

Μετανάστευση αρχικών μονομερών σε προσομοιωτές τροφίμων από αντικείμενα μελαμίνης καθημερινής χρήσης - Επικύρωση, σύγκριση, συσχέτιση προσδιορισμών και ομοιογένεια μελαμινικών υλικών.

Τ. Τογκαλίδου και Α. Λιούπης και Ε. Πουλιά

**Γενικό Χημείο του Κράτους, Δ' Χ.Υ. Αθηνών, Εργαστήριο Υλικών σε Επαφή με Τρόφιμα
e-mail: fcm@gcsf.gr**

Περίληψη

Εξετάζεται η μετανάστευση φορμαλδεΐδης και εξαμεθυλενοτετραμίνης (προσδιοριζόμενης ως υδρολυμένης σε φορμαλδεΐδη), και μονομερούς μελαμίνης από αντικείμενα καθημερινής χρήσης σε επαφή με τρόφιμα που κατασκευάζονται από μελαμινικά υλικά (θερμοσκληρυνόμενα πολυμερή ουρίας – φορμαλδεΐδης – μελαμίνης). Οι ειδικές μεταναστεύσεις των ουσιών αυτών σε προσομοιωτές τροφίμων υπόκεινται σε περιορισμούς, βάση της Κοινοτικής Νομοθεσίας για την ασφάλεια των αντικειμένων σε επαφή με τρόφιμα. Τα αντικείμενα υποβάλλονται σε επανειλημμένες δοκιμές προκειμένου να προσομοιαστεί η συνήθης χρήση.

Ο προσδιορισμός της φορμαλδεΐδης γίνεται με παραγωγοποίησης της με παραγωγή έγχρωμου συμπλόκου και εν συνεχεία φασματοφωτομετρικό προσδιορισμό. Χρησιμοποιήθηκαν και επικυρώθηκαν δύο μέθοδοι μέτρησης, οι οποίες διαφοροποιούνται ως προς τον τύπο του συμπλόκου που παράγεται. Μελετήθηκε η ισοδυναμία των δύο μεθόδων, κατόπιν σύγκρισης των στοιχείων επικύρωσής τους. Μελετήθηκε η επίδραση των συνθηκών μετανάστευσης και του είδους του προσομοιωτή στο βαθμό υδρόλυσης της εξαμεθυλενοτετραμίνης σε φορμαλδεΐδη. Προκύπτει ότι δεν απαιτείται η επιπλέον κατεργασία που προτείνει το πρότυπο, διότι κατά τη μετανάστευση στον προσομοιωτή των όξινων τροφίμων, σε υψηλή θερμοκρασία, η εξαμεθυλενοτετραμίνη υδρολύεται σε φορμαλδεΐδη. Ο προσδιορισμός της μελαμίνης γίνεται με χρήση υγρής χρωματογραφίας υψηλής πίεσης και ανιχνευτή συστοιχίας διόδων.

Εξετάζεται επίσης η ομοιογένεια του υλικού ως προς τις ειδικές μεταναστεύσεις φορμαλδεΐδης και μελαμίνης με σύγκριση περισσότερων του ενός δοκιμίων για το ίδιο υλικό. Θέματα αποτίμησης της ομοιογένειας είναι καθοριστικά για την αξιολόγηση της καταλληλότητας των αντικειμένων. Παρατηρείται μεγαλύτερη διακύμανση τιμών από την υπολογιζόμενη συνδυασμένη αβεβαιότητα των αναλυτικών προσδιορισμών και της διακύμανσης του φαινομένου της μετανάστευσης.

Επιπλέον, συσχετίζεται το φάσμα FT-IR του υλικού με τα στοιχεία των ειδικών μεταναστεύσεων και προκύπτει συσχέτιση της απορρόφησης σε συγκεκριμένες περιοχές του φάσματος και της ειδικής μετανάστευσης της μελαμίνης. Η μέθοδος συσχετισμού που εφαρμόζεται είναι η ανάλυση κύριων παραγόντων (Principal Component Analysis) με γραμμική συσχέτιση (PCR) καθώς και με συσχέτιση μερικών ελαχίστων τετραγώνων (PLS). Παρατηρείται ότι υφίσταται καλή συσχέτιση μεταξύ φάσματος και της ειδικής μετανάστευσης της μελαμίνης και επομένως προκύπτει δυνατότητα χρήσης του φάσματος FT-IR, για πρόρρηση των μεταναστεύσεων και εξοικονόμηση χρόνου και αναλωσίμων.

Τογκαλίδου Τ., Λιούπης Α., Πουλιά Ε., Γενικό Χημείο του Κράτους
Μετανάστευση αρχικών μονομερών σε προσομοιωτές τροφίμων από αντικείμενα μελαμίνης καθημερινής χρήσης - Επικύρωση, σύγκριση, συσχέτιση προσδιορισμών και ομοιογένεια μελαμινικών υλικών.

Abstract

The migration of formaldehyde, hexamethylenetetramine (hydrolyzed to formaldehyde), and 2,4,6-triamino-1,3,5-triazine (melamine) from kitchenware made from thermosetting melamine polymer (urea-formaldehyde-melamine resin) is investigated. The specific migration of the monomers are subject to constraints under the European Regulations for the food safety. The articles are subjected to repeated migration experiments to approximate real use.

The quantification of formaldehyde is performed according to the standardized CEN method with spectrophotometric technique after derivatisation in order to form a colored complex. Two methods of forming a colored complex were used and validated. The two methods were compared based on the validation criteria.

Hexamethylenetetramine is hydrolysed to formaldehyde under the migration conditions applied (acidic environment in high temperature). The conditions of migration and the effect to the hydrolysis of hexamethylenetetramine is investigated. The additional derivitization step that the standard proposes is not required since hydrolysis occurs under the specified migration conditions. Melamine is measured using an HPLC technique with a diode array detector.

The homogeneity of the material is also investigated, by comparing the variation of the specific migration of multiple sub-samples of the same article. Issues of inhomogeneity are substantial for judging the conformity of the articles. In general, higher migration is observed than the variation estimated by the combined measurement uncertainty both of the instrumental determination and the migration experiment

In addition, the FT-IR spectrum of the material is correlated to specific migration by using principal component regression and partial least squares technique. The spectrum is processed before applying the chemometrics technique. A good quality correlation model is found between FT-IR spectrum and melamine specific migration, resulting in a predictive model using FT-IR, for specific migration in order to reduce time and cost of instrumental analysis.

Keywords: food contact materials, formaldehyde, FT-IR, chemometrics

1. Εισαγωγή

Η μελαμίνη, η φορμαλδεΐδη, και η εξαμέθυλοτετραμίνη χρησιμοποιούνται ως αρχικά μονομερή για την παρασκευή μελαμινικών θερμοσκληρυνόμενων πολυμερών, τα οποία προορίζονται για επαφή με τρόφιμα. Μετά τον πολυμερισμό είναι πιθανό να παραμένει μη πολυμερισμένο υπόλειμμα των αρχικών μονομερών στο τελικό προϊόν, το οποίο μπορεί να μεταναστεύσει στα τρόφιμα, που έρχονται σε επαφή με αυτό.

