

Laboratori Nazionali di Riferimento
per Metalli Pesanti
negli Alimenti e nei Mangimi
e
Additivi nei Mangimi

VI Workshop

Organizzato da

Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta



Centro di Riferenza Nazionale
per la Sorveglianza e il Controllo degli Alimenti
per gli Animali (C.Re.A.A.)

e



Istituto Superiore di Sanità

Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria
e Sicurezza Alimentare (SPVSA)

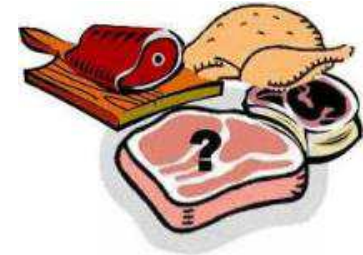
1-2 Dicembre 2016

Sala conferenze
Istituto Zooprofilattico Sperimentale
del Piemonte, Liguria e Valle d'Aosta

via Bologna 148, 10154 Torino

Metalli negli additivi alimentari

Augusto A. Pastorelli
Stefania Morelli



**DETERMINAZIONE ELEMENTI METALLICI FOOD AND
FEED**



Reg (UE) 178/2002 Art. 2

Definizione di «alimento»

- Ai fini del presente regolamento si intende per alimento» (o «prodotto alimentare», o «derrata alimentare») qualsiasi sostanza o prodotto trasformato, parzialmente trasformato o non trasformato, destinato ad essere ingerito, o di cui si prevede ragionevolmente che possa essere ingerito, da esseri umani.(....)

Ingredienti non consumati t.q.



Reg (UE) 1333/2008 Art. 3

per «additivo alimentare» s'intende qualsiasi sostanza abitualmente non consumata come alimento in sé e non utilizzata come ingrediente caratteristico di alimenti, con o senza valore nutritivo, la cui aggiunta intenzionale ad alimenti per uno scopo tecnologico nella fabbricazione, nella trasformazione, nella preparazione, nel trattamento, nell'imballaggio, nel trasporto o nel magazzinaggio degli stessi, abbia o possa presumibilmente avere per effetto che la sostanza o i suoi sottoprodotti diventino, direttamente o indirettamente, componenti di tali alimenti;



L'additivo alimentare è quindi una
sostanza che:

- in quanto «estranea» alla composizione del prodotto alimentare "diventa" ingrediente alimentare

quando "entra" nella composizione del prodotto alimentare o quando svolge direttamente funzione alimentare (es: edulcorante da tavola)

Condizioni generali per l'inclusione di additivi alimentari negli elenchi comunitari e per il loro uso

- a) sulla base dei dati scientifici disponibili, il tipo d'impiego proposto **non pone problemi di sicurezza per la salute** dei consumatori;
- b) il suo impiego può essere ragionevolmente considerato una **necessità tecnica** che non può essere soddisfatta con altri mezzi economicamente e tecnologicamente praticabili;
- c) il suo impiego **non induce in errore** i consumatori

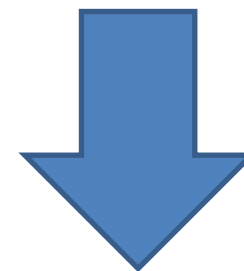
REGOLAMENTO (CE) N. 1333/2008 *Articolo 6*

Specifiche degli additivi alimentari

-criteri di purezza

REGOLAMENTO (UE) N. 231/2012

che stabilisce le specifiche degli additivi alimentari elencati negli allegati II e III del regolamento (CE) n. 1333/2008 del Parlamento europeo e del Consiglio



-Descrizione dei criteri accettabili di purezza con definizione dei limiti massimi per le impurezze indesiderate

Descrizione	Polvere o granuli di colore da rosso a marrone
Aspetto della soluzione acquosa	Colore rosso
Identificazione	
Spettrometria	Estinzione massima in soluzione acquosa a circa 516 nm
Purezza	
Sostanze insolubili in acqua	Non più dello 0,2 %
Coloranti accessori	Non più dell'1 %
Composti organici diversi dai coloranti:	
Acido 4-4-amminonaftalen-1-solfonico	} totale non più dello 0,5 %
Acido 4-idrossinaftalen-1-solfonico	
Ammine primarie aromatiche non solfonate	Non più dello 0,01 % (calcolate come anilina)
Sostanze estraibili in etere	Non più dello 0,2 % in condizioni di neutralità
Arsenico	Non più di 3 mg/kg
Piombo	Non più di 2 mg/kg
Mercurio	Non più di 1 mg/kg
Cadmio	Non più di 1 mg/kg

