

Správná laboratorní praxe

Souhrn činností, návyků a opatření, pomocí kterých laboratoř poskytuje spolehlivé, důvěryhodné a včasné výsledky zkoušení s důrazem na předcházení výskytu chyb nebo nejasností. Během všech procesů laboratoř přísně zachovává důvěrné informace, nezávislost a nestrannost.

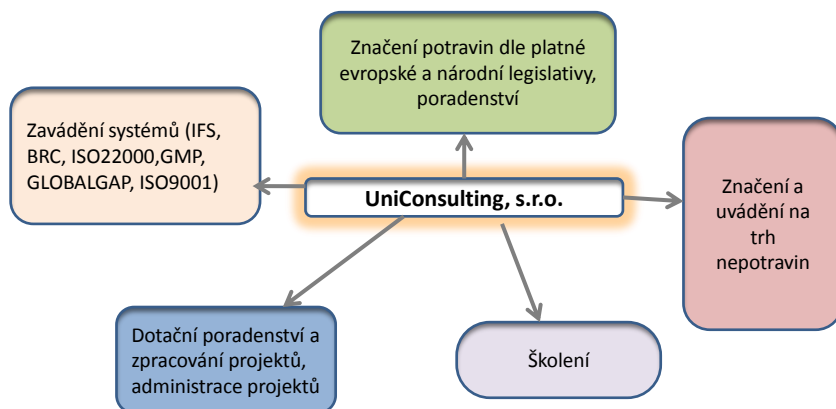
Pro účely a potřeby potravinářských laboratoří nezaměnit s:

- Správná laboratorní praxe (GLP) v rámci SÚKL (zkoušení humánních léčiv)
- Vyhl. MŽP č. 219/2004 Sb. v platném znění – Zásady správné laboratorní praxe (zkoušení chemických přípravků...)

Profil UniConsulting

- Společnost na trhu od roku 1998, tvořena z odborníků se zkušenostmi a praxí v jednotlivých oblastech
- Nezávislá společnost nabízející pomoc při zavádění systémů (GMP, GTP, HACCP, IFS/BRC, ISO22000, GLOBALGAP, atd.) a při uplatňování nově vznikající legislativy v oblasti zemědělství, potravin, nepotravin a stravování do praxe
- **Pomoc při získávání dotací z EU**
- Činnost je flexibilně rozvíjena podle požadavků klientů
- Velký důraz na vzdělávání a doškolování svých specialistů

Oblasti poradenství



www.uniconsulting.cz


UniConsulting

I. část: Plnění obecných a konkrétních normativních požadavků

Výše zmíněné činnosti, návyky a opatření nejlépe postihuje :

ČSN EN ISO/IEC 17025

Posuzování shody – Všeobecné požadavky na způsobilost zkušebních a kalibračních laboratoří

- „kap. 1.2 Tato mezinárodní norma je použitelná ve všech organizacích, které provádějí zkoušky a/nebo kalibrace. Tato mezinárodní norma je použitelná ve všech laboratořích bez ohledu na počet osob, které v nich pracují, nebo na rozsah zkušebních nebo kalibračních činností.....“
- Ve smyslu této normy posuzuje způsobilost laboratoří Český institut pro akreditaci o.p.s.
- S touto normou pak dále souvisejí „konkrétnější“ normativy a publikace (nejistoty, regulační diagramy, mezilaboratorní porovnání...) – viz další části (např. EA-4/10, Akreditace mikrobiologických laboratoří, EA-04/09 Akreditace laboratoří působících v oblasti senzorického zkoušení atd.)


UniConsulting
Naše informace jsou vaše
konkurenční výhoda

Organizace (kap. 4.1 normy ČSN EN ISO/IEC 17025)

- Právně odpovědný subjekt (přímo nebo součástí organizace) → výpis z OR, ŽL apod.
- Vnější vlivy: pokud je laboratoř součástí větší organizace → opatření zamezující střetu zájmů (např. laboratoř vs. výrobní útvary nebo finanční útvar, ředitel apod.)
→ minimálně čestná prohlášení o neovlivňování
- Vnitřní vlivy: nestrannost osob pracujících v laboratoři → čestná prohlášení o nezávislosti, nestrannosti, nepatřičné komerční a finanční tlaky
- Organizační a řídicí struktura, přidělení a jmenování do funkcí, alespoň v Pracovních náplních
- Existence vrcholového vedení laboratoře (vedoucí laboratoře, manažer kvality laboratoře, technický manažer, metrolog, zástupci...), kumulace funkcí je možná při malém počtu osob

Systém managementu (kap. 4.2 normy ČSN EN ISO/IEC 17025)

→ Systém managementu Laboratoře vychází plně z politiky kvality Laboratoře a souhrnných cílů Laboratoře, slouží k jejich průběžnému naplňování, popsáno v Příručce kvality

→ Prvky:

- z hlediska organizačního - soustavné zajišťování nestrannosti, nezávislosti a věrohodnosti, soustavné zajišťování ochrany důvěrných informací, způsob příjmu, evidence, uložení a přípravy vzorků ke zkoušce, politika a cíle kvality, provádění interních auditů, přezkoumání systému managementu, přezkoumání nabídek, poptávek a smluv, řízení neshodné práce, opatření k nápravě a preventivní opatření, zadávání subdodavatelských zkoušek
- z hlediska technického - odpovídající stav všech prostor, prostředí a zařízení Laboratoře, udržování všech zařízení v dobrém technickém stavu, nákup přiměřeného a vhodného zařízení, služeb a spotřebního materiálu, dodržování předepsaných zkušebních metod a používání vhodných referenčních materiálů, dodržování všech činností spojených s metrologií, kalibrace a ověřování měřidel, vedení dokumentace a dostupnost návodů pro zařízení, používání statistických metod pro zpracování výsledků měření, účast v programech mezilaboratorního zkoušení způsobilosti

- z hlediska personálního - způsob výběru a přijímání nových pracovníků v návaznosti na dodržování kvalifikačních předpokladů, udržování a zvyšování kvalifikace pracovníků, znalost a dodržování pracovních povinností, zastupitelnost a způsobilost pro provádění zkoušek
- z hlediska administrativního - způsob vedení záznamů, zejména pak záznamů o zkouškách, jejich vyhodnocování a archivace, přenos a kontrola veškerých údajů, obsah, úprava a zpracování Protokolů o měření (zkouškách), evidence měřicích a zkušebních zařízení a referenčních materiálů, aktualizace Příručky kvality, řízení dokumentů, vyřizování stížností a námitek vznesených vůči činnosti Laboratoře

* všechny prvky – viz další text

→ Dokumentace systému managementu:

- Základním dokumentem je Příručka kvality (lze i jiný název)
- Interní dokumenty: Související dokumentace (texty metod, postupy, pokyny, evidence...)
- Externí dokumenty: Normy, vyhlášky, manuály...
- Záznamy ze zkoušení, auditů a pod...

Řízení dokumentů (kap. 4.3 normy ČSN EN ISO/IEC 17025)

→ Existence postupů pro řízení dokumentace (postupy zkoušek, evidence, záznamy ze zkoušek, nařízení, směrnice...)

→ Formální stránka (název dokumentu, počet stran, datum vydání, kdo vydal, kdo schválil a přezkoumal, počet výtisků, rozdělovník...) – příklad viz další strana

→ Přezkoumání dokumentů, revize dokumentů (revizní cykly), záznamy

→ Evidence a rozdělovník všech dokumentů

→ Prokazatelné seznámení zainteresovaných osob s dokumenty

→ Archivace neplatných dokumentů

Název laboratoře

SD č. 3 – Provozní řád laboratoře
Platnost od 1.1.2009

Strana 1 z 17
Výtisk č. 1

Provozní řád laboratoře

Vypracoval a za aktualizaci odpovídá: Jan Novák, podpis

Schválil a přezkoumal : ing. Pavel Horák, podpis

Edice č. : 2, nahrazuje výtisk č. 1 z 10.1.2007

Počet výtisků: jeden

Rozdělovník : 1. Laboratoř mikrobiologie

Přezkoumání poptávek, nabídek a smluv (kap. 4.4 normy ČSN EN ISO/IEC 17025)

- Politika a postupy pro přezkoumání poptávek, nabídek a smluv
- Pověřené kvalifikované osoby
- Posouzení zda laboratoř je schopna uspokojit požadavky zadavatele zkoušek
- Disponuje laboratoř vhodnými metodami zkoušení ? (např. požadovaná LOQ)
- Disponuje laboratoř dostatečnými lidskými a materiálními zdroji ?
- Prokazatelný záznam z přezkoumání (u periodických požadavků stačí na počátku)

Subdodávky zkoušek (kap. 4.5 normy ČSN EN ISO/IEC 17025)

- Ve výjimečných případech může Laboratoř zajistit zkoušky, které sama nemůže provést, subdodavatelsky
- Kritéria pro výběr subdodavatele (cena, rychlost, atesty, výsledky externího auditu)
- Zadavatele zkoušek je nutno o této skutečnosti informovat a získat jeho souhlas
- Evidence subdodavatelů a jejich pravidelné hodnocení, záznamy
- Laboratoř přebírá odpovědnost za výsledky subdodávek, musí označit na protokolu

Nakupování služeb a dodávek (kap. 4.6 normy ČSN EN ISO/IEC 17025)

- Politikou v oblasti nákupu služeb a dodávek je účelné využívání prostředků firmy pro zajišťování kvality analytických výsledků na dostatečné úrovni tak, aby bylo dosaženo důvěry zákazníků v jejich věrohodnost a objektivnost
- Veškeré nákupy jsou prováděny s ohledem na skutečné potřeby Laboratoře tak, aby bylo dosaženo rovnováhy mezi kvalitou, dodacími lhůtami a cenou
- Hodnocení jednotlivých dodávek – šarží (slepé pokusy, kontrolní vzorky...)
- Evidence a hodnocení jednotlivých schválených dodavatelů (viz další list)

Hodnocení dodavatelů – podmínkou zařazení do seznamu schválených je celkové hodnocení max.

