

Члан 3.
(Ступање на снагу)

Овај Правилник ступа на снагу осмог дана од дана објављивања у "Службеном гласнику БиХ".

СМ, број 97/09
12. фебруара 2009. године
Сарајево

Председавајући
Савјета министара БиХ
Др **Никола Шпирић**, с. р.

АНЕКС I

МЕТОДЕ УЗОРКОВАЊА ЗА СЛУЖБЕНУ КОНТРОЛУ КОЛИЧИНЕ ДИОКСИНА (PCDD/PCDF) И РСВ СЛИЧНИХ ДИОКСИНИМА У ОДРЕЂЕНОЈ ХРАНИ

1. ОБИМ

Узорци који су намијењени за службену контролу количине диоксида (PCDD/PCDF) и РСВ сличних диоксинима у храни узимају се у складу са методама које су описане у овом анексу. Тако добијени групни узорци сматрају се репрезентативним за серије или подсерије из којих су узети. Усклађеност са максимално дозвољеним количинама које су одређене прописом о максимално дозвољеним количинама за одређене контаминанте у храни утврђује се на основу количине која се одреди у лабораторијским узорцима.

2. ДЕФИНИЦИЈЕ

Серија или лот (у даљњем тексту: серија) јесте количина хране коју је могуће идентификовати и која је достављена у једној испоруци и за коју је овлашћено лице утврдило да има заједничке карактеристике као што су: поријекло, сорта, врста паковања, пакер, пошиљалац или ознаке. У случају рибе, величина рибе ће бити упоредива. У случају када величина и/или маса рибе није упоредива унутар пошљке, таква пошљка се и даље може сматрати као серија, али потребно је примјенити специфичну процедуру узорковања.

Подсерија или сублот (у даљњем тексту: подсерија) одређени је дио велике серије како би се примјенила метода узорковања на тај одређени дио. Свака подсерија мора се физички раздвојити и мора је бити могуће идентификовати.

Појединачни узорак је количина материјала узета са једног мјеста у серији или подсерији.

Груписни узорак је обједињени скуп свих појединачних узорака узетих из датих серија или подсерија.

Лабораторијски узорак је репрезентативни дио/количина групног узорка намијењен за лабораторијску анализу.

3. ОПШТЕ ОДРЕДБЕ

3.1. Особље

Узорковање обавља лице које за то овласти надлежни орган.

3.2. Материјал који се узоркује

Свака серија или подсерија коју треба испитати мора се засебно узорковати.

3.3. Мјере предострожности

Током узимања и припреме узорака, морају се предузети мјере предострожности како би се избјегле било какве промјене које би утицале на садржај диоксида и РСВ сличних диоксинима, негативно утицале на анализе или учиниле групне узорке нерепрезентативним.

3.4. Појединачни узорци

Колико је то могуће, појединачни узорци узимају се на разним мјестима распоређеним кроз серију или подсерију. Одступање од ове процедуре мора се евидентирати у записник који је прописан у тачки 3.8. овог Анекса.

3.5. Припремање групног узорка

Груписни узорак добија се спајањем појединачних узорака и мора бити најмање 1 кг, осим ако то није практично, нпр. када је узорковано само једно паковање.

На основу члана 17. став 3. и члана 72. Закона о храни ("Службени гласник БиХ", број 5/04) и члана 17. Закона о Савјету министара Босне и Херцеговине ("Службени гласник БиХ", бр. 30/03, 42/03, 81/06, 76/07, 81/07, 94/07 и 24/08), Савјет министара Босне и Херцеговине, на предлог Агенције за безбједност хране Босне и Херцеговине, у сарадњи са надлежним органима ентитета и Брчко Дистрикта Босне и Херцеговине, на 76. сједници одржаној 12. фебруара 2009. године, донио је

ПРАВИЛНИК

О МЕТОДАМА УЗОРКОВАЊА И АНАЛИЗЕ ЗА СЛУЖБЕНУ КОНТРОЛУ КОЛИЧИНЕ ДИОКСИНА И ПОЛИХЛОРИСАНИХ БИФЕНИЛА СЛИЧНИХ ДИОКСИНИМА У ХРАНИ

