

Τοξικολογία Τροφίμων

Υπολείμματα Φυτοφαρμάκων

MRLs, Maximum Residues Limits, Ανώτατα Όρια Κατάλοιπων (ΑΟΚ)

Ανώτατο νόμιμο όριο **συγκέντρωσης** καταλοίπου φυτοφαρμάκου **εντός ή επί** τροφίμων ή ζωοτροφών το οποίο ορίζεται σύμφωνα με τον Κανονισμό 396/2005/ΕΚ και βασίζεται στην ΟΓΠ και τη **χαμηλότερη απαιτούμενη έκθεση** του καταναλωτή για την προστασία των ευαίσθητων καταναλωτών



MRLs, Maximum Residues Limits, Ανώτατα Όρια Κατάλοιπων (ΑΟΚ)

Εκφράζεται σε **mg φυτοπροστατευτικής ουσίας / Kg βάρους αγροτικού προϊόντος**

Ο έλεγχος στα αγροτικά προϊόντα γίνεται κατά την συγκομιδή



Οργανολογία Ελέγχου Υπολειμμάτων ΦΤΠ



Αέρια Χρωματογραφία

Ξεκίνησε το 1952

Προσδιορισμός μεγάλου αριθμού ουσιών σε ποικιλία δειγμάτων που αφορούν τη χημεία τροφίμων (και φυσικά πολλούς άλλους κλάδους)

Αέρια Χρωματογραφία

Διαχωρισμό ουσιών μεταξύ μιας αέριας χημικά αδρανούς φάσης (φέρον αέριο) και μιας στατικής η οποία μπορεί να είναι στερεά ή υγρή ακινητοποιημένη σε αδρανή φορέα

Αέρια Χρωματογραφία: Βασική απαίτηση

Πτητικότητα και **θερμική σταθερότητα** των προς μελέτη ουσιών ώστε με ρύθμιση θερμοκρασίας να καθίστανται αέριες χωρίς θερμική διάσπαση

Περιοριστικός παράγοντας: Η θερμική σταθερότητα ουσιών και στήλης

Αέρια Χρωματογραφία: Τμήματα Οργάνου

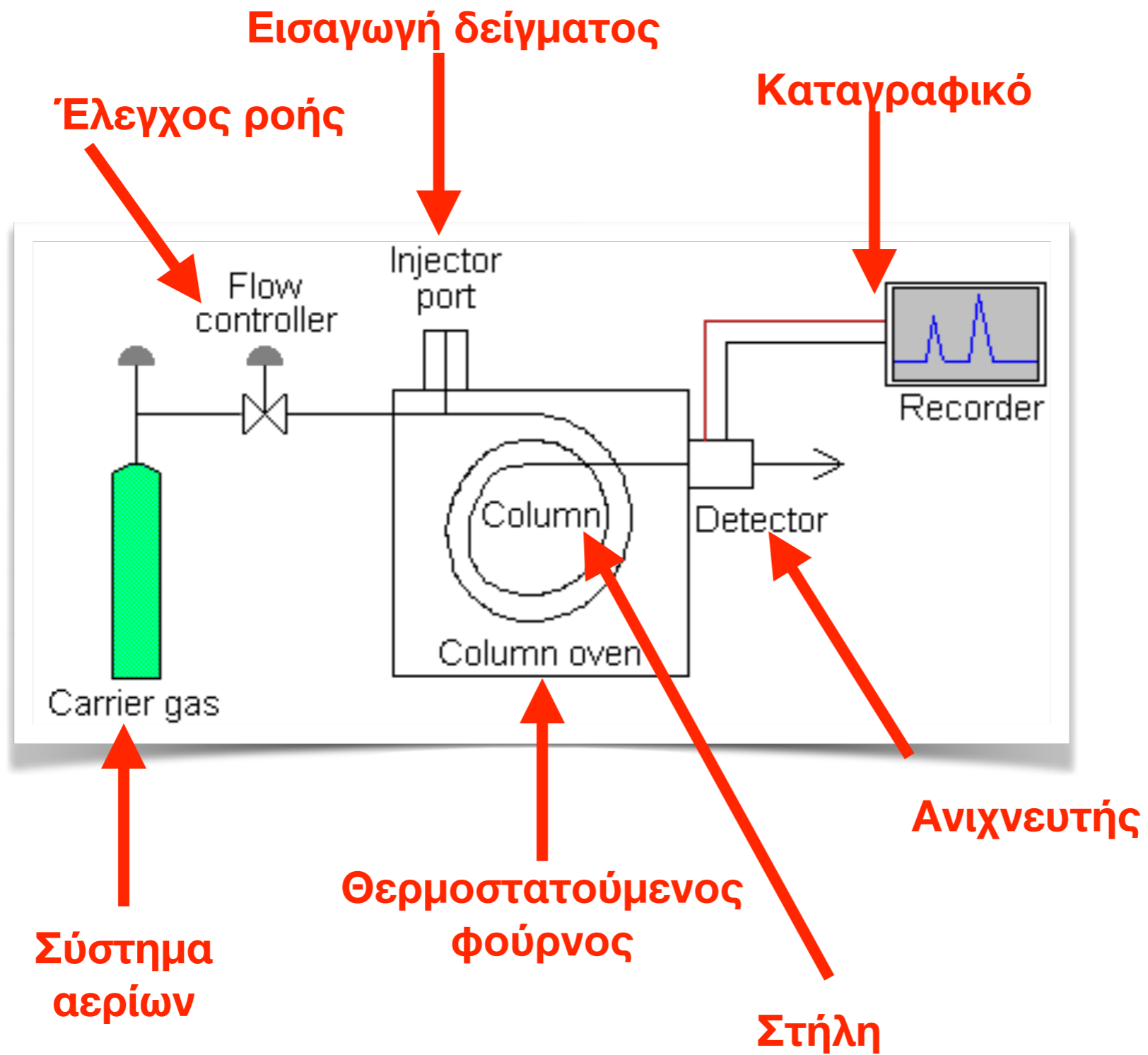
- Σύστημα **ρύθμισης ροής** των απαιτούμενων αερίων
- Σύστημα **εισαγωγής δείγματος** στο οποίο πραγματοποιείται η εξαέρωση του δείγματος και η ανάμιξη του με το φέρον αέριο πριν την εισαγωγή στη στήλη



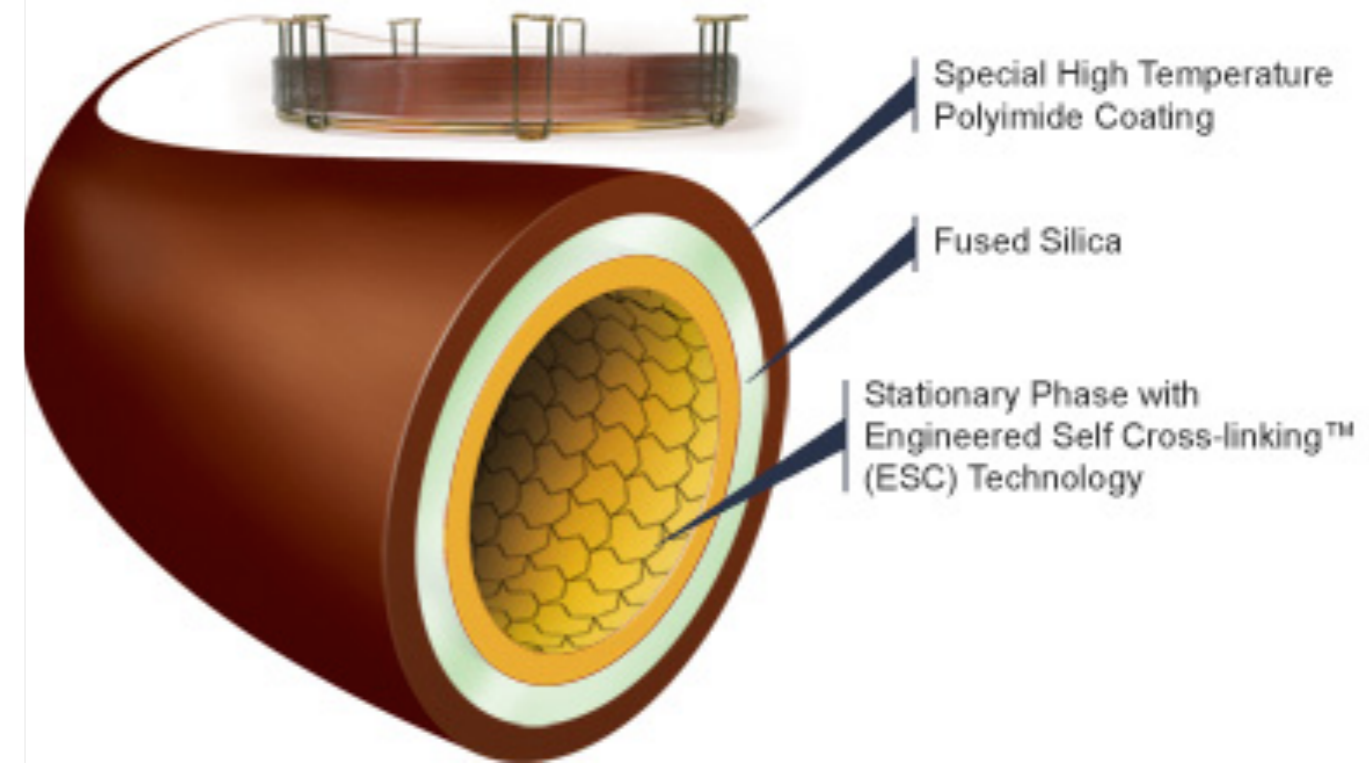
Αέρια Χρωματογραφία: Τμήματα Οργάνου

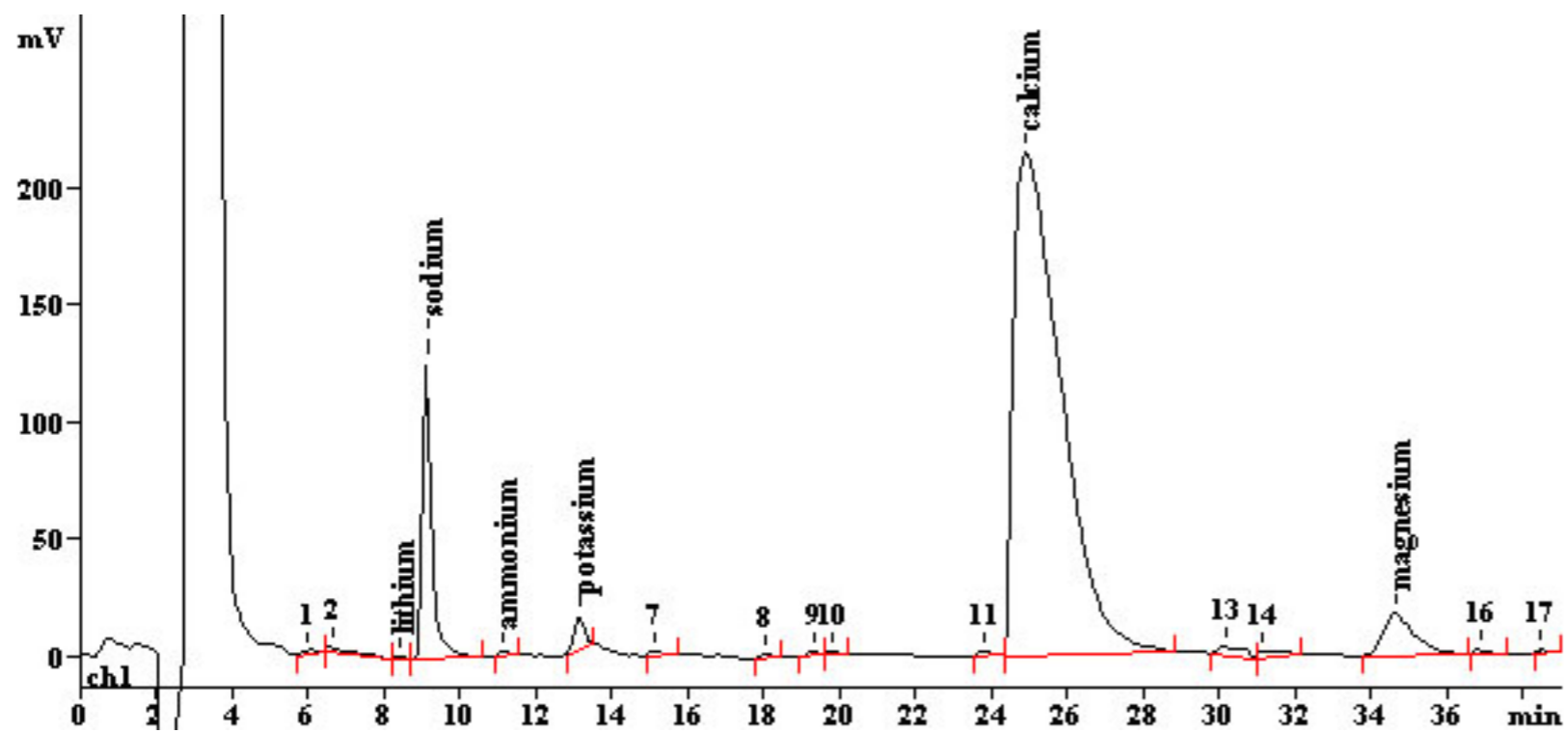
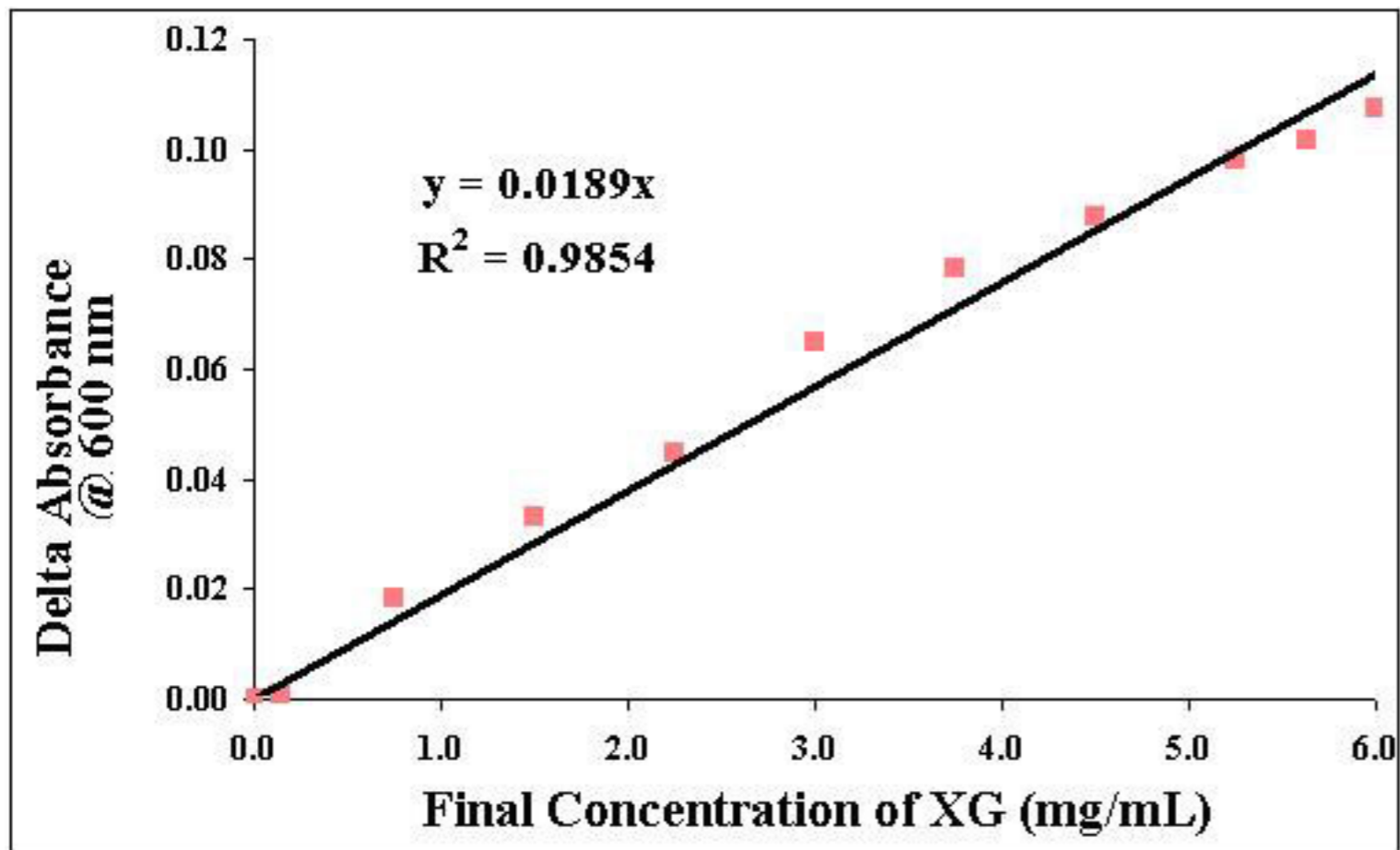
- **Θερμοστατούμενος φούρνος** που παρέχει με ιδιαίτερη ακρίβεια τις απαιτούμενες από την περιεχόμενη στήλη θερμοκρασιακές συνθήκες
- Σε σειρά συνδεδεμένο **ενισχυτή**
- Σύστημα **μετατροπής, καταγραφής και επεξεργασίας** του εξαγόμενου από τον ανιχνευτή σήματος





Στήλη χρωματογραφίας





Αέρια Χρωματογραφία: Στήλη

Καρδιά χρωματογράφου

Υλικό πλήρωσης

Εσωτερική διάμετρος

Τρόπος ακινητοποίησης στατικής φάσης

Είδος υλικού πληρώσεως

Αέρια Χρωματογραφία: Ανιχνευτής

Ανιχνευτής σύλληψης ηλεκτρονίων (ECD)

Θερμοϊονικός ανιχνευτής (TID) ή ανιχνευτής αζώτου-φωσφόρου (NPD)

Φλογοφωτομετρικός ανιχνευτής (FPD)

Ανιχνευτής ηλεκτρολυτικής αγωγιμότητας (ELCD)

Ανιχνευτής φωτοϊονισμού (PID)

Ανιχνευτής ιονισμού φλόγας (FID)

Ανιχνευτής θερμικής αγωγιμότητας (TCD)

Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Πίεσης (HPLC)

Εφαρμογή για αναλύσεις υπολειμμάτων κυρίως σε περιπτώσεις μη πτητικών και θερμικά ασταθών μορίων

Τμήματα HPLC

- Το σύστημα των διαλυτών με τα φίλτρα και μία η περισσότερες αντλίες με τους ρυθμιστές ανάμιξης
- Τη βαλβίδα εισαγωγής του δείγματος
- Τη στήλη και πιθανώς προστήλη
- Τον ανιχνευτή και
- Το καταγραφικό με τον επεξεργαστή των δεδομένων

Τμήματα HPLC : Κινητή Φάση

- Διαλύτης ή μίγμα διαλυτών που προωθείται με αντλία υπό πίεση
- Διαλύτες σε γυάλινες φιάλες, απαερώνονται για αποφυγή δημιουργίας φυσαλίδων και ασταθούς πίεσης