Criticità

1. livelli di concentrazione
2. Eterogeneità
3. Campionamento
4. Matrice (reattività/preparativa)

Livelli di presenza



Limiti massimi previsti

- Alimenti (Reg. 1881/2006): generalmente $< 1\text{ppm}$ (eccezioni Cd, Pb)
- Additivi alimentari (Reg.231/2012): sempre $\geq 1\text{ppm}$

Arsenico

Non più di 3 mg/kg

Piombo

Non più di 2 mg/kg

Mercurio

Non più di 1 mg/kg

Cadmio

Non più di 1 mg/kg

▼ **B**

Parte 3: Metalli

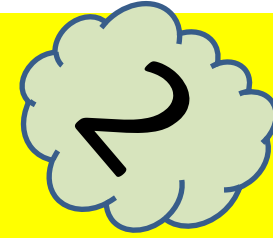
▼ **M20**

Prodotti alimentari ⁽¹⁾		Tenori massimi (mg/kg di peso fresco)
3.1	Piombo	
3.1.1	Latte crudo ⁽⁶⁾ , latte trattato termicamente e latte destinato alla fabbricazione di prodotti a base di latte	0,020
3.1.2	Alimenti per lattanti e alimenti di proseguimento	
	commercializzati in polvere ⁽²⁾ ⁽²⁹⁾	0,050
	commercializzati allo stato liquido ⁽²⁾ ⁽²⁹⁾	0,010
3.1.3	Alimenti a base di cereali e altri alimenti destinati ai lattanti e ai bambini ⁽²⁾ ⁽²⁹⁾ e diversi da quelli di cui al punto 3.1.5	0,050

AA di diffuso impiego e possibili veicoli di contaminanti

N. di riferimento	Denominazione	Categoria funzionale	Parametro/Limiti
E 330	Acido citrico	Acidificante	Arsenico: non più di 1 mg/kg Piombo: non più di 0.5 mg/kg Mercurio: non più di 1 mg/kg
E 300	Acido ascorbico	Acidificante	Arsenico: non più di 3 mg/kg Piombo: non più di 2 mg/kg Mercurio: non più di 1 mg/kg
E 420	Sorbitolo	<u>Polialcoli</u>	Nichel: non più di 2 mg/kg (su base anidra) Arsenico: non più di 3 mg/kg (su base anidra) Piombo: non più di 1 mg/kg (su base anidra)
E 100	Curcumina	Colorante	Arsenico: non più di 3 mg/kg Piombo: non più di 10 mg/kg Mercurio: non più di 1 mg/kg Cadmio: non più di 1 mg/kg
E 440	Pectina	Gelificante	Arsenico: non più di 3 mg/kg Piombo: non più di 2 mg/kg Mercurio: non più di 1 mg/kg Cadmio: non più di 1 mg/kg
E 414	Gomma d'acacia	Gelificante	Arsenico: non più di 3 mg/kg Piombo: non più di 2 mg/kg Mercurio: non più di 1 mg/kg Cadmio: non più di 1 mg/kg
E 422	Glicerolo	Stabilizzante	Arsenico: non più di 3 mg/kg Piombo: non più di 2 mg/kg Mercurio: non più di 1 mg/kg Cadmio: non più di 1 mg/kg

Aspetti tecnici :Criticità



AA sono un gruppo di sostanze (ingredienti) con differenti strutture riconducibili a sostanze chimiche e di differente derivazione.

Naturali/Sintesi

Singole strutture

Miscele semplici

Miscele complesse

Polimeri



Campionamento liquidi e polveri

Selezione dei metodi





Reg. 882/2004

Articolo 11

Metodi di campionamento e di analisi

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
in assenza, ad altri metodi utili al raggiungimento degli obiettivi o sviluppati conformemente a protocolli scientifici.
2. Allorquando il paragrafo 1 non è d'applicazione, i metodi di analisi devono essere caratterizzati, quando possibile, dai criteri opportuni elencati nell'allegato III.

