

229

Na temelju članka 17. stavak 2. i članka 72. Zakona o hrani ("Službeni glasnik BiH", broj 50/04) i članka 17. Zakona o Vijeću ministara Bosne i Hercegovine ("Službeni glasnik BiH", br. 30/03, 42/03, 81/06, 76/07, 81/07, 94/07 i 24/08), Vijeće ministara Bosne i Hercegovine, na prijedlog Agencije za sigurnost hrane Bosne i Hercegovine u suradnji s nadležnim tijelima entiteta i Brčko Distrikta Bosne i Hercegovine, na 113 sjednici, održanoj 21. siječnja 2010. godine, donijelo je

PRAVILNIK

O MATERIJALIMA I PREDMETIMA KOJI SADRŽE VINIL Klorid MONOMER I NAMIJENJENI SU ZA DODIR S HRANOM

DIO PRVI - OPĆE ODREDBE

Članak 1.
(Predmet)

Pravilnikom o materijalima i predmetima koji sadrže vinil klorid monomer i namijenjeni su za dodir s hranom (u daljnjem tekstu: Pravilnik) propisuje se prisutnost vinil klorid monomera unutar i moguća migracija iz materijala i predmeta koji su načinjeni od vinil klorid polimera ili kopolimera (u daljnjem tekstu: materijali i predmeti), a koji su u svom konačnom stanju namijenjeni za dolazak u dodir s hranom ili koji su u dodiru s hranom.

Članak 2.
(Opći uvjeti)

- (1) Materijali i predmeti ne smiju sadržavati količinu vinil klorid monomera koja premašuje razinu utvrđenu u Aneksu I., koji je sastavni dio ovoga Pravilnika.
- (2) Materijali i predmeti ne smiju prenijeti na hranu koja je u dodiru ili je dovedena u dodir s tim materijalima i predmetima vinil klorid, koji je moguće detektirati metodom sukladnom kriterijima utvrđenim u Aneksu II., koji je sastavni dio ovog Pravilnika.

Članak 3.
(Metode analize)

- (1) Potrebna analiza za službenu kontrolu razine vinil klorid monomera u materijalima i predmetima namijenjenim za dodir s hranom, koji se navode kao materijali i predmeti u Dodaku III. koji je sastavni dio ovoga Pravilnika, izvodi se sukladno s metodom opisanom u Aneksu III.
- (2) Potrebna analiza za službenu kontrolu razine vinil klorida koji ispuštaju materijali i predmeti u hranu izvodi se sukladno s metodom opisanom u Aneksu IV., koji je sastavni dio ovoga Pravilnika.

DIO DRUGI - PRIJELAZNE I ZAVRŠNE ODREDBE

Članak 4.
(Službene kontrole)

Službene kontrole i inspeksijski nadzor nad provedbom ovoga Pravilnika provodit će se na način kako je to propisano važećim propisima.

Članak 5.
(Stupanje na snagu)

Ovaj Pravilnik stupa na snagu osmoga dana od dana objave u "Službenom glasniku BiH".

VM broj 115/10
21. siječnja 2010. godine
Sarajevo

Predsjedatelj
Vijeća ministara BiH
Dr. Nikola Špirić, v. r.

ANEKS I.

NAJVIŠA RAZINA VINIL Klorid MONOMERA U MATERIJALIMA I PREDMETIMA

Jedan miligram po kilogramu u gotovom proizvodu.

ANEKS II.

KRITERIJI KOJI SE PRIMJENJUJU NA METODU ODREĐIVANJA RAZINE VINIL Klorid U MATERIJALIMA I PREDMETIMA I ODREĐIVANJA VINIL Klorid KOJI OTPUSTE MATERIJALI I PREDMETI

- (1) Razina vinil klorida u materijalima i predmetima i razina vinil klorida koji otpuste materijali i predmeti u hranu određuje se kromatografijom u plinskoj fazi koristeći *headspace* metodu.
- (2) U svrhu određivanja vinil klorida koji otpuste materijali i predmeti u hranu, postavlja se granica detekcije od 0,01 mg/kg.
- (3) Vinil klorid koji otpuste materijali i predmeti u hranu u načelu se određuje u hrani. Kada se pokaže da je određivanje u određenoj hrani nemoguće iz tehničkih razloga, može se odobriti određivanje s modelskim otopinama (simulantima) za tu specifičnu hranu.

