GUVERNUL REPUBLICII MOLDOVA

H O T Ă R Î R E nr._____

din _____

Chişinău

Cu privire la modificarea şi completarea Hotărîrii Guvernului nr. 686 din 13 septembrie 2012

Guvernul HOTĂRĂŞTE:

Hotărîrea Guvernului nr. 686 din 13 septembrie 2012 „Cu privire la aprobarea unor metode de analiză pentru controlul nutreţurilor” (Monitorul Oficial al Republicii Moldova, 2012, nr. 198-204, art. 741), cu modificările ulterioare, se modifică şi se completează după cum urmează:

1) în preambulul hotărîrii, textul „În conformitate cu prevederile Legii nr. 221-XVI din 19 octombrie 2007 privind activitatea sanitar-veterinară (Monitorul Oficial al Republicii Moldova, 2008, nr. 51-54, art. 153), cu modificările şi completările ulterioare, precum şi în vederea transpunerii prevederilor Regulamentului nr. 152/2009/CE din 27 ianuarie 2009 de stabilire a metodelor de eşantionare şi analiză pentru controlul oficial al nutreţurilor, publicat în Jurnalul Oficial al Uniunii Europene seria L nr. 54 din 26 februarie 2009 în baza normativă naţională,” se substituie cu textul „În conformitate cu prevederile art. 36 din Legea 221-XVI din 19 octombrie 2007 privind activitatea sanitar-veterinară (republicată în Monitorul Oficial al Republicii Moldova, 2013, nr. 125-129, art. 396), cu modificările şi completările ulterioare, precum şi în vederea transpunerii prevederilor Regulamentului nr. 152/2009/CE din 27 ianuarie 2009 de stabilire a metodelor de eşantionare şi analiză pentru controlul oficial al nutreţurilor, publicat în Jurnalul Oficial al Uniunii Europene seria L nr. 54 din 26 februarie 2009, p. 1, în baza normativă naţională,”;

2) la punctul l, textul „Metodele de eşantionare pentru controlul oficial al nutreţurilor, în vederea determinării constituenţilor, aditivilor şi a substanţelor nedorite, cu excepţia reziduurilor de pesticide şi a microorganismelor, conform anexei nr. 1;” se substituie cu textul „Metodele de eşantionare pentru controlul oficial al nutreţurilor, în vederea determinării constituenţilor, inclusiv materialelor care conţin, constau sau sînt produse din organisme modificate

genetic, a aditivilor pentru hrana animalelor, substanţelor nedorite şi a reziduurilor de pesticide, conform anexei nr. 1”;

3) anexele nr. 1, nr. 2, nr. 5 şi nr. 6 vor avea următorul cuprins:

„Anexa nr. 1
la Hotărîrea Guvernului nr.686
din 13 septembrie 2012

METODELE DE EŞANTIONARE
pentru controlul oficial al nutreţurilor, în vederea determinării constituenţilor, inclusiv materialelor care conțin, constau sau sînt produse din organisme modificate genetic, a aditivilor pentru hrana animalelor, substanţelor nedorite şi a reziduurilor de pesticide

1. DEFINIŢII

În sensul prezentului act normativ, noţiunile utilizate au următoarele semnificaţii:

lot – cantitate identificabilă de nutreţ care are anumite caracteristici comune confirmate, precum originea, varietatea, tipul ambalajului, ambalatorul, expeditorul sau etichetarea şi, în cazul unui proces de producţie, o unitate de producţie provenind dintr-o singură instalaţie care utilizează parametri de producţie uniformi sau mai multe astfel de unităţi, dacă sînt produse în mod continuu şi depozitate împreună;

lot eşantionat – cantitate de produs care constituie o unitate şi care are caracteristici presupuse a fi uniforme;

eşantion sigilat – eșantion sigilat astfel încît să împiedice orice acces la eşantion fără a distruge sau a elimina sigiliul;

eşantion agregat – combinaţie de eşantioane elementare prelevate din acelaşi lot eşantionat;

eşantion de laborator – eşantion destinat laboratorului, astfel cum este primit de laborator, şi care poate fi final, redus sau agregat;

eşantion elementar – cantitate prelevată dintr-un punct al lotului eşantionat;

eşantion colectiv – colecţie de eşantioane elementare prelevate din acelaşi lot uniform;

eşantion redus – parte reprezentativă a eşantionului colectiv, obţinută din acesta printr-un proces de reducere;

eşantion final – parte din eşantionul redus sau din eşantionul colectiv omogenizat.

2. METODE DE EŞANTIONARE

Eşantioanele destinate controlului oficial al nutreţurilor se prelevează oficial de către medicul veterinar care are experienţă practică dobîndită pe parcursul a cel puţin 2 ani.

Eşantionul trebuie să fie sigilat astfel încît să împiedice orice acces la eşantion fără a distruge sau a elimina sigiliul. Marcajul sigiliului trebuie identificat în mod clar şi vizibil. În mod alternativ, eşantionul poate fi pus într-un recipient care trebuie închis încît să nu poată fi deschis fără a deteriora în mod ireversibil recipientul, evitînd reutilizarea recipientului.

Pentru identificarea eşantionului cercetat, fiecare eşantion trebuie să poarte un marcaj de neşters şi trebuie să fie identificat încît să existe o legătură lipsită de ambiguitate cu raportul de eşantionare.

Din fiecare eşantion agregat sînt prelevate două eşantioane finale: unul pentru control şi unul pentru operatorul din domeniul hranei pentru animale. În final, poate fi prelevat un eşantion final pentru referinţă. În cazul în care eşantionul agregat complet se omogenizează, eşantioanele finale sînt prelevate din eşantionul agregat omogenizat, cu excepţia cazului în care această procedură este contrară reglementărilor în ceea ce priveşte dreptul operatorului din domeniul hranei pentru animale.

2.1. Dispozitive

Aparatura de prelevare de eşantioane trebuie să fie realizată din materiale care nu contaminează produsele de eşantionat.

Aparatura care este destinată pentru a fi utilizată de mai multe ori, trebuie să fie uşor de curăţat pentru a evita contaminarea încrucişată.

Această aparatură, cu excepţia celei descrise în punctul 2.2.1. trebuie verificată de către Institutul Naţional de Metrologie.

2.2. Aparatură recomandată pentru prelevarea eşantioanelor din nutreţuri solide

2.2.1. Prelevarea manuală

Pentru prelevarea manuală se folosesc lopata plată cu margini verticale şi sonda de eşantionare cu o fantă lungă sau compartimentată.

Dimensiunile sondei de eşantionare trebuie să fie caracteristice lotului eşantionat, ţinîndu-se cont de adîncimea recipientului, dimensiunile sacului, şi dimensiunilor particulelor nutreţului.

În cazul în care sonda de eșantionare are mai multe orificii, pentru a asigura faptul că eşantionul este prelevat în diferite locuri de-a lungul sondei, orificiile trebuie să fie separate prin compartimente sau orificii eşalonate secvenţial.

2.2.2. Prelevarea mecanică

Pentru prelevarea de eşantioane din nutreţurile în mişcare poate fi utilizată aparatură mecanică verificată.

Prelevarea de eşantioane din nutreţurile în mişcare, la rate de debit ridicat, poate fi efectuată de aparatură automată.

2.2.3. Separatorul

Aparatura destinată divizării eşantionului în părţi aproximativ egale poate fi folosită pentru prelevări de eşantioane elementare şi pentru prepararea eşantioanelor reduse şi finale.

3. CERINŢE CANTITATIVE PRIVIND NUMĂRUL DE EŞANTIOANE ELEMENTARE

3.1. Generalităţi privind prelevarea

Mărimea lotului eşantionat trebuie să permită eşantionarea fiecărei părţi constituente. În cadrul unui sistem de monitorizare obligatorie, se admit anumite derogări, doar cu acordul Agenţiei Naţionale pentru Siguranţa Alimentelor, de la cerinţele cantitative prevăzute în prezentul capitol, impuse pentru a lua în considerare caracteristicile operaţionale, cu condiţia că operatorul din domeniul hranei pentru animale poate demonstra într-un mod cert, echivalenţa procedurii de eşantionare în ceea ce priveşte reprezentativitatea acesteia.

3.2. Cerinţe cantitative în ceea ce priveşte eşantioanele elementare legate de controlul substanţelor sau al produselor uniform distribuite în nutreţuri

3.2.1. Nutreţuri în vrac şi numărul minim de eşantioane elementare:

1) pentru loturile eşantionate care nu depăşesc 2,5 tone metrice – cel puţin şapte eşantioane elementare;

2) pentru loturile eşantionate care depăşesc 2,5 tone metrice – 20 înmulţit cu numărul de tone metrice care compune lotul eşantionat. În cazul în care numărul obţinut este o fracţie, acesta se rotunjeşte la numărul întreg imediat superior pînă la maximum 40 de eşantioane elementare.

3.2.2. Nutreţuri în vrac lichide şi numărul minim de eşantioane elementare:

1) pentru loturile eşantionate care nu depăşesc 2,5 tone metrice sau 2 500 litri – cel puţin patru eşantioane elementare;

2) pentru loturile eşantionate care depăşesc 2,5 tone metrice sau 2 500 litri – cel puţin şapte eşantioane elementare.

În cazul în care nu este posibil să se obţină omogenizarea lichidului, numărul de eşantioane elementare trebuie să crească.

3.2.3. Nutreţuri ambalate şi numărul minim de eşantioane elementare:

1) pentru loturile eşantionate de la 1 pînă la 20 de unităţi – cel puţin un eşantion elementar;

2) pentru loturile eşantionate de la 21 pînă la 150 de unităţi – cel puţin trei eşantioane elementare;

3) pentru loturile eşantionate de la 151 pînă la 400 de unităţi – cel puţin cinci eşantioane elementare;

4) pentru loturile ce depăşesc 400 de unităţi – 1/4 din numărul de unităţi care compun lotul eşantionat, pînă la 40 de unităţi elementare.

Nutreţurile solide şi lichide pot fi ambalate în pungi, saci, cutii de metal, cuve care sînt menţionate în tabel ca unităţi. Unităţile mari (≥ 500 kg sau litri) trebuie să fie eşantionate în conformitate cu dispoziţiile prevăzute pentru nutreţuri în vrac, conform punctelor 3.2.1. şi 3.2.2. din prezenta anexă.

3.2.4. Blocuri de nutreţuri şi brichete minerale cu numărul minim de blocuri sau brichete de eşantionat

Minimum un bloc sau o brichetă trebuie eşantionat(ă) per lot eşantionat de 25 de unitaţi, pînă la un maxim de patru blocuri sau brichete.

În cazul blocurilor sau brichetelor care nu cîntăresc mai mult de 1 kg fiecare, un eşantion elementar este reprezentat de conţinutul unui bloc sau al unei brichete.

3.2.5. Nutreţuri grosiere/nutreţ

1) pentru loturile eşantionate mai mici de 5 tone – cel puţin cinci eşantioane elementare;

2) pentru loturile eşantionate mai mari de 5 tone – 5 înmulţit cu numărul de tone care compun lotul eşantionat, dar pînă la 40 de eşantioane elementare.

3.2.6. Cerinţe cantitative în ceea ce priveşte eşantioanele elementare legate de controlul substanţelor care pot fi distribuite neuniform în masa de nutreţuri

Cerinţele cantitative în ceea ce priveşte eşantioanele elementare trebuie utilizate în următoarele situaţii:

1) controlul alfatoxinelor, al cornului-secarei, al altor micotoxine şi impurităţi botanice dăunătoare în materiile prime pentru nutreţuri;

2) controlul contaminării încrucişate printr-un constituent, inclusiv material MG, sau substanţă pentru care este preconizată o distribuţie neuniformă în materiile prime pentru nutreţuri.

În cazul în care Agenţia Naţională pentru Siguranţa Alimentelor are suspiciuni privind apariţia unei astfel de distribuţii neuniforme şi în cazul unei contaminări încrucişate printr-un constituent sau printr-o substanţă într-un nutreţ combinat, se pot aplica următoarele cerinţe cantitative:

a) pentru lotul eşantionat mai mic de 5 tone – cel puţin 12 eşantioane elementare;

b) pentru loturile eşantionate de la 5 pînă la 80 de tone – 5 înmulţit cu numărul de tone care compun lotul eşantionat, dar pînă la 80 de eşantioane elementare;

c) pentru lotul eşantionat mai mare de 80 de tone – 100 eşantioane elementare.

3.2.7. Cerinţe cantitative în ceea ce priveşte eşantionul agregat

Un eşantion agregat reprezintă un lot eşantionat, iar volumul minim al acestora este:

1) nutreţuri în vrac – 4 kg;

2) nutreţuri ambalate – 4 kg;

3) nutreţuri lichide sau semilichide – 4 litri;

4) blocuri de nutreţuri sau brichete minerale cîntărind mai puţin de 1 kg fiecare – greutatea a patru blocuri sau brichete originare;

5) blocuri de nutreţuri sau brichete minerale cîntărind mai mult de 1 kg fiecare – 4 kg;

6) nutreţuri grosiere/nutreţ – 4 kg.

3.2.8. Cerinţe cantitative în ceea ce priveşte eşantioanele finale

Trebuie efectuată analiza a cel puţin unui eşantion final. Cantitatea din eşantionul final de analizat nu poate fi mai mica decît cantitaţile de mai jos:

1) nutreţuri solide – 500 g;

2) nutreţuri lichide sau semilichide – 500 ml.

Pentru controlul prezenţei materialului modificat genetic, eşantionul final trebuie să conţină cel puţin 10 000 de seminţe/boabe. Pentru porumb dimensiunea eşantionului final trebuie să fie de cel puţin 3 000 g şi pentru soia de 2 000 g. Pentru alte seminţe şi boabe, precum orzul, meiul, ovăzul, orezul, secara, grîul şi seminţele de rapiţă, dimensiunea eşantionului final de 500 g corespunde unui număr de peste 10 000 de seminţe.

3.2.9. Metoda de eşantionare pentru loturi foarte mari (> 500 tone) sau loturi transportate sau depozitate în antrepozite, într-un mod care nu permite eşantionarea întregului lot.

În cazul în care modul de transportare sau de depozitare a unui lot nu permite prelevarea de eşantioane elementare din întregul lot, eşantionarea unor astfel de loturi trebuie să fie efectuată atunci cînd lotul se află în flux.

Eşantionarea trebuie să fie efectuată pe partea accesibilă a lotului. Numărul de eşantioane elementare este stabilit de dimensiunea lotului eşantionat. În cazul eşantionării unei părţi dintr-un lot de nutreţuri din aceeaşi clasă sau care au aceeaşi descriere, se presupune că rezultatele sînt valabile pentru toate nutreţurile din acel lot.

3.2.10. Prelevarea de eşantioane din spaţii de depozitare accesibile din partea de sus (pentru silozuri deschise)

Eşantionarea trebuie să fie efectuată pe partea accesibilă a lotului. Numărul de eşantioane elementare este stabilit de dimensiunea lotului eşantionat. În cazul eşantionării unei părţi dintr-un lot de nutreţuri din aceeaşi clasă sau care are aceeaşi descriere, se presupune că rezultatele sînt valabile pentru toate nutreţurile din acel lot.

3.2.11. Prelevarea de eşantioane din silozuri care nu sînt accesibile din partea de sus (pentru silozuri închise)

Nutreţurile depozitate în silozuri de peste 100 tone nu pot fi eşantionate în mod static. În cazul în care nutreţul din siloz trebuie să fie eşantionat şi nu există nicio posibilitate de a deplasa lotul, trebuie să se ajungă la un acord cu operatorul conform căruia aceasta trebuie să informeze inspectorul cu privire la momentul în care silozul va fi descărcat pentru a permite eşantionarea atunci cînd nutreţul este în flux. Procedura de eşantionare a nutreţurilor depozitate în silozuri cu volum mai mic de 100 tone implică introducerea într-un recipient a unei cantităţi de 50-100 kg şi prelevarea eşantionului din aceasta. Dimensiunea eşantionului agregat corespunde cu întregul lot, iar numărul de eşantioane elementare este

legat de cantitatea din siloz introdusă într-un recipient pentru eşantionare. În cazul eşantionării unei părţi dintr-un lot de nutreţ din aceeaşi clasă sau care are aceeaşi descriere se presupune că rezultatele sînt valabile pentru toate nutreţurile din acel lot.