Επιπλέον, τα πολυμερή μελαμίνης είναι επιρρεπή σε υδρόλυση και μπορεί να προσβάλλονται από τον προσομοιωτή όξινων τροφίμων (3% οξικό οξύ), με αποτέλεσμα να παρατηρούνται στον προσομοιωτή συγκεντρώσεις μονομερών που δεν οφείλονται μόνο στην μετανάστευση αλλά και στην καταστροφή του υλικού και έτσι να

ελευθερώνονται μεγαλύτερες ποσότητες των αρχικών μονομερών. Ο βαθμός υδρόλυσής τους είναι αντιστρόφως ανάλογος της ποιότητάς τους.

Στην εργασία των Bradley et. al (2005) έγινε μελέτη 50 αντικειμένων ως προς την μετανάστευση φορμαλδεΐδης και εξαμέθυλοτετραμίνης (εκφρασμένης ως φορμαλδεΐδης) καθώς και μονομερούς μελαμίνης. Στην συγκεκριμένη μελέτη διαπιστώθηκε ότι 5 από τα 50 αντικείμενα ήταν μη συμμορφούμενα ως προς την μετανάστευση της φορμαλδεΐδης με όριο ειδικής μετανάστευσης το 15mg/Kg, ενώ όλα τα αντικείμενα παρουσίαζαν πολύ χαμηλότερες μεταναστεύσεις μονομερούς μελαμίνης από το τότε υπάρχον όριο ειδικής μετανάστευσης των 30mg/Kg. Άλλες μελέτες που αφορούν μεταναστεύσεις των μονομερών καθώς και συγκρίσεις του προσομοιωτή τροφίμων με τρόφιμα ως προς την μετανάστευση που παράτηρηται είναι οι εργασίες των Lund and Petersen (2006), Bradley et. al. (2010), και Potter et. al. (2010).

2. Μεθοδολογία

Αρχικά τα αντικείμενα υποβάλλονται σε δοκιμές μετανάστευσης. Έπειτα πραγματοποιείται φασματοφωτομετρικός προσδιορισμός προκειμένου να αποτιμηθεί η μετανάστευση φορμαλδεΐδης και εξαμεθυλοτετραμίνης, και χρωματογραφικός ανάλυση για τον προσδιορισμό της μετανάστευσης της μελαμίνης. Τα αντικείμενα αρχικά υποβάλλονται σε φασματοσκοπία FT-IR προκειμένου να ταυτοποιηθεί το πολυμερές, αλλά επιπλέον γίνεται συσχέτιση του φάσματος FT-IR με αποτελέσματα των δοκιμών μετανάστευσης με χρήση χημειομετρίας.

2.1 Δοκιμές μετανάστευσης

Απαιτούνται τουλάχιστον τρία υπο-δείγματα δοκιμής με τη μορφή περιεκτών (πίατα, μπολάκια). Η έκθεση των δειγμάτων στον όξινο προσομοιωτή πραγματοποιείται όπως περιγράφεται στη μεθόδους ολικής μετανάστευσης ΕΛΟΤ EN 1186-9/2002 (πλήρωση αντικειμένων) καθώς και στις σχετικές τεχνικές οδηγίες του Κοινοτικού Εργαστηρίου Αναφοράς για τα υλικά σε επαφή με τρόφιμα (Simoneau et al., 2011).

Δεδομένου ότι τα αντικείμενα από μελαμίνη είναι αντικείμενα επανειλημμένης χρήσης, διεξάγονται τρεις αλληπάλληλες δοκιμές μετανάστευσης στο ίδιο δείγμα, χρησιμοποιώντας κάθε φορά νέο προσομοιωτή τροφίμων.

2.2 Προσδιορισμός ειδικής μετανάστευσης φορμαλδεΐδης και εξαμέθυλοτετραμίνης

Ο ποσοτικός προσδιορισμός της περιεκτικότητας της φορμαλδεΐδης καθώς και της υδρολυμένης εξαμεθυλοτετραμίνης, σε προσομοιωτή τροφίμων οξικό οξύ 3% (w/v) εκτελείται με φασματοφωτομετρική μέθοδο που βασίζεται στην πρότυπη μέθοδο CEN/TS 13130-23:2005 όπου μετράται η απορρόφηση έγχρωμου συμπλόκου της φορμαλδεΐδης. Υπάρχουν δύο μέθοδοι που διαφοροποιούνται στον τύπο του συμπλόκου που παράγεται. Κατά την μέθοδο της ακετυλ-ακετόνης το έγχρωμο σύμπλοκο της φορμαλδεΐδης που μετράται, παράγεται με πενταν-2,4-διόνη (ακέτυλ-ακετόνη), παρουσία οξικού αμμωνίου (Nash 1953, Li et al. 2007). Κατά την μέθοδο με χρωμοτροπικό οξύ, το έγχρωμο σύμπλοκο της φορμαλδεΐδης που μετράται, παράγεται με χρωμοτροπικό οξύ, παρουσία θειικού οξέος (Eegriwe 1937, Fagagni 2003).

Τογκαλίδου Τ., Λιούπης Α., Πουλιμά Ε., Γενικό Χημείο του Κράτους
Μετανάστευση αρχικών μονομερών σε προσομοιωτές τροφίμων από αντικείμενα μελαμίνης καθημερινής χρήσης - Επικύρωση, σύγκριση, συσχέτιση προσδιορισμών και ομοιογένεια μελαμινικών υλικών.

Ειδικότερα για την εξαμεθυλενοτετραμίνη η πρότυπη μέθοδος απαιτεί επιπλέον στάδιο κατεργασίας προκειμένου να υδρολυθεί και να προσδιορισθεί ως φορμαλδεΰδη. Το επιπλέον αυτό στάδιο δεν εφαρμόζεται σε αναλύσεις ρουτίνες. Από μελέτη που έγινε στα πλαίσια της παρούσας εργασίας προέκυψε μετατροπή (υδρόλυση) της εξαμεθυλενοτετραμίνης κατά 85-95% προς φορμαλδεΰδη στις συνθήκες των δοκιμών μετανάστευσης (προσομοιωτής όξινων τροφίμων και παραμονή 2 ώρες σε θερμοκρασία 70°C) και ως εκ τούτου δεν απαιτείται επιπλέον στάδιο κατεργασίας.

2.2.1 Επικύρωση μεθόδου και σύγκριση δύο τρόπων παραγωγοποίησης.

