

ДИРЕКТИВА 92/95/ЕИО НА КОМИСИЯТА

от 9 ноември 1992 година

**относно изменение на приложението към Седма директива 76/372/ЕИО
относно установяване на аналитични методи за анализ в Общността за
официален контрол на храни**

КОМИСИЯТА НА ЕВРОПЕЙСКИТЕ ОБЩНОСТИ,

като взе предвид Договора за създаване на Европейската икономическа общност,

като взе предвид Директива 70/373/ЕИО на Съвета от 20 юли 1970 г. за въвеждане в Общността на методи за взимане на проба и анализ за официален контрол на храни¹, последно изменена от Актовете за присъединяване на Испания и Португалия, и по-специално член 2 от тях,

като има предвид, че Седма директива 76/372/ЕИО на Комисията от 1 март 1976 г., въвеждаща в Общността аналитични методи за официален контрол на храни² последно изменена от Директива 81/680/ЕИО³ описва методите, които трябва да се използват при определянето на афлатоксин В1;

като има предвид, че съществуват основания за адаптиране на методите в светлината на напредъка в научното и техническо познание; като има предвид, че е целесъобразно по-конкретно да се разполага с метод за контрол на много ниските количества афлатоксин, фиксирани от Директива 74/63/ЕИО на Съвета от 17 декември 1973 г. за определяне на максимално допустимите количества нежелани субстанции и продукти при хранене на животни⁴ последното изменена от Директива 91/132/ЕИО⁵;

като има предвид, че също така е целесъобразно да се разполага с метод за определяне на афлатоксин В1 в присъствието на пречещи субстанции, като например пулп от цитрусови плодове;

като има предвид, че мерките, предвидени в настоящата директива, са в съответствие със становището на Постоянния комитет по храни,

ПРИЕ НАСТОЯЩАТА ДИРЕКТИВА:

Член 1

Приложението към Директива 76/372/ЕИО се изменя в съответствие с приложението към настоящата директива.

¹ ОВ L 170, 3.8.1970 г., стр. 2.

² ОВ L 102, 15.4.1976 г., стр. 8.

³ ОВ L 246, 29.8.1981 г., стр. 32.

⁴ ОВ L 38, 11.2.1974 г., стр. 31.

⁵ ОВ L 66, 13.3.1991 г., стр. 16.

Член 2

Държавите-членки въвеждат в сила не по-късно от 1 октомври 1993 г. законите, подзаконовите и административните разпоредби, необходими за съответствие с настоящата директива. Те уведомяват незабавно Комисията за това.

Когато държавите-членки приемат тези разпоредби, те съдържат препратка към настоящата директива или са придружени от такава препратка в момента на официалното им публикуване. Процедурата за такава препратка се приема от държавите-членки.

Член 3

Адресати на настоящата директива са държавите-членки.

Съставено в Брюксел на 9 ноември 1992 година.

За Комисията:
Ray MAC SHARRY
Член на Комисията

ПРИЛОЖЕНИЕ

I. В част А, „Метод за еднодименсионална тънкослойна хроматография” текстът в точка 1 „Цел и обхват” се заменя със следния текст:

„1. Цел и обхват

Методът позволява определяне на количеството афлатоксин В1 в изходни материали и прости храни за животни. Този метод е неприложим в присъствието на пулп от цитрусови плодове. Долната граница на определение е 0,01mg/kg (10 ppb)

В присъствието на пречещи субстанции е необходимо да се повтори анализа при използване на метод Б (високопроизводителна течна хроматография)”

II. В част Б „Метод на двудименсионална тънкослойна хроматография” текстът се заменя както следва:

„Б. ОПРЕДЕЛЯНЕ НА АФЛАТОКСИН В1. МЕТОД НА ВИСОКОПРОИЗВОДИТЕЛНА ТЕЧНА ХРОМАТОГРАФИЯ

1.Цел и обхват.

Това е метод за определяне на афлатоксин В1 в храни за животни, включително такива, съдържащи пулп от цитрусови плодове. Долната граница на определение е 0,001 mg/kg (1 ppb).

2.Принцип.

Пробата се екстрахира с хлороформ. Екстрактът се филтрува и аликвотна част се пречиства върху Флорисилова гилза, последвана от С18 гилза. Окончателното разделяне и определяне се постига чрез високопроизводителна течна хроматография /ВПТХ/, като се използва С18 колона с обратна фаза, последвана от след-колонно дериватизиране с йод във вода и определяне на флуоресценцията.

