

D.M. 23 dicembre 2000 (pubblicato nella Gazz. Uff. 9 febbraio 2001, n. 33), come modificato dal **D.M. 31 maggio 2003**, (pubblicato nella Gazz. Uff. 14 luglio 2003, n.161) e dal **D.M. 17 novembre 2004**, (pubblicato nella Gazz.Uff. 13 gennaio 2005, n.9).

Recepimento della direttiva 98/53/CE della Commissione che fissa i metodi per il prelievo di campioni e metodi d'analisi per il controllo ufficiale dei tenori massimi di taluni contaminanti nei prodotti alimentari

IL MINISTRO DELLA SANITÀ

Vista la direttiva 98/53/CE della Commissione del 16 luglio 1998 che fissa i metodi per il prelievo dei campioni e metodi di analisi per il controllo ufficiale dei tenori massimi di taluni contaminanti nei prodotti alimentari;

Visto l'art. 21 della *legge 30 aprile 1962, n. 283*;

Visto il *decreto del Presidente della Repubblica 26 marzo 1980, n. 327* ed in particolare l'art. 9;

Ritenuto di dover recepire nell'ordinamento nazionale le disposizioni che formano oggetto della sopra citata direttiva della Commissione CE;

Visto il parere della Commissione per la determinazione dei metodi ufficiali di analisi di cui all'art. 21 della *legge 30 aprile 1962, n. 283*, espresso nella seduta del 17 maggio 2000;

Decreta:

1. Sono approvati i metodi di analisi e di campionamento per il controllo ufficiale dei tenori massimi di taluni contaminanti nei prodotti alimentari riportati negli allegati.

Modalità di prelievo dei campioni destinati al controllo ufficiale del tenore di aflatossine in alcuni prodotti alimentari.

1. *Oggetto e campo d'applicazione.*

I campioni destinati al controllo ufficiale del tenore di aflatossine nei prodotti alimentari vengono prelevati con le modalità indicate qui di seguito. I campioni globali così ottenuti vengono considerati rappresentativi delle partite. La conformità delle partite, per quanto si riferisce al tenore massimo fissato nel regolamento (CE) 1525/98, viene determinata in funzione dei tenori riscontrati nelle aliquote analizzate.

2. *Definizioni.*

2.1. Partita: quantitativo di prodotto alimentare identificabile, consegnato in un'unica volta, per il quale è stata accertata, dall'addetto al controllo ufficiale, la presenza di caratteristiche comuni, quali l'origine, la varietà, il tipo di imballaggio, il confezionatore, lo spedizioniere o la marcatura.

2.2. Sottopartita: porzione di una grande partita designata per l'applicazione delle modalità di prelievo. Ciascuna sottopartita deve essere fisicamente separata e identificabile.

2.3. Campione elementare: quantitativo di materiale prelevato in un solo punto della partita o della sottopartita.

2.4. Campione globale: campione ottenuto riunendo tutti i campioni elementari prelevati dalla partita o dalla sottopartita.

2.5. Campione di laboratorio: campione ricavato dal campione globale, da suddividere in aliquote da destinare alle analisi.

2.6. Aliquota: porzione ottenuta dal campione di laboratorio macinato e corrispondente ad un quinto del campione di laboratorio.

3. *Disposizioni generali.*

3.1. Personale.

Il personale che effettua il prelievo deve operare secondo le modalità del presente allegato.

3.2. Prodotto da campionare.

Ciascuna partita da controllare è oggetto di campionamento separato. Conformemente alle disposizioni specifiche di cui al punto 5 del presente

allegato, le grandi partite devono essere suddivise in sottopartite, che devono essere oggetto di campionamento separato.

3.3. Precauzioni da prendere.

Durante il campionamento e la preparazione dei campioni di laboratorio, è necessario evitare qualsiasi alterazione che possa modificare il tenore di aflatoxine e compromettere le analisi o la rappresentatività del campione globale.

3.4. Campioni elementari.

I campioni elementari devono quanto più possibile essere prelevati in vari siti distribuiti attraverso tutta la partita o sottopartita. Segnalare qualsiasi deroga a tale norma nel verbale di cui al punto 3.8.

3.5. Preparazione del campione globale e dei campioni di laboratorio.

Il campione globale viene ottenuto mescolando sufficientemente i campioni elementari.