ДИО ПРВИ-ОПШТЕ ОДРЕДБЕ

Члан 1.
(Предмет)

1. Правилником о методама узорковања и анализе за службену контролу количине диоксида и полихлорисаних бифенила сличних диоксинима у храни (у даљњем тексту: Правилник) утврђују се методе узорковања и анализа за службену контролу количине диоксида и полихлорисаних бифенила сличних диоксинима у храни која се помиње у Дијелу 5. Анекса Правилника о максимално дозвољеним количинама за одређене контаминанте у храни.
2. Узорковање за службену контролу количине диоксида, фурана и полихлорисаних бифенила (РСВ) сличних диоксинима у храни врши се у складу са методама које су прописане у Анексу I, који је саставни дио овог Правилника.
3. Припрема узорака и методе анализе за службену контролу количине диоксида, фурана и РСВ сличних диоксинима у храни врше се у складу са методама које су прописане у Анексу II, који је саставни дио овог Правилника.

ДИО ДРУГИ - ПРЕЛАЗНЕ И ЗАВРШНЕ ОДРЕДБЕ

Члан 2.
(Усклађеност)

Количина диоксида и РСВ сличних диоксинима који се одређује у храни на основу овог правилника мора се ускладити са Правилником о максимално дозвољеним количинама за одређене контаминанте у храни.

3.6. Узорци

Узорци се морају узимати из хомогенизованог групног узорка.

3.7. Паковање и пренос узорака

Сваки узорак ставља се у чисти контејнер од инертног материјала који нуди адекватну заштиту од контаминације, од губитка анализе адсорпцијом на унутрашњи зид контејнера и од оштећења при преносу. Потребно је предузети све мјере предострожности како би се избјегла било каква промјена састава узорака до које би могло доћи током превоза или складиштења.

3.8. Печаћење и означавање узорака

Сваки узорак који је узет за службену употребу мора се запечатити на мјесту узорковања и означити.

За свако узорковање мора се сачинити записник, који ће омогућити да свака серија или подсерија буде недвосмислено идентификована са наведеним датумом и мјестом узорковања заједно са било којим додатним информацијама које би могле бити од помоћи аналитичару.

4. ПЛАНОВИ УЗОРКОВАЊА

Метода узорковања мора осигурати да је групни узорак репрезентативан за серију или подсерију која се контролише.

4.1. Подјела серија на подсерије

Велике серије дијеле се на подсерије под условом да се подсерија може физички одвојити. За производе којима се тргује у расутом стању (ринфуза, нпр. биљна уља) примјењује се Табела 1. За друге производе користи се Табела 2. Узимајући у обзир да маса серије није увијек тачан умножак масе подсерија, маса подсерија може прећи наведену масу за највише 20%.

Табела 1. Подјела серија на подсерије за производе којима се тргује у расутом стању (ринфуза)

Маса серије (тона)	Маса или број подсерија
1 500	500 тона
> 300 и < 1 500	3 подсерије
50 и 300	100 тона
< 50	-

Табела 2. Додатна подјела серија на подсерије за остале производе

Маса серије (тона)	Маса или број подсерија
15	15-30 тона
< 15	-

4.2. Број појединачних узорака

Маса групног узорка који обједињује све појединачне узорке мора бити најмање 1 кг (види тачку 3.5. овог Анекса).

Минималан број појединачних узорака које је потребно узети из серије или подсерије наведен је у табелама 3. и 4.

У случају течних производа у ринфузи, серија или подсерија мора се темељито измијешати у оној мјери у којој је то могуће и у којој то не утиче на квалитет производа, било мануелним или механичким путем непосредно прије узорковања. У овом случају, претпоставља се хомогена расподела контаминаната у датој серији или подсерији. Према томе, довољно је узети три појединачна узорка из серије или подсерије да би се формирао групни узорак.

Појединачни узорци морају бити сличне масе. Маса појединачног узорка мора бити најмање 100 г.