Забележка: Микотоксините са изключително токсични субстанции. Манипулациите трябва да се извършват в специална камина. Специални предпазни мерки трябва да бъдат взети в случаите, когато токсините са под формата на сухо вещество поради тяхната електростатичност, в резултат на което съществува тенденция от разпръскването им в работната среда.

3. Реактиви

3.1. Хлороформ, стабилизирани с 0,5 до 1,0% етанол от масата. Виж изследване 10.2.

3.2.ВПТХ степен на метанола, престация на 3.6.

3.3.Ацетон.

3.4.ВПТХ степен на ацетонитрил.

3.5. Елюиращи разтворители: подгответе един ден преди употреба или чрез ултразвук добавете въздух в разтворителя.

3.5.1. Смес от ацетон (3.3) и вода, 98+2 (v+v)

3.5.2. Смес от вода и метанол (3.2), 80+20 (v+v)

3.5.3. Смес от вода и ацетон (3.3), 85+15 (v+v)

3.6. Мобилна фаза за ВПТХ

Смес от вода, метанол (3.2) и ацетонитрил (3.4), 130+70+40 (v+v+v).

Забележка: Съставът на разтвора в мобилна фаза може да се нуждае от допълване, в зависимост от характеристиките на използваната колона за ВПТХ.

3.7. Наситен йоден разтвор: добавете 2 g йод към 400 ml вода. Бъркайте в продължение на най-малко 90 min. и прецедете през мембранен филтър (4.15). Защитете наситения разтвор от светлина, за да предотвратите фоторазпадането.

3.8. Разредена киселина на Целит 545 или еквивалент.

3.9. Флуросилова гилза (Waters SEP-PAK) или еквивалент

3.10. C18 гилза (Waters SEP-PAK) или еквивалент

3.11. Инертен газ, т.н. азот.

3.12. Алфатоксин В1, стандартен разтвор в хлороформ, концентрация 10 mg/ml. Проверете концентрацията на разтвора, както следва: определете абсорбиращия обхват на разтвора между 330 и 370 nm чрез спектрофотометър (4.23). Измерете абсорбцията (A) при максимум около 363 nm. Изчислете концентрацията на Алфатоксин В1 в микрограма на милилитър от разтвора чрез формулата:

$$\text{Концентрация (mg/ml)} = \frac{312 \times A \times 1000}{22\,300} = 13,991 \times A$$

3.12.1. Афлатоксин В1 изходен стандартен разтвор в хлороформ.

Прехвърлете количествено 2,5ml стандартен разтвор на афлатоксин В1 (3.12) в 50ml мерителна колба и допълнете до марката с хлороформ (3.1). Съхранявайте този разтвор на студено (4 C) и тъмно, добре запушен и завит в алуминиево фолио.

3.13. Калибриращи разтвори афлатоксин В1 за ВПТХ.

Забележка: използвайте измита в киселина стъклария за приготвянето на тези разтвори (вж. 4, апаратура).

3.13.1. Калибриращ разтвор 4ng/ml.

Оставете мерителната колба с изходния разтвор (3.12.1) да се затопли до стайна температура в алуминиевото фолио /няколко часа/. Прехвърлете 400µl от изходния разтвор (200ng афлатоксин В1) в мерителна колба с обем 50 ml и изпарявайте разтвора до достигане на състояние на инертен газ (3.11). Разтворете получения остатък в приблизително 20 ml вода /ацетонова смес (3.5.3), допълнете с вода/ацетонова смес до марката и разбъркайте добре.

3.13.2. Калибриращ разтвор 3 ng/ml.

Прехвърлете количествено 7,5 ml от калибриращия разтвор (3.13.1) в мерителна колба с обем 10 ml, допълнете до марката с вода/ацетонова смес (3.5.3) и разбъркайте добре.

3.13.3. Калибриращ разтвор 2 ng/ml.

Прехвърлете количествено 25 ml от калибриращия разтвор (3.13.1) в мерителна колба с обем 50 ml, допълнете до марката с вода/ацетонова смес (3.5.3) и разбъркайте добре.

Този разтвор се използва също като стандартен еталон, който се използва за стандартно впръскване при ВПТХ (5.5).

3.13.4. Калибриращ разтвор 1 ng/ml.

Прехвърлете количествено 2,5 ml от калибриращия разтвор (3.13.1) в мерителна колба с обем 10 ml, допълнете до марката с вода/ацетонова смес (3.5.3) и разбъркайте добре.

