

PRILOGA 2

Priprava vzorcev in zahteve za metode preskušanja, ki se uporabljajo za določanje vsebnosti aflatoksinov v živilih za namen uradnega nadzora

1. Uvod

1.1. Previdnostni ukrepi

Aflatoksini se pod vplivom sončne svetlobe postopno razgrajujejo, zato mora priprava vzorcev za preskušanje potekati tako, da so vzorci čim bolj zaščiteni pred svetlobo. Porazdelitev aflatoksinov je izjemno nehomogena, zato je pripravo vzorca, posebno postopek homogenizacije, potrebno opraviti z največjo pazljivostjo.

Za pripravo laboratorijskega vzorca, v katerem se preskušanje izvaja, je potrebno uporabiti celoten vzorec, ki je prispel v laboratorij.

1.2. Določanje vsebnosti aflatoksinov pri lupinarjih: izračun razmerja med lupino in jedrcem

MV aflatoksinov za lupinarje se nanašajo na užitni del (jedrce).

Vsebnost aflatoksinov v užitem delu (jedrcih) se lahko določi:

– z odstranitvijo lupine pri lupinarjih, vsebnost aflatoksinov se določi neposredno v užitem delu (jedrcih),

– lupinarji se homogenizirajo z lupino vred in se po pripravi vzorca analizira vsebnost aflatoksinov. Pri vzorčenju in analitskem postopku je potrebno oceniti maso jedrc lupinarjev v sestavljenem vzorcu. Maso jedrc v sestavljenem vzorcu je potrebno oceniti po določitvi faktorja razmerja med maso lupine in maso jedrca. Faktor razmerja se uporabi za določitev količine jedrc v vzorcu, ki se analizira in se lahko določi na dva načina:

I. Za vsak laboratorijski vzorec se naključno vzame približno 100 lupinarjev z lupino. Faktor razmerja se določi tako, da se stehtajo celi lupinarji, nato se strejo in izluščijo ter ponovno stehtajo, posebej delež lupin in posebej delež jedrc.

II. Na podlagi večjega števila vzorcev lupinarjev z lupino se ugotovi razmerje med maso jedrc in maso lupine in to razmerje uporabi pri izračunavanju vsebnosti aflatoksinov v vzorcih. V tem primeru je potrebno pred analizo vzorca od vsakega sestavljenega vzorca naključno odvzeti približno 100 lupinarjev z lupino in jih shraniti.

Če določen laboratorijski vzorec preseže MV aflatoksinov, je potrebno določiti točno razmerje mas jedro/lupina s pomočjo shranjenih lupinarjev in ta faktor uporabiti pri izračunu rezultata.

2. Priprava laboratorijskega vzorca

Vsak laboratorijski vzorec se drobno zmelje in dobro premeša po postopku, s katerim se dokazano doseže popolna homogenizacija.

Če se MV uporablja za suho snov, se vsebnost suhe snovi določi na delu homogeniziranega vzorca po postopku, s katerim se dokazano natančno določi vsebnost suhe snovi.

3. Delitev sestavljenega vzorca na laboratorijske vzorce za uradni nadzor, za pridobitev drugega mnenja glede zdravstvene ustreznosti in referenčne namene

Laboratorijski vzorci za uradni nadzor, za potrebe nosilcev dejavnosti zaradi pridobitve drugega mnenja glede zdravstvene ustreznosti in za referenčne namene se odvzamejo iz homogeniziranega sestavljenega vzorca. Odvzamejo se trije enakovredni vzorci. Velikost laboratorijskih vzorcev za uradni nadzor mora zadoščati vsaj za ponovitev analize.

4. Analitske metode, ki se uporabljajo v laboratoriju in kontrola kakovosti

4.1. Definicije

Laboratorij mora glede metod upoštevati naslednje zahteve:

r = ponovljivost, vrednost manjša ali enaka absolutni razliki dveh posameznih rezultatov preskusa, dobljenih pod ponovljivimi pogoji (t. j. isti vzorec, isti analitik, ista aparatura, isti laboratorij in kratek časovni razmik), za katero se pričakuje, da bo dobljena z verjetnostjo 95% in zato je $r = 2,8 \times s_r$.

s_r = standardni odmik, izračunan iz rezultatov, dobljenih pri pogojih ponovljivosti.

RSD_r = relativni standardni odmik, izračunan iz rezultatov, dobljenih pri pogojih ponovljivosti $[(s_r /) \times 100]$, pri čemer je povprečje rezultatov vseh vzorcev, dobljenih pri pogojih ponovljivosti.