4. INSTRUCŢIUNI PENTRU PRELEVAREA, PREPARAREA ŞI AMBALAREA EŞANTIOANELOR

4.1. Cerinţe generale

Eşantioanele se prelevează şi se prepară, evitîndu-se posibilitatea ca produsul să fie modificat sau contaminat.

Instrumentele, suprafeţele de lucru şi recipientele destinate eşantionării trebuie să fie curate şi uscate.

4.2. Eşantioane elementare

4.2.1. În relaţie cu controlul substanţelor sau produselor uniform distribuite în nutreţuri

Eşantioanele elementare trebuie să fie prelevate în mod aleatoriu din întregul lot eşantionat, iar dimensiunile lor trebuie să fie aproximativ egale.

Dimensiunea eşantionului elementar este de cel puţin 100 g sau 25 g în cazul nutreţurilor grosiere sau al nutreţului cu o greutate specifică redusă.

În cazul eşantionării loturilor de dimensiuni reduse de nutreţuri ambalate, conform cerinţelor cantitative, trebuie să fie prelevat un număr limitat de eşantioane elementare. Un eşantion elementar este reprezentat de conţinutul unei unităţi originare al cărei conţinut nu depăşeşte 1 kg sau un litru.

4.2.2. Nutreţuri în vrac

Dacă este cazul, eşantionarea poate fi efectuată atunci cînd lotul este în mişcare prin încărcare sau descărcare.

4.2.3. Nutreţuri ambalate

După selectarea pentru eşantionare a numărului necesar de ambalaje, conform indicaţiilor de la capitolul 3 din prezenta anexă, o parte a conţinutului fiecărui ambalaj se scoate folosind o sondă sau o lopată. Dacă este cazul, eşantioanele se prelevează după ce ambalajele au fost golite separat.

4.2.4. Nutreţuri lichide sau semilichide, omogene sau omogenizabile

După selectarea pentru eşantionare a numărului necesar de recipiente, în conformitate cu indicaţiile de la capitolul 3 din prezenta anexă, conţinutul lor se omogenizează, dacă este necesar, şi se prelevează o cantitate din fiecare recipient.

Eşantioanele elementare pot fi prelevate la descărcarea conţinutului.

4.2.5. Nutreţuri lichide sau semilichide, neomogenizabile

După selectarea pentru eşantionare a numărului necesar de containere, în conformitate cu indicaţiile de la capitolul 3 din prezenta anexă, eşantioanele se prelevează de la diferite niveluri.

Eşantioanele se pot preleva şi în timpul descărcării conţinutului, dar primele fracţiuni se îndepărtează.

În oricare dintre cazuri, volumul total prelevat nu trebuie să fie mai mic de 10 litri.

4.2.6. Blocuri de nutreţuri şi brichete minerale

După selectarea pentru eşantionare a numărului necesar de blocuri sau brichete, conform indicaţiilor de la capitolul 3 din prezenta anexă, se prelevează o parte din fiecare bloc sau brichetă.

În cazul blocurilor sau brichetelor care nu cîntăresc mai mult de 1 kg fiecare, un eşantion elementar este reprezentat de conţinutul unui bloc sau al unei brichete.

4.2.7. În relaţie cu controlul substanţelor sau al produselor nedorite care ar putea fi distribuite neuniform în masa de nutreţuri, cum ar fi alfatoxinele, cornul-secarei, ricinul şi crotalaria din materiile prime pentru nutreţuri

Se prelevează eşantioane cu mărimi aproximativ egale, iar pentru nutreţurile ambalate o parte a conţinutului ambalajelor de eşantionat se prelevează prin utilizarea unei sonde sau a unei lopeţi, după golirea separată a ambalajelor, dacă este cazul, astfel încît cantitatea totală a eşantioanelor provenite din fiecare parte să nu fie mai mică decît cantitatea minimă de 4 kg necesară pentru fiecare eşantion colectiv.

Eşantioanele elementare prelevate din diferite părţi nu se consideră colective.

4.2.8. Prepararea eşantioanelor agregate

Eşantioanele elementare se amestecă pentru a forma un singur eşantion agregat.

4.3. Prepararea eşantioanelor colective

4.3.1. În relaţie cu controlul substanţelor sau al produselor cu distribuţie uniformă în masa de nutreţuri

Eşantioanele elementare se amestecă pentru a forma un singur eşantion colectiv.

4.3.2. În relaţie cu controlul substanţelor sau al produselor nedorite care ar putea fi distribuite neuniform în masa de nutreţuri, cum ar fi alfatoxinele, cornul-secarei, ricinul şi crotalaria din materii prime pentru nutreţuri

Eşantioanele elementare prelevate din fiecare parte a lotului eşantionat se amestecă şi se constituie numărul de eşantioane colective din prezenta anexă, notînd provenienţa fiecărui eşantion colectiv.

4.4. Prepararea eşantioanelor finale

Materialul din eşantionul agregat se amestecă cu grijă. Fiecare eşantion este introdus într-un recipient. Se iau toate precauţiile necesare pentru evitarea oricărei modificări de compoziţie a eşantionului, a contaminării sau falsificării, care ar putea avea loc în timpul transportării sau depozitării. În cazul controlului constituenţilor sau substanţelor uniform distribuite în întregul nutreţ, eşantionul agregat poate fi redus în mod reprezentativ la cel puţin 2 kg sau 2 litri.

Pentru controlul prezenţei de reziduuri de pesticide în leguminoase, boabe de cereale şi fructe nucifere, dimensiunea minimă a eşantionului redus este de 3

kg. În cazul în care natura nutreţului nu permite utilizarea unui separator sau separatorul nu este disponibil, eşantionul poate fi redus prin metoda sferturilor.

Din eşantioanele reduse se prepară eşantioanele finale, pentru control apărare şi referinţă, de o dimensiune aproximativ egală, în conformitate cu cerinţele de la punctul 3.2.8. din prezenta anexă.

În cazul controlului constituenţilor, inclusiv materialul modificat genetic sau substanţele care ar putea fi distribuite neuniform în materiile prime pentru nutreţuri, eşantionul agregat trebuie să fie complet omogenizat şi împărţit ulterior în eşantioane finale sau redus la cel puţin 2 kg sau 2 litri prin utilizarea unui separator mecanic sau automat.

În cazul în care natura nutreţului nu permite utilizarea unui separator, eşantionul poate, dacă este necesar, să fie redus prin metoda sferturilor. Pentru controlul prezenţei materialului modificat genetic, eşantionul redus trebuie să conţină cel puţin 35 000 de seminţe/boabe pentru a permite obţinerea eşantioanelor finale de cel puţin 10 000 de seminţe.

4.5. Ambalarea eşantioanelor

Recipientele sau ambalajele se sigilează şi se etichetează, astfel încît acestea să nu poată fi deschise fără a deteriora sigiliul. Eticheta completă se încorporează în sigiliu.

4.6. Expedierea eşantioanelor la laborator

Eşantionul trebuie să fie expediat la laboratorul naţional de referinţă împreună cu informaţiile necesare laborantului. Conform prevederilor art. 3 pct. (2) lit. b) din Legea nr. 221 din 19 octombrie 2007 privind activitatea sanitar-veterinară, în calitate de laborator de referinţă este desemnată Instituția publică „Centrul Republican de Diagnostică Veterinară”.

5. PROCESUL-VERBAL DE PRELEVARE ŞI DESTINAŢIA EŞANTIOANELOR

Pentru fiecare eşantion se întocmeşte un proces-verbal, care permite identificarea fără ambiguităţi a lotului eşantionat şi a dimensiunii acestuia.

În procesul-verbal trebuie să fie menţionată, de asemenea, orice abatere de la procedura de eşantionare, astfel cum se prevede în prezenta hotarîre.

Procesul-verbal trebuie să fie pus atît la dispoziţia laboratorului național de referință, cît și la dispoziţia operatorului din domeniul hranei pentru animale.

Anexa nr. 2
la Hotărîrea Guvernului nr.686
din 13 septembrie 2012

METODELE DE PREPARARE
a eşantioanelor pentru analiză şi exprimarea rezultatelor

1. PREPARAREA EŞANTIOANELOR PENTRU ANALIZĂ

1.1. Cerinţe generale

Procedurile descrise se referă la prepararea pentru examinarea eşantioanelor finale, trimise laboratorului naţional de referinţă, după eşantionare, conform indicaţiilor din anexa nr.1 la prezenta hotărîre.

Prepararea acestor eşantioane trebuie efectuată astfel încît cantităţile prelevate, în conformitate cu dispoziţiile din metoda de analiză, să fie omogene şi reprezentative pentru eşantioanele finale.

1.2. Măsuri de precauţie

Procedura de preparare a eşantioanelor care trebuie urmată este dependentă de metodele de analiză utilizată şi este de importanţă majoră pentru a se asigura ca procedura de preparare a eşantioanelor urmată trebuie să fie adecvată metodei de analiză utilizate.

Toate operaţiunile necesare se efectuează pentru a se evita contaminarea eşantionului şi modificarea compoziţiei acestuia.

Măcinarea, amestecarea şi cernerea se efectuează în condiţiile unei expuneri minime a eşantionului la aer şi la lumină. Nu se utilizează rîşniţe sau aparate de măcinat care ar putea cauza încălzirea semnificativă a eşantionului.

Se recomandă ca nutreţurile foarte sensibile la căldură să fie măcinate manual. De asemenea, aparatura folosită nu trebuie să constituie o sursă de contaminare cu oligoelemente.

Dacă prepararea nu poate fi efectuată fără modificări semnificative ale conţinutului umed al eşantionului, se determină conţinutul umed înainte şi după pregătire, în conformitate cu metoda menţionată în capitolul I din anexa nr. 3 la prezenta hotărîre.

1.3. Procedura de preparare

Se divizează eşantionul în subeşantioane, în vederea analizării şi trimiterii, prin utilizarea unor tehnici de separare, cum ar fi eşantionarea alternativă cu ajutorul lopeţii sau eşantionarea în condiţii staţionare sau rotative.

Formarea unui con şi selectarea de sferturi nu este recomandată deoarece ar putea să se formeze subeşantioane care să dea naştere la erori de separare mari.

Eşantionul de trimis se păstrează într-un recipient adecvat, curat şi uscat, prevăzut cu un capac ermetic, iar subeşantioanele de analizat, cu greutate de cel

puţin 100 g se prepară în modul indicat în punctele 1.3.1.-1.3.4. din prezenta anexă.

1.3.1. Nutreţuri care pot fi măcinate ca atare

Se amestecă eşantionul final trecut prin sită și se introduce într-un recipient adecvat, curat şi uscat, dotat cu un capac ermetic. Se amestecă din nou pentru a asigura o omogenizare completă, imediat înainte de prelevarea cantităţii pentru analiză.

1.3.2. Nutreţuri care pot fi măcinate după uscare

Dacă nu se specifică altfel în metodele de analiză, eşantionul se deshidratează astfel încît umiditatea sa să fie redusă la 8-12%, în conformitate cu procedura de preuscare descrisă la punctul 1.4.3. din metoda de determinare a umidităţii, menţionată în capitolul I din anexa nr. 3 la prezenta hotărîre.

În continuare se procedează astfel cum se indică în punctul 1.3.1. din prezenta anexă.

1.3.3. Nutreţuri lichide sau semilichide

Eşantioanele se recoltează într-un recipient adecvat, curat şi uscat, dotat cu un capac ermetic. Se amestecă minuţios pentru a se asigura o omogenizare completă, imediat înainte de prelevarea eşantionului de analizat.

1.3.4. Alte nutreţuri

Eşantioanele care nu pot fi preparate conform unei proceduri indicate anterior se tratează prin orice altă procedură prin care se asigură că eşantioanele prelevate în vederea analizării sînt omogene şi reprezentative pentru eşantioanele finale.

1.3.5. Proceduri specifice în cazul examinării vizuale sau la microscop dacă întregul eşantion se omogenizează

În cazul unei examinări prin inspecţie vizuală, fără a recurge la microscop, întregul eşantion de laborator se utilizează pentru examinare.

În cazul unei examinări microscopice, laboratorul poate reduce eşantionul agregat sau poate efectua o reducere ulterioară a eşantionului redus. Eşantioanele finale pentru apărare şi, în cele din urmă, pentru referinţă sînt prelevate în urma unei proceduri echivalente cu procedura urmată pentru eşantionul final.

Atunci cînd întregul eşantion agregat este omogenizat, eşantioanele finale sînt prelevate din eşantionul agregat omogenizat.

1.4. Depozitarea eşantioanelor

Eşantioanele trebuie păstrate în condiţii care nu afectează negativ caracteristicile fizico-chimice şi siguranţa produsului, astfel încît după prelevare eşantioanele sînt expediate la laborator, al cărora timp al expedierii nu va depăşi 48 de ore din momentul prelevării. Acestea fiind conservate prin refrigerare la temperatura de +2…+4°C, în recipiente sterile din plastic. Eşantioanele destinate analizării prezenţei vitaminelor sau substanţelor foarte sensibile la lumină sînt păstrează în recipiente de sticlă brună. Toate eşantioanele trimise la laborator trebuie păstrate pînă la obţinerea rezultatelor finale.

2. CERINŢELE FAŢĂ DE REACTIVI ŞI APARATURA UTILIZATĂ ÎN METODELE DE ANALIZĂ

2.1. Dacă nu se specifică altfel în metodele de analiză, toţi reactivii destinaţi analizelor trebuie să fie puri din punct de vedere analitic. Pentru analiza prezenţei oligoelementelor, puritatea reactivilor se controlează printr-un test martor. În funcţie de rezultatele obţinute, poate fi necesară o purificare suplimentară a reactivilor.

2.2. Pentru orice operaţie care implică prepararea soluţiilor, diluţia, clătirea sau spălarea, menţionate în metodele de analiză şi pentru care nu există indicaţii referitoare la natura solventului sau diluantului, se utilizează apa. Ca regulă generală, se utilizează apă demineralizată sau distilată. În cazuri speciale, care sînt indicate în metodele de analiză, apa trebuie supusă unor proceduri de purificare speciale.

Avînd în vedere dotarea uzuală a laboratoarelor de control, în metodele de analiză se menţionează doar instrumentele şi aparatura destinată pentru acest scop. Ele trebuie să fie curate.

3. APLICAREA METODELOR DE ANALIZĂ ŞI EXPRIMAREA REZULTATELOR

3.1. Procedura de extracţie

O serie de metode determină o procedură de extracţie specifică. Ca regulă generală, se pot aplica alte proceduri de extracţie decît cea la care se face referire în metodă, dacă s-a dovedit că procedura de extracţie utilizată are pentru matricea analizată, o eficienţă de extracţie echivalentă cu procedura menţionată în metodă.

3.2. Procedura de purificare

O serie de metode determină o procedură de purificare specifică. Ca regulă generală, se pot aplica alte proceduri de purificare decît cea la care se face referire în metodă, dacă s-a dovedit că procedura de purificare utilizată determină, pentru matricea analizată, rezultate analitice echivalente cu procedura menţionată în metodă.

3.3. Raportarea metodei de analiză utilizate

În general, pentru determinarea fiecărei substanţe în nutreţuri se stabileşte o singură metodă de analiză. În cazul în care sînt indicate mai multe metode, în buletinul de analiză se specifică metoda aplicată de laboratorul national de referință.

3.4. Numărul determinărilor

Rezultatul indicat în buletinul de analiză reprezintă valoarea medie obţinută în urma a cel puţin două determinări efectuate pe porţiuni distincte ale eşantionului.