Criteri selezione metodo analisi



UNI EN 13804-2013

Prodotti alimentari. Determinazione di elementi e loro specie chimiche. Considerazioni generali e loro specie chimiche

(La norma specifica i criteri di prestazione per la selezione dei metodi di analisi di elementi e delle loro specie chimiche nei prodotti alimentari e contiene requisiti di prestazione e caratteristiche, linee guida per l'avvio nel laboratorio, preparazione del campione e i rapporti di prova)



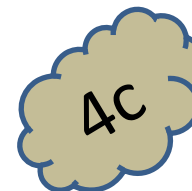
UNI EN 13805-2002

Prodotti alimentari. Determinazione di elementi in tracce. Digestione sotto pressione

(La norma specifica un metodo per la digestione di prodotti alimentari sotto pressione utilizzato per la determinazione di elementi in tracce)

Normativa metalli

Determinazione analitica



NORMA EUROPEA	Prodotti alimentari Determinazione di elementi in tracce Determinazione di arsenico, cadmio, mercurio e piombo nei prodotti alimentari per mezzo di spettrometria di massa con plasma accoppiato induttivamente (ICP-MS) dopo digestione sotto pressione	UNI EN 15763
	Foodstuffs Determination of trace elements Determination of arsenic, cadmium, mercury and lead in foodstuffs by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) after pressure digestion	GENNAIO 2010
NORMA ITALIANA	Prodotti alimentari Determinazione di elementi in tracce Determinazione di piombo, cadmio, zinco, rame e ferro mediante spettrometria ad assorbimento atomico dopo digestione con microonde	UNI EN 14084
	Foodstuffs Determination of trace elements Determination of lead, cadmium, zinc, copper and iron by atomic absorption spectrometry (AAS) after microwave digestion	LUGLIO 2003
NORMA ITALIANA	Prodotti alimentari Determinazione di elementi in tracce Determinazione di piombo, cadmio, zinco, rame, ferro e cromo mediante spettrometria ad assorbimento atomico dopo incenerimento a secco	UNI EN 14082
	Foodstuffs Determination of trace elements Determination of lead, cadmium, zinc, copper, iron and chromium by atomic absorption spectrometry (AAS) after dry ashing	LUGLIO 2003

Normativa metalli

Determinazione analitica

NORMA ITALIANA	Prodotti alimentari Determinazione di elementi in tracce Determinazione di piombo, cadmio, cromo e molibdeno mediante spettrometria ad assorbimento atomico con forno di grafite dopo digestione sotto pressione	UNI EN 14083
		LUGLIO 2003
	Foodstuffs Determination of trace elements Determination of lead, cadmium, chromium and molybdenum by graphite furnace atomic absorption spectrometry (GFAAS) after pressure digestion	
NORMA ITALIANA	Prodotti alimentari Determinazione di elementi in tracce Determinazione di mercurio mediante spettrometria ad assorbimento atomico con vapore-a freddo dopo digestione sotto pressione	UNI EN 13806
		GENNAIO 2003
	Foodstuffs Determination of trace elements Determination of mercury by cold-vapour atomic absorption spectrometry (CVAAS) after pressure digestion	

Aspetti tecnici :Criticità

Metodo alimenti

- Matrice
- Concentrazione
- Umidità

Metodo additivi

Preparazione del campione ed analisi



Linee guida per la determinazione di mercurio, cadmio, piombo , arsenico in campioni di additivi alimentari.

1.0

- Set preliminare di sostanze selezionate in funzione del loro diffuso impiego nell'industria alimentare, del loro potenziale profilo sanitario come possibile veicolo di contaminanti nella filiera alimentare e delle loro caratteristiche strutturali che li rendono rappresentativi di gruppi di categorie di additivi alimentari.

- acido citrico (E330) , pectina (E440) e sorbitolo (E420)

- mercurio (HG-AAS)

- arsenico, cadmio piombo (ICP-MS).

SORBITOLO	LIMITI
As	Non più di 3 mgkg⁻¹ (su base anidra)
Pb	Non più di 1 mgkg⁻¹ (su base anidra)
ACIDO CITRICO	LIMITI
As	Non più di 1 mgkg⁻¹
Pb	Non più di 0,5 mgkg⁻¹
Hg	Non più di 1 mgkg⁻¹
PECTINA	LIMITI
As	Non più di 3 mgkg⁻¹
Pb	Non più di 5 mgkg⁻¹
Cd	Non più di 1 mgkg⁻¹

Linee guida per la determinazione di mercurio, cadmio, piombo , arsenico e nichel in campioni di additivi alimentari.

5. CAMPO DI MISURA

I campi di misura, per ciascun elemento, sono compresi tra il LOQ, determinato per ciascun elemento e 5 mg/kg. Livelli superiori a 5 mg/kg possono essere ricondotti entro l'intervallo per diluizione.