Τμήματα HPLC : Στήλη

Διαχωρισμός και πιστότητα εξαρτώνται από μέγεθος κόκκων και πορώδες υλικού πληρώσεως

Βελτίωση διαχωριστικής ικανότητας :

- Μεταβολή διαμέτρου κόκκων, μήκους και ταχύτητα ροής κινητής φάσης
- Συχνή είναι η χρήση προστήλης

Τμήματα HPLC : Ανιχνευτής

Ανιχνευτής υπεριώδους

Ανιχνευτής φθορισμού

Φασματοφωτόμετρο παράταξης διόδων υπεριώδους ορατού καθώς και ο

Φασματογράφος μάζας

Ποσοτικοί προσδιορισμοί



Βασική Αρχή

Μέτρηση φυσικής ή χημικής ιδιότητας της προς προσδιορισμό ουσίας η οποία είναι ανάλογη της ποσότητας της ουσίας που προσδιορίζεται

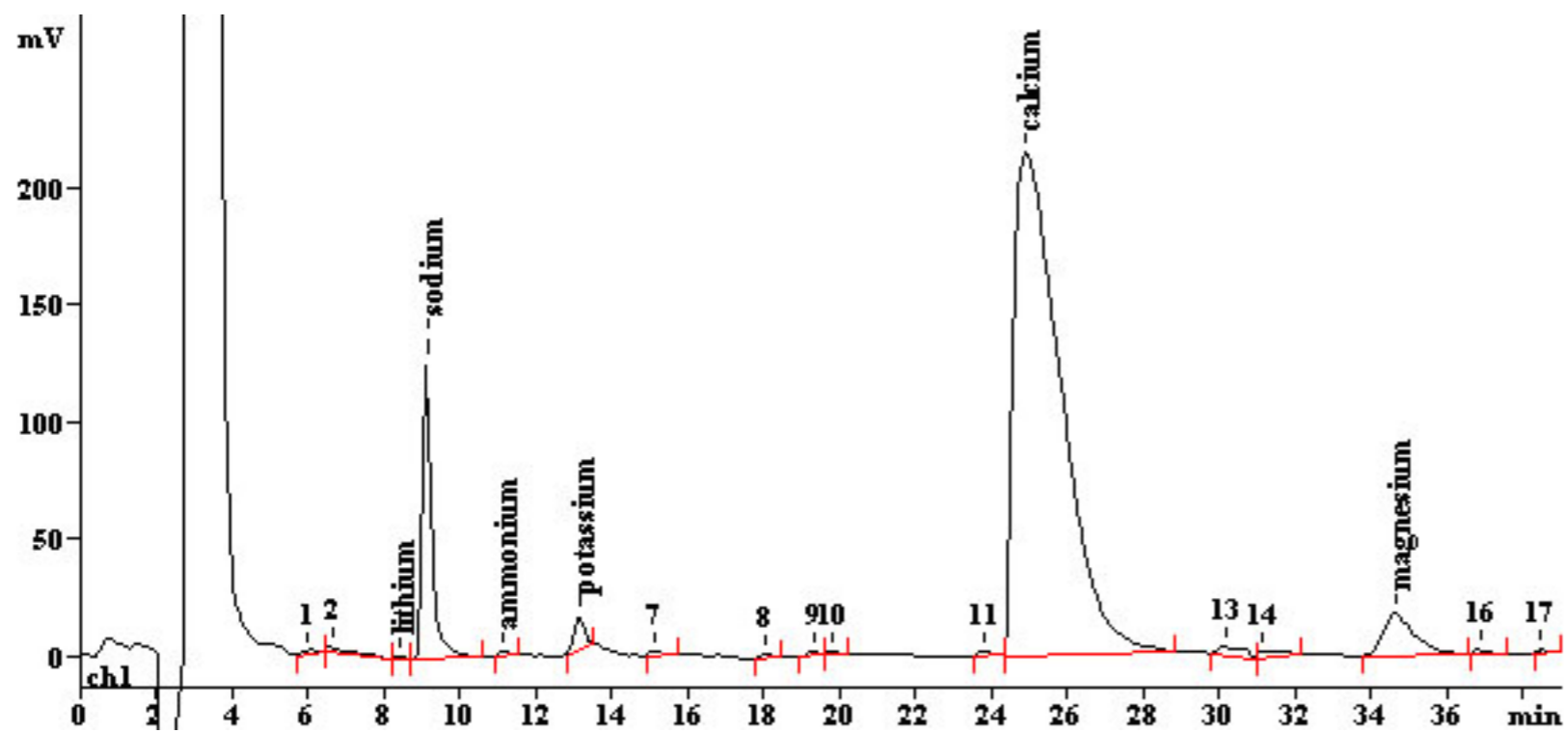
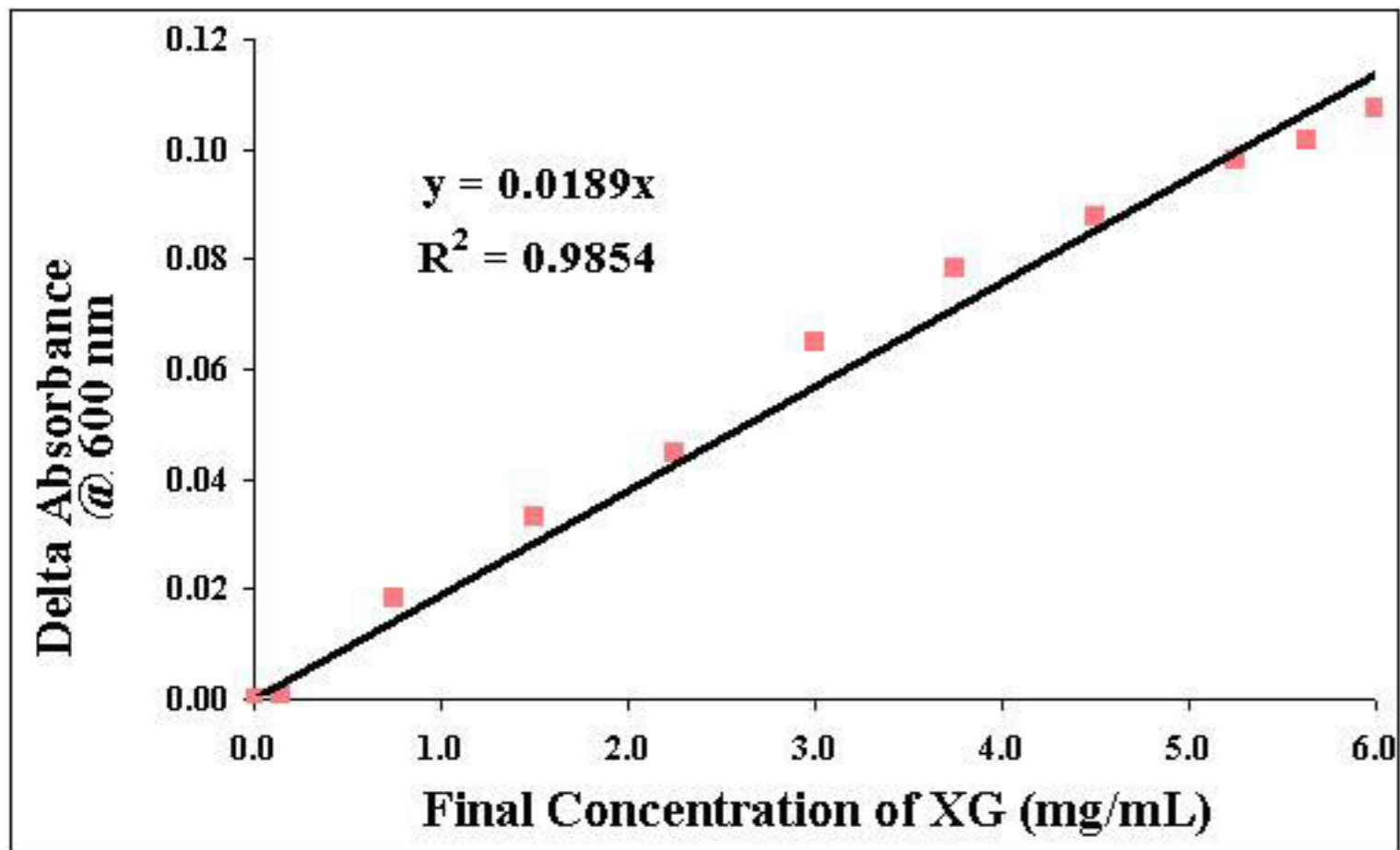