În cazul analizelor de detectare a substanţelor indezirabile, dacă rezultatul primei determinări este semnificativ (>50%) mai mic decît specificaţia de control, nu sînt necesare alte determinări, cu condiţia să fie aplicate proceduri calitative.

În cazul controlului privind conţinutul declarat pentru o anumită substanţă sau un anumit ingredient, dacă rezultatul primei determinări confirmă conţinutul declarat, adică rezultatul analizei se situează în interiorul intervalului de variaţie acceptat, nu sînt necesare alte determinări, cu condiţia să fie aplicate proceduri calitative.

3.5. Raportarea rezultatului analitic

Rezultatul analitic se exprimă în modul indicat în metoda de analiză, printr-un număr adecvat de cifre semnificative şi se ajustează, dacă este cazul, la conţinutul de umiditate al eşantionului final înainte de preparare.

3.6. Incertitudinea de măsurare şi rata de recuperare în cazul analizelor de detectare a substanţelor nedorite

În ceea ce priveşte substanţele nedorite, prevăzute în anexa nr. 5 la prezenta hotărîre, inclusiv dioxina şi policlorobifenil (în continuare – PCB) asemănători dioxinei, un produs destinat utilizării în nutreţuri se consideră neconform privind conţinutul maxim acceptat, referitor la un nutreţ cu un conţinut de umiditate de 12%, dacă rezultatul analitic este considerat că depăşeşte conţinutul maxim, ţinînd cont de incertitudinea de măsurare extinsă şi ajustarea pentru recuperare. Pentru a evalua conformitatea, concentraţia analizată se utilizează după ce a fost corectată pentru recuperare şi după deducerea incertitudinii de măsurare extinse. Această procedură este aplicabilă doar în cazurile în care metoda de analiză permite estimarea incertitudinii de măsurare şi ajustarea pentru recuperare, procedură care este imposibilă în cazul analizelor la microscop.

În măsura în care metoda de analiză utilizată permite estimarea incertitudinii de măsurare şi a ratei de recuperare, rezultatul analitic se raportează în modul următor:

1) ajustat pentru recuperare, nivelul de recuperare fiind indicat. Ajustarea pentru recuperare nu este necesară în cazul în care rata de recuperare este între 90 şi 110%;

2) ca indicele x+/–U, unde x este rezultatul analitic şi U este incertitudinea de măsurare extinsă, folosind un factor de acoperire 2, care dă un nivel de încredere de aproximativ 95%.

Dacă rezultatul analizei este semnificativ (>50%) mai mic decît specificaţia de control şi cu condiţia ca procedurile calitative corespunzătoare să fie aplicate şi analiza să servească doar verificării conformităţii cu prevederile

legale, rezultatul analitic ar putea fi raportat fără ajustare pentru recuperare, iar raportarea ratei de recuperare şi a incertitudinii de măsurare ar putea fi omisă în aceste cazuri.”;

„Anexa nr. 5
la Hotărîrea Guvernului nr.686
din 13 septembrie 2012

METODELE DE ANALIZĂ
pentru controlul substanţelor nedorite în nutreţuri

1. DETERMINAREA CONŢINUTULUI DE GOSIPOL LIBER ŞI TOTAL

1.1. Obiectiv şi domeniu de aplicare

Prezenta metodă permite determinarea nivelurilor de gosipol liber, de gosipol total şi de substanţe chimic înrudite cu acesta din sămînţă de bumbac, făină de sămînţă de bumbac şi brichete de sămînţă de bumbac şi din nutreţuri combinate care conţin aceste materii prime pentru nutreţuri, atunci cînd gosipolul liber, gosipolul total şi substanţele chimic înrudite cu acesta sînt prezente în concentraţie mai mare de 20 mg/kg.

1.2. Principiul de aplicare

Gosipolul se extrage în prezenţa a 3-aminopropan-1-ol, fie cu un amestec de propan-2-ol şi hexan, pentru determinarea gosipolului liber, fie cu dimetilformamidă, pentru determinarea gosipolului total. Gosipolul este convertit de anilină în gosipol-dianilină, a cărei densitate optică se măsoară la lungimea de undă de 440 nm.

1.3. Reactivi utilizaţi

1.3.1. Amestec de propan-2-ol-hexan: se amestecă 60 de părţi volumetrice de propan-2-ol cu 40 de părţi volumetrice de *n*-hexan.

1.3.2. Solvent A: Se plasează într-un balon gradat de 1 litru aproximativ 500 ml de amestec de propan-2-ol-hexan, 2 ml de 3-aminopropan-1-ol, 8 ml de acid acetic glacial şi 50 ml de apă. Se aduce la volum cu amestec de propan-2-ol-hexan. Acest reactiv este stabil timp de o săptămînă.

1.3.3. Solvent B: Se pipetează 2 ml de 3-aminopropan-1-ol şi 10 ml de acid acetic glacial într-un balon gradat de 100 ml. Se răceşte la temperatura camerei şi se aduce la volum cu N, N-dimetilformamidă. Acest reactiv este stabil timp de o săptămînă.

1.3.4. Anilină: Dacă densitatea optică a testului martor depăşeşte 0,022, se distilează anilina peste praf de zinc, îndepărtînd primele şi ultimele fracţiuni de 10% de distilat. Acest reactiv este răcit în frigider, este depozitat într-un vas din sticlă brună cu dop şi se păstrează timp de cîteva luni.

1.3.5. Soluţie etalon de gosipol A: Se plasează 27,9 mg de acetat de gosipol într-un balon gradat de 250 ml. Se dizolvă şi se aduce la volum cu solvent A. Se pipetează 50 ml din această soluţie într-un balon gradat de 250 ml şi se completează pînă la volum cu solvent A. Concentraţia de gosipol a acestei soluţii este de 0,02 mg/ml. Se lasă să stea timp de o oră la temperatura camerei înainte de utilizare.

1.3.6. Soluţie etalon de gosipol B: Se plasează 27,9 mg de acetat de gosipol într-un balon gradat de 50 ml, se dizolvă şi se aduce la volum cu solvent B. Concentraţia de gosipol a acestei soluţii este de 0,5 mg/ml.

Soluţiile etalon de gosipol A şi B rămîn stabile timp de 24 de ore dacă sînt protejate de lumină.

1.4. Dispozitive

1.4.1. Mixer: aproximativ 35 rpm.

1.4.2. Spectrofotometru.

1.5. Procedura de preparare

1.5.1. Eşantionul de testat

Cantitatea de eşantion de testat folosită depinde de conţinutul estimat de gosipol al eşantionului. Se lucrează cu un eşantion de testat mic şi cu o parte alicotă de filtrat relativ mare, pentru a obţine suficient gosipol pentru a permite măsurarea fotometrică precisă. Pentru determinarea gosipolului liber din sămînţă de bumbac, făină de sămînţă de bumbac şi din brichetele de sămînţă de bumbac, eşantionul de testat nu depăşeşte 1 g. Pentru nutreţurile combinate, aceasta poate fi de maximum 5 g. O parte alicotă de 10 ml de filtrat este suficientă în majoritatea cazurilor. Aceasta conţine între 50 şi 100 µg de gosipol. Pentru determinarea gosipolului total, eşantionul de testat este între 0,5 g şi 5 g, pentru ca o parte alicotă de 2 ml de filtrat să conţină între 40 şi 200 µg de gosipol. Analiza se efectuează la o temperatură a camerei de aproximativ 20°C.

1.5.2. Determinarea gosipolului liber

Se plasează eşantionul de testat într-un balon cu gît şlefuit de 250 ml, fundul balonului fiind acoperit cu sticlă pisată. Utilizînd o pipetă, se adaugă 50 ml de solvent A, se astupă balonul şi se amestecă timp de o oră în mixer. Se filtrează printr-un filtru uscat şi se colectează filtratul într-un balon mic cu gît şlefuit. În timpul filtrării se acoperă pîlnia cu o sticlă de ceas.

Se pipetează părţi alicote identice de filtrat conţinînd 50-100 µg de gosipol în fiecare din cele două baloane gradate de 25 ml (A şi B). Dacă este necesar, se aduce la volum pînă la 10 ml cu solvent A. Apoi se completează conţinutul balonului A pînă la volum cu amestec de propan-2-ol-hexan. Această soluţie va fi folosită ca soluţie de referinţă faţă de care se măsoară soluţia de eşantion.

Se pipetează 10 ml de solvent A în fiecare din celelalte două baloane gradate de 25 ml (C şi D). Se completează conţinutul balonului C pînă la volum cu amestec de propan-2-ol-hexan. Această soluţie va fi utilizată ca soluţie de referinţă faţă de care se măsoară soluţia testului martor.

Se adaugă 2 ml de anilină în fiecare din baloanele D şi B. Se încălzesc timp de 30 de minute deasupra unei băi de apă în fierbere, pentru a apărea culoarea. Se răcesc la temperatura camerei, se aduc la volum cu amestec de propan-2-ol-hexan, se omogenizează şi se lasă să stea timp de o oră.

Se determină densitatea optică a soluţiei testului martor D, prin comparaţie cu soluţia de referinţă C, precum şi densitatea optică a soluţiei de eşantion B, prin comparaţie cu soluţia de referinţă A, în spectrofotometru la 440 nm folosind celule de sticlă de 1 cm.

Se scade densitatea optică a soluţiei testului martor din cea a soluţiei de eşantion, ceea ce reprezintă densitatea optică corectată. Din această valoare se calculează conţinutul în gosipol liber, conform indicaţiilor de la punctul 1.6. din prezenta anexă.

1.5.3. Determinarea gosipolului total

Se plasează un eşantion de testat care conţine 1-5 mg de gosipol într-un balon gradat de 50 ml şi se adaugă 10 ml de solvent B. În acelaşi timp, se prepară un test martor, adăugîndu-se 10 ml de solvent B în alt balon gradat de 50 ml. Se încălzesc cele două baloane timp de 30 de minute deasupra unei băi de apă în fierbere. Se răcesc la temperatura camerei şi se completează conţinutul fiecărui balon pînă la volum cu un amestec de propan-2-ol-hexan. Se omogenizează şi se lasă să se depună timp de 10-15 minute, apoi se filtrează şi se colectează filtratele în baloane cu gît şlefuit.

Se pipetează 2 ml de filtrat de eşantion în fiecare din cele două baloane gradate de 25 ml, şi 2 ml de filtrat al testului martor în fiecare din celelalte două baloane de 25 ml. Se completează conţinutul unui balon din fiecare serie pînă la 25 ml cu amestecul de propan-2-ol-hexan. Aceste soluţii sînt utilizate ca soluţii de referinţă.

Se adaugă 2 ml de anilină în fiecare dintre celelalte două baloane. Se încălzesc timp de 30 de minute deasupra unei băi de apă în fierbere pînă va apărea culoarea. Se răcesc la temperatura camerei, se aduc la volumul de 25 ml cu amestecul de propan-2-ol-hexan, se omogenizează şi se lasă să stea timp de o oră. Se determină densitatea optică în conformitate cu indicaţiile de la subpunctul 1.5.2., pentru gosipolul liber. Din această valoare se calculează conţinutul de gosipol total, în conformitate cu indicaţiile de la punctul 1.6. din prezenta anexă.

1.6. Calcularea rezultatelor

Rezultatele pot fi calculate fie pe baza densităţii optice specifice, menţionate în subpunctul 1.6.1., fie prin referire la o curbă de calibrare, conform prevederilor descrise în punctul 1.6.2. din prezenta anexă.

1.6.1. Cu ajutorul densităţii optice specifice

Densităţile optice specifice, în condiţiile descrise, sînt următoarele:

1) Gosipolul liber E × 1%/ 1 cm = 625;
2) Gosipolul liber E × 1%/ 1 cm = 600.

Conţinutul de gosipol liber sau de gosipol total al eşantionului este calculat folosind următoarea formulă:

$$\% \text{ gosipol}: E \times 1250/E^{1\%}_{1cm} \times p \times a,$$

unde:

E = densitatea optică corectată, determinată conform indicaţiilor de la subpunctul 1.5.2.;

p = eşantion de testat, în g;

a = partea alicotă a filtratului, în ml.

1.6.2. Cu ajutorul curbei de calibrare

1) Gosipolul liber

Se prepară 2 serii de cinci baloane gradate de 25 ml. Se pipetează părţi alicote de 2, 4, 6, 8 şi 10 ml de soluţie etalon de gosipol A în fiecare serie de baloane. Se aduc la volum pînă la 10 ml cu solventul A. Se completează fiecare serie cu un balon gradat de 25 ml conţinînd numai 10 ml de solvent A, care reprezintă testul martor.

Se aduc la volum baloanele din prima serie, inclusiv balonul testului martor, pînă la 25 ml cu un amestec de propan-2-ol-hexan, care reprezintă serii de referinţă.

Se adaugă 2 ml de anilină la fiecare din baloanele din a doua serie, inclusiv balonul testului martor. Se încălzesc timp de 30 de minute deasupra unei băi de apă în fierbere, pînă va apărea culoarea. Se răcesc la temperatura camerei, se aduc la volum cu un amestec de propan-2-ol-hexan, se omogenizează şi se lasă să stea o oră, care reprezintă serii etalon.

Se determină, conform indicaţiilor de la subpunctul 1.5.2. din prezenta anexă, densitatea optică a soluţiilor din seriile etalon, prin comparaţie cu soluţiile corespunzătoare din seriile de referinţă. Se trasează curba de calibrare prin reprezentarea grafică a densităţilor optice în raport cu cantităţile de gosipol, în μg.

2) Gosipolul total

Se prepară şase baloane gradate de 50 ml. În primul balon se plasează 10 ml de solvent B, iar în celelalte – 2, 4, 6, 8 şi 10 ml de soluţie etalon de gosipol B. Se completează conţinutul fiecărui balon pînă la 10 ml cu solvent B. Se încălzesc timp de 30 de minute într-o baie de apă în fierbere. Se răcesc la temperatura camerei, se completează volumul cu un amestec de propan-2-ol-hexan şi se omogenizează.

Se plasează 2 ml din aceste soluţii în fiecare din cele două serii a cîte şase baloane gradate de 25 ml. Se completează conţinutul baloanelor din prima serie pînă la 25 ml cu un amestec de propan-2-ol-hexan, care reprezintă serii de referinţă.

Se adaugă 2 ml de anilină la fiecare balon din a doua serie. Se încălzesc timp de 30 de minute într-o baie de apă în fierbere. Se răcesc la temperatura camerei, se aduc la volum cu un amestec de propan-2-ol-hexan, se omogenizează şi se lasă să stea timp de o oră, care reprezintă serii etalon.

Se determină, conform indicaţiilor de la subpunctul 1.5.2. din prezenta anexă, densitatea optică a soluţiilor din seriile etalon, prin comparaţie cu soluţiile corespunzătoare din seriile de referinţă. Se trasează curba de calibrare prin reprezentarea grafică a densităţilor optice în raport cu cantităţile de gosipol, în µg.

1.6.3. Repetabilitatea

Diferenţa dintre rezultatele a două determinări paralele efectuate pe acelaşi eşantion nu trebuie să depăşească:

1) 15%, în valoare relativă, pentru un conţinut de gosipol mai mic de 500 ppm;

2) 75 ppm, în valoare absolută, pentru un conţinut de gosipol de minimum 500 ppm şi maximum 750 ppm;

3) 10%, în valoare relativă la cea mai înaltă valoare, pentru un conţinut de gosipol mai mare de 750 ppm.

