
Na osnovu člana 17. stav 2. i člana 72. Zakona o hrani ("Službeni glasnik BiH", broj 50/04) i člana 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 saradnji s nadležnim organima entiteta i Brčko Distrikta Bosne i Hercegovine, na 113. sjednici, održanoj 21. januara 2010. godine, donijelo je

PRAVILNIK

O MATERIJALIMA I PREDMETIMA KOJI SADRŽE VINIL HLORID MONOMER I NAMIJENJENI SU ZA KONTAKT S HRANOM

DIO PRVI - OPĆE ODREDBE

Član 1. (Predmet)

Pravilnik o materijalima i predmetima koji sadrže vinil hlorid monomer i namijenjeni su za kontakt s hranom (u daljnjem tekstu: Pravilnik) regulira prisustvo vinil hlorid monomera unutar, i moguću migraciju iz, materijala i predmeta koji su pripremljeni od vinil hlorid polimera ili kopolimera (u daljnjem tekstu: materijali i predmeti), a koji su u svom krajnjem stanju namijenjeni da dođu u kontakt s hranom, ili koji su u kontaktu s hranom i namijenjeni su za tu svrhu.

Član 2. (Opći uslovi)

- (1) Materijali i predmeti ne smiju sadržavati količinu vinil hlorid monomera koja prelazi nivo koji je utvrđen u Aneksu I. koji je sastavni dio ovog pravilnika.
- (2) Materijali i predmeti ne smiju na hranu koja je u kontaktu ili je dovedena u kontakt s tim materijalima i predmetima prenijeti vinil hlorid koji je moguće detektirati metodom koja je u skladu s kriterijima utvrđenim u Aneksu II. koji je sastavni dio ovog pravilnika.

Član 3. (Metode analize)

- (1) Analiza neophodna za službenu kontrolu nivoa vinil hlorid monomera u materijalima i predmetima namijenjenim za kontakt s hranom, koji se navode kao materijali i predmeti u Aneksu III. koji je sastavni dio ovog pravilnika, vrši se u skladu s metodom koja je opisana u Aneksu III.
- (2) Analiza neophodna za službenu kontrolu nivoa vinil hlorida koji ispuštaju materijali i predmeti u hranu vrši se u skladu s metodom opisanom u Aneksu IV. koji je sastavni dio ovog pravilnika.

DIO DRUGI - PRIJELAZNE I ZAVRŠNE ODREDBE

Član 4. (Službene kontrole)

Službene kontrole i inspeksijski nadzor nad primjenom ovog pravilnika provodit će se na način kako je to propisano važećim propisima.

Član 5. (Stupanje na snagu)

Ovaj pravilnik stupa na snagu osmog dana od dana objavljivanja u "Službenom glasniku BiH".

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

Predsjedavajući
Vijeća ministara BiH
Dr. Nikola Špirić, s. r.

ANEKS I.

MAKSIMALNI NIVO VINIL HLORID MONOMERA U MATERIJALIMA I PREDMETIMA

Jedan miligram po kilogramu u krajnjem proizvodu.

ANEKS II.

KRITERIJI KOJI SE PRIMJENJUJU NA METODU ODREĐIVANJA NIVOVA VINIL HLORIDA U MATERIJALIMA I PREDMETIMA I ODREĐIVANJA VINIL HLORIDA KOJI OSLOBODE MATERIJALI I PREDMETI

- (1) Nivo vinil hlorida u materijalima i predmetima i nivo vinil hlorida koji oslobode materijali i predmeti u hranu određuje

se hromatografijom u plinskoj fazi koristeći "headspace" metodu.

- (2) S ciljem određivanja vinil hlorida koji oslobode materijali i predmeti u hranu, postavlja se detekcijski limit od 0,01 mg/kg.
- (3) Vinil hlorid koji oslobode materijali i predmeti u hranu u principu se određuje u hrani. Kada se pokaže da je određivanje u određenoj hrani nemoguće iz tehničkih razloga, može se odobriti određivanje sa simulantima za tu specifičnu hranu.

ANEKS III.