ANEKS III.

ODREĐIVANJE RAZINE VINIL Klorid MONOMERA U MATERIJALIMA I PREDMETIMA

POGLAVLJE I. OPSEG I POLJE PRIMJENE

Ovom se metodom određuje razina vinil klorid monomera u materijalima i predmetima.

POGLAVLJE II. PRINCIP

Razina vinil klorid monomera (VC) u materijalima ili predmetima određuje se pliskom kromatografijom koristeći *headspace* metodu nakon otapanja ili suspenzije uzorka u N,N-dimetilacetamidu.

POGLAVLJE III. REAGENSI

- (1) Vinil klorid (VC), čistoće veće od 99,5 % (v/v).
- (2) N,N-dimetilacetamid (DMA), bez ikakvog onečišćenja koje ima isto vrijeme retencije kao VC ili kao interni standard (stavak (3) ovoga Poglavlja) u uvjetima u kojima se provodi test.
- (3) Dietil eter ili cis-2-buten, u DMA (stavak (2) ovoga Poglavlja) kao otopina internog standarda. Ti interni standardi ne smiju sadržavati bilo kakvo onečišćenje koje ima isto vrijeme retencije kao VC u uvjetima u kojima se provodi test.

POGLAVLJE IV. OPREMA

Napomena

Instrument ili dio opreme spominje se samo ako je poseban ili ako je izrađen prema posebnim specifikacijama. Uobičajena laboratorijska oprema smatra se dostupnom.

- (1) Plinski kromatogram opremljen automatskim *head-space* uzimačem uzorka ili opremom za manualno ubrizgavanje uzorka.
- (2) Detektor ionizacije plamenom ili drugi detektor koji se spominju u Poglavlju VII. ovoga Aneksa.
- (3) Kolona plinske kromatografije.
Kolona mora dozvoljavati razdvajanje vrhova u zraku, VC i internog standarda, ako se on koristi.
Nadalje, kombinirani sustav iz st. (2) i (3) ovoga Poglavlja mora omogućiti da je signal koji se dobije od otopine, koja sadrži 0,02 mg VC/litri DMA ili 0,02 mg VC/kg DMA, najmanje pet puta veći od pozadinskog šuma.
- (4) Cjevčice ili bočice za uzorke opremljene silikonskim ili butil gumenim septumima.
Kada se koriste ručne tehnike uzorkovanja, uzimanje uzorka špricom iz *headspace* prostora može uzrokovati formiranje djelomičnog vakuuma unutar cjevčice ili bočice. Dakle za ručne tehnike, pri čemu cjevčice nisu pod tlakom prije uzimanja uzorka, preporučuje se uporaba većih cjevčica.

- (5) Mikrošprice.
 (6) Hermetičke šprice za *headspace* manualno uzimanje uzorka.
 (7) Analitička vaga s točnošću do 0,1 mg.

POGLAVLJE V. POSTUPAK

UPOZORENJE: VC je opasna supstancija i nalazi se u obliku plina na sobnoj temperaturi, tako da bi se priprema otopine trebala raditi u dobro ventiliranom digestoru.

Napomena

- Potrebno je poduzeti sve potrebne mjere opreza kako bi se osiguralo da ne dođe do gubitka VC ili DMA;
- Kada se koriste ručne tehnike uzimanja uzorka, potrebno je primijeniti interni standard iz Poglavlja III. stavka (3) ovoga Aneksa;
- Kada se primjenjuje interni standard, mora se koristiti jedna te ista otopina tijekom cijelog postupka.

- (1) Priprema koncentrirane standardne otopine VC od približno 2 000 mg/kg

S tačnošću do najbližeg 0,1 mg, izvagati odgovarajuću staklenu posudu i u nju staviti određenu količinu (npr 50 ml) DMA (Poglavlje III. stavak (2) ovoga Aneksa). Ponovno izvagati. U DMA dodati određenu količinu (npr. 0,1 g) VC (Poglavlje III. stavak (1) ovoga Aneksa) u tekućem ili plinovitom stanju, lagano ga ubrizgavajući u DMA. VC se također može dodati upuhivajući ga U DMA, pod uvjetom da se koristi uređaj koji će spriječiti gubitak DMA. Ponovno izvagati do najbližeg 0,1 mg. Ostaviti dva sata kako bi se omogućilo postizanje ekvilibrija. Standardnu otopinu čuvati u hladnjaku.