6. MODALITÀ OPERATIVE PER LA PREPARAZIONE DEI CAMPIONI (CAMPIONAMENTO E DIGESTIONE)

L'aliquotazione e preparazione del campione rappresentano sovente una delle principali difficoltà dell'intero iter analitico. Per una corretta procedura di campionamento è necessario che tutte le operazioni siano condotte in modo tale da garantire che l'aliquota prelevata sia rappresentativa del lotto (o dei lotti), in particolare le aliquote devono essere prelevate casualmente in modo tale da riflettere le proprietà dell'intero campione. Gli additivi alimentari sono infatti un gruppo di sostanze dalle caratteristiche reologiche e chimico-fisiche estremamente eterogenee e non assimilabili a quelle degli alimenti comuni.

6.1 Condizioni Ambientali

Gli ambienti di lavoro dell'area di preparazione dei campioni debbono essere idonei a garanzia dell'assenza di contaminazione accidentale. L'accesso a tali ambienti deve essere consentito solo a personale qualificato e correttamente equipaggiato (camice, guanti, cuffia e occhiali di protezione).

6.2 Materiali Utilizzati

L'utilizzo di materiali idonei per la preparazione (per esempio materiali a rilascio contenuto di metalli, il lavaggio e decontaminazione dei materiali contenutivi), contribuiscono a ridurre la contaminazione dei campioni.

- Reagenti Ultrapuri

6.3 Descrizione Del Procedimento

6.3.1 Attività preliminari.

Preliminarmente all'esecuzione delle attività di preparazione del campione eseguire le seguenti istruzioni:

- ⇒ Verificare l'integrità della confezione
- ⇒ Annotare qualsiasi caratteristica critica della confezione del campione.
Trasferire il campione in contenitore di materiale inerte.
- ⇒ Collocare il campione in ambiente isolato da eventuali contaminazioni (cappa aspirante)

6.3.2 Procedure di campionamento

Formazione del campione rappresentativo.

- ⇒ Mescolare il campione.
- ⇒ Distribuire il campione su di un ripiano/contenitore formando uno strato sottile.
- ⇒ Mescolare con l'ausilio di materiale inerte (spatola/cucchiaino).
- ⇒ Prelevare il campione in diversi punti lungo tutto il ripiano con regolarità (per esempio con il metodo della triangolazione).
- ⇒ Mescolare le porzioni prelevate.
- ⇒ Conservare l'aliquota utilizzando materiali idonei e in opportune condizioni di temperatura, umidità e illuminazione.
- ⇒ Identificare e registrare l'aliquota.

Preparazione campione

Additivo	mg campione	ml HNO ₃ up 65%	ml H ₂ O ₂ up 30%	ml Acqua	ml finali
E330 Acido citrico	200-500	6-8	1-3	1-2	~ 20
E420 sorbitolo	200-500	3-5	0,5-2	1-3	~ 20
E440 pectina	200-500	3-5	0,5-2	1-3	~ 20

Step	tempo (min.)	Temperatura (°C)	Potenza (Watt)
1	3'	85	400
2	5'	85	600
3	3'	85	1000
4	2'30"	145	1000
5	5'	145	1000
6	2'30"	200	1000
7	24'	200	1000

7. DETERMINAZIONE DI ARSENICO CADMIO E PIOMBO MEDIANTE Q-ICP-MS

Il metodo per la determinazione di arsenico, cadmio e piombo mediante Q-ICP-MS è riportato in appendice A.

8. DETERMINAZIONE DEL MERCURIO MEDIANTE CV-AAS

Il metodo per la determinazione del mercurio mediante CV AAS è riportato in appendice B.

9. VALIDAZIONE DEL METODO

I parametri di validazione del metodo in conformità al regolamento 882/2004 e alla norma UNI CEI EN ISO/IEC 17025 sono riportati negli allegati 1 e 2 .

10. STIMA DELL'INCERTEZZA DI MISURA

I valori di incertezza di misura estesa sono calcolati come 2 volte il valore di CV calcolato con equazione di Horwitz sul livello di concentrazione determinato. Nell'ambito della validazione dei metodi è stato verificato sperimentalmente che il valore di incertezza di misura -U(x)- stimato con approccio metrologico, risulta essere compatibile con il valore di incertezza massima ammissibile (Uf), parametro descritto dal Reg.CE 333/2007 ed utilizzato come riferimento, ed inferiore al valore ottenuto attraverso l'equazione di Horwitz.

Linee guida per la determinazione di mercurio, cadmio, piombo, arsenico e nichel in campioni di additivi alimentari.

Appendice A: DETERMINAZIONE DI ARSENICO CADMIO E PIOMBO MEDIANTE Q-ICP-MS

Per l'esecuzione della prova fare riferimento a quanto riportato nelle Norme UNI EN 15763, UNI EN 13804 e UNI EN 13805. Sono di seguito riportati alcuni dettagli supplementari impiegati nelle fasi di sviluppo e validazione del metodo.

