



ΤΕΙ ΚΑΛΑΜΑΤΑΣ
ΤΜΗΜΑ
ΕΚΔΟΣΕΩΝ & ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗΣ

ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ ΚΑΛΑΜΑΤΑΣ

ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΡΓΙΚΩΝ ΠΡΟΙΟΝΤΩΝ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Αξιολόγηση της επικινδυνότητας της μελαμίνης στα τρόφιμα-Νομοθεσία

ΣΠΟΥΔΑΣΤΡΙΑ:
ΚΑΤΣΟΥΛΩΤΟΥ ΧΡΥΣΟΥΛΗ

ΕΠΙΒΛΕΠΟΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ:
ΒΑΡΖΑΚΑΣ ΘΕΟΔΩΡΟΣ

ΚΑΛΑΜΑΤΑ 2011




Ευχαριστίες

Σε αυτό το σημείο θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον κύριο Βαρζάκα Θεόδωρο, υπεύθυνο καθηγητή για την πτυχιακή μου μελέτη, για την πολύτιμη βοήθειά του κατά τη διεξαγωγή της έρευνας και της συγγραφής αυτής της πτυχιακής εργασίας.

Ξεχωριστά θα ήθελα να ευχαριστήσω το ΤΕΙ Καλαμάτας, τη διοίκηση της σχολής και τους διδάσκοντες του τμήματος, που έτυχε να συνεργαστώ κατά τη διάρκεια της φοίτησής μου.

Επίσης, ένα μεγάλο ευχαριστώ στην οικογένεια μου και στους φίλους μου για την ψυχική υποστήριξη που μου προσέφερε καθ' όλη τη διάρκεια της διεξαγωγής και συγγραφής της πτυχιακής εργασίας.



Περιεχόμενα :

Περιεχόμενα.....	3-5
Περίληψη	6-9
1. Εισαγωγή	10-13
1.1. Βακτηρικός μεταβολισμός	12
1.2 Επιπτώσεις στην υγεία	12
2. Φυσικοχημικές ιδιότητες.....	13-15
2.1. Φυσικοχημικές ιδιότητες της μελαμίνης και των αναλόγων της.....	13
2.2. Φυσικοχημικές ιδιότητες της μελαμίνης και της μελαμίνης του συγκροτήματος κυανουρικού οξέος.....	14
3. Χρήσεις.....	16-20
3.1. Τρόφιμα, υλικά και αντικείμενα.....	17
3.1.1. Μελαμίνη- φορμαλδεΰδη στα αντικείμενα.....	18
3.2. Επιστρώσεις μελαμίνης.....	18
3.3. Κόλλες και ρητίνες μελαμίνης.....	19
3.4. Επιχρίσματα μελαμίνης για στεγανοποίηση αερίων.....	19
3.5. Τα διαθέσιμα στοιχεία σχετικά με τα παρασκευάσματα για βρέφη και τα γαλακτοκομικά προϊόντα από την Κίνα.....	19
3.6 Παραγωγή γάλακτος σε σκόνη.....	20
4. Μέθοδοι εντοπισμού και ανάλυσης.....	21-28
4.1. Δεδομένα από τις αναλύσεις στα τρόφιμα.....	23
4.2. Η αξιοπιστία των αποτελεσμάτων των αναλύσεων.....	25
4.2.1. Διαδικασία εκχύλισης.....	26
4.2.2 Παρεμβολές.....	26
4.2.3. Matrix Καταστολή.....	27
4.2.4. Διασταυρούμενη αντίδραση.....	27
4.3. Συμπεράσματα σχετικά με την αξιοπιστία των αποτελεσμάτων των αναλύσεων.....	28
4.4. Οι μέθοδοι ανάλυσης που χρησιμοποιούνται στα κλινικά δείγματα.....	28
5. Το περιστατικό της μόλυνσης.....	29-55
5.1. Συνοπτικά στοιχεία.....	29
5.2. Τα στοιχεία από τις ευρωπαϊκές χώρες.....	29
5.3 Στοιχεία από την βιομηχανία.....	31

5.4 Η εμφάνιση της μελαμίνης στα τρόφιμα.....	33
5.4.1. Τα δεδομένα για την εμφάνιση της μελαμίνης σε τρόφιμα που προέρχονται από τις ευρωπαϊκές χώρες.....	33
5.4.2. Δεδομένα για την εμφάνιση της μελαμίνης στα τρόφιμα που προέρχονται από τη βιομηχανία.....	35
5.4.3. Επίπεδα μελαμίνης από υλικά σε επαφή με τα τρόφιμα.....	38
5.4.3.1. Η μετανάστευση της μελαμίνης από τα υλικά που έρχονται σε επαφή με τα τρόφιμα.....	38
5.4.3.1.1. Melaware.....	38
5.4.3.2. Κόλλες και διάφορες χρήσεις της μελαμίνης σε επαφή με τα τρόφιμα.....	48
5.5. Τα σενάρια της έκθεσης.....	50
5.5.1. Υποθετική διαθρεπτική πρόσληψη μελαμίνης από την κατανάλωση μπισκότων.....	50
5.6. Υποθετική διαθρεπτική πρόσληψη μελαμίνης από την κατανάλωση ειδών ζαχαροπλαστικής.....	52
5.7. Οι εκτιμήσεις της έκθεσης σε σχέση με την υγεία.....	54
6. Τοξικότητα.....	56-80
6.1 Πειράματα για την τοξικότητα μελαμίνης.....	56
6.2. Καρκινογένεση από τη μελαμίνη.....	56
6.3. Τοξικότητα του κυανουρικού οξέος.....	57
6.4. Συνδυασμένη τοξικότητα από μελαμίνη και κυανουρικό οξύ	57
6.5. Προσωρινά μέτρα για την ασφάλεια και την αξιολόγηση των κινδύνων.....	58
6.6 Η έκθεση αξιολόγησης της μελαμίνης στον άνθρωπο.....	60
6.6.1 Κατανάλωση τροφής.....	60
6.6.2 Κατανάλωση τροφής για βρέφη και μικρά παιδιά.....	61
6.6.3 Η έκθεση σε ενήλικες με βάση τα στοιχεία.....	61
6.6.4 Η δυνητική έκθεση ενηλίκων στη μελαμίνη που προκύπτει από τη χρήση κυανουρικού.....	62
6.6.5 Η προσρροφητικότητα των υλικών που έρχονται σε επαφή με τη μελαμίνη σε έκθεση με τα τρόφιμα.....	63
6.7 Εντοπισμός του κινδύνου και των χαρακτηριστικών.....	64
6.7.1 Τοξικότητα.....	64
6.7.2 Τα πειραματόζωα.....	64

6.7.3 Οι άνθρωποι	68
6.8. Δεδομένα τοξικότητας στα πειραματόζωα	69
6.8.1. Μελαμίνη.....	69
6.8.1.1. Οξεία τοξικότητα.....	69
6.8.1.2. Βραχυπρόθεσμες μελέτες	69
6.8.1.3. Υποχρόνιες μελέτες σε αρουραίους.....	69
6.8.1.4. Μακροπρόθεσμες μελέτες.....	75
6.9. Γονοτοξική και καρκινογόνος δράση.....	76
6.10. Αναπαραγωγική και αναπτυξιακή τοξικότητα.....	77
6.11. Δεδομένα τοξικότητας μελαμίνης.....	77
6.12. Τοξικότητα κυανουρικού οξέος, ammeline και ammelide.....	79
7. Νομοθεσία.....	81-86
7.1. Κίνητρα και ευκαιρίες για την προσθήκη μελαμίνης στο γάλα.....	82
7.2. Όροι ειδικής μετανάστευσης της μελαμίνης στα τρόφιμα που έρχονται σε επαφή.....	83
7.3. Μέτρα σχετικά με τα ανώτατα επίπεδα μόλυνσης τροφίμων από την Κίνα.....	83
7.4. Η νομοθεσία για τη μελαμίνη σε άλλα τρόφιμα.....	84
7.5. Η νομοθεσία για τις πρόδρομες ουσίες μελαμίνης.....	84
7.6. Δελτία τύπου ΕΦΕΤ.....	85
8. Συμπεράσματα.....	87-92
9. Βιβλιογραφία.....	93-104

Περίληψη

Η Ευρωπαϊκή αρχή ασφάλειας Τροφίμων (EFSA) κλήθηκε από την Ευρωπαϊκή Επιτροπή (EC) να παρουσιάσει με επιστημονική γνώματευση τη παρουσία της μελαμίνης και των δομικών ανάλογών της, όπως το κυανουρικό οξύ, ammeline και ammelide στα τρόφιμα.

Η παράνομη νοθεία των τροφίμων με μελαμίνη είχε ως αποτέλεσμα την ασθένεια αλλά και τον θάνατο βρεφών, κυρίως από νεφρική βλάβη που προκλήθηκε από την δημιουργία κρυστάλλων ή λίθων στο ουρικό σύστημα. Στα βρέφη που έλαβαν προϊόντα αναμειγμένα με σχετικά καθαρά παρασκευάσματα μελαμίνης, οι κρύσταλλοι, που δημιουργήθηκαν αποτελούνται από συμπλέγματα μελαμίνης με ουρικό οξύ, οι οποίοι αναλύθηκαν στα ούρα. Ακόμη πραγματοποιήθηκαν και πειράματα με ζώα στα οποία χορηγήθηκε μελαμίνη είτε μεμονωμένα είτε σε συνδυασμό με το κυανουρικό οξύ.

Μετά τα επεισόδια με τα μολυσμένα τρόφιμα από μελαμίνη (με ή χωρίς ανάλογα) αρκετές μέθοδοι έχουν αναπτυχθεί για την ανάλυση της από διάφορους φορείς. Ως εκ τούτου, αξιόπιστη εξαγωγή και δείγματα από τις τεχνικές καθαρισμού είναι διαθέσιμα για τα περισσότερα είδη τροφίμων, συμπεριλαμβανομένων και των τροφίμων με υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη, λίπη και υδατάνθρακες. Η πιο ευαίσθητη και εκλεκτική αναλυτική μέθοδος για τη μέτρηση της μελαμίνης και των δομικών αναλόγων της είναι η LC-MS/MS (υγρή χρωματογραφία σε συνδυασμό με τη μάζα παράλληλης φασματομετρία).

Η EFSA έχει λάβει 2239 δείγματα για την εμφάνιση μελαμίνης στα τρόφιμα και τις ζωοτροφές από τις Ευρωπαϊκές χώρες. Αυτά ήταν αποτελέσματα της στοχοθετημένης δειγματοληψίας και επικεντρώθηκε σε προϊόντα που θεωρείται πιθανή η νοθεία. Επειδή δεν ήταν αντιπροσωπευτικά των βασικών επιπέδων, δεν θεωρήθηκαν κατάλληλα για την αξιολόγηση της διαθρεπτικής έκθεσης σε μελαμίνη, όπως απαιτείται από τις αναφορές αυτής της άποψης αυτής. Δεν υποβλήθηκαν στοιχεία για το κυανουρικό οξύ από τις ευρωπαϊκές χώρες. Τα μόνα στοιχεία αφορούν τον συνδυασμό της μελαμίνης και του κυανουρικού οξέος, τα οποία προέρχονται από την βιομηχανία. Τα στοιχεία σχετικά με τα τρόφιμα που έχουν χρησιμοποιηθεί από την

ομάδα Αξιολόγησης Υπολειμμάτων στην τροφική αλυσίδα (Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM Panel)) χρησιμοποιούνται ως βάση της διαθρεπτικής έκθεσης, μετά τον αποκλεισμό ενός μικρού αριθμού δειγμάτων με υψηλές τιμές που σχετίζεται με τα περιστατικά της νοθείας. Για τους ενήλικες η υψηλή κατανάλωση, εκτιμάται από την διαθρεπτική έκθεση σε διαφορετικά είδη μελαμίνης στην ΕΕ με βάση το ανώτατο όριο τιμών από τα περιστατικά που είναι κάτω από 11 μg/kg βάρους σώματος (b.w.) ανά ημέρα. Για τα βρέφη που τρέφονται αποκλειστικά και μόνο από την σκόνη γάλακτος, η διαθρεπτική έκθεση σε μελαμίνη εκτιμάται κάτω από 2 μg/kg b.w. ανά ημέρα. Για τους ενήλικες που έχουν μεγάλη κατανάλωση, ο υπολογισμός της διαθρεπτικής έκθεσης για το κυανουρικό οξύ όπως εκτιμάται για τις διάφορες χώρες της ΕΕ με βάση το ανώτατο όριο τιμών στα περιστατικά που είναι κάτω από 16 μg/kg b.w. την ημέρα. Για τα βρέφη που τρέφονται αποκλειστικά και μόνο με την σκόνη γάλακτος, η διαθρεπτική έκθεση εκτιμάται ότι είναι για το κυανουρικό οξύ κάτω από 6 μg/kg b.w. την ημέρα. Οι εκτιμήσεις αυτές θεωρούνται συντηρητικές. Επειδή πολλά από τα δεδομένα εμφανίζουν ανώτατο όριο των τιμών της μελαμίνης και του κυανουρικού οξέος κάτω από το όριο ανίχνευσης.

Η έκθεση σε μελαμίνη η οποία προέρχεται από την μετανάστευση των υλικών σε επαφή με τα τρόφιμα, υπολογίζεται από την ομάδα (CEF Panel) σε υλικά σε επαφή με τα τρόφιμα, τα ένζυμα, τις αρωματικές ύλες και βοηθητικά μέσα επεξεργασίας (CEF Panel). Μια αρχική εκτίμηση αναφέρει ότι υψηλότερη δυναμική έκθεσης αφορούσε τα παιδιά. Ως εκ τούτου η έκθεση σε μελαμίνη προκύπτει από την μετανάστευση των υλικών που έρχονται σε επαφή με τα τρόφιμα όπως εκτιμήθηκε με βάση δύο πιθανά σενάρια (Α και Β) με την χρήση της βάσης δεδομένων για τα επιμέρους στοιχεία της κατανάλωσης τροφίμων για τα παιδιά (EXPOCHI) για 13 διαφορετικά κράτη μέλη καθώς και τα χαρακτηριστικά των υψηλών επιπέδων μετανάστευσης στην μελαμίνη από τα «πρότυπα» melaware αντικείμενα (σενάριο Α), καθώς και τον συνδυασμό χρόνου και θερμοκρασίας (σενάριο Β), αντίστοιχα. Η έκθεση θεωρητικά υπολογίζεται με βάση το ότι κάθε τρόφιμο ή ποτό μπορεί να έρθει σε επαφή με υψηλά επίπεδα της μελαμίνης απελευθερώνοντας melaware αθροιστικά, στο πλαίσιο κάθε ημέρας, με την έκθεση για όλα τα είδη τροφίμων, να παρουσιάζεται όπως στο σενάριο Α. Για το σενάριο Β, και μόνο, η έκθεση από ένα τρόφιμο δίνει την υψηλότερη εκτίμηση έκθεσης θεωρητικά μέσα σε μια ημέρα. Σε αυτό το σενάριο της έκθεσης σε μελαμίνη, για όλα τα είδη τροφίμων, έχει παρατηρηθεί ότι δεν πραγματοποιείται εντός της ίδιας

ημέρας. Το σύνολο της έκθεσης σε μελαμίνη την ημέρα εκτιμάται από την εξέταση των τυπικών επιπέδων μετανάστευσης (σενάριο A) που κυμαίνεται από 30 έως 80 $\mu\text{g}/\text{kg b.w}$ την ημέρα (μέσος όρος) και από 50 έως 120 $\mu\text{g}/\text{kg b.w}$ την ημέρα (95th percentile). Η έκθεση μιας μέρας για ένα τρόφιμο/ποτό εξαρτάται από τα επίπεδα μετανάστευσης (σενάριο B) που κυμαίνονται από 40 έως 110 $\mu\text{g}/\text{kg b.w}$ την ημέρα (μέσος όρος) και 70 έως 230 $\mu\text{g}/\text{kg b.w}$ την ημέρα (95th percentile).

Η μελαμίνη απορροφάται γρήγορα από το γαστρεντερικό σωλήνα και γρήγορα αποβάλλεται από τον οργανισμό, με χρόνο ημίσειας ζωής 4-5 ώρες όπως παρατηρήθηκε σε αρουραίους και Rh^- πηθήκους με μικρό ή μηδενικό μεταβολισμό. Οι περιορισμένες διαθέσιμες πληροφορίες για το κυανουρικό οξύ δείχνουν επίσης μια ταχεία απορρόφηση και ταχεία εξάλειψη από τον οργανισμό, μέσω της ούρησης με μικρή η καθόλου βιομετατροπή. Εάν η συγκέντρωση της μελαμίνης στα ούρα είναι αρκετή για τον σχηματισμό κρυστάλλων είναι πιθανή η πρόκληση βλαβών στις αρτηρίες και τα νεφρά. Ο σχηματισμός κρυστάλλων είναι εξαρτημένος από το pH και είναι πιθανό να εμφανίζεται στην τιμή pH 5.5. Οι άνθρωποι μπορεί να είναι πιο ευαίσθητοι στην κατακράτηση της μελαμίνης και του ουρικού οξέος επειδή οι άνθρωποι εκκρίνουν περισσότερο ουρικό οξύ στα ούρα από τα περισσότερα θηλαστικά λόγω της έλλειψης της οξειδάσης στο ουρικό οξύ, και επίσης επειδή το ουρικό pH είναι χαμηλότερο στα τρωκτικά. Στα νεογνά, η απέκκριση του ουρικού οξέος στα ούρα είναι μεγαλύτερη σε σχέση με τους ενήλικες. Η παρουσία των κρυστάλλων στα ούρα είναι αυτή που οδηγεί σε βλάβη στα νεφρά. Οι επιπτώσεις της μελαμίνης δεν οφείλονται σε συστηματική τοξικότητα αλλά στις φυσικοχημικές ιδιότητες της.

Από τα δεδομένα για τους ανθρώπους, η ομάδα CONTAM Panel υπολόγισε το BMD_{10} των 1.1 $\text{mg}/\text{kg b.w}$ την ημέρα για 10% της αύξησης της συχνότητας νεφροπάθειας. Αν και τα στοιχεία δεν είναι κατάλληλα για τον υπολογισμό της ανεκτής ημερήσιας πρόσληψης TDI (Tolerable Daily Intake) λόγω της αβεβαιότητας της εκτίμησης της έκθεσης στους ανθρώπους, αυτό το BMD_{10} προβλέπει δικαιολογητικά που αποδεικνύουν την επάρκεια του TDI για 0.2 $\text{mg}/\text{kg b.w}$. όπως προκύπτουν από τα πειραματόζωα.

Το TDI για το κυανουρικό οξύ είναι 1.3 $\text{mg}/\text{kg b.w}$. το οποίο ορίστηκε με βάση προηγούμενη αξιολόγηση από το απολυμαντικό dichloroisocyanurate. Οι

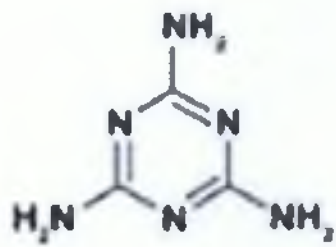
τοξικολογικές βάσεις δεδομένων για τα ammelide και ammeline είναι εξαιρετικά περιορισμένες και ως εκ τούτου δεν αποδεικνύουν κάτι για το TDI.

Η διαθρεπτική έκθεση σε μελαμίνη και κυανουρικό οξύ εκτιμήθηκε ατομικά από τα σχετικά δείγματα με φόντο τις διαθέσιμες πηγές, που είναι χαμηλότερες από τα αντίστοιχα TDIs και δεν εγείρει ανησυχία για την υγεία των καταναλωτών.

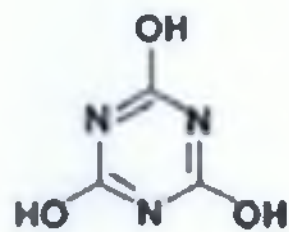
Το σημείο SML για την μελαμίνη και τα τρόφιμα που έρχονται σε επαφή με τα αντικείμενα επανεξετάζεται με βάση τα TDI για 0.2 mg/kg b.w. λαμβάνοντας υπόψη όλες τις πηγές έκθεσης. Είναι απαραίτητη η μελέτη της συνύπαρξης της μελαμίνης και των δομικών αναλόγων της (κυανουρικό οξύ, ammelide, ammeline) στα τρόφιμα. Υπάρχει ανάγκη για πρόσθετες πληροφορίες σχετικά με τη σχέση δόσης-απόκρισης στο συνδυασμό της μελαμίνης με τα άλλα δομικά ανάλογα της (κυανουρικό οξύ, ammelide, ammeline). Η ανάπτυξη ενός μοντέλου για την φυσιολογική ανάλυση της τοξικότητας με βάση τα τοξικολογικά δείγματα είναι αναγκαία για την βελτίωση της ανταπόκρισης των προσομοιωτών στη δόση.

1. Εισαγωγή

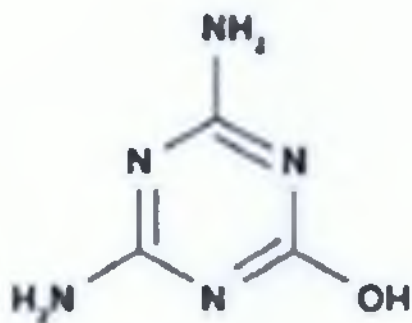
Η μελαμίνη (2,4,6-triamino -1,3,5-triazine, CAS number 108-78-1, με μοριακό τύπο $C_3H_6N_6$ και μοριακό βάρος 126g/mol) είναι ένα χημικό ενδιάμεσο που χρησιμοποιείται στην παρασκευή αμινορητινών και πλαστικών. Η μελαμίνη, γνωστή και ως tripolycyanamide, μακροχρόνια έχει μεγάλο αριθμό βιομηχανικών χρήσεων για την παραγωγή ειδικής κόλλας και πλαστικών υλών. Διατίθεται στο εμπόριο από τα τέλη της δεκαετίας του 1930 και σε συνδυασμό με τη φορμαλδεΐδη παράγει τη ρητίνη που την καθιστά ανθεκτικό πλαστικό. Με αυτό τον τρόπο παρασκευάζονται πλαστικά ελάσματα και υλικά που έρχονται σε επαφή με τρόφιμα, όπως για παράδειγμα μαγειρικά σκεύη. Το πολυμερές της μελαμίνης συναντάται επίσης σε προϊόντα καθαρισμού, σε υφάσματα, σε κόλλες, σε ειδικά επιβραδυντικά. Επιπλέον, αποτελεί σημαντικό συστατικό κίτρινης χρωστικής για μελάνια και πλαστικά. Χρησιμοποιείται ακόμα σε λιπάσματα ως πηγή αζώτου στη διατροφή των ζώων, καθώς τα βοηθάει στον μεταβολισμό τους. Η μελαμίνη προστίθεται σε φάρμακα, για την αποδόμηση φυτοφαρμάκων και κτηνιατρικών φαρμάκων ως μεταβολίτης της cytomazine. Η κυρομαζίνη είναι εγκεκριμένο εντομοκτόνο, το οποίο χρησιμοποιείται σε ένα ευρύ φάσμα κηπευτικών καλλιεργειών. Ανάλογα με την διαδικασία καθαρισμού η μελαμίνη μπορεί να περιέχει ορισμένα δομικά στοιχεία παρόμοια με τα υποπροϊόντα, ιδίως κυανουρικό οξύ, ammelide και ammeline. “Scrap melamine” είναι κατάλοιπα από την βιομηχανική χρήση της μελαμίνης που εκτός από μελαμίνη περιέχονται και υπολείμματα oxytriazines, συμπεριλαμβανομένου κυανουρικού οξέος (CAS 108-80-5). Τέλος η μελαμίνη βρίσκει χρήση και ως ειδικό φάρμακο για τη θεραπεία της αφρικανικής ασθένεια του ύπνου (τρυπανοσωμίαση).



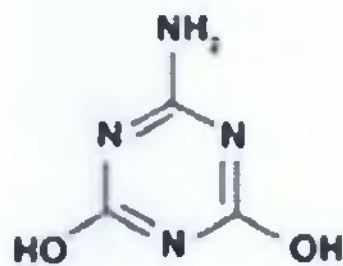
Melamine



Cyanuric acid



Ammeline

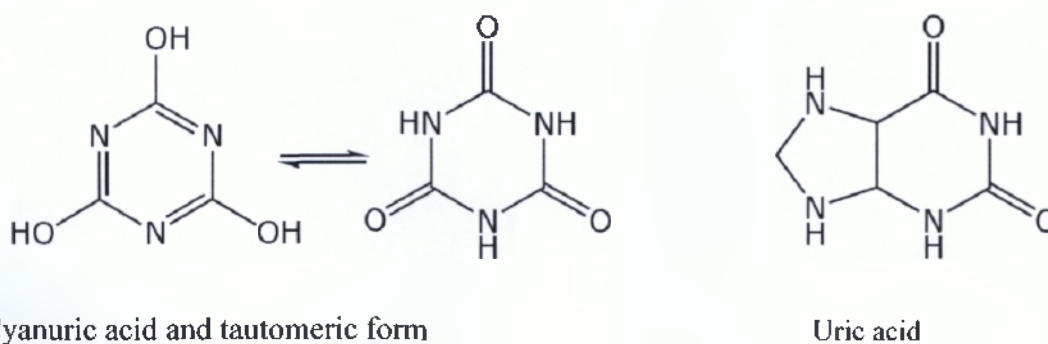


Ammelide

Σχήμα 1 Χημικές δομές μελαμίνης και αναλόγων της

1.1 Βακτηρικός μεταβολισμός

Σε μια προσπάθεια για την μελέτη της αποτελεσματικότητας των τριαζινών ως λιπάσματα παρατηρήθηκε ο μεταβολισμός της μελαμίνης από δύο στελέχη βακτηρίων του εδάφους, *Pseudomonas* στελέχους A και *Klebsiella terrigena*. Η μελαμίνη προστίθεται ως μόνη πηγή αζώτου έτσι διάφορα στελέχη και των δύο ειδών βακτηρίων ήταν σε θέση για απαμίνωση της μελαμίνης σε ammeline, ammeline και κυανουρικό οξύ. Μετά από διάσπαση με υδρόλυση ο δακτύλιος του κυανουρικού οξέος μετατρέπεται σε NH_4 (αμμωνία) και διοξείδιο του άνθρακα και με περαιτέρω ανάλυση σε ουρία και διουρία (Jutzi et al, 1982.; Shelton et al 1997). Η απαμίνωση αποτελεί κοινή οδό για τα Rumen βακτήρια και πρωτόζωα με συνέπεια να δημιουργεί έναν στομαχικό βιομετατροπέα της μελαμίνης. Σχετικά με την τοξικότητα των αναλόγων υπάρχουν περιορισμένες πληροφορίες έτσι η επίδραση τους αντιμετωπίζεται ως ισάξια της μελαμίνης (Wallace, 1996)



Cyanuric acid and tautomeric form

Uric acid

Σχήμα 2: Δομές κυανουρικού οξέος και της ταυτομέρειας προς ουρικού οξέος

1.2 Επιπτώσεις στην υγεία

Το κύριο όργανο που επηρεάζει η μελαμίνη είναι ο νεφρός. Η πρώην Ευρωπαϊκή Επιστημονική Επιτροπή Τροφίμων (SCF) συνιστά ως ανεκτό όριο ημερήσιας πρόσληψης (TDI) τα 0,5 mg/kg σωματικού βάρους (b.w.) για την μελαμίνη και τα τρόφιμα που έρχονται σε επαφή με τα υλικά. Τα στοιχεία που έχουν δοθεί δεν αφορούν την παραγωγή (EC, 1986). Λαμβάνοντας υπόψη τα διαθέσιμα στοιχεία σχετικά με την μελαμίνη και την τοξικότητα της η EFSA συνέστησε την εφαρμογή

TDI των 0,5mg/kg b.w. Επίσης για την περίπτωση των μολυσμένων τροφίμων επειδή δεν υπάρχει χρονοδιάγραμμα για την ανάπτυξη της νεφρικής βλάβης η EFSA χρησιμοποίησε το TDI ως προστατευτικό για την έκθεση στη διάρκεια της ζωής. Στόχος είναι η εξέταση των πιθανών επιπτώσεων της έκθεσης σε μελαμίνη σε σχετικά σύντομο χρονικό διάστημα, που ενδέχεται να προκύψει από την επαναλαμβανόμενη κατανάλωση προϊόντων, μολυσμένα από μελαμίνη. Η Αμερικανική Υπηρεσία Τροφίμων και Φαρμάκων (FDA) από όπου προέρχεται το TDI έχει ορίσει για την μελαμίνη τα 0,63 mg/kg b.w (FDA, 2007).

2. Φυσικοχημικές ιδιότητες

2.1. Φυσικοχημικές ιδιότητες της μελαμίνης και των αναλόγων της.

Η μελαμίνη (2,4,6-τριαμινο -1,3,5-τριαζίνη) είναι μια λευκή σκόνη που διακινείται στο εμπόριο με υψηλό σημείο τήξης του ca. 354 °C. Είναι ελαφρά διαλυτή σε κρύο νερό (περίπου 3,1g/L στους 20 °C), όπως αναμένεται το χαρακτηριστικό της ως ασθενές βασικό την κάνει πιο διαλυτή σε όξινο περιβάλλον. Ελάχιστα διαλυτή σε πολικό οργανικό διαλύτη (π.χ. <1 g/L σε 95% αιθανόλη και ακετόνη) και ουσιαστικά αδιάλυτη σε μη πολικούς διαλύτες όπως το βενζόλιο, το εξάνιο και ο αιθέρας (OECD, 2002).

Το κυανουρικό οξύ (2,4,6-τριυδροξύ-1,3,5-τριαζίνη) είναι κρυσταλλική σκόνη με υψηλό σημείο τήξης περίπου 360°C. Η ουσία αυτή είναι ελάχιστα διαλυτή στο κρύο νερό (περίπου 2g/L) και μάλλον αδιάλυτη σε πολικό και μη πολικό διαλύτη. Όπως ήταν αναμενόμενο από τον όξινο χαρακτήρα του είναι διαλυτό σε αλκαλικό pH.

Το ammeline (4,6-διαμινο-2-υδροξύ-1,3,5-τριαζίνη) είναι μια λευκή σκόνη η οποία αποσυντίθεται πριν την τήξη. Έχει ασθενώς όξινες ιδιότητες και είναι διαλυτή σε υδατικά αλκαλικά και οργανικά οξέα.

Το ammelide (6-αμινο-2,4-διυδροξύ-1,3,5-τριαζίνη) είναι μια λευκή σκόνη που είναι ουσιαστικά διαλυτή στο νερό. Στους 170°C αποσυντίθεται και σχηματίζει διοξείδιο του άνθρακα και αμμωνία. (Bann και Miller, 1958)

2.2. Φυσικοχημικές ιδιότητες της μελαμίνης και της μελαμίνης του συγκροτήματος κυανουρικού οξέος.

Η μελαμίνη μπορεί να σχηματίσει από κοινού ίζημα με ουρικό οξύ (που στη φύση βρίσκεται στα ούρα) ή κυανουρικό οξύ (αποβάλλεται από τα ούρα όταν παρουσιάζεται ταυτόχρονη έκθεση). Αυτά οι ενώσεις είναι πολύ σταθερές και μπορεί να υδρολύονται σε πολύ χαμηλό ή πολύ υψηλό pH. Σε ουδέτερο pH η συγγένεια της μελαμίνης για την ανίχνευση του ουρικού οξέος είναι 29 φορές μικρότερη από την αντίστοιχη της μελαμίνης για το κυανουρικό. Ωστόσο, σε pH 4, είναι 6,4 φορές πιο δεσμευτική σε σχέση με τη μελαμίνη στο ουρικό οξύ ταυτίζοντας την σε σύγκριση με pH 7. Με βάση την αύξηση της σταθεράς διάστασης K_a και με την αύξηση του pH (140, 204, 490 και 900 mmol/L σε pH 4,0, 5,0, 6,0 και 7,0, αντίστοιχα). Έτσι, σε αντίθεση με την μελαμίνη του κυανουρικού συγκροτήματος, η σταθερά της μελαμίνης του ουρικού οξέος ως σύμπλοκο μειώνεται όσο αυξάνει το pH (Tolleson et al. 2009). Στις “in vitro” μελέτες μελαμίνης και ουρικού οξέος σχηματίζεται μια ένωση αδιάλυτη στο ουρικό οξύ με $pH < 0,5$. Το ουρικό οξύ και η μελαμίνη αναμειγνύονται σε υδατικά διαλύματα με τιμές του $pH > 5,5$ και δεν δημιουργούν κρυστάλλους. Δεδομένου ότι η μελαμίνη είναι διαλυτή στο νερό, και το ουρικό οξύ είναι η ανιονική μορφή του σε $pH > 5,5$, ο σχηματισμός αδιάλυτων στερεών μπορεί να πραγματοποιηθεί μόνο σε όξινες τιμές pH (Grases et al. 2009).

Η σταθερότητα των κρυστάλλων βασίζεται στη συνεργασία της μελαμίνης-κυανουρικού κάτω από διάφορες συνθήκες pH (Tolleson 2009). Η μελαμίνη και το κυανουρικό οξύ είναι γνωστό ότι αποτελούν ένα δίκτυο καλά οργανωμένων διαμοριακών ιστών που αυτο-συναρμολογείται αυθόρμητα. Η κετο-μορφή του κυανουρικού οξέος σε ισορροπία με την ενολο-μορφή είναι η μορφή που συμμετάσχει στο συνδετικό δίκτυο του υδρογόνου με τη μελαμίνη. Το pH του διαλύτη επηρεάζει το βαθμό στον οποίο τόσο η μελαμίνη και το κυανουρικό οξύ υπάρχουν σε ανιονική μορφή που είναι διαθέσιμη για τους δεσμούς υδρογόνου. Παρά το γεγονός ότι το κυανουρικό οξύ είναι πολυπρωτικό οξύ και η μελαμίνη πολυβασική, ο πρώτος ιονισμός (pK_a 4,74 και 5,34, αντίστοιχα) είναι φυσιολογικά μέσα σε pH 5,0-7,3 όπως βρέθηκαν στο νεφρό. Κάτω από pH 6 η μελαμίνη μετατρέπεται από την αφόρπιστη ελεύθερη μορφή αμίνης σε κατιόν αμμωνίου, αποσταθεροποιώντας δεσμούς υδρογόνου με την κετο-μορφή του κυανικού οξέος.

Ομοίως, το κυανουρικό οξύ διασπάται πάνω από pH 4 έως ότου πάρει τη μορφή της βάσης του συμπλόκου, επίσης, αποσταθεροποιείται η μελαμίνη και το κυανουρικό συγκρότημα οξέος. Η ανώτερη συγκέντρωση ελεύθερου οξέος και ελεύθερης βάσης είναι διαθέσιμες για τον σχηματισμό δεσμών υδρογόνου και μπορεί να υπολογιστεί από τον μέσο όρο των δύο τιμών pKa, π.χ. το pH 5.04. Σε συνθήκες σταθεράς ιονισμού ισχύος που είναι παρόμοιες με του πλάσματος ($I=0,15$) και σε ένα εύρος pH που εκτείνεται από τους νεφρώνες, παρατηρήθηκε μια ελάχιστη διαλυτότητα για τη μελαμίνη και το κυανουρικό οξύ κοντά στο pH 5 (Tolleson 2008).

Η καμπύλη διαλυτότητας αντανακλά τη διαλυτότητα της μελαμίνης και του κυανουρικού συγκροτήματος σε διαφορετικά pH (Tolleson 2009). Στη χαμηλή όμως ιοντική αντοχή του συγκροτήματος η σταθερότητα είναι μειωμένη σε $pH < 5$, και σχεδόν επηρεάζεται από υψηλότερα pH. Ωστόσο, η υψηλότερη ιοντική ισχύ ($I=1$;) αντικατοπτρίζει την ιοντική ισχύ σε ορισμένα τμήματα. Επίσης, σε $pH > 6,5$ μειώνεται η σταθερότητα των συμπλόκων, μετά τη διερεύνηση της διαλυτότητας της μελαμίνης μεμονωμένα και σε συνδυασμό με το κυανουρικό οξύ στα ούρα των ανθρώπων και των αρουραίων. Μια ισχυρή εξάρτηση του pH παρατηρήθηκε με την χαμηλότερη διαλυτότητα να βρίσκεται μεταξύ pH 5 - 5,5. Σε pH 5,5 η διαλυτότητα της μελαμίνης στα ούρα των αρουραίων ήταν 6,9 φορές υψηλότερη απ' όα στον άνθρωπο (Dominguez-Estevez et al. 2010).

3. Χρήσεις

Οι κύριες χρήσεις της μελαμίνης και των πρόδρομων ουσιών της συνοψίζονται κατωτέρω και περιλαμβάνουν τα υλικά και τα αντικείμενα που έρχονται σε επαφή με τα τρόφιμα, όπως μελαμίνη-φορμαλδεΰδη ('melaware'), επιχρίσματα κονσέρβας, χαρπού και χαρτονιού, κόλλες και φυτοφάρμακα που χρησιμοποιούνται ως φυτοπροστατευτικά αλλά και στην κτηνιατρική. Όταν η μελαμίνη αναμειγνύεται με ρητίνες, έχει βραδύκαυστες ιδιότητες λόγω της απελευθέρωσης αερίου αζώτου κατά την καύση ή την απανθράκωση (US FDA).