- (2) Priprema razblažene standardne otopine VC

Uzeti izvaganu količinu koncentrirane standardne otopine VC (stavak (1) ovoga Poglavlja) i razblažiti je, do poznatog volumena ili poznate težine, DMA-om (Poglavlje III. stavak (2) ovoga Aneksa) ili otopinom internog standarda (Poglavlje III. stavak (3) ovoga Aneksa). Koncentracija rezultirajuće razblažene standardne otopine izražava se u mg/l odnosno mg/kg.

- (3) Priprema kalibracijske krivulje

Napomena

- Krivulja mora sadržavati najmanje sedam pari točaka,
- ponovljivost očitavanja⁽¹⁾ mora biti niža od 0,02 mg VC/l ili kg DMA,
- krivulja mora biti izračunata na temelju tih točaka tehnikom najmanjih kvadrata, tj. linija regresije mora biti izračunata primjenom sljedeće jednadžbe:

$$y = a_1 x + a_0$$

$$\text{gdje je: } a_1 = \frac{n \sum xy - (\sum x) \cdot (\sum y)}{n \sum x^2 - (\sum x)^2}$$

i:

$$a_0 = \frac{(\sum y) \cdot (\sum x^2) - (\sum x) \cdot (\sum xy)}{n \sum x^2 - (\sum x)^2}$$

gdje je

y = visina ili površina najviših točaka u bilo kojem jedinstvenom određivanju,

x = odgovarajuća koncentracija linije regresije,

n = broj provedenih određivanja (n ≥ 14),

krivulja mora biti linearna, tj. standardna devijacija (s) razlika između izmjerenih očitavanja (y_i) i odgovarajućih vrijednosti očitavanja koje su izračunate s linije regresije (z_i)

podijeljeno sa srednjom vrijednošću (y) svih izmjerenih očitavanja ne smije premašivati 0,07:

To se računa s pomoću: $\frac{s}{y} \leq 0,07$

$$\text{gdje je: } s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (y_i - z_i)^2}{n-1}}$$

i:

$$y = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n y_i$$

y_i = svako pojedinačno izmjereno očitavanje,

z_i = odgovarajuća vrijednost očitavanja (y_i) na izračunatoj liniji regresije,

n ≥ 14

Pripremiti dvije serije od najmanje sedam cjevčica (Poglavlje IV. stavak (4) ovoga Aneksa). U svaku cjevčicu dodati volumen razblažene standardne otopine VC (Poglavlje V. stavak (2) ovoga Aneksa) i DMA (Poglavlje III. stavak (2) ovoga Aneksa) ili otopine internog standarda u DMA (Poglavlje III. stavak (3) ovoga Aneksa) tako da konačna koncentracija VC otopine duplikata bude približno jednaka 0; 0,050; 0,075; 0,100; 0,125; 0,150; 0,200, itd. mg/l ili mg/kg DMA i da sve cjevčice sadrže jednaku količinu DMA koja će se koristiti prema stavku (5) ovoga Poglavlja. Zapušiti cjevčice i nastaviti kako je opisano u stavku (6) ovoga Poglavlja. Konstruirati grafikon na kojem vrijednosti ordinate pokazuju površinu (ili visinu) najviših točaka VC otopine duplikata ili odnos ovih površina (ili visina) s relevantnim najvišim točkama internog standarda, a vrijednosti apscise pokazuju koncentracije VC otopine duplikata.

- (4) Validacija pripreme standardnih otopina dobivenih prema postupku iz st. (1) i (2) ovoga Poglavlja.

Ponoviti postupak opisan u st. (1) i (2) ovoga Poglavlja radi dobivanja druge standardne otopine koncentracije jednake 0,1 mg VC/l ili 0,1 mg/kg DMA ili interne otopine. Prosjek dvaju određivanja plinskom kromatografijom ove otopine ne smije se razlikovati više od 5% u odnosu na odgovarajuću točku na kalibracijskoj krivulji. Ako je razlika veća od 5%, odbijaju se sve otopine dobivene prema postupcima iz st. (1), (2), (3) i (4) ovoga Poglavlja i postupak ponavlja ispočetka.