2. DETERMINAREA NIVELURILOR DE DIOXIDE ŞI A NIVELURILOR DE DIFENILI POLICLORIRAŢI ASEMĂNĂTORI DIOXINEI

I. Metode de eşantionare şi de interpretare a rezultatelor analitice

1.1. Obiectiv şi domeniu de aplicare

Eşantioanele destinate controalelor oficiale ale nivelurilor de dioxine, cum sînt p-dibenzodioxinele policlorurate (PCCD), dibenzofurani policloruraţi () şi de bifenili policloruraţi (PCB) de tipul dioxinelor şi PCB-uri care nu sînt de tipul dioxinelor din nutreţuri, indicaţi în tabelul nr. 1 din prezenta anexă, asemănători dioxinei din nutreţuri se prelevează în conformitate cu indicaţiile din anexa nr. 1. Este necesar să se aplice cerinţele cantitative referitoare la controlul substanţelor sau al produselor uniform repartizate în nutreţuri, în conformitate cu indicaţiile de la capitolul 3, secţiunea I, anexa nr. 1 la prezenta hotărîre. Eşantioanele colective obţinute astfel se consideră ca reprezentative pentru loturile sau subloturile din care sînt prelevate. Respectarea conţinuturilor maxime stabilite în Hotărîrea Guvernului nr. 1405 din 10 decembrie 2008 „Cu privire la aprobarea Normei sanitar-veterinare privind igiena nutreţurilor şi conţinutul substanţelor nedorite în nutreţuri” se stabileşte pe baza conţinuturilor determinate în eşantioanele de laborator.

Metodele de screening sînt utilizate pentru selectarea acelor probe cu niveluri de PCDD-uri/PCDF-uri şi PCB-uri de tipul dioxinelor care depăşesc nivelurile maxime sau pragurile de acţiune. Acestea permit o capacitate mărită de analiză a probelor, eficientă din punctul de vedere al costurilor, sporind astfel şansa de a descoperi noi incidente cu un nivel mare de expunere şi riscuri de sănătate importante pentru consumatori. Metodele de screening se bazează pe metode bioanalitice sau metode GC-MS.

Rezultatele probelor care depășesc valoarea-limită pentru verificarea conformității cu nivelul maxim trebuie să fie verificate de către o nouă analiză completă din proba originală printr-o metodă de confirmare.

Metodele de confirmare furnizează informaţii complete sau complementare care permit identificarea și cuantificarea certă a PCDD-urilor/PCDF-urilor şi a PCB-urilor de tipul dioxinelor la pragul maxim sau, la necesitate, la pragul de acţiune. Astfel de metode utilizează cromatografia în fază gazoasă/spectrometria de masă de înaltă rezoluţie (GC-HRMS) sau cromatografia în fază gazoasă/spectrometria de masă în tandem (în continuare – GC-MS/MS).

1.2. Conformitatea lotului sau sublotului cu specificaţiile

Lotul este acceptat dacă rezultatul analitic al unei analize unice nu depăşeşte conţinutul maxim stabilit în Hotărîrea Guvernului nr. 1405 din 10 decembrie 2008, luîndu-se în considerare incertitudinea de măsurare.

Lotul nu se conformează conţinutului maxim stabilit în Hotărîrea Guvernului nr. 1405 din 10 decembrie 2008 dacă rezultatul analitic pentru limita superioară, confirmat de o analiză paralelă, depăşeşte cu un grad de certitudine conţinutul maxim.

Tabelul nr.1

Tabelul factorilor de echivalenţă toxică pentru dioxine, furani şi compuşi PCB asemănători dioxinei

Congener (acelaşi grup)	Valoare[1] TEF	Congener (acelaş grup)	Valoare TEF
1	2	3	4
p-dibenzodioxine (PCDD-uri) şi p-dibenzofurani (PCDF-uri)		Compuşi PCB asemănători dioxinei	
2,3,7,8-TCDD	1		0,0001
1,2,3,7,8-PeCDD	1	Non-orto PCB	
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0,1	PCB 77	
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0,1	PCB 81	0,0003
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0,1	PCB 126	0,1
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0,01	PCB 169	0,03
OCDD	0,0003	Mono-orto PCB	
Dibenzofurani (PCDF)		PCB 105	0,00003
2,3,7,8-TCDF	0,1	PCB 114	0,00003
1,2,3,7,8-PeCDF	0,03	PCB 118	0,00003
2,3,4,7,8-PeCDF	0,3		
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0,1	PCB 123	0,00003
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0,1	PCB 156	0,00003
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0,1	PCB 157	0,00003
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0,1	PCB 167	0,000003
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0,01	PCB 189	0,00003

1	2	3	4
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0,01		
OCDF	0,0003		
Abrevieri utilizate: TEF = toxic equivalency factors; T = tetra; Pe = penta; Hx = hexa; Hp = hepta; O = octa; CDD = clordibenzo-p-dioxină; CDF = clordibenzofuran; CB =clorobifenil			

Incertitudinea măsurării poate fi luată în considerare în una dintre următoarele două modalităţi:

1) calculîndu-se incertitudinea extinsă cu ajutorul unui coeficient de acoperire 2 care dă un nivel de încredere de aproximativ 95%. Un lot nu este conform dacă valoarea măsurată minus U este mai mare de nivelul maxim.

În cazul unei determinări separate a dioxinelor şi a PCB-urilor asemănători dioxinei, suma incertitudinii extinse estimate a rezultatelor analitice separate ale dioxinelor şi ale PCB-urilor asemănători dioxinei se utilizează pentru suma dioxinelor şi a PCB-urilor asemănători dioxinei;

2) stabilindu-se limita de decizie (CCα), limita la care şi de la care este permis să se concluzioneze cu probabilitatea de eroare α că o probă nu este conformă.

Limita de decizie se stabileşte în conformitate cu cerinţele în materie de identificare sau de identificare şi cuantificare.

Un lot este neconform dacă valoarea măsurată este egală sau mai mare decît CCα.

II. Pregătirea eşantioanelor şi cerinţele privind metodele de analiză utilizate pentru controlul oficial al nivelurilor de dioxine (PCDD/PCDF) şi de PCB asemănători dioxinelor

2.1. Obiectiv şi domeniu de aplicare

Prezentele cerinţe se aplică atunci cînd nutreţurile şi materiile prime pentru nutreţuri sînt analizate pentru a se determina dioxinele, cum sînt dibenzo-p-dioxinele policlorurate (PCDD), dibenzofuranii policloruraţi şi bifenilii policloruraţi asemănători dioxinelor (PCB).

Monitorizarea prezenţei dioxinelor în nutreţuri se poate realiza printr-o strategie care implică o metodă de depistare, cu scopul de a selecta acele eşantioane cu niveluri de dioxine şi de PCB-uri asemănători dioxinei care au valori mai puţin de 25% inferioare sau superioare concentraţiei de interes. Concentraţia de dioxine din acele eşantioane în care se identifică niveluri semnificative trebuie determinată/confirmată printr-o metodă de confirmare.

Metodele de depistare sînt utilizate pentru a se detecta prezenţa dioxinelor şi a PCB-urilor asemănători dioxinelor la concentraţia de interes. Aceste metode au o capacitate mare de procesare a eşantioanelor şi sînt folosite pentru a împărţi pe categorii un număr mare de eşantioane potenţial pozitive. Sînt concepute special pentru a evita rezultatele fals negative.

Metodele de confirmare furnizează date complete sau complementare care permit identificarea şi cuantificarea certă a dioxinelor şi a PCB-urilor asemănători dioxinelor la concentraţia de interes.

2.2. Context

Avînd în vedere faptul că eşantioanele din mediu şi cele biologice, inclusiv eşantioanele de nutreţuri/materii prime pentru nutreţuri, conţin, în general, amestecuri complexe de diverşi congeneri ai dioxinelor, a fost elaborat conceptul factori de echivalenţă toxică (TEF), pentru a facilita evaluarea riscurilor. Aceşti TEF au fost stabiliţi pentru a exprima concentraţiile de amestecuri de PCDD şi PCDF 2,3,7,8-substituiţi şi de PCB non-orto şi mono-orto clor-substituiţi care au o activitate asemănătoare dioxinei în echivalenţi toxici (TEQ) de 2, 3, 7, 8-TCDD. Concentraţiile substanţelor individuale într-un eşantion anumit se înmulţesc cu valoarea TEF corespunzătoare şi apoi se adună, pentru a se obţine concentraţia totală de compuşi asemănători dioxinelor, exprimată ca TEQ.

Limita specifică de cuantificare acceptată pentru un congener individual este concentraţia unui analit dintr-un extract de eşantion care produce un răspuns instrumental pentru doi ioni diferiţi, care trebuie monitorizaţi printr-un raport semnal/zgomot de 3:1 pentru semnalul cel mai puţin sensibil, şi îndeplineşte condiţiile de bază, precum timpul de retenţie şi raportul izotopic.

În cazul în care, din motive tehnice, calculul raportului semnal/zgomot nu furnizează rezultate fiabile, punctul cel mai mic de concentrație de pe o curbă de etalonare care oferă o deviație acceptabilă (≤ 30 %) și coerentă (măsurată cel puțin la începutul și la sfîrșitul unei serii analitice de probe) de la factorul de răspuns relativ mediu calculat pentru toate punctele de pe curba de etalonare pentru fiecare serie de probe. Limita de cuantificare (LOQ) se calculează de la cel mai mic punct de concentraţie, ţinînd cont de recuperarea etaloanelor interne şi de prelevarea de probe.

Metodele bioanalitice de screening nu vor da rezultate la nivel de congener, ci doar o indicaţie a nivelului TEQ, exprimată în echivalente bioanalitice (BEQ), pentru că nu toți compușii prezenți într-un extract de probă care produce un răspuns în cadrul testului pot să îndeplinească toate cerinţele principiului TEQ.

Rezultatele obţinute la eşantionarea unei părţi dintr-un lot de nutreţuri se consideră valabile pentru toate nutreţurile din aceeaşi clasă sau de aceeaşi descriere din lotul respectiv.

2.3. Cerinţe de asigurare a calităţii care trebuie respectate în cursul pregătirii eşantioanelor

Se aplică dispoziţiile generale privind prepararea eşantioanelor pentru analiză, stabilite în anexa nr. 2 la prezenta hotărîre.

De asemenea, trebuie să fie îndeplinite următoarele cerinţe:

1) eşantioanele se păstrează şi se transportă în recipiente din sticlă, aluminiu, polipropilenă sau polietilenă. Din recipientul care conţine eşantion trebuie să fie îndepărtate urmele de praf de hîrtie. Sticlăria se clăteşte cu solvenţi controlaţi în prealabil în vederea detectării dioxinelor;

2) se realizează o analiză martor prin efectuarea întregii proceduri analitice, dar omiţînd numai eşantionul;

3) greutatea eşantionului utilizat pentru extracţie trebuie să fie suficientă pentru a îndeplini cerinţele referitoare la sensibilitate;

4) se efectuează controlul reactivilor, al sticlăriei şi al echipamentului pentru a preveni şi a exclude o posibilă influenţă a rezultatelor pe bază de TEQ sau de BEQ;

5) pentru metodele bioanalitice, toată sticlăria şi toţi solvenţii utilizaţi în cadrul analizei sînt testaţi pentru a se constata dacă sînt liberi de compuși care perturbă detectarea compuşilor ţintă în intervalul de lucru. Sticlăria se clăteşte cu solvenți sau se încălzeşte la temperaturi înalte pentru a elimina urmele de PCDD-uri/PCDF-uri, compuşi de tipul dioxinelor şi compuşi interferenţi de pe suprafaţa acesteia;

6) cantitatea probei utilizate pentru extracție este necesară pentru a îndeplini cerinţele referitoare la un interval de lucru redus, inclusiv concentraţiile nivelurilor maxime sau pragul de acţiune;

7) în măsura în care acest lucru este relevant, fiecare probă de laborator este mărunţîtă şi este amestecată cu grijă printr-un procedeu care s-a dovedit că realizează o omogenizare completă, cum este, de exemplu, proba mărunţită astfel, încît să treacă printr-o sită cu ochiuri de 1 mm. Probele se usucă înainte de mărunţire, dacă conţinutul de umiditate este prea mare.

2.4. Cerinţele aplicabile laboratorului naţional de referință

1) Laboratorul național de referință trebuie să demonstreze performanţa unei metode în zona nivelului de interes, cu un coeficient de variaţie acceptabil la repetarea analizei.

2) Limita de cuantificare pentru o metodă de confirmare trebuie să se situeze într-un interval de o cincime din nivelul de interes, pentru a garanta că în intervalul nivelului de interes sînt îndepliniţi coeficienţi de variaţie acceptabili.

3) Ca măsuri interne de control al calităţii, trebuie să fie efectuate periodic controale martor, experimente cu eşantioane contaminate sau analize ale unor eşantioane de control, cu material de referinţă certificat.

4) Participarea permanentă la studii interlaboratoare pentru determinarea dioxinelor şi a PCB-urilor asemănătoare dioxinelor în structura alimentelor/nutreţurilor.

5) Laboratorul național de referință pentru analiza probelor prelevate în cadrul controalelor oficiale trebuie să fie acreditat conform standardului naţional SM SR EN ISO/IEC 17025 „Cerinţe generale pentru competenţa laboratoarelor de încercări şi etalonări”.

6) Laboratorul național de referință care aplică metode de screening pentru controlul de rutină al probelor stabileşte o cooperare strînsă cu laboratoarele care aplică metoda de confirmare, atît pentru controlul calităţii, cît şi pentru confirmarea rezultatului analitic al probelor suspectate.

2.5. Cerinţe aplicabile procedurilor analitice pentru dioxine şi PCB-uri asemănători dioxinelor

Cerinţele fundamentale pentru acceptarea procedurilor analitice sunt următoarele:

1) Sensibilitate înaltă şi limite de detecţie joase. Pentru PCDD şi PCDF, cantităţile detectabile trebuie să fie de ordinul femtogramelor TEQ (10^{-15} g) din cauza toxicităţii extreme a unora dintre aceşti compuşi. Este cunoscut faptul că PCB se află la niveluri mai ridicate decît PCDD şi PCDF. Pentru majoritatea congenerilor de PCB, o sensibilitate de ordinul nanogramelor (10^{-9} g) este deja suficientă. Pentru măsurarea congenerilor PCB-urilor asemănători dioxinelor mai toxici, în special congeneri non-orto substituiţi, extremitatea inferioară a intervalului de lucru ajunge la niveluri mici de ordinul picogramelor (10^{-12} g). Pentru toţi ceilalţi congeneri PCB, o limită de cuantificare de ordinul nanogramelor (10^{-9} g) este suficientă şi trebuie să fie atinsă aceeaşi sensibilitate ca şi pentru PCDD şi PCDF.

2) Pentru o selectivitate înaltă este necesară o distincţie a PCDD-urilor, PCDF-urilor şi PCB-urilor asemănători dioxinelor în raport cu o multitudine de alţi compuşi coextraşi şi cu posibile interferenţe, prezenţi în concentraţii de pînă la cîteva ordine de mărime mai mari decît cele ale analiţilor studiaţi. Pentru metodele de cromatografie în fază gazoasă/spectrometrie de masă (CG/SM) este necesară o distincţie între diferiţi congeneri, cum ar fi între compuşii toxici, precum cei şaptesprezece PCDD-uri şi PCDF-uri substituiţi la 2,3,7,8 şi PCB-uri asemănători dioxinelor şi alţii. Biotestele trebuie să permită determinarea selectivă a valorilor TEQ, ca sumă de PCDD, PCDF şi PCB asemănători dioxinelor.

Curăţarea probelor are drept scop eliminarea compuşilor care duc la rezultate fals-neconforme sau a compuşilor care pot atenua rezultatul, ducînd la rezultate fals-conforme.

3) Pentru o acurateţe ridicată este necesar ca determinarea să furnizeze o estimare validă şi fiabilă a concentraţiei reale dintr-un eşantion. O acurateţe ridicată este necesară pentru a se evita respingerea rezultatului analizei unui eşantion din cauza fiabilităţii reduse a estimării TEQ. Acurateţea este exprimată ca veridicitate, ceea ce reprezintă diferenţa dintre valoarea medie măsurată pentru un analit dintr-un material certificat şi valoarea certificată a acesteia, exprimată ca procentaj din această valoare şi precizie (RSDR), deviaţia standard relativă, calculată în baza rezultatelor generate în condiţii de reproductibilitate.

