

**METODE UZORKOVANJA ZA KONTROLU NIVOA BILJNIH TOKSINA U HRANI****DIO I  
OPŠTE ODREDBE****A.1. Opšte odredbe****A.1.1. Osoblje**

Uzorkovanje sprovodi ovlašćeno lice u skladu sa važećim propisima.

**A.1.2. Materijal koji se uzorkuje**

Svaka serija koja se ispituje uzorkuje se posebno. U skladu sa posebnim odredbama za uzorkovanje za različite biljne toksine, velike serije dijele se u podserije koje se uzorkuju posebno.

**A.1.3. Mjere opreza**

Tokom uzorkovanja i pripreme uzoraka preduzimaju se mjere opreza kako bi se izbjegle sve promjene koje bi mogle:

- uticati na sadržaj biljnog toksina, štetno djelovati na analitičko određivanje ili zbirne uzorke učiniti nereprezentativnim;
- uticati na bezbjednost hrane u serijama koje se uzorkuju.

Takođe se moraju preduzeti sve potrebne mjere za zaštitu lica koja uzimaju uzorke.

**A.1.4. Pojedinačni uzorci**

Koliko je to moguće, pojedinačni uzorci uzimaju se na različitim mjestima u čitavoj seriji ili podseriji. Odstupanje od tog postupka unosi se u zapisnik iz dijela I. tačke A.1.8. ovog Priloga.

**A.1.5. Priprema zbirnog uzorka**

Zbirni uzorak dobija se objedinjavanjem pojedinačnih uzoraka.

**A.1.6. Ponovljeni uzorci**

Ponovljeni uzorci za sprovođenje službene kontrole, u svrhu odbrane i u referentne svrhe uzimaju se iz homogenizovanog zbirnog uzorka, osim u slučaju da je taj postupak u suprotnosti pravilima u pogledu prava subjekta u poslovanju hranom utvrđenim propisima o službenim kontrolama.

**A.1.7. Pakovanje i transport uzoraka**

Svaki uzorak stavlja se u čisti, inertni kontejner (posudu) koji obezbjeđuje odgovarajuću zaštitu od kontaminacije i oštećenja u transportu. Preduzimaju se sve potrebne mjere opreza kako bi se izbjegla promjena sastava uzorka do koje bi moglo doći za vrijeme prevoza ili skladištenja.

**A.1.8. Zatvaranje (plombiranje/pečaćenje) i označavanje uzoraka**

Svaki uzorak uzet za službene potrebe treba da bude zatvoren (plombiran/zapečaćen) na mjestu uzorkovanja i označen na propisan način. O uzorkovanju se vodi zapisnik koji omogućava identifikaciju svake serije, a sadrži podatke o vremenu i mjestu uzorkovanja i druge podatke koji mogu biti od koristi analitičaru pri ispitivanju.

**A.2. Različite vrste serija**

Prehrambeni proizvodi mogu se stavljati na tržište u rasutom stanju, u kontejnerima ili u pojedinačnim pakovanjima, kao što su kese, kesice i maloprodajna/pojedinačna pakovanja. Metoda uzorkovanja može se primijeniti na proizvode koji se stavljaju na tržište u rasutom stanju, u kontejnerima ili u pojedinačnim pakovanjima, kao što su kese, kesice, maloprodajna/pojedinačna pakovanja ili u bilo kom drugom obliku.

Ne dovodeći u pitanje posebne odredbe o uzorkovanju utvrđene u drugim djelovima ovog Priloga, sledeća formula upotrebljava se kao smjernica za izračunavanje frekvencije

uzorkovanja serija stavljenih na tržište u pojedinačnim pakovanjima, kao što su vreće, vrećice i maloprodajna/pojedinačna pakovanja:

$$\text{Učestalost uzorkovanja (SF)}_n = \frac{\text{masa serije} \times \text{masa pojedinačnog uzorka}}{\text{masa ukupnog uzorka} \times \text{masa pojedinačnog pakovanja}}$$

— masa: u kg

— učestalost uzorkovanja (SF): svako n-to pojedinačno pakovanje iz kojeg se uzima pojedinačni uzorak (decimalni brojevi zaokružuju se na najbliži cijeli broj).