ODREĐIVANJE NIVOVA VINIL HLORID MONOMERA U MATERIJALIMA I PREDMETIMA

POGLAVLJE I. OBIM I POLJE PRIMJENE

Ova metoda određuje nivo vinil hlorid monomera u materijalima i predmetima.

POGLAVLJE II. PRINCIP

Nivo vinil hlorid monomera (VC) u materijalima ili predmetima određuje se putem plinske hromatografije koristeći "headspace" metodu nakon rastvaranja ili suspenzije uzorka u N,N-dimetilacetamidu.

POGLAVLJE III. REAGENSI

- (1) Vinil hlorid (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 (stav (3) ovog poglavlja) u uslovima u kojima se vrši test.
- (3) Dietil eter ili cis-2-buten, u DMA (stav (2) ovog poglavlja) kao rastvor internog standarda. Ovi interni standardi ne smiju sadržavati bilo kakvo onečišćenje koje ima isto vrijeme retencije kao VC, u uslovima u kojima se vrši test.

POGLAVLJE IV. OPREMA

Napomena

Instrument ili dio opreme spominje se samo ako je on poseban ili ako je pravljen po posebnim specifikacijama. Uobičajena laboratorijska oprema smatra se dostupnom.

- (1) Plinski hromatogram opremljen s automatskim "head-space" uzimačem uzorka ili s opremom za manualno ubrizgavanje uzorka.
- (2) Detektor jonizacije plamenom ili drugi detektori koji se pominju u Poglavlju VII. ovog aneksa.
- (3) Kolona plinske hromatografije.

Kolona mora dozvoljavati razdvajanje vrhova u zraku, VC i internog standarda, ako se on koristi.

Nadalje, kombinirani sistem iz st. (2) i (3) ovog poglavlja mora omogućiti da je signal koji se dobije od rastvora koji sadrži 0,02 mg VC/litru DMA ili 0,02 mg VC/kg DMA najmanje pet puta veći od pozadinskog šuma.

- (4) Cjevčice ili bočice za uzorke opremljene sa silikonskim ili butil gumenim septumima.

Kad se koriste manualne tehnike uzorkovanja, uzimanje uzorka špricom iz "headspace" prostora može uzrokovati formiranje djelimičnog vakuuma unutar cjevčice ili bočice. Dakle, za manualne tehnike gdje cjevčice nisu pod pritiskom prije uzimanja uzorka, preporučuje se upotreba većih cjevčica.

- (5) Mikro-šprice.
- (6) Hermetičke šprice za "headspace" manualno uzimanje uzorka.
- (7) Analitička vaga s tačnošću do 0,1 mg.

POGLAVLJE V. PROCEDURA

UPOZORENJE: VC je opasna supstanca i nalazi se kao plin pri sobnoj temperaturi, tako da bi rastvor trebalo da bude pripremljen u dobro ventiliranom digestoru.

Napomena

- Potrebno je preduzeti svu neophodnu pažnju kako bi se osiguralo da ne dođe do gubitka VC ili DMA;

- Kada se koriste manuelne tehnike uzimanja uzorka potrebno je koristiti interni standard iz Poglavlja III. stav (3) ovog aneksa;
- Kada se koristi interni standard, mora se koristiti jedan isti rastvor tokom čitave procedure.

(1) Priprema koncentriranog standardnog rastvora 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. stav (2) ovog aneksa). Ponovo izvagati. U DMA dodati određenu količinu (npr. 0,1 g) VC (Poglavlje III. stav (1) ovog aneksa) u tečnom ili plinskom stanju, polagano ubrizgavajući ga u DMA. VC se također može dodati upuhivajući ga na DMA, pod uslovom da se koristi uređaj koji će spriječiti gubitak DMA. Ponovo izvagati do najbližeg 0,1 mg. Ostaviti dva sata kako bi se omogućilo da se postigne ekvilibrij. Standardni rastvor čuvati u frižideru.

(2) Priprema razblaženog standardnog rastvora VC

Uzeti izvagatu količinu koncentriranog standardnog rastvora VC (stav (1) ovog poglavlja) i razblažiti ga, do poznate zapremine ili poznate težine, sa DMA (Poglavlje III. stav (2) ovog aneksa) ili s rastvorom internog standarda (Poglavlje III. stav (3) ovog aneksa). Koncentracija rezultirajućeg razblaženog standardnog rastvora izražava se u mg/l odnosno mg/kg.