Για την επικύρωση της μεθόδου έγιναν η αξιολόγηση της καταλληλότητας της καμπύλης βαθμονόμησης, η εκτίμηση της ορθότητας και της πιστότητας υπό συνθήκες επαναληψιμότητας, και υπό συνθήκες ενδοεργαστηριακής αναπαραγωγιμότητας, ο προσδιορισμός του ορίου ανίχνευσης και ποσοτικού προσδιορισμού, η μελέτη της απόκρισης του ανιχνευτή του συστήματος φασματοφωτομετρίας UV/VIS, η εκτίμηση της αναπαραγωγιμότητας για το στάδιο της μετανάστευσης, η εκτίμηση της αβεβαιότητας των αναλυτικών αποτελεσμάτων με βάση τυποποιημένη διαδικασία λειτουργίας, και η στιβαρότητα της μεθόδου ως προς τη διακύμανση κρίσιμων παραγόντων. Τα στοιχεία επικύρωσης έγιναν και για τις δύο μεθόδους παραγωγοποίησης. Συγκριτικά προκύπτει καλύτερη επίδοση για τη μέθοδο του συμπλόκου της ακετυλ-ακετόνης.

Πίνακας 1 Πιστότητα και ορθότητα προσδιορισμού φορμαλδεΰδης για τα δύο σύμπλοκα, υπό συνθήκες ενδοεργαστηριακής αναπαραγωγιμότητας

Επίπεδο συγκέντρωσης (mg/L)	Σύμπλοκο ακετυλ-ακετόνης			Σύμπλοκο χρωμοτροπικού			Εξίσωση Horwitz % RSD
	Αριθμός μετρήσεων	% Ανάκτηση	RSD %	Αριθμός μετρήσεων	% Ανάκτηση	RSD %	
0,80	14	109,4	16,6	34	99,5	28,41	16,5
2,68	14	100,3	6,2	26	101,8	10,53	13,8
5,36	14	102,8	2,6	29	108,0	5,43	12,4
10,70	9	105,3	1,5	31	102,3	5,87	11,2
16,07	14	103,0	2,0	39	97,9	5,39	10,5

2.3 Προσδιορισμός ειδικής μετανάστευσης μελαμίνης

Η μέθοδος βασίζεται στο πρότυπο CEN/TS 13130-27:2005. Η περιεκτικότητα του μονομερούς μελαμίνης (2,4,6-τριάμινο-1,3,5-τριαζίνη) σε προσομοιωτή τροφίμων οξικό οξύ 3% (w/v), μετράται με Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Απόδοσης, με ανιχνευτή συστοιχίας διόδων (DAD). Ο προσδιορισμός της πραγματοποιείται με απευθείας χρωματογραφική ανάλυση, χωρίς επιπλέον κατεργασία του προσομοιωτή μετά τη δοκιμή μετανάστευσης, σε μήκος κύματος 230nm. Η ποσοτικοποίηση επιτυγχάνεται με εξωτερικά πρότυπα. Για την επιβεβαίωση της μελαμίνης χρησιμοποιούνται οι λόγοι των απορροφήσεων σε διάφορα μήκη κύματος (205nm, 230nm, 260nm). Η χρωματογραφική ανάλυση των δειγμάτων διεξάγεται σε χρωματογραφική στήλη C18, Nucleosil 120 – 0.5 μm, 25 cmX4.6 mm ή αντίστοιχη και προστήλη με τις εξής χρωματογραφικές συνθήκες: Κινητή φάση: 25% ακετονιτρίλιο, 75 % νερό, ροή κινητής φάσης: 0,8 ml / λεπτό, χρόνος χρωματογραφικής ανάλυσης: 10 λεπτά, συνολικός όγκος έγχυσης δείγματος: 20 μl,

Τογκαλίδου Τ., Λιούπης Α., Πουλιμά Ε., Γενικό Χημείο του Κράτους
Μετανάστευση αρχικών μονομερών σε προσομοιωτές τροφίμων από αντικείμενα μελαμίνης καθημερινής χρήσης - Επικύρωση, σύγκριση, συσχέτιση προσδιορισμών και ομοιογένεια μελαμινικών υλικών.

ανιχνευτής συστοιχίας φωτοδιόδων PDA με λάμπες δευτερίου και βολφραμίου και σάρωση μεταξύ 190nm και 800nm: μήκος κύματος μέτρησης, 230 nm.

2.4 Εκτίμηση αβεβαιότητας των μετρήσεων.

Ακολουθείται η μεθοδολογία που προτείνεται στον Οδηγό της Eurachem, QUAM, 2012. Αρχικά, αναγνωρίζονται και ποσοτικοποιούνται οι πηγές αβεβαιότητας τόσο για το στάδιο του φασματοφωτομετρικού ή χρωματογραφικού προσδιορισμού της συγκέντρωσης, όσο και για το στάδιο της μετανάστευσης. Για να ληφθούν υπό όψιν αβεβαιότητες που δεν μπορούν να ποσοτικοποιηθούν αναλυτικά λαμβάνεται υπ' όψη και η βραχυχρόνια ενδοεργαστηριακή αναπαραγωγικότητα. Οι πηγές αβεβαιότητας για το στάδιο του φασματοφωτομετρικού ή χρωματογραφικού προσδιορισμού προέρχονται από: τις αβεβαιότητες κατά την προετοιμασία των προτύπων βαθμονόμησης, την προετοιμασία της συμπλοκοποιημένης ουσίας (για τη φορμαλδεΐδη), της μέτρησης του φασματοφωτομέτρου ή του ανιχνευτή της διάταξης υγρής χρωματογραφίας, της καμπύλης αναφοράς, τη βραχυχρόνια ενδοεργαστηριακή αναπαραγωγικότητα της μεθόδου. Οι πηγές αβεβαιότητας για το στάδιο μετανάστευσης προέρχονται από τη διακύμανση της θερμοκρασίας του φούρνου και του χρόνου μετανάστευσης, καθώς και την αβεβαιότητα στον προσδιορισμό όγκου και επιφάνειας (εξατμίσεις και ογκομετρήσεις)

Η συνδυασμένη αβεβαιότητα για τον προσδιορισμό της φορμαλδεΐδης για το στάδιο του φασματοφωτομετρικού προσδιορισμού (σύμπλοκο ακετυλ-ακετόνης & σύμπλοκο χρωμοτροπικού) καθώς και του σταδίου της μετανάστευσης σε πέντε επίπεδα συγκεντρώσεων, για θερμοκρασιακή αβεβαιότητα του φούρνου 70°C ±0,9°C, χρόνο έκθεσης 120 min, με διακύμανση ±5min, ογκομέτρηση με ογκομετρικό κύλινδρο 250ml ±5ml, και 1% εξάτμιση απεικονίζεται παρακάτω (Πίνακας 2). Αντίστοιχα, η συνδυασμένη αβεβαιότητα για τον προσδιορισμό της μελαμίνης για το στάδιο του χρωματογραφικού προσδιορισμού και το στάδιο της μετανάστευσης σε έξι επίπεδα συγκεντρώσεων της μελαμίνης, δίδεται παρακάτω (Πίνακας 3).