3.14. Амбула, съдържаща смес от концентрации на алфатоксини В₁, В₂, G₁ и G₂, приблизително 1, 0,5, 1 и 0,5 mg/ml, съответно в 1 ml хлороформ.

3.14.1. Разтвор за хроматографски тест.

Прехвърлете съдържанието на амбулата (3.14) в запушена със стъклена запушалка епруветка или в стъкления, запушена с винтова капачка. Прехвърлете 40 ml от този разтвор в запушената със стъклена запушалка епруветка (измита с киселина) (4.22). Изпарете хлороформа до струя от инертен газ (3.11) и разтворете отново в 10 ml вода/ацетонова смес (3.5.3).

3.15. Реактиви за потвърждаващ тест (6).

3.15.1. Наситен разтвор на натриев хлорид.

3.15.2. Гранулиран безводен разтвор на натриев сулфат.

4. Апаратура

Предупреждение: Използването на неизмита с киселина стъклария за водни разтвори на алфатоксини може да предизвика загуби. По-специално внимание следва да се обърне на новата стъклария и стъкларията за еднократна употреба, като автоматично взимачи проба ампули и Пастърови пипети. Поради това лабораторна стъклария, влизаща в контакт с водни разтвори на алфатоксини следва да бъде наkisната в разрежена киселина (например сярна киселина = 2 мол/л) за няколко часа, след това да се изплакне добре с дестилирана вода, за да се премахнат всички остатъци то киселина (например три пъти, проверка с лакмус за рН). В практиката тази обработка е необходима за облодънните колби (4.4), мерителните колби, градуирани епруветки, стъкленици или епруветки, използвани за калибрирани разтвори и крайни екстракти (по-специално, стъкленици за автодегустация) и Пастърови пипети, ако се използват за прехвърляне на калибрирани разтвори или екстракти.

4.1. Мелница-миксер

4.2. Сито с размер на отворите 1,0 mm, (ISO R 565).

4.3. Механичен шейкър (механичен апарат за бълникане)

4.4. Ротационен вакуум изпарител, оборудван с облодънна колба с обем от 150 до 250 ml.

4.5. Висококачествен течен хроматограф, впръсквател с извод, удобен за впръскване на 250 ml. Виж инструкциите на производителя за частично или пълно съответствие на извода.

4.6. Аналитична колона за ВПТХ: 3 mm или 5mm C18 уплътнител.

4.7. Помпа без пулсации за подаване на йодния следколонен реагент

4.8. Valco нулев мъртъв обем Tee, неръждаема стомана (1/16" x 0,75 mm).

4.9. Реакционен змиевик; тефлон или неръждаема стомана. Установено е, че размери от 3 000 x 0,5 mm до 5 000 x 0,5 mm са в подходяща комбинация с 5 mm или 3 mm ВПТХ колони.

4.10. Термостатично регулирана водна баня, достигаща до 60 °C, с възможност за температурно регулиране, по-добро от 0,1 °C.

4.11. Флуоресциращ детектор, който се намагнетизира при 365 nm и излъчване с дължина на вълната от 435 nm. (За филтриращ инструмент: излъчвана дължина на вълната > 400 nm). Ще бъде възможно засичането на най-малко 0,05 pg алфатоксин В1. Може да се окаже подходящо и упражняване на противоналягане (например ограничител, тефлонова намотка или намотка от

неръждаема стомана, свързана с изхода на детектора), за ограничаване на въздушните мехурчета във входната клетка.

4.12. Записващо лентово устройство

4.13. Електронен интегратор (по избор).

4.14. Нагъната филтърна хартия с диаметър: 24 cm, Macherey- Nagel 617 1/4 или еквивалент

4.15. Мембранен филтър с размер на отворите 0,45 mm, Millipore HAWP 04700 или еквивалент.

4.16. Конична колба със стъклена запушалка с обем 500 ml.

4.17. Стъклена колона (вътрешен диаметър приблизително 1 cm, дължина приблизително 30 cm), оборудвана с накрайник Luer.

4.18. Спирателен кран за ограничаване достъпа на хлороформ на Luer (например Bio-Rad 7328017, Analytichem AI 6078, J.T. Baker 4514 или еквивалент).

4.19. Химически резистентна спринцовка, 10 ml свързка Luer.

4.20. Помпа, подходяща за ВПТХ впръскване от 250 ml (виж 4.5.).

4.21. 100 ml микропомпа за подготовка на калибриращи разтвори (проверете дали точността е в рамките на 2% при претегляне).

4.22. 10 ml калибровани епруветки със стъклени запушалки.

