

32001R0213

7.2.2001

ÚRADNÝ VESTNÍK EURÓPSKÝCH SPOLOČENSTIEV

L 37/1

NARIADENIE KOMISIE (ES) č. 213/2001**z 9. januára 2001,****ktorým sa stanovujú podrobné pravidlá pre uplatňovanie nariadenia Rady (ES) č. 1255/1999 týkajúce sa metód analýzy a hodnotenia kvality mlieka a mliečnych výrobkov a ktorým sa menia a dopĺňajú nariadenia (ES) č. 2771/1999 a (ES) č. 2799/1999**

KOMISIA EURÓPSKÝCH SPOLOČENSTIEV,

na kŕmenie zvierat a predaj takéhoto odstredeného mlieka v prášku⁽¹⁾ tak, aby prílohy k týmto nariadeniam týkajúce sa metód analýzy mohli byť zahrnuté do tohto nariadenia.

so zreteľom na Zmluvu o založení Európskeho spoločenstva,

- (2) Požiadavky na zloženie a kvalitu mlieka a mliečnych výrobkov ustanovené podľa nariadenia (ES) č. 1255/1999 musia byť overené, aby sa zabezpečilo, že budú prísne dodržiavané.

so zreteľom na nariadenie Rady (ES) č. 1255/1999 zo 17. mája 1999 o spoločnej organizácii trhu s mliekom a mliečnymi výrobkami⁽¹⁾, a najmä na jeho články 10, 15, 26 ods. 3, 29 ods. 1 a 31 ods. 14,

- (3) Referenčné metódy pre takéto overovania sú často metódy uverejnené medzinárodnými organizáciami ako CEN, IDF, ISO a AOAC International, ktoré ich pravidelne aktualizujú. V niektorých prípadoch sa ustanovuje referenčná metóda spoločenstva, zatiaľ čo v ostatných prípadoch pravidlá spoločenstva referenčnú metódu nešpecifikujú. S cieľom zabezpečenia jednotného uplatňovania referenčných metód sa každý rok vypracuje zoznam referenčných metód a používať sa môžu len metódy uvedené v tomto zozname.

keďže:

- (1) Nariadenia Komisie (EHS) č. 1216/68, (EHS) č. 3942/92, (ES) č. 86/94, (ES) č. 2721/95, (ES) č. 1080/96, (ES) č. 1081/96, (ES) č. 1082/96, (ES) č. 1854/96, (ES) č. 880/98 a (ES) č. 1459/98, ktorých úplné citácie sú uvedené v prílohe XXVI tohto nariadenia, ustanovujú referenčné a rutinné metódy analýzy a hodnotenia kvality mlieka a mliečnych výrobkov a stanovujú rozsah a pravidlá uplatňovania týchto metód. V záujme jasnosti a na poskytnutie jednotného súboru metód a pravidiel na ich uplatňovanie prevádzkovateľom v sektore je potrebné vyššie uvedené nariadenia prepracovať a zhrnúť do jedného textu. Z rovnakého dôvodu je potrebné zmeniť a doplniť nariadenie Komisie (ES) č. 2771/1999 zo 16. decembra 1999 stanovujúce podrobné pravidlá uplatňovania nariadenia Rady (ES) č. 1255/1999 týkajúce sa intervencií na trhu s maslom a smotanou⁽²⁾ a nariadenie Komisie (ES) č. 2799/1999 zo 17. decembra 1999 stanovujúce podrobné pravidlá uplatňovania nariadenia (ES) č. 1255/1999 týkajúce sa poskytovania pomoci pre odstredenú mlieko a odstredenú mlieko v prášku určené
- (4) Používanie rutinných metód sa nevylučuje. Je preto potrebné špecifikovať podmienky pre ich použitie.
- (5) Tiež je potrebné stanoviť bežné metódy na zabezpečenie jednotných postupov hodnotenia výsledkov analýz, senzorického hodnotenia daných výrobkov a prehodnocovania sporných výsledkov.
- (6) Pre niektoré analýzy v súčasnosti neexistujú medzinárodne akceptované overené referenčné metódy, a preto nie sú dostupné žiadne informácie o rozdieloch medzi výsledkami analýz dosiahnutými v rôznych laboratóriách. Je preto potrebné stanoviť metódy spoločenstva, ktoré budú náležite potvrdené podľa medzinárodných pravidiel a ktoré sa aplikujú ako referenčné metódy.

⁽¹⁾ Ú. v. ES L 160, 26.6.1999, s. 48.

⁽²⁾ Ú. v. ES L 333, 24.12.1999, s. 11.

⁽³⁾ Ú. v. ES L 340, 31.12.1999, s. 3.

- (7) Nariadenie Komisie (ES) č. 2571/97 z 15. decembra 1997 o predaji masla za znížené ceny a poskytovaní pomoci pre smotanu, maslo a koncentrované maslo používané pri výrobe cukrárskeho pečiva, zmrzliny a iných potravín⁽¹⁾, v znení poslednej novelizácie nariadením (ES) č. 635/2000⁽²⁾, upravuje sledovanie stopových látok v smotane, masle a koncentrovanom masle za určitých okolností s cieľom zabezpečenia správneho konečného použitia týchto výrobkov. Keďže sledovanie je dôležité pre riadne fungovanie systému a s cieľom zabezpečenia rovnakého zaobchádzania so zúčastnenými prevádzkovateľmi, je potrebné ustanovenie bežných metód na sledovanie stopových látok v týchto produktoch.
- (8) Podľa nariadenia Komisie (EHS) č. 3143/85 z 11. novembra 1985 o predaji za znížené ceny intervenčného masla určeného na priamu spotrebu vo forme koncentrovaného masla⁽³⁾, v znení poslednej novelizácie nariadením (ES) č. 101/1999⁽⁴⁾, nariadením Komisie (EHS) č. 429/90 z 20. februára 1990 o poskytovaní pomoci prostredníctvom pozvánky na tender pre koncentrované maslo určené na priamu spotrebu v spoločenstve⁽⁵⁾, v znení poslednej novelizácie nariadením (ES) č. 124/1999⁽⁶⁾ a nariadením (ES) č. 2571/97, sa do koncentrovaného masla stopové látky pridávajú pod dohľadom. Na zabezpečenie správneho zloženia výrobkov je nutné striktné dodržiavať súlad s požiadavkami na sledovanie týchto látok v koncentrovanom masle. Je preto potrebné stanoviť spoločnú metódu zisťovania takýchto látok.
- (9) Podľa článku 9 nariadenia (ES) č. 1255/1999 je možné poskytovať pomoc na súkromné skladovanie pre syry vyrobené z ovčieho mlieka. Podľa článku 31 uvedeného nariadenia je možné poskytovať osobitné vrátenie peňazí pre tieto produkty. Syry vyrobené z ovčieho mlieka, kozieho mlieka a byvolieho mlieka a zmesi ovčieho, kozieho a byvolieho mlieka je možné do spoločenstva dovážať z niektorých tretích krajín podľa preferenčných dohôd. S ohľadom na vyššie uvedené ustanovenia sú potrebné vhodné kontroly na overenie toho, že dané produkty neobsahujú kravské mlieko. Je preto potrebné ustanoviť referenčnú metódu spoločenstva na zisťovanie kravského mlieka bez toho, aby bolo dotknuté používanie rutinných metód, ak tieto vyhovujú určitým kritériám.
- (10) Podľa nariadenia Komisie (EHS) č. 2921/90 z 10. októbra 1990 o poskytovaní pomoci pre odstredenú mlieko používané na výrobu kazeínu a kazeinátov⁽⁷⁾, v znení poslednej novelizácie nariadením Komisie (ES) č. 2654/1999⁽⁸⁾, je nutné zistiť neprítomnosť koliforiem. Medzinárodne uznanou referenčnou metódou na zisťovanie koliforiem v mlieku a mliečnych výrobkoch je medzinárodná norma IDF 73A: 1985. Táto norma je však uplatniteľná iba v modifikovanej forme na zisťovanie koliforiem v určitom množstve výrobku. Preto bola ustanovená referenčná metóda spoločenstva na zisťovanie koliforiem založená na vyššie uvedenej norme.
- (11) Nariadenie Rady (EHS) č. 2658/87 z 23. júla 1987 o tarifnej a štatistickej nomenklatúre a o spoločnej colnej tarife⁽⁹⁾, v znení poslednej novelizácie nariadením (ES) č. 254/2000⁽¹⁰⁾, stanovuje rôzne výšky cla pre krmné zmesi spadajúce pod oddelenie tarify č. 2309 v závislosti od obsahu mlieka v nich. Na zabezpečenie jednotného uplatňovania uvedených pravidiel je potrebné stanoviť všeobecne uznanú metódu analýzy obsahu laktózy určenú na povinné používanie vo všetkých členských štátoch.
- (12) Podľa nariadenia (ES) č. 1255/1999 maslo a odstredenú mlieko v prášku určené na intervenciu alebo, v prípade odstredeného mlieka v prášku, na použitie ako krmivo pre zvieratá, musia vyhovovať určitým požiadavkám na kvalitu. Je potrebné ustanoviť referenčné metódy na overenie splnenia týchto požiadaviek.
- (13) Implementácia niektorých z týchto metód uvedených v tomto nariadení po prvýkrát si bude vyžadovať prechodné obdobie. Uplatňovanie týchto metód sa preto odkladá.
- (14) Riadiaci výbor pre mlieko a mliečne výrobky neposkytol stanovisko v termíne stanovenom jeho predsedom,

PRIJALA TOTO NARIADENIE:

HLAVA 1

VŠEOBECNÉ USTANOVENIA

Článok 1

Rozsah a oblasť uplatňovania

Toto nariadenie ustanovuje pravidlá uplatňovania metód chemickej, fyzickej a mikrobiologickej analýzy a senzorického hodnotenia mlieka a mliečnych produktov, ktoré sa použijú podľa úpravy upravenej pri spoločnej organizácii trhu s mliekom a mliečnymi výrobkami založenou nariadením (ES) č. 1255/1999. Taktiež stanovuje niektoré z týchto metód.

⁽¹⁾ Ú. v. ES L 350, 20.12.1997, s. 3.

⁽²⁾ Ú. v. ES L 76, 25.3.2000, s. 9.

⁽³⁾ Ú. v. ES L 298, 12.11.1985, s. 9.

⁽⁴⁾ Ú. v. ES L 11, 16.1.1999, s. 14.

⁽⁵⁾ Ú. v. ES L 45, 21.2.1990, s. 8.

⁽⁶⁾ Ú. v. ES L 16, 21.1.1999, s. 19.

⁽⁷⁾ Ú. v. ES L 279, 11.10.1990, s. 22.

⁽⁸⁾ Ú. v. ES L 325, 17.12.1999, s. 10.

⁽⁹⁾ Ú. v. ES L 256, 7.9.1987, s. 1.

⁽¹⁰⁾ Ú. v. ES L 28, 3.2.2000, s. 16.

Článok 2

Zoznam metód

1. Príloha 1 tohto nariadenia obsahuje zoznam referenčných metód použiteľných na analýzu uvedenú v článku 1.
2. Komisia aktualizuje zoznam najmenej jedenkrát za rok v súlade s postupom uvedeným v článku 42 nariadenia (ES) č. 1255/1999.

Článok 3

Rutinné metódy

Rutinné metódy je možné používať na analýzy požadované pravidlami spoločenstva za predpokladu, že tieto sú riadne kalibrované a pravidelne kontrolované proti referenčnej metóde.

Na kontrolu výsledkov získaných rutinnými metódami, ktoré sú blízko limitom špecifikovaným v príslušných nariadeniach, je možné uplatniť postup uvedený v prílohe II.

V sporných prípadoch sú rozhodujúce výsledky získané referenčnou metódou.

Článok 4

Potvrdzovanie referenčných metód

1. Referenčné metódy sa potvrdia, ak vyhovujú vopred stanoveným kritériám presnosti týkajúcim sa limitu opakovateľnosti a reprodukovateľnosti.
2. Ak nebola referenčná metóda stanovená v príslušných nariadeniach potvrdená, členské štáty stanovujú dočasný limit reprodukovateľnosti.

Tento limit sa získa podľa postupu uvedeného v prílohe III písm. b). Počas prvých 18 mesiacov po nadobudnutí účinnosti tohto nariadenia však môžu členské štáty používať ekvivalentný postup.

Súlad s limitom sa kontroluje najmenej jedenkrát za rok.

3. Ak výsledky uplatňovania potvrdenej referenčnej metódy alebo metód s dočasnými údajmi o presnosti ukazujú prekročenie limitu, výsledky analýzy je možné overiť použitím metód popísaných v prílohe IV na určenie kritickej odchýlky od daného limitu.

Článok 5

Prijateľnosť výsledkov analýzy

1. Analýzy sa uskutočňujú v laboratóriách so zavedeným interným postupom kontroly kvality v súlade s postupom uvedeným v prílohe V písm. a) alebo postupom ekvivalentnej úrovne.

Podrobný popis aplikovaného postupu musí byť v laboratóriu k dispozícii k nahliadnutiu.

2. Laboratória stanovujú vlastné kritériá presnosti v rámci merania pre všetky metódy podľa:

- a) postupu popísaného v prílohe V písm. b) alebo
- b) uverejneného potvrdeného postupu so stanovenou opakovateľnosťou.

Súlad s limitom reprodukovateľnosti sa musí kontrolovať najmenej jedenkrát za rok za použitia postupu popísaného v prílohe III písm. a).

Druhý pododsek sa netýka laboratórií, ktoré sa počas roka podieľali na programe testovania dokonalosti.

3. Laboratórne správy o výsledkoch analýzy musia obsahovať dostatočné informácie na vyhodnotenie výsledkov, ktoré sa vykoná v súlade s prílohami IV a VIII.

4. Výsledky analýzy sa považujú za prijateľné, ak boli získané v súlade s kritériami prijateľnosti popísanými v internom postupe kontroly kvality uvedenom v odseku 1 a kritériami presnosti uvedenými v odseku 2.

Článok 6

Senzorické hodnotenie

1. Pre maslo sa uplatňujú metódy na kontrolu činnosti expertov a spoľahlivosť výsledkov popísané v prílohe VI. Postup uvedený v prílohe VII sa uplatňuje ako referenčná metóda pre senzorické hodnotenie.

2. Pre mlieko a mliečne výrobky okrem masla je referenčnou metódou určenou na používanie členskými štátmi na senzorické hodnotenie buď norma IDF 99C/1997, alebo iné porovnateľné metódy, ktoré členské štáty oznámia Komisii.

Postupy popísané v prílohe VI je možné používať na kontrolu výkonu hodnotiteľov a spoľahlivosť výsledkov.

Článok 7

Odber vzoriek a spory o výsledkoch analýz

1. Pre analýzy požadované pravidlami spoločenstva sa odoberajú dvojité vzorky.
2. Postup popísaný v prílohe VIII sa použije v prípadoch, keď výsledky analýzy nie sú akceptované prevádzkovateľom.

HLAVA II

METÓDY ANALÝZY

Článok 8

Obsah vody, beztukovej sušiny/tuku v masle

1. Ako referenčná metóda na určovanie obsahu vody v masle sa použije metóda analýzy popísaná v prílohe IX.
2. Ako referenčná metóda na určovanie obsahu beztukovej sušiny v masle sa použije metóda analýzy popísaná v prílohe X.
3. Ako referenčná metóda na určovanie obsahu tuku v masle sa použije metóda analýzy popísaná v prílohe XI.

Článok 9

Stopové látky

1. Ako referenčná metóda na určovanie obsahu vanilínu v koncentrovanom masle, masle a smotane sa použije metóda analýzy popísaná v prílohe XII.
2. Ako referenčná metóda na určovanie obsahu etyl esteru beta-apo-8' karotenickej kyseliny v koncentrovanom masle a masle sa použije metóda analýzy popísaná v prílohe XIII.
3. Ako referenčná metóda na určovanie obsahu beta sitosterolu alebo stigmasterolu v koncentrovanom masle a masle sa použije metóda analýzy popísaná v prílohe XIV.
4. Do koncentrovaného masla, masla a smotany boli pridané stopové látky v súlade s relevantnými pravidlami spoločenstva vtedy, ak získané výsledky sú v súlade so špecifikáciami odseku 8 príloh uvedených v odsekoch 1, 2 a 3.

Článok 10

Zisťovanie kazeínu z kravského mlieka

1. Na overenie toho, že syr, ktorý musí byť vyrobený výlučne z ovčieho mlieka, kozieho mlieka alebo byvolieho mlieka alebo zo zmesi ovčieho, kozieho a byvolieho mlieka, neobsahuje v skutočnosti aj kazeín z kravského mlieka, sa použije referenčná metóda analýzy uvedená v prílohe XV.

Prítomnosť kazeínu z kravského mlieka sa potvrdí, ak zjavný obsah kazeínu z kravského mlieka vo vzorke je rovný alebo vyšší ako obsah v referenčnej vzorke obsahujúcej 1 % kravského mlieka podľa popisu v prílohe XV.

2. Na zisťovanie kazeínu z kravského mlieka v syroch podľa odseku 1 je možné použiť rutinné metódy, ak:

a) detekčný limit je 0,5 % alebo menej;

b) neexistujú žiadne nesprávne pozitívne výsledky;

c) kazeín z kravského mlieka je zistiteľný s požadovanou citlivosťou aj po dlhých dobách zretia, ku ktorým môže dôjsť pri bežných obchodných podmienkach.

Ak požiadavka uvedená pod písmenom b) nie je splnená, akákoľvek vzorka s pozitívnym výsledkom sa musí analyzovať referenčnou metódou.

Ak požiadavka uvedená pod písmenom c) nie je splnená pre jeden z typov syrov uvedených v odseku 1, tento syr sa musí analyzovať referenčnou metódou.

Článok 11

Zisťovanie koliforiem

1. Na zisťovanie prítomnosti koliforiem v masle, odstredenom mlieku v prášku, kazeíne a kazeinátoch sa používa referenčná metóda analýzy popísaná v prílohe XVI.

2. Na zisťovanie koliforiem je možné použiť rutinné metódy, ak sú získané výsledky porovnateľné s výsledkami získanými referenčnou metódou popísanou v uvedenej prílohe. Rutinné metódy musia mať najmä vhodný detekčný limit. Nesprávne negatívne výsledky sa nesmú vyskytnúť. Ak nie je možné vylúčiť výskyt nesprávnych pozitívnych výsledkov, akýkoľvek pozitívny výsledok musí byť potvrdený použitím referenčnej metódy.