Πίνακας 2: Συνδυασμένη αβεβαιότητα προσδιορισμού φορμαλδεΐδης με το σύμπλοκο της ακετυλ-ακετόνης και χρωμοτροπικού σε πέντε επίπεδα συγκεντρώσεων.

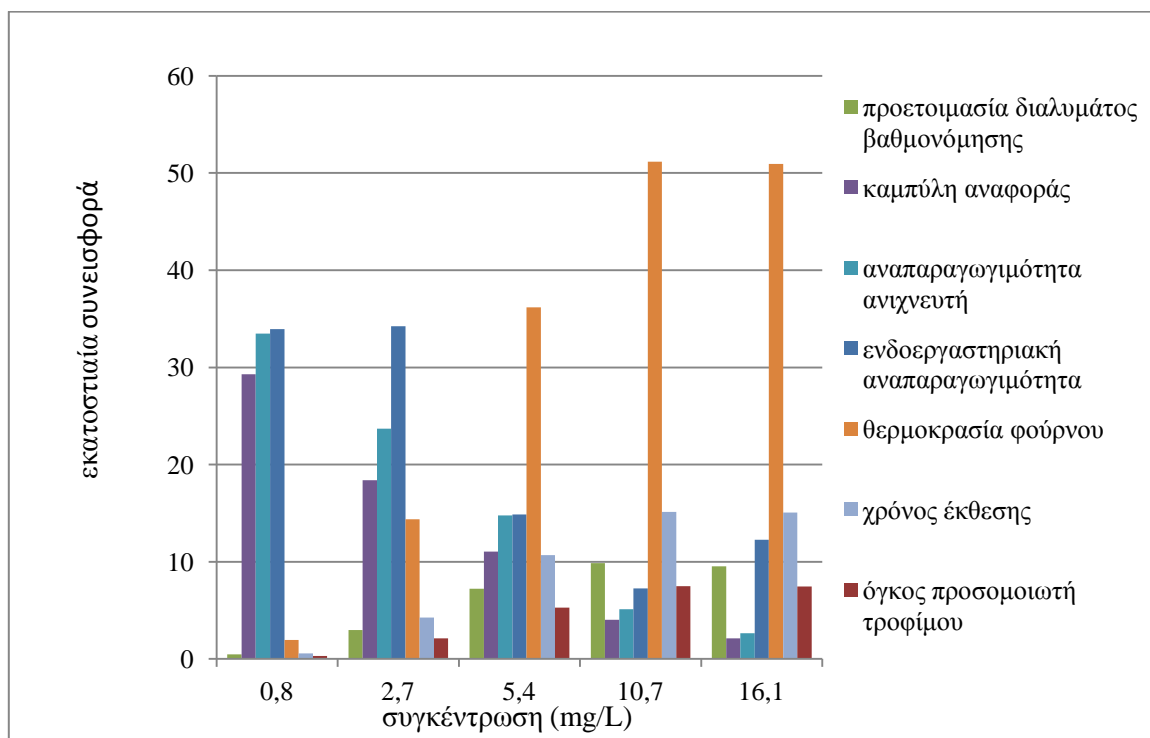
Σύμπλοκο		Επίπεδο Συγκέντρωσης (mg/L)				
		0,80	2,7	5,4	10,70	16,1
Ακέτυλ-ακετόνης	% Σχετική Συνδ. Αβεβ.	25,7	9,3	6,3	5,5	5,4
	Συνδ. Αβεβ. (mg/L)	0,21	0,25	0,34	0,59	0,87
Χρωμοτροπικού	% Σχετική Συνδ. Αβεβ.	36,3	13,5	8,2	8	7,5
	Συνδ. Αβεβ. (mg/L)	0,29	0,36	0,44	0,85	1,21

Πίνακας 3: Συνδυασμένη αβεβαιότητα προσδιορισμού μελαμίνης για έξι επίπεδα συγκεντρώσεων.

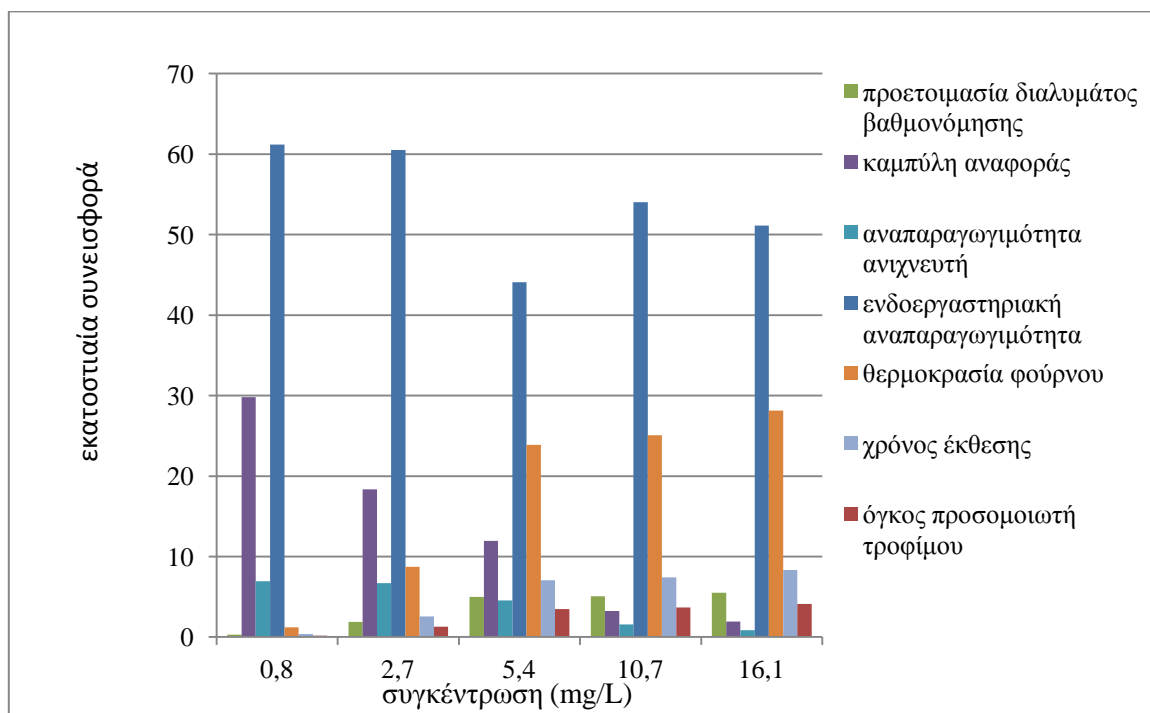
	Επίπεδο Συγκέντρωσης (mg/L)					
	0,25	0,5	1,0	2,5	5	10
% Σχετική Συνδ. Αβεβ.	16,8	17,4	10,5	8,0	7,1	6,4
Συνδ. Αβεβ. (mg/L)	0,04	0,09	0,11	0,20	0,35	0,64

Η εκατοστιαία συνεισφορά κάθε συνιστώσας της αβεβαιότητας για τον προσδιορισμό της φορμαλδεΐδης με το σύμπλοκο της ακετυλ-ακετόνης και το σύμπλοκο του χρωμοτροπικού φαίνεται διαγραμματικά στα παρακάτω σχήματα (.