Одступање од ове процедуре мора се евидентирати у записник који се помиње у тачки 3.8. овог Анекса. Величина групног узорка за кокошија јаја је најмање 12 јаја (за серије у ринфузи као и за серије које се састоје од појединачних паковања, табеле 3. и 4.).

Табела 3. Минималан број појединачних узорака које је потребно узети из серије или подсерије

Маса или запремина серије или подсерије (у кг или литрима)	Минималан број појединачних узорака које је потребно узети
< 50	3
50 до 500	5
> 500	10

Ако се серија састоји од појединачних паковања, број паковања или јединица које је потребно узети да би се формирао групни узорак наведен је у Табели 4.

Табела 4.

Број паковања или јединица (појединачних узорака) који ће се узети како би се формирао групни узорак када се серија састоји од појединачних паковања или јединица

Број паковања или јединица у серији/подсерији	Број паковања или јединица које ће се узети
1 до 25	најмање 1 паковање или јединица
26 до 100	Око 5%, најмање 2 паковања или јединице
> 100	Око 5%, максимално 10 паковања или јединица

4.3. Специфичне одредбе за узорковање серија које садрже цијеле рибе упоредиве величине и масе

Сматра се да су рибе упоредиве величине и масе када разлика у величини и маси не прелази око 50%.

Број појединачних узорака који ће се узети из серије наведен је у Табели 3. Групни узорак који уједињује све појединачне узорке мора бити најмање 1 кг (види тачку 3.5.).

- У случају када серија која се узоркује садржи мале рибе (појединачне рибе масе < око 1 кг), цијела риба узима се као појединачан узорак да би се формирао групни узорак. Ако добијени групни узорак има масу већу од 3 кг, појединачни узорци могу се састојати од средњег дијела, од којих је сваки масе најмање 100 г, од риба које формирају групни узорак. Цијели дио на који се примјењује максимална количина користи се за хомогенизацију узорка.

Средина рибе је и њено тежиште. Оно се у већини случајева налази код леђне пераје (ако је риба има), односно на пола пута између отвора за шкрге и ануса.

- Ако серија која се узоркује садржи веће рибе (појединачне рибе масе веће од око 1 кг), појединачни узорак се састоји од средњег дијела рибе. Сваки појединачни узорак има масу од најмање 100 г.

За рибе средње величине (око 1 до 6 кг) појединачни узорак се узима као одрезак рибе од кичме до стомака на средњем дијелу рибе.

За врло велике рибе (нпр. > око 6 кг), појединачни узорак се узима са десне стране (гледано сприједа) дорсо-латералног (одозго и са стране) дијела мишићног меса на средњем дијелу рибе. У случају када би тако узет узорак изазвао велику штету, узимају се три појединачна узорка од којих сваки има по 350 г, без обзира на величину серије или алтернативно могу сачињавати једнаки дијелови мишића у близини репа рибе и дио мишића у близини главе исте рибе. У том случају, појединачни узорак од једне рибе је репрезентативан за одређивање диоксида у цијелој риби.

4.4. Узорковање серија рибе које садрже цијеле рибе различите величине и/или масе

- За припремање узорка примјењују се одредбе из тачке 4.3.
- Ако превађава нека класа/категорија, величина или маса (око 80% или више у серији), узорак се узима од риба чија величина или маса превађава. Овај узорак се сматра репрезентативним за читаву серију.
- Ако не превађава ниједна одређена класа/категорија, величина или маса, мора се обезбиједити да се за

узорковање одаберу рибе које су репрезентативне за ту попиљку.

4.5. Узорковање у фази малопродаје

Узорковање хране у фази малопродаје обавља се, ако је то могуће, у складу са одредбама о узорковању тачке 4.2. овог Анекса.

Када то није могуће, може се примјењивати алтернативна метода узорковања у фази малопродаје, под условом да обезбјеђује репрезентативност узорковане серије или подсерије.

5. УСКЛАЂЕНОСТ СЕРИЈЕ ИЛИ ПОДСЕРИЈЕ СА СПