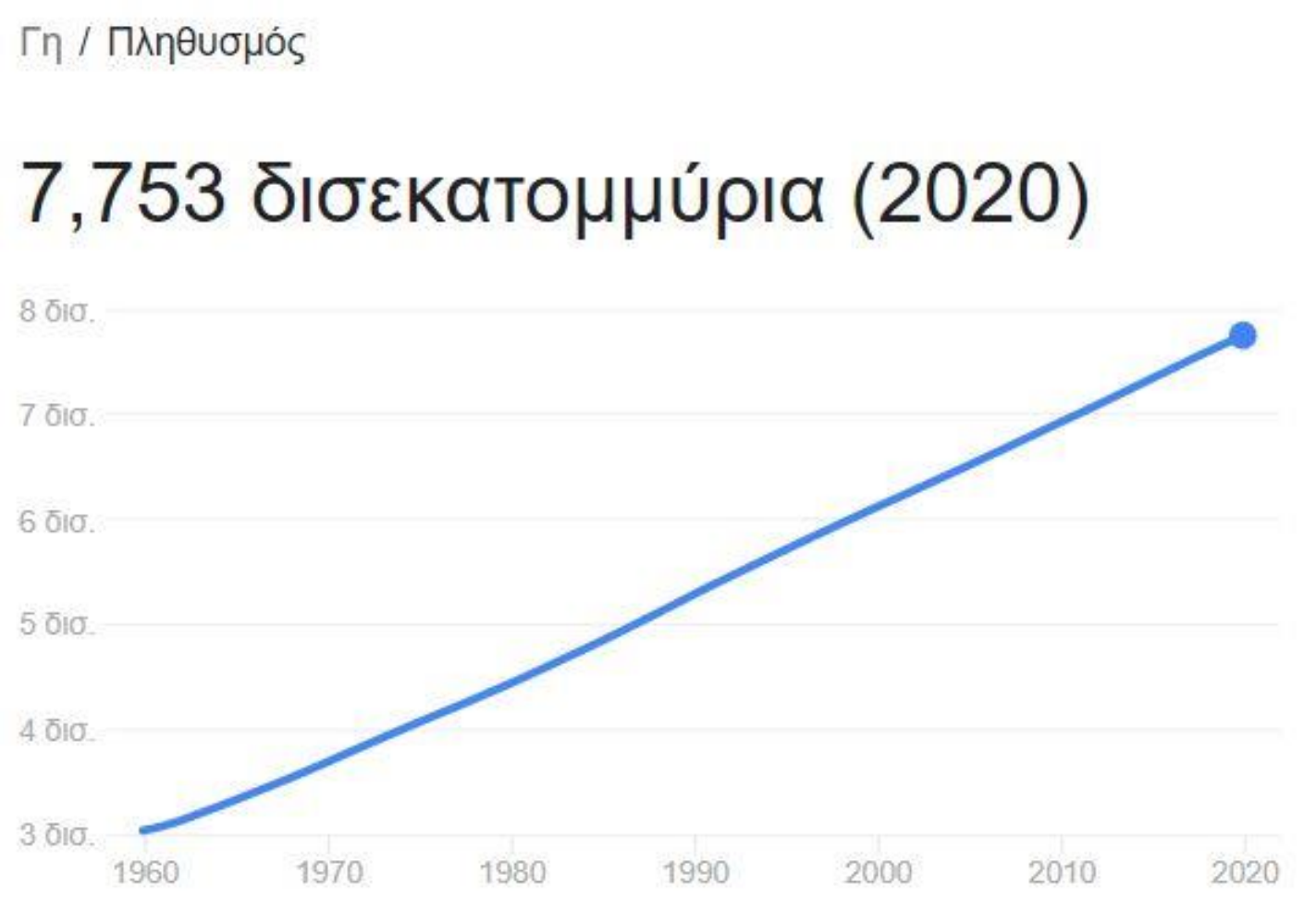
ΤΑΧΕΙΕΣ – ΔΙΕΡΕΥΝΗΤΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ ΚΑΤΑΛΟΙΠΩΝ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΩΝ ΦΑΡΜΑΚΩΝ ΚΑΙ ΧΗΜΙΚΩΝ ΡΥΠΑΝΤΩΝ ΣΤΑ ΤΡΟΦΙΜΑ ΖΩΙΚΗΣ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ

djflet@vet.auth.gr

Μεταβολή του Πληθυσμού της Γης με το χρόνο



Ομάδες φαρμακευτικών ουσιών που χρησιμοποιούνται στα παραγωγικά ζώα

Αντιμικροβιακά	Κορτικοστεροειδή
Ανθελμινθικά	Διουρητικά
Αντικοκκιδιακά	Χρωστικές
Ορμόνες	Ηρεμιστικά
Αντιμυκητιακά	Αντιφλεγμονώδη
β-Αγωνιστές	Θυρεοστατικά

Χημικοί ρυπαντές στα τρόφιμα ζωικής προέλευσης

Φυτοφάρμακα	Απορρυπαντικά
Απολυμαντικά	Βαρέα μέταλλα
Πολυχλωριωμένα διφαινύλια (PCBs)	Διοξίνες
Νιτρικά/νιτρώδη	Πλαστικοποιητές
Τοξίνες βακτηρίων	Τοξίνες από οστρακοειδή
Μυκοτοξίνες	Ραδιενεργά στοιχεία
Νιτροζαμίνες	Βενζοπυρένιο
Μηλονική διαλδεΰδη	Ισταμίνη

Σύστημα RASFF

Σύστημα έγκαιρης προειδοποίησης για τα τρόφιμα και τις ζωοτροφές
(Rapid Alert System for Food and Feed, RASFF)

Νομική βάση: Κανονισμός (ΕΚ) 178/2002
(άρθρα 50, 51 & 52)

Δημιουργήθηκε με σκοπό την ανταλλαγή πληροφοριών μεταξύ των Κρατών Μελών για την άμεση, συντεταγμένη και αποτελεσματική αντιμετώπιση σημαντικών κινδύνων για τη δημόσια υγεία που προέρχονται από τρόφιμα ή ζωοτροφές.

https://webgate.ec.europa.eu/rasff-window/portal/

RASFF | Consumers Portal Support Help Disclaimer Log in

RASFF Portal

European Commission

European Commission > RASFF Portal

Notifications list New search

Search Page

Get results Clear form

Notification

Reference

Subject or and

Notified by

Open alerts

Date

Week current week [10]

previous week [9]

week of year

Notified between and (dd/mm/yyyy)

Type

Type

Classification withdrawn

Basis

Product

Category

Flagged as

Country

Action taken

Hazard

Category

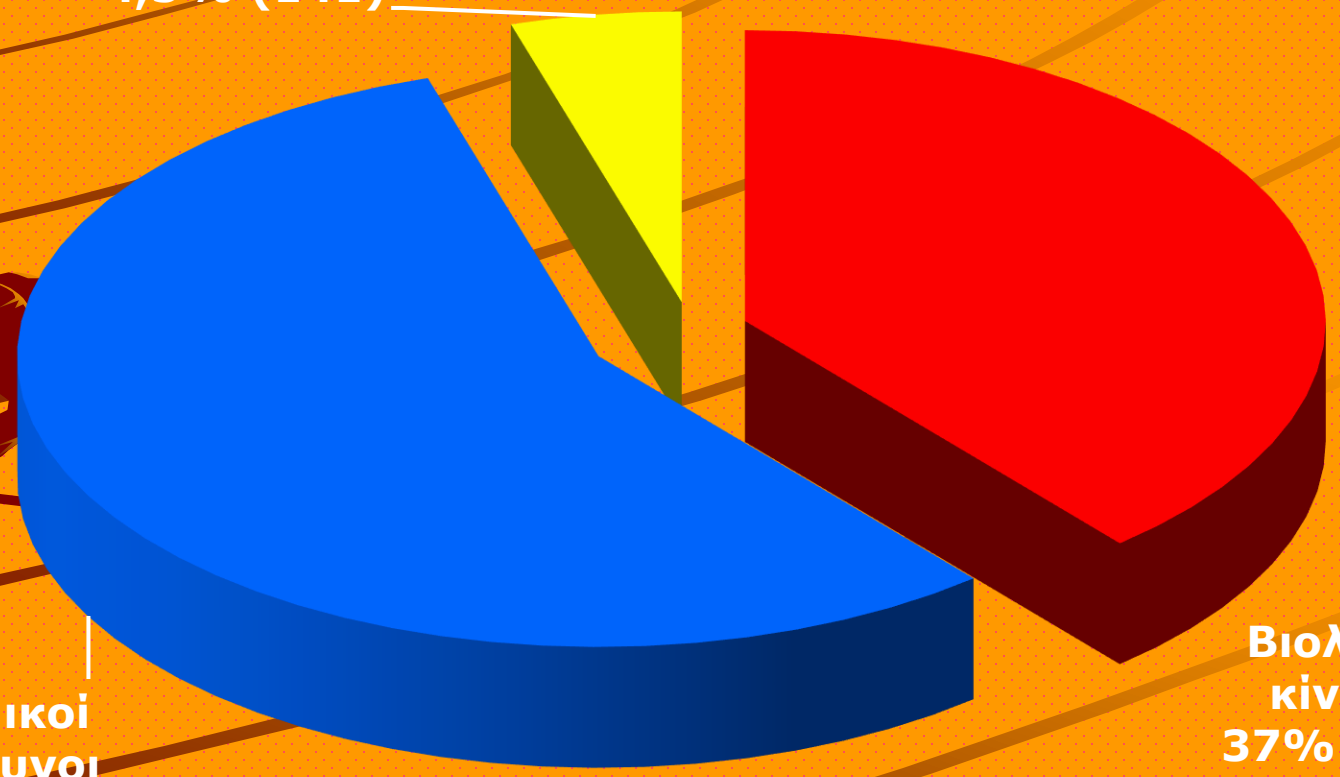
Risk decision

Keywords

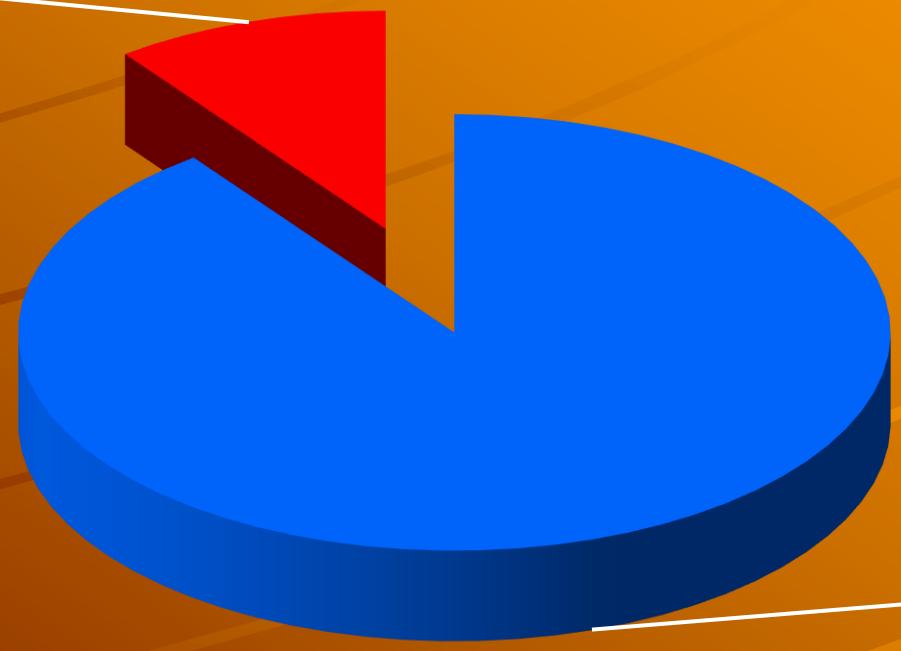
Keywords Open URL

Get results Clear form Load criteria Save criteria

Κίνδυνοι σε τρόφιμα, ποτά & ζωοτροφές που κοινοποιήθηκαν μέσω του συστήματος RASFF το 2020