Τα ποσοστά που προέρχονται από αυτές τις πηγές αντιπροσωπεύουν μόνο ένα κλάσμα των επιπέδων αναφοράς για την έκθεση των ανθρώπων στη μελαμίνη. Τα διαθέσιμα στοιχεία διαφέρουν εξαιτίας του ότι οι ενώσεις αυτές δεν ελέγχονται συνεχώς. Χαμηλά επίπεδα μελαμίνης είναι δυνατό να ανιχνευτούν σε λύματα νερού ως αποτέλεσμα της χρήσης της στη βιομηχανία, την παραγωγή και τη διάθεση. Η μελαμίνη είναι ένας μεταβολίτης του cyromazine, που μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως φυτοπροστατευτικό ή κτηνιατρικό φάρμακο. Κατάλοιπα του cyromazine και της μελαμίνης έχουν ανιχνευθεί σε φυτικές καλλιέργειες μετά την εφαρμογή με ψεκασμό trichloromelamine, η οποία μπορεί να αποσυντίθεται σε μελαμίνη (Patakíoutas et al. 2007).

Η χρήση της μελαμίνης επιτρέπεται στις ΗΠΑ για απολύμανση εξοπλισμού επεξεργασίας τροφίμων και σε αντικείμενα που έρχονται σε επαφή με τα τρόφιμα (με εξαίρεση τα δοχεία γάλακτος). Έχει υπολογιστεί πως η συγκέντρωση της μελαμίνης στα τρόφιμα είναι 0,14 mg/kg με την προϋπόθεση ότι τα απολυμαντικά περιέχουν trichloromelamine. Η μελαμίνη μπορεί να διασπαστεί μέσω αντίδρασης απομίνωσης προς ammeline, ammelide και κυανουρικό οξύ, το τελευταίο επίσης εμφανίζεται ως προϊόν αποικοδόμησης της s-τριαζίνης στα φυτοφάρμακα. Ωστόσο σύμφωνα με την (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, JECFA) τα επίπεδα του κυανουρικού οξέος στα τρόφιμα που προέρχονται από αυτές τις πηγές είναι προς το παρόν άγνωστα. Την κυανουρικού οξέος μπορεί να υπάρχουν στα τρόφιμα αλλά και στο νερό εξαιτίας της χρήσης dichloroisocyanurate (WHO, 2004).

Η επιτροπή εμπειρογνομόνων για τα πρόσθετα στα τρόφιμα επισημαίνει ότι 1 mol νατρίου dichloroisocyanurate παράγει 1 mol κυανικού οξέος, το κυανουρικό οξύ έχει συγκέντρωση περίπου 1,6mg /l (ισοδύναμο με 1,0 mg/l του ελεύθερου χλωρίου)

έως 3,2 mg/l (για μέγιστη δόση των 2,0mg/1 ελεύθερου χλωρίου). Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (WHO) το 2008 κατά τη διάρκεια του Κινεζικού σκανδάλου για το γάλα είχε δηλώσει πως είχε βρεθεί μελαμίνη σε ποικιλία γάλακτος και γαλακτοκομικών προϊόντων και σε διαφορετικές συγκεντρώσεις, από χαμηλές συγκεντρώσεις ppb (parts per billion) έως υψηλές ppm (parts per million) (WHO 2008b). Όσον αφορά την πηγή μόλυνσης η μελαμίνη είναι μέρος της τροφικής αλυσίδας στην ηπειρωτική Κίνα για μεγάλο χρονικό διάστημα καθώς το cytomazine πολύ συχνά χρησιμοποιείται ως φυτοφάρμακο (Anon, 2008a). Κατά συνέπεια το cytomazine απορροφάται από τα φυτά και ως μελαμίνη εισέρχεται στην τροφική αλυσίδα που περιλαμβάνει τα πουλερικά, τα αυγά, τα ψάρια και τα γαλακτοκομικά προϊόντα (Anon, 2008b).

Δεν είναι γνωστό πως η μελαμίνη κατέληξε ως πρόσθετο στο γάλα. Αυτή η χημική ουσία είναι ελάχιστα διαλυτή στο νερό (3,1g/l στους 20 °C) και μπορεί να αναμιχθεί με φορμαλδεΰδη ή άλλη χημική ουσία για να μπορεί να διαλυθεί στο γάλα (Wong 2008). Η αυξημένη ζήτηση στην αγορά γάλακτος στην Κίνα οδήγησε στη δημιουργία νέων μονάδων επεξεργασίας γάλακτος. Κατά συνέπεια ο κρατικός μηχανισμός ελέγχου αδυνατούσε να καλύψει έναν ολοκληρωμένο έλεγχο με αποτέλεσμα την υιοθέτηση ασυνείδητων επιχειρηματικών πρακτικών (Anon,2008c). Η μελαμίνη ως 99% καθαρό βιομηχανικό προϊόν κοστολογείται στα 1600\$ ανά τόνο, πολύ υψηλή τιμή για την προσθήκη της στο γάλα, προκειμένου να μεταβάλει τις μονάδες τις πρωτεΐνης. Συνεπώς η μελαμίνη που χρησιμοποιείται για τη νοθεία του γάλακτος είναι κατώτερης ποιότητας και μικρότερου κόστους, δηλαδή 700\$ ανά τόνο (Bradley 2008)

Η μείωση του κόστους στις βρεφικές τροφές είχε σαν αποτέλεσμα την προσθήκη μεγάλων ποσοτήτων μελαμίνης καθώς και κατώτερης ποιότητας σκόνη σόγιας λόγω του χαμηλού κόστους των φυτικών προϊόντων. Η χαμηλής ποιότητας μελαμίνη είναι δυνατό να περιέχει και άλλες επιβλαβείς χημικές ουσίες, όπως η ουρία, η αμμωνία, το νιτρικό κάλιο και το νιτρώδες νάτριο. Από αυτές το νιτρώδες νάτριο είναι καρκινογόνο (US FDA).

3.1. Τρόφιμα, υλικά και αντικείμενα.

Η μελαμίνη αντιδρά με άλλες αρχικές ουσίες, κυρίως φορμαλδεΰδη και ουρία, με ποικίλες υψηλού μοριακού βάρους ρητίνες και πλαστικά που προορίζονται για επαφή

με τρόφιμα. Αυτά περιλαμβάνουν αντικείμενα πολλαπλών χρήσεων, όπως ποτήρια, πιάτα και σκεύη κουζίνας, προστατευτικά επιχρίσματα που χρησιμοποιούνται στο εσωτερικό μεταλλικών δοχείων για τρόφιμα, και μελαμίνη που χρησιμοποιείται για την κατασκευή χαρπιάς και κόλλας. Οι κανονισμοί της ΕΕ για τα πλαστικά επιτρέπουν τη χρήση της μελαμίνης, καθώς και των αρχικών ουσιών της ως πρόσθετη ύλη. Η διάκριση είναι ότι μια πρώτη ουσία που χρησιμοποιείται στη χημική αντίδραση έχει κατάλοιπο μια χημική ουσία που παραμένει στο τελικό υλικό ή αντικείμενο συνήθως ακούσια. Αντίθετα μια πρόσθετη ύλη είναι ικανή να παρουσιάσει στο πολυμερές, στο τελικό υλικό και στα αντικείμενα, επαρκή συγκέντρωση για να επιτευχθεί ένα τεχνικό αποτέλεσμα. Σε ότι αφορά τη συσκευασία των τροφίμων μόνο σε μια αναφορά έχει προσδιοριστεί η χρήση της ως πρόσθετη ύλη. Αυτή η αναφορά αφορούσε τη χρήση της μελαμίνης ως λεπτό στρώμα στα ελάσματα με σκοπό τη στεγανοποίηση του φυσικού αερίου. Σε όλες τις άλλες εφαρμογές της η μελαμίνη παρουσιάζεται ως πρώτη ουσία.

3.1.1. Μελαμίνη- φορμαλδεΐδη στα αντικείμενα

Η μελαμίνη αντηδρά με φορμαλδεΐδη για την παραγωγή πλαστικών θερμοσκληρυντικών με την ονομασία «μελαμίνη» ή “melaware”. Τυπικά εφαρμόζεται σε αντικείμενα, που έρχονται σ'επαφή με τα τρόφιμα όπως παιδικές κούπες, κύπελλα, ποτήρια, πιάτα και αλλά μαγειρικά σκεύη.

3.2. Επιστρώσεις μελαμίνης

Η μελαμίνη και τα παράγωγά της όπως το μεθυλιωμένο (methylolated) χρησιμοποιούνται στο εσωτερικό δοχείων για τρόφιμα. Ακόμη επικαλύψεις μπορούν να γίνουν και σε θερμικά σώματα με πολλαπλές συνδέσεις για αύξηση της αντοχής στην εκτεταμένη υψηλή θερμοκρασία. Η επικάλυψη είναι πολύ λεπτή 5 έως 10 nm έτσι ώστε το ποσοστό μετανάστευσης των καταλοίπων μελαμίνης να είναι χαμηλό. Από την άλλη πλευρά οι προϋποθέσεις επαφής σε κονσερβοποιημένα τρόφιμα και ποτά μπορεί να είναι πολύ απαιτητικές εξαιτίας της αποστείρωσης και της παστερίωσης των τροφίμων σε πολύ υψηλές θερμοκρασίες σε συνδυασμό με την μακροπρόθεσμη αποθήκευσή τους για πολλά χρόνια. Κατά συνέπεια θα πρέπει να υπάρχει μεγάλη σταθερότητα στα επιχρίσματα καθώς και σε κάθε άλλου χαμηλού μοριακού βάρους παράγωγα μελαμίνης που χρησιμοποιούνται.

3.3.Κόλλες και ρητίνες μελαμίνης

Οι κόλλες που χρησιμοποιούνται στη συσκευασία των τροφίμων ενδέχεται να περιέχουν τροποποιημένη μελαμίνη. Η χρήση όμως μικρής ποσότητας και το γεγονός ότι οι κόλλες δεν έρχονται σε άμεση επαφή με τα τρόφιμα έχει σαν συνέπεια τα επίπεδα μετανάστευσης να αναμένονται χαμηλά (FSA, 2006).

3.4. Επιχρίσματα μελαμίνης για στεγανοποίηση αερίων

Με τη χρήση της τεχνολογίας η μελαμίνη και τα άλλα συμμετρικά οργανικά μόρια της τοποθετούνται πάνω σε εύκαμπτα υλικά συσκευασίας για να δημιουργήσουν μια λεπτή στρώση με υψηλές ιδιότητες φραγμού του φυσικού αερίου (DSM, 2009).

3.5. Τα διαθέσιμα στοιχεία σχετικά με τα παρασκευάσματα για βρέφη και τα γαλακτοκομικά προϊόντα από την Κίνα.

Μετά το περιστατικό μόλυνσης στα παρασκευάσματα για βρέφη, το κινεζικό κράτος και το τμήμα Διοίκησης Επίβλεψης Ποιότητας, Επιθεώρησης και Παρακολούθησης (Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine (AQSIQ)) έχει ανακοινώσει τα αποτελέσματα μιας έρευνας σχετικά με την μελέτη για την εκτίμηση της μόλυνσης της μελαμίνης στα γαλακτοκομικά προϊόντα (AQSIQ δελτίο τύπου 16 September 2008). Ανάμεσα στους 175 κατασκευαστές των εγχώριων παρασκευασμάτων σκόνης για βρέφη, 66 είχαν σταματήσει την παραγωγή ενώ 109 είχαν δώσει για ανάλυση τα προϊόντα τους στην AQSIQ. Ελέγχθηκε ένα σύνολο 491 παρτίδων προϊόντων από τις εταιρίες. Ανιχνεύθηκε μελαμίνη σε διάφορα επίπεδα σε 69 παρτίδες που προέρχονταν από 22 εταιρίες. Τα προϊόντα από τις υπόλοιπες 87 εταιρίες, δεν ήταν θετικά στην παρουσία μελαμίνης. Ανάμεσα σε όλες τις εταιρίες που είχαν θετικά δείγματα στη μελαμίνη, το ανώτερο όριο ήταν τα 2,563 mg/kg. Θετικά δείγματα από άλλες εταιρίες είχαν τις μέγιστες τιμές τους να κυμαίνονται από 0.09 mg/kg έως 619 mg/kg. Ο μέσος όρος από τις αναφερόμενες μέσες τιμές ήταν 29 mg/kg. Οι δοκιμές πραγματοποιήθηκαν σε γάλα υγρής μορφής που έδειξε ότι 24 από τις 202 παρτίδες ήταν μολυσμένες. Η υψηλότερη συγκέντρωση μελαμίνης βρέθηκε σε γάλα σε υγρή μορφή και ήταν 8.6 mg/kg.

3.6 Παραγωγή γάλακτος σε σκόνη.

Ένα σημαντικό συστατικό για το βρεφικό γάλα είναι η γάλα σκόνη 4. Στο σύνολο του το γάλα (το πλήρες γάλα) περιέχει, κατά κανόνα, 87% περίπου νερό και το αποβουτυρωμένο γάλα περιέχει περίπου 91% νερό. Κατά την διάρκεια της παρασκευής γάλακτος σε σκόνη το νερό αφαιρείται και περίπου 13 χιλιόγραμμα πλήρους γάλακτος σε σκόνη ή 9 κιλά άπαχου γάλατος σε σκόνη μπορούν να γίνουν από 100 L πλήρες γάλα. Συνεπώς, υπάρχει ένας 10-πλάσιος συντελεστής της συγκέντρωσης που εμπλέκεται στην παραγωγή γάλακτος σε σκόνη από γάλα με την συγκέντρωση μελαμίνης που αυξάνει κατά 10- φορές στο γάλα σε σκόνη σε σύγκριση με το γάλα σε υγρή μορφή. Η αναλογία του γάλακτος σε σκόνη ή του βρεφικού γάλακτος ποικίλλει σημαντικά μεταξύ των εμπορικών σημάτων. Δεν υπάρχει καμία ένδειξη για το ποσοστό της σκόνης γάλακτος στα δείγματα, που αναφέρθηκαν θετικά για μελαμίνη. Αυτή η προσέγγιση διαμορφώθηκε έτσι ώστε οι συγκεντρώσεις της μελαμίνης στο γάλα σε σκόνη να εξομοιωθούν με τις συγκεντρώσεις των αναφορών για τα παρασκευάσματα για βρέφη. Στην πραγματικότητα η συγκέντρωση της μελαμίνης ενδέχεται να είναι υψηλότερη, αλλά θα μπορούσαν να υπάρχουν και άλλες πηγές μελαμίνης στα παρούσα παρασκευάσματα για βρέφη στα οποία υπάρχει περίπτωση η συγκέντρωση της μελαμίνης στο γάλα σε σκόνη να είναι χαμηλότερη.

Όπως επισήμανε και η Ευρωπαϊκή Επιτροπή η εισαγωγή γάλακτος ή γαλακτοκομικών προϊόντων από την Κίνα απαγορεύεται από την κοινοτική νομοθεσία.

Ωστόσο, γάλα σε σκόνη διαφόρων τύπων χρησιμοποιείται σε ένα ευρύ φάσμα προϊόντων, εκτός από τα παρασκευάσματα για βρέφη, σε αρτοσκευάσματα, σνακ και σούπες, σοκολάτες και είδη ζαχαροπλαστικής (π.χ. σοκολάτα γάλακτος), τα παγωτά, τα παρασκευάσματα για βρέφη, τα προϊόντα διατροφής και ειδικής χρήσης, και στην ανασύσταση του γάλακτος σε άλλα ποτά σύμφωνα με στοιχεία εισαγωγών της EFSA και της Ευρωπαϊκής Επιτροπής σχετικά με προϊόντα που ενδέχεται να περιέχουν γάλα ή σκόνη γάλακτος ως συστατικό, μπισκότα και προϊόντα σοκολάτας που εισάγονται από την Κίνα προς την ΕΕ.

4. Μέθοδοι εντοπισμού και ανάλυσης

Η μελαμίνη και τα ανάλογά της (ammelina, ammelide και κυανουρικό οξύ) μπορούν να προσδιοριστούν με αέρια χρωματογραφία (GC) μετά από trimethylsilylation ή υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης, high performance liquid chromatography, HPLC. Για τον προσδιορισμό της μελαμίνης στα τρόφιμα όπως το χοιρινό λίπος, πρωτεΐνες πατάτας και για τα ποτά μόνο λίγες μέθοδοι έχουν αναφερθεί, όπως η φασματομετρία, η υγρή χρωματογραφία καθώς και η αέρια χρωματογραφία. Ακόμη χρησιμοποιούνται GC-MS (αέρια χρωματογραφία-φασματομετρία μάζας) και trimethylsilylation για τον προσδιορισμό της μελαμίνης και των αναλόγων της στη γλουτένη σιταριού. Οι μέθοδοι αυτοί έχουν θεσπιστεί από την Ευρωπαϊκή Επιτροπή προκειμένου να χρησιμοποιούνται από τα κράτη μέλη για την ανάλυση της γλουτένης σιταριού, της γλουτένης καλαμποκιού καθώς και γευμάτων από καλαμπόκι, την πρωτεΐνη σόγιας και την πρωτεΐνη ρυζιού που εισάγονται από τρίτες χώρες ιδίως την Κίνα.

Ο εντοπισμός της μελαμίνης στα τρόφιμα συμπεριλαμβανομένων της γλουτένης σίτου, της πρωτεΐνης ρυζιού, της γλουτένης καλαμποκιού και των παρασκευασμάτων για βρέφη έδωσαν την αφορμή για την θέσπιση μεθόδων για την ανίχνευση της μελαμίνης και των παραγώγων της. Όλες οι μέθοδοι απαιτούνται για την προετοιμασία των δειγμάτων, λόγω της πολυπλοκότητας των τροφίμων και για την αποφυγή της χρήσης ανοσολογικού ενζύμου. Οι διαδικασίες για την ανίχνευση της μελαμίνης στα τρόφιμα (Kim et al. 2008; Garber 2008) αλλά και για την μέτρηση της μελαμίνης στα τρόφιμα καθώς και για την μέτρηση της μελαμίνης του κυανουρικού οξέως (He et al. (2008) γίνεται με τη χρήση surface enhanced Raman spectroscopy σε συνδυασμό με το gold nanosubstrates (Raman φασματοσκοπίας ενισχυμένης επιφάνειας σε συνδυασμό με χρυσά νανοϋπόστρωματα). Επίσης πολύ πρόσφατες τεχνικά μέθοδοι που έχουν αναπτυχθεί από τους Mauer et al. (2009) είναι η NIR και η FTIR που ανήκουν στις ταχείες μεθόδους ανίχνευσης και έχουν στόχο την ανάλυση μελαμίνης σε επίπεδο 1 ppm στο βρεφικό γάλα σε σκόνη.

Πίνακας 1: Μερικές διαθέσιμες μέθοδοι ανάλυσης για την ανίχνευση της μελαμίνης και των αναλόγων της στα τρόφιμα.

Μέθοδοι ανάλυσης	Είδη τροφίμων	Ανάλογα μελαμίνης ανιχνευμένα	Όριο ανίχνευσης (LOD)	Σκοπός	Αναφορές
LC-MS	Meat and pet foods	Melamine Cyanuric acid	10 µg/kg	Screening and Confirmation	Varelis and Jeskelis (2008)
HPLC/MS/MS	Porcine muscle tissue	Melamine	1.7 ng/g	Screening and Confirmation	Filigenzi et al. (2007)
ELISA	Dog foods	Melamine	9 ng/g	Screening	Garber (2008)
EIA	Pet foods	Melamine	0.02 µg/ml	Screening	Kim et al. (2008)
HPLC-DAD	Pet foods	Melamine	0.1 µg/ml	Screening	Kim et al. (2008)
DART-MS	Pet foods	Melamine	100 ppm	Screening and Confirmation	Vail et al. (2007)
HPLC-UV detection	Cereal flours	Melamine Ammeline Ammelide Cyanuric acid	5 µg/g 90 µg/g	Screening	Ehling et al. (2007)
NIR and FTIR Spectroscopy	Infant formula	Melamine	1 ppm	Screening	Mauer et al. (2009)
Ultrasonic detection and HPLC-UV detection	Pet foods	Cyanuric acid	0.002 mg/ml	Screening	Chan and Lai (2009)
Microwave assisted extraction and HPLC-DAD detection	Pet foods	Melamine	1.0 mg/kg	Screening	Han et al. (2009)

Εκτός από τις αναλύσεις μελαμίνης έχουν γίνει προσπάθειες για την ανάπτυξη μεθόδων για την εκτίμηση της μελαμίνης και των αναλόγων της σε συμπύκνωμα ρυζιού με τη χρήση υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης (HPLC) (Muniz-Valencia et al. 2008), για σιτάλευρα με φασματομετρία LC παράλληλων μαζών (LC-MS/MS) (Ehling et al. 2007). Στα παρασκευάσματα για βρέφη επιλέγεται η κατά μάζα παράλληλη LC φασματομετρία (LC-MS) (Turnipseed et al. 2008) για τα ξηρά προϊόντα με υπεριώδεις GC-MS (Litzau et al. 2008).

Η Αμερικανική φαρμακοβιομηχανία (USP) εργάζεται επίσης για την διερεύνηση μεθόδων εκτίμησης της μελαμίνης και τον προσδιορισμό του αζώτου που περιέχονται ειδικά στις πρωτεΐνες. Με τον προσδιορισμό ενός συγκεκριμένου πρόσθετου όπως η μελαμίνη θα είναι δυνατόν να προσδιορίζεται και η παρουσία άλλων μη νόμιμων πρόσθετων που αντιστοιχούν οι τιμές τους στις αναλύσεις με αυτές της πρωτεΐνη (Anon 2008d).

Η US FDA έχει δημοσιεύσει έξι μεθόδους για την ανάλυση της μελαμίνης, αυτές είναι η χρωματογραφία HPLC, με ανιχνευτή υπεριώδους (US FDA Forensic Chemistry Center HPLC-UV method) GC-MS ή GS-MS/MS και LC-MS/MS (US FDA Laboratory Information Bulletins 4396, 4421, and 4422).

4.1. Δεδομένα από τις αναλύσεις στα τρόφιμα.

Τα διαθέσιμα στοιχεία μέχρι σήμερα για τη μελαμίνη και τα ανάλογα της σπανίζουν δεδομένου ότι οι ενώσεις αυτές δεν ελέγχονται συχνά. Η μελαμίνη έχει ανιχνευθεί με τη χρήση υγρής χρωματογραφίας σε ποτά σε ποσοστό 0,54, 0,72, 1,42 και 2,2 mg/kg, αντίστοιχα στον καφέ, στο χυμό πορτοκαλιού, το γάλα που έχει υποστεί ζύμωση και το χυμό λεμονιού και τα όρια ανίχνευσης είναι 0,05mg/L. Τα επίπεδα αυτά προέρχονται από τη μετανάστευση της μελαμίνης από το δοχείο, που είναι κατασκευασμένο από ρητίνη μελαμίνης - φορμαλδεΐδης, σε πείραμα με ποτό σε θερμές και όξινες συνθήκες (95 °C για 30 mn) (Ishiwata et al., 1987).

Το φυτοφάρμακο cyromazine μεταβάλλεται μερικώς σε μελαμίνη με ανώτατο επίπεδο τα 0,25 mg/kg. Ο συνδυασμός cyromazine και μελαμίνης (εκφρασμένα σε ισοδύναμα μελαμίνης) έχουν εκτιμηθεί σε κρέας πουλερικών και σε αυγά που τρέφονταν με προσθήκη cyromazine με ανώτατο όριο τα 5mg/kg (Meek et al., 2003). Το πόσιμο νερό αντιδρά με διχλωροϊσοκυανουρικό νάτριο για απολύμανση (ταχεία απολύμανση με κυανουρικό οξύ) που έχει εκτιμηθεί ως 0,06mg/kg b.w την ημέρα σε ενήλικες, 0,19mg/kg b.w. ανά ημέρα για τα παιδιά και 0,28mg/kg b.w. ανά ημέρα για βρέφη που λαμβάνουν την τροφή τους με μπουκάλι. Πρόσφατα στοιχεία που αναφέρθηκαν από τον FDA των ΗΠΑ έδειξαν μελαμίνη σε γλουτένη σιταριού και πρωτεΐνη ρυζιού που προερχόταν από την Κίνα σε ποσοστό 0,2-8 % (δηλ. 2-80g/kg) (FAO/WHO, 2004).

Οι μέθοδοι ανάλυσης των τροφίμων που έχουν αναπτυχθεί για τον προσδιορισμό της μελαμίνης (με ή χωρίς ανάλογα) σε διαφορετικές μήτρες, έχουν εξελίχθη προκειμένου να χρησιμοποιούνται σε σύνθετα τρόφιμα και στα επιμέρους συστατικά τους. Μετά το περιστατικό με το νοθευμένο γάλα, μέθοδοι ανάλυσης έχουν αναπτυχθεί για το γάλα σε σκόνη, τα σύνθετα προϊόντα που περιέχουν γάλα και αυγά αλλά και τα τρόφιμα γενικά. Οι αξιόπιστες και ευαίσθητες μέθοδοι ανάλυσης είναι διαθέσιμες για τα περισσότερα είδη τροφίμων, συμπεριλαμβανομένων των τροφίμων με υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη, λίπη και υδατάνθρακες.

Το πρώτο βήμα των μεθόδων ανάλυσης είναι η υγρή εκχύλιση των τροφίμων, η μεταχείριση του εκχυλίσματος συνήθως γίνεται με μια τεχνική, που όπως και στην εκχύλιση στερεής φάσης, χρησιμοποιείται μία κεφαλή καθαρισμού του δείγματος που διευκολύνει την συγκέντρωση του δείγματος και ενισχύει την ευαισθησία του. Οι αναλυτικές μέθοδοι, όπως ήδη έχει αναφερθεί, που χρησιμοποιούνται πιο συχνά με την καλύτερη ικανότητα ανίχνευσης και την επιλεκτικότητα (δίνοντας έμφαση στην ορθή ταυτοποίηση και τον ποσοτικό προσδιορισμό) είναι η LC-MS/MS: υγρή χρωματογραφία με φασματομετρία μάζας. Η GC-MS: αέρια χρωματογραφία σε συνδυασμό με φασματομετρία μάζας χρησιμοποιείται μερικές φορές για την ανάλυση της μελαμίνης και των αναλόγων της και μπορεί να δώσει αξιόπιστα αποτελέσματα όμως απαιτεί πτητική παραγωγή. Η LC-UV υγρή χρωματογραφία με ή χωρίς δίοδο συστοιχίας ανίχνευσης (DAD) εφαρμόζεται στην ανάλυση, έχει όμως χαμηλότερη ευαισθησία και δύναμη αναγνώρισης, έτσι εφαρμόζεται για αναλυτικό έλεγχο χαμηλότερου κόστους και στην ανάλυση απλών δειγμάτων, όπως τα τρόφιμα που προορίζονται για τον έλεγχο της μετανάστευσης. Η LC-MS μέθοδος που λειτουργεί με τον θετικό ιονισμό χρησιμοποιείται για την ανάλυση μελαμίνης, καθώς και των αναλόγων της *ammelina*, *ammelide*.

Το κυανουρικό οξύ για την ανάλυση του εξαιτίας των φυσικοχημικών ιδιοτήτων του χρειάζεται αρνητικό ιονισμό για μεγαλύτερη ευαισθησία. Σε ορισμένα είδη τροφίμων για την ανίχνευση του κυανουρικού οξέος στα εκχυλίσματα συνεργασίας παρατηρούνται παρεμβολές αν η ανάλυση προέρχεται ταυτόχρονα από τρεις ουσίες. Στη μέθοδο αυτής της ανίχνευσης γίνεται χρήση μίας πόλωσης με διακόπτη MS για να καταστεί δυνατή η ανίχνευση θετικά φορτισμένων (μελαμίνης, *ammelina* και *ammelide*) και αρνητικά φορτισμένων (κυανουρικού οξέος) ιόντων. Η επισήμανση του ισότοπου ($^{13}\text{C}_3$ -) μελαμίνης χρησιμοποιείται ευρέως ως εσωτερικό πρότυπο, το οποίο βοηθά στην αξιοπιστία των μετρήσεων. Η κατώτερη μέτρηση ασβεστίου (Ca) είναι 50 mg/kg για κάθε μία από τις 4 ουσίες προς ανίχνευση με δυνατότητα ανίχνευσης περισσότερων τύπων δείγματος (Tittlemier, 2010).

Πίνακας 2: Η μελαμίνη και τα ανάλογα της όπως ανιχνεύθηκαν στα τρόφιμα/ζωοτροφές από δείγματα που εισάγονται από την Κίνα.

Τροφές/ζωοτροφές	Μελαμίνη/ανάλογα μελαμίνης	Συγκέντρωση (mg/kg)
Pet food scraps	Melamine	9.4–1,952
	Cyanuric acid	6.6–2,180
	Ammelide	6.0–10.8
	Ammeline	3.0–43.3
Δείγματα αρτοποιίας	Melamine	10.6–59.6
	Cyanuric acid	1.8–146.3
	Ammeline	1.2–24.9
	Ammelide	20.1
Ζωοτροφές για χοίρους	Melamine	30–120
	Cyanuric acid	6.6–22.5
	Ammeline	5.6–10.8
	Ammelide	33.6–43.2
Ζωοτροφές για πουλερικά	Melamine	αρνητικό
	Cyanuric acid	2.11–2.63
	Ammeline	αρνητικό
	Ammelide	13.9
Ζωοτροφές για ψάρια Ιστοί χοίρων και πουλερικών	Melamine	53 and 400
	Melamine	μεταξύ ορίου πιθανοτήτων (LOD)

4.2. Η αξιοπιστία των αποτελεσμάτων των αναλύσεων

Ο αναλυτικός ποιοτικός έλεγχος έλαβε τα αναγκαία μέτρα για την εξασφάλιση αξιόπιστων μετρήσεων που συνοψίζονται σε αναθεωρήσεις το WHO αλλά και στην αναθεώρηση των μεθόδων ανάλυσης της μελαμίνης και των συναφών ενώσεων (WHO, 2009, Tittlemier, 2010). Κατά την αξιολόγηση των δεδομένων για την εμφάνιση, υπό τον όρο ότι υπάρχει ικανοποιητικός αριθμός δεδομένων, το κύριο ζήτημα είναι η ακρίβεια των στοιχείων- με την έννοια του ελεύθερου δυναμικού πολώσεως- και όχι η ακρίβεια των δεδομένων- συνήθως συνοψίζεται ως μέτρηση αβεβαιότητας. Για την ανάλυση της μελαμίνης και των αναλόγων της τέσσερις είναι οι πιθανές κύριες πηγές προτίμησης που έχουν εντοπιστεί και είναι η ελλιπής εξόρυξη, οι παρεμβολές, η μήτρα καταστολή (matrix suppression) και διασταυρώμενη αντιδραστικότητα.

4.2.1. Διαδικασία εκχύλισης

Όλες οι σωστές μέθοδοι ανάλυσης πρέπει να περιλαμβάνουν μια επικύρωση για τον προσδιορισμό της αναλυτικής ικανότητας. Η περιορισμένη διαλυτότητα της μελαμίνης, λόγω του συμπλέγματος κυανουρικού οξέος, είχε σαν επακόλουθο στις αναλυτικές μεθόδους να χρησιμοποιούνται ως διαλύτες εκχύλισης το νερό, το ακετονιτρίλιο ή αλκοόλ καθώς και μείγματα αυτών. Η διαλυτότητα της μελαμίνης αλλά και του κυανουρικού οξέος είναι μόνο 2-3g/L ενώ η διαλυτότητα του συμπλέγματος είναι πολύ χαμηλότερη περίπου 0,01g/L (Tittlemier, 2010). Μια διαδικασία εκχύλισης για τη μελαμίνη ή το κυανουρικό οξύ από μόνη της δεν μπορεί να είναι αρκετά ισχυρή για να εξαγάγει το σύμπλεγμα. Λαμβάνοντας υπόψη τη σταθερά διάστασης για το σύμπλεγμα αλλά και τις αναλογίες της μάζας του δείγματος στον όγκο του διαλύτη εκχύλισης που χρησιμοποιείται συνήθως, δεν προκύπτει πρόβλημα στα 2,5 mg/kg για πεδίο δράσης στα τρόφιμα, ούτε στη συγκέντρωση του αραιώματος, που χρησιμοποιείται για την ανάλυση (βαθμονόμηση) προτύπων. Η σημαντικότητα της επιμόλυνση των τροφίμων οδήγησε σε διαδικασίες για τη βελτίωση της διαλυτότητας, με την προσθήκη ακετονιταλίου σαν συν-διαλύτη ή/και στη διάσπαση του συμπλέγματος με την χρήση διμεθυλαμίνης στον διαλύτη εκχύλισης.

Αν η πτυχή αυτή δεν είναι υπό έλεγχο τα αναλυτικά αποτελέσματα θα μπορούσαν να έχουν αρνητική συνιστώσα, που σημαίνει ότι θα είναι υπερβολικά χαμηλά τα ποσοστά. Κάτι τέτοιο θα επηρεάσει μόνο τα δείγματα που περιέχουν πολύ υψηλά επίπεδα της μελαμίνης και του κυανουρικού οξέος που δεν ισχύει όμως στην περίπτωση του γάλακτος.

4.2.2 Παρεμβολές

Μια μη ειδική αναλυτική μέθοδος που χρησιμοποιείται είναι και η LC-UV, σε σύγκριση με την μέθοδο της αντίστροφης φάσης LC στήλης που δεν έχουν καλή κατακράτηση ή διαχωριστική ικανότητα για τα πολικά μόρια, καθώς υπάρχει το ενδεχόμενο να μην εντοπιστεί μελαμίνη, δίνοντας την προδιάθεση ότι τα αποτελέσματα είναι θετικά. Στις μελέτες της μετανάστευσης που πραγματοποιήθηκαν στο παρελθόν για τον έλεγχο του ορίου της ειδικής μετανάστευσης (SML) των 30 mg/kg που το LC-UV ήταν κατά κανόνα η μέθοδος της επιλογής και με δεδομένο ότι το SML σπάνια υπερβαίνει τα αποτελέσματα, χωρίς παρ' όλα αυτά ποτέ να έχει

χρησιμοποιηθεί το LC-MS. Το ενδεχόμενο της μετανάστευσης του ammeline ή ammelide δεν είναι καταχωρισμένο (όχι όμως και του κυανουρικού οξέος) μπορούν να συν-εκκλύονται με τη χρήση της στήλης LC ανά ημέρα. Τα τελικά αποτελέσματα των δοκιμών που πραγματοποιήθηκαν αποδεικνύουν ότι είναι πιθανό να επηρεάζονται από υψηλές και όχι από χαμηλές συγκεντρώσεις.

4.2.3. Μήτρα Καταστολή (Matrix suppression)

Ένα παρόμοιο πρόβλημα αλλά με αντίθετα αποτελέσματα μπορεί να συμβεί και στη χρήση του LC-MS. Το πρόβλημα και εδώ πηγάζει από την συν-έκλυση (ιδιαίτερα με τις παλιές χημικές στήλες που έχουν φτωχή διαχωριστική δύναμη), αλλά σε αντίθεση με τον ανιχνευτή υπεριώδους ακτινοβολίας (UV) μια τεχνική υψηλής ανίχνευσης-απόκρισης θα εξασφαλίσει στην φασματομετρία μάζας (MS) μια συν-έκλυση που μπορεί να επηρεάσει την διαδικασία ιονισμού που δημιουργείται στην μήτρα καταστολή και υποεκτίμηση της πραγματικής συγκέντρωσης. Αυτό είναι εύκολο να αποφευχθεί με την χρήση των προσομοιωτών υποστρώματος με τα πρότυπα βαθμονόμησης ή την ανάλυση των αυστηρών ελέγχων, οι οποίοι θα πρέπει να αποτελούν συνήθη πρακτική.

4.2.4. Διασταυρούμενη αντίδραση

Ένας μικρός αριθμός ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay, ένζυμο-ανοσοαπορρόφησης) σε πακέτα είναι διαθέσιμος στο εμπόριο για την ανάλυση της μελαμίνης. Αυτά τα πακέτα έχουν επικυρωθεί για λίγα μόνο είδη δειγμάτων τροφίμων. Οι δύο κύριες πηγές της ELISA είναι η μήτρα καταστολής (η οποία δίνει αποτελέσματα κάτω από το όριο) και η διασταυρούμενη ανπιδραστικότητα (δίνει αποτελέσματα πάνω από το όριο). Η μήτρα καταστολής μπορεί να προφυλαχθεί από τον υπερβολικό εμβολιασμό του δείγματος ή εντελώς από τη χρήση της μεθόδου με σταθερή προσθήκη. Η διασταυρούμενη ανπιδραστικότητα (και από τις δύο ξένες ή εγγενείς χημικές ουσίες των τροφίμων) δεν μπορεί να ελεγχθεί τόσο εύκολα και τόσο επικυρωμένα, για παράδειγμα η πολλαπλή σύγκριση με εναλλακτικές μεθόδους, όπως η LC-MS, είναι απαραίτητη.

4.3. Συμπεράσματα σχετικά με την αξιοπιστία των αποτελεσμάτων των αναλύσεων.

Η αξιόπιστη εξαγωγή και τεχνική απορρύπανσης των δειγμάτων είναι διαθέσιμες για τα περισσότερα είδη τροφίμων, συμπεριλαμβανομένων και των τροφίμων με υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη, λίπη και υδατάνθρακες. Η πιο ευαίσθητη και εκλεκτική αναλυτική μέθοδος για τη μέτρηση της μελαμίνης και των δομικών ανάλογων της είναι η LC-MS/MS (υγρή χρωματογραφία σε συνδυασμό με τη φασματομετρία παράλληλων μαζών), αν και υπάρχουν και άλλες διαθέσιμες αξιόπιστες έρευνες. Για παράδειγμα, σε μια πρόσφατη ανάλυση τροφίμων για την αξιολόγηση της επίδοσης του συστήματος (FAPAS) γύρο από την μελαμίνη σε σοκολάτες, 83 δοκιμαστικά δείγματα εστάλησαν σε 37 χώρες και 72 συμμετέχοντες επέστρεψαν αποτελέσματα εντός του επιτρεπόμενου χρονοδιαγράμματος. Η συγκέντρωση της μελαμίνης που καταχωρήθηκε ήταν 5,69 mg/kg. Τα όρια για την ικανοποιητική εκτέλεση καθορίστηκαν σε 4,29 έως 7,09 mg/kg και 49 συμμετέχοντες (68%) πέτυχαν ικανοποιητικά αποτελέσματα. Τα 65 από τα 72 (90%) των συμμετεχόντων έδωσαν αποτελέσματα με +/- 50% της προσδιορισμένης τιμής. (δηλαδή το εύρος 2,35–8,04 mg/kg). Στην πλειοψηφία τους οι συμμετέχοντες χρησιμοποίησαν το LC-MS, με επόμενη πιο κοινή μέθοδο προσέγγισης τη χρήση της LC-UV, από την GC, ενώ ένα μόνο εργαστήριο χρησιμοποίησε την ELISA (ένζυμο-ανοσοαπορρόφηση) (FAPAS, 2010).

