

**Corso regionale sugli additivi alimentari per gli addetti al controllo ufficiale
Benevento - 23-24 gennaio 2013**

Gli additivi alimentari e l'analisi chimica nel controllo ufficiale

Marco Guidotti

Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Sicurezza Alimentare

Istituto Superiore di Sanità



L'analisi chimica e l'accreditamento

In ambito Europeo i laboratori che eseguono controlli ufficiali su prodotti alimentari operano in conformità alle buone pratiche di laboratorio (UNI CEI EN ISO/IEC 17025). I sistemi di qualità adottati nell'Unione Europea hanno lo scopo di assicurare la **uniformità dei risultati tra i vari laboratori dei diversi paesi.**

Il laboratorio che utilizza un metodo chimico è tenuto a verificare sia le **prestazioni** ottenute dal metodo (**validazione**), sia la **conformità** a norme nazionali e comunitarie.

Additivi a rilevanza sanitaria

esempi:

- ***Solfiti***
- ***Nitriti e nitrati***
- ***Coloranti***
- ***Edulcoranti***



Additivi a rilevanza sanitaria

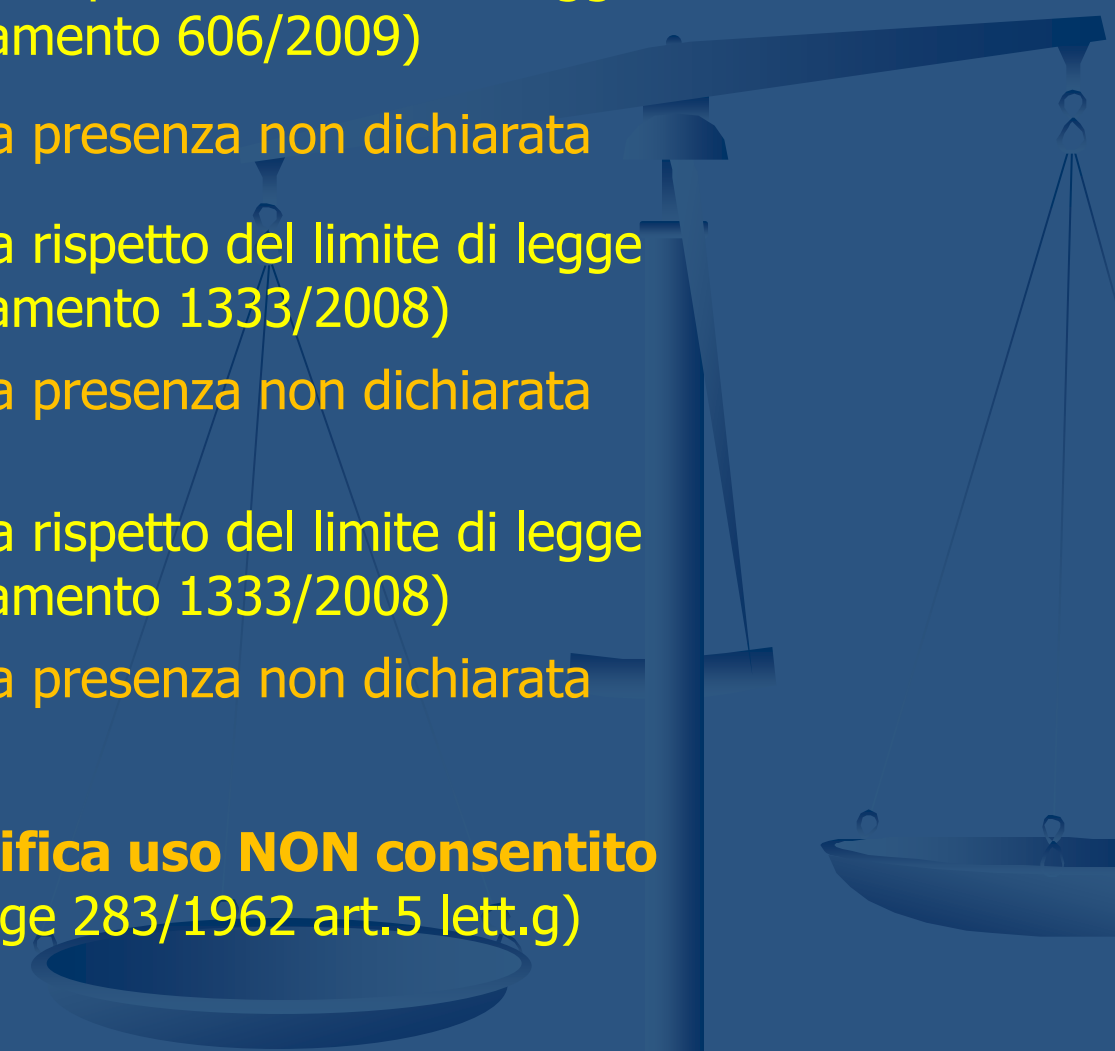
I **solfiti** sono degli allergeni (Regolamento 1169/2011 all.II) presentano contemporaneamente un valore critico di ADI ed una grande estensione del campo di impiego;

Nell'uomo i **Nitrati** vengono trasformati nella bocca ad opera degli enzimi della saliva in **nitriti** che vengono poi assorbiti per via sistemica. Assunzioni di dosi elevate di nitriti possono portare l'uomo a **metaemoglobinemia**. Nello stomaco i nitrati possono essere trasformati in nitriti. Questi legandosi con gli amminoacidi possono formare dei composti fortemente cancerogeni le **nitrosoammine**. I bambini al di sotto dei 3 mesi di vita possono convertire alte dosi di nitrati in nitriti e rischiare così una metaemoglobinemia (EFSA 689, 2008 – Nitrate in vegetables).