4.23. Спектрофотометър, подходящ за извършване на измервания в ултравиолетовата област на спектъра.

4.24. Оборудване за потвърждаващ тест (6).

4.24.1. Изплакната в киселина 100 ml разделителна фуния с тефлонов спирателен кран.

4.24.2. Загряващ блок, 40 до 50 °C.

5. Процедура

5.1. Подготовка на пробата

Смелете пробата така, че тя да преминава през ситото (4.2)

5.2. Количество за теста

Претеглете 50 g от приготвената проба за теста в конична колба (4.16).

5.3. Извличане

Добавете 25 g целит (3.8), 250 ml хлороформ (3.1) и 25 ml вода към количеството, подготвено за теста (5.2). Запушете колбата и разклащайте в продължение на 30 минути в механичен шейкър (4.3). Филтрирайте през нагъната филтърна хартия (4.14). Вземете 50 ml от филтратата. Ако е необходимо, вземете аликвотно количество от филтратата и разредете до 50 ml с хлороформ така, че концентрацията на алфатоксин В1 да не е по-голяма от 4 ng/ml.

5.4. Пречистване (процедурата следва да се извърши без съществени прекъсвания).

Предупреждение:

- защитете лабораторията, където се извършват анализите, съответно от дневна светлина. Това може да се постигне ефективно чрез използване на:

- (i) Ултравиолетово абсорбиращо фолио върху прозорци в комбинация с убита светлина (не директна слънчева светлина);
- (ii) Завеси или транспаранти в комбинация с изкуствена светлина (флуоресцентни лампи са приемливи).

- Алфатоксин, съдържащ разтвори, следва да бъде предпазен от светлина дотолкова, доколкото е възможно (пазете на тъмно, използвайте алуминиево фолио).

5.4.1. Флорисил SEP-ПАК пречистване

5.4.1.1. Подготовка на системата колона-гилза.

Закрепете спирателния кран (4.18) към по-късия край на Флорисиловата гилза (3.9) (виж фигура 1). Промийте гилзата и продължете, като вземете 10 ml хлороформ (3.1) и прекарайте 8 ml чрез спирателния кран бързо през гилзата, като използвате спринцовка (4.19). Закрепете по-дългия край на гилзата към стъклена колона (4.17) и прекарайте останалите 2 ml хлороформ през гилзата в колоната. Затворете спирателния кран. Отстранете спринцовката.

5.4.1.2. Пречистване

Добавете филтратата, събран в 5.3 в системата колона-гилза и подсушете чрез утаяване. Изплакнете с 5 ml хлороформ (3.1), след това с 20 ml етанол (3.2). Почистете елюатите. По време на тези действия се уверете, че системата колона-гилза не изсъхва. Елюирайте алфатоксин В1 с 40 ml ацетоново-водна смес (3.5.1) и приберете всички елюат в облодънната колба на ротационния изпарител (4.4). Сгъстявайте елюата в ротационния изпарител при 40 °C до 50 °C, докато спре да се отделя ацетон. (Забележка: приблизително 0,5 ml от течността остава в колбата в този случай. Експерименти показват, че понататъшно изпаряване не е безопасно и че когато остане 0,5 ml от течността, няма значително количество ацетон. Остатъците от ацетон могат да доведат до

загуби на алфатоксин В1 при С18 гилзата). Добавете 1 ml метанол (3.2), завъртете колбата, за да се отложи алфатоксин В1 по стените на колбата, добавете 4 ml вода и разбъркайте. Разглобете и отстранете гилзата. Изплакнете стъклената колона с вода и продължете с С18 пречистването.

5.4.2. С18 SEP-РАК пречистване

5.4.2.1. Приготвяне на системата колона-гилза. Закрепете спирателния кран (4.18) към по-късия край на С18 гилзата (3.10) (виж фигура 1). Заредете гилзата и отстранете всички въздух, като прокарате 10 ml метанол (3.2) посредством спирателния кран бързо през гилзата със спринцовка (4.19) (Въздушните балончета в гилзата са видими като светли петна върху останалия сивкав фон). Вземете 10 ml вода и прекарайте 8 ml през гилзата (Избягвайте внасянето на въздух в гилзата при преминаването от метанол към вода). Закрепете по-дългия край на гилзата към стъклена колона (4.17) и прекарайте останалите 2 ml вода през гилзата в колоната. Затворете спирателния кран. Отстранете спринцовката.