4.4. Οι μέθοδοι ανάλυσης που χρησιμοποιούνται στα κλινικά δείγματα

Στους ανθρώπους έχει χρησιμοποιηθεί η μη επεμβατική εξέταση με υπερήχους στο ουρικό σύστημα προκειμένου να δώσει την εικόνα του ιζήματος της μελαμίνης και των συμπλόκων. Έχουν συλλεχθεί λίθοι στους νεφρούς οι οποίοι αναλύθηκαν με την χρήση ηλεκτρονικής μικροσκοπίας σάρωσης, με υπέρυθρη φασματοσκοπία (FTIR), φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (NMR), περίθλαση ακτίνων X και φασματοσκοπία διασκορπισμένης ενέργειας για την μελέτη της χημικής σύστασης (Osborne et al. 2009).

5. Το περιστατικό της μόλυνσης.

5.1. Συνοπτικά στοιχεία

Μετά το περιστατικό της μόλυνσης με μελαμίνη το 2008, έχουν συλλεχθεί στοιχεία για την εμφάνιση της ανεπιθύμητης αυτής ουσίας από τις ευρωπαϊκές χώρες τα οποία έχουν δοθεί στην Ευρωπαϊκή Επιτροπή. Η δειγματοληψία αφορούσε συγκεκριμένες ομάδες τροφίμων ή την γεωγραφική τους προέλευση, συμπεριλαμβανομένου των ύποπτων προϊόντων, όπως απαιτείται από τη νομοθεσία. Ένας μεγάλος αριθμός δειγμάτων έχει αναλυθεί και έχει καταχωρηθεί στην EFSA μέσω των επαγγελματικών ενώσεων. Τα στοιχεία αυτά περιλαμβάνουν συστατικά, προϊόντα και υλικά συσκευασίας οι αναλύσεις έχουν γίνει με προσομοιωτές αλλά και με πραγματικά προϊόντα διατροφής.

5.2. Τα στοιχεία από τις ευρωπαϊκές χώρες

Στοιχεία που έχουν συλλεχθεί από τις Ευρωπαϊκές χώρες περιλαμβάνουν μόνο δείγματα σχετικά με τη μελαμίνη και αντιπροσωπεύουν τόσο την εγκεκριμένη χρήση της μελαμίνης, ως υλικό που έρχεται σε επαφή με τα τρόφιμα και την πιθανή κατάχρηση ή νοθεία.

Μια περίληψη από τα στοιχεία που υποβλήθηκαν από τις ευρωπαϊκές χώρες παρουσιάζονται στον Πίνακα 3.

Πίνακας 3: Συνοπτική παρουσίαση των στοιχείων για τη μελαμίνη στα τρόφιμα από τις χώρες της ΕΕ κατά τη διάρκεια του 2009. Αριθμός δειγμάτων, το ποσοστό των μη εγκεκριμένων και η ποσοτικοποίηση τους παρουσιάζονται χωριστά για κάθε χώρα που υπέβαλε τα δεδομένα.

Χώρα	Τρόφιμα		
	N	% μη εγκεκριμένων	LOQ mg/kg
Αυστρία	75	19%	0.10-0.50
Βουλγαρία	7	100%	2.50
Κύπρος	5	100%	0.20
Τσεχική Δημοκρατία	90	99%	0.05-2.50
Εσθονία	5	80%	0.05-2.50
Φινλανδία	79	92%	0.05-0.10
Γαλλία	128	99%	2.50
Γερμανία	136	4%	1.8
Ουγγαρία	94	43%	0.1-2.5
Ιρλανδία	48	4%	0.04
Ιταλία	339	95%	0.1-2.5
Λετονία	3	67%	0.1-2.5
Λιθουανία	5	100%	0.1
Νορβηγία	10	100%	0.1-3
Πολωνία	71	100%	2.5
Σλοβενία	59	98%	2.5
Ισπανία	45	100%	2.5
Σουηδία	40	100%	0.1-2.5
Ηνωμένο Βασίλειο	832	87%	0.05-3
Μη ταξινομημένο	2		
Όλα	2073	79%	0.04-3

N-αριθμός δειγμάτων, LOQ: όριο ποσοτικοποίησης (limit of quantitation)

Οι αναφορές αφορούν σχεδόν 900 δείγματα, ανά χώρα. Το ποσοστό των μη ταξινομημένων δειγμάτων μεταξύ των χωρών είναι από 4.1% και 100%. Αυτή η απόκλιση μπορεί να εξηγηθεί με τον συνδυασμό αποτελεσμάτων, των διαφορετικών αριθμών των δειγμάτων και τα διάφορα επίπεδα στόχευσης. Στις Ευρωπαϊκές χώρες παρουσιάστηκαν αποτελέσματα από 2073 δείγματα τροφίμων για τις συνολικές αναλύσεις. Όλα τα αποτελέσματα δόθηκαν με όριο ποσοτικοποίησης (LOQ).

5.3 Στοιχεία από την βιομηχανία.

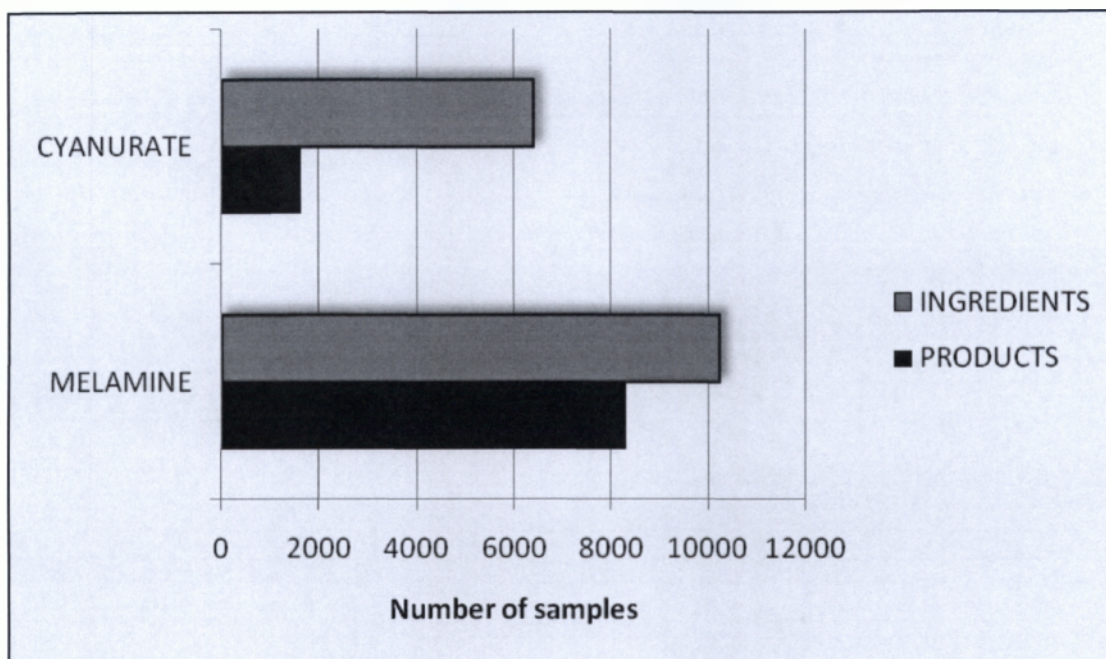
Τα πιο εκτενή συνολικά δεδομένα υποβλήθηκαν από την CIAA και περιλαμβάνουν στοιχεία από την CIAA (Confederation of the food and drink industries of the EU, Συνομοσπονδία των βιομηχανιών τροφίμων και ποτών της ΕΕ), την CEPE (European council of the Producers and Importers of Paints, Printing inks & Artists' colours Ευρωπαϊκό Συμβούλιο για την παραγωγή και εισαγωγή χρωμάτων, μελανιών εκτύπωσης και καλλιτεχνικών χρωμάτων) και την Emrac (European Metal Packaging). Η δειγματοληψία καλύπτει μια περίοδο μεταξύ του 2006 και του 2009. Μόνο 6 δείγματα αναφέρθηκαν το 2006, περίπου 50 το 2007, πάνω από 5000 το 2008, και περισσότερα από 22000 το 2009. Τα συστατικά και τα προϊόντα προέρχονταν από τρόφιμα από διάφορες περιοχές του κόσμου και εξετάστηκαν για μελαμίνη και εν μέρει για κυανουρικό οξύ.

Η κατανομή των αναλύσεων ανά γεωγραφική περιοχή και με βάση τις ουσίες δίνεται στον παρακάτω Πίνακα 4.

Πίνακας 4: Τα δεδομένα που υποβλήθηκαν από την CIAA, CEPE και Emrac, ομαδοποιημένα κατά την ανάλυση ουσιών και την γεωγραφική περιοχή.

Γεωγραφική περιοχή	Ο αριθμός των δειγμάτων τροφίμων	
	Μελαμίνη	Κυανούχο οξύ
Αφρική	1400	403
Ασίας-Ειρηνικού	7886	1395
Κεντρική & Νότια Αμερική	2088	1180
Ευρώπη	5823	4371
Μέση Ανατολή	184	162
Βόρεια Αμερική	557	425
Μη ταξινομημένο	600	123
ΣΥΝΟΛΟ	18538	8059
Ολικό	26597	

Τα δύο προϊόντα προς τον τελικό καταναλωτή και τα συστατικά παρουσιάζονται στο σύνολο δεδομένων όπως φαίνεται στο σχήμα.



Σχήμα 3: Παρουσίαση στοιχείων σχετικά με την μελαμίνη και το κυανουρικό οξύ όπως εμφανίζονται στα τρόφιμα από CIAA, CEPE και Eprac, ομαδοποιημένα κατά προϊόν και συστατικό.

Τα συστατικά αντιπροσωπεύουν τα τρόφιμα και τα πρόσθετα που χρησιμοποιούνται στη βιομηχανία για την παρασκευή προϊόντων. Τέτοια προϊόντα μπορούν να βρεθούν θεωρητικά στην παγκόσμια αγορά και να χρησιμοποιηθούν σε άλλες βιομηχανίες ή και να φτάσουν στον τελικό καταναλωτή ακόμη και με το έτοιμο φαγητό. Για το λόγο αυτό, τα δείγματα, τα προϊόντα και τα συστατικά που αναλύονται χρησιμοποιούν από κοινού περαιτέρω υπολογισμούς.

Το όριο ανίχνευσης (LOD) έχει καθοριστεί σε λιγότερο από 500 από 27417 δείγματα λαμβάνοντας υπόψη ότι οι αριθμητικές τιμές αναφέρονται για όλα τα δείγματα. Μια ανάλυση της συχνότητας των τιμών αυτών αποκαλύπτει την απρόσμενα μεγάλη συχνότητα ορισμένων στοιχείων. Στον πίνακα 5 που ακολουθεί παρουσιάζονται οι δεκαπέντε πρώτες τιμές στο σύνολο των δεδομένων.

Πίνακας 5 Αριθμός περιπτώσεων από δεκαπέντε πιο συχνές τιμές των CIAA, CEPE και Empac Joint database κοινή βάση δεδομένων .

Αναφερόμενη αξία	Αριθμός των περιστατικών της αξίας που παρουσιάζεται
0.05	16746
0.3	2760
0.2	2152
0.1	1420
0.5	642
0.25	440
0.12	154
0.06	119
2.5	98
5	94
0.005	79
1	65
0.11	54
0.125	50
0.13	36

Η υψηλή συχνότητα ορισμένων στοιχείων δείχνει ότι οι τιμές κάτω από το όριο ανίχνευσης έχουν αναφερθεί σε αυτή τη βάση δεδομένων με την αριθμητική τιμή του ίδιου του ανώτατου ορίου.

5.4 Η εμφάνιση της μελαμίνης στα τρόφιμα

5.4.1. Τα δεδομένα για την εμφάνιση της μελαμίνης σε τρόφιμα που προέρχονται από τις ευρωπαϊκές χώρες.

Το σύνολο των 2239 τιμών που παρέχονται από τις ευρωπαϊκές χώρες χωρίζεται σε κατηγορίες ανάλογα με τη συνοπτική κατανάλωση τροφίμων (Concise Food Consumption) με τη βάση δεδομένων και την περιγραφή των στατιστικών όπως υπολογίζεται για κάθε ομάδα. Η «οριοθέτησης» που εφαρμόστηκε προσεγγίζει τις τιμές μεταξύ LOD και LOQ προκειμένου να εντοπιστεί το δυνατό εύρος των δεδομένων. Το κατώτερο φράγμα (LB) παράγεται από μια μηδενικής αξίας απόδοση (ελάχιστη δυνατή τιμή) σε όλα τα δείγματα που αναφέρονται ως <LOD ή <LOQ. Το ανώτατο όριο (UB) λαμβάνεται για την αντιστοίχιση της τιμής των LOD με τις τιμές να αναφέρονται ως <LOD και LOQ σε τιμές που αναφέρθηκαν ως <LOQ (μέγιστη δυνατή τιμή). Επειδή αυτά είχαν ως στόχο τα δείγματα με επίκεντρο τα προϊόντα στα οποία η νοθεία θεωρείται πιθανή, δεν είναι αντιπροσωπευτικό των βασικών επιπέδων και χρησιμοποιούνται για την εκτίμηση του παρασκήνιου της διαθρεπτικής έκθεσης.

Πίνακας 6: Οριακές τιμές που υποβάλλονται από τις ευρωπαϊκές χώρες για την μελαμίνη(mg/kg)σε τρόφιμα συγκεντρωμένα ανά υποκατηγορία των ομάδων Concise Food Consumption groups. Ανώτατο και κατώτατο όριο αναφερόμενων τιμών.

Συνοπτικές κατηγορίες	Χαμηλότερο όριο (mg/kg)						Ανώτατο όριο (mg/kg)					
	n	<LOQ	Min	Mean	Median	P95	max	min	mean	medin	P95	max
01Α.Δημητριακά-βασισμένα στην ανάμιξη πιάτων	146	73 %	0	0.37	0	0.25	19.9	0.01	1.28	0.25	2.5	19.9
01Β.δημητριακά & παράγωγα δημητριακών excl. Με βάση τα σιτηρά στα διάφορα πιάτα	444	67 %	0	1.6	0	10	57	0.01	2.52	1	10	57
01. Δημητριακά & παράγωγα δημητριακών	590	68 %	0	1.3	0	5.5	57	0.01	2.22	1	5.5	57
02. Ζάχαρη & παράγωγα ζάχαρης που περιέχονται στη σοκολάτα	401	78 %	0	0.1	0	0.4	0.4	0.1	0.18	0.1	0.4	0.4
03. Λίπη (φυτικά και ζωικά)	4	75 %	0	0.08	0	0.1	1.7	0.05	1.89	2.5	2.5	2.5
04Β. Λαχανικά, φρούτα, όσπρια, εκτός από σούπες λαχανικών	47	77 %	0	0	0	0.01	0.01	0.01	1.92	2.5	2.5	2.5
04. Λαχανικά, φρούτα, όσπρια, μαζί με καρότα, ντομάτες και φυλλώδη λαχανικά	47	77 %	0	0	0	0.01	0.01	0.01	1.92	2.5	2.5	2.5
07Β. Αναψυκτικά που περιέχουν φρούτα λιγότερο από νέκταρ εκτός καρπών φρούτων	13	85 %	0	0	0	0	0.08	0.05	0.69	0.1	2.5	2.5
07. Χυμοί φρούτων και λαχανικών, απλών ποτών και εμφιαλωμένου νερού	13	85 %	0	0	0	0	0	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
08. Καφές, τσάι, κακάο(σε υγρή μορφή)	29	97 %	0	0.1	0	0.5	0.5	0.1	1.77	2.5	2.5	2.5
09Β. Οίνος και υποκατάστατα	4	100 %	0	0	0	0	0	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
09C. Άλλα οινοπνευματώδη ποτά και υποκατάστατα	2	0 %	0	0	0	0	0	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5
09. Αλκοολούχα ποτά	6	67 %	0	0.03	0	0	1	0.05	2.36	2.5	2.5	2.5
10Α. Κρέας, προϊόντα κρέατος και υποκατάστατα	2	100 %	0	2.01	0	0.4	259	0.01	2.94	0.22	2.5	259
10. Κρέας, προϊόντα κρέατος, τα παραπροϊόντα σφαγίων	2	100 %	0	6	0	18	18	0.1	6.87	2.5	18	18
11. Ψάρια και θαλασσινά	40	98 %	0	1.75	0	0.4	259	0.01	2.67	0.2	2.5	259
13Α. Γάλα και ροφήματα	277	85 %	0	0.06	0	0.3	10	0.01	1.33	1	2.5	10

γαλακτοκομικών προϊόντων												
13B.γαλακτοκομικά προϊόντα	3	67 %	0	2.55	0	10	50	0.05	3.84	2.5	10	50
13C.Τυρί	49	96 %	0	0.84	0	1	50	0.01	2.11	2.38	2.5	50
13.Γάλα ως βάση των γαλακτοκομικών προϊόντων	329	87 %	0	3.44	0	0	410	0.04	5.41	2.5	2.5	410
14A.Ανάμικτα	418	91 %	0	0.03	0	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
14B.Τρόφιμα για ειδική διατροφή	190	71 %	0	1.81	0	4.2	410	0.01	2.91	1	4.2	410
14.Ανάμικτα/τρόφιμα για ειδική διατροφική χρήση	608	85 %	0	0.37	0	0.25	19.9	0.01	1.28	0.25	2.5	19.9
Μη κατηγοριοποιημένα	3	67 %	0	0.1	0	0.4	0.4	0.1	0.18	0.1	0.4	0.4
2239		80 %	0	0.08	0	0.1	1.7	0.05	1.89	2.5	2.5	2.5

Επεξήγηση: το κατώτερο όριο (LB) παράγεται με την απόδοση αξίας μηδέν (ελάχιστη δυνατή τιμή) σε όλα τα δείγματα που αναφέρονται ως <LOD ή <LOQ. Το ανώτερο όριο (UB) παράγεται με την ανάθεση της αξίας των LOD για τιμές που αναφέρονται ως <LOD και LOQ σε τιμές που αναφέρθηκαν ως <LOQ (μέγιστη δυνατή τιμή), n: αριθμός δειγμάτων, min: ελάχιστη τιμή P95: εκατοστημόριο, max: μέγιστη τιμή.

5.4.2. Δεδομένα για την εμφάνιση της μελαμίνης στα τρόφιμα που προέρχονται από τη βιομηχανία.

Η CIAA, CEPE και Emrac έχουν ένα σύνολο δεδομένων που περιλαμβάνει δείγματα τα οποία προσδιορίζονται με γενικές ή ειδικές ονομασίες και στις περισσότερες περιπτώσεις ad-hoc, δεν είναι τυποποιημένη, στις κατηγορίες τροφίμων. Τα δεδομένα κωδικοποιούνται σύμφωνα με τα τρόφιμα σε ομάδες από το Concise Food Consumption Database (EFSA, 2008b) και τα στατιστικά στοιχεία με την εμφάνιση τους υπολογίζονται για τις διαφορετικές ομάδες τροφίμων. Οι συντελεστές αραίωσης έχουν εφαρμοστεί όταν οι τιμές έχουν καταχωρηθεί για τα συμπυκνωμένα ή αποξηραμένα τρόφιμα.

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, η μελαμίνη στην πλειονότητα των δειγμάτων της αναφέρεται ως ανώτατο όριο Upper Bound. Συνεπώς, τα μερικές εκατοντάδες δείγματα δεν έχει αναφερθεί που εντοπίστηκαν, έχουν όμως αποδοθεί οι τιμές των ορίων ανίχνευσης. Σε ορισμένες περιπτώσεις, όταν το όριο ανίχνευσης δεν αναφέρεται, δύναται αυθαίρετα η ίδια αξία σαν συνέχεια προϊόντων παρόμοιου τύπου ή προέλευσης. Στον παρακάτω Πίνακα 7 παρουσιάζονται τα στατιστικά στοιχεία της εμφάνισης της μελαμίνης στα τρόφιμα, σύμφωνα με τη βάση δεδομένων από τη βιομηχανία.

Πίνακας 7: Στατιστικά στοιχεία για την εμφάνιση της μελαμίνης στα τρόφιμα (mg/kg) σε κατηγορίες σύμφωνα με την Concise Food Consumption database from the CIAA, CEPE and Empac dataset.

Συνοπτική υποκατηγορία	n	min	Ανώτατο όριο (mg/kg)*			max
			mean	median	P95	
01Α. Δημητριακά-βασισμένα στην ανάμιξη πάτων	5	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
01Β. Δημητριακά & παράγωγα δημητριακών excl. Με βάση τα σιτηρά στα διάφορα πιάτα	2016	0.01	0.07	0.05	0.25	0.6
01. Δημητριακά & παράγωγα δημητριακών	2021	0.01	0.07	0.05	0.25	0.6
02. Ζάχαρη & παράγωγα ζάχαρης που περιέχονται στη σοκολάτα	1324	0	0.04	0.02	0.05	2.5
03. Λίπη (φυτικά και ζωικά)	134	0.05	0.06	0.05	0.1	0.5
04Α. Σούπες λαχανικών	46	0.01	0.03	0.01	0.1	0.1
04Β. Λαχανικά, φρούτα, όσπρια, εκτός από σούπες λαχανικών	973	0.01	0.12	0.05	0.5	2.2
04. Λαχανικά, φρούτα, όσπρια, μαζί με καρότα, ντομάτες και φυλλώδη λαχανικά	1019	0.01	0.12	0.05	0.5	2.2
05. Αμυλώδεις ρίζες ή πατάτες	60	0.01	0.06	0.05	0.06	0.5
06. Φρούτα	131	0.01	0.05	0.05	0.06	0.1
07Α. Χυμοί φρούτων και λαχανικών	30	0.01	0.05	0.05	0.05	0.2
07Β. Αναψυκτικά που περιέχουν φρούτα λιγότερο από νέκταρ εκτός καρπών φρούτων	1	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
Χυμοί φρούτων και λαχανικών, απλών ποτών και εμφιαλωμένου νερού	31	0.01	0.05	0.05	0.05	0.2
08. Καφές, τσάι, κακάο (σε υγρή μορφή))	207	0	0.01	0	0.05	0.05
09. Αλκοολούχα ποτά	3	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
10Α. Κρέας, προϊόντα κρέατος και υποκατάστατα	560	0.01	0.06	0.05	0.13	0.94
10Β. Βρώσιμα παραπροϊόντα σφαγίων και εντόσθια	4	0.05	0.06	0.05	0.1	0.1
10. Κρέας, προϊόντα κρέατος, τα παραπροϊόντα σφαγίων	564	0.01	0.06	0.05	0.13	0.94
11Α. Θαλασσινά και θαλασσινά προϊόντα	47	0.01	0.03	0.02	0.05	0.05
11Β. Ψάρια και αλευρικά προϊόντα	136	0.01	0.06	0.05	0.1	0.6
11C. Ψάρια ως βάση σε παρασκευάσματα	5	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
11. Ψάρια και θαλασσινά	188	0.01	0.05	0.05	0.1	0.6
12. Αυγά	315	0.01	0.03	0.01	0.1	0.16
13Α. Γάλα και ροφήματα γαλακτοκομικών προϊόντων	8028	0	0.04	0.03	0.2	5.82
13Β. γαλακτοκομικά προϊόντα	1184	0.01	0.06	0.01	0.2	0.64
13C. Τυρί	509	0.01	0.07	0.05	0.25	0.5
13. Γάλα ως βάση των γαλακτοκομικών προϊόντων	9721	0	0.05	0.03	0.2	5.82
14Α. Ανάμικτα	1704	0	0.06	0	0.30	9.48
14Β. Τρόφιμα για ειδική διατροφή	993	0.01	0.03	0.01	0.1	0.34
14. Ανάμικτα/τρόφιμα για ειδική διατροφική χρήση	2697	0	0.05	0.01	0.1	9.48
15. Επιτραπέζιο νερό	20	0.01	0.05	0.05	0.15	0.2
Μη κατηγοριοποιημένα	103	0.01	0.05	0.01	0.1	0.5
	18538	0	0.05	0.03	0.2	9.48

(*) Η μεγάλη πλειονότητα των δειγμάτων φαίνεται να αναφέρεται ως ανώτερη τιμή Upper Bound values (δηλαδή ως όριο ανίχνευσης) ως εκ τούτου οι μερικές εκατοντάδες δείγματα που αναφέρθηκαν δεν έχουν αναγνωρισθεί, επίσης δεν έχουν αποδοθεί οι τομές και τα όρια ανίχνευσης. n: αριθμός των δειγμάτων, min: ελάχιστη τιμή, P95: 95η εκατοστημόριο, max: μέγιστη τιμή

Πολύ λίγα δείγματα από την αρχική βάση δεδομένων, πριν την εμφάνιση των συντελεστών αραίωσης, παρουσιάζουν υψηλές τιμές, όπως δείχνει και ο ακόλουθος πίνακας 8, ο οποίος συνοψίζει τα δείγματα με τις τιμές της μελαμίνης ανά 10 mg/kg.

Πίνακας 8: Τα μεμονωμένα δείγματα τροφίμων σύμφωνα με CIAA, CEPE and Empac joint database για τις τιμές της μελαμίνης που υπερβαίνουν τα 10 mg/kg.

Συστατικό/ Προϊόν	μονάδα	Επίπεδο Μελαμίνης*
Όξινο ανθρακικό αμμώνιο	mg/kg	948
Όξινου ανθρακικού αμμωνίου	mg/kg	542
Γάλα σε σκόνη	mg/kg	58
Γάλα σε σκόνη	mg/kg	23
Γάλα σε σκόνη	mg/kg	23
Πυροφωσφορικός τριχλωριούχος σίδηρος	mg/kg	20
Πυροφωσφορικός τριχλωριούχος σίδηρος	mg/kg	19
Πυροφωσφορικός τριχλωριούχος σίδηρος	mg/kg	18
Πυροφωσφορικός τριχλωριούχος σίδηρος	mg/kg	14
Πυροφωσφορικός τριχλωριούχος σίδηρος	mg/kg	14

(*) Σε δείγματα από ξηρά τροφή, πριν την εφαρμογή των συντελεστών αραίωσης.

Οι τιμές αυτές είναι ένα μικρό δείγμα, που φαίνεται να έχουν αντίκτυπο μόνο στο μέγιστο. Τα δείγματα του διττανθρακικού αμμωνίου (ammonium bicarbonate), που χρησιμοποιείται στην επεξεργασία τροφίμων και το γάλα σε σκόνη φαίνεται να σχετίζεται με συγκεκριμένα περιστατικά νοθείας και επομένως εξαιρείται από τους υπολογισμούς για το παρασκήνιο της διαθρεπτικής έκθεσης. Τα δείγματα του ferric rytophosphate (πυροφωσφορικού τριχλωριούχου σιδήρου) είναι πιθανό να αποτελούν αντικείμενο διασταυρωμένης μόλυνσης και συνεπώς να περιλαμβάνονται στην αξιολόγηση της έκθεσης (στην 14^A κατηγορία, ανάμικτα).

5.4.3. Επίπεδα μελαμίνης από υλικά σε επαφή με τα τρόφιμα

5.4.3.1. Η μετανάστευση της μελαμίνης από τα υλικά που έρχονται σε επαφή με τα τρόφιμα.

Τα στοιχεία από τις έρευνες των τροφίμων (άρθρο 4.4.2) δεν επιτρέπουν την συνεισφοράς της Food Contact Materials (FCMs) για την ταυτοποίηση των τροφίμων. Επιπλέον, μια σημαντική εφαρμογή της μελαμίνης- φορμαλδεΐδης (πλαστικά) είναι για οικιακή χρήση, κάτι που δεν εξετάζεται στις επθεωρήσεις της λιανικής πώλησης τροφίμων. Ως εκ τούτου είναι αναγκαία η μεμονωμένη ανάλυση της μετανάστευσης από τα τρόφιμα στα υλικά που έρχονται σε επαφή. Το παρόν κεφάλαιο επικεντρώνεται στη μετανάστευση της μελαμίνης.

Υπάρχουν τρεις πιθανές πηγές έκθεσης σε μελαμίνη για τα τρόφιμα που έρχονται σε επαφή με τα υλικά συσκευασίας :

- Επιτραπέζια σκεύη από melaware
- Τα κονσερβοποιημένα τρόφιμα, όταν το κουτί είναι επικαλυμμένο με μελαμίνη
- Κόλλες και διάφορες άλλες εφαρμογές στη συσκευασία τροφίμων

5.4.3.1.1. Melaware

Τα επιτραπέζια σκεύη από melaware είναι επαναχρησιμοποιούμενα αντικείμενα που μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε καθημερινή βάση στο νοικοκυριό (π.χ. πλαστικά μπολ ή κούπες) και σε βρεφικά οικιακά σκεύη ακόμη και στα νηπαγωγεία και στα κυλικεία σχολείων, αλλά πιο διαδεδομένη είναι η ειδική χρήση τους στην κατασκήνωση ή το πικνίκ.

Λαμβάνοντας υπόψη την χρήση της μελαμίνης ως αρχική ουσία, θα πρέπει να δώσουμε προσοχή πρώτα στο δυναμικό της μετανάστευσης σε τρόφιμα και τα κατάλοιπα που αφήνουν, ως αποτέλεσμα του ελλιπούς πολυμερισμού. Η χημική σταθερότητα των υλικών που χρησιμοποιούν ως βάση τη μελαμίνη, λαμβάνοντας υπόψη και το ενδεχόμενο της υποβάθμισης από π.χ. υδρόλυση που μπορεί να προκύψει, ιδιαίτερα σε υψηλές θερμοκρασίες χρήσης, οδηγούν ενδεχομένως στην ταχεία οξείδωση.

Υψηλά επίπεδα από τη μετανάστευση της μελαμίνης αναμένονται να εμφανιστούν σε επιτραπέζια σκεύη που έρχονται σε επαφή με όξινα τρόφιμα και ποτά που

καταναλώνονται ζεστά. Πιθανές περιπτώσεις είναι το τσάι με λεμόνι, σούπες τομάτας, γλυκόξινα ασιατικά τρόφιμα, πολτός μήλου, λάχανο τουρσί. Χαμηλότερα επίπεδα μετανάστευσης αναμένεται σε όξινα και μη όξινα τρόφιμα που καταναλώνονται κρύα.

Χρήση προσομοιωτών τροφίμων για τον έλεγχο μετανάστευσης στα πλαστικά.

Οι περισσότεροι έλεγχοι για την μετανάστευση του melaware κάνουν χρήση ένα 3% σε οξικό οξύ ως προσομοιωτή τροφίμων (ένα απλουστευμένο μοντέλο τροφίμων). Οι προσομοιωτές έχουν σκοπό να μιμούνται την μετανάστευση από πλαστικές ύλες στα τρόφιμα, κάτι που ισχύει από το 1980 (Directive 82/711/EEC, τροποποιημένη) καθώς και οι κανόνες για την χρήση προσομοιωτών, όπως ο χρόνος και η θερμοκρασία στις συνθήκες των δοκιμών που εφαρμόζονται (οδηγία 85/572/ΕΟΚ, τροποποιημένη). Για τα melaware αντικείμενα-όπως συμβαίνει και για όλα τα πλαστικά αντικείμενα οικιακής χρήσης- οι συνθήκες της χρήσης από τον καταναλωτή δεν είναι απόλυτα ακριβείς και για το λόγο αυτό η νομοθεσία προβλέπει αυστηρές συνθήκες δοκιμασίας. Σε αυτές περιλαμβάνονται προϋποθέσεις για τη δοκιμή με τη χρήση τριών επαναλαμβανόμενων εκθέσεων του melaware στον ή στους προσομοιωτές για να δοκιμαστεί η αναγραφή των επιπέδων μετανάστευσης, που αναμένεται κατά τη διάρκεια ζωής του προϊόντος. Η μετανάστευση σύμφωνα με τα αποτελέσματα των ερευνών για τα είδη που έρχονται σε επαφή εκφράζονται με βάση τις μονάδες mg/dm^2 όπου ένα dm^2 είναι 100 cm^2 . Όταν ο λόγος της επιφάνειας επαφής προς την μάζα των τροφίμων είναι γνωστός, τα αποτελέσματα μπορούν να υπολογιστούν εκ νέου σε μονάδες mg/kg (mg μελαμίνης ανά kg προσομοιωτή τροφίμων). Αν η αναλογία αυτή δεν είναι γνωστή ή αν είναι μεταβλητή τότε χρησιμοποιείται συχνά το συμβατό επιφάνεια προς μάζα σε αναλογία $6 \text{ dm}^2/\text{kg}$. Η συντριπτική πλειοψηφία των στοιχείων για την μετανάστευση της μελαμίνης προέρχεται από τον έλεγχο της υποχωρητικότητας με το οξικό οξύ ως προσομοιωτής τροφής. Τα πρόσφατα συγκρίσιμα δεδομένα είναι διαθέσιμα με τα επίπεδα μετανάστευσης της μελαμίνης σε άλλους (μη-όξινους) προσομοιωτές από τα ίδια τα τρόφιμα.

Πίνακας 9: Η μετανάστευση της μελαμίνης από τα melaware αντικείμενα στο νερό, σε σύγκριση με το 3% του οξικού οξέος. (BfR, 2010a)

Δείγματα	Συνθήκες δοκιμής	Νερό mg/kg	Οξικό οξύ mg/kg	Λόγος νερού/οξικό οξύ
Παιδικά πιάτα	30 min 40°C	0.020	0.160	0.13
Αντικείμενα για σαλάτες	30 min 40°C	0.050	0.0013	3.85
Σπάτουλα	10 min 70°C	0.080	0.138	0.58
Βοηθήματα κουζίνας	10 min 70°C	0.006	0.0010	0.60
Κουτάλια	10 min 70°C	0.028	0.103	0.27
Σύρμα	10min 70°C	0.035	0.076	0.46
Μπολ	30 min 70°C	0.183	0.926	0.20
Κουπά	30 min 70°C	0.082	0.276	0.30
Πιάτα	30 min 70°C	0.070	0.160	0.44
Πιάτα	30 min 70°C	0.070	0.190	0.37
Πιάτα	120 min 70°C	0.065	0.052	1.25
Κουτάλι	10 min 100°C	0.090	0.740	0.12
Κουτάλι	10 min 100°C	0.650	0.880	0.74
Πιάτα, 1 st test	24h 40°C	1.160	Μη ελεγμένα	-
Πιάτα, 3 rd test	24h 40°C	0.230	Μη ελεγμένα	-
Κουτάλια σάλτσας	30 min 40°C	0.010	Μη ελεγμένα	-
Πιάτα	30 min 70°C	0.093	Μη ελεγμένα	-
Πιάτα	30min 70°C	0.075	Μη ελεγμένα	-
Πιάτα	30min 70°C	0.128	Μη ελεγμένα	-
Φλιτζάνια	30 min 70°C	0.150	Μη ελεγμένα	-
Κουτάλι	120 min 70°C	0.025	Μη ελεγμένα	-
Κουτάλια σούπας	120 min 70°C	0.270	Μη ελεγμένα	-
Μπολ	30 min 70°C	Μη ελεγμένα	0.140	-
Δοχεία	30 min 70°C	Μη ελεγμένα	0.050	-
Σπάτουλα	10 min 100°C	Μη ελεγμένα	0.090	-

Η μετανάστευση της μελαμίνης και των αναλόγων της στα τρόφιμα και οι προσομοιωτές τροφίμων .

Σε συμπληρωματικά πειράματα, μεμονωμένα αντικείμενα melaware εκτέθηκαν διαδοχικά σε προσομοιωτή, τρόφιμο, προσομοιωτή (ή αντίστροφα) για να εξαλειφθεί το πρόβλημα μεταξύ-είδους μεταβλητότητας στην ερμηνεία των αποτελεσμάτων. Τα είδη αυτά (5 διαδοχικά είδη με τον ίδιο αριθμό παρτίδας) αγοράστηκαν για δοκιμές το 2010 (FERA, 2010). Ήταν μπολ και φλιτζάνια και ήταν εγκεκριμένα για χρήση από παιδιά. Πριν από την χρήση του πλύθηκαν με ζεστό νερό και αποξηραμένο σαπούνι, σύμφωνα με τις οδηγίες χρήσης. Υπήρχαν αυτοκόλλητες επκέτες στη συσκευασία με οδηγίες και συμβουλές για την χρήση στο φούρνο μικροκυμάτων. Για να διερευνηθεί ποία είναι η μετανάστευση θα πρέπει ο χρήστης να έχει τηρήσει τις προδιαγραφές του αντικειμένου. Για να γεμίσουν με υγρό (προσομοιωτή ή χυμό), τα

μπολ απαιτούν 220 ml και τα φλιτζάνια 250 ml, που καταλαμβάνουν χώρο στην επαφή με το αντικείμενο 1,52 dm² και 1,98 dm² αντίστοιχα. Για την πλήρωση με τρόφιμα, 163g τοποθετήθηκαν στο μπολ και η καλυπτόμενη επιφάνεια ήταν 1,22 dm².