Alcuni **coloranti artificiali** sono stati associati a comportamenti iperattivi nei bambini (Weiss – Neurotoxicology 7,2,197).

Gli **edulcoranti** a causa del continuo trend di crescita dei consumi e delle potenziali esposizioni in soggetti critici (bambini ed adolescenti).

Solfiti negli Alimenti

- 
- Vino**
 - Verifica rispetto del limite di legge (regolamento 606/2009)
 - Verifica presenza non dichiarata
 - Conserve vegetali**
 - Verifica rispetto del limite di legge (regolamento 1333/2008)
 - Verifica presenza non dichiarata
 - Crostacei**
 - Verifica rispetto del limite di legge (regolamento 1333/2008)
 - Verifica presenza non dichiarata
 - Carne fresca macinata**
 - **Verifica uso NON consentito** (legge 283/1962 art.5 lett.g)

Criteria di scelta dei metodi di analisi

- ***Norme comunitarie;***
- ***Norme o protocolli riconosciuti internazionalmente come quelli accettati dal CEN (comitato Europeo di Normalizzazione) o accettati dalla legislazione nazionale;***
- ***Altri metodi sviluppati conformemente a protocolli scientifici.***

Occorre dare la preferenza a metodi applicabili a più categorie di prodotti rispetto a quelli che si applicano ad un solo prodotto.

Solfiti negli Alimenti

Scelta del metodo di analisi

Vini

Metodo ufficiale **OIV-MA-AS323-04A**

(richiamato dai Regolamenti: 1234/2007 art.120 octies; 491/2009 art.1).

Conserve Fresche, Crostacei, Carne fresca macinata

Metodo **UNI EN 1988-1** del giugno/1998

(metodo normato non applicabile agli alimenti: cavolo, aglio secco, cipolla secca, zenzero e proteine della soia).

(**metodo interno iodimetrico** per gli alimenti esclusi dal metodo normato).

Norma UNI CEI EN ISO/IEC 17025

“Requisiti generali per la competenza dei laboratori di prova e di taratura”.

Validazione del metodo di analisi

- conferma attraverso l'esame e l'apporto di evidenze oggettive che i requisiti particolari per l'utilizzazione prevista siano soddisfatti.
- implica il confronto delle prestazioni analitiche dei metodi, con i requisiti richiesti per la loro applicazione.
- nel controllo ufficiale dei prodotti alimentari è necessario verificare che tutti i parametri relativi alle prestazioni dei metodi di prova siano conformi a quanto stabilito nelle specifiche Direttive/Regolamenti in vigore.
- oppure se i metodi di analisi vengono validati da un singolo laboratorio devono essere conformi alle linee guida IUPAC.

Validazione del metodo di analisi

Regolamento 882/2004 - relativo ai controlli ufficiali intesi a verificare la conformità alla normativa in materia di mangimi e di alimenti e alle norme sulla salute e sul benessere degli animali

Art.10

I compiti correlati ai controlli ufficiali sono eseguiti, in generale, usando metodi e tecniche di controllo appropriati quali monitoraggio, sorveglianza, verifica, audit, ispezione, campionamento e analisi.

Art.11

1. I metodi di campionamento e di analisi utilizzati nel contesto dei controlli ufficiali sono conformi alle **pertinenti norme comunitarie** oppure:

- a) se tali norme non esistono, a norme o **protocolli riconosciuti internazionalmente**, ad esempio quelli accettati dal Comitato europeo di normalizzazione (CEN) o quelli accettati dalla legislazione nazionale; oppure
- b) in assenza, ad altri metodi utili al raggiungimento degli obiettivi o **sviluppati conformemente a protocolli scientifici.**

Validazione del metodo di analisi

Regolamento 882/2004 - relativo ai controlli ufficiali intesi a verificare la conformità alla normativa in materia di mangimi e di alimenti e alle norme sulla salute e sul benessere degli animali

Art.11

2. Allorquando il paragrafo 1 non è d'applicazione, i metodi di analisi possono essere convalidati in un unico laboratorio conformemente ad un protocollo riconosciuto internazionalmente.

3. I metodi di analisi devono essere caratterizzati, quando possibile, dai **criteri opportuni elencati nell'allegato III.**

4. Le seguenti misure di attuazione possono essere adottate secondo la procedura di cui all'articolo 62, paragrafo 3:

- a) metodi di campionamento e di analisi, compresi i metodi di conferma o di riferimento da usarsi in caso di controversia;
- b) criteri di efficienza, parametri di analisi, incertezza della misura e procedure di convalida dei metodi di cui alla lettera a);
- c) **norme sull'interpretazione dei risultati.**