Τογκαλίδου Τ., Λιούπης Α., Πουλμά Ε., Γενικό Χημείο του Κράτους
Μετανάστευση αρχικών μονομερών σε προσομοιωτές τροφίμων από αντικείμενα μελαμίνης καθημερινής χρήσης - Επικύρωση, σύγκριση, συσχέτιση προσδιορισμών και ομοιογένεια μελαμινικών υλικών.

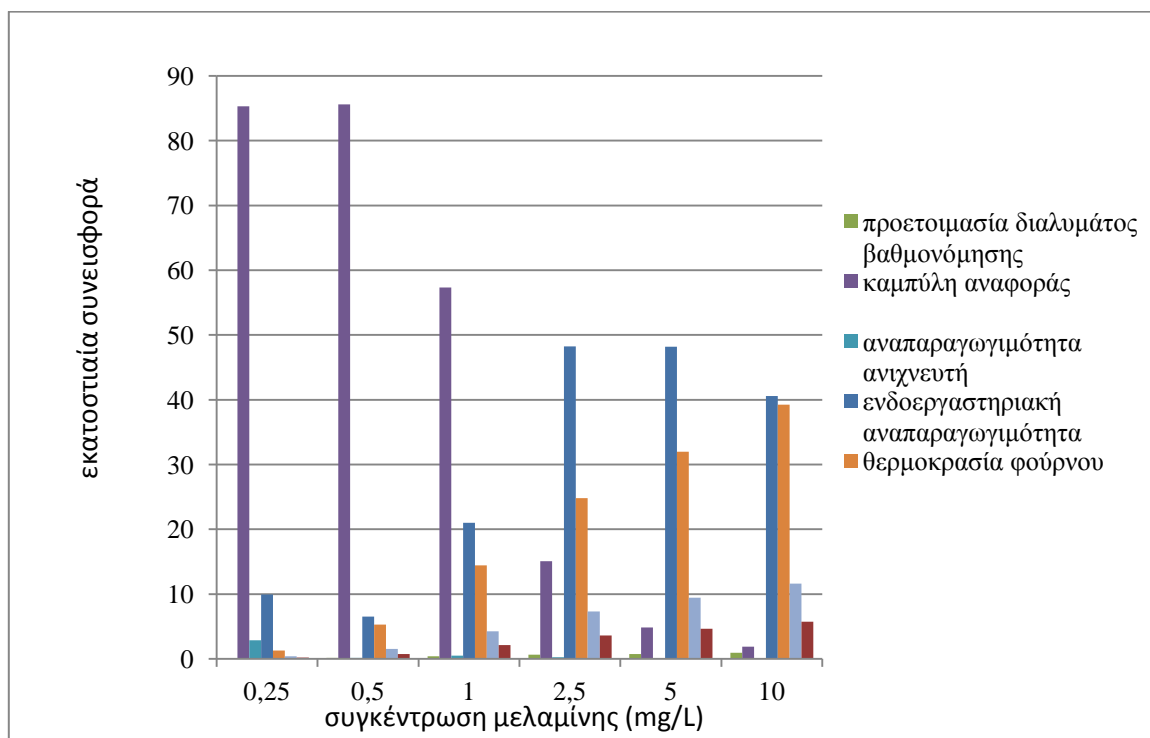


Σχήμα 1 Γραφική απεικόνιση της εκατοστιαίας συνεισφορά των επιμέρους συνιστωσών της στην συνδυασμένη αβεβαιότητα για τον προσδιορισμό φορμαλδεΐδης (σύμπλοκο ακέτυλ-ακετόνης.)



Σχήμα 2 Γραφική απεικόνιση της εκατοστιαίας συνεισφορά των επιμέρους συνιστωσών της στην συνδυασμένη αβεβαιότητα για τον προσδιορισμό φορμαλδεΐδης (σύμπλοκο χρωμοτροπικού.)

Η εκατοστιαία συνεισφορά κάθε συνιστώσας της αβεβαιότητας για τον προσδιορισμό της μελαμίνης φαίνεται διαγραμματικά στο παρακάτω σχήμα .



Σχήμα 3 Γραφική απεικόνιση της εκατοστιαίας συνεισφορά των επιμέρους συνιστωσών της στην συνδυασμένη αβεβαιότητα για τον προσδιορισμό μελαμίνης

2.5 Έλεγχος ομοιογένειας των υλικών ως προς την ειδική μετανάστευση φορμαλδεΐδης και μελαμίνης.

Για τις δοκιμές μετανάστευσης φορμαλδεΐδης και μελαμίνης υπολογίζεται η διευρυμένη αβεβαιότητα από τις συνεισφορές των επιμέρους αβεβαιοτήτων, για κάθε κύκλο προσομοίωσης, και ελέγχεται αν η πειραματική διακύμανση της μετανάστευσης είναι μικρότερη από την υπολογιζόμενη συνδυασμένη αβεβαιότητα για τα ίδια επίπεδα συγκεντρώσεων. Ειδικά για το δείγμα α (μπωλ) διερευνώνται οι μεταναστεύσεις για 9 υποδείγματα. Ενώ για το δείγμα β και δείγμα γ (πιάτα) διερευνώνται οι μεταναστεύσεις για 6 υποδείγματα. Στους παρακάτω πίνακες (Πίνακας 4 για τη φορμαλδεΐδη και Πίνακας 5 για τη μελαμίνη) απεικονίζονται αναλυτικά τα αποτελέσματα (μέση τιμή και τυπική απόκλιση των πολλαπλών προσδιορισμών) για κάθε κύκλο διαδοχικής προσομοίωσης καθώς και η υπολογιζόμενη συνδυασμένη αβεβαιότητα.

Παρατηρείται ότι οι τιμές μετανάστευσης τόσο για τη φορμαλδεΐδη όσο και για το μονομερές μελαμίνης παρουσιάζουν μεγαλύτερη διακύμανση από την υπολογιζόμενη συνδυασμένη αβεβαιότητα, γεγονός που καταδεικνύει την ύπαρξη ανομοιογένειας του υλικού ή την ύπαρξη φαινομένου μετανάστευσης - απομείωσης που δεν ακολουθεί το νόμο διάχυσης του Ficks. Η ανομοιογένεια του υλικού εισάγει έναν επιπλέον παράγοντα αβεβαιότητας (διακύμανσης των αποτελεσμάτων) που δεν μπορεί να προβλεφθεί, και κάνει την απόδοση μέσης τιμής εξαιρετικά δύσκολη.

