

**ΑΝΙΧΝΕΥΣΗ ΣΟΡΒΙΚΟΥ ΚΑΙ ΠΡΟΠΙΟΝΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ ΣΕ
ΑΡΤΟΣΚΕΥΑΣΜΑΤΑ ΕΠΟΧΙΚΟΥ ΧΑΡΑΚΤΗΡΑ
ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

Αντώνης Κουβόπουλος

**ΤΕΙ ΚΑΛΑΜΑΤΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΡΓΙΚΩΝ ΠΡΟΙΟΝΤΩΝ
ΚΑΛΑΜΑΤΑ 2010**

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα πτυχιακή εργασία εκπονήθηκε στα εργαστήρια του Β΄ Τμήματος της Δ΄ Χημικής Υπηρεσίας του Γενικού Χημείου του Κράτους, τη χρονική περίοδο Νοεμβρίου 2009 - Ιανουαρίου 2010. Αντικείμενό της αποτελεί ο ποσοτικός προσδιορισμός συντηρητικών (σορβικό και προπιονικό οξύ) τα οποία χρησιμοποιούνται στα αρτοσκευάσματα εποχικού χαρακτήρα, και ειδικότερα της εποχής των γιορτών των Χριστουγέννων και της Πρωτοχρονιάς. Τα δείγματα που αναφέρονται, ήταν δείγματα προς ανάλυση, που είχαν σταλεί στο ΓΧΚ για ανάλυση από διάφορους φορείς του Δημοσίου.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Προϊστάμενο του Β΄ Τμήματος της Δ΄ Χημικής Υπηρεσίας, τον κ. Παναγιώτη Μαριολέα για όλη τη πολύτιμη συμβολή του στην εκπόνηση της πτυχιακής εργασίας. Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω τη Μαρίνα Γουμένου, τη Μαρία Αναστασιάδου και το Γιώργο Καρύγιαννη που με βοήθησαν με τις αναλύσεις, και τη χρήση των οργάνων, για να μπορέσω να ολοκληρώσω την πτυχιακή μου εργασία.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον καθηγητή μου, Δρ. Γιάννη Σαρηγιάννη, για την επιλογή του θέματος, τις συμβουλές του κατά την εκπόνησή της και γενικότερα τη βοήθεια που μου χάρισε καθ' όλη τη διάρκεια της πτυχιακής μου εργασίας.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ	2
ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ	3
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	5
Πλαίσιο εργασίας της Ε.Ε.....	5
Δειγματοληψία	7
Παραλαβή και διαχείριση δειγμάτων.....	7
2. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΣΟΡΒΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ.....	10
2.1 Εισαγωγή.....	10
2.2 Μέθοδος Προσδιορισμού του Σορβικού Οξέος.....	12
2.2.1 Αντιδραστήρια	12
2.2.2 Συσκευές.....	13
2.3 Πορεία της μεθόδου.....	14
2.3.1 Εκχύλιση του Σορβικού οξέος από το δείγμα.....	14
2.3.2 Προετοιμασία φιαλιδίων με δείγμα προς ένεση στο HPLC	16
2.4 Ανάλυση δείγματος με HPLC (High Performance Liquid Chromatography).....	18
2.4.1 Προετοιμασία του Υγρού Χρωματογράφου HPLC για την ανάλυση.....	18
2.4.3 Δημιουργία Sequence και έναρξη της ανάλυσης.....	20
2.4.4 Επεξεργασία των χρωματογραφημάτων.....	22
3. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΠΡΟΠΙΟΝΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ	24
3.1 Εισαγωγή.....	24
3.2. Αρχή της μεθόδου.....	26
3.2.1 Αντιδραστήρια	26
3.2.2 Συσκευές.....	27
3.3 Πορεία της μεθόδου.....	27

3.3.1 Προετοιμασία δείγματος για απόσταξη.....	28
3.3.2 Διαδικασία απόσταξης προπιονικού	29
3.3.3 Προετοιμασία του δείγματος για τον Αέριο Χρωματογράφο (GC)	32
3.4 Ανάλυση δείγματος με GC (Gas Chromatographer).....	33
3.4.1 Προετοιμασία του GC για την ανάλυση.....	33
3.4.2 Δημιουργία Sequence και έναρξη της ανάλυσης.	34
3.4.3 Επεξεργασία των χρωματογραφημάτων.....	35
4. ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ – ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	36

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το Σορβικό οξύ $C_6H_8O_2$, και το Προπionικό οξύ CH_3CH_2COOH , είναι δύο πρόσθετα τροφίμων που χρησιμοποιούνται ως συντηρητικά σε αρτοσκευάσματα κυρίως σε βιομηχανικό επίπεδο, χωρίς αυτό να σημαίνει ότι δε δύναται να χρησιμοποιηθούν και σε μικρότερες παραγωγές. Με τον όρο αρτοσκευάσματα ελογικού χαρακτήρα, αναφερόμαστε στα αρτοσκευάσματα που εμφανίζονται την εποχή των γιορτών των Χριστουγέννων – Πρωτοχρονιάς και Πάσχα. Λόγω της ποσότητας των αρτοσκευασμάτων που παράγονται τη περίοδο αυτή, ο έλεγχος που διεξάγεται δε μπορεί να είναι συνολικός αλλά είναι ενδεικτικός και οδηγεί σε αποτελέσματα – συμπεράσματα σχετικά με την κατάσταση στην αγορά σχετικά με τη νόμιμη χρήση ή μη των συντηρητικών.

Ορισμός των προσθέτων τροφίμων σύμφωνα με την EFSA (European Food Safety Authority)

Πρόσθετα τροφίμων είναι ουσίες που προστίθενται εσκεμμένα στα τρόφιμα, με σκοπό την επίτευξη συγκεκριμένων τεχνολογικών λειτουργιών, όπως για παράδειγμα χρώση, γλυκιά γεύση, βοήθεια στη συντήρηση. Όλα τα πρόσθετα αναγνωρίζονται από το γράμμα E, συνοδευόμενο από έναν αριθμό. Τα πρόσθετα των τροφίμων αναφέρονται πάντα στη λίστα των συστατικών του τροφίμου που προστίθενται. Τα πρόσθετα διακρίνονται: Αντιοξειδωτικά, Γαλακτωματοποιητές, Συντηρητικά, Χρωστικές, Σταθεροποιητές, Γλυκαντικά. Όταν χρησιμοποιούνται πρόσθετα τροφίμων στην Ευρωπαϊκή Ένωση, είναι απαραίτητο να γράφεται η τεχνολογική τους χρήση για το παρών τρόφιμο (πχ συντηρητικό, χρωστική), η κωδική ονομασία του προσθέτου (πχ: E415) και το όνομά του.

Πλαίσιο εργασίας της Ε.Ε.

Σύμφωνα με την Ευρωπαϊκή νομοθεσία, τα πρόσθετα πρέπει να έχουν αναμφίβολα εγκριθεί σε Ευρωπαϊκό επίπεδο, πριν τη χρήση τους σε τρόφιμα. Πριν την έγκριση, πρέπει να υποβληθούν σε δοκιμές για την εκτίμηση της ασφάλειας του προσθέτου για την προβλεπόμενη χρήση του. Η νομοθεσία προβλέπει μια κατευθυντήρια οδηγία στο πλαίσιο εργασίας (Council Directive 89/107/EEC) η οποία καλύπτει γενικά το θέμα των προσθέτων. Υπάρχουν επίσης τρεις εξειδικευμένες κατευθυντήριες οδηγίες, για τρεις κατηγορίες προσθέτων - Χρωστικές, Γλυκαντικά, λοιπά πρόσθετα τροφίμων. Σε αυτές βρίσκεται λίστα με τα επιτρεπόμενα πρόσθετα, και τους όρους χρήσης τους. Όλα τα επιτρεπόμενα πρόσθετα, πρέπει να είναι σύμφωνα με τα διαπιστευμένα κριτήρια καθαρότητας, τα οποία υπόκεινται σε άλλες 3 κατευθυντήριες οδηγίες.

Στην Ευρωπαϊκή νομοθεσία, πρόσθετο τροφίμου ορίζεται "Οποιαδήποτε ουσία δεν καταναλώνεται αυτούσια ως τρόφιμο, δεν είναι χαρακτηριστικό/κανονικό συστατικό του τροφίμου, είτε έχει θρεπτική αξία είτε όχι, η εσκεμμένη προσθήκη του με τεχνολογικό σκοπό σε τρόφιμο, έχει ως αποτέλεσμα αυτό, ή τα παραπροϊόντα του, να είναι μέλος των συστατικών του τροφίμου."

Ο Ρόλος της EFSA (European Food Safety Authority)

Η EFSA έχει τρεις βασικές δραστηριότητες στον τομέα των προσθέτων των τροφίμων.

-Διεξαγωγή αποτιμήσεων ασφαλείας για τα νέα πρόσθετα, προτού επιτραπεί η χρήση τους στην Ευρωπαϊκή Ένωση.

-Να απαντάει σε αιτήσεις της Ευρωπαϊκής κοινότητας για επανεξέταση της καταλληλότητας ενός προσθέτου, βασιζόμενη σε νέες επιστημονικές έρευνες, ή άλλες παραμέτρους.

-Να διεξάγει συστηματική επανεκτίμηση όλων των επιτρεπόμενων προσθέτων της Ε.Ε.

Η δουλειά αυτή διεξάγεται από το ANS (Panel on Food Additives and Nutrient Sources Added to Food) Η εκτίμηση ασφαλείας που διεξάγει το ANS, περιλαμβάνει την επανεξέταση όλων των έγκυρων επιστημονικών συγγραμμάτων, όσων αφορά την τοξικότητα του προσθέτου, περιλαμβανομένης της γονοτοξικότητας, καθώς και τις ευρύτερες επιπτώσεις του στον ανθρώπινο οργανισμό. Από την επανεξέταση αυτή, το ANS βγάζει πόρισμα για την καταλληλότητα του προσθέτου.

Ελληνικός Κώδικας Τροφίμων και Ποτών

Διάκριση και γενικοί όροι χρησιμοποίησης πρόσθετων υλών

Η χρησιμοποίηση και το ποσοστό προσθήκης προσθέτων σε κάθε είδος τροφίμου καθορίζονται στα αντίστοιχα άρθρα του κώδικα που αφορούν τα διάφορα είδη τροφίμων, απαγορευμένης πάντως ρητά, κάθε χρησιμοποίησης προσθέτων με σκοπό τη συγκάλυψη μειονεκτημάτων ή ακαταλληλότητας κάποιου τροφίμου ή που μπορεί με οποιονδήποτε τρόπο να δημιουργήσει παραπλανητική εντύπωση για τη σύστασή του.

α) Κατά παρέκκλιση, είναι δυνατόν σύμφωνα με τη κοινοτική διαδικασία να επιτραπεί να εξακολουθήσει η απαγόρευση χρήσης ορισμένων προσθέτων στην παραγωγή ορισμένων ειδικών τροφίμων που θεωρούνται παραδοσιακά υπό τον όρο ότι η απαγόρευση αυτή ισχύει ήδη την 1η Ιανουαρίου 1992 και ότι επιτρέπεται η παραγωγή και πώληση όλων των τροφίμων που δεν θεωρούνται παραδοσιακά και συμφωνούν με τις σχετικές με τα πρόσθετα διατάξεις.

β) με την επιφύλαξη των κανονισμών ΕΟΚ 2081/92 και 2082/92 έχει σταλεί στην Επιτροπή κατάλογος τροφίμων που θεωρούνται παραδοσιακά και στα οποία απαγορεύεται η χρήση ορισμένων προσθέτων

γ) Οι απαγορεύσεις αυτές μπορεί να διατηρηθούν μέχρις ότου ληφθεί τελική απόφαση και δοθεί ο οριστικός κατάλογος και υπό την προϋπόθεση ότι τηρούνται οι γενικοί όροι που καθορίζονται στο εδάφιο (α)

Δειγματοληψία

Για να υπάρξει η ανάλυση του δείγματος, χρειάζεται να έχει γίνει δειγματοληψία.

Δειγματοληψία είναι η διαδικασία παραλαβής του προς εξέταση δείγματος, από τις αρμόδιες υπηρεσίες. Η Δειγματοληψία έχει συγκεκριμένο πρωτόκολλο που ακολουθείται, για να είναι όσων το δυνατό πιο έγκυρο και αντικειμενικό το αποτέλεσμα της εξέτασης. Η Δειγματοληψία στην Ελλάδα γίνεται βάσει των άρθρων 12 και 13 του Κώδικα τροφίμων και ποτών. (Περισσότερες πληροφορίες βλέπε άρθρα 12, 13 στο προσάρτημα)

Παραλαβή και διαχείριση δειγμάτων.

Τα δείγματα παραλαμβάνονται σφραγισμένα από τον ελεγκτικό φορέα και φέρουν μεταλλική σφραγίδα και καρτέλα με πληροφορίες σχετικές με το δείγμα, όπως αριθμό πρωτοκόλλου (του Ελεγκτικού φορέα) Είδος προϊόντος, προέλευση προϊόντος, παραλήπτη, μέσο μεταφοράς και το όνομα του Γεωπόνου ή τεχνολόγου που τέλεσε τη δειγματοληψία. Κατά τη παραλαβή τους, τους δίδεται επιπλέον καρτέλα με πληροφορίες σχετικά με την ημερομηνία παραλαβής τμήμα που θα πραγματοποιήσει την εξέταση και αριθμό πρωτοκόλλου(του χημείου).

Τα δείγματα Α είναι για απευθείας εξέταση και ανοίγονται τη στιγμή της εξέτασης. Τυχόν περίσσειμα αποθηκεύεται σε ειδικό αποθηκευτικό χώρο μέχρι την ημερομηνία καταστροφής. Τα δείγματα Β αποθηκεύονται για διάστημα 3 μηνών προς χρήση σε τυχόν επανεξέταση. Η αποθήκευση γίνεται σε ειδικό αποθηκευτικό χώρο, ανάλογα με την ημερομηνία παραλαβής, και το είδος του δείγματος ως προς τη μέθοδο συντήρησης. Μετά το πέρας των 3 μηνών, τα Α και Β δείγματα καταστρέφονται.

Στην παρούσα εργασία έγινε ανάλυση σε 30 δείγματα των οποίων η δειγματοληψία πραγματοποιήθηκε από τις 01-11-09 έως 29-01-10 σύμφωνα με τα άρθρα 12 και 13 του Ελληνικού κώδικα Τροφίμων και Ποτών. Τα δείγματα παραθέτονται στον Πίνακα 1.

Πίνακας 1. Είδος Δειγμάτων (Αρτοσκευάσματα και Γλυκίσματα) προς Ανάλυση για Προπιονικό Οξύ και Σορβικό οξύ

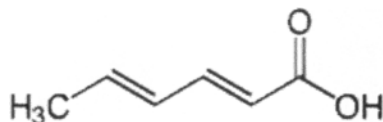
α/α	Είδος Δείγματος	Συσκευασμένο Δείγμα
1	Βασιλόπιτα	ΝΑΙ
2	Τσουρέκι	ΝΑΙ
3	Δίπλες	ΝΑΙ

4	Κουραμπιέδες βουτύρου (παραδοσιακοί)	ΝΑΙ
5	Τσουρέκι	ΝΑΙ
6	Τσουρέκι	ΝΑΙ
7	Δίπλες	ΟΧΙ (φούρνου)
8	Μελομακάρονα (παραδοσιακά)	ΝΑΙ
9	Βασιλόπιτα	ΝΑΙ
10	Μελομακάρονα	ΟΧΙ (φούρνου)
11	Κουραμπιέδες	ΟΧΙ (φούρνου)
12	Βασιλόπιτα	ΝΑΙ
13	Κουραμπιέδες	ΝΑΙ
14	Τσουρέκι	ΝΑΙ
15	Μελομακάρονα	ΝΑΙ
16	Βασιλόπιτα	ΟΧΙ (φούρνου)
17	Κουραμπιέδες	ΝΑΙ
18	Μελομακάρονα	ΝΑΙ
19	Τσουρέκι	ΝΑΙ
20	Μελομακάρονα	ΝΑΙ
21	Τσουρέκι	ΝΑΙ
22	Τσουρέκι	ΝΑΙ
23	Μελομακάρονα	ΝΑΙ
24	Δίπλες	ΟΧΙ (φούρνου)
25	Μελομακάρονα	ΟΧΙ (φούρνου)
26	Κουραμπιέδες	ΝΑΙ
27	Μελομακάρονα	ΝΑΙ
28	Τσουρέκι	ΝΑΙ
29	Βασιλόπιτα	ΝΑΙ
30	Μελομακάρονα (παραδοσιακά)	ΝΑΙ

- *Με τον όρο συσκευασμένα, αναφέρονται τα δείγματα, που έχουν υποστεί συσκευασία και προέρχονται από βιοτεχνίες παραγωγής και τροφοδοσίας αρτοποιημάτων.*
- *Με τον όρο χύμα, αναφέρονται τα δείγματα που προέρχονται από τοπικούς φούρνους.*
- *Ο όρος παραδοσιακά αναφέρεται σε συσκευασμένα προϊόντα τα οποία ανέφεραν στη συσκευασία τους την ένδειξη «παραδοσιακό»*

2. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΣΟΡΒΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ

2.1 Εισαγωγή



Το **σορβικό οξύ**, $C_6H_8O_2$, είναι ένα φυσικό οργανικό οξύ που κατατάσσεται στα ακόρεστα λιπαρά οξέα. Παράγεται στη φύση από τους καρπούς του δέντρου σουρβία (*Sorbus Aucuparia*) απ' όπου προέρχεται και το όνομά του. Εμποδίζει κυρίως την ανάπτυξη μυκήτων και ζυμομυκήτων σε $pH < 6,5$ αλλά έχει μικρή δράση κατά των βακτηριδίων. Είναι ιδανικό για τη συντήρηση ορισμένων τυριών διότι επιτρέπει τη δράση των γαλακτικών βακτηριδίων κατά τη ζύμωση. Επίσης, επιτρέπεται σε οινολογικές πρακτικές (οινοποίηση). Σε υψηλές θερμοκρασίες διασπάται. Θεωρείται ασφαλές (χαμηλή τοξικότητα) στις συγκεντρώσεις που λαμβάνεται ως πρόσθετο τροφίμων, επειδή μεταβάλλεται με τρόπο ανάλογο του μεταβολισμού παρόμοιων λιπαρών οξέων. Χρόνιες μελέτες έδειξαν ότι το σορβικό οξύ (E200) και τα άλατα αυτού (σορβικό κάλιο, E202, και σορβικό ασβέστιο, E203) έχουν πολύ χαμηλή τοξικότητα στον άνθρωπο ενώ δεν έχει αποδειχτεί μέχρι σήμερα καμιά καρκινογόνος δράση (Walker 1990). Δεν έχουν αναφερθεί μεταλλαξιγόνες ή τερατογόνες δράσεις *in vivo* ή *in vitro* (Ferrand et al, 2000). Στους ανθρώπους έχουν αναφερθεί πολύ λίγες περιπτώσεις ψευδοαλλεργιών και πρόκλησης κνησμού σε υψηλές δοσοληψίες. Σε ακραίες συνθήκες (υψηλές συγκεντρώσεις και θερμοκρασίες) επεξεργασίας των τροφών αντιδρά με άλλα μόρια (πχ νιτροενώσεις) (Pérez-Prior MT, et al 2009) και να σχηματίζει μεταλλαξιγόνες ενώσεις αλλά κάτι τέτοιο δεν έχει αναφερθεί μέχρι σήμερα (Mrountoukas et al 2008).