Název firmy (jako školní stupnice 1–5)	Kvalita	Cena	Rychlost	Dokumentace, certifikáty, návodů	Komunikace	Šíře nabídky	Celkové hodnocení
	Váha 0,3	Váha 0,3	Váha 0,15	Váha 0,15	Váha 0,05	Váha 0,05	
XYZ	2	1	1	2	1	1	1,45
ABCD	1	3	1	2	1	1	1,75
Laboratorní zařízení a.s.	1	4	3	1	1	1	2,20
Chemikálie s.r.o.	2	2	3	2	3	2	2,20
Kancelářské potřeby s.r.o.	1	2	2	1	2	2	1,55

Služba zákazníkovi (kap. 4.7 normy ČSN EN ISO/IEC 17025)

- Interpretace výsledků zkoušek
- Komunikace (průběh zakázky, event. zpoždění, odchylky apod.)
- Zpětná vazba (dotazník spokojenosti)

Stížnosti (kap. 4.8 normy ČSN EN ISO/IEC 17025)

- Záznamy o všech stížnostech (např. Kniha stížností)
- Prošetření stížností a odpověď v zákonné lhůtě (30 dnů), stanovení odpovědností
- Nápravná opatření, náměty pro mimořádné interní audity

Řízení neshodných prací při zkoušení (kap. 4.9 normy ČSN EN ISO/IEC 17025)

→ Neshodná práce: jakékoliv hledisko zkušebních prací nebo výsledky těchto prací neodpovídají vlastním postupům a stanoveným pravidlům

→ Příklady : odchylky od pracovního postupu (nedodržení teplot nebo časů stanovených pracovním postupem metody zkoušení, prošlé kalibrace zařízení, prošlé referenční materiály, nevyhovující výsledky mezilaboratorních porovnání zkoušek, stížnosti zákazníků...)

→ Odpovědnosti a pravomoci:

- Kdo pozastaví práce a protokoly, kdo opětovně povolí jejich zahájení
- Kdo případně informuje zákazníka
- Kdo posuzuje závažnost neshodné práce a rozhoduje o dalším postupu a nápravných opatřeních
- Kdo kontroluje nápravná opatření

Zlepšování (kap. 4.10 normy ČSN EN ISO/IEC 17025)

→ Neustálý kvalitativní posun systému managementu

→ Využívání vstupů : audity, přezkoumání systému managementu, zpětná vazba od zákazníků...

→ Nástroje : mezilaboratorní porovnání zkoušek, interní kontrolní vzorky, maticové referenční materiály...

Opatření k nápravě (kap. 4.11 normy ČSN EN ISO/IEC 17025)

→ Realizují se na základě zjištění neshodné práce, která by se mohla opět vyskytnout nebo v případě pochybností o shodě činnosti Laboratoře s její vlastní politikou a postupy nebo v případě zjištění, že některé činnosti nejsou prováděny efektivně

→ Analýza příčin v případě identifikace neshodné práce

→ Výběr a uplatnění opatření k nápravě

→ Monitorování opatření k nápravě

→ Event. dodatečné audity

Preventivní opatření (kap. 4.12 normy ČSN EN ISO/IEC 17025)

→ Identifikace potřebných zlepšení a možných zdrojů neshod pro předcházení neshodné práce

→ Preventivní opatření jsou zaměřena zejména k průběžnému zlepšování činnosti Laboratoře a zahrnují např. postupy pro zacházení se vzorky, confirmaci výsledků zkoušek, vystavování Protokolů, nakládání s chemikáliemi a materiály, používání metod zkoušení apod. Návrhy na preventivní opatření může předkládat vedoucímu Laboratoře kterýkoliv z pracovníků Laboratoře

→ U každého preventivního opatření je určen pracovník nebo pracovníci odpovědní za uplatňování opatření a způsob a termíny jeho zavádění

→ V případech, kdy preventivní opatření skutečně vedou ke zlepšení práce Laboratoře nebo odhalí potenciální zdroje neshod jsou taková opatření zapracována do systému managementu

Řízení záznamů (kap. 4.13 normy ČSN EN ISO/IEC 17025)

→ Laboratoře v oblasti řízení záznamů musí udržovat systém vedení záznamů pro všechny fáze zkoušení vzorku (měření) od objednávky, jeho příjmu, přes měření a kalibraci, až po vystavení Protokolu o měření tak, aby přenos dat a všech potřebných informací byl jednoznačný, snadno identifikovatelný a s minimální možností tvorby chybných údajů a případného zneužití a možností zpětné dohledatelnosti

→ Týká se:

- Technických záznamů (tištěné či uložené výstupy ze zařízení, ruční záznamy z vážení, titrací, záznamy z provozních deníků zařízení, výpočty, záznamy z kalibrací...). Je nutná identifikace: kdo a kdy pořídil
- Záznamů z řízení kvality (zprávy z auditů a přezkoumání systému managementu, záznamy stížností, opatření k nápravě, preventivních opatření...). Je nutná identifikace: kdo a kdy pořídil

→ Všechny záznamy jsou prováděny čitelně, nesmazatelně a trvalým způsobem, změny a opravy jsou prováděny přeškrtnutím nesprávného údaje a nadepsáním údaje správného tak, aby původní údaj zůstal čitelný. Každá oprava v záznamech je autorizována příslušným pracovníkem, který opravu provedl, a opatřena datem, kdy byla provedena.

→ Uložení záznamů (důvěrnost, únik informací)

→ Záznamy elektronické – zálohování na nezávislá média, řízené přístupy (hesla)

Interní audity (kap. 4.14 normy ČSN EN ISO/IEC 17025)

→ Za účelem ověřování zda činnost Laboratoře vyhovuje požadavkům na systém managementu ČSN EN ISO/IEC 17025:2005 (nebo i jiným požadavkům) a zda jsou jednotlivé činnosti prováděny efektivně a výsledky zkoušek jsou správné a platné, provádí Laboratoř pravidelně a podle předem vypracovaného časového plánu (viz další list) interní audity svých činností

→ Záznamy z interních auditů (viz níže)

→ Nápravná opatření, kontrola jejich plnění

PLÁN INTERNÍCH AUDITŮ A PŘEZKOUMÁNÍ SYSTÉMU MANAGEMENTU NA ROK

č.	PŘEDMĚT INTERNÍHO AUDITU	Příručka kvality, číslo kapitoly	měsíc											
			01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12
1.	Organizace	4.1												
2.	Systém managementu, Řízení dokumentů, Interní audity, Přezkoumání systému managementu - zejména aktualizace PK a souvisejících dokumentů, provádění interních auditů a přezkoumání systému managementu, záznamy o kvalitě	4.2, 4.3, 4.14, 4.15												
3.	Řízení záznamů, Řízení údajů – zejména technické záznamy, vedení a přenos údajů v Příjmových listech, pracovních, provozních denících, archivace záznamů, ochrana údajů	4.13, 5.4.6												
4.	Přezkoumávání požadavků, nabídek a smluv Nákupování služeb a dodávek	4.4, 4.6												
5.	Subdodávky zkoušek	4.5												
6.	Služba zákazníkovi, Stížnosti	4.7, 4.8												
7.	Řízení neshodné práce, Zlepšování SM, Opatření k nápravě, Preventivní opatření	4.9, 4.10, 4.11, 4.12												
8.	Pracovníci – zejména kvalifikační předpoklady a výcvik, zastupitelnost, způsobilost	5.2												
9.	Prostory a prostředí - zejména zamezení vstupu cizích osob, odpovídající stav všech prostor, zabezpečení vhodných podmínek pro provádění zkoušek, úklid laboratoří	5.3												
10.	Zkušební metody a postupy – zejména evidence norem, dodržování a vhodnost pracovních postupů, volba a pořadí zkoušek, aktualizace postupů	5.4												
11.	Zařízení, Návrhnost měření – zejména program ověřování a kalibrace, evidence, označování a kontrola zařízení, evidence a platnost referenčních materiálů	5.5, 5.6												
12.	Vzorkování – zejména dodržování programů vzorkování, pracovních postupů, záznamy a dokumentace související se vzorkováním, interní řízení kvality	5.7												
13.	Manipulace se zkušebními vzorky – zejména evidence, konzervace, uložení vzorků	5.8												
14.	Zabezpečování systému managementu – zejména interní řízení kvality a mezilaboratorní zkoušení způsobilosti	5.9												
15.	Uvádění výsledků - zejména obsah, návaznost na parametry uvedené v SOP metod, úprava a zpracování	5.10												
PŘEZKOUMÁNÍ SYSTÉMU MANAGEMENTU														

PROTOKOL O INTERNÍM AUDITU

Číslo IA 05/2010

1. Údaje o interním auditu

- 1.1 Datum a místo:
- 1.2 Audit provedl (-i):
- 1.3 Zúčastnění pracovníci:
- 1.4 Předmět auditu, poř. č. z Plánu IA, odkaz na článek normy ČSN EN ISO/IEC 17025:2005

Poř.č. 7 – Plnění kritérií kap. 4.9, Řízení neshodné práce

2. Údaje o výsledcích a zjištěních interního auditu

	Předmět/kapitoly normy ČSN ISO EN/IEC 17025:2005	Dokument	Splňuje			Komentář/ nápravná opatření
			ANO	NE	Částečně	
1.	4.9. Má laboratoř politiku pro řízení neshodné práce ? Má určený pro tento případ pravomoce a odpovědnosti ? Hodnotí se závažnost neshodné práce ? Stanovuje se nápravné opatření ? Kontroluje se nápravné opatření ? Dodržují se termíny plnění ?	- Příručka kvality - Záznamy o neshodné práci	x			