(3) Priprema kalibracione krive

Napomena

- Kriva mora sadržavati najmanje sedam pari tačaka,
- ponovljivost očitavanja (1) mora biti niža od 0,02 mg VC/l ili kg DMA,
- kriva mora biti izračunata na osnovu ovih tačaka tehnikom najmanjih kvadrata, tj. linija regresije mora biti izračunata koristeći sljedeću jednačinu:

$$y = a_1 x + a_0$$

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

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 tačaka u bilo kojem jedinstvenom određivanju,

x = odgovarajuća koncentracija linije regresije,

n = broj provedenih određivanja ($n \geq 14$),

kriva mora biti linearna, tj. standardna devijacija (s) razlika između izmjerenih očitavanja (y_1) i odgovarajućih vrijednosti očitavanja koje su izračunate s linije regresije (z_1) podijeljeno sa srednjom vrijednošću (y) svih izmjerenih očitavanja ne smije prelaziti 0,07:

To se računa 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,

$n \geq 14$

Pripremiti dvije serije od najmanje sedam cjevčica (Poglavlje IV. stav (4) ovog aneksa). U svaku cjevčicu dodati zapreminu razblaženog standardnog rastvora VC (Poglavlje V. stav (2) ovog aneksa) i DMA (Poglavlje III. stav (2) ovog aneksa) ili rastvora internog standarda u DMA (Poglavlje III. stav (3) ovog aneksa) tako da konačna koncentracija VC rastvora 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 istu količinu DMA koja će se koristiti prema stavu (5) ovog poglavlja. Začepiti cjevčice i nastaviti kako je opisano u stavu (6) ovog poglavlja. Konstruirati grafikon na kojem vrijednosti ordinate pokazuju površinu (ili visinu) najviših tačaka VC rastvora duplikata ili odnos ovih površina (ili visina) s relevantnim najvišim tačkama internog standarda a vrijednosti abscise pokazuju koncentracije VC rastvora duplikata.

(4) Validacija pripreme standardnih rastvora dobivenih u st. (1) i (2) ovog poglavlja.

Ponoviti proceduru opisanu u st. (1) i (2) ovog poglavlja da bi se dobio drugi standardni rastvor koncentracije jednak 0,1 mg VC/l ili 0,1 mg/kg DMA ili internog rastvora. Prosjek dva određivanja plinskom hromatografijom ovog rastvora ne smije se razlikovati više od 5 % u odnosu na odgovarajuću tačku na kalibracionoj krivoj. Ako je razlika veća od 5 %, odbijaju se svi rastvori dobiveni u st. (1), (2), (3) i (4) ovog poglavlja i ponoviti proceduru od početka.

(5) Priprema uzoraka materijala ili predmeta

Pripremiti dvije cjevčice (Poglavlje IV. stav (4) ovog 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 djele. Pokušati osigurati da se u svaku cjevčicu izvaga jednaka količina. Odmah zatvoriti cjevčice. Za svaki gram uzorka u svaku cjevčicu dodati 10 ml ili 10 g DMA (Poglavlje III. stav (2) ovog aneksa) ili 10 ml ili 10 g rastvora internog standarda (Poglavlje III. stav (3) ovog aneksa). Hermetički zatvoriti bočice i nastaviti kako je opisano u stavu (6) ovog poglavlja.

