2023/2783

15.12.2023.

PROVEDBENA UREDBA KOMISIJE (EU) 2023/2783

od 14. prosinca 2023.

o utvrđivanju metoda uzorkovanja i analize za kontrolu razina biljnih toksina u hrani i o stavljanju izvan snage Uredbe (EU) 2015/705

(Tekst značajan za EGP)

EUROPSKA KOMISIJA,

uzimajući u obzir Ugovor o funkcioniranju Europske unije,

uzimajući u obzir Uredbu (EU) 2017/625 Europskog parlamenta i Vijeća od 15. ožujka 2017. o službenim kontrolama i drugim službenim aktivnostima kojima se osigurava primjena propisa o hrani i hrani za životinje, pravila o zdravlju i dobrobiti životinja, zdravlju bilja i sredstvima za zaštitu bilja, o izmjeni uredaba (EZ) br. 999/2001, (EZ) br. 396/2005, (EZ) br. 1069/2009, (EZ) br. 1107/2009, (EU) br. 1151/2012, (EU) br. 652/2014, (EU) 2016/429 i (EU) 2016/2031 Europskog parlamenta i Vijeća, uredaba Vijeća (EZ) br. 1/2005 i (EZ) br. 1099/2009 i direktiva Vijeća 98/58/EZ, 1999/74/EZ, 2007/43/EZ, 2008/119/EZ i 2008/120/EZ te o stavljanju izvan snage uredaba (EZ) br. 854/2004 i (EZ) br. 882/2004 Europskog parlamenta i Vijeća, direktiva Vijeća 89/608/EEZ, 89/662/EEZ, 90/425/EEZ, 91/496/EEZ, 96/23/EZ, 96/93/EZ i 97/78/EZ te Odluke Vijeća 92/438/EEZ (Uredba o službenim kontrolama) ([1]), a posebno njezin članak 34. stavak 6.,

budući da:

(1) Uredbom Komisije (EU) 2023/915 ([2]) utvrđene su najveće dopuštene količine određenih biljnih toksina u hrani.

(2) Uzorkovanje ima ključnu ulogu u preciznosti određivanja razina biljnih toksina u određenoj seriji jer biljni toksini mogu biti neravnomjerno raspoređeni unutar serije. Stoga je primjereno utvrditi metode uzorkovanja za službenu kontrolu razina biljnih toksina u hrani.

(3) Provedbenom uredbom Komisije (EU) br. 2023/2782 ([3]) utvrđene su metode uzorkovanja za službenu kontrolu razina mikotoksina u hrani. Budući da su biljni toksini i mikotoksini neravnomjerno raspoređeni unutar serija, te metode uzorkovanja primjereno je primjenjivati i za biljne toksine.

(4) Službene kontrole mogu se provoditi na hrani za koju nije određena posebna najveća dopuštena količina biljnih toksina i za koju nije utvrđen poseban postupak uzorkovanja. Stoga je primjereno definirati kriterije na osnovi kojih će se utvrditi postupak uzorkovanja koji se treba primjenjivati u takvim slučajevima.

(5) Potrebno je utvrditi i opće kriterije učinkovitosti koje bi metoda analize trebala ispunjavati kako bi se osiguralo da kontrolni laboratoriji primjenjuju metode analize s usporedivim razinama učinkovitosti. Na temelju najboljih dostupnih znanstvenih informacija Referentni laboratorij Europske unije za mikotoksine i biljne toksine odredio je kriterije analitičke učinkovitosti za analizu biljnih toksina u hrani, stoga je primjereno utvrditi te kriterije u ovoj Uredbi.

([1]) SL L 95, 7.4.2017., str. 1.

([2]) Uredba Komisije (EU) 2023/915 od 25. travnja 2023. o najvećim dopuštenim količinama određenih kontaminanata u hrani i o stavljanju izvan snage Uredbe (EZ) br. 1881/2006 (SL L 119, 5.5.2023., str. 103.).

([3]) Provedbena uredba Komisije (EU) 2023/2782 od 14. prosinca 2023. o utvrđivanju metoda uzorkovanja i analize za kontrolu razina mikotoksina u hrani i o stavljanju izvan snage Uredbe (EZ) br. 401/2006 (SL L, 2023/2782, 15.12.2023., ELI: http://data.europa.eu/eli/reg_impl/2023/2782/oj).

(6) Uredbom Komisije (EU) 2015/705 ([4]) utvrđene su metode uzorkovanja i kriteriji učinkovitosti za metode analize za službenu kontrolu razina eruka kiseline u hrani. S obzirom na to da su metode uzorkovanja i kriteriji analitičke učinkovitosti utvrđeni u ovoj Uredbi prikladni i za kontrolu biljnog toksina eruka kiseline u hrani, primjereno je radi pojednostavnjenja staviti izvan snage Uredbu (EU) 2015/705.

(7) Kontrolnim laboratorijima potrebno je omogućiti dovoljno vremena za ispunjavanje novih zahtjeva uvedenih ovom Uredbom. Stoga je primjereno utvrditi razuman rok za početak primjene ove Uredbe.

(8) Kako bi se osigurao kontinuitet u provedbi službenih kontrola i drugih regulatornih aktivnosti u pogledu najvećih dopuštenih količina biljnih toksina te kako bi se omogućilo dovoljno vremena za ponovnu validaciju metoda analize, primjereno je odrediti da se metode analize koje su validirane prije datuma početka primjene ove Uredbe mogu upotrebljavati tijekom određenog razdoblja.

(9) Mjere predviđene u ovoj Uredbi u skladu su s mišljenjem Stalnog odbora za bilje, životinje, hranu i hranu za životinje,

DONIJELA JE OVU UREDBU:

Članak 1.

Za potrebe ove Uredbe primjenjuju se definicije utvrđene u članku 1. Provedbene uredbe Komisije (EU) 2023/2782.

Članak 2.

(1) Uzorkovanje za kontrolu razina biljnih toksina u hrani provodi se u skladu s metodama utvrđenima u Prilogu I.

(2) Postupak uzorkovanja za hranu koja se ne može razvrstati u neku od kategorija hrane za koju je u Prilogu I. utvrđen postupak uzorkovanja određuje se uzimajući u obzir veličinu čestica te hrane ili sličnost te hrane s proizvodom koji se može razvrstati u neku od kategorija hrane iz Priloga I.

(3) Hrana koja se ne može razvrstati u neku od kategorija hrane iz Priloga I., ako postoje dokazi da je biljni toksin ravnomjerno raspoređen u takvoj hrani, uzorkuje se primjenom metode uzorkovanja utvrđene u dijelu B Priloga Uredbi Komisije (EZ) br. 333/2007 ([5]).

Članak 3.

Priprema uzoraka i metode analize za kontrolu razina biljnih toksina u hrani moraju ispunjavati kriterije utvrđene u Prilogu II.

Članak 4.

Uredba (EU) 2015/705 stavlja se izvan snage. Upućivanja na uredbu stavljenu izvan snage smatraju se upućivanjima na ovu Provedbenu uredbu.

([4]) Uredba Komisije (EU) 2015/705 od 30. travnja 2015. o utvrđivanju metoda uzorkovanja i kriterija učinkovitosti za metode analize za službenu kontrolu razina eruka kiseline u hrani te o stavljanju izvan snage Direktive Komisije 80/891/EEZ (SL L 113, 1.5.2015., str. 29.).

([5]) Uredba Komisije (EZ) br. 333/2007 od 28. ožujka 2007. o metodama uzorkovanja i analitičkim metodama za kontrolu razina elemenata u tragovima i procesnih kontaminanata u hrani (SL L 88, 29.3.2007., str. 29.).

Članak 5.

Ova Uredba stupa na snagu dvadesetog dana od dana objave u *Službenom listu Europske unije*.