Validazione del metodo di analisi

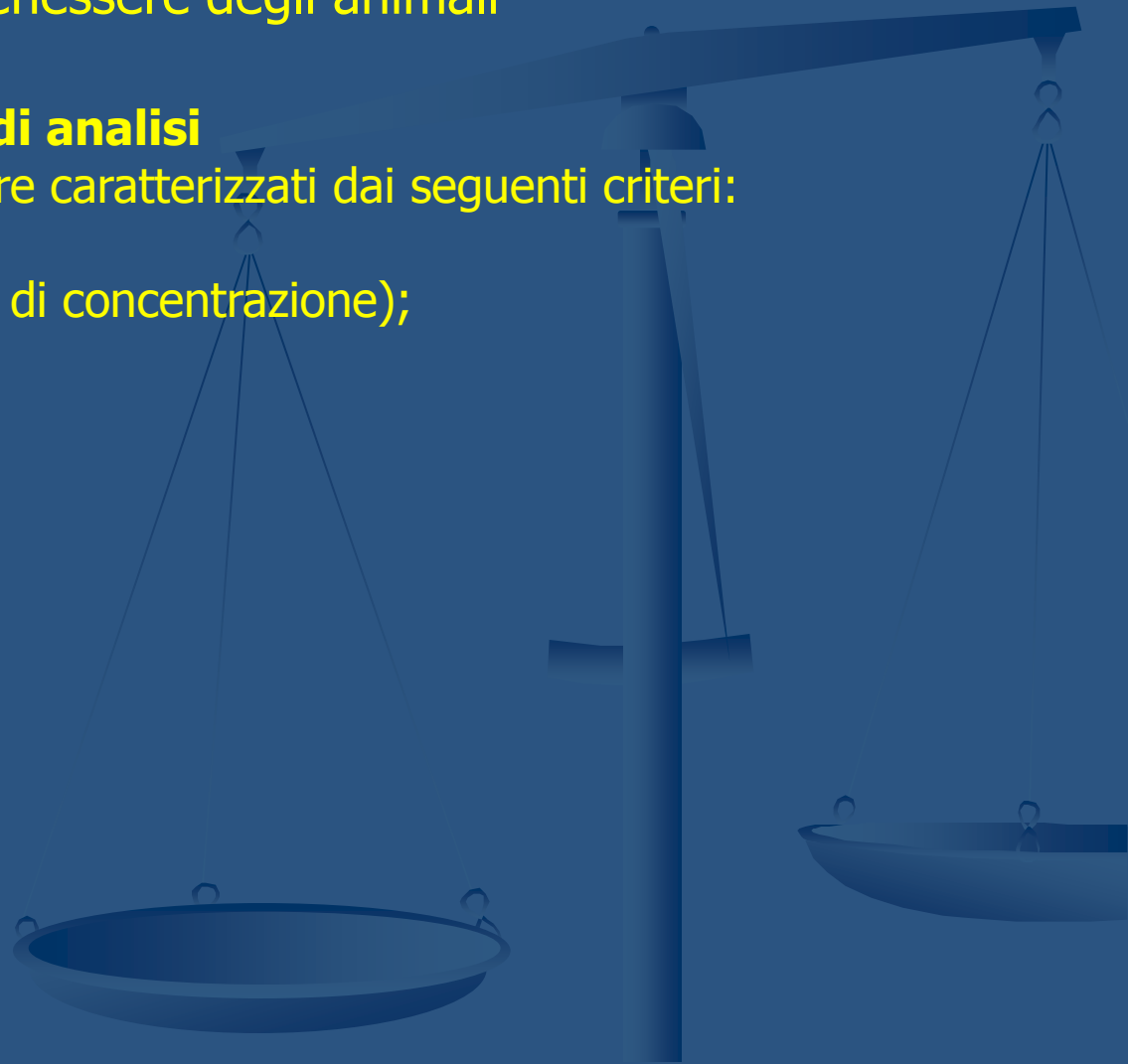
Regolamento 882/2004 - relativo ai controlli ufficiali intesi a verificare la conformità alla normativa in materia di mangimi e di alimenti e alle norme sulla salute e sul benessere degli animali

Allegato III

Caratterizzazione dei metodi di analisi

1. I metodi di analisi devono essere caratterizzati dai seguenti criteri:

- a) esattezza;
- b) applicabilità (matrice e gamma di concentrazione);
- c) limite di rilevazione;
- d) limite di determinazione;
- e) precisione;
- f) ripetibilità;
- g) riproducibilità;
- h) recupero;
- i) selettività;
- j) sensibilità;
- k) linearità;
- l) incertezza delle misurazioni;
- m) altri criteri a scelta.



Validazione del metodo di analisi

Regolamento 882/2004 - relativo ai controlli ufficiali intesi a verificare la conformità alla normativa in materia di mangimi e di alimenti e alle norme sulla salute e sul benessere degli animali

Articolo 12 - Laboratori ufficiali.

1. L'autorità competente designa i laboratori che possono eseguire l'analisi dei campioni prelevati durante i controlli ufficiali.
2. **Le autorità competenti, tuttavia, possono designare soltanto i laboratori che operano, sono valutati e accreditati conformemente alle seguenti norme europee:**
 - a) **EN ISO/IEC 17025** su «**Criteri generali sulla competenza dei laboratori di prova e di taratura**»;
 - b) **EN ISO/CEI 17011** su “**General requirements for accreditation bodies accrediting conformity assessment bodies**” (Requisiti generali per gli organismi di accreditamento che accreditano organismi di valutazione della conformità);
3. L'accREDITAMENTO e la valutazione dei laboratori di prova di cui al paragrafo 2 possono riguardare singole prove o gruppi di prove.
4. L'autorità competente può annullare la designazione di cui al paragrafo 1 se le condizioni di cui al paragrafo 2 non sono più rispettate...

Incertezza di misura ed errore

Incertezza misura parametro, associato al risultato di una misurazione, che caratterizza la **dispersione dei valori** che possono ragionevolmente essere attribuiti al misurando (Gum 100/2008).

La parola "incertezza" significa dubbio, e quindi nel suo senso più ampio "incertezza di misura" significa dubbio circa la validità del risultato di una misurazione

Errore una misura che ha una imperfezione che è data da un errore nel risultato della misura.

Tradizionalmente, un errore è visto come avere due componenti, chiamate, una componente random e una componente sistematica (Gum 100/2008).