3. Přijatá opatření

- 3.1 Opatření k nápravě: XXX

• Termín:

• Odpovídá:

• Podpis:

- 3.2 Návrh na postihy: XXX

- 3.3 Návrh na změny systému managementu: XXX

- 3.4 Preventivní opatření: XXX

4. Závěr

- 4.1 Příští audit bude proveden:

- 4.2 V, dne

.....
Osoba(-y) pověřená(é) provedením auditu

- 4.3 Vedoucí Laboratoře a manažer kvality byli s výsledky auditu seznámeni dne

5. Kontrola provedení nápravných opatření:

- 5.1 Zhodnocení:

- 5.2 V, dne

.....
Osoba(-y) pověřená(é) provedením auditu

Přezkoumání systému managementu (kap. 4.15 normy ČSN EN ISO/IEC 17025)

→ Přezkoumání systému managementu provádí v souladu s plánem, tj. minimálně jednou ročně, vrcholové vedení Laboratoře, musí být dokumentováno, vč. případných opatření

→ Vstupy:

- výsledky interních auditů
- výsledky mezilaboratorního porovnávání a zkoušení způsobilosti
- výsledky vnitřního řízení kvality
- záznamy o neshodách,
- stížnosti a zpětné vazby od zákazníků,
- opatření k nápravě z předchozích přezkoumání
- preventivní opatření,
- přiměřenost lidských zdrojů a zařízení Laboratoře
- zprávy vedoucích a dozorových pracovníků
- zápisy z porad,
- plnění plánů zvyšování kvalifikace pracovníků
- kalibrací, údržby zařízení
- vyhodnocení kvality vzdělávacích akcí a pod.

Osoby pracující v laboratoři (kap. 5.2 normy ČSN EN ISO/IEC 17025)

→ O každém pracovníkovi Laboratoře musí být k dispozici informace nezbytné pro posouzení jeho kvalifikace a pracovního zařazení (doklady o vzdělání a předchozí praxi)

→ Osobní složky (doklady o vzdělání, CV, zdravotní způsobilost, pracovní náplň, pověření k jiným činnostem a funkcím – např. metrolog, manažer kvality, doklady o absolvovaných kurzech a školeních, osobní certifikáty, program osobního rozvoje včetně záznamů o absolvovaných školeních, kurzech a seminářích a jejich hodnocení)

→ Pro jednotlivé funkce musí být předem stanoveny kvalifikační požadavky a délka předchozí praxe

→ Počáteční zaškolení pracovníka (časový plán, školitelé, počáteční seznámení s dokumentací – Příručka kvality, postupy, řády, nařízení, směrnice, bezpečnost práce...)

→ Nezbytné prohlášení pracovníků o nestrannosti, nezávislosti a finanční a jiné nezainteresovanosti

→ Výcvik a vzdělávání pracovníků podle ročního plánu (interní a externí vzdělávání)

- zabezpečování a řízení kvality
- legislativa a normalizace
- zpracování a vyjadřování výsledků
- výpočetní technika
- statistické metody
- metrologie
- analytické metody

→ V plánu vzdělávání záznamy o účasti, hodnocení vzdělávání pracovníky

Prostory a podmínky prostředí (kap. 5.3 normy ČSN EN ISO/IEC 17025)

→ Vytvoření podmínek, které nebudou ovlivňovat výsledky zkoušek

- Teplota prostředí (tam, kde je to vhodné se doporučuje její monitorování – sklady vzorků, chemikálií, půd pro mikrobiologii)
- Vlhkost – ovlivnění zejména správné funkce zařízení
- Stabilita elektrické rozvodné sítě, dostatečná kapacita (pece, sušárny...)
- Prašnost (kontaminace laboratorního skla)
- Osvětlení
- Hluk
- Vibrace
- Zamezení křížové kontaminace, zejm. v mikrobiologické laboratoři (časové nebo prostorové oddělení činností)
- Funkční digestoře nebo jiné dostatečně funkční odsávací zařízení pro činnosti s kyselinami a organickými rozpouštědly

- Specifický režim mikrobiologické laboratoře (sterilní prostředí, zamezení přístupu nepovolaných osob, germicidní lampy...), oddělené místnosti: příjem vzorků, příprava vzorku, zkoušení a inkubace, příprava médií a sterilizace, mytí skla, dekontaminace
- V případě klimatizace na mikrobiologii – kontrola a výměna filtrů
- Mikrobiologie:
 - hladký povrch stěn, podlah, stolů (dlaždice nedoporučeny)
 - patogenní organismy – laminární box
 - zákaz květin a osobních věcí
 - rolety, žaluzie zvenčí
- Zdroj demineralizované nebo destilované vody

→ Postupy pro úklid laboratoře (zejména mikrobiologické části)

→ Postupy pro řízený přístup nepovolaných osob do laboratoří, kdo rozhoduje, zabezpečení laboratoře

→ Monitoring vlivů prostředí – viz část „Řízení kvality“

Zkušební metody a validace metod (kap. 5.4 normy ČSN EN ISO/IEC 17025)

→ Laboratoř musí používat zkušební metody, které splňují potřeby zákazníka – žadatele

→ Požadavky:

- Vhodnost postupu pro danou matici
- Dosažení potřebných mezí stanovitelnosti (LOQ)/potřebného rozsahu
- Validace/verifikace
- Nejistoty
- Řízené a dokumentované

→ Zdroje:

- Národní normy (ČSN) či jiná národní legislativa – např. rezortní vyhlášky, nařízení vlády apod. (nejvhodnější, nejméně zpochybnitelné, rozhodčí metody, arbitráže...)
- Mezinárodní normy a standardy (EN, ISO, AOAC...)
- Neuvedené v normách nebo normativních dokumentech (odborná literatura, publikace, dříve platné ČSN...)
- Metody vyvinuté v laboratoři (nejpracnější zavedení a validace, porovnání s jinými metodami...)

Verifikace / Validace

→ Verifikace metody: týká se převzetí postupu normy - ověření, zda námi použitý postup metody splňuje metrologické parametry, které jsou v normě uvedeny

→ Nejčastěji: opakovatelnost, reprodukovatelnost, mez stanovitelnosti (LOQ)

→ Validace metody

- | | |
|---|-------------------------------|
| a) pravdivost (správnost); | h) výtěžnost; |
| b) vhodnost/použitelnost
(matrice a rozsah koncentrací); | i) selektivita; |
| c) mez detekce; | j) citlivost; |
| d) mez stanovitelnosti; | k) linearita; |
| e) preciznost (shodnost); | l) nejistota měření; |
| f) opakovatelnost; | m) případně další kritéria... |
| g) reprodukovatelnost; | |

→ Pravdivost (Správnost/výtěžnost)

- *vyjádřená např. na základě výsledků mezilaboratorního porovnání (z-skóre), návaznosti na CRM, pomocí výtěžnosti (standardní přidávky) atp.*

→ Vhodnost/použitelnost

- *vymezuje a definuje analyty, matrice a rozsah koncentrací, pro něž je metoda určena (validována)*

→ Mez detekce (LOD)

- *existuje řada definicí a způsobů stanovení LOD*
- *množství analytu odpovídajícího nejnižšímu měřenému signálu při níž je možno považovat přítomnost analytu za prokázanou s definovanou mírou spolehlivosti,*
- *neumožňuje kvantifikaci ale jen vymezuje oblast kvalitativního průkazu analytu*
- *stanoví se např. jako signál slepého pokusu + 3σ (v případě chromatografie jako koncentrace, kdy je poměr signál:šum = 3:1)*

→ Mez stanovitelnosti (LOQ)

- *existuje několik definicí a způsobů stanovení LOQ*
- *množství analytu odpovídajícího nejnižšímu měřenému signálu při níž je možno kvantitativně stanovit analyt s definovanou mírou spolehlivosti,*
- *stanoví se např. jako signál slepého pokusu + 10σ (např. v případě chromatografie jako koncentrace , kdy je poměr signál:šum = 10:1)*
- *specifické pro gravimetrické a odměrné metody*

→ Preciznost (shodnost)

- *jako směrodatná odchylka (relativní směrodatná odchylka) na konkrétní koncentrační hladině zjištěné v rámci vnitrolaboratorní validace (z minimálně 6 opakování)*
- *charakterizuje rozptyl výsledků*

→ Opakovatelnost

- *mez opakovatelnosti (směrodatná odchylka opakovatelnosti) na konkrétní koncentrační hladině získané v rámci mezilaboratorního porovnání provedeného podle ČSN ISO 5725:1994 Přesnost (správnost a shodnost) metod a výsledků měření nebo podle odpovídajícího Mezinárodního harmonizovaného protokolu (IUPAC)*

→ POKUS: 1 analytik, 1 vzorek analyzován 6x, stejný čas, stejné chemikálie a zařízení (podmínky opakovatelnosti)

mg/kg		
0,156	0,146	průměr (mg/kg)
0,145	0,00783	směrodatná odchylka
0,134	5,37	RSD relativní směrodatná odchylka (%)
0,141	15,0	mez opakovatelnosti (%) = $RSD \cdot 2,8$ - mez opakovatelnosti (mg/kg) – využití např. při hodnocení rozpětí paralelního stanovení
0,147	0,022	mez opakovatelnosti (mg/kg)
0,152		

→ Reprodukovatelnost

- *mez reprodukovatelnosti (směrodatná odchylka reprodukovatelnosti) na konkrétní koncentrační hladině získané v rámci mezilaboratorního porovnání provedeného podle ČSN ISO 5725:1994 Přesnost (správnost a shodnost) metod a výsledků měření nebo podle odpovídajícího Mezinárodního harmonizovaného protokolu (IUPAC)*

