

MATKAKERTOMUS EURL-WORKSHOP 1-2.10.2019, EDE, WAGENINGEN, ALANKOMAAT

1.10.2019

1. The use of visual techniques for control (L. van Raamsdonk, WFSR, Hollanti)

Seminaarissa oli yhtenä aiheena visuaalisten menetelmien käyttö direktiivin 2002/32/EC mukaisissa tiettyjen kasviperäisten epäpuhtauksien ja ergot-torajyvien jäämien määrityksissä rehuissa. Näiden määrittämiseen visuaalinen tarkastelu on tällä hetkellä ainoa varteenotettava vaihtoehto. Van Raamsdonk kävi läpi WFSR:ssä (Wageningen Food Safety Research) käytössä olevia validoituja menetelmiä sekä kvalitatiiviseen että (semi-)kvantitatiiviseen määritykseen. Esityksessä paneuduttiin erityisesti näytteen homogeenisuuden, jäämien pitoisuustasojen ja menetelmän luotettavuuden (toistettavuus, RSD%) välisiin lainalaisuuksiin. Tehtyjen määritysten perusteella WFSR ehdotti, että sopiva kokonaisnäyttemäärä olisi n. 2 kg, ja tästä otettaisiin neljä yhtä suurta osanäytettä (á 500g). Näistä tutkittaisiin ensin kaksi ja löydettyä jätettä yli tietyn pitoisuuden (ns. threshold value) tutkitaan loput kaksi näytettä. Laskukaavalla määritetään keskimääräinen kontaminaatio 2 kg:ssa. Menetelmille ollaan laatimassa laadunvarmistusohjeistusta käytäntöjen vakiinnuttamiseksi. Lisäksi visuaalisten menetelmien osalta on tulossa EURL:n järjestämä vertailumittaus (PT) ensi vuoden aikana.

2. Purity analysis (A. Szabo, Unkari)

Unkarin Szabo jatkoi visuaalisten tutkimusten teemasta kertoen heidän laboratoriossa tehtävistä mikroskopian määrityksistä. Unkarissa epäpuhtauksille on oma standardi sekä elintarvikkeiden että rehun osalta. Maassa on kattavat ohjeistukset menetelmien osalta eri jäämätyypeille ja laboratoriossa on näihin liittyen huomattava määrä standardimateriaaleja. Szabo kertoi esimerkkejä heidän tekemistään määrityksistä. Näitä oli esim. kahden eri homeen (*Claviceps purpurea* ja *Sclerotinia sclerotiorum*) muodostamien torajyvien tunnistaminen värireaktion perusteella.

3. Pyrrolizidine alkaloids (L. Gerald, Ranska)

Ranskan kasvitoksiinien NRL:n edustaja kertoi heidän pyrrolitsidiinialkaloidien (PA) määritysmenetelmänsä ja analyysiin liittyvistä haasteista. Laboratorion menetelmä kattaa 48 eri yhdistettä, mikä on enemmän kuin tulevaan lainsäädäntöön ehdotettu 21 kpl. Ledoux toi esiin isomeeristen PA:n erotukseen liittyvät haasteet. Monet isomeerit eluoituvat nestekromatografisessa (LC) kolonnissa samanaikaisesti, ja lisäksi ne tuottavat vastaavat tuoteionit massaspektrometrissa (MS). Näin ollen menetelmillä ei voida spesifisesti määrittää ko. isomeerejä. Laboratoriossa oli testattu paljon erilaisia LC-olosuhteita yhdisteiden erottamiseksi. Ledoux'n mukaan bifenyylisolonnilla voidaan saavuttaa jonkinlainen erotus (=parempi kuin C18-kolonnilla) tietyille isomeereille. Menetelmässä matriisin vaikutus analyttien signaaliin oli huomattava, ja 60-80% vasteen supressio oli tavanomaista.