Χημικοί κίνδυνοι σε τρόφιμα, ποτά & ζωοτροφές που κοινοποιήθηκαν μέσω του συστήματος RASFF το 2020



Το αναλυτικό πρόβλημα

- Τεράστιος και συνεχώς αυξανόμενος αριθμός επικίνδυνων χημικών ουσιών
- Εξαιρετικά χαμηλές συγκεντρώσεις καταλοίπων (ppb-ppt)
- Βιολογικά δείγματα με πολύπλοκη σύνθεση (κρέας, γάλα, αυγό, ψάρι)
- Κατάλοιπα που είναι προϊόντα μεταβολικής οξείδωσης, αναγωγής ή/και υδρόλυσης των μητρικών ουσιών που αρχικά χορηγήθηκαν στα ζώα
- Κατάλοιπα που είναι προϊόντα μεταβολικής σύζευξης των μητρικών ουσιών ή/και των μεταβολιτών τους με γλυκουρονικό ή θειϊκό οξύ. Τα κατάλοιπα αυτά δεν μπορούν να μετρηθούν αν δεν διασπασθούν προηγουμένως με οξέα ή ένζυμα
- Παρενοχλήσεις στη μέτρηση από δευτερογενή προϊόντα της παραπάνω διάσπασης
- Έλλειψη προτύπων για μέτρηση ορισμένων χημικών ουσιών (αμινογλυκοσίδες, κολιστίνη, μεταβολίτες)

Το αναλυτικό πρόβλημα

- Η ιδανική μέθοδος για την ανάλυση καταλοίπων στα τρόφιμα θα πρέπει να είναι εκλεκτική, ευαίσθητη, ακριβής, επαναλήψιμη, αυτοματοποιημένη, χαμηλού κόστους, εφαρμόσιμη σε διάφορα τρόφιμα και ικανή να προσφέρει την αναμφισβήτητη ταυτοποίηση των ουσιών που αναλύονται. Τέτοιες, όμως, ιδανικές μέθοδοι δεν υπάρχουν στην πράξη.
- Έτσι, η αναλυτική προσέγγιση που συνήθως χρησιμοποιείται στην πράξη, στηρίζεται στην εφαρμογή, αρχικά, μιας διερευνητικής μεθόδου (screening method), η οποία ακολουθείται, στη συνέχεια, από μια επιβεβαιωτική μέθοδο (confirmatory method).
- Κύριος στόχος των διερευνητικών μεθόδων είναι ο γρήγορος και χαμηλού κόστους έλεγχος μεγάλου αριθμού δειγμάτων για την παρουσία ανεπιθύμητων ουσιών (μικροβιολογικές, ανοσοχημικές και ενζυμικές μέθοδοι).
- Τα δείγματα που δίνουν θετικές ενδείξεις υποβάλλονται, στη συνέχεια, σε ανάλυση με επιβεβαιωτική μέθοδο, η οποία οδηγεί σε αναμφισβήτητο ποιοτικό και ποσοτικό προσδιορισμό των υπό ανάλυση ουσιών.

Ταχείες – διερευνητικές μέθοδοι ανίχνευσης καταλοίπων κτηνιατρικών φαρμάκων και χημικών ρυπαντών στα τρόφιμα ζωικής προέλευσης

- Μικροβιολογικές μέθοδοι
- Ανοσοχημικές μέθοδοι
- Ενζυμικές μέθοδοι
- Φασματοφωτομετρικές μέθοδοι

Μικροβιολογικές μέθοδοι

- Μέθοδοι ανάσχεσης της ανάπτυξης μικροοργανισμών
  - Μέθοδοι διάχυσης σε άγαρ
  - Χρωματομετρικές μέθοδοι
- Μέθοδος μικροβιακού υποδοχέα
  - Charm test II

Στελέχη βακτηρίων που χρησιμοποιούνται στις μικροβιολογικές μεθόδους

- *Geobacillus (πρώην Bacillus) stearothermophilus var. calidolactis* C953
- *B. subtilis* ATCC 6633
- *B. subtilis* BGA
- *B. megaterium* ATCC 9885
- *S. thermophilus* T.J.
- *S. thermophilus* T101
- *B. cereus var. mycoides* ATCC 9634
- *M. luteus* ATCC 9341
- *M. luteus* NCTC 8340
- *E. coli* 28PR271

Μέθοδοι ανάσχεσης της ανάπτυξης μικροοργανισμών
(microbial growth inhibition assays)

Βασίζονται στην ανάσχεση της ανάπτυξης ενός ευαίσθητου στελέχους μικροοργανισμού που ενοφθαλμίζεται σε κατάλληλο θρεπτικό υπόστρωμα, εξαιτίας της παρουσίας αντιμικροβιακών ουσιών στο δείγμα που εξετάζεται.

Μέθοδοι ανάσχεσης της ανάπτυξης μικροοργανισμών (microbial growth inhibition assays)

Μέθοδοι διάχυσης σε άγαρ (*microbial agar diffusion assays*): Η ανάσχεση της ανάπτυξης του μικροοργανισμού γίνεται αντιληπτή από το σχηματισμό, γύρω από το σημείο εναπόθεσης του δείγματος, μιας διαυγούς ζώνης της οποίας η διάμετρος βρίσκεται σε γραμμική συσχέτιση με το λογάριθμο της συγκέντρωσης της αντιμικροβιακής ουσίας.

[*μέθοδος των δίσκων, των κυλίνδρων, και των βοθρίων, Cube Inhibition Test (CIT), Swab Test On Premises (STOP), Calf Antibiotic and Sulfonamide Test (CAST), Fast Antimicrobial Screen Test (FAST), Live Animal Sulfa Test (LAST), New Kidney Dutch Test (NKDT) κά*]

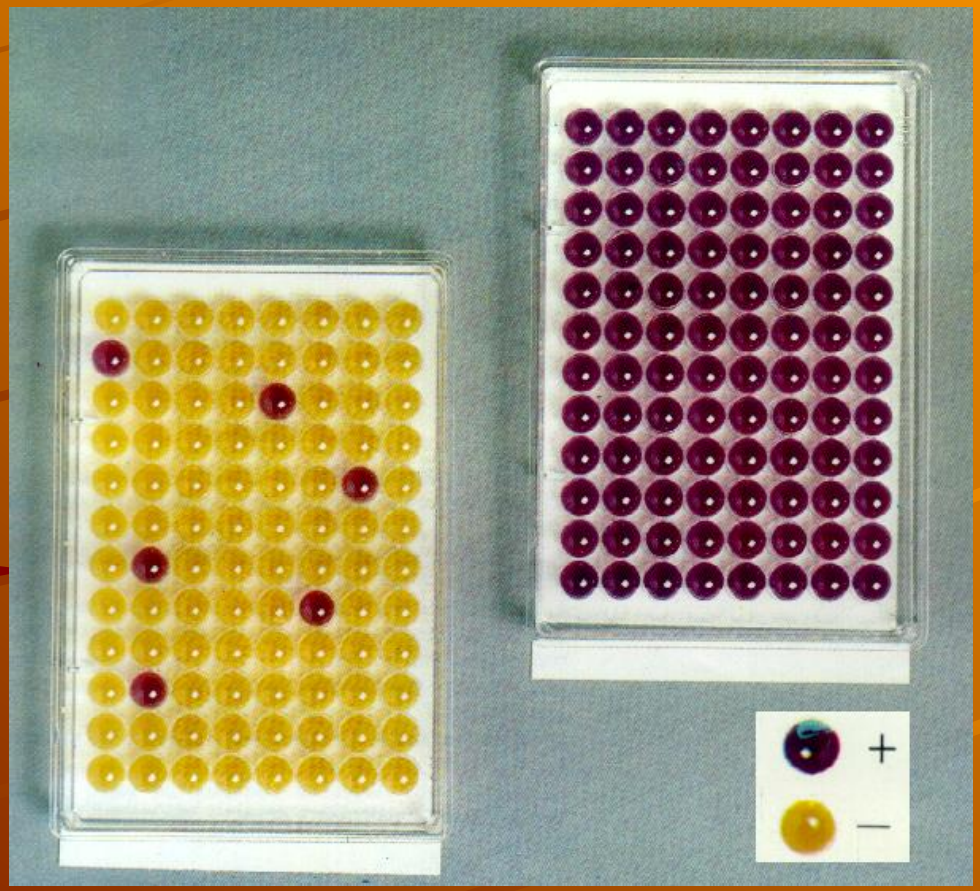
Μέθοδος διάχυσης σε άγαρ (μέθοδος των δίσκων)

Μέθοδοι ανάσχεσης της ανάπτυξης μικροοργανισμών (microbial growth inhibition assays)

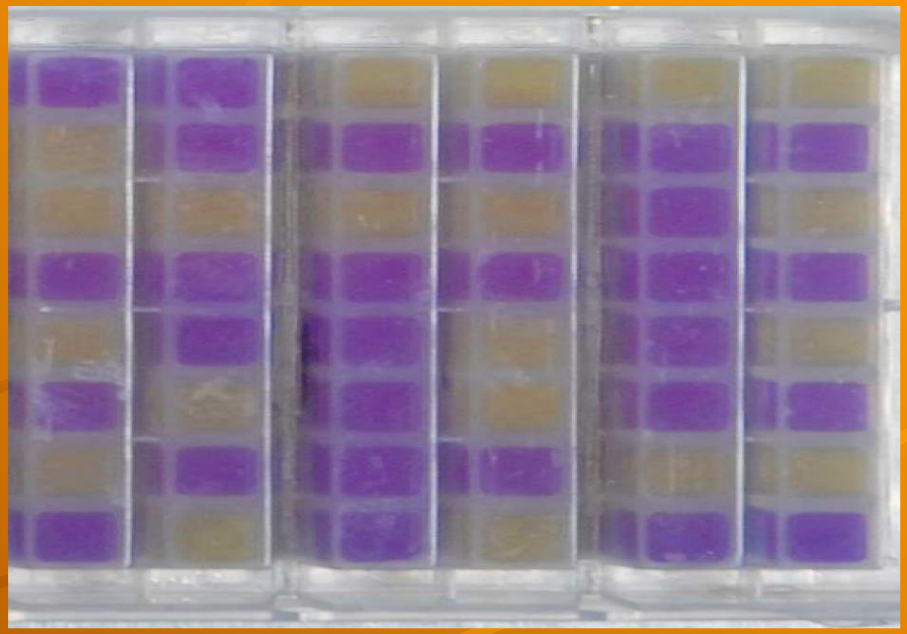
Χρωματομετρικές μέθοδοι (colorimetric assays): Το θρεπτικό υπόστρωμα εμπλουτίζεται με κατάλληλο δείκτη, ώστε η ανάπτυξη του μικροοργανισμού να γίνεται αντιληπτή από την αλλαγή του χρώματος του δείκτη, εξαιτίας της παραγωγής ενζύμων, αναγωγικών ουσιών ή οξέων από το μεταβολισμό των θρεπτικών συστατικών του υποστρώματος.

