

Українська лабораторія якості та безпеки продукції АПК
Національного університету біоресурсів та природокористування України

**Сучасні вимоги до організації та виконання
вимірювань залишкових кількостей
мікотоксинів для сертифікації продукції
та її виробництва**

Доповідач: к.х.н., Наталія Юріївна Грибова

науково-практичний семінар «Мікотоксини. Теорія і практика ідентифікації» 22 березня 2017 року

Виконання вимірювань в лабораторії

- 1. Персонал лабораторії (підготовка та підвищення кваліфікації)***
- 2. Інфраструктура лабораторії (робота із зразком, умови навколишнього середовища, робота із підготованою пробою та екстрактом)***
- 3. Вимірювання та якість результатів (методологія, внутрішньолабораторний та міжлабораторний контроль)***

Лабораторний контроль МІКРОКІЛЬКОСТЕЙ МІКОТОКСИНІВ		
Назва мікотоксину	Норми мікотоксинів, мг/кг, при 12 % вологості зерна	
	ДСТУ 3768:2010	Постанова ЄС №1881/2006
афлатоксин В1	0,005	0,002
Зеараленон	1,0	0,1
Т-2 токсин	0,1	0,6 (для суми Т-2 і НТ-2)
дезоксиніваленон (вомітоксин)	0,5	1,750 (для тверд. п.) 1,250 (для м'якої п.)
охратоксин А	0,005	0,005



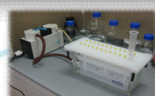
Відповідність та впевненість у вимірювальному обладнанні

Обладнання для вимірювання мікрокількостей

Рідинні хроматографи:

- ✓ **Shimadzu-LC 20A** з ФЛД;
- ✓ **DIONEX-Summit 3200-Q-TRAP** (ВЭЖХ/МС/МС);
- ✓ **DIONEX Ultimate 3000** з УФ та ФЛД;
- ✓ **DIONEX Ultimate 3000 Dual-Gradient Analyt Pump** з ФЛД.

<http://www.quality.ua>



Відповідність та впевненість у робочій методикі для вимірювання мікотоксинів певного виду продукції

Вимірювання за РМ, що відповідають критеріям (Директива ЄС 2002/657/ЄС):

- 1. Лінійність (калібрувальна крива).**
- 2. Межа виявлення (LOD).**
- 3. Межа кількісного визначення (LOQ).**
- 4. Специфічність (селективність).**
- 5. Внутрішньолабораторна відтворюваність.**
- 6. Правильність (повернення).**

- **Межа виявлення (limit of detection, LOD)** – це найнижча межа аналізу, що може бути ідентифікована на даному приладі за даним методом з прийнятною статистичною вірогідністю.
- **Межа кількісного визначення (limit of quantitation, LOQ)** – найнижча концентрація аналізу в зразку (мкг/кг), яку можна виміряти даним методом з прийнятною статистичною вірогідністю.
- **Специфічність і селективність (Selectivity & Specificity)** - це властивість методу визначати точно аналіт, який нас цікавить в присутності інших компонентів у пробі при стандартних умовах випробувань.
- **Лінійність** – це здатність методикі (у межах діапазону застосування) давати величини, прямо пропорційні концентрації (кількості) аналізованої речовини у зразку. **Або** це наявність лінійної залежності аналітичного сигналу від концентрації або кількості речовини, що визначається в аналізованій пробі в межах аналітичної області методикі.

Внутрішньолабораторна відтворюваність

Для визначення даного критерію потрібно виконати наступне:

- холосту матрицю збагатити афлатоксином В₁ у концентраціях, еквівалентних 0,5; 1 та 1,5 МДР, тобто: 1; 2 та 3 мкг/кг. Кожна концентрація має бути проаналізована в 10 паралелях.
- повторити даний експеримент в інших умовах (зміна температури оточуючого середовища, партії реактивів) та з іншим оператором.
- після цього потрібно вирахувати концентрацію кожного проаналізованого зразка і обрахувати середню концентрацію, стандартне відхилення та коефіцієнт варіації (CV %) у збагачених зразках.

$$CV = \frac{CB}{Kc} \times 100, \%$$

де: CB – стандартне відхилення;

Kc – середнє значення отриманої концентрації аналіту.

Перерахунки зроблено за наступною формулою:

$$K_1 = K \times 2, \text{ мкг/кг}$$

K₁ – концентрація афлатоксину В₁, мкг/кг;

K – концентрація афлатоксину В₁, отримана в результаті хроматографічного аналізу проби, нг/мл.