### **A.3. Uzorkovanje proizvoda sa visokim odnosom obima i mase**

Uz izuzetak prehrambenih proizvoda obuhvaćenih tačkama L i M dijela II. propisa o metodama uzimanja uzoraka za kontrolu nivoa mikotoksina u hrani (Prilog 1, Dio II), u slučaju uzorkovanja prehrambenih proizvoda koji imaju veliku zapreminu u odnosu na masu (tj. zapremina (dm<sup>3</sup>)/masa (kg) > 5), zahtjevi za masu mogu se zamijeniti ekvivalentnim zahtjevom za zapreminu (tj. 1 kg se zamjenjuje sa 1 dm<sup>3</sup>).

## **DIO II. METODE UZORKOVANJA**

Za ispitivanje/analizu biljnih toksina u hrani primjenjuju se metode uzorkovanja utvrđene propisom o metodama uzimanja uzoraka za kontrolu nivoa mikotoksina u hrani (Prilog 1 Dio II). Međutim, za ispitivanje krompira i proizvoda od krompira (glikoalkaloidi) i meda (pirolizidinski alkaloidi) primjenjuju se metode utvrđene propisom o načinu uzimanja uzoraka hrane i metodama laboratorijskih ispitivanja kontaminenata u hrani (Prilog Dio I).

## **PRILOG 2**

### **KRITERIJUMI ZA PRIPREMU UZORAKA I ZA METODE LABORATORIJSKIH ISPITIVANJA (ANALIZE) ZA KONTROLU NIVOA BILJNIH TOKSINA U HRANI**

#### **1. UVOD Mjere opreza**

Budući da je raspodjela biljnih toksina uopšteno neravnomjerna, uzorci se moraju izuzetno pažljivo pripremati i homogenizovati. Homogenizuje se cijeli uzorak primljen u laboratoriju, ako homogenizaciju vrši laboratorija.

#### **2 OBRADA UZORKA PRIMLJENOG U LABORATORIJU**

Svaki laboratorijski uzorak dobro se promiješa postupkom koji po potrebi uključuje mljevenje na sitno i za koji je dokazano da se njim postiže potpuna homogenizacija.

U slučaju da se maksimalno dozvoljena količina odnosi na suhu materiju, sadržaj suve materije u proizvodu određuje se na dijelu homogenizovanog uzorka, upotrebom metode za koju je dokazano da se tom metodom precizno određuje sadržaj suve materije.

#### **3. PONOVLJENI UZORCI**

Ponovljeni uzorci za vršenje službene kontrole, u svrhu odbrane i u referentne svrhe uzimaju se iz homogenizovanog materijala, osim ako je takav postupak u suprotnosti sa propisanim pravilima u pogledu prava subjekta u poslovanju hranom.

#### **4. METODA LABORATORIJSKIH ISPITIVANJA (ANALIZE) KOJU PRIMJENJUJE LABORATORIJA I ZAHTJEVI U POGLEDU LABORATORIJSKE KONTROLE**

#### 4.1. Opšti zahtjevi

Potvrdne metode analize za kontrolu hrane u skladu su sa zakonom o službenoj kontroli.. Kad god je to moguće, istinitost metode trebalo bi redovno provjeravati analizom certificiranog referentnog materijala i/ili na osnovu uspješnog učešća u provjerama kvaliteta rada.

#### 4.2. Posebni zahtjevi

##### 4.2.1. Posebni zahtjevi u pogledu potvrdnih metoda

##### 4.2.1.1. Kriterijumi efikasnosti

Za potvrdne metode primjenjuju se sledeći kriterijumi efikasnosti:

**Iskorišćenje:** prosječno iskorišćenje trebalo bi da iznosi od 70 % do 120 %.

Prosječno iskorišćenje je prosječna vrijednost dobijena na osnovu ponavljanja tokom validacije pri utvrđivanju parametara preciznosti RSD<sub>r</sub> i RSD<sub>wR</sub>. Kriterijum se primjenjuje na sve koncentracije i sve pojedinačne toksine.

U izuzetnim slučajevima može se prihvatiti prosječno iskorišćenje van navedenog raspona, ali mora biti u rasponu 50–130 % i moraju biti ispunjeni kriterijumi preciznosti za RSD<sub>r</sub> i RSD<sub>wR</sub>.

