσεις και εργαστηριακές ασκήσεις Χημείας και Τεχνολογίας οίνου και άλλων αλκοολούχων ποτών”, Εργαστήριο Βιομηχανικής Χημείας, Αθήνα.
59. I. Douglas A. Skoog, F. James Holler, Timothy A. Nieman, (2007), «Αρχές Ενόργανης Ανάλυσης», Πέμπτη Έκδοση, 301 – 320, Αθήνα, Εκδόσεις Κωσταράκη.
60. Στρατής Ι. Α., Θεμελής Δ. Γ., Ζαχαριάδης Γ. Α., Ανθεμίδης Α. Ν., Οικονόμου Α.Σ., (2004), «Ενόργανη Ανάλυση ΙΙ», Πρώτη Έκδοση, 113 – 152, Θεσσαλονίκη, Εκδόσεις Ζήτη.
61. ICP - MS A PRIMER, Agilent Technologies, Santa Clara, 2005, σελ. 7 - 32.
62. Jenna Workey, Steve Kvech, “Principles of ICP-MS”.
63. Ruth E. Wolf, (March 2005), “What is ICP-MS?... and more importantly, what can it do?” Crustal Geophysics and Geochemistry Science Center.