Τα δείγματα α και γ χαρακτηρίστηκαν συμμορφούμενα δείγματα, ενώ το δείγμα β χαρακτηρίστηκε ως μη συμμορφούμενο δείγμα καθώς η μετανάστευση μελαμίνης υπερβαίνει το όριο ειδικής μετανάστευσης των 2.5mg/L.

Πίνακας 4: Αποτελέσματα μετανάστευσης φορμαλδεΐδης για τρία δείγματα για τρεις διαδοχικούς κύκλους μετανάστευσης για σε συνθήκες 2 ώρες στους 70°C

Δείγμα	Κύκλος	Μέση τιμή (mg/dm ²)	Μέση τιμή (mg/L)	Πειραματική Τυπική απόκλιση (mg/L)	Συνδυασμένη αβεβαιότητα (mg/Kg)	
					(διακύμανση φούρνου ±0,9°C)	(διακύμανση φούρνου ±2°C)
α	A'	1,28	10,37	2,72	0,89	1,21
	B'	1,46	11,77	2,11	1,0	1,37
	Γ'	1,29	10,46	1,64	0,90	1,22
β	A'	0,68	7,28	3,30	0,66	0,88
	B'	0,67	7,13	2,97	0,65	0,86
	Γ'	0,72	7,63	3,24	0,68	0,91
γ	A'	0,59	4,01	0,61	0,41	0,54
	B'	0,34	2,65	0,74	0,35	0,43
	Γ'	0,34	2,54	0,58	0,35	0,42

Παρατηρούμε ότι τα φαινόμενα της ανομοιογένειας του υλικού εμφανίζονται τόσο για τα συμμορφούμενα όσο και για τα μη συμμορφούμενα δείγματα. Η διακύμανση είναι όμως μικρότερη για τα κανονικά δείγματα.

Πίνακας 5: Αποτελέσματα μετανάστευσης μονομερούς μελαμίνης για τρία δείγματα για τρεις διαδοχικούς κύκλους μετανάστευσης για σε συνθήκες 2 ώρες στους 70°C

Δείγμα	Κύκλος	Μέση τιμή (mg/dm ²)	Μέση τιμή (mg/L)	Πειραματική Τυπική απόκλιση (mg/L)	Συνδυασμένη αβεβαιότητα (mg/Kg)	
					(διακύμανση φούρνου ±0,9°C)	(διακύμανση φούρνου ±2°C)
α	A'	0,29	2,32	1,25	0,18	0,26
	B'	0,34	2,76	1,08	0,22	0,31
	Γ'	0,32	2,68	0,78	0,21	0,30
β	A'	0,45	4,81	3,14	0,39	0,55
	B'	0,43	4,58	2,40	0,36	0,51
	Γ'	0,49	5,25	1,86	0,39	0,57
γ	A'	0,36	2,51	0,89	0,20	0,29
	B'	0,18	1,28	0,45	0,09	0,14
	Γ'	0,20	1,43	0,44	0,11	0,16

2.6 Συσχετίσεις προσδιορισμών μεταξύ των δοκιμών μετανάστευσης μελαμίνης και φορμαλδεΐδης

Αρχικά τα μελαμινικά υλικά ήταν από ρητίνη ουρίας φορμαλδεΐδης, με αποτέλεσμα να δίνουν μεγάλη μετανάστευση φορμαλδεΐδης καθώς υφίσταντο υδρόλυση με όξινες συνθήκες και αυξημένη θερμοκρασία. Τα υλικά αυτά παρουσίαζαν χαμηλές μεταναστεύσεις μελαμίνης. Τα προϊόντα αντικαταστάθηκαν από καλύτερης ποιότητας, αυξημένου κόστους προϊόντα ρητίνης μελαμίνης και φορμαλδεΐδης, με χαμηλές μεταναστεύσεις φορμαλδεΐδης και μελαμίνης. Πρόσφατα προκειμένου να μειωθεί το κόστος επανέρχεται η ρητίνη ουρίας/φορμαλδεΐδης που όμως επικαλύπτεται από

καλύτερης ποιότητας στρώμα μελαμίνης/φορμαλδεΐδης το οποίο υφίσταται την έκθεση στον όξινο προσομοιωτή (Roovarodom et al, 2011).

Στον παρακάτω πίνακα δίνονται συγκεντρωτικά αποτελέσματα μετανάστευσης φορμαλδεΐδης και μελαμίνης για 21 δείγματα για τον τρίτο κύκλο μετανάστευσης ως μέσες τιμές των αποτελεσμάτων μετανάστευσης των υποδειγμάτων. Στον πίνακα απεικονίζεται ο αριθμός υποδειγμάτων που δοκιμάστηκαν, ο λόγος επιφάνειας προς περιεχόμενο όγκο του αντικειμένου, η μέση τιμή και η εκατοστιαία σχετική τυπική απόκλιση των υπο-δειγμάτων για τη μετανάστευση της φορμαλδεΐδης και μελαμίνης καθώς και ο μοριακός λόγος μετανάστευσης φορμαλδεΐδης και μελαμίνης. Παρατηρείται μεγάλο εύρος τιμών μετανάστευσης φορμαλδεΐδης και μελαμίνης καθώς και μεγάλο εύρος τιμών του μοριακού λόγος μετανάστευσης φορμαλδεΐδης και μελαμίνης (μεταξύ 5 και 65). Επίσης παρατηρείται μεγάλη % σχετική τυπική απόκλιση τιμών των υποδειγμάτων μέχρι και 53% για υψηλές τιμές φορμαλδεΐδης.

Προκύπτει λοιπόν ότι τα αντικείμενα ρητινών μελαμίνης παρουσιάζουν κυμαινόμενη σύσταση όσον αφορά την αναλογία ουρίας, φορμαλδεΐδης και μελαμίνης. Το γεγονός αυτό μπορεί να αποτυπωθεί και από τα φάσματα FT-IR των υλικών.