4. Research study on pyrrolizidine alkaloids (P. Mulder)

Mulder esitteli alustavia tuloksia tänä vuonna järjestetystä vertailututkimuksesta. Mukana oli kaksi matriisia: yrttitee ja alfalfa. Pyrrolitsidiinialkaloidien (PA) määrittäminen on laboratoriolle uutta, eikä monilla ole validoitua menetelmää. Näin ollen myös tuloksissa oli paljon vaihtelua, eikä tutkimusta pidetty varsinaisena vertailumittauksena (vaan "research study"). Tulosten käsittely ja lopullisen raportin tekeminen on vielä kesken. Mulder kertoi aluksi yleisesti PA:sta. EFSA:n tieteellisen arvion mukaan ne saattavat olla genotoksisia

karsinogeneenejä. Kirjallisuudessa esitetyt pitoisuudet eri tuotteissa (erityisesti hunaja, yrttikasvit, –teet ja -lisäravinteet) vaihtelevat välillä 75 µg - 1000 µg/kg. Raja-arvo (ML) on edelleen keskustelun alla ja johtopäätöksiä sen suhteen odotetaan vielä loppuvuoden aikana.

Myös Mulder käsitteli PA:n analytiikan haasteita. Raja-arvoa ollaan asettamassa 21 yhden PA:n summalle. Näille on lisäksi tunnistettu 14 isomeeriä, jotka eluoituvat osittain samanaikaisesti ko. 21:n yhdisteen kanssa. Pohdittiin, pitäisikö nämä isomeerit sisällyttää summaraja-arvoon. Kaikille isomeereille ei kuitenkaan ole kaupallisia standardeja. Lisäksi tämän vertailututkimuksen perusteella eri laboratorioiden menetelmillä isomeerit pystyttiin erottamaan varsin vaihtelevasti, jos ollenkaan.

Yhteensä 27 laboratoriota osallistui tutkimukseen (23 NRL + 4 OL). Mulder kävi melko seikkaperäisesti läpi laboratorioiden käyttämiä menetelmiä: 14 käytti EURL:n kehittämää menetelmää, seitsemän Saksan BfR:n menetelmää ja viisi käytti in-house –menetelmiä. Nämä vaihtelivat mm. uuttoliuoksen, näytteen puhdistukseen käytetyn menettelyn (SPE-pylväät tai pelkkä laimennus), ajoliuosten (ns. hapan ja emäksinen ajo) ja UHPLC-kolonnin osalta. Myös menetelmään sisällytettyjen yhdisteiden määrä vaihteli. Tulosten perusteella voitiin päätellä mm., että 15 cm:n kolonnilla saatiin parempi erotus kuin 10 cm:n ja emäksisissä olosuhteissa isomeeriparien erottuminen oli parempaa kuin happamissa. Pohdittiin, tarvitaanko täydellinen erotus vai voidaanko ko-eluutio hyväksyä. Jos osittainen ko-eluutio hyväksytään, kuinka tällöin raportoidaan tulokset ja varmistetaan yhdisteiden tunnistus (retentioaika ja ionisuhde eivät toimi yksiselitteisesti kriteereinä. Tällöin tarvitaan ehkä löysemät vaatimukset. Myös isomeerien intergointiin ja kvantitointiin on kiinnitettävä huomiota. Yhdisteiden fragementoitumispattereita voi hyödyntää, koska usein yhdisteiden ionisuhteet eroavat toisistaan. Menetelmän LOQ tulisi määrittää kuitenkin vain toisen isomeerin perusteella. Mulder totesi, että monilla laboratorioilla menetelmän suorituskyvyssä on toivomisen varaa LOQ:n osalta. Alustavien tulosten mukaan ainoastaan 9/6 (eri näytematriisit) laboratorion z-arvot olivat kaikki $\leq |2|$. Tutkimuksesta saatiin kuitenkin paljon hyödyllistä tietoa, ja PA-menetelmän osalta ollaan menty vuoden aikana eteenpäin. Joulukuussa järjestetään vielä yksi koulutus NRL:lle.

5. Influence of capsules on analysis of citrinin in RYR (A. Versilovskis)

Lainsäädännön mukaan sitriniini tulee määrittää koko tuotteelle (=kapseli ja sisältö). Raja-arvo punahiivalla fermentoiduissa lisäravinteissa on tällä hetkellä 2000 µg/kg. Versilovskis esitteli EURL:n tekemää tutkimusta, jossa sitriniini oli analysoitu ravinnelisistä sekä koko tuotteesta että vain sisällöstä ilman kapselia. Todettiin, että kapseli sisältää alle yhden prosentin tuotteen sitriniinistä. Helpoin tapa määrittää sitriniini on tutkia koko kapseli sisältöineen. Tosin tällöin tarvitaan kylmäjauhatusta tai kapselin (esi-)liuottaminen happamaan veteen.