5.4.2.2. Пречистване

Прехвърлете събрания при 5.4.1.2 екстракт количествено в стъклената колона (4.17), изплакнете колбата двукратно с 5 ml вода/метанолова смес (3.5.2) и подсушете чрез утаяване. По време на тези действия се уверете, че системата колона-гилза не изсъхва. (Когато се появяват въздушни мехурчета в конструкцията близо до гилзата, спрете притока и запушете върха на стъклената колона, за да отстраните въздушните балончета. След това продължете). Елюируйте с 25 ml вода/метанолова смес. Отстранете елюата. Елюируйте алфатоксина В1 с 50 ml вода/ацетонова смес (3.5.3) и съберете целия елюат в мерителна колба с обем 50 ml. Допълнете до марката с вода и разбъркайте: полученият тестов разтвор се използва за хроматограия (5.5).

Предупреждение: Филтрирането на окончателния екстракт преди ВПТХ обикновено не е необходимо. Ако се приеме, че е необходимо, целулозните филтри не бива да бъдат използвани, тъй като те могат да доведат до загуби на алфатоксин В1. Тефлонови филтри са приемливи.

5.5. Високопроизводителна течна хроматограия

(Виж Фигура 2 за оборудването). Осигурете достатъчно време за осигуряване на условия и стабилизиране на инструментите.

Забележка 1:

Дебитът, даван за мобилната фаза и след-колонния реактив са само като указание. Те може да не се регулират в зависимост от характеристиките на ВПТХ колоната.

Забележка 2:

Индикаторът, характеризиращ алфатоксин В1 зависи от температурата, следователно следва да се извърши компенсиране за дрейфа (виж Фигура 3).

Чрез инжектиране на определено количество алфатоксин В1, еталонен разтвор (3.13.3), на редовни интервали (например всяко трето инжектиране), пиковите стойности на алфатоксин В1 между тези еталонни разтвори могат да бъдат коригирани, като се използват средни стойности, чрез които се осигурява така, че разликата между характеристиките на последователните еталонни разтвори е много малка ($< 10\%$). Следователно, инжектиранията трябва да се извършват без прекъсвания. Ако е необходимо прекъсване, последното инжектиране преди прекъсването и първото инжектиране след прекъсването трябва да бъдат еталонни (3.13.3). Тъй като калибриращата крива е линейна и преминава през началото, количествата алфатоксин В1 в мострите на екстрактите се определят директно чрез съотношението им с най-близките стандарти.

5.5.1. ВПТХ помпени инсталации

Пригответе ВПТХ помпата (4.5) така, че да предизвиква струя от 0,5 или 0,3 mm/мин за 5 mm или 3 mm ВПТХ колона (4.6), използвана респективно в мобилната фаза (3.6).

5.5.2. Следколонни помпени инсталации

Пригответе помпата (4.7) така, че да предизвиква струя от 0,2 до 0,4 mm/min наситен йоден воден разтвор (3.7). Като приблизително ръководство: Струи от приблизително 0,4 или 0,2 ml/min са препоръчителни в комбинация със струи от 0,5 и 0,3 ml/мин при съответната мобилна фаза (3.6).

5.5.3. Флуоресцентен детектор

Пригответе флуоресцентния детектор (4.11) за намагнетизиране = 365 nm и излъчване = 435 nm (филтриращ инструмент; > 400 nm). Регулирайте детектора така, че да получава от писеца за 1 ng алфатоксин В1 приблизително 80% от пълната скала на пречупване.

5.5.4. Впръсквател

За всички разтвори инжектирайте количество от 250 ml, като следвате инструкции на производителя на впръсквателя.

5.5.5. Проверка на хроматографското разлагане

Инжектирайте хроматографския пробен разтвор (3.14.1). Падините трябва да са по-малко от 5% от сумата на пиковите височини на съседните пикове.

5.5.6. Проверете стабилността на системата. Преди всяка серия анализи, инжектирайте съответно еталонен разтвор (3.13.3) до постигане на стабилни пикови площи (Забележка: Пиковите характеристики за афлатоксин В1 между две последователни инжектирания не трябва да се различават с повече от 6%). Продължете незабавно с проверката на линейността (5.5.7).

5.5.7. Проверка на линейността. Инжектирайте афлатоксин В1 калибриращи разтвори (3.13.1 до 3.13.4). На всяко трето инжектиране използвайте еталонен разтвор (3.13.3), за да коригирате дрейфа в характеристиката (Забележка: Пиковите характеристики за този еталонен разтвор не трябва да се различават с повече от 10 % на 90 min). Коригирайте дрейфа в съответствие с формулата в 7. Калибриращата графика трябва да бъде линейна и да минава през началото, в рамките на две стандартни грешки от У-еталона. Получените стойности не бива да се различават с повече от 3% от номиналната стойност. Ако тези изисквания са изпълнени, продължете без прекъсване. Ако не, открийте и коригирайте източниците на проблеми преди да продължите.