(6) Određivanja plinskom hromatografijom

- Prodrmati cjevčice izbjegavajući kontakt između sadržane tečnosti i septuma (Poglavlje IV. stav (4) ovog aneksa) kako bi se dobilo što je moguće homogenizirani rastvor ili suspenzija uzoraka materijala ili predmeta (stav (5) ovog poglavlja).
- Staviti sve zatvorene cjevčice (st. (3), (4) i (5) ovog poglavlja) u vodenu kupku na dva sata na $60 \pm 1^\circ \text{C}$ kako bi se omogućilo da se dostigne ekvilibrij. Ponovo prodrmati, po potrebi.
- Uzeti uzorak iz "headspace" prostora u cjevčici. Kada se koriste manuelne tehnike uzimanja uzorka, mora se obratiti pažnja da se dobije reproduktivan uzorak (vidjeti Poglavlje IV. stav (4) ovog aneksa), posebno šprica se mora prethodno zagrijati do temperature uzorka. Izmjeriti površinu (ili visinu) vrhova koji se odnose na VC i na interni standard ako je bio korišten.
- Odstraniti s kolone (Poglavlje IV. stav (3) ovog aneksa) višak DMA odgovarajućom metodom čim se vrhovi koji proizilaze od DMA pokažu na hromatogramu.

POGLAVLJE VI. IZRAČUNAVANJE REZULTATA

- Pomoću interpolacije na krivoj pronaći nepoznatu koncentraciju i jednog i drugog rastvora uzorka uzimajući u obzir rastvor internog standarda ako je bio korišten.

Izračunati količinu VC u oba uzorka materijala ili predmeta koji se testira pomoću sljedeće formule:

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

gdje je:

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

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

V=zapremina ili masa DMA u cjevčici koja sadrži uzorak materijala ili predmeta (vidi Poglavlje V stav (5) ovog Aneksa) izražena u litrima ili kg.

M=količina uzorka materijala ili predmeta, izražena u gramima.

(2) Konzentracija VC u materijalu i predmetu koji se ispituje izražena u mg/kg je srednja vrijednost dvije koncentracije VC (mg/kg) određene u stavu (1) ovog poglavlja pod uslovom da je ispunjen kriterij ponovljivosti iz Poglavlja VIII.

POGLAVLJE VII. POTVRDA NIVO A VC

U slučajevima kada sadržaj VC u materijalima i predmetima koji je izračunat na osnovu Poglavlja VI. stav (2) ovog aneksa prelazi maksimalnu dozvoljenu količinu, rezultati koji su dobiveni analizom oba uzorka (Poglavlje V. stav (6) i Poglavlje VI. stav (1) ovog aneksa) moraju biti potvrđeni na jedan od tri načina:

- koristeći najmanje još jednu kolonu (Poglavlje IV. stav (3) ovog aneksa) sa stacionarnom fazom koja ima drugačiju polarnost.

Ovu proceduru treba nastaviti dok se ne dobije hromatogram 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 joni sa izvornim masama (m/e) od 62 i 64 prisutni u odnosu 3:1, može se, s visokom vjerovatnoćom, smatrati kao potvrda prisustva VC. U slučaju dileme, potrebno je provjeriti čitav maseni spektar.

POGLAVLJE VIII. PONOVLJIVOST

Razlika između rezultata dva određivanja (Poglavlje VI. stav (1) ovog aneksa) koja su izvršena simultano ili brzo jedan za drugim na istom uzorku, od istog analitičara, pod istim uslovima, ne smije prelaziti 0,2 mg VC/kg materijala ili predmeta.

ANEKS IV.

ODREĐIVANJE VINIL HLORIDA KOJI ISPUŠTAJU MATERIJALI I PREDMETI U HRANU

POGLAVLJE I. OBIM I POLJE PRIMJENE

Ova metoda određuje nivo vinil hlorida u hrani.

POGLAVLJE II. PRINCIP

Nivo vinil hlorida (VC) u hrani određuje se putem plinske hromatografije koristeći 'headspace' metodu.

POGLAVLJE III. REAGENSI

- (1) Vinil hlorid (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 (stav (3) ovog poglavlja) u uslovima u kojima se vrši test.
- (3) Dietil eter ili cis-2-buten, u DMA (stav (2) ovog poglavlja) kao rastvor internog standarda. Ovi interni standardi ne smiju sadržavati bilo kakvo onečišćenje koje ima isto vrijeme retencije kao VC, u uslovima u kojima se vrši test.
- (4) Destilirana voda ili demineralizirana voda ekvivalentne čistoće.

POGLAVLJE IV. OPREMA

Napomena:

Instrument ili dio opreme spominje se samo ako je on poseban ili ako je praviljen po posebnim specifikacijama. Uobičajena laboratorijska oprema smatra se dostupnom.