- (5) Priprema uzoraka materijala ili predmeta

Pripremiti dvije cjevčice (Poglavlje IV. stavak (4) ovoga Aneksa). U svaku cjevčicu odmjeriti najmanje 200 mg, do najbližeg 0,1 mg, uzorka dobivenog iz jednog materijala ili predmeta koji se ispituje i koji je usitnjen na male djeliće. Pokušati osigurati da u svakoj cjevčici bude izvagana jednaka količina. Odmah zatvoriti cjevčice. Za svaki gram uzorka u svaku cjevčicu dodati 10 ml ili 10 g DMA (Poglavlje III. stavak (2) ovoga Aneksa) ili 10 ml ili 10 g otopine internog standarda (Poglavlje III. stavak (3) ovoga Aneksa). Hermetički zatvoriti bočice i nastaviti kako je opisano u stavku (6) ovoga Poglavlja.

- (6) Određivanja plinskom kromatografijom

a) Protresti cjevčice izbjegavajući kontakt sadržane tekućine i septuma (Poglavlje IV. stavak (4) ovoga Aneksa) kako bi se dobila što je moguće više homogenizirana otopina ili suspenzija uzoraka materijala ili predmeta (stavak (5) ovoga Poglavlja).

b) Staviti sve zatvorene cjevčice (st. (3), (4) i (5) ovoga Poglavlja) u vodenu kupelj na dva sata pri 60 ± 1°C kako bi se omogućilo dostizanje ekvilibrija. Ponovno protresti, prema potrebi.

c) Uzeti uzorak iz *headspace* prostora u cjevčici. Pri primjeni ručnih tehnika uzimanja uzorka mora se obratiti

pozornost na potrebu dobivanja reproduktivnog uzorka (vidi Poglavlje IV. stavak (4) ovoga Aneksa), posebno se šprica mora prethodno zagrijati do temperature uzorka. Izmjeriti površinu (ili visinu) vrhova koji se odnose na VC i na interni standard ako je bio korišten.

- d) Odgovarajućom metodom odstraniti s kolone (Poglavlje IV. stavak (3) ovoga Aneksa) višak DMA čim se vrhovi koji proizilaze od DMA pokažu na kromatogramu.

POGLAVLJE VI. IZRACUN REZULTATA

- (1) Pomoću interpolacije na krivulji pronaći nepoznatu koncentraciju i jedne i druge otopine uzorka, uzimajući u obzir otopinu internog standarda ako je bila korištena. Izračunati količinu VC u oba uzorka materijala ili predmeta koji se testira s pomoću sljedeće formule:

$$x = \frac{C \times V}{M} 1000$$

gdje je:

X = koncentracija VC u uzorku materijala ili predmeta izražena u mg/kg.

C = koncentracija VC u cjevčici koja sadrži uzorak materijala ili predmeta (vidi Poglavlje V. stavak (5) ovoga Aneksa) izražena u mg/l ili mg/kg.

V = volumen ili težina DMA u cjevčici koja sadrži uzorak materijala ili predmeta (vidi Poglavlje V. stavak (5) ovoga Aneksa) izražena u litrama ili kg.

M = količina uzorka materijala ili predmeta izražena u gramima.

- (2) Koncentracija VC u materijalu i predmetu koji se ispituje izražena u mg/kg srednja je vrijednost dviju koncentracija VC (mg/kg) određenih u stavku (1) ovoga Poglavlja pod uvjetom da je ispunjen kriterij ponovljivosti iz Poglavlja VIII.

POGLAVLJE VII. POTVRĐIVANJE RAZINE VC

U slučajevima kada sadržaj VC u materijalima i predmetima koji je izračunat na temelju Poglavlja VI. stavak (2) ovoga Aneksa premašuje najveću dopuštenu količinu, rezultati dobiveni analizom obaju uzoraka (Poglavlje V. stavak (6) i Poglavlje VI. stavak (1) ovoga Aneksa) moraju biti potvrđeni na jedan od tri načina:

- koristeći najmanje još jednu kolonu (Poglavlje IV. stavak (3) ovoga Aneksa) sa stacionarnom fazom koja ima drugačiju polarnost.