Článok 12

Obsah laktózy

Metóda stanovovania obsahu laktózy vo výrobkoch spadajúcich pod KN kód 2309 je popísaná v prílohe XVII.

Článok 13

Zisťovanie syridlovej srvátky

1. Metóda na zisťovanie syridlovej srvátky v odstredenom mlieku v prášku určenom na verejné skladovanie je popísaná v prílohe XVIII.

2. Metóda na zisťovanie syridlovej srvátky v odstredenom mlieku v prášku a zmesiach určených na použitie ako krmivo pre zvieratá je popísaná v prílohe XIX.

Článok 14

Zisťovanie cmaru

Metóda na zisťovanie cmaru v odstredenom mlieku v prášku je popísaná v prílohe XX.

Článok 15

Antimikrobiotické rezíduá

Metóda na zisťovanie antibiotických a sulfonamid/dapsonových rezíduí v odstredenom mlieku v prášku je popísaná v prílohe XXI.

Článok 16

Obsah odstredeného mlieka v prášku

Metóda na zisťovanie odstredeného mlieka v prášku v krmných zmesiach je popísaná v prílohe XXII.

Článok 17

Zisťovanie škrobu

Metóda na zisťovanie škrobu v odstredenom mlieku v prášku, denaturovanom mliečnom prášku a krmných zmesiach je popísaná v prílohe XXIII.

Článok 18

Vlhkosť kyslého cmaru v prášku

Metóda na stanovenie vlhkosti kyslého cmaru v prášku určeného na použitie v krmných zmesiach je popísaná v prílohe XXIV.

Článok 19

Zisťovanie cudzích tukov

Metóda na zisťovanie cudzích tukov v mliečnych tukoch je popísaná v prílohe XXV.

HLAVA III

ZÁVEREČNÉ USTANOVENIA

Článok 20

Zmeny a doplnenia k nariadeniu (ES) č. 2771/1999

Nariadenie (ES) č. 2771/1999 sa mení a dopĺňa takto:

1. Prvá veta článku 4 ods. 1 sa nahrádza nasledovným: „Príslušné orgány kontrolujú kvalitu masla použitím metód popísaných v prílohe I a na základe vzoriek odobratých v súlade s pravidlami stanovenými v prílohe IV.“
2. V prílohe I sa poznámka pod čiarou 2 nahrádza nasledovným: „Pozri prílohu I k nariadeniu (ES) č. 213/2001.“
3. Prílohy II a III sa vypúšťajú.

4. V predposlednej vete prílohy IV.2 sa slová „s prílohou III“ nahrádzajú slovami „s prílohou VII k nariadeniu (ES) č. 213/2001.“

Článok 21

Zmeny a doplnenia k nariadeniu (ES) č. 2779/1999

Nariadenie (ES) č. 2779/1999 sa dopĺňa takto:

1. Článok 20 ods. 1, 2, 3 a 4 sa nahrádza nasledovným:

„1. Obsah odstredeného mlieka v prášku v zmesiach a krmných zmesiach sa stanovuje testovaním každej vzorky najmenej dvakrát použitím metódy analýzy popísanej v prílohe XXII nariadenia (ES) č. 213/2001, doplnenej kontrolami uvedenými v článku 17 ods. 3 tohto nariadenia. Ak sa vyskytne odchýlka medzi výsledkami týchto kontrol, smerodajný je výsledok kontroly na mieste.“

2. Neprítomnosť syridlovej srvátky sa dokazuje použitím metód popísaných v prílohe XIX nariadenia (ES) č. 213/2000.

3. Obsah škrobu v krmných zmesiach sa stanovuje kontrolami uvedenými v článku 17 ods. 3 tohto nariadenia, ktoré musia byť doplnené metódou analýzy popísanou v prílohe XXIII nariadenia (ES) č. 213/2001.

4. Vlhkosť kyslého cmaru v prášku sa stanovuje použitím metódy analýzy popísanej v prílohe XXIV nariadenia (ES) č. 213/2001.“

2. Prílohy III, IV, V a VI sa vypúšťajú.

Článok 22

Zrušenia

Rušia sa nariadenia (EHS) č. 1216/68, (EHS) č. 3942/92, (ES) č. 86/94, (ES) č. 2721/95, (ES) č. 1854/96, (ES) č. 1080/96, (ES) č. 1081/96, (ES) č. 1082/96, (ES) č. 880/98 a (ES) č. 1459/98.

Odkazy na zrušené nariadenia sa menia na odkazy na toto nariadenie.

Článok 23

Nadobudnutie účinnosti

Toto nariadenie nadobúda účinnosť v siedmy deň po uverejnení v Úradnom vestníku Európskych spoločenstiev.

Metódy uvedené v prílohách III, IV.4, V, VI a VIII sa uplatňujú 18 mesiacov po nadobudnutí účinnosti tohto nariadenia.

Toto nariadenie je záväzné vo svojej celistvosti a je priamo uplatniteľné vo všetkých členských štátoch.

V Bruseli 9. januára 2001

Za Komisiu
Franz FISCHLER
člen Komisie

PRÍLOHA I

(Článok 2)

ZOZNAM REFERENČNÝCH METÓD

Index

min. = minimum max. = maximum, prkloha = prkloha k citovanému nariadeniu, SNF = netučný suina, FFA = voľné tučné kyseliny, PV = hodnota peroxidu, A = vzhľad, F = chu, C = konzistencia, TBC = celkový počet baktérií, therm = termofilický počet baktérií, MS = číselná hodnota, IDF = Medzinárodná federácia pre mliečne výrobky, ISO = Medzinárodná organizácia pre štandardizáciu, IUPAC = Medzinárodná únia čistej aplikovanej chémie, ADPI = Americký sladový kondenzovaný mlieko, EMC = vyparené mlieko alebo smotana, MSNF = netučný suina mlieka

Časť A

Nariadenie komisie	Výrobok	Parameter	Limit	Referenčná metóda	Poznámka
nariadenie (ES) č. 2771/1999 verejné skladovanie (Ú. v. ES L 333, 24. 12. 1999, s. 11)	nesolené maslo	mliečne tuky voda SNF FFA (max.) PV (max.) koliformy nemliečny tuk sterolové stopové látky iné stopové látky: — vanilín — etyl ester karotenického kyseliny — triglyceridy enantiomerického kyseliny senzorické vlastnosti disperzia vody	min. 82 % do 16 % do 2 % 1,2 mmole/100g tuku 0,3 meq kyseliny/1 000g tuku nezistiteľné v 1g nezistiteľné triglyceridovou analýzou nezistiteľné nezistiteľné nezistiteľné nezistiteľné najmenej 4 z 5 bodov pre A, G a C najmenej 4 body	príloha XI príloha IX príloha X norma IDF 6B:1989 norma IDF 74A:1991 (anglická verzia) príloha XVII príloha XXVI príloha XIV príloha XII príloha XIII IUPAC 2,301 sub 5 príloha VII norma IDF 112A:1989	poznámka 1 poznámka 3
nariadenie (ES) č. 2771/1999 súkromné skladovanie	nesolené maslo	mliečne tuky voda	min. 82 % do 16 %	príloha XI príloha IX	poznámka 6
nariadenie (ES) č. 2771/1999 súkromné skladovanie	solené maslo	mliečne tuky voda soľ	min. 80 % do 16 % do 2 %	príloha XI príloha IX norma IDF 12B:1988	poznámka 6

Nariadenie komisie	Výrobok	Parameter	Limit	Referenčná metóda	Poznámka
nariadenie (ES) č. 2571/97 (Ú. v. ES L 350, 20. 12. 1997, s. 3)	nesolené maslo	mliečne tuky voda stopové látky: — steroly — vanilín — etylester karotenickkej kyseliny — triglyceridy enantickej kyseliny	min. 82 % do 16 %	príloha XI príloha IX príloha XIV príloha XII príloha XIII IUPAC 2,301 sub 5	
nariadenie (ES) č. 2571/97	solené maslo	mliečne tuky voda soľ stopové látky: steroly vanilín etyl ester karotenickkej kyseliny triglyceridy enantickej kyseliny	min. 80 % do 16 % do 2 %	príloha XI príloha IX norma IDF 12B:1988 príloha XIV príloha XII príloha XIII IUPAC 2,301 sub 5	
nariadenie (ES) č. 2571/97	koncentrované maslo	mliečne tuky vlhkosť a MSNF FFA PV (max.) nemliečny tuk chuť pach iné stopové látky: — steroly — vanilín — etylester karotenickkej kyseliny — triglyceridy enantickej kyseliny	min. 99,8 % do 0,2 % do 0,35 % (oleic) 0,5 meq kyslíka/1 000g tuku neprítomnosť čistá bez cudzích pachov bez neutralizačných prvkov, antio- xidantov a konzervačných látok	norma IDF 24:1964 norma IDF 23A:1988 (vlhkosť) norma IDF 24:1964 (MSNF) norma IDF 6B:1989 norma 74A:1991(anglická verzia) príloha XXV príloha XIV príloha XII príloha XIII IUPAC 2,301 sub 5	poznámka 1

Nariadenie komisie	Výrobok	Parameter	Limit	Referenčná metóda	Poznámka
nariadenie (ES) č. 2571/97	smotana	tuk	35 %	norma IDF 16C:1987	
		stopové látky:			
		— steroly		metódy schválené kompetentným orgánom	poznámka 2
		— vanilín		príloha XII	
		— etylester karotenickej kyseliny		metódy schválené kompetentným orgánom	poznámka 2
		— triglyceridy enantickej kyseliny		IUPAC 2,301 sub 5	
nariadenie (EHS) č. 429/90 (Ú. v. ES L 45, 21. 2. 1990, s. 8)	koncentrované maslo	mliečne tuky	min. 96 %	metódy schválené kompetentným orgánom	poznámka 2
		SNF	do 2 %	metódy schválené kompetentným orgánom	poznámka 2
		stopové látky:			
		— stigmasterol (95 %)	15 g/100 kg koncentrovaného masla	príloha XIV	
		— stigmasterol (85 %)	17 g/100 kg koncentrovaného masla	príloha XIV	
		— triglyceridy enantickej kyseliny	1,1 kg/100 kg koncentrovaného masla	IUPAC 2,301 sub 5	
		— etyl ester butyrickej kyseliny a stigmasterolu	pozri prílohu, bod 1 písm. c)	príloha XIV	poznámka 2
		— lecitín (E322)	do 0,5 %	metódy schválené kompetentným orgánom	poznámka 2
		NaCl	do 0,75 %	norma IDF 12B:1988	
		FFA	do 0,35 % (oleic)	norma IDF 6B:1989	
		PV (max.)	do 0,5 meq kyslíka/1 000g tuku	norma IDF 74A:1991 (anglická verzia)	poznámka 1
		chuť	čistá		
		pach	bez cudzích pachov		
		iné	bez neutralizačných prvkov, antio- xidantov a ochranných látok		
nariadenie (EHS) č. 2191/81 (Ú. v. ES L 213, 1. 8. 1981, s. 20)	nesolené maslo	mliečne tuky	min. 82 %	príloha XI	
		voda	do 16 %	príloha IX	

Nariadenie komisie	Výrobok	Parameter	Limit	Referenčná metóda	Poznámka
nariadenie (EHS) č. 2191/81	solené maslo	mliečne tuky voda soľ	min. 80 % do 16 % do 2 %	príloha XI príloha IX norma IDF 12B:1988	
článok 9 a hlava II nariadenia (ES) č. 1255/1999	syr vyrobený z ovčieho a/alebo kozieho mlieka	kravské mlieko	< 1 %	príloha XV	
nariadenie (EHS) č. 2921/90	príloha I – kyslý kazeín	voda tuk voľná kyslosť	do 12 % do 1,75 % do 0,30 % (laktická)	norma IDF 78C:1991 norma IDF 127A:1988 norma IDF 91:1979	
nariadenie (EHS) č. 2921/90	príloha I – syridlový kazeín	voda tuk popol	do 12 % do 1 % min. 7,50 %	norma IDF 78C:1991 norma IDF 127A:1998 norma IDF 90:1979	
nariadenie (EHS) č. 2921/90	príloha I – kazeináty	voda mliečny proteín tuk a popol	do 6 % min. 88 % do 6 %	norma IDF 78C:1991 norma IDF 92:1979 norma IDF 127A:1988 norma IDF 89/1979 alebo	
nariadenie (EHS) č. 2921/90	príloha II – kyslý kazeín	voda tuk voľná kyslosť TBC (max.) koliformy therm (max.)	do 10 % do 1,50 % do 0,20 % (laktická) 30 000 l/g neprítomnosť v 0,1g 5 000 l/g	norma IDF 78C:1991 norma IDF 127A:1988 norma IDF 91:1979 norma IDF 100B:1991 príloha XVI norma IDF 100B:1991	poznámka 3 poznámka 3 poznámka 3 a 4
nariadenie (EHS) č. 2921/90	príloha II – syridlový kazeín	voda tuk popol TBC (max.) koliformy therm (max.)	do 8 % do 1 % min. 7,5 % 30 000 l/g neprítomnosť v 0,1g 5 000 l/g	norma IDF 78C:1991 norma IDF 127A:1988 norma IDF 90:1979 norma IDF 100B:1991 príloha XVI norma IDF 100B:1991	poznámka 3 poznámka 3 poznámka 3 a 4

Nariadenie komisie	Výrobok	Parameter	Limit	Referenčná metóda	Poznámka
nariadenie (EHS) č. 2921/90	príloha II – kazeináty	voda mliečny proteín tuk a popol TBC (max.) koliformy therm (max.)	do 6,00 % min. 88,00 % do 6,00 % 30 000 l/g nepítomnosť v 0,1g 5 000 l/g	norma IDF 78C:1991 norma IDF 92:1979 norma IDF 127A:1988 norma IDF 89:1979 alebo 90:1979 norma IDF 100B:1991 príloha XVI norma IDF 100B:1991	 poznámka 3 poznámka 3 poznámka 3 a 4
nariadenie (EHS) č. 2921/90	príloha III – kazeináty	voda mliečny proteín tuk laktóza popol TBC (max.) koliformy therm (max.)	do 6,00 % min. 85,00 % do 1,50 % do 1,00 % do 6,50 % 30 000 l/g nepítomnosť v 0,1g 5 000 l/g	norma IDF 78C:1991 norma IDF 92:1979 norma IDF 127A:1988 norma IDF 106:1982 norma IDF 89:1979 alebo 90:1979 norma IDF 100B:1991 príloha XVI norma IDF 100B:1991	 poznámka 3 poznámka 3 poznámka 3 a 4
nariadenie (ES) č. 2799/1999	kŕmne zmesi a odstredeného mlieka v prášku (SMP) (pre použitie v krmive pre zvieratá)	voda (kyslý cmar v prášku) proteín voda (SMP) tuky (SMP) syridlová srvátka (SMP) škrob (SMP) voda (zmesi) tuky (zmesi) syridlová srvátka (zmesi) obsah SMP (konečného výrobku) tuky (v konečnom výrobku) škrob (v konečnom výrobku) meď (v konečnom výrobku)	do 5 % 31,4 % (min.) netučnej sušiny do 5 % do 11 % nepítomnosť nepítomnosť do 5 % netučnej sušiny – nepítomnosť min. 50 % min. 2,5 % alebo 5 % min. 2 % 25 ppm	norma IDF 20B:1993 norma IDF 26A:1993 norma IDF 9C:1987 príloha XIX príloha XXIII norma IDF 26A:1993 smernica Komisie 84/4/EHS (Ú. v. ES L 15, 18. 1. 1984, s. 28) príloha XIX príloha XXII smernica Komisie č. 84/4/EHS príloha XXIII smernica Komisie č. 78/633/EHS (Ú. v. ES L 206, 26. 7. 1987, s. 43)	 poznámka 7 poznámka 7 poznámka 8 poznámka 9

Nariadenie komisie	Výrobok	Parameter	Limit	Referenčná metóda	Poznámka
nariadenie (ES) č. 322/96	SMP (sprej)	tuk proteín voda kyslosť (N/10 NaOH) laktáty fosfát rozpustnosť spálené čiastočky TBC koliformy cmar syridlová srvátka kyslá srvátka antimikrobiálne činidlá	do 1,0 % 31,4 % (min.) netučnej sušiny do 3,5 % do 19,5 ml do 150 mg/100 g negatívny do 0,5 ml pri 24 Code en erreur: 8eJC disk B min. (15,0 mg) 40 000/l g negatívne/0,1 g negatívny negatívna negatívna	norma IDF 9C:1987 norma IDF 20B:1993 norma IDF 26A:1993 norma IDF 86:1981 norma IDF 69B:1987 norma ISO 3356:1975 norma IDF 129A:1988 ADPI:1990 norma IDF 100B:1991 príloha XVI príloha XX príloha XVIII metódy schválené kompetentným orgánom príloha XXI	 poznámka 3 poznámka 3 poznámka 2

Časť B

Referenčné metódy uvedené v časti B sa môžu používať na analýzu výrobkov spadajúcich pod ktorékoľvek z nariadení uvedených v stĺpci 1.

Nariadenie Komisie	Výrobok	Kód KN	Parameter	Limit	Referenčná metóda	Poznámky
Nariadenie (EHS) č. 2658/87 (Ú. v. ES L 256, 7.9.1987, s. 1) Nariadenie (ES) č. 2414/98 (Ú. v. ES L 299, 10.11.1998, s. 7) Nariadenie (ES) č. 1374/98 (Ú. v. ES L 185, 30.6.1998, s. 21) Nariadenie (ES) č. 2508/97 (Ú. v. ES L 345, 16.12.1997, s. 31) Nariadenie (ES) č. 174/1999 (Ú. v. ES L 20, 27.1.1999, s. 8)	Mlieko a smotana nekoncentrované a neobsahujúce cukor alebo iné sladidlá	0401	Tuk (≤ 6 %) Tuk (> 6 %)	Limity sú špecifikované v popise kódu KN pre špecifický produkt, ďalej špecifikované v určitých prípadoch v nariadení Komisie (EHS) č. 3846/87 (Ú. v. ES L 366, 24.12.1987, s. 1), časť 9 exportnej nomenklatúry, alebo nariadení (EHS) č. 1374/98 (Ú. v. ES L 185, 30.6.1998, s. 21)	Norma IDF 1D:1996 norma IDF 16C:1987	

Nariadenie Komisie	Výrobok	Kód KN	Parameter	Limit	Referenčná metóda	Poznámky
	mlieko a smotana, koncentrované alebo obsahujúce pridaný cukor alebo iné sladidlo	0402	tuky (kvapalná forma) tuky (pevná forma) proteín sacharóza (normálny obsah) sacharóza (nízky obsah) pevné látky (SCM) pevné látky (EMC) voda (mlieko a smotanav prášku)		norma IDF 13C:1987 norma IDF 9C:1987 norma IDF 20B:1993 norma IDF 35A:1992 metódy schválené norma IDF 15B:1991 norma IDF 21B:1987 norma IDF 26A:1993	poznámka 2
	Cmar, fermentované alebo acidované mlieko a smotana, koncentrované alebo nekoncentrované, obsahujúce pridaný cukor alebo iné sladidlá	0403	tuk proteín sacharóza (normálny obsah) sacharóza (nízky obsah) voda (kyslý cmar v prášku) voda (sladký cmar v prášku) pevné látky (ostatné výrobky)		normy IDF 1D:1996, norma IDF 20B:1993 norma IDF 35A:1992 metódy schválené príslušným orgánom príloha XXIV norma IDF 26A:1993 metódy schválené	poznámka 2
	srvátka, koncentrovaná alebo	0404	tuk proteín sacharóza (normálny obsah) sacharóza (nízky obsah)		normy IDF 9C:1987 norma IDF 20B:1993 norma IDF 35A:1992 metódy schválené	poznámka 2
		0404 90	proteín voda pevné látky (koncentrované výrobky)		norma IDF 20B:1993 norma IDF 26A:1993 norma IDF 15B:1991 norma IDF 21B:1987	
	maslo a iné tuky odvodené z mlieka; nátierky	0405	tuk (ak ≤ 85 %) voda		príloha XI príloha IX	
		maslo	SNF NaCl		príloha X norma IDF 12B:1998	
		Maslový olej	tuk (ak > 99 %) voda (ak tuk < 99 %)		norma IDF 24:1964 norma IDF 23A:1988	

Nariadenie Komisie	Výrobok	Kód KN	Parameter	Limit	Referenčná metóda	Poznámky
	syr a tvaroh	0406	tuk pevné látky pevné látky (rikota) NaCl laktóza		norma IDF 5B:1986 norma IDF 4A:1982 norma IDF 58:1970 norma IDF 88A:1988 norma IDF 79B:1991	
Nariadenie (EHS) č. 2658/87	kŕmne zmesi	2309	laktóza		príloha XVII	

Poznámky k zoznamu referenčných metód Európskej únie

Poznámka 1: Izolácia mliečneho tuku podľa popisu v norme IDF 6B:1989 (ochrana pred svetlom).

Poznámka 2: Nebola stanovená žiadna referenčná metóda.

Poznámka 3: Vzorka sa pripravuje podľa normy IDF 122C:1996 alebo normy IDF 73A:1985.

Poznámka 4: Inkubácia na 48 hodín pri teplote 55 °C, je potrebné predtým vyschnúť kultúry.

Poznámka 5: % SNF = % pevné látky – % tuky.

Poznámka 6: Maslo musí korepondovať so triedou kvality členského štátu pôvodu uvedenej v prílohe V nariadenia Komisie (ES) č. 2771/1999.

Poznámka 7: Smernica Komisie 84/8/EHS.

Poznámka 8: Nariadenie Komisie (ES) č. 1758/94 (Š. v. ES L 183, 19.7.1994, s. 14).

Poznámka 9: Smernica Komisie 78/633/EHS.

PRÍLOHA II

(Článok 3)

KONTROLA VÝSLEDKOV ZÍSKANÝCH RUTINNÝMI METÓDAMI, KTORÉ SÚ BLÍZKO LIMITOM ŠPECIFIKOVANÝM V NARIADENIACH PRE POŽIADAVKY NA ZLOŽENIE A KVALITU

Ak m_0 je limitom pre požiadavky na zloženie a kvalitu špecifikované v nariadení, rozhodujúci limit (L) je

$$L = m_0$$

ak $R_{\text{Rout}}/R_{\text{Ref}} \leq 1$

R_{Rout} : limit reprodukovateľnosti rutinnej metódy

R_{Ref} : limit reprodukovateľnosti referenčnej metódy

Ak m_0 je horný limit a $R_{\text{Rout}}/R_{\text{Ref}} > 1$, tento rozhodujúci limit sa získa použitím vzorca

$$L = m_0 - [(R_{\text{Rout}}/R_{\text{Ref}}) - 1] \cdot \text{CrD}_{95}$$

Ak za rovnakých podmienok je m_0 spodný limit, tento rozhodujúci limit sa získa použitím vzorca

$$L = m_0 + [(R_{\text{Rout}}/R_{\text{Ref}}) - 1] \cdot \text{CrD}_{95}$$

pričom CrD_{95} je kritická odchýlka referenčnej metódy (pozri prílohu IV).

Ak m_0 je horný limit, konečný výsledok nad rozhodujúcim limitom získaný použitím rutinnej metódy sa musí nahradiť konečným výsledkom získaným použitím referenčnej metódy. Tento konečný výsledok musí byť založený najmenej na rovnakom počte analýz/vzoriek ako konečný výsledok získaný rutinnou metódou.

Ak m_0 je spodný limit, rovnaký postup sa musí použiť pre konečný výsledok pod rozhodujúcim limitom získaný použitím rutinnej metódy

Poznámka

Postup popísaný vyššie je možné použiť, ak neexistujú žiadne zistiteľné matricové efekty.

Matricové efekty sa dajú zistiť nasledovným spôsobom: pre každú vzorku používanú na kalibráciu sa stanoví rozdiel (w_i) medzi výsledkami získanými referenčnou metódou a výsledkami získanými rutinnou metódou.

Štandardná odchýlka sa počíta zo vzorca

$$s = \sqrt{(\sum w_i^2)/2m}$$

m : počet vzoriek použitých na kalibráciu sa porovná s aritmetickým priemerom štandardnej odchýlky opakovateľnosti referenčnej a rutinnej metódy.

$$s_r \sqrt{(s_{r(\text{ref})}^2 + s_{r(\text{rout})}^2)/2}$$

Matricový efekt nie je možné vylúčiť, ak

$$m \bullet s^2/s_r^2 > \text{Chi}_{f;1-\alpha}^2$$

pričom

$f = m$ (f : počet stupňov voľnosti)

α = pravdepodobnosť omylu; $\alpha = 0,05$. V tomto prípade sú pred stanovením rozhodujúceho limitu potrebné ďalšie merania.

PRÍLOHA III

(Články 4 a 5)

a) Postup na stanovenie zhody s bežným limitom reprodukovateľnosti (Chemická analýza)

Zhoda s limitom reprodukovateľnosti sa kontroluje porovnaním laboratórnych výsledkov s výsledkami skúseného laboratória ⁽¹⁾, získanými z rovnakej vzorky. V oboch laboratóriách sa vykoná dvojité meranie a výsledky sa hodnotia použitím vzorca:

$$CrD_{95}(\bar{y}_1 - \bar{y}_2) = \sqrt{R^2 - \frac{r^2}{2}}$$

pričom:

CrD_{95} : kritická odchýlka ($P = 0,95$)

$\bar{y}_1$: aritmetický priemer dvoch výsledkov získaných v laboratóriu 1

$\bar{y}_2$: aritmetický priemer dvoch výsledkov získaných v laboratóriu 2

R : limit reprodukovateľnosti: stanovuje sa interpoláciou

r : limit opakovateľnosti: ak sa presnosť mení podľa úrovne

Ak je prekročená kritická odchýlka, do dvoch mesiacov je potrebné vykonať ďalší pokus. Ak výsledky druhého pokusu nespĺňajú limit reprodukovateľnosti, musia kompetentné orgány vykonať príslušné kroky.

b) Postup na získanie dočasného limitu reprodukovateľnosti (Chemická analýza)

Dočasný limit reprodukovateľnosti (R_{prov}) sa získava použitím nasledovného vzorca:

$$R_{\text{prov}} = \sqrt{(\bar{y}_1 - \bar{y}_2)^2 + \frac{r^2}{2}}$$

pričom

$\bar{y}_1$: priemer dvoch výsledkov získaných v laboratóriu 1

$\bar{y}_2$: priemer dvoch výsledkov získaných v laboratóriu 2 (pozri prílohu IIIa)

r : limit opakovateľnosti alebo dočasný limit opakovateľnosti.

Poznámky:

1. R_{prov} sa môže použiť na výpočet kritických odchýlok (pozri prílohu VI).
2. R_{prov} sa rovná $2r$, ak je vypočítaná hodnota R_{prov} menšia ako $2r$.
3. Ak je vypočítaná hodnota väčšia ako $3r$ alebo väčšia ako dvojnásobok hodnoty R predpovedanej z Horwitzovej rovnice (*), potom je hodnota R_{prov} neprijateľne vysoká a nemôže sa použiť na výpočet kritickej odchýlky.
4. R_{prov} je potrebné stanoviť minimálne jedenkrát za rok na základe výsledkov získaných v dvoch laboratóriách (pozri prílohu IV).
5. Na výpočet kritických odchýlok sa musí použiť stredná hodnota R_{prov} . Pravidlá v bodoch 2 a 3 platia pre strednú hodnotu R_{prov} .

⁽¹⁾ Skúsené laboratórium je vo všeobecnosti také laboratórium, ktoré sa úspešne podieľalo buď na potvrdení testovacej metódy, alebo na teste dokonalosti.

Limit reprodukovateľnosti (hodnota R) sa získa z vypočítanej hodnoty RSD_R nasledovne

$$R = 0,0283\bar{x}RSD_R$$

$\bar{x}$: aritmetický priemer získaných výsledkov

Niekoľko vypočítaných hodnôt RSD_R (príklady)

Koncentrácia	RSDR (%)
1 g/100 g	4
0,01 g/100 g	8
1 mg/1 000 g	16

Koncentrácia analytu 1 g/100 g získa:

$$R = 0,0283 \cdot 1 \cdot 4 = 0,11 \text{ g/100 g}$$

PRÍLOHA IV

(Článok 4)

HODNOTENIE VÝSLEDKOV ANALÝZY ZÍSKANÝCH POTVRDENÝMI METÓDAMI

Ak výsledok analýzy ukazuje, že bol prekročený limit, vypočíta sa aritmetický priemer dvoch alebo viacerých výsledkov. Sleduje sa pritom nasledovný postup:

1. V prípadoch, keď výsledok analýzy predstavuje jediný výsledok, je potrebné uskutočniť druhú analýzu v podmienkach opakovateľnosti. Ak nie je obe analýzy možné vykonať v podmienkach opakovateľnosti, je potrebné vykonať ďalšiu duplicitnú analýzu v podmienkach opakovateľnosti a použiť tieto výsledky na hodnotenie zhody kritickej odchýlky.
2. Stanoví sa absolútna hodnota rozdielu medzi aritmetickým priemerom výsledkov získaných v podmienkach opakovateľnosti a limitom. Absolútna hodnota rozdielu väčšia ako kritická odchýlka znamená, že analyzovaná vzorka nespĺňa požiadavky.

Kritická odchýlka sa stanovuje použitím nasledovného vzorca:

$$\text{CrD}_{95}(|\bar{y} - m_0|) = \frac{0,84}{\sqrt{2}} \sqrt{R^2 - r^2 \frac{n-1}{n}}$$

pričom:

$\bar{y}$: aritmetický priemer získaných výsledkov

m_0 : limit

n : počet analýz/vzoriek

Ak sa presnosť mení podľa úrovne, je možno potrebné interpoláciou stanoviť r a R .

Konečný výsledok zaznamenaný pre vzorku musí ukazovať zhodu s limitom.

Konečné výsledky

— v rozpätí $m_0 \pm \text{CrD}_{95}(|\bar{y} - m_0|)$, ak je limitom maximum;

— v rozpätí $m_0 \pm \text{CrD}_{95}(|\bar{y} - m_0|)$, ak je limitom minimum

by sa preto mali vyskytovať len výnimočne.

Konečné výsledky v rámci uvedených rozpätí sú akceptovateľné, len ak sa vyskytnú najviac jedenkrát na každých päť vzoriek analyzovaných na jednu dodávku. Ak sa na jednu dodávku analyzuje menej ako päť vzoriek, akceptovateľný je jeden výsledok v rámci uvedeného rozpätia.

3. Ak sa konečný výsledok x vypočítava použitím vzorca $x = y_1 \pm y_2$ (príklad: voda + obsah beztukovej sušiny v masle na výpočet obsahu tuku), pričom y_1 a y_2 sú konečnými výsledkami jedného typu analýzy, potom sa celkové limity opakovateľnosti a reprodukovateľnosti r_x a R_x konečných výsledkov x vypočítajú:

$$r_x = \sqrt{r_1^2 + r_2^2}$$

$$R_x = \sqrt{R_1^2 + R_2^2}$$

pričom r_1 a r_2 sú limity y_1 opakovateľnosti a R_1 a R_2 sú limity reprodukovateľnosti pre y_1 a y_2 ;

x sa porovnáva s limitom m_0 podľa pravidiel špecifikovaných v bodoch 1 a 2. Kritická odchýlka sa stanoví použitím vzorca:

$$\text{CrD}_{95}(|x - m_0|) = \frac{0,84}{\sqrt{2}} \sqrt{R_x^2 - r_x^2 \frac{n-1}{n}}$$

pričom x je aritmetický priemer získaných výsledkov x_1 .

4. Ak sa konečný výsledok vypočíta použitím vzorca

$$x = \frac{y_1}{y_2}$$

(príklad: tuk v sušine syra)

pričom y_1 a y_2 sú konečné výsledky jedného typu analýzy, potom sa celkové limity opakovateľnosti a reprodukovateľnosti r_x a R_x môžu vypočítať takto:

$$r_x = \mu_x \sqrt{r_{*1}^2 + r_{*2}^2}$$

$$R_x = \mu_x \sqrt{R_{*1}^2 + R_{*2}^2}$$

$$\mu_x = \mu_1 \mu_2$$

μ_1 : limit cieľovej hodnoty pre y_1 (príklad: tuk)

μ_2 : limit cieľovej hodnoty pre y_2 (príklad: sušina)

$$r_{*1} = \frac{r_1}{\mu_1} \leq 0,15$$

$$r_{*2} = \frac{r_2}{\mu_2} \leq 0,15$$

pričom

r_1 : limit opakovateľnosti y_1

r_2 : limit opakovateľnosti y_2

$$R_{*1} = \frac{R_1}{\mu_1} \leq 0,15$$

$$R_{*2} = \frac{R_2}{\mu_2} \leq 0,15$$

pričom:

R_1 : limit reprodukovateľnosti y_1

R_2 : limit reprodukovateľnosti y_2

Postupy pre výpočet r_x a R_x sú použiteľné, len ak sú relatívne limity opakovateľnosti a reprodukovateľnosti (r_{*1} , r_{*2} , R_{*1} , R_{*2}) menšie alebo rovné 0,15;

x sa porovnáva s limitom μ_x podľa pravidiel špecifikovaných v bodoch 1 a 2. Kritická odchýlka sa určí použitím vzorca:

$$\text{CrD}_{95}(|\bar{x} - \mu_x|) = \frac{0,84}{\sqrt{2}} \sqrt{R_x^2 - r_x^2 \frac{n-1}{n}}$$

TEXTE MANQUANT TEXTE MANQUANT^{TEXTE MANQUANT} pričom y_{11} , y_{12} , y_{21} a y_{22} tuleb arvutada y_{11}/y_{21} ja y_{12}/y_{22} je aritmetický priemer výsledkov x získaných v chronologickom poradí (*).

(*) Piezīme. Piemēram, ja ir iegūti rezultāti y_{11} , y_{12} , y_{21} un y_{22} , tad jāaprēķina y_{11}/y_{21} un y_{12}/y_{22} vidējais aritmētiskais lielums.

PRÍLOHA V

INTERNÁ KONTROLA

(Článok 5)

a) Postup internej kontroly kvality (Internal Quality Control – IQC) (chemická analýza)*Definícia kontrolného materiálu*

Materiál používaný na účely IQC je podrobený rovnakému, alebo súčasťou rovnakého postupu ako testované materiály.

Kontrolným materiálom môže byť:

- certifikovaný referenčný materiál,
- interný referenčný materiál,
- materiál overený medzilaboratórnym testom,
- spevnený materiál.

Postup stanovenia IQC

Laboratórium zavedie IQC podľa postupu popísaného v dokumente IUPAC „Harmonizované postupy pre internú kontrolu kvality v analytických laboratóriách“⁽¹⁾.

IQC obsahuje zahrnutie kontrolných materiálov do analytického postupu alebo opakovanie analýzy testovacej vzorky. Kontrolné materiály musia byť svojim chemickým zložením podobné testovacím vzorkám a musia byť adekvátne stabilné počas obdobia testovania. Musí byť preukázané, že pre analýzu môžu byť vhodne rozdelené na rovnaké časti a že sú v koncentrácii analytu vhodnej na účely testovania.

Kontrolný materiál musí byť vložený minimálne jedenkrát v každom kole analýzy a získaná hodnota musí byť vyznačená do kontrolného diagramu na meranie dlhodobých chýb. Laboratórium ďalej pravidelne preukazuje súlad s podmienkami opakovateľnosti v rámci kola. Toto je možné dosiahnuť dvojitou analýzou kontrolných a/alebo testovacích materiálov. Výsledky týchto analýz sa porovnávajú s akýmkoľvek publikovanými limitmi opakovateľnosti a existujúcimi údajmi o internej presnosti.

Ak sa používajú kontrolné materiály, hodnoty získané z medzikolovej analýzy kontrolného materiálu musia byť vyznačené do Shewhartovho diagramu [ISO 8258(1991)] s príslušnými kontrolnými limitmi. Akčné limity musia byť stanovené na

$$x \pm 3s_t,$$

kde s_t je celková štandardná odchýlka,

varovné limity na

$$x \pm 2s_t$$

Celková štandardná odchýlka:

$$s_t = \sqrt{s_b^2 + s_w^2/n}$$

pričom:

s_b : štandardná odchýlka medzi kolami

s_w : štandardná odchýlka v rámci kola analýzy

n : počet určení

V prípadoch, keď sa kontrolné materiály nepoužívajú (napr. kvôli nedostatočnej stabilite), sa musí analyzovať najmenej jeden z testovacích materiálov dvakrát v každom kole.