Primjenjuje se od 1. travnja 2024. Međutim, metode analize koje su validirane prije početka primjene ove Uredbe mogu ostati u upotrebi do 1. srpnja 2028., čak i ako nisu u skladu sa svim posebnim zahtjevima iz točke 4.2. Priloga II. ovoj Uredbi.

Ova je Uredba u cijelosti obvezujuća i izravno se primjenjuje u svim državama članicama.

Sastavljeno u Bruxellesu 14. prosinca 2023.

Za Komisiju
Predsjednica
Ursula VON DER LEYEN

PRILOG I.

Metode uzorkovanja za kontrolu razina biljnih toksina u hrani

DIO I.

OPĆE ODREDBE

A.1. **Opće odredbe**

A.1.1. *Osoblje*

Uzorkovanje provodi osoba koju je odredilo nadležno tijelo države članice.

A.1.2. *Materijal koji se uzorkuje*

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

A.1.3. *Mjere opreza*

Tijekom uzorkovanja i pripreme uzoraka poduzimaju se mjere opreza kako bi se izbjegle sve promjene koje bi mogle:

— utjecati na sadržaj biljnog toksina, štetno djelovati na analitičko određivanje ili skupne uzorke učiniti nereprezentativnima;

— utjecati na sigurnost hrane u serijama koje se uzorkuju.

Također se moraju poduzeti sve potrebne mjere za zaštitu osoba koje 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 A.1.8. ovog Priloga.

A.1.5. *Priprema skupnog uzorka*

Skupni uzorak dobiva se objedinjavanjem pojedinačnih uzoraka.

A.1.6. *Ponovljeni uzorci*

Ponovljeni uzorci za provedbu službene kontrole, u svrhu obrane i u referentne svrhe uzimaju se iz homogeniziranog skupnog uzorka, osim ako je takav postupak u suprotnosti s pravilima država članica u pogledu prava subjekta u poslovanju s hranom.

A.1.7. *Pakiranje i prijenos uzoraka*

Svaki uzorak stavlja se u čisti, inertni spremnik koji osigurava odgovarajuću zaštitu od kontaminacije i oštećenja u transportu. Poduzimaju se sve potrebne mjere opreza kako bi se izbjegla promjena sastava uzorka do koje bi moglo doći za vrijeme prijevoza ili skladištenja.

A.1.8. *Pečaćenje i označivanje uzoraka*

Svaki uzorak uzet za službene potrebe zapečaćuje se na mjestu uzorkovanja i označuje u skladu s propisima država članica.

O svakom se uzorkovanju vodi zapisnik koji omogućuje nedvojbenu identifikaciju svake serije, a sadržava podatke o vremenu i mjestu uzorkovanja te ostale dodatne podatke koji mogu poslužiti analitičaru.

A.2. **Različite vrste serija**

Prehrambeni proizvodi mogu se stavljati na tržište u rasutom stanju, u spremnicima ili pojedinačnim pakiranjima, kao što su vreće, vrećice i maloprodajna/pojedinačna pakiranja. Metoda uzorkovanja može se primijeniti na proizvode stavljene na tržište u rasutom stanju, u spremnicima ili pojedinačnim pakiranjima, kao što su vreće, vrećice, maloprodajna/pojedinačna pakiranja ili bilo koji drugi oblik.

Ne dovodeći u pitanje posebne odredbe o uzorkovanju utvrđene u drugim dijelovima ovog Priloga, sljedeća formula upotrebljava se kao smjernica za izračun učestalosti uzorkovanja serija stavljenih na tržište u pojedinačnim pakiranjima, kao što su vreće, vrećice i maloprodajna/pojedinačna pakiranja:

$$\text{učestalost uzorkovanja (SF) } n = \frac{\text{masa serije x masa pojedinačnog uzorka}}{\text{masa skupnog uzorka x masa pojedinačnog pakiranja}}$$

— masa: u kg

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

A.3. **Uzorkovanje proizvoda s visokim omjerom obujma i mase**

Uz iznimku prehrambenih proizvoda obuhvaćenih točkama L i M dijela II. Priloga I. Provedbenoj uredbi (EU) 2023/2782, u slučaju uzorkovanja prehrambenih proizvoda koji imaju velik obujam u odnosu na masu (tj. obujam (dm^3)/masa (kg) > 5), zahtjevi u pogledu mase mogu se zamijeniti jednakovrijednim zahtjevom u pogledu obujma (tj. 1 kg zamjenjuje se 1 dm^3).