→ Selektivita

- *rozsah v němž může být danou metodou stanoven analyt nebo směs analytů ve směsi nebo matrici bez ovlivnění jinými složkami vzorku stejného nebo podobného chování*

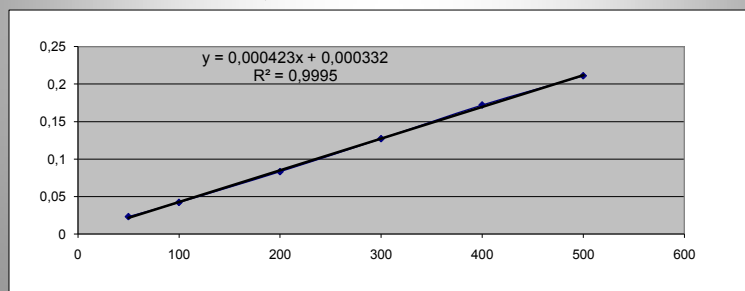
→ Citlivost

- *podíl změny odezvy měřicího zařízení a odpovídající změny podnětu (měřené veličiny, vstupního signálu), např. změně absorbance 0,001 odp. konc. 0,005 mg/l*
- *zpravidla se jedná o směrnici kalibrační závislosti*

→ Linearita

- *schopnost metody v určitém rozsahu poskytovat odezvu signálu úměrnou změně vstupní koncentrace analytu*
- *vyjadřuje se zpravidla pomocí korelačního koeficientu r^2 dané závislosti*

(X) konc. (mg/l)	(Y) absorbance
50	0,023
100	0,042
200	0,083
300	0,127
400	0,172
500	0,211



Nejistota měření a její interpretace

- je definována jako interval, o kterém lze určitou pravděpodobností, obvykle 95%, oprávněně předpokládat, že se v něm nachází skutečná hodnota měřené veličiny
- udává se jako rozšířená nejistota pro danou koncentrační hladinu nebo rozsah koncentrací vyjádřená v % nebo ve stejných jednotkách jako výsledek
- způsobů odhadu nejistot je celá řada a přístupy k odhadu nejistoty se poměrně hodně liší.....

→ Vyjádření výsledků

Znak: $(x \pm U)$ (jednotky)

Př.: Aflatoxin B1: $(3.5 \pm 1.5) \mu\text{g/kg}$

většina laboratoří uvádí relativní U (v %)

→ Základní metody odhadu nejistot

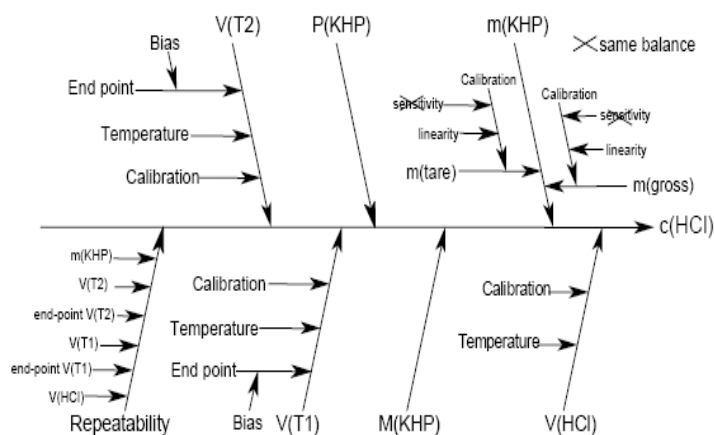
- „Bottom-Up Approach“ („uncertainty budget“, „component-by component“)
 - složka po složce,
 - detailní bilance nejistot
- „Top-Down Approach“
 - celkové zhodnocení / posouzení metody,
 - data např. z validace, z mezilaboratorních testů, řízení jakosti....
- Mikrobiologické metody: odhad na základě opakovatelnosti a reprodukovatelnosti (ČSN ISO 7218, ČSN P ISO/TS 19036) – různé matrice x 2 operátoři x 10 opakování

→Dokumenty

1. ISO guide to the expression of measurement uncertainty (GUM)
2. EURACHEM Guide to quantifying uncertainty in analytical measurement:
 - A. component-by-component approach
 - B. use of collaborative trial data
3. Use of collaborative trial: data – ISO 5725 critical differences
4. Draft ISO TS 21748 – Guide to the Use of Repeatability, Reproducibility and Trueness Estimates in Measurement Uncertainty Estimation
5. Concept established by Commission Decision 2002/657/EC implementing Council Directive 96/23/EC concerning the performance of analytical methods and the interpretation of results
6. AOAC INTERNATIONAL approach
7. Internal quality control approach
8. NMKL (Nordic Committee on Food Analysis) approach

1) „Bottom-Up Approach“ („uncertainty budget“, „component-by-component“)

Figure A3.5: Final cause and effect diagram



→ Příklad: argentometrické stanovení chloridů

- homogenizace
- filtrace vzorku
- ředění vzorku
- navážení referenčního materiálu (chlorid sodný)
- čistota referenčního materiálu
- rozpuštění referenčního materiálu a doplnění v odměrné baňce
- pipetování standardního roztoku referenčního materiálu
- titrace standardního roztoku RM odměrným roztokem dusičnanu stříbrného (standardizaci titračního činidla - dusičnanu stříbrného)
- pipetování vzorku k analýze
- titrace vzorku odměrným roztokem dusičnanu stříbrného
- dlouhodobá opakovatelnost stanovení (kontrolní vzorky, MPZ apod.)
- Nejistota u = odmocnina součtu druhých mocnin jednotlivých příspěvků
- Často se odhaduje jen na základě dlouhodobé opakovatelnosti získané např. z regulačních diagramů (viz dále) – tvoří až 90-95% podíl celkové nejistoty (u jednodušších zkoušek)
- Rozšíření na hladinu pravděpodobnosti 95% koeficientem $k=2$ ($U=k \cdot u$)

2) „Top-down“ postup - lze použít data z interní validace metody a IQC (Internal Quality Control) ⇒ hlavní příspěvky:

- vždy
 - mezilehlá (dlouhodobá) opakovatelnost
 - výtěžnost – je-li významná a není-li výsledek korigován
- zřídka
 - kalibrace
 - ostatní (nejistota / čistota referenčních materiálů, ředění roztoků, navažování...)

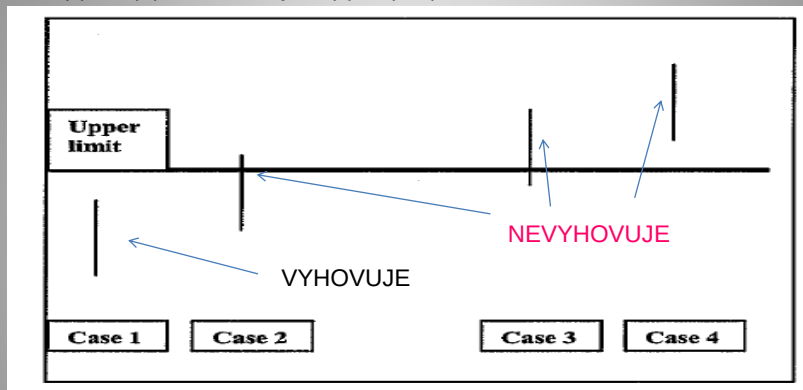
→ mezilehlá (dlouhodobá) opakovatelnost

Zdroje potřebných dat

1. regulační diagramy (RD)
 - průměr ($\bar{X}$)
 - směrodatná odchylka (SD)
2. paralelní stanovení (SD z rozpětí dvojic)
 - průměr ($\bar{X}$)
 - $SD = \sqrt{(\sum (a_1 - a_2)^2) / 2N}$

→ Interpretace:

Obecný postup pro dosažení jistoty při výstupní kontrole:



→ Vnitřní standardy laboratoří/oddělení řízení kvality mohou řešit i jinak

Zařízení (kap. 5.5 normy ČSN EN ISO/IEC 17025)

→ Laboratoř musí disponovat odpovídajícím zařízením, které je ve shodě s parametry metody (dostatečná citlivost, přesnost...)

→ Seznam zařízení, event. Kmenové listy zařízení :

- Pořadové (evidenční) číslo zařízení, výrobní číslo
- Datum pořízení
- Umístění v laboratoři
- Technická specifikace

→ Každé zařízení musí disponovat Provozním deníkem:

- Datum použití
- Kalibrace
- Údržba
- Záznam o měření
- Kdo měřil
- Poruchy, opravy

→ Program externí kalibrace/ověření (kalibrační listy, certifikáty) – štítek na zařízení

- Interního nastavení - „kalibrace“ (záznamy) - nepoužívat ve vztahu k akreditaci
- Externí údržba (odborné firmy, periodicky nebo podle potřeby)
- Běžná interní periodická údržba (záznamy)
- Specifický režim pravidelné desinfekce zařízení mikrobiologie:
lednice (1x3 měs.), termostaty (1x1 měs.), váhy denně, homogenizátor denně
- Lednice pro mikrobiologii: vzorky potravin $3\pm 2^{\circ}\text{C}$, ostatní (materiály) $5\pm 3^{\circ}\text{C}$, uchovávání odděleně
(čisté půdy x vzorky potravin x kultury x inkubované půdy)
- Doba sterilizace: min. 1 hodina / 170°C
- Periodické ověřování automatických pipet (gravimetricky)
- Jsou vhodné osobní odpovědnosti za stav zařízení
- Postupy při poruchách zařízení
- vhodné výrazné označení takového zařízení (např. „Nepoužívat“)
- Postupy pro zacházení, skladování, přepravu
- K dispozici manuály, návody

Návaznost měření (kap. 5.6 normy ČSN EN ISO/IEC 17025)

- Zařízení
 - Metrologická návaznost přímo na státní etalony (např. ČMI – váhy, teploměry...)
 - Externí firmy s návazností na státní etalony
 - Kalibrační standardy na CRM vyššího řádu (certifikáty s návazností na SMI, BCR, NIST...)
 - Mikrobiologie – sbírka mikroorganismů CCM
- Evidence referenčních materiálů (kalibračních standardů):
 - Pořadové/evidenční číslo
 - Datum pořízení
 - Čistota
 - Umístění
 - Datum použitelnosti (expirace), vč. naředěných roztoků

Zacházení se zkušebními položkami (kap. 5.8 normy ČSN EN ISO/IEC 17025)

- Postupy pro příjem, evidenci, uchovávání a archivaci vzorků
- Objednávky, žádanky s přesnou specifikací
- Evidence „papírová“, elektronická (zálohy na nezávislých médiích)
- Archivace – zamezení křížové kontaminace, dodržování teplot

Zajišťování kvality výsledků zkoušek (kap. 5.9 normy ČSN EN ISO/IEC 17025)

→ Interní zajišťování kvality

→ Kontrola zařízení a pracovního prostředí

- Sledování šumu a driftu (např. pH, konduktometr, spektrofotometr...)
- Kontrola vah pomocí kalibrovaného závaží (etalonu), regulační diagramy (viz níže)
- Kontrola stálosti vlnové délky (např. standardním roztokem dichromanu draselného)
- Ověřování konstanty elektrody u konduktometrie
- Monitorování teplot – min/max teploměry (lednice, termostaty, místnosti...)
- Rozložení teplotních polí při zatížení (termostaty, autoklávy...)