Incertezza di misura ed errore

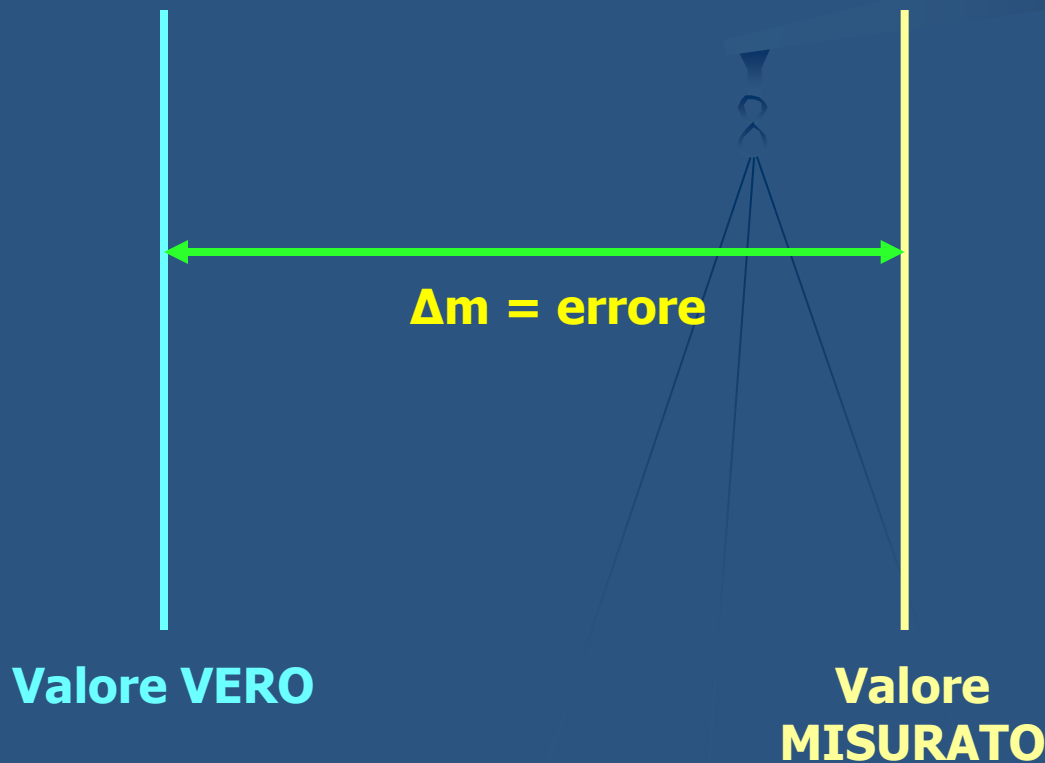
Attenzione a NON confondere l'incertezza di misura con l'errore.

Modello matematico quantitativo:

incertezza = scarto tipo di n misurazioni

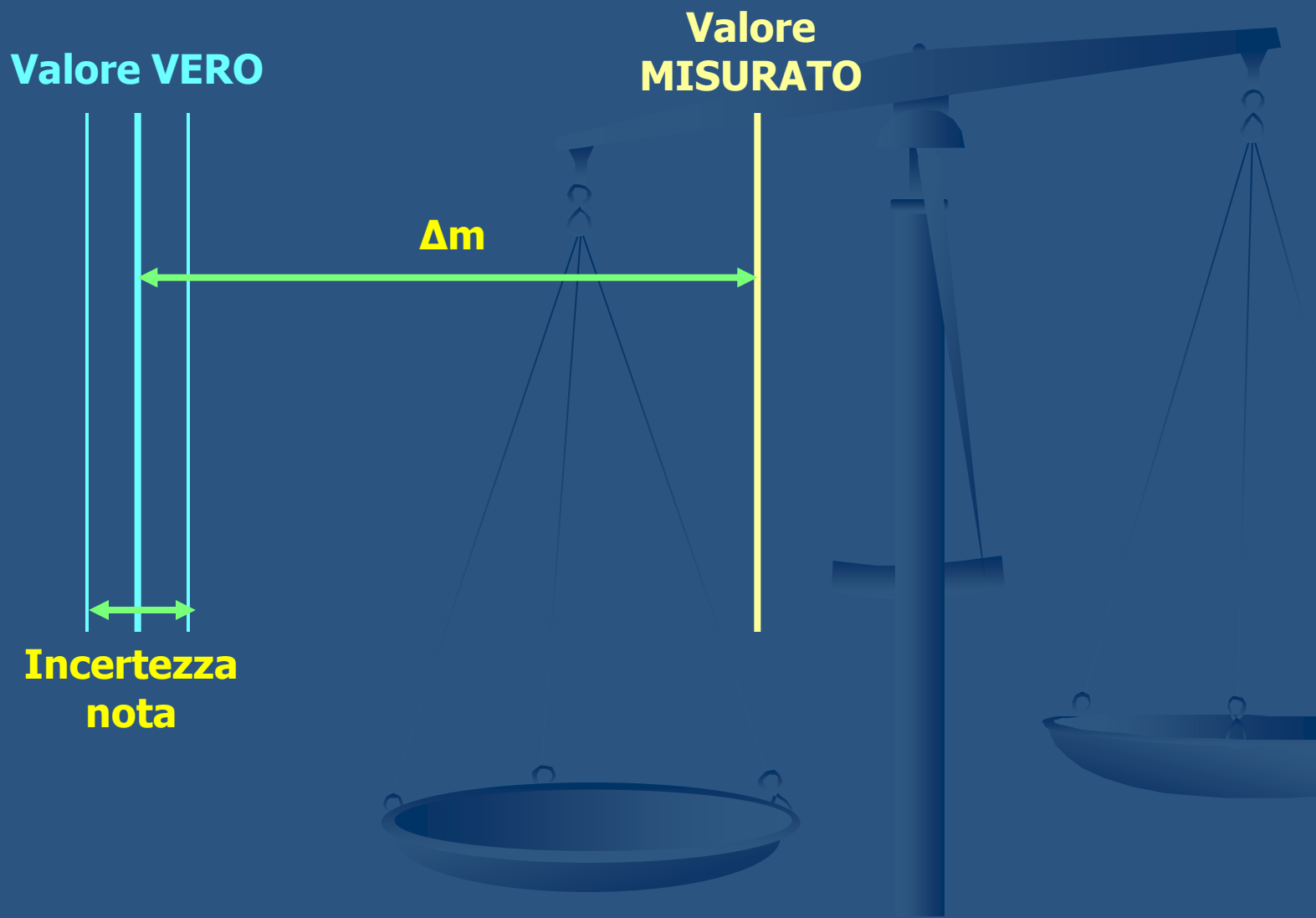
errore = risultato di una misurazione meno il valore vero del misurando (Gum 100/2008). (Non può essere esattamente conosciuto).