DIO II.

METODE UZORKOVANJA

Primjenjuju se metode uzorkovanja utvrđene u dijelu II. Priloga I. Provedbenoj uredbi (EU) 2023/2782.

Međutim, za uzorkovanje krumpira i proizvoda od krumpira (glikoalkaloidi) te meda (pirolizidinski alkaloidi) primjenjuje se dio B Priloga Uredbi (EZ) br. 333/2007.

PRILOG II.

Kriteriji za pripremu uzoraka i za metode analize za kontrolu razina biljnih toksina u hrani

1. UVOD Mjere opreza

Budući da je raspodjela biljnih toksina općenito neravnomjerna, uzorci se moraju izuzetno pažljivo pripremati i homogenizirati.

Homogenizira se cijeli uzorak zaprimljen u laboratorij, ako homogenizaciju provodi laboratorij.

2. OBRADA UZORKA ZAPRIMLJENOG U LABORATORIJ

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

U slučaju da se najveća dopuštena količina odnosi na suhu tvar, sadržaj suhe tvari u proizvodu određuje se na dijelu homogeniziranog uzorka, uporabom metode za koju je dokazano da se njome precizno određuje sadržaj suhe tvari.

3. PONOVLJENI UZORCI

Ponovljeni uzorci za provedbu službene kontrole, u svrhu obrane i u referentne svrhe uzimaju se iz homogeniziranog materijala, osim ako je takav postupak u suprotnosti s pravilima država članica u pogledu prava subjekta u poslovanju s hranom.

4. METODA ANALIZE KOJU PRIMJENJUJE LABORATORIJ I ZAHTJEVI U POGLEDU LABORATORIJSKE KONTROLE

4.1. **Opći zahtjevi**

Potvrdne metode analize za kontrolu hrane u skladu su s odredbama iz točaka 1. i 2. Priloga III. Uredbi (EU) 2017/625.

Kad god je to moguće, istinitost metode trebalo bi redovito provjeravati analizom certificiranog referentnog materijala i/ili na temelju uspješnog sudjelovanja u provjerama kvalitete rada.

4.2. **Posebni zahtjevi**

4.2.1. *Posebni zahtjevi u pogledu potvrdnih metoda*

4.2.1.1. Kriteriji učinkovitosti

Za potvrdne metode primjenjuju se sljedeći kriteriji učinkovitosti:

Iskorištenje: prosječno iskorištenje trebalo bi iznositi od 70 % do 120 %.

Prosječno iskorištenje je prosječna vrijednost dobivena na temelju ponavljanja tijekom validacije pri utvrđivanju parametara preciznosti RSDr i $RSDw_R$. Kriterij se primjenjuje na sve koncentracije i sve pojedinačne toksine.

U iznimnim slučajevima može se prihvatiti prosječno iskorištenje izvan navedenog raspona, ali mora biti u rasponu 50–130 % te moraju biti ispunjeni kriteriji preciznosti za RSDr i $RSDw_R$.

Preciznost

RSDr iznosi ≤ 20 %.

RSDwR iznosi ≤ 20 %.

RSDR trebao bi iznositi ≤ 25 %.

Ti se kriteriji primjenjuju na sve koncentracije.

Ako laboratorij dostavi dokaze da je kriterij za RSDwR ispunjen, ne treba dostaviti te dokaze za RSDr jer ispunjavanje kriterija za RSDwR jamči ispunjavanje kriterija za RSDr.