##### **Preciznost**

RSD<sub>r</sub> iznosi ≤ 20 %.

RSD<sub>wR</sub> iznosi ≤ 20 %.

RSD<sub>r</sub> trebao bi da iznosi ≤ 25 %.

Ti kriterijumi se primjenjuju na sve koncentracije.

Ako laboratorija dostavi dokaze da je kriterijum za RSD<sub>wR</sub> ispunjen, ne treba dostaviti i dokaze za RSD<sub>r</sub> jer ispunjavanje kriterijuma za RSD<sub>wR</sub> garantuje ispunjavanje kriterijuma za RSD<sub>r</sub>.

Ako se maksimalno dozvoljena količina primjenjuje na zbir toksina, kriterijumi preciznosti primjenjuju se i na zbiru na pojedinačnih toksina.

##### **Granica kvantifikacije**

Ako je u tabeli 1 u nastavku utvrđen poseban zahtjev u pogledu granice kvantifikacije za biljni toksin, u metodi se primjenjuje granica kvantifikacije jednaka ili niža od te vrijednosti.

**Tablela 1**

#### **Zahtjevi u pogledu granice kvantifikacije za određene biljne toksine**

<b>Biljni toksin</b>	<b>Napomene</b>	<b>Hrana</b>	<b>Zahtjev u pogledu granice kvantifikacije (µg/kg) ili (µg/l)</b>
Pirolizidinski alkaloidi	Zahtjev u pogledu granice kvantifikacije za pojedinačne pirolizidinske alkaloidne	Sušeni proizvod Tečni proizvod	≤ 10 ≤ 0,15
Tropanski alkaloidi	Zahtjev u pogledu granice kvantifikacije za atropin i skopolamin zasebno	Prerađena hrana na bazi žitarica za odojčad i malu djecu Žitarice i proizvodi od žitarica Biljne infuzije (sušeni proizvod) Biljne infuzije (tečnost)	≤ 1 ≤ 2 ≤ 5 ≤ 0,05

Alkaloidi opijuma	Zahtjev u pogledu granice kvantifikacije za morfij i kodein zasebno	Pekarski proizvodi	≤ 500
-------------------	---	--------------------	-------

U svim ostalim slučajevima primjenjuje se sljedeće:

granica kvantifikacije mora biti  $\leq 0,5$  \* maksimalno dozvoljene količine, a po mogućnosti niža ( $\leq 0,2$  \* maksimalno dozvoljene količine).

Ako se maksimalno dozvoljena količina odnosi na zbir toksina, granica kvantifikacije za pojedinačne toksine mora biti  $\leq 0,5$  \* maksimalno dozvoljene količine/n, pri čemu je n broj toksina uključenih u definiciju maksimalno dozvoljene količine.

### **Identifikacija**

Pri identifikaciji se primjenjuju kriterijii utvrđeni u Smjernicama za identifikaciju mikotoksina i biljnih toksina u hrani i hrani za životinje (1).

#### **4.2.1.2. Proširenje područja primjene metode**

##### **4.2.1.2.1. Proširenje područja primjene na druge biljne toksine:**

Ako se području primjene postojeće potvrdne metode dodaju dodatni analiti, mora se izvršiti potpuna validacija kako bi se dokazala primjerenost metode.

##### **4.2.1.2.2. Proširenje na druge proizvode:**

Ako je poznato ili se očekuje da je potvrdna metoda primjenljiva na druge proizvode, provjerava se njena pouzdanost za te druge proizvode. Ako novi proizvod pripada grupi proizvoda (vidjeti tabelu 2 u ovom Prilogu) za koju je već izvršena početna validacija, dovoljno je izvršiti ograničenu dodatnu validaciju.

#### **4.2.2. Posebni zahtjevi u pogledu polukvantitativnih orijentacionih metoda**

##### **4.2.2.1. Područje primjene**

Ovaj odjeljak odnosi se na bioanalitičke metode zasnovane na imunološkom prepoznavanju ili vezivanju za receptore (kao što su ELISA, mjerni štapići, uređaji za testiranje lateralnog toka, imunosenzori) i fizičko-hemijske metode zasnovane na hromatografiji ili direktnoj detekciji pomoću spektrometrije masa (npr. ambijentalna spektrometrija masa). Druge metode (npr. tankoslojna hromatografija) nisu isključene pod uslovom da su dobijeni signali direktno povezani sa relevantnim biljnim toksinima i omogućavaju primjenu načela opisanog u nastavku.