Ο προσομοιωτής τροφίμων ήταν 3% οξικό οξύ και εφαρμόστηκε για 2 ώρες στους 70 °C. Στο πείραμα με το ζεστό, τα μπολ ή τα φλιτζάνια ήταν γεμάτα με προθερμασμένα τρόφιμα και στη συνέχεια αφήνονται σε θερμοκρασία δωματίου για 2 ώρες να ηρεμήσουν. Χρησιμοποιήθηκαν δύο διαφορετικά είδη τροφίμων και προθερμάνθηκαν σε βραστό νερό, με την χρήση γυάλινου μπολ μέσα στο οποίο το προϊόν οδηγήθηκε στον φούρνο μικροκυμάτων και στη συνέχεια μεταγγίστηκε στο αντικείμενο από melaware. Στα πειράματα που χρησιμοποιούσαν την θερμότητα από τον φούρνο μικροκυμάτων, τα φαγητά ήταν προθερμασμένα μέσα στο melaware (2 λεπτά στα 600W ονομαστική παραγωγή στα τσέρκια μακαρονιών και αλλαντικών, 3,3 λεπτά σε 600W μέχρι βρασμού για τους χυμούς) και στη συνέχεια ηρεμεί σε θερμοκρασία δωματίου για δύο ώρες. Με τον τρόπο αυτό, τα τεστ θερμότητας μιμούνται την χρησιμοποίηση των ειδών αυτών στη διατροφή των παιδιών και στο φούρνο μικροκυμάτων όπου γίνεται χρήση του melaware ως μαγειρικού σκεύους (για θέρμανση) και μετά ως οικιακά σκεύη.

Τα εκτεθειμένα τρόφιμα και τα δείγματα από τα τρόφιμα των προσομοιωτών αναλύθηκαν μαζί με τα κενά, για μελαμίνη, κυανουρικό οξύ, ammeline με την χρήση της μεθόδου LC-MS/MS. ¹³C₃-μελαμίνη χρησιμοποιήθηκε ως εσωτερικό πρότυπο και με τον έλεγχο αποκατάστασης, που πραγματοποιήθηκε με την χρήση τυφλών δειγμάτων εμπλουτισμένων με 0,02 και 2 mg / kg σε κάθε μια από τις 4 αναλύσεις.

Τα αποτελέσματα για την μετανάστευση της μελαμίνης παρουσιάζονται στον Πίνακα 10 που ακολουθεί. Η μελαμίνη μεταναστεύει σε μετρήσιμες συγκεντρώσεις 3% στο ζεστό οξικό οξύ προσομοίωσης και από τις δύο κατηγορίες προϊόντων του είδους από όλους τους πόρους. Η μετανάστευση ήταν σταθερή (μπολ 1) ή μειώθηκε (φλιτζάνι 1) για τις 3 διαδοχικές εκθέσεις σε ζεστό προσομοιωτή. Η μελαμίνη μεταναστεύει από τα τσέρκια σε μακαρόνια και λουκάνικα, όταν το φαγητό θερμαίνεται στο φούρνο μικροκυμάτων με το μπολ, και το επίπεδο της μετανάστευσης είναι παρόμοιο σε μεγάλο βαθμό (και ίσως λίγο χαμηλότερα) με τα αποτελέσματα της προσομοίωσης (μπολ 2 και 3). Είναι πιθανό ότι, αν κρυώσει γρήγορα και τοποθετηθεί σε όρθια θέση,

στην κορυφή η θερμοκρασία που πετυχαίνεται στον φούρνο μικροκυμάτων θα υπερβεί τους 70 °C και αυτή η υψηλότερη θερμοκρασία αντισταθμίζει τον μικρό χρόνο που κατέχει το ζεστό σε σχέση με τις 2 ώρες στους 70 °C, από δοκιμές που έγιναν σε προσομοιωτές. Αντίθετα, η μετανάστευση δεν είναι μετρήσιμη όταν το μπολ είναι γεμάτο με ζεστό φαγητό (μπολ 4 και 5) και με την παραδοχή ότι η μετανάστευση ήταν στο LOD, έτσι τα αποτελέσματα διαμορφώνονται τουλάχιστον 8 με 14 φορές χαμηλότερα από τα αποτελέσματα της προσομοίωσης. Ομοίως, η μελαμίνη μεταναστεύει σε χυμούς μήλου όταν βράζει στο φλιτζάνι κατά την θέρμανση του στο φούρνο μικροκυμάτων. (φλιτζάνι 2 και 3) και πάλι σε επίπεδο σύγκρισης (ίσως λίγο χαμηλότερα) με τα αποτελέσματα της προσομοίωσης. Όταν το φλιτζάνι γεμίζει με ζεστό χυμό μήλου, στη συνέχεια, η μετανάστευση από την μελαμίνη παρατηρείται μόνο στην πρώτη έκθεση (φλιτζάνι 5) και χρησιμοποιώντας διαφορετικά το LOD, η μετανάστευση είναι περίπου 6 φορές μικρότερη από αυτή στους προσομοιωτές.

Κατά την πειραματική διαδικασία, δεν παρατηρήθηκε καμιά μετανάστευση για το κυανουρικό οξύ, ammeline ή ammelide για κανένα από τα αντικείμενα κάτω από οποιαδήποτε δοκιμή. Τα όρια ανίχνευσης των ενώσεων αυτών ποικίλουν από την ουσία και την μήτρα και είναι της τάξεως του 0,003-0,065 mg/kg.

Πίνακας 10: μετανάστευση μελαμίνης στα τρόφιμα και προσομοιωτές από melaware αντικείμενα που εκτίθενται στη σιμρά. (FERA, 2010).

Είδη	Έκθεση	Τρόφιμα ή προσομοιωτής και συνθήκες που χρησιμοποιούνται	mg/kg
Μπολ 1	1 st	3 % οξικό οξύ, 2 hrs/70°C	1.86
	2 nd	3 % οξικό οξύ, 2 hrs/70°C	1.43
	3 rd	3 % οξικό οξύ, 2 hrs/70°C	1.75
Μπολ 2	1 st	3 % οξικό οξύ, 2 hrs/70°C	1.72
	2 nd	Μακαρόνια & λουκάνικα σε σάλτσα ντομάτας, φούρνο μικροκυμάτων	1.21
	3 rd	3 % οξικό οξύ, 2 hrs/70°C	1.82
Μπολ 3	1 st	Μακαρόνια & λουκάνικα σε σάλτσα ντομάτας, φούρνο μικροκυμάτων	1.93
	2 nd	3 % οξικό οξύ, 2 hrs/70°C	2.71
	3 rd	Μακαρόνια & λουκάνικα σε σάλτσα ντομάτας, φούρνο μικροκυμάτων	0.51
Μπολ 4	1 st	3 % οξικό οξύ, 2 hrs/70°C	2.02
	2 nd	Μακαρόνια & λουκάνικα σε σάλτσα ντομάτας, ζεστό γέμισμα	<0.14
	3 rd	3 % οξικό οξύ, 2 hrs/70°C	1.90
Μπολ 5	1 st	Μακαρόνια & λουκάνικα σε σάλτσα ντομάτας, ζεστό γέμισμα	<0.14
	2 nd	3 % οξικό οξύ, 2 hrs/70°C	1.10
	3 rd	Μακαρόνια & λουκάνικα σε σάλτσα ντομάτας, ζεστό γέμισμα	<0.14
Φλιτζάνι 1	1 st	3 % οξικό οξύ, 2 hrs/70°C	4.60
	2 nd	3 % οξικό οξύ, 2 hrs/70°C	2.63
	3 rd	3 % οξικό οξύ, 2 hrs/70°C	2.56
Φλιτζάνι 2	1 st	3 % οξικό οξύ, 2 hrs/70°C	2.39
	2 nd	Χυμός μήλου, φούρνος μικροκυμάτων	1.27
	3 rd	3 % οξικό οξύ, 2 hrs/70°C	1.91
Φλιτζάνι 3	1 st	Χυμός μήλου, φούρνος μικροκυμάτων	2.00
	2 nd	3 % οξικό οξύ, 2 hrs/70°C	1.88
	3 rd	Χυμός μήλου, φούρνος μικροκυμάτων	1.07
Φλιτζάνι 4	1 st	3 % οξικό οξύ, 2 hrs/70°C	2.42
	2 nd	Χυμός μήλου, ζεστό γέμισμα	<0.34
	3 rd	3 % οξικό οξύ, 2 hrs/70°C	1.66
Φλιτζάνι 5	1 st	Χυμός μήλου, ζεστό γέμισμα	2.77
	2 nd	3 % οξικό οξύ, 2 hrs/70°C	1.58
	3 rd	Χυμός μήλου, ζεστό γέμισμα	<0.34

Η μετανάστευση στα τρόφιμα από τα melaware.

Σε δύο καινούριες μελέτες που πραγματοποιήθηκαν στη Ιαπωνία και τις Φιλιππίνες, (Sugita et al., 1990; Martin et al., 1992) χρησιμοποιήθηκαν δείγματα melaware τα οποία είχαν συλλεχτεί από καντίνες μετά από αρκετά χρόνια χρήση (Ishiwata et al., 1986). Τα δείγματα αυτά εξετάστηκαν για την μετανάστευση σε προσομοιωτές και τρόφιμα. Η μετανάστευση από την μελαμίνη ήταν της τάξεως 0,5 έως 2,2mg/kg τροφίμου για ορισμένα υγρά που διατηρούνται ζεστά στο μπολ. Οι ερευνητές

αναφέρουν ότι τα επίπεδα της μετανάστευσης έτειναν να είναι υψηλότερα σε όξινα τρόφιμα ή ποτά και επίσης ήταν υψηλότερα σε υψηλές θερμοκρασίες επαφής. Η συμπεριφορά για της επαναλαμβανόμενες δοκιμές των ίδιο δειγμάτων έδωσαν ανάμεικτα αποτελέσματα. Σε ορισμένες περιπτώσεις η μετανάστευση από την επιφάνεια του πλαστικού φαινόταν να εισβάλλει και να δημιουργεί αλλοίωση, όπως η τραχύτητα και η αμαύρωση, ιδίως όταν το 3% οξικό οξύ χρησιμοποιείται ως λύση για προσομοιωτής τροφίμων. Αυτή η επιφάνεια με τις προεξοχές αναφέρεται επίσης για τα melaware όταν χρησιμοποιούνται για πολλά χρόνια (Ishiwata et al., 1986;Lund and Petersen, 2002, 2006).

Σε στοιχεία που παρέχονται από την EFSA (ISAN, 2010) τρία πιάτα με εμπορικό σήματα melaware και τρία φλιτζάνια, όλα για βρεφική χρήση αγοράστηκαν στην Piacenza (Italy) και αναλύθηκαν για την μετανάστευση. Οι τροφές που χρησιμοποιήθηκαν ήταν UHT Πλήρες γάλα (pH 6,58), σούπα λαχανικών (20 g άνυδρων στερεών διαλυμένων σε 1 L αποσταγμένου νερού pH 6,03), και τανίνη ελευθέρου-τσάι (72 g του αφυδατωμένου στερεού διαλυμένο σε 1L αποσταγμένου νερού, το pH6.44). Τα είδη γεμίστηκαν με τρόφιμα 5mm από το χείλος στους 60°C, 60 °C και 80 °C αντίστοιχα, στη συνέχεια ένειμαν σε ηρεμία και θερμοκρασία δωματίου για 2 ώρες, μετά από αυτό τα δείγματα είχαν κρυώσει με τελική θερμοκρασία 21 °C. Η διαφορετική θερμοκρασία του γάλακτος, της σούπας λαχανικών και του τσαί επιδέχθηκαν προκειμένου να προσημειωθεί η πραγματική χρήση των εν λόγω τροφίμων. Η χωρητικότητα των φλιτζανιών ήταν 300, 350 και 250 mL για όλα τα εμπορικά σήματα A-C, αντίστοιχα, και τα πιάτα είχαν χωρητικότητα 200, 130 και 200mL, αντίστοιχα. Οι δοκιμές έγιναν σε τρία αντίτυπα. Τα εκτεθειμένα τρόφιμα ελέγχθηκαν για την μελαμίνη που περιέχουν συμφωνά με την εξαγωγή και την LC-MS/MS διαδικασία από τους Shia et al. (2008) με κάποιες τροποποιήσεις. Όπως παρουσιάζεται στον πιο κάτω πίνακα 11, η μετανάστευση σε τανίνες- ελεύθερου τσαί ήταν υψηλές (63 έως 105 µg/L) σε σύγκριση με τα άλλα δύο είδη τροφίμων (2 έως 19 µg/L) κάτι που μπορεί να οφείλεται στην υψηλή θερμοκρασία του τσαγιού κατά την έναρξη της συνδετικής φάσης.

Πίνακας 11: η μετανάστευση της μελαμίνης (μg/L, μέση τιμή ± SE) από παιδικά πιάτα σε τροφές, γάλα γεμισμένο ζεστό στους 60°C, σούπες λαχανικών γεμισμένες στους 60°C και ελεύθερο σετ τανίνες τσάι στους 80°C, που ψήχεται για 2 ώρες. (n = 3) (ISAN, 2010).

	Είδος	Χρόνος επαφής	Εμπορικό σήμα A	Εμπορικό σήμα B	Εμπορικό σήμα C
Πλήρες γάλα 60°C ψύξη στο χώρο	φλιτζάνι	120 min	12 ± 2	10 ± 2	8 ± 1
Σούπα λαχανικών 60°C ψύξη στο χώρο	πιάτο	120 min	19 ± 13	2 ± 0.3	10 ± 3
Τανίνες- ελεύθερου τσάι 80°C ψύξη στο χώρο	φλιτζάνι	120 min	105 ± 61	63 ± 19	89 ± 39

Συμπεράσματα από την μετανάστευση στα melaware

Οπτικός έλεγχος στα melaware είδη αποκαλύπτει ότι μερικά έχουν μια σταλπνή και φαινομενικά σκληρή επιφάνεια ενώ άλλα έχουν μια ματ εμφάνιση που φαίνεται να είναι πιο μαλακή. Μερικά εμπορικά σήματα επισημαίνονται με οδηγίες σχετικά με τη χρήση στο φούρνο μικροκυμάτων και το πλυντήριο πιάτων. Η τοποθέτηση των οδηγιών αυτών σε λάθος σημεία οδηγεί στην παράβλεψή τους από τον χρήστη.

Σύμφωνα με τον Bradley et al. (2005) τα είδη από melaware είναι κατασκευασμένα με καλούπι συμπιεσμένων melamineformaldehyde, ρητίνη από σκόνη ή κόκκους. Η θερμοκρασία και η πίεση κατά τη διαδικασία μορφοποίησης διαμορφώνουν την ρητίνη να παράγει ένα πλαστικό θερμοσκληρυντικό. Οι περισσότερες σκόνες περιέχουν πρόσθετα όπως κυπαρινικές ίνες, χρωστικές ουσίες και τα υλικά πλήρωσης. Μπορεί να αναμένεται ότι φτωχά σκευάσματα (ανεπαρκής χρόνος και η πίεση κατά την μορφοποίηση) μπορεί να έχουν σαν αποτέλεσμα τα είδη αυτά να παρουσιάζουν πολύ υψηλές τιμές μετανάστευσης. Ωστόσο η μετανάστευση σε ορισμένα επίπεδα είναι μέτρια έως και χαμηλή για τα είδη melaware που έχουν καλή ποιότητα επιφάνια.

Παρ' όλα αυτά, η μετανάστευση της μελαμίνης από τα melaware χαρακτηρίζεται από υψηλή ανάμεσα-στα υποδείγματα μεταβλητότητας για κάποια δείγματα και από την μη καθορισμένη συμπεριφορά κατά την επανειλημμένη επαφή με τρόφιμα ή προσομοιωτές με βάση τα επίπεδα μετανάστευσης, για την πλειονότητα των δειγμάτων, παρουσιάζοντας αύξηση για όλους τους άλλους. Μια επιπλέον δυσχέρεια

είναι ότι τα αντικείμενα μπορούν να έχουν μεγάλη διάρκεια ζωής αλλά να έχουν γδαρμένη επιφάνεια. Η μετανάστευση εξαρτάται σαφώς από τις συνθήκες, τον χρόνο και την θερμοκρασία κατά την χρήση, μαζί με τα χαρακτηριστικά του τροφίμου-όξινο, υδατικό, λιπαρά ή ξηρά. Θέτοντας τις τιμές μετανάστευσης που πρέπει να χρησιμοποιήσουμε για την εκτίμηση της έκθεσης, με βάση τις κατά προσέγγιση ενδείξεις τις οποίες χιαζόμαστε για να καταλήξουμε σε εκτιμήσεις για την τυπική μετανάστευση των ειδών και τις υψηλές τιμές μετανάστευσης για τις διάφορες κατηγορίες τροφίμων.

Τυπικές τιμές - συντηρητικής εκτίμησης του επιπέδου μετανάστευσης για τα melaware είδη που έχουν υψηλό μεταναστευτικό δυναμικό όταν έρχονται σε επαφή με ζεστά τρόφιμα με βάση τις χαρακτηριστικές συνθήκες επαφής του χρόνου και της θερμοκρασίας.

Υψηλή τιμή- συντηρητικής εκτίμησης του επιπέδου μετανάστευσης για τα melaware είδη που έχουν υψηλό δυναμικό μετανάστευσης το οποίο εξετάστηκε με την χρήση προσομοιωτών τροφίμων που εφαρμόζονται σύμφωνα με τους κανονισμούς χρήσης με την παραμικρή πρόβλεψη σε συνδυασμό με τον χρόνο και την θερμοκρασία στις συνθήκες των δοκιμών. Αυτές οι σοβαρές δοκιμασίες προϋποθέτουν θερμοκρασίες ισοδύναμες με του φούρνου μικροκυμάτων και αφορούν επίσης και το ενδεχόμενο τα είδη αυτά να έχουν γδαρθεί κατά την διάρκεια ζωής τους.

Τα περισσότερα στοιχεία που είναι διαθέσιμα για την μετανάστευση των melaware αντικειμένων προέρχονται από προσομοιωτές τροφίμων όπως οξικό οξύ 3%. Για τον προσομοιωτή 3% οξικού οξέος γίνεται χρήση υψηλής θερμοκρασίας κατά τις διαδικασίες δοκιμής τόσο των νέων όσο και των παλιών (χρήσεων) (Ishiwata et al. 1986; Lund and Petersen 2002, 2006; Bradley et al.,2005; SGL, 2010) και για τα όξινα τρόφιμα που θερμαίνονται σε melaware στο φούρνο μικροκυμάτων. (FERA, 2010) η μετανάστευση μπορεί να αναλυθεί στα 5 mg / kg. Για πλήρωση με ζεστό νερό σε μπολ και φλιτζάνια η μετανάστευση στα όξινα τρόφιμα ήταν 6 φορές μικρότερη από αυτή που παρατηρήθηκε με το οξικό οξύ(FERA, 2010) έτσι καταγράφεται μια τυπική τιμή μετανάστευσης του 1 mg/kg. Οι υψηλές θερμοκρασίες που χρησιμοποιούνται στο νερό ως προσομοιωτής τροφίμων, η μετανάστευση ήταν

περίπου στο ήμισυ στα επίπεδα που παρατηρήθηκαν στο οξικό οξύ (BfR, 2010a) και έτσι τα 3 mg/kg θεωρούνται υψηλά επίπεδα μετανάστευσης.

Η αντιστοίχιση της τιμής για το γέμισμα με ζεστό νερό με τα μη όξινα τρόφιμα θεωρείται ότι αποτελεί το ένα πέμπτο του παρόντος σε 0.6 mg/kg. Με βάση τις εκτιμήσεις για την πολικότητα και την διαλυτότητα η μελαμίνη δεν αναμένεται να έχει μεγάλη μεταναστευτική δραστηριότητα στα λιπαρά τρόφιμα και τα πολύ μικρά διαθέσιμα δείγματα (TNO, 2010) επιβεβαιώνονται από την μη ανιχνεύσιμη μετανάστευση (<0.026 mg/kg) σε ελαιόλαδο που χρησιμοποιείται ακόμη και σε υψηλές συνθήκες θερμοκρασίας. Ωστόσο, δεδομένου ότι τα λιπαρά τρόφιμα μπορεί να περιέχουν τόσο λίπος όσο και νερό σταδιακά οι υψηλές τιμές μετανάστευσης 1 mg/kg και οι τυπικές τιμές 0.2 mg/kg γίνονται δεκτές. Για τα ξηρά τρόφιμα, η μετανάστευση της μελαμίνης αναμένεται να είναι αμελητέα και το ποσοστό του 0.05 mg/kg γίνεται δεκτό και για τις δύο τιμές υψηλή-τυπική, χρησιμοποιώντας τα στοιχεία αναφοράς του πίνακα 12 που ακολουθεί. (CIAA, CEPE and EMPAC, 2009).

Πίνακας 12: Κατ' εκτίμηση τιμές μετανάστευσης της μελαμίνης για κάθε κατηγορία τροφίμου

Μετανάστευση μελαμίνης στα τρόφιμα	Τιμές μετανάστευσης μελαμίνης (mg/kg)	
	Typical τυπική	High υψηλή
Όξινα τρόφιμα	1.0	5.0
Υγρά τρόφιμα	0.6	3.0
Λιπαρά τρόφιμα	0.2	1.0
Ξηρά τρόφιμα	0.05	0.05

Όσον αφορά τα ανάλογα, κυανουρικό οξύ, ammeline και ammelide, μόνο η FERA (2010) έχει κάνει δοκιμές για αυτές τις τρεις ουσίες στα melaware και μόνο δυο είδη melaware έχουν δοκιμαστεί. Δεν ανιχνεύτηκε μετανάστευση στα όρια ανίχνευσης 0.003 έως 0.065 mg/kg. Δεδομένου ότι δεν έχουν εγκριθεί για χρήση σε πλαστικά, γίνεται δεκτό ότι το melaware δεν αποτελεί πηγή μόλυνσης για τα τρόφιμα με κυανουρικό οξύ, ammeline και ammelide.

5.4.3.2. Κόλλες και διάφορες χρήσεις της μελαμίνης σε επαφή με τα τρόφιμα.

Κόλλες

Το Κοινό Ευρωπαϊκό Κέντρο Αναφοράς Ερευνητικών Δοκιμών (Joint Research Centre, JRC) (Ispra), στηρίχτηκε στην EFSA με τα δεδομένα για την μετανάστευση από τις δοκιμές σε 5 πλαστικά ελάσματα. Τα δείγματα που είχαν δοθεί στο JRC από την βιομηχανία ήταν ως υλικά αναφοράς για τις δοκιμές στη μεθοδολογία της μετανάστευσης της μελαμίνης. Δεν υπάρχει σύνθεση πληροφοριών ότι μπορεί να περιέχεται μελαμίνη σε πολυστρωματικά υλικά. Η προσομοίωση των τροφίμων για τον έλεγχο της μετανάστευσης ήταν 3% οξικό οξύ με βάση τις προϋποθέσεις που χρησιμοποιούνται στις δοκιμές δηλαδή, 2 ώρες στους 70 °C και στους 100 °C. Στους 70 °C, 4 από τα 5 δείγματα δεν έδωσαν ανίχνευση μετανάστευσης (<0.06 mg/kg) όμως το 5 δείγμα έδωσε 0.19 mg/kg. Στους 100°C το δείγμα 4 έδωσε ένα εύρος 0.14 έως 0.36 mg/kg και το πέμπτο δείγμα ήταν και πάλι μακράν το υψηλότερο με τη μετανάστευση της μελαμίνης στα 1.5 mg/kg. Επειδή δεν είναι γνωστός ο σκοπός της χρήση αυτών των πολυστρωματικών υλικών στα τρόφιμα που ήρθαν σε επαφή, ούτε είναι γνωστό αν οι υψηλές συνθήκες θερμοκρασίας κατά τις δοκιμές ήταν οι κατάλληλες για την αποτελεσματικότητα των δοκιμών.

Πρόσθετα σε χαρτί

Σε μια έρευνα που έγινε στο εμπορικό χαρτί και σε δείγματα που έρχονται σε επαφή με χαρτί κατά την τυποποίηση τους, για την υπολειμματικότητα σε αμίνες στη μελαμίνη κανένα από τα 260 δείγματα που ελέγχθηκαν δεν περιείχε εκχύλισμα μελαμίνης. Το όριο ανίχνευσης της ανάλυσης με τις αναλυτικές μεθόδους που χρησιμοποιούνται είναι 0.1 mg μελαμίνης ανά κιλό χαρτιού. Για το τυπικό βάρος του χαρτιού που είναι 2 g/dm² αυτό ισοδυναμεί στη χειρότερη περίπτωση το ποσοστό μετανάστευσης να είναι <0.001 mg/kg στα τρόφιμα (MAFF, 1996). Τα πρόσφατα στοιχεία από το 2006, προέρχονται από δοκιμές που έγιναν σε 12 δείγματα προϊόντων που έρχονται σε επαφή με το χαρτί της συσκευασίας στο λιανικό εμπόριο. Δεν παρατηρήθηκε εκχύλισμα μελαμίνης και το δυναμικό της μετανάστευσης ήταν μικρότερο από 0.01 mg/kg στα τρόφιμα. Τα αποτελέσματα αυτά δείχνουν ότι σε υγρή κατάσταση ουσίες που χρησιμοποιούνται στο χαρτί περιέχουν πολύ λίγη μελαμίνη, και αυτό γιατί τα τυχόν υπολείμματα είναι ελεύθερα ή αν υπάρχουν υπολείμματα, δεν συγκρατούνται στις ίνες του χαρτιού αλλά πλένονται κατά την διαδικασία

παραγωγή, η οποία χρησιμοποιεί μεγάλες ποσότητες νερού για να διακόψει τις ίνες του χαρπύ (FSA, 2006).

Επιφάνειες εργασίας κουζίνας.

Μια εφαρμογή της μελαμίνης- φορμαλδεΰδης είναι οι χοντρές κ ανθεκτικές επιφάνειες από πλαστικό επιστρωμένο σε ξύλο ή συνθετικά υλικά ξύλων που χρησιμοποιούνται ως επιφάνειες εργασίας στις κουζίνες για την προετοιμασία του φαγητού. Μια τέτοια επένδυση δοκιμάστηκε με την συνολική εμβάπτιση σε οξικό οξύ 3% για 2ώρες στους 40 °C όπου δεν παρατηρήθηκε μετανάστευση μελαμίνης (< 0.15 mg/dm²) για καμία από τις τρεις διαδοχικές δοκιμές (NRL-FCM, 2010). Παρομοίως, αλλά χρησιμοποιώντας ένα διαφορετικό προσομοιωτή τροφίμων και σε δοκιμαστικές συνθήκες μια επίστρωση επιφάνειας εργασίας δοκιμάστηκε σε 95% αιθανόλη για 24ώρες στους 40 ° C και δεν παρατηρήθηκε καμιά μετανάστευση μελαμίνης. (< 0.07 mg/dm²) (FhILV, 2010)

Διάφορες χρήσεις

Στη βιομηχανία (CIAA, CEPE and EMPAC, 2009) δόθηκαν στοιχεία από 430 διαφορετικά δείγματα συσκευασιών που ελέγχθηκαν για μελαμίνη. Τα υλικά συσκευασίας δεν έχουν περιγραφεί λεπτομερώς και υποτίθεται πως είναι ένα μείγμα από πλαστικό, χαρτί/χαρτόνι κλπ. Η τελική τους μορφή δίνεται με την χρήση συγκολλητικών. Τα αποτελέσματα από την ανάλυση των συσκευασιών μετατρέπονται και υπολογίζονται κατ' ανώτατο όριο σε επίπεδο μετανάστευσης και αν υπάρχει συνολική μεταφορά μάζας από την συσκευασία στην αναλογία των τροφίμων 6 dm² ανά kg. Με αυτούς τους υπολογισμούς, 340 δείγματα ήταν μικρότερα από 6 μg/kg, 63 δείγματα στο εύρος των 6-60 μg/kg, και 31 δείγματα μεταξύ 60-600 μg/kg. Συνεπώς, η αξία των P90 στο μεταναστευτικό δυναμικό ήταν περίπου 50 μg/kg.

5.5. Τα σενάρια της έκθεσης

5.5.1. Υποθετική διαθρεπτική πρόσληψη μελαμίνης από την κατανάλωση μπισκότων.

Το μπισκότο αποτελεί μια συλλογική περιγραφή για ένα μεγάλο φάσμα διαφορετικών αρτοσκευασμάτων από τα οποία μόνο ορισμένα περιέχουν ως συστατικό το γάλα. Το γάλα που περιέχουν τα μπισκότα κατά την βιομηχανική τους επεξεργασία συνηθίζεται να είναι άπαχο γάλα σε ξηρά μορφή κάτι σαν αποβουτυρωμένο γάλα σε σκόνη, αλλά μερικές φορές χρησιμοποιείται και πλήρες γάλα σε σκόνη για την παρασκευή της ζύμης και της γέμισης. Στη ζαχαροπλαστική ή την παρασκευή μπισκότων το συνολικό ποσοστό των στερεών ουσιών στο γάλα δεν υπερβαίνει το 5% και συνήθως είναι μεταξύ 1% με 3%. Η συνθήκες είναι διαφορετικές για την γέμιση στα αρτοσκευασμάτων. Η ως επί το πλείστον η άνυδρη κρέμα μπορεί να περιέχει έως και 20% σκόνη γάλακτος (όχι περισσότερο για γευστικούς λόγους), αλλά συνήθως είναι από 3% και 5%. Τα προϊόντα που χρησιμοποιούνται για τη γέμιση στις γκοφρέτες και τα μπισκότα μπορούν να έχουν έως και 75% γέμιση κρέμας με αποτέλεσμα το ανώτατο όριο για την γέμιση των αρτοσκευασμάτων με γάλα σε σκόνη να είναι στο 16%. Σε μια υπόθεση που έγινε, εκτιμήθηκε πως τα εν λόγω μπισκότα περιείχαν 2% γάλα σε σκόνη για τα απλά μπισκότα και 3,5% γάλα σε σκόνη για τα γεμιστά μπισκότα.

Έχει υπολογιστεί πως η μέση ετήσια κατά κεφαλήν κατανάλωση σε μπισκότα και γκοφρέτες κυμαίνεται από 0,5kg στην Ιρλανδία έως 18,7kg στις Κάτω Χώρες, με την μέση πμή στην ΕΕ να είναι στα 8,0 kg (Caobisco http://www.caobisco.com/doc_uploads/Charts/consumption_biscuits.pdf). Αυτό ισοδυναμεί με τον μέσο όρο της ΕΕ για την καθημερινή κατά κεφαλήν κατανάλωση που είναι τα 0,022 kg. Αυτά τα ποσοστά είναι περίπου το 10% του συνόλου για τα δημητριακά και για τα προϊόντα δημητριακών από την συνοπτική καταγραφή της κατανάλωσης από την Ευρωπαϊκή Αρχή για την κατανάλωση (database http://www.efsa.eu.int/EFSA/ScientificPanels/DATEx/efsa_locale-1178620753812_ConciseEuropeanConsumptionDatabase.htm). Δεν υπάρχουν αποδεδειγμένες ενδείξεις για τα ανώτερα προσλαμβανόμενα ποσοστά στα δείγματα της Caobisco, αλλά αναφέρονται σε μια συνοπτική βάση δεδομένων για τους καταναλωτές στο πλαίσιο του υψηλού επιπέδου P95 για την κατανάλωση κοντά στο

διπλάσιο από τον μέσο καταναλωτή ή ανάλογα με την χρήση του προϊόντος σύμφωνα με τις πληροφορίες του Caobisco, που εκτιμάται ότι η καθημερινή κατανάλωση είναι 0,044kg.

Τα διάφορα σενάρια για την διαθρεπτική έκθεση σε μελαμίνη παρουσιάζονται στον πίνακα 13 που ακολουθεί. Οι δύο συγκεντρώσεις της μελαμίνης για το γάλα σε σκόνη (29 και 2,563 mg/kg), καθώς και των μπισκότων σε τρεις διαφορετικές συγκεντρώσεις γάλατος σε σκόνη (2, 3.5 και 16%) με μέση κατανάλωση P95(95th percentile) στα ποσά (0.022 ή 0.044 kg ανά ημέρα). Οι υπολογισμοί παρουσιάζονται για τους ενήλικες στα 60 kg b.w. και για τα παιδιά στα 20 kg b.w.

Πίνακας 13: Σενάρια πιθανής έκθεσης σε μελαμίνη από διαθρεπτική πρόσληψη με την κατανάλωση μπισκότων που εισάγονται από την Κίνα.

Συγκέντρωση μελαμίνης		Έκθεση στα τρόφιμα mg/kg b.w. ανά ημέρα			
		60 kg ενήλικες		20 kg παιδιά	
		Mean ^{a)}	95th percentile ^{b)}	Mean ^{a)}	95th percentile ^{b)}
Γάλα σε σκόνη	Απλό μπισκότο (2%)				
	29 mg/kg	0.6 mg/kg	0.0002	0.0004	0.0006
2563 mg/kg	51.3 mg/kg	0.0188	0.0376	0.0564	0.1128
	Γεμιστό μπισκότο (3.5%)				
	29 mg/kg	1.0 mg/kg	0.0004	0.0007	0.0011
2563 mg/kg	89.7 mg/kg	0.0329	0.0658	0.0987	0.1974
	Ποιότητα γέμισης μπισκότου (16%)				
	29 mg/kg	4.6 mg/kg	0.0017	0.0034	0.0051
2563 mg/kg	410.1 mg/kg	0.1504	0.3007	0.4511	0.9022

a) Mean daily consumption of 0.022 kg

b) 95th percentile daily consumption of 0.044 kg.

Η διαθρεπτική εκτίμηση της έκθεσης είναι μεταξύ 0,0002 και 0,3007 mg/kg b.w. ημερησίως για ενήλικες και 0,0006 έως 0,9022 mg/kg b.w. ημερησίως για τα παιδιά. Η υψηλότερη έκθεση υπολογίζεται στα παιδιά εξαιτίας της κατανάλωσης γεμιστών μπισκότων με υψηλό ποσοστό σκόνης γάλακτος που υπερβαίνει το TDI. Ωστόσο, δεν υπάρχουν διαθέσιμες πληροφορίες σχετικά με το αν εισάγονται από την Κίνα στην Ευρώπη τα συγκεκριμένα προϊόντα και πόσο συχνά προκειμένου να εξακριβωθούν τα επίπεδα αν υπάρχει έκθεση στη μελαμίνη στην Ευρώπη.

5.6. Υποθετική διαθρεπτική πρόσληψη μελαμίνης από την κατανάλωση ειδών ζαχαροπλαστικής.

Το γάλα χρησιμοποιείται σε καραμέλες γάλακτος (τα γνωστά φοντάν) ή ως γέμιση σε σκληρές καραμέλες. Το κανονικό ποσοστό σκόνης γάλακτος στις καραμέλες είναι περίπου 10-12% και ακόμη πιο μικρό για τις γεμιστές καραμέλες.

Οι σοκολάτες γάλακτος παρασκευάζονται με υποκατάστατα σκόνης πλήρους γάλακτος, ενώ ένα μέρος της μάζας τους είναι το κακάο που χρησιμοποιείται για την παραγωγή του γλυκού σοκολάτας. Σύμφωνα με την ΕΕ (Οδηγία 2000/36/EC of the Ευρωπαϊκού κοινοβουλίου και του Συμβουλίου- OJ L197 of 3.8.2000), το γάλα που περιέχεται στην σοκολάτα, που είναι γάλα σε σκόνη, είναι τουλάχιστον 14% στις συμπαιγίες και 20% στις οικογενειακές συσκευασίες σοκολάτας. Οι βιομηχανίες παρασκευής όμως συνηθίζουν να υπερβαίνουν κατά κανόνα την τιμή αυτή, όπου συχνά είναι το 15-25% στερεό πλήρες γάλα. Στο σενάριο της έκθεσης το ανώτατο όριο που χρησιμοποιήθηκε ήταν το 25% (στον πιο κάτω πίνακα 14). Μεγαλύτερες ποσότητες γάλακτος σε σκόνη θα επηρεάσουν αρνητικά την γεύση του προϊόντος είναι όμως και πρακτικά πολύ δύσκολο να υλοποιηθεί.

Έχει υπολογιστεί πως η μέση κατά κεφαλήν ετήσια κατανάλωση σε είδη ζαχαροπλαστικής όπως η σοκολάτα κυμαίνεται από 0,8kg, στην Πολωνία έως 10kg στο Ηνωμένο βασίλειο με τον μέσο όρο στην ΕΕ να είναι στα 5,2 kg (Caobisco οδηγία 2000/36/EC of the European Parliament and of the Council - OJ L197 of 3.8.2000). Αυτό ισοδυναμεί με την μέση ημερήσια κατά κεφαλήν κατανάλωση στην ΕΕ που είναι 0,014kg. Το 36% είναι το ποσοστό της συνολικής ζάχαρης και των προϊόντων ζάχαρης συμπεριλαμβανομένης της κατανάλωσης σοκολάτας που καταγράφεται συνοπτικά στη βάση δεδομένων στην Ευρωπαϊκή Αρχή

Καταναλωτών. Δεν υπάρχει καμία ένδειξη για το ανώτερο ποσό πρόσληψης στις πληροφορίες της Caobisco, αλλά στην βάση δεδομένων Concise για τους καταναλωτές το P95 επίπεδο έχει κατανάλωση τρεις φορές μεγαλύτερη για τον μέσο καταναλωτή ή με βάση την εκτίμηση της Caobisco η καθημερινή κατανάλωση είναι τα 0,042 kg.

Τα σενάρια για την διαθρεπτική έκθεση σε μελαμίνη από τα προϊόντα ζαχαροπλαστικής παρουσιάζονται στον ακόλουθο πίνακα 14. Στην υπόθεση χρησιμοποιούνται δύο επίπεδα συγκέντρωσης μελαμίνης στο γάλα σε σκόνη (29 και 2,563 mg/kg) καθώς και για τα είδη ζαχαροπλαστικής με δύο συγκεντρώσεις γάλακτος σε σκόνη (10 και 25%) με μέση κατανάλωση ή P95 (0.014 ή 0.042 kg ανά ημέρα). Οι υπολογισμοί είναι για ενήλικες με 60 kg b.w. και παιδιά με 20kg b.w.