1 Apparecchiature Utilizzate

- Apparato per la produzione di acqua ultrapura
- Pipettatrici automatiche a volume variabile e fisso (100/200/500/1000/5000 µl) conformi ai requisiti della norma UNI EN ISO 8655
- Bilancia analitica con risoluzione 0,0001 mg
- Spettrometro di massa quadrupolare a plasma accoppiato induttivamente corredato di auto campionatore.
- Requisiti indicativi di prestazione tipici:
 - High Sensitivity: > 30 M cps/ppm In
 - Low Background: < 10 cps
 - High Abundance Sensitivity > 1.0e6
 - Wide dynamic Range: 8 orders of magnitude
 - Long Term Stability: < ± 7,5% drift over four hours; < 4% RSD over four hours.

2 Materiali (Soluzioni Di Lavoro, Soluzioni Standard Certificate E Materiali Consumabili).

Materiali Consumabili:

1. Materiale di laboratorio in plastica
2. Tubi tipo Falcon da 15 e 50 ml
3. Bisturi chirurgici usa e getta

Linee guida per la determinazione di mercurio, cadmio, piombo , arsenico e nichel in campioni di additivi alimentari.

1. Acqua deionizzata, resistività maggiore di 18 M Ω cm
2. Soluzione per il daily strumentale
3. Reagenti
4. Acqua milliQ
5. HNO₃ suprapura e ultrapure

Materiali Di Riferimento Certificati

- Soluzione standard arsenico (1000 $\pm$ 5 o analoga) mg/l per ICP-MS
- Soluzione standard cadmio (1000 $\pm$ 5 o analoga) mg/l per ICP-MS
- Soluzione standard piombo (1000 $\pm$ 5 o analoga) mg/l per ICP-MS
- Soluzione standard rodio (1000 $\pm$ 5 o analoga) mg/l per ICP-MS

3 Principio Del Metodo E Modalità Esecutive

La soluzione ottenuta dalla digestione acida viene nebulizzata e l'aerosol è trasferito al plasma. L'elevata temperatura del plasma essicca l'aerosol, atomizza e ionizza gli elementi. Gli ioni sono estratti dal plasma da un set di coni (skimmer e sampler) e trasferiti ad uno spettrometro di massa dove gli ioni sono separati in funzione del rapporto massa carica determinati da un detector.

Il campione mineralizzato viene diluito e addizionato con lo standard interno (rodio). Le concentrazioni presentate allo strumento di As, Cd e Pb vengono determinate su retta di taratura esterna in soluzione acida (metodo sviluppato e validato: 0, 1, 5, 10 μ g/l per ciascun elemento; standard interno Rh 2 μ g/l).

⇒ Preparazione delle soluzioni della retta di taratura esterna.

NB: queste soluzioni di lavoro devono essere preparate giornalmente.



Punto	μl sol. B	μl sol. D	ml HNO_3	ml H_2O	concentrazione HNO_3 finale	$\mu\text{g/l}$ presentati	As, Cd, Pb, Rh	Rh
1	0	200	0,5	9,30	~3%		0	2
2	100	200	0,5	9,20	~3%		1	2
3	500	200	0,5	8,80	~3%		5	2
4	750	200	0,5	8,55	~3%		7,5	2
5	1000	200	0,5	8,30	~3%		10	2

⇒ Preparazione del campione.

I campioni mineralizzati sono stati diluiti in modo tale da riportare le concentrazioni analitiche presentate nel range definito della retta di taratura e presentare allo strumento una concentrazione di standard interno e un'acidità congruente a quella dei punti della retta.

⇒ Determinazione strumentale

- Per l'accensione e Verifica Funzionamento Q-ICP-MS fare riferimento al manuale del costruttore.

La tabella successiva riporta le condizioni strumentali impiegate in fase di sviluppo e validazione del metodo.

La tabella successiva riporta le condizioni strumentali impiegate in fase di sviluppo e validazione del metodo.

Rf power	1050 W
Readings/ Replicate	5/5
Nebuliser gas flow	0,97 l min ⁻¹
Number of Replicates	5
Lens voltage	7,3 V
Measurement mode	Peak hopping

Pag. 12 di 23

E' vietata la riproduzione anche parziale del presente documento

Linee guida per la determinazione di mercurio, cadmio, piombo , arsenico e nichel in campioni di additivi alimentari.