Προϋπόθεση

Η διαδικασία κατεργασίας του δείγματος και οι αντιδράσεις που γίνονται καθώς και οι συνθήκες μετρήσεως να είναι ίδιες για όλες τις μετρήσεις

Για αυτό γίνεται έλεγχος αξιοπιστίας με πρότυπα διαλύματα, καμπύλες αναφοράς, πειράματα ανακτήσεως





Καμπύλες Αναφοράς

Δείγματα με γνωστές συγκεντρώσεις της προς προσδιορισμό ουσίας (**πρότυπα διαλύματα**)

Γραφική απεικόνιση του **σήματος R** του οργάνου προς τη **συγκέντρωση C** της ουσίας στα πρότυπα διαλύματα και λαμβάνεται η καμπύλη αναφοράς

Με τη καμπύλη αναφοράς υπολογίζουμε τη συγκέντρωση του άγνωστου δείγματος



Καμπύλες Αναφοράς

$$R = aC + b$$

a = κλίση ευθείας (ευαισθησία μεθόδου)

b (εξαρτάται από το όργανο και το χημικό σύστημα)

Τα δείγματα με $C=0$ ονομάζονται δείγματα αναφοράς ή μάρτυρες



Καμπύλες Αναφοράς με σταθερή προσθήκη

Συστατικά του δείγματος ή αντιδραστήρια επηρεάζουν τις μετρήσεις, άγνωστη σύσταση του δείγματος.

Προστίθενται γνωστές ποσότητες της ουσίας που προσδιορίζεται στο μάρτυρα, μετράται η απόκριση R του οργάνου για το δείγμα και τα φορτισμένα δείγματα



Καμπύλες Αναφοράς με σταθερή προσθήκη

Γραφική παράσταση R ως προς τη συγκέντρωση C .

Εφαρμόζεται όταν η τιμή της ιδιότητας R που μετριέται είναι γραμμική συνάρτηση της συγκέντρωσης



Καμπύλες Αναφοράς με εσωτερικό πρότυπο

Εάν υπάρχουν διακυμάνσεις στη λειτουργία κατά τη διάρκεια των μετρήσεων οι μετρήσεις δειγμάτων και πρότυπων δεν γίνονται με τις ίδιες συνθήκες.

Προσθέτουμε ορισμένη ποσότητα μιας ουσίας A (εσωτερικό πρότυπο) σε όλα τα διαλύματα της ουσίας (πρότυπα και άγνωστα)



Καμπύλες Αναφοράς με εσωτερικό πρότυπο

Σε κάθε δείγμα δυο μετρήσεις μια για το εσωτερικό πρότυπο RA και μια για το άγνωστο RX ή για το πρότυπο RPP

Γραφική παράσταση RPP / RA ως προς τη συγκέντρωση CPP της ουσίας

Από τη τιμή του λόγου RX / RA με τη βοήθεια της καμπύλης γίνεται ο υπολογισμός της συγκέντρωσης του δείγματος



Εκτίμηση αξιοπιστίας μεθόδου



Ακρίβεια

Απόκλιση της μέτρησης από τη πραγματική τιμή.

Εκφράζεται με τον όρο του σφάλματος (διαφορά μεταξύ πραγματικής και μετρούμενης τιμής)