- (1) Plinski hromatograf opremljen automatskim "head-space" uzimačem uzorka ili opremom za manualno ubrizgavanje uzorka.
- (2) Detektor jonizacije s plamenom ili drugi detektori koji se pominju u Poglavlju VII.
- (3) Kolona plinske hromatografije.
Kolona mora dozvoljavati razdvajanje vrhova zraka, VC i internog standarda, ako se koristi.
Nadalje, kombinirani sistem iz st. (2) i (3) ovog poglavlja mora omogućiti da je signal koji se dobije od rastvora koji sadrži 0,005 mg VC/litru DMA ili 0,005 mg VC/kg DMA jednak najmanje petostruko vrijednosti pozadinskog šuma.
- (4) Cjevčice ili bočice za uzorke opremljene sa silikonskim ili butil gumenim septumima.
Kad se koriste manualne tehnike uzorkovanja uzimanje uzorka špricom iz "headspace" prostora može uzrokovati formiranje djelimičnog vakuuma unutar cjevčice ili bočice. Dakle, za manualne tehnike gdje cjevčice nisu pod pritiskom prije uzimanja uzorka, preporučuje se upotreba većih cjevčica.
- (5) Mikrošprice.
- (6) Hermetičke šprice za "headspace" manuelno uzimanje uzorka.
- (7) Analitička vaga s tačnošću do 0,1mg.

POGLAVLJE V. PROCEDURA

UPOZORENJE: VC je opasna supstanca i nalazi se kao plin pri normalnoj temperaturi, tako da bi se priprema rastvora trebala vršiti u dobro ventiliranom digestoru.

Napomena:

Potrebno je preduzeti sve neophodne mjere kako bi se osiguralo da ne dođe do gubitka nimalo VC ili DMA.

Kada se koriste manualne tehnike uzimanja uzorka potrebno je koristiti interni standard (Poglavlje III stav (3) ovog aneksa).

Kada se koristi interni standard, mora se koristiti isti rastvor tokom čitave procedure.

(1) Priprema standardnog rastvora VC (rastvor A)

a) *Koncentrirani standardni rastvor VC od približno 2 000 mg/kg*

S tačnošću do najbliže 0,1 mg, izvagati odgovarajuću staklenu posudu i u nju staviti određenu količinu (npr. 50 ml) DMA (Poglavlje III. stav (2) ovog aneksa). Ponovo izvagati. U DMA dodati određenu količinu (npr. 0,1 g) VC (Poglavlje III. stav (1) ovog aneksa) u tečnom ili plinskom stanju, polagano ubrizgavajući ga u DMA. VC se također može dodati upuhivajući ga u DMA, pod uslovom da se koristi uređaj koji će spriječiti gubitak DMA. Ponovo izvagati do najbliže 0,1 mg. Ostaviti dva sata kako bi se omogućilo da se postigne ekvilibrij. Ako se upotrebljava interni standard, dodati interni standard tako da je koncentracija internog standarda u koncentriranom standardnom rastvoru VC ista kao i u rastvoru internog standarda pripremljenog u Poglavlje III. stav (3) ovog aneksa. Standardni rastvor čuvati u frižideru.

b) *Priprema razblaženog standardnog rastvora VC*

Uzeti izvaganu količinu koncentriranog standardnog rastvora VC (tačka a) ovog stava) i razblažiti ga, do poznate zapremine ili poznate težine, sa DMA (Poglavlje III. stav (2) ovog aneksa) ili s rastvorom internog standarda (Poglavlje III. stav (3) ovog aneksa). Koncentracija rezultirajućeg razblaženog standardnog rastvora izražava se u mg/l odnosno mg/kg.

c) *Priprema krive očitavanja sa rastvorom A*

Napomena:

Kriva mora sadržavati najmanje sedam pari tačaka.