Posebni zahtjevi i uobičajeni statistički podaci primjenjuju se na metode čiji je rezultat mjerenja numerička vrijednost, na primjer (relativni) odgovor dobijen pomoću mjernog štapića, signal tečne hromatografije – spektrometrije masa itd.

Zahtjevi se ne primjenjuju na metode koje ne daju numeričke vrijednosti (npr. kad je riječ samo o crti koja je prisutna ili nije prisutna) i koje zahtijevaju drugačije pristupe validaciji. Posebni zahtjevi u pogledu tih metoda utvrđeni su u tački 4.2.3.

U ovom dokumentu opisuju se postupci za validaciju orijentacionih metoda međulaboratorijskom validacijom, provjeru efikasnosti metode validovane u okviru međulaboratorijske mjere i validaciju orijentacione metode u jednoj laboratoriji.

##### **4.2.2.2. Postupak validacije**

Cilj validacije je dokazati prikladnost orijentacione metode. To se postiže određivanjem granične vrijednosti i određivanjem postotka lažno negativnih i lažno sumnjivih rezultata. Ta dva parametra obuhvataju faktore efikasnost kao što su sposobnost detekcije, selektivnost i preciznost.

Orijentacione metode mogu se validovati međulaboratorijskom validacijom ili validacijom u jednoj laboratoriji. Ako su za određene kombinacije biljnog toksina/matrice/STC-a već dostupni podaci o međulaboratorijskoj validaciji, dovoljno je izvršiti provjeru efikasnosti metode u laboratoriji koja primjenjuje metodu.

##### **4.2.2.2.1. Početna validacija pomoću validacije u jednoj laboratoriji**

#### **Biljni toksini**

Validacija se sprovodi za svaki pojedinačni biljni toksin obuhvaćen područjem primjene. U slučaju bioanalitičkih metoda kojima se dobija kombinovani odgovor za određenu grupu biljnih toksina (npr. pirolizidinski alkaloidi) dokazuje se primjenjivost te se u području primjene metode navode ograničenja ispitivanja. Smatra se da neželjena unakrsna reaktivnost ne povećava postotak lažno negativnih rezultata u pogledu ciljnih biljnih toksina, no može doći do povećanja postotka lažno sumnjivih rezultata. To neželjeno povećanje smanjuje se vršenjem potvrdne analize radi nedvosmislene identifikacije i kvantifikacije biljnih toksina.

#### **Matrice**

Početna validacija vrši se za svaki proizvod odnosno, ako je poznato da se metoda može primijeniti na više proizvoda, za svaku grupu proizvoda. U posljednjem slučaju se iz te grupe odabere jedan reprezentativni i relevantni proizvod (vidjeti tabelu 2).

#### **Skup uzoraka**

Najmanji broj različitih uzoraka za vršenje validacije je 20 homogenih negativnih kontrolnih uzoraka i 20 homogenih pozitivnih kontrolnih uzoraka koji sadrže biljni toksin u STC-u, a koje se analizira u uslovima obnovljivosti unutar laboratorije ( $RSD_{WR}$ ) tokom pet različitih dana. U skup za validaciju mogu se dodati dodatni skupovi od 20 uzoraka koji sadre drugačije nive biljnog toksina kako bi se stekao uvid u to u kojoj mjeri metoda može razlikovati različite koncentracije biljnog toksina.

#### **Koncentracija**

Validacija se mora izvršiti za sve STC-e za rutinsku primjenu.

#### **4.2.2.2. Početna validacija međulaboratorijskim ispitivanjima**

Validacija međulaboratorijskim ispitivanjima vrši se u skladu sa normom ISO 5725:1994 ili Međunarodnim usuglašenim protokolom IUPAC-a ili drugim međunarodno priznatim protokolom o međulaboratorijskim ispitivanjima na osnovu kojeg se zahtijeva uključivanje važećih podataka iz najmanje osam različitih laboratorija. Jedina razlika u odnosu na validaciju u jednoj laboratoriji je da se  $\geq 20$  uzoraka po proizvodu/nivou može ujednačeno raspodijeliti među laboratorijima koji učestvuju, pri čemu svaka laboratorija dobija najmanje dva uzorka.