Ovaj postupak treba nastaviti do dobivanja kromatograma bez dokaza o preklapanju vrhova VC i/ili internog standarda sa sastojcima uzorka materijala ili predmeta,

- koristeći druge detektore, npr. mikroelektrolitski detektor konduktivnosti,
- koristeći masenu spektrometriju.

U ovom slučaju, ako su molekularni ioni s izvornim masama (m/e) od 62 i 64 prisutni u omjeru 3 : 1, to se s visokom vjerojatnošću može smatrati potvrdom prisutnosti VC. U slučaju dvojbe, potrebno je provjeriti cijeli maseni spektar.

POGLAVLJE VIII. PONOVLJIVOST

Razlika između rezultata dvaju određivanja (Poglavlje VI. stavak (1) ovoga Aneksa) koje je izveo jedan analitičar istovremeno ili ubrzo jedan za drugim na istom uzorku, pod istim uvjetima, ne smije premašivati 0,2 mg VC/kg materijala ili predmeta.

ANEKS IV.

ODREĐIVANJE VINIL KLORIDA KOJI ISPUŠTAJU MATERIJALI I PREDMETI U HRANU

POGLAVLJE I. OPSEG I POLJE PRIMJENE

Ovom se metodom određuje razina vinil klorida u hrani.

POGLAVLJE II. PRINCIP

Razina vinil klorida (VC) u hrani određuje se plinskom kromatografijom koristeći headspace metodu.

POGLAVLJE III. REAGENSI

- (1) Vinil klorid (VC), čistoće veće od 99,5% (v/v).

- (2) N,N-dimetilacetamid (DMA), bez ikakvog onečišćenja koja imaju isto vrijeme retencije kao VC ili kao interni standard (stavak (3) ovoga Poglavlja) u uvjetima u kojima se provodi test.
- (3) Dietil eter ili cis-2-buten, u DMA (stavak (2) ovoga Poglavlja) kao otopina internog standarda. Ti interni standardi ne smiju sadržavati bilo kakvo onečišćenje koje ima isto vrijeme retencije kao VC u uvjetima u kojima se provodi test.
- (4) Destilirana voda ili demineralizirana voda ekvivalentne čistoće.

POGLAVLJE IV. OPREMA

Napomena:

Instrument ili dio opreme navodi se samo ako je on poseban ili ako je izrađen prema posebnim specifikacijama. Uobičajena laboratorijska oprema smatra se dostupnom.

- (1) Plinski kromatograf opremljen automatskim headspace uzimačem uzorka ili opremom za manualno ubrizgavanje uzorka.
- (2) Detektor ionizacije s plamenom ili drugi detektori koji se spominju u Poglavlju VII.
- (3) Kolona plinske kromatografije.
Kolona mora dozvoljavati razdvajanje vrhova zraka, VC i internog standarda, ako se koristi.
Nadalje, kombinirani sustav iz st. (2) i (3) ovoga Poglavlja mora omogućiti da je signal koji se dobije od otopine, koja sadrži 0,005 mg VC/litru DMA ili 0,005 mg VC/kg DMA, jednak najmanje peterostruko vrijednosti pozadinskog šuma.
- (4) Cjevčice ili bočice za uzorke opremljene silikonskim ili butil gumenim septumima.
Kada se koriste ručne tehnike uzorkovanja, uzimanje uzorka špricom iz headspace prostora može uzrokovati formiranje djelomičnog vakuuma unutar cjevčice ili bočice. Dakle za ručne tehnike pri kojima cjevčice nisu pod tlakom prije uzimanja uzorka preporučuje se uporaba većih cjevčica.
- (5) Mikrošprice.
- (6) Hermetičke šprice za headspace manualno uzimanje uzorka.
- (7) Analitička vaga s točnošću do 0,1mg.

POGLAVLJE V. POSTUPAK

UPOZORENJE: VC je opasna supstancija i nalazi se u plinovitom stanju pri normalnoj temperaturi, tako da bi se priprema otopine trebala raditi u dobro ventiliranom digestoru.

Napomena:

Potrebno je poduzeti sve potrebne mjere opreza kako bi se osiguralo da ne dođe do gubitka nimalo VC ili DMA.