ERRORE (di misura):



Δm = scostamento della misura calcolata dal confronto

INCERTEZZA (di misura):



Incertezza di misura ed errore

Giustificazioni realistiche per le valutazioni dell'incertezza

Quando viene riportato il valore del misurando, deve essere data la migliore stima del suo valore e la migliore valutazione della incertezza di questa stima, **se l'incertezza è uno sbaglio, non è possibile normalmente decidere in quale direzione si deve sbagliare "in modo sicuro"**. Una **sottovalutazione** delle incertezze potrebbe causare troppa fiducia da collocare nei valori riportati, con conseguenze a volte imbarazzanti o addirittura disastrose. Una **sovrastima** deliberata delle incertezze potrebbe anche avere ripercussioni indesiderabili. Si potrebbero acquistare strumenti di misura più costosi di quelli di cui si ha bisogno, o scartare inutilmente prodotti costosi o respingere servizi di un laboratorio di taratura. (Gum 100/2008).

Incertezza di misura

Certificato di analisi:

Contenuto di anidride solforosa nel vino bianco:

Esempio n.1

185 ± 10 mg/kg

Esempio n.2

195 ± 10 mg/kg

Esempio n.3

205 ± 10 mg/kg

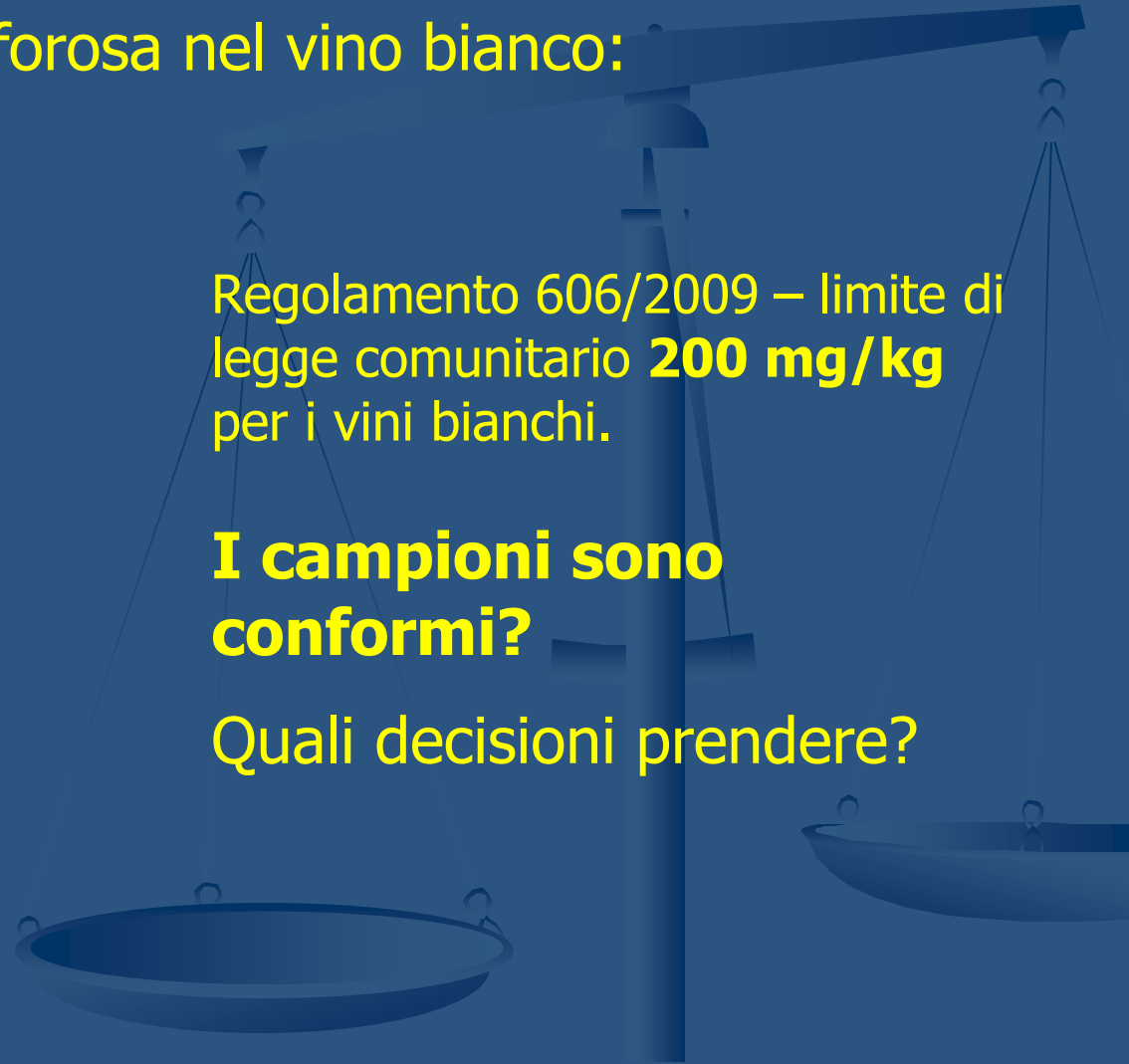
Esempio n.4

215 ± 10 mg/kg

Regolamento 606/2009 – limite di legge comunitario **200 mg/kg** per i vini bianchi.

I campioni sono conformi?

Quali decisioni prendere?



Esempio n.1 - **CONFORME**



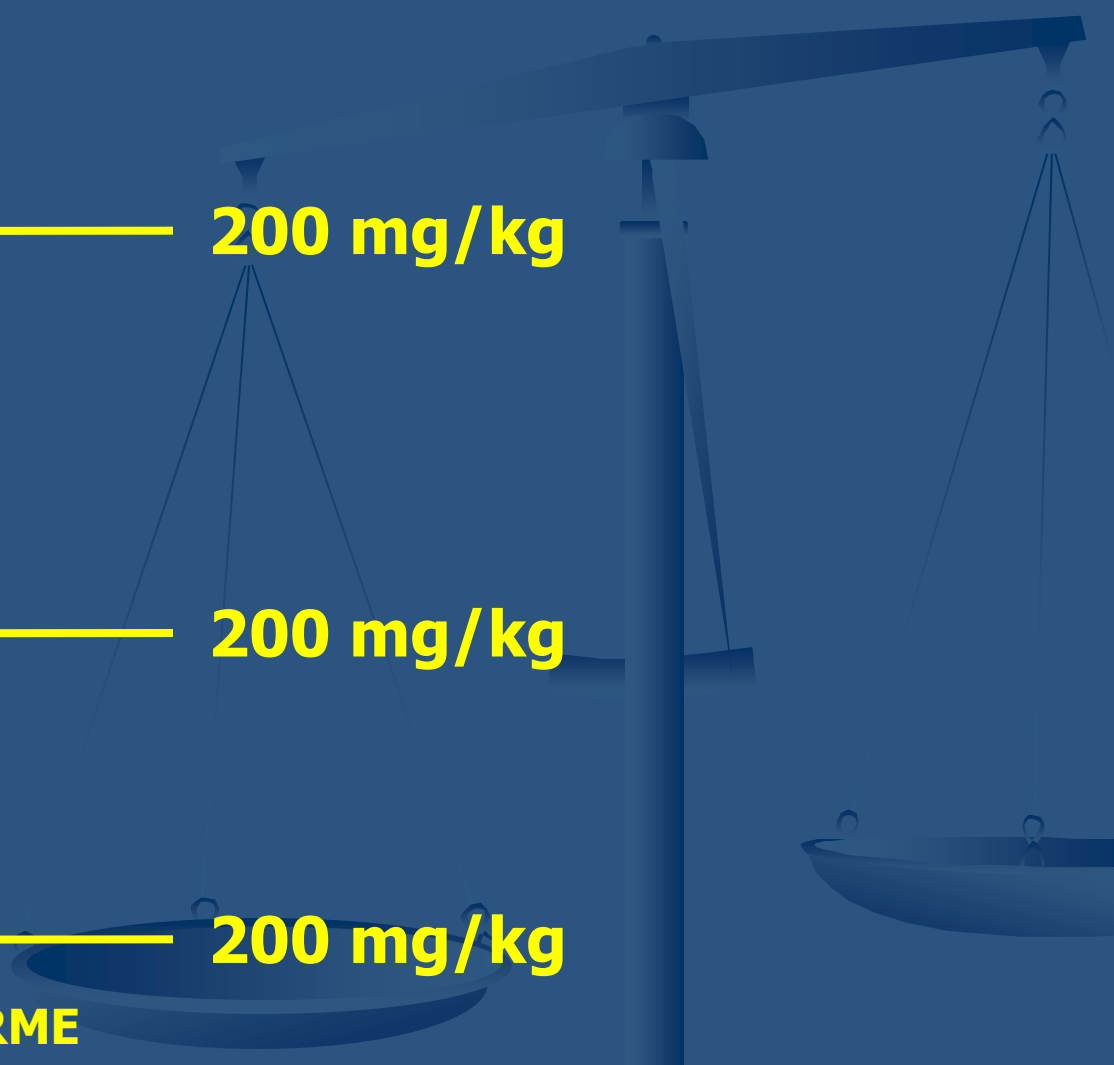
Esempio n.2 - **INCERTO**



Esempio n.3 - **INCERTO**



Esempio n.4 - **NON CONFORME**



UNI EN ISO 14253-1 - Regole decisionali per provare la conformità o non conformità rispetto alle specifiche.

Regole di **conformità** rispetto alle specifiche

$$y + U < USL$$

Regole di **NON conformità** rispetto alle specifiche

$$USL < y - U;$$

USL = limite superiore;

U = incertezza estesa;



UNI EN ISO 14253-1 - Regole decisionali per provare la conformità o non conformità rispetto alle specifiche.