Il mescolamento è necessario onde garantire che ciascun campione di laboratorio sia rappresentativo della partita o sottopartita da controllare.

Dopo tale operazione e se del caso, il campione globale deve essere suddiviso in campioni di laboratorio eguali, conformemente alle disposizioni specifiche di cui al punto 5.2.1, lettera *d*) del presente allegato.

3.6. Identificazione dei campioni globali o dei campioni di laboratorio.

Per ciascun prelievo di campione, redigere un verbale di campionamento che consenta di identificare con certezza la partita campionata, la data e il luogo di campionamento, nonché qualsiasi informazione supplementare che possa essere utile all'analista, secondo quanto previsto dal decreto del Presidente della Repubblica 27 marzo 1980, n. 327.

3.7. Condizionamento ed invio dei campioni di laboratorio.

Sistemare ciascun campione di laboratorio in un recipiente pulito, di materiale inerte, che lo protegga adeguatamente contro qualsiasi fattore di contaminazione e danno che potrebbe essere causato dal trasporto. Prendere altresì tutte le precauzioni necessarie ad evitare modifiche nella composizione del campione di laboratorio durante il trasporto o la conservazione.

3.8. Preparazione delle aliquote.

Ciascun campione di laboratorio deve essere macinato, presso il laboratorio, e suddiviso in aliquote secondo quanto disposto dal decreto del Presidente della Repubblica 27 marzo 1980, n. 327. A tal fine l'autorità che ha predisposto il

prelevamento dei campioni procede ad effettuare la suddetta operazione alla presenza del titolare o di un suo rappresentante della merce campionata redigendo apposito verbale.

4. Disposizioni esplicative.

4.1. Diversi tipi di partite.

I prodotti possono essere commercializzati sfusi, in contenitori, in imballaggi singoli (sacchetti, confezioni al dettaglio), ecc. La procedura di campionamento può essere applicata alle varie forme nelle quali i prodotti vengono immessi in commercio.

4.1.1. Peso del campione elementare.

Il peso del campione elementare è di circa 300 grammi, a meno che esso non sia definito diversamente al punto 5 del presente allegato e ad eccezione delle spezie, nel cui caso il peso del campione elementare è di circa 100 grammi. Nel caso delle confezioni al dettaglio, il peso del campione elementare dipende dal peso della confezione stessa.

4.1.2. Fatte salve le disposizioni specifiche di cui al punto 5 del presente allegato, come guida per il campionamento delle partite commercializzate in sacchetti o in confezioni singole può essere usata la formula seguente:

Frequenza di campionamento = [peso della partita (in kg) × peso del campione elementare (in kg)] / [peso del campione globale (in kg) × peso di un singolo imballaggio o confezione (in kg)]

Frequenza di campionamento: è il numero che individua ogni quanti imballaggi deve essere effettuato il prelievo del campione elementare. I numeri decimali devono essere approssimati al numero intero più vicino.

4.2. Numero di campioni elementari per le partite < 15 tonnellate.

Salvo diverse indicazioni riportate al punto 5 del presente allegato, il numero di campioni elementari da prelevare dipende dal peso della partita, con un minimo di 10 e un massimo di 100. Per determinare il numero di campioni elementari da prelevare, è possibile basarsi sulle cifre della tabella seguente.

Tabella 1 Numero di campioni elementari da prelevare in funzione del peso della partita

Peso della partita (in t)	Numero di campioni
$\leq 0,1$	10
$> 0,1$ e $\leq 0,2$	15
$> 0,2$ e $\leq 0,5$	20
$> 0,5$ e $\leq 1,0$	30
$> 1,0$ e $\leq 2,0$	40
$> 2,0$ e $\leq 5,0$	60
$> 5,0$ e $\leq 10,0$	80
$> 10,0$ e $\leq 15,0$	100

5. *Disposizioni specifiche.*

5.1. Riassunto generale del sistema di campionamento per le arachidi, i frutti a guscio, la frutta secca, i cereali e le spezie .

Tabella 2 Suddivisione delle partite in sottopartite in funzione del prodotto e del peso della partita

Prodotto	Peso della partita (in t)	Peso (in t) o numero delle sottopartite (n)	Numero di campioni elementari	Campione globale (in kg)
Fichi secchi e altra frutta secca	≥ 15	15-30t	100	30
	< 15	-	10-100*	≤ 30
	≥ 500	100t	100	30
Arachidi, pistacchi, noci del Brasile e	> 125 e < 500	5	100	30
altri frutti a guscio	≥ 15 e ≤ 125	25t	100	30
	< 15	-	10-100*	≤ 30
	≥ 1500	500t	100	30
Cereali	> 300 e < 1500	3	100	30
	≥ 50 e ≤ 300	100t	100	30
	< 50	-	10-100*	1-10
Spezie (5)	≥ 15	25 tonnellate	100	10
	< 15	-	10-100 *	1-10 *

(*) In funzione del peso della partita (cfr. punto 4.2. o 5.3.).

5.2. Arachidi, pistacchi, noci del Brasile, Fichi secchi, Cereali (partite ≥ 50 tonnellate), spezie .

5.2.1. Modalità di prelievo.

a) Sempreché le sottopartite possano essere separate fisicamente, ciascuna partita deve essere suddivisa in sottopartite conformemente alla tabella 2. Dato che il peso delle partite non è sempre un multiplo esatto di quello delle sottopartite, quest'ultimo può superare il peso indicato per un massimo del 20%.

b) Ciascuna sottopartita deve essere oggetto di campionamento separato.

c) Numero di campioni elementari: 100. In caso di partite < 15 tonnellate, il numero di campioni elementari da prelevare dipende dal peso della partita, con un minimo di 10 e un massimo di 100 (cfr. punto 4.2.).

d) Il campione globale, del peso di 30 kg, va mescolato e suddiviso in tre campioni di laboratorio uguali di 10 kg prima della macinatura (nel caso di arachidi, di frutti a guscio, di frutta secca e di granoturco, tale suddivisione non è necessaria se destinati ad essere selezionati o a subire altri trattamenti fisici, oppure se si dispone di un'apparecchiatura in grado di omogeneizzare un campione di 30 kg). Nel caso in cui il peso del campione globale sia inferiore a 10 kg, il campione globale non deve essere suddiviso in tre campioni di laboratorio. Nel caso delle spezie, il peso del campione globale non è superiore a 10 kg e pertanto non è necessaria alcuna suddivisione in campioni di laboratorio .

e) I campioni globali < 10kg non devono essere suddivisi in campioni di laboratorio.

f) Ciascun campione di laboratorio deve essere individualmente finemente macinato e accuratamente mescolato, onde garantire una omogeneizzazione completa conformemente alle disposizioni dell'allegato II.

g) Nei casi in cui non è possibile applicare le modalità di prelievo sopra descritte senza causare danni economici considerevoli (ad esempio, a causa delle forme d'imballaggio o dei mezzi di trasporto, ecc.), si può ricorrere a un metodo alternativo, a condizione che la campionatura sia la più rappresentativa possibile e che il metodo applicato sia chiaramente descritto e debitamente documentato (cfr.3.6.).

5.2.2 Accettazione di una partita o sottopartita:

a) per le arachidi, i frutti a guscio, la frutta secca e il granoturco destinati alla selezione o ad altri trattamenti fisici nonché per le spezie:

accettazione, se il campione globale o la media dei campioni di laboratorio sono conformi al limite massimo, tenendo conto dell'incertezza di misurazione e della correzione per il recupero;

rifiuto, se il campione globale o la media dei campioni di laboratorio superano il limite massimo al di là di un ragionevole dubbio tenendo conto dell'incertezza di misurazione e della correzione per il recupero;

b) per le arachidi, i frutti a guscio, la frutta secca e i cereali destinati al consumo umano diretto e i cereali, ad eccezione del granturco, destinati ad essere selezionati o subire altri trattamenti fisici:

accettazione, se nessuno dei campioni di laboratorio supera il limite massimo, tenendo conto dell'incertezza di misurazione e della correzione per recupero;

rifiuto, se uno o più dei campioni di laboratorio superano il limite massimo oltre un ragionevole dubbio tenendo conto dell'incertezza di misurazione e della correzione per recupero;

qualora il peso del campione globale sia < 10 kg:

accettazione, se il campione globale è conforme al limite massimo, tenendo conto dell'incertezza di misurazione e della correzione per recupero;

rifiuto, se il campione globale supera il limite massimo oltre un ragionevole dubbio tenendo conto dell'incertezza di misurazione e della correzione per recupero .

5.3. Frutti a guscio diversi dalle arachidi, dai pistacchi e dalle noci del Brasile.

Frutta secca diversa dai fichi secchi, Cereali (partite < 50 tonnellate).

5.3.1. Modalità di prelievo.

Per questi prodotti possono essere applicate le modalità di prelievo di cui al punto 5.2.1. Tuttavia, tenute presenti la bassa incidenza della contaminazione di questi prodotti e/o le forme più moderne di imballaggio in cui tali prodotti vengono commercializzati, è possibile applicare un altro sistema di prelievo (cfr.4.1.), a condizione che il campionamento sia il più rappresentativo possibile. Per partite di cereali < 50 tonnellate, è possibile ricorrere a modalità di prelievo adeguate al peso della partita e che comportino da 10 a 100 campioni elementari di 100 grammi ciascuna riuniti in un campione globale di 1-10 kg. Per determinare il numero di campioni elementari da prelevare, è possibile basarsi sulle cifre della tabella seguente.

Tabella 3 Numero dei campioni elementari da prelevare in funzione del peso della partita di cereali

Peso della partita (in t)	Numero di campioni elementari
≤ 1	10
$> 1 \text{ e } \leq 3$	20
$> 3 \text{ e } \leq 10$	40
$> 10 \text{ e } \leq 20$	60
$> 20 \text{ e } \leq 50$	100

5.3.2. Accettazione di una partita o di una sottopartita.

Cfr. punto 5.2.2.

5.4. Latte.

5.4.1. Modalità di prelievo.

Prelievo da effettuare secondo le modalità di cui al *decreto ministeriale 26 marzo 1992*, che stabilisce i metodi di analisi e prova relativi al latte crudo e al latte trattato termicamente, pubblicato nel s.o. alla Gazzetta Ufficiale n. 90 del 16 aprile 1992.

Numero di campioni elementari: minimo 5.

Peso del campione globale: minimo 0,5 kg o litri.

5.4.2 Accettazione di una partita o di una sottopartita:

accettazione, se il campione globale è conforme al limite massimo, tenendo conto dell'incertezza di misurazione e della correzione per il recupero;

rifiuto, se il campione globale supera il limite massimo oltre un ragionevole dubbio tenendo conto dell'incertezza di misurazione e della correzione per il recupero.5.5. Prodotti derivati e prodotti alimentari composti da più ingredienti.

5.5.1. Prodotti lattierocaseari.

5.5.1.1. Modalità di prelievo.

Prelievo da effettuare secondo le modalità di cui al decreto 8 novembre 1989, n. 435 concernente i metodi di prelievo ai fini dell'analisi chimica per il controllo del latte conservato destinato all'alimentazione umana.

Numero di campioni elementari: minimo 5.

Per gli altri prodotti lattierocaseari, si applicano modalità di prelievo equivalente.

5.5.1.2. Accettazione di una partita o sottopartita:

accettazione, se il campione globale è conforme al limite massimo, tenendo conto dell'incertezza di misurazione e della correzione per il recupero;

rifiuto, se il campione globale supera il limite massimo oltre un ragionevole dubbio tenendo conto dell'incertezza di misurazione e della misurazione per il recupero .

5.5.2. Altri prodotti derivati che presentano particelle molto fini, quali farina, pasta di fichi, pasta d'arachidi (distribuzione omogenea della contaminazione da aflatossine).

5.5.2.1. Modalità di prelievo.

Numero di campioni elementari: 100. In caso di partite ≤ 50 tonnellate, il numero di campioni elementari è compreso tra 10 e 100. Esso dipende dal peso della partita (cfr. tabella 3).

Il peso del campione elementare è di circa 100 grammi. Nel caso di partite in confezione al dettaglio, il peso del campione elementare dipende dalla dimensione della confezione stessa.

Peso del campione globale: 1-10 kg mescolati sufficientemente.

5.5.2.2. Numero dei campioni da prelevare.

Il numero di campioni globali da prelevare dipende dal peso della partita. Le grandi partite devono essere suddivise in sottopartite come indicato nella tabella 2 di cui al punto 5.1 .