Επαναληψιμότητα

Παραλλακτικότητα τιμών του ίδιου δείγματος

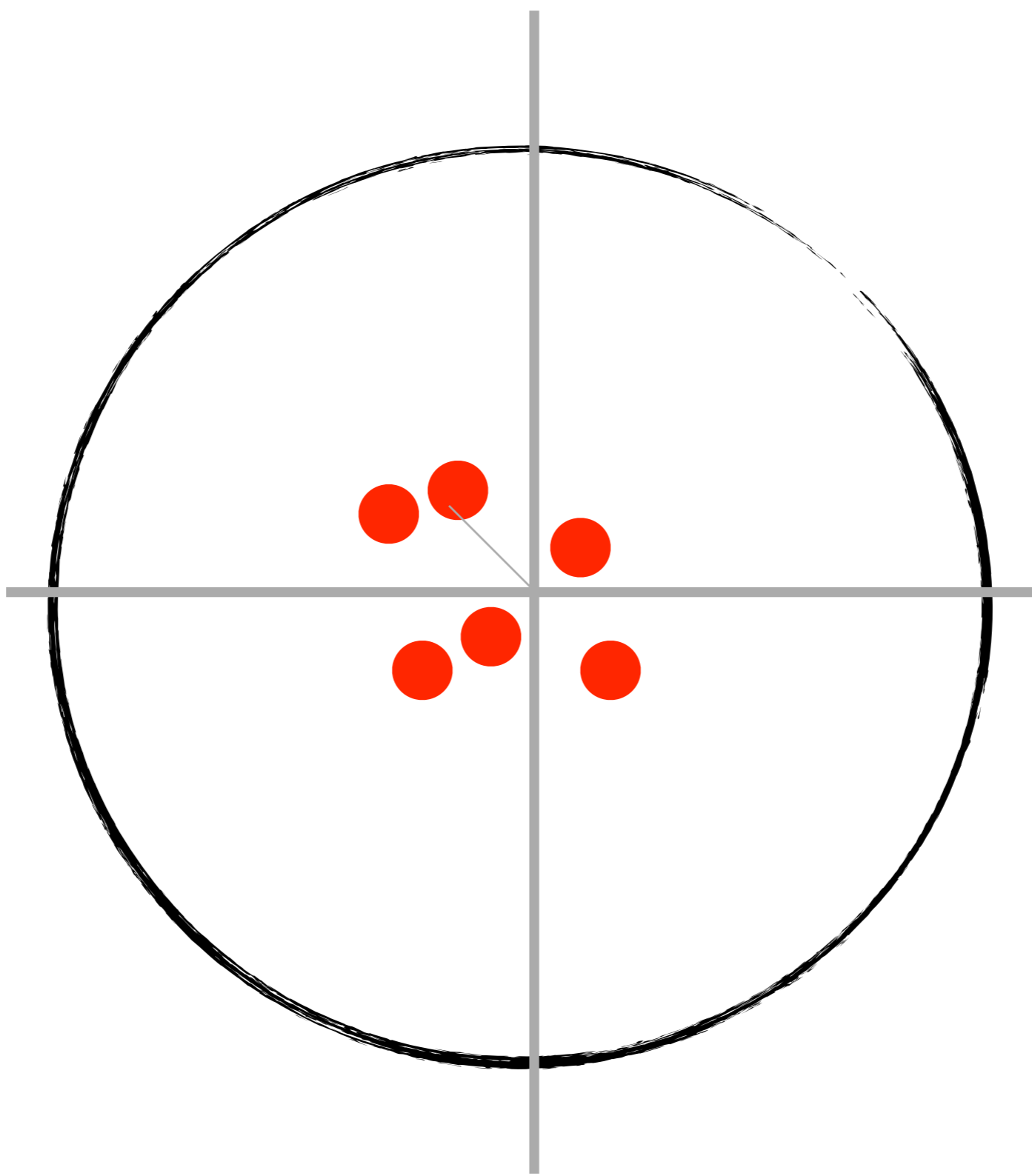
Μεγάλη διαφορά μικρή επαναληψιμότητα

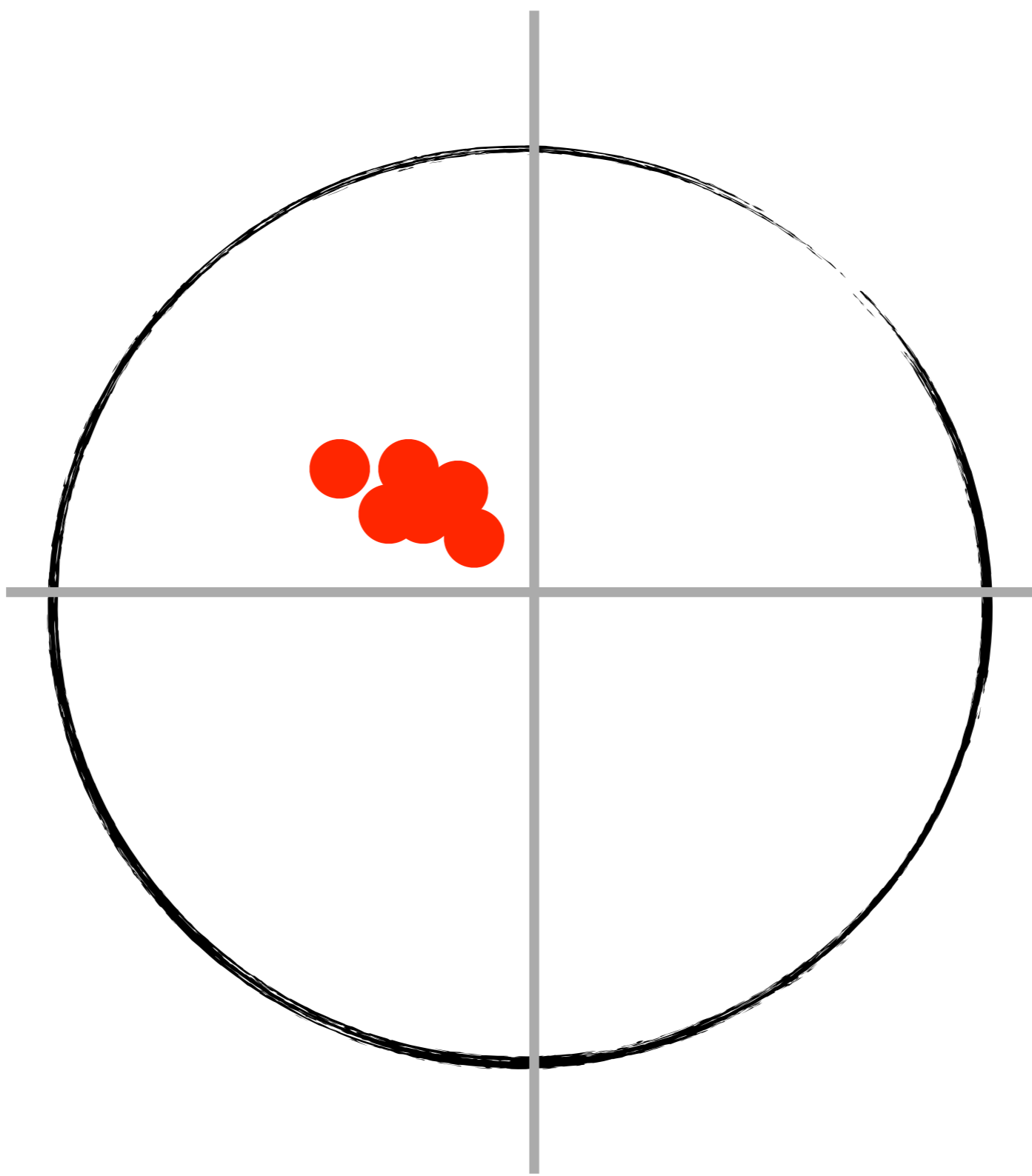
Καλή επαναληψιμότητα δεν σημαίνει και μεγάλη ακρίβεια καθώς ενδέχεται να υπάρχουν συστηματικά σφάλματα