#### **4.2.2.3. Određivanje granične vrijednosti i postotka lažno sumnjivih rezultata slijepih uzoraka**

(Relativni) odgovori za negativne i pozitivne kontrolne uzorke osnova su za izračunavanje traženih parametara.

#### **Orijentacione metode kod kojih je odgovor proporcionalan koncentraciji biljnog toksina**

Na orijentacione metode kod kojih je odgovor proporcionalan koncentraciji biljnog toksina primjenjuje se sledeće:

$$\text{granična vrijednost} = R_{STC} - t\text{-vrijednost}_{0,05} * SD_{STC}$$

$R_{STC}$  = srednji odgovor pozitivnih kontrolnih uzoraka (pri STC-u)

t-vrijednost: jednosmjerna t-vrijednost za postotak lažno negativnih rezultata od 5 % (vidjeti tablicu 3)

$SD_{STC}$  = standardna devijacija

#### **Orijentacione metode kod kojih je odgovor obrnuto proporcionalan koncentraciji biljnog toksina**

Slično tome, za orijentacione metode kod kojih je odgovor obrnuto proporcionalan koncentraciji biljnog toksina granična vrijednost određuje se kao:

$$\text{granična vrijednost} = R_{STC} + t\text{-vrijednost}_{0,05} * SD_{STC}$$

Primjenom te specifične t-vrijednosti radi utvrđivanja granične vrijednosti postotak lažno negativnih rezultata standardno je utvrđen na 5 %.

#### **Procjena prikladnosti**

Rezultati negativnih kontrolnih uzoraka upotrebljavaju se za procjenu odgovarajućeg postotka lažno sumnjivih rezultata. t-vrijednost izračunava se u skladu sa slučajem kad rezultat negativnog kontrolnog uzorka premašuje graničnu vrijednost, zbog čega je pogrešno razvrstan kao sumnjiv.

$t\text{-vrijednost} = (\text{granična vrijednost} - \text{srednja vrijednost}_{\text{slijepi uzorak}}) / \text{SD}_{\text{slijepi uzorak}}$

za orijentacijske metode kod kojih je odgovor proporcionalan koncentraciji biljnog toksina ili

$t\text{-vrijednost} = (\text{srednja vrijednost}_{\text{slijepi uzorak}} - \text{granična vrijednost}) / \text{SD}_{\text{slijepi uzorak}}$

za orijentacijske metode kod kojih je odgovor obrnuto proporcionalan koncentraciji biljnog toksina

Iz dobijene t-vrijednosti, na temelju stupnjeva slobode izračunanih iz određenog broja pokusa, može se izračunati vjerojatnost pojave lažno sumnjivih uzoraka za jednosmjernu raspodjelu (npr. funkcija proračunske tablice „TDIST”) ili preuzeti iz tablice t-raspodjele (vidjeti tablicu 3).

Odgovarajućom vrijednošću jednosmjerne t-raspodjele određuje se postotak lažno sumnjivih rezultata.

Taj je koncept uz primjer detaljno opisan u časopisu *Analytical and Bioanalytical Chemistry* DOI 10.1007/s00216-013-6922-1.

#### **4.2.2.4. Proširenje područja primjene metode**

##### **4.2.2.4.1. Proširenje područja primjene na druge biljne toksine:**

Ako se području primjene postojeće orijentacijske metode dodaju novi biljni toksini, mora se izvršiti potpuna validacija kako bi se dokazala primjerenost metode.

##### **4.2.2.4.2. Proširenje na druge proizvode:**

Ako je poznato ili se očekuje da je orijentaciona metoda primjenjiva na druge proizvode, provjerava se njena pouzdanost za te druge proizvode. Ako novi proizvod pripada grupi proizvoda (vidjeti tabelu 2 u ovom Prilogu) za koju je već izvršena početna validacija, dovoljno je izvršiti ograničenu dodatnu validaciju. Pritom se analizira najmanje 10 homogenih negativnih kontrolnih uzoraka i 10 homogenih pozitivnih kontrolnih uzoraka (pri STC-u) u uslovima obnovljivosti unutar laboratorije. Svi pozitivni kontrolni uzorci moraju biti iznad granične vrijednosti. Ako taj kriterijum nije ispunjen, mora se izvršiti potpuna validacija.