Kada se koriste manualne tehnike uzimanja uzorka, potrebno je primijeniti interni standard (Poglavlje III. stavak (3) ovoga Aneksa).

Pri primjeni internog standarda mora se koristiti ista otopina tijekom cijelog postupka.

- (1) **Priprema standardne otopine VC (otopina A)**

- a) Koncentrirana standardna otopina VC od približno 2 000 mg/kg

S točnošću do najbliže 0,1 mg, izvagati odgovarajuću staklenu posudu i u nju staviti određenu količinu (npr. 50 ml) DMA (Poglavlje III. stavak (2) ovoga Aneksa). Ponovno izvagati. U DMA dodati određenu količinu (npr. 0,1 g) VC (Poglavlje III. stavak (1) ovoga Aneksa) u tekućem ili plinovitom stanju, lagano ga ubrizgavajući u DMA. VC se također može dodati upuhivajući ga u DMA, pod uvjetom da se koristi uređaj koji će spriječiti gubitak DMA. Ponovno izvagati do najbliže 0,1 mg. Ostaviti dva sata kako bi se omogućilo postizanje ravnoteže. Ako se koristi interni standard, dodati interni standard tako da je koncentracija internog standarda u koncentriranoj standardnoj otopini VC jednaka kao i u otopini internog standarda pripremljenog prema postupku iz Poglavlja III. stavka (3) ovoga Aneksa. Standardnu otopinu čuvati u hladnjaku.

b) Priprema razblažene standardne otopine VC

Uzeti izvaganu količinu koncentrirane standardne otopine VC (točka a) ovoga stavka) i razblažiti je, do poznatog volumena ili poznate težine, DMA-om (Poglavlje III. stavak (2) ovoga Aneksa) ili otopinom internog standarda (Poglavlje III. stavak (3) ovoga Aneksa). Koncentracija rezultirajuće razblažene standardne otopine izražava se u mg/l odnosno mg/kg.

c) Priprema krivulje očitavanja s otopinom A

Napomena:

Krivulja mora sadržavati najmanje sedam pari točaka.

Ponovljivost očitavanja (¹) mora biti niža od 0,002 mg VC/l ili kg DMA. Krivulja mora biti izračunata na temelju ovih točaka tehnikom najmanjih kvadrata, tj. linija regresije mora biti izračunata s pomoću sljedeće jednadžbe:

$$y = a_1x + a_0$$

$$\text{gdje je: } a_1 = \frac{n \sum xy - (\sum x) \cdot (\sum y)}{n \sum x^2 - (\sum x)^2}$$

i:

$$a_0 = \frac{(\sum y) \cdot (\sum x^2) - (\sum x) \cdot (\sum xy)}{n \sum x^2 - (\sum x)^2}$$

gdje je

y = visina ili površina najviših točaka u bilo kojem jedinstvenom određivanju,

x = odgovarajuća koncentracija linije regresije,

n = broj provedenih određivanja (n ≥ 14),

krivulja mora biti linearna, tj. standardna devijacija (s) razlika između izmjerenih očitavanja (y₁) i odgovarajućih vrijednosti očitavanja koje su izračunate s linije regresije (z₁) podijeljeno sa srednjom vrijednošću (y) svih izmjerenih očitavanja ne smije premašivati 0,07:

To se računa s pomoću: $\frac{s}{y} \leq 0,07$

$$\text{gdje je: } s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (y_i - z_i)^2}{n-1}}$$

i:

$$y = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n y_i$$

y_i = svako pojedinačno izmjereno očitavanje,

z_i = odgovarajuća vrijednost očitavanja (y_i) na izračunatoj liniji regresije,

n = ≥ 14

Pripremiti dvije serije od najmanje sedam cjevčica (Poglavlje IV. stavak (4) ovoga Aneksa). U svaku cjevčicu dodati volumen razblažene standardne otopine (točka b) ovoga stavka) i DMA (Poglavlje III. stavak (2) ovoga Aneksa) ili otopine internog standarda u DMA (Poglavlje III. stavak (3) ovoga Aneksa) tako da konačna koncentracija VC otopine duplikata bude približno jednaka 0; 0,005; 0,010; 0,020; 0,030; 0,040; 0,050, itd., mg/l ili mg/kg DMA i da sve cjevčice sadrže jednaku količinu. Količina razblažene standardne otopine VC (točka b) ovoga stavka) mora biti takva da odnos između ukupnog volumena (?) dodane otopine VC i količine (g ili ml) DMA, ili otopine internog standarda (Poglavlje III. stavak (3) ovoga Aneksa) ne prelazi pet. Zapušiti cjevčice i nastaviti kako je opisano u stavku (4)