(K x 2), так як K - це концентрація в 1 мл, відповідно ми отримуємо концентрацію нг/мл, а 2 це коефіцієнт перерахунку, згідно методики що ідентично мкг/кг);

- **Правильність (Trueness)** – відображає близькість великої кількості результатів вимірювання до істинного (дійсного) або прийнятого еталонного значення.
- **Повернення (Recovery)** – це відсоток від справжньої концентрації аналіту, яка повернулася в ході аналітичного методу. Визначається у процесі валідації, у тому випадку, якщо не доступний сертифікований референс-матеріал.
- **Визначення повернення, додаванням активного інгредієнту до холостої проби.** Додати точну кількість активного інгредієнту (аналіту) до холостої проби у концентраціях відповідно 0,5; 1; 1,5 МДР, виміряних по одному разу.

- Відсоток повернення розраховують наступним чином:

$$RP = \frac{\text{повернена_кількість}}{\text{додана_кількість}} \times 100\%$$

- Довірчий інтервал для відсотку повернення:

$$RP = (95\%, n = 10); \left(\frac{x - 2,23 \times s / \sqrt{10}}{\text{додана_кількість}} \times 100 \right); \left(\frac{x + 2,23 \times s / \sqrt{10}}{\text{додана_кількість}} \times 100 \right)$$

де:

x – середнє 10 визначень;

s – стандартне відхилення (σ_{n-1}).

ОТРИМАНІ ДАНІ ОФОРМЛЮЮТЬСЯ У ВИГЛЯДІ ПРОТОКОЛУ:
 ВАЛІДАЦІЇ (ВСІ КРИТЕРІЇ),
 ВЕРИФІКАЦІЇ ТА ПОВТОРНОЇ ВАЛІДАЦІЇ (визначається виробничою
 необхідністю),
 Документується ДОПУСК СПІВРОБІТНИКА ДО ВИМІРЮВАННЯ

Підтвердження кваліфікації : FAPAS 0961, FAPAS 0966, FAPAS T979, FAPAS 0585, FAPAS 0653, FAPAS 2434, FAPAS 2569, FAPAS 04148, FAPAS 1088, FAPAS 04160, FAPAS 07144, FAPAS 2167, FAPAS 1855, FAPAS 07178, FAPAS 04204, FAPAS 07184, FAPAS 2290. Всеукраїнський проф. тест раунд: 021 і 026. Міжнародний LEAP, CHEM60. ПРОФ-ТЕСТ ТМ 28/71. Vipea Soil – PT Scheme, раунд Izegem IZ140929-IZ-222.

Приклад звіту виконання вимірювання

ПРОВЕДЕННЯ вимірювання

ПРИЛАД

БЕРХ/УФ, виробник "UltiMate 3000" інвентарний номер Ч.1.206.104.041

Sample Name	Ret.Time	Area	Amount	Type	Plates
1	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
2	Manual Acquisition	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
11	1.3 µg/ml	4,730	1,9355	1,3467	BMB*
	15133				
12	1.3 µg/ml	4,737	1,9067	1,3267	BMB*
	15288				
13	1.3 µg/ml	4,740	1,9156	1,3329	BMB*
	15086				
14	1.3 µg/ml	4,753	1,9030	1,3241	MB*
	15283				
15	1.3 µg/ml	4,750	1,9293	1,3424	BMB*
	14984				
16	1.3 µg/ml	4,750	1,9010	1,3228	BMB*
	14984				
17	1.3 µg/ml	4,757	1,9249	1,3394	BMB*
	14756				
18	1.3 µg/ml	4,757	1,9147	1,3323	BMB*
	14756				
19	1.3 µg/ml	4,757	1,8982	1,3208	BMB*
	14493				
20	1.3 µg/ml	4,760	1,9320	1,3443	

Таким чином, для організації виконання вимірювань мікотоксинів відповідальні виконавці (персонал) мають бути теоретично підготовані до процесу вимірювання.

Лабораторні кімнати повинні відповідати умовам мікроклімату для аналізу мікотоксинів в об'єктах, визначених виробничими задачами.

Виконання вимірювань для сертифікації продукції може проводитись лише за стандартизованими або за розробленими та валідованими методиками лабораторного контролю.

Дякую за увагу!