- Účinnost germicidních lamp (mikrobiologie)
- Spady (mikrobiologie)
- Účinnost autoklávu a sterilizátoru (mikrobiologie) – biologická, fyzikální
- Kontrola čistoty demin. nebo destilované vody

→ Mikrobiologické zkoušky

- Duplicitní stanovení
- Paralelní stanovení dvěma pracovníky
- Slepé vzorky (čistota skla a pomůcek)
- Kontrola růstových vlastností médií, sbírkové kmeny

→ Senzorické zkoušky

- Namátkové opakování hodnocení vzorku
- Používání standardů a materiálů se známými charakteristikami
- Více viz EA-04/09 Akreditace laboratoří působících v oblasti senzorického zkoušení (www.cia.cz)

→ Chemické a fyzikální zkoušky

- Slepé vzorky
- Opakované vzorky
- Tajné vzorky
- Duplicitní vzorky, kontrola rozpětí
- Uměle obohacené vzorky (standardní přídavek)
- Certifikované matricové referenční materiály
- Kontrolní vzorky, vedení regulačních diagramů → získání důležitého parametru mezilehlé opakovatelnosti (validace, nejistoty...)
- Kontrolní vzorky (IRM) – stabilní v čase, homogenní, měření v každé sérii vzorků – kritérium pro přijetí výsledků

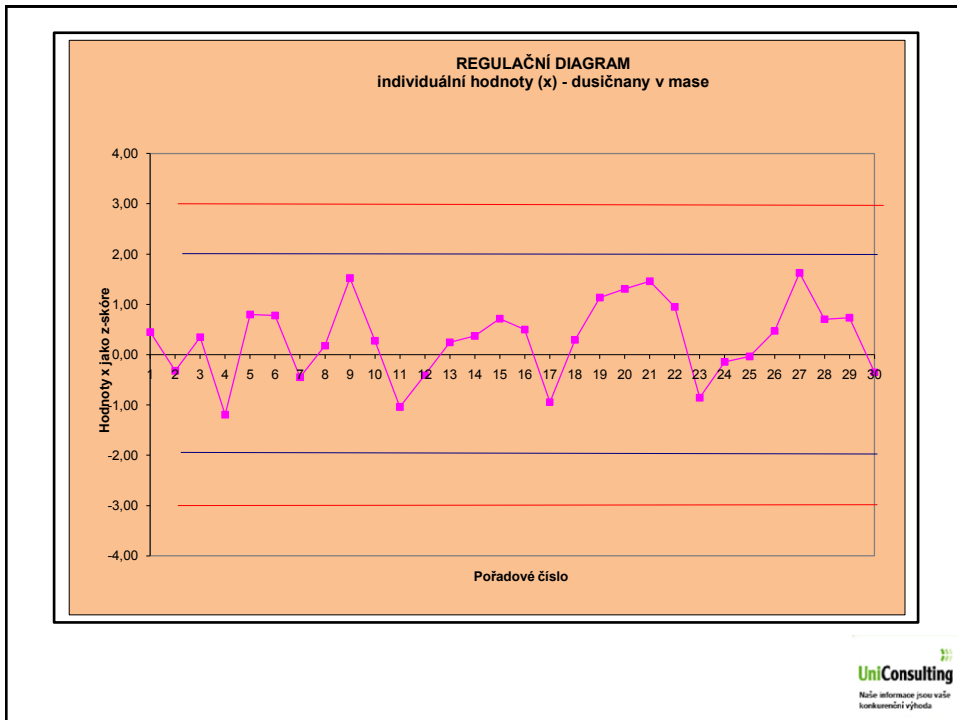
→ Regulační diagramy

- ČSN ISO 8258, Shewarthovy regulační diagramy
- Vhodný kontrolní (řídící) materiál
- Přípravná fáze – měření alespoň 15-20 sérií, v časových odstupech
- Získání průměru (X) a směrodatné odchylky (S) tohoto souboru
- Získání z-score = $(a-X)/S$, kde a je každá další jednotlivá změřená hodnota

X= 22,50 UCLx= 26,70
S= 1,40 LCLx= 18,29
R= 0,8777 UCLR= 2,867337
R%= 30,6091 UCLR%= 100

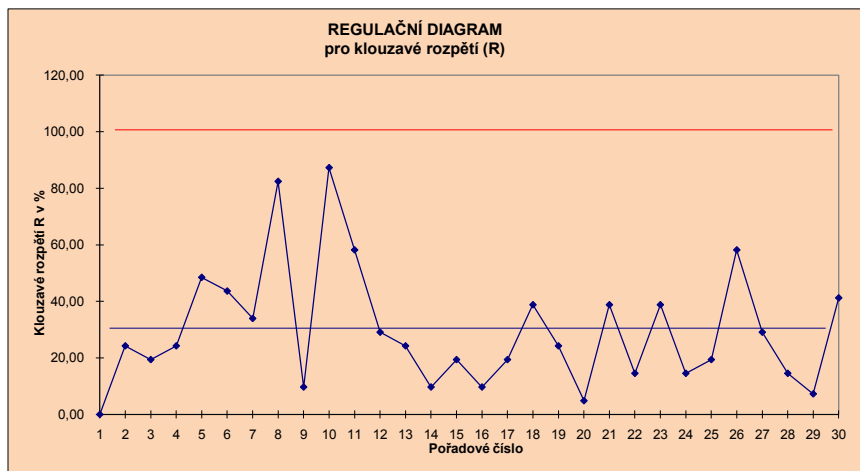
Dusičnany
HPLC

Poř. číslo	Datum měření	Číslo série	x	R	R%	z-score
1	2.6.2011	1801	23.13	0.99	34.53	0.44
2	3.6.2011	1802	22.05	1.08	37.67	-0.32
3	7.6.2011	1803	22.99	0.94	32.78	0.35
4	8.6.2011	1804	20.83	2.16	75.33	-1.19
5	9.6.2011	1805	23.62	2.79	97.30	0.80
6	10.6.2011	1806	23.59	0.03	1.05	0.78
7	14.6.2011	1807	21.87	1.72	59.99	-0.45
8	15.6.2011	1808	22.75	0.88	30.69	0.18
9	16.6.2011	1809	24.64	1.89	65.91	1.53
10	17.6.2011	1810	22.89	1.75	61.03	0.28
11	21.6.2011	1811	21.04	1.85	64.52	-1.04
12	22.6.2011	1812	21.93	0.89	31.04	-0.41
13	23.6.2011	1813	22.84	0.91	31.74	0.24
14	24.6.2011	1814	23.02	0.18	6.28	0.37
15	28.6.2011	1815	23.5	0.48	16.74	0.71
16	29.6.2011	1816	23.2	0.3	10.48	0.52
17	30.6.2011	1817	21.18	2.02	70.45	-0.94
18	1.7.2011	1818	22.91	1.73	60.33	0.29
19	1.7.2011	1819	24.09	1.18	41.15	1.13
20	7.7.2011	1820	24.33	0.24	8.37	1.31
21	8.7.2011	1821	24.55	0.22	7.67	1.46
22	12.7.2011	1822	23.83	0.72	25.11	0.95
23	13.7.2011	1823	21.3	2.53	88.24	-0.86
24	14.7.2011	1824	22.3	1	34.88	-0.14
25	15.7.2011	1825	22.45	0.15	5.23	-0.04
26	19.7.2011	1826	23.16	0.71	24.76	0.47
27	20.7.2011	1827	24.78	1.62	56.50	1.63
28	21.7.2011	1828	23.49	1.29	44.99	0.71
29	22.7.2011	1829	23.53	0.04	1.40	0.73
30	26.7.2011	1830	22.01	1.62	53.01	-0.35



System je mimo regulaci, když:

- hodnota z leží mimo regulační meze (tj. $|z| > 3$);
- dvě po sobě jdoucí hodnoty z leží mezi varovnou a regulační mezí (tj. pro dvě hodnoty po sobě platí $3 > |z| > 2$)
- devět hodnot za sebou leží na stejné straně od centrální přímky
- rozdíl dvou po sobě jdoucích $|z|$ je větší než 4
- mnoho dalších kritérií (ČSN ISO 8258, Shewarthovy regulační diagramy)