R = obnovljivost, vrednost manjša ali enaka absolutni razliki dveh posameznih rezultatov preskusa, dobljenih pod pogoji obnovljivosti (npr. identični material, različni izvajalci, različni laboratoriji, z uporabo različne metode), za katero se pričakuje, da bo dobljena z verjetnostjo 95% in zato je $R = 2,8 \times s_R$.

s_R = standardni odmik, izračunan iz rezultatov, dobljenih pri pogojih obnovljivosti.

RSD_R = relativni standardni odmik, izračunan iz rezultatov, dobljenih pri pogojih obnovljivosti $[(s_R /) \times 100]$; pri čemer je povprečje rezultatov vseh vzorcev, dobljenih pri pogojih obnovljivosti.

$HORRAT_r$ ugotovljeni RSD_r , deljen z vrednostjo, ocenjeno s Horwitzovo enačbo, s predpostavko $r = 0,66 \cdot R$.

$HORRAT_R$ ugotovljena vrednost RSD_R , deljena z vrednostjo RSD_r , izračunano iz Horwitzove enačbe.

4.2. Splošne zahteve

Analitske metode, ki se uporabljajo v okviru uradnega zdravstvenega nadzora nad živilni, morajo biti v skladu z merili iz 1. in 2. točke priloge predpisa, ki ureja uradni zdravstveni nadzor nad živilni.

4.3. Posebne zahteve

Kadar za določanje vsebnosti aflatoksinov v živilih niso predpisane nobene posebne metode, lahko laboratoriji izberejo katerokoli metodo, ki ustreza naslednjim zahtevam:

Zahteva	Koncentracijsko območje	Priporočena vrednost	Najvišja dovoljena vrednost
slepi vzorec	vse	zanemarljiva	

izkoristek aflatoksina M1	0,01-0,05 µg/kg >0,05 µg/kg	60-120% 70-110%	
izkoristek vsote aflatoksinov B1, B2, G1, G2	<1,0 µg/kg 1-10 µg/kg >10 µg/kg	50-120% 70-110% 80-110%	
natančnost RSD _R	vse	kot je določeno s Horwitzovo enačbo	2x vrednost določena s Horwitzovo enačbo
natančnost RSD _r , se lahko izračuna kot 0,66 kratna natančnost RSD _R pri ustrezni koncentraciji			

Opombe:

- vrednosti se nanašajo na aflatoksin B1 kot na vsoto aflatoksinov B1 + B2 + G1 +G2;
- v primeru izražanja (LS) aflatoksinov kot vsoto B1 + B2 + G1 +G2, je potrebno zagotoviti, da vsak posamezni vzorec izpolnjuje zahteve, navedene v zgornji preglednici;
- meje detekcije uporabljenih metod niso navedene, ker so dane vrednosti natančnosti pri ustrezni koncentraciji;
- vrednosti natančnosti se izračunajo s Horwitzovo enačbo, npr.: $RSD_R = 2^{(1-0,5 \log C)}$, pri čemer:
 - je RSD_R relativni standardni odmik, izračunan na podlagi rezultatov, dobljenih pri pogojih obnovljivosti [(S_R/x) * 100]
 - je C razmerje koncentracije (npr. 1 = 100 g/100 g, 0,001 = 1000 mg/kg).

To je posplošena enačba za izračunavanje natančnosti, ki se je izkazala kot neodvisna od analizirane snovi in matrice in je pri večini običajnih metod preskušanja odvisna samo od koncentracije.

4. 4. Izračun izkoristka in poročanje rezultatov

Pri rezultatu analize se navede ali je izkoristek upoštevan ali ne. Navesti je treba tudi način navajanja in vrednost izkoristka. Analitski rezultat, kjer je upoštevan izkoristek, se uporablja za preverjanje skladnosti (glej Prilogo 1, točke 5.2.2, 5.3.2, 5.4.2, 5.5.1.2 in 5.5.2.3).

Rezultat analitskega preskušanja mora biti izražen kot $x \pm U$, kjer je x rezultat analiznega preskušanja, U pa razširjena merilna negotovost, kar pri količniku zajetja 2 pomeni približno 95% stopnjo zaupanja.

4.5. Standardi kakovosti za laboratorije

Laboratoriji za določanje vsebnosti aflatoksina v živilih morajo biti v skladu z zahtevami iz predpisa, ki ureja uradni zdravstveni nadzor nad živilii.

Ne glede na prejšnji odstavek morajo biti laboratoriji za določanje vsebnosti aflatoksinov živilih živalskega izvora v okviru uradnega nadzora iz 3. točke prvega odstavka 16. člena Zakona o zdravstveni ustreznosti živil in izdelkov ter snovi, ki prihajajo v stik z živilii v skladu z zahtevami iz predpisa o pogojih, ki jih morajo izpolnjevati Nacionalni veterinarski inštitut in pooblaščen laboratoriji ter o postopku ugotavljanja izpolnjevanja pogojev.