Detector	Dual mode
Sample flow rate	1ml min ⁻¹
Sweeps/ readings	10
Dwell time of isotopes	100 ms

Appendice B: DETERMINAZIONE DEL MERCURIO MEDIANTE HG-AAS

Per l'esecuzione della prova fare riferimento a quanto riportato nelle Norme UNI EN 13806, UNI EN 13804 e UNI EN 13805. Sono di seguito riportati alcuni dettagli supplementari impiegati nelle fasi di sviluppo e validazione del metodo.

1 Apparecchiature Utilizzate

Per l'esecuzione della prova vengono utilizzate le seguenti apparecchiature:

Per lo sviluppo e validazione del metodo sono state utilizzate le seguenti apparecchiature:

- Apparato per la produzione di acqua ultrapura
- Pipettatrici automatiche a volume variabile e fisso (100/200/500/1000/5000 µl) conformi ai requisiti della norma UNI EN ISO 8655
- Bilancia analitica con risoluzione 0,0001 mg
- Spettrometro di assorbimento atomico (FIMS) FIAS 400 Perkin Elmer con i seguenti requisiti di prestazione: lunghezza d'onda 253,7 nm e massa caratteristica pari a 138 pg/0.0044 A.

2 Materiali (Soluzioni Di Lavoro, Soluzioni Standard Certificate E Materiali Consumabili).

La concentrazione di elementi in traccia nei reagenti deve essere tale da non condizionare i risultati analitici.

Materiali Consumabili:

1. Vedi metodo ICP-MS.

Linee guida per la determinazione di mercurio, cadmio, piombo, arsenico e nichel in campioni di additivi alimentari.

Appendice B: DETERMINAZIONE DEL MERCURIO MEDIANTE HG-AAS

Per l'esecuzione della prova fare riferimento a quanto riportato nelle Norme UNI EN 13806, UNI EN 13804 e UNI EN 13805. Sono di seguito riportati alcuni dettagli supplementari impiegati nelle fasi di sviluppo e validazione del metodo.

1 Apparecchiature Utilizzate

Per l'esecuzione della prova vengono utilizzate le seguenti apparecchiature:

Per lo sviluppo e validazione del metodo sono state utilizzate le seguenti apparecchiature:

- Apparato per la produzione di acqua ultrapura
- Pipettatrici automatiche a volume variabile e fisso (100/200/500/1000/5000 µl) conformi ai requisiti della norma UNI EN ISO 8655
- Bilancia analitica con risoluzione 0,0001 mg
- Spettrometro di assorbimento atomico (FIMS) FIAS 400 Perkin Elmer con i seguenti requisiti di prestazione: lunghezza d'onda 253,7 nm e massa caratteristica pari a 138 pg/0.0044 A.

2 Materiali (Soluzioni Di Lavoro, Soluzioni Standard Certificate E Materiali Consumabili).

La concentrazione di elementi in traccia nei reagenti deve essere tale da non condizionare i risultati analitici.

Materiali Consumabili:

1. Vedi metodo ICP-MS.

Reagenti

1. Acqua deionizzata, resistività maggiore di 18 MΩ cm
2. HNO₃ suprapure e ultrapure
3. Permanganato di potassio p.a.
4. Sodio boro idruro p.a.
5. Dicromato di potassio p.a.
6. Acido cloridrico p.a.
7. Idrossido di sodio p.a.

Materiali Di Riferimento Certificati

Linee guida per la determinazione di mercurio, cadmio, piombo, arsenico e nichel in campioni di additivi alimentari.

3 Principio Del Metodo E Modalità Esecutive

La soluzione ottenuta dalla digestione acida viene trasferita in un reattore dove il mercurio eventualmente presente è ridotto da agente riducente e trasportato nella cuvetta dello strumento utilizzando un gas di trasporto. L'assorbanza alla lunghezza d'onda 253,7nm (linea del mercurio) è impiegata per la determinazione del mercurio presente nella cuvetta.

Il campione mineralizzato viene diluito. Le concentrazioni presentate allo strumento di Hg vengono determinate su retta di taratura esterna in soluzione acida (metodo sviluppato e validato: 0, 1, 5, 10 $\mu\text{g/l}$).

Preparazione delle soluzioni della retta di taratura esterna.

Per la calibrazione dello strumento è necessario utilizzare un set di soluzioni costituito da almeno tre differenti concentrazioni. Il range di concentrazione deve essere sezionato in funzione delle concentrazioni analitiche attese e del range di linearità del metodo.

diversa concentrazione.

NB: queste soluzioni di lavoro devono essere preparate giornalmente.