6. Update on legislation and emerging issues (F. Verstraete)

Verstraete kävi läpi lainsäädännön tulevat muutokset ja keskustelun alla olevat asiat. Sitriniinin osalta ei EFSA:n raportin perusteella tarvita riskin hallintaa viljoissa ja viljatuotteissa. Sen sijaan raja-arvoa punahiivalla fermentoiduissa riisissä lasketaan 2000:sta 100:aan µg/kg. Suurten pitoisuuksien todettiin johtuvan huonoista tuotantotavoista, joten pitoisuustasoa on pystyttävä laskemaan parantamalla näitä. Ergotalkaloideille ehdotetaan 12 yhdisteen summaa ja ehdotetut LOQ-vaatimukset olisivat 4 µg/kg tietyille epimeeriparille, yksittäisille yhdisteille 2 µg/kg. Samalla ergotalkaloidien ML lasketaan 0,5:stä 0,2:en µg/kg (pois lukien ruis, maissi ja riisi). Rukiin osalta ML lasketaan myös v. 2022 aikana. Keskusteluja on käyty raja-arvoista eri myllytuotteissa. Muista tuotteista (kuten leivät, leivonnaiset jne) ei ole vielä keskusteltu, ja näiden osalta joitakin analyttisiä kysymyksiä on ratkaisematta. Näytteenotto ergotalkaloidien kohdalla olisi kuten nyt 401/2006 –asetuksessa torajyville. Tarkoituksena on kartoittaa myös skreenaus-menetelmiä mm. omavalvonnan käyttöön. Myös rehulle on suunniteltu ohjausarvoja ergotalkaloidien pitoisuuksille ja samalla nykyisen raja-arvon uudelleen arviointia torajyvien osalta.

Alternaria-toksiineille tulee monitorointisuositus, sisältäen viitesarvot (indicative levels) alternariolille (AOH), alternariol monometyylieetterille (AME) ja tenuatsonihapolle (TEA). On pohdittava, mitä voidaan tehdä

toksiinien vähentämiseksi ja selvitettävä mitkä ovat näiden toksiinien pääasialliset lähteet. Verstaete esitteli mahdollisia viitearvoja. Näillekin toksiineille pohdittu suorituskykyvaatimuksia (Rec, RSD, LOQ). Nyt esitettyjä LOQ:eja (2/4/20 µg/kg) ei vastustettu NRL:lle aikaisemmin teetetyn kyselyn mukaan. Totesi että usein korkeat LOQ:it ovat ongelmallisia monitorointidatan kanssa, koska tällöin EFSA:an toimitetussa datassa on vinouma pienempien pitoisuuksien osalta. Komission mukaan laboratorioiden tulisi pyrkiä määrittämään mahdollisimman pieniä pitoisuuksia.

Okratoksiini A:n osalta keskustelun alla on ML:ia uusille tuotteille. Tämä on kuitenkin siirretty, kunnes saadaan EFSA:n päivitetty riskinarviointi.

EFSA:n riskinarviointi DON:ille ja sen asetyyli- ja glukosidimuodoille on valmis. Sen perusteella on DON:in modifioidut muodotkin syytä sisällyttää raja-arvoon. Uutta ML:aa esitettäessä huomioidaan myös viimeisin esiintyvyydata ja pitoisuuksien vuosittainen vaihtelu. Rehun osalta toimitaan samoin. T2- ja HT2 – toksiineista kerättyä monitorointidataa käydään läpi ja näiden summalle ollaan asettamassa raja-arvoa. Todettiin, että toistaiseksi on olemassa vain vähän tietoa näiden modifioiduista muodoista, joten niiden osalta ei käydä tällä erää enempää keskustelua. Rehulle tulee ohjearvot.