Absolútna odchýlka získaná z dvojitej analýzy v jednom kole (pozri prílohu III) musí byť vyznačená do diagramu. Stredná čiara je $1,128 s_w$, spodný limit je 0, horný limit (akčný limit) je $3,686 s_w$, pričom s_w je štandardná odchýlka v rámci kola analýzy.

Ak je rozpätie koncentrácie veľké, mal by kontrolný postup zahŕňať materiály s nízkymi a vysokými hodnotami.

⁽¹⁾ M. Thompson a R. Wood: Pure and Applied Chemistry 67 (4), 649-666 (1995).

Ak testovací materiál pokrýva široký rozsah koncentrácií analytu, laboratórium určí vzťah medzi presnosťou a úrovňou. Ak je presnosť priamo úmerná úrovni, následná kontrola by mala byť založená na relatívnej presnosti (t. j. absolútny rozdiel ako percento strednej hodnoty).

Nesprávne podmienky analytického systému vzniknú, ak sa vyskytne jedna z nasledovných možností:

- A. súčasná vyznačená hodnota je mimo akčných limitov;
- B. súčasná hodnota a predchádzajúca hodnota sú mimo varovných limitov, ale v rámci akčných limitov;
- C. pri použití kontrolných materiálov deväť hodnôt po sebe je na rovnakej strane strednej čiary.

Laboratórium musí na nesprávne podmienky zareagovať nasledovne:

- A. zastavením analýzy vykonávaných diagnostických testov a nápravné kroky a
- B. odmietnutím kola výsledkov a opätovnou analýzou testovacích materiálov.

b) Postup výberu interného kontrolného materiálu a stanovenia interných limitov presnosti (chemická analýza)

Údaje o presnosti v laboratóriu je možné získať opätovnou analýzou kontrolných materiálov a/alebo opätovnou analýzou testovacích vzoriek.

Laboratória by mali na stanovenie parametrov presnosti pre variáciu v rámci a mimo kola pre následné použitie pri zostavovaní kontrolných diagramov používať nasledovný postup. Laboratória tiež môžu používať alternatívne postupy za podmienky, že môžu náležite preukázať odvodenie spoľahlivých údajov o presnosti.

1. Výber kontrolných materiálov

Ak je pre laboratórium vhodné použitie kontrolného materiálu, je nutné najprv získať údaje s cieľom stanovenia limitov. Ak je to možné, používajú sa certifikované referenčné materiály (certified reference materials – CRMs). Vybrané kontrolné materiály sa analyzujú v podmienkach opakovateľnosti v rámci kola vrátane vhodných CRMov s opakovaním a náhodne. Ak použitie tohto prístupu nie je možné, laboratória sa zúčastnia testovania dokonalosti a určia konsenzuálne stredné hodnoty (pridelené hodnoty), ktoré sa považujú za konvenčnú strednú hodnotu, s ktorou sa spája rozumná neistota. Iné postupy zahŕňajú pridelenie pravdivej hodnoty formuláciou alebo použitím posilnených kontrolných materiálov.

Ak ďalej laboratórium pravidelne vykonáva tento typ analýzy a už má zavedenú štatistickú kontrolu, akékoľvek nové kontrolné materiály (napr. požadované kvôli nedostatku zásob) musia byť získané s odkazom na analýzy, ktoré sú kontrolované za použitia existujúcich materiálov.

2. Pridelenie limitov

Po výbere kontrolného materiálu ho laboratórium použije na stanovenie hodnôt presnosti v rámci kola a medzi kolami.

Minimálnou požiadavkou na stanovenie presnosti v rámci kola je dvojité analýza kontrolného materiálu minimálne 12-krát. Dvojitá analýza sa vykonáva v podmienkach opakovateľnosti, t. j. s rovnakým operátorom, rovnakými reagentmi atď. Dvojitá kontrola kontrolného materiálu sa robí náhodne v rámci kola analýzy. Každá dvojitá analýza sa vykonáva v iný deň počas určitého obdobia na dosiahnutie rozumnej variácie medzi kolami pri zohľadnení normálnych variácií, napr. reagentov, rekalibrácie nástrojov a, ak je to možné, aj rôznych analytikov.

Poznámka:

Použitie údajov o variáciách medzi kolami, ktoré nie sú úplne reprezentatívne, môže viesť k nepotrebným replikáciám analýzy kvôli príliš tesne stanoveným limitom. Laboratórium prezentujúce údaje o presnosti, ktoré sú príliš nepresné, môže takto nevyhovieť predpísaným limitom pre referenčné metódy, očakávať slabé výkony pri porovnaní s inými laboratóriami a nemusí poskytovať údaje vhodné na daný účel.

2.1. Stanovenie presnosti v rámci kola

2.1.1. Presnosť v rámci kola, ak je kontrolný materiál dostupný

Dvojité údaje (minimálne 12 duplikátov) sa najprv podrobia Cochranovmu testu maximálnej variancie. Tento zahŕňa porovnanie štvorca maximálneho rozsahu duplikátov so súčtom štvorcov rozsahov.

$$c = \frac{d^2_{\max}}{\sum_{i=1}^p d_i^2}$$

pričom

d_i = rozdiel medzi duplikátmi.

Hodnota Cochranovho kritéria C sa porovná s tabulkovou hodnotou [ISO 5725 (1994)]. Ak hodnota vybočuje z uvedeného rámca, výsledok je potrebné preskúmať a vysvetliť, napr. či nešlo o technickú chybu, chybu vo výpočte alebo pri uskutočnení testu, analýzu nesprávnej vzorky a pod. Ak je vysvetlenie technickej chyby také, že vylučuje nahradenie pochybného výsledku, výsledok je nutné vyradiť. Ak zostávajú nesprávne hodnoty, ktoré nie je možné vysvetliť, tieto sa ponechávajú ako správne a vylúčia sa štatistické odchýlky. Laboratórium potom získa náhradné hodnoty.

Ak je laboratórium spokojné so správnosťou údajov, štandardná odchýlka v rámci kola s_w sa získa nasledovne:

pre každý pár x_{i1}, x_{i2} duplicitných údajov p sa vypočíta suma duplikátov

$$s_i = x_{i1} + x_{i2}$$

a rozdiel medzi duplikátmi

$$d_i = x_{i1} - x_{i2}$$

a zráta sa

$$A = \sum_{i=1}^p s_i$$

$$B = \sum_{i=1}^p d_i^2$$

$$C = \sum_{i=1}^p s_i^2$$

Odhad štandardnej odchýlky v rámci kola je

$$s_w = \sqrt{\frac{B}{2p}}$$

Interný limit presnosti je $2,8 s_w$.

Ak sa používa referenčná metóda, interný limit presnosti sa porovnáva s publikovaným limitom opakovateľnosti. Laboratórium musí spĺňať požiadavky referenčnej metódy. Nesplnenie tejto požiadavky je nutné prešetriť.

Stanovené limity sa považujú za provizórne a je potrebné ich prehodnotiť.

2.1.2. Presnosť v rámci kola, ak kontrolný materiál nie je k dispozícii

Laboratórium môže zvoliť stanovenie presnosti v rámci kola dvojitou analýzou reprezentatívnych testovacích vzoriek (najmenej 12 dvojítých analýz). V prípadoch, keď nie je možné použitie kontrolných materiálov, napr. kvôli nestabilite, je nutné duplicitné údaje zhromaždiť touto metódou.

Poznámka:

Predpokladá sa, že analýzy pokrývajú relatívne úzke rozpätie hodnôt, a preto je možné jednu hodnotu aplikovať na všetky vzorky. V prípadoch, keď je rozpätie výsledkov väčšie a presnosť závisí od úrovne, by laboratória mali preveriť použitie relatívnych štandardných odchýlok.

Údaje sa podrobia Cochranovmu testu ako v bode 2.1.1. Ak je laboratórium spokojné so správnosťou údajov, štandardná odchýlka v rámci kola a interný limit presnosti sa získajú postupom uvedeným v časti 2.1.1.

Štandardná odchýlka v rámci kola s_w sa môže tiež použiť na zostavenie kontrolných diagramov (pozri prílohu II). Stanovené limity sa považujú za provizórne a je potrebné ich prehodnotiť.

2.2. Stanovenie presnosti medzi kolami

Vypočítajte priemernú hodnotu ($s_1/2$) pre každý pár a podrobte ich Grubbsovmu testu [ISO 5725 (1994)]. Kritéria odmietnutia/akceptovania pre hodnoty vybočujúce z rámca sú popísané v časti 2.1.1. Laboratórium musí za každú odmietnutú hodnotu získať náhradnú hodnotu. Ak je laboratórium spokojné so správnosťou údajov, štandardná odchýlka medzi kolami s_b sa získa nasledovne:

$$s_b = \sqrt{\frac{1}{4(p-1)} \left(C - \frac{p-1}{p} B - \frac{A^2}{p} \right)}$$

alebo 0, ak je výraz pod odmocninou záporný.

Celková štandardná odchýlka s_t sa používa na vypracovanie kontrolných diagramov pre priemer n pokusov (pozri prílohu II). Stanovené limity sa považujú za provizórne a je potrebné ich prehodnotiť.

3. Kontrola počiatočných limitov

Kontrolné limity stanovené podľa uvedených postupov sa považujú za počiatočné odhady.

S cieľom aktualizácie limitov stanovených na základe akceptovateľnej presnosti v rámci kola (časť 2.1.2.) sa zozbierajú ďalšie duplicitné údaje o testovacích vzorkách. Interval pred prehodnotením závisí od frekvencie analýzy. Údaje by sa mali prehodnotiť po získaní ďalších 10 duplikátov. Všetky údaje sa potom podrobia Cochranovmu test a limity sa upravajú na základe novej hodnoty štandardnej odchýlky. Ďalšie rozhodnutia o platnosti kontrolných limitov sa musia uskutočniť vo svetle nových údajov.

Prehodnotenie počiatočných údajov získaných pre presnosť medzi kolami tiež závisí od frekvencie analýzy. Po získaní desiatich bodových údajov z analýzy kontrolného materiálu pri frekvencii jednej analýzy na dodávku by sa počiatočný predpoklad uskutočnený o štandardnej odchýlke a strednej hodnote mal prehodnotiť.

Všetky údaje sa podrobia Grubbsovmu testu na zistenie údajov vybočujúcich z rámca. Stredná hodnota a štandardná odchýlka sa prepočítajú na základe nových údajov.

Okrem tohto kroku laboratórium použije Cusumov diagram [BS S700: (1984) a dodatok 5480 (1987)] na preverenie akýchkoľvek problémov, ktoré môžu byť spojené s napr. starnutím reagentov. Akýkoľvek výsledok spadajúci mimo Cusumovej „V mask“ limitov musí byť preverený.

Nové limity (stredná hodnota a štandardná odchýlka) musia byť podrobené pravidelnej kontrole použitím Cusumovho postupu. Akýkoľvek náznak, že platnosť kontrolného materiálu je spochybnená, sa musí podrobne preskúmať.

4. Oznamovanie údajov o presnosti

Laboratória musia zaslať príslušnému štátnemu orgánu nasledovné informácie:

- použitá metóda,
- štandardná odchýlka v rámci kola s_w a interný limit presnosti,
- štandardná odchýlka medzi kolami s_b ,
- celková štandardná odchýlka s_t ,
- počet analýz zahrnutých pri získavaní údajov o presnosti.

PRÍLOHA VI

(Článok 6)

HODNOTENIE EXPERTOV A SPOLAHLIVOSŤ VÝSLEDKOV SENZORICKEJ ANALÝZY

Pri použití bodovacích metód (norma IDF 99C:1997) sa používajú nasledovné postupy.

a) *Stanovenie „indexu opakovateľnosti“*

Expert v období 12 mesiacov analyzuje najmenej desať vzoriek ako slepé duplikáty. Toto sa zvyčajne uskutočňuje počas viacerých stretnutí. Výsledky pre jednotlivé vlastnosti výrobku sa hodnotia použitím nasledovného vzorca:

$$w_1 = 1 + \frac{\sum (x_{i1} - x_{i2})^2}{n}$$

pričom:

w_1 : index opakovateľnosti

x_{i1} : body pre prvé hodnotenie vzorky x_i

x_{i2} : body pre druhé hodnotenie vzorky x_i

n : počet vzoriek.

Vzorky určené na hodnotenie by mali odrážať široké rozpätie kvality. w_1 by nemalo prekročiť hodnotu 1,5 (5 bodové stupnice).

b) *Stanovenie „indexu odchýlok“*

Tento index sa používa na kontrolu, či expert používa rovnakú stupnicu pre hodnotenie kvality ako skúsená skupina expertov. Body získané expertom sa porovnávajú s priemerom bodov získaných skupinou expertov.

Na hodnotenie výsledkov sa používa nasledovný vzorec:

$$D_1 = 1 + \frac{\sum [(x_{i1} - \bar{x}_{i1})^2 + (x_{i2} - \bar{x}_{i2})^2]}{2n}$$

pričom:

x_{i1}, x_{i2} : pozri časť a)

$\bar{x}_{i1}, \bar{x}_{i2}$: priemer bodov skupiny expertov pre prvé a druhé hodnotenie vzorky x_i

n : počet vzoriek (najmenej desať za 12 mesiacov).

Vzorky určené na hodnotenie by mali odrážať široké rozpätie kvality. D_1 by nemalo prekročiť hodnotu 1,5 (5 bodové stupnice).

Členské štáty musia oznámiť akékoľvek ťažkosti spojené s aplikovaním tohto postupu.

c) *Porovnanie výsledkov získaných v rôznych regiónoch členského štátu a v rôznych členských štátoch*

Ak je to vhodné, najmenej jedenkrát za rok je potrebné uskutočniť test na porovnanie výsledkov získaných expertmi z rôznych regiónov. Ak sú pozorované významné odchýlky, je potrebné vykonať potrebné kroky na identifikovanie dôvodov a dosiahnuť porovnateľné výsledky.

Členské štáty môžu uskutočniť testy na porovnanie výsledkov získaných ich vlastnými expertmi a expertmi zo susedných členských štátov. Významné odchýlky by mali viesť k podrobnému prešetreniu s cieľom dosiahnutia porovnateľných výsledkov.

Členské štáty o výsledkoch týchto porovnaní informujú Komisiu.

PRÍLOHA VII

(Článok 6)

SENZORICKÉ HODNOTENIE MASLA

1. Rozsah

Účelom tohto postupu pre senzorické hodnotenie masla je stanovenie jednotnej metódy aplikovateľnej vo všetkých členských štátoch.

2. Definície

Senzorické hodnotenie znamená skúmanie atribútov výrobku zmyslovými orgánmi.

Panel znamená skupinu vybraných expertov pracujúcich počas hodnotenia bez vzájomnej komunikácie a bez vzájomného ovplyvňovania.

Bodovanie znamená senzorické hodnotenie panelom, za použitia bodovej stupnice. Musí sa použiť nomenklatúra kazov.

Známkovanie znamená klasifikáciu kvality, ktorá sa vykonáva na základe bodovania.

Kontrolné dokumenty: dokumenty používané na zaznamenanie jednotlivých počtov bodov pre každú vlastnosť a konečnú známku produktu. (Tento dokument sa tiež môže použiť na zaznamenanie chemického zloženia.)

3. Testovacia miestnosť

3.1. Je potrebné vykonať príslušné kroky na to, aby experti neboli v testovacej miestnosti rušení vonkajšími faktormi.

3.2. Testovacia miestnosť nesmie obsahovať žiadne cudzie pachy a musí sa dať ľahko čistiť. Steny musia mať svetlú farbu.

3.3. Testovacia miestnosť a jej osvetlenie musia byť také, aby neboli ovplyvnené vlastnosti výrobkov určených na bodovanie. Miestnosť musí mať vhodné zariadenie na kontrolu teploty.

4. Výber expertov

Expert musí poznať maslové výrobky a musí byť kompetentný na vykonanie senzorického známkovania. Jeho kompetentnosť pravidelne (najmenej jedenkrát za rok) hodnotí príslušný orgán.

5. Požiadavky na panel

Počet expertov v paneli by mal byť nepárny, najmenej traja. Väčšina musia byť zamestnanci príslušného orgánu alebo oprávnené osoby, ktoré nie sú zamestnané v mliekarenskom priemysle.

Pred hodnotením je potrebné zohľadniť nasledovné faktory s cieľom dosiahnutia optimálnych výkonov subjektov:

- experti nesmú trpieť chorobou, ktorá by mohla ovplyvniť ich výkon. V takom prípade sa daný expert v paneli nahradí iným,
- experti sa musia dostaviť načas aby sa zúčastnili hodnotenia a zabezpečiť dostatok času na vykonanie hodnotenia,
- experti nesmú používať látky so silnou arómou, ako napríklad parfém, vodu po holení, dezodorant atď. a mali by sa vyhýbať jedlám so silnou chuťou (napr. korenené jedlá) atď.,
- experti nesmú počas pol hodiny pred hodnotením fajčiť, jesť alebo piť nič okrem vody.

6. Určovanie hodnoty každej charakteristiky

6.1. Senzorické hodnotenie sa vykonáva vo vzťahu k nasledovným trom charakteristikám: vzhľad, konzistencia a chuť.

Vzhľad zahŕňa nasledovné tri vlastnosti: farba, viditeľná čistota, rast plesní a disperzia vody. Disperzia vody sa testuje podľa normy IDF 112A:1989.

Konzistencia zahŕňa nasledovné vlastnosti: stálosť a roztierateľnosť.

Na hodnotenie konzistencie masla sa môžu použiť fyzikálne metódy. Komisia predpokladá budúcu harmonizáciu týchto metód.

Chuť a vôňa zahŕňa nasledovné vlastnosti: chuť a vôňa.

Významná odchýlka od odporúčenej teploty znemožňuje spoľahlivé hodnotenie konzistencie a chuti. Teplota má veľký význam.

- 6.2. Každá charakteristika sa musí senzoricky hodnotiť osobitne. Bodovanie sa uskutočňuje podľa tabuľky 1.
- 6.3. Môže byť žiaduce, aby s cieľom dosiahnutia jednotnosti experti spoločne bodovali pred začatím hodnotenia vzhľad, konzistenciu a chuť na jednej alebo viac referenčných vzorkách.
- 6.4. Bodovanie na prijateľnosť je nasledovné:

	Maximum	Požadované
Vzhľad	5	4
Konzistencia	5	4
Chuť	5	4

Ak sa nedosiahnu požadované body, je nutné poskytnúť popis kazu. Body poskytnuté každým expertom pre každú charakteristiku musia byť zaznamenané v kontrolnom dokumente. Výrobok sa akceptuje alebo odmieta na základe väčšinového rozhodnutia. Prípady, keď rozdiely medzi jednotlivými bodovaniami pre každý atribút sú väčšie ako susedné body by sa nemali vyskytnúť často (nie viackrát ako jedenkrát na 20 vzoriek). V opačnom prípade vedúci panelu skontroluje kompetentnosť panelu.