Punto	μl sol.	ml HNO_3	ml H_2O	concentrazione HNO_3 finale	$\mu\text{g/l}$ presentati	Hg
1	0	0,5	9,30	~3%		0
2	100	0,5	9,20	~3%		1
3	500	0,5	8,80	~3%		5
4	750	0,5	8,55	~3%		7,5
5	1000	0,5	8,30	~3%		10

⇒ Preparazione del campione.

I campioni mineralizzati sono stati diluiti in modo tale da riportare le concentrazioni analitiche presentate nel range definito della retta di taratura e presentare allo strumento un'acidità congruente a quella dei punti della retta.

⇒ Determinazione strumentale

La tabella successiva riporta le condizioni strumentali impiegate in fase di sviluppo e validazione del metodo.

⇒

λ	253,7 nm
Replicate	3
Sample flow	1 ml min ⁻¹

- Per l'accensione e Verifica Funzionamento dello strumento fare riferimento al manuale del costruttore.

VALIDAZIONE 882/04

- 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;

**Appendice D: PARAMETRI DI VALIDAZIONE: METODO ARSENICO, CADMIO E PIOMBO
IN ADDITIVI ALIMENTARI MEDIANTE ICP-MS**

Arsenico

Parametro	Matrice	Livello	Riscontrato
Campo di applicazione		n.a.	LOQ-5 mgkg ⁻¹
LOD (µg l ⁻¹)	Acquosa	n.a.	0,36
LOQ (µg l ⁻¹)	Acquosa	n.a.	0,72
Linearità (R ²)	Acquosa	Retta 0-10 µg l ⁻¹	As 75 0,99996
Sensibilità			As 75 0,247
Precisione (%Hor.Rat)	Acido citrico	Livello I (0,2 mg/kg)	9% (Hor.Rat=0,5)
		Livello II (1,0 mg/kg)	11% (Hor.Rat=0,7)
		Livello III (1,2 mg/kg)	7% (Hor.Rat=0,4)
	Sorbitolo	Livello I (0,2 mg/kg)	2% (Hor.Rat=0,1)
		Livello II (3,0 mg/kg)	2% (Hor.Rat=0,2)
		Livello III (3,6 mg/kg)	8% (Hor.Rat=0,6)
	Pectina	Livello I (0,2 mg/kg)	5% (Hor.Rat=0,3)
		Livello II (3,0 mg/kg)	4% (Hor.Rat=0,3)
		Livello III (3,6 mg/kg)	1% (Hor.Rat=0,1)
Selettività	Acido citrico, sorbitolo, pectina	Corrette interferenze isobariche	
Recupero (%)	Acido citrico	Livello I (0,2 mg/kg)	99%
		Livello II (1,0 mg/kg)	100%
		Livello III (1,2 mg/kg)	112%

Recupero (%)	Sorbitolo	Livello I (0,2 mg/kg)	105%
		Livello II (3,0 mg/kg)	86%
		Livello III (3,6 mg/kg)	110%
Recupero (%)	Pectina	Livello I (0,2 mg/kg)	103%
		Livello II (3,0 mg/kg)	100%
		Livello III (3,6 mg/kg)	105%
Incertezza di misura (%)	Acido citrico	Limite Reg. 231/2012 TM 1 mgkg ⁻¹	32% (2 RSD% Horwitz)
	Sorbitolo	Limite Reg. 231/2012 TM 3 mgkg ⁻¹	27% (2 RSD% Horwitz)
	Pectina		

Cadmio

Parametro	Matrice	Livello	Riscontrato
Campo di applicazione		n.a.	LOQ-5 mgkg ⁻¹
LOD (µg l ⁻¹)	Acquosa	n.a.	0,13
LOQ (µg l ⁻¹)	Acquosa	n.a.	0,26
Linearità (R ²)	Acquosa	Retta 0-10 µg l ⁻¹	Cd 112 0,99998 Cd 114 0,99999
Sensibilità			Cd 112 0,106 Cd 114 0,128
Precisione (%Hor.Rat)	Pectina	Livello I (0,2 mg/kg) Livello II (1,0 mg/kg) Livello III (1,2 mg/kg)	1% (Hor.Rat =0,1) 4% (Hor.Rat =0,3) 2% (Hor.Rat =0,1)
Selettività	Pectina	Corrette interferenze isobariche	
Recupero (%)	Pectina	Livello I (0,2 mg/kg)	102%
		Livello II (1,0 mg/kg)	100%
		Livello III (1,2 mg/kg)	93%
Incertezza di misura (%)	Pectina	Limite Reg. 231/2012 TM 1 mgkg ⁻¹	32% (2 RSD% Horwitz)