5.5.8. Инжектиране на пробен екстракт

Инжектирайте пречистения пробен екстракт (5.4.2.2). След всеки два пробни екстракта повторете инжектирането с еталонен разтвор (3.13.3), с следната последователност: еталонен разтвор, екстракт, екстракт, еталонен разтвор, екстракт, екстракт, еталонен разтвор и т.н.

6. Потвърждаващ тест

6.1. По-нататъшна обработка на екстракта (5.4.2.2)

Добавете 5 ml разтвор на натриев хлорид (3.15.1) към окончателния екстракт, получен при 5.4.2.2. Извличайте три пъти, всеки път по 2 ml хлороформ (3.1) за една минута в разделяща фуния (4.24.1). Изсипете комбинирания екстракт от хлороформ върху приблизително 1 g натриев сулфат (3.15.2) в епруетка с обем 10 ml. Малка фуния (диаметър: 4 cm) може да се използва заедно с парче медицински памук за уплътняване, покрит с приблизително 1 g натриев сулфат.

Напоете пласта от натриев сулфат с няколко ml хлороформ и поставете полученото вещество в същата епруетка. Изпарявайте екстракта от хлороформ до изсушаване в същата епруетка, като използвате загряващ блок (4.24.2) и разтворете отново в 1 ml хлороформ.

6.2. Подготовка за вторична и тънкослойна хроматография.

Виж приложение към Директива 76/372/ЕИО на Съвета, Метод А, точка 5.6.2.

7. Изчисляване на резултатите.

Изчислете съдържанието на алфатоксин В1 (nm/kg), който се съдържа в пробата, като използвате формулата:

$$\mu\text{g/kg} = \frac{m \times V_{\text{ext}}}{V_m \times M \times \frac{V_f}{V_c}}$$

Съдържание на Алфатоксин В1 в

където:

m= количество афлатоксин В1 в ng, представено чрез В1 пика на пробата, изчислено , както следва

$$m = \frac{P(\text{sample})}{P(st_1) + P(st_2)} \times 2 r(st)$$

P (проба) = пикова площ на афлатоксин В1 за пробата

P(st.1) = пикова площ афлатоксин В1, идващ от предходното инжектиране на еталонен разтвор (3.13.3)

P (st2)= пикова площ на афлатоксин В1, идващ от следващото инжектиране на еталонен разтвор (3.13.3)

r (st) = инжектирано количество афлатоксин В1 в еталонния разтвор (3.13.3) в ng

Vm= обем на инжектирания пробен екстракт в ml

Ve xt= краен обем пробен екстракт в ml, отчитащ всяко направено разреждане (5.3)

M= маса на пробата в грамове

Vf= обем филтрат, прехвърлен към гилзата Флорисил (5.4.1.2) в ml

Vc= обем хлороформ, използван за екстрахирането на пробата в ml.

Ако процедурата се спазва както в този протокол, формулата се свежда до:
афлатоксин В1 съдържание в mg/kg= 20 x m.

7.1. Изчисления на резултатите могат също да се извършат чрез измерване на пиковите височини.

8. Повторяемост

Виж под 10.1.

9. Възпроизводимост

Виж под 10.1.

10. Наблюдения

10.1. Точност

Съвместно проучване⁶, засягащо международното равнище на смесените хранителни добавки даде резултатите за повторяемостта и възпроизводимостта, показани в Таблица 1. Терминът повторяемост (r), използван тук, се определя като най-голямото съотношение, което е незначително при 95% вероятно ниво за сравнение между две разчитания на една и съща проба в една и съща лаборатория при подобни условия. Терминът възпроизводимост (R) се определя по подобен начин за сравнението между две различни лаборатории. В съответствие с ISO 3534 – 1977, 2.35⁷ и Решение 89/610/ЕИО на Комисията⁸, r и R също са показани в таблица 1 в случаите при коефициенти на отклонение.

⁶ Egmond, H.P. van, Heiserkamp, S.H. и Paulsch, W.E. (1991). Добавки към храни и примеси 8, 17-29.

⁷ ISO 3534-1977.

⁸ ОВ L 351, 2.12.1989 г., стр. 39.