7. Dozor

Za celý proces je zodpovedný vedúci panelu, ktorý musí byť oficiálnym zamestnancom príslušného orgánu a môže byť členom panelu. Musí zaznamenávať jednotlivé bodovania pre každú charakteristiku do kontrolného dokumentu a potvrdzovať, či výrobok je akceptovaný alebo odmietnutý.

8. Výber a príprava vzorky

- 8.1. — Je žiaduce, aby bola počas hodnotenia identita vzoriek utajená, aby sa tým predišlo novej predpojatosti.
- Tento krok vykoná vedúci panelu pred hodnotením bez prítomnosti ostatných členov panelu.
- 8.2. Ak sa senzorické hodnotenie vykonáva v studenom sklade, vzorka sa odoberie skúšačom masla. Ak sa senzorické hodnotenie vykonáva na inom mieste ako v studenom sklade, odoberie sa najmenej 500 g vzorka.
- 8.3. Počas hodnotenia má maslo mať teplotu 10 až 12 °C. Veľkým odchýlkam je potrebné sa za každú cenu vyhnúť.

9. Nomenklatúra

Pozri priloženú tabuľku 2.

Tabuľka 1: Bodovanie masla

Vzhľad			Konzistencia			Chuť a aróma		
Body	č. ⁽¹⁾	Poznámky	Body/ trieda kvality	č. ⁽¹⁾	Poznámky	Body/ trieda kvality	č. ⁽¹⁾	Poznámky
5		veľmi dobrý ideálny typ najvyššia kvalita (rovnomerne suché)	5		veľmi dobrá ideálny typ najvyššia kvalita (dobře roztierateľné)	5		veľmi dobré ideálny typ najvyššia kvalita (absolútne čistá)
4		dobrý ⁽²⁾ bez viditeľných kazov	4	17 18	dobrá ⁽²⁾ tvrdé mäkké	4		dobré ⁽²⁾ bez viditeľných kazov
3	1 2 3 4 5 6 7 8	Primeraný (mierne kazy) voľná vlhkosť nejednotné, dvojfarebné prúžkované škvrnité, mramorované flakaté separácia oleja príliš farebný slabý, otvorený povrch	3	14 15 16 17 18	Primeraná (mierne kazy) krátke, krehké, drobné pastovité, cestovité, mastné lepkavé tvrdé mäkké	3	21 22 25 27 33 34 35	dobré (mierne kazy) nejasné cudzí príchut' kyslé pečená chuť, škrobovitá chuť chuť po krmive surové, horké presolené
2	1 3 4 5 6 10 11 12	zlý (zreteľné kazy) voľná vlhkosť prúžkované škvrnité, mramorované flakaté separácia oleja cudzie látky plesnivé nerozpustená soľ	2	14 15 16 17 18	zlý (zreteľné kazy) krátke, krehké, drobné pastovité, cestovité, mastné lepkavé tvrdé mäkké	2	21 22 23 25 32 33 34 35 36 38	zlý (zreteľné kazy) nečisté cudzí príchut' zatuchnuté kyslé oxidovaná príchut', kovová príchut' chuť po krmive surové, horké presolené plesnivé, zhnité chemická príchut'
1	1 3 4 5 6 7 9 10 11 12	veľmi zlé (výrazné kazy) voľná vlhkosť prúžkované škvrnité, mramorované flakaté separácia oleja príliš farebné granulovité cudzie látky plesnivé nerozpustená soľ	1	14 15 16 17 18	veľmi zlé (výrazné kazy) krátke, krehké, drobné pastovité, cestovité, mastné lepkavé tvrdé mäkké	1	22 24 25 26 28 29 30 31 32 34 36 37 38	veľmi zlé (výrazné kazy) cudzí príchut' syrová, mliečna príchut' kyslé droždovité plesnivá chuť zhnité olejnaté, rybnaté lojovité oxidovaná príchut', kovová príchut' surové, horké plesnivé, zhnité sladovité chemická príchut'

⁽¹⁾ Tabuľka 2.⁽²⁾ Kazy uvedené v kategórii „dobrý“ sú veľmi malými odchýlkami od ideálneho typu.

Tabuľka 2: Tabuľka kazov masla**I. Vzhľad**

1. voľná vlhkosť
2. nejednotné, dvojfarebné
3. prúkové
4. škvrnité, mramorované
5. fl'akaté
6. separácia oleja
7. príliš farebné
8. slabý, (otvorená textúra)
9. granulovité
10. cudzie látky
11. plesnivé
12. nerozpustená soľ

II. Konzistencia

14. krátke, krehké, drobivé
15. pastovité, cestovité, masné
16. lepkavé
17. tvrdé
18. mäkké

III. Chut' a aróma

20. bez chuti
21. nečisté (¹⁾)
22. cudzia príchuť
23. zatuchnuté
24. syrová, mliečna príchuť
25. kyslé
26. drod'ovité
27. a) a) pečená chuť
b) krobovitá chuť
28. plesnivá chuť
29. zhnité
30. olejnaté, rybnaté
31. lojovité
32. a) oxidovaná príchuť
b) kovová príchuť
33. chuť po krmive
34. surové, horké
35. presolené
36. plesnivé, zhnité
37. sladovité
38. chemická príchuť

(¹) Toto označenie by sa malo pouk'vať čo najzriedkavejšie a len ak sa kaz nedá vyjadriť presnejšie.

PRÍLOHA VIII

(Článok 7)

POSTUP APLIKOVATELNÝ PRI SPORNÝCH VÝSLEDKOCH ANALÝZY (chemická analýza)

1. Na požiadanie operátora je možné do siedmich dní od oznámenia výsledkov prvej analýzy uskutočniť ďalšiu analýzu za predpokladu, že sú k dispozícii zabezpečené duplicitné vzorky výrobku a že tieto boli riadne uskladnené u príslušného orgánu.
2. Príslušný orgán pošle tieto vzorky do druhého laboratória na požiadanie a náklady prvého laboratória. Toto druhé laboratórium musí byť autorizované na vykonávanie oficiálnych analýz a musí mať dokladovanú schopnosť na dané analýzy. Táto schopnosť musí byť dokumentovaná úspešnou účasťou na kolaboratívnych štúdiách, testoch dokonalosti alebo medzilaboratórných porovnaníach. Druhé laboratórium musí používať referenčnú metódu. Výsledky získané z oboch laboratórií sa hodnotia nasledovne:

a) Ak obe laboratória spĺňajú požiadavky opakovateľnosti a reprodukovateľnosti

Ako konečný výsledok sa zaznamená aritmetický priemer výsledkov testov z oboch laboratórií. Tento konečný výsledok sa hodnotí zohľadnením kritickej odchýlky použitím nasledovného vzorca:

$$\text{CrD}_{95}(|\bar{y} - m_0|) = \frac{0,84}{\sqrt{2}} \sqrt{R^2 - r^2 \left(1 - \frac{1}{2n_1} - \frac{1}{2n_2}\right)}$$

pričom:

$\bar{y}$: aritmetický priemer všetkých výsledkov získaných v oboch laboratóriách

m_0 : limit

R : reprodukovateľnosť

r : opakovateľnosť

n_1 : počet výsledkov získaných v laboratóriu 1

n_2 : počet výsledkov získaných v laboratóriu 2

Poznámka: Ak sa konečný výsledok počíta použitím vzorca

$$x = y_1 \pm y_2 \text{ alebo } x = y_1/y_2$$

[pozri prílohu IV(3) a (4)], namiesto R^2 a r^2 sa do vzorca dosadia R_x^2 a r_x^2 .

b) Ak obe laboratória spĺňajú požiadavku opakovateľnosti, ale nie požiadavku reprodukovateľnosti

Ak druhá analýza potvrdí prvú, analyzovaná vzorka sa odmieta ako nevyhovujúca. V opačnom prípade sa vzorka akceptuje.

c) Ak požiadavku opakovateľnosti spĺňa len jedno laboratórium

Na rozhodnutie o akceptovaní analyzovanej vzorky sa použije konečný výsledok laboratória vyhovujúceho požiadavke opakovateľnosti.

d) Ak ani jedno laboratórium nespĺňa požiadavku opakovateľnosti, ale požiadavka reprodukovateľnosti je splnená

Platí a).

e) Ak ani jedno laboratórium nespĺňa požiadavku opakovateľnosti ani požiadavku reprodukovateľnosti

Analyzovaná vzorka sa akceptuje, ak k tomuto záveru vedú výsledky získané z jedného laboratória.

f) Ak boli výsledky získané nepotvrdenými metódami

Analyzovaná vzorka sa akceptuje, ak k tomuto záveru vedú výsledky získané z jedného laboratória.

3. Výsledky druhej analýzy oznámi príslušný orgán prvému laboratóriu v čo najkratšom čase. Ak sa analyzovaná vzorka odmieta, náklady druhej analýzy znáša prvé laboratórium.
4. Ak operátor môže do piatich dní od odberu vzorky dokázať, že postup odberu vzorky nebol uskutočnený správne, odber vzorky sa musí opakovať tam, kde je to možné. Ak odber vzorky nie je možné opakovať, akceptuje sa analyzovaná vzorka.

PRÍLOHA IX

(Článok 8)

STANOVENIE OBSAHU VODY V MASLE

1. Rozsah a oblasť aplikácie

Táto referenčná metóda špecifikuje metódu stanovenia obsahu vody v masle.

2. Zdroj

Norma IDF 50 C: 1995 — Mlieko a mliečne výrobky — Metódy odberu vzoriek

3. Definícia

Obsah vody v masle: strata hmotnosti po ukončení zahrievacieho procesu špecifikovaného v tejto norme. Vyjadruje sa v gramoch na 100 gramov.

4. Princíp

Vyparovanie vody z testovanej vzorky za prítomnosti pemzy pri teplote 102 °C v sušiackej peci.

5. Prístroje a materiály

Bežné laboratórne prístroje a najmä:

- 5.1. Analytická váha, citlivosť 1 mg.
- 5.2. Sušička vybavená účinným sušiacim činidlom (napríklad čerstvo vysušený silicový gél s hygroskopickým indikátorom).
- 5.3. Sušiacia pec, ventilovaná, s termostatickou kontrolou, fungujúca v celom sušiacom priestore pri teplote 102 ± 2 °C.
- 5.4. Sklenené, porcelánové alebo nehrdzavejúce kovové misky s výškou približne 20 mm, s priemerom od 60 do 80 mm.
- 5.5. Pemza, granulovaná, umytá, s priemerom 0,8 – 10 mm.

6. Odber vzorky

Pozri IDF 50 C: 1995.

7. Postup**7.1. Príprava testovacej vzorky**

Laboratórnú vzorku zahrejte v uzavretej sklenenej alebo vhodnej plastovej nádobe, zaplnenej do polovice až dvoch tretín, na teplotu, pri ktorej vzorka zmäkne dostatočne na umožnenie úplného premiešania do homogénneho stavu (buď mechanickým miešačom, alebo ručne). Teplota pri miešaní by nemala prekročiť 35 °C. Vzorku ochlaďte na teplotu okolia. Čo najskôr po ochladení otvorte nádobu so vzorkou a pred vážením ju trochu premiešajte (nie dlhšie ako 10 sekúnd) vhodným nástrojom, napríklad lyžicou alebo vareškou.

7.2. Stanovenie obsahu vody

7.2.1. Na misku (5.4.) položte približne 10 g pemzy.

7.2.2. Misku s pemzou sušte v sušičke (5.3.) pri teplote 102 ± 2 °C aspoň po dobu jednej hodiny.

Poznámka Časy sušenia uvedené v bodoch 7.2.2., 7.2.5. a 7.2.7. začnú plynúť, keď teplota v sušičke dosiahne 102 ± 2 °C.

7.2.3. Misku nechajte vychladnúť v sušičke (5.2.) na izbovú teplotu a odvážite ju na najbližší 1 mg.

- 7.2.4. Na miskú pridajte na najbližší 1 mg dávka testovacej vzorky o hmotnosti približne 5 g.
- 7.2.5. Misku položte do sušiacej pece pri teplote 102 ± 2 °C a nechajte ju tam tri hodiny.
- 7.2.6. Misku nechajte vychladnúť v sušičke na izbovú teplotu a odvážte ju na najbližší 1 mg.
- 7.2.7. Proces sušenia opakujte v hodinových intervaloch za súčasného chladenia a váženia podľa bodu 7.2.6., pokiaľ nedosiahnete konštantnú hmotnosť (zmena hmotnosti neprevyšujúca 1 mg).
- V prípade nárastu hmotnosti počítajte s najnižšou zaznamenanou hmotnosťou.

8. Výpočet výsledkov

8.1. Metóda výpočtu a vzorec

Obsah vody W vypočítate ako percento hmotnosti použitím nasledovného vzorca:

$$W = \frac{m_1 - m_2}{m_1 - m_0} \times 100$$

pričom

m_0 je hmotnosť misky s pemzou (7.2.3.) v gramoch

m_1 je hmotnosť testovacej vzorky, misky a pemzy pred sušením (7.2.4.) v gramoch

m_2 je hmotnosť testovacej vzorky, misky a pemzy po sušení (7.2.7.) v gramoch

Výsledok zaokrúhlite na jedno desatinné miesto.

8.2. Opakovateľnosť

Absolútny rozdiel medzi výsledkami dvoch osobitných výpočtov uskutočnených naraz alebo rýchlo po sebe rovnakým operátorom v rovnakých podmienkach na rovnakom testovacom materiáli nesmie presiahnuť 0,2 %.

8.3. Reprodukovateľnosť

Absolútny rozdiel medzi výsledkami dvoch osobitných a nezávislých výpočtov uskutočnených dvomi operátormi pracujúcimi v rôznych laboratóriách na rovnakom testovacom materiáli nesmie presiahnuť 0,3 %.

9. Správa o teste

Správa o teste špecifikuje použitú metódu a získané výsledky. Uvádzajú sa v nej tiež všetky prevádzkové údaje nešpecifikované v tejto medzinárodnej norme alebo považované za nepovinné spolu s podrobnosťami o všetkých udalostiach, ktoré mohli ovplyvniť výsledky. Správa o teste obsahuje všetky informácie potrebné na úplnú identifikáciu vzorky.

PRÍLOHA X

(Článok 8)

STANOVENIE OBSAHU BEZTUKOVEJ SUŠINY V MASLE

1. Rozsah a oblasť aplikácie

Táto referenčná metóda špecifikuje metódu stanovenia beztukovej sušiny v masle.

2. Zdroj

Norma IDF 50 C: 1995 – Mlieko a mliečne výrobky – Metódy odberu vzoriek

3. Definície

Obsah beztukovej sušiny v masle: percento hmotnosti látok stanovené špecifikovaným postupom. Vyjadruje sa v gramoch na 100 gramov.

4. Princíp

Vyparovanie vody zo známej hmotnosti masla, extrakcia tuku ľahkou ropou a váženie rezídua.

5. Reagent

Ľahká ropa s rozsahom varu medzi 30 a 60 °C. Reagent po vyparení 100 ml nesmie zanechať viac ako 1 mg rezídua.

6. Prístroje a materiály

6.1. 6.1. Analytická váha, citlivosť 1 mg.

6.2. 6.2. Sušička vybavená účinným sušiacim činidlom (napríklad čerstvo vysušený silicový gél s hygroskopickým indikátorom).

6.3. 6.3. Sušiacia pec, ventilovaná, s termostatickou kontrolou, fungujúca v celom sušiacom priestore na teplote 102 ± 2 °C.

6.4. 6.4. Sklenené, porcelánové alebo nehrdzavejúce kovové misky s výškou približne 20 mm, s priemerom od 60 do 80 mm, vybavené sklenenou miešacou tyčkou.

6.5. 6.5. Filtračný téglík zo spekaného skla s priemerom pórov 16 až 40 µm s odsávacou bankou.

7. Odber vzorky

Pozri IDF 50 C: 1995.

8. Postup

8.1. Príprava testovacej vzorky

Laboratórnu vzorku zahrejte v uzavretej sklenenej alebo vhodnej plastovej nádobe, naplnenej do polovice až dvoch tretín, na teplotu, pri ktorej vzorka zmäkne dostatočne na umožnenie úplného premiešania do homogénneho stavu (buď mechanickým miešačom, alebo ručne). Teplota pri miešaní by nemala prekročiť 35 °C. Vzorku ochladte na okolitú teplotu. Čo najskôr po ochladení otvorte nádobu so vzorkou a pred vážením ju trochu premiešajte (nie dlhšie ako 10 sekúnd) vhodným nástrojom, napríklad lyžicou alebo vareškou.

8.2. Stanovenie obsahu sušiny

8.2.1. Misku spolu s tyčkou (6.4.) a téglikom (6.5.) sušte v sušiacej peci (6.3.) po dobu jednej hodiny. Tieto predmety nechajte vychladnúť v sušičke a spolu ich odvažte (t. j. misku, tyčku a téglík) na najbližší 1 mg (m_0).

Poznámky:

—Na vychladnutie zvyčajne stačí 45 minút.

— Ak sa na jednu dodávku testuje viac ako jedna testovacia vzorka, je dôležité, aby sa na každú dávku testovacej vzorky používala rovnaká kombinácia misky, tyčky a téglíka.