Τοξικότητα του Σορβικού οξέος

Το Σορβικό οξύ, στην καθαρή του μορφή ως σκόνη ερεθίζει τα μάτια ενώ σε συγκέντρωση στα τρόφιμα άνω των 2000mg/kg (ppm) προκαλεί ερεθισμό στο δέρμα και στοματικό ερεθισμό. Στην περίπτωση εισπνοής ερεθίζει την αναπνευστική οδό.

Πίνακας 2.1 Στοιχεία Σορβικού Οξέος

Άρθρο 36 κώδικα τροφίμων		E200 Σορβικό οξύ
Ορισμός		
Χημική ονομασία	Σορβικό οξύ (Trans-trans-2,4 εξαδιενικό οξύ)	
Αριθ. EINECS	203-768-7	
Χημικός τύπος	C ₆ H ₈ O ₂	
Μοριακό βάρος	112,12	
Δοκιμασία	Περιεκτικότητα τουλάχιστον 99% επί ξηρού.	
Περιγραφή	Άχρωμες βελόνες ή λευκή ρέουσα σκόνη με ελαφρά χαρακτηριστική οσμή, της οποίας το χρώμα δεν μεταβάλλεται μετά από θέρμανση στους 150°C επί 90 λεπτά	
Ταυτοποίηση		
A. Πεδίο τιμών Σ.Τ.	133°C έως 135° μετά από ξήρανση υπό κενό επί 4 ώρες σε ξηραντήρα θεικού οξέος	
B. Φασματομετρία	Μέγιστο απορρόφησης διαλύματος σορβικού οξέος σε ισοπροπανόλη (1:4.000.000) σε μήκος κύματος 254 +/- 2nm	
Γ. Θετική δοκιμή ανίχνευσης δ.δ.	80°C	
Δ. Σημείο εξάχνωσης		
Καθαρότητα		
Υγρασία	0,5% κατ' ανώτατο όριο (μέθοδος Karl Fischer)	
Θειική τέφρα	0,2% κατ' ανώτατο όριο	
Αλδεϋδες	0,1% κατ' ανώτατο όριο (ως Φορμαλδεϋδη)	
Αρσενικό	3 mg/kg κατ' ανώτατο όριο	
Μόλυβδος	5 mg/kg κατ' ανώτατο όριο	
Υδράργυρος	1mg/kg κατ' ανώτατο όριο	
Βαρέα μέταλλα (ως Pb)	10 mg/kg κατ' ανώτατο όριο	

Περισσότερα στοιχεία αναφέρονται στο MSDS το οποίο είναι στο προσάρτημα

2.2 Μέθοδος Προσδιορισμού του Σορβικού Οξέος

Η μέθοδος που χρησιμοποιείται στο ΓΧΚ καθώς και σε όλα τα διαπιστευμένα εργαστήρια, για την προσδιορισμό του Σορβικού, είναι η μέθοδος προσδιορισμού Σορβικού και Βενζοϊκού, με τα αρχικά **SaBa**. (Sorbic Acid - Benzoic Acid). Στην παρούσα ανάλυση, δεν μας ενδιαφέρει το Βενζοϊκό διότι δεν χρησιμοποιείται στα αρτοσκευάσματα. Τα πρόσθετα - συντηρητικά εκχυλίζονται με μίγμα ρυθμιστικού διαλύματος οξικού αμμωνίου - οξικού οξέος και μεθανόλης. Τυχόν αδιάλυτα συστατικά απομακρύνονται με καταβύθιση και διήθηση. Ο ποσοτικός προσδιορισμός επιτυγχάνεται με διαχωρισμό σε συσκευή Υγρής Χρωματογραφίας Υψηλής Επίδοσης HPLC (**High Performance Liquid Chromatography**) εφοδιασμένης με ανιχνευτή υπεριώδους με διάταξη συστοιχίας διόδων (**UV – Photo Diode Array**).

Η ουσία ταυτοποιείται με βάση το χρόνο κατακράτησης (*retention time*) και το φάσμα της στο Υπεριώδες. Ο ποσοτικός προσδιορισμός γίνεται με τη μέθοδο εσωτερικού προτύπου.

2.2.1 Αντιδραστήρια

Τα αντιδραστήρια εκχύλισης είναι καθαρότητας *pro analysis* εκτός από αυτά που χρησιμοποιούνται στην κινητή φάση της υγρής χρωματογραφίας τα οποία είναι υψηλότερης καθαρότητας (HPLC grade).

- Οξικό οξύ (CH_3COOH)
- Μεθανόλη (CH_3OH)
- Νερό δισπεσταγμένο ή υπερκάθαρο
- Διάλυμα οξικού αμμωνίου ($\text{CH}_3\text{COONH}_4$) 0.01 M (σε υπερκαθαρό νερό) Το διάλυμα διηθείται από ειδικό φίλτρο μεμβράνης (0,45 μm) πριν τη χρήση του.
- Ρυθμιστικό διάλυμα οξικού αμμωνίου - οξικού οξέος: 1000 μέρη οξικού αμμωνίου αναμειγνύονται με 1.2 μέρη παγομορφου οξικού οξέος. Διατηρείται σε θερμοκρασία μέχρι 30° επί ένα μήνα.
- Διαλύτης εκχύλισης: 60 μέρη του όγκου του διαλύματος διάλυμα οξικού αμμωνίου/ οξικού οξέος αναμειγνύονται με 40 μέρη όγκου μεθανόλης.
- Κινητή φάση για την υγρή χρωματογραφία: 50 μέρη όγκου του διαλύματος του οξικού αμμωνίου αναμειγνύονται με 40 μέρη όγκου μεθανόλης (HPLC) Πριν την ανάμιξη τα διαλύματα διηθούνται από ειδικό φίλτρο μεμβράνης (0,45 μm). Το pH του μίγματος ρυθμίζεται με τη προσθήκη οξικού οξέως και με τη βοήθεια pHμετρου σε pH 4.5 έως 4.6. Διατηρείται σε θερμοκρασία 30° επί ένα μήνα.
- Stock πρότυπο διάλυμα Βενζοϊκού οξέος 500ppm: 0,125g Βενζοϊκού οξέος, ζυγισμένα με ακρίβεια ± 0.0001 mg διαλύονται σε ογκομετρική φιάλη των 250 ml με διαλύτη νερό/μεθανόλη 60:40 (v/v) Διατηρείται σε θερμοκρασία μέχρι 15° για 6 μήνες.

- Stock πρότυπο διάλυμα Σορβικού Οξέος 500ppm: 0,125g Σορβικού οξέος, ζυγισμένα με ακρίβεια ± 0.0001 mg διαλύονται σε ογκομετρική φιάλη των 250 ml με διαλύτη νερό/μεθανόλη 60:40 (v/v) Διατηρείται σε θερμοκρασία μέχρι 15° για 6 μήνες.
- Παρασκευή πρότυπων διαλυμάτων εργασίας: Με χρήση γυάλινων σιφωνίων παραλαμβάνονται 2, 4, 6, 8 και 10 ml από το stock Βενζοϊκού οξέος και αραιώνονται μέχρι τη χαραγή σε ογκομετρική φιάλη των 100 ml με διαλύτη νερό/μεθανόλη 60/40 (v/v) Με αντίστοιχο τρόπο παρασκευάζονται τα πρότυπα διαλύματα σορβικού οξέος από το πρότυπο διάλυμα σορβικού οξέος. Τα πρότυπα των 10, 30 και 50 mg/l διηθούνται με μικροφίλτρα σε vials ώστε να χρησιμοποιούνται για τη κατασκευή πρότυπης καμπύλης κάθε ημέρας εργασίας. Φυλάσσονται στο ψυγείο για 6 μήνες.
- Διάλυμα Carpez I: Διάλυμα σιδηροκυανούχου καλίου σε νερό $c(K_4[Fe_2(CN)_6])= 150$ g/l Διατηρείται σε θερμοκρασία μέχρι 30° επί ένα χρόνο.
- Διάλυμα Carpez II: Διάλυμα Θεικού ψευδάργυρου σε νερό $c(ZnSO_4)=300$ g/l Διατηρείται σε θερμοκρασία μέχρι 30° επί ένα χρόνο.

2.2.2 Συσκευές

- Διακριβωμένοι ζυγοί 2 και 4 δεκαδικών ψηφίων
- Υγρός Χρωματογράφος Υψηλής Επίδοσης HPLC με τα επόμενα χαρακτηριστικά:
- Αντλία SHIMATZU LC-10AD, Ανιχνευτής (UV – PDA), Δειγματολήπτης SHIMATZU SIL-10AD, Φούρνος στήλης SHIMATZU CTO 10AS 10AD. Λογισμικό CLASS-VP
- Στήλη C-18 250mm, 4.6mm
- Ηλεκτρικό μίξερ
- Συσκευή ταχείας διήθησης με κενό
- Πτυχωτοί ηθμοί
- Φίλτρο μεμβράνης 0,45μm
- Φίλτρα μίας χρήσεως 0,45μm
- Σύριγγα 5 ή 10 ml προσαρμοζόμενη στα φίλτρα με βελόνα εκροής
- Ογκομετρικές φιάλες των 50 και 100 ml κατηγορίας A
- Σιφόνια 1, 2, 5, και 10 ml κατηγορίας A

- Φιαλίδια αυτόματου δειγματολήπτη διαστάσεων 12X32 mm χωρητικότητας 1 ml με septum από Teflon και βιδωτό καπάκι κατάλληλα για το δειγματολήπτη.
- Συνήθης εργαστηριακός εξοπλισμός.

2.3 Πορεία της μεθόδου

Στη παρούσα διαπιστευμένη μέθοδο, η κάθε ανάλυση (που μπορεί να περιέχει από ένα μέχρι X δείγματα) συνοδεύεται από ένα Quality Control Sample (QCs). Το QC είναι δείγμα, γνωστής συγκέντρωσης σε σορβικό και βενζοϊκό οξύ, το οποίο είναι εξακριβωμένο μετά από σχολαστικές μετρήσεις, ότι δίνει επαναλήψιμα και αξιόπιστα αποτελέσματα. Αντιμετωπίζεται ως δείγμα, και ακολουθεί ολόκληρη τη πορεία της μεθόδου, από τη ζύγιση έως και την ανάλυση με HPLC. Η χρησιμότητα του είναι για να επικυρώνει ότι η όλη πορεία του πειράματος έγινε ομαλά, όταν δίνει τα αναμενόμενα αποτελέσματα. Στο παρόν πείραμα θα ακολουθήσουμε την πορεία 5 δειγμάτων (Δείγμα 1 έως 5), εκ των οποίων θα γίνεται διεξοδική επεξήγηση της μεθόδου, για το δείγμα 1.

2.3.1 Εκχύλιση του Σορβικού οξέος από το δείγμα

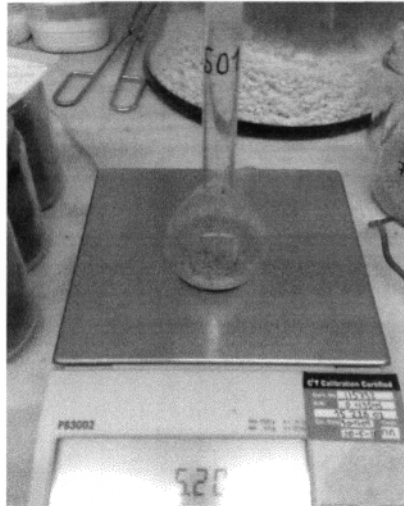
Γίνεται ομογενοποίηση του δείγματος 1 (Βασιλόπιτα), ώστε να είναι σε μορφή λεπτών νιφάδων (Εικόνα 1). Η ομογενοποίηση έγινε με ένα απλό ηλεκτρικό μίξερ. Χρησιμοποιήθηκε ολόκληρο το δείγμα τμηματικά, και στη συνέχεια αναδεύτηκε πολύ καλά, ώστε να επιτευχθεί η μέγιστη δυνατή ομογενοποίηση.



Εικόνα 2.1. Ανάδευση του δείγματος και ομογενοποίηση όλης της ποσότητας

Σε φιάλη των 100ml, ζυγίζεται $5 \pm 1g$ του ομογενοποιημένου δείγματος, σε ζυγό με ακρίβεια 0,01g (Εικόνα 2) Για το παρόν δείγμα η ζύγιση ήταν 5,20g. Σημειώνεται η τιμή τη ζύγισης σε φύλλο εργασίας. Επίσης, σημειώνεται στο πάνω μέρος της φιάλης με μαρκαδόρο ο αριθμός του

δείγματος. Σε άλλη φιάλη των 100 ml προσθέτονται 5ml ακριβώς, με σιφόνι ακριβείας (Α ή καλύτερο) από το QC's μας. Το υγρό θα πρέπει να έχει τη θερμοκρασία δωματίου.



Εικόνα 2.2. Ζύγιση του δείγματος

Στη συνέχεια προσθέτονται στη φιάλη περίπου 20 ml από το διαλύτη εκχύλισης και αναδεύεται ελαφρώς. 1ml του διαλύματος carez 1 προστίθεται και αναδεύεται. Ακολουθεί η προσθήκη 1 ml του διαλύματος carez 2, ανάδευση και συμπλήρωση με το διαλύτη εκχύλισης μέχρι τη χαραγή (Εικόνα 3). Το παρόν QC's δεν χρειάζεται την προσθήκη carez 1 και carez 2, οπότε απλά συμπληρώνεται μέχρι τη χαραγή με το διαλύτη εκχύλισης και αναδεύεται σε υδατόλουτρο με υπέρηχους για 15min. Ο χρόνος αυτός είναι αρκετός για να γίνει η εκχύλιση του σορβικού από το δείγμα μας. Ο σχηματισμός συσσωματωμάτων του δείγματος μέσα στη φιάλη μπορεί να προκαλέσει εσφαλμένη εκχύλιση ολόκληρης της ποσότητας του σορβικού από το δείγμα μας. Σε περίπτωση που υπάρχει αμφιβολία για την εκχύλιση, το ήδη υπάρχον ομογενοποίηση, πρέπει να πρέπει να επανομογενοποιηθεί σε ακόμα μικρότερους κόκκους, και να επαναληφθεί η διαδικασία με το νέο ομογενοποίηση. Το QC's τοποθετείται επίσης στους υπέρηχους.



Εικόνα 2.3. Προσθήκη διαλύτη εκχύλισης

Μετά τους υπέρηχους, το δείγμα είναι έτοιμο για τη διήθηση. Σε κωνική φιάλη των 150 ml τοποθετείται χωνί και χάρτινος πτυχωτός ηθμός. Πάνω στην κωνική φιάλη σημειώνεται με μαρκαδόρο ο αριθμός του δείγματος. Γίνεται καλή ανάδευση της φιάλης, και απορρίπτονται περίπου 5-10 ml στον ηθμό. Περιμένουμε να διηθηθούν, ανακινούμε καλά την κωνική και αποχύνεται το περιεχόμενο στα απόβλητα. Αυτό γίνεται για να γίνει μια πλύση της κωνικής με το δείγμα μας, για να αποφευχθεί οποιαδήποτε μεταφορά από παλαιότερο δείγμα σε περίπτωση κακής πλύσης της κωνικής. Στη συνέχεια, ανακινείται η φιάλη και προστίθενται άλλα 30-40 ml του δείγματος στον ηθμό μέχρι τη διήθηση αυτών. Η ίδια διαδικασία εφαρμόζεται και στο QC's.



Εικόνα 2.4. Διήθηση του ομογενοποιημένου

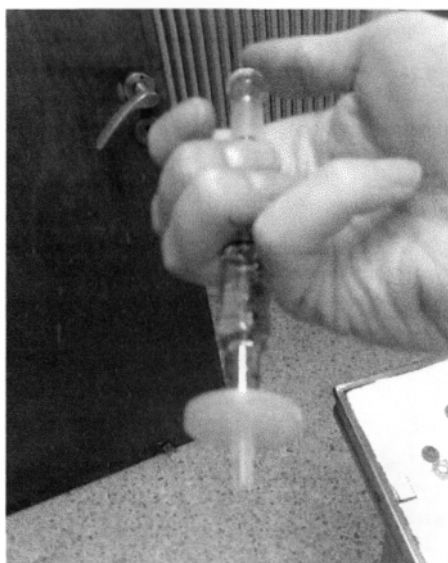
2.3.2 Προετοιμασία φιαλιδίων με δείγμα προς ένεση στο HPLC

Στη συνέχεια, με ειδική γυάλινη σύριγγα των 5 ml, αφαιρείται το δείγμα μέσα από την κωνική αφού πρώτα ξεπλυθεί η σύριγγα με απιονισμένο νερό.