Ako se najveća dopuštena količina primjenjuje na zbroj toksina, kriteriji preciznosti primjenjuju se i na zbroj i na pojedinačne toksine.

Granica kvantifikacije

Ako je u tablici 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.

Tablica 1

Zahtjevi u pogledu granice kvantifikacije za određene biljne toksine

Biljni toksin	Napomene	Hrana	Zahtjev u pogledu granice kvantifikacije (µg/kg) ili (µg/l)
Pirolizidinski alkaloidi	Zahtjev u pogledu granice kvantifikacije za pojedinačne pirolizidinske alkaloide	Sušeni proizvod	≤ 10
		Tekući proizvod	≤ 0,15
Tropanski alkaloidi	Zahtjev u pogledu granice kvantifikacije za atropin i skopolamin zasebno	Prerađena hrana na bazi žitarica za dojenčad i malu djecu	≤ 1
		Žitarice i proizvodi od žitarica	≤ 2
		Biljne infuzije (sušeni proizvod)	≤ 5
		Biljne infuzije (tekućina)	≤ 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 ≤ 0,5 * najveće dopuštene količine, a po mogućnosti niža (≤ 0,2 * najveće dopuštene količine).

Ako se najveća dopuštena količina odnosi na zbroj toksina, granica kvantifikacije za pojedinačne toksine mora biti ≤ 0,5 * najveće dopuštene količine/n, pri čemu je n broj toksina uključenih u definiciju najveće dopuštene količine.

Identifikacija

Pri identifikaciji se primjenjuju kriteriji 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 provesti 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 primjenjiva na druge proizvode, provjerava se njezina pouzdanost za te druge proizvode. Ako novi proizvod pripada skupini proizvoda (vidjeti tablicu 2 u ovom Prilogu) za koju je već provedena početna validacija, dovoljno je provesti ograničenu dodatnu validaciju.

4.2.2. *Posebni zahtjevi u pogledu polukvantitativnih orijentacijskih metoda*

4.2.2.1. Područje primjene

Ovaj odjeljak odnosi se na bioanalitičke metode utemeljene na imunološkom prepoznavanju ili vezivanju za receptore (kao što su ELISA, mjerni štapići, uređaji za testiranje lateralnog toka, imunosenzori) i fizikalno-kemijske metode utemeljene na kromatografiji ili izravnoj detekciji s pomoću spektrometrije masa (npr. ambijentalna spektrometrija masa). Druge metode (npr. tankoslojna kromatografija) nisu isključene pod uvjetom da su dobiveni signali izravno povezani s relevantnim biljnim toksinima i omogućuju primjenu načela opisanog u nastavku.

([1]) Dostupno na: https://food.ec.europa.eu/system/files/2023-10/cs_contaminants_sampling_guid-doc-ident-mycotoxins.pdf.

Posebni zahtjevi i uobičajeni statistički podaci primjenjuju se na metode čiji je rezultat mjerenja numerička vrijednost, na primjer (relativni) odgovor dobiven s pomoću mjernog štapića, signal tekućinske kromatografije – 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 drukčije pristupe validaciji. Posebni zahtjevi u pogledu tih metoda utvrđeni su u točki 4.2.3.

U ovom dokumentu opisuju se postupci za validaciju orijentacijskih metoda međulaboratorijskom validacijom, provjeru učinkovitosti metode validirane u okviru međulaboratorijske mjere te validaciju orijentacijske metode u jednom laboratoriju.

4.2.2.2. Postupak validacije

Cilj je validacije dokazati prikladnost orijentacijske metode. To se postiže određivanjem granične vrijednosti i određivanjem postotka lažno negativnih i lažno sumnjivih rezultata. Ta dva parametra obuhvaćaju značajke učinkovitosti kao što su sposobnost detekcije, selektivnost i preciznost.