ZEN:in osalta tulisi arvioida uudelleen rehun ohjearvot. Muutoin ei ole tulossa muutoksia. Myöskään fumonisiinien lainsäädäntöön ei ole tulossa muutoksia. Enniatiinien todettiin olevan yleisiä erityisesti Pohjois-Euroopassa, ja EFSA aikoo kartoittaa asiaa. Toistaiseksi ei harkita näiden sisällyttämistä lainsäädäntöön. EFSA:n riskinarviointia aflatoksiineista odotellaan. Samoin Codexin tulevien keskustelujen (raja-arvot) lopputulemaa. Kaikille mykotoksiineille tulossa asetukseen suorituskykyvaatimukset, jotka astuisivat voimaan kesäkuussa 2020.

Kasvitoksiinien osalta erukahapon ML lasketaan 20 µg/kg kasviöljyissä, tietyin poikkeuksin kuten sinappiöljy ja lastenruoat. Pyrrolisidiinialkaloidien todettiin voivan olla riski yrtti- ja muuta teetä paljon kuluttaville. Tulossa ML 21 yhdisteen summalle. ML:ää on pohdittu paljon analytiikan kannalta. Samoin suorituskykyvaatimuksia, ja LOQ:ksi on ehdotettu 10 µg/kg yksittäisille yhdisteille. Verstraeten mukaan ehdotetut ML:t siirtyvät eteenpäin prosessissa ja keskusteluissa esitetyt arvot vaihtelevat n. 400-1000 µg/kg. Kysyttiin voiko yhdisteiden lista muuttua nyt keskustellusta. Verstraete lupasi, että 21 yhdisteen lista pysyy, eikä muutu jatkuvasti. Menetelmien suorituskykyvaatimukset ovat keskustelun alla samalla tavalla kuin mykotoksiinienkin osalta. Lainsäädäntö on tarkoitus saada parin vuoden sisällä valmiiksi, jolloin laboratorioilla on aikaa ottaa menetelmä käyttöön ja harjaantua analytiikan osalta.

Tropaanialkaloidien osalta keskustelussa on uudet ML:t lastenruoille, jotka sisältävät maissia. Lisäksi uusia raja-arvoja pohditaan hirssille, durralle, tattarille ja maissille sekä näiden myllytuotteille. Myös ML yrttihaudukkeille on keskustelun alla. LOQ:in osalta kaavailtu vaatimukseksi 1, 2 ja 5 µg/kg riippuen tuotteesta. ML:t astunevat voimaan vuoden sisällä. Opiumalkalideille on harkinnassa morfiiniekvivalentti unikonsiemenissä ja niitä sisältävissä leipomotuotteissa. Tebainille ei ehdotettu raja-arvoa.

Syaanivetyhapolle on ML 20 mg/kg aprikoosin siemenissä. Keskusteluissa myös muut elintarvikkeet kuten kassava. Lisäksi raja-arvoja muissa asetuksissa elintarvikkeissa käytettyjen aroamiaineiden ja alkoholijuomien osalta. Tetrahydrokannabinolille on monitorointisuositus hamppuöljyssä ja jauhossa. Tulossa EFSA:n raportti mahdollisista riskinhallintatoimista EFSA-raportin mukaan kalystegiinejä on löydetty suuria pitoisuuksia mm. perunasta, paprikasta ja pippurista, mutta toksisuudesta ei ole arviota ihmisille eikä riskinhallintaa pidetä tällä erää tarpeellisena. Kinolitsidiinialkaloideista, glykoalkaloideista ja grayanotoksiineista hunajassa on pyydetty EFSA:lta tieteellistä arviota.