Metodele de depistare pot include biotestele şi metodele CG/SM. Metodele de confirmare cuprind cromatografia în fază gazoasă de înaltă rezoluţie/spectrometria de masă de înaltă rezoluţie (în continuare – HRGC/HRMS).

Laboratoarele demonstrează performanţa unei metode în intervalul nivelului maxim, de exemplu, 0,5x, 1x şi 2x nivelul maxim, cu un coeficient de variație acceptabil pentru analize repetate, în timpul procedurii de validare și în timpul analizei de rutină.

Ca măsuri interne de control al calităţii se efectuează periodic controale ale martorului, experimente cu îmbogăţire sau analize ale unor probe de control, dacă este posibil, cu material de referinţă certificat. Se înregistrează şi se verifică grafice de control al calităţii pentru controalele martorului, experimentele cu îmbogăţire sau analizele unor probe de control, pentru a garanta că performanţa analitică este conformă cerinţelor.

Pentru o metodă bioanalitică de screening, stabilirea limitei de cuantificare nu este o cerință indispensabilă, însă metoda trebuie să dovedească că se poate face distincţie între valoarea-martor şi valoarea-limită. La furnizarea unui nivel BEQ se stabilește un nivel de raportare pentru a se lua decizii legate de probele care prezintă un răspuns sub acest nivel. Nivelul de raportare se dovedeşte a fi diferit de probele-martor din cadrul procedurii cel puţin cu un factor de trei, cu un răspuns inferior intervalului de lucru. Prin urmare, se calculează pornind de la probe care conţin compuşii ţintă în jurul nivelului minim necesar şi nu de la un raport semnal/zgomot sau un test martor.

Pentru valoarea totală TEQ, trebuie să respectate următoarele criterii, indicate în tabelul nr. 2:

Tabelul nr.2

Valoarea totală TEQ

	Metode de depistare	**Metode de confirmare**
Rată de fals negative	< 5%	
Veridicitate		– 20% pînă la + 20%
Precizie RSD_R	< 25%	< 15%
Repetabilitate RSD_r	<20%	

2.5.1. Atît metodele GC-MS, cît şi metodele bioanalitice pot fi folosite pentru screening. Pentru metodele GC-SM trebuie să fie respectate cerinţele prevăzute la punctul 2.6. din prezenta anexă. Pentru metodele bioanalitice celulare sînt prevăzute cerinţe specifice la punctul 2.7. din prezenta anexă.

Laboratoarele care aplică metode de screening pentru controlul de rutină al probelor stabilesc o cooperare strînsă cu laboratoarele care aplică metoda de confirmare.

Verificarea posibilei suprimări a răspunsului celular şi a citotoxicităţii de 20% din extractele de probe sînt măsurate în screening-ul de rutină cu şi fără 2,3,7,8-TCDD care se adaugă în funcţie de nivelul maxim sau de pragul de acţiune, pentru a verifica dacă răspunsul este, eventual, suprimat de către substanţele interferente prezente în extractul de probă. Concentraţia măsurată a probei îmbogăţite se compară cu suma concentraţiei extractului neîmbogăţit, plus concentraţia cu îmbogăţire. Dacă această concentraţie măsurată este peste 25% mai mică decît concentraţia calculată, aceasta indică posibilitatea eliminării semnalului, iar proba respectivă este supusă analizei de confirmare prin GC-HRMS. Rezultatele sînt monitorizate în graficele de control al calităţii.

Aproximativ 2-10% din probele conforme, în funcție de matricea probei şi de experiența laboratorului, se confirmă prin GC-HRMS.

Cel puţin în condiţii de validare, metodele bioanalitice oferă o indicaţie valabilă a nivelului TEQ, calculat și exprimat ca BEQ.

Pentru metodele bioanalitice efectuate în condiţii de repetabilitate, valoarea RSD_r intralaborator ar fi, în general, mai mică decît RSD_R, ceea ce reprezintă reproductibilitatea.

2.5.2. Determinarea ratelor fals-conforme pornind de la datele de control al calităţii.

Se determină rata rezultatelor fals-conforme care rezultă din screeningul probelor sub şi peste nivelul maxim sau pragul de acţiune. Ratele fals-conforme reale sînt sub 5%. Atunci cînd, în urma controlului de calitate al probelor conforme, sînt disponibile cel puţin 20 de rezultate confirmate per matrice/grup de matrice, concluziile privind rata fals-conformă trebuie să fie desprinse din această bază de date. Rezultatele probelor analizate prin intermediul testărilor interlaboratoare sau în timpul incidentelor de contaminare, care acoperă un interval de concentraţii de pînă la, de exemplu, 2x nivelul maxim, pot fi, de asemenea, incluse în cele cel puţin 20 de rezultate pentru evaluarea ratei fals-conforme. Probele acoperă cele mai frecvente modele pentru congeneri, reprezentînd diverse surse.

Deşi testele de screening au ca scop detectarea probelor care depăşesc pragul de acţiune, criteriul de determinare a ratelor fals-conforme este nivelul maxim, ţinînd cont de incertitudinea de măsurare a metodei de confirmare.

2.6. Cerinţe specifice privind metodele CG-SM care trebuie respectate în scop de depistare sau de confirmare

1) Adăugarea de etaloane interne de PCDD/F-uri 2,3,7,8 clor-substituite şi de PCB-uri asemănători dioxinei marcate cu ^{13}C trebuie să fie realizată chiar de la începutul efectuării metodei de analiză, de exemplu, înaintea extracţiei, pentru validarea procedurii analitice. Trebuie să fie adăugat cel puţin un congener pentru fiecare din grupele omoloage tetra-octo-clorurate de PCDD/F şi cel puţin un congener pentru fiecare dintre grupele omoloage de PCB-uri asemănători dioxinei sau, în caz alternativ, cel puţin un congener pentru fiecare funcţie de înregistrare a ionului selecţionat prin spectrometrie de masă, utilizat pentru monitorizarea PCDD/F şi a PCB asemănători dioxinei.

Trebuie să existe o preferinţă clară, mai ales în cazul metodelor de confirmare, pentru utilizarea tuturor celor 17 etaloane interne de PCDD/F 2,3,7,8-clor-substituite marcate cu ^{13}C şi a tuturor celor 12 etaloane interne de PCB-uri asemănători dioxinei marcate cu ^{13}C.

2) Se determină, la fel, factorii de răspuns relativ pentru acei congeneri pentru care nu se adaugă niciun analog marcat cu ^{13}C, utilizînd soluţii de calibrare corespunzătoare.

3) Pentru nutreţurile de origine vegetală şi cele de origine animală care conţin mai puţin de 10% grăsime, este obligatorie adăugarea etaloanelor interne înainte de extracţie. Pentru nutreţurile de origine animală ce conţin mai mult de 10% grăsime, etaloanele interne se pot adăuga fie înaintea extracţiei, fie după extracţia grăsimii. Se efectuează o validare adecvată a eficienţei metodei de

extracţie, în funcţie de etapa în care se introduce etaloanele interne şi de modul în care se consemnează rezultatele, în funcţie de produs sau de grăsime.

4) Înaintea analizei CG/SM trebuie să fie adăugat unul sau două etaloane de recuperare, care reprezintă etaloane surogat.

5) Este necesar controlul recuperării. Pentru metodele de confirmare, recuperarea etaloanelor interne individuale trebuie să fie situată în intervalul 60-120%. Se acceptă şi recuperări inferioare sau superioare pentru congeneri individuali, în special pentru dibenzodioxine şi dibenzofurani hepta- şi octo-cloruraţi, atît timp cît contribuţia acestora la valoarea TEQ nu depăşeşte 10% din valoarea TEQ totală, bazată pe suma dintre PCDD/F şi PCB asemănători dioxinei. Pentru metodele de depistare, recuperarea trebuie să fie situată în intervalul 30-140%.

6) Separarea dioxinelor de compuşii cloruraţi interferenţi, cum sînt PCB-uri neasemănători dioxinei şi difenileterii cloruraţi, se realizează prin tehnici cromatografice adecvate, de preferinţă pe coloană de florisil, alumină şi/sau cărbune.

7) Separarea izomerilor prin cromatografie în fază gazoasă este de < 25% de la vîrf la vîrf, între 1,2,3,4,7,8-HxCDF şi 1,2,3,6,7,8-HxCDF.

8) Determinarea dioxinei şi a furanilor tetra-octocloruraţi se realizează prin metoda de diluţie a izotopilor HRGC/HRMS.

9) Diferenţa dintre limita superioară şi limita inferioară trebuie să nu depăşească 20% pentru nutreţurile caracterizate de o contaminare cu dioxine situată în interval sau peste nivelul maxim de contaminare. Pentru nutreţurile cu niveluri de contaminare mult sub nivelul maxim, diferenţa se poate situa în intervalul 25-40%.

2.7. Metode analitice de depistare

2.7.1.1. Abordare de depistare

Se pot aplica diferite abordări analitice, utilizînd o metodă de depistare.

Răspunsul eşantioanelor este comparată cu cea a unui eşantion de referinţă la nivelul de interes.

Cerinţe:

1) În fiecare serie de testări trebuie să fie inclus un eşantion martor şi unul de referinţă, care se supun extracţiei şi testării în acelaşi timp şi în condiţii identice. Eşantionul de referinţă trebuie să prezinte un răspuns cu mult mai mare în comparaţie cu un martor.

2) Se includ eşantioane de referinţă suplimentare de 0,5x şi 2x nivelul de interes, pentru a se demonstra eficacitatea testului în intervalul de interes, pentru controlul nivelului de interes.

3) Atunci cînd se testează alte matrice, trebuie să fie demonstrat că eşantionul sau eşantioanele de referinţă sînt cele corespunzătoare, de preferinţă prin includerea eşantioanelor la care s-a dovedit prin HRGC/HRMS că au un nivel TEQ în jurul celui al eşantionului de referinţă sau, altfel, a unui martor contaminat la nivelul respectiv.

4) Deoarece etaloanele interne nu pot fi utilizate în bioteste, testele cu privire la repetabilitate sînt foarte importante, pentru a se obţine informaţii privind deviaţia standard în cadrul unei serii de teste. Coeficientul de variaţie trebuie să fie inferior valorii de 30%.

5) Pentru bioteste se definesc compuşii-ţintă, interferenţele potenţiale şi nivelurile maxime tolerabile ale martorului.

2.7.1.2. Abordare cantitativă

Aceasta necesită o serie de diluţii standard, procese de curăţare şi de măsurare duble sau triple, precum şi controale de recuperare şi ale martorului. Rezultatul poate fi exprimat ca TEQ, presupunîndu-se astfel că acei compuşi care se află la originea semnalului corespund principiului TEQ. Acest lucru se poate realiza prin utilizarea TCDD sau a unui amestec etalon de dioxină/furan/PCB asemănător dioxinei, pentru a se obţine o curbă de calibrare pentru calculul nivelului TEQ din extract şi, astfel, din eşantion.

Cantitatea obţinută se corectează apoi cu valoarea TEQ calculată pentru un eşantion martor, pentru a se ţine cont de impurităţile din solvenţi şi din substanţele chimice utilizate, şi pentru recuperare, calculată în baza valorii TEQ dintr-un eşantion de control al calităţii apropiată de limita de interes.

O parte din aparenta pierdere de recuperare poate fi determinată de efectele matricei şi/sau de diferenţele dintre valorile TEF în bioteste şi valorile TEF oficiale stabilite de Organizaţia Mondială a Sănătăţii.

2.7.2. Cerinţe privind metodele analitice pentru depistare

1) Depistarea se poate face prin metode analitice CG/SM sau prin bioteste. Pentru metodele CG/SM trebuie utilizate cerinţele prevăzute la punctul 2.6. Pentru biotestele celulare se stabilesc cerinţe specifice descrise la subpunctul 2.7.3., iar pentru biotestele realizate cu ajutorul kiturilor de testat se stabilesc cerinţe specifice menţionate în subpunctul 2.7.4.

2) Sînt necesare informaţii privind numărul de rezultate fals pozitive şi fals negative obţinute pentru un set mare de eşantioane peste sau sub nivelul maxim sau nivelul de intervenţie, prin comparaţie cu conţinutul TEQ determinat printr-o metodă analitică de confirmare. Ratele efective de rezultate fals negative trebuie să se situeze sub 1%. Rata de rezultate fals pozitive este suficient de scăzută pentru a face ca utilizarea instrumentului de depistare să fie avantajoasă.

3) Rezultatele pozitive trebuie confirmate întotdeauna printr-o metodă analitică de confirmare HRGC/HRMS.

Eşantioanele dintr-o gamă largă de TEQ se confirmă prin HRGC/HRMS, aproximativ 2-10% din eşantioanele negative. Se furnizează informaţii privind corespondenţa dintre rezultatele biotestelor şi cele ale HRGC/HRMS.

2.7.2.1. Metodele bioanalitice sînt bazate pe utilizarea de principii biologice, precum testele pe bază de celule sau de receptori sau imunodozări Prezentul subpunct stabilește cerințe pentru metodele bioanalitice în general.

O metodă de screening, în principiu, clasifică o probă ca fiind conformă. În acest scop, nivelul BEQ calculat este comparat cu valoarea-limită. Probele sub valoarea-limită sînt declarate conforme, probele egale sau peste valoarea-limită sînt suspectate a fi neconforme, necesitînd o analiză printr-o metodă de

confirmare. În practică, un nivel BEQ corespunzînd la 2/3 din nivelul maxim poate servi drept valoare-limită cu condiția să se asigure o rată fals-conformă sub 5% şi o rată acceptabilă pentru rezultate fals-neconforme. Cu niveluri maxime diferite pentru PCDD-uri/PCDF-uri şi pentru suma de PCDD-uri/PCDF-uri şi PCB-uri de tipul dioxinelor, verificarea conformităţii probelor fără fracţionare necesită valori-limită corespunzătoare ale biotestelor pentru PCDD-uri/PCDF-uri. Pentru verificarea probelor care depăşesc pragurile de acţiune, un procentaj corespunzător al pragului de acţiune respectiv ar fi adecvat ca valoare-limită.

2.7.3. Cerinţe specifice pentru bioteste celulare

1) Cînd se execută un biotest, fiecare testare necesită o serie de concentraţii de referinţă ale TCDD sau ale unui amestec de dioxină/furan, ceea ce reprezintă curbă de răspuns pentru o doză completă cu un $R^2 > 0,95$. În scop de depistare se poate utiliza o curbă de nivel scăzut extinsă, pentru analiza eşantioanelor cu conţinut scăzut.

2) Pentru rezultatul biotestului într-un interval de timp constant se utilizează pe o foaie de control al calităţii o concentraţie TCDD de referinţă, aproximativ de 3x limita de cuantificare.

3) Graficele de control al calităţii pentru fiecare tip de material de referinţă se înregistrează şi se verifică pentru a se garanta că rezultatul este conform cu liniile directoare stabilite.

4) Pentru calculele cantitative, realizarea diluţiei eşantionului trebuie să se situeze în cadrul porţiunii liniare a curbei de răspuns. Eşantioanele situate deasupra porţiunii liniare a curbei de răspuns trebuie diluate şi testate din nou. Se recomandă testarea a cel puţin trei diluţii o dată.

5) Procentul deviaţiei standard nu depăşeşte 15% într-o determinare triplă pentru fiecare diluţie a eşantionului şi 30% pentru trei experimente independente.

6) Limita de detecţie poate fi stabilită la de 3 ori valoarea deviaţiei standard a solventului martor sau a răspunsului de fond. Altă abordare constă în aplicarea unui răspuns care se situează deasupra răspunsului de fond-factor de inducţie de 5x martorul solventului, calculat din curba de calibrare a zilei. Limita de cuantificare poate fi stabilită ca o valoare de la 5x pînă la 6x deviaţia standard a martorului solventului sau a răspunsului de fond ori poate fi aplicat un răspuns ce este clar superior răspunsului de fond-factor de inducţie de 10x martorul solventului, calculat din curba de calibrare a zilei.