Orijentacijske metode mogu se validirati međulaboratorijskom validacijom ili validacijom u jednom laboratoriju. Ako su za određene kombinacije biljnog toksina/matrice/STC-a već dostupni podaci o međulaboratorijskoj validaciji, dovoljno je izvršiti provjeru učinkovitosti metode u laboratoriju koji primjenjuje metodu.

4.2.2.2.1. Početna validacija s pomoću validacije u jednom laboratoriju

Biljni toksini

Validacija se provodi za svaki pojedinačni biljni toksin obuhvaćen područjem primjene. U slučaju bioanalitičkih metoda kojima se dobiva kombinirani odgovor za određenu skupinu 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 provedbom potvrdne analize radi nedvojbene identifikacije i kvantifikacije biljnih toksina.

Matrice

Početna validacija provodi se za svaki proizvod odnosno, ako je poznato da se metoda može primijeniti na više proizvoda, za svaku skupinu proizvoda. U potonjem se slučaju iz te skupine odabire jedan reprezentativni i relevantni proizvod (vidjeti tablicu 2).

Skup uzoraka

Najmanji broj različitih uzoraka za provedbu validacije jest 20 homogenih negativnih kontrolnih uzoraka i 20 homogenih pozitivnih kontrolnih uzoraka koji sadržavaju biljni toksin u STC-u, a koje se analizira u uvjetima obnovljivosti unutar laboratorija ($RSDw_R$) tijekom pet različitih dana. U skup za validaciju mogu se dodati dodatni skupovi od 20 uzoraka koji sadržavaju drukčije razine biljnog toksina kako bi se stekao uvid u to u kojoj mjeri metoda može razlikovati različite koncentracije biljnog toksina.

Koncentracija

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

4.2.2.2.2. Početna validacija međulaboratorijskim ispitivanjima

Validacija međulaboratorijskim ispitivanjima provodi se u skladu s normom ISO 5725:1994 ili Međunarodnim usuglašenim protokolom IUPAC-a ili drugim međunarodno priznatim protokolom o međulaboratorijskim ispitivanjima na temelju kojeg se zahtijeva uključivanje važećih podataka iz najmanje osam različitih laboratorija. Jedina razlika u odnosu na validaciju u jednom laboratoriju jest da se ≥ 20 uzoraka po proizvodu/razini može ujednačeno raspodijeliti među laboratorijima koji sudjeluju, pri čemu svaki laboratorij dobiva 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 izračun traženih parametara.

Orijentacijske metode kod kojih je odgovor proporcionalan koncentraciji biljnog toksina

Na orijentacijske metode kod kojih je odgovor proporcionalan koncentraciji biljnog toksina primjenjuje se sljedeće:

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

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

Orijentacijske metode kod kojih je odgovor obrnuto proporcionalan koncentraciji biljnog toksina

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

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

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-vrijednost = (granična vrijednost – srednja $vrijednost_{slijepi\ uzorak}$)/$SD_{slijepi\ uzorak}$

za orijentacijske metode kod kojih je odgovor proporcionalan koncentraciji biljnog toksina

ili

t-vrijednost = (*srednja* $vrijednost_{slijepi\ uzorak}$ – granična vrijednost)/$SD_{slijepi\ uzorak}$

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

Iz dobivene 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 provesti 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 orijentacijska metoda primjenjiva na druge proizvode, provjerava se njezina pouzdanost za te druge proizvode. Ako novi proizvod pripada skupini proizvoda (vidjeti tablicu 2 u ovom Prilogu) za koju je već provedena početna validacija, dovoljno je provesti ograničenu dodatnu validaciju. Pritom se analizira najmanje 10 homogenih negativnih kontrolnih uzoraka i 10 homogenih pozitivnih kontrolnih uzoraka (pri STC-u) u uvjetima obnovljivosti unutar laboratorija. Svi pozitivni kontrolni uzorci moraju biti iznad granične vrijednosti. Ako taj kriterij nije ispunjen, mora se provesti potpuna validacija.