8.2.2. Odoberte téglík a zaznamenajte hmotnosť misky a tyčky na najbližší 1 mg (m_1).

8.2.3. Na misku pridajte na najbližší 1 mg dávky testovacej vzorky o hmotnosti približne 5 g (8.1.) (m_2).

- 8.2.4. Misku (s tyčkou a maslom) položte do sušiacej pece pri teplote $102 \pm 2^\circ\text{C}$ a nechajte ju tam cez noc.
- 8.2.5. Misku (8.2.3.) nechajte vychladnúť na izbovú teplotu.
- 8.2.6. Do misky pridajte 15 ml teplej (približne 25°C) ropy a použitím sklenenej tyčky odstráňte čo najviac usadeniny na miske. Preložte roztok do téglíka a prefiltrujte ho cez saciu banku.
- 8.2.7. Postup uvedený v bode 8.2.6. zopakujte ešte štyrikrát. Ak na povrchu misky nie sú žiadne stopy tuku, počas štvrtého opakovania premiestnite čo najviac usadeniny do téglíka. V opačnom prípade opakujte postup uvedený v bode 8.2.6. až po úplné odstránenie všetkých stôp po tuku.
- 8.2.8. Usadeninu spláchnite v téglíku 25 ml teplej ľahkej ropy.
- 8.2.9. Misku, tyčku a téglík sušte spolu v sušiackej peci pri teplote $102 \pm 2^\circ\text{C}$ po dobu 30 minút.
- 8.2.10. Nechajte vychladnúť v sušičke na izbovú teplotu a odvážite na najbližší 1 mg.
- 8.2.11. Kroky uvedené v bodoch 8.2.9. a 8.2.10. opakujte, pokiaľ pre misku, tyčku a téglík nedosiahnete konštantnú hmotnosť (zmena hmotnosti neprevyšujúca 1 mg).

9. Vyjadrenie výsledkov

9.1. Výpočet obsahu beztukovej sušiny

Obsah beztukovej sušiny SNF vypočítate ako percento hmotnosti použitím nasledovného vzorca:

$$\text{SNF} = \frac{m_3 - m_0}{m_2 - m_1} \times 100$$

pričom

m_0 je hmotnosť prázdnej misky so sklenenou tyčkou a téglíkom pemzou (8.2.1.) v gramoch

m_1 je hmotnosť prázdnej misky so sklenenou tyčkou (8.2.2.) v gramoch

m_2 je hmotnosť dávky testovacej vzorky a misky so sklenenou tyčkou (8.2.3.) v gramoch

m_3 je konečná hmotnosť v miskách tyčkou a téglíkom obsahujúcim usadeninu (8.2.11.) v gramoch

Výsledok zaokrúhlite na jedno desatinné miesto.

9.2. Opakovateľnosť

Absolútny rozdiel medzi výsledkami dvoch osobitných výpočtov uskutočnených naraz alebo rýchlo po sebe rovnakým operátorom v rovnakých podmienkach na rovnakom testovacom materiáli nesmie presiahnuť 0,1 %.

9.3. Reprodukovateľnosť

Absolútny rozdiel medzi dvoma osobitnými a nezávislými výsledkami získanými dvoma operátormi pracujúcimi v rôznych laboratóriách na rovnakom testovacom materiáli nesmie presiahnuť 0,2 %.

10. Správa o teste

Správa o teste špecifikuje použitú metódu a získané výsledky. Uvádzajú sa v nej tiež všetky prevádzkové údaje nešpecifikované v tejto medzinárodnej norme alebo považované za nepovinné spolu s podrobnosťami o všetkých udalostiach, ktoré mohli ovplyvniť výsledky. Správa o teste obsahuje všetky informácie potrebné na úplnú identifikáciu vzorky.

Poznámka:

Ak sa analyzuje solené maslo, pridaná soľ sa považuje za beztukovú suinu. Na stanovenie obsahu mliečnej beztukovej suiny sa obsah pridanej soli musí odpočítat od obsahu beztukovej suiny. Vypočítané hodnoty presnosti pre stanovenie obsahu mliečnej beztukovej suiny sú:

opakovateľnosť: $r = 0,104 \%$

reprodukovateľnosť: $R = 0,206 \%$

Je možné vyvodiť záver, že hodnoty presnosti získané z postupu stanovenia obsahu beztukovej sušiny sú platné pre stanovenie obsahu mliečnej beztukovej sušiny.

PRÍLOHA XI

(Článok 8)

STANOVENIE OBSAHU TUKU V MASLE

Obsah tuku sa získa nepriamo stanovením obsahu vody a beztukovej sušiny podľa príloh IX a X. Percento hmotnosti tuku sa rovná

$$100 - (W + \text{SNF})$$

pričom

W: percento hmotnosti vody

SNF: percento hmotnosti beztukovej sušiny.

Vypočítané hodnoty presnosti pre stanovenie obsahu tuku sú:

Opakovateľnosť: $r = 0,22 \%$

Reprodukovateľnosť: $R = 0,36 \%$

PRÍLOHA XII

(Článok 9)

STANOVENIE OBSAHU VANILÍNU V KONCENTROVANOM MASLE, MASLE ALEBO SMOTANE VYSOKOVÝKONNOU KVAPALNOU CHROMATOGRAFIU**1. Rozsah a oblasť aplikácie**

Metóda popisuje postup kvantitatívneho stanovenia obsahu vanilínu v koncentrovanom masle, masle alebo smotane.

2. Princíp

Extrakcia známeho množstva vzorky zmesou isopropanolu/etanolu/acetonitrilu (1:1:2). Zrazenie väčšiny tuku schladením pri teplotách v rozmedzí -15°C až -20°C a následné odstredenie.

Po zriedení vodou stanovenie obsahu vanilínu vysokovýkonnou kvapalnou chromatografiou (HPLC).

3. Prístroje

Bežné laboratórne prístroje a najmä nasledovné:

- 3.1. mraznička fungujúca v teplotnom rozsahu -15°C až -20°C ;
- 3.2. striekačky s 2 ml obsahom;
- 3.3. membránové mikrofiltre s veľkosťou pórov $0,45\text{ }\mu\text{m}$, odolné voči roztoku obsahujúcemu 5 % extrakčného roztoku (4.4.);
- 3.4. systém kvapalnej chromatografie pozostávajúci z čerpadla (tok 1 ml/min.), injektora ($20\text{ }\mu\text{l}$ injekcia, automatická alebo manuálna), UV detektora (fungujúceho pri 306 nm , $0,01\text{ AU}$ celá stupnica), zapisovača alebo integrátora a stĺpkového termostatu fungujúceho pri teplote 25°C ;
- 3.5. analytický valec ($250\text{ mm} \times 4,6\text{ mm ID}$) zabalený s LiChrospherom RP 18 (Merck $5\text{ }\mu\text{m}$) alebo ekvivalentný;
- 3.6. ochranný valec (cca. $20\text{ mm} \times 3\text{ mm ID}$), zabalený s Perisorbom RP 18 ($30\text{ až }40\text{ }\mu\text{m}$) alebo ekvivalentný.

4. Reagenty

Všetky reagenty musia byť schválenej analytickej kvality.

- 4.1. Isopropanol
- 4.2. Etanol 96 % (v/v)
- 4.3. Acetonitril
- 4.4. Extrakčný roztok

Zmiešajte isopropanol (4.1.), etanol (4.2.) a acetonitril (4.3.) v pomere 1:1:2 (v/v).

- 4.5. Vanilín (4-hydroxy-3-metoxybenzaldehyd)
- 4.5.1. Vanilínový zásobný roztok (= $500\text{ }\mu\text{g/ml}$)

S presnosťou na $0,1\text{ mg}$ odvážite približne 50 mg (CM mg) vanilínu (4.5.) do 100 ml odmernej banky, pridajte 25 ml extrakčného roztoku (4.4.) a doplňte vodou.

- 4.5.2. Vanilínový štandardný roztok (= $10\mu\text{g/ml}$).

Pipetujte 5 ml vanilínového zásobného roztoku (4.5.1.) do 250 ml odmernej banky a doplňte vodou.

- 4.6. Metanol, v HPLC kvalite
- 4.7. Kyselina octová, ľadová
- 4.8. Voda, v HPLC kvalite

4.9. HPLC mobilná fáza

Zmiešajte 300 ml metanolu (4.6.) s približne 500 ml vody (4.8.) a 20 ml kyseliny octovej (4.7.) v 1 000 ml odmernej banke a doplňte vodou (4.8.). Prefiltrujte cez 0,45 µm filter (3.3.).

5. Postup

5.1. *Príprava testovacej vzorky*

5.1.1. Maslo

Zohrejte vzorku, pokým sa nezačne topiť. Vyhnite sa lokálnemu prehriatiu nad 40 °C. Ak vzorka dostatočne spružnie, pretrepaním ju homogenizujte. Pred odberom vzorky maslo premiešajte po dobu 15 sekúnd. Na najbližší 1 mg odvážite približne 5 g (SM g) masla do 100 ml odmernej banky.

5.1.2. Koncentrované maslo

Okamžite pred odberom vzorky umiestnite nádobu s koncentrovaným maslom do pece pri teplote 40 až 50 °C, pokým sa úplne nerozpustí. Vzorku premiešajte vírením alebo miešaním, vyhnite sa pritom vytvoreniu vzduchových bublín príliš silným miešaním. Na najbližší 1 mg odvážite približne 4 g (SM g) koncentrovaného masla do 100 ml odmernej banky.

5.1.3. Smotana

Vzorku zohrejte vo vodnom kúpeli alebo inkubátore na teplotu 35 až 40 °C. Tuk rovnomerne rozmiestnite vírením a podľa potreby aj miešaním. Vzorku rýchlo ochlaďte na 20 ± 2 °C. Vzorka by mala vyzerať homogénne, v opačnom prípade je potrebné postup zopakovať. Na najbližší 1 mg odvážite približne 10 g (SM g) smotany do 100 ml odmernej banky.

5.2. *Príprava testovacieho roztoku*

Do dávky testovacej vzorky (5.1.1., 5.1.2. alebo 5.1.3.) pridajte približne 75 ml extrakčného roztoku (4.4.), miešajte alebo silno pretrepte po dobu približne 15 minút a doplňte extrakčným roztokom (4.4.) Približne 10 ml tohto extraktu preneste do testovacej skúmavky vybavenej ventilom. Skúmavku vložte do mrazničky (3.1.) a nechajte ju tam približne 30 minút. Studený extrakt odstredte po dobu 5 minút pri približne 2 000 rpm a ihneď zlejte. Zliaty roztok ochlaďte na izbovú teplotu. 5 ml zliateho roztoku pipetujte do 100 ml odmernej banky a doplňte vodou. Vhodné množstvo prefiltrujte cez membránový mikrofilter (3.3.). Filtrát je pripravený na stanovenie obsahu pomocou HPLC.

5.3. *Kalibrácia*

Do 100 ml odmernej banky pipetujte 5 ml vanilínového štandardného roztoku (4.5.2.). Pridajte 5 ml extrakčného roztoku (4.4.) a doplňte vodu po značku. Tento roztok obsahuje 0,5 µg/ml vanilínu.

5.4. *Stanovenie obsahu pomocou HPLC*

Chromatografický systém nechajte stabilizovať po dobu asi 30 minút. Injektujte štandardný roztok (5.3.). Toto opakujte pokým rozdiel v ploche vrcholu alebo výške vrcholu medzi dvomi následnými injekciami nedosiahne menej ako 2 %. V popísaných podmienkach je čas viazania vanilínu približne 9 minút. Štandardný roztok (5.3.) analyzujte duplicitne injektovaním 20 µl. Injektujte 20 µl testovacích roztokov (5.2.). Stanovte plochu alebo výšku získaného vanilínového vrcholu. Duplicitnú injekciú štandardného roztoku (5.3.) opakujte po 10 injekciách testovacích vzoriek (5.2.).

6. Výpočet výsledkov

Vypočítajte priemernú plochu vrcholu (alebo výšku) (AC) vrcholov vanilínu spojených s duplicitnými injekciami pre každú dávku testovacích roztokov (spolu štyri plochy alebo výšky).

Vypočítajte reakčný faktor (R):

$$R = AC/CM$$

pričom CM je hmotnosť vanilínu v mg (4.5.1.).

Obsah (mg/kg) vanilínu (C) v testovacej vzorke dostanete takto:

$$C = \frac{AS \times 20 \times 0,96}{SM \times R}$$

pričom:

AS = plocha vrcholu vanilínu testovacej vzorky

SM = hmotnosť testovacej vzorky v g (5.1.1., 5.1.2. alebo 5.1.3.)

Ak sa na vanilín analyzuje smotana, koncentrácia stopovej látky sa vyjadruje ako mg stopovej látky/kg mliečného tuku. Toto sa dosiahne vynásobením C faktorom 100/f, f je obsah tuku v smotane v percentách (m/m).

20 = faktor, ktorý zohľadňuje roztoky štandardnej a testovacej vzorky

0,96 = korekčný faktor pre obsah tuku v prvom roztoku testovacej vzorky

Poznámka: Namiesto plochy vrcholu sa môžu použiť výšky vrcholu (pozri 8.3.).

7. Presnosť metódy

7.1. Opakovateľnosť (r)

Rozdiel medzi výsledkami dvoch analýz uskutočnených v rámci najkratšieho možného časového intervalu jedným operátorom použitím rovnakých prístrojov na rovnakom testovacom materiáli nesmie presiahnuť 16 mg/kg.

7.2. Reprodukovateľnosť (R)

Rozdiel medzi výsledkami dvoch analýz uskutočnených operátormi v rôznych laboratóriách použitím rôznych prístrojov na rovnakom testovacom materiáli nesmie presiahnuť 27 mg/kg.

8. Tolerančné limity

8.1. Na kontrolu homogenity sa odoberú tri vzorky z kontrolovaného výrobku.

8.2. Stopová látka získaná buď z vanilky alebo syntetického vanilínu:

8.2.1. Miera vstrebávania pre 4-hydroxy-3-metoxibenzaldehyd je 250 g na tonu koncentrovaného masla alebo masla. Ak sa kontroluje smotana, miera vstrebávania je 250 g na tonu mliečného tuku.

8.2.2. Na kontrolu miery a homogenity obsahu stopovej látky sa použijú výsledky z troch vzoriek získané z analýzy výrobku a najnižší z týchto výsledkov sa porovná s nasledovnými limitmi [kritická odchýlka pre hladinu pravdepodobnosti 95 % (DCr_{95}) zohľadnená]:

— 221 mg/kg (95 % minimálnej miery vstrebávania),

— 159 mg/kg (70 % minimálnej miery vstrebávania).

Koncentrácia stopovej látky vo vzorke s výsledkom o najnižšej hodnote sa použije na základe interpolácie medzi 221,0 mg/kg a 159,0 mg/kg.

8.3. Stopová látka získaná výlučne z vanilkových bôbov alebo ich integrálnych extraktov:

8.3.1. Miera vstrebávania pre 4-hydroxy-3-metoxibenzaldehyd je 100 g na tonu koncentrovaného masla alebo masla. Ak sa kontroluje smotana, miera vstrebávania je 100 g na tonu mliečného tuku.

8.3.2. Na kontrolu miery a homogenity obsahu stopovej látky sa použijú výsledky z troch vzoriek získané z analýzy výrobku a najnižší z týchto výsledkov sa porovná s nasledovnými limitmi [kritická odchýlka pre hladinu pravdepodobnosti 95 % (DCr_{95}) zohľadnená]:

— 79 mg/kg (95 % minimálnej miery vstrebávania),

— 54 mg/kg (70 % minimálnej miery vstrebávania).

Koncentrácia stopovej látky vo vzorke s najnižším výsledkom sa používa v spojení s interpoláciou medzi 79 mg/kg a 54 mg/kg.

9. Poznámky

9.1. Opakovateľnosť r je hodnota, pod ktorou je možné so špecifikovanou pravdepodobnosťou očakávať, že sa bude absolútny rozdiel nachádzať medzi výsledkami dvoch testov získaných rovnakou metódou na rovnakom testovacom materiáli v rovnakých podmienkach (rovnaké prístroje, rovnaké laboratórium a v krátkom časovom intervale); za neprítomnosti iných vplyvov je pravdepodobnosť 95 %.

- 9.2. Reprodukovateľnosť R je hodnota, pod ktorou je možné so špecifikovanou pravdepodobnosťou očakávať, že sa bude absolútny rozdiel nachádzať medzi výsledkami dvoch testov získaných rovnakou metódou na rovnakom testovacom materiáli v rôznych podmienkach (rôzni operátori, rôzne prístroje, rôzne laboratória a/alebo rôzny čas); za neprítomnosti iných vplyvov je pravdepodobnosť 95 %.
- 9.3. Získanie pridaného vanilínu na hodnote 250 mg/kg maslového oleja sa pohybuje medzi 97 a 103,8. Priemerný zistený obsah bol 99,9 % so štandardnou odchýlkou 2,7 %.
- 9.4. Štandardný roztok obsahuje 5 % extrakčného roztoku na kompenzáciu rozšírenia vrcholu zapríčineného prítomnosťou 5 % extrakčného roztoku testovacích vzoriek. Toto umožňuje kvantifikáciu výškou vrcholu.
- 9.5. Analýza je založená na lineárnej kalibračnej línii s nulovým prienikom.

Použitím vhodných roztokov štandardného roztoku (4.5.2.) sa linearita skontroluje pri prvom vykonaní analýzy a potom v pravidelných intervaloch a po zmenách zariadenia HPLC alebo jeho oprave.

PRÍLOHA XIII

(Článok 9)

STANOVENIE OBSAHU ETYL ESTERU BETA-APO-8'-KAROTENICKEJ KYSELINY V KONCENTROVANOM MASLE A MASLE SPEKTROMETRIU

1. Rozsah a oblasť aplikácie

Metóda popisuje postup na kvantitatívne stanovenie obsahu etyl esteru beta-apo-8'-karotenickej kyseliny (apo-karotenický ester) v koncentrovanom masle a masle. Apo-karotenický ester je súčtom všetkých látok prítomných v extrakte vzoriek získaných v podmienkach popísaných v metóde, ktoré absorbujú svetlo pri 440 nm.

2. Princíp

Maslový tuk sa rozpustí v ľahkej rope a absorpcia sa meria pri 440 nm. Obsah apo-karotenického esteru sa stanovuje odkazom na externú normu.

3. Prístroje

- 3.1. Pipety — s mierkou, s objemom 0,25, 0,50, 0,75 a 1,0 ml.
- 3.2. Spektrofotometer — vhodný pre použitie pri hodnote 440 nm (a 447 – 449 nm) a vybavený bunkami s dĺžkou optickej stopy 1 cm.
- 3.3. Odmerné banky, 20 ml a 100 ml.
- 3.4. Analytická váha, citlivosť 0,1 mg.

4. Reagenty

Všetky reagenty musia byť schválenej analytickej kvality.