##### **4.2.2.5. Provjera metoda koje su već validovane međulaboratorijskim ispitivanjima**

Kod orijentacionih metoda koje su već uspješno validovane međulaboratorijskim ispitivanjem provjerava se efikasnost metode. Pritom se analizira najmanje šest negativnih kontrolnih uzoraka i šest pozitivnih kontrolnih uzoraka (pri STC-u). Svi pozitivni kontrolni uzorci moraju biti iznad granične vrijednosti. Ako taj kriterijum nije ispunjen, laboratorija mora izvršiti analizu osnovnog uzroka kako bi utvrdila zašto ne može udovoljiti specifikacijama koje su dobijene međulaboratorijskim ispitivanjem. Tek nakon sprovođenja korektivnih mjera ponovno provjerava efikasnost metode u svojoj laboratoriji. Ako laboratorija ne može provjeriti rezultate međulaboratorijskog ispitivanja, treba utvrditi sopstvenu graničnu vrijednost u potpunoj validaciji u jednoj laboratoriji.

##### **4.2.2.6. Kontinuirana provjera metode/tečna validacija metode**

Nakon početne validacije dodatni podaci o validaciji dobijaju se uključivanjem najmanje dva pozitivna kontrolna uzorka u svaku seriju uzoraka koji se provjeravaju. Jedan pozitivni kontrolni uzorak je poznati uzorak (npr. onaj koji je upotrijebljen za početnu validaciju), a drugi je različit proizvod iz iste grupe proizvoda (ako se analizira samo jedan proizvod, upotrebljava se drugi uzorak tog proizvoda). Uključivanje negativnog kontrolnog uzorka nije obavezno. Rezultati dobijeni za dva pozitivna kontrolna uzorka dodaju se postojećem skupu za validaciju.

Najmanje jednom godišnje ponovno se utvrđuje granična vrijednost i ponovno se procjenjuje pouzdanost metode (ponovna evaluacija podataka o osiguranju kvaliteta/kontroli kvaliteta dobijenih prošle godine). Kontinuirana provjera metode ima nekoliko svrha, među ostalim:

- kontrola kvaliteta serije uzoraka koji se provjeravaju;
- prikupljanje podataka o otpornosti metode u uslovima laboratorije koja primjenjuje metodu;
- opravdanje primjenljivosti metode na različite proizvode;
- omogućivanje prilagođavanja graničnih vrijednosti u slučaju postupnih odstupanja tijekom vremena.

#### **4.2.2.7. Izvještaj o validaciji**

Izvještaj o validaciji sadrži:

- izjavu o STC-u;
- izjavu o utvrđenoj graničnoj vrijednosti.

*Napomena:*

granična vrijednost ima jednak broj značajnih faktora kao STC. Numeričke vrijednosti koje se upotrebljavaju za izračunavanje granične vrijednosti moraju imati najmanje jednu značajnu karakteristiku više od STC-a.

- izjavu o izračunanom postotku lažno sumnjivih rezultata;
- izjavu o načinu dobivanja postotka lažno sumnjivih rezultata.

*Napomena:*

U izjavi o izračunanom postotku lažno sumnjivih rezultata utvrđuje se je li metoda prikladna jer se u njoj navodi broj slijepih uzoraka (ili uzoraka s niskom razinom kontaminacije) koji će se provjeravati.