Nel ns. caso $USL = \text{limite legge} = 200 \text{ mg/kg}$

Esempio n.1

conformità	$185 + 10 = 195 < 200$	SI
non conformità	$200 < 185 - 10 = 175$	NO

Nell'esempio n.1 il campione è sicuramente **conforme**.



UNI EN ISO 14253-1 - Regole decisionali per provare la conformità o non conformità rispetto alle specifiche.

Nel ns. caso USL = limite legge = 200 mg/kg

Esempio n.2

conformità	$195 + 10 = 205 < 200$	NO
non conformità	$200 < 195 - 10 = 185$	NO

Nell'esempio n.2 il campione non è conforme ma sicuramente non è **non conforme**.

Nella prassi questo campione viene considerato conforme.

UNI EN ISO 14253-1 - Regole decisionali per provare la conformità o non conformità rispetto alle specifiche.

Nel ns. caso USL = limite legge = 200 mg/kg

Esempio n.3

conformità	$\underline{205} + 10 = 215 < 200$	NO
non conformità	$200 < 205 - 10 = 195$	NO

Nell'esempio n.3 il campione non è conforme perché il valore trovato supera il limite di legge, ma se sottraggo l'incertezza non è **non conforme**. L'analisi andrebbe ripetuta e la media effettuata su quattro prove.

Se dopo la ripetizione il valore restasse tale bisognerebbe prendere una decisione. **Nella prassi questo campione viene considerato conforme.**

UNI EN ISO 14253-1 - Regole decisionali per provare la conformità o non conformità rispetto alle specifiche.

Nel ns. caso USL = limite legge = 200 mg/kg

Esempio n.4

conformità	$215 + 10 = 225 < 200$	NO
non conformità	$200 < 215 - 10 = 205$	SI

Nell'esempio n.4 il campione non è conforme ma sicuramente è **non conforme**.

Incertezza di misura e conformità

Valutazione **ILAC:G8-03 2009**

Lineeguida sulla comunicazione della conformità con le specifiche.

Conformità: se il limite della specifica non è violato dal risultato della misurazione più l'incertezza estesa, con una probabilità di copertura del 95%, allora il rispetto con la specifica può essere indicata (**esempio n.1**).

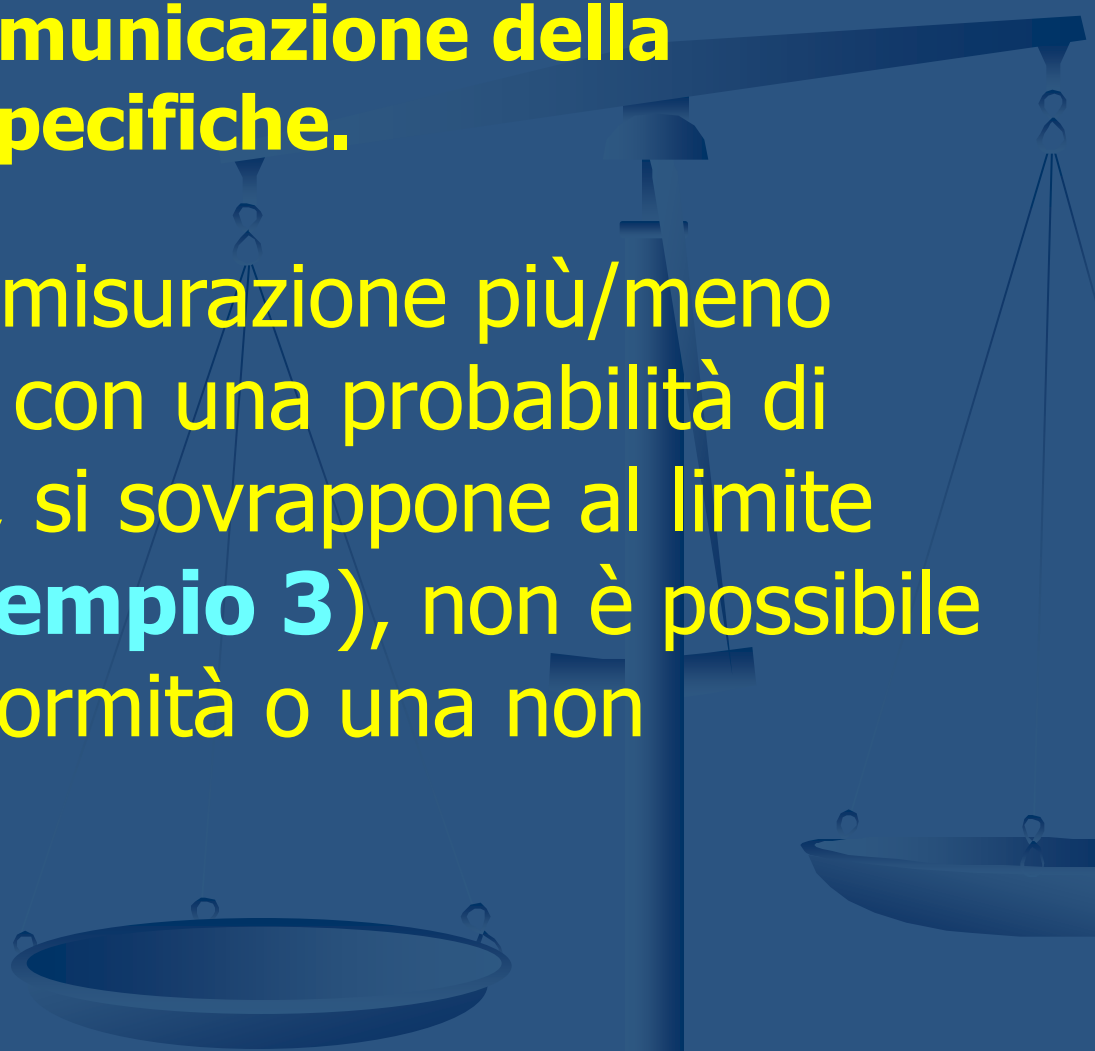
Non conformità: se il limite della specifica viene superato dal risultato della misurazione meno l'incertezza estesa, con una probabilità di copertura del 95%, allora la non conformità con la specifica può essere indicata (**esempio n.4**).