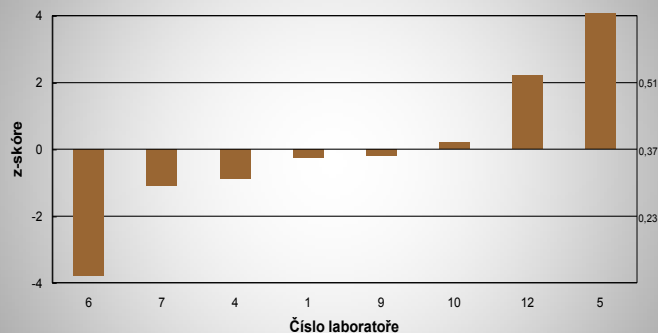


→ Systém je mimo regulaci, když klouzavé rozpětí leží nad linií 100%

→ Externí zajišťování kvality

- Mezilaboratorní porovnávání zkoušek
- Pořadatelé v ČR (www.cia.cz)
- Pořadatelé zahraniční FAPAS, FEPAS, LGC, APLAC, EU PT, DDDR
- Stejný princip, stanovení vztažné hodnoty (medián, expertní laboratoře...), stanovení směrodatné odchylky (sigma), hodnocení pomocí z-score
- $-2 < z\text{-score} < 2$ - výsledky vyhovující
- $3 > |z| > 2$ - výsledky diskutabilní (podezřelé)
- $|z| > 3$ - výsledky nevyhovující

Obr. 4 - MTZL IV/2
z-skóre pro toluen (0,369 mg/l)



Uvádění výsledků (kap. 5.10 normy ČSN EN ISO/IEC 17025)

→ Každá zkouška (zakázka) by měla být uzavřena protokolem

- Údaje o vzorku (název, popis, šarže, datum a čas odběru a příjmu...)
- Údaje o zákazníkovi/žadateli
- Jednoznačné a jasné uvedení výsledků
- Počet platných míst nesmí kolidovat s citlivostí metody, resp. mezí stanovitelnosti, příklad: LOQ = 10 mg/kg, správně uvedený výsledek = 12 mg/kg, 153 mg/kg... (max. 3 platná místa : 4562 → 4560)
- Jednotky
- Nejistoty
- Použité metody
- Označení případných subdodávek
- Datum a místo vydání protokolu
- Podpis a funkce oprávněné osoby

Přehled znaků a metod pro kontrolu bezpečnosti a kvality potravin

Kontaminanty

- Kovy
- Pesticidy
- Mykotoxiny
- Dioxiny a PCB
- Biogenní aminy
- Polyaromatické uhlovodíky (PAH)
- Nitrosaminy
- Organické kontaminanty
- Dusičnany

Aditiva

- Barviva včetně nepovolených
- Konzervační látky
- Náhradní sladidla
- Polyfosfáty
- Oxid siřičitý

***GMO, alergeny, výživové hodnoty,
doplňky stravy, mikrobiologie, ozáření,
senzorika***



Kovy

- zejména arzen, kadmium, olovo, rtuť, cín, měď, (zinek, železo, sodík)

Limity v nařízení 1881/2006, popř. vyhláška 305/2004 Sb.

Metody používané pro stanovení:

- atomová absorpční spektrometrie (AAS) – metoda rutinně užívaná metoda
- emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP) – dražší sofistikovanější metoda, možno stanovit téměř všechny prvky

Obě metody normalizované v rámci ČSN EN



Pesticidy

- přípravky a prostředky, které jsou určeny k tlumení a hubení rostlinných a živočišných škůdců, a k ochraně rostlin, skladových zásob, technických produktů, bytů, domů, výrobních závodů nebo i zvířat a člověka.

Dělení podle určení

- Insekticidy – proti hmyzu
- Herbicidy – proti plevelům
- Fungicidy – proti plísni
- Akaricidy – proti roztočům
- Rodenticidy – proti hlodavcům
- Růstové regulátory
- Molluskocidy – proti měkkýšům
-



Sledování reziduí pesticidů

- ochrana spotřebitele z hlediska zdravotní nezávadnosti / kontrola dodržování GAP
 - Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 396/2005 (maximální limity reziduí pro > 400 pesticidů)
 - celkem v EU probíhá hodnocení cca 1000 účinných látek

harmonizace v EU

- celkem v EU probíhá hodnocení cca 1000 účinných látek
- harmonizace metod pro odběr vzorků a stanovení pesticidů kontrola a monitoring (ČSN 56 0253)
- kontrola a monitoring (Nařízení Komise (ES) č. 915/2010)
- Method Validation and Quality Control Procedures For Pesticide Residues Analysis in Food and Feed (SANCO/10684/2009)



vysoké nároky na analytické metody



Metody stanovení pesticidů

- Multireziduální metody (MRM)
 - zejména GC a LC metody (zejména GC/MS a LC/MS cca 1:1)
 - vždy skupina látek příbuzného charakteru
 - od 4 až po 400 analytů
- Jednoúčelové („single“) metody
 - zejména pro polární pesticidy
 - zpravidla nutná derivatizace analytu
 - bromidy, chlormequat, glyphosat, diquat, HCN, paraquat, PH₃, maleinhydrazid, daminozid

Část metod normalizované v rámci ČSN EN



Sledování reziduí pesticidů



potřeba multireziduálních metod

- tj. metod umožňujících stanovení co možná nejširšího spektra pesticidů

Využití náročných analytických metod:

LC-MS

GC-MS



Pegasus 4D[®] GCxGC-TOF MS (LECO)



4000 Q TRAP[™] LC- MS/MS (Applied Biosystems)



Mykotoxiny

- Aflatoxiny (B_1 , B_2 , G_1 , G_2 , M_1) – skořápkové plody, sušené ovoce, podzemnice, obiloviny, rýže, koření, mléko (M_1)
- Ochratoxin A - (obiloviny, hrozny a produkty z nich, káva, koření)
- Patulin - (ovocné výrobky, zejména jablečné)
- Deoxynivalenol - (obiloviny a výrobky z nich)
- Zearalenon - (obiloviny a výrobky z nich)
- Fumonisin (B_1 , B_2) – kukuřice a výrobky z ní
- T-2 a HT-2 toxin - (obiloviny a výrobky z nich) = zatím nejsou limity

Limity v nařízení 1831/2003, v pl. znění.

Mykotoxiny - vzorkování

- Mykotoxiny v potravinách nerovnoměrný výskyt (nehomogenní v rámci šarže)
- Nutné zohlednit při odběru vzorku a přípravě laboratorního vzorku (velikost vzorku vyšší, homogenizace celého odebraného vzorku z vodou před vytvořením laboratorního vzorku)
- Metody odběru vzorků, příprava laboratorního vzorku a požadavky na metody analýzy jsou detailně popsány v nařízení 401/2006



UniConsulting
Nele informace jsou vaše
konkurenční výhoda

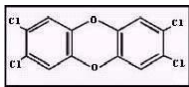
Mykotoxiny – metody stanovení

Analyt	Metoda
aflatoxiny	HPLC/FLD
ochratoxin A	HPLC/FLD
patulin	HPLC/UV
deoxynivalenol	HPLC/UV
zearalenon	HPLC/FLD
fumonisin	HPLC/VIS
T2 / HT2-toxin	LC-MS/MS

- Každá metoda – vlastní postup přípravy vzorků (extrakce, izolace, přečištění...)
- Část metod normalizované v rámci ČSN EN
- Trend – multireziduální metoda s využitím LC-MS

UniConsulting
Nele informace jsou vaše
konkurenční výhoda

Dioxiny a PCB s dioxinovým efektem



Polychlorované dibenzo-p-dioxiny a polychlorované dibenzofurany, cca 200 různých sloučenin, pouze některé vysoce toxické a karcinogenní, zejména 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD).

- Limity v nařízení 1881/2006
- V potravinách živočišného původu + rostlinné tuky a oleje
- Ukládá se v tucích ⇒ vyjadřuje se většinou na tuk
- Analýza metodou plynové chromatografie v kombinaci s vysokorozlišovací hmotnostní spektrofotometrií

Polyaromatické uhlovodíky (PAH)

Látky vznikající při silném ohřevu a při spalování organických sloučenin za omezeného přístupu kyslíku při teplotách 500 až 900 °C, které jsou podle pokusů na zvířatech karcinogenní.

- Jako indikátor přítomnosti PAH se používá benzo(a)pyren.
- Pro benzo(a)pyren stanoveny limity v nařízení 1881/2006.
- Metody stanovení zejména metoda kapalinové chromatografie s fluorimetrickou detekcí popř. hmotnostní detekcí

Biogenní aminy (histamin)

- Vznikají dekarboxylací aminokyselin, zejména činností mikroorganismů, fermentací nebo kažením
- V potravinách má limit stanoven pouze histamin v produktech rybolovu – nařízení 2073/2005
- Metoda stanovení doporučená nařízením - kapalinová chromatografie s UV detekcí po derivatizaci dansyl chloridem, alternativa ELISA stanovení
- Výskyt také v pивě, víně, zrajících sýrech, kysaném zelí, fermentovaných uzeninách



Nitrosaminy

- vznikají za určitých podmínek z dusitanů a bílkovin, resp. ze sekundárních aminů (aminokyseliny, biogenní aminy, některá aromata aj.), které jsou přirozenou složkou potravin.
- výskyt byl prokázán především v uzených masech, sýrech, rybách, v nižších množstvích v nakládané zelenině, pивu
- limit pouze pro pivo ve vyhlášce 305/2004



Dusičnany

- jako kontaminant se týká zeleniny, ovoce (banány, jahody), vod a nealko nápojů
- limity pro vybrané druhy zeleniny a výživu pro kojence a malé děti v nařízení
- metody stanovení normalizované v rámci ČSN EN
- principy metod stanovení - HPLC, spektrofotometrie, enzymatické stanovení



Další organické kontaminanty

1. **látky, které se dostaly do potravin z prostředí**
2. **látky, které vznikly v potravině degradací aditivních látek nebo aromat**