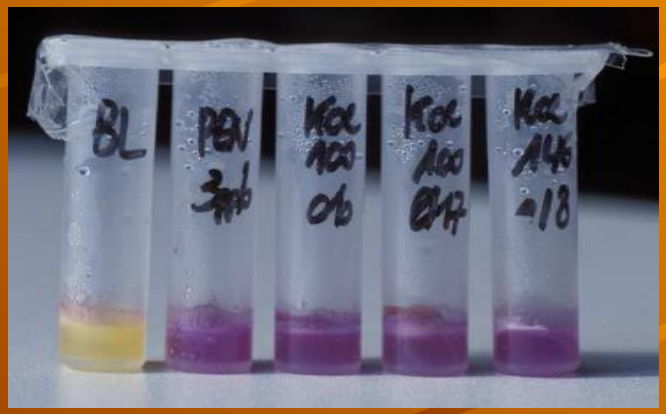
[Brilliant Black Reduction test (B.R. test), Delvotest-P, Valio T101 test, Charm Farm Test (CFT), Charm AIM-96, Lumac test, δοκιμή οξίνισης κά].

Brilliant Black Reduction test (B.R. test)



Delvotest-SP





Πλεονεκτήματα των μεθόδων ανάσχεσης της ανάπτυξης μικροοργανισμών

- Μεγάλη ευαισθησία για ορισμένες αντιμικροβιακές ουσίες
- Δυνατότητα ανίχνευσης πολλών αντιμικροβιακών ουσιών ταυτόχρονα
- Δυνατότητα ανίχνευσης μεταβολιτών με αντιμικροβιακή δράση
- Δυνατότητα ανάλυσης πολλών δειγμάτων ταυτόχρονα
- Μικρός χρόνος ανάλυσης σε ορισμένες εφαρμογές
- Απλότητα χειρισμών
- Απλός και χαμηλού κόστους εργαστηριακός εξοπλισμός
- Χαμηλό κόστος ανάλυσης
- Δεν απαιτείται εξειδικευμένο προσωπικό

Μειονεκτήματα των μεθόδων ανάσχεσης της ανάπτυξης μικροοργανισμών

- Χαμηλή ευαισθησία για ορισμένες αντιμικροβιακές ουσίες
- Αδυναμία ανίχνευσης δεσμευμένων σε μακρομόρια αντιμικροβιακών ουσιών
- Αδυναμία ανίχνευσης μεταβολιτών χωρίς αντιμικροβιακή δράση
- Παρεμβολές από ενδογενείς ουσίες με αντιμικροβιακή δράση
- Μεγάλος χρόνος ανάλυσης σε ορισμένες εφαρμογές
- Μέτρια επαναληψιμότητα μετρήσεων
- Μικρή εκλεκτικότητα
- Αδυναμία αξιόπιστου ποσοτικού προσδιορισμού

Μέθοδος μικροβιακού υποδοχέα (Charm test II)

Βασίζεται στην τάση κάθε αντιμικροβιακής ουσίας να προσβάλλει ένα συγκεκριμένο σημείο του βακτηριακού κυττάρου και στην αμετάκλητη δέσμευσή της στο ενλόγω σημείο.

Προσθέτοντας, σε ορισμένη ποσότητα του προς εξέταση δείγματος, συγκεκριμένη ποσότητα ενός ευαίσθητου μικροοργανισμού και μιας επισημασμένης με ^{14}C ή ^{3}H αντιμικροβιακής ουσίας και μετρώντας την ποσότητα της επισημασμένης ουσίας που δεσμεύτηκε στο μικροοργανισμό , μπορούμε να υπολογίσουμε τη συγκέντρωση της ουσίας στο δείγμα.

Όσο μεγαλύτερη ποσότητα επισημασμένης ουσίας δεσμεύεται στο ειδικό σημείο, τόσο μικρότερη είναι η συγκέντρωση της αντιμικροβιακής ουσίας στο άγνωστο δείγμα.

Πλεονεκτήματα της μεθόδου του μικροβιακού υποδοχέα (Charm test II)

- Μεγάλη ευαισθησία μέτρησης
- Ικανοποιητική επαναληψιμότητα
- Εξαιρετικά μικρός χρόνος ανάλυσης (15 min)
- Δυνατότητα ανάλυσης πολλών δειγμάτων ταυτόχρονα
- Δυνατότητα ταυτοποίησης των αντιμικροβιακών ουσιών κατά ομάδες (π.χ. μακρολίδια, *β*-λακτάμες)
- Απλότητα χειρισμών
- Δεν απαιτείται εξειδικευμένο προσωπικό

Μειονεκτήματα της μεθόδου του μικροβιακού υποδοχέα (Charm test II)

- Αδυναμία ανίχνευσης μεταβολιτών χωρίς αντιμικροβιακή δράση
- Αδυναμία ανίχνευσης δεσμευμένων σε μακρομόρια αντιμικροβιακών ουσιών
- Αδυναμία αξιόπιστου ποσοτικού προσδιορισμού
- Αδυναμία ταυτοποίησης των αντιμικροβιακών ουσιών
- Υψηλό κόστος ανάλυσης
- Υψηλού κόστους εργαστηριακός εξοπλισμός

Ευαισθησία (ppm) μικροβιολογικών μεθόδων για αντιμικροβιακές ουσίες σε γάλα

Αντιμικροβιακή ουσία	Disk assay	Charm test II	BR test	Delvotest	Lumac test	MRLs/ EU
Αμπικιλλίνη	0.005	0.005	0.005	0.005	0.002	0.004
Πενικιλλίνη G	0.0035	0.003	0.004	0.0035	0.001	0.004
Οξυτετρακυκλίνη	0.5	0.1	0.5	0.5	0.3	0.1
Νεομυκίνη	22.0	--	22.0	22.0	5.0	1.5
Ερυθρομυκίνη	2.25	0.02	2.25	2.25	1.25	0.04
Σουλφοναμίδες	0.1-1.0	0.001-0.003	0.1-1.0	0.1-1.0	--	0.1
Χλωραμφαινικόλη	15.0	0.08	15.0	15.0	1.0	0.0003*

*MRPL= Minimum Required Performance Limit

Ευαισθησία (ppm) μικροβιολογικών μεθόδων για αντιμικροβιακές ουσίες σε ζωικούς ιστούς

Αντιμικροβιακή ουσία	CFT	Charm test II	STOP	CAST	FAST	MRLs/ EU
Αμπικιλλίνη	0.008	0.04	0.01	0.1	--	0.05
Πενικιλλίνη G	0.005	0.02	0.01	0.1	0.1	0.05
Οξυτετρακυκλίνη	0.3	0.5	0.1	0.1	0.7	0.1-0.6
Νεομυκίνη	0.3	0.8	0.1	0.1	0.1	0.5-5
Ερυθρομυκίνη	0.8	0.4	0.1	0.1	0.05	0.2
Σουλφοναμίδες	0.06-0.1	0.01-0.025	10.0-50.0	0.1-2.5	3.0-4.0	0.1
Χλωραμφαινικόλη	--	--	0.5	0.5	--	0.0003*

*MRPL= Minimum Required Performance Limit

Ανοσοχημικές μέθοδοι

- Βασίζονται στην ικανότητα των αντισωμάτων να αναγνωρίζουν την τρισδιάστατη δομή των ουσιών (αντιγόνα) και να συνδέονται μαζί τους.
  - ✓ Ραδιοανοσολογική μέθοδος (RIA): 1959
  - ✓ Ανοσοενζυμική μέθοδος (ELISA): 1971

Πλεονεκτήματα των ανοσοχημικών μεθόδων

- Μικρός χρόνος ανάλυσης
- Εύκολη εκτέλεση
- Μεγάλη ευαισθησία μέτρησης
- Μεγάλη εκλεκτικότητα
- Δυνατότητα ανάλυσης πολλών δειγμάτων ταυτόχρονα
- Δυνατότητα μέτρησης καταλοίπων δεσμευμένων σε μακρομόρια των ιστών
- Δυνατότητα αυτοματοποίησης

Μειονεκτήματα των ανοσοχημικών μεθόδων

- Τα εμπορικά διαθέσιμα αντισώματα δεν καλύπτουν όλο το φάσμα των αναλύσεων
- Διακυμάνσεις στη δράση των εμπορικά διαθέσιμων αντισωμάτων
- Παρεμβολές, σε χαμηλές συγκεντρώσεις, από άλλες ουσίες
- Ανίχνευση, συνήθως, μιας μόνο ουσίας σε κάθε ανάλυση
- Χρήση, σε ορισμένες εφαρμογές, επικίνδυνων ραδιενεργών ισοτόπων

Πλεονεκτήματα της ELISA έναντι της RIA

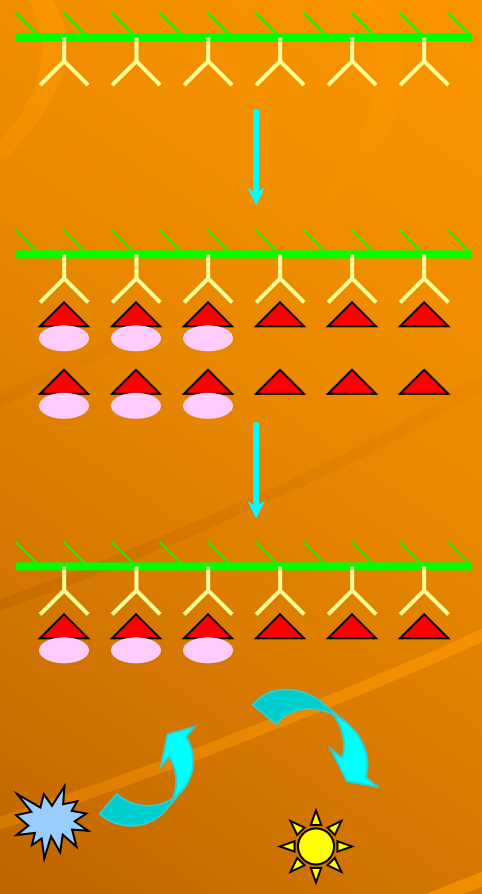
- Σταθερότητα αντιδραστηρίων
- Φθηνός και όχι εξειδικευμένος εξοπλισμός
- Απουσία κινδύνων από ραδιενέργεια
- Εύκολη εκτέλεση