Εικόνα 2.5. Μεταφορά του δείγματος

Στη συνέχεια προσεκτικά λαμβάνονται περίπου 1-2 ml από τη κωνική και ξεπλένεται η σύριγγα με το δείγμα μας. Η έκπλυση επαναλαμβάνεται άλλες δύο φορές. Αυτό γίνεται για να διασφαλιστεί η καθαρότητα της σύριγγας και να μην υπάρξει μεταφορά σορβικού μεταξύ των δειγμάτων. Με την καθαρή σύριγγα λαμβάνονται 5ml από τη κωνική.



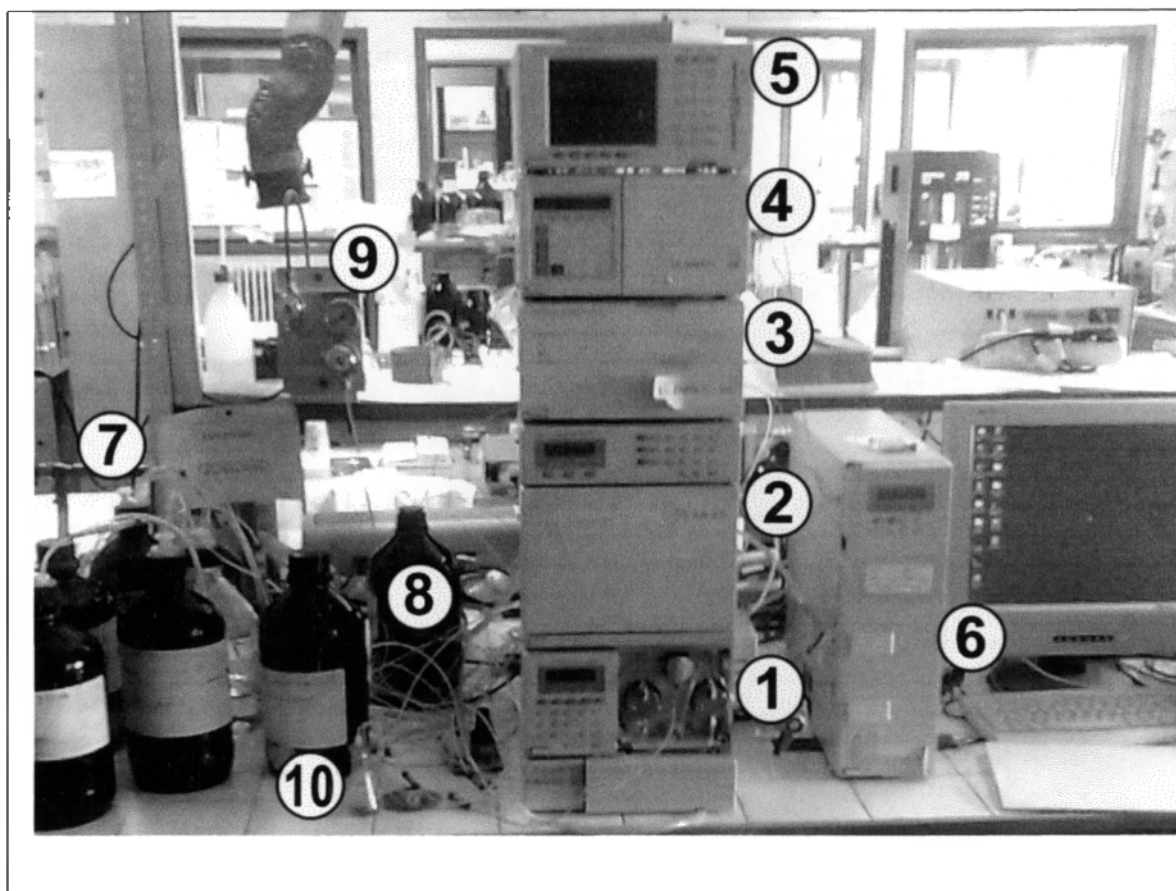
Εικόνα 2.6

Στη συνέχεια, ενώ το δείγμα μας βρίσκεται στη σύριγγα, προστίθεται το ειδικό φίλτρο μίας χρήσεως 0,45μm. Πιέζεται ελαφρά να φύγουν οι πρώτες 2-3 σταγόνες και στη συνέχεια τοποθετείται το φίλτρο στο στόμιο του φιαλιδίου για HPLC και πιέζεται ελαφρά το έμβολο ώστε να γεμίσει το φιαλίδιο.



Εικόνα 2.7

Αφού γεμίσει το φιαλίδιο, πωματίζεται με το ειδικό καπάκι με μεμβράνη και γράφεται πάνω ο αριθμός του δείγματος. Η διαδικασία επαναλαμβάνεται με όλα τα προς ανάλυση δείγματα με τελευταίο όλων το QC's. Το φιαλίδιο με το δείγμα είναι έτοιμο για να εισαχθεί στον χρωματογράφο για τη συνέχεια της ανάλυσης.



Εικόνα 2.8. Επιμέρους τμήματα HPLC: 1. Αντλία (Pumps Liquid Chromatography), 2. Αυτόματος Δειγματολήπτης (Auto Sampler), 3. Ανιχνευτής (UV- PDA), 4. Ανιχνευτής RI (Refractive index), 5. Κονσόλα χειρισμού του συστήματος (System Controller), 6. Φούρνος στήλης (Column Oven), 7. Φιάλες κινητής φάσης, έκπλυσης της στήλης, 8. Φιάλη αποβλήτων, 9. Ροόμετρο αερίου He, 10. Νερό έκπλυσης της αντλίας

2.4 Ανάλυση δείγματος με HPLC (High Performance Liquid Chromatography)

2.4.1 Προετοιμασία του Υγρού Χρωματογράφου HPLC για την ανάλυση

Στην παράγραφο αυτή περιγράφονται συνοπτικά τα βήματα για την προετοιμασία του χρωματογράφου για την ανάλυση του σορβικού οξέος



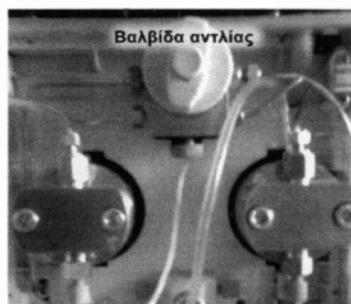
Εικόνα 2.9

1) Πριν ξεκινήσει η ανάλυση του δείγματος η κινητή φάση διηθείται με τη χρήση συσκευής ταχείας διήθησης με κενό και τη βοήθεια φίλτρων 0,45 μm μιας χρήσεως. Σκοπός της διήθησης, είναι να γίνει καθαρισμός της κινητής φάσης από κρυστάλλους που έχουν δημιουργηθεί, οι οποίοι δύναται να βλάψουν τη στήλη της HPLC κατά της είσοδό της κινητής φάσης σε αυτή.

2) Απαέρωση της κινητής φάσης για 20 min με τη βοήθεια ηλίου He (αέριο) προκειμένου να απομακρυνθεί ο εγκλωβισμένος αέρας εντός της κινητής φάσης.

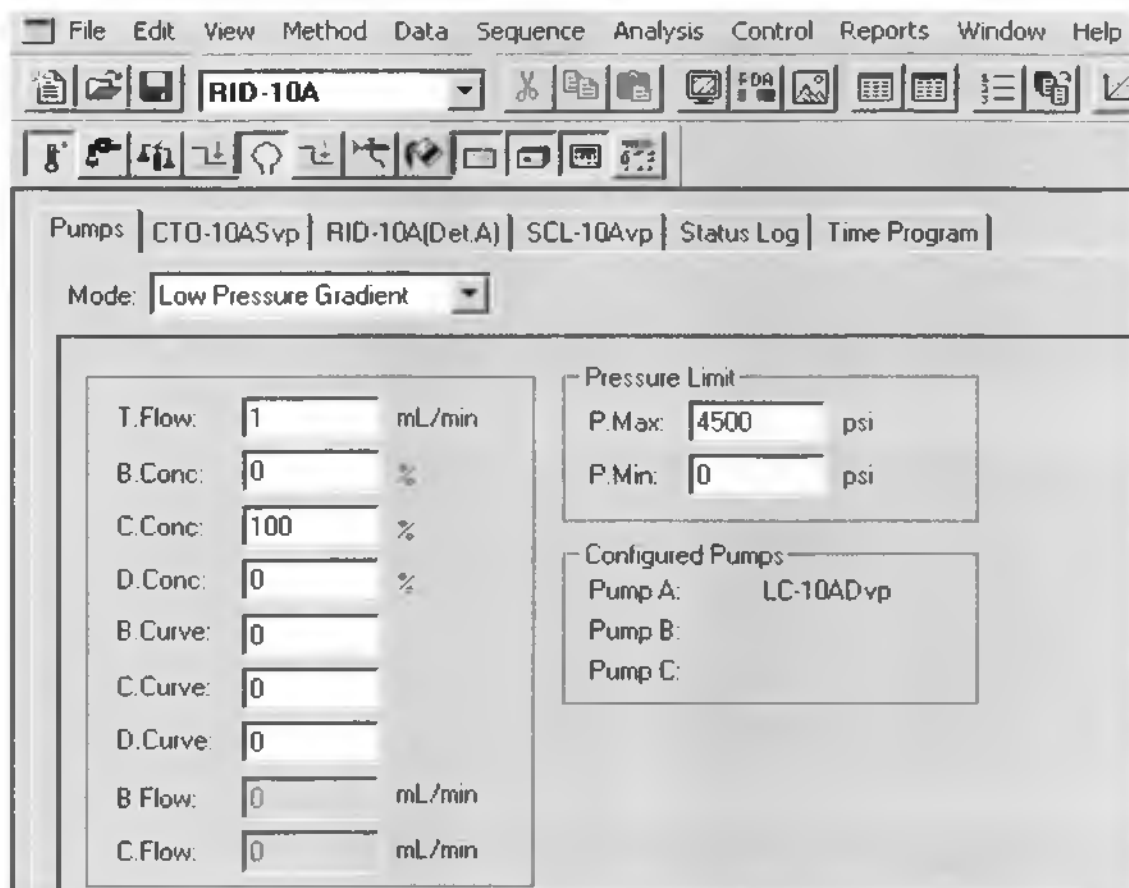
3) Άνοιγμα του χρωματογράφου. Όταν τα επιμέρους τμήματα είναι έτοιμα, (ένδειξη *ready* στην οθόνη τους) τίθεται σε λειτουργία ο υπολογιστής με τον οποίο είναι συνδεδεμένο το σύστημα.

4) Διαδικασία Purge.



Εικόνα 2.10

Στον υπολογιστή που είναι συνδεδεμένος με το σύστημα, τίθεται σε λειτουργία το λογισμικό λειτουργίας του υγρού χρωματογράφου. Επιλέγεται το όργανο στο οποίο θα εργαστούμε (Instrument 1). Επιλέγεται η εργασία online, δηλαδή συνδεδεμένοι με το χρωματογράφο. Αφού ενεργοποιηθεί η κατάλληλη μέθοδος(πχ. Μέθοδος SaBa), μπορεί να ξεκινήσει η διαδικασία Purge με την οποία όλα τα κανάλια γεμίζουν με τους κατάλληλους διαλύτες έκλουσης και απομακρύνονται οι φυσαλίδες από το σύστημα.



Εικόνα 2.11. Εικόνα από το λογισμικό που ελέγχει τον υγρό χρωματογράφο

2.4.3 Δημιουργία Sequence και έναρξη της ανάλυσης

Η διαδικασία της ανάλυσης των επιμέρους δειγμάτων γίνεται αυτόματα μέσω της δημιουργίας **Sequence** (αλληλουχίας) στο λογισμικό του HPLC, όπου στη συνέχεια μέσω του αυτόματου δειγματολήπτη γίνεται η λήψη των προς εξέταση δειγμάτων.

Ορίζεται ως αρχικό φιαλίδιο (Start vial) το 1, και το τελικό φιαλίδιο (end vial) καθορίζεται ανάλογα με το πόσα δείγματα έχουμε προς ανάλυση. Δημιουργείται ένας φάκελος (Data folder) με την ημερομηνία ανάλυσης, για να μπορεί να γίνει ανασκόπηση οποιαδήποτε στιγμή. Το όνομα των επιμέρους αρχείων για κάθε δείγμα ξεχωριστά, έχει τον κωδικό του κατ' εξέταση δείγματος. Η Sequence αποθηκεύεται με όνομα την ημερομηνία του έλαβε χώρα η ανάλυση, καθώς και το είδος της ανάλυσης. (πχ Saba 2009-12-18).

Στις πρώτες 3 θέσεις βρίσκονται τα τρία πρότυπα (Standard) διαλύματα std1, std3, std5, που είναι τα πρότυπα διαλύματα εργασίας Σορβικού και βενζοϊκού οξέος των 10, 30 και 50 mg/l αντίστοιχα. Αυτά χρησιμεύουν για τη δημιουργία της πρότυπης καμπύλης, που είναι απαραίτητη για την ανάλυση των αποτελεσμάτων. Στη θέση 4 της Sequence βρίσκεται το QCs το οποίο

πάντα προηγείται των δειγμάτων. Παρακάτω ακολουθεί η Sequence στην οποία έγινε η ανάλυση του δείγματος 1 καθώς και των δειγμάτων 2,3,4,5.

Run #	Status	Run Type	Level	Vial	Reps	Volume	Sample ID	Method
1		Unknown	0	1	1	20	std 1 SaBa 2010-03-18	SaBa 2010-03-02 met
2		Unknown	0	2	1	20	std 3 SaBa 2010-03-18	SaBa 2010-03-02 met
3		Unknown	0	3	1	20	std 5 SaBa 2010-03-18	SaBa 2010-03-02 met
4		Unknown	0	4	1	20	c-c SaBa 2010-03-18	SaBa 2010-03-02 met
5		Unknown	0	5	1	20		SaBa 2010-03-02 met
6		Unknown	0	6	1	20		SaBa 2010-03-02 met
7		Unknown	0	7	1	20		SaBa 2010-03-02 met
8		Unknown	0	8	1	20		SaBa 2010-03-02 met
9		Unknown	0	9	1	20		SaBa 2010-03-02 met
10		Unknown	0	10	1	20		SaBa 2010-03-02 met
11		Unknown	0	11	1	20		SaBa 2010-03-02 met
12		Unknown	0	3	1	20	std 5 SaBa 2010-03-18	SaBa 2010-03-02 met
13		Unknown	0	20	1	20	Wash C	hods\SaBa methods\2010\WASH C met
14		Unknown	0	20	1	20	Wash D	hods\SaBa methods\2010\wash D met
15		Shutdown	0	20	1	20	Stop	s4S-sBa methods\2010\STOP SaBa met
16								

Filename	Sample Amt.	ISTD Amt.	Multiplier
std 1 SaBa 2010-03-18	1	1	1
std 3 SaBa 2010-03-18	1	1	1
std 5 SaBa 2010-03-18	1	1	1
c-c SaBa 2010-03-18	5	1	100
	5.20	1	100
	5.08	1	100
	5.01	1	100
	5.12	1	100
	5.01	1	100
	5.06	1	100
	5.06	1	100
std 5 SaBa 2010-03-18	1	1	1
Wash C	1	1	1
Wash D	1	1	1
Stop	1	1	1

Εικόνα 2.12 Εικόνα από την αλληλουχία (sequence) ανάλυσης των δειγμάτων

Στο Run 5 είναι το δείγμα 1.

Στο Run 6 είναι το δείγμα 2, και αντίστοιχα μέχρι το run 9, είναι το δείγμα 5.

Τα Run 10 και 11, είναι δείγματα που εξετάστηκαν στην ίδια sequence για ύπαρξη Σορβικού ή Βενζοϊκού, αλλά δεν υπάρχουν στην κατηγορία των αρτοσκευασμάτων.

Στο Run 12 Γίνεται επανάληψη του std 5, για να υπάρξει επιβεβαίωση μέσω αυτού, ότι η sequence έτρεξε κανονικά μέχρι το τέλος, και δεν υπήρξε πρόβλημα στον ανιχνευτή.

Στο Run 13 και 14, γίνεται πλύσιμο της στήλης με το διαλύτη έκπλυσης της στήλης.

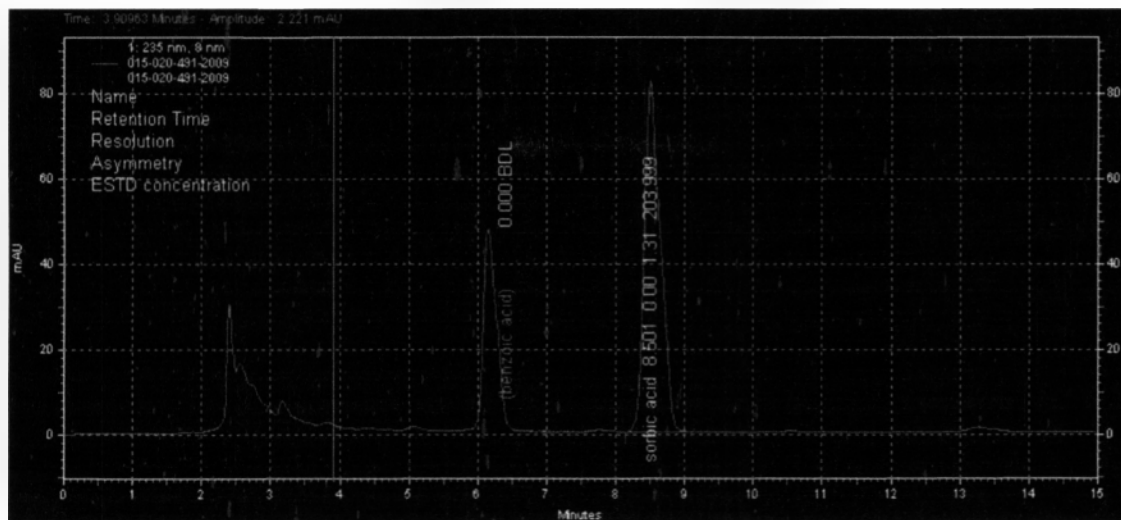
Στο run 15 σταματάει η sequence.