- způsobují senzorické změny ⇒ stížnosti spotřebitelů
- způsobeno kontaminací při výrobě, nevhodnou dopravou, skladováním
- příklady nacházených látek
 - benzen, toluen, xylén, chlorované alifatické uhlovodíky, hexan, aceton, uhlovodíky (např. z barev, ředidel, PHM atd.)
 - 1, 3 pentadien – mikrobiální rozklad kyseliny sorbové, styren, cyklohexen – rozklad aroma

Detekce – senzorické analýza, confirmace - plynová chromatografie s hmotnostní detekcí



Kontaminace cizími předměty

Předměty, které se dostaly do výrobku během výroby (střepy, kusy plastu, kamínky, části živočichů, části surovin nebo jiných výrobků)

- příčina stížností spotřebitelů
- nedostatečně zajištěná kontrola výroby
- sabotáž

Detekce:

- vizuální – senzorická analýza, popř. mechanický rozbor přebírání, prosívání
- někdy potřebná identifikace kontaminovaného materiálu – zjištění závažnosti kontaminace – (příklad: podezření na kus myši – rozbořem zjištěno, že je přítomno velké množství sacharidů ⇒ identifikováno jako kus těsta)

Kontaminace cizími předměty

Předměty, které vznikly skladováním (chemickými nebo mikrobiálními procesy)

Příklady:

1. Částičky podobné kouskům skla nebo plastu v plátkovém taveném sýru – zjištěno, že se jedná o krystaly – chemickou analýzou identifikováno velké množství fosforu – krystaly polyfosfátů
2. Částičky podobné kouskům skla nebo plastu v plátkovém taveném sýru - zjištěno, že se jedná o krystaly – hypotéza, že se jedná znova o polyfosfáty *nepotvrzena analýzou* ⇒ další analýzy – nulový obsah popela – analýza na cukry – identifikováno jako krystaly laktózy
3. Myš v ovocné šťávě v Tetrapac balení – v laboratoři nepotvrzeno – vizuálně a při zvětšení ⇒ zjištěno, že se jedná o plíseň (narušený obal pod uzávěrem)

Aditivní látky

Barviva včetně nepovolených

Potravinářská barviva a podmínky jejich použití – vyhl. 4/2008 – seznam barviv povolených pro použití do potravin, některé potraviny není povoleno barvit, některá barviva povolena pouze do některých potravin, limity pro sumu barviv a také pro některá vybraná jednotlivá barviva...

Metody používané pro stanovení:

1. tenkovrstvá chromatografie TLC – identifikace barviv
2. HPLC-DAD – identifikace barviva pomocí spektra – kvantifikace, stanovení téměř všech barviv najednou

Kromě toho nepovolená barviva – tzv. „sudanová barviva“ – nejsou určena pro potravinářské výrobky – byla používána jako maskování falšování koření nebo kořeněných omáček z Asie

Metody používané pro stanovení:

1. HPLC-DAD – identifikace barviva pomocí spektra, kvantifikace – vhodná
konfirmace totožnosti barviva pomocí LC-MS



Konzervační látky

Konzervační látky a podmínky jejich použití – vyhl. 4/2008 – povolené konzervační látky, jejich limity, limity při kombinaci.

- Kyselina sorbová, kyselina benzoová, kyselina p-hydroxybenzoová a jejich sole
 - limity přepočítány na kyseliny
 - metody stanovení – většinou HPLC-UV
- Kyselina propionová a její sole
 - limit přepočítán na kyselinu
 - metody stanovení – většinou HPLC-UV popř. GC-FID
- Kyselina mravenčí – nepovolená!!!!
 - metody stanovení – většinou HPLC-RI
- Dusitaný, dusičnany
 - metody stanovení – většinou HPLC-UV, spektrofotometrie, enzymatické metody



Oxid siřičitý a siřičitany

- Podmínky použití a limity – vyhl. 4/2008 – limity přepočítány na oxid siřičitý
- **Alergen!**
- Konzervační i antioxidační účinky

Metody používané pro stanovení:
metody titrační, spektrofotometrické, enzymatické – před vlastním
stanovením většinou izolace destilací
Řada metod – normalizována v rámci ČSN, ČSN EN, ČSN ISO

Některé metody pouze pro vybrané komodity, všechny metody dávají pro
určité komodity falešně pozitivní výsledky ⇒ **výběr vhodné metody!!!**



Náhradní sladidla

- Podmínky použití a limity – vyhl. 4/2008
- Seznam povolených sladidel se neustále rozšiřuje

Metody používané pro stanovení:
Sacharin, acesulfam K, aspartam, neohesperidin – normalizovaná metoda v
rámci ČSN EN – princip HPLC
Cyklamát - normalizovaná metoda v rámci ČSN EN – princip HPLC – po
derivatizaci
Sukralosa, thaumatin, neotam – okrajově používaná sladidla – individuální
nenormalizované metody



Polyfosfáty

- Podmínky použití a limity – vyhl. 4/2008

Metody používané pro stanovení:

1. tenkovrstvá chromatografie TLC – identifikace – rozlišení fosfátů přirozeně přítomných od přidávaných
2. kvantifikace – stanovení celkového fosforu a bílkovin – odečet přirozeného fosforu zjištěného na základě obsahu bílkovin
3. sofistikovanější možnost identifikace a kvantifikace – iontová chromatografie



Označování aditivních látek

- požadavky na označování přídatných látek na obalech potravin – vyhl. 113/2005 Sb., §10

- přídatná látka obsažená v potravine se na obalu označí názvem nebo číselným „E“ kódem
pokud přídatná látka patří do vybraných skupin přídatných látek – musí být na obalu uvedena také skupina např. „barvivo“

Pokud potravina (kromě alkoholických nápojů) obsahuje vybraná barviva (Žluť SY, Chinolinová žluť, Azorubin, Červeň allura, Tartrazin, Ponceau 4R) na obalu musí být informace „název nebo číslo E barviva/barviv: mohou nepříznivě ovlivňovat činnost a pozornost dětí“ – požadavek nařízení 1333/2008

- Oxid siřičitý – alergen – požadavek na označení na obalu - vyhl. 113/2005 Sb., §8 odst. 10) – označení názvem dle přílohy 1



Detekce ozáření potravin

- Potravina ošetřená ionizujícím zářením musí být označena, že byla ošetřena – vyhl. 133/2004
- pouze povolené potraviny

Skupina potravin	
1. Sušené byliny, koření, kořeníci přípravky	13. Arabská guma
2. Zmrazené byliny	14. Kuřecí maso, drůbeží maso (kur domácí, husy, kachny, perličky, holuby, křepelky, krocani)
3. Brambory	15. Drůbeží droby, drůbeží separát
4. Sladké brambory	16. Mražená žabí stehýnka
5. Cibule, šalotka	17. Sušená živočišná krev, plasma, koaguláty
6. Česnek	18. Ryby a ostatní mořští živočichové s výjimkou mražených krájených nebo dekapitovaných krevet a mražených žabích stehýnek
7. Luštěniny, sušená zelenina, čerstvá zelenina s výjimkou cibule, šalotky, česneku, rebarbory	19. Mražené krájené nebo dekapitované krevety
8. Čerstvé ovoce, čerstvé houby, rebarbora	20. Vaječný bílek
9. Sušené ovoce	21. Kasein, kaseináty
10. Mlýnské obilné výrobky s výjimkou rýžové mouky, vloček a klíčků určených pro mléčné výrobky	
11. Vločky a klíčky pro mléčné výrobky	
12. Rýžová mouka	

Detekce ozáření potravin

Metody používané pro detekci, že byla potravina ošetřena ionizujícím zářením:

1. na principu termoluminiscence – potraviny, ze kterých je možné izolovat křemičité minerály - ovoce, zelenina, byliny.....
2. na principu GC-MS – potraviny, ze kterých je možno izolovat tuk – potraviny živočišného původu, kakao, mango, papaya
3. na principu elektronové spinové rezonance – potraviny obsahující cukr nebo kosti nebo celulosu

Řada dalších metod spíše screeningových, jejich výsledek nutno potvrdit některou z výše uvedených metod

Geneticky modifikované organismy (GMO)

- Požadavky na GMO – nařízení 1989/2003

Metody používané pro stanovení:

Požadavky na metody stanovení normalizované v rámci ČSN EN

- molekulárně biologické – PCR, real time PCR – rutinně používané metody
- založené na stanovení bílkoviny - imunochemické

Mikrobiologie včetně enterotoxinů

- Požadavky specifikovány v nařízení 2073/2005
- v kritériích bezpečnosti potravin limitovány:
Listeria monocytogenes, *Salmonella*, Stafylokokové enterotoxiny,
Enterobacter sakazakii, *E. coli*
- v kritériích hygieny výrobního procesu – více ukazatelů – uvedena opatření v
případě nevyhovujících výsledků

Metody používané pro stanovení:

- předepsané v nařízení 2073/2005
- normalizované v rámci ČSN EN nebo ČSN ISO
- Stafylokokové enterotoxiny – ELISA stanovení

Potravní doplňky - deklarované na obalu – vitamíny, minerální látky x zakázané látky, byliny apod.