Ponovljivost očitavanja ⁽¹⁾ mora biti niža od 0,002 mg VC/l ili kg DMA. Kriva mora biti izračunata na osnovu ovih tačaka tehnikom najmanjih kvadrata, tj. linija regresije mora biti izračunata koristeći sljedeću jednačinu:

$$y = ax + a_0$$

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

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

gdje je

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

x = odgovarajuća koncentracija linije regresije,

n = broj provedenih određivanja (n ≥ 14),

kriva 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 prelaziti 0,07:

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

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

i:

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

y_i = svako pojedinačno izmjereno očitavanje,

z₁ = odgovarajuća vrijednost očitavanja (y₁) na izračunatoj liniji regresije,

n ≥ 14

Pripremiti dvije serije od najmanje sedam cjevčica (Poglavlje IV. stav (4) ovog aneksa). U svaku cjevčicu dodati zapreminu razblaženog standardnog rastvora (tačka b) ovog stava) i DMA (Poglavlje III. stav (2) ovog aneksa) ili rastvora internog standarda u DMA (Poglavlje III. stav (3) ovog aneksa) tako da konačna koncentracija VC rastvora 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 istu količinu. Količina razblaženog standardnog rastvora VC (tačka b) ovog stava) mora biti takva da je odnos između ukupne zapremine (μl) dodatog rastvora VC i količine (g ili ml) DMA, ili rastvora internog standarda (Poglavlje III stav (3) ovog Aneksa) ne prelazi pet. Začepiti cjevčice i nastaviti kako je opisano u stavu (4) tač. b), c) i e) ovog poglavlja. Konstruirati grafikon na kojem vrijednosti ordinate pokazuju površinu (ili visinu) najviših tačaka VC rastvora duplikata ili odnos ovih površina (ili visina) s relevantnim najvišim tačkama internog standarda a vrijednosti abscise pokazuju koncentracije VC rastvora duplikata.

- (2) Validacija pripreme standardnih rastvora dobivenih u stavu (1) ovog poglavlja.

a) *Priprema drugog standardnog rastvora VC (rastvor B)*

Ponoviti proceduru opisanu u stavu (1) tač. a) i b) ovog poglavlja da bi se dobio drugi standardni rastvor, u ovom slučaju, koncentracije približno jednake 0,02 mg VC/l, ili 0,02 mg VC/kg DMA ili rastvora internog standarda. Dodati

ovaj rastvor u dvije cjevčice (Poglavlje IV. stav (4) ovog aneksa). Hermetički zatvoriti bočice i nastaviti kako je opisano u stavu (4) tač. b), c) i e) ovog poglavlja.

b) *Validacija rastvora A*

Ako se prosjek dva određivanja plinskom hromatografijom koji se odnose na rastvor B (stav (2) tačka a) ovog poglavlja) ne razlikuje više od 5 % u odnosu na odgovarajuću tačku na krivoj očitavanja dobivene u stavu (1) tački c) ovog poglavlja, rastvor A je validiran. Ako je razlika veća od 5 %, odbijaju se svi rastvori dobiveni u st. (1) i (2) ovog poglavlja i ponoviti proceduru od početka.

- (3) Priprema "adicione" krive

Napomena:

Kriva mora sadržavati najmanje sedam pari tačaka.

Kriva mora biti izračunata na osnovu ovih tačaka tehnikom najmanjih kvadrata (stav (1) tačka c) ovog poglavlja).

Kriva mora biti linearna, tj. standardna devijacija (s) razlika između izmjerenih očitavanja (y₁) i odgovarajućih vrijednosti očitavanja koje su izračunate sa linije regresije (z₁) podijeljeno sa srednjom vrijednošću (y) svih izmjerenih očitavanja ne smije prelaziti 0,07 (stav (1) tačka c) ovog 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 što se uzme uzorak.

b) *Procedura*

Pripremiti dvije serije od najmanje sedam cjevčica (Poglavlje IV. stav (4) ovog aneksa). U svaku cjevčicu dodati količinu, ne manju od 5 g, uzorka dobivenog iz hrane koja se ispituje (tačka a) ovog stava). Osigurati da se jednaka količina doda u svaku cjevčicu. 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 rastvarača ako je to potrebno.

(Napomena: za homogenu hranu, nije potrebno dodavati destiliranu ili demineraliziranu vodu).