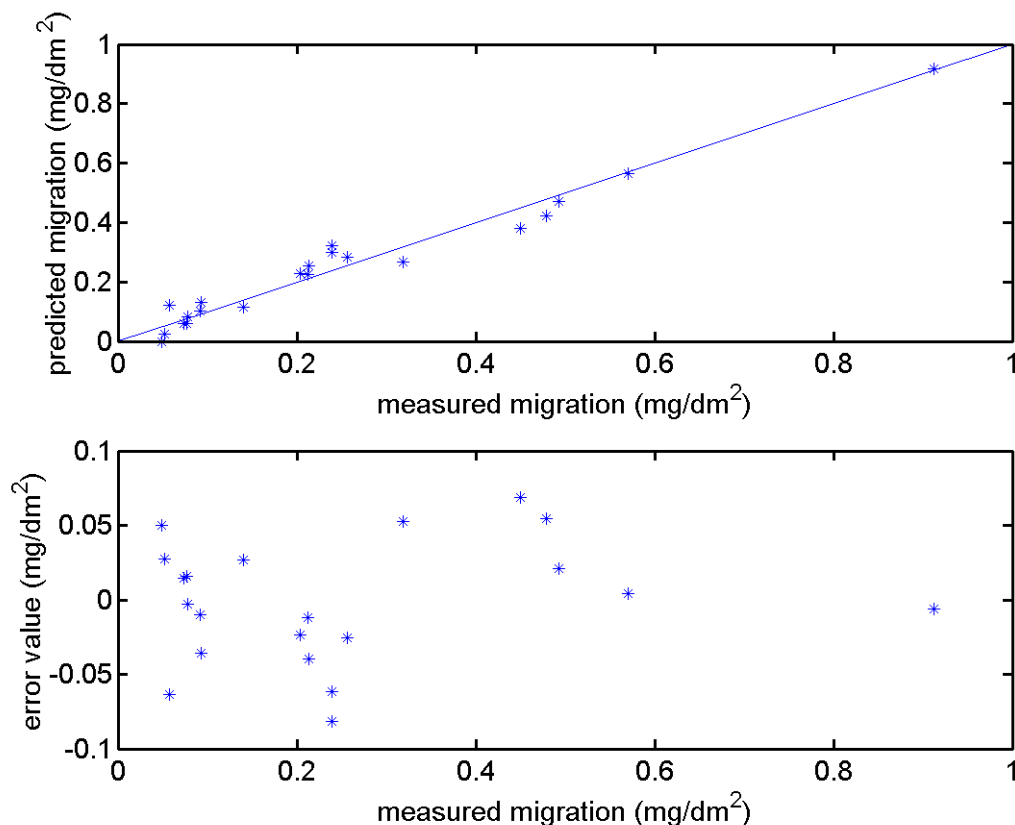
Μεταξύ των κύκλων (τα αποτελέσματα δεν περιλαμβάνονται) μπορεί να παρατηρηθεί συνεχής μείωση της μετανάστευσης για κάποια δείγματα, ενώ για άλλα δείγματα μπορεί να υπάρχει μείωση της μετανάστευσης μεταξύ πρώτου και δεύτερου κύκλου και αύξηση μεταξύ και δεύτερου και τρίτου κύκλου, καθώς και άλλες περιπτώσεις (αύξηση της μετανάστευσης μεταξύ πρώτου και δεύτερου κύκλου και μείωση μεταξύ δεύτερου και τρίτου κύκλου). Οι παρατηρήσεις αυτές συμπίπτουν με τις παρατηρήσεις άλλων ερευνητών (Bradley et. al. 2005, Lund et. al. 2006, Bradley et al. 2010).

Πίνακας 6: Αποτελέσματα μετανάστευσης φορμαλδεΐδης και μελαμίνης για 25 αντικείμενα για τον τρίτο από τους τρεις διαδοχικούς κύκλους μετανάστευσης σε συνθήκες 2 ώρες στους 70°C

# Δείγμα	# υποδειγμάτων	Λόγος επιφανείας προς όγκο (dm ² /Kg)	φορμαλδεΐδη (mg/dm ²)	(%) Σχετική τυπική απόκλιση φορμαλδεΐδης	μελαμίνη (mg/dm ²)	(%) Σχετική τυπική απόκλιση μελαμίνης	Μοριακός Λόγος φορμαλδεΐδης προς μελαμίνη (mg/Kg)
1	3	6,8	0,46	9,0	0,21	18,8	9,0
γ	6	7,0	0,34	23,6	0,20	31,0	7,0
3	3	6,3	0,34	31,6	0,08	5,7	18,2
β	6	10,6	0,72	42,5	0,49	35,5	6,1
5	3	17,8	0,46	47,5	0,09	18,3	20,9
6	3	8,9	0,26	8,9	0,05	40,4	22,1
α	9	8,1	1,29	15,7	0,32	29,0	17,0
8	3	6,8	0,25	6,8	0,14	23,2	7,5
9	3	11,4	0,38	29,2	0,26	7,2	6,2
10	3	7,7	1,45	53,1	0,91	39,0	6,7
11	3	4,7	0,40	6,9	0,07	9,4	23,2
12	3	16,7	0,29	7,3	0,24	21,8	5,1
13	6	12,1	0,32	39,7	0,21	46,6	6,3
14	3	4,2	1,19	1,7	0,24	12,7	20,9
15	3	4,5	1,05	46,7	0,57	19,6	7,7
16	3	6,5	0,80	35,8	0,05	29,3	64,4
17	3	5,5	1,59	13,1	0,48	23,8	13,9
18	3	17,5	0,33	39,2	0,06	57,7	24,4
19	3	5,9	0,19	4,3	0,09	15,7	8,7
20	3	13,9	1,41	33,9	0,45	20,3	13,1
21	3	8,0	0,31	24,8	0,08	23,4	16,8

Η μέθοδος συσχέτισης που εφαρμόζεται είναι η ανάλυση κύριων παραγόντων (Principal Component Analysis) με παλινδρόμηση (Principal Components Regression) καθώς και με συσχέτιση μερικών ελαχίστων τετραγώνων (PLS). Για την εφαρμογή του λογισμικού συσχέτισης χρησιμοποιήθηκε η περιοχή απορροφήσεων για μήκη κύματος μεταξύ 2000 και 750cm⁻¹. Το υπολογιστικό πακέτο που εφαρμόστηκε έχει αναπτυχθεί στην εργασία (Τογκαλίδου et al., 2001) και έχει προγραμματισθεί σε υπολογιστικό περιβάλλον Matlab, ενώ χρησιμοποιεί επίσης το Toolbox PLSToolbox. Παρατηρήθηκε καλή συσχέτιση με χρήση μικρού αριθμού κύριων παραγόντων του φάσματος με τη μετανάστευση της μελαμίνης. Το υπολογιστικό μοντέλο πρόβλεψης χρησιμοποιεί τα μισά από τα δείγματα για τη δημιουργία του μοντέλου και τα υπόλοιπα δείγματα για την αποτίμηση της ποιότητας του μοντέλου. Προκύπτει λοιπόν δυνατότητα πρόβλεψης μετανάστευσης μελαμίνης από το φάσμα FT-IR του αντικειμένου.

Τογκαλίδου Τ., Λιούπης Α., Πουλμά Ε., Γενικό Χημείο του Κράτους
Μετανάστευση αρχικών μονομερών σε προσομοιωτές τροφίμων από αντικείμενα μελαμίνης καθημερινής χρήσης - Επικύρωση, σύγκριση, συσχέτιση προσδιορισμών και ομοιογένεια μελαμινικών υλικών.