Piombo

Parametro	Matrice	Livello	Riscontrato
Campo di applicazione		n.s.	LOQ-5 mgkg ⁻¹
LOD (µg l ⁻¹)	Acquosa	n.s.	0,86
LOQ (µg l ⁻¹)	Acquosa	n.s.	1,72
Linearità (R ²)	Acquosa	Retta 0-10 µg l ⁻¹	Ph.207 0,9999 Ph.208 1,0000
Sensibilità			Ph.207 0,155 Ph.208 0,359
Precisione (%Hor.Rat)	Acido citrico	Livello I (0,2 mg/kg)	5% (Hor.Rat =0,1)
		Livello II (1,0 mg/kg)	10% (Hor.Rat =0,6)
		Livello III (1,2 mg/kg)	2% (Hor.Rat =0,1)
	Sorbitolo	Livello I (0,5 mg/kg)	3% (Hor.Rat =0,2)
		Livello II (1,0 mg/kg)	2% (Hor.Rat =0,1)
		Livello III (5,0 mg/kg)	6% (Hor.Rat =0,4)
	Pectina	Livello I (0,6 mg/kg)	8% (Hor.Rat =0,4)
		Livello II (1,2 mg/kg)	7% (Hor.Rat =0,6)
		Livello III (6,0 mg/kg)	1% (Hor.Rat =0,1)
Selettività	Acido citrico, sorbitolo, pectina	Corrette interferenze isobariche	
Recupero (%)	Acido citrico	Livello I (0,2 mg/kg)	94%
		Livello II (1,0 mg/kg)	90%
		Livello III (1,2 mg/kg)	113%

Incertezza di misura (%)	Sorbitolo	Livello I (0,5 mg/kg)	109%
		Livello II (1,0 mg/kg)	101%
		Livello III (5,0 mg/kg)	110%
	Pectina	Livello I (0,6 mg/kg)	99%
		Livello II (1,2 mg/kg)	100%
		Livello III (6,0 mg/kg)	96%
	Acido citrico	Limite Reg. 231/2012 TM 0,5 mgkg ⁻¹	36% (2 RSD% Horvitz)
	Sorbitolo	Limite Reg. 231/2012 TM 1 mgkg ⁻¹	32% (2 RSD% Horvitz)
	Pectina	Limite Reg. 231/2012 TM 5 mgkg ⁻¹	25% (2 RSD% Horvitz)

Appendice C: PARAMETRI DI VALIDAZIONE: METODO MERCURIO IN ADDITIVI ALIMENTARI MEDIANTE SPETTROFOTOMETRIA DI ASSORBIMENTO ATOMICO

Mercurio

Parametro	Matrice	Livello	Riscontrato
Campo di applicazione		n.a.	LOQ-5 mgkg ⁻¹
LOD (µg l ⁻¹)	Acquosa	n.a.	0,08
LOQ (µg l ⁻¹)	Acquosa	n.a.	0,20
Linearità (R ²)	Acquosa	Retta 0-10 µg l ⁻¹	Hg 0,99952
Sensibilità			Hg 0,017
Precisione (%Hor.Rat)	Acido citrico	Livello I (0,2 mg/kg)	7% (Hor.Rat=0,4)
		Livello II (1,0 mg/kg)	6% (Hor.Rat=0,4)
		Livello III (1,2 mg/kg)	5% (Hor.Rat=0,3)
	Pectina	Livello I (0,2 mg/kg)	6% (Hor.Rat=0,3)
		Livello II (1,0 mg/kg)	10% (Hor.Rat=0,6)
		Livello III (1,2 mg/kg)	3% (Hor.Rat=0,2)
Recupero (%)	Acido citrico	Livello I (0,2 mg/kg)	91%
		Livello II (1,0 mg/kg)	102%
		Livello III (1,2 mg/kg)	102%
Recupero (%)	Pectina	Livello I (0,2 mg/kg)	110%
		Livello II (1,0 mg/kg)	105%
		Livello III (1,2 mg/kg)	107%
Incertezza di misura (%)	Acido citrico	Limite Reg. 231/2012 TM 1 mgkg ⁻¹	32% (2 RSD% Horwitz)
	Pectina		

Reg. CE 882/2004

LNR per i metalli pesanti negli alimenti e
nei mangimi e per gli additivi nei mangimi

- 1) Organizzare circuiti interlaboratorio
- 2) Emettere linee guida per ciò che
concerne gli aspetti metodologici