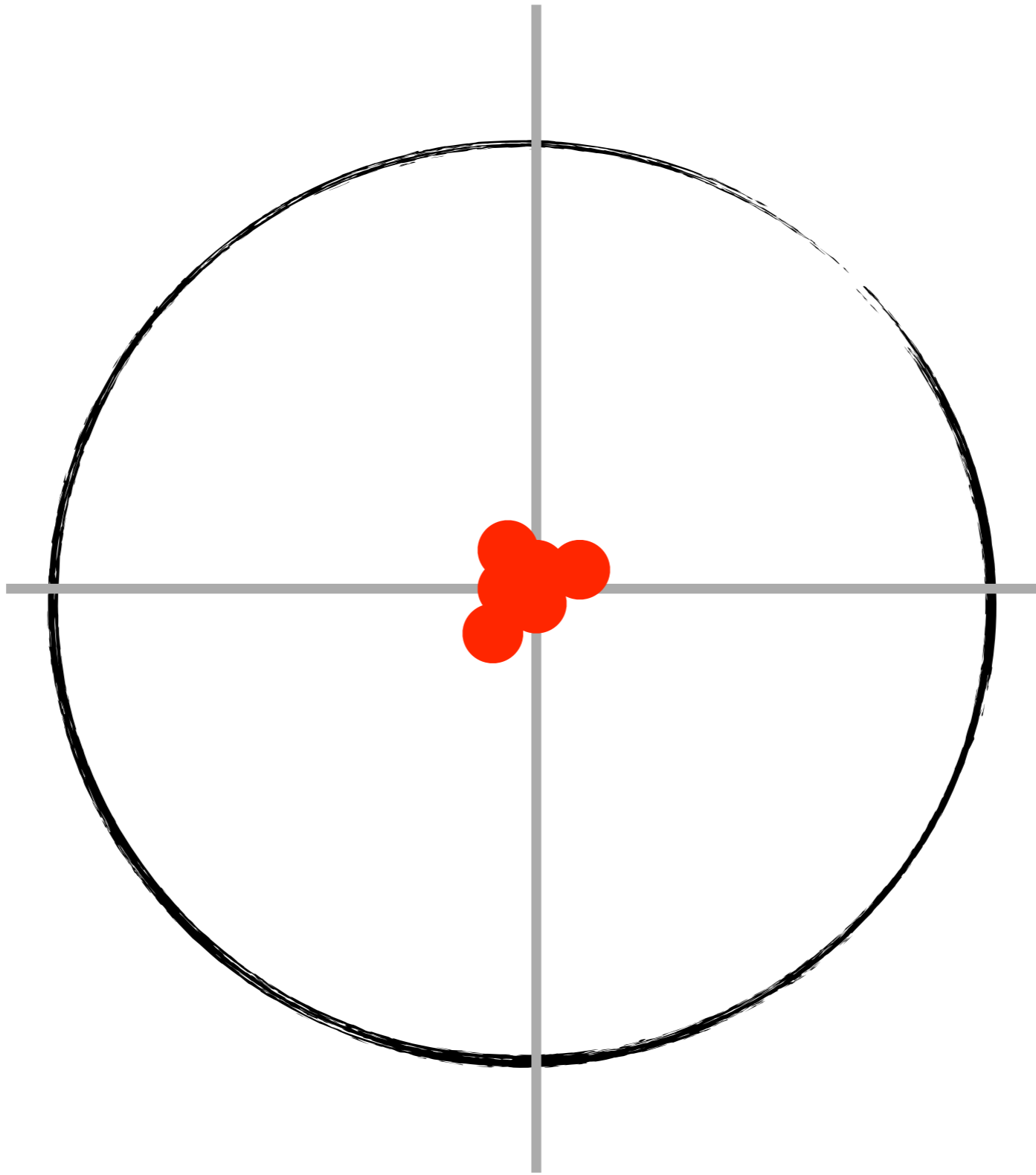
Εκφράζεται με την τυπική απόκλιση

Η σχετική τυπική απόκλιση εκφράζει τη διασπορά των μετρήσεων









Ευαισθησία

$$S = dR / dC$$

dR: μεταβολή τιμής R όταν η συγκέντρωση μεταβάλλεται κατά dC

Εξαρτάται από το όργανο και από το δείγμα



Όρια ανίχνευσης

LOD, LOQ

1. $LOQ \geq LOD$
2. $S \geq 0.70$ (S =ευαισθησία ή ανάκτηση)
3. $CV < 0.2$ (CV = συντελεστής παρέκλισης)