7. Ajankohtaista CEN-työryhmistä (H. Mol ja M. Spanjer)

Päivän päätteeksi Mol ja Spanjer kävivät läpi mykotoksiini- ja kasvitoksiinimenetelmien standardointityön ajantasaisen tilanteen. Elintarvikkeiden osalta työnalla on 11 kohdetta. Näistä ergotalkaloidien menetelmä

ja ns. multimenetelmät julkaistaan ensi vuonna. Samoin aflatoksiinien menetelmä mausteille ja okratoksiini A:n lihatuotteille julkaistaan ensi vuonna. Alternaria-toksiinien menetelmän validoinnin kanssa oli haasteita ja testit jouduttiin toistamaan. Tämän osalta mandaattia jatkettiin ja työ saatetaan ensi vuoden aikana päätökseen. Joitakin mahdollisia tulevaisuuden työkohteita ovat tropaanialkaloidien, vetysyaanihapon, erukahapon, THC:n, opiumalkaloidien ja pyrrolitsidiinialkaloidien menetelmät. Myös kinolitsidiini- ja glykoalkaloidien menetelmät mainittiin mahdollisina kohteina. Rehun osalta työnalla on yhdeksän kohdetta. Näihin lukeutuu myös menetelmien suorituskykyvaatimukset sisältävä standardi.

2.10.2019

1. AQC group: performance criteria and LOQ. Alustus menetelmien suorituskykyvaatimuksista (H. Mol)

Edellisen kokouksen jälkeen perustettiin työryhmä (ns. AQC, analytical quality control-ryhmä) pohtimaan yhteneviä myko- ja kasvitoksiinien menetelmien laatuvaatimuksia ja laatimaan tarvittavia ohjeistuksia. Ryhmä listasi useita työkohteita, joista se valitsi tärkeimmiksi prioriteeteiksi menetelmien suorituskykyvaatimusten katselmoinnin ja LOD/LOQ-arvojen määrittämisen. Mol kävi esityksessään läpi miksi suorituskykyvaatimuksia tarvitaan ja millaiset ne ovat tällä hetkellä. Asetus 401/2006 antaa suorituskykyvaatimukset uusittavuudelle, toistettavuudelle ja saantoprosentille. Nykyisessä asetuksessa ei kuitenkaan ole LOQ:ille vaatimuksia. Hän esitti esimerkin menetelmän uusittavuuden (laboratorioiden välisessä menetelmävalidoinnissa, esim. menetelmien standardointi) vaikutuksesta laajennetun mittausepävarmuuden arvoon. Lisäksi esitettiin FAPAKsen järjestämistä vertailumittauksista kerätty ja analysoitu data eri matriisi/analyttiyhdistelmille sekä AQC-ryhmän alustavat ehdotukset RSD-arvoille, sekä saanto- että LOQ-vaatimuksille. Alustuksen perusteella NRL:ien edustajat keskustelivat ryhmissä aiheista AQC-ryhmän jäsenen vetämänä. Näiden keskustelujen pohjalta AQC-ryhmä tekee luonnoksen suorituskykyvaatimuksista, joka esitetään komissiolle alkuvuodesta 2020.

2. Ryhmäkeskustelut yhteenvetona

Ryhmäkeskusteluissa todettiin, että AQC-ryhmän alustavat ehdotukset uusittavuudelle ($RSD_R = 25\%$, $RSD_{WR} = 20\%$) ovat hieman tiukat, mutta toimivat useimmissa tapauksissa. Ehdotettiin kuitenkin arvoiksi $RSD_R = 30\%$ ja $RSD_{WR} = 25\%$ ainakin tietyissä, ennalta määritellyissä, poikkeustapauksissa. Saannon vaatimuksiksi AQC-ryhmä ehdotti 70-120%. Laboratoriot toivoivat hieman laajempaa väliä. LOQ-kriteereiden osalta keskusteltiin, onko järkevämpi asettaa aina kiinteä arvo vai olisiko parempi sitoa se ML:aan. Oltiin sitä mieltä, että vaatimukset määritys-/raportointirajoista ovat yleisesti ottaen tervetulleita asetukseen. Hyvänä lähtökohtana pidettiin niiden sitomista ML:aan ja $LOQ = 1/2 * ML$ on hyvä lähtökohta, mahdollisesti suuremmille pitoisuustasoille $1/5 * ML$. Tietyille analyyteille on tarkoituksenmukaista asettaa kiinteät arvot, kuten nyt on ehdotettu mm. ergot- ja pyrrolitsidiinialkaloideille. Tosin näille ehdotettuja LOQ:eja pidettiin osittain haastavina. Lisäksi tarvitaan ohjeistus, kuinka summaraja-arvojen tapauksissa määritetään suorituskykyparametrit.