Πίνακας 14: Σενάριο πιθανής έκθεσης σε μελαμίνη από την κατανάλωση μολυσμένων προϊόντων ζαχαροπλαστικής εισαγόμενα από Κίνα.

Συγκέντρωση μελαμίνης		Έκθεση στα τρόφιμα mg/kg b.w. ανά ημέρα				
		60 kg ενήλικες		20 kg παιδιά		
		Mean ^{a)}	95th percentile ^{b)}	Mean ^{a)}	95th percentile ^{b)}	
Γάλα σε σκόνη	Γάλα καραμέλας βουρήρου (10%)					
	29 mg/kg	2.9 mg/kg	0.0007	0.0020	0.0020	0.0061
Σοκολάτα (25%)	2563 mg/kg	256.3 mg/kg	0.0598	0.1794	0.1794	0.5382
	29 mg/kg	7.3 mg/kg	0.0017	0.0051	0.0051	0.0152
	2563 mg/kg	640.8 mg/kg	0.1495	0.4485	0.4485	1.3456

a) Mean daily consumption of 0.014 kg

b) 95th percentile daily consumption of 0.042 kg

Η διαθρεπτική έκθεση σε μελαμίνη από την κατανάλωση ειδών ζαχαροπλαστικής κυμαίνεται μεταξύ 0,0007 και 0,4485 mg / kg σωματικού βάρους ανά ημέρα για τους ενήλικες και μεταξύ 0,0020 και 1,3456 mg / kg σωματικού βάρους ανά ημέρα για τα παιδιά. Οι υψηλότερες τιμές έκθεσης υπολογίζονται για τα παιδιά εξαιτίας της σοκολάτας και της μεγάλης περιεκτικότητας που έχει σε γάλα σκόνης που υπερβαίνει

το TDI κατά δύο φορές. Ωστόσο, δεν υπάρχουν προς το παρόν πληροφορίες σχετικά με τα προϊόντα που εισάγονται από την Κίνα στην Ευρώπη σε α συχνότητα και ποσοστό έκθεσης μπορούν να βρεθούν στις αγορές.

5.7. Οι εκτιμήσεις της έκθεσης σε σχέση με την υγεία.

Τα αποτελέσματα από τα διατροφικά σενάρια για την έκθεση αναπτύσσονται στους πίνακες 13 και 14 σε σύγκριση με την TDI (Πίνακας 15).

Πίνακας 15: Μια σύγκριση της διαθρεπτικής έκθεσης στη μελαμίνη σε σχέση με την TDI των 0,5 mg / kg

Συγκεντρώσεις μελαμίνης	Ποσοστά έκθεσης στα τρόφιμα από TDI			
	Ενήλικες 60 kg Σωματικού βάρους		Παιδιά 20 kg Σωματικού βάρους	
	Mean	95 th percentile	Mean	95 th percentile
Απλό μπισκότο (2%)				
Median	0.0%	0.1%	0.1%	0.3%
High	4%	8%	11%	23%
Γεμιστό μπισκότο (3.5%)				
Median	0.1%	0.1%	0.2%	0.4%
High	7%	13%	20%	40%
Ποιότητα γέμισης μπισκότων (16%)				
Median	0.3%	0.7%	1%	2%
High	30%	60%	90%	180%
Καραμέλες γάλακτος (10%)				
Median	0.1%	0.4%	0.4%	1.2%
High	12%	36%	36%	108%

Σοκολάτες(25%)				
Median	0.3%	1%	1%	3%
High	30%	90%	90%	269%
Συνδυασμένη κατανάλωση μπισκότα	30%		90%	
Σοκολάτες		90%		269%
συνδυασμός		120%		359%
μπισκότα		60%		180%
σοκολάτες	30%		90%	
συνδυασμός		90%		270%

Με βάση τα στοιχεία από το σενάριο της έκθεσης δεν υπάρχει ανησυχία για την υγεία των ενηλίκων στην Ευρώπη από την κατανάλωση μολυσμένου γάλακτος σε σκόνη. Τα παιδιά όμως είναι πιο εκτεθειμένα στον κίνδυνο της μόλυνσης όπως αναφέρεται από το P95, εξαιτίας της κατανάλωσης μπισκότων ή ειδών ζαχαροπλαστικής που μπορεί να υπερβαίνουν το TDI των 0.5 mg/kg b.w. σε μεμονωμένες περιπτώσεις. Στην περίπτωση που καταναλώνονται και τα δύο, μπισκότα και σοκολάτες υπάρχει περίπτωση το TDI να υπερβαίνεται κατά τρεις φορές. Οι διατροφικοί υπολογισμοί που αφορούν την έκθεση για την ποιότητα της γέμισης στα μπισκότα μπορεί να είναι υπερεκτιμημένοι σε σχέση με την πραγματική κατάσταση καθώς δεν υπάρχουν στοιχεία από τις ποσότητες και την συχνότητα των εξαγωγών από την Κίνα στην Ευρώπη, χωρίς αυτό να είναι απίθανο. Το σενάριο με την σοκολάτα θεωρείται πιο ρεαλιστικό.

6. Τοξικότητα.

6.1 Πειράματα για την τοξικότητα μελαμίνης

Η τοξικότητα της μελαμίνης δεν έχει διαπιστωθεί από στοιχεία που προέρχονται από τον άνθρωπο αλλά από πειράματα που γίνονται σε αρουραίους, ποντικούς και σκύλους . Στους αρουραίους η μελαμίνη δεν μεταβολίζεται και αποβάλλεται ταχέως από τα ούρα με χρόνο ημίσειας ζωής στο πλάσμα τις 3 ώρες (OECD 1998). Τα σύνθετα έχουν χαμηλή οξεία τοξικότητα, στους αρουραίους το LD50 είναι 3,161mg/kg σωματικού βάρους (OECD 1998). Οι κύριες τοξικές επιδράσεις της διαθρεπτικής έκθεσης αρουραίων και ποντακίων στη μελαμίνη ήταν ο σχηματισμός λίθων, οι φλεγμονώδεις αντιδράσεις και η υπερπλασία της ουροδόχου κύστεως(OECD 1998; Melnick et al. 1984; Bingham et al. 2001; IARC 1986). Οι χρόνιες και υποχρόνιες μελέτες στα ζώα αδυνατούν να επιδείξουν οποιαδήποτε νεφρική τοξικότητα. Σε θηλυκούς αρουραίους, ωστόσο, μια διαθρεπτική μελέτη 13 εβδομάδων έδειξε, σχετικά με τη δόση της ουσίας, ασβεστολιθικές κατακρατήσεις στις κεντρικές αρτηρίες. Μετά από δεύτερη διαθρεπτική μελέτη παρατηρήθηκε η χρόνια φλεγμονή του νεφρού (Apon 1983). Σε αρουραίους και σκύλους, υψηλές δόσεις της μελαμίνης έχουν διουρητικές ιδιότητες, χωρίς να προκαλούν νεφρική τοξικότητα (Lipschitz and Stokey 1945). .

Πολύ πρόσφατες έρευνες Lam et al. (2009) βρήκαν μια υψηλή συσχέτιση μεταξύ της πέτρας του νεφρού και της ουρικής συγκέντρωσης μελαμίνης σε ανθρώπους με επιβεβαιωμένο ιστορικό κατανάλωσης γαλακτοκομικού προϊόντος (MTMP) μολυσμένων με μελαμίνη. Οι αναλύσεις αυτές δείχνουν πως η κατανάλωση μελαμίνης σχετίζεται με το σχηματισμό πέτρας.

6.2. Καρκινογένεση από τη μελαμίνη

Το Διεθνές Κέντρο Έρευνας για τον καρκίνο (IARC) κατέληξε στο συμπέρασμα ότι υπάρχουν επαρκή αποδεικτικά στοιχεία σε μελέτες με πειραματόζωα που καθιστούν καρκινογόνα υπό ορισμένες συνθήκες τη μελαμίνη με βασικό στοιχείο της πέτρας στην ουροδόχο κύστη. Ωστόσο, υπάρχουν ανεπαρκή στοιχεία για καρκινογένεση στον άνθρωπο . (IARC 1999).

6.3. Τοξικότητα του κυανουρικού οξέος

Το κυανουρικό οξύ έχει χαμηλή οξεία τοξικότητα σε θηλαστικά, όπως παρατηρήθηκε από χορήγηση σε αρουραίους με LD50 των 7700mg/kg σωματικού βάρους (OECD 1999). Πολλές υποχρόνιες μελέτες έχουν δείξει τοξικότητα που προκαλεί στους ιστούς των νεφρών βλάβη, συμπεριλαμβανομένης της διαστολής των νεφρικών αρτηριών, νέκρωση ή υπερπλασία του επιθηλίου της αρτηρίας, αύξηση των βασεόφιλων στις αρτηρίες ουδετεροφιλικής διήθησης, ανοργανοποίησης και ίνωσης. Οι αλλαγές αυτές πιθανόν να οφείλονται στους κυανουρικούς κρυστάλλους των νεφρικών αρτηριών (OECD 1999). Το no-observed-adverse effect-level (NOAEL) για τα αποτελέσματα αυτά είναι 150mg/kg/ημέρα (OECD 1999). Στους ανθρώπους, πάνω από το 98% έχει χορηγηθεί μία δόση κυανουρικού οξέος το οποίο απεκκρίνεται αμετάβλητο στα ούρα μέσα σε 24 ώρες (Allen et al. 1982).

6.4. Συνδυασμένη τοξικότητα από μελαμίνη και κυανουρικό οξύ

Τόσο η μελαμίνη όσο και το κυανουρικό οξύ θεωρούνται ότι έχουν χαμηλή τοξικότητα για τον άνθρωπο, αν και θεωρούνται πιο τοξικές όταν είναι σε συνδυασμό (Brown et al. 2007). Αξίζει να σημειωθεί, Perdigão et al. (2006) ότι η μελαμίνη και το κυανουρικό οξύ μπορούν να αποτελέσουν το υδρογονικό πλέγμα στο διμοριακό δίκτυο από μία επιφάνια με βάση τη διαδικασία οργάνωσης. Όλες οι αναφορές για την επιμόλυνση από τα μολυσμένα τρόφιμα επιβεβαιώθηκαν από πειράματα και μελέτες σε αρουραίους με την χορήγηση μελαμίνης, ammeline ή ammelide ξεχωριστά, αλλά και ένα μείγμα μελαμίνης και κυανουρικού οξέος καθώς και ένα μείγμα και των τεσσάρων ενώσεων (Brown et al. 2007; Puschner et al. 2007). Η μεμονωμένη χορήγηση ammeline ή ammelide δεν έχει οξεία τοξικότητα αλλά τα μείγματα των ενώσεων προκαλούν σημαντική νεφρική βλάβη και κρυστάλλους στα νεφρά. Η ανάλυση επιβεβαίωσε την παρουσία της μελαμίνης και του κυανουρικού οξέος στα νεφρά. Με τη χρήση υπέρυθρης μικροφασματοσκοπίας παρατηρήθηκαν κρύσταλλοι στα νεφρά των αρουραίων και στις γάτες επιβεβαιώνοντας ότι ο συνδυασμός μελαμίνης και κυανουρικού οξέος προκαλεί βλάβη στα νεφρά. Η μελαμίνη σε σύγκριση με το κυανουρικό έχει πολύ χαμηλή διαλυτότητα στο νερό και το γεγονός αυτό οδηγεί στο σχηματισμό κρυστάλλων στα νεφρά. Η μελαμίνη και το κυανουρικό οξύ όπως έχει διαπιστωθεί απορροφάται από το γαστρεντερικό σύστημα, κατανέμοντας τα συστατικά και

για λόγους που δεν έχουν προσδιοριστεί κατακάθεται ίζημα στη νεφρική αρτηρία που προοδευτικά οδηγεί στην απόφραξη και θρόμβωση των αρτηριών (Dobson et al. 2008).

6.5. Προσωρινά μέτρα για την ασφάλεια και την αξιολόγηση των κινδύνων

Η βάση για τον καθορισμό των επιπέδων της μελαμίνης όπως ορίστηκε από την Αμερικανική Υπηρεσία Τροφίμων και Φαρμάκων στις 25 Μαρτίου 2007 είναι τα 50 ppb (US FDA 2007). Το επίπεδο αυτό των 50 ppb αποτελεί μια συντηρητική εκτίμηση του ορίου ανίχνευσης (LOD) για τις μεθόδους που χρησιμοποιούνται, μια τιμή που θα εξασφαλίσει τα σενάρια της έκθεσης. Η μέθοδος αυτή βρίσκει εφαρμογή στην ανίχνευση της μελαμίνης μόνο στο κρέας ωστόσο είναι αναμενόμενο να υπάρχουν και άλλα παράγωγα μελαμίνης στους ιστούς. Με σκοπό την αξιολόγηση, η συγκέντρωση της μελαμίνης που είχε αναληφθεί από τον ιστό (50ppb) διπλασιάζεται έως 100ppb λαμβάνοντας υπόψη το κυανουρικό οξύ, το οποίο δεν μετρήθηκε στις προηγούμενες δοκιμές. Ο διπλασιασμός των μετρήσεων της μελαμίνης στους ιστούς, όπου βρίσκονται εν μέρει και τα επίπεδα των ενώσεων μελαμίνης, που παρατηρήθηκαν στα μολυσμένα τρόφιμα, ταυτοποιήθηκαν με τους κρυστάλλους στα νεφρά και είναι ένα μείγμα μελαμίνης και κυανουρικού οξέος (US FDA 2007). Επιπλέον, διαπιστώθηκε ότι η προκύπτουσα ανεκτή ημερήσια πρόσληψη (TDI) είναι $0,63 \text{ mg/kg}^{-1}$ σωματικού βάρους. Τα βρέφη είναι πιο ευαίσθητα από τους ενήλικες στη έκθεση, έτσι, η FDA των ΗΠΑ είχε θεσπίσει για δεκαπλάσια προστασία τον παράγοντα TDI των $0,063 \text{ mg μελαμίνης kg}^{-1}$ βάρους σώματος. Στην έκθεση του FDA των ΗΠΑ, η μελαμίνη δεν είναι εγκεκριμένη ουσία για την άμεση επαφή με τον άνθρωπο και κανένας κατασκευαστής δεν επιτρέπεται να την προσθέτει εσκεμμένα σε οποιαδήποτε τροφή στην καταναλωτική αγορά των ΗΠΑ. Η αμερικανική FDA κάνει ανάλυση της πρωτεΐνης που περιέχεται στα τρόφιμα πέραν των γαλακτοκομικών προϊόντων που περιέχουν μολυσμένη μελαμίνη και τις συναφείς ενώσεις της. (FDA των ΗΠΑ 2009)

Στην έκθεση της Ευρωπαϊκής Αρχής για την Ασφάλεια των Τροφίμων (EFSA, 25 Σεπτεμβρίου 2008) χρησιμοποιήθηκε το TDI των $0,5 \text{ mg/kg}^{-1}$ σωματικού βάρους, επίπεδο προστατευτικό για την έκθεση στη διάρκεια της ζωής. Η EFSA επισήμανε ότι όλα τα προϊόντα από την Κίνα, που περιέχουν περισσότερο από 15% γάλα, ως συστατικό ή προϊόντα για τα οποία το ποσοστό του γάλακτος που περιέχεται δεν μπορεί να προσδιοριστεί, θα υπόκεινται με έγγραφο η ταυτότητα και ο φυσικός

έλεγχος, συμπεριλαμβανομένου της εργοστασιακής ανάλυσης, προκειμένου να διαπιστωθεί ότι τα επίπεδα παρουσίας της μελαμίνης στο προϊόν δεν υπερβαίνουν τα 2,5 ppm. Τα προϊόντα με περισσότερο από 2,5 ppm καταστρέφονται (Food Standards Agency 2008). Αργότερα, η ΕΕ απαγόρευσε ένα σύνολο από κινεζικά προϊόντα που παρασκευάζονται από γάλα και παρεμφερή προϊόντα που προορίζονται για τη διατροφή συγκεκριμένα των βρεφών και των μικρών παιδιών.

Η Ασφάλεια Τροφίμων στη Νέα Ζηλανδία (NZFSA, 26 Σεπτεμβρίου 2008) εξέδωσε ως όριο τα 5 ppm για τα περισσότερα τρόφιμα. Αυτό δείχνει ότι οι τροφές που περιέχουν μέχρι και 5 ppm μελαμίνης δεν θέτουν σε κίνδυνο την ανθρώπινη υγεία. Ωστόσο, για το βρεφικό γάλα, το ανώτατο όριο παραμένει στο τρέχον επίπεδο ανίχνευσης το 1ppm. Στα γαλακτοκομικά προϊόντα με βάση τα δημητριακά στην τελική μορφή τους, εκτός από τα παρασκευάσματα για βρέφη, το επίπεδο είναι 2,5 ppm, συγκέντρωση πάνω από αυτό το όριο είναι ένδειξη νοθείας. Ακόμα και τα χαμηλά επίπεδα της νοθείας στα νήπια, όταν χορηγηθούν συστηματικά, οδηγούν στην υπέρβαση του TDI για τη μελαμίνη. Με βάση τα γαλακτοκομικά συστατικά, τρόφιμα όπως οι καραμέλες και τα μπισκότα, τα οποία ενδέχεται να είναι σπάνια στην κατανάλωση και σε μικρές ποσότητες, δεν θεωρούνται υψηλού κινδύνου τρόφιμα για το δυναμικό της διαθρεπτικής έκθεσης στη μελαμίνη ακόμη και αν τα γαλακτοκομικά συστατικά τους είναι νοθευμένα. Έτσι, η NZFSA(2008) ενέκρινε τον υψηλότερο συντελεστή ασφαλείας όπως εμφανίζεται κανονικά, με όριο τα 2,5 ppm στα γαλακτοκομικά προϊόντα και με βάση την κλίμακα για τα δημητριακά πριν από την θέσπιση εξεταστικών μέτρων.

Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (WHO, 5 Δεκεμβρίου 2008) υιοθέτησε ένα νέο TDI των $0,2 \text{ mg/kg}^{-1}$ ανά βάρους σώματος, χαμηλότερο από αυτό που έχει καθοριστεί από την FDA των ΗΠΑ και την EFSA μόνο για την μελαμίνη. Έχει διαπιστωθεί ότι η μελαμίνη, μαζί με τα ανάλογα της, μπορεί να ήταν η κύρια αιτία θανάτου από την κατανάλωση νοθευμένης τροφής. Η μελαμίνη είναι συνδεδεμένη με την νεφρική τοξικότητα και με την καρκινογένεση δευτερογενών λίθων στα ούρα, λόγω σχηματισμού κρυστάλλων. Οι πέτρες στο νεφρό είναι πολύ συχνό φαινόμενο όταν η μελαμίνη συνδυάζεται με άλλα ανάλογα όπως το κυανουρικό οξύ. Το επίπεδο ασφαλείας, όπως έχει οριστεί από την FDA των ΗΠΑ είναι τα 50 ppb βάση της ευαισθησίας της αναλυτικής εξέτασης.

6.6 Η έκθεση αξιολόγησης της μελαμίνης στον άνθρωπο.

6.6.1 Κατανάλωση τροφής

Η Ευρωπαϊκή συνοπτική βάση δεδομένων κατανάλωσης τροφίμων της EFSA (Concise European Food Consumption database) δημιουργήθηκε από την EFSA για την υποστήριξη της έκθεσης εκτίμησης που πραγματοποίησε η ΕΕ. Από τα δείγματα 19 χώρες έχουν παρουσιάσει εθνικά στοιχεία στην βάση δεδομένων της EFSA. Τα συγκρίσιμα αποτελέσματα ήταν στοιχεία που συγκεντρώθηκαν από 15 μεγάλες ομάδες τροφίμων, παρόλο που ορισμένα κράτη μέλη παρείχαν στοιχεία και για ορισμένες υποομάδες δημιουργώντας συνολικά 28 διαφορετικές κατηγορίες τροφίμων. Τα στοιχεία για την κατανάλωση με βάση τις ομάδες τροφίμων, συνδέονται με μεμονωμένα στοιχεία σχετικά με το φύλο, την ηλικία και το σωματικό βάρος. Τα κύρια στατιστικά στοιχεία των δεδομένων που είναι διαθέσιμα στο δικτυακό τόπο της EFSA περιέχουν τη μέση κατανάλωση, τη μέση και τυπική απόκλιση, καθώς και αρκετά χαμηλά και υψηλά εκατοστημόρια της κατανάλωσης για το γενικό πληθυσμό όσο και για τους καταναλωτές.

Η συνοπτική βάση δεδομένων προορίζεται να χρησιμοποιηθεί ως εργαλείο ελέγχου για την αξιολόγηση της έκθεσης, καθώς είναι ένα πρώτο βήμα προς τη δημιουργία μιας πληρέστερης βάσης δεδομένων. Τα δείγματα αυτά επιτρέπουν την εκτίμηση της συνολικής έκθεσης των ομάδων του πληθυσμού σε μια μεγάλη ποικιλία ουσιών. Οι περιορισμοί που προκύπτουν και εφαρμόζονται σε διάφορες χώρες για μια μεγάλη κατηγορία τροφίμων ορίζονται από τις μεθόδους συλλογής δεδομένων. Η χρήση της βάσης δεδομένων μπορεί να είναι επαρκής, όταν ο υπολογισμός της έκθεσης, με βάση τις συντηρητικές υποθέσεις για τις συγκεντρώσεις, είναι κάτω από το επίπεδο ανησυχίας. Εάν αυτό δεν συμβαίνει, είναι αναγκαίες και περαιτέρω βελτιώσεις, ιδίως κατά τον καθορισμό των υποκατηγοριών και προσαρμογών, που σημαίνει τη χρήση της κατάλληλης δειγματοληψίας με τον συντελεστή προσαρμογής (SAF). Το καθοδηγητικό έγγραφο με τα δεδομένα για την χρήση έχει δημοσιευθεί στον διαδικτυακό τόπο της EFSA (βλ. παράρτημα 3 της EFSA, 2008b)

Για τον υπολογισμό της μελαμίνης και του κυανουρικού οξέος, τα δεδομένα σε ατομικό επίπεδο ήταν προσβάσιμα από την βάση δεδομένων. Με τον τρόπο αυτό, η 95^η εκατοστιαία έκθεση, μπορεί να υπολογιστεί ειδικότερα με μεγαλύτερη ακρίβεια από ότι χρησιμοποιώντας τη μέθοδο που περιγράφεται στο έγγραφο

προσανατολισμού. Επίσης είναι δυνατή η χρήση του ατομικού βάρους, όπως καταγράφεται και όχι ενός τυπικού βάρους 60 kg.

6.6.2 Κατανάλωση τροφής για βρέφη και μικρά παιδιά

Τα βρέφη και τα μικρά παιδιά είναι συχνά περισσότερο εκτεθειμένα από τους ενήλικες στις χημικές ουσίες των τροφίμων λαμβάνοντας υπόψη την έκθεση σε σχέση με το σωματικό βάρος. Σύμφωνα με το Ινστιτούτο Ιατρικής (IOM) η μέση κατανάλωση μητρικού γάλακτος είναι περίπου 750-800g ανά ημέρα (εύρος:450-1.200g την ημέρα) για τους πρώτους 4-5 μήνες της ζωής (IOM,1991).Για τα βρέφη το σωματικό βάρος κατά τη γέννηση και η συχνότητα θηλασμού έχει αποδειχθεί ότι επηρεάζουν τον ρυθμό πρόσληψης (IOM,1991). Η γερμανική μελέτη DONALD εξέτασε την κατανάλωση παρασκευασμάτων για βρέφη και διαπίστωσε ότι ένα 3 μηνών παιδί βάρους κατά μέσο όρο 6,1 κιλά καταναλώνει μια μέση τιμή 780 ml ανά ημέρα, με την 95^η εκατοστιαία κατανάλωση 1.069 ml ανά ημέρα (Kersting et al.,1998). Λαμβάνοντας υπόψη τις δύο μελέτες, μια στρογγυλεμένη μέση τιμή είναι τα 800g ανά ημέρα και μια μέση τιμή μεγαλύτερης αξίας είναι τα 1100g ημερησίως που χρησιμοποιήθηκαν για τον υπολογισμό της μελαμίνης και της έκθεσης του κυανουρικού οξέος από τον τύπο του γάλακτος.

6.6.3 Η έκθεση σε ενήλικες με βάση τα στοιχεία

Για τη μελέτη της διαθρεπτικής έκθεσης σε μελαμίνη έγινε υπολογισμός ξεχωριστά σε κάθε χώρα για το σύνολο του πληθυσμού χρησιμοποιώντας τα δεδομένα κατανάλωσης όπως καταγράφονται σε ατομικό επίπεδο. Η μέση η P95 και η ανώτερη τιμή δεσμεύονται από κάθε κατηγορία τροφίμων με βάση την CIAA, CEPE και Eprac σε ένα κοινό σύνολο δεδομένων (πίνακας 7, 5.4.2) με τα εμφανιζόμενα ποσά να χρησιμοποιούνται ως στοιχεία της εμφάνισης μαζί με όλα τα επιμέρους στοιχεία για την κατανάλωση από την Concise τροφίμων στη βάση δεδομένων για τον υπολογισμό της έκθεσης από την κατανάλωση. Η αθροιστική έκθεση που προέρχεται από όλες τις κατηγορίες τροφίμων υπολογίζονται χωριστά για κάθε άτομο. Όπως έχει αναφερθεί και στην παράγραφο 5.2, τα δεδομένα για το περιστατικό που έχουν υποβληθεί στις ευρωπαϊκές χώρες δεν έχουν χρησιμοποιηθεί στην έκθεση εκτίμησης επειδή ήταν αποτέλεσμα στοχοθετημένης δειγματοληψίας και δεν είναι αναπροσωπευτικά των τροφίμων της αγοράς της ΕΕ. Η έκθεση των ενηλίκων στη μελαμίνη στις ευρωπαϊκές χώρες υπολογίζεται από τη χρήση του μέσου

και του P95 η κάθε κατηγορία εμφάνισης παρουσιάζεται στον πίνακα. Το χειρότερο σενάριο βασίζεται στα δείγματα που συλλέγονται για την εμφάνιση του P95. Οι εκτιμήσεις της έκθεσης P95 είναι κάτω από 11mg/kg σωματικού βάρους ανά ημέρα για όλες τις χώρες. Εφόσον οι εκτιμήσεις της έκθεσης ήταν πολύ χαμηλότερες από το TDI δεν κρίθηκε απαραίτητη η πιθανολογική εκτίμηση της έκθεσης. Η διακύμανση στην έκθεση μεταξύ των χωρών έχει επηρεαστεί από διάφορα πρότυπα κατανάλωσης, δεδομένου ότι οι συγκεντρώσεις μελαμίνης στις διάφορες κατηγορίες τροφίμων θεωρήθηκαν κοινές σε ευρωπαϊκό επίπεδο. Η συσχέτιση κάθε κατηγορίας τροφίμου με την έκθεση μελαμίνης υπολογίστηκε από τη μέση και την P95 με το ανώτερο όριο της μελαμίνης να εκφράζεται σε mg/kg σωματικού βάρους ανά ημέρα και το συνολικό επίπεδο μελαμίνης να περιγράφεται με τις μέσες τιμές και την P95 με βάση τα δείγματα για την εμφάνιση της μελαμίνης στα τρόφιμα πίνακας 6 και πίνακας 7 αντίστοιχα.

Η έκθεση εξαρτάται κυρίως το ποσοστό κατανάλωσης για τα αντίστοιχα είδη διατροφής, το γάλα, το νερό, τα λαχανικά και τα δημητριακά και όχι από την παρουσία της μελαμίνης. Οι τιμές αυτές μπορούν να θωρηθούν στατιστικές, γιατί τα δεδομένα που εμφανίζονται στις περισσότερες περιπτώσεις είναι άνω των ορίων των τιμών για να μην ανιχνεύονται τα δείγματα.

6.6.4 Η δυνητική έκθεση ενηλίκων στη μελαμίνη που προκύπτει από τη χρήση κυανουρικού

Στα αιγοπρόβατα, τα κατάλοιπα, που προκύπτουν από τη μελαμίνη και το κυανουρικό οξύ έχουν ένα μέγιστο επίπεδο υπολειμμάτων (300mg/kg κρέατος) που θα φθάσει το ανώτατο όριο των 4mg/kg στο κρέας. Αυτό θα έχει ως αποτέλεσμα η έκθεση της μελαμίνης να είναι κάτω από τα 0,020mg/kg b.w. ανά ημέρα, λαμβάνοντας υπόψη την κατανάλωση κρέατος που είναι για τους ενήλικες τα 300g στα 60kg. Μετά τη χρήση του cyromazine στις τροφές των πουλερικών για την απεντόμωση από δίπτερα και προνύμφες, παρατηρήθηκε η μετατροπή σε μελαμίνη μέχρι και 10% της χορηγούμενης δόσης. Εάν ολόκληρο το κλάσμα της μελαμίνης χορηγηθεί στο μυϊκό ιστό, αυτό θα έχει ως αποτέλεσμα ένα επίπεδο καταλοίπων 30-36mg/kg κρέατος στα ωτόκα πτηνά και τα κοτόπουλα κρεατοπαραγωγής, αντίστοιχα, σε μια έκθεση κάτω των 0.020mg/kg b.w ανά ημέρα από εξέταση σε ενήλικες που κατανάλωναν κρέας πουλερικών σε ποσοστό 300 g στα 60kg

σωματικού βάρους. Η ammeline με μεγάλη διστακτικότητα αναγνωρίστηκε ως ήσσονος σημασίας μεταβολίτης στον τομέα των αυγών για τα ωοπαραγωγικά πτηνά, που εκτίθενται στο cytomazine, αλλά οι συγκεντρώσεις παραμένουν κάτω από το όριο ανίχνευσης και συνεπώς, τα υπολείμματα στον τομέα των αυγών δεν συμβάλουν στην έκθεση του ανθρώπου. Η μεταφορά από τη μελαμίνη στα αυγά έχει εκτιμηθεί ότι είναι 0,16, 0,47, 0,84 και 1,48mg/kg αυγών σε ωοπαραγωγικά ορνίθια. (Chen et al.,2010)

6.6.5 Η προσρροφητικότητα των υλικών που έρχονται σε επαφή με τη μελαμίνη σε έκθεση με τα τρόφιμα.

Όλες οι πιθανές πηγές έκθεσης σε μελαμίνη από υλικά σε επαφή με τα τρόφιμα εξετάζονται για την αξιολόγηση της έκθεσης:

- Επιτραπέζια σκεύη με melaware
- Τα κονσερβοποιημένα τρόφιμα, όταν το υλικό επικάλυψης περιέχει μελαμίνη
- Υλικά συγκόλλησης και άλλες εφαρμογές σε συσκευασίες τροφίμων

Δεδομένου ότι οι επιπτώσεις της μελαμίνης μπορούν δυνητικά να προκύψουν από της οξεία έκθεση, η εκτίμηση της έκθεσης πρέπει να βασίζεται στη συντηρητική εκτίμηση των επιπέδων της οξείας κατανάλωσης (υψηλότερο εκατοστημόριο της κατανάλωσης ανά ημέρα), σε συνδυασμό με τη συντηρητική εκτίμηση της μετανάστευσης (είτε τρεχουσών ορίων ειδικής μετανάστευσης ή υψηλότερα επίπεδα μετανάστευσης στα προϊόντα που κυκλοφορούν σήμερα στην αγορά).

Σε μια πρώτη πρόχειρη εκτίμηση της έκθεσης, για το σενάριο της κατανάλωσης τροφίμων χρησιμοποιήθηκε η ίδια γνωμοδότηση σχετικά με τη δισφαινόλη Α (BPA) θεωρημένη(EFSA, 2006a). Στην πραγματικότητα, τα πρότυπα χρήσης για τα επιτραπέζια σκεύη από melaware είναι πιθανό να είναι παρόμοια με τα πρότυπα χρήσης για τα επιτραπέζια σκεύη από πολυανθρακικό (polycarbonate). Στη γνωμοδότηση σχεπκά με τη δισφαινόλη Α, θεωρήθηκε ότι όλα τα τρόφιμα και τα ποτά θα μπορούσαν να έρχονταν σε επαφή με τα επιτραπέζια σκεύη (με εξαίρεση τα παρασκευάσματα για βρέφη που θα ήταν σε επαφή με το μπιμπερό). Κατά την ίδια άποψη για να εκτιμηθεί η έκθεση σε BPA από εποξειδικές ρητίνες σε κονσέρβες, θεωρήθηκε ότι όλα τα τρόφιμα του εμπορίου και τα ποτά, συμπεριλαμβανομένων των

παρασκευασμάτων σκόνης για βρέφη, θα μπορούσαν να έχουν συσκευαστεί σε κονσέρβα(προστέθηκαν και οι δύο πηγές έκθεσης)

Στην περίπτωση της μελαμίνης, η έκθεση μπορεί να προκύψει από την επαφή των τροφίμων με χαρτί και χαρτόνι ή κόλλα. Ωστόσο, δεδομένου ότι τα τρόφιμα μπορούν να είναι σε επαφή είτε με την κονσέρβα είτε με το χαρτί και το χαρτόνι η έκθεση εξαρτάται από το υψηλότερο δυναμικό της μετανάστευσης που μπορεί να συμβεί στις κονσέρβες, ένα πρώτο συντηρητικό σενάριο θεωρεί ότι η έκθεση ήταν από την επαφή όλων των τροφίμων με τα δοχεία. Στόχος του σεναρίου της έκθεσης είναι να γίνει ένας γρήγορος υπολογισμός του πληθυσμού που είναι εκτεθειμένος και των κύριων πηγών της έκθεσης, έτσι ώστε να εσπαστεί περισσότερο η εκτίμηση της έκθεσης

6.7 Εντοπισμός του κινδύνου και των χαρακτηριστικών

Η μελέτη της τοξικοκινητικότητας της μελαμίνης και της τοξικότητας της σε πειραματόζωα, οικόσιτα ζώα και κατοικίδια καθώς και σε ψάρια και ανθρώπους αποτελεί αντικείμενο έρευνας από βιβλιογραφία (1966-Μάρτιος 2010) καθώς και επιλεγμένων βάσεων δεδομένων (Pubmed, Medline, Web of Science).

6.7.1 Τοξικότητα

Υπάρχουν περιορισμένα δεδομένα για της τοξικοκινητική ικανότητα της μελαμίνης και των αναλόγων της. Υπάρχουν κάποια στοιχεία σχετικά με τον βακτηριακό της μεταβολισμό και την τοξικοκινητική της σε χοίρους, αρουραίους και αγελάδες. Συμπληρωματικές πληροφορίες παρέχονται και από την εκτίμηση του JMPR του cyromazine φυτοφαρμάκου (JMPR 1991, 2008). Για τα ανάλογα της μελαμίνης τα στοιχεία σχετικά με την τοξικοκινητικότητα είναι διαθέσιμα μόνο για το (ISO) κυανουρικό, δεδομένου ότι αυτή η ουσία είναι ένα προϊόν του καταβολισμού των βακτηρίων dichloroisocyanurate. Σε μερικές μελέτες η μελαμίνη έχει προσδιοριστεί ως συστατικό που κατακάθεται στο ουρικό σύστημα (π.χ στα πρόβατα) χωρίς κανένα περαιτέρω στοιχείο για την τοξικοκινητική της. Επίσης, υπάρχουν μελέτες που δείχνουν την ουρική αποβολή της ουσίας.

6.7.2 Τα πειραματόζωα

Οι lipschitz και Stokey (1945) ανέφεραν ότι οι αρουραίοι εκκρίνουν τουλάχιστον το 50% της ποσότητας μελαμίνης που τους χορηγείται από το στόμα με τα ούρα τους. Με βάση την στοιχειακή ανάλυση των κρυστάλλων που λαμβάνονται από το δείγμα

ούρων αφού καθαριστεί, θεωρείται πιθανό ότι η μελαμίνη διαμόρφωσε ένα συν-ίζημα με φωσφορικό άλας. Δεν έχει αναφερθεί αν η μελαμίνη- φωσφορικό ίζημα είχε παρουσιαστεί ήδη στα ούρα όταν εκκρίνονται ή σχηματίζεται κατά τη διάρκεια. Ομοίως, αποδείχθηκε ότι σε σκύλους, τουλάχιστον 60-87% της ουσίας που χορηγείται από το στόμα αποβάλλεται μέσω των ούρων εντός 24 ωρών.

Ο μεταβολισμός, η απέκκριση και η διάθεση της μελαμίνης εκτιμήθηκε μετά από χορήγηση εφάπαξ δόσης από το στόμα των 0.025 mCi (~1,3mg/kg βάρους σώματος)[¹⁴C]- μελαμίνη σε αρσενικούς ενήλικες αρουραίους Fischer 344 (Mast et al. 1983). Συνολικά, ca. 90% της χορηγηθείσας δόσης απεκκρίνεται εντός των πρώτων 24 ωρών στα ούρα, τον εκπνεόμενο αέρα και τα κόπρανα, και 96 ώρες μετά τη χορήγηση 93, 0,2 και 0,64% της δόσης ανακτήθηκε από τα ούρα, τον εκπνεόμενο αέρα και τα κόπρανα αντίστοιχα. Η συνολική ανάκτηση (συμπεριλαμβανομένου με των υπολειμμάτων στα κλουβιά) ήταν 99%. Δεν παρατηρήθηκαν υπολείμματα ραδιενέργειας (LOD: 1 μg/kg ιστού) το αίμα και το πλάσμα μετά από 24 ώρες και σε αυτό το χρονικό σημείο η συγκέντρωση της ραδιενέργειας στο ήπαρ και τους νεφρούς ήταν 1,8 και 1,3μg ισοδύναμο/kg ιστού, αντίστοιχα. Τα επίπεδα ραδιενέργειας ήταν πολύ υψηλότερα στην ουροδόχο κύστη και τον ουρητήρα (31 και 12μg ισοδύναμων/kg ιστού).

Οι ερευνητές κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η μελαμίνη διανέμεται στο υδατικό σύστημα του οργανισμού. Τα σχεπικά υψηλά επίπεδα στη κύστη όπως παρουσιάστηκαν κατά πάσα πιθανότητα οφείλονται είτε σε διάχυση των ούρων πίσω ή σε μόλυνση του ιστού της ουροδόχου κύστεως με ούρα. Σε μια ανασκόπηση (Mast et al. (1983)), η EFSA (2007) υποστήριξε την πιθανότητα να έχει γίνει επαναρρόφησης μελαμίνης από την κύστη ή τον ουρητήρα. Ο χρόνος ημίσειας ζωής που προκύπτει από τα δείγματα στο πλάσμα ήταν 2,7 ώρες και ήταν παρόμοια με την ουροποιητική έκκριση με χρόνο ημίσειας ζωής 3,0 ώρες. Η διήθηση της μελαμίνης από τα νεφρά ήταν 2,5ml/min. Επιπλέον, με βάση τα επίπεδα του αίματος και των ιστών, η ταχεία αποβολή από το σώμα δείχνει ότι η μελαμίνη και τα ανάλογα της δεν συσσωρεύονται στους ιστούς των θηλαστικών. Μόνο μια αιχμή της ραδιενέργειας, με χρόνο διατήρηση παρόμοιο με τη μελαμίνη, καταγράφηκαν σε ένα αντίστροφης φάσης χρωματογράφημα των δειγμάτων ούρων, ακριβώς πριν και μετά από την κύρια κορυφή. Στα ούρα σε όλο το χρονικό σημείο μελέτης στο ίδιο κλάσμα της συνολικής ραδιενέργειας (δηλαδή της ραδιοχημικής καθαρότητας) συσχετίστηκε με τη μελαμίνη

όπως και με τη δοσολογία των υλικών. Το ίδιο ραδιοχημική καθαρότητα παρατηρήθηκε με ραδιοχρωματογράφο από το αίμα και το πλάσμα. Στα κόπρανα ca.70% της ραδιενέργειας αποτελείται σε μεγάλο βαθμό από μελαμίνη. Λαμβάνοντας υπόψη τη συνολική ραδιενέργεια που αποβάλλεται μέσω αυτής της οδού (0,64% της δόσης), το non-melamine-¹⁴C θα περιέχει μόνο 0,19% της δόσης. Η μη ύπαρξη ραδιενέργειας στα ούρα ή το πλάσμα που δεν ήταν επίσης παρόν και στη δοσολογία του διαλύματος δίνει το συμπέρασμα ότι η μελαμίνη δεν μεταβολίζεται από αρσενικούς αρουραίους (Mast et al., 1983).

Η εντερική απορρόφηση και απέκκριση της μελαμίνης μελετήθηκε σε αρσενικούς αρουραίους με χορήγηση 1mg μελαμίνης, μέσω ενδοφλέβιας (iv) ένεσης στη στομαχική κοιλότητα ή το λεπτό έντερο. Η μελαμίνη δεν απορροφάται από το στομάχι πριν από το χρονικό διάστημα των 30 λεπτών όμως από το λεπτό έντερο απορροφάται πολύ πιο γρήγορα. Παρατηρήθηκε η μονοέκθετη αύξηση της μελαμίνης στα ούρα. Μια μικρή ποσότητα της απορροφούμενης μελαμίνης βρέθηκε να εκκρίνεται στη χολή και στη συνέχεια να απορροφάται, με βάση τις δευτερεύουσες κορυφές των επιπέδων της μελαμίνης στο αίμα (Sugita et al., 1991).

Η μελαμίνη χορηγήθηκε σε σταθερή ενδοφλέβια δόση (2 mg/kg βάρους σώματος) ή από το στόμα (5mg/kg βάρους σώματος) σε αρσενικούς αρουραίους Sprague-Dawley (παθάνον 3/group) ακόμη ερευνήθηκαν και τα τοξικοκινητικά χαρακτηριστικά της μελαμίνης. Μετά από την χορήγηση από το στόμα, η μελαμίνη είχε απορροφηθεί ταχύτατα από το γαστρεντερικό σύστημα (GI) με τα ανώτερα επίπεδα στο πλάσμα να είναι 60,8μg/ml σε 1 δόση ώρες μετά. Οι μέσες τιμές των μέγιστων σε πρώτο βαθμό παραμέτρων τοξικότητας με χορήγηση από το στόμα, ο μέσος όγκος κατανομής σε σταθερή κατάσταση, το πλάσμα κρεατίνης και το πλάσμα χρόνου ημίσειας ζωής (T1/2) για τη μελαμίνη σε αρουραίους Sprague-Dawley ήταν $73 \pm 13 \%$, 103 ± 13 mL/kg, 20 ± 4 mL/h/kg, και 4 - 5 h, αντίστοιχα. Τα στοιχεία που σχετίζονται με την μελαμίνη περιορίζονται κυρίως σε αναλύσεις του αίματος ή του εξωκυτταρικού υγρού που δεν κατανέμεται ισάξια σε όλους τους ιστούς (Yang et al., 2009). Με μια log-γραμμική ανάλυση εκ νέου των δεδομένων από την ενδοφλέβια έκθεση αποκαλύφθηκε ότι η κινητική μπορεί να περιγραφεί καλύτερα από ένα μοντέλο δεύτερης τάξης. Ο χρόνος ημίσειας ζωής κατά την αρχική φάση θα μπορούσε να εκτιμηθεί σε 1,5h. Η αποβολή του πλάσματος στο χρόνο ημίσειας ζωής στην δεύτερη φάση θα μπορούσε να εκτιμηθεί σε περίπου 6h. Μια έμμεση απόδειξη ότι η μελαμίνη

δεν μεταβολίζεται σε αουραίους προκύπτει από μια μελέτη στην οποία [¹⁴C]-ring-labelled hexamethylmelamine (αντινεοπλασματικός παράγοντας), χορηγήθηκε στους αουραίους (~ 25 mg/kg b.w.; intraperitoneal(=ενδοπεριτοναϊκή) (i.p.)). Τέλος εκπνεόμενος αέρας, ούρα και κόπρανα συλλέχθηκαν για την ανάλυση της ραδιενέργειας. Τα δείγματα των ούρων εξετάστηκαν περαιτέρω με αέρια χρωματογραφία. Η Hexamethylmelamine ήταν απομεθυλωμένη σε 6 βήματα που οδηγούν στη μελαμίνη. Περίπου το 2% της δόσης Hexamethylmelamine (ως ¹⁴C) αποβλήθηκε ως μελαμίνη στα ούρα των αουραίων. Δεν έχει αναφερθεί μεταβολισμός της μελαμίνης, αλλά το 5% της δόσης Hexamethylmelamine (ως ¹⁴C) βρέθηκε στα ούρα ως αγνώστου ταυτότητας μεταβολίτης. Δεν παρατηρήθηκε ούτε εκπνοή της ραδιενέργειας (Worzalla et al., 1974). Ακόμη δεν απελευθερώθηκε ¹⁴CO₂ πράγμα που μπορεί να σημαίνει απουσία απαμίνωσης άρα και διάνοιξης δακτυλίου. Καμιά λεπτομερής μελέτη δεν έχει γίνει για την εμφάνιση των προϊόντων απαμίνωσης της μελαμίνης στα ούρα (και ειδικότερα στα ammeline, ammelide ή cyanuric acid). Οι ουσίες αυτές ενδέχεται να έχουν παρουσιαστεί ως άγνωστα κλάσματα (περίπου 5% ραδιενέργεια στο ουρικό σύστημα των αουραίων).

Σε μελέτη πραγματοποιήθηκε η χορήγηση μελαμίνης από το στόμα με τη χρήση καθετήρα στομάχου σε τρεις νηστικούς πιθήκους Rhesus (μέσος όρος σωματικού βάρους τα 5,8kg, ένα θηλυκό και δύο αρσενικά) σε μια δόση μόνο των 1,4mg/kg σωματικού βάρους ως διαλύτης της ουσίας χρησιμοποιήθηκε η γλυκερίνη (Liu et al. 2009). Η επλεγμένη δόση ήταν ισοδύναμη με την SCF TDI των 0.5 mg/kg b.w., σε αλλομετρική(allometrically) κλίμακα από άνθρωπο σε πίθηκο που βασίζεται στο δείκτη επιφάνειας σώματος. Πραγματοποιήθηκε συλλογή πλάσματος και ούρων για τον προσδιορισμό μελαμίνης και κυανουρικού οξέος με τη μέθοδο LC-MS/MS, υπό συνθήκες κατάλληλες για να ληφθούν υπόψη πιθανών αδιάλυτη μελαμίνη και κυανουρικό ίζημα με οξύ. Η μέση τιμή ± της τυπικής απόκλισης (SD) σε μια περιοχή κάτω από την καμπύλη συγκέντρωσης-χρόνου από το μηδέν σε 48 ώρες (AUC_{0-t}) ήταν 14145 ± 2002 μg/L×h. Η μέγιστη συγκέντρωση της μελαμίνης στο πλάσμα (C_{max}) είναι 1767 ± 252 μg/L. Ο χρόνος για την μέγιστη συγκέντρωση (T_{max}) είναι 2.67 ± 1.16 h και ο χρόνος ημίσειας ζωής της μελαμίνης στο πλάσμα (t_{1/2}) είναι

4.41 ± 0.43 h. Μετά από 36 ώρες από την χρήση δεν ανιχνεύθηκε μελαμίνη στο πλάσμα (LOQ: 10 ng/ml). Δεν υπάρχει σημαντική συσχέτιση μεταξύ μελαμίνης και κυανουρικού οξέος στο επίπεδο του πλάσματος ή στα ούρα, γεγονός που υποδηλώνει

ότι το κυανουρικό οξύ δεν μπορεί να προέρχεται από μελαμίνη. Μελετήθηκαν ακόμη και οι βιοχημικοί παράμετροι για το ήπαρ και την λειτουργία των νεφρών στο πλάσμα και στα ούρα. Σε καμία από αυτές τις παραμέτρους που αναφέρθηκαν δεν έχει πραγματοποιηθεί αλλαγή, καθώς δεν έχει προβλεφτεί και καμιά λεπτομερέστερη τεκμηρίωση σχετικά με τις κλινικές χημικές μεθόδους ή τα ευρήματα. Σύμφωνα με τους ερευνητές η μελαμίνη αποβάλλεται γρήγορα από τον οργανισμό, όταν χορηγείται από το στόμα, κυρίως μέσω των ούρων με την μορφή κρεατινίνης (Liu et al., 2009). Η μελέτη αυτή παρουσιάζει όμως ένα μικρό σφάλμα διότι, σχετικά με την αποβολή στα ούρα χρησιμοποιήθηκε για τον υπολογισμό του ισοζυγίου μάζας, έτσι ένα μεγάλο κλάσμα της δόσης δεν καταχωρήθηκε στο προφίλ καταγραφής απέκκρισης από τα ούρα.

6.7.3 Οι άνθρωποι

Σε ότι έχει σχέση με τις έρευνες στους ανθρώπους δεν υπάρχουν άμεσα δεδομένα για την τοξικότητα. Από τα πρόσφατα επεισόδια δηλητηρίασης από τη μελαμίνη, έχει διαπιστωθεί ότι η ουσία αυτή αποβάλλεται με τα ούρα. Έμμεση απόδειξη ότι η μελαμίνη δεν μεταβολίζεται στον ανθρώπινο οργανισμό μπορεί να διαπιστωθεί από μελέτη στην οποία [¹⁴C]-ring-labelled hexamethylmelamine (και αντινεοπλασματικό) χορηγήθηκε στον άνθρωπο (4 mg/kg b.w.; per os (p.o.)). Έγινε έλεγχος σε εκπνεόμενο αέρα, ούρα και κόπρανα που συλλέχθηκαν για την ανάλυση της ραδιενέργειας. Τα δείγματα των ούρων εξετάστηκαν περαιτέρω με αέρια χρωματογραφία. Το Hexamethylmelamine ήταν απομεθυλιωμένο τα 6 βήματα που οδηγούν στη μελαμίνη. Το 5% της δόσης του hexamethylmelamine (ως ¹⁴C) αποβλήθηκε ως μελαμίνη στα ούρα των ανθρώπων. Καμία μεταβολή της μελαμίνης δεν παρατηρήθηκε ούτε ποσότητα ραδιενέργειας (Worzalla et al., 1974). Δεν παρατηρήθηκε απελευθέρωση ¹⁴CO₂ κάτι που σημαίνει την απουσία απαμίνωσης και της μετέπειτα διάνοιξης του δακτυλίου. Σε ότι έχει σχέση με την εμφάνιση των προϊόντων απαμίνωσης της μελαμίνης στα ούρα (Ειδικότερα ammeline, ammelide ή cyanuric acid) δεν έχει γίνει λεπτομερής μελέτη. Οι ουσίες αυτές ενδέχεται να έχουν περάσει με την μορφή άγνωστων κλασμάτων (περίπου 5% ραδιενέργεια στα ούρα).

6.8. Δεδομένα τοξικότητας στα πειραματόζωα.

6.8.1. Μελαμίνη.

6.8.1.1. Οξεία τοξικότητα.

Η μελαμίνη έχει χαμηλή οξεία τοξικότητα. Η λιγότερη ποσότητα βρέθηκε σε αρσενικούς αρουραίους όταν τους χορηγήθηκε από το στόμα και ήταν 50% της θανατηφόρας δόσης (LD50 3828 mg/kg b.w.). Η LD50 κατά την ανάλυση ήταν παρόμοια τόσο σε θηλυκούς αρουραίους όσο και σε αρσενικά ποντίκια, αλλά πολύ υψηλή σε θηλυκά ποντίκια (NTP, 1983; Melnick et al., 1984).

6.8.1.2. Βραχυπρόθεσμες μελέτες

Σε F344/N αρουραίους ηλικίας 11 εβδομάδων δόθηκαν διαδοχικά δόσεις 0, 5000, 10000, 15000, 20000, ή 30000 mg μελαμίνης/kg για δύο εβδομάδες. Όλα τα πειραματόζωα επέζησαν, στο τέλος της μελέτης. Μείωση του βάρους λόγω άμεσης εξάρτησης από την δόση παρατηρήθηκε σε αρουραίους που λάμβαναν στη διατροφή τους 15000 mg/kg ή και περισσότερο. Από τις αναλύσεις βρέθηκε ένα σκληρό κρυσταλλικό στερεό στην ουροδόχο κύστη στους 4-5/5 αρσενικούς αρουραίους από τις ομάδες που σιτίζονταν με 10000 mg/kg ή περισσότερο και 4/5 από τα θηλυκά ποντίκια που τρέφονταν με 20000 mg/kg ή και περισσότερο. Ωχροί και εκφυρηνωμένοι νεφροί παρατηρήθηκαν στα 2/5 των αρσενικών που έλαβαν την υψηλότερη δόση. Οι ίδιες συγκεντρώσεις δόθηκαν και στη διατροφή των B6C3F1mice. Σε όλα τα αρσενικά (5) και 2/5 των θηλυκών που έλαβαν την υψηλότερη δόση παρατηρήθηκε δημιουργία στερεών σκληρών κρυστάλλων στην ουροδόχο κύστη (NTP, 1983).

6.8.1.3. Υποχρόνιες μελέτες σε αρουραίους

Τρεις ξεχωριστές μελέτες 13 εβδομάδων έχουν γίνει σε F344 αρουραίους που ήταν 5-6 εβδομάδων κατά την έναρξη του πειράματος. Στην πρώτη μελέτη οι αρουραίοι (12 και από τα δύο φύλα) έλαβαν τροφή που περιείχε 0, 6000, 9000, 12000, 15000, ή 18000 mg μελαμίνη/kg. Ένα αρσενικό που έλαβε την υψηλότερη δόση και ένας άλλος αρσενικός που έλαβε αυτή των 6000mg/kg πέθαναν. Παρατηρήθηκε δοσοεξαρτώμενη μείωση του σωματικού βάρους. Η συχνότατη εμφάνιση λίθων στην ουροδόχο κύστη από την δοσοεξαρτώμενη χορήγηση καθώς και πέτρες βρέθηκαν σε

όλες τις ομάδες θεραπείας μεταξύ των αρσενικών αρουραίων. Στις ομάδες των θηλυκών με τις δύο υψηλότερες δόσεις κατά 25% ή και περισσότερο παρατηρήθηκαν πέτρες. Δέκα ζώα και των δύο φύλων από τις ομάδες των 18000 mg/kg, 6000 mg/kg και την ομάδα ελέγχου αξιολογήθηκαν με ιστοπαθολογία. Διάχυτη επιθηλιακή υπερπλασία βρέθηκε στην ουροδόχο κύστη στα 8/10 αρσενικών και 2/10 θηλυκών στην ομάδα υψηλής δόσης λαμβάνοντας υπόψη ότι στην ομάδα της χαμηλής δόσης εστιακή επιθηλιακή υπερπλασία παρατηρήθηκε μόνο στο 1/10 των αρσενικών και σε κανένα από τα θηλυκά (NTP, 1983).

Στη δεύτερη μελέτη οι αρουραίοι (10 και από τα δύο φύλα) τρέφονταν με τις ακόλουθες δόσεις 0, 750, 1500, 3000, 6000, ή 12000 mg melamine/kg. Μειωμένη αύξηση του βάρους παρατηρήθηκε στις ομάδες με τις δύο υψηλότερες δόσεις μεταξύ των αρσενικών και όχι μεταξύ των θηλυκών. Στους αρσενικούς αρουραίους παρατηρήθηκε μια δοσοεξαρτώμενη αύξηση στη συχνότητα εμφάνισης λίθων στο ουρικό και στην ουροδόχο κύστη. Στα θηλυκά ποντίκια δεν παρατηρήθηκαν πέτρες στην ουροδόχο κύστη. Η υπερπλασία του μεταβαλλόμενου επιθήλιου της ουροδόχου κύστεως παρατηρήθηκε με βάση τα δεδομένα από την δοσοεξαρτώμενη χορήγηση μεταξύ των αρσενικών στις τρεις υψηλότερες δοσολογικές ομάδες και μόνο σε αρσενικούς βρέθηκαν πέτρες στο ουρικό σύστημα. Αυτό συνοδεύτηκε με την εμφάνιση τριχοειδών αγγείων και περιστασιακό οίδημα καθώς και διάσπαρτα κύτταρα ιστών στον υποβλεννογόνιο χιτώνα. Η ιστοπαθολογική εξέταση που πραγματοποιήθηκε μετά την πειραματική διαδικασία είχε σαν στόχο να επανεξεταστούν με έναν κωδικοποιημένο τρόπο μαζί με όλες τις αναλύσεις και η υπερπλασία του επιθήλιου της ουροδόχου κύστης. Οι αναλύσεις αφορούσαν τις περισσότερες ομάδες θεραπείας σε σύγκριση με τα αρχικά δείγματα (Melnick et al., 1984). Στους θηλυκούς αρουραίους δεν υπάρχουν στοιχεία που να αποδεικνύουν ότι υπάρχουν πέτρες στην ουροδόχο κύστη ή υπερπλασία του επιθήλιου της ουροδόχου κύστης, όμως δοσοεξαρτώμενες καρκινικές καταθέσεις παρατηρήθηκαν μόνο στα ευθύγραμμα τμήματα των κεντρικών αρτηριών. Στην 65^η ημέρα, τα ούρα από πέντε ποντίκια και των δύο φύλων της χαμηλότερης δοσολογικής ομάδας και της ομάδας ελέγχου εξετάστηκαν κλινικά/χημικά και μικροσκοπικά. Δεν υπάρχουν διαφορές και ενδείξεις για κρυστάλλους μελαμίνης στα δείγματα που συλλέχτηκαν.

Η τρίτη μελέτη 13^{ων} εβδομάδων σε αρουραίους πραγματοποιήθηκε με σκοπό να διερευνηθεί η επίδραση του χλωριούχου αμμωνίου για τον σχηματισμό λίθων στο

ουρικό σύστημα σε αρουραίους που λάμβαναν 12000 mg melamine/kg στην τροφή τους. Η προσθήκη 1% χλωριούχου αμμωνίου στο πόσιμο νερό δεν είχε καμιά επίδραση στη δημιουργία πέτρας (NTP, 1983).

Η ομάδα CONTAM Panel μετατρέπει συγκεντρώσεις μελαμίνης στα τρόφιμα που χρησιμοποιούνται στις δύο πρώτες υποχρόνιες μελέτες NTP σε ημερήσια δόση (mg/kg b.w. ανά ημέρα) με την χρήση των πληροφοριών σχετικά με τη μέση εβδομαδιαία κατανάλωση τροφής και το σωματικό βάρος που προέρχεται από NTP. Η κατανάλωση τροφών ήταν αρκετά σταθερή λαμβάνοντας υπόψη ότι το σωματικό βάρος αυξήθηκε, με αποτέλεσμα η υπολογιζόμενη πρόσληψη μελαμίνης να μειωθεί κατά τη διάρκεια των μελετών. Η ημερήσια πρόσληψη κατά την πρώτη εβδομάδα εμφανίζεται στον πίνακα 16. Από τις ζωοτροφές που κατανάλωσαν και το σωματικό βάρος υπάρχουν διαθέσιμα στοιχεία, η προσέγγιση αυτή επιλέχθηκε αντί των πρότυπων συντελεστών μετατροπής/ή και των πρότυπων στοιχείων για την κατανάλωση τροφών, όπως δόθηκε από το International Programme on Chemical Safety (WHO/IPCS, 2008).

Πίνακας 16 : Συνοπτικά στοιχεία σχετικά με τις επιλεγμένες μελέτες της μελαμίνη που προκαλούν νεφρολιθιάσεις σε αρσενικούς αρουραίους¹

Συγκέντρωση στη διατροφή mg/kg	Πρόσληψη Τελευταίας εβδομάδας μελέτης mg/kg b.w. ανά ημέρα	Μέση πρόσληψη Κατά τη Διάρκεια της μελέτης mg/kg b.w. ανά ημέρα ²	Πρόσληψη πρώτης εβδομάδας μελέτης mg/kg b.w. ανά ημέρα	Πέτρες στην ουροδόχο κύστη	Υπερπλασία Του επιθηλίου Στην ουροδόχο κύστη	Παλλινδρόμηση νεφροπάθειας ^b
NTP 1983, F344 rats, 14 days study						
0				0		
5000				0		
10 000				4-5/5		
15 000				4-5/5		
20 000				4-5/5		
30 000				4-5/5		
Study I, NTP 1983, 13 weeks study ^a						
0	0	0	0	0/12	1/10	0/10
6000	460	578	1077	6/12	4/7	0/10
9000	719	854	1264	8/12		
12 000	783	1134	1655	12/12		6/9
15 000	1158	1395	1860	10/12		
18 000	1482	1712	2400	12/12	10/10	
Study II, NTP 1983, 13 weeks study ^a						
0	0	0	0	1/10	1/8	0/10
750	60	73	94	2/10	4/9	
1500	109	144	152	5/10	1/10	
3000	241	292	300	7/10	6/10	
6000	310	576	568	9/10	6/10	0/10
12 000	1043	1221	1343	9/9	8/9	6/9
Ogasawara 1995, F344/DuCrj, 36 weeks study						
0	0			0/10		
10000	349			7/19		
30000	1028			6/20		
NTP 1983, 105 weeks study ^{a,c}						
0	0			0/45	0/45	1/49
2250	126			1/50	1/50	7/50
4500					2/49	
					1/49	
	263			10/49	papilloma 8/49	19/49
					carcinoma	

Επεξήγηση: ^a ιστολογικά δεδομένα από Melnick et al., 1984, ^b δεδομένα από Hard et al., 2009, ^c μέγιστη κατανάλωση τροφίμων ανά σωματικό βάρος κατά την τελευταία εβδομάδα της μελέτης, ¹ θηλυκά ζώα λιγότερο ευαίσθητα που δεν περιλαμβάνονται στον πίνακα, ² τα στοιχεία που χρησιμοποιούνται από την BMD μοντελοποίηση.

Η επαγωγή της λιθίας της ουροδόχου κύστης από τη μελαμίνη έχει διερευνηθεί με τη χρήση αρσενικού νήπιου απογαλακτισμένου πειραματόζωου F-344 αρουραίου, στο οποίο χορηγήθηκε τροφή που περιείχε μελαμίνη σε συγκεντρώσεις 0.2, 0.4, 0.7, 1.0, 1.3, 1.6, ή 1.9 % (ίση με 2000, 4000, 7000, 10000, 13000, 16000, και 19000 mg/kg τροφής) για 28-29 ημέρες. Λίθοι στο ουρικό ανιχνεύτηκαν στις συγκεντρώσεις της τροφής που φτάνουν από 4000 έως 19000 mg/kg τροφής, διαγράφοντας στην ανάλυση μια απότομη σιγμοειδή καμπύλη αναφοράς στη δόση, με ουρόλιθους στο 20% των ζώων στη δόση των 7000 mg/kg και στο 70 % των ζώων από την ομάδα με την δόση 10000 mg/kg. Το σωματικό βάρος ήταν μειωμένο σε όλες τις ομάδες που αναλύθηκαν από την δεύτερη ημέρα της έκθεσης στη μελαμίνη μέχρι και το τέλος της μελέτης. Η κατανάλωση νερού αυξήθηκε με τη δόση ενώ η κατανάλωση τροφής μειώθηκε στις δύο ομάδες με την υψηλότερη δοσολογία. Το pH στα ούρα ήταν ελαφρώς όξινο (pH 6.7-7.1) σε σύγκριση με το αρχικό δείγμα- δείγμα ελέγχου (pH 7.5). Αλλαγές παρατηρήθηκαν επίσης και στις ηλεκτρολυτικές συγκεντρώσεις των ούρων, με μικρότερη συγκέντρωση τα Ca^{2+} , Na^{2+} , και Cl^{-} , καθώς και αύξηση στη συγκέντρωση των Mg^{2+} , K^{+} , και NH_4^{+} , φωσφορικών και θεικών. Οι πέτρες προέρχονται κυρίως από μελαμίνη και πρωτεΐνη με ίχνη φωσφορικού, οξαλικού και οξικού οξέος. Μια υπερπλασία παρατηρήθηκε σε ανάλυση από 94 κύστες των ζώων που έλαβαν διατροφικές δόσεις 7 g/kg ή και περισσότερο, και σε 93 από αυτές βρέθηκε ότι περιέχουν πέτρες μετά από βαθύτερη ανάλυση. Η συχνότητα εμφάνισης λιθίας όπως παρατηρήθηκε από την ιστοπαθολογική ανάλυση ήταν χαμηλότερη από το δείγμα της μεικτής εξέτασης στην ουροδόχο κύστη, αναφέροντας ότι η προετοιμασία για μικροσκοπική εξέταση είχε ως συνέπεια την απώλεια των λίθων. Περαιτέρω στοιχεία για την μελέτη δεν είναι διαθέσιμα από τη στιγμή της αρχικής δειγματοληψίας (American Cyanamid Company) όπως αναφέρεται από Heck και Tyl (1985).

Σε αρουραίους Wistar (και των δύο φύλων), που η τροφή τους περιείχε 1,5% (15000 mg/kg) μελαμίνη για 22-25 εβδομάδες και 36-40 εβδομάδες μετά τον απογαλακτισμό τους δεν παρατηρήθηκε η ανάπτυξη λίθων στους νεφρούς. Οι ερευνητές όπως ανέλυσαν εξέτασαν τις αποθήκες κρυστάλλων σε θηλυκά, οι οποίες είχαν διασπαστεί αυτόματα μετά την υλική ενσωμάτωσή τους. Ωστόσο, στην ομάδα που τρεφόταν για 22-25 εβδομάδες, παρατηρήθηκε υπερπλασία της ουροδόχου κύστης σε 1/21 αρουραίους, η υπερπλασία της ουροδόχου σε 3/21 αρουραίους, υπερπλασία του

ουροδόχου πυέλου σε 5/21 αρουραίους και δυσπλασία πυέλου στο 1/21 αρουραίους. Δεν παρατηρήθηκαν αλλοιώσεις στον έλεγχο που έγινε σε 22 δείγματα. Αρουραίοι που τρέφονταν με μελαμίνη, για 36-40 εβδομάδες είχαν υπερπλασία στην ουροδόχο κύστη σε 1/20 ζώα, υπερπλασία στην ουροδόχο σε 2/20 αρουραίους και υπερπλασία πυέλου σε 1/20 αρουραίους και δυσπλασία πυέλου κατά 2/20 αρουραίους, αλλά σε κανένα από τους 36 μάρτυρες δεν παρατηρήθηκε κάτι (Cremonezzi et al., 2004).

Ποντίκια.

Μια μελέτη 13 εβδομάδων που πραγματοποιήθηκε με την χρήση B6C3F1 ποντικίων (10 από κάθε φύλο). Τα πειράματα τρέφονταν με τις εξής δόσεις 0, 6000, 9000, 12000, 15000, ή 18000 mg melamine/kg. Σε ένα από τα ποντίκια που τρεφόταν με 9000 mg/kg επήλθε ο θάνατος. Η τιμή του σωματικού βάρους ήταν καθοδική κατά 9% ή και περισσότερο σε όλες τις ομάδες με βάση τις δόσεις. Οι επιπτώσεις στα ποντίκια ήταν η δημιουργία λίθων στην ουροδόχο κύστη, πολύ περισσότερο στα αρσενικά από ό,τι στα θηλυκά. Σε κάθε περίπτωση τα αποτελέσματα ήταν πολύ πιο έντονα στα ποντίκια που τρέφονταν με δόσεις από 12000 mg/kg και πάνω, με βάση τον δοσοεξαρτώμενο τρόπο χορήγησης (NTP, 1983).

BALB/c ποντίκια (και των δύο φύλων) έλαβαν δοσοεξαρτώμενες δόσεις που περιείχαν 1.2 % melamine (12 000 mg/kg) για 18-22 εβδομάδες με ή χωρίς την παρουσία 6 % λιπιδίων, από την διαθρεπτική αυτή εξάρτηση παρατηρήθηκαν πέτρες στο 60-85% των ομάδων εκτός από την ομάδα ελέγχου στην οποία δεν είχε χορηγηθεί καμία δόση. Η ομάδα έλαβε μελαμίνη χωρίς την προσθήκη λιπιδίων και έδειξαν δυσπλασία ή καρκινώματα στους ιστούς και υπερπλασία της ουροδόχου κύστης στα 16/27 ποντίκια, τα ίδια συμπτώματα παρατηρήθηκαν στον ουρητήρα στα 10/27, ακόμη και στη νεφρική πύελο σε 2/27 ποντίκια. Σε έλεγχο που έγινε σε 21 πειράματα καμία αλλοίωση δεν παρατηρήθηκε στην κύστη και στον ουρητήρα, μόνο στη νεφρική πύελο παρατηρήθηκε αλλοίωση σε δύο από τα πειραματόζωα (Cremonezzi et al., 2004).

6.8.1.4. Μακροπρόθεσμες μελέτες.

Αρουραίοι

50 αρσενικοί αρουραίοι F344 έλαβαν διατροφικές δόσεις που περιείχαν 0, 2250, ή 4500 mg melamine/g, και σε 50 θηλυκούς αρουραίους F344 η διατροφή τους περιείχε 0, 4500, ή 9000 mg melamine/g και στις δύο ομάδες πραγματοποιήθηκε για 105 εβδομάδες, αρχίζοντας από την 6 εβδομάδα ζωής των πειραματόζωων. Η τροφή που καταναλώθηκε αλλά και το σωματικό βάρος παρέμειναν ανεπηρέαστα από την παρουσία της μελαμίνης. Τα ποσοστά επιβίωσης στις ομάδες των αρσενικών αρουραίων που έλαβαν υψηλή δόση ήταν σημαντικά μειωμένα σε σχέση με την ομάδα ελέγχου. Η ουροδόχος κύστη ήταν το πρώτο όργανο που επηρεάστηκε στους αρσενικούς αρουραίους. Υπήρχε μια σχετική δόσοεξαρτώμενη τάση των καρκινωμάτων στην μετάβασή τους στην ουροδόχο κύστη των αρουραίων. Η συχνότητα λίθων στην ουροδόχο κύστη παρατηρήθηκε στους αρσενικούς αρουραίους, που έλαβαν την υψηλότερη δόση (20%) σε σύγκριση με τα δείγματα μάρτυρες (0%). Μια σημαντική συσχέτιση διαπιστώθηκε μεταξύ της παρουσίας λίθων στην ουροδόχο κύστη και στην παρουσία όγκων στην ουροδόχο κύστη. Η χρόνια φλεγμονή των νεφρών ήταν σημαντικά αυξημένη στα θηλυκά και όχι στα αρσενικά πειράματα (NTP, 1983).

Μια πρόσφατη επαναξιολόγηση των ιστοπαθολογικών μεταβολών έγινε μέσα σε 13 εβδομάδες σε αρουραίους 2 χρόνων. Οι NTP μελέτες τοξικότητας έγιναν για τον προσδιορισμό των νευροπαθολογικών αλλαγών, που εκκίνονται από την θηλή ως τον φλοιό, συμπεριλαμβανομένης της διαστολής των αρτηριών. Μέσα σε 13 εβδομάδες παρατηρήθηκε η φύση των ινωτικών ουλών, η απώλεια των αρτηριών και η εναπόθεση κολλαγόνου μετά από δύο χρόνια (Hard et al., 2009). Τα αποτελέσματα συνοψίζονται στον πίνακα 16 παραπάνω. Οι ερευνητές χρησιμοποίησαν τον όρο ανάδρομη νευροπάθεια για να περιγράψουν τα τραύματα, και την κατακράσις της μελαμίνης στο κατώτερο ουρικό σωλήνα, που μπορεί να είναι η αιτία για την περιοδική απόφραξη και τις πέσεις που οδηγούν στη νεφρική αλλοίωση.

Σε μια μελέτη για την επίδραση του NaCl στη νεφρολιθίαση και την καρκινογένεση της ουροδόχου κύστης, που προκαλείται από την μελαμίνη, χρησιμοποιήθηκαν αρσενικά ποντίκια έξι εβδομάδων F344/DuCrj στα οποία χορηγήθηκαν ποσότητες 0, 1 % ή 3 % μελαμίνης, με ή χωρίς 5 % ή 10 % NaCl για 36 εβδομάδες (0-μελαμίνη και

όχι για το 5% ή 10% NaCl), ακολουθώντας μια περίοδο ανάκαμψης τεσσάρων εβδομάδων. Άπειρος αριθμός σχηματισμών μεταβατικών κυτταρικών θηλωμάτων και καρκινωμάτων παρατηρήθηκε στην ουροδόχο κύστη, ο οποίος αυξανόταν με την αύξηση της συγκέντρωσης της μελαμίνης, αλλά ήταν δοσοεξαρτώμενη και καταργείται με την ταυτόχρονη επεξεργασία NaCl. Η επίδραση του NaCl αποδόθηκε στην αύξηση της παραγωγής ούρων. Οι λίθοι αποτελούνται από ένα ισομοριακό ποσό μελαμίνης και ουρικού οξέος. Οι ερευνητές κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η μελαμίνη προκαλεί βλάβες υπερπλασίας στο ουρικό των αρουραίων που οφείλονται στον ερεθισμό από τους λίθους και όχι από τον μεταβολισμό της μελαμίνης ή την μελαμίνη που αλληλεπιδρά με τα επιθήλια της ουροδόχου κύστης (Ogasawara et al., 1985).

Ποντίκια

Οι ομάδες των 50 αρσενικών και θηλυκών B6C3F1 ποντακίων ηλικίας 6 εβδομάδων ταΐστηκαν με δόσεις 0, 4500, ή 9000 mg melamine/g για 105 εβδομάδες. Παρατηρήθηκε μια μειωμένη ικανότητα επιβίωσης στην ομάδα των αρσενικών στην οποία χορηγήθηκε η υψηλή δόση σε σύγκριση με τους μάρτυρες. Οι επιπτώσεις για τις πέτρες στην ουροδόχο κύστη λαμβάνονται από την μεικτή εξέταση στην ουροδόχο κύστη, που έδειξε μια αύξηση στα αρσενικά. Η συχνότητα ελέγχου διαμορφώθηκε με το 4%, το 85% αφορούσε τις επιπτώσεις της ομάδας με την μέση δόση και το 93% από την ομάδα με την υψηλή δόση. Η συχνότητα εμφάνισης ήταν 8% στα θηλυκά που έλαβαν την υψηλή δόση. Στα αρσενικά παρατηρήθηκε μια οξεία και χρόνια φλεγμονή καθώς και υπερπλασία του επιθηλίου της ουροδόχου κύστης. Οι νεοπλασματικές ή μη-νεοπλασματικές αλλοιώσεις δεν σχετίζονται με την χορήγηση της μελαμίνης στα ποντίκια (NTP, 1983).

6.9. Γονοτοξική και καρκινογόνος δράση.

Η μελαμίνη έχει θεωρηθεί μη γονοτοξική σε διάφορες *in vitro* και *in vivo* μελέτες (WHO, 2009a). Ο Διεθνής Οργανισμός Έρευνας για τον Καρκίνο (IARC), σημείωσε ότι οι μη-DNA μηχανισμοί αντίδρασης, από τους οποίους η μελαμίνη στην ουροδόχο κύστη δημιουργεί όγκους σε αρσενικά ποντίκια παρατηρήθηκε μόνο στο πλαίσιο των συνθηκών υπό τις οποίες ανιχνεύθηκαν λίθοι. Η μελαμίνη δεν αναλύθηκε ως προς την καρκινογένεση του ανθρώπου, αλλά από τα επαρκή αποδεικτικά στοιχεία σε αρουραίους και ποντίκια για την καρκινογένεση της μελαμίνης υπό συνθήκες όπου

παράγονται λίθοι στην ουροδόχο κύστη (IARC, 1999). Η μελαμίνη ώθησε στον πολλαπλασιασμό των επιθάλμιων βλαβών του ουροποιητικού συστήματος σε ορισμένες περιπτώσεις, οι ελλείψεις παρατηρήσεις λιθίασης, μπορεί να οφείλονται στην απώλεια των λίθων με την μέθοδο της ανάπτυξης των ιστών (Melnick et al., 1984; WHO,2009a).