—Tabela 2

<b>Grupe proizvoda za validaciju potvrđnih i orijentacionih metoda</b>		
<b>Grupe proizvoda</b>	<b>Kategorije proizvoda</b>	<b>Tipični reprezentativni proizvodi obuhvaćeni kategorijom</b>
Visok sadržaj vode	Pića Voće i povrće Pirei na bazi žitarica ili voća Svježe začinsko bilje	Biljne infuzije (tečnost), listovi borača, krompir, pirei namijenjeni odojčadi i maloj djeci
Visok sadržaj ulja	Orašasti plodovi Uljarice i proizvodi dobijeni od njih Uljasto voće i proizvodi dobijeni od njih	Bademi, jezgre marelice, uljana repica, sjeme pamuka, sjemenke lana, sjemenke lupine, sjeme maka, sjemenke konoplje itd. Ulja i paste
Visok sadržaj škroba i/ili bjelančevina i nizak sadržaj vode i masti	Žitarice i proizvodi dobiveni od njih Dijetetski proizvodi	Kukuruz, heljda, proso, sirak, brašno od kasave, proizvodi od krumpira Kruh, pekarski proizvodi, krekeri, žitarice za doručak, tjestenina Suhi prašci za pripremu hrane za dojenčad i malu djecu
Visok sadržaj kiseline i visok sadržaj vode (*1)	Proizvodi od citrusa	
„Komplikovani ili jedinstveni proizvodi” (*2)		Pelud i proizvodi od peludi, dodaci ishrani, biljne infuzije (sušeni proizvod), čaj (sušeni proizvod) Začini, slatki korijen
Visok sadržaj šećera, nizak sadržaj vode	Sušeno voće	Smokve, groždice (sve vrste), med
Mlijeko i mliječni proizvodi	Mlijeko Sir Mliječni proizvodi (npr. mlijeko u prahu)	Kravlje, kozje i bivolje mlijeko Kravljji sir, kozji sir Jogurt, vrhnje

Tabela 3

**Jednosmjerna t-vrijednost za postotak lažno negativnih rezultata od 5 %**

<b>Stepen slobode</b>	<b>Broj ponavljanja</b>	<b>t-vrijednost (5 %)</b>
10	11	1,812
11	12	1,796
12	13	1,782
13	14	1,771
14	15	1,761
15	16	1,753
16	17	1,746
17	18	1,74

18		19	1,734
19		20	1,729
20		21	1,725
21		22	1,721
22		23	1,717
23		24	1,714
24		25	1,711
25		26	1,708
26		27	1,706
27		28	1,703
28		29	1,701
29		30	1,699
30		31	1,697
40		41	1,684
60		61	1,671
120		121	1,658
$\infty$	$\infty$		1,645

#### 4.2.3. Zahtjevi u pogledu kvalitativnih orijentacionih metoda (metode koje ne daju numeričke vrijednosti)

Izradom smjernica za validaciju binarnih ispitnih metoda trenutno se bave razna tijela za normizaciju (npr. AOAC, ISO). AOAC je izradio smjernice za validaciju binarnih ispitnih metoda, koje se mogu smatrati najnovijim dokumentom u tom području. Zbog toga metode koje daju binarne rezultate (npr. vizuelni pregled rezultata ispitivanja mjernim štapićem) treba validovati u skladu sa Međunarodnim smjernicama za validaciju kvalitativnih binarnih hemijskih metoda koje je izradio AOAC <sup>(2)</sup>.

Međutim, mogu se upotrebljavati i druge priznate smjernice za validaciju, npr: pristup iz norme ISO/TS 23758:2021 | IDF/RM 251 – Smjernice za validaciju kvalitativnih orijentacionih metoda za otkrivanje ostataka veterinarskih lijekova u mlijeku i mliječnim proizvodima.

#### 4.3. Procjena mjerne nesigurnosti, izračunavanje iskorišćenja i izvještavanje o rezultatima <sup>(3)</sup>

##### 4.3.1. Potvrđne metode

Analitički rezultat prikazuje se kako slijedi:

**(a)** ispravljen za iskorišćenje, prema potrebi i ako je relevantno, navodi se ako je ispravljen. Navodi se postotak iskorišćenja, osim ako je korekcija bitna za mjerno odstupanje i sastavni je dio postupka. Korekcija za iskorišćenje nije potrebna ako postotak iskorišćenja iznosi od 90 % do 110 %.

**(b)** kao  $x \pm U$ , pri čemu je  $x$  analitički rezultat, a  $U$  proširena nesigurnost u analitičkom mjerenju uz upotrebu faktora pokrivanja 2, čime se postiže nivo pouzdanosti od oko 95 %. Standardna proširena mjerna nesigurnost od 50 % može se navesti ako laboratorija ispunjava sve zahtjeve u pogledu preciznosti iz tačke 4.2. Pojedinačna laboratorija to može dokazati ispunjavanjem kriterijuma za ponovljivost ( $RSD_r$ ) i obnovljivost unutar laboratorije ( $RSD_{wR}$ ), uz uspješno učešće u provjerama kvaliteta rada (osim ako nije dostupan odgovarajući program provjere kvaliteta rada), jer srednji z-rezultat pri kojem je  $|z| \leq 2$  pokazuje da je ispunjen traženi kriterijum za obnovljivost ( $RSD_R$ ) (na osnovu ciljne standardne devijacije od 25 %).