toč. b), c) i e) ovoga Poglavlja. Konstruirati grafikon na kojem vrijednosti ordinate pokazuju površinu (ili visinu) najviših točaka VC otopine duplikata ili odnos ovih površina (ili visina) i relevantnih najviših točaka internog standarda, a vrijednosti apscise pokazuju koncentracije VC otopine duplikata.

(2) Validacija pripreme standardnih otopina dobivenih prema postupku iz stavka (1) ovoga Poglavlja.

a) Priprema druge standardne otopine VC (otopina B)

Ponoviti postupak opisan u stavku (1) toč. a) i b) ovoga Poglavlja radi dobivanja druge standardne otopine, u ovome slučaju koncentracije približno jednake 0,02 mg VC/l, ili 0,02 mg VC/kg DMA ili otopine internog standarda. Dodati ovu otopinu u dvije cjevčice (Poglavlje IV. stavak (4) ovoga Aneksa). Hermetički zatvoriti bočice i nastaviti kako je opisano u stavku (4) toč. b), c) i e) ovoga Poglavlja.

b) Validacija otopine A

Ako se prosjek dvaju određivanja plinskom kromatografijom koji se odnose na otopinu B (stavak (2) točka a) ovoga Poglavlja) ne razlikuje više od 5% u odnosu na odgovarajuću točku na krivulji očitavanja dobivenu u stavku (1) točki c) ovoga Poglavlja, otopina A je validirana. Ako je razlika veća od 5%, odbijaju se sve otopine dobivene u st. (1) i (2) ovog Poglavlja i postupak ponavlja od početka.

(3) Priprema krivulje adicije

Napomena:

Krivulja mora sadržavati najmanje sedam pari točaka.

Krivulja mora biti izračunata na temelju tih točaka tehnikom najmanjih kvadrata (stavak (1) točka c) ovoga Poglavlja).

Krivulja mora biti linearna, tj. standardna devijacija (s) razlika između izmjerenih očitavanja (y₁) i odgovarajućih vrijednosti očitavanja koje su izračunate s linije regresije (z₁) podijeljeno sa srednjom vrijednošću (y) svih izmjerenih očitavanja ne smije premašivati 0,07 (stavak (1) točka c) ovoga Poglavlja).

a) Priprema uzorka

Uzorak hrane koja će se analizirati mora biti reprezentativan hrani koja se daje na analizu. Hrana mora biti izmiješana ili isjeckana na male komadiće i izmiješana prije nego li se uzme uzorak.

b) Postupak

Pripremiti dvije serije od najmanje sedam cjevčica (Poglavlje IV. stavak (4) ovoga Aneksa). U svaku cjevčicu dodati količinu, ne manju od 5 g, uzorka dobivenog iz hrane koja se ispituje (točka a) ovoga stavka). Osigurati da se u svaku cjevčicu doda jednaka količina. Odmah zatvoriti cjevčice. Za svaki gram uzorka u svaku cjevčicu dodati 1 ml, po mogućnosti destilirane vode, ili demineralizirane vode barem ekvivalentne čistoće, ili odgovarajućeg otapala ako je to potrebno.

(Napomena: kada se ispituje homogena hrana, nije potrebno dodavati destiliranu ili demineraliziranu vodu).

U svaku cjevčicu dodati volumen razblažene standardne otopine VC (stav (1) točka b) ovoga Poglavlja) koja sadrži interni standard (Poglavlje III. stavak (3) ovoga Aneksa), ako se smatra korisnim, tako da su koncentracije VC dodane u cjevčice jednake 0; 0,005; 0,010; 0,020; 0,030; 0,040; 0,050 itd. mg/kg hrane. Osigurati da je ukupan volumen DMA ili DMA koji sadrži otopinu internog standarda (Poglavlje III. stavak (3) ovoga Aneksa) jednak u svakoj cjevčici. Količina razblažene standardne otopine VC (stavak (1) točka b) ovoga Poglavlja) i dodanog DMA, tamo gdje je korišten, mora biti takva da je odnos između ukupnog volumena (μl) tih otopina i količine (g) hrane koja se nalazi u cjevčici što je moguće niži, ali ne smije biti veći od pet i mora biti jednak u svim cjevčicama. Zapušiti cjevčice i nastaviti postupak kako je opisano u stavku (4) ovoga Poglavlja.