Αναλυτικότερα κάθε δείγμα εγχύεται στο σύστημα μόνο μια φορά (**Reps 1**), ο όγκος του δείγματος που εγχύεται στη στήλη είναι 20 µL. Το λογισμικό είναι ρυθμισμένο ώστε να γίνονται άμεσα οι υπολογισμοί από το σύστημα. Όταν βεβαιωθούμε πως όλες οι παράμετροι της Sequence είναι σωστοί, πατάμε την εντολή Sequence Run, και ξεκινά η διαδικασία της ανάλυσης. Η ανάλυση από εκείνο το σημείο γίνεται αυτόματα χωρίς να χρειάζεται οποιαδήποτε ενέργεια από μέρους μας.

2.4.4 Επεξεργασία των χρωματογραφημάτων

Μετά το πέρας της ανάλυσης, τα χρωματογραφήματα φαίνονται αναλυτικά και εξάγονται τα συμπεράσματα για να συνταχθεί το πρωτόκολλο ανάλυσης. Η συνέχεια της ανάλυσης λαμβάνει χώρα μόνο στον υπολογιστή.

Πρώτα ελέγχονται τα πρότυπα 1,3,5. Με το άνοιγμα του χρωματογραφήματος, ελέγχονται η καμπύλη και ο χρόνος εμφάνισης των κορυφών του Βενζοϊκού και του Σορβικού. Αυτό γίνεται διότι ο χρόνος εμφάνισης της κάθε κορυφής, μπορεί να εμφανίζει μικρές διακυμάνσεις από ανάλυση σε ανάλυση (με τον όρο ανάλυση, εδώ αναφερόμαστε σε ολόκληρη sequence μιας ημέρας). Τα αποτελέσματα των προτύπων, ελέγχονται με βάση ήδη υπάρχουσες τιμές που αναγράφονται στο τετράδιο της συσκευής, και αν είναι εντός των αποδεκτών ορίων, μπορούν να θεωρηθούν αξιόπιστα. Στη συνέχεια, έχοντας από την ανάλυση των προτύπων τον χρόνο εμφάνισης των κορυφών, μπορεί να προσδιοριστεί η ύπαρξη ή μη Σορβικού οξέος στα δείγματα μας, με την επεξεργασία των χρωματογραφημάτων τους. Έπειτα γίνεται έλεγχος του QCs, και συγκρίνονται οι παρούσες τιμές με τα προηγούμενα αποτελέσματα. Παρακάτω φαίνεται συνοπτικά ο τρόπος ανάλυσης ενός δείγματος (Δείγμα 1), δεδομένου ότι έχουν ακολουθηθεί οι ανωτέρω παράμετροι. (έλεγχος std, QCs)



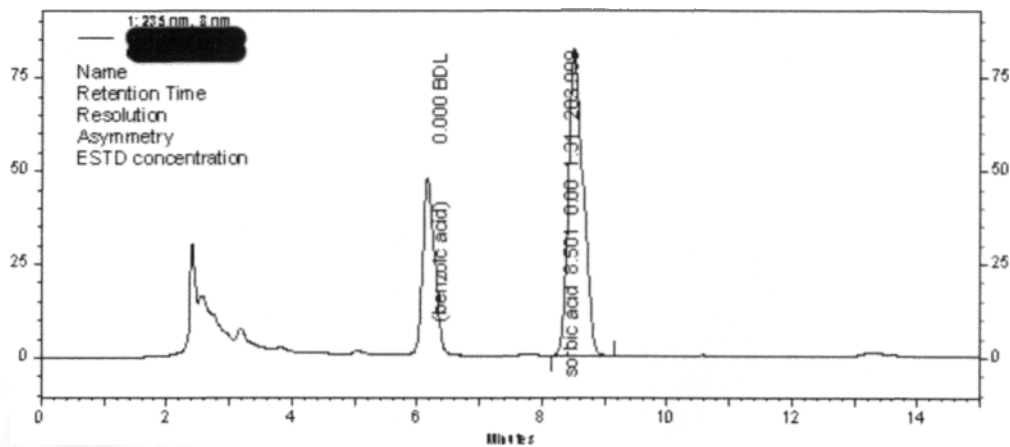
Εικόνα 2.13 Τυπικό Χρωματογράφημα προσδιορισμού Σορβικού και Βενζοϊκού Οξέος

Στο εικονιζόμενο χρωματογράφημα (Εικόνα 14), φαίνονται οι κορυφές τόσο του Σορβικού οξέος όσο και του βενζοϊκού οξέος. Η ποσοτικοποίηση του Σορβικού, γίνεται αυτόματα από το λογισμικό, εφόσον είναι φορτωμένη η συγκεκριμένη μέθοδος.

ΣΥΝΤΗΡΗΤΙΚΑ

C:\CLASS-VP\Data\SaBa data\SaBa data
C:\CLASS-VP-Methods\SaBa methods\SaBa methods

Vial : 5
Inj Volume : 20
Sequence : C:\CLASS-VP\Sequence\SaBa Seq\SaBa seq 2009\SaBa 2009-12-21.seq
Instrument 1 : Instrument 1
Ζύγιση : 5.20
Αραίωση : 100 φορές



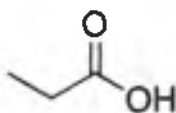
Name	Retention Time	Area	Height	ESTD concentration	Units
benzoic acid				0.00 BDL	ppm
sorbic acid	8.501	1330036	82131	204.00	ppm

Εικόνα 2.14 Τελική μορφή του χρωματογραφήματος και του αποτελέσματος της ανάλυσης

Εμφανίζονται όλες οι πληροφορίες που αφορούν το προς εξέταση δείγμα και είχαν εισαχθεί στο λογισμικό πριν ξεκινήσει η ανάλυση. (Vial, ζύγιση, αραίωση). Επίσης φαίνονται πληροφορίες σχετικά με το εμβαδό (area) και το ύψος της κορυφής (height) καθώς και το υπολογισθέν ποσό σορβικού οξέος σε ppm (mg/kg). **Στο Δείγμα 1, η συγκέντρωση είναι 204,00 ppm (mg/kg).**

3. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΠΡΟΠΙΟΝΙΚΟΥ ΟΞΕΟΣ

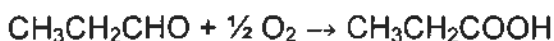
3.1 Εισαγωγή



Το προπιονικό οξύ είναι ένα καρβονικό οξύ με σύντακτικό τύπο $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COOH}$. Χρησιμοποιείται ως πρόσθετο τροφίμων, με τεχνολογική χρήση τη συντήρηση, και κωδικό E280. Στη βιομηχανία παρασκευάζεται κυρίως από την υδροκαρβοξυλίωση του αιθυλενίου χρησιμοποιώντας νικέλιο ως καταλύτη



Επίσης, παράγεται από την αερόβια οξείδωση της προπανάλης. Παρουσία ιόντων κοβαλτίου ή μαγγανίου η αντίδραση γίνεται άμεσα σε θερμοκρασία 40–50 °C



Κυρίως όμως παράγεται σαν παραπροϊόν της σύνθεσης του οξικού οξέος. Σήμερα ο μεγαλύτερος παραγωγός προπιονικού οξέος είναι η εταιρία BASF με περίπου 80000 τόνους / χρόνο. Το προπιονικό έχει ενδιάμεσες φυσικές ιδιότητες ανάμεσα στα μικρότερα καρβοξυλικά οξέα, φορμικό και οξικό οξύ, και τα μεγαλύτερα λιπαρά οξέα. Είναι αναμίξιμο με το νερό αλλά απομακρύνεται από αυτό με την προσθήκη άλατος.

Το προπιονικό οξύ αναστέλλει την ανάπτυξη της μούχλας και μερικών βακτηρίων. Αποτέλεσμα της ιδιότητας αυτής είναι οι μεγαλύτερες ποσότητες προπιονικού οξέος να χρησιμοποιούνται ως συντηρητικό για τις ζωοτροφές και για τις ανθρώπινες τροφές. Στις ζωοτροφές χρησιμοποιείται είτε απευθείας είτε ως άλας αμμωνίου. Χρησιμοποιείται ιδιαίτερα για την αναστολή της ευρωτίασης του ψωμιού και άλλων προϊόντων από αλεύρι, συνήθως ως άλατα νατρίου ή ασβεστίου. Οι εστέρες του προπιονικού οξέος έχουν φρουτένια γεύση και συνήθως χρησιμοποιούνται ως αρωματικές τεχνικές ύλες.

Το προπιονικό οξύ σε αντίθεση με το σορβικό είναι αρκετά τοξικό και επικίνδυνο ιδιαίτερα όταν έρθει σε επαφή με το δέρμα ή τα μάτια ή αν καταποθεί. Προκαλεί έντονους ερεθισμούς στα μάτια, σύνδρομο κόκκινων ματιών ενώ στο δέρμα προκαλεί έντονα εγκαύματα λόγω της διαβρωτικής του δράσης και κνησμό. Σε περίπτωση αναπνοής προκαλεί δύσπνοια και αίσθηση καύσης στο λαιμό. Η κατάποσή του μπορεί να επιφέρει εμετούς, βήχα, μέχρι και λιποθυμίες. Δεν έχουν αναφερθεί μέχρι σήμερα καρκινογένεσεις ή τερατογένεσεις εξαιτίας της έκθεσης σε προπιονικό οξύ. Χρόνια έκθεση σε προπιονικό οξύ μπορεί να προκαλέσει προβλήματα στους πνεύμονες και στο αναπνευστικό σύστημα γενικότερα ενώ τα τελευταία έτη ερευνάται η δράση του ως υπεύθυνο για νευρολογικής φύσης ασθένειες (Al-Lahham et al, 2010).

Πίνακας 3.1 Στοιχεία Προπιονικού Οξέος

Άρθρο 36 κώδικα τροφίμων		E280 Προπιονικό οξύ
Ορισμός		
Χημική ονομασία	Προπιονικό οξύ, προπανικό οξύ	
Αριθ. EINECS	201-176-3	
Χημικός τύπος	C ₃ H ₆ O ₂	
Μοριακό βάρος	74,08	
Δοκιμασία	Περιεκτικότητα τουλάχιστον 99,5%	
Περιγραφή	Άχρωμο ή ελαφρώς υποκίτρινο, ελαιώδες υγρό με ελαφρώς διαπεραστική οσμή	
Ταυτοποίηση		
A. Σημείο τήξεως	-22°C	
B. Θερμοκρασία απόσταξης	138,5° C – 142,5° C	
Καθαρότητα		
Μη πτητικό υπόλειμμα	0,1% κατ' ανώτατο όριο μετά από ξήρανση στους 140°C μέχρι σταθερού βάρους	
Αλδεύδες	0,1% κατ' ανώτατο όριο εκφρασμένες σε φορμαλδεύδη	
Αρσενικό	3mg/kg κατ' ανώτατο όριο	
Μόλυβδος	5mg/kg κατ' ανώτατο όριο	
Υδράργυρος	1mg/kg κατ' ανώτατο όριο	
Βαρέα μέταλλα (ως Pb)	10mg/kg κατ' ανώτατο όριο	

Περισσότερα στοιχεία αναφέρονται στο MSDS το οποίο είναι στο προσάρτημα

3.2. Αρχή της μεθόδου

3.2.1 Αντιδραστήρια

- Όξινο θειικό κάλιο KHSO_4
- Διάλυμα θειικού οξέος H_2SO_4 7,1M (διατηρείται σε θερμοκρασία δωματίου επί 2 έτη)
- Διάλυμα υδροξειδίου του νατρίου NaOH 0,1M (διατηρείται σε θερμοκρασία δωματίου επί 2 έτη)
- Διάλυμα υδροξειδίου του νατρίου NaOH 20% (w/v) (διατηρείται σε θερμοκρασία δωματίου επί 2 έτη)
- Αιθανόλη $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ 95% (v/v)
- Διάλυμα δείκτη φαινολοφθαλεΐνης (διατηρείται σε θερμοκρασία δωματίου επί 2 έτη)
Παρασκευή: 1 +/- 0,05g φαινολοφθαλεΐνης διαλύεται σε αιθανόλη, μεταφέρεται σε ογκομετρική των 100 ml, και συμπληρώνεται ο όγκος με αιθανόλη.
- προπιονικό οξύ $\text{C}_2\text{H}_5\text{COOH}$ 99% (ή πυκνότερο) "pro synthesis"
- πρότυπο διάλυμα προπιονικού οξέος (διατηρείται σε 2-8° επί 2 έτη) Παρασκευή: ποσότητα 0,6 +/- 0,1g προπιονικού οξέος ζυγίζεται με ακρίβεια 0,0001 g σε ογκομετρική φιάλη των 1000 ml προστίθενται περίπου 800 ml νερό, και το διάλυμα γίνετα ελαφρώς αλκαλικό με το διάλυμα 20% NaOH (δείκτης φαινολοφθαλεΐνης). Τελος συμπληρώνεται ο όγκος με νερό μέχρι τα 1000 ml.
- Πρότυπα εργασίας προπιονικού οξέος (Παρασκευάζονται ετησίως) Παρασκευή: Ποσότητες 1, 2, 4, 6 και 10 ml του πρότυπου διαλύματος προπιονικού οξέος μεταφέρονται σε πέντε ογκομετρικές φιάλες 100 ml αντιστοίχως. Αν απαιτείται γίνονται ελαφρώς αλκαλικά με τη προσθήκη NaOH 0,1 N παρουσία δείκτη φαινολοφθαλεΐνης και συμπληρώνεται ο όγκος με νερό μέχρι τα 100 ml.
- Διάλυμα ισοβουτυρικού οξέος $\text{C}_3\text{H}_7\text{COOH}$ – εσωτερικό πρότυπο (διατηρείται σε 2-8 °C επί 2 έτη). Παρασκευή: Ποσότητα 1,0 ± 0,1 g ισοβουτυρικού οξέος ζυγίζεται με ακρίβεια 0,0001 g σε ογκομετρική φιάλη 1000 ml και αραιώνεται με νερό. Το διάλυμα γίνεται ελαφρώς αλκαλικό με το διάλυμα 20 % υδροξειδίου του νατρίου 4.04 (δείκτης φαινολοφθαλεΐνης). και συμπληρώνεται ο όγκος με νερό μέχρι 100 ml.
- Διχλωρομεθάνιο CH_2Cl_2 : μυρμικικό οξύ HCOOH 99:1 (v/v). Παρασκευή: Ποσότητα 1 ml μυρμικικού οξέος (98-100 %) μεταφέρεται σε ογκομετρική φιάλη των 100 ml και αραιώνεται μέχρι τη χαραγή με διχλωρομεθάνιο.

RM T2006 αλεύρι (για τη διαδικασία επικύρωσης)

RM T2009 τρίμματα ψωμιού (για τη διαδικασία επικύρωσης)

3.2.2 Συσκευές

- Ζυγοί δύο και τεσσάρων δεκαδικών ψηφίων διακριβωμένοι
- Συσκευή αέριου χρωματογράφου με ανιχνευτή ιονισμού φλόγας (Flame ionization detector, FID) THERMOQUEST GC 2001
- Τριχοειδής στήλη αέριας χρωματογραφίας FFAP, μήκους 30 μέτρων, εσωτερικής διαμέτρου 0,25 mm, με εσωτερική επικάλυψη (film) 0,25µm.
- Ηλεκτρικός αναδευτήρας (mixer)
- Ηµιαυτόµατη αποστακτική συσκευή Velp Scientifica UDK 130A
- Συσκευή περιστρεφόμενης απόσταξης σε κενό (Rota Vapor) εφοδιασμένη με θερμοστατημένο υδρόλουτρο.
- Σωλήνες απόσταξης Velp Scientifica.
- Σιφόνια 1 ml, 2 ml, 5 ml, 10 ml, 20 ml και 25 ml (κατηγορίας A)
- Ογκομετρικές φιάλες των 100 ml, 500 ml και 1000 ml (κατηγορίας A).
- Σφαιρικές φιάλες των 100 ml.
- Σύριγγα 2 µl και μήκους 5 cm Hamilton Gastight, για αέρια χρωματογραφία για την περίπτωση χειροκίνητης εισαγωγής του δείγματος
- Συνήθης εργαστηριακός εξοπλισμός

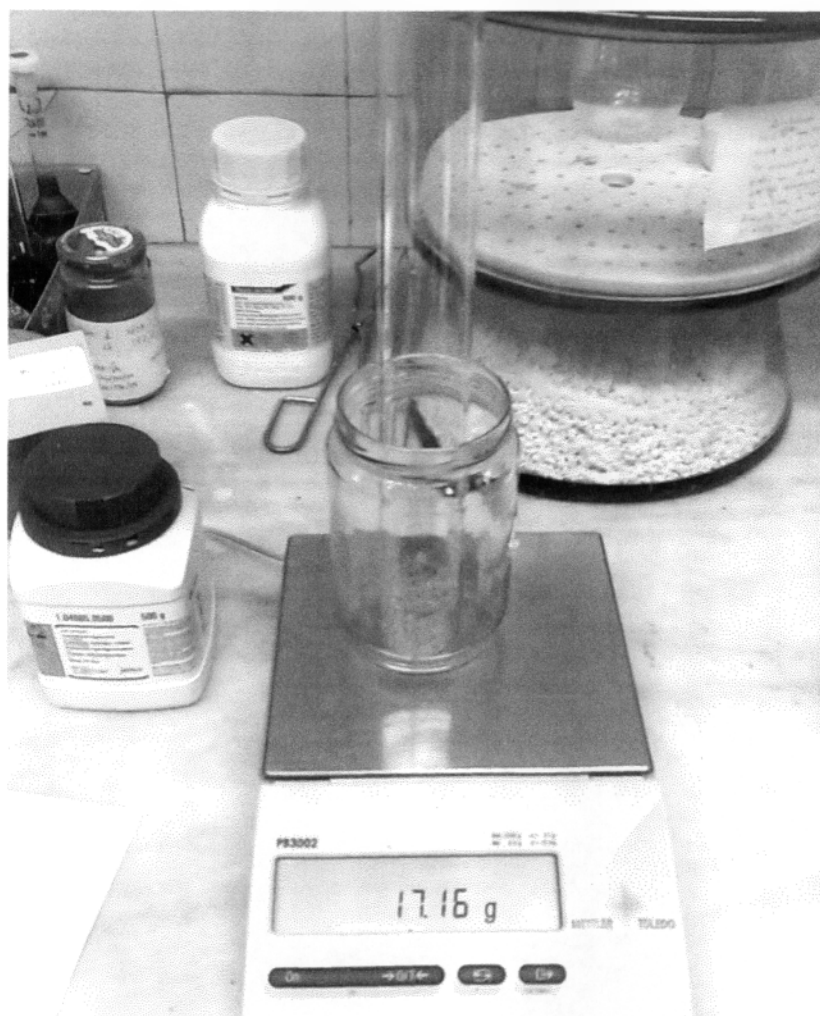
3.3 Πορεία της μεθόδου

Στη παρούσα διαπιστευμένη μέθοδο, η κάθε ανάλυση (που μπορεί να περιέχει από ένα μέχρι X δείγματα) συνοδεύεται από ένα Quality Control Sample (QCs). Το QC είναι δείγμα, γνωστής συγκέντρωσης σε προπιονικό οξύ, το οποίο είναι εξακριβωμένο μετά από σχολαστικές μετρήσεις, ότι δίνει επαναλήψιμα και αξιόπιστα αποτελέσματα. Αντιμετωπίζεται ως δείγμα, και ακολουθεί ολόκληρη τη πορεία της μεθόδου, από τη ζύγιση έως και την ανάλυση με GC. Η χρησιμότητα του είναι για να επικυρώνει ότι η όλη πορεία του πειράματος έγινε ομαλά, όταν δίνει τα αναμενόμενα αποτελέσματα. Στο παρόν πείραμα θα ακολουθήσουμε την πορεία 5 δειγμάτων (Δείγμα 1 έως 5), εκ των οποίων θα γίνεται διεξοδική επεξήγηση της μεθόδου, για το δείγμα 1.