Pohdittiin, että nykyisten suorituskykyvaatimusten muutokset ja uusien asettaminen vaatii NLR:ltä menetelmien katselmointia ja mahdollisesti myös verifiointia tai uudelleen validointia sekä joissakin tapauksissa jopa muutoksia menetelmään. Laboratoriot tarvitsevat myös tiedon, millaisella aikavälillä vaatimukset astuvat voimaan. Kasvitoksiinien osalta pidettiin melko epävarmana asettaa kriteerit tässä vaiheessa, kun laboratorioilla ei pääsääntöisesti ole menetelmiä validoituna eikä siten tuloksia, jonka perusteella arvioida kriteerejä. Ehdotettiin, että kasvitoksiineille, kuten lastenruoillekin, menetelmäkriteerit olisivat väljemmät. Samoin huomautettiin, että jos menetelmän saanto on toistettavasti alle vaatimusten, on tämä voitava hyväksyä, koska asialle ei välttämättä ole tehtävissä mitään.

Laboratoriot toivovat myös, että suorituskykyvaatimusten toteutumista ja tarkoituksenmukaisuutta seurataan ja voidaan arvioida sopivin väliajoin sekä tarvittaessa päivittää asetukseen. Verstraeten mukaan

näin voi olla, kun vaatimukset laitetaan asetuksen muutoksena (amendmend), jota voidaan uudelleenarvioida vaikkapa vuosittain. Lisäksi toivottiin, että asetukseen tulee selkeästi eriteltyinä vaatimukset laboratorioiden sisäisille ja laboratorioiden välisille parametreille (esim. uusittavuus). Todettiin, että RSD_{WR} (laboratorion sisäinen uusittavuus) halutaan säädökseen, koska se on labroille hyödyllisempi kuin RSD_R . Kysyttiin myös, ovatko suorituskykyvaatimukset pakollisia vai suositus. Verstraeten mukaan vaatimukset ovat sitovia, kun ne laitetaan asetukseen.

3. Follow-up PT DON, acetyl-DONs and DON-3G (H. Mol)

Vertailumittauksesta järjestettiin kysely laboratorioille, jonka avulla selvitettiin syitä, ettei osallistuttu PT:hen tai määritettiin vain osa vaadituista yhdisteistä. 38 laboratoriota osallistui PT:een ja niistä vain 5 määrittä kaikki analyytit (eli DON, sen asetyyli-muodot ja 3-glukosidi-DON). Laboratoriot raportoivat syiksi, mm. että osa yhdisteistä ei ole lainsäädössä tai paikallinen viranomaisena ei vaadi laboratoriota määrittämään ko. toksiineja. Verstraten mukaan laboratorioiden pitäisi olla jo valmiit analysoimaan modifioituneita muotoja, ja yleisestikin olla valmiimpia aina tulevaan lainsäädäntöön. Mol toivoo enemmän keskustelua laboratorioiden scopesta ja mikä olisi pakollista ja mikä vapaaehtoista vertailumittausten ja -tutkimuksien osalta (= mikä olisi ns. poikkeama, "fail from scope"). Muistutettiin, että menetelmä DON:ille ja sen johdannaisille on julkaistu EURL:n nettisivulla. Menetelmällä voidaan erottaa 3- ja 15-AcDON:it. Muistutettiin myös, että EURL tarjoaa apua analytiikan osalta, jos tarvis.