Ανταγωνιστική ELISA

Προσκόλληση του αντισώματος στο τοίχωμα του σωλήνα

Προσθήκη δείγματος (αντιγόνου) και conjugate

Προσθήκη υποστρώματος (substrate) και ανάπτυξη χρώματος



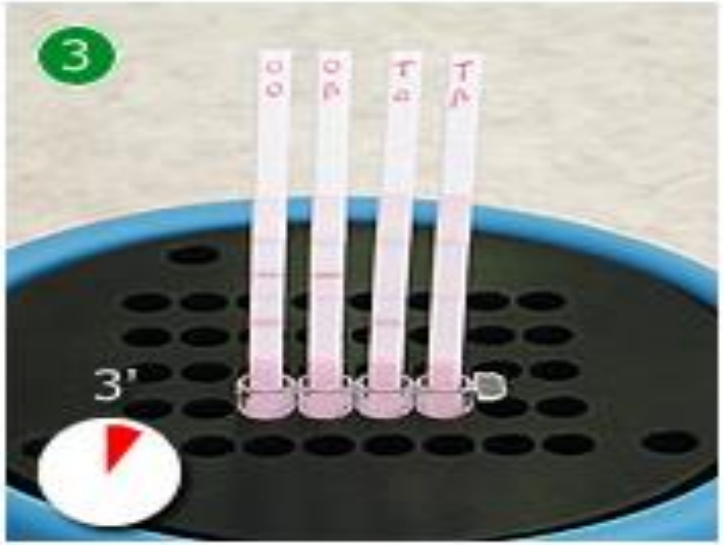
: αντίσωμα **: αντιγόνο (χημική ουσία)** **: ένζυμο**

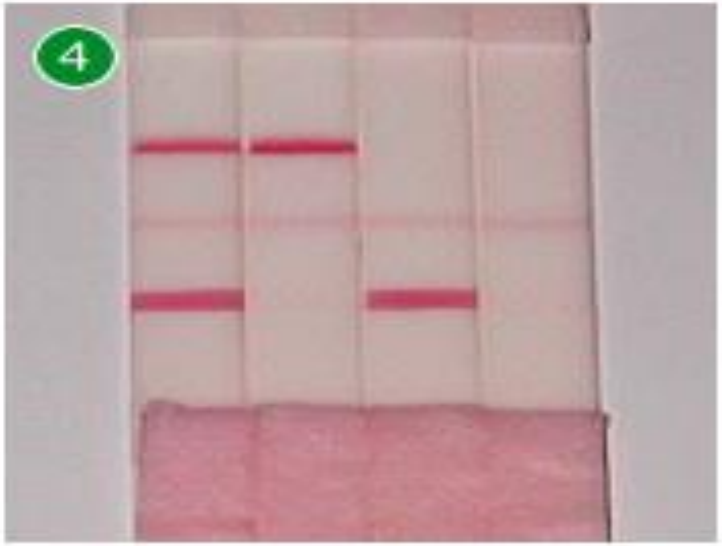
: conjugate **: υπόστρωμα** **: ανάπτυξη χρώματος**

Twinsensor

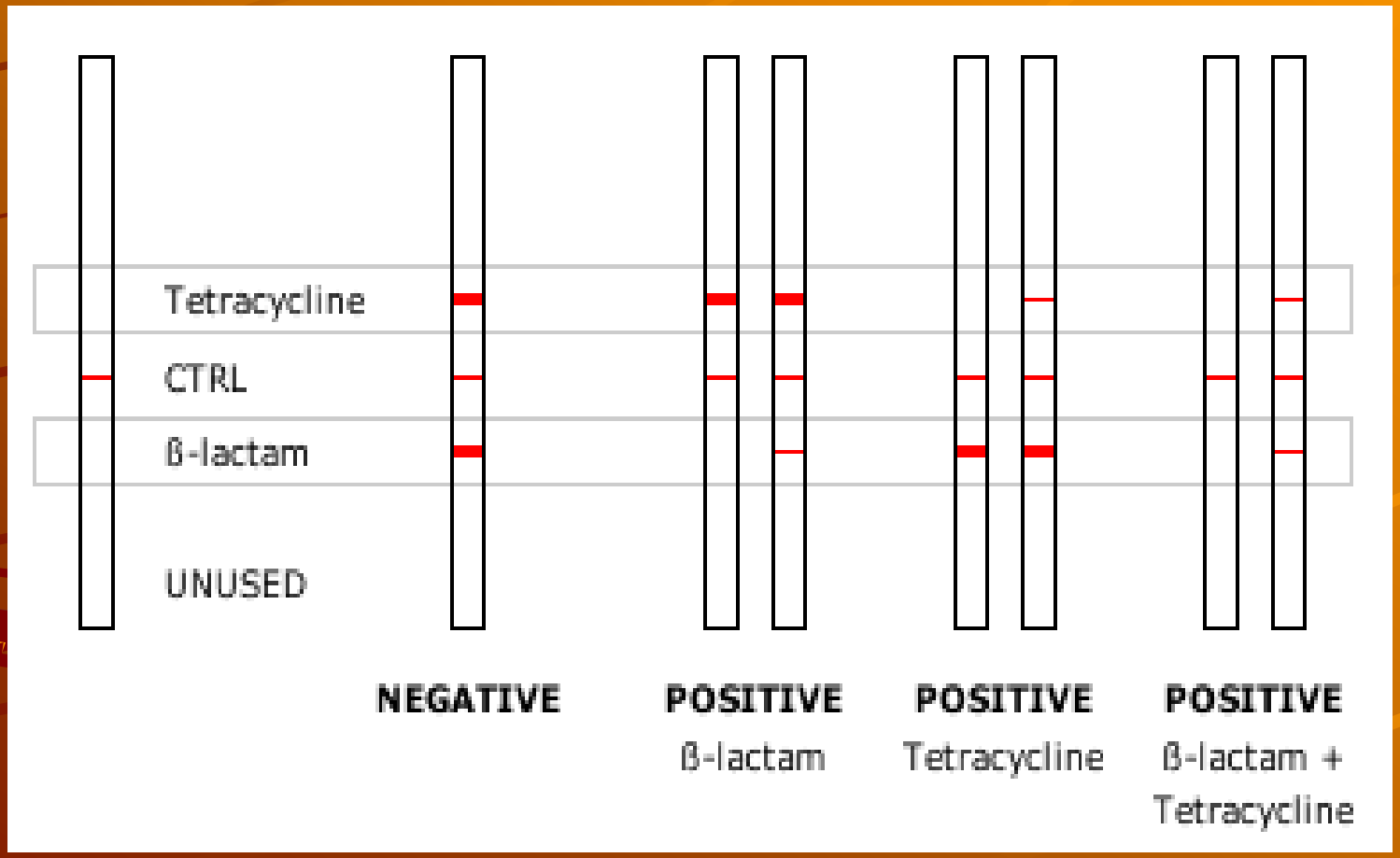
- *β*-Λακτάμες και τετρακυκλίνες στο γάλα
- Ποσότητα δείγματος: 200 μl
- Επώαση: 40ºC
- Διάρκεια: 6 min

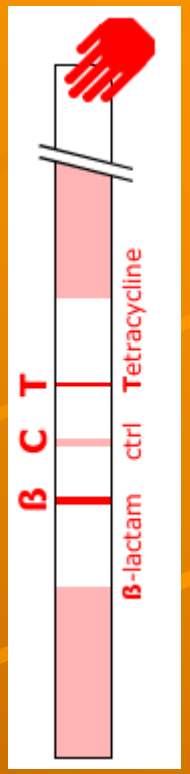
Twinsensor





Twinsensor


Tetracycline
CTRL
ß-lactam
UNUSED
NEGATIVE
POSITIVE
ß-lactam
POSITIVE
Tetracycline
POSITIVE
ß-lactam +
Tetracycline


ß C T
ß-lactam
ctrl
Tetracycline

Ευαισθησία (ppb) Twinsensor για β-λακτάμες και τετρακυκλίνες σε γάλα

Coumpounds	Twinsensor BT	MRL
Ampicillin	3 - 5	4
Amoxicillin	3 - 6	4
Benzylpenicillin	2 - 3	4
Cefazolin	20 - 25	50
Cefoperazone	2 - 3	50
Ceftiofur	10 - 15	100
Cephapirin	4 - 8	60
Cloxacillin	4 - 8	30
Nafcillin	40 - 50	30
Chlortetracycline	25 - 30	100
Doxycycline	10 - 20	100
Oxytetracycline	30 - 40	100
Tetracycline	40 - 50	100

Charm ROSA MRL

- β-Λακτάμες, τετρακυκλίνες, σουλφοναμίδες, χλωραμφαινικόλη, ενροφλοξασίνη σε γάλα.
- Ενροφλοξασίνη σε αβγό και ιστούς
- Ποσότητα δείγματος: 300 μl
- Επώαση: 56 ± 1ºC
- Διάρκεια 1-8 min

Charm ROSA MRL

Charm ROSA MRL BL

CHARM® SL (Safe Level) Beta-lactam Farm Test

①

Add milk sample to SL strip.

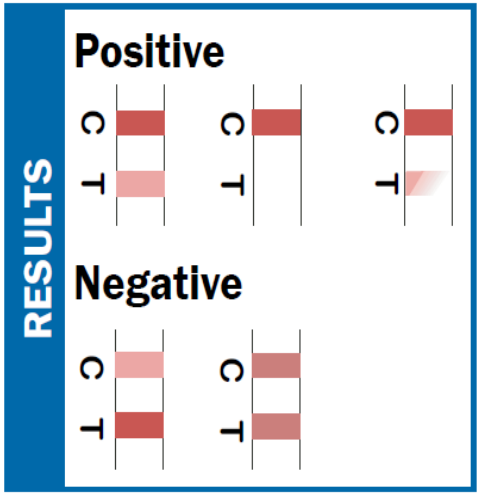
Reseal strip and close incubator lid to start timer

②

After 8 minutes, incubator beeps and 'test complete' light will flash.

Remove SL strip.