Ako je maksimalno dozvoljena količina utvrđena za zbir toksina, navode se analitički rezultati svih pojedinačnih toksina.

Korekcija iskorišćenja, ako je primjenljivo, vrši se za svaki pojedinačni toksin prije zbirna koncentracija.

Za provjeru usaglašenosti sa zbirom maksimalno dozvoljenih količina primjenjuje se pristup donje granice, što znači da se pri izračunavanju zbirna rezultati za pojedinačne toksine ispod granice kvantifikacije zamjenjuju nulom.

Navedena pravila tumačenja analitičkog rezultata s obzirom na prihvatanje ili odbijanje serije primjenjuju se na analitički rezultat dobijen za uzorak za službenu kontrolu. Ako se analiza vrši u svrhu odbrane ili u referentne svrhe, primjenjuju se nacionalna pravila. Konkretno: ako analitički rezultat uzorka za službenu kontrolu nedvosmisleno ukazuje na neusklađenost, uzimajući u obzir proširenu mjernu nesigurnost, i analitički rezultat uzorka za odbranu ukazuje na neusklađenost, ali ne nedvosmisleno i uz veću proširenu mjernu nesigurnost od one u pogledu službene kontrole, analitički rezultat uzorka za odbranu ne može zamijeniti nesusklađenost utvrđenu za uzorak za službenu kontrolu.

#### **4.3.2. Orientacione metode**

Rezultat orijentacione metode označava se kao usklađen ili se izražava sumnja na neusklađenost.

„Sumnja na nesusklađenost” znači da uzorak premašuje graničnu vrijednost i da može da sadrži količine biljnog toksina veće od STC-a. Svaki sumnjivi rezultat povod je za pokretanje potvrdne analize radi nedvosmislene identifikacije i kvantifikacije toksina.

„Usklađen” znači da je sadržaj biljnog toksina u uzorku sa 95 %-tnom pouzdanošću manji od STC-a (tj. postoji 5 %-tna mogućnost da će uzorci biti netačno utvrđeni kao negativni). Analitički rezultat prikazuje se kao „< razina STC-a”, pri čemu se navodi razina STC-a.

#### **4.4. Laboratorijski standardi kvalitete**

Laboratorij postupa u skladu s odredbama članka 37. stavaka 4. i 5. Uredbe (EU) 2017/625.

(<sup>1</sup>) Dostupno na: [https://food.ec.europa.eu/system/files/2023-10/cs\\_contaminants\\_sampling\\_guid-doc-ident-mycotoxins.pdf](https://food.ec.europa.eu/system/files/2023-10/cs_contaminants_sampling_guid-doc-ident-mycotoxins.pdf).

(\*<sup>1</sup>) Ako se tokom ekstrakcije za stabilizaciju promjena pH upotrebljava puferski rastvor, ta grupa proizvoda može se objediniti u jednu grupu proizvoda „Visok sadržaj vode”.

(\*<sup>2</sup>) „Komplikovane ili jedinstvene proizvode” treba potpuno validovati samo ako se učestalo analiziraju. Ako se analiziraju samo povremeno, validacija se može ograničiti na provjeru nivoa o kojima se izvještava uz primjenu obogaćenih ekstrakata slijepog uzorka.

(<sup>2</sup>) Dostupno na: <https://academic.oup.com/jaoac/article-pdf/97/5/1492/32425003/jaoac1492.pdf>.

(<sup>3</sup>) Više pojedinosti o postupcima za procjenu mjerne nesigurnosti i postupcima za procjenu iskorišćenja dostupno je u izvještaju naslovljenom *Report on the relationship between analytical results, measurement uncertainty, recovery factors and the provisions of EU food and feed legislation* [https://food.ec.europa.eu/system/files/2016-10/cs\\_contaminants\\_sampling\\_analysis-report\\_2004\\_en.pdf](https://food.ec.europa.eu/system/files/2016-10/cs_contaminants_sampling_analysis-report_2004_en.pdf).