Incertezza di misura e conformità

Valutazione **ILAC:G8-03 2009**

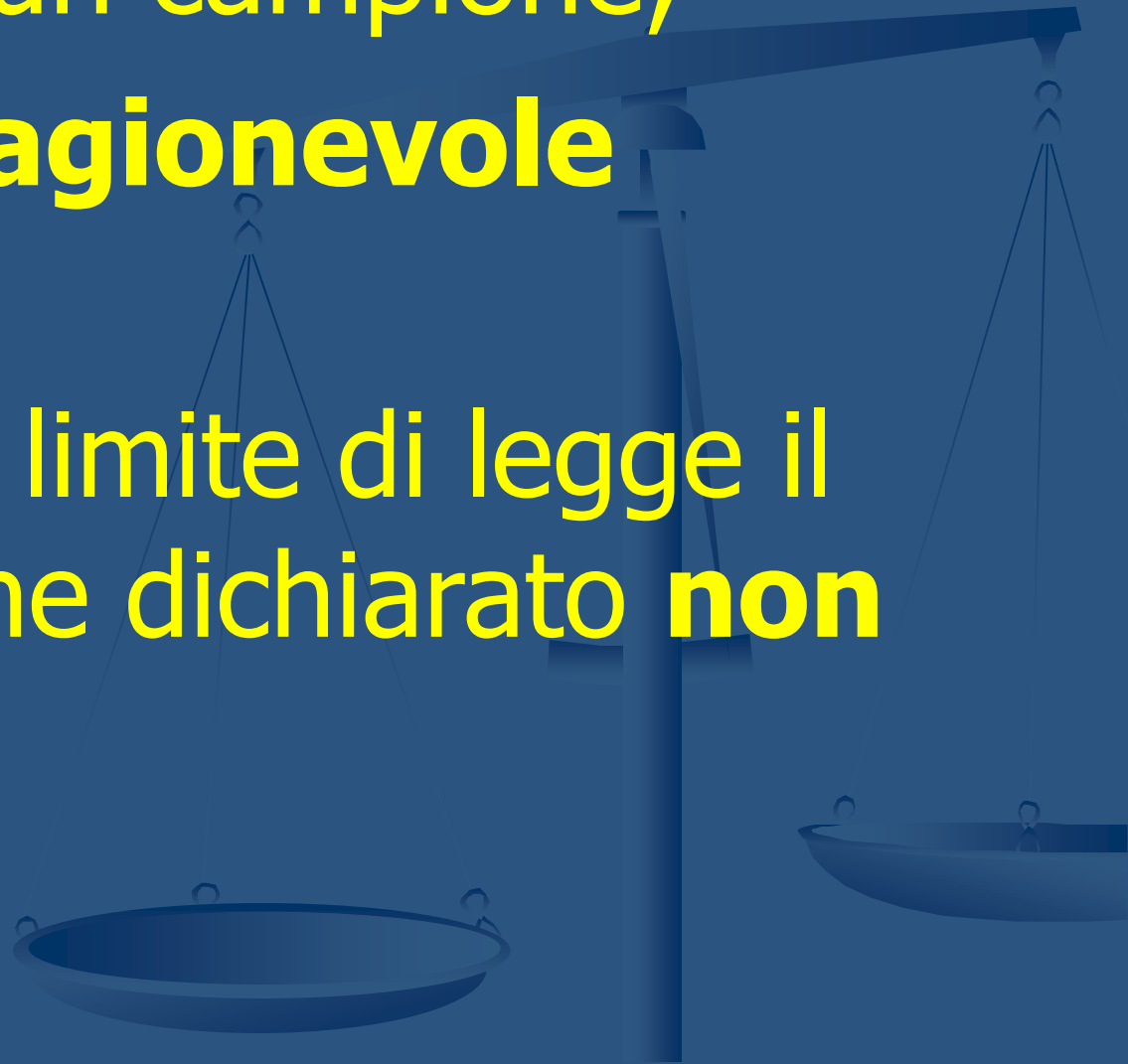
Lineeguida sulla comunicazione della conformità con le specifiche.

Se il risultato della misurazione più/meno l'incertezza estesa, con una probabilità di copertura del 95%, si sovrappone al limite (**esempio 2** ed **esempio 3**), non è possibile formulare una conformità o una non conformità.



Incertezza di misura e conformità

Se l'analisi di un campione,
entro ogni ragionevole dubbio,
è superiore al limite di legge il
campione viene dichiarato **non**
conforme.



Incertezza di misura e conformità

ATTENZIONE

Nel caso in cui i laboratori esprimessero **valori troppi alti di incertezza**, di fatto, estenderebbero il limite di legge.

esempio:

Regolamento 1881/2006

Pb nei Cefalopodi (1,0 mg/kg)

Laboratorio in IT Pb $1,4 \pm 0,3$ mg/kg NC.

Laboratorio in UK Pb $1,4 \pm 0,5$ mg/kg C.

**Ci sono momenti in cui tutto
va per il verso giusto. Non
bisogna spaventarsi. Sono
momenti che passano.**

Jules Renard



Grazie per l'attenzione
marco.guidotti@iss.it