③

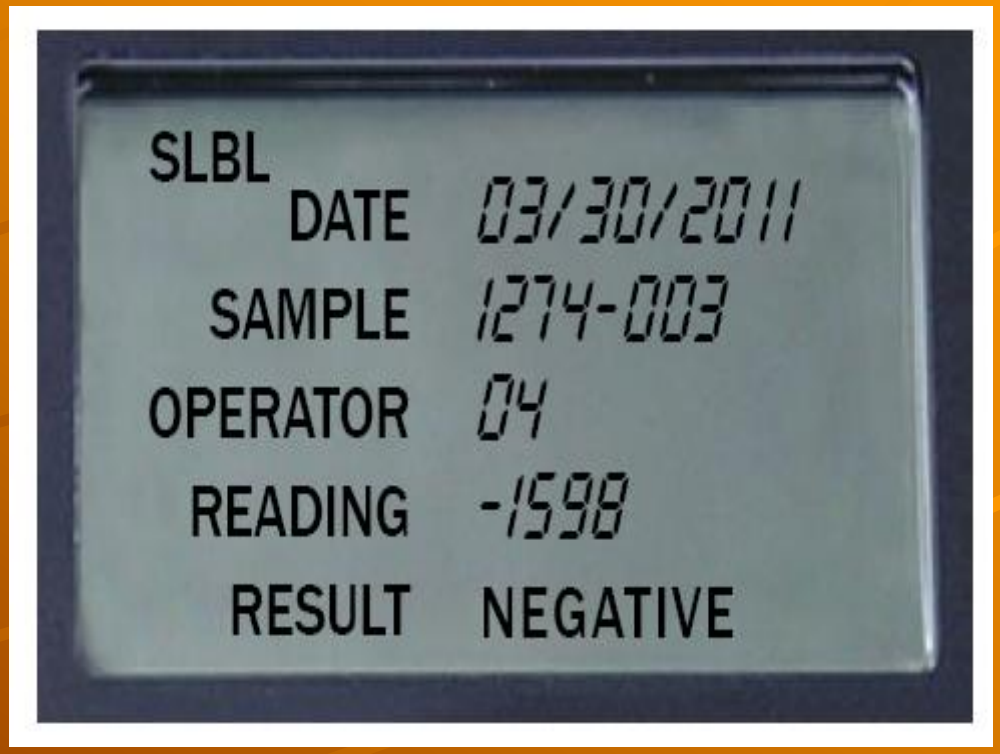


Visually compare Test line (T) to the Control line (C).

Negative: (T) line is equal/or darker than (C) line.

Positive: (T) line is lighter than (C) line.

Charm ROSA Reader



Ευαισθησία (ppb) Charm ROSA MRL για β-λακτάμες σε γάλα

Beta-lactam	EU MRL[4] (µg/kg or ppb)	ROSA MRL Detection (ppb)
Amoxicillin	4	3 – 4
Ampicillin	4	3 – 4
Benzylpenicillin	4	2 - 3
Cefacetrile	125	8 - 18
Cefalexin	100	30 - 60
Cefalonium	20	3 - 5
Cefapirin	60	6 – 10
Cefazolin	50	12 - 20
Cefoperazone	50	5 - 9
Cefquinome	20	15 - 20
Ceftiofur[5]	100	10 - 20
Cefuroxime	50	3 - 5
Cloxacillin	30	25 - 35
Dicloxacillin	30	20 - 30
Penethamate	4	2 – 3

Ευαισθησία (ppm) ανοσοχημικών δοκιμών (kit) για αντιμικροβιακές ουσίες σε γάλα

Αντιμικροβιακή ουσία	Twinsensor	Charm ROSA MRL	Charm antibody test	LacTec	MRLs/ EU
Αμπικιλλίνη	0.003	0.003	--	0.01	0.004
Πενικιλλίνη G	0.002	0.002	--	0.005	0.004
Τετρακυκλίνη	0.04	0.015	0.003	--	0.1
Νεομυκίνη	--	--	>0.1	0.5	1.5
Σουλφαμεθαζίνη	--	<0.01	0.0005	0.01	0.1
Χλωραμφαινικόλη	--	0.0001	0.001	--	0.0003*

*MRPL= Minimum Required Performance Limit

Ενζυμικές μέθοδοι

- Penzyme: βασίζεται στην αδρανοποίηση της καρβοξυπεπτιδάσης, που είναι υπεύθυνη για τη σύνθεση του κυτταρικού τοιχώματος των βακτηρίων, από τις *β*-λακτάμες. Εφαρμόζεται στην ανίχνευση *β*-λακταμικών αντιβιοτικών σε γάλα. Διάρκεια δοκιμής 20 min.

- Delvo-X-Press: Δεν είναι ενζυμική αλλά η παρουσία ενζύμου είναι απαραίτητη για την ανάπτυξη χρώματος. Εφαρμόζεται στην ανίχνευση *β*-λακταμικών αντιβιοτικών σε γάλα. Διάρκεια δοκιμής 10 min.

- Charm CideLite: βασίζεται στην αδρανοποίηση ενός ενζύμου, που απομονώθηκε από έντομο, από 7 καρβαμιδικά και 44 οργανοφωσφορικά εντομοκτόνα. Εφαρμόζεται στην ανίχνευση των εντομοκτόνων σε τρόφιμα ζωικής προέλευσης. Διάρκεια δοκιμής 15 min.

Τυποποιημένες δοκιμές (kit) για την ανίχνευση καταλοίπων στα τρόφιμα ζωικής προέλευσης

Εμπορικός οίκος	Ονομασία δοκιμής	Ουσίες που ανιχνεύονται	Κατηγορία μεθόδου	Είδος τροφίμου	Διάρκεια κατεργασίας/ δοκιμής	Όριο ανίχνευσης (ppb)
Charm Sci Inc.	Charm CideLite	Εντομοκτόνα	Ενζυμική	Τρόφιμα Ζ.Π.	0-1 h / 15 min	0.1-200
Charm Sci Inc.	Charm ROSA MRL-BL/TET	*β*-Λακτάμες & τετρακυκλίνες	Ανοσοχημική	Γάλα	0 / 8 min	2-100
Charm Sci Inc.	Charm Enroflox	Ενροφλοξασίνη	Ανοσοχημική	Κρέας	20 min/8 min	30
Gist-brocades	Delvo-X-Press	*β*-Λακτάμες	Ενζυμική	Γάλα	0 / 10 min	4-30
Unisensor	Twinsensor	*β*-Λακτάμες & τετρακυκλίνες	Ανοσοχημική	Γάλα	0 / 6 min	2-50
Immunotech	Histamarine	Ισταμίνη	Ανοσοχημική	Ιχθυηρά	1 h / 1 h	1000
R-Biopharm	Ridascreen Fast Aflatoxin M_1	Αφλατοξίνη M_1	Ανοσοχημική	Γαλακτοκομικά	10 min/15 min	0.25
R-Biopharm	Ridascreen Fast Clenbuterol	Κλενβουτερόλη	Ανοσοχημική	Τρόφιμα Ζ.Π., μάτι, ούρα	0-2 h / 1 h	0.1
R-Biopharm	Ridascreen Saxitoxin	Σαξιτοξίνη	Ανοσοχημική	Οστρακοειδή	1 h / 1.5 h	2

Φασματοφωτομετρικές μέθοδοι χημικής ανάλυσης

Χρησιμοποιούνται ευρύτατα για την επίλυση χημικών προβλημάτων, που σχετίζονται με τη δομή, την κινητική, την ταυτοποίηση και την ποσοτική ανάλυση διαφόρων ενώσεων.

Πλεονεκτήματα των φασματοφωτομετρικών μεθόδων

- Μικρή ποσότητα δείγματος
- Μεγάλη ακρίβεια
- Μεγάλη ευαισθησία σε ορισμένες εφαρμογές
- Μικρός χρόνος μέτρησης

Φασματοφωτομετρικές μέθοδοι

- **Απορρόφηση ορατού (VIS) και υπεριώδους (UV) φωτός**
  - *Απορρόφηση*

    Όταν προσπίπτει ακτινοβολία πάνω στο διάλυμα μιας ουσίας (π.χ. στο εκχύλισμα ενός τροφίμου) μέρος της ακτινοβολίας απορροφάται από τα μόρια της ουσίας. Ο ποσοτικός προσδιορισμός στηρίζεται στο γεγονός ότι η απορρόφηση της ακτινοβολίας εξαρτάται από τη συγκέντρωση της ουσίας στο διάλυμα.
  - *Απορρόφηση ορατού – υπεριώδους*

    - Προκαλείται διέγερση των ηλεκτρονίων των μορίων από τη βασική ηλεκτρονική στοιβάδα σε άλλη υψηλότερης ενέργειας.
    - Η γραφική απεικόνιση της ποσότητας της απορροφούμενης ακτινοβολίας σε συνάρτηση με το μήκος κύματος της ακτινοβολίας μας δίνει το φάσμα απορρόφησης.

Φασματοφωτομετρικές μέθοδοι

Απορρόφηση υπεριώδους (UV) και ορατού (VIS) φωτός

- *Υπεριώδες (UV) φως*

Διακρίνονται δύο περιοχές: α) Το εγγύς υπεριώδες (350 με 190 nm) και
β) Το άπω υπεριώδες (190 με 100 nm).

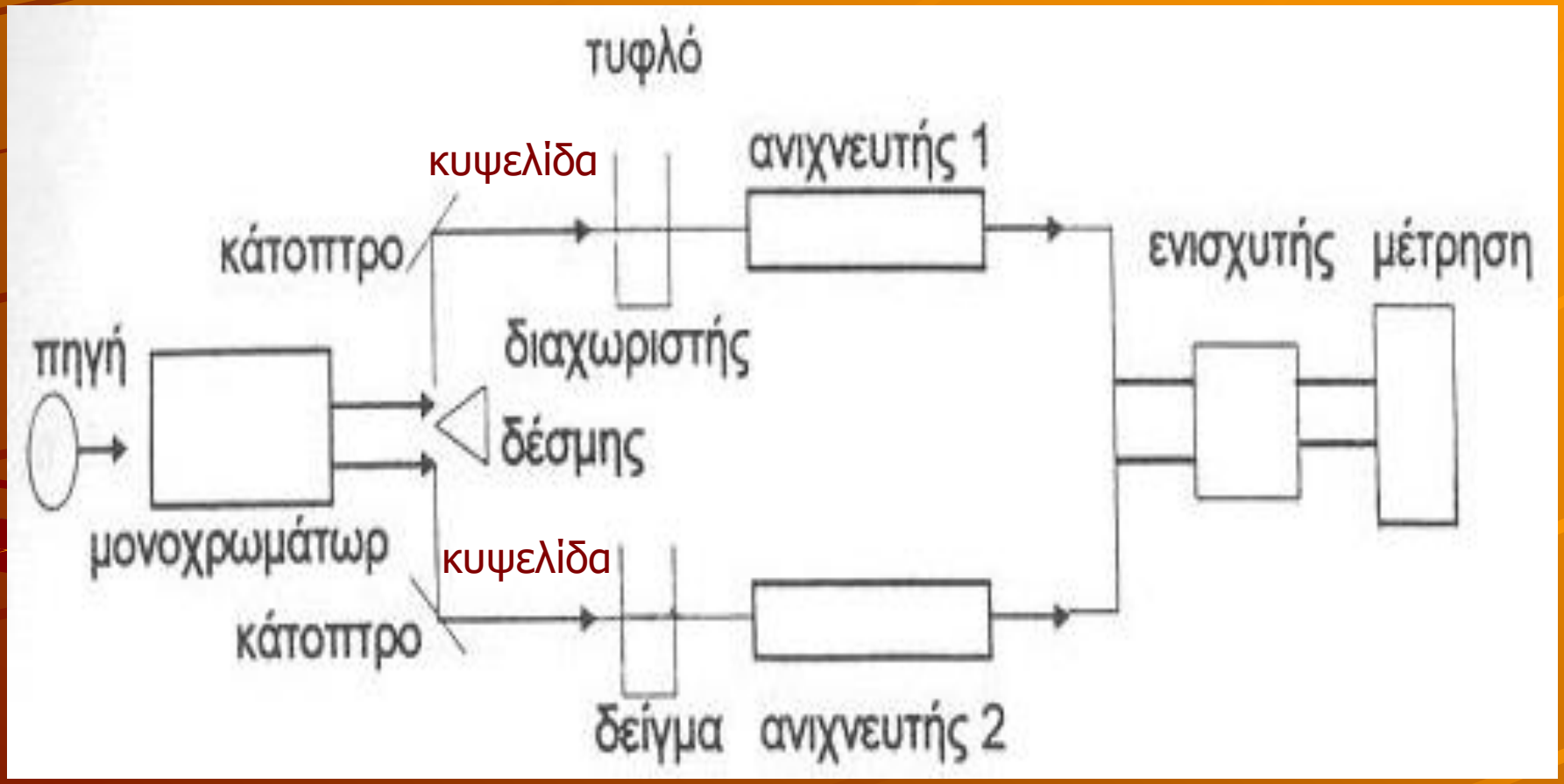
Η συνήθης οργανολογία περιορίζεται στο εγγύς υπεριώδες διότι:
α) η απορρόφηση από το διοξείδιο του πυριτίου (κυψελίδες χαλαζία), και
β) από το ατμοσφαιρικό οξυγόνο,
κάτω από τα 190 nm, δεν επιτρέπει μετρήσεις στο άπω υπεριώδες.