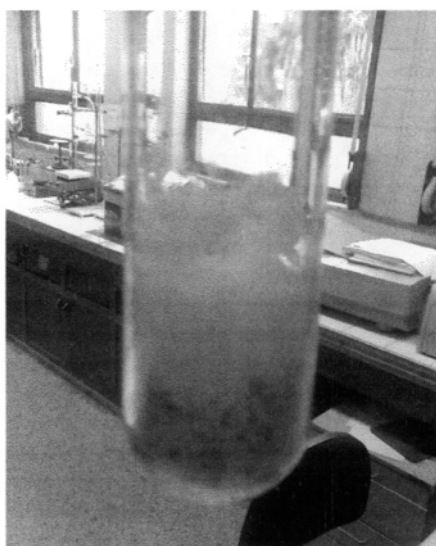
3.3.1 Προετοιμασία δείγματος για απόσταξη

Γίνεται ομογενοποίηση του δείγματος. Ανάλογα με τη φύση του δείγματος, μπορεί να διαφοροποιηθεί ο τρόπος ομογενοποίησης. Η συνήθης συσκευή είναι ηλεκτρικό μίξερ. Αλλά μπορεί να γίνει και με το χέρι, σε περιπτώσεις καραμελωμένων αρτοσκευασμάτων όπως μελομακάρονα, τα οποία δεν δύναται να γίνουν τρίμματα με το μίξερ. Σκοπός μας είναι, το αποτέλεσμα να είναι μικρές νιφάδες ή κόκκοι του προϊόντος, για να είναι ευδιάλυτες και διαπερατές σε νερό, για την επιτυχή διεκπερέωση της ανάλυσης. Μεγάλες συνεκτικές μάζες έχει αποδειχτεί ότι παρουσιάζουν πρόβλημα στην ανάλυση.

Ποσότητα 15 ± 5 g του ομογενοποιημένου δείγματος ζυγίζονται με ακρίβεια 0,01 g μέσα σε σωλήνα απόσταξης Velp. (Εικόνα 18). Καταγράφεται το βάρος.



Εικόνα 3.1 Ζύγιση του δείγματος σε σωλήνα Velp



Εικόνα 3.2.

Στο σωλήνα απόσταξης με το δείγμα, προστίθενται 20 ± 2 g στερεού όξινο θειικού καλίου, και 60 ml νερό (ογκομετρικός κύλινδρος των 100 ml είναι κατάλληλος). Ο σωλήνας με το όξινο θειικό κάλιο και το νερό (ή και χωρίς το νερό), μπορεί να διατηρηθεί για λίγες μόνο ώρες. Σε περίπτωση που χρειαστεί διακοπή του πειράματος, το πρώτο μέλος πρέπει να επαναληφθεί, διότι αποθήκευση του σωλήνα για μια μέρα, με παρουσία όξινο θειικού καλίου, έδειξε εσφαλμένα αποτελέσματα σε δείγμα γνωστής περιεκτικότητας.

3.3.2 Διαδικασία απόσταξης προπιονικού

Η απόσταξη γίνεται με τη χρήση μιας ημιαυτόματη αποστακτική συσκευής με ατμό Velp Scientifica, (Εικόνα 20) στην οποία κάνουμε τις κατάλληλες ρυθμίσεις, για να γίνει η απόσταξη του προπιονικού.



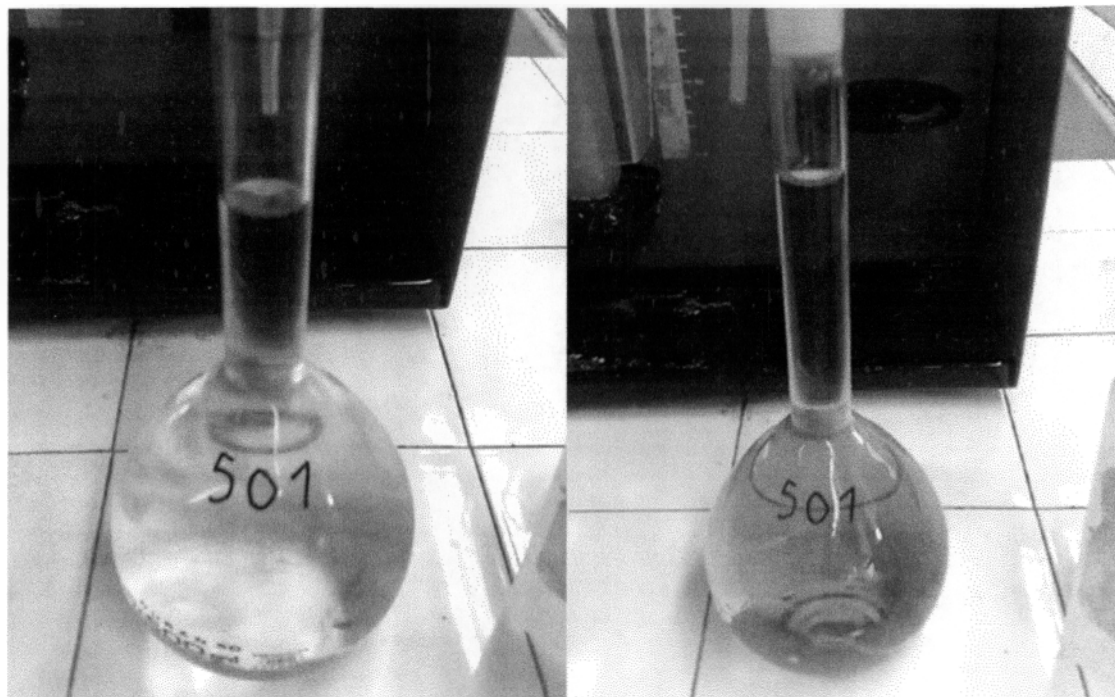
Εικόνα 3.3 Συσκευή απόσταξης με ατμό Velp

Ανοίγουμε την αποστακτική συσκευή. Ελέγχουμε όλες τις παραμέτρους αν έχουν γίνει σωστά, για να μπορέσουμε να ξεκινήσουμε την ανάλυση. Πριν τη πρώτη ανάλυση, κάνουμε πλύσιμο της συσκευής, (Wash) , τοποθετώντας στο σωλήνα απόσταξης νερό, για 15 λεπτά περίπου. Σε πιο εξελιγμένες αποστακτικές συσκευές, το πλύσιμο γίνεται αυτόματα. Μετά την διεκπεραίωση των πλύσεων, έχοντας απομακρύνει ίχνη απο οποιαδήποτε προηγούμενη ανάλυση για να αποφύγουμε φαινόμενα μεταφοράς, μπορούμε να ξεκινήσουμε την απόσταξη των δειγμάτων.

Στην αποστακτική συσκευή, συνδέουμε στον σωλήνα παραλαβής του αποστάγματος, μια ογκομετρική φιάλη των 500 ml.

Στο σωλήνα απόσταξης του δείγματος που έχουμε ετοιμάσει, προσθέτουμε 1 ml του διαλύματος 7,1 M θεικού οξέος, με τη βοήθεια σιφωνίου 1 ml, και ο σωλήνας συνδέεται αμέσως με την αποστακτική συσκευή και αρχίζει η απόσταξη.

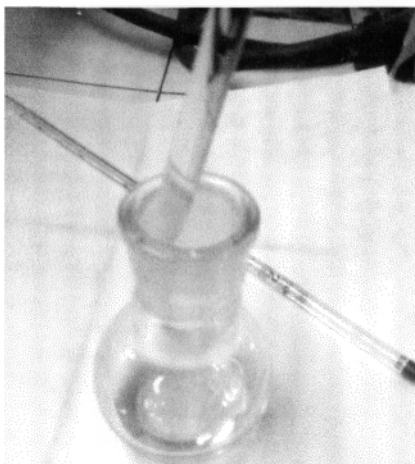
Η απόσταξη κρατάει περίπου 20-22 λεπτά, μέχρι να συλλεχθούν περίπου 450-480 ml στην ογκομετρική φιάλη των 500 ml που έχουμε συνδέσει στο σωλήνα παραλαβής. Αποσύρουμε την ογκομετρική, και σταματάμε την απόσταξη. Στη φιάλη, έχουμε λάβει όλη τη ποσότητα του προπιονικού οξέος, με νερό. Το προπιονικό οξύ, είναι πτητική ένωση, και προς αποφυγήν της εξάτμισης του, το ανάγουμε σε προπιονικό άλας, με τη προσθήκη ισχυρής βάσης.



Εικόνα 3.4 Προσθήκη δείκτη φαινολοφθαλείνης

Προσθέτονται (αμέσως μετά το πέρας της απόσταξης) στην ογκομετρική φιάλη 2-3 σταγόνες δείκτη Φαινολοφθαλείνης, (Εικόνα 3.4) και ακολουθεί η προσθήκη διαλύματος 20% NaOH μέχρι να γίνει ελαφρώς αλκαλικό. (ρόδινο χρώμα χαρακτηριστικό της Φαινολοφθαλείνης). Μετά τη προσθήκη φαινολοφθαλείνης, η φιάλη μπορεί να διατηρηθεί για αρκετές ημέρες, χωρίς να υπάρχει πρόβλημα απώλειας του προπιονικού. Αυτό σημαίνει ότι σε περίπτωση έλλειψης χρόνου ή δειγμάτων, η συνέχεια της ανάλυσης μπορεί να αναβληθεί προσωρινά.

3.3.3 Προετοιμασία του δείγματος για τον Αέριο Χρωματογράφο (GC)



Εικόνα 3.5

Από την ογκομετρική των 500 ml, μεταφέρονται 25 ml με σιφώνιο σε σφαιρική φιάλη των 100ml (Εικόνα 3.5), κατάλληλη για τη συσκευή rotavapor που θα χρησιμοποιηθεί αργότερα. 2 ml του διαλύματος εσωτερικού προτύπου μεταφέρονται στη σφαιρική με σιφώνιο ακριβείας.



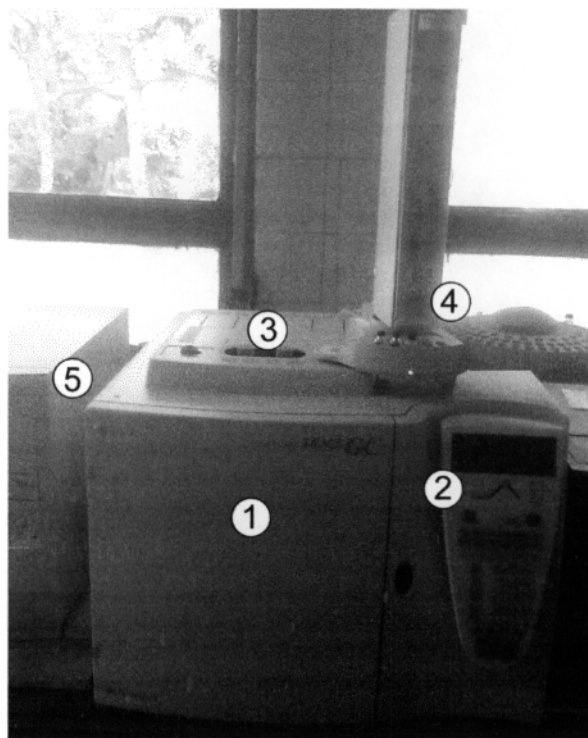
Εικόνα 3.6

Η σφαιρική φιάλη τοποθετείται στη συσκευή Rota Vapor (Εικόνα 3.6) και γίνεται εξάτμιση μέχρι ξηρού. Η θερμοκρασία του υδατόλουτρου ρυθμίζεται στους 65°, και η εξάτμιση διαρκεί περίπου 15 λεπτά. Πρέπει να έχει ολοκληρωθεί εντελώς η ξήρανση του υγρού εντός της φιάλης του rotavap, πριν απομακρυνθεί αυτή από τη συσκευή. Μετά τη ξήρανση, αφήνεται η σφαιρική φιάλη να αποκτήσει θερμοκρασία δωματίου. Πωματίζεται μόνο σε περίπτωση που θα χρειαστεί να συνεχιστεί η εξέταση άλλη μέρα, και μόνο όταν έχει αποκτήσει θερμοκρασία δωματίου.

Το στερεό υπόλειμμα που βρίσκεται στον πυθμένα της σφαιρικής φιάλης διαλύεται σε 1 ml μίγματος διχλωρομεθανίου - μυρμικικού οξέος (99:1, v/v). Το δείγμα μεταφέρεται σε ειδικό φιαλίδιο για τον αέριο χρωματογράφο. Το φιαλίδιο ποματίζεται αμέσως, και σημειώνεται πάνω ο αριθμός του δείγματος.

3.4 Ανάλυση δείγματος με GC (Gas Chromatographer)

3.4.1 Προετοιμασία του GC για την ανάλυση



Εικόνα 3.7 Αέριος Χρωματογράφος 1. Ανιχνευτής Ιονισμού Φλόγας FID, 2. Πίνακας Ελέγχου, 3. Εισαγωγείς Δείγματος Split / Splitless, 4. Αυτόματος Δειγματολήπτης (Autosampler), 5. Υπολογιστής συνδεδεμένος με τον GC

Αρχικά παρέχεται ήλιο He στο σύστημα ενώ ταυτόχρονα ρυθμίζεται η πίεση της γεννήτριας υδρογόνου H στα 50 psi. Τίθεται σε λειτουργία ο αέριος χρωματογράφος και μετά ο υπολογιστής ενώ ενεργοποιείται το λογισμικό και επιλέγεται η κατάλληλη μέθοδος για τον ορισμό των θερμοκρασιών φούρνου – εισαγωγέα – ανιχνευτή για τον έλεγχο των προπονικών που θα ακολουθήσει. Όταν η γεννήτρια υδρογόνου έχει αποκτήσει την επιθυμητή πίεση και ανάψει η ένδειξη **stand by** στο GC, ανοίγεται η φιάλη του **αζώτου** (για **make up**) που βρίσκεται εκτός του εργαστηρίου και του **αέρα** (για το άναμμα της φλόγας) καθώς και τις στρόφιγγες των αερίων

αυτών μέσα στο εργαστήριο. Στο στάδιο αυτό ανάβει η φλόγα του FID. Το σύστημα αφήνεται να εξισορροπήσει για 5-10 λεπτά. Ελέγχεται η τιμή του σήματος του δεξιού ανιχνευτή (signal right det) η οποία πρέπει να είναι >6 και μέχρι 30 pA για να διατηρείται αναμμένη η φλόγα.

Στον GC, για τη παρούσα ανάλυση, εφαρμόζονται οι επόμενες θερμοκρασίες:

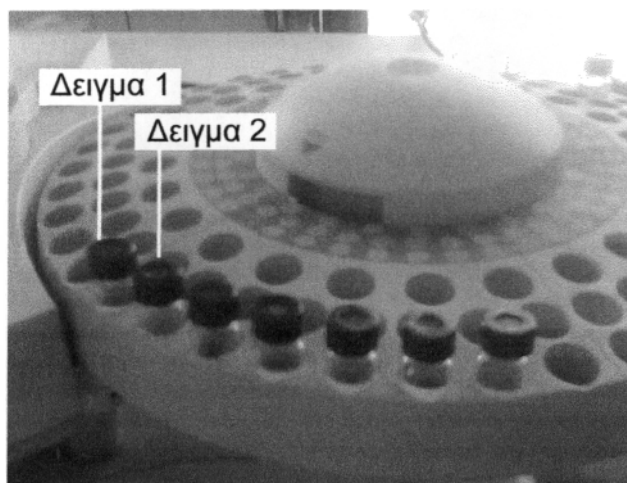
Θερμοκρασία φούρνου: 70-160 °C, ρυθμός ανόδου 5 °C/min. ισόθερμη σε 160 °C για 20 min

Θερμοκρασία εισαγωγέα: 220 °C

Θερμοκρασία ανιχνευτή: 250 °C

3.4.2 Δημιουργία Sequence και έναρξη της ανάλυσης.