Σχήμα 4 Γραφική απεικόνιση της μετρούμενης και προβλεπόμενης τιμής της μετανάστευσης μελαμίνης και του σφάλματος πρόβλεψης

3. Συμπεράσματα – Πρόταση

Στην παρούσα εργασία εξετάστηκε η μετανάστευση φορμαλδεΐδης και εξαμεθυλενοτετραμίνης (προσδιοριζόμενη ως υδρολυμένη σε φορμαλδεΐδη), και μονομερούς μελαμίνης από αντικείμενα καθημερινής χρήσης σε επαφή με τρόφιμα που κατασκευάζονται από μελαμινικά υλικά. Για τον προσδιορισμό της φορμαλδεΐδης εφαρμόζεται φασματοφωτομετρικός προσδιορισμός μετά από παραγωγή. Συγκρίθηκαν οι δύο μέθοδοι παραγωγής της και προέκυψαν καλύτερες επιδόσεις για το σύμπλοκο της ακέτυλ-ακετόνης. Επιπλέον, προέκυψε ότι στις συγκεκριμένες συνθήκες των δοκιμών μετανάστευσης η εξαμεθυλενοτετραμίνη μετατρέπεται σε φορμαλδεΐδη κατά 85-95% και ως εκτούτου δεν απαιτείται η εφαρμογή της επιπλέον κατεργασίας που προτείνει το πρότυπο. Ο προσδιορισμός της μελαμίνης γίνεται χρωματογραφικά. Εξετάστηκε επίσης για τρία δείγματα η ομοιογένεια του υλικού ως προς τις ειδικές μεταναστεύσεις φορμαλδεΐδης και μελαμίνης με σύγκριση πολλαπλών δοκιμών (6 και 9 δοκίμια για κάθε δείγμα). Προέκυψε μεγάλη ανομοιογένεια των υλικού που υπερβαίνει την υπολογιζόμενη διακύμανση τιμών της συνδυασμένης αβεβαιότητας που υπολογίστηκε αναλυτικά από όλες τις πηγές αβεβαιότητας και το φαινόμενο της μετανάστευσης ως φαινόμενο διάχυσης.

Αναλύθηκαν επιπλέον 18 δείγματα αντικειμένων και προέκυψε μεγάλη διακύμανση τιμών μετανάστευσης φορμαλδεΐδης και μελαμίνης και μοριακού λόγου μετανάστευσης

φορμαλδεΐδης και μελαμίνης σε ένα εύρος (μεταξύ 5 και 65) μεγαλύτερο από ότι αναφέρεται στην βιβλιογραφία.

Επιπλέον, συσχετίστηκε το φάσμα FT-IR του υλικού με τα στοιχεία των ειδικών μεταναστεύσεων και προέκυψε καλή συσχέτιση της απορρόφησης σε συγκεκριμένες περιοχές του φάσματος και της ειδικής μετανάστευσης της. Επομένως προκύπτει δυνατότητα χρήσης του φάσματος FT-IR, για πρόρρηση των μεταναστεύσεων και εξοικονόμηση χρόνου και αναλωσίμων.

4. Βιβλιογραφία

Bradley, E. L., V. Boughtflower, T. L. Smith, D. R. Speck, and L. Castle. "Survey of the migration of melamine and formaldehyde from melamine food contact articles available on the UK market", *Food additives and contaminants* 22, no. 6: 597-606, 2005.

Bradley, E. L., Castle, L., Day, J. S., Ebner, I., Ehlert, K., Helling, R., and Pfaff, K. (2010). "Comparison of the migration of melamine from melamine-formaldehyde plastics ('melaware') into various food simulants and foods themselves", *Food Additives & Contaminants: Part A*, 27(12): 1755-1764, 2010.

Eegriwe E., *Z. Anal. Chem*, 110, 22, 1937

Fagnani E., Melios C.B., Pezza L., Pezza H.R., "Chromotropic acid-formaldehyde reaction in strongly acidic media. The role of dissolved oxygen and replacement of concentrated sulphuric acid", *Talanta* 60, pp. 171-176, 2003.

Li Q., Sritharathikhun P., and Motomizu S., "Development of Novel Reagent for Hantzsch Reaction for the Determination of Formaldehyde by Spectrophotometry and Fluorometry", *Analytical Sciences*, , vol. 23, pp. 413-417, April 2007.

Lu, X., Wang, J., Al-Qadiri, H. M., Ross, C. F., Powers, J. R., Tang, J., and Rasco, B. A. "Determination of total phenolic content and antioxidant capacity of onion (*Allium cepa*) and shallot (*Allium oschaninii*) using infrared spectroscopy, *Food Chemistry*, 129(2), 637-644, 2011.

Lund, Kirsten H., and Jens Højslev Petersen, "Migration of formaldehyde and melamine monomers from kitchen-and tableware made of melamine plastic", *Food additives and contaminants* 23, no. 9 (2006): 948-955.

Nash T., "The colorimetric estimation of formaldehyde by means of the Hantzsch Reaction", *Biochem. J.*, , pp. 416-421, 1953.

Poovarodom N, Tangmongkollert P, Jinkarn T, Chonhenchob V, "Survey of counterfeit melamine tableware available on the market in Thailand, and its migration", *Food Additives and Contaminants Part A, Chem Anal Control Expo Risk Assess.* 2011 Feb;28(2):251-8.

Potter, E. L. J., E. L. Bradley, Catherine Ruth Davies, K. A. Barnes, and Laurence Castle, "Migration of formaldehyde from melamine-ware: UK 2008 survey results", *Food Additives and Contaminants* 27, no. 6: 879-883, 2010.

Simoneau, C., Hoekstra, E., Bradley, E., Bustos, J., Golja, V., Kappenstein, O., and Vanhee, F. "Technical guidelines on testing the migration of primary aromatic amines

Τογκαλίδου Τ., Λιούπης Α., Πουλιμά Ε., Γενικό Χημείο του Κράτους
Μετανάστευση αρχικών μονομερών σε προσομοιωτές τροφίμων από αντικείμενα μελαμίνης καθημερινής χρήσης - Επικύρωση, σύγκριση, συσχέτιση προσδιορισμών και ομοιογένεια μελαμινικών υλικών.

from polyamide kitchenware and of formaldehyde from melamine kitchenware". European Commission, 2011.

Togkalidou, T., Fujiwara, M., Patel, S., & Braatz, R. D., "Solute concentration prediction using chemometrics and ATR-FTIR spectroscopy", *Journal of Crystal Growth*, 231(4), 534-543, 2001.

Διεθνή Πρότυπα και Οδηγοί:

CEN/TS 13130-23:2005 Materials and articles in contact with foodstuffs- Plastics substances subject to limitation- Part 23: Determination of formaldehyde and hexamethylenetetramine in food simulants

CEN/TS 13130-27:2005 Materials and articles in contact with foodstuffs- Plastics substances subject to limitation- Part 27: Determination of 2,4,6-triamino-1,3,5-triazine in food simulants.

Guide, EURACHEM-CITAC. "Quantifying uncertainty in analytical measurement." EURACHEM, Third Edition, 2012.