2.7.4. Cerinţe specifice pentru biotestele realizate pe bază de kituri

1) Să fie garantate că biotestele pe bază de kituri au o sensibilitate şi o fiabilitate pentru a fi aplicate nutreţurilor.

2) Să fie respectate instrucţiunile producătorului privind pregătirea şi analiza eşantioanelor.

3) Kiturile de testare nu se utilizează după data expirării.

4) Nu se utilizează materiale sau componente destinate utilizării cu alte kituri.

5) Kiturile de testare se păstrează la o temperatură de depozitare situată în cadrul unui interval specificat şi se utilizează la temperatura de lucru specificată.

6) Limita de detecţie pentru imunodozări este determinată ca suma mediei şi a valorii de 3x deviaţia standard, bazată pe o serie de 10 analize repetate ale martorului şi care este împărţită la valoarea pantei ecuaţiei de regresie liniară.

7) Pentru testele realizate în laborator se utilizează etaloane de referinţă, pentru a garanta că răspunsul la etalon se situează într-un interval acceptabil.

2.8. Raportarea rezultatelor

În măsura în care procedura analitică utilizată permite acest lucru, rezultatele analitice conţin niveluri individuale ale congenerilor PCDD/F şi PCB; rezultatele analitice se raportează ca limită inferioară, limită superioară şi limită medie, pentru a se include un maxim de informaţii în raportarea rezultatelor, permiţînd astfel interpretarea rezultatelor în conformitate cu cerinţele specifice.

De asemenea, raportarea include conţinutul de lipide al eşantionului şi metoda utilizată pentru extracţia lipidelor.

Trebuie să fie disponibile informaţii despre recuperările etaloanelor interne individuale, dacă recuperările se situează în afara intervalului menţionat la punctul 2.6., dacă depăşesc nivelul maxim.

Atunci cînd se stabileşte conformitatea eşantionului trebuie să se ţină cont de incertitudinea măsurării, acest parametru trebuie să fie, la fel, disponibil. Rezultatul analizei se raportează ca indicele x+/–U, unde „x” este rezultatul analitic şi „U” este incertitudinea de măsurare extinsă, folosind un factor de acoperire 2, care dă un nivel de încredere de aproximativ 95%. În cazul unei determinări separate a dioxinelor şi a PCB-urilor asemănători dioxinei, suma incertitudinii extinse estimate a rezultatelor analitice separate ale dioxinelor şi ale PCB-urilor asemănători dioxinei se utilizează pentru suma dioxinelor şi a PCB-urilor asemănători dioxinei.

Dacă incertitudinea de măsurare se ia în considerare aplicîndu-se CCα, acest parametru se comunică.

2.8.1. Pregătirea probelor și cerințe privind metodele analitice utilizate pentru controlul oficial al nivelurilor PCB-urilor care nu sînt de tipul dioxinelor (PCB # 28, 52, 101, 138, 153, 180)

Cerințele stabilite în prezentul capitol se aplică atunci cînd nutreţurile sînt analizate pentru controlul oficial al nivelurilor de bifenili policloruraţi care nu sînt de tipul dioxinelor, PCB-uri care nu sînt de tipul dioxinelor, precum şi în alte scopuri de reglementare.

În calitate de metodă aplicată se foloseşte metoda gaz-cromatografică de detectare prin captură de electroni (GC-CDE, GC-LRMS, GC-MS/MS, GC-HRMS) sau metode echivalente.

În sensul identificării şi confirmării analiţilor de interes, timpul de retenţie este relativ în raport cu etaloanele interne sau etaloanele de referinţă, cu o deviaţie acceptabilă ± 0,25%.

Separarea gaz-cromatografică a tuturor celor şase PCB-uri indicatori, și anume PCB 28, PCB 52, PCB 101, PCB 138, PCB 153 și PCB 180, de substanţele interferente, în special PCB-uri co-eluante, mai ales în cazul în care nivelurile probelor sînt în limite legale şi neconformitatea trebuie să se confirme, congeneri despre care s-a constatat că sînt adesea co-eluanţi sînt, de exemplu,

PCB 28/31, PCB 52/69 şi PCB 138/163/164. Pentru GC-MS este necesar să se ţină seama şi de interferenţele posibile din partea fragmentelor de congeneri mai puternic cloruraţi.

Cerinţe pentru tehnici GC-SM

Monitorizarea a cel puţin:

1) doi ioni specifici pentru HRMS;

2) doi ioni specifici de m/z>200 sau trei ioni specifici de m/z>100 pentru LRMS;

3) un ion precursor şi doi ioni produs pentru MS-MS.

Deviația relativă a abundenței izotopice relative pentru fragmentele de masă selecţionate şi valoarea teoretică a abundenței izotopice sau etalonul de etalonare pentru ionul ţintă, care reprezintă ionul monitorizat cu cea mai ridicată abundenţă izotopică, şi ionul (ionii) calificativ(i) vor fi prezentate în tabelul nr. 3.

Tabelul nr. 3

Intensitatea relativă a ionului (ionilor) calificativ(i) în comparație cu ionul ţintă	**GC-EI-MS (deviaţie relativă)**	**GC-CI-MS, GCMSn (deviaţie relativă)**
> 50 %	± 10 %	± 20 %
> 20 % la 50 %	± 15 %	± 25 %
> 10 % la 20 %	± 20 %	± 30 %
≤ 10 %	± 50 % (1)	± 50 % (1)
Număr de fragmente de masă cu intensitate relativă >10 %, prin urmare nu se recomandă să se folosească ion(i) calificativ(i) cu o intensitate relativă mai mică de 10 % în comparaţie cu ionul ţintă.		

Performanța metodei se validează în intervalul nivelului maxim, de la 0,5 la 2 ori nivelul maxim, cu un coeficient de variație acceptabil pentru analiza repetată.

Valorile-martor nu sînt mai mari de 30% din nivelul contaminării care corespunde nivelului maxim.

2.8.2.Controlul recuperărilor

Se utilizează etaloane interne cu proprietăţi fizico-chimice comparabile cu cele ale analiţilor de interes.

1) Cerințe privind metodele care utilizează toţi cei șase congeneri ai PCB-urilor indicatori marcaţi cu un izotop:

a) rezultatele sînt corectate pentru recuperările etaloanelor interne;

b) recuperările etaloanelor interne marcate cu un izotop sînt între 50 şi 120%;

c) recuperările inferioare sau superioare pentru congenerii individuali cu o contribuție la suma celor șase PCB-uri indicatori mai mică de 10% sînt acceptabile.

2) Cerințe privind metodele care nu utilizează toate cele șase etaloane interne marcate cu un izotop sau alte etaloane interne:

a) recuperarea etalonului (etaloanelor) intern(e) se controlează pentru fiecare probă;

b) recuperările etalonului (etaloanelor) intern(e) sînt între 60 și 120%;

c) rezultatele sînt corectate pentru recuperările etaloanelor interne.

Caracteristici de performanță: criterii pentru suma celor șase PCB-uri indicatori la nivelul maxim.

Autenticitate	– 30 pînă la + 30 %
Precizie intermediară (RSD %)	≤ 20 %
Diferența dintre estimarea superioară și estimarea inferioară a calculului	≤ 20 %

2.8.3. Raportarea rezultatelor

În măsura în care procedura analitică utilizată permite acest lucru, rezultatele analitice includ nivelurile de congeneri individuali ai PCB-urilor şi sînt indicate drept estimare inferioară, estimare superioară şi medie, pentru a include o cantitate maximă de informaţii în raportarea rezultatelor, ceea ce permite o interpretare a rezultatelor în conformitate cu cerinţele specifice.

Raportul include metoda utilizată pentru extracţia PCB-urilor şi a lipidelor.

Recuperările etaloanelor interne individuale sînt disponibile dacă recuperările se situează în afara intervalului menționat la subpunctul 2.8.2. din prezenta anexă, dacă se depășește nivelul maxim, iar în celelalte cazuri, la cerere.

Atunci cînd se decide conformitatea unei probe, se ține seama de incertitudinea de măsurare, acest parametru este, la fel, pus la dispoziție.

Rezultatele analitice se raportează ca indicele x ± U, unde „x” este rezultatul analitic şi „U” este incertitudinea de măsurare extinsă, folosind un factor de acoperire 2, care dă un nivel de încredere de aproximativ 95%.

În cazul în care se ia în considerare incertitudinea de măsurare prin aplicarea CCα, acest parametru se raportează.

Rezultatele se exprimă în aceleași unități și prin cel puțin același număr de zecimale precum nivelurile maxime prevăzute de Hotărîrea Guvernului nr. 1405 din 10 decembrie 2008 cu privire la aprobarea Normei sanitar-veterinare privind igiena nutreţurilor şi conţinutul substanţelor nedorite în nutreţuri.

Anexa nr. 6
la Hotărîrea Guvernului nr.686
din 13 septembrie 2012

METODELE DE ANALIZĂ
privind determinarea constituenţilor de origine animală pentru controlul oficial al nutreţurilor

1. CONDIŢII PENTRU DETECTAREA, IDENTIFICAREA SAU ESTIMAREA PRIN EXAMINARE MICROSCOPICĂ A CONSTITUENŢILOR DE ORIGINE ANIMALĂ ÎN NUTREŢURI

1.1. Obiectiv şi domeniu de aplicare

Prezentele condiţii se utilizează în cazul în care detectarea constituenţilor de origine animală, definiţi ca produse rezultate din prelucrarea carcaselor sau a unor părţi din corpul mamiferelor, păsărilor de crescătorie sau peştilor, din nutreţuri se realizează prin examinare microscopică în cadrul unui program de inspecţie coordonat în domeniul nutriţiei animalelor.

Determinarea constituenţilor de origine animală în nutreţuri se efectuează prin microscopie optică sau reacţie în lanţ a polimerazei (PCR), în conformitate cu dispozițiile stabilite în prezenta anexă.

Aceste două metode fac posibilă detectarea prezenței constituenților de origine animală în materiile prime pentru nutreţuri şi nutreţuri combinate. Totuși, ele nu fac posibilă calcularea cantităţii acestor constituenţi în materiile prime pentru nutreţuri şi nutreţuri combinate. Ambele metode au o limită de detecţie sub 0,1% g/g.

Metoda PCR face posibilă identificarea grupului taxonomic al constituenților de origine animală prezenţi în materiile prime pentru nutreţuri şi nutreţuri combinate.

În funcţie de tipul de nutreţ în curs de testare, aceste metode pot fi utilizate în cadrul unui singur protocol operaţional, fie singure, fie combinate împreună în conformitate cu procedurile standard de operare, stabilite de laboratorul de referinţă al Uniunii Europene pentru detectarea proteinelor animale în hrana pentru animale şi publicate pe pagina web oficială al acestuia.

1.2. Sensibilitate

În funcţie de natura constituenţilor de origine animală, este posibilă detectarea unor cantităţi foarte mici în nutreţuri (< 0,1%).

1.3. Principiul de aplicare

Pentru identificare se utilizează un eşantion reprezentativ, prelevat în conformitate cu indicaţiile din anexa nr. 1 şi care a fost supus unei preparări. Protocolul descris în punctul 1.9. din prezenta anexă este adecvat pentru tratarea nutreţurilor cu un conţinut mic de umiditate.

Nutreţurile cu un conţinut de umiditate mai mare de 14% se usucă înaintea tratamentului. Nutreţurile sau materiile prime pentru nutreţuri speciale, precum grăsimile sau uleiurile necesită un tratament specific, prevăzute în puctul 1.9. din prezenta anexă.

Constituenţii de origine animală se identifică pe baza caracteristicilor tipice, identificabile prin examinare microscopică, cum sînt fibrele musculare şi alte particule de carne, cartilagiile, oasele, coarnele, părul, părul de porc, sîngele, penele, cojile de ouă, oasele şi solzii de peşte.

Identificarea trebuie să se realizeze atît pentru fracţia care a trecut prin sită, conform prevederilor descrise în subpunctul 1.6.1., cît şi pentru sedimentul concentrat de eşantion, în conformitate cu prevederile menţionate în subpunctul 1.6.2. din prezenta anexă.

1.4. Reactivi utilizaţi

1.4.1. Agent de includere

1.4.1.1. Tetracloretilenă cu greutatea specifică 1,62.

1.4.1.2.Soluție de roșu de alizarină, care se diluează 2,5 ml acid clorhidric 1M în 100 ml apă și se adaugă 200 mg roșu de alizarină în soluția obţinută.

1.4.1.3. Clorhidrat (soluţie apoasă, 60% g/v).

1.4.1.4. Leşie (NaOH 2,5% g/v sau KOH 2,5% g/v) pentru fracţiile cernute.

1.4.1.5. Ulei de parafină sau glicerol, cu vîscozitatea: 68-81 pentru examinarea microscopică a sedimentului.

1.4.1.6. Norland® Optical Adhesive 65 (vîscozitate: 1 200 cP) sau o rășină cu proprietăți echivalente pentru pregătirea lamelor permanente.

1.4.1.7. Reactiv Fehling, preparat înainte de utilizare din părţi egale de 1/1 a două soluţii stoc A şi B. Soluţia A: se dizolvă 6,9 g sulfat de cupru (II) pentahidrat în 100 ml apă. Soluţia B: se dizolvă 34,6 g tartrat de sodiu și potasiu tetrahidrat şi 12 g NaOH în 100 ml apă.

1.4.1.8. Tetrametilbenzidină/Peroxid de hidrogen. Se dizolvă 1 g de 3,3', 5,5' tetrametilbenzidină în 100 ml de acid acetic glacial şi 150 ml apă. Înainte de utilizare, se amestecă patru părţi din această soluţie tetrametilbenzidină cu o parte de peroxid de hidrogen 3 %.

1.4.2. Agenţi de clătire

1.4.2.1. Alcool 96%.

1.4.2.2. Acetonă.

1.4.3. Agent de concentrare

1.4.3.1. Tetracloretilenă cu densitatea 1,62.

1.4.4. Reactivi de colorare

1.4.4.1. Soluţie de iod/iodură de potasiu. Se dizolvă 2 g iodură de potasiu în 100 ml apă şi se adaugă 1 g de iod agitînd frecvent.

1.4.4.2. Roşu de alizarină. Se diluează 2,5 ml acid clorhidric 1M. în 100 ml apă şi se adaugă 200 mg roşu de alizarină în soluţia obţinută.

1.4.4.3. Reactiv cistină – 2 g acetat de plumb, 10 g NaOH/100 ml H_2O.

1.4.4.4. Soluţie de iod/iodură de potasiu, dizolvată în etanol 70%.

1.4.5. Reactiv decolorant

1.4.5.1. Soluţie comercială de hipoclorit de sodiu cu o concentraţia de 9-14% clor activ.

1.5. Echipament şi accesorii

1.5.1. Balanţă analitică, cu precizia de 0,001 g, cu excepţia sedimentului concentrat: 0,001 g.

1.5.2. Dispozitiv de măcinat (moară de măcinat sau mojar, în special pentru nutreţuri ce conţin > 15% grăsime, detectată la analiză).

1.5.3. Sită cu ochiuri pătrate cu lărgimea de maximum 0,25 mm şi 1 mm lăţime.

1.5.4. Pîlnie de separare sau pahar de laborator de decantare cu fund conic.

1.5.5. Microscop stereoscopic (mărire de minimum 40 de ori).

1.5.6. Microscop compus (mărire de minimum 400 de ori), lumină transmisă sau lumină polarizată.

1.5.7. Sticlărie de laborator standard.

1.5.8. Echipamente pentru pregătirea lamelor: lame de microscop clasice, lame tubulare, lame de acoperire cu mărimea de 20×20 mm, pensete, spatulă fină.

Toată aparatura se curăţă cu grijă. Pîlniile de separare şi sticlăria se spală în maşina de spălat. Sitele se curăţă cu o perie cu peri aspri.