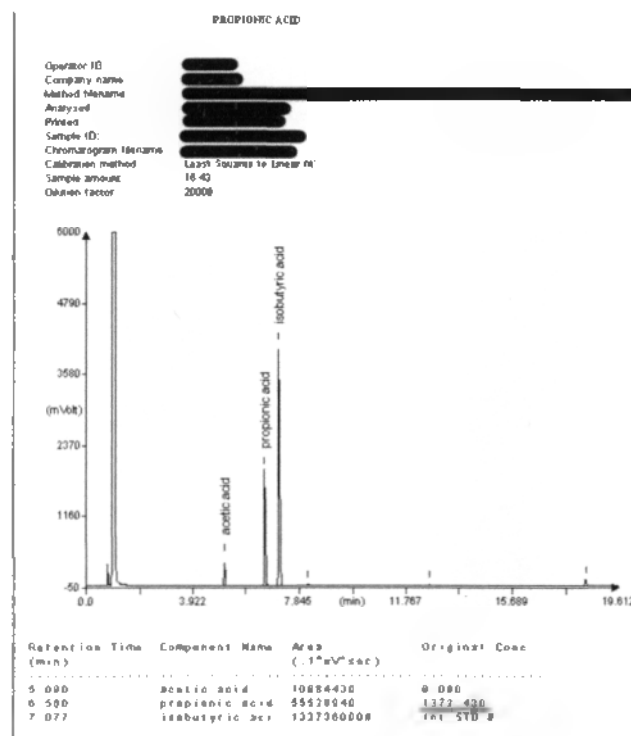
Στον υπολογιστή που είναι συνδεδεμένος με τον GC, είναι ήδη περασμένες οι Sequence όλων των προηγούμενων αναλύσεων προπιονικών που έλαβαν χώρα στον GC. Στη Sequence, είναι επίσης αποθηκευμένες και όλες οι παράμετροι που χρειάζεται για να γίνει η συγκεκριμένη εξέταση, οπότε ουσιαστικά, το αρχείο μιας sequence, είναι κοινό με το αρχείο της μεθόδου. Η μέθοδος συμπληρώνεται τη πρώτη φορά που χρησιμοποιείται το μηχάνημα και για όλες τις μελλοντικές αναλύσεις, χρησιμοποιείται η πιο πρόσφατη ημερομηνία αρχείου. Αφού καταγραφούν τα δείγματα στο λογισμικό τοποθετούμε τα φιαλίδια στις αντίστοιχες θέσεις του αυτόματου δειγματολήπτη και γίνεται έναρξη του προγράμματος ανάλυσης.



Εικόνα 3.8 Αυτόματος Δειγματολήπτης του Αέριου Χρωματογράφου

3.4.3 Επεξεργασία των χρωματογραφημάτων

Μετά το πέρας της ανάλυσης, μπορούμε να δούμε λεπτομερώς τα χρωματογραφήματα, και να καταλήξουμε στα συμπεράσματα τα οποία σχολιάζονται στις επόμενες παραγράφους. Η ανίχνευση και ποσοτικοποίηση του προπιονικού είναι αυτόματη από το λογισμικό, και δεν χρειάζεται καμία ενέργεια από μέρους μας. Το δείγμα 1, του οποίου ακολουθήσαμε τη πορεία όλης της ανάλυσης, δεν είχε προπιονικό οξύ στο χρωματογράφημα του, επομένως θα παρουσιάσουμε το χρωματογράφημα από το δείγμα 2, στο οποίο έγινε ανίχνευση προπιονικού.



Εικόνα 3.9 Αέριο Χρωματογράφημα Ανάλυσης του δείγματος 2

Στο χρωματογράφημα διακρίνεται η κορυφή του προπιονικού οξέος (**Propionic Acid**), καθώς και η καμπύλη του **Isobutyric Acid** που είναι το εσωτερικό πρότυπο. Στο χρωματογράφημα φαίνεται το αποτέλεσμα της χρωματογραφίας, η ποσότητα του προπιονικού οξέος (**Propionic Acid**) υπογραμμισμένη με κόκκινο ενώ φαίνεται και το Ισοβουτυρικό οξύ, του οποίου η ποσότητα είναι ήδη γνωστή και δεν αναφέρεται.

Στο Δείγμα 2 η συγκέντρωση του Προπιονικού οξέος είναι 1372,43 ppm (mg/kg)

4. ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ – ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Πίνακας 4.1 Αποτελέσματα αναλύσεων για Σορβικό και Προιονικό Οξύ σε αρτοπαρασκευάσματα εποχικού χαρακτήρα

α.δ	Είδος δείγματος	Σορβικά (mg/kg)	Βενζοϊκά (mg/kg)	Προπιονικά (mg/kg)	Γνωμάτευση	Παρατηρήσεις
1	Βασνόπιτα συσκευασμένη	204	ΔΑ	ΔΑ	Κανονικό	Δήλωνε συντηρητικά.
2	Τσουρέκι Συσκευασμένο	12*	ΔΑ	1372	Κανονικό	*θεωρείται Capry over από Μαργαρίνη, δεν εξυπηρετεί τεχνολογικό σκοπό σε αυτή τη συγκέντρωση.
3	Διπλές συσκευασμένες	237	ΔΑ	ΔΑ	Κανονικό	Δήλωνε συντηρητικά.
4	Κουραμπιέδες παραδοσιακοί βουτύρου Συσκευασμένοι	215	ΔΑ	ΔΑ	Μη Κανονικό	Δήλωνε συντηρητικά. Το Δείγμα κρίθηκε μη κανονικό διότι εάν και δήλωνε τα συντηρητικά που περιείχε τα οποία ήταν εντός των επιτρεπτών ορίων, έφερε τον όρο «Παραδοσιακοί». Σύμφωνα με το κώδικα τροφίμων και ποτών, προϊόντα που δηλώνουν παραδοσιακά, πρέπει να μην περιέχουν συστατικά που αποκλίνουν της παραδοσιακής συνταγής. Το οποιοδήποτε συντηρητικό θεωρείται πρόσθετο, και συνάμα ο όρος «παραδοσιακού» θεωρείται παραπλανητικός.
5	Τσουρέκι Συσκευασμένο	22*	ΔΑ	ΔΑ	Κανονικό	*θεωρείται Capry over και δεν εξυπηρετεί τεχνολογικό σκοπό σε αυτή τη συγκέντρωση
6	Τσουρέκι Συσκευασμένο	11*	ΔΑ	ΔΑ	Κανονικό	*θεωρείται Capry over και δεν εξυπηρετεί τεχνολογικό σκοπό σε αυτή τη συγκέντρωση
7	Διπλές χύμα (φούρνου)	ΔΑ	ΔΑ	ΔΑ	Κανονικό	
8	Μελομακάρονα, παραδοσιακά Συσκευασμένα	ΔΑ	ΔΑ	ΔΑ	Κανονικό	
9	Βασνόπιτα Συσκευασμένη	320	ΔΑ	ΔΑ	Κανονικό	Δήλωνε συντηρητικά
10	Μελομακάρονα χύμα (φούρνου)	ΔΑ	ΔΑ	ΔΑ	Κανονικό	
11	Κουραμπιέδες χύμα (φούρνου)	ΔΑ	ΔΑ	ΔΑ	Κανονικό	
12	Βασνόπιτα Συσκευασμένη	ΔΑ	ΔΑ	ΔΑ	Κανονικό	

13	Κουραμπιέδες Συσκευασμένοι	ΔΑ	ΔΑ	ΔΑ	Κανονικό	
14	Τσουρέκι Συσκευασμένο	11*	ΔΑ	1586	Κανονικό	*θεωρείται Carry over από Μαργαρίνη και δεν εξυπηρετεί τεχνολογικό σκοπό σε αυτή τη συγκέντρωση.
15	Μελομακάρονα Συσκευασμένα	358	ΔΑ	ΔΑ	Κανονικό	Δήλωνε συντηρητικά
16	Βασλόπιτα χύμα (φούρνου)	ΔΑ	ΔΑ	ΔΑ	Κανονικό	
17	Κουραμπιέδες βουτύρου Συσκευασμένοι	244	ΔΑ	ΔΑ	Κανονικό	Δήλωνε συντηρητικά
18	Μελομακάρονα Συσκευασμένα	ΔΑ	ΔΑ	ΔΑ	Κανονικό	
19	Τσουρέκι Συσκευασμένο	22*		26**	Κανονικό	*θεωρείται Carry over και δεν εξυπηρετεί τεχνολογικό σκοπό σε αυτή τη συγκέντρωση ** θεωρείται προϊόν ζύμωσης, δεν εξυπηρετεί τεχνολογικό σκοπό σε αυτή τη συγκέντρωση
20	Μελομακάρονα Συσκευασμένα	ΔΑ	ΔΑ	ΔΑ	Κανονικό	
21	Τσουρέκι Συσκευασμένο	1531	ΔΑ	96*	Κανονικό	* θεωρείται προϊόν ζύμωσης, δεν εξυπηρετεί τεχνολογικό σκοπό σε αυτή τη ποσότητα
22	Τσουρέκι Συσκευασμένο	18*	ΔΑ	1309	Κανονικό	*θεωρείται Carry over και δεν εξυπηρετεί τεχνολογικό σκοπό σε αυτή τη συγκέντρωση
23	Μελομακάρονα Συσκευασμένα	412	ΔΑ	ΔΑ	Κανονικό	
24	Δάφνες συσκευασμένες	312	ΔΑ	ΔΑ	Κανονικό	
25	Μελομακάρονα χύμα (φούρνου)	ΔΑ	ΔΑ	ΔΑ	Κανονικό	
26	Κουραμπιέδες Συσκευασμένοι	17*	ΔΑ	ΔΑ	Κανονικό	*θεωρείται carry over από Μαργαρίνη
27	Μελομακάρονα	467	ΔΑ	ΔΑ	Κανονικό	Δήλωνε συντηρητικά

	Συσκευασμένα					
28	Τσουρέκι Συσκευασμένο	ΔΑ	ΔΑ	1243	Κανονικό	Δήλωνε συντηρητικά
29	Βασλόπιτα Συσκευασμένη	ΔΑ	ΔΑ	ΔΑ	Κανονικό	
30	Μελομακάρονα Συσκευασμένα, παραδοσιακά	11*	ΔΑ	ΔΑ	Κανονικό	*θεωρείται Carry over και δεν εξυπηρετεί τεχνολογικό σκοπό σε αυτή τη συγκέντρωση

ΔΑ: Δεν ανιχνεύθηκε

Σύμφωνα με τον Κώδικα Τροφίμων και Ποτών (ΚΤΠ)

Η προσθήκη σορβικού οξέος στα εκλεκτά αρτοσκευάσματα επιτρέπεται μέχρι **2000 mg/kg**. Στον κώδικα τροφίμων, τα αρτοσκευάσματα τα οποία αναλύονται στη παρούσα πτηχιακή εργασία, υπάγονται στον όρο «Εκλεκτά αρτοσκευάσματα». Το ίδιο όριο των **2000 mg/kg** ισχύει και για τη προσθήκη προπιονικού οξέος στα αρτοσκευάσματα.

Επεξήγηση παρατηρήσεων

Το μόνο μη κανονικό δείγμα (Δείγμα 4) ήταν από άποψη περιεκτικότητας σε συντηρητικά απόλυτα ασφαλές. Αλλά σύμφωνα με παράγραφο του κώδικα τροφίμων, ο χαρακτηρισμός παραδοσιακό, σημαίνει ότι δεν αποκλίνει από την παραδοσιακή συνταγή του προϊόντος αυτού. Το Σορβικό οξύ, σίγουρα δεν μπορεί να θεωρηθεί παραδοσιακό συστατικό του προϊόντος αυτού.

Το Σορβικό οξύ, σίγουρα δεν μπορεί να θεωρηθεί παραδοσιακό συστατικό του προϊόντος αυτού. Επομένως, ο όρος παραδοσιακό, θεωρείται για το συγκεκριμένο προϊόν παραπλανητικός και καθαρά για προστασία των καταναλωτών (που για δικούς τους λόγους επιθυμούν να αγοράσουν προϊόν παραδοσιακό, χωρίς συντηρητικά) το προϊόν αυτό κρίθηκε μη κανονικό με τις ανάλογες κυρώσεις.

Όπως φαίνεται και από τον Πίνακα των αποτελεσμάτων σε διάφορες περιπτώσεις ανευρίσκονται μικρές ποσότητες σορβικού ή προπιονικού οι οποίες θεωρούνται *carry over*, δηλαδή ότι είναι προϊόντα μεταφοράς. Η μεταφορά πιθανώς έχει γίνει από κάποιο από τα συστατικά του δείγματος. Πχ, η Μαργαρίνη, έχει μια περιεκτικότητα σε Σορβικό οξύ. Όταν λοιπόν χρησιμοποιείται ως συστατικό, το σορβικό μεταφέρεται στο τρόφιμο. Αλλά δεν μπορεί να θεωρηθεί συντηρητικό διότι πρόκειται για πολύ μικρή ποσότητα για να έχει κάποια τεχνολογική δράση, και δεν έγινε εσκεμμένα η εισαγωγή σορβικού στο τρόφιμο. Συνήθως, μικρή συγκέντρωση της τάξεως των 10-90 mg/kg δεδομένου ότι δεν έχει καμία επίδραση στο τρόφιμο, και είναι κατά πολύ κάτω από το όριο ασφαλείας, θεωρείται αυτόματα *carry over*, αν και μερικές φορές δεν είναι εύκολος ο εντοπισμός της πηγής του συντηρητικού. Μπορεί να είναι από κάποιο συστατικό του δείγματος, το οποίο δεν γνωρίζουμε ότι περιέχει συντηρητικά, μπορεί να είναι μεταφορά από το εργοστάσιο, ή μπορεί να είναι και μεταφορά από δείγμα σε δείγμα κατά τη διάρκεια της ανάλυσης σε περίπτωση μη καλού πλυσίματος. Σε δείγματα τσουρεκιού, ανιχνεύθηκε μικρή ποσότητα προπιονικού οξέος. Σύμφωνα με τον Κώδικα τροφίμων και ποτών, επιτρέπεται η παρουσία προπιονικού οξέος σε προϊόντα που έχουν υποστεί ζύμωση (το τσουρέκι ανήκει σε αυτή τη κατηγορία) και θεωρείται αποτέλεσμα των διεργασιών ζυμώσεως.

Σχολιασμός αποτελεσμάτων, συμπεράσματα

Από τα αποτελέσματα φαίνεται ότι συνήθως κατά την παρασκευή εποχιακών γλυκισμάτων μη συσκευασμένων δεν χρησιμοποιούνται συντηρητικά καθώς τα τρόφιμα αυτά προορίζονται για άμεση κατανάλωση. Επίσης, τα μη συσκευασμένα αρτοσκευάσματα, προέρχονται από μικρές μονάδες παρασκευής αρτοσκευασμάτων οι οποίες πιθανώς δεν έχουν και την απαραίτητη τεχνογνωσία συνήθως για τη προσθήκη κάποιου συντηρητικού. Αντίθετα, τα δείγματα τα οποία περιείχαν συντηρητικά, είναι συσκευασμένα και προέρχονται από μεσαίου ή μεγάλου σχετικά μεγέθους, βιομηχανοποιημένες παραγωγές. Οι μονάδες αυτές, δεδομένου ότι τροφοδοτούν μια ευρύτερη περιοχή από τις τοπικές, κάνουν χρήση συντηρητικών (ενίοτε) για να εξασφαλισθεί η μακροζωία του προϊόντος στην αποθήκευση, και στο ράφι, γιατί έστω και μια μικρή καθυστέρηση ή αμέλεια από μέρους των μεσαζόντων θα ήταν καταστροφική για μεγάλο μέρος της παραγωγής. Μία άλλη παρατήρηση που προκύπτει από τα αποτελέσματα είναι ότι όπως αναμένεται δεν χρησιμοποιούνται εκ παραλλήλου προπιονικό οξύ και σορβικό οξύ. Αυτό ισχύει γιατί και τα δύο αυτά συντηρητικά έχουν κοινή μυκητοκτόνο δράση, αλλά δεν δρουν συνεργιακά. Συνεπώς ένας συνδυασμός τους δεν θα επέφερε κανένα παραπάνω αποτέλεσμα, αλλά αντίθετα θα επιβάρυνε το προϊόν με παραπάνω συντηρητικά, και τον παραγωγό του με ανούσια έξοδα.

Συγκρίνοντας την παρουσία συντηρητικών μεταξύ κουραμπιέδων και μελομακάρων καταλήγουμε στο εξής. Στα πρώτα δεν προστίθενται συντηρητικά με την ίδια συχνότητα καθώς η

φύση του προϊόντος δεν το απαιτεί (προϊόν μειωμένης υγρασίας). Αντίθετα τα μελομακάρονα τα οποία ως γλύκισμα περιέχουν μεγάλη ποσότητα λιπαρών, απαιτούν για τη μακροχρόνια συντήρησή τους μια μικρή προσθήκη συντηρητικών.

Συγκρίνοντας τα αποτελέσματα που είχαν τα δείγματα από δίπλες, μελομακάρονα, και κουραμπιέδες, με τα αποτελέσματα των δειγμάτων από τσουρέκια, καταλήγουμε στο εξής. Τα πρώτα (δίπλες μελομακάρονα κουραμπιέδες) έχουν από τη φύση του προϊόντος κάποια ικανότητα συντήρησης. Οι κουραμπιέδες είναι προϊόντα μειωμένης υγρασίας (ανασταλτικός παράγοντας για τους μύκητες) και επίσης καλύπτονται από ζάχαρη, κάτι που επίσης είναι ανασταλτικός παράγοντας για τους μύκητες. Τα δε μελομακάρονα και οι δίπλες, έχουν πυκνό σιρόπι ως επικάλυψη, το οποίο επίσης λειτουργεί ως ήπιος ανασταλτικός παράγοντας για τους μύκητες. Το τσουρέκι, δεν έχει από τη φύση του σαν προϊόν κάτι που να το προστατεύει από την αλλοίωση. Έτσι παρατηρώντας τα αποτελέσματα μεταξύ των προϊόντων αυτών, βλέπουμε ότι τα τσουρέκια που έχουν συντηρητικά, τα έχουν σε μεγαλύτερη ποσότητα από τις δίπλες, τους κουραμπιέδες και τα μελομακάρονα. Συγκρίνουμε για παράδειγμα το δείγμα 21 (συσκευασμένο τσουρέκι) με το δείγμα 27(μελομακάρονα συσκευασμένα), ως προς τη συγκέντρωσή τους σε σορβικό οξύ.