- *Ορατό (VIS) φως*

350-800 nm

Φασματοφωτόμετρο ορατού – υπεριώδους (UV-Vis)

Σχηματική απεικόνιση φασματοφωτομέτρου ορατού – υπεριώδους UV-VIS



Αρχή λειτουργίας φασματοφωτομέτρου ορατού – υπεριώδους UV-VIS

- **Φωτεινή πηγή**: Λάμπα βολφραμίου ή βολφραμίου/αλογόνου (ορατό φως, VIS, 350-800 nm).
  Λάμπα δευτερίου (υπεριώδες φως, UV, 190-350 nm).
- **Μονοχρωμάτορας**: Πρίσμα, ή παραθλαστικό φράγμα. Αναλύει το φως στις διάφορες μονοχρωματικές περιοχές του και επιλέγει τα επιθυμητό μήκος κύματος, με μεγάλη ακρίβεια.
- **Διαχωριστής δέσμης**: Χωρίζει την εξερχόμενη δέσμη σε δύο ίσα μέρη.
- **Κυψελίδες**: Περιέχουν το τυφλό και το δείγμα μέτρησης. Κατασκευάζονται από χαλαζία για την περιοχή UV, ή από χαλαζία, γυαλί και πλαστικό για την περιοχή VIS.
- **Ανιχνευτές 1 και 2**: Συνδυαζόμενοι βρίσκουν το σήμα που οφείλεται στην ουσία που θέλουμε να προσδιορίσουμε.
- **Ενισχυτής**: Ενισχύει το εξερχόμενο σήμα.
- Η **μέτρηση** και η **καταγραφή** του σήματος γίνεται από ευπαθές φωτοκύτταρο και εκφράζεται ως απορρόφηση, ή διαπερατότητα.

Προσδιορισμός ναταμυκίνης σε τυρί

Ζύγιση 5 g τυριού

↓

Εκχύλιση με 15 ml μίγματος ACN/H_3PO_4 1M : 4/1
(Ομογενοποίηση για 1 min)

↓

Διήθηση

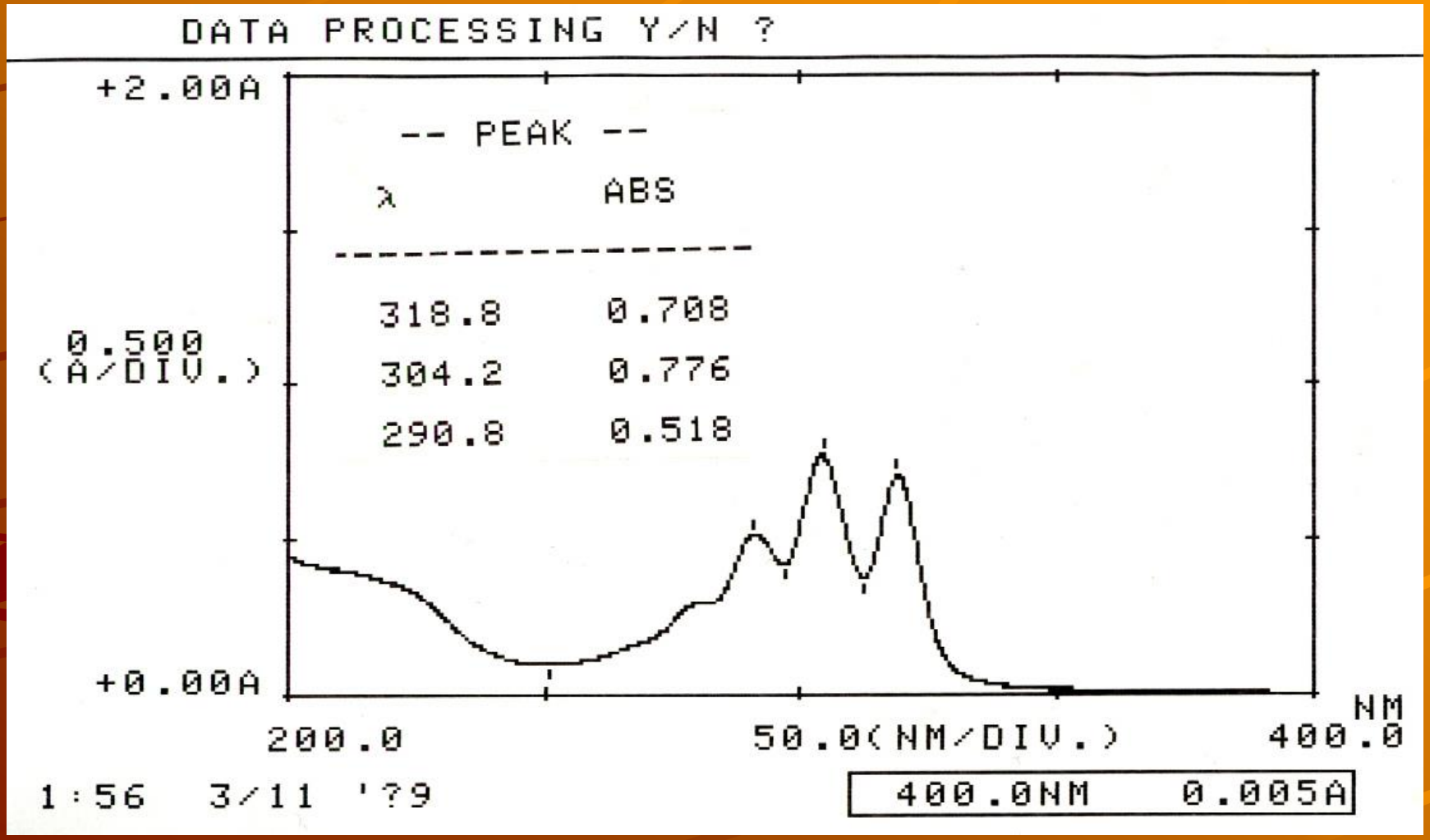
↓

Μέτρηση διηθήματος
[Καταγραφή του φάσματος απορρόφησης στην περιοχή 290-380 nm, παραγώγιση του φάσματος ($3^η$ παράγωγος, N=9) και μέτρηση του βάθους της κοιλάδας στα 322,6 nm]