(4) Određivanja plinskom kromatografijom

- a) Protresti cjevčice izbjegavajući kontakt sadržane tekućine i septuma (Poglavlje IV. stavak (4) ovoga Aneksa) kako bi se dobila što je moguće više homogenizirana otopina ili suspenzija uzoraka hrane.
- b) Staviti sve zatvorene cjevčice (st. (2) i (3) ovoga Poglavlja) u vodenu kupelj na dva sata pri $60 \pm 1^\circ\text{C}$ kako bi se omogućilo dostizanje ekvilibrija. Ponovno protresti, prema potrebi.
- c) Uzeti uzorak iz headspace prostora u cjevčici. Kada se koriste manualne tehnike uzimanja uzorka, mora se obratiti pozornost na potrebu dobivanja reproduktivnog uzorka (vidi Poglavlje IV. stavak (4) ovoga Aneksa), posebno se šprica mora prethodno zagrijati do temperature uzorka. Izmjeriti površinu (ili visinu) vrhova koji se odnose na VC i na interni standard ako je bio korišten.
- d) Konstruirati grafikon na kojem vrijednosti ordinate pokazuju površinu (ili visinu) najviših točaka VC otopine ili odnos tih površina (ili visina) i relevantnih najviših točaka internog standarda, a vrijednosti apscise pokazuju količinu dodanog VC (mg) koja se odnosi na količinu odvaغانog uzorka hrane u svakoj cjevčici (kg). Izmjeriti presjek apscise na grafikonu. Tako dobivena vrijednost jest koncentracija VC u uzorku hrane koja se ispituje.
- e) Odstraniti s kolone (Poglavlje IV. stavak (3) ovoga Aneksa) višak DMA odgovarajućom metodom čim se vrhovi koji proizilaze iz DMA pokažu na kromatogramu.

POGLAVLJE VI. REZULTATI

VC koji ispuštaju materijali i predmeti u hranu koja se ispituje izražen mg/kg određuje se za srednju vrijednost dvaju određivanja (Poglavlje V. stavak (4) ovoga Aneksa), pod uvjetom da je ispunjen kriterij ponovljivosti iz Poglavlja VIII.

POGLAVLJE VII. POTVRĐIVANJE VC

U slučajevima kada VC koji ispuste materijali i predmeti u hranu, kako je izračunato na temelju Poglavlja VI., premašuje kriterij iz članka 2. stavka (2) ovoga Pravilnika, vrijednosti dobivene određivanjem obaju uzoraka (Poglavlje V. stavak (4) ovoga Aneksa) moraju biti potvrđene na jedan od tri načina:

- (i) Korištenjem najmanje još jedne kolone (Poglavlje IV. stavak (3) ovoga Aneksa) sa stacionarnom fazom koja ima drugačiju polarnost.

Ovaj postupak potrebno je nastaviti do dobivanja kromatograma bez dokaza o preklapanju vrhova VC i/ili internog standarda sa sastojcima uzorka hrane;

- (ii) Korištenjem drugih detektora, npr. mikroelektrolitskog detektora konduktivnosti;
- (iii) Korištenjem masene spektrometrije, u ovome slučaju ako su molekularni ioni s izvornim masama (m/e) od 62 i 64 prisutni u omjeru 3 : 1, to se s visokom vjerojatnošću može smatrati potvrdom prisutnosti VC. U slučaju dvojbe, potrebno je provjeriti cijeli maseni spektar.

POGLAVLJE VIII. PONOVLJIVOST

Razlika između rezultata dvaju određivanja (Poglavlje V. stavak (4) ovoga Aneksa) koja je proveo jedan analitičar istovremeno ili ubrzo jedan za drugim na istom uzorku, pod jednakim uvjetima, ne smije premašivati 0,003 mg VC/kg hrane.