Η επιλογή του δείγματος 27 έγινε διότι έχει το μεγαλύτερο ποσοστό σορβικού οξέος από τα υπόλοιπα μελομακάρονα.

Δείγμα 21: 1531 mg/kg

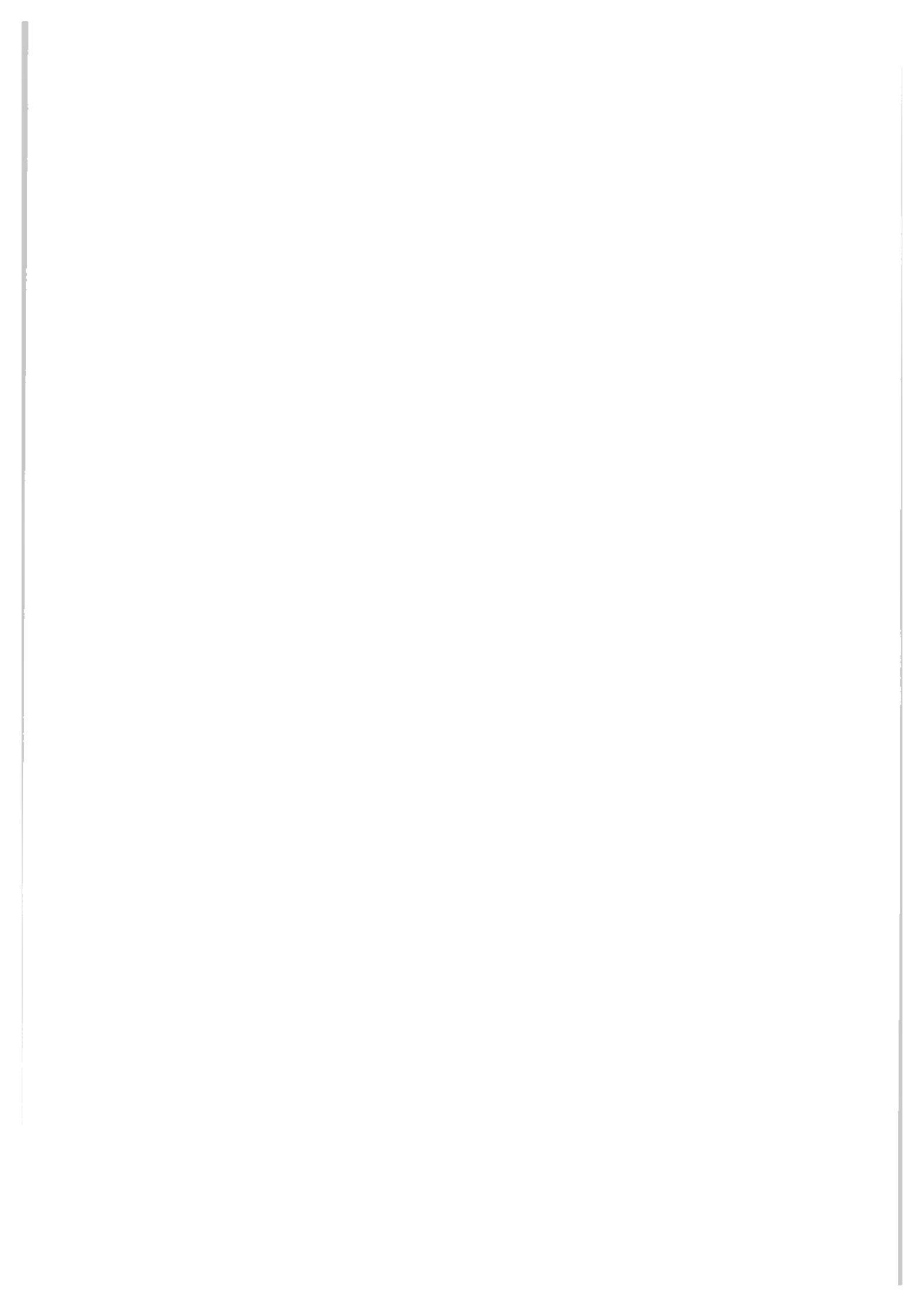
Δείγμα 27: 467 mg/kg

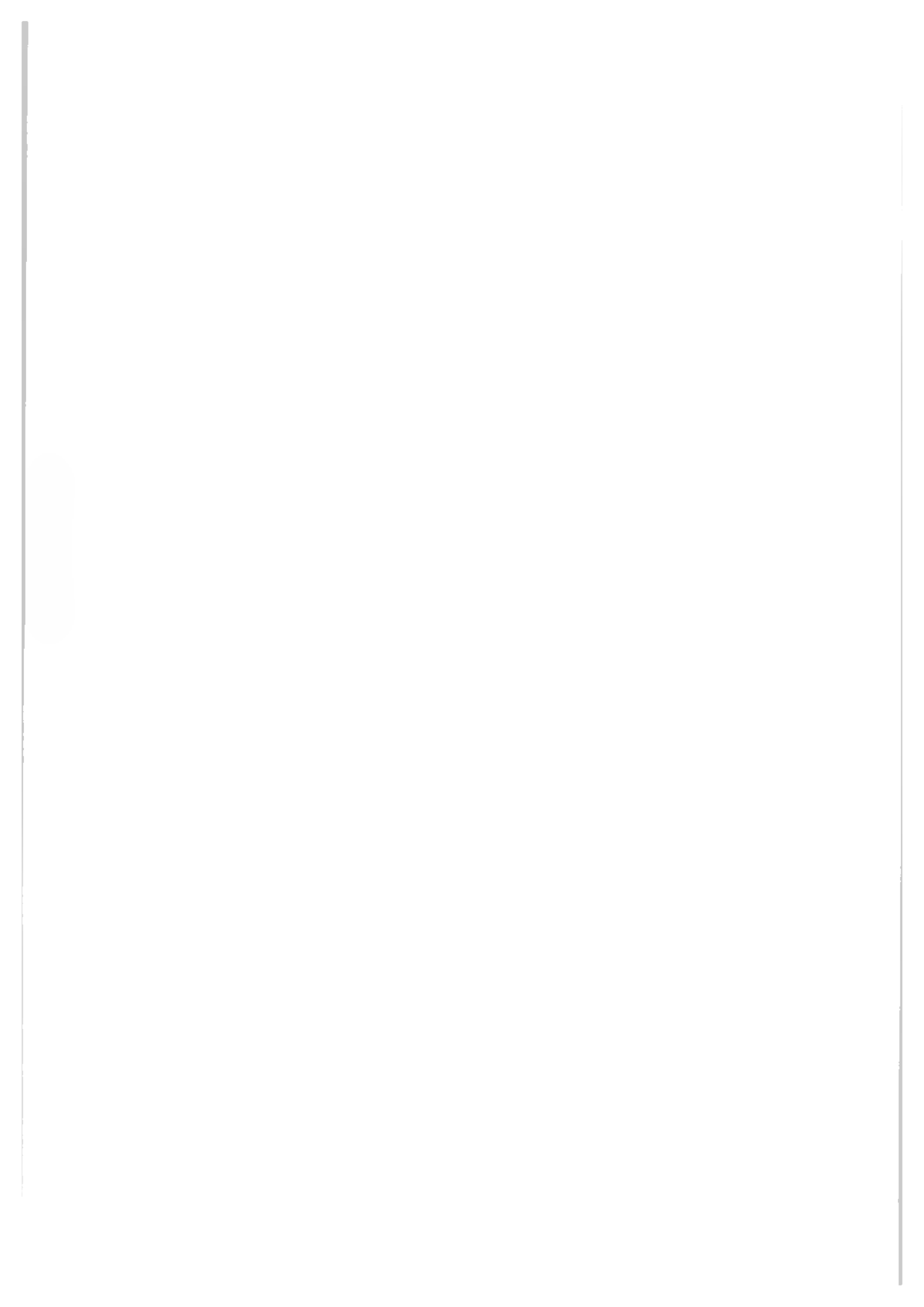
Βλέπουμε πως η συγκέντρωση του σορβικού στο τσουρέκι, είναι κοντά 4 φορές μεγαλύτερη.

Στον παραπάνω ισχυρισμό, ως προς τη φύση του προϊόντος και τη προσθήκη συντηρητικών, αντικρούεται η βασιλόπιτα, η οποία σαν προϊόν αλλοιώνεται το ίδιο εύκολα με το τσουρέκι, και ανάλογα με τη συνταγή, μπορεί να είναι και ακόμα πιο αλλοιώσιμη. Όμως παρά τη φύση του προϊόντος, βλέπουμε πως τα περισσότερα δείγματα βασιλόπιτας δεν έχουν συντηρητικά, ενώ όσα δείγματα είχαν κάποιο συντηρητικό το είχαν σε πολύ μικρή ποσότητα. Αυτό εξηγείται πολύ εύκολα, λόγω της παραδοσιακής χρήσης που προορίζεται η βασιλόπιτα. Ως γνωστόν, αυτό που απαιτείται από το καταναλωτικό κοινό είναι η βασιλόπιτα να είναι φρέσκια την ημερομηνία της κοπής της (1^η μέρα του χρόνου δηλαδή) και να διατηρηθεί σε καλή κατάσταση και 2-3 μέρες μετά. Η ημερομηνία διάθεσης της στην αγορά, και η ημερομηνία αγοράς της από τους καταναλωτές είναι πάντα λίγες μέρες πριν τη κοπή της. Συνάμα, η προσθήκη συντηρητικών σε τέτοια ποσότητα, που να της δώσει μακροχρόνια συντήρηση, θα ήταν ανούσια, αφού κανένας δεν θα την αγόραζε 1 μήνα πριν, ούτε θα την έκοβε 2 μήνες μετά. (οι πίτες που κόβονται από διάφορους παράγοντες σε διαφορετικές μέρες πέραν της 1^{ης} Ιανουαρίου αποτελούν εξαίρεση αφού είναι κατά παραγγελία συνήθως, και δεν ανήκουν σε αυτές που διατίθενται στα καταστήματα, και υποβάλλονται στον έλεγχο που έγινε στην παρούσα πτυχιακή άσκηση).

Από το σύνολο των αποτελεσμάτων, μπορούμε να βγάλουμε τα εξής συμπεράσματα όσον αφορά την παραγωγή των προϊόντων αυτών.

Κανένα από τα δείγματα, δεν είχε υπέρβαση του επιτρεπόμενου ορίου κανενός από τα δύο συντηρητικά. Αυτό μας οδηγεί στο ασφαλές συμπέρασμα ότι οι μονάδες παραγωγής των προϊόντων αυτών στο σύνολο τους, όταν χρησιμοποιούν κάποιο από αυτά τα δύο πρόσθετα, για να επεκτείνουν τη συντήρηση του προϊόντος τους, έχουν την απαραίτητη τεχνογνωσία για να κάνουν ορθή χρήση των πρόσθετων αυτών. Η ύπαρξη συνεχών ελέγχων από τους αρμόδιους φορείς, καθώς και καταρτισμένων ειδικών πάνω στο τομέα της τεχνολογίας ή της χημείας τροφίμων, συμβάλλει φυσικά στο να είναι η αγορά σε αυτό το επίπεδο. Η μοναδική περίπτωση μη κανονικού δείγματος, ήταν το δείγμα 4. Το οποίο πιθανώς δεν έγινε εσκεμμένα, αλλά καθαρά από αμέλεια του παραγωγού.





Βιβλιογραφία

Ελληνική Βιβλιογραφία

Τεχνολογία Σιτηρων II (Τεχνολογία Αρτοποιημάτων)
I Καζαζή ΟΕΔΒ 1981

Γενικός ποιοτικός έλεγχος τροφίμων
I Καζαζή ΟΕΔΒ 1984

Κώδικας τροφίμων και ποτών Τόμος I & II
Εθνικό Τυπογραφείο 2009.

Οδηγός για τα πρόσθετα Τροφίμων (Αριθμοί Ε)
Υπουργείο Υγείας Κύπρου Γενικό Χημείο του Κράτους
Λευκωσία Οκτώβριος 2005

Αρχείο μεθόδου SaBa
Δ Χημική υπηρεσία Αθηνών 2007

Αρχείο μεθόδου Prop 1
Δ Χημική υπηρεσία Αθηνών 2007

Ξενόγλωσση βιβλιογραφία

HPLC For food analysis
A Primer 2001

Chromatography today
Colin f Pole 2003

The Merck Index
Thirteenth edition

The Science of food
Marion Bennion Willey NY 1980

Evaluation of certain food additives
World Health Organization W.H.O. 2009

Encyclopedia of Toxicology (second edition) 2005, Shayne C. Gad and Samantha E. Gad, 536-538

Βιβλιογραφία στο Διαδίκτυο

<http://www.efsa.europa.eu/en/ansttopics/topic/additives.htm>

<http://www.celanese.com/msds/pdf/959-59579467.pdf>

http://www.pesticideinfo.org/Detail_Chemical.jsp?Rec_Id=PC32857#Symptoms

Ειδική Βιβλιογραφία

Elmore, AR, *International Journal of Toxicology*, 2005, 24 (3) Supplement 2 June, 51 – 111

Ferrand C, Marc F, Fritsch P, Cassand P, de Saint Blanquat G., *J Agric Food Chem*. 2000 Aug;48(8):3605-10.

Mpountoukas P, Vantarakis A, Sivridis E, Lialiaris T., *Food Chem Toxicol*. 2008 Jul;46(7):2390-3.

Pérez-Prior MT, Gómez-Bombarelli R, González-Pérez M, Manso JA, García-Santos MP, Calle E, Casado J., *Chem Res Toxicol*. 2009 Jul;22(7):1320-4.

Walker, R., *Food Addit Contam*. 1990 Sep-Oct;7(5):671-6

Sa'ad H. Al-Lahham, Maikel P. Peppelenbosch, Han Roelofsen, Roel J. Vonk and Koen Venema, *BBA*, 2010 Nov., 1801 (11) 1175-1183

Henschel, R., Agathos, M. and Breit, R., 1999. *Contact Dermatitis* **40**, p28

Προσάρτημα

Safety data for sorbic acid

Glossary of terms on this data sheet.

The information on this web page is provided to help you to work safely, but it is intended to be an overview of hazards. not a replacement for a full Material Safety Data Sheet (MSDS). MSDS forms can be downloaded from the web sites of many chemical suppliers.

General

Synonyms: 2,4-hexadienoic acid
Molecular formula: C₆H₈O₂
CAS No: 110-44-1
EC No:

Physical data

Appearance: white crystals or powder
Melting point: 134 C
Boiling point: 228 C
Vapour density: 3.87 (air = 1)
Vapour pressure:
Density (g cm⁻³):
Flash point: 127 C (closed cup)
Explosion limits:
Autoignition temperature:
Water solubility: slight

Stability

Material saturated with this acid may ignite spontaneously. Incompatible with strong oxidizing agents. May be light sensitive.

Toxicology

May act as an irritant. Typical TLV/TWA 5 mg m⁻³

Toxicity data

(The meaning of any abbreviations which appear in this section is given [here](#).)

ORL-RAT LD50 7360 mg kg⁻¹

MN-MUS LD50 2820 mg kg⁻¹

SCU-MUS LD50 2820 mg kg⁻¹

Risk phrases

(The meaning of any risk phrases which appear in this section is given [here](#).)

R36 R37 R38.

Transport information

Personal protection

Minimize contact.

Safety phrases

(The meaning of any safety phrases which appear in this section is given [here](#).)

[Return to [Physical & Theoretical Chemistry Lab. Safety home page](#).]

This information was last updated on September 15, 2003. We have tried to make it as accurate and useful as possible, but can take no responsibility for its use, misuse, or accuracy. We have not verified this information, and cannot guarantee that it is up-to-date.

Note also that the information on the PTCL Safety web site, where this page was hosted, has been copied onto many other sites, often without permission. If you have any doubts about the veracity of the information that you are viewing, or have any queries, please check the URL that your web browser displays for this page. If the URL begins "http://msds.chem.ox.ac.uk/" the page is maintained by the Safety Officer in Physical Chemistry at Oxford University. If not, this page is a copy made by some other person and we have no responsibility for it.

Stability

Material saturated with this acid may ignite spontaneously. Incompatible with strong oxidizing agents. May be light sensitive.

Toxicology

May act as an irritant. Typical TLV/TWA 5 mg m⁻³

Toxicity data

Safety data for propanoic acid



Glossary of terms on this data sheet.

The information on this web page is provided to help you to work safely, but it is intended to be an overview of hazards, not a replacement for a full Material Safety Data Sheet (MSDS). MSDS forms can be downloaded from the web sites of many chemical suppliers.

General

Synonyms: Iuprosil, metacetic acid, methylacetic acid, propionic acid, carboxyethane, hydroacrylic acid, propionic acid grain preserver, ethylformic acid, ethanecarboxylic acid, Tenox P grain preservative, sentry grain preserver

Molecular formula: $C_3H_6O_2$

CAS No: 79-09-4

EINECS No: 201-176-3

Physical data

Appearance: colourless liquid

Melting point: -20.8 C

Boiling point: 141.1 C

Vapour density: 2.56

Vapour pressure: 10 mm Hg at 20 C

Density ($g\ cm^{-3}$): 0.992

Flash point: 51 C

Explosion limits: 2.9 - 12.1 %

Autoignition temperature:

Stability

Stable. Incompatible with strong oxidizing agents. Flammable.

Toxicology

Corrosive - causes burns. Harmful by ingestion, inhalation and through skin contact. Irritant.