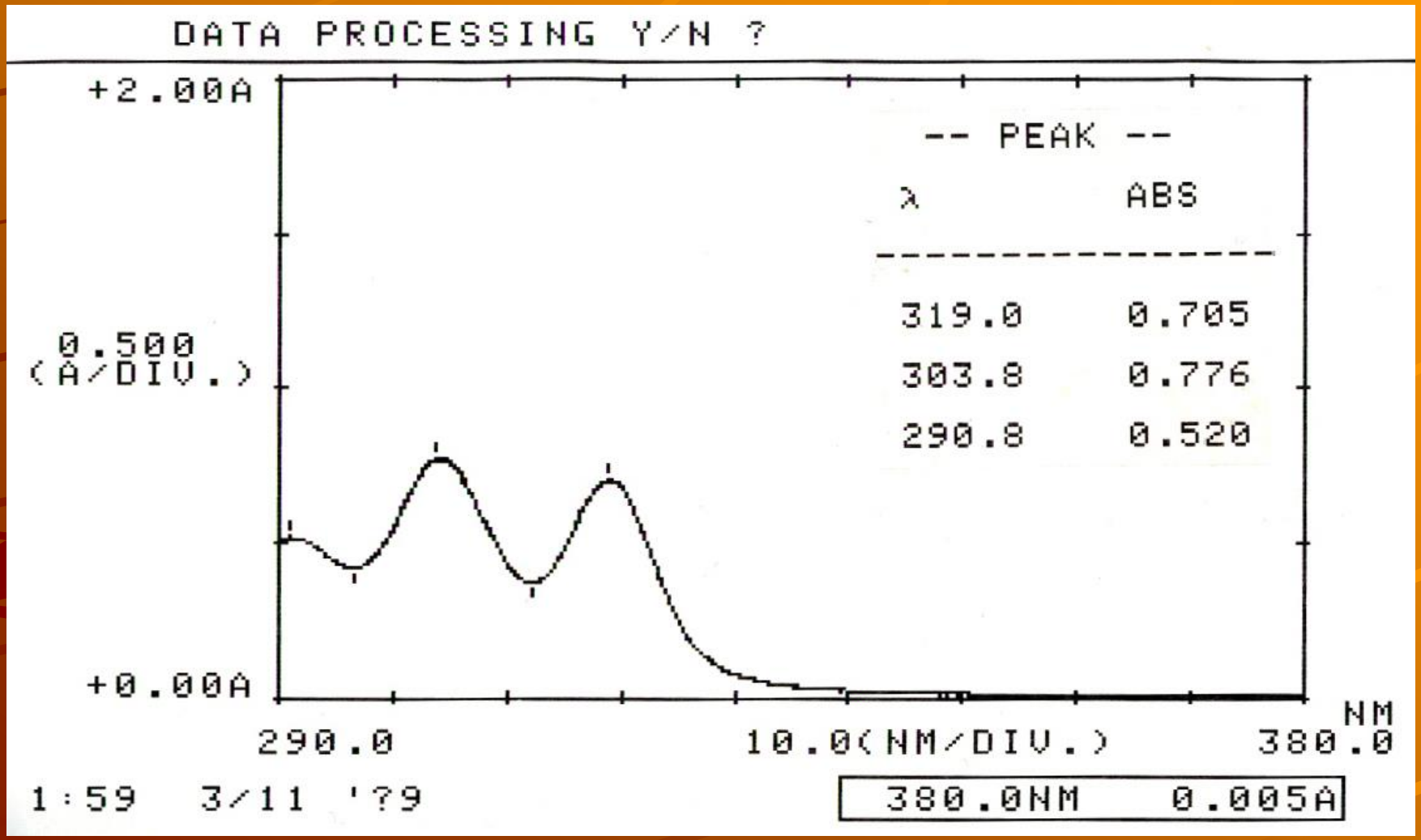
↓

Προσδιορισμός της συγκέντρωσης της Ναταμυκίνης με χρήση καμπύλης αναφοράς

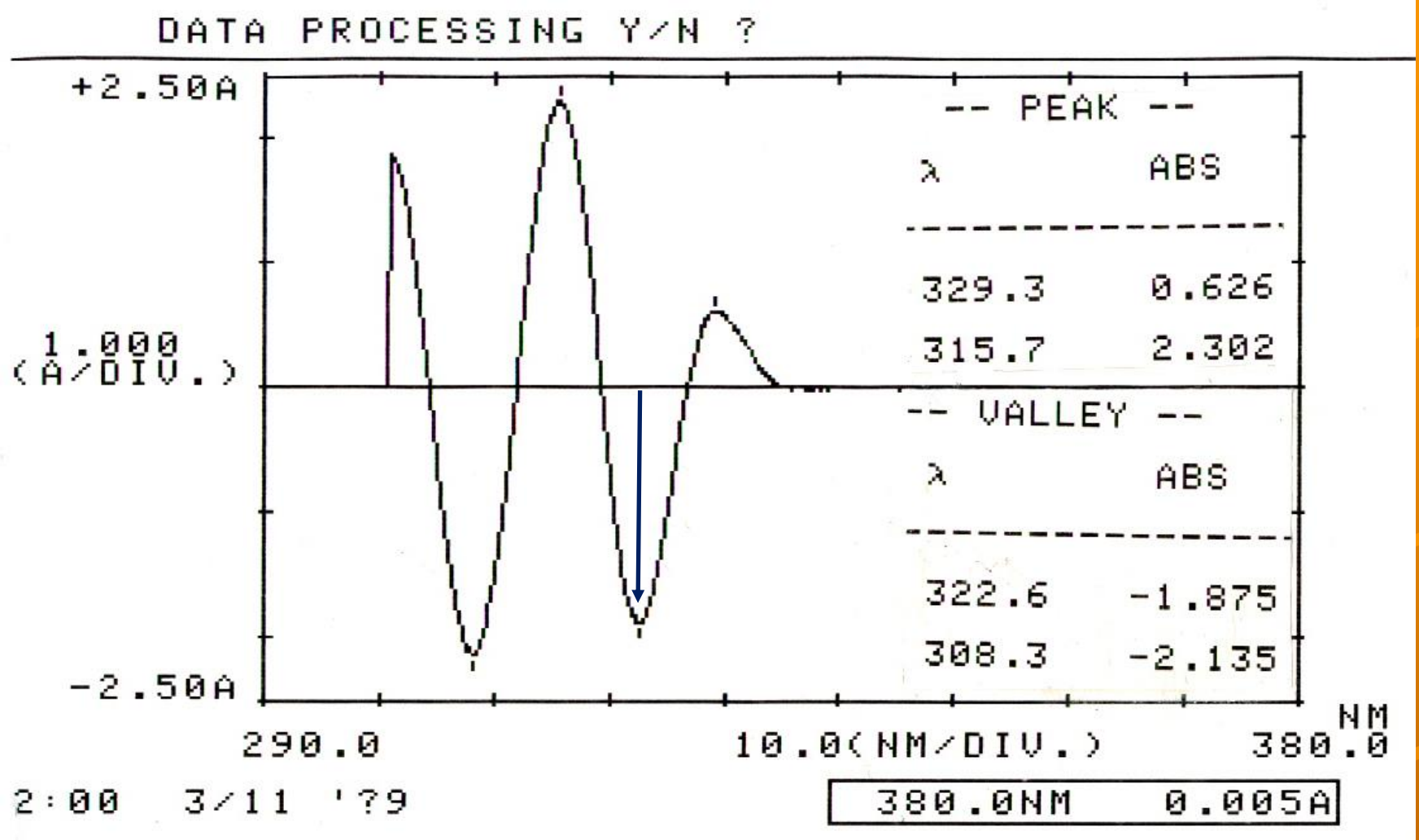
Φάσμα απορρόφησης διαλύματος ναταμυκίνης στην περιοχή 200-400 nm



Φάσμα απορρόφησης διαλύματος ναταμυκίνης στην περιοχή 290-380 nm

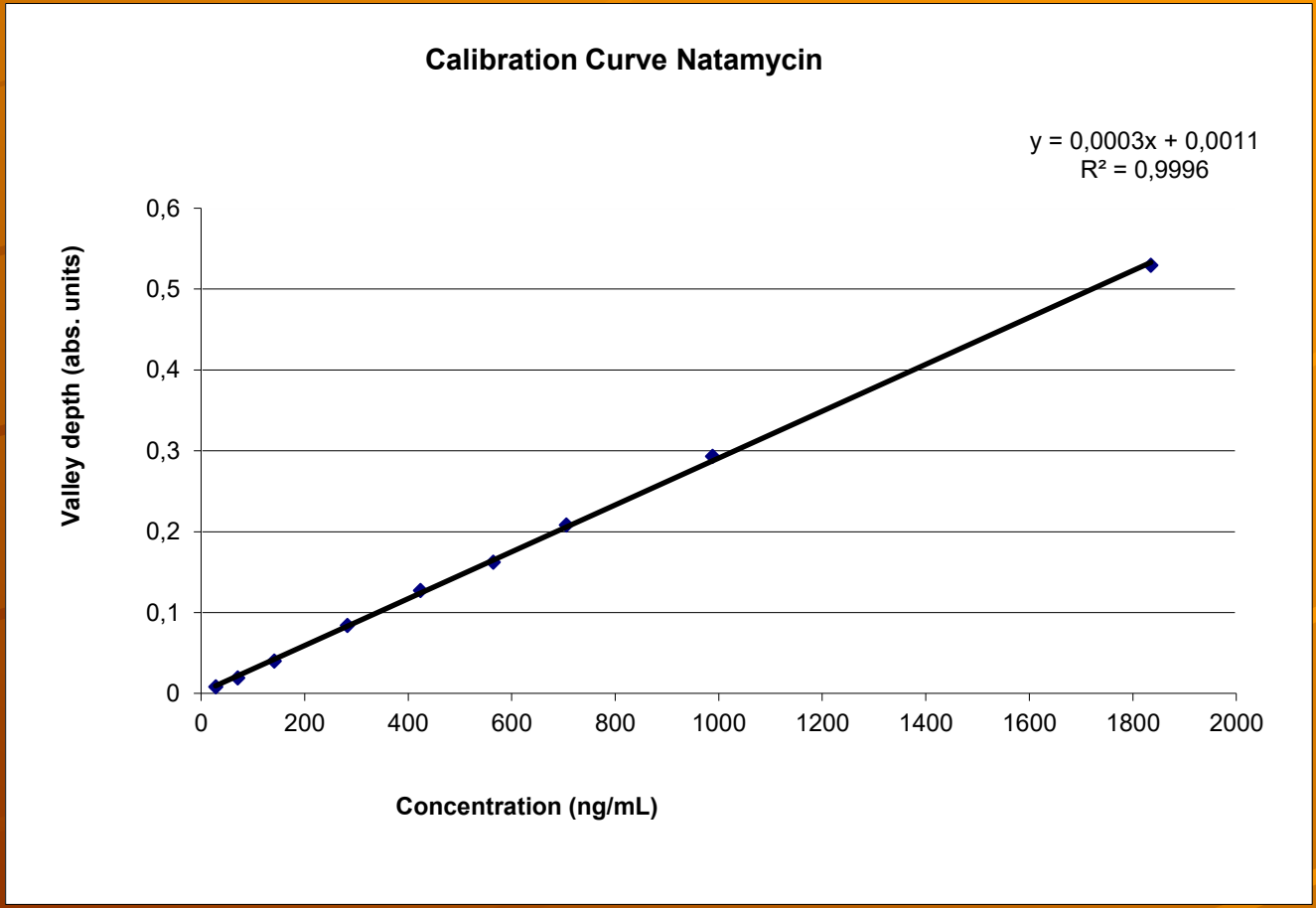


3η παράγωγος του φάσματος απορρόφησης διαλύματος ναταμυκίνης στην περιοχή 290-380 nm