4.2.2.5. Provjera metoda koje su već validirane međulaboratorijskim ispitivanjima

Kod orijentacijskih metoda koje su već uspješno validirane međulaboratorijskim ispitivanjem provjerava se učinkovitost 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 kriterij nije ispunjen, laboratorij mora provesti analizu osnovnog uzroka kako bi utvrdio zašto ne može udovoljiti specifikacijama koje su dobivene međulaboratorijskim ispitivanjem. Tek nakon provedbe korektivnih mjera ponovno provjerava učinkovitost metode u svojem laboratoriju. Ako laboratorij ne može provjeriti rezultate međulaboratorijskog ispitivanja, treba utvrditi vlastitu graničnu vrijednost u potpunoj validaciji u jednom laboratoriju.

4.2.2.6. Kontinuirana provjera metode/tekuća validacija metode

Nakon početne validacije dodatni podaci o validaciji dobivaju se uključivanjem najmanje dvaju pozitivnih kontrolnih uzoraka 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 skupine proizvoda (ako se analizira samo jedan proizvod, upotrebljava se drugi uzorak tog proizvoda). Uključivanje negativnog kontrolnog uzorka nije obvezno. Rezultati dobiveni 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 kvalitete/kontroli kvalitete dobivenih prošle godine). Kontinuirana provjera metode ima nekoliko svrha, među ostalim:

— kontrola kvalitete serije uzoraka koji se provjeravaju,

— prikupljanje podataka o otpornosti metode u uvjetima laboratorija koji primjenjuje metodu,

— opravdanje primjenjivosti metode na različite proizvode,

— omogućivanje prilagodbe graničnih vrijednosti u slučaju postupnih odstupanja tijekom vremena.

4.2.2.7. Izvješće o validaciji

Izvješće o validaciji sadržava:

— izjavu o STC-u,

— izjavu o utvrđenoj graničnoj vrijednosti,

Napomena: granična vrijednost ima jednak broj značajnih znamenki kao STC. Numeričke vrijednosti koje se upotrebljavaju za izračun granične vrijednosti moraju imati najmanje jednu značajnu znamenku 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.

Tablica 2

Skupine proizvoda za validaciju potvrdnih i orijentacijskih metoda

Skupine proizvoda	Kategorije proizvoda	Tipični reprezentativni proizvodi obuhvaćeni kategorijom
Visok sadržaj vode	Pića Voće i povrće Pirei na bazi žitarica ili voća Svježe začinsko bilje	Biljne infuzije (tekućina), listovi borača, krumpir, pirei namijenjeni dojenčadi i maloj djeci
Visok sadržaj ulja	Orašasti plodovi Uljarice i proizvodi dobiveni od njih Uljasto voće i proizvodi dobiveni 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 (*)	Proizvodi od citrusa	
„Komplicirani ili jedinstveni proizvodi" (**)		Pelud i proizvodi od peludi, dodaci prehrani, biljne infuzije (sušeni proizvod), čaj (sušeni proizvod) Začini, slatki korijen
Visok sadržaj šećera, nizak sadržaj vode	Sušeno voće	Smokve, grožđice (sve vrste), med
Mlijeko i mliječni proizvodi	Mlijeko Sir Mliječni proizvodi (npr. mlijeko u prahu)	Kravlje, kozje i bivolje mlijeko Kravlji sir, kozji sir Jogurt, vrhnje

(*) Ako se tijekom ekstrakcije za stabilizaciju promjena pH upotrebljava puferska otopina, ta skupina proizvoda može se objediniti u jednu skupinu proizvoda „Visok sadržaj vode".

(**) „Komplicirane ili jedinstvene proizvode" treba potpuno validirati samo ako ih se učestalo analizira. Ako ih se analizira samo povremeno, validacija se može ograničiti na provjeru razina o kojima se izvješćuje uz primjenu obogaćenih ekstrakata slijepog uzorka.