4. EU project MyToolBox (I. van der Fels-Klerx)

Puhuja esitteli EU-projektia. Kyseessä on neljän vuoden projekti, josta viimeinen vuosi meneillään (vastaavasti kuin toinen Horizon2020-rahoitettu projekti MycoKey). Tavoitteena on kehittää mykotoksiinien hallintamenetelmiä ja kehittää tähän integroitu datan keräysjärjestelmä helpottamaan päätöksentekijöitä tuotantoketjujen eri vaiheissa. Projektissa on mm. kehitetty ja testattu kestävämpiä maissilajikkeita sekä tutkittu biologisia torjuntamenetelmiä. Sadonkorjuun jälkeisinä keinoina on tutkittu varasto-olosuhteiden monitorointia sensoreiden avulla. Sensorit antavat hälytyksen, kun olosuhteet (CO_2 , lämpötila, suhteellinen kosteus) ovat sopivat homesientien kasvulle. Myös reaaliaikaista viikunoiden lajittelutekniikkaa on kehitetty projektissa. Päätöksenteon tueksi esim. maanviljelijöille, elintarvikkeiden tuottajille ja viranomaisille on kehitetty sähköinen alusta/työkalu, jolla voidaan tehdä ennusteita mykotoksiinien syntymisestä pelto-olosuhteissa. Sovellus on tällä hetkellä mobiilina testikäytössä ja opensource. Malli toimii DON:ille ja ZEN:ille vehnässä, DON:ille ohrassa ja AFLA:lle maississa. Projektissa on kehitetty myös uudenlaisia prosessointitekniikoita mm. viljojen jauhatukseen myllyissä.

5. PT ergot alkaloids (A. Versilovskis)

Versilovskis kävi läpi ergotalkaloidien nykyisen lainsäädännön ja monitorointisuositukset. Vuonna 2018 tehtiin kysely labroille, onko niillä käytössä validoitu menetelmä. Tällöin 18/45 labrasta ilmoitti, että menetelmä on, ja näistä 12 oli akkreditoitu. Päämatriisit olivat viljat, rehu ja säilörehu, ja LOQ:it vaihelivat välillä 0.2-80 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Vuoden 2017 PT:ssa oli kaikkiaan 37 osallistujaa. Tällöin haasteita oli ergokryptiinin α - ja β -isomeerien kromatografisen erottumisen kanssa. Jatkossa tosin ei ole tarve määrittää näitä erikseen, kun raja-arvo asetetaan kuitenkin isomeerien summalle. Parhaillaan ollaan järjestämässä uutta PT:a, koska ergot alkaloideille on tulossa raja-arvo. Mukana on kaksi matriisia: rehu (ruisjauho, luontaisesti kontaminoitunut) ja elintarvike (vehnän ja ohran seos). Kutsu laboratorioille on lähetetty syyskuussa ja materiaalit lähetetään lokakuussa. Raportti valmistunee ensi vuoden alussa.

6. EU project Food Smart Phone (A. Gressen)

Gressen esitteli WFSR:ssä käynnissä olevaa projektia, jossa kehitetään ns. on-site-seulontamenetelmiä. Tällä hetkellä elintarvikkeiden laadunvalvontaa tehdään melko vanhanaikaisin menetelmin, ja hyvin pieni osa

näytteistä on lopulta määrätystenvastaisia (mahdollisesti vain <1%). Valvontaa/monitorointia voitaisi tehostaa, jos sitä tehtäisi jo pelloilla tai tuotantolaitoksissa seulontamenetelmillä, ja vain relevantit näytteet tuotaisi laboratorioon analysoitaviksi. Myös kansalaisia voisi osallistaa esim. veden laadun tarkkailussa tällaisten menetelmien ollessa käytössä. Hollannissa tätä oli jo kokeiltukin. EU projektissa kehitetään menetelmiä, joissa hyödynnetään älypuhelinien teknologiaa kuten paikannusmenetelmiä ja kameraa. Puhelimiin voidaan liittää 3D-tulostimella tulostettuja lisälaitteita, kuten NIR-detektorit tai optisia sensoreita. NIR:iä voisi hyödyntää esim. elintarvikepetosten tutkimuksissa, joissa tutkittavat yhdisteet tai partikkelit ovat suurina pitoisuuksina. Gressen esitteli WFSR:ssä kehitetyn lateraalivirtaukseen perustuvan ELISA-laitteiston, joka oli itse suunniteltu ja tulostettu 3D-printterillä. Laitteiston sai kiinni puhelimeen, jolloin syntynyt värireaktio voitiin tunnistaa ottamalla siitä kuva puhelimella. Tätä oli kokeiltu hasselpähkinän määrittämiseksi kekseissä. Projektissa työskentelee Marie Curie -rahoituksella 11 väitöstutkijaa. Heiltä edellytetään tiedon jakamista ja tutkimuksen popularisointia, joten tutkimusta voi seurata mm. Twitterissä ja Youtube-kavavalla.