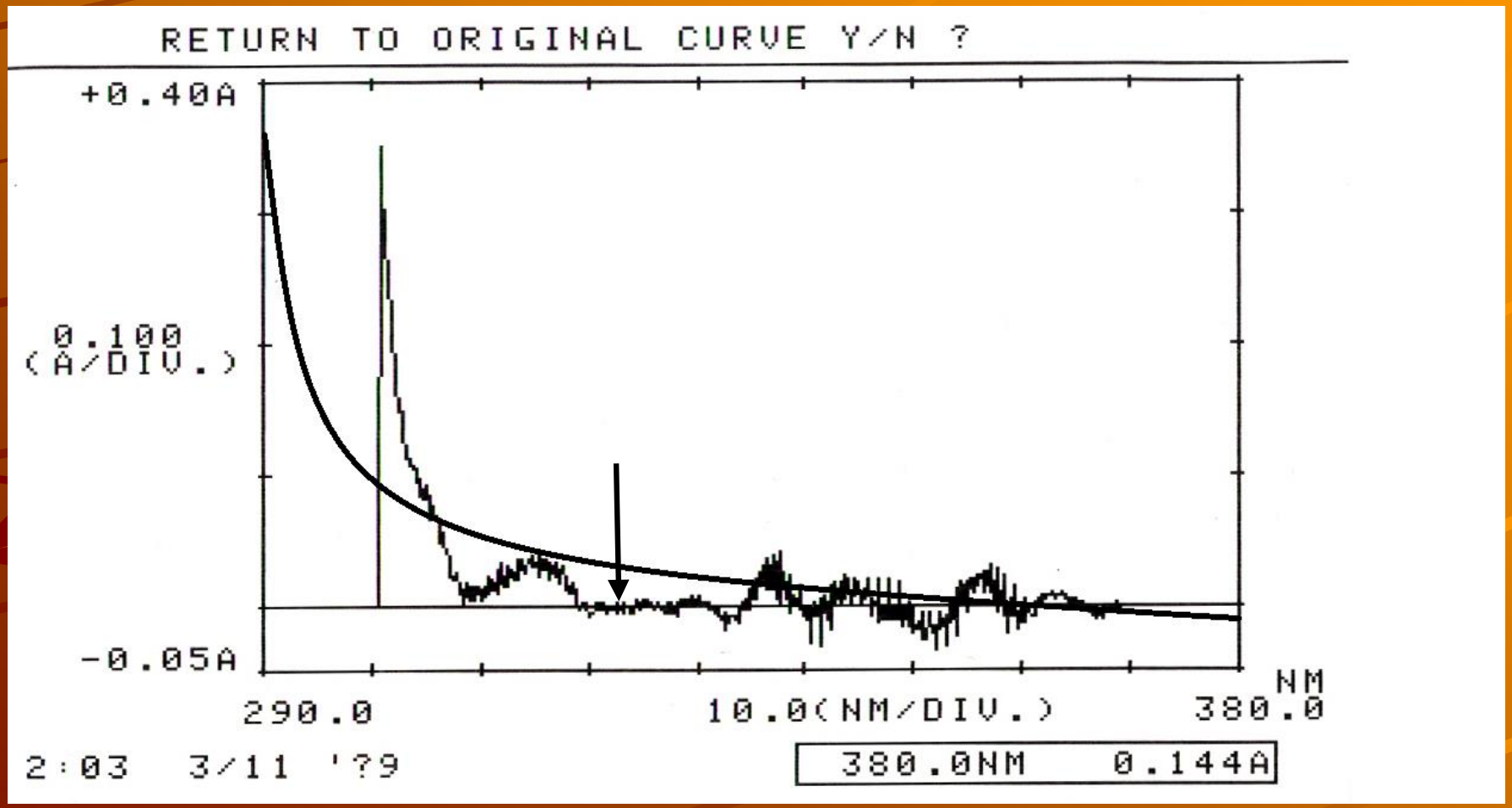


Καμπύλη αναφοράς Ναταμυκίνης

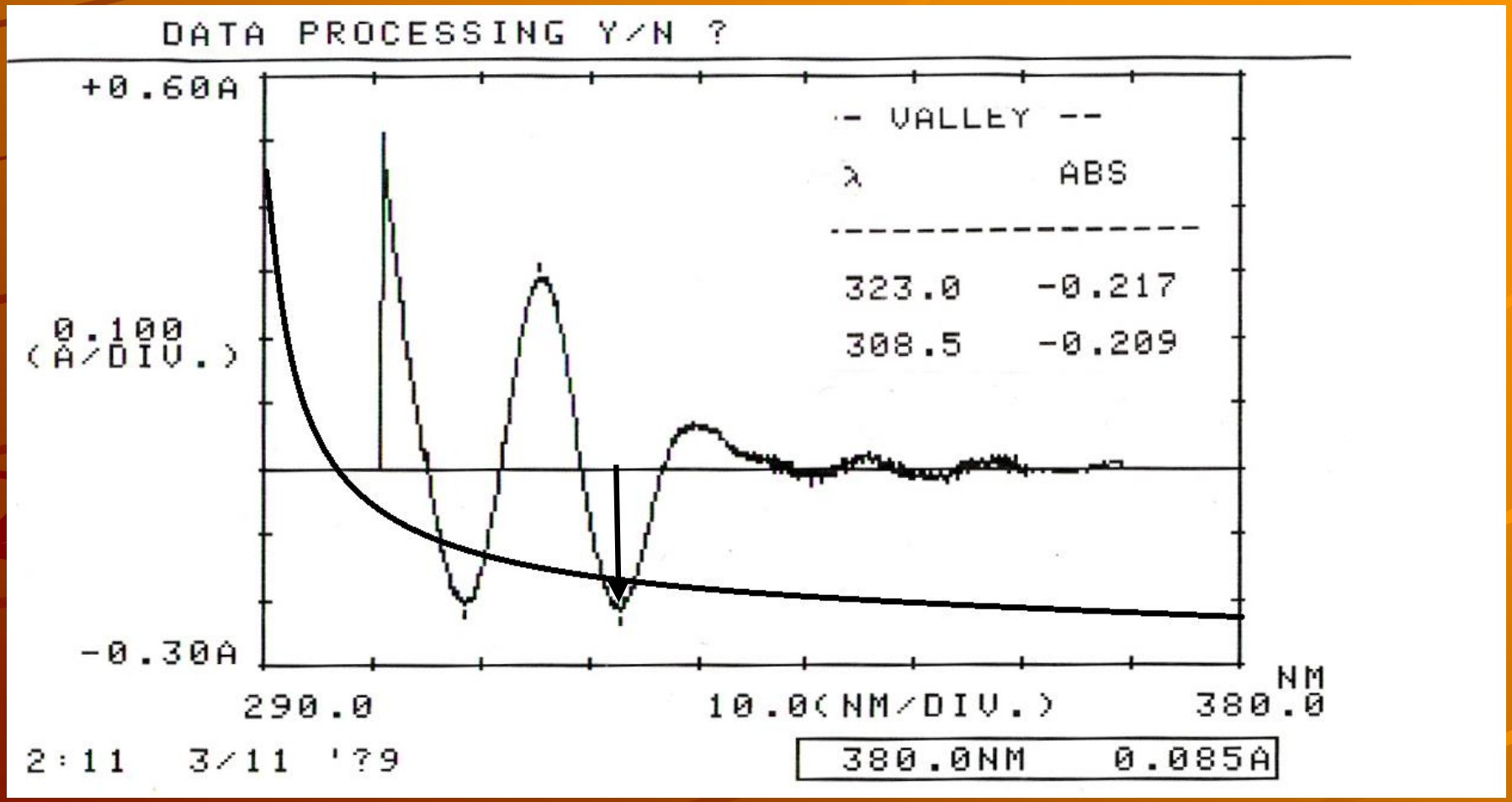
X (ng/mL)	Y (valley depth)
28,2	0,008
70,6	0,019
141,1	0,040
282,2	0,084
423,4	0,127
564,5	0,162
705,6	0,208
987,9	0,293
1834,6	0,529



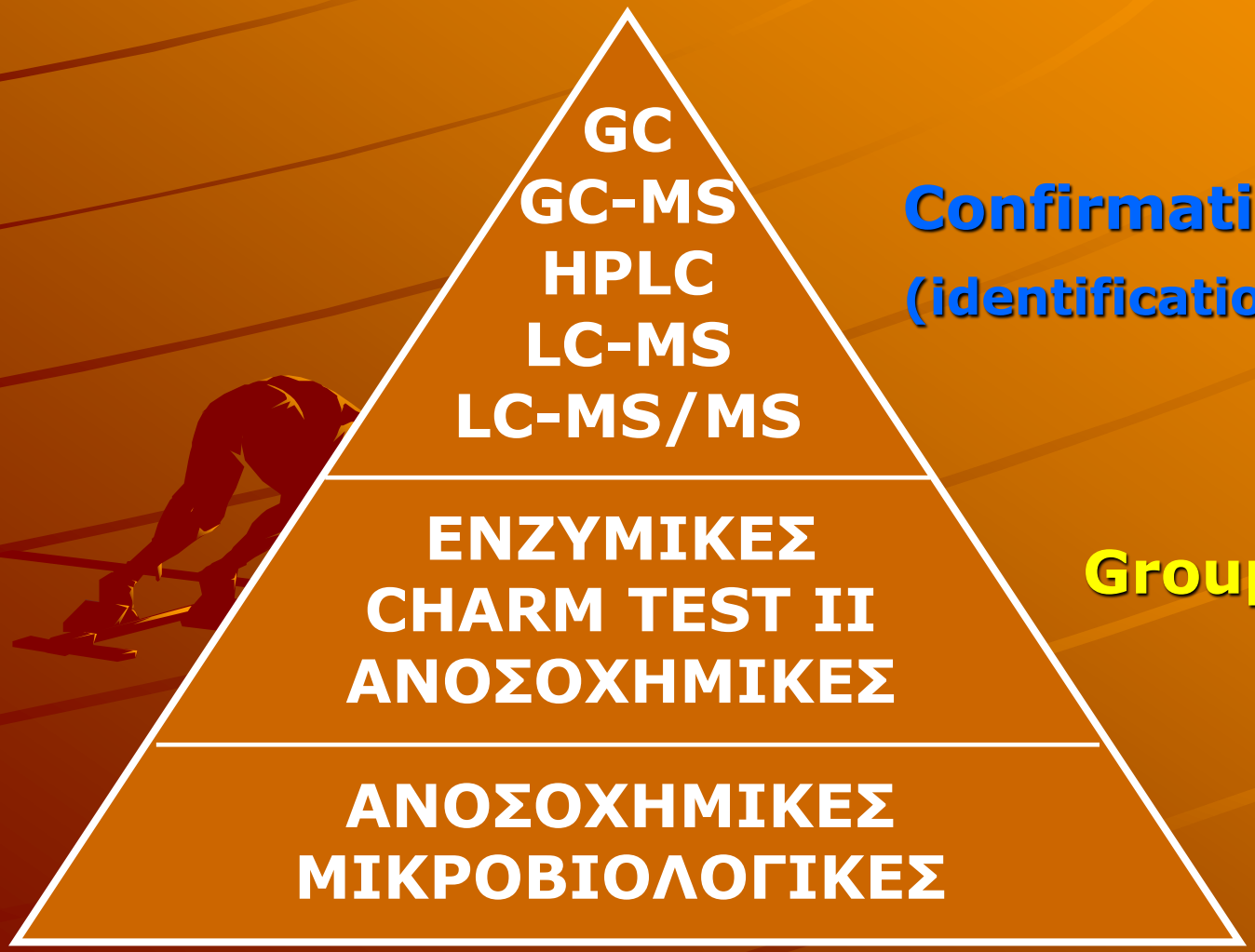
Φάσμα απορρόφησης και 3η παράγωγος του φάσματος εκχυλίσματος τυριού, αρνητικού στη ναταμυκίνη



Φάσμα απορρόφησης και 3η παράγωγος του φάσματος εκχυλίσματος τυριού, θετικού στη ναταμυκίνη (2,0 ppm)



Γενική προσέγγιση για τον προσδιορισμό καταλοίπων κτηνιατρικών φαρμάκων και χημικών ρυπαντών στα τρόφιμα



Confirmation

(identification & quantification)

Group specification

Screening

Προτεινόμενη βιβλιογραφία

- International Dairy Federation, *Bull. Int. Dairy Fed*., *220* (1987).
- International Dairy Federation, *Bull. Int. Dairy Fed*., *258* (1991).
- F. Toldra and M. Reig, Trends Food Sci. Technol., *17*:482 (2006).
- Drug Residues in Foods (N. Botsoglou & D. Fletouris, Eds), Marcel Dekker, NY, USA, 2001.
- D. Fletouris, N. Botsoglou and A. Mantis, J. A.O.A.C Int., *78*:1024 (1995).
- M. Reig and F. Toldra, Meat Science, *78*:60 (2008).
- T. Perme, M. Bizjak, K.Š. Gačnik and A. Kirbiš, *Slov. Vet. Res.,47*:97 (2010).
- Εργαστηριακή εξέταση του γάλακτος και των γαλακτοκομικών προϊόντων (Α.Ι. Μάντης, Δ.Κ. Παπαγεωργίου & Δ.Ι. Φλετούρης, Eds), Β΄ Έκδοση, Αφοί Κυριακίδη Α.Ε., Θεσσαλονίκη, 2015.