1.6. Procedura de preparare

Pentru a se evita contaminarea încrucişată în laborator, toate echipamentele reutilizabile sînt curățate cu grijă înainte de utilizare. Piesele pîlniei de separare sînt demontate înainte de curățare. Piesele pîlniei de separare și sticlăria sînt prespălate manual și apoi spălate în mașina de spălat. Sitele sînt curățate, utilizînd o perie cu peri sintetici aspri. Se recomandă curățarea finală a sitelor cu acetonă și aer comprimat după cernerea materiilor grase, precum făina de pește.

Dacă ambele fracţii se analizează ca eşantioane individuale, nutreţurile sub formă de pelete se cern în prealabil.

Cel puţin 50 g de eşantion se tratează, dacă este necesar, se macină cu grijă cu un dispozitiv de măcinare adecvat pentru a obţine o structură corespunzătoare. Din materialul măcinat se iau două porţiuni reprezentative, una pentru fracţia cernută de cel puţin 5 g, avînd în vedere menţiunea de la subpunctul 1.6.1. din prezenta anexă şi una pentru sedimentul concentrat de cel puţin 5 g, avînd în vedere menţiunea de la subpunctul 1.6.2. din prezenta anexă.

Pentru identificare se poate aplica suplimentar colorarea cu reactivi de colorare, conform prevederilor subpunctului 1.6.3. dinprezenta anexă.

Pentru a indica natura proteinelor animale şi originea particulelor, se poate utiliza un sistem de decizie asistată de tipul ARIES şi pot fi documentate eşantioane de referinţă.

1.6.1. Pentru analiza eşantioanelor altele decît grăsimi sau uleiuri

Eşantioanele cu un conţinut de umiditate >14% se usucă înainte de tratare.

Se recomandă să se cearnă în prealabil la 1 mm nutreţurile sub formă de pelete şi grăunţele, apoi să se pregătească şi să se analizeze cele două fracţiuni rezultate ca eşantioane distincte.

Subeşantionarea şi măcinarea: cel puţin 50 g din eşantion constituie subeşantioane pentru a fi analizate şi ulterior măcinate.

1) Extragerea şi prepararea sedimentului: o porţiune de 10 g, cu o precizie de 0,01 g, din subeșantionul măcinat este transferată în pîlnia de separare sau în paharul de sedimentare cu fund conic și se adaugă 50 ml de tetracloretilenă. Porţiunea transferată în pîlnie este limitată la 3 g în cazul făinii de peşte sau al altor produse de origine animală pure, ingrediente minerale sau preamestecuri care generează sedimente în proporţie de peste 10%.

Amestecul se scutură energic cel puţin 30 de secunde şi se mai adaugă cu atenţie cel puţin 50 ml de tetracloretilenă în timp ce se spală suprafaţa interioară a pîlniei pentru a îndepărta orice urmă de particule. Amestecul rezultat se lasă să stea cel puţin cinci minute înainte de a separa sedimentul prin deschiderea robinetului.

2) Dacă se utilizează un pahar de sedimentare cu fund conic, se agită energic amestecul cel puţin 15 secunde şi particulele care rămîn pe pereţii paharului sînt spălate cu atenţie de pe suprafața interioară cu cel puţin 10 ml de tetracloretilenă curată.

Amestecul se lasă să stea 3 minute și apoi se agită din nou 15 secunde, iar particulele care rămîn pe pereţii paharului sînt spălate cu atenţie de pe suprafața interioară cu cel puţin 10 ml de tetracloretilenă curată. Amestecul rezultat se lasă să stea cel puţin 5 minute şi apoi fracțiunea lichidă se înlătură şi se elimină prin decantare atentă, avînd grijă să nu se piardă nimic din sediment.

3) Sedimentul se usucă și apoi se cîntăreşte cu o precizie de 0,001 g. Dacă peste 5% din sediment constă în particule >0,50 mm, se cerne la 0,25 mm şi se examinează cele două fracţiuni rezultate.

4) Extragerea și prepararea reziduului de flotaţie: după recuperarea sedimentului prin metoda descrisă mai sus, trebuie să rămînă două faze în pîlnia de separare: una lichidă care constă în tetracloretilenă şi una solidă alcătuită din material care pluteşte. Această fază solidă este reziduul de flotaţie care se recuperează, turnînd toată tetracloretilena din pîlnie prin deschiderea robinetului. Prin răsturnarea pîlniei de separare, reziduul de flotaţie este transferat într-o placă Petri mare şi uscat la aer într-o hotă de tiraj. Dacă peste 5% din reziduul de flotaţie constă în particule >0,50 mm, se cerne la 0,25 mm şi se examinează cele două fracţiuni rezultate.

5) Pregătirea materiei prime: se pregăteşte o porțiune de cel puţin 5 g de subeşantion măcinat. Dacă peste 5% din materie constă în particule >0,50 mm, se cerne la 0,25 mm şi se examinează cele două fracţiuni rezultate.

1.6.2. Identificarea constituenţilor de origine animală din fracţiile cernute

Un eşantion de cel puţin 5 g se cerne prin sită în două fracţii. Fracţia (fracţiile) cernută (cernute) cu particule mari (sau o parte reprezentativă a fracţiei) se aplică în strat subţire pe un suport adecvat şi se examinează sistematic

la microscopul stereoscopic cu măriri diferite pentru detectarea constituenţilor de origine animală.

Lamelele preparate cu fracţia (fracţiile) cu particule fine se examinează sistematic la microscopul compus cu măriri diferite pentru detectarea constituenţilor de origine animală.

1.6.3. Identificarea constituenţilor de origine animală din sedimentul concentrat

Cel puţin 5 g se cîntăresc cu o precizie de pînă la 0,001 g de eşantion se transferă într-o pîlnie de separare sau într-un vas de laborator de decantare cu fund conic şi se tratează cu cel puţin 50 ml tetracloretilenă. Soluţia se agită sau se amestecă de mai multe ori.

1) Dacă se utilizează o pîlnie de separare închisă, sedimentul se lasă să stea un timp de cel puţin trei minute înainte de a fi separat. Se repetă agitarea şi sedimentul se lasă iar să stea timp de cel puţin trei minute.

Se separă din nou sedimentul.

2) Dacă se utilizează un pahar de laborator deschis, sedimentul se lasă să stea cel puţin cinci minute înainte de a fi separat.

Sedimentul total se usucă şi apoi se cîntăreşte cu o precizie de 0,001 g. Cîntărirea este efectuată doar dacă este necesară o estimare. Dacă sedimentul conţine multe particule mari, se poate cerne printr-o sită în două fracţii.

Sedimentul uscat se examinează la microscopul stereoscopic şi la microscopul compus pentru detectarea constituenţilor osoşi.

1.6.4. Pregătirea eşantioanelor constînd în grăsimi sau uleiuri

Pentru pregătirea eşantioanelor constînd în grăsimi sau uleiuri se aplică următorul protocol:

1) dacă grăsimea este solidă, se încălzeşte într-un cuptor pînă cînd devine lichidă;

2) cu ajutorul unei pipete, 40 ml de grăsime sau ulei se transferă din partea inferioară a eşantionului într-un tub de centrifugă;

3) se centrifughează timp de 10 minute la 4 000 rpm;

4) dacă grăsimea este solidă după centrifugare, se încălzeşte într-un cuptor pînă cînd devine lichidă;

5) se repetă centrifugarea timp de 5 minute la 4 000 rpm;

6) cu ajutorul unei linguri mici sau al unei spatule, jumătate din impurităţile decantate sînt transferate spre examinare către lame microscopice, recomandîndu-se glicerolul ca mediu de montare.

1.6.5. Utilizarea agenţilor de includere şi a reactivilor de colorare

Pentru a facilita identificarea la microscop a constituenţilor de origine animală se pot utiliza agenţi de includere şi reactivi de colorare speciali.

Clorhidrat: prin încălzire cu atenţie, structurile celulare se văd mai clar, ca urmare a faptului că granulele de amidon se gelatinizează, iar conţinuturile celulare nedorite sînt eliminate.

Leşie: atît hidroxidul de sodiu, cît şi hidroxidul de potasiu limpezesc materialul nutreţului, facilitînd detecţia fibrelor musculare, a părului sau a altor structuri cheratinoase.

Ulei de parafină şi glicerol: constituenţii osoşi pot fi identificaţi bine în acest agent de includere pentru că majoritatea lacunelor rămîn umplute cu aer şi apar sub formă de găuri negre de aproximativ 5-15 μm.

Soluţie de iod/iodură de potasiu: se utilizează pentru detecţia amidonului de culoare albastră-violetă şi a proteinelor de culoare galbenă-portocalie. Dacă este necesar, soluţiile pot fi diluate.

Soluţie de roşu de alizarină: coloraţie roşie/roz a oaselor, precum şi a oaselor şi solzilor de peşte. Înainte de uscarea sedimentului, în conformitate cu prevederile subpunctul 1.6.2. din prezenta anexă, întregul sediment se transferă într-o eprubetă de sticlă şi se clăteşte de două ori cu aproximativ 5 ml de alcool, astfel de fiecare dată se utilizează un agitator, iar solventul se lasă să stea timp de aproximativ un minut şi se elimină.

Înainte de a utiliza acest reactiv de colorare, sedimentul se decolorează adăugîndu-se cel puţin 1 ml de soluţie de hipoclorit de sodiu. Se permite ca reacţia să continue timp de 10 minute.

Eprubeta se umple cu apă, se aşteaptă timp de 2-3 minute ca sedimentul să se decanteze, iar apa şi particulele în suspensie se elimină. Sedimentul se clăteşte de încă două ori cu aproximativ 10 ml de apă, iar pentru aceasta, de fiecare dată, se utilizează un agitator, care se lasă să stea şi apoi se elimină apa.

În funcţie de cantitatea de reziduu, se adaugă două pînă la zece sau mai multe picături de soluţie de roşu de alizarină. Amestecul se agită şi se permite desfăşurarea reacţiei timp de cîteva secunde. Sedimentul colorat se clăteşte de două ori cu aproximativ 5 ml de alcool, apoi o dată cu acetonă, astfel, de fiecare dată, se utilizează un agitator, solventul se lasă să stea timp de aproximativ un minut şi se elimină. Astfel sedimentul este pregătit pentru a fi uscat.

Reactiv cistină: prin încălzire cu atenţie, constituenţii care conţin cistină cu ar fi păr, pene etc. devin de culoare negru-maro.

1.6.6. Examinarea nutreţurilor susceptibile de a conţine făină de peşte

Se examinează la microscopul compus, în conformitate cu prevederile subpunctelor 1.6.1. şi 1.6.2. din prezenta anexă, cel puţin o lamelă din fracţia fină cernută şi din fracţia fină de sediment.

Dacă eticheta indică prezenţa făinii de peşte în ingrediente sau dacă se suspectează sau se detectează prezenţa făinii de peşte la examinarea iniţială, se examinează cel puţin încă două lamele cu fracţie fină cernută din eşantionul original, precum şi fracţia de sediment total.

1.6.7. Lamele microscopice se pregătesc din sediment și, în funcție de alegerea operatorului, fie din reziduu de flotație, fie din materie primă. În cazul în care s-a utilizat cernerea în timpul pregătirii eşantioanelor, se pregătesc cele două fracțiuni rezultate - cea fină și cea grosieră. Porţiunile de testat din fracțiuni întinse pe lame trebuie să fie reprezentative pentru întreaga fracţiune.

Lamele microscopice se montează cu mediul de montare adecvat în conformitate cu procedurile standard de operare stabilite de laboratorul de referință al Uniunii Europene pentru detectarea proteinelor animale în hrana pentru animale şi publicate pe pagina web oficială al acestuia. Lamele se acoperă cu lame de acoperire.

Observațiile microscopice se realizează utilizînd microscopul compus pe sediment și, în funcție de alegerea operatorului, fie pe reziduul de flotaţie, fie pe materia primă. Microscopul stereoscopic poate fi utilizat suplimentar faţă de microscopul compus pentru fracţiunile grosiere. Fiecare lamă se examinează în întregime la diferite amplificări.

Numărul minim de lame care trebuie observate în fiecare etapă a protocolului de observare trebuie să fie strict respectat, cu excepţia cazului în care întregul material al fracţiunii nu permite să se ajungă la numărul prevăzut de lame. Nu se observă mai mult de 6 lame pentru fiecare determinare.

Pentru a facilita identificarea naturii şi originii particulelor, operatorul poate utiliza instrumente de sprijin, precum sisteme de asistare în luarea deciziilor, biblioteci de imagini şi eşantioane de referinţă.

1.6.8. Numărul determinărilor

Dacă în urma unei prime determinări efectuate în conformitate cu protocolul de observare, nu se detectează nicio particulă animală de o anumită natură, cum sînt animale terestre sau peşti, nu este necesară nicio determinare suplimentară.

Dacă în urma unei prime determinări efectuate în conformitate cu protocoalele de observare, după caz, numărul total al particulelor animale de o anumită natură detectate, precum animale terestre sau peşti, variază de la 1 la 5, se efectuează o a doua determinare, pornind de la un nou subeşantion de 50 g.

Dacă în urma determinării a doua, numărul de particule animale de această anumită natură detectate variază de la 0 la 5, rezultatul analizei se raportează utilizînd terminologia stabilită la punctul 1.6. din prezenta anexă, dacă nu, se efectuează o a treia determinare, pornind de la un nou subeșantion de 50 g.

În cazul în care, în urma primei și a celei de a doua determinări, suma particulelor de o anumită natură detectate în cele două determinări este mai mare de 15, nu este necesară nicio determinare suplimentară, iar rezultatul analizei se raportează direct, utilizînd terminologia stabilită la punctul 1.6. din prezenta anexă. Dacă în urma celei de a treia determinări, suma particulelor animale de o anumită natură detectate pe parcursul celor trei determinări este mai mare de 15, rezultatul analizei se raportează, utilizînd terminologia stabilită la punctul 1.6. din prezenta anexă.

1.7. Calcul şi evaluare

Autoritatea sanitar-veterinară competentă supraveghează ca procedurile descrise la prezentul punct să fie utilizate pentru toate analizele oficiale în vederea estimării cantităţii şi nu doar a prezenţei constituenţilor de origine animală.

Calculul se poate realiza doar în cazul în care constituenţii de origine animală conţin fragmente osoase.

Fragmentele osoase ale speciilor terestre cu sînge cald, de exemplu, mamifere şi păsările, se pot distinge de diferitele tipuri de os de peşte pe o lamelă microscopică, cu ajutorul lacunei tipice. Proporţia de constituenţi de origine animală din eşantion se estimează luînd în considerare următoarele:

1) proporţia estimată în % per greutate de fragmente osoase în sedimentul concentrat;

2) proporţia în % per greutate de os din constituenţii de origine animală.

Pentru estimare trebuie să se examineze, dacă este posibil, cel puţin trei lamele şi cel puţin cinci cîmpuri pentru fiecare lamelă. În nutreţurile combinate, sedimentul concentrat conţine, de regulă, nu numai fragmente de oase de animale terestre şi de oase de peşte, ci şi alte particule cu greutate specifică mare, cum ar fi minerale, nisip, fragmente de plante lignificate şi altele.

1.7.1. Valoarea estimată a procentajului de fragmente osoase:

1) % de fragmente de oase de animale terestre = (S × c)/g;

2) % de fragmente de oase şi solzi de peşte = (S × d)/g,

unde:

S = greutatea sedimentului în mg;

c = factor de corecţie a %-ului pentru porţiunea estimată de oase de animale terestre din sediment;

d = factor de corecţie a %-ului pentru porţiunea estimată de fragmente de oase şi solzi de peşte din sediment;

g = greutatea eşantionului pentru sedimentare în mg.