Tablica 3

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

Stupnjevi slobode	Broj ponavljanja	t-vrijednost (5 %)
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
∞	∞	1,645

4.2.3. *Zahtjevi u pogledu kvalitativnih orijentacijskih metoda (metode koje ne daju numeričke vrijednosti)*

Izradom smjernica za validaciju binarnih ispitnih metoda trenutačno 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. Stoga metode koje daju binarne rezultate (npr. vizualni pregled rezultata ispitivanja mjernim štapićem) treba validirati u skladu s Međunarodnim smjernicama za validaciju kvalitativnih binarnih kemijskih metoda koje je izradio AOAC ([2]).

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

4.3. **Procjena mjerne nesigurnosti, izračun iskorištenja i izvješćivanje o rezultatima** ([3])

4.3.1. *Potvrdne metode*

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

([3]) Više pojedinosti o postupcima za procjenu mjerne nesigurnosti i postupcima za procjenu iskorištenja dostupno je u izvješću 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.

Analitički rezultat prikazuje se kako slijedi:

(a) ispravljen za iskorištenje, prema potrebi i ako je relevantno, te se navodi ako je ispravljen. Navodi se postotak iskorištenja, osim ako je intrinzični ispravak za mjerno odstupanje sastavni dio postupka. Ispravak za iskorištenje nije potreban ako postotak iskorištenja iznosi od 90 % do 110 %.

(b) kao x +/– U, pri čemu je x analitički rezultat, a U proširena nesigurnost u analitičkom mjerenju uz uporabu faktora pokrivanja 2, čime se postiže razina pouzdanosti od oko 95 %.

Standardna proširena mjerna nesigurnost od 50 % može se navesti ako laboratorij ispunjava sve zahtjeve u pogledu preciznosti iz točke 4.2. Pojedinačni laboratorij to može dokazati ispunjavanjem kriterija za ponovljivost (RSD_r) i obnovljivost unutar laboratorija (RSD_{wR}), uz uspješno sudjelovanje u provjerama kvalitete rada (osim ako nije dostupan odgovarajući program provjera kvalitete rada), jer srednji z-rezultat pri kojem je $|z| \leq 2$ pokazuje da je ispunjen traženi kriterij za obnovljivost (RSD_R) (na temelju ciljne standardne devijacije od 25 %).

Ako je najveća dopuštena količina utvrđena za zbroj toksina, navode se analitički rezultati svih pojedinačnih toksina.

Ispravak iskorištenja, ako je primjenjivo, provodi se za svaki pojedinačni toksin prije zbroja koncentracija.

Za provjeru sukladnosti sa zbrojem najvećih dopuštenih količina primjenjuje se pristup donje granice, što znači da se pri izračunu zbroja rezultati za pojedinačne toksine ispod granice kvantifikacije zamjenjuju nulom.

Navedena pravila tumačenja analitičkog rezultata s obzirom na prihvaćanje ili odbijanje serije primjenjuju se na analitički rezultat dobiven za uzorak za službenu kontrolu. Ako se analiza provodi u svrhu obrane ili u referentne svrhe, primjenjuju se nacionalna pravila. Konkretno:

ako analitički rezultat uzorka za službenu kontrolu nedvojbeno ukazuje na nesukladnost, uzimajući u obzir proširenu mjernu nesigurnost, i

analitički rezultat uzorka za obranu ukazuje na nesukladnost, ali ne nedvojbeno i uz veću proširenu mjernu nesigurnost od one u pogledu službene kontrole,

analitički rezultat uzorka za obranu ne može zamijeniti nesukladnost utvrđenu za uzorak za službenu kontrolu.

4.3.2. *Orijentacijske metode*

Rezultat orijentacijske metode označava se kao sukladan ili se izražava sumnja na nesukladnost.

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

„Sukladan” znači da je sadržaj biljnog toksina u uzorku s 95 %-tnom pouzdanošću manji od STC-a (tj. postoji 5 %-tna mogućnost da će uzorci biti netočno 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.