6.10. Αναπαραγωγική και αναπτυξιακή τοξικότητα.

Δεν υπάρχει καμιά ένδειξη των αρνητικών επιπτώσεων στα αναπαραγωγικά όργανα με μακροσκοπική και μικροσκοπική διερεύνηση των μαστικών αδένων, στις ωοθήκες, τη μήτρα, τους όρχεις, τον προστάτη και την σπερματοδόχο κύστη (Melnick 1984, NTP, 1983). Σύμφωνα με τον WHO (2009a) η μελαμίνη δεν είναι τερατογόνος σε αρουραίους. Το NOAEL(no-observed-adverse-effect-level) ήταν περίπου 1060 mg/kg με βάση το σωματικό βάρος ανά ημέρα για την εμβρυϊκή τοξικότητα και περίπου 400 mg/kg ανά ημέρα για την μητρική τοξικότητα. Η εμβρυϊκή τοξικότητα μπορεί να σχετίζεται με την μητρική τοξικότητα (WHO, 2009a). Δεν έχουν παρατηρηθεί διαφορές στο σωματικό βάρος ούτε δυσπλασίες στους απογόνους των αρουραίων που κυοφορούσαν κατά την χορήγηση της ενδοπεριτοναϊκής ένεσης των 70 mg melamine/kg b.w. στις διαδοχικές ημέρες της κύησης 4 και 5, 7 και 8 ή 11 και 12. Δεν υπήρξε σημαντική αύξηση της απορρόφησης στα θηλυκά που πήραν την δόση την 4 και την 5 ημέρα, σε σύγκριση με τον γενικό έλεγχο των ζώων. Ωστόσο, τα δεδομένα από τους ταυτόχρονους ελέγχους στα ζώα δεν αναλύθηκαν (Thiersch, 1957).

6.11. Δεδομένα τοξικότητας μελαμίνης.

Η οξεία τοξικότητα της μελαμίνης στα τρωκτικά είναι χαμηλή (από το στόμα LD50 3100 - 3300 mg/kg b.w.). Σε κουνέλια η χορήγηση που έγινε επιδερμικά LD50 ήταν 1000 mg/kg. Η μελαμίνη δεν προκαλεί ερεθισμό των ματιών στα κουνέλια, τα ινδικά χοιρίδια και του ανθρώπους (ομάδα 3). Μετά από επαναλαμβανόμενες διατροφικές χορηγήσεις υψηλών δόσεων σε αρουραίους και ποντίκια, οι κύριες τοξικές επιδράσεις είναι ο σχηματισμός λίθων, οι φλεγμονώδεις αντιδράσεις και η υπερπλασία της ουροδόχου κύστης, ιδίως στα αρσενικά (IARC, 1999; FAO, 2006). Στους αρσενικούς αρουραίους, η μόνη θεραπεία που έδωσε αποτελέσματα μέσα σε 90 ημέρες αφορούσε την αυξημένη συχνότητα εμφάνισης λίθων στην ουροδόχο

κύστη στις συγκεντρώσεις της τροφής από 1,500 mg/kg και άνω (που ισοδυναμούν με 150 mg/kg b.w), ενώ δεν παρατηρήθηκαν πέτρες στις κύστες των θηλυκών αρουραίων στις διατροφικές συγκεντρώσεις έως 12,000 mg/kg (NTP 1983). Για την υλοποίηση της εκτίμησης του κινδύνου της μελαμίνης από τον U.S. FDA χρησιμοποιήθηκαν τα NOAEL των 63 mg/kg/b.w. ανά ημέρα από την μελέτη που έγινε για 13 εβδομάδες με χορήγηση από το στόμα σε αρουραίους (OECD, 2002; US-FDA, 2007a). Το χαμηλότερο NOAELs υπολογίζεται από την χορήγηση από το στόμα και την αναπαραγωγική και αναπτυξιακή τοξικότητα σε αρουραίους που είναι 400 mg/kg b.w. ανά ημέρα (στη μητέρα) και 1060 mg/kg b.w. ανά ημέρα (σε έμβρυα), αντίστοιχα (OECD, 2002; US-FDA, 2007a).

Μελαμίνη (> 95% καθαρή) δόθηκε σε ομάδες των 50 αρσενικών αρουραίων και των 50 ποντικών και των δύο φύλων για 105 εβδομάδες μέσω διατροφής με 2,250 ή 4,500 mg/kg μελαμίνης. Μεταβολές καρκινικών κυττάρων παρατηρήθηκαν στην ουροδόχο κύστη αρσενικών αρουραίων (μητρικό 0/45, χαμηλή δόση 0/50, υψηλή δόση 8/49 (16 %)). Οι όγκοι αυτοί δεν παρατηρήθηκαν σε θηλυκούς αρουραίους. Στα επτά από τα οκτώ αρσενικά ποντικά της υψηλής δόσης παρατηρήθηκαν καρκινώματα μεταβατικών κυττάρων και πέτρες στην ουροδόχο κύστη (NTP, 1983). Αν και οι όγκοι στην ουροδόχο κύστη δεν σχετίζονταν με τον σχηματισμό λίθων θεωρούνται αποτέλεσμα των υψηλών δόσεων (IARC, 1999; Meek, 2003). Η πρόσφατη αξιολόγηση από την IARC για την καρκινογένεση της μελαμίνης κατέληξε στο συμπέρασμα ότι η μελαμίνη δεν μπορεί να καταχωρηθεί ως καρκινογόνος ουσία για τον ανθρώπινο οργανισμό (ομάδα 3) (IARC, 1999). Εν κατακλείδι η μελαμίνη δεν είναι γονοτοξική, καρκινογόνα ή τερατογενής. Η Επιστημονική Επιτροπή τροφίμων (Scientific Committee of Food (SCF)) εξέτασε το TDI για 0.5 mg/kg b.w. ανά ημέρα σε σχέση με την επαφή με τα τρόφιμα και τα υλικά, αλλά δεν βρέθηκαν στοιχεία από την παραγωγή (EC, 1986). Η πρόσφατη αξιολόγηση της U.S. FDA υποστηρίζει πως το TDI προερχόμενο από NOAEL των 63 mg/kg b.w. ανά ημέρα, που χρησιμοποιήθηκε για την συλλογή δεδομένων TDI των 0.63 mg/kg b.w. ανά ημέρα με τον παράγοντα της αβεβαιότητας να είναι στο 100 (US-FDA, 2007a).

6.12. Τοξικότητα κυανουρικού οξέος, **ammeline** και **ammelide**

Τα στοιχεία για την τοξικότητα του κυανουρικού οξέος είναι λιγοστά (Canelli, 1974; Hammond et al., 1986; US-EPA, 2007). Το κυανουρικό οξύ έχει μια πολύ χαμηλή οξεία τοξικότητα σε αρουραίους (LD50 >5000 mg/kg b.w.).

Η κοινή επιτροπή εμπειρογνομόνων για τα πρόσθετα τροφίμων (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) αξιολόγησε το dichloroisocyanurate που είναι ταχέως και πλήρως αποχλωριωμένο από το κυανουρικό όταν είναι διαλυμένο στο νερό (FAO/WHO, 2004). Τα ποντίκια τρέφονταν με πόσιμο νερό που περιείχε κυανουρικό οξύ σε συγκεντρώσεις έως και 5375 mg/L (το όριο της διαλυτότητας ήταν σε pH 7.0, που ισοδυναμεί σε 0, 252, 522 ή 1500 mg/kg b.w. ανά ημέρα), για 13 εβδομάδες. Η μόνη ένωση που σχηματίστηκε από την αλλαγή που αναφέρθηκε ήταν η παρουσία λίθων στην ουροδόχο κύστη σε δύο αρσενικά από την ομάδα με την υψηλότερη δόση με βάση τα δεδομένα. Το NOAEL ήταν 1792 mg/L (ισοδύναμο με 522 mg/kg b.w. ανά ημέρα) (FAO/WHO, 2004).

Στους αρουραίους δόθηκε πόσιμο νερό που είχε κυανουρικό νάτριο σε συγκεντρώσεις των 896, 1792 ή 5375 mg/L, που ισοδυναμεί με 72, 145 ή 495 mg/kg b.w. ημερησίως, για 13 εβδομάδες. Α είναι ο αριθμός των αρσενικών αρουραίων της ομάδας που έλαβε την δόση των 495 mg/kg b.w. ημερησίως (εβδομάδα 6 και 8, 1/4; εβδομάδα 10, 2/4; εβδομάδα 13, 4/20) και ένα αρσενικό από την ομάδα που τρεφόταν με την δόση των 145 mg/kg b.w. ημερησίως την 13 εβδομάδα είχε επιθηλιακή υπερπλασία στην ουροδόχο κύστη. Στις σχετικές θεραπείες δεν παρατηρήθηκαν επιδράσεις στους νεφρούς ή τους ιστούς (FAO/WHO, 2004).

Οι αρουραίοι έλαβαν πόσιμο νερό που περιείχε κυανουρικό οξύ σε συγκεντρώσεις των 400, 1200, 2400 ή 5375 mg/L, που ισοδυναμεί με 0, 26, 77, 154 ή 371 mg/kg b.w. ανά ημέρα, για μια περίοδο 2 ετών. Δεν παρατηρήθηκε καμιά ουσία που να σχετίζεται με την αύξηση των επιπτώσεων των όγκων. Οι βλάβες του ουροποιητικού συστήματος και της καρδιάς αναφέρονται στις υψηλές δόσεις για τα αρσενικά πειράματα, που παρατηρήθηκαν κυρίως τους πρώτους 12 μήνες της μελέτης. Παρατηρήθηκε μια ακράτεια ούρων η οποία αποδίδεται στην υπερπλασία, την αιμορραγία και την φλεγμονή του επιθηλίου της ουροδόχου κύστης, την φλεγμονή του ουρητήρα και των νεφρικών αρτηριών, που σχετίζονται με τον σχηματισμό λίθων. Η οξεία μυοκαρδίτιδα, η νέκρωση και η αγγειακή ανοργανοποίηση ήταν

δευτερεύοντα συμπτώματα σε σχέση με της ουραιμία, που προκλήθηκε από βλάβες στο ουρικό σύστημα. Το NOAEL ήταν 2400 mg/L (ισοδύναμο με το 154 mg/kg b.w. ανά ημέρα) (FAO/WHO, 2004).

Σε μια παρόμοια διητική μελέτη στην οποία ποντίκια λάμβαναν μια δόση κυανουρικού νατρίου ισοδύναμη με 30, 110, 340 ή 1523 mg/kg b.w. ημερησίως, η επιβίωση ήταν παρόμοια σε όλες τις ομάδες και δεν παρατηρήθηκε συσχέτιση της θεραπείας με τις αλλαγές στη συχνότητα των όγκων ή άλλων ιστοπαθολογικών βλαβών (FAO/WHO, 2004).

Δεν υπήρξαν ενδείξεις τοξικότητας σε ενήλικα ζώα και δεν έχουν αναφερθεί επιπτώσεις στους απογόνους των ομάδων των Charles River COB και CD αρουραίων, που το κυανουρικό οξύ χορηγήθηκε σε δόσεις των 0, 200, 1000 ή 5000 mg/kg b.w. ημερησίως, με καθετήρα στομάχου από την 6-15 ημέρα της κυοφορίας.

Τρεις γενιές ποντικών Charles River CD έλαβαν δόση από πόσιμο νερό που περιείχε κυανουρικό νάτριο με τις ακόλουθες δόσεις 26, 77 ή 100 mg/kg b.w ανά ημέρα, με τις ομάδες ελέγχου- μητρικές να λαμβάνουν ακατέργαστο πόσιμο νερό ή με φτωχό ποσοστό νατρίου. Δεν υπήρξε συσχετισμός της θεραπείας με τις αναπαραγωγικές παραμέτρους. Έτσι το κυανουρικό οξύ δεν ήταν γονοτοξικό σε τέσσερις διαφορετικές δοκιμές (FAO/WHO, 2004).

Εν κατακλείδι, το κυανουρικό οξύ δεν προκαλεί καμιά γονοτοξική, καρκινογόνο ή τερατογόνο δράση. Το NOAEL για το κυανουρικό οξύ προέρχεται από 2-ετή μελέτη σε αρουραίους με 154 mg/kg b.w. ημερησίως. Κατά συνέπεια, η TDI για 1.5 mg/kg b.w. ημερησίως μπορεί να συσταθεί με την εφαρμογή του συντελεστή αβεβαιότητας από το 100 σε αυτό το NOAEL.

Σε ότι αφορά τα ammeline ή ammelide δεν υπάρχουν στοιχεία ούτε για ζώα ούτε για ανθρώπους στον δημόσιο τομέα.

7. Νομοθεσία.

Στην Ευρώπη, η μελαμίνη έχει εγκριθεί για χρήση ως μονομερές και για πρόσθετη ουσία στα πλαστικά με όριο ειδικής μετανάστευσης τα 30mg/kg τροφίμων. Στη Κίνα, η οποία είναι αναπτυσσόμενη περιοχή, η γαλακτοβιομηχανία αποτελεί τον πιο σημαντικό τομέα της βιομηχανίας και γενικότερα της ανάπτυξης της τοπικής οικονομίας. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα, νέες στρατηγικές να έχουν σχεδιαστεί για να προωθήσουν τη δύναμη της γαλακτοκομικής οικονομίας. Η κυβερνητική αρχή της Κίνας έχει κατ' επέκταση εστιάσει στην αύξηση της παράγωγης με σκοπό να συνταιριάξει τις αυξημένες ανάγκες και των καταναλωτών και των αγαθών της πρωτεύουσας. Ο ρόλος των κυβερνήσεων δεν άλλαξε πολύ στα χρόνια που ακολούθησαν ως προς τις μορφές της αγοράς: οι κυβερνήσεις σε όλα τα επίπεδα έχουν επικεντρωθεί στα μέσα για την εξασφάλιση ραγδαίας οικονομικής δύναμης σε κάθε βιομηχανικό τομέα.

Στις 23 Σεπτεμβρίου του 2007, η κινεζική κυβέρνηση ανακοίνωσε, γι' αυτό το λόγο, 8 αυστηρά μέτρα πολιτικής που σχεδιάστηκαν για να βοηθήσουν την ανάπτυξη της εθνικής γαλακτοβιομηχανίας της Κίνας (Zhao et al., 2009). Λόγου χάρη, χρηματοδοτήσεις, πρώτον, για να αυξήσουν τα μεγέθη παραγωγής, δεύτερον, για να αγοράσουν ειδικές μηχανές γαλακτοποίησης, τρίτον, για να απαλλαχθούν από ασθενικά ζώα. Ενώ η γαλακτοβιομηχανία της Κίνας ενισχύθηκε για να αναπτυχθεί ταχύτατα από μια μικρή παραγωγή και κατανάλωση τοπικής υποστήριξης σε μια μοντέρνα βιομηχανία με τεράστια διαδοχικά σχέδια και ευρεία δυνατότητα μεταπώλησης, η κυβερνητική προσοχή και ασφάλεια δεν την υποστήριξε. Όταν πρωτοεμφανίστηκε το γεγονός της μελαμίνης η κυβέρνηση δεν γνώριζε ακόμα ποια τμήματα της θα έπρεπε να είναι υπεύθυνα.

Κάποιοι είχαν κατηγορήσει την Κινεζική κυβέρνηση για αμέλεια για την προφανή έλλειψη επακριβούς ελέγχου των γαλακτοκομικών προϊόντων και των άλλων τροφίμων· ωστόσο δεν ήταν εύκολο να λυθεί αυτό το πρόβλημα. Πρωταρχικό εμπόδιο για το πρόβλημα της μελαμίνης ήταν ότι η Κίνα είχε 20.393 σταθμούς συλλογής γάλακτος, οι οποίοι ήταν εξαπλωμένοι σε πολυάριθμες τοπικές δικαιοδοσίες σε μια βιομηχανία που είχαν σχεδόν τετραπλασιάσει την παραγωγή του γάλακτος σε μόλις 8 χρόνια (USDA, 2008). Ενώ οι άλλες κυβερνήσεις ενεργητικά ενθάρρυναν την όλο και μεγαλύτερη επέκταση της γαλακτοβιομηχανίας, η Κίνα δεν

είχε υιοθετήσει κανένα υπόβαθρο ως κράτος για το γάλα και τα προϊόντα του. Σε όλους τους βασικούς μεταποιητές των γαλακτοκομικών δινόταν η άδεια να θέσουν τα δικά τους μέτρα και να επιβάλουν τις δικές τους παρατηρήσεις, καθώς δεν υπήρχε ανάγκη να ελέγχονται τακτικά αφού είχαν επιτηρηθεί στο ξεκίνημα των επιχειρήσεών τους. Η κυβέρνηση δεν επενέβη στην ελεγκτική διαδικασία των εταιριών μέχρι να ξεσπάσει το σκάνδαλο της μελαμίνης.

Ένα άλλο πρόσθετο θέμα βασικής σημασίας στο πρόβλημα της μελαμίνης στη Κίνα, υπήρξε η έλλειψη κατανόησης στη Κίνα απ' όλο τον κόσμο για το ασφαλές επίπεδο της μελαμίνης στο γάλα και στα γαλακτοκομικά προϊόντα. Μετά την ανακάλυψη της χρήσης της μελαμίνης στο γάλα της Κίνας αποκαλύφθηκε ότι ποσοστά ίχνους μελαμίνης βρέθηκαν στα προϊόντα του γάλακτος στις ΗΠΑ καθώς και σε άλλες χώρες (αν και η παρουσία μελαμίνης σε αυτές τις χώρες είχε να κάνει με την ικανότητα μεταφοράς από την συσκευασία στο προϊόν).

7.1. Κίνητρα και ευκαιρίες για την προσθήκη μελαμίνης στο γάλα

Ήταν σχετικά εύκολο για τον οποιονδήποτε να μολύνει με την προσθήκη μελαμίνης το γάλα. Ενώ δεν έχει υπάρξει καμία επίσημη αναφορά για το ποιος έκανε την εισαγωγή της μελαμίνης στα γαλακτοκομικά προϊόντα, άφθονες αποδείξεις υπάρχουν για την εύκολη διαθεσιμότητα του μολυσματικού προϊόντος. Στα πλαίσια μιας έρευνας βρέθηκε ότι μελαμίνη μπορείς να προμηθευτείς ακόμη και από φαρμακεία, όπου πωλούσαν συσκευασίες στις οποίες επάνω ήταν τυπωμένες σαφείς οδηγίες για την δοσολογία ανάμειξης της μελαμίνης με το νερό με σκοπό να αυξηθεί το επίπεδο περιεκτικότητας πρωτεΐνης στο γάλα (Yan and Xiu, 2009). Για δύο χρόνια μελαμίνη διακινήθηκε στο εμπόριο ως “σκόνη πρωτεΐνης” από προμηθευτές για την προσθήκη στο γάλα από τους παραγωγούς και συχνά διανεμόταν σε χάρπινες συσκευασίες 25 κιλών καφέ χρώματος αγνώστου προελεύσεως. Αυτό σημαίνει πως όλοι είχαν πρόσβαση στη μελαμίνη στις τοπικές ανοιχτές αγορές. Λαμβάνοντας υπόψη όλους τους πιθανούς παράγοντες που ίσως επωφελούνταν από αυτή τη δραστηριότητα, αγρότες, ιδιοκτήτες σταθμών συλλογής γάλακτος και όλοι οι διαπραγματευτές του γάλακτος καταλήγουμε στο συμπέρασμα ότι ήταν οι κύριοι ύποπτοι για την επιμόλυνση του γάλακτος. Ως προς τα κίνητρα είναι σαφές ότι η προσθήκη της μελαμίνης ήταν μια προσοδοφόρα ενέργεια. Η ραγδαία ζήτηση για γαλακτοκομικά προϊόντα οδήγησε στον έντονο ανταγωνισμό για ακατέργαστο γάλα μεταξύ των

μεγάλων επιχειρήσεων ανεβάζοντας τις τιμές του μετά τον Οκτώβριο του 2007. Με στόχο το κέρδος όλοι οι επιχειρηματίες προκειμένου να ανταπεξέλθουν στη ζήτηση και τον ανταγωνισμό στην αλυσίδα προμήθειας ακατέργαστου γάλακτος προσπάθησαν να βρουν τρόπους να μειώσουν τα έξοδα τους ή να αυξήσουν τις πωλήσεις τους για μεγαλύτερο κέρδος. Αυτό σημαίνει ότι ανεπίσημα επέτρεπαν στις εταιρίες τους να προσθέτουν μελαμίνη στο γάλα ενώ γνώριζαν ότι το περιεχόμενο της μελαμίνης δεν θα μπορούσε να μειωθεί.

Η βασική νομοθεσία που σχετίζεται με την ενδεχόμενη έκθεση των ανθρώπων στη μελαμίνη αλλά και στα ανάλογα της συνοψίζεται ως εξής:

7.2. Όροι ειδικής μετανάστευσης της μελαμίνης στα τρόφιμα που έρχονται σε επαφή.

Στην Ε.Ε. η μελαμίνη έχει εγκριθεί για χρήση ως μονομερές και ως πρόσθετη ουσία στα πλαστικά και έχει ένα όριο ειδικής μετανάστευσης (SML) ίσο με 30 mg/kg τροφίμου (Commission Directive 2002/72/EC of 6 August 2002 σχετικά με τα πλαστικά υλικά και τα αντικείμενα που προορίζονται να έρθουν σε επαφή με τρόφιμα). Αυτό προέκυψε από την TDI όπου τα 0,5mg/kg b.w. ημερησίως χρησιμοποιούνται για τα πλαστικά υλικά που έρχονται σε επαφή με τα τρόφιμα (FCMs) για πρόσληψη 1kg συσκευασμένων τροφίμων ανά ημέρα από ενήλικες βάρους 60 kg b.w. Δεν υπάρχουν συγκεκριμένες ρυθμίσεις της Ε.Ε. για τη μελαμίνη που χρησιμοποιούνται σε μη πλαστικές ύλες (π.χ. χαρτιού, χαρτονιού και επιχρισμάτων), αλλά η SML τα 30 mg/kg τροφής τα λαμβάνει ως τεκμαρτό πρότυπο.

7.3. Μέτρα σχετικά με τα ανώτατα επίπεδα μόλυνσης τροφίμων από την Κίνα.

Το 2008, ένα μέτρο έκτακτης ανάγκης θεσπίστηκε ύστερα από πόρισμα υψηλών επιπέδων μελαμίνης σε βρεφικό γάλα αλλά και γαλακτοκομικά προϊόντα από την Κίνα. Η εισαγωγή στην ΕΕ νωπού γάλακτος αλλά και προϊόντων γάλακτος από την Κίνα που περιείχαν περισσότερο από 50% γάλα απαγορεύθηκε. Η απόφαση Commission Οδηγία 2004/438/EC of 29 April 2004, καθορίζει τον κανονισμό για τα ζώα και την δημόσια υγεία και δέχεται μόνο με κτηνιατρική πιστοποίηση την εισαγωγή στην ΕΕ θερμικά επεξεργασμένου γάλακτος, προϊόντων με βάση το γάλα και νωπού γάλακτος που προορίζονται για κατανάλωση. Το θερμικά επεξεργασμένο γάλα που εισάγεται από την Κίνα στην ΕΕ θα πρέπει να προέρχεται από τις

εγκαταστάσεις που αναφέρονται στο παράρτημα της απόφασης (Commission Οδηγία 97/252/EC of 25 March 1997) μαζί με πίνακες των εγκαταστάσεων τριών χωρών κράτη μέλη ΕΕ) από τις οποίες επιτρέπεται η εισαγωγή γάλακτος και γαλακτοκομικών προϊόντων που προορίζονται για κατανάλωση.

7.4. Η νομοθεσία για τη μελαμίνη σε άλλα τρόφιμα.

Σε ότι αφορά τη νομοθεσία για τη μελαμίνη σε άλλα τρόφιμα το επίπεδο δράσης των 2.5 mg/kg έχει εφαρμοστεί από τα κράτη μέλη για να ορίζει την αναπόφευκτη βασική παρουσία της μελαμίνης και τις περιπτώσεις όπου αποδεδειγμένα δεν υπάρχει μετανάστευση από τις συσκευασίες τροφίμων.

7.5. Η νομοθεσία για τις πρόδρομες ουσίες μελαμίνης.

Η μελαμίνη μπορεί να εμφανιστεί στα τρόφιμα ως προϊόν μεταβολισμού της δραστικής ουσίας Cyromazine, με εγκεκριμένη χρήση στην Ευρώπη, τόσο ως φυτοφάρμακο (εντομοκτόνο και ακαρεοκτόνο) αλλά και ως κτηνιατρικό φάρμακο. Το Cyromazine μπορεί να χρησιμοποιηθεί σαν ρυθμιστής ανάπτυξης εντόμων που υποβαθμίζουν τα φύλλα σε λαχανικά όπως το σέλινο, το μαρούλι, τα πεπόνια, τα μανιτάρια, το μαρούλι και οι πατάτες. Η γενική διεύθυνση έχει θεσπίσει Maximum Residue Limits (MRLs) για τα φυτοφάρμακα που καθορίζονται στον κανονισμό (EC) No 396/2005 of the European Parliament and of the Council of 23 February 2005 για τα ανώτατα όρια καταλοίπων φυτοφαρμάκων μέσα ή πάνω στα τρόφιμα φυτικής ή ζωικής προέλευσης καθώς και την τροποποίηση Council

Directive 91/414/EEC. Οι τρέχουσες MRLs για το Cyromazine έχουν θεσπιστεί από τον κανονισμό 839/2008. Η πλειοψηφία των MRLs καθορίζονται από το ποσοτικό όριο (0.02 – 0.05 mg/kg), αντικατοπτρίζει τα προϊόντα φυτοπροστασίας που περιέχουν Cyromazine και δεν είναι εγκεκριμένα για τα τρόφιμα. Τα εγκεκριμένα όρια χρήσης MRLs για την Cyromazine είναι της τάξης 0.3 mg/kg (π.χ. κολοκυθοειδή) έως 15-20 mg/kg (π.χ. φυλλώδη λαχανικά και ζαχαρότευτλα).

Υπάρχουν 4 MRLs που αφορούν την κτηνιατρική χρήση Cyromazine: 0.3 mg/kg για το λίπος στα αιγοπρόβατα, στο ήπαρ, τα νεφρά και τους μυς. (Commission Regulation (EU) No 37/2010 of 22 December 2009, για τη δράση φαρμακολογικών ουσιών και την ταξινόμηση τους όσον αφορά τα ανώτατα όρια καταλοίπων στα τρόφιμα ζωικής προέλευσης). Το Cyromazine δεν επιτρέπεται να χρησιμοποιηθεί σε γαλακτοπαράγωγα ζώα που το γάλα τους διατίθεται για κατανάλωση. Η μελαμίνη ως

κύριος μεταβολίτης του Cyromazine, δεν περιλαμβάνεται στον ορισμό των υπολειμμάτων MRLs .

7.6. Δελτία τύπου ΕΦΕΤ

Τα δελτία τύπου από τον ΕΦΕΤ για την προειδοποίηση και την προστασία των Ελλήνων καταναλωτών με τις αντίστοιχες ημερομηνίες δημοσίευσής τους.

ΔΕΛΤΙΟ ΤΥΠΟΥ 24-09-2008

Μελαμίνη σε Κινέζικο γάλα.

Σχετικά με τα περιστατικά ύπαρξης μελαμίνης σε γάλα και γαλακτοκομικά προϊόντα προέλευσης Κίνας, ο ΕΦΕΤ ενημερώνει το καταναλωτικό κοινό.

1. Η εισαγωγή γάλακτος και γαλακτοκομικών προϊόντων σε εδάφη κρατών μελών της ΕΕ δεν επιτρέπεται. Σύμφωνα με τα στοιχεία του Υπουργείου Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων, που έχει την αρμοδιότητα ελέγχου στις πύλες εισόδου της χώρας για τις εισαγωγές από χώρες εκτός ΕΕ, από τους μέχρι τώρα ελέγχους, προκύπτει ότι δεν έχουν εισαχθεί στην Ελλάδα γάλα ή γαλακτοκομικά προϊόντα από την Κίνα.

2. Με βάση τα στοιχεία του Εθνικού Οργανισμού Φαρμάκων, που είναι αρμόδιος για τα βρεφικά γάλατα 1ης και 2ης βρεφικής ηλικίας, δεν έχει υπάρξει εκτελωνισμός ή γνωστοποίηση κυκλοφορίας στη Ελληνική αγορά τέτοιων προϊόντων.

3. Ο ΕΦΕΤ έχει αποστείλει έγγραφα τόσο προς τη Γενική Διεύθυνση Τελωνείων και ΕΦΚ (19η Διεύθυνση) Τελωνιακών Διαδικασιών όσο και προς το Γενικό Χημείο του Κράτους (Διεύθυνση Τροφίμων) για ενημέρωση και την αποστολή στοιχείων όσον αφορά την ενδεχόμενη εισαγωγή από Κίνα σύνθετων τροφίμων που μπορεί να περιέχουν γάλα.

4. Ο ΕΦΕΤ διενήργησε στοχευμένους ελέγχους τόσο σε επιχειρήσεις μαζικής εστίασης (Κινέζικα εστιατόρια) σε Θεσσαλονίκη και Αθήνα όσο και σε καταστήματα λιανικής πώλησης Κινέζικων προϊόντων, όσον αφορά τον εντοπισμό των ανωτέρω προϊόντων. Όλοι οι έλεγχοι ήταν αρνητικοί, δεν βρέθηκαν δηλαδή γάλα ή γαλακτοκομικά προϊόντα προέλευσης Κίνας.

5. Ο ΕΦΕΤ στα πλαίσια και της συνεργασίας του με την Ευρωπαϊκή Επιτροπή παρακολουθεί το συγκεκριμένο θέμα. Αναμένεται δε να παραβρεθεί σε έκτακτη σύσκεψη που πραγματοποιείται στις 25/09/2008 στις Βρυξέλλες.

6. Ο ΕΦΕΤ ενημερώνει ότι όλα τα τρόφιμα που διακινούνται στη χώρα υποχρεούται να φέρουν επισήμανση στην ελληνική γλώσσα.

ΔΕΛΤΙΟ ΤΥΠΟΥ 26-09-2008

Μελαμίνη σε Κινέζικο γάλα.

Η Ευρωπαϊκή Επιτροπή όσον αφορά στο επεισόδιο των επιμολυσμένων με μελαμίνη τροφίμων Κινέζικης προέλευσης, κατέθεσε τα παρακάτω μέτρα :

1. Εντατικοί έλεγχοι στα σύνορα όλων των σύνθετων τροφίμων, Κινέζικης προέλευσης, που περιέχουν πάνω από 15% σκόνη γάλακτος.
2. Σποραδικοί έλεγχοι της αγοράς σε σύνθετα τρόφιμα, Κινέζικης προέλευσης που περιέχουν πάνω από 15% σκόνη γάλακτος.

Ο ΕΦΕΤ, στο πλαίσιο των αρμοδιοτήτων του, συνεχίζει τους ελέγχους σύμφωνα με τις οδηγίες της Ευρωπαϊκής Επιτροπής.

Καλούνται οι καταναλωτές να είναι προσεκτικοί όσον αφορά στην επισήμανση σύνθετων τροφίμων Κινέζικης προέλευσης

ΔΕΛΤΙΟ ΤΥΠΟΥ 29-09-2008

Μελαμίνη σε Κινέζικο γάλα.

Ο ΕΦΕΤ σε συνέχεια της ενημέρωσης του προς το καταναλωτικό κοινό και κατόπιν δημοσιευμάτων του τύπου στις 28-09-2008, περί Κινέζικου γάλακτος και γαλακτοκομικών προϊόντων, που εισήλθαν και πωλούνται παράνομα στο κέντρο στην Αθήνα, συγκεκριμένα για:

α) Σοκολατούχο γάλα, ρόφημα, το οποίο περιέχει κομμάτια σοκολάτας, 255 γραμ. Παρασκευάζεται, ελέγχεται και συσκευάζεται στην πόλη Σετσουάν στη Νότια Κίνα. Εταιρεία παραγωγής «Φεϊλί Σετσουάν».

β) Γαλατάκια μερίδες, 18,5 γραμ., αγελαδινό γάλα, παστεριωμένο και αποβουτυρωμένο, συνοδεύει καφέ ή τσάι, «Made in China».

γ) Παστεριωμένο γάλα, 500 γραμ., γάλα αγελαδινό που περιλαμβάνει και χυμό μήλου. Παρασκευάζεται από την εταιρεία «Wa ha ha» που έχει έδρα στην πόλη Χαντζού στη Νοτιοανατολική Κίνα,

σας γνωρίζει τα ακόλουθα:

- Μετά από στοχευμένους ελέγχους σε δεκάδες καταστημάτων λιανικής πώλησης και μαζικής εστίασης σε Αθήνα (περιοχές Μεταξουργείου, Ομόνοιας, Βοτανικού και Αμπελοκήπων) και Θεσσαλονίκη (περιοχή Βαρδαρίου) που διακινούν κινέζικα προϊόντα, ακόμα και σε εκείνα που ανέφεραν δημοσιεύματα, δεν βρέθηκαν τα ανωτέρω προϊόντα αλλά ούτε και κανένα άλλο γαλακτοκομικό προϊόν κινέζικης προέλευσης.
- Επσημαίνεται ότι απαγορεύεται η εισαγωγή και η διακίνηση γαλακτοκομικών προϊόντων από την Κίνα στην Ευρωπαϊκή Ένωση άρα και στην Ελλάδα.
- Ο ΕΦΕΤ παράλληλα συνεχίζει τους ελέγχους για τον εντοπισμό τυχόν παρανόμως διακινούμενων γαλακτοκομικών προϊόντων από την Κίνα στα πλαίσια και των συστάσεων της Ευρωπαϊκής Ένωσης.

Καλούνται οι καταναλωτές να είναι προσεκτικοί όσον αφορά στην επισήμανση σύνθετων τροφίμων Κινέζικης προέλευσης

8. Συμπεράσματα

Χρήσεις και χημεία

- Η μελαμίνη είναι ένα χημικό προϊόν υψηλής περιεκτικότητας που μπορεί να υπάρχει στα τρόφιμα ως παράγοντας των εγκεκριμένων χρήσεων σαν υλικό επαφής με τρόφιμα, συμπεριλαμβανομένου των melaware, είτε ως επίστρωση σε κονσέρβες, στο χαρτί, το χαρτόνι και τις κόλλες. Στα τρόφιμα μπορεί να εμφανιστεί και από την χρήση του ως επιβραδυντικό φλόγας. Είναι επίσης ήσσονος σημασίας μεταβολίτης, και προϊόν αποδόμησης φυτοφαρμάκων και κτηνιατρικών φαρμάκων καθώς και του cyromazine.
- Ανάλογα με την διεργασία καθαρισμού, η μελαμίνη μπορεί να περιέχει διάφορα επίπεδα στη χημική δομή από κυανουρικό οξύ, ammeline και ammelide.
- Υπολείμματα κυανουρικού οξέος μπορεί να υπάρχουν στα τρόφιμα ως αποτέλεσμα της χρήσης dichloroisocyanurates ως πηγή ενεργού χλωρίου για απολύμανση.
- Η μελαμίνη και το κυανουρικό οξύ μπορεί να εμφανιστούν αναμειγμένα στα ούρα.
- Τα τρόφιμα νοθεύονται με υψηλά επίπεδα μελαμίνης, προκειμένου να αυξηθούν τα επίπεδα της περιεκτικότητας σε πρωτεΐνη.
- Λόγω της φυσικοχημικής της ιδιότητας, η μελαμίνη μπορεί να σχηματίσει σύμπλοκα με τα διαρθρωτικά της ανάλογα και με άλλες ουσίες όπως το ουρικό οξύ. Ο σχηματισμός εξαρτάται από το pH.
- Η πιο ευαίσθητη και εκλεκτική μέθοδος ανάλυσης για την μέτρηση της μελαμίνης και των διαρθρωτικών αναλόγων της είναι η υγρή χρωματογραφία σε συνδυασμό με την φασματομετρία παράλληλων μαζών (LC-MS/MS).

Εμφάνιση και αξιολόγηση έκθεσης

- Η EFSA έλαβε 2239 δείγματα για την μελαμίνη στα τρόφιμα από τις ευρωπαϊκές χώρες. Αποτελέσματα στοχοθετημένης δειγματοληψίας για την πιθανή νοθεία στα προϊόντα. Επειδή δεν αντιπροσωπεύουν τα πραγματικά δείγματα, δεν θεωρούνται κατάλληλα για την αξιολόγηση του ιστορικού της διαθρεπτικής έκθεσης σε μελαμίνη. Για το κυανουρικό οξύ δεν υπάρχουν διαθέσιμα στοιχεία στην ΕΕ.