1.7.2. Valoarea estimată a constituenţilor de origine animală

Dacă tipul făinii de origine animală prezente în eşantion este confirmat, conţinutul acesteia se va determina conform următoarelor formule:

1) conţinutul estimat de constituenţi al produselor din animale terestre:

$$(\%) = (S \times c)/(g \times f) \times 100;$$

2) conţinutul estimat de constituenţi al produselor din peşte:

$$(\%) = (S \times d)/(g \times f) \times 100,$$

unde:

S = greutatea sedimentului în mg;

c = factor de corecţie a %-ului pentru porţiunea estimată de constituenţi de oase de animale terestre din sediment;

d = factor de corecţie a %-ului pentru porţiunea estimată de fragmente de oase şi solzi de peşte din sediment;

f = factor de corecţie pentru proporţia de oase din constituenţii de origine animală din eşantionul examinat;

g = greutatea eşantionului pentru sedimentare în mg.

1.8. Exprimarea rezultatelor examinării

Raportul conţine cel puţin informaţii privind prezenţa constituenţilor derivaţi din animale terestre şi din făină de peşte. Diferitele cazuri se raportează în modul descris în subpunctele 1.8.1. şi 1.8.2.

1.8.1. Referitor la prezenţa constituenţilor derivaţi din animale terestre:

1) în măsura în care a fost perceptibil la microscop, în eşantionul analizat nu a fost detectat niciun constituent derivat din animale terestre; sau

2) în măsura în care a fost perceptibil la microscop, în eşantionul analizat au fost detectaţi constituenţi derivaţi din animale terestre.

1.8.2. Referitor la prezenţa făinii de peşte:

1) în măsura în care a fost perceptibil la microscop, niciun constituent derivat din peşte nu a fost detectat în eşantionul analizat;

2) în măsura în care a fost perceptibil la microscop, în eşantionul analizat au fost detectaţi constituenţi derivaţi din peşte.

Dacă sînt detectaţi constituenţi derivaţi din peşte sau din animale terestre, raportul privind rezultatele examinării, dacă este necesar, poate să indice o estimare a cantităţii de componente detectate (x %, <0,1%, 0,1-0,5%, 0,5-5% sau >5%), alte specificaţii privind tipul animalului terestru, dacă este posibil, precum şi constituenţii de origine animală identificaţi, cum sînt fibre musculare, cartilaje, oase, coarne, păr, peri de porc, pene, sînge, coji de ouă, oase de peşte, solzi.

În cazul în care se estimează cantitatea de constituenţi de origine animală, se menţionează factorul de corecţie „f” utilizat.

În cazul în care se identifică componente osoase derivate din animalele terestre, raportul conţine menţiunea suplimentară „Nu se poate exclude posibilitatea provenienţei din mamifere a constituenţilor menţionaţi anterior”.

Această menţiune suplimentară nu este necesară în cazurile în care fragmentele osoase provenite de la animale terestre sînt specificate ca fragmente osoase provenite de la păsări de crescătorie sau mamifere.

1.9. Protocol facultativ pentru analiza grăsimilor sau a uleiurilor

Pentru analiza grăsimilor sau a uleiurilor se poate utiliza următorul protocol:

1) Dacă grăsimea este solidă, aceasta se încălzeşte, de exemplu într-un cuptor cu microunde, pînă cînd devine lichidă.

2) Cu ajutorul unei pipete, se transferă 40 ml de grăsime din partea inferioară a eşantionului într-un tub de centrifugă.

3) Se centrifughează timp de 10 minute la 4000 rpm.

4) Dacă grăsimea se solidifică după centrifugare, aceasta se încălzeşte încă o dată într-un cuptor pînă cînd devine lichidă. Se repetă centrifugarea timp de cinci minute la 4 000 rpm.

5) Cu ajutorul unei linguri mici sau al unei spatule se transferă jumătate din impurităţile decantate într-o placă Petri sau pe o lamelă de microscop pentru identificarea microscopică a unui posibil conţinut de constituenţi de origine animală, cum ar fi fibre de carne, pene, fragmente osoase. Ca agent de includere pentru microscopie se recomandă uleiul de parafină sau glicerolul.

6) Impurităţile rămase se utilizează pentru sedimentare, conform descrierii de la subpunctul 1.6.2.

7) Impurităţile rămase se utilizează pentru prepararea sedimentului astfel cum se descrie în prezenta anexă la subpunctul 1.6.1.

1.9.1. Utilizarea agenţilor de colorare

Pentru a facilita identificarea corectă a constituenţilor de origine animală, operatorul poate utiliza agenţi de colorare în timpul pregătirii eşantioanelor, în conformitate cu orientările emise de laboratorul de referinţă al Uniunii Europene pentru detectarea proteinelor animale în hrana pentru animale şi publicate pe pagina web oficială al acestuia.

În cazul în care se utilizează soluție de roșu de alizarină pentru colorarea sedimentelor, se aplică următorul protocol:

1) sedimentul uscat se transferă într-o eprubetă de sticlă şi se clăteşte de două ori cu aproximativ 5 ml de etanol. De fiecare dată se utilizează un agitator timp de 30 de secunde, solventul se lasă să se decanteze aproximativ un minut și 30 de secunde și se elimină prin turnare;

2) sedimentul se decolorează, adăugîndu-se cel puţin 1 ml de soluţie de hipoclorit de sodiu. Se permite ca reacţia să continue 10 minute. Tubul se umple cu apă, sedimentul se lasă să se decanteze 2-3 minute, iar apa şi particulele în suspensie se elimină uşor prin turnare;

3) sedimentul se mai clătește de două ori cu aproximativ 10 ml de apă. Se utilizează un agitator timp de 30 de secunde, se lasă să se decanteze și se elimină apa prin turnare de fiecare dată;

4) se adaugă între 2 şi 10 picături de soluţie de roşu de alizarină, iar amestecul se agită. Se permite desfăşurarea reacţiei timp de 30 de secunde şi sedimentul colorat se clăteşte de două ori cu aproximativ 5 ml de etanol, apoi o dată cu acetonă. De fiecare dată se utilizează un agitator timp de 30 de secunde. Solventul se lasă să se decanteze aproximativ un minut şi se elimină prin turnare;

5) sedimentul colorat se usucă.

1.10. Determinarea constituenţilor de origine animală în nutreţuri a polimerazei

Fragmentele de acid dezoxiribonucleic (în continuare – ADN) de origine animală care pot fi prezente în materiile prime pentru nutreţuri şi nutreţuri combinate sînt detectate printr-o tehnică de amplificare genetică prin PCR, care vizează secvenţe de ADN specifice speciei.

Metoda PCR necesită, în primul rînd, o etapă de extragere a ADN-ului. Etapa de amplificare se aplică ulterior extractului de ADN astfel obţinut, în vederea detectării speciilor de animale vizate de test.

1.10.1. Reactivi şi echipamente pentru etapa de extragere a ADN-ului

Se utilizează numai reactivii aprobaţi de laboratorul de referinţă al Uniunii Europene pentru detectarea proteinelor animale în hrana pentru animale şi publicaţi pe pagina web oficială al acestuia.

Se utilizează numai primerii şi sondele cu secvenţe de oligonucleotide validate de către laboratorul de referinţă al Uniunii Europene pentru detectarea proteinelor animale în hrana pentru animale.

1.10.2. Se utilizează doar soluţiile de amestec principal care nu conţin reactivi susceptibili să conducă la rezultate false din cauza prezenţei de ADN animal.

1) reactivi de decontaminare;

2) soluție de acid clorhidric – 0,1 N;

3) înălbitor – soluţie de hipoclorit de sodiu la 0,15% din clor activ;

4) reactivi necorozivi pentru decontaminarea dispozitivelor costisitoare, precum balanţele analitice, de exemplu, DNA Erase™ al MP Biomedicals;

5) echipamente;

6) balanţă analitică cu o precizie de 0,001 g;

7) echipament de măcinare;

8) thermocycler care permite PCR în timp real;

9) microcentrifugă pentru tuburi de microcentrifugare;

10) set de micropipete care permit introducerea cu pipeta de la 1 µl pînă la 1 000 µl;

11) material de plastic standard de biologie moleculară: tuburi de microcentrifugare, vîrfuri de plastic filtrate pentru micropipete, plăci pentru thermocycler;

12) Congelatoare pentru depozitarea eşantioanelor şi reactivilor.

1.10.3. Pregătirea eşantioanelor

Pregătirea eşantioanelor de laborator înainte de extragerea ADN-ului respectă cerinţele prevăzute în anexa nr. 2 la prezenta hotărîre.

Cel puţin 50 g din eşantion constituie subeşantioane pentru a fi analizate şi ulterior măcinate.

Pregătirea eşantioanelor se efectuează într-o încăpere diferită de cele dedicate extragerii ADN-ului şi areacţiilor de amplificare genetică descrise în ISO 24276.

Se pregătesc două porţiuni de testat de cel puţin 100 mg fiecare.

1.10.4. Extragerea ADN-ului

Extragerea ADN-ului se efectuează pe fiecare porţiune de testat pregătită, utilizînd procedurile PSO stabilite de laboratorul de referinţă al Uniunii Europene pentru detectarea proteinelor animale în hrana pentru animale şi publicate pe pagina web oficială al acestuia. Se pregătesc două controale de extragere pentru fiecare serie de extrageri descrise în ISO 24276:

1) un control martor de extragere;

2) un control de extragere al ADN-ului pozitiv.

Amplificarea genetică se efectuează utilizînd metodele validate pentru fiecare specie care necesită identificare. Aceste metode sînt prevăzute în procedurile PSO stabilite de laboratorul de referinţă al Uniunii Europene pentru detectarea proteinelor animale în hrana pentru animale şi publicate pe pagina web oficială al acestuia. Fiecare extract de ADN se analizează în cel puţin două diluţii diferite în scopul de a evalua inhibarea.

Se pregătesc două controale de amplificare pentru fiecare specie ţintă, astfel cum se descrie în ISO 24276:

1) se utilizează un control ţintă al ADN-ului pozitiv pentru fiecare placă sau serie de teste PCR;

2) se utilizează un control al reactivului de amplificare, denumit de asemenea, control fără etalon pentru fiecare placă sau serie de teste PCR.

1.10.5. Interpretarea şi exprimarea rezultatelor

Atunci cînd raportează rezultatele, laboratorul indică cel puţin greutatea porţiunilor de testat utilizate, tehnica de extragere utilizată, numărul de determinări efectuate şi limita de detecţie a metodei.

Rezultatele nu sînt interpretate şi raportate în cazul în care controlul de extragere al ADN-ului pozitiv şi controalele ţintă ale ADN-ului pozitiv nu oferă

rezultate pozitive pentru obiectivul care face obiectul testului, în timp ce controlul reactivului de amplificare este negativ.

În cazul în care rezultatele celor două porţiuni de testat nu sînt consecvente, se repetă cel puţin etapa de amplificare genetică. Atunci cînd laboratorul suspectează că extractele de ADN pot fi cauza inconsecvenţei, se efectuează o nouă extracţie de ADN şi o altă amplificare genetică înainte de interpretarea rezultatelor.

Exprimarea finală a rezultatelor se bazează pe integrarea şi interpretarea rezultatelor celor două porţiuni de testat în conformitate cu procedurile PSO stabilite de laboratorul de referinţă al Uniunii Europene pentru detectarea proteinelor animale în hrana pentru animale şi publicate pe pagina web oficială al acestuia.

Un rezultat negativ este raportat în cazul în care niciun ADN de la X nu a fost detectat în eşantionul prezentat, X fiind specia de animale sau grupul de specii de animale care sînt vizate de test.

Un rezultat pozitiv este raportat în cazul în care a fost detectat ADN de la X în eşantionul prezentat, X fiind specia de animale sau grupul de specii de animale care sînt vizate de test.”

Prim-ministru **PAVEL FILIP**

Contrasemnează:

Viceprim-ministru,
ministrul afacerilor externe
şi integrării europene Andrei GALBUR

Ministrul agriculturii,
dezvoltării regionale
şi mediului Vasile Bîtca

Ministrul justiţiei Vladimir Cebotari

Notă informativă
la proiectul Hotărîrii de Guvern pentru modificarea şi completarea Hotărîrii de Guvern nr. 686 din 13 septembrie 2012 „Cu privire la aprobarea unor metode de analiză pentru controlul nutreţurilor"

Condiţii ce au impus elaborarea proiectului:

Proiectul de hotărîre nominalizat este elaborat întru executarea Hotărîrii Guvernului nr.1472 din 30.12.2016 cu privire la aprobarea Planului naţional de acţiuni pentru implementarea Acordului de Asociere Republica Moldova – Uniunea Europeană în perioada 2017-2019 în special a titlului V „Comerţ şi aspecte legate de comerţ", capitolul 4 „Masuri sanitare si fitosanitare", secţiunea 3 „Introducerea pe piaţă a produselor alimentare, a hranei pentru animale şi a subproduselor de origine animală".

Principalele prevederi şi elemente noi ale proiectului:

Modificarea şi completarea Hotărîrii Guvernului nr. 686 din 13.02.2012 "Cu privire la aprobarea unor medtode de analiză pentru controlul nutreţurilor" este necesară în contextul operării de modificări asupra Regulamentului nr.152 a Comisiei din 27 ianuarie 2009 de stabilire a metodelor de eşantionare şi analiză pentru controlul oficial al furajelor.

Astfel, modificările operate sunt necesare pentru stabilirea corectă a eşantioanelor destinate controlului oficial al furajelor care se prelevează în conformitate cu metodele descrise în anexele din hotărîre, precum şi a metodelor şi a caracteristicilor aparatajului care este folosit pentru stabilirea normelor de analiză pentru controlul nutreţurilor.

Scopul rezultatelor şi metodelor de analiză este de a stabili o calitate a furajului, ori respectiv calitatea faţă de restul furajelor din acelaşi lot, precum şi necesitatea respectării acestor cerinţe de către operatorii din sectorul hranei pentru animale, întru asigurarea sectorului zootehnic cu furaje calitative ce sunt necesare să respecte standardele europene.

Argumentarea şi gradul compatibilităţii proiectului de act normativ:

Prevederile proiectului hotărîrii de guvern este elaborat în conformitate cu cerinţele Legii 221-XVI din 19 octombrie 2007 privind activitatea sanitar-veterinară.

Proiectul hotărîrii de guvern transpune Regulamentul nr.152 a Comisiei din 27 ianuarie 2009 de stabilire a metodelor de eşantionare şi analiză pentru

controlul oficial al furajelor (publicat în Jurnalul Oficial al Uniunii Europene nr. L 054, 26.2.2009, p. 1).

Actul de analiză a impactului de reglementare:

Prezentul act normativ nu are impact asupra activităţii de întreprinzător şi nu necesită elaborarea analizei impactului de reglementare din considerentul stabilirii unor cerinţe primare ce necesită a fi luate pentru prelevarea unor eşantioane pentru controlul nutreţurilor, precum şi faptul că aceste cerinţe sunt norme tehnice ce necesită a fi îndeplinite de către personalul laboratoarelor din acest domeniu.

Fundamentarea economico-financiară:

Totodată, proiectul prezentat spre aprobare nu necesită cheltuieli suplimentare din partea statului, acestea fiind suficiente întru exercitarea pe deplin a atribuţiilor funcţionale de către Agenţia Naţională pentru Siguranţa Alimentelor.

Autorii proiectului:

Proiectul de act normativ a fost elaborat de Ministerul Agriculturii, Dezvoltării Regionale şi Mediului.

Rezultatele scontate:

Aducerea în concordanţă cu prevederile legislaţiei comunitare pentru crearea cadrului legal în implimentarea Acordului de Asociere între Republica Moldova, pe de o parte, şi Uniunea Europeană şi Comunitatea Europeană a Energiei Atomice şi statele membre ale acestora, pe de altă parte.

În contextul celor expuse, considerăm oportun şi necesar aprobarea proiectului emis spre avizare.

Ministru **Vasile BÎTCA**

Ex.: Cocieru Dumitru
Tel: 022-210 724