Таблица 1

Повторяемост (r) и възпроизводимост (R), изразени като съотношение и
съответни коефициенти на отклонение
(15 лаборатории)

Ниво (Lg/kg)	r	R	CV_{r^*} (%)	CV_{R} (%)
8 и 14	1,4	1,7	11	18

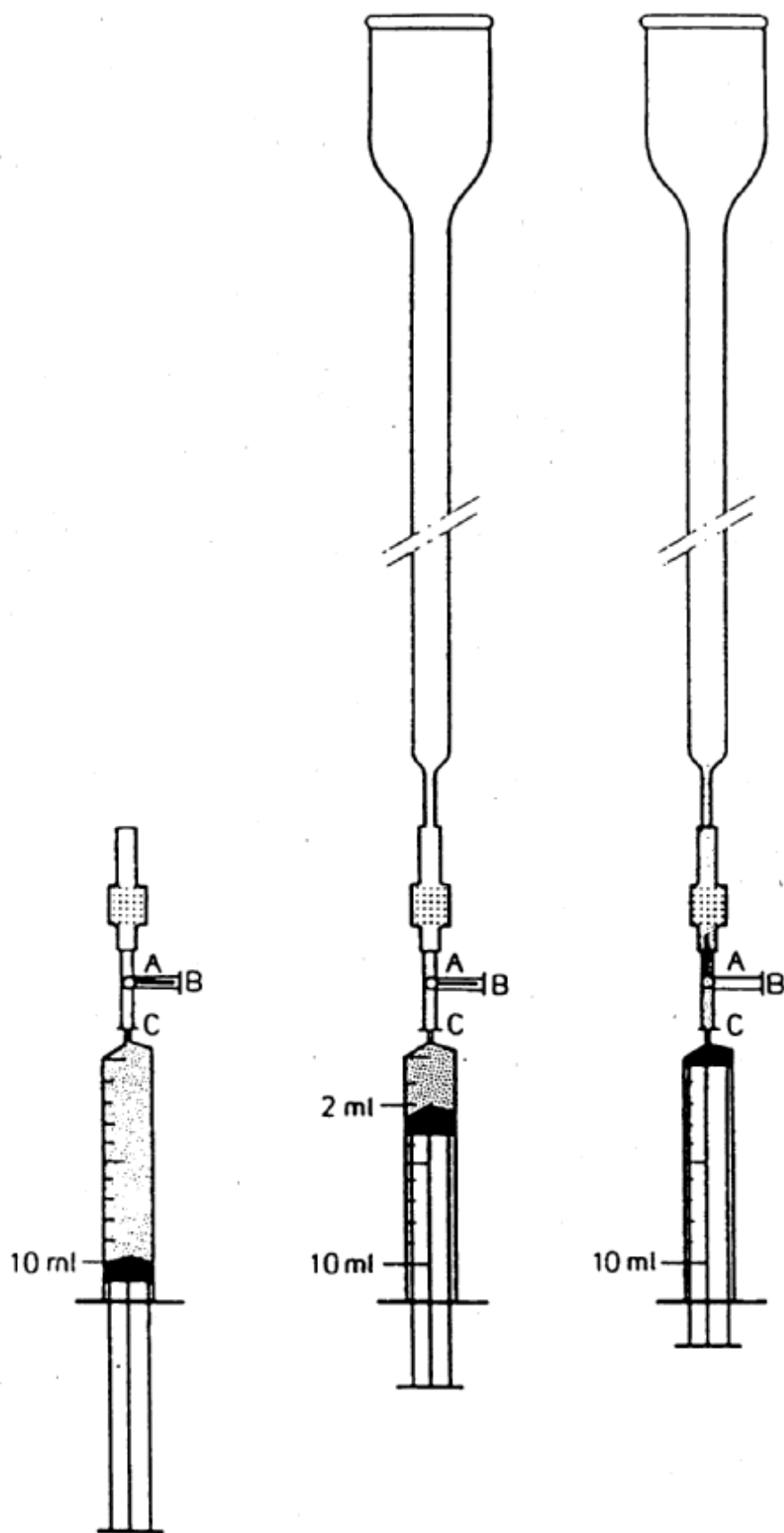
*CV = коефициент на отклонение

10.2. Стабилизация на хлороформ (3.1)