- Τα στοιχεία από την βιομηχανία που προέρχονται από 18546 για τη μελαμίνη στα τρόφιμα και από 8061 στοιχεία σχετικά με το κυανουρικό οξύ. Οι περισσότερες τιμές που αναφέρονται έχουν να κάνουν με το όριο ανίχνευσης ή το όριο ποσοτικοποίησης. Τα στοιχεία που χρησιμοποιούνται για τον υπολογισμό του ανώτατου ορίου έκθεσης των τροφίμων για τον άνθρωπο με την αφαίρεση του μικρού αριθμού δειγμάτων με υψηλές τιμές που σχετίζονται με τη νοθεία.
- Για τους ενήλικες η μεγάλη βαθμού κατανάλωση, εκτιμήθηκε με την διαθρεπτική έκθεση στη μελαμίνη για τις διάφορες χώρες της ΕΕ με βάση το ανώτατο όριο τιμών να εμφανίζεται κάτω από το 11 $\mu\text{g}/\text{kg}$ b.w ανά ημέρα. Για τα βρέφη που τρέφονται αποκλειστικά και μόνο από την σκόνη γάλακτος, η εκτίμηση για την διαθρεπτική έκθεση σε μελαμίνη υπολογίζεται κάτω από 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ b.w. ανά ημέρα.
- Η μεγάλη κατανάλωση για τους ενήλικες, εκτιμάται ότι είναι για το κυανουρικό οξύ στις διάφορες χώρες της ΕΕ με βάση την ανώτερη τιμή κάτω από 16 $\mu\text{g}/\text{kg}$ b.w. ανά ημέρα. Η κατανάλωση της σκόνη γάλακτος από τα βρέφη, έχει σαν συνέπεια το ποσοστό της έκθεσης σε κυανουρικό να είναι παρακάτω από 6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ b.w. ανά ημέρα.
- Λόγω των πολύ χαμηλών τιμών στα δείγματα της εμφάνισης και το ανώτατο όριο προσέγγισης, η ανάλυση των μεγάλων συντελεστών της ομάδας των τροφίμων στη διαθρεπτική έκθεση σε μελαμίνη και κυανουρικό οξύ εξαρτάται κυρίως από τα στοιχεία της κατανάλωσης.
- Η χρήση των σεναρίων έκθεσης στα 10 mg/kg μελαμίνης στις τροφές των πουλερικών, το ποσοστό μέγιστης μεταφοράς (1.5-3.2 %) των αποτελεσμάτων από πειραματικές μελέτες σε ωτόκα πτηνά και η υψηλή κατανάλωση των 100g σε ενήλικες, η ανθρώπινη έκθεση σε τρόφιμα όπως τα αυγά που δεν είναι πάνω από 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ b.w. ανά ημέρα.
- Η έκθεση σε μελαμίνη όπως προκύπτει από την μεταφορά των υλικών σε επαφή με τα τρόφιμα εκτιμήθηκε σύμφωνα με δύο σεναρία (Α και Β), με την χρήση της βάσης δεδομένων για τα επιμέρους στοιχεία κατανάλωσης τροφίμων για παιδιά (EXPOCHI) για τα 13 διαφορετικά κράτη μέλη καθώς και την υψηλή μετανάστευση των επιπέδων της μελαμίνης από την υψηλή απελευθέρωση melaware (σενάριο Α) και τις αυστηρές συνθήκες χρόνου

θερμοκρασίας (σενάριο Β), αντίστοιχα. Η έκθεση υπολογίζεται με την υπόθεση ότι κάθε τρόφιμο και ποτό έχει έρθει σε επαφή με τα υψηλά επίπεδα της μελαμίνης απελευθερώνοντας melaware αθροιστικά, στο πλαίσιο της κάθε ημέρας έκθεσης για όλα τα τρόφιμα των ομάδων στο σενάριο Α. Στο σενάριο Β, μόνο η έκθεση από το στοιχείο που αναφέρεται για ένα τρόφιμο θεωρήθηκε υψηλή έκθεση εκτίμησης ανά ημέρα. Στο σενάριο Β, η έκθεση σε μελαμίνη από όλα τα είδη τροφίμων έχει θεωρηθεί ότι δεν πραγματοποιείται εντός της ίδιας ημέρας. Όπως και ελάχιστα στοιχεία είναι διαθέσιμα για την μετανάστευση της μελαμίνης που εκδίδεται από τα melaware και τα επιστρώματα της κονσέρβας, συντηρητικές υποθέσεις χρησιμοποιούνται για την εκτίμηση της έκθεσης μέσω της τροφής. Το σύνολο της έκθεσης σε μελαμίνη ανά ημέρα εξέτασης των τυπικών επιπέδων μετανάστευσης (σενάριο Α) κυμάνθηκε σε 30 σε 80 $\mu\text{g}/\text{kg}$ b.w ανά ημέρα. (μέσος όρος) και 50 με 120 $\mu\text{g}/\text{kg}$ b.w. ανά ημέρα (95thpercentile). Η ημερήσια έκθεση των τροφίμων και των ποτών λαμβάνεται υπόψη με βάση τα υψηλά επίπεδα μετανάστευσης (σενάριο Β) που κυμαίνεται από 40 έως 110 $\mu\text{g}/\text{kg}$ b.w ανά ημέρα (μέσος όρος και από 70 μg έως 230 $\mu\text{g}/\text{kg}$ b.w. ημερησίως (95th percentile).

Τοξικότητα μελαμίνης και δομικών αναλόγων

- Η εγγενής τοξικότητα από την μελαμίνη είναι χαμηλή. Λόγω των φυσικοχημικών ιδιοτήτων των μορφών της μελαμίνης στους κρυστάλλων με άλλες ουσίες στα ούρα. Αυτοί οι κρύσταλλοι δημιουργούν βλάβες στα αγγεία. Κρύσταλλοι έχουν παρατηρηθεί σε πειραματόζωα, καθώς και σε ανθρώπους και βρέφη από την κατανάλωση σκόνη γάλακτος με μελαμίνη, αποτέλεσμα της κατανάλωσης αυτής είναι μέχρι και ο θάνατος.
- Η ομάδα με θέμα τις μολυσματικές προσμείξεις στην τροφική αλυσίδα (CONTAM Panel) κατέληξε στο συμπέρασμα ότι τα στοιχεία, που σχετίζονται με τις ασθένειες στους ανθρώπους, λόγω της νοθείας των παρασκευασμάτων για βρέφη δεν αποτελούσε βάση προτίμησης για την εξαγωγή της ανεκτής ημερήσιας πρόσληψης (TDI), λόγω της αβεβαιότητας όσον αφορά την έκθεση αξιολόγησης, συμπεριλαμβανομένου πιθανής υπερβολικής έκθεσης στην κατανάλωση της σκόνη γάλακτος, τις διάφορες συγκεντρώσεις

μελαμίνης στη σύνθεση και της απουσίας πληροφοριών σχετικά με την έκθεση στα τρόφιμα πλην τα παρασκευάσματα για βρέφη.

- Μια μελέτη 13 εβδομάδων έγινε με την διαθρεπτική έκθεση αρσενικών αρουραίων σε μελαμίνη υπό την προϋπόθεση της καλύτερης βάσης για τον χαρακτηρισμό της σχέσης δόσης-αντίδρασης σε πειραματόζωα. Η ομάδα εντόπισε, 10% αύξηση της συχνότητας εμφάνισης κρυστάλλων στην ουροδόχο κύστη, με σημείο δόσης αναφοράς (BMD_{10}) τα 41 mg/kg b.w. ανά ημέρα και το κατώτερο όριο εμπιστοσύνης ($BMDL_{10}$) τα 19 mg/kg b.w. ημερησίως.
- Η ομάδα θεωρεί τους παράγοντες που θα μπορούσαν να συμβάλουν μεταξύ-εντός των διαφορετικών ειδών στις επιπτώσεις της μελαμίνης και κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι υπάρχει ένας συντελεστής αβεβαιότητας 100 που είναι ικανός για να προκύψει μια ανεκτή ημερήσια πρόσληψη (TDI).
- Η ομάδα CONTAM θεωρεί ότι η TDI που καθορίζεται από την Scientific Committee for Food δεν είναι απαραίτητη. Μια TDI των 0.2 mg/kg b.w. προήλθε από την διαίρεση του $BMDL_{10}$ στα 19 mg/kg b.w. ανά ημέρα με τον συντελεστή αβεβαιότητας των 100 με στρογγυλοποίηση σε ένα μοναδικό αριθμό. Αυτό το TDI θεωρείται κατάλληλο για βρέφη, συμπεριλαμβανομένων και των νεογνών εκτός αυτών που γεννήθηκαν πρόωρα λόγω του υψηλού ουρικού οξέος στα ούρα και την μεγάλη ανεπαρκή ανάπτυξη της λειτουργίας των νεφρών.
- Από τα δείγματα για τον άνθρωπό η ομάδα υπολόγισε το BMD_{10} για τα 1.1 mg/kg b.w. ανά ημέρα και μια BMD_{10} των 0,74 mg / kg b.w. ανά ημέρα για 10% αύξηση της συχνότητας νεφροπάθειας. Λαμβάνοντας υπόψη ότι οι επιπτώσεις της μελαμίνης οφείλονται στη συγκέντρωση στα ούρα και της απόκλιση της σχέσης δόσης-απόκρισης, αυτή η ανθρώπινη $BMDL_{10}$ παρέχει αποδεικτικά στοιχεία για την επάρκεια των TDI στην προστασία των βρεφών.
- Το TDI για το κυανουρικό οξύ είναι 1.3 mg/kg b.w. καταρτίστηκε με βάση προηγούμενη αξιολόγηση των απολυμαντικών από dichloroisocyanurate.
- Οι τοξικολογικές βάσεις δεδομένων για τα ammelide και ammeline είναι εξαιρετικά περιορισμένες και ως εκ τούτου δεν μπορούν να καθοριστούν από το TDI.

- Συνδυασμένη έκθεση σε μελαμίνη και κυανουρικό οξύ είναι πιο τοξική από την έκθεση μόνο σε μελαμίνη εξαιτίας του σχηματισμού κρυστάλλων. Περιορισμένες είναι οι ενδείξεις για τα ammelide και ammeline υπό την μορφή κρυστάλλων μελαμίνης. Οι διαθέσιμες πληροφορίες δεν επιτρέπουν την ταυτοποίηση του παράγοντα με τον οποίο η τοξικότητα αυξάνεται από την συν-έκθεση.
- Το TDI για την μελαμίνη δεν αποδεικνύει κάτι όταν υπάρχει σημαντική ταυτόχρονη έκθεση στο κυανουρικό οξύ, ammelide ή ammeline.

Χαρακτηριστικά κινδύνου για τον άνθρωπο και την υγεία.

- Η διαθρεπτική έκθεση σε μελαμίνη και κυανουρικό οξύ ατομικά εκτιμήθηκε από τα διαθέσιμα δείγματα σχετικά με τις πηγές του ιστορικού και λιγότερο από τα μέσα εμπορικής ανάλυσης και δεν προκαλούν ανησυχία για την υγεία των καταναλωτών.
- Το συμπέρασμα αυτό ισχύει μόνο εάν υπάρχει η βεβαιότητα ότι η έκθεση είναι ουσιαστικά από μελαμίνη ή κυανουρικό οξύ μόνο. Αν υπάρχει δυνατότητα σημαντικής κοινής έκθεσης σε μελαμίνη, κυανουρικό, ammelide ή ammeline, οι επιπτώσεις στην υγεία θα μπορούσαν να είναι εμφανείς αρκετά κάτω από την TDI.
- Η χρήση συντηρητικών σεναρίων μετανάστευσης, η διαθρεπτική έκθεση των παιδιών σε μελαμίνη από επαφή με τρόφιμα, όπως melaware εκτιμάται ότι είναι κάτω ή πάνω από το TDI για την μελαμίνη. Εξαιτίας των συντηρητικών εκτιμήσεων υπάρχει μια ανησυχία για την υγεία η οποία δεν μπορεί να προσδιοριστεί.

Συστάσεις

- Συνιστάται ότι το σημερινό όριο μετανάστευσης για την μελαμίνη από πλαστικό σε επαφή με τρόφιμο είναι από την επανεξέταση των TDI τα 0.2 mg/kg b.w. λαμβάνοντας υπόψη τις πηγές έκθεσης.
- Υπάρχει ανάγκη για την συνένωση των δεδομένων για την μελαμίνη και τα δομικά ανάλογα της (κυανουρικό οξύ, ammelide, ammeline) στα τρόφιμα.

- Υπάρχει ανάγκη για πρόσθετες πληροφορίες σχετικά με τις σχέσεις δόσης-απόκρισης για τον συνδυασμό της μελαμίνης με τα ανάλογα της (κυανουρικό οξύ, ammelide, ammeline).
- Η ανάπτυξη μια φυσιολογικής βάσης τοξικότητας από το μοντέλο της δυναμικής τοξικότητας είναι απαραίτητη για την βελτίωση της μοντελοποίησης ανταπόκρισης στη δόση.

Τα δεδομένα για την τοξικότητα της μελαμίνης σε ανθρώπους είναι ακόμη λιγοστά. Ωστόσο, κάποια επιτυχία έχει επιτευχθεί από την ανάπτυξη αναλυτικών μεθόδων για την εκτίμηση της μελαμίνης στις διαφορετικές μήτρες τροφίμων. Πολλά εργαστήρια σε όλο τον κόσμο εργάζονται με διάφορες μεθόδους για την διαλογή, επιβεβαίωση και ποσοτική ανάλυση της μελαμίνης και των αναλόγων της. Οι LC-MS/MS και GC-MS/MS είναι οι τεχνικές που επιλέγονται λόγω της υψηλής επιλεκτικότητας και της ευαισθησίας τους.

9. Βιβλιογραφία:

- AFSSA (French Food Safety Agency), 2009. Summary of the Report of the 2006/2007 Individual and National Study on Food Consumption 2 (INCA 2). Available frosa.fr/Documents/PASER-Sy-INCA2.pdf.
- Bann B and Miller SA, 1958. Melamines and derivatives of melamine. *Chemical Reviews*, 58, 131-172.
- BfR (Federal Institute for Risk Assessment), 2010a. Comparative results for the migration of melamine into water and acetic acid. Data from the Landesuntersuchungsanstalt für das Gesundheits und Veterinärwesen Sachsen (Dresden, D) and provided to EFSA by Dr Karla Pfaff in January 2010.
- BfR (Federal Institute for Risk Assessment), 2010b. Migration of melamine into 3 % acetic acid and foods. Data from the German National Reference Laboratory for Materials in contact with food, provided to EFSA by S. Kaus, Federal Institute for Risk Assessment, Berlin (D), March 2010.
- Bradley EL, Boughtflower V, Smith TL, Speck DR and Castle L, 2005. Survey of the migration of melamine and formaldehyde from melamine food contact articles available on the UK market. *Food Additives & Contaminants*, 22, 597-606.
- CEC (Commission of the European Communities, food-science and techniques), 2003. Nutrient and energy intakes for the European Community. Reports of the Scientific Committee for Food (thirtyfirst series), 1993.
- Chen JS, 2009a. A worldwide food safety concern in 2008-melamine-contaminated infant formula in China caused urinary tract stone in 290,000 children in China. *Chinese Medical Journal*, 122, 243-244.
- Chen JS, 2009b. What can we learn from the 2008 melamine crisis in China? *Biomedical and Environmental Sciences*, 22, 109-111.
- Chen Y, Yang W, Wang Z, Peng Y, Li B, Zhang L and Gong L, 2010. Deposition of Melamine in Eggs from Laying Hens Exposed to Melamine Contaminated Feed. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 3512-3516.
- CIAA, CEPE and Empac (Confederation of the food and drink industries of the EU, European Council of the Producers and Importers of Paints, Printing inks & Artists' colours, European Metal Packaging), 2009. Letter sent to EFSA on 18th of November 2009.

- Cremonuzzi DC, Diaz MP, Valentich MA and Eynard AR, 2004. Neoplastic and preneoplastic lesions induced by melamine in rat urothelium are modulated by dietary polyunsaturated fatty acids. *Food and Chemical Toxicology*, 42, 1999-2007.
- Dominguez-Estevez M, Constable A, Mazzatorta P, Renwick AG and Schilter B, 2010. Using urinary solubility data to estimate the level of safety concern of low levels of melamine (MEL) and cyanuric acid (CYA) present simultaneously in infant formulas. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, in press.
- DSM (Department of Regulatory Affairs & Product Safety), 2009. Migration tests performed on melamine-containing laminates. Report provided to EFSA in November 2009 by DSM Department of Regulatory Affairs & Product Safety (Polymers).
- EC (European Commission), 1986. Report of the Scientific Committee for Food on certain monomers of other starting substances to be used in the manufacture of plastic materials and articles intended to come into contact with foodstuffs. Seventeenth series. Opinion expressed on 14 December 1984. Available from http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/reports/scf_reports_17.pdf.
- EFSA (European Food Safety Authority), 2006a. Opinion of the Scientific Panel on Food Additives, Flavourings, Processing Aids and Materials in Contact with Food on a request from the Commission related to 2,2-bis(4-hydroxyphenyl)propane(Bisphenol A). *The EFSA Journal*. 428, 1-75.
- EFSA (European Food Safety Authority), 2006b. Guidance of the Scientific Committee on a request from EFSA related to Uncertainties in Dietary Exposure Assessment. *The EFSA Journal*. 438, 1-54.
- EFSA (European Food Safety Authority), 2007. EFSA provisional statement on a request from the European Commission related to melamine and structurally related to compounds such as cyanuric acid in protein-rich ingredients used for food and feed. Available from www.efsa.europa.eu/en/scdocs/doc/1047.pdf.
- EFSA (European Food Safety Authority), 2008a. Statement of EFSA on risks for public health due to the presences of melamine in infant milk and other milk products in China. *The EFSA Journal*. 807, 1-10.

- EFSA (European Food Safety Authority), 2008b. Guidance Document for the use of the Concise European Food Consumption Database in Exposure Assessment. 17 March 2008. 1-11.
- EFSA (European Food Safety Authority), 2009. Guidance of the Scientific Committee on Use of the benchmark dose approach in risk assessment. The EFSA Journal. 1150, 1-72.
- FAPAS (Food Analysis Performance Assessment Scheme), 2010. Melamine in chocolate. FAPAS Proficiency test 3023. September-October 2009. J. Croucher. The Food and Environment Research Agency, UK.
- FERA (Food and Environment Research Agency), 2010. Comparing the concentrations of melamine, cyanuric acid, ammeline and ammelide migrating from melamineware into 3 % acetic acid and foodstuffs. J. Day and E.L. Bradley (eds.). The Food & Environment Research Agency, York (UK), March 2010.
- FFSA (Finnish Food Safety Authority), 2010. Data provided to EFSA in February 2010 by the Finnish Food Safety Authority, Helsinki, Finland.
- FSA (Food Standards Agency), 2006. LC-MS method development for the screening of non-volatile and polar compounds present in paper and board and plastic food contact materials. W. Read, M. Scotter and L. Castle. UK Food Standards Agency report on project A03037. Available from www.food.gov.uk/science/research/researchinfo/contaminantsresearch/contactmaterials/a03prog/a03projlist/a03037.
- Grases F, Costa-Bauza A, Gomila I, Serra-Trespalle S, Alonso-Sainz F and del Valle JM, 2009. Melamine urinary bladder stone. *Urology*, 73, 1262-1263.
- Hard GC, Flake GP and Sills RC, 2009. Re-evaluation of kidney histopathology from 13-week toxicity and two-year carcinogenicity studies of melamine in the F344 rat: morphologic evidence of retrograde nephropathy. *Veterinary Pathology*, 46, 1248-1257.
- He Y, Jiang GP, Zhao L, Qian JJ, Yang XZ, Li XY, Du LZ and Shu Q, 2009. Ultrasonographic characteristics of urolithiasis in children exposed to melamine-tainted powdered formula. *World Journal of Pediatrics*, 5, 118-121.
- IARC (International Agency for Research on Cancer), 1999. Melamine. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. 73, 329-338.

- IOM (Institute of Medicine), 1991. National Academy of Sciences. Nutrition during lactation. Washington, DC: National Academy Press.
- Ishiwata H, Inoue T and Tanimura A, 1986. Migration of melamine and formaldehyde from tableware made of melamine resin. *Food Additives & Contaminants*, 3, 63-69.
- JMPR (Joint Meeting of the FAO/WHO Panel of Experts on Pesticide Residues in Food), 1991. Pesticide residues in food – 1990 evaluations. Toxicology. World Health Organization, WHO/PCS/91.47, 1991. Cyromazine. Available from www.inchem.org/documents/jmpr/jmpmono/v90pr06.htm.
- JMPR (Joint Meeting of the FAO/WHO Panel of Experts on Pesticide Residues in Food), 2007 Pesticide residues in food. Available from http://www.fao.org/ag/AGP/AGPP/Pesticid/JMPR/DOWNLOAD/2007_rep/report2007jmp.pdf and http://www.fao.org/ag/AGP/AGPP/Pesticid/JMPR/Download/2007_eva/Evaluation.pdf
- JMPR (Joint Meeting of the FAO/WHO Panel of Experts on Pesticide Residues in Food), 2008. Pesticide residues in food – 2006 evaluations. Part II – Toxicological. World Health Organization, 2008. Available from http://whqlibdoc.who.int/publications/2008/9789241665223_eng.pdf.
- Linardakis M, Sarri K, Pateraki MS, Sbokos M and Kafatos A, 2008. Sugar-added beverages consumption among kindergarten children of Crete: effects on nutritional status and risk of obesity. *BMC Public Health*, 8, 279.
- Newton GL and Utley PR, 1978. Melamine as a dietary nitrogen source for ruminants. *Journal of Animal Science*, 47, 1338-1344.
- NRL-FCM (National Reference Laboratory for Food Contact Materials), 2010. Specific migration of melamine from a coating for a kitchen working bench. Data provided to EFSA in January 2010 by the Portuguese NRL-FCM, The Biotechnology College Packaging Department, Catholic University, Porto, Portugal.
- NTP (National Toxicology Programme), 1983. Carcinogenesis bioassay of melamine (CAS No. 108-78-1) in F344/N rats and B6C3F1 mice (feed study). Research Triangle Park, NC, and Bethesda, MD, United States Department of Health and Human Services, Public Health Service, National Institutes of Health, National Toxicology Program (NTP Technical Report Series No. 245; NTP-

- 81-86; NIH Publication No. 83-2501; Available from http://ntp.niehs.nih.gov/ntp/htdocs/LT_rpts/tr245.pdf). National Toxicology Program technical Report Series. 245, 1-171.
- OECD (Organisation for economic co-operation and development), 1999. Screening Information Dataset (SIDS) for isocyanuric acid. CAS No. 108-80-5. Paris, Organisation for Economic Cooperation and Development. Available from <http://www.chem.unep.ch/irptc/sids/OECDSEIDS/108805.pdf>.
- OECD (Organisation for economic co-operation and development), 2002. SIDS Analysis. UNEP Publications: Melamine. Available from <http://www.inchem.org/documents/sids/sids/108781.pdf>.
- Ogasawara H, Imaida K, Ishiwata H, Toyoda K, Kawanishi T, Uneyama C, Hayashi S, Takahashi M and Hayashi Y, 1995. Urinary bladder carcinogenesis induced by melamine in F344 male rats: correlation between carcinogenicity and urolith formation. *Carcinogenesis*, 16, 2773-2777.
- RIVM-RIKILT (National Institute of Public Health and the Environment - Institute of Food Safety), 2008. Modeling of the transfer of melamine from feed to pig tissues. Advice for the Dutch food and consumer product safety authority; Office for risk assessment by the RIVM-RIKILT front office food safety. Advice dated 12-12-2008. Available from www.vwa.nl/cdlpub/servlet/CDLServlet?p_file_id=36644.
- Sugita M, Ishiwata H and Maekawa A, 1991. Intestinal absorption and urinary excretion of melamine in male Wistar rats. *Journal of the Food Hygienic Society of Japan*, 32, 439-443.
- Sugita T, Ishiwata H and Yoshihira K, 1990. Release of formaldehyde and melamine from tableware made of melamine-formaldehyde resin. *Food Additives & Contaminants*, 7, 21-27.
- Tittlemier SA, 2010. Methods for the analysis of melamine and related compounds in foods: a review. *Food Additives & Contaminants. Part A, Chemistry, Analysis, Control, Exposure & Risk Assessment*, 27, 129-145.
- TNO (The Netherlands Organisation for Applied Scientific Research), 2010. TNO report AR 10-0389/EHK, March 2010, Determination of the release of melamine from melamine utensils.

- Tolleson WH, 2008. Renal toxicity of pet foods contaminated with melamine and related compounds. In: Proceedings of the 235th National Meeting of the American Chemical Society; New Orleans, LA, 9 April 2008. Washington, DC, American Chemical Society.
- Tolleson WH, Diachenko GW, Folmer D, Doell D, D. H and Laurel MD, 2009. Background paper on the chemistry of melamine alone and in combination with related compounds. Prepared for the WHO expert meeting on toxicological and health aspects of melamine and cyanuric acid in collaboration with FAO; Supported by Health Canada, Ottawa, Canada, 1– 4 December 2008. World Health Organization, Geneva.
- US FDA (United States Federal and Drug Administration), 2007. Interim melamine and its analogues safety/risk assessment. Washington DC, United States Food and Drug Administration, Center for Food Safety and Applied Nutrition, 25 May 2007. Available from <http://www.cfsan.fda.gov/~dms/melamra.html>.
- US FDA (United States Federal and Drug Administration), 2008a. Interim Safety and Risk Assessment of Melamine and its Analogues in Food for Humans Silver Spring, MD, United States Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration Center for Food Safety and Applied Nutrition. Available from <http://www.fda.gov/Food/FoodSafety/FoodContaminantsAdulteration/ChemicalContaminants/Melamine/ucm164522.htm>.
- US FDA (United States Federal and Drug Administration), 2008b. Update: Interim Safety and Risk Assessment of Melamine and its Analogues in Food for Humans Silver Spring, MD, United States Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration Center for Food Safety and Applied Nutrition. Available from <http://www.fda.gov/Food/FoodSafety/FoodContaminantsAdulteration/ChemicalContaminants/Melamine/ucm164520.htm>.
- Wallace K, 1996. Ruminant metabolism of peptides and amino acids. *Journal of Nutrition*, 126, 1326S-1334S.
- WHO (World Health Organization), 1987. Principles for the safety assessment of food additives and contaminants in food. Geneva, World Health Organization, International Programme on Chemical Safety (Environmental Health Criteria 70).

- WHO (World Health Organization), 2004. Sodium dichloroisocyanurate. In: Safety evaluation of certain food additives and contaminants. Prepared by the sixty-first meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Geneva, World Health Organization (WHO Food Additives Series, No. 52. Available from <http://whqlib.doc.who.int/publications/2004/924166052X.pdf>.
- WHO (World Health Organization), 2007. Sodium Dichloroisocyanurate in Drinking-water Background document for development of WHO Guidelines for Drinking-Water Quality. Available from http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/chemicals/second_addendum_sodium_dichloroisocyanurate.pdf. 1-15.
- WHO (World Health Organization), 2009a. Toxicological and Health aspects of melamine and cyanuric acid. Report of a WHO expert meeting in collaboration with FAO. Supported by Health Canada.
- WHO (World Health Organization), 2009b. Full report of the Joint FAO/WHO Expert meeting on chlorine-containing disinfectants used in food production and food processing, held in Ann Arbor, USA, 27-30 May 2008. Available from <http://www.fao.org/ag/agn/agns/files/Active%20Chlorine%20Report%20Version%20Final%20December%202009.pdf>. 1-276.
- WHO/IPCS (World Health Organization/ International Programme on Chemical Safety), 2008. Guidance on Characterizing and Communicating Uncertainty in Exposure Assessment and Guidance on Data Quality in Chemical Exposure Assessment have been published as a two-part publication (Harmonization Project Document No 6).p1-175. Available from http://www.who.int/ipcs/publications/methods/harmonization/exposure_assessment.pdf.
- Allen, L.M., Briggles, T.V., and Pfaffenberger, C.D. 1982. Absorption and excretion of cyanuric acid in long-distance swimmers. *Drug Metab Rev.* 13, 499-516.
- EC (European Commission), 1986. Report of the Scientific Committee for Food on certain monomers of other starting substances to be used in the manufacture of plastic materials and articles intended to come into contact with foodstuffs. Seventeenth series. Opinion expressed on 14 December 1984. Available at URL http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/reports/scf_reports_17.pdf.
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations), 2006. Report of the

Joint Meeting of the FAO Panel of Experts on Pesticide Residues in Food and the Environment and the WHO Core Assessment Group on Pesticide Residues Rome, Italy, 3–12 October 2006; FAO Plant Production and Protection Paper, 187, 1-400.

FAO/WHO (Food and Agriculture Organization/World Health Organization), 2004.

Evaluation of certain food additives and contaminants. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food additives. Geneva, World Health Organization. Report Series 922. Available at URL http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_922.pdf

IARC (International Agency for Research on Cancer), 1999. Some chemicals that cause tumours of the kidney, or urinary bladder in rodents and some other substances.

IARC Monogr.Eval.Carcinogen.Risks.Hum. 73, 329-338.

Inoue, T., Ishiwata, H., Yoshihira, K., and Tamimura, A. 1985. High-performance liquid chromatographic determination of melamine extracted from cups made of melamine resin. *J. Chromatogr.* 346, 450-452.

Ishiwata, H., Inoue, T., and Tanimura, A. 1986. Migration of melamine and formaldehyde from tableware made of melamine resin. *Food Addit. Contam.* 3, 63-69.

Ishiwata, H., Inoue, T., Yamazaki, T., and Yoshihira, K. 1987. Liquid chromatographic determination of melamine in beverages. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 70, 457-460.

Lipschitz, W.L., and Stokey, E. 1945. The mode of action of three new diuretics: melamine, adenine and formoguanamine. *J. Pharm. Exp. Ther.* 83, 235-249.

NTP (National Toxicology Program), NTP. 1983. Carcinogenesis Bioassay of Melamine (CAS No. 108-78-1) in F344/N Rats and B6C3F1 Mice (Feed Study). *Natl. Toxicol. Program. Tech. Rep. Ser.* 245, 1-171.

OECD (Organisation for economic co-operation and development). 2002. SIDS Analysis UNEP Publications: Melamine. Available at URL <http://www.inchem.org/documents/sids/sids/108781.pdf>.

Stoks, P.G. and Schwarts, A.W. 1979. Determination of s-triazine derivatives at the

- naogram level by gas-liquid chromatography. *J chromatogr* 168:455-460.
- US-EPA (U.S. Environmental Protection Agency), 2007. PAN Pesticides Database – Chemicals. Available at URL:
http://www.pesticideinfo.org/Detail_Chemical.jsp?Rec_Id=PC33021#Toxicity
- US-FDA (U.S. Food and Drug Administration), 2007a. Interim melamine and analogues safety/risk assessment. Available at URL:
<http://www.cfsan.fda.gov/~dms/melamra.html>
- US-FDA (U.S. Food and Drug Administration), 2007b. GC-MS Screen for the Presence of Melamine, Ammeline, Ammelide and Cyanuric Acid. Available at URL: <http://www.fda.gov/cvm/GCMSMelamine.htm>
- European Community (EC), 1986. Report of the Scientific Committee for Food on certain monomers of other starting substances to be used in the manufacture of plastic materials and articles intended to come into contact with foodstuffs. Seventeenth series. Opinion expressed on 14 December 1984. Available at URL:
http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/reports/scf_reports_17.pdf.
- EFSA (European Food Safety Authority), 2007. EFSA’s provisional statement on a request from the European Commission related to melamine and structurally related compounds such as cyanuric acid in protein-rich ingredients used for feed and food. Available at URL:
http://www.efsa.europa.eu/cs/BlobServer/Statement/efsa_statement_melamine_en_rev1.pdf?ssbinary=true
- FDA (U.S. Food and Drug Administration), 2007. Interim melamine and analogues safety/risk assessment. Available at URL:
<http://www.cfsan.fda.gov/~dms/melamra.html>
- FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations), 2006. Report of the Joint Meeting of the FAO Panel of Experts on Pesticide Residues in Food and the Environment and the WHO Core Assessment Group on Pesticide Residues Rome, Italy, 3–12 October 2006; FAO Plant Production and Protection Paper, 187, 1-400.
- IARC (International Agency for Research on Cancer), 1999. Some chemicals that cause tumours of the kidney, or urinary bladder in rodents and some other substances. *IARC Monogr.Eval.Carcinogen.Risks.Hum.* 73, 329-338.
- Allen LM, Briggles TV, Pfaffenberger CD (1982) Absorption and excretion of cyanuric acid in long-distance swimmers. *Drug Metab Rev* 13:499–516

- Anon (1983) Carcinogenesis Bioassay of Melamine (CAS NO. 108- 78-1) in F344/N rats and B6C3F1 mice (feed study). http://ntp.niehs.nih.gov/ntp/htdocs/LT_rpts/tr245.pdf. Accessed 30th Nov 2009
- Anon (2007) Filler in animal feed is open secret in China. http://www.nytimes.com/2007/04/30/business/worldbusiness/30food.html?_r=1&pagewanted%20=%201&hp. Accessed 12th Nov 2009
- Anon (2008a) Melamine ‘widespread’ in China’s food chain. <http://www.newscientist.com/article/dn14791-melamine-widespreadin-chinese-food-chain.html>. Accessed 12th Nov 2009
- Anon (2008b) Rush to find extent of NZ melamine contamination. <http://www.stuff.co.nz/national/644196>. Accessed 12th Nov 2009
- Anon (2008c) Spilling the blame for China’s Milk Crisis. <http://english.caijing.com.cn/2008-10-10/110019183.html>. Accessed 12th Nov 2009
- Anon (2008d) U.S. pharmacopeia working to better detect, measure melamine adulteration in food: combating an international public health threat. <http://vocuspr.vocus.com/vocuspr30/ViewAttachment.aspx?EID=iWHe7+WVgJ/c0SzvBPWutY0nK/dLYMRUlamavgpUjyw=>. Accessed 12th Nov 2009
- Anon (2008e) International reaction to the 2008 Chinese milk scandal. http://en.wikipedia.org/wiki/International_Reaction_to_the_2008_Chinese_milk_Scandal. Accessed 12th Nov 2009
- Bingham E, Cohrssen B, Powell CH (2001) Patty’s toxicology, volumes 1–9, 5th edn. Wiley, New York
- Bradley D (2008) Melamine scandal widens. <http://www.sciencebase.com/science-blog/melamine-scandal-widens.html>. Accessed 12th Nov 2009
- Brown CA, Jeong KS, Poppenga RH (2007) Outbreaks of renal failure associated with melamine and cyanuric acid in dogs and cats in 2004 and 2007. *J Vet Diagn Invest* 19:525–531
- European Food Safety Authority (2008) EFSA assesses possible risks related to melamine in composite foods from China. http://www.efsa.europa.eu/EFSA/efsa_locale-1178620753812_1211902098433.htm. Accessed 12th Nov 2009

- Food Standards Agency (2008) Melamine contamination of milk and milk products from China. <http://www.food.gov.uk/multimedia/pdfs/enforcement/enfe08064update3.pdf>. Accessed 12th Nov 2009
- IARC (1986) IARC monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans, Vol. 39. Some chemicals used in plastics and elastomers, Lyon, pp 333–346
- IARC (1999) Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to man. World Health Organization, International Agency for Research on Cancer, Geneva, V73 Jutzi K, Cook AM, Hutter R (1982) The degradative pathway of the triazine melamine. The steps to ring cleavage. *Biochem J* 208:679–684
- Lipschitz WL, Stokey E (1945) The mode of action of three new diuretics: melamine, adenine and formoguanamine. *J Pharmacol Exp Ther* 83:235–249.
- Melnick RL, Boorman GA, Haseman JK, Montali RJ, Huff J (1984) Urolithiasis and bladder carcinogenicity of melamine in rodents. *Toxicol Appl Pharmacol* 72:292–303
- New Zealand Food Safety Authority (2008) New Zealand melamine response update. <http://www.nzfsa.govt.nz/publications/mediareleases/2008/26-sep-melamine-response-update.htm>. Accessed 12th Nov 2009
- OECD (1998) Screening information data set for melamine, CAS No.#108-78-1 (<http://www.chem.unep.ch/irptc/sids/OECDSEIDS/108781.pdf>). Accessed 12th Nov 2009
- OECD (1999) Screening information data set for isocyanuric acid CAS No 108-80-5. <http://www.chem.unep.ch/irptc/sids/OECDSEIDS/108805.pdf>. Accessed 12th Nov 2009
- Patakioutas G, Savvas D, Matakoulis C, Sakellarides T, Albanis T (2007) Application and fate of cyromazine in a closed-cycle hydroponic cultivation of bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *J Agric Food Chem* 55:9928–9935
- US FDA (2007) Interim melamine and analogues safety/risk assessment. <http://www.fda.gov/ScienceResearch/SpecialTopics/PeerReviewofScientificInformationandAssessments/ucml55012.htm>. Accessed 12th Nov 2009

- US FDA (2008) Interim safety and risk assessment of melamine and its analogues in food for humans. www.cfsan.fda.gov/~dms/melamra3.html. Accessed 12th Nov 2009
- US FDA (2009) Melamine contamination in China. <http://www.fda.gov/ohrms/DOCKETS/ac/08/briefing/2008-4386b3.pdf>. Accessed 12th Nov 2009
- WHO (2004) Sodium dichloroisocyanurate. In: Safety evaluation of certain food additives and contaminants. Prepared by the sixty-first meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Geneva, World Health Organization (WHO Food Additives Series, No. 52; <http://whqlibdoc.who.int/publications/2004/924166052X.pdf>). Accessed 12th Nov 2009
- WHO (2008a) Melamine-contaminated powdered infant formula in China. http://www.who.int/csr/don/2008_09_19/en/index.html. Accessed 12th Nov 2009
- WHO (2008b) Experts set tolerable level for melamine intake. <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2008/pr48/en/index.html>. Accessed 30th Nov 2009
- WHO (2009) Toxicological and health aspects of melamine and cyanuric acid. http://www.who.int/foodsafety/publications/chem/Melamine_report09.pdf. Accessed 30th Nov 2009
- Wong G (2008) China's dairy farmers fret as milk scandal grows. Associated Press. <http://www.encyclopedia.com/doc/1A1-D93BGRF80.html>. Accessed 12th Nov 2009
- Wong S (2009) China death sentences may protect exports after milk scandal. <http://www.bloomberg.com/apps/news?pid=20601080&sid=awC1BNXRxuj4&refer=asia>. Accessed 12th Nov 2009