Toxicity data

(The meaning of any abbreviations which appear in this section is given [here.](#))

IN-MUS LD50 625 mg kg⁻¹

SKN-RBT LD50 500 mg kg⁻¹

Irritation data

(The meaning of any abbreviations which appear in this section is given [here.](#))

SKN-RBT 495 mg open sev

Risk phrases

(The meaning of any risk phrases which appear in this section is given [here.](#))

R20 R21 R22 R34 R36 R37 R38.

Transport information

(The meaning of any UN hazard codes which appear in this section is given [here.](#))

UN No 1848. Packing group III. Major hazard class 8.0. Subsidiary hazard class 3.0.

Personal protection

Safety glasses, adequate ventilation.

Safety phrases

(The meaning of any safety phrases which appear in this section is given [here.](#))

S2 S23 S36.

[Return to [Physical & Theoretical Chemistry Lab. Safety home page.](#)]

This information was last updated on August 24, 2005. We have tried to make it as accurate and useful as possible, but can take no responsibility for its use, misuse, or accuracy. We have not verified this information, and cannot guarantee that it is up-to-date.

Note also that the information on the PTCL Safety web site, where this page was hosted, has been copied onto many other sites, often without permission. If you have any doubts about the veracity of the information that you are viewing, or have any queries, please check the URL that your web browser displays for this page. If the URL

23/9/2010

Safety (MSDS) data for propanoic acid

begins "<http://msds.chem.ox.ac.uk/>" the page is maintained by the Safety Officer in Physical Chemistry at Oxford University. If not, this page is a copy made by some other person and we have no responsibility for it.

Άρθρο 12 Κώδικας τροφίμων ποτών και αντικειμένων κοινής χρήσης Τόμος Ι

Δειγματοληψία τροφίμων

1. Η δειγματοληψία διενεργείται πάντοτε από δύο τουλάχιστον εντεταλμένους για το σκοπό αυτό υπαλλήλους της αρμόδιας ή των αρμόδιων υπηρεσιών. Σε εξαιρετικές περιπτώσεις μπορεί να διενεργηθεί δειγματοληψία και από εντεταλμένους Χημικούς του Γ.Χ.Κ. (Γενικό χημείο του κράτους)

2. Τα σχετικά με την ενέργεια για τη λήψη δειγμάτων, που προορίζονται να εξεταστούν από το Γ.Χ.Κ, ρυθμίζει, κατευθύνει και καθοδηγεί η αρμόδια Τεχνική υπηρεσία του Υπουργείου Εμπορίου σε συνεννόηση μ'αυτό και κατά τρόπο ανάλογο με τις εκάστοτε περιπτώσεις, τη σκοπιμότητα καθώς και τη δυναμικότητα των εργαστηρίων του.

3. Δειγματοληψία ενεργείται σε όλα τα είδη που υπόκεινται σύμφωνα με το νόμο σε έλεγχο, όχι μόνο όταν υπάρχει υπόνοια ότι αυτά είναι νοθευμένα και επιβλαβή για τη δημόσια υγεία αλλά και όταν κρίνει αυτό σκόπιμο η αρμόδια υπηρεσία προς το σκοπό προληπτικού ελέγχου.

4. Δείγματα είναι δυνατόν να παίρνονται από καταστήματα, αποθήκες, αγορές εργαστήρια ψυγεία φορτηγά αμάξια και, γενικά μεταφορικά μέσα, πλανόδιους πωλητές και γενικότερα οποιοδήποτε μέρος όπου αποθηκεύονται για πώληση, πωλούνται ή εκθέτονται για πώληση τα είδη που πρόκειται να εξεταστούν. Επίσης δείγματα είναι δυνατόν να παίρνονται και από το είδος που μόλις έχει προμηθευτεί καταναλωτής και υπόκειται σε έλεγχο. Στην περίπτωση αυτή ο προμηθευτής είναι αναγκασμένος να αντικαταστήσει όλα τα είδη που αποδεδειγμένα έχουν χορηγηθεί απ'αυτόν και έχουν δειγματοληφτεί από τις αρμόδιες αρχές.

5. Εκείνοι που κατέχουν με οποιοδήποτε τρόπο εμπορεύσιμα είδη, που υπόκεινται σε δειγματοληψία ή οι πράκτορες μεταφορών αυτών ή και οι μεταφορείς γενικά, τέτοιων ειδών έχουν υποχρέωση να διευκολύνουν τα όργανα που είναι εντεταλμένα για τη δειγματοληψία (Αγορανομικά όργανα, χημικούς, αστυνομικούς κ.λπ) δίνοντας κάθε σχετική πληροφορία και δείχνοντας σε πρώτη ζήτηση τα αντίστοιχα τιμολόγια αγοράς ή φορτωτικές ή κάθε έγγραφο σχετικό με το είδος που δειγματίζεται.

6. Εκείνοι που αρνούνται ή με οποιοδήποτε τρόπο, αντιδρούν στη διενέργεια της παραπάνω εντεταλμένης δειγματοληψίας καθώς και εκείνοι που σκόπιμα δίδουν ψευδείς ή παραπλανητικές πληροφορίες για το είδος που δειγματίζεται, υπόκεινται στις ποινικές κυρώσεις που προβλέπονται από το νόμο.

7. Η δειγματοληψία πρέπει να ενεργείται σύμφωνα με τις σχετικές διατάξεις του παρόντα κώδικα κατά τρόπο ώστε το δείγμα που παίρνεται να αντιπροσωπεύει κατά το δυνατόν πληρέστερα τη μέση σύσταση του είδους που δειγματίζεται, και να διασφαλίζει το αναλλοίωτο και αλύμαντό του.

8. Τα δείγματα παίρνονται, με σκοπό την εξέτασή τους από τις υπηρεσίες του Γ.Χ.Κ. ή κατά περίπτωση, από τις αρμόδιες υγειονομικές Αρχές, πάντοτε εις διπλούν, με εξαίρεση τον άρτο, για τον οποίο γίνεται μνεία στο οικείο κεφάλαιο του παρόντα κώδικα.

9. Σε περιπτώσεις, που αυτοί που διενεργούν τη δειγματοληψία διαπιστώνουν εμφανή ακαταλληλότητα ή αλλοίωση μέρους του είδους που δειγματίζεται, παίρνεται χωριστά δείγμα εις διπλούν, εφόσον τούτο είναι εφικτό, διαφορετικά εις απλούν από το εμφανώς ακατάλληλο ή αλλοιωμένο μέρος, χωρίς να τηρείται η παραπάνω αρχή της μέσης σύστασης της παραγράφου 7 και στη συνέχεια συντάσσεται ιδιαίτερο πρωτόκολλο δειγματοληψίας που, που περιγράφει το περιστατικό και τη σχέση αυτού προς το πρωτόκολλο δειγματοληψίας, που περιγράφει το

περιστατικό και τη σχέση αυτού προς το πρωτόκολλο και το δείγμα της ειδικής, όπως παραπάνω, περίπτωσης. Η προσκόμιση και η εξέταση των παραπάνω δειγμάτων πραγματοποιείται στο συντομότερο δυνατό χρόνο και τα αποτελέσματα εξέτασης και των δύο δειγμάτων τίθενται υπόψη του Α.Χ.Σ. και ΚΕ.Σ.Υ. προς γνωμοδότηση.

10.Εφόσον υπάρχει ανάγκη μικροβιολογικού ή τοξικολογικού ελέγχου, (Δηλητηριάσεις κ.λπ) πρέπει να παίρνονται χριστά δείγματα, σύμφωνα με τις υγειονομικές διατάξεις, τα οποία στέλνονται το γρηγορότερο για εξέταση στα αρμόδια Υγειονομικά Εργαστήρια.

11.Κατά της δειγματοληψίες που διενεργούνται από επιτροπές στα διάφορα ιδρύματα (Νοσοκομεία σχολές κ.λπ) πρέπει να τηρούνται απαραίτητα όλοι οι όροι και οι διατάξεις του παρόντα Κώδικα στις δε επιτροπές να συμμετέχει χημικός ή έλλειψη αυτού γιατρός ή κτηνίατρος.

12.Τα σχετικά με τη δειγματοληψία και εξέταση, γενικά, εισαγόμενων και εξαγόμενων τροφίμων ρυθμίζονται με τελωνειακές και άλλες διατάξεις.

Άρθρο 13 Κώδικας τροφίμων ποτών και αντικειμένων κοινής χρήσης Τόμος Ι

Λήψη δειγμάτων-Συσκευασία & Σφράγιση

1.Ανάλογα με το είδος και τη σύσταση του προϊόντος που δειγματίζεται παίρνεται το ποσό δείγματος που απαιτείται και συσκευάζεται κατά τρόπο που εξασφαλίζει το αναλλοίωτο και αλύμαντο αυτού.

2.Πρίν από τη λήψη του δείγματος εξασφαλίζεται κατά το δυνατόν η ομοιογένεια του είδους που δειγματίζεται. Αυτό πετυχαίνεται με ανάδευση ή ανατάραξη, προκειμένου για υγρά ή παχύρευστα είδη ή με τη λήψη μικρών ποσοτήτων ή τεμαχίων από διάφορα σημεία του προϊόντος ή από διάφορες γενικά, μονάδες συσκευασίας καθώς και με μηχανικά μέσα.

3. Σε περίπτωση, που από τις διατάξεις του παρόντα κώδικα προβλέπεται ειδικός τρόπος δειγματοληψίας, αυτή διενεργείται σύμφωνα με τις εν λόγω διατάξεις.

4. Η ποσότητα κάθε δείγματος, που είναι αναγκαία για τη χημική εξέταση του καθορίζεται κατά προσέγγιση, ανάλογα με το είδος του τροφίμου και τον τρόπο συσκευασίας του.

-Άρτος και προϊόντα αρτοποιίας 300 gr

-κουλούρια Σμιτίς κ.λπ. 200 gr.

5.Η αναγκαία ποσότητα για κάθε απλό δείγμα ενός είδους εφόσον δεν καθορίζεται στον παρόντα κώδικα ή δεν περιλαμβάνεται σε αυτόν το είδος αυτό, πρέπει να είναι ανάλογη με άλλο παρόμοιο περίπου είδος που περιλαμβάνεται στο Κώδικα, ώστε αυτή να είναι επαρκής για τη χημική ή κάποια άλλη εξέταση του.

6.Σε περίπτωση τροφίμων που διατίθενται σε μικρή συσκευασία, ως δείγμα παίρνεται μία ή περισσότερες άθικτες συσκευασίες με συνολική περιεκτικότητα ίση ή μεγαλύτερη από την καθοριζόμενη από την παραπάνω παράγραφο 4 ως αναγκαία ποσότητα αντίστοιχα

7. Στην περίπτωση τροφίμων που ως δείγμα παίρνεται ολόκληρη άθικτη συσκευασία ή το δείγμα παίρνεται από άθικτη συσκευασία, την ευθύνη της κανονικότητας ή όχι του τροφίμου φέρει ακέραια αυτός που έχει συσκευάσει το τρόφιμο.

8. Σε περιπτώσεις δειγματοληψίας σε ανοικτές συσκευασίες ενεργείται δειγματοληψία και σε κλειστές συσκευασίες του ίδιου είδους και συσκευαστή, εφόσον υπάρχουν τέτοιες, που συσχετίζεται απαραίτητα με την προηγούμενη και γίνεται ειδική μνεία στο πρωτόκολλο δειγματοληψίας.

9. Μετά τον αποχωρισμό αντιπροσωπευτικού δείγματος, όπως εκτίθεται παραπάνω στη παράγραφο 2, σε ποσότητα που πρέπει να είναι τριπλάσια τουλάχιστον από την αναγκαία για την εξέταση και μετά από συνεχή, πλήρη ομογενοποίηση παίρνονται δύο δείγματα, που τοποθετούνται μέσα σε ευρύλαιμες φιάλες ή εφόσον το τρόφιμο είναι υγρό, μέσα σε στενόλαιμες φιάλες που κλείνονται σύμφωνα με τον τρόπο πωματισμού που εκτίθεται παρακάτω. Αντί των παραπάνω γυάλινων φιαλών τα δείγματα μπορούν να τοποθετηθούν σε πλαστικά σακίδια ή γενικά μέσα συσκευασίας τέτοια ώστε να εξασφαλίζεται πλήρως η στεγανότητα και η ασφάλεια από τις εξωτερικές επιδράσεις του είδους που συσκευάζεται. Για ορισμένα είδη, σε στερεή ή υγρή κατάσταση, τα δείγματα είναι δυνατόν να τοποθετούνται μέσα σε ασφαλή λευκοσιδηρά κουτιά ή δοχεία. Είδη δειγμάτων για τα οποία η υγρασία δεν λαμβάνεται υπόψη κατά την εξέταση μπορούν να τοποθετούνται μέσα σε σακίδια από αδιάβροχο ή απλό χαρτί.

10. Τα μέσα που χρησιμοποιούνται για την τοποθέτηση του δείγματος πρέπει να είναι τέτοια ώστε να αποκλείεται η επίδραση με οποιοδήποτε τόπο της ύλης τους στο δείγμα, επί πλέον δε να είναι απολύτως ξηρά, καθαρά και άοσμα, ελεγχόμενα για το σκοπό αυτό προσεκτικά απ' αυτούς που κάνουν τη δειγματοληψία, ώστε τελικά να μη γεννάται καμία αμφιβολία για οποιαδήποτε αλλοίωση ή μεταβολή ή και επίδραση στα συστατικά ή στους οργανοληπτικούς χαρακτήρες του προϊόντος που δειγματίζεται. Γενικότερα, η συσκευασία των δειγμάτων που έχουν ληφθεί γίνεται κατά τρόπο που διασφαλίζει το απρόσβλητο της σύστασης τους από κάθε εξωτερική, ή από τα μέσα συσκευασίας, επίδραση ή διαρροή αυτών λόγω χαλαρού ή κακού πωματισμού ή κάποια άλλη αιτία που μπορεί να προκαλέσει εμφανή μεταβολή των μακροσκοπικών ή οργανοληπτικών χαρακτήρων ή ουσιώδη μεταβολή των εν γένει συστατικών τους. Η σφράγιση γίνεται κατά τρόπο που να διασφαλίζει το αλύμαντο αυτών, δηλαδή την αυθεντικότητα του δείγματος που περιέχεται στις φιάλες δειγματοληψίας

11. Η προσθήκη συντηρητικών στα δείγματα πρέπει να γίνεται σύμφωνα με τις διατάξεις του παρόντα κώδικα και να δηλώνεται στο πρωτόκολλο και στο δελτίο δειγματοληψίας. Η προσθήκη συντηρητικών στις περιπτώσεις που δεν αναφέρονται στα αντίστοιχα κεφάλαια του παρόντα κώδικα, απαγορεύεται, καθόσον παρακωλύει την οργανοληπτική εξέταση και μερικές φορές την κάνει επικίνδυνη.

12. Ο πωματισμός πρέπει να γίνεται με προσοχή κατά τρόπο στεγανό με πώματα καθαρά, ξηρά και άοσμα, από φελλό ή ελαστικό καθώς και με μεταλλικά που κλείνουν μηχανικά, στην περίπτωση δε αυτή, τα πώματα δεν πρέπει να έρχονται σε επαφή με το είδος που δειγματίζεται, με τη παρεμβολή μεταξύ αυτών αδιάβροχου χαρτιού, εφόσον με τέτοιο πωματισμό δεν επέρχεται αλλοίωση του δείγματος.

13. Μετά την εξασφάλιση των δειγμάτων με τον παραπάνω τρόπο μέσα σε φιάλες ή άλλα μέσα συσκευασίας, στη φιάλη ή στο μέσο συσκευασίας του δείγματος, που προορίζεται για την «κατ'έφεση εξέταση» τοποθετείται η μπροστινή όψη του δελτίου δειγματοληψίας που φέρει τις υπογραφές αυτών που δειγματίζουν και εκείνου από τον οποίο πάρθηκε το δείγμα, όπως αναφέρεται στο άρθρο 14. Στη συνέχεια τα δύο δείγματα περιτυλίγονται με χαρτί κατά τρόπο που καθιστά αδύνατη την απώλεια του παραπάνω δελτίου ή την ανάγνωση του πριν από την αποσφράγιση του δείγματος.

14. Τα δείγματα, στη συνέχεια, προσδένονται καλά και σφραγίζονται κατά τρόπο που εξασφαλίζει το απαραβίαστο τους. Η σφράγιση γίνεται με τη βοήθεια Ισπανικού κηρού και με ιδιαίτερη σφραγίδα κατά προτίμηση μεταλλική και κατά τρόπο ώστε να αποτυπώνονται σαφώς τα διακριτικά σημεία της. Για τη σφράγιση των δειγμάτων μπορούν να χρησιμοποιηθούν, αντί για ισπανικό κήρο, μολυβδίδες που σφραγίζονται με ειδικές μολυβδοσφραγίδες.

15. μετά τη σφράγιση των δειγμάτων, όπως παραπάνω, στα άκρα του σπάγκου πρόσδεσής τους αναρτάται από ένα δελτίο δειγματοληψίας του τύπου που ορίζεται στο επόμενο άρθρο, το οποίο πρέπει απαραίτητα να φέρει γραμμένη πάνω σε αυτό, κατά περίπτωση τη φράση «για την πρώτη εξέταση» ή «Για την κατ'έφεση εξέταση» Το δελτίο που φέρει τη τελευταία φράση αναρτάται στο δείγμα που φέρει εσωτερικά συσκευασμένο, όπως ορίζεται στη παράγραφο 12, το τρίτο δελτίο δειγματοληψίας που φέρει τις υπογραφές αυτών που δειγματίζουν και αυτού από τον οποίο πάρθηκε το δείγμα.

16. Η Συσκευασία, η σφράγιση και η επισήμανση των δειγμάτων που παίρνονται γίνονται στον τόπο δειγματοληψίας και παρουσία του κυρίου ή κατόχου ή αντιπροσώπου ή μεταφορέα του είδους. Σε περίπτωση άρνησής τους να παραστούν, αυτό αναγράφεται στο πρωτόκολλο δειγματοληψίας που συντάσσεται.