4.1. Suspenzia apo-karotenického esteru.

4.1.1. Obsah suspenzie stanovte nasledovne:

Do odmernej banky (100 ml) odvážte približne 400 mg, rozpustíte v 20 ml chloroformu (4.4.) a doplňte objem cyklohexánom (4.5.) Rozriedte 5 ml tohto roztoku na 100 ml cyklohexánom (roztok A). Rozriedte 5 ml roztoku A na 100 ml cyklohexánom. Zmerajte absorpciu pri 447 – 449 nm (merajte maximum proti cyklohexánu ako nulovej hodnote použitím buniek s dĺžkou optickej stopy 1 cm).

$$\text{Obsah apo-karotenického esteru(\%)} = \frac{A_{\max} \cdot 40\,000}{A \cdot 2\,550}$$

$A_{\max}$ = absorpcia meraného roztoku na maxime

A = hmotnosť vzorky (g)

2 550 = referenčná hodnota A (1 %, 1 cm)

Čistota suspenzie je P (%).

Poznámka: Suspenzia apo-karotenického esteru je citlivá na vzduch, teplo a svetlo. V uzavretej pôvodnej nádobe (zapečatenej dusíkom) sa môže na chladnom mieste skladovať približne 12 mesiacov. Po otvorení je nutné obsah použiť čo najrychlejšie.

4.1.2. Štandardný roztok apo-karotenického esteru, približne 0,2 mg/ml

Na najbližší 0,1 mg odvážte približne 0,100 g suspenzie apo-karotenického esteru (4.1.1.) (Wg), rozpustíte ju v ropnom liehu (4.2.), preložte do banky s objemom 100 ml a doplňte po značku ropným liehom.

Tento roztok obsahuje (W.P)/10 mg/ml apo-karotenického esteru.

Poznámka: Roztok sa musí skladovať na tmavom a chladnom mieste. Nepoužitý roztok po jednom mesiaci odstráňte.

- 4.2. Ropný lieh (40 — 60°C).
- 4.3. Sulfát sodný, anhydričkový, granulárny, predtým vysušený pri 102 °C počas dvoch hodín.
- 4.4. Chloroform.
- 4.5. Cyklohexán

5. Postup

5.1. Príprava testovacej vzorky

5.1.1. Koncentrované maslo

Roztopte vzorku v peci pri teplote približne 45 °C.

5.1.2. Maslo

Vzorku roztopte v peci pri teplote približne 45 °C a prefiltrujte reprezentatívne množstvo cez filter obsahujúci približne 10 g anhydričného sulfátu sodného (4.3.) v prostredí chránenom pred silným prirodzeným a umelým svetlom a s teplotou 45 °C. Zozbierajte vhodné množstvo maslového tuku.

5.2. Stanovenie obsahu

Na najbližší 1 mg odvážte približne 1 g koncentrovaného masla [alebo extrahovaného maslového tuku (5.1.2.)] (Mg). Preneste ho do 20 ml (Vml) odmernej banky za použitia ropného liehu, doplňte po značku a dôkladne premiešajte.

Preneste primerané množstvo do 1 cm bunky a zmerajte absorpciu pri 440 nm proti nulovej hodnote ropného liehu. Koncentráciu apo-karotenického esteru v roztoku získate odkazom na kalibračný graf (C µ/ml).

5.3. Kalibračný graf

Pipetujte 0, 0,25, 0,5, 0,75 a 1 ml štandardného roztoku apo-karotenického esteru (4.1.2.) do piatich 100 ml baniek. Roztok rozriedte ropným liehom (4.2.) a premiešajte.

Približné koncentrácie roztokov sa pohybujú od 0 do 2 µg/ml a presne sa vypočítajú odkazom na koncentráciu štandardného roztoku (4.1.2.) (W.P)/10 mg/ml. Absorpciu merajte pri 440 nm proti nulovej hodnote ropného liehu (4.2.)

Hodnoty absorpcie preneste na os y proti koncentráciám apo-karotenického esteru na osi x.

6. Výpočet výsledkov

6.1. Obsah apo-karotenického esteru vyjadrený v mg/kg výrobku sa vypočíta nasledovne:

Koncentrované maslo: (C.V)/M

Maslo: 0,82 (C.V)M

pričom

C = obsah apo-karotenického esteru, µg/ml, odvodený z kalibračného grafu (5.3.)

V = objem (ml) testovacieho roztoku (5.2.)

M = hmotnosť g dávky testovacej vzorky (5.2.)

0,82 = korekčný faktor pre obsah maslového tuku v masle.

7. Presnosť metódy

7.1. Opakovateľnosť

7.1.1. Analýza masla

Rozdiel medzi výsledkami dvoch analýz uskutočnených v rámci najkratšieho možného časového intervalu jedným operátorom použitím rovnakých prístrojov na rovnakom testovacom materiáli nesmie presiahnuť 1,4 mg/kg.

7.1.2. Analýza koncentrovaného masla

Rozdiel medzi výsledkami dvoch analýz uskutočnených v rámci najkratšieho možného časového intervalu jedným operátorom použitím rovnakých prístrojov na rovnakom testovacom materiáli nesmie presiahnuť 1,6 mg/kg.

7.2. Reprodukovateľnosť

7.2.1. Analýza masla

Rozdiel medzi výsledkami dvoch analýz uskutočnených operátormi v rôznych laboratóriách použitím rôznych prístrojov na rovnakom testovacom materiáli nesmie presiahnuť 4,7 mg/kg.

7.2.2. Analýza koncentrovaného masla

Rozdiel medzi výsledkami dvoch analýz uskutočnených operátormi v rôznych laboratóriách použitím rôznych prístrojov na rovnakom testovacom materiáli nesmie presiahnuť 5,3 mg/kg.

7.3. Zdroj údajov o presnosti

Údaje o presnosti boli stanovené pokusom uskutočneným v roku 1995, na ktorom sa podieľalo 11 laboratórií a pri ktorom sa použilo 12 vzoriek (šesť slepých duplikátov) pre maslo a 12 vzoriek (šesť slepých duplikátov) pre koncentrované maslo.

8. Tolerančné limity

8.1. Na kontrolu správneho obsahu stopovej látky sa z výrobku obsahujúceho stopovú látku odoberú tri vzorky obsahujúce stopovú látku.

8.2. Maslo

8.2.1. Miera vstrebávania pre maslo pri zohľadnení jeho absorpcie je 22 mg/kg.

8.2.2. Výsledky z troch vzoriek získané z analýzy výrobku sa použijú na kontrolu miery a homogenity obsahu stopovej látky a najnižší z týchto výsledkov sa porovná s nasledovnými limitmi (kritická odchýlka pre hladinu pravdepodobnosti 95 % (DCr_{95}) zohľadnená):

- 18 mg/kg (95 % minimálnej miery vstrebávania),
- 13 mg/kg (70 % minimálnej miery vstrebávania).

Koncentrácia stopovej látky vo vzorke s najnižším výsledkom sa používa v spojení s interpoláciou medzi 18 mg/kg a 13 mg/kg.

8.3. Koncentrované maslo

8.3.1. Miera vstrebávania pre koncentrované maslo pri zohľadnení jeho absorpcie je 24 mg/kg.

8.3.2. Výsledky z troch vzoriek získané z analýzy výrobku sa použijú na kontrolu miery a homogenity obsahu stopovej látky a najnižší z týchto výsledkov sa porovná s nasledovnými limitmi [kritická odchýlka pre hladinu pravdepodobnosti 95 % (DCr_{95}) zohľadnená]:

- 20 mg/kg (95 % minimálnej miery vstrebávania),
- 14 mg/kg (70 % minimálnej miery vstrebávania).

Koncentrácia stopovej látky vo vzorke s najnižším výsledkom sa používa v spojení s interpoláciou medzi 20 mg/kg a 14 mg/kg.

PRÍLOHA XIV

(Článok 9)

STANOVENIE OBSAHU SITOSTEROLU ALEBO STIGMASTEROLU V MASLE ALEBO KONCENTROVANOM MASLE KAPILÁRNOU PLYNOVOU CHROMATOGRAFIU**1. Rozsah a oblasť aplikácie**

Metóda popisuje postup pre kvantitatívne stanovenie obsahu sitosterolu alebo stigmasterolu v masle a koncentrovanom masle. Sitosterol predstavuje súčet beta-sitosterolu a 22 dihydro-beta-sitosterolu, iné sitosteroly sa považujú za nepodstatné.

2. Princíp

Maslo alebo koncentrované maslo sa zmydľia hydroxidom draselným v etanolicom roztoku a nezmydliteľná časť sa extrahuje dietyl éterom.

Steroly sa transformujú na trimetyl-silylové étery a analyzujú sa kapilárnou plynovou chromatografiou s odkazom na internú normu/betulín.

3. Prístroje

- 3.1. 150 ml banka na zmydľovanie vybavená kondenzátorom so spätným tokom so sklenenými spojkami.
- 3.2. 500 ml separačné lieviky.
- 3.3. 250 ml banky.
- 3.4. Lieviky na vyrovnávanie tlaku, s objemom 250 ml alebo podobné, na zber odpadového dietyl éteru.
- 3.5. Sklenený valec, 350 mm x 20 mm, vybavený zátkou zo spečeného skla.
- 3.6. Vodný kúpeľ alebo izoobal.
- 3.7. Reakčné fioly, 2 ml.
- 3.8. Plynový chromatograf vhodný na použitie s kapilárnym valcom, vybavený rozdeľovacím systémom pozostávajúcím z:
 - 3.8.1. 3.8.1. termostatickej komory pre odmerné valce schopnou udržiavať požadovanú teplotu s presnosťou ± 1 °C;
 - 3.8.2. 3.8.2. vyparovacej jednotky s nastaviteľnou teplotou;
 - 3.8.3. 3.8.3. ionizačného detektora plameňa a konvertora – zosilňovača (3.8.3.);
 - 3.8.4. 3.8.4. integrátor – zapisovač vhodný na použitie s konvertorom – zosilňovačom (3.8.3.).
- 3.9. Kapilárny valec z taveného oxidu kremičitého celý potiahnutý BP1 alebo ekvivalentom v rovnakej hrúbke 0,25 μ m; valec musí byť schopný riediť trimetyl-silylové deriváty lanosterolu a sitosterolu. Vhodný je BP1, dĺžka 12 m, vnútorný priemer 0,2 mm.
- 3.10. Mikrostriekačka na plynovú chromatografiu s tvrdou ihlou a s objemom 1 μ l.

4. Reagenty

Všetky reagenty musia byť schválenej analytickej kvality. Použitá voda musí byť destilovaná alebo aspoň ekvivalentnej čistoty.

- 4.1. Etanol, minimálne 95 % čistoty.
- 4.2. Hydroxid draselný, 60 % roztok. Rozpusťte 600 g hydroxidu draselného (minimálne 85 %) vo vode a doplňte vodou do jedného litra.
- 4.3. Betulín, minimálne 99 % čistoty.
 - 4.3.1. Roztoky betulínu v dietyl éteri (4.4.)
 - 4.3.1.1. Koncentrácie betulínového roztoku používané na stanovenie obsahu sitosterolu by mali byť 1 mg/ml.
 - 4.3.1.2. Koncentrácie betulínového roztoku používané na stanovenie obsahu stigmasterolu by mali byť 0,4 mg/ml.

- 4.4. Dietyl éter, analytickej čistoty (bez peroxidov alebo rezíduí).
- 4.5. Sulfát sodný, anhydričkový, granulárny, predtým vysušený pri teplote 102 °C po dobu dvoch hodín.
- 4.6. Silylátujúci reagent, napríklad TRI-SIL (dostupný od firmy Pierce Chemical Co., Cat. No 49001) alebo ekvivalentný. (Dôležité: TRI-SIL je horľavý, toxický, korozívny a možno aj karcinogénny. Laboratórni pracovníci musia byť oboznámení s bezpečnostnými údajmi o TRI-SIL-e a musia vykonať príslušné preventívne kroky.)
- 4.7. Lanosterol
- 4.8. Sitosterol, známej čistoty, nie menej ako 90 % (P)

Poznámka 1:

Čistota štandardných materiálov používaných na kalibráciu sa stanovuje použitím metódy normalizácie. Predpoklad je, že všetky steroly prítomné vo vzorke sú prítomné na chromatograme, celková plocha vrcholov predstavuje 100 % sterolových zložiek a že steroly dávajú rovnaké reakcie detektora. Linearita systému sa musí overiť na daných rozpätiach koncentrácií.

- 4.8.1. Sitosterolový štandardný roztok – pripravte roztok obsahujúci na najbližší 0,001 mg/ml približne 0,5 mg/ml (W1) sitosterolu (4.8.) v dietyl éteri (4.4.).
- 4.9. Stigmasterol, známej čistoty, nie menej ako 90 % (P).
- 4.9.1. Stigmasterolový štandardný roztok – pripravte roztok obsahujúci na najbližší 0,001 mg/ml približne 0,2 mg/ml (W1) sitosterolu (4.9.) v dietyl éteri (4.4.).
- 4.10. Rozlišovacia testovacia zmes. Pripravte roztok obsahujúci 0,05 mg/ml lanosterolu (4.7.) a 0,5 mg/ml sitosterolu (4.8.) v dietyl éteri (4.4.).

5. Metóda

- 5.1. Príprava štandardných roztokov na chromatografiu. Interný štandardný roztok (4.3.1.) sa musí pridať do príslušného sterolového štandardného roztoku v rovnakom čase, keď sa pridáva do zmydlenej vzorky (pozri 5.2.2.).
 - 5.1.1. Sitosterolový štandardný chromatografický roztok: do dvoch reakčných fiol (3.7.) prelejte 1 ml sitosterolového štandardného roztoku (4.8.1.) a dietyl éter odstráňte prúdom dusíka. Pridajte 1 ml interného roztoku (4.3.1.1.) a dietyl éter odstráňte prúdom dusíka.
 - 5.1.2. Stigmasterolový štandardný chromatografický roztok: do dvoch reakčných fiol (3.7.) prelejte 1 ml stigmasterolového štandardného roztoku (4.9.1.) a dietyl éter odstráňte prúdom dusíka. Pridajte 1 ml interného roztoku (4.3.1.2.) a dietyl éter odstráňte prúdom dusíka.

5.2. Príprava nezmydliteľných častí

- 5.2.1. Roztopte vzorku masla pri teplote nepresahujúcej 35 °C, vzorku dôkladne premiešajte.

Na najbližší 1 mg odvážite približne 1 g masla (W1) alebo koncentrovaného masla (W2) do 150 ml banky (3.1.). Pridajte 50 ml etanolu (4.1.) a 10 ml roztoku hydroxidu draselného (4.2.). Pripevnite kondenzátor so spätným tokom a po dobu 30 minút zohrievajte na teplote približne 75 °C. Kondenzátor odpojte a banku ochladte na približne izbovú teplotu.

- 5.2.2. Ak sa stanovuje obsah sitosterolu, do banky pridajte 1,0 ml interného štandardného roztoku (4.3.1.1.) alebo (4.3.1.2.), ak sa stanovuje obsah stigmasterolu. Dôkladne premiešajte. Obsah banky prelejte do 500 ml separačného lievika (3.2.), banku umyte 50 ml vody a 250 ml dietyl éteru (4.4.). Separačný lievik dôkladne pretrepte po dobu dvoch minút a umožnite separáciu vrstiev. Spodnú vodnatú vrstvu zlejte a éterovú vrstvu zmyte pretrepaním so štyrmi po sebe nasledujúcimi 100 ml dávkami vody.

Poznámka 2:

Aby nedošlo k vytvoreniu emulzie, je dôležité, aby sa prvé dve dávky vody aplikovali opatrne (10 okruhov). Tretia dávka sa môže pretrepať dôkladne po dobu 30 sekúnd. Ak sa vytvorí emulzia, táto sa dá zničiť pridaním 5 – 10 ml etanolu. V prípade pridania etanolu je potrebné uskutočniť ďalšie dve dôkladné pretrepávanie vodou.

- 5.2.3. Čistú éterovú vrstvu bez mydla prelejte cez sklenený valec (3.5.) obsahujúci 30 g anhydričkého sulfátu sodného (4.5.). Éter zberajte do 250 ml banky (3.3.). Pridajte jednu protinázarovú granulu a nechajte vypariť takmer do sucha vo vodnom kúpeli alebo izoobale za súčasného zberu odpadových látok.

Poznámka 3:

Ak sa extrakty vzoriek vysušia úplne pri príliš vysokej teplote, môže dôjsť k stratám sterolu.

5.3. *Príprava trimetyl-silylových éterov*

- 5.3.1. Zvyšný éterový roztok prelejte z banky do 2 ml reakčnej fioly (3.7.) s 2 ml dietylu éteru a éter odstráňte použitím prúdu dusíka. Banku umyte dvomi ďalšími 2 ml dávkami dietylu éteru, prelejte ho do fioly a éter odstraňujte dusíkom.
- 5.3.2. Vzorku silylujte pridaním 1 ml TRI-SIL-u (4.6.). Fiolu uzavrite a silne pretrepte kým sa obsah nerozpustí. Ak obsah fioly nie je úplne rozpustený, zohrejte ho na 65-70°C. Pred injektovaním do plynového chromatografu fiolu odstavte na najmenej päť minút. Silylujete štandardné roztoky rovnako ako vzorky. Rozlišovaciu testovaciu zmes (4.10.) silylujte rovnakým spôsobom ako vzorky.

Poznámka 4:

Silylácia sa musí uskutočniť v prostredí bez prítomnosti vody. Neúplnú silyláciu betulínu naznačuje druhý vrchol blízky vrcholu betulínu.

Silyláciu prekáža prítomnosť etanolu. K tomu môže dôjsť nedostatočným odstránením v extrakčnej fáze. Ak tento problém pretrváva, je v extrakčnej fáze potrebné vykonať piate premytie dôkladným pretrepaním po dobu 30 sekúnd.

5.4. *Analýza plynovou chromatografiou*

5.4.1. Výber prevádzkových podmienok

Plynový chromatograf nastavte v súlade s pokynmi výrobcu.

Orientačné prevádzkové podmienky sú nasledovné:

- teplota valca: 265 °C
- teplota injektora: 265 °C
- teplota detektora: 300 °C
- prietoková miera plynu: 0,6 ml/min.
- tlak vodíka: 84 kPa
- tlak vzduchu: 155 kPa
- rozdelenie vzorky: od 10: 1 do 50: 1; pomer rozdelenia musí byť optimalizovaný v súlade s pokynmi výrobcu a linearitou reakcie detektora a potom overený cez dané rozpätie koncentrácií.

Poznámka 5:

Osobitne dôležité je pravidelné čistenie injekčnej vložky.

- množstvo injektovanej látky: 1 µl roztoku TMSE.

Pred začatím analýzy umožnite vyváženie systému a dosiahnutie stabilnej reakcie.