Ciascuna sottopartita deve essere oggetto di campionamento separato.

5.5.2.3 Accettazione di un partita o sottopartita:

accettazione, se il campione globale è conforme al limite massimo, tenendo conto dell'incertezza di misurazione e della correzione per il recupero;

rifiuto, se il campione globale supera il limite massimo oltre un ragionevole dubbio tenendo conto dell'incertezza di misurazione e della correzione per il recupero .

5.6. Altri prodotti che presentano particelle relativamente grossolane (distribuzione eterogenea della contaminazione da parte delle aflatossine).

Modalità di prelievo e accettazione conformemente alle disposizioni dei punti 5.2. e 5.3., per i prodotti agricoli non trasformati.

6. Prelievo di campioni nella fase del commercio al dettaglio.

Quando possibile, il prelievo di campioni su prodotti alimentari nella fase del commercio al dettaglio deve essere effettuato seguendo le disposizioni di campionamento indicate in precedenza. Se ciò non è possibile possono essere seguite altre procedure di prelievo efficaci nella fase del commercio al dettaglio, a condizione che esse garantiscano una sufficiente rappresentatività della partita oggetto di campionamento .

Preparazione dei campioni e criteri generali ai quali devono essere adeguati i metodi d'analisi per il controllo ufficiale del tenore di aflatossine in taluni prodotti alimentari

1. Introduzione.

1.1. Precauzioni.

Durante l'operazione è opportuno evitare il più possibile la luce del giorno in quanto l'aflatossina si decompone gradualmente sotto l'influenza della luce ultravioletta. Data la distribuzione estremamente eterogenea dell'aflatossina, i campioni devono essere preparati (e soprattutto omogeneizzati) con la massima cura.

Per la preparazione delle aliquote da analizzare deve essere utilizzata l'intera massa di ciascun campione di laboratorio.

1.2. Calcolo della proporzione di guscio/parte commestibile nei frutti a guscio interi.

I limiti fissati per le aflatossine dal regolamento (CE) n. 1525/98 si applicano alla parte commestibile.

Il tenore di aflatossine nella parte commestibile può essere determinato utilizzando una delle due procedure seguenti:

sgusciando i campioni di laboratorio e applicando la procedura analitica per la determinazione del tenore di aflatossine nella sola parte commestibile;

macinando l'intero frutto a guscio. La procedura di campionamento e quella analitica deve essere effettuata sulla base del peso della parte commestibile del campione globale. Quest'ultimo viene valutato mediante un fattore che tiene conto della proporzione tra guscio e parte commestibile nel frutto intero. A tale scopo circa 100 frutti a guscio interi vengono prelevati casualmente dalla partita o dal campione globale o dal campione di laboratorio. La proporzione, per ciascun campione di laboratorio, può essere ottenuta pesando il frutto intero, sgusciando e ripesando i gusci e la parte commestibile. La proporzione guscio/parte commestibile, una volta determinata, può essere usata per analisi successive. Tale proporzione deve essere tuttavia determinata con la procedura sopra descritta se il campione di laboratorio non è conforme al limite massimo.

2. Trattamento del campione ricevuto in laboratorio.

Ciascun campione di laboratorio prelevato viene macinato finemente e accuratamente mescolato, utilizzando un metodo che garantisca una omogeneizzazione completa (cfr. all. I punto 3.8.).

3. Suddivisione dei campioni prelevati.

Si applicano le modalità previste dal decreto del Presidente della Repubblica 27 marzo 1980, n. 327.

4. Metodo d'analisi che dovrà essere utilizzato dal laboratorio e modalità di controllo del laboratorio stesso.

4.1. Definizioni.

Tra le definizioni più correnti che verranno applicate ai laboratori figurano le seguenti:

i parametri di precisione più comunemente citati sono la ripetibilità e la riproducibilità.

r = ripetibilità: valore al di sotto del quale ci si aspetta che cada, con una probabilità specifica (in linea di massima 95 %), la differenza assoluta tra i risultati di due prove singole ottenute in condizioni di ripetibilità (ovvero stesso campione, stesso operatore, stessa apparecchiatura, stesso laboratorio e intervallo breve); per cui $r = 2,8 \times s_r$;

s_r = deviazione standard, calcolata dai risultati ottenuti in condizioni di ripetibilità;