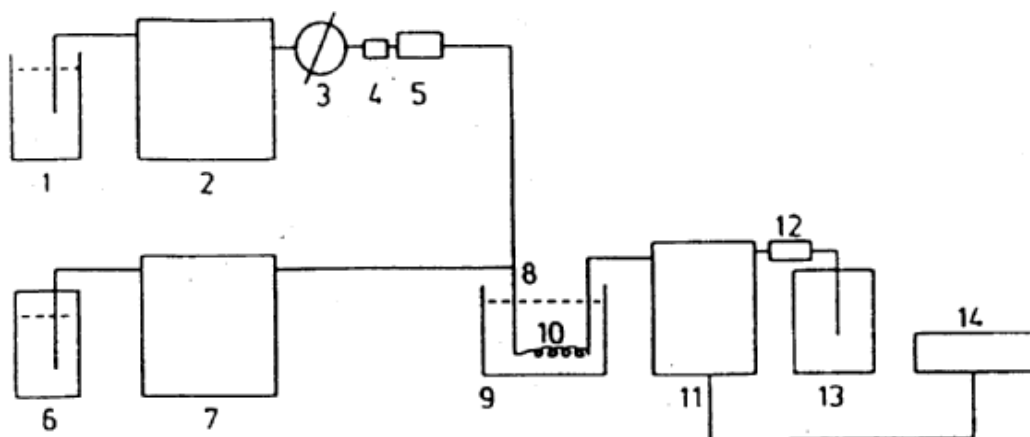
Адсорбционните характеристики на Флорисиловата гилза могат да бъдат променени, ако се използват стабилизатори, различни от етанол. Това следва да бъде проверено в съответствие с 10.3, където описаният хлороформ не е в наличност.

10.3. Точност

Правилното прилагане на метода се проверява чрез извършване на съвсем същите измервания върху сертифицирани еталонни материали. Ако това не е възможно, прилагането на метода следва да бъде проверено чрез съответни опити, извършени върху подсилени чисти проби. Отклонението от средните нива на действителните стойности, изразени като процент от действителната стойност, не следва да се намират извън границите – 20 до +10%.

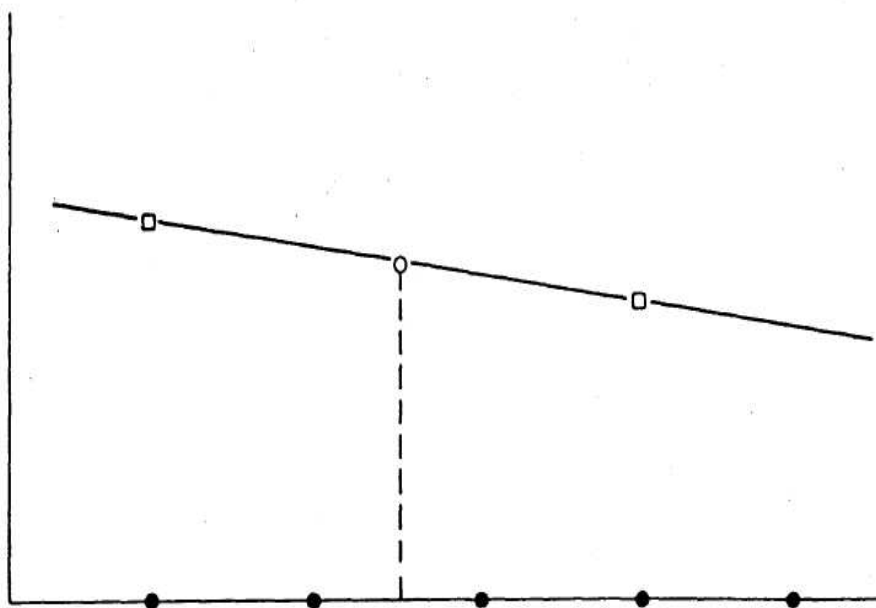


Фигура 1: Система колона-гилза



1. Мобилна фаза
2. Помпа
3. Инжекционен клапан
4. Предпазна колона
5. ВПТХ колона за анализ
6. Наситен йоден разтвор
7. Помпа за реактив
8. Т-връзка
9. Вана с термостатичен контрол
10. Реакционен змиевик
11. Флуоресцентен детектор
12. Ограничител
13. Отпадък
14. Записващо лентово устройство/интегратор.

Фигура 2: Технологична схема на системата за течна хроматография с последваща колона за йодна дериватизация



характеристика
 средно ниво на съседно еталонни разтвори
 време
 еталонен разтвор
 екстракт (или калибриращ)

Фигура 3: Компенсация на дрейфа в характеристика на афлатоксин В1 чрез инжектиране на еталонен разтвор (3.13.3) на редовни интервали”