Předpisy:

- vyhl. 225/2008 - kterou se stanoví požadavky na doplňky stravy a na obohacování potravin
- 450/2004 - o označování výživové hodnoty potravin
- nařízení 1925/2006 - o přidávání vitaminů a minerálních látek a některých dalších látek do potravin
- nařízení 1924/2006 - o výživových a zdravotních tvrzeních při označování potravin

-přídavek minerálu nebo vitamínu musí vést k navýšení obsahu v potravině minimálně o 15% doporučené denní dávky

-v případě deklarovaného přídavku minerálů nebo vitaminů – nutriční značení



Potravní doplňky - deklarované na obalu – vitamíny, minerální látky

Metody používané pro stanovení:

Vitamíny: většinou HPLC metody, pro některé vitamíny ELISA metody, mikrobiologické metody

Velká část metod normalizovaná metoda v rámci ČSN EN

Minerální látky: metody AAS, ICP, popř. spektrofotometrické

Část metod normalizovaná metoda v rámci ČSN EN



Alergeny

Přítomnost alergenů v potravinách

alergen záměrně přidán jako složka

⇒ musí být označen v údajích o složení, výrobce o přidaném alergenu ví a pokud jej neoznačil, je to omylem nebo záměrně (např. použil levnější surovinu, ale nechce, aby to bylo zřejmé z údajů na obalu)

alergen se do potraviny dostal neúmyslně

⇒ bez vědomí výrobce (např. kontaminace při výrobě, použití kontaminované suroviny ...)

OBOJÍ VEDE K PŘÍTOMNOSTI ALERGENU V POTRAVINĚ A TÍM K POTENCIONÁLNÍMU OHROŽENÍ SPOTŘEBITELE

Alergeny

Legislativní požadavky

vyhláška č.113/2005, §8 údaje o složkách potravin, příloha č.1

stanoví povinnost označování alergenních složek v údajích o složení
harmonizována s evropskou legislativou (směrnice 2000/13/ES, v platném znění)
vyjmenovány alergen y a výrobky z nich, které musí být označeny na obalu
výrobku
vyjmenovány výrobky z alergenů, kterých se pravidla netýkají, neboť již alergen
neobsahují (např. vysoce rafinovaný sojový olej)

Týká se pouze záměrně přidaných složek!

Alergeny

Nezáměrně přidané alergeny (do výrobku se dostaly kontaminací při výrobě nebo kontaminací surovin)

Výrobce musí v rámci dodržování správné výrobní praxe provádět maximální možná opatření, aby potravina byla bezpečná – v tomto případě, aby byla prostá alergenů, pokud nejsou deklarovány na obalu.

Pokud výrobce provede tato opatření, ale potravina stále obsahuje stopové množství alergenů → na obalu informace „Může obsahovat stopy...“ „obsahuje stopy...“

Co to jsou stopy?

Praktický přístup z pohledu laboratoře:

přiměřený násobek meze stanovitelnosti (obvykle desetinasobek)

většinou je výrazně vyšší, než prahové hodnoty



Alergeny – metody stanovení

Možné tři přístupy:

- imunochemické metody (zejména ELISA)
 - nejpoužívanější metoda – jednoduchá, rychlá metoda, problém porovnatelnosti souprav od různých výrobců založených na různých protilátkách -situace se postupně vylepšuje
- molekulárně biologické metody PCR – citlivá metoda, ne vždy kvalitativní
- metody kapalinové chromatografie s hmotnostní detekcí - zatím spíše teoretická možnost (proteomická analýza)



Senzorická analýza

Senzorickou analýzou rozumíme hodnocení potravin bezprostředně našimi smysly, včetně zpracování výsledků lidským centrálním nervovým systémem. Analýza probíhá za takových podmínek, kdy je zajištěno objektivní, přesné a reprodukovatelné měření (podstata každé vědecké disciplíny).

- Používané postupy záleží na tom, zda se hodnocení provádí v laboratoři nebo v terénu.
- Neexistuje jednotný manuál jak provádět senzorickou analýzu, vychází se z norem pro metodiku a komoditních norem.
- Rozhoduje trénink, zkušenost, tvorba vlastních databází např. vady výrobků a jejich příčin, tvorba standardů – paměťových, reálných, apod.



Senzorická analýza - předpoklady

Obecné principy pro použití senzorické analýzy jsou specifikovány v ČSN ISO 6658 - Senzorická analýza – Metodologie – Všeobecné pokyny

- Vyškolení pracovníci s dostatečnou zkušeností a odpovídajícími senzorickými schopnostmi nejlépe ověřenými absolvováním senzorických zkoušek, se znalostí terminologie v dané oblasti
- Vhodné prostory pro hodnocení – ideální senzorická laboratoř, kde se hodnotitele nemohou vzájemně ovlivňovat
- Pomůcky pro senzorické hodnocení (záleží na typu hodnocených potravin – u některých stačí talířek a nůž u jiných speciální skleničky nebo šálky)
- Metoda hodnocení



Senzorická analýza - metody

Různé druhy zkoušek:

1. rozdílové - pro určení pravděpodobnosti rozdílů nebo podobnosti výrobků
 - a) párová porovnávací zkouška;
 - b) trojúhelníková zkouška;
 - c) zkouška duo-trio;
 - d) zkouška dva z pěti;
 - e) zkouška „A – ne A“.
2. zkoušky využívající stupnice a kategorie - aby se určilo pořadí nebo velikost rozdílů nebo kategorie nebo třídy, do které vzorek patří
3. popisné zkoušky - pro identifikaci specifických senzorických vlastností přítomných ve vzorku
 - Hodnocení popisem s předtištěnými deskriptory - jednodušší, nevyžaduje tolik zkušeností
 - Hodnocení volným popisem - nutná znalost zbožíznalství, znalost senzorických pojmů, jednotný slovník, vyžaduje se trénink, zkušenost, spolupráce s ostatními hodnotiteli



Senzorická analýza – požadavky na zkušební prostory

Požadavky na zkušební prostory (zkušební prostor pro hodnocení, zařízení pro podávání vzorků, osvětlení, teplota a úroveň hluku...) specifikovány v ČSN ISO 8589



Senzorická analýza - Požadavky na senzorické schopnosti žadatelů

- schopnost rozpoznávání a vnímání základních chutí a pachů, schopnost barevného vidění
- rozlišení tzv. základních chutí: sladké, slané, kyselé, hořké, umami, kovové a svíravé
- schopnost určení těchto chutí již ve velmi nízkých koncentracích
- schopnost překonávat smyslovou únavu při několikanásobném opakovaném určení téhož vzorku
- zkoušena též schopnost žadatele pamatovat si intenzitu uvedených znaků posuzovaného vzorku.



Senzorická analýza – Co se sleduje?

Sleduje se

- Vzhled - vlastnost pozorovaná zrakem
- Vůně, aroma – vlastnost posuzovaná čichem
- Chuť – vlastnost posuzovaná chuťovým smyslem
- Textura - více smyslů, hmat, zrak, smysl pro teplotu

Hodnotí se

- Příjemnost
- Intenzita



Přehled metod pro kvality potravin

Mléčné výrobky

- Stanovení tuku
- Stanovení vody/sušiny
- Stanovení pH
- Stanovení titrační kyselosti
- Stanovení soli
- Stanovení bílkovin
- Stanovení rostlinného / mléčného tuku v mléčných výrobcích
- Důkaz/stanovení škrobu
- Rozlišení sýrů (kravské/kozí/ovčí)

Masné výrobky

- Stanovení tuku
- Stanovení vody/sušiny
- Stanovení bílkovin
- Stanovení čisté svalové bílkoviny
- Stanovení obsahu masa
- Stanovení aktivity vody
- Stanovení soli
- Stanovení nemasných bílkovin (sója, hrách)
- Stanovení kolagenu
- Stanovení polyfosfátů
- Důkaz/stanovení škrobu
- Stanovení krevních derivátů
- Mikrobiologie

Luštěniny, olejniny

Luštěniny

- Stanovení vlhkosti
- Senzorické hodnocení
- Propad sítem
- Stanovení obsahu příměsí a nečistot

Olejniny

- Stanovení vlhkosti
- Stanovení obsahu příměsí a nečistot
- Senzorické hodnocení (náchylnost ke žluknutí před uplynutím DMT!)
- Stanovení obsahu máku ve směsích máku s cukrem

Koření

- Senzorické hodnocení
- Stanovení vlhkosti
- Stanovení popela
- Stanovení silic
- Stanovení popela nerozpustného v kyselině
- Stanovení obsahu příměsí a nečistot
- Stanovení škrobu v mletém koření
- Stanovení mykotoxinů zejména aflatoxin
- Stanovení barviv (sudanových) – žluté, oranžové a červené koření nebo směsi

Sušené ovoce, skořápkové plody

Sušené ovoce

- Senzorické hodnocení
- Stanovení vlhkosti
- Stanovení refraktometrické sušiny
- Rozlišení sušené x proslazené ovoce
- Stanovení barviv
- Stanovení konzervačních látek vč. oxidu siřičitého
- Stanovení mykotoxinů (zejména ochratoxin)

Skořápkové plody

- Senzorické hodnocení (žluklost), u jader pinie – syndrom „hořkých úst“
- Stanovení vlhkosti
- Stanovení obsahu cizích příměsí
- Potvrzení odrůdy pinie (analýza mastných kyselin)
- Stanovení mykotoxinů (zejména aflatoxin)

Výrobky z ovoce a zeleniny

- Senzorické hodnocení
- Stanovení refraktometrické sušiny
- Stanovení kyselosti
- Stanovení pevného (odkapaného) podílu
- Stanovení obsahu ovocné složky
- Stanovení patulinu
- Stanovení barviv
- Stanovení konzervačních látek vč. oxidu siřičitého
- Stanovení soli

Víno

- Senzorické hodnocení
- Stanovení alkoholu
- Stanovení těkavých kyselin
- Stanovení oxidu siřičitého (volný, vázaný)
- Stanovení obsahu cukru (součet glukosa, fruktosa)
- Stanovení bezcukerného extraktu
- Stanovení kyseliny benzoové, sorbové
- Stanovení kyseliny citronové
- Identifikace barviv



Kontakt

UniConsulting, s.r.o.
Ctiněveská 2159
190 16 Praha 9 - Újezd nad Lesy

Tel.: +420 281 970 520
Fax: +420 281 973 735

E-mail: info@uniconsulting.cz

Web: www.uniconsulting.cz

www.uniconsulting.cz