RSD_r = deviazione standard relativa, calcolata dai risultati ottenuti in condizioni di ripetibilità $[(s_r/x) \times 100]$, in cui x rappresenta la media dei risultati per tutti i laboratori e i campioni;

R = riproducibilità: valore al di sotto del quale ci si aspetta che cada, entro un certo limite di probabilità (in linea di massima 95%), la differenza assoluta tra i risultati di prove singole ottenuti in condizioni di riproducibilità (ovvero ottenuti per un campione identico, da operatori in diversi laboratori che usano lo stesso metodo di prova normalizzato); per cui $R = 2,8 \times S_R$;

S_R = deviazione standard calcolata dai risultati ottenuti in condizioni di riproducibilità;

RSD_R = deviazione standard relativa calcolata dai risultati ottenuti in condizioni di riproducibilità $[(S_R/x) \times 100]$.

4.2. Esigenze generali.

I metodi d'analisi usati per il controllo dei prodotti alimentari devono essere il più possibile conformi alle disposizioni dei punti 1 e 2 dell'allegato della direttiva 85/591/CEE.

4.3. Esigenze specifiche.

Per la determinazione del tenore di aflatossine nei prodotti alimentari, i laboratori sono liberi di applicare il metodo di loro scelta, a condizione che esso rispetti i criteri seguenti :

Criterio	Intervallo di concentrazione	Intervallo raccomandato	Valore massimo ammesso
Valore sul bianco	tutte le concentrazioni	trascurabile	
Recupero aflatossina M1	0,01-0,05 µg/kg	60 a 120%	
	> 0,05 µg/kg	70 a 110%	
Recupero aflatossine	< 1,0 µg/kg	50 a 120%	
B1 B2 G1 G2	1-10 µg/kg	70 a 110%	
	> 10 µg/kg	80 a 110%	
Precisione RSDr	Tutte le concentrazioni	secondo l'equazione di Horwitz	2 x il valore derivato dell'equazione di Horwitz

La precisione RSDr può essere calcolata come pari a 0,66 x RSDr, quest'ultima ottenuta alla concentrazione di interesse.

Nota bene:

Valori da applicare tanto alla aflatossina B₁ quanto alla somma delle aflatossine totali B₁ + B₂, + G₁, + G₂.

Se deve essere riportata la somma delle aflatossine B₁ + B₂, + G₁, + G₂, deve essere nota la percentuale di recupero di ciascuna di esse relativa al metodo d'analisi utilizzato.

I limiti di rivelazione dei metodi impiegati non sono indicati, dato che i valori relativi alla precisione sono espressi per le concentrazioni di interesse.

I valori relativi alla precisione sono calcolati dall'equazione di Horwitz, ovvero:

$$RSDr = 2^{(1-0.5 \log C)};$$

dove:

SrDr è la deviazione standard relativa calcolata sulla base dei risultati ottenuti in condizioni di riproducibilità $[(S_r/x) \times 100]$.

C è il tasso di concentrazione (ovvero $1=100\text{g}/100\text{g}$, $0,001=1000\text{ mg}/\text{kg}$).

In questo caso si tratta di un'equazione generale relativa alla precisione che è indipendente dall'analita e dalla matrice e, per la maggior parte dei metodi d'analisi impiegati, dipendente unicamente dalla concentrazione.

4.4. Calcolo della percentuale di recupero e registrazione dei risultati.

Il risultato analitico viene registrato, sotto forma corretta o meno, per il fattore di recupero. Devono essere indicati la modalità di registrazione e la percentuale di recupero. Il risultato analitico corretto per il recupero è usato per verificare la conformità (cfr. allegato I, punti 5.2.2, 5.3.2, 5.4.2, 5.5.1.2 e 5.5.2.3).

Il risultato analitico viene registrato secondo la formula $x \pm U$, in cui x è il risultato analitico e U l'incertezza di misurazione ampliata, utilizzando un fattore di copertura di 2, da cui risulta un livello di affidabilità di circa 95 %

4.5. Assicurazione di qualità dei laboratori.

I laboratori devono conformarsi alle disposizioni del *decreto legislativo 26 maggio 1997, n. 156*.