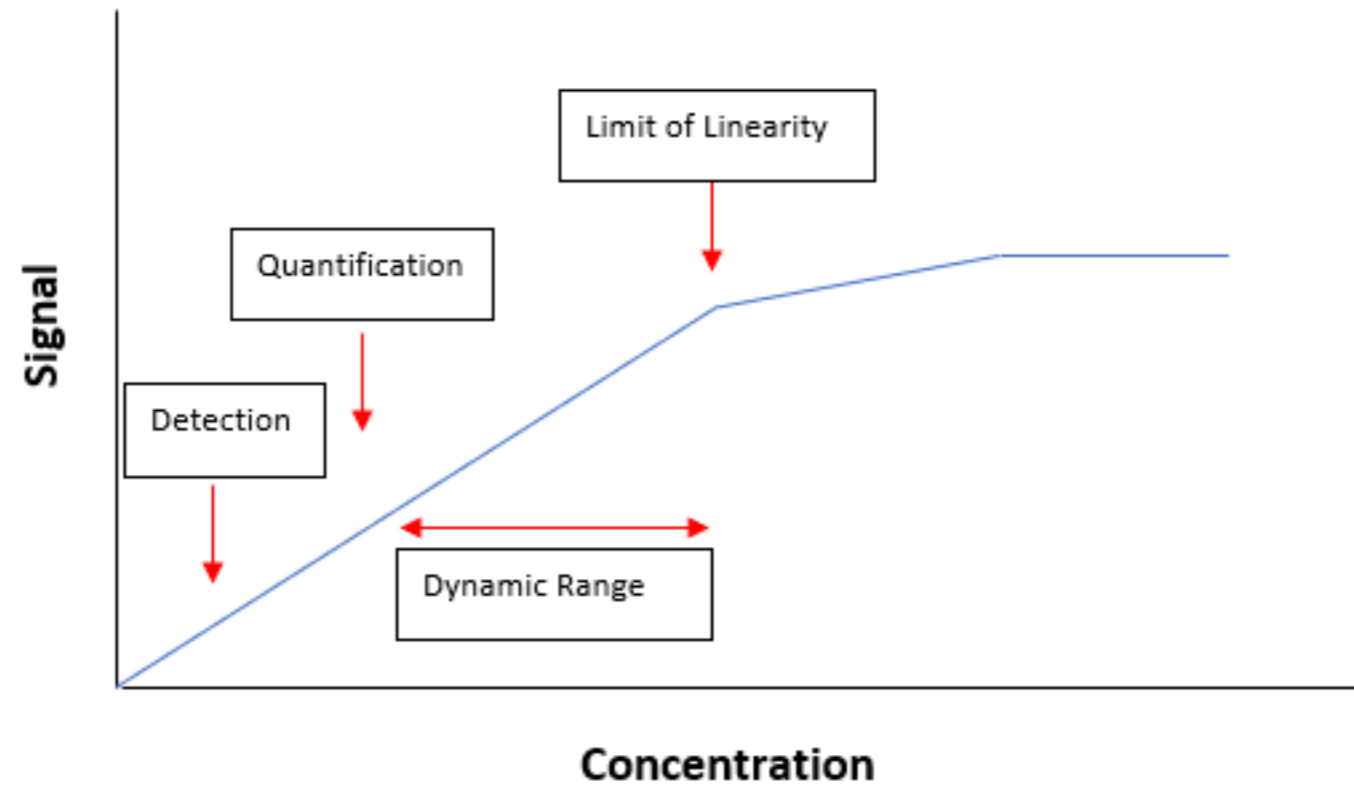
Όρια ανίχνευσης

MRLs

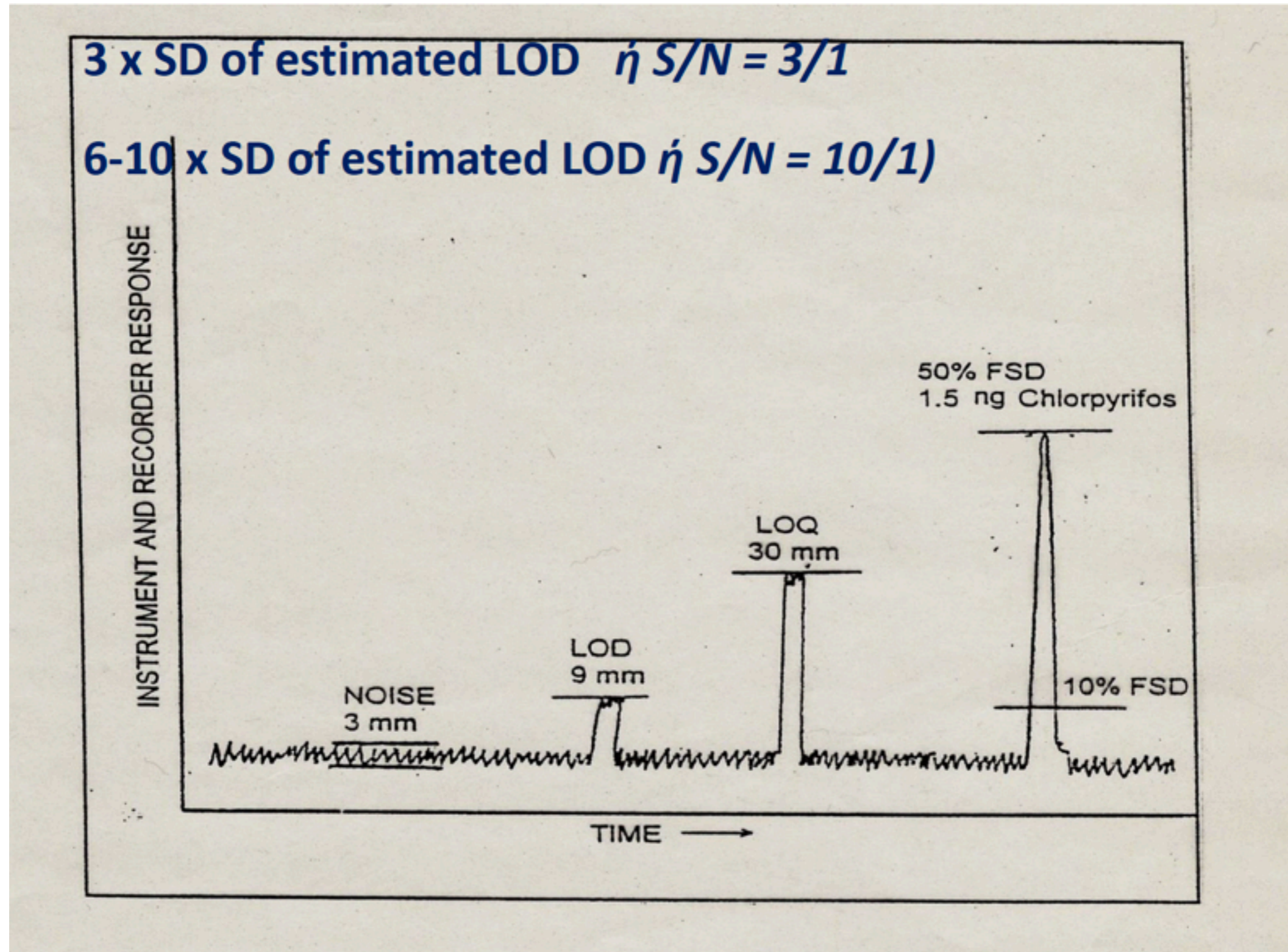
Βιολογικές
επιδράσεις

LOQ

LOD



Όρια ανίχνευσης



Καθαρισμός δειγμάτων

Ομογενοποίηση (μεγάλη επιφάνεια επαφής με διαλύτη)

Διάλυση και παραλαβή φυτοφαρμάκου από το διαλύτη

Απομάκρυνση στερεών με διήθηση υπο κενό

Παραλαβή εκχυλίσματος με διαλυμένο στο δ/τη το φυτοφάρμακο και άλλες ουσίες

Καθαρισμός δειγμάτων

Ενδεχομένως δεύτερος καθαρισμός

Εφαρμογή χρωματογραφικής μεθόδου