Tieto podmienky je potrebné meniť podľa vlastností valca a plynového chromatografu s cieľom získania chromatogramov, ktoré budú vyhovovať nasledovným kritériám:

- vrchol sitosterolu sa náležite odvodí z lanosterolu. Graf 1 ukazuje typický chromatogram, ktorý by mal byť získaný zo silylátovanej rozlišovacej testovacej zmesi (4.10),
- relatívne časy väzby nasledovných sterolov by mali byť približne:
 - cholesterol: 1,0
 - stigmaterol: 1,3
 - sitosterol: 1,5
 - betulín: 2,5
- čas väzby pre betulín by mal byť približne 24 minút.

5.4.2. Analytický postup

Injektujte 1 µl silylátovaného štandardného roztoku (stigmaterolu alebo sitosterolu) a nastavte kalibračné parametre integrátora.

Injektujte ďalší 1 µl silylátovaného štandardného roztoku na stanovenie reakčných faktorov vo vzťahu k betulínu.

Injektujte 1 µl silylátovaného roztoku vzorky a merajte plochy vrcholov. Každé kolo chromatografie musí byť oddelené injektážou štandardného roztoku.

V každom oddelenom kole by malo byť šesť injekcií vzorky.

Poznámka 6:

Integrácia vrcholu stigmaterolu by mala zahŕňať každý dozvuk podľa definície uvedenej v bodoch 1, 2 a 3 v grafe 2b.

Integrácia vrcholu sitosterolu by mala zahŕňať plochu vrcholu 22 dihydro-beta-sitosterolu (stigmastanol), ktorý vznikne ihneď po sitosteroles (pozri graf 3b) pri hodnotení celkového sitosterolu.

6. Výpočet výsledkov

- 6.1. Stanovte plochu vrcholov sterolov a betulínu v oboch štandardných roztokoch oddeľujúcich kolo a vypočítajte R_1 :

$$R_1 = \frac{\text{priemerná plocha vrcholu sterolu v štandardnom roztoku}}{\text{priemerná plocha vrcholu betulínu v štandardnom roztoku}}$$

Stanovte plochu vrcholu sterolu (stigmasterol alebo sitosterol) a vrcholu betulínu vo vzorke a vypočítajte R_2 :

$$R_2 = \frac{\text{plocha vrcholu sterolu vo vzorke}}{\text{plocha vrcholu betulínu vo vzorke}}$$

W_1 = obsah sterolu v štandardnom roztoku (mg) obsiahnutého v 1 ml štandardného roztoku (4.8.1. alebo 4.9.1.)

W_2 = hmotnosť vzorky g (5.2.1.)

P = čistota štandardného sterolu (4.8. alebo 4.9.)

$$\text{Obsah sterolu vo vzorke (mg/kg)} = \frac{R_2}{R_1} \times \frac{W_1}{W_2} \times P \times 10$$

7. Presnosť metódy

7.1. 7.1. Maslo

7.1.1. Opakovateľnosť

7.1.1.1. Stigmasterol

Rozdiel medzi výsledkami dvoch analýz uskutočnených v rámci najkratšieho možného časového intervalu jedným operátorom použitím rovnakých prístrojov na rovnakom testovacom materiáli nesmie presiahnuť 19,3 mg/kg.

7.1.1.2. Sitosterol

Rozdiel medzi výsledkami dvoch analýz uskutočnených v rámci najkratšieho možného časového intervalu jedným operátorom použitím rovnakých prístrojov na rovnakom testovacom materiáli nesmie presiahnuť 23 mg/kg.

7.1.2. Reprodukovateľnosť

7.1.2.1. Stigmasterol

Rozdiel medzi výsledkami dvoch analýz uskutočnených operátormi v rôznych laboratóriách použitím rôznych prístrojov na rovnakom testovacom materiáli nesmie presiahnuť 31,9 mg/kg.

7.1.2.2. Sitosterol

Rozdiel medzi výsledkami dvoch analýz uskutočnených operátormi v rôznych laboratóriách použitím rôznych prístrojov na rovnakom testovacom materiáli nesmie presiahnuť 8,7 % v pomere k strednej hodnote analýzy.

7.1.3. Zdroj údajov o presnosti

Údaje o presnosti boli stanovené pokusom uskutočneným v roku 1992, na ktorom sa podieľalo osem laboratórií a pri ktorom sa použilo šesť vzoriek (tri slepé duplikáty) pre stigmasterol a šesť vzoriek (tri slepé duplikáty) pre sitosterol.

7.2. *Koncentrované maslo*7.2.1. *Opakovateľnosť*7.2.1.1. *Stigmasterol*

Rozdiel medzi výsledkami dvoch analýz uskutočnených v rámci najkratšieho možného časového intervalu jedným operátorom použitím rovnakých prístrojov na rovnakom testovacom materiáli nesmie presiahnuť 10,2 mg/kg.

7.2.1.2. *Sitosterol*

Rozdiel medzi výsledkami dvoch analýz uskutočnených v rámci najkratšieho možného časového intervalu jedným operátorom použitím rovnakých prístrojov na rovnakom testovacom materiáli nesmie presiahnuť 3,6 % v pomere k strednej hodnote analýzy.

7.2.2. *Reprodukovateľnosť*7.2.2.1. *Stigmasterol*

Rozdiel medzi výsledkami dvoch analýz uskutočnených operátormi v rôznych laboratóriách použitím rôznych prístrojov na rovnakom testovacom materiáli nesmie presiahnuť 25,3 mg/kg.

7.2.2.2. *Sitosterol*

Rozdiel medzi výsledkami dvoch analýz uskutočnených operátormi v rôznych laboratóriách použitím rôznych prístrojov na rovnakom testovacom materiáli nesmie presiahnuť 8,9 % v pomere k strednej hodnote analýzy.

7.2.3. *Zdroj údajov o presnosti*

Údaje o presnosti boli stanovené pokusom uskutočneným v roku 1991, na ktorom sa podieľalo deväť laboratórií a pri ktorom sa použilo šesť vzoriek (tri slepé duplikáty) pre stigmasterol a šesť vzoriek (tri slepé duplikáty) pre sitosterol.

8. **Tolerančné limity**

8.1. Na kontrolu správneho obsahu stopovej látky sa z výrobku obsahujúceho stopovú látku odoberú tri vzorky obsahujúce stopovú látku.

8.2. *Maslo*8.2.1. *Stigmasterol*

8.2.1.1. Miera vstrebávania pre stigmasterol je 150 g najmenej 95 % čistého stigmasterolu na tonu masla, t. j. 142,5 mg/kg, alebo 170 g najmenej 85 % čistého stigmasterolu na tonu masla, t. j. 144,5 mg/kg.

8.2.1.2. Výsledky z troch vzoriek získané z analýzy výrobku sa použijú na kontrolu miery a homogenity obsahu stopovej látky a najnižší z týchto výsledkov sa porovná s nasledovnými limitmi [kritická odchýlka pre hladinu pravdepodobnosti 95 % (DCr95) zohľadnená]:

- 116,0 mg/kg (95 % minimálnej miery vstrebávania pre 95 % čistý stigmasterol),
- 118,0 mg/kg (95 % minimálnej miery vstrebávania pre 85 % čistý stigmasterol),
- 81,0 mg/kg (70 % minimálnej miery vstrebávania pre 95 % čistý stigmasterol),
- 82,0 mg/kg (70 % minimálnej miery vstrebávania pre 85 % čistý stigmasterol).

Koncentrácia stopovej látky vo vzorke s najnižším výsledkom sa používa v spojení s interpoláciou medzi 116,0 mg/kg a 81,0 mg/kg alebo 118,0 mg/kg a 82,0 mg/kg.

8.2.2. *Sitosterol*

8.2.2.1. Miera vstrebávania pre sitosterol je 600 g najmenej 90 % čistého sitosterolu na tonu masla, t. j. 540 mg/kg.

8.2.2.2. Výsledky z troch vzoriek získané z analýzy výrobku sa použijú na kontrolu miery a homogenity obsahu stopovej látky a najnižší z týchto výsledkov sa porovná s nasledovnými limitmi [kritická odchýlka pre hladinu pravdepodobnosti 95 % (DCr95) zohľadnená]:

- 486 mg/kg (95 % minimálnej miery vstrebávania pre 90 % čistý sitosterol),
- 358 mg/kg (70 % minimálnej miery vstrebávania pre 90 % čistý sitosterol).

Koncentrácia stopovej látky vo vzorke s najnižším výsledkom sa používa v spojení s interpoláciou medzi 486 mg/kg a 358 mg/kg.

8.3. Koncentrované maslo

8.3.1. Stigmasterol

8.3.1.1. Miera vstrebávania pre stigmasterol je 150 g najmenej 95 % čistého stigmasterolu na tonu masla, t. j. 142,5 mg/kg, alebo 170 g najmenej 85 % čistého stigmasterolu na tonu masla, t. j. 144,5 mg/kg.

8.3.1.2. Výsledky z troch vzoriek získané z analýzy výrobku sa použijú na kontrolu miery a homogenity obsahu stopovej látky a najnižší z týchto výsledkov sa porovná s nasledovnými limitmi [kritická odchýlka pre hladinu pravdepodobnosti 95 % (DCr95) zohľadnená]:

- 120 mg/kg (95 % minimálnej miery vstrebávania pre 95 % čistý stigmasterol),
- 122 mg/kg (95 % minimálnej miery vstrebávania pre 85 % čistý stigmasterol),
- 84 mg/kg (70 % minimálnej miery vstrebávania pre 95 % čistý stigmasterol),
- 86 mg/kg (70 % minimálnej miery vstrebávania pre 85 % čistý stigmasterol).

Koncentrácia stopovej látky vo vzorke s najnižším výsledkom sa používa v spojení s interpoláciou medzi 120 mg/kg a 84 mg/kg alebo 122 mg/kg a 86 mg/kg.

8.3.2. Sitosterol

8.3.2.1. Miera vstrebávania pre sitosterol je 600 g najmenej 90 % čistého sitosterolu na tonu masla, t. j. 540 mg/kg.

8.3.2.2. Výsledky z troch vzoriek získané z analýzy výrobku sa použijú na kontrolu miery a homogenity obsahu stopovej látky a najnižší z týchto výsledkov sa porovná s nasledovnými limitmi [kritická odchýlka pre hladinu pravdepodobnosti 95 % (DCr95) zohľadnená]:

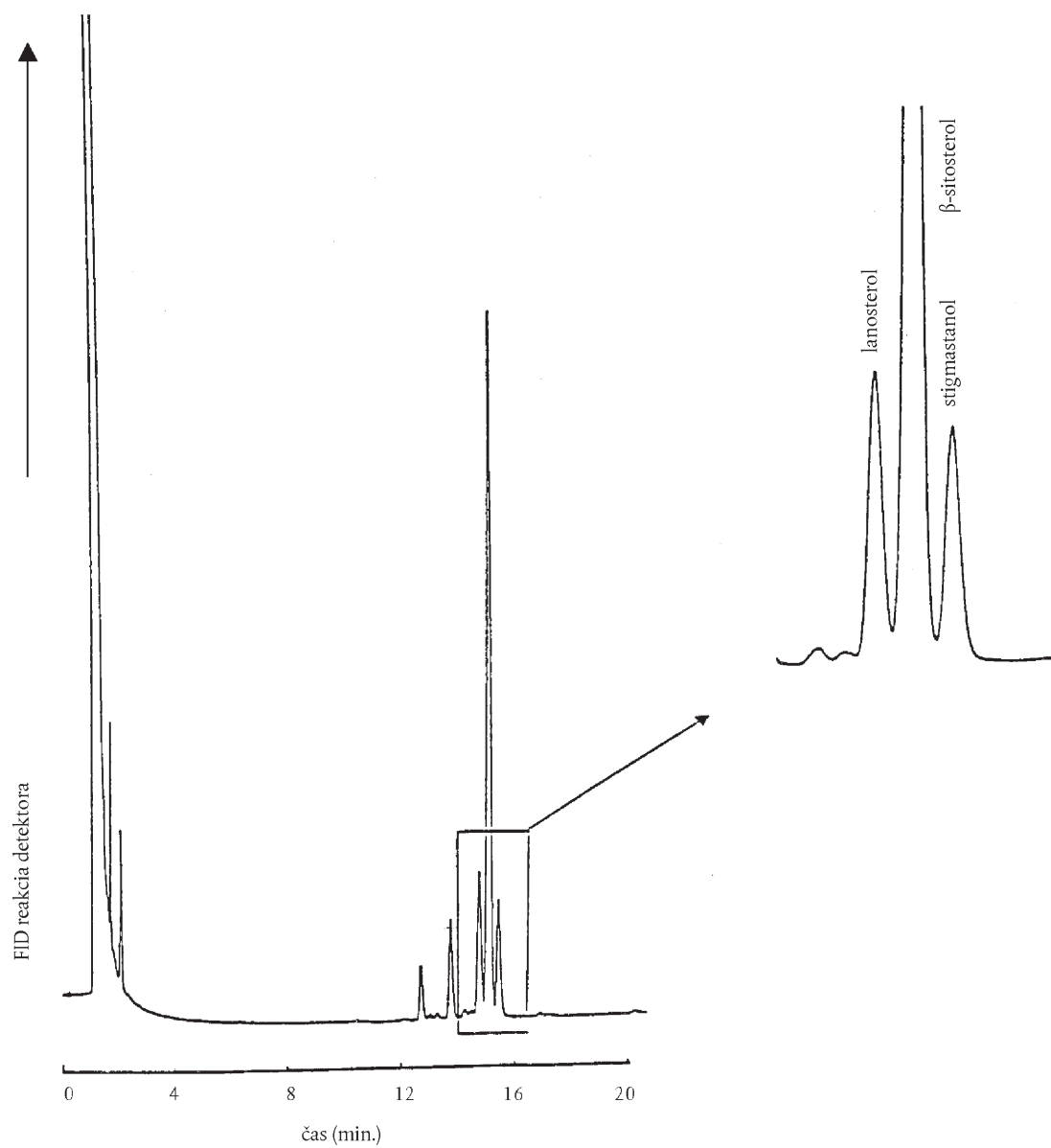
- 486 mg/kg (95 % minimálnej miery vstrebávania pre 90 % čistý sitosterol),
- 358 mg/kg (70 % minimálnej miery vstrebávania pre 90 % čistý sitosterol).

Koncentrácia stopovej látky vo vzorke s najnižším výsledkom sa používa v spojení s interpoláciou medzi 486 mg/kg a 358 mg/kg.

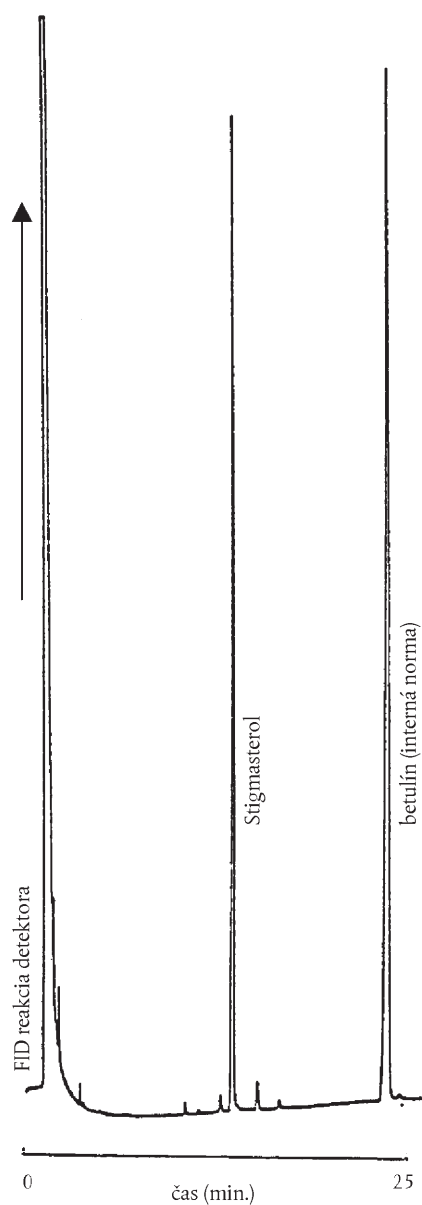
Graf 1

Chromatogram rozlišovacej testovacej zmesi

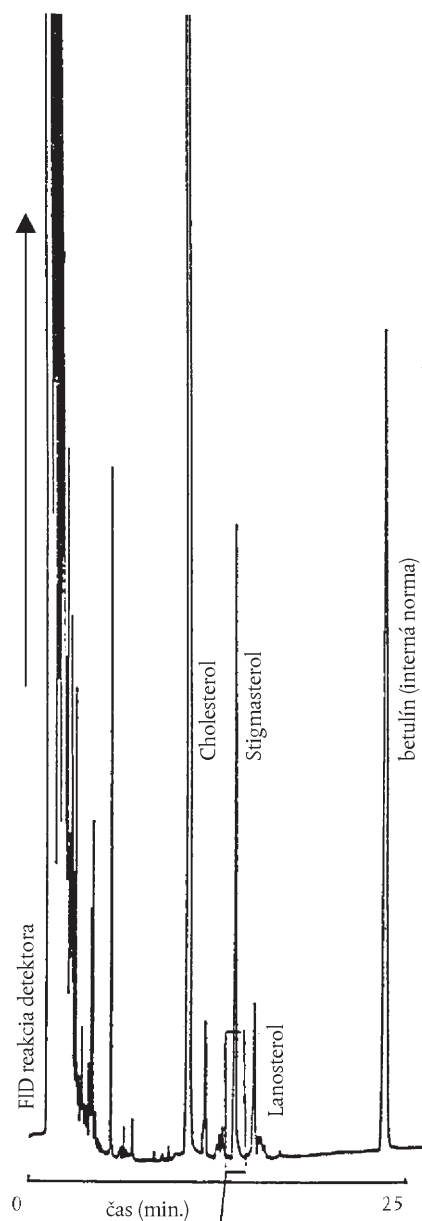
Uprednostňuje sa úplné rozlíšenie, t. j. čiara vrcholu pre lanosterol by sa mala vrátiť na základnú čiaru pred znázornením vrcholu sitosterolu, hoci neúplné rozlíšenie je tiež prijateľné



Graf 2a
Štandardný roztok stigmasterolu



Graf 2b
Vzorka masla denaturovaná stigmasterolom



Poznámka: Integrácia vrcholu stigmasterolu by mala zahŕňať každý dozvuk podľa definície uvedenej v bodoch 1, 2 a 3.