U svaku cjevčicu dodati zapreminu razblaženog standardnog rastvora VC (stav (1) tačka b) ovog poglavlja), koji sadrži interni standard (Poglavlje III. stav (3) ovog 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 ukupna zapremina DMA ili DMA koji sadrži rastvor internog standarda (Poglavlje III. stav (3) ovog aneksa) jednaka u svakoj cjevčici. Količina razblaženog standardnog rastvora VC (stav (1) tačka b) ovog poglavlja) i dodatnog DMA tamo gdje je korišten, mora biti takva da je odnos između ukupne zapremine (μl) tih rastvora i količine (g) hrane koja se nalazi u cjevčici što je moguće niži ali ne smije biti veći od pet i mora biti isti u svim cjevčicama. Začepiti cjevčice i nastaviti kako je opisano u stavu (4) ovog poglavlja.

- (4) Određivanja plinskom hromatografijom

a) Prodrmati cjevčice izbjegavajući kontakt između sadržane tečnosti i septuma (Poglavlje IV. stav (4) ovog aneksa) kako bi se dobilo što je moguće homogenizirani rastvor ili suspenzija uzorka hrane.

b) Staviti sve zatvorene cjevčice (st. (2) i (3) ovog poglavlja) u vodenu kupku na dva sata na 60 ± 1°C kako bi se omogućilo da se dostigne ekvilibrij. Ponovo prodrmati, po potrebi.

c) Uzeti uzorak iz "headspace" prostora u cjevčici. Kada se koriste manualne tehnike uzimanja uzorka mora se obratiti pažnja da se dobije reproduktivan uzorak (vidi Poglavlje IV. stav (4) ovog aneksa), posebno, šprica se 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 tačaka VC rastvora ili odnos ovih površina (ili visina) s relevantnim najvišim tačkama internog standarda a vrijednosti abscise pokazuju količinu dodanog VC (mg) koja se odnosi na količinu odvagane uzorka hrane u svakoj cjevčici (kg). Izmjeriti presjek abscise na grafiku. Tako dobivena vrijednost je koncentracija VC u uzorku hrane koja se ispituje.
- e) Odstraniti s kolone (Poglavlje IV. stav (3) ovog aneksa) višak DMA odgovarajućom metodom čim se vrhovi koji proizilaze od DMA pokažu na hromatogramu.

POGLAVLJE VI. REZULTATI

VC koji ispuštaju materijali i predmeti u hranu koja se ispituje izražen mg/kg definira se kao srednja vrijednost dva određivanja (Poglavlje V. stav (4) ovog aneksa) pod uslovom da je ispunjen kriterij ponovljivosti iz Poglavlja VIII.

POGLAVLJE VII. POTVRDA VC

U slučajevima kada VC koji ispuste materijali i predmeti u hranu kao što je izračunato na osnovu Poglavlja VI., prelazi

kriterij iz člana 2. stav (2) ovog pravilnika, vrijednosti koje su dobivene određivanjem oba uzorka (Poglavlje V. stav (4) ovog aneksa) moraju biti potvrđene na jedan od tri načina:

- (i) koristeći najmanje još jednu kolonu (Poglavlje IV. stav (3) ovog aneksa) sa stacionarnom fazom koja ima drugačiju polarnost.

Ovu proceduru treba nastaviti dok se ne dobije hromatogram bez dokaza o preklapanju vrhova VC i/ili internog standarda sa sastojcima uzorka hrane,

- (ii) koristeći druge detektore, npr. mikroelektrolitski detektor konduktivnosti,

- (iii) koristeći masenu spektrometriju, u ovom slučaju, ako su molekularni joni sa izvornim masama (m/e) od 62 i 64 prisutni u odnosu 3:1, može se, s visokom vjerovatnoćom, smatrati kao potvrda prisustva VC. U slučaju dileme, potrebno je provjeriti čitav maseni spektar.

POGLAVLJE VIII. PONOVLJIVOST

Razlika između rezultata dva određivanja (Poglavlje V. stav (4) ovog aneksa) koja je izvršio simultano ili brzo jedan za drugim na istom uzorku isti analitičar, pod istim uslovima, ne smije prelaziti 0,003 mg VC/kg hrane.