7. Necines (P. Mulder)

Esityksessä käytiin läpi vaihtoehtoinen tapa määrittää elintarvikkeiden ja rehujen pyrrolitsidiinialkaloideja, jolloin ne määritettäisiin nesiini-yksiköiden summana. PA:t koostuvat nesiini-haposta ja nesiini-emäksestä, jotka voidaan hydrolysoida emäskäsittelyllä. Tämän jälkeen nesiinirenkaat voidaan määrittää LC-MS/MS-tekniikalla. Haasteita tässä menetelmässä tuo nesiinien huomattava porlaarisuus, jolloin ne eivät pidä C18-kolonnin. Lisäksi yhtäaikaaisesti elutoituvat isomeerit aiheuttavat tässäkin menetelmässä haasteita. Kiraalinen erotuskolonne oli todettu toimivan parhaiten. Myös matriisin epäpuhtaudet vaikeuttavat nesiinien erottamista ja tunnistamista. WFSR:ssä menetelmää on optimoitu, ja tehty vertailua spesifisen PA-menetelmän kanssa. On todettu, että nesiinien summaa määritettäessä saadaan korkeampi pitoisuus kuin targeted-PA-menetelmällä, johon oli sisällytetty 60 yhdistettä. Mulderin mukaan heidän tuottamansa sisäinen standardi on saatavilla, jos NRL:t ovat halukkaita soveltamaan tätä menetelmää.

8. Alternaria toxins (A. Versilovskis)

Esitys käsitteli Alternaria-homeiden sekundaarisia metabolitteja. Näitä tunnetaan yhteensä yli 70, joista neljä esiintyy pääsääntöisesti elintarvikkeissa (ALT, AME, TEA ja tentoksiini). Näillä on erilaisia johdannaisia, joista elintarvikkeissa on todettu erityisesti sulfaatteja ja glukosideja. Tässä vaiheessa konjugoituja ei ole tarve sisällyttää menetelmään, eikä kaikille ole välttämättä kaupallisia standardeja. Todettiin että NRL:stä suurimmalla osalla ei ole validoitua menetelmää käytössä näille Alternaria-toksiineille (11 laboratoriolta, joista 3 on akkreditoitua). Monitorointisuosituksen luonnoksessa on ehdotettu melko pieniä pitoisuustasoja eri tuotteille (viljat, tomaattituotteet sekä lisäksi mm. pähkinät ja paprikajauhe). Kirjallisuuskatsauksen perusteella Alternaria-toksiineja esiintyy myös öljysiemenissä, linsseissä, porkkanoissa, viineissä, mehuissa ja oluissa. Versilovskis esitteli EURL:n soveltaman menetelmän Alternaria-toksiineille, joka poikkeaa hieman CEN-menetelmästä (vielä luonnosvaiheessa). EURL:n menetelmässä sisäinen standardi (IS) lisätään vasta lopussa vialtiin (kaikille oli oma IS), menetelmässä hyödynnetään Quechers-menetelmää eikä SPE-puhdistusta, ja lisäksi loppuerotus tehdään eri kolonnissa (BEHC18 2.1 x 100mm). Versilovskis esitteli tuloksia menetelmän validonnista. Haasteita oli lähinnä TEA:n saannon kanssa. Menetelmää hyödynnettiin vähittäismarkkinatutkimuksessa, jossa Alternaria-toksiineja löydettiin mm. pähkinöistä (erityisesti TEA:a).

9. Jatkosuunnitelmat

Kokous päättyi EURL/NRL- toiminnan jatkosuunnitelmien esittelyyn. Tulevia vertailumittauksia ovat jo käynnissä oleva ergotalkaloidien PT ja suunniteltu tropaanialkaloidien PT. Mahdollisia menetelmävalidointeja voisivat olla enniatiinien menetelmä ja aflatoksiinien pikamenetelmä (ns. dipstick-testi). Myös torajyvien visuaalisesta määrittämisestä on kaavailtu vertailututkimusta. Ensi vuoden workshop järjestetään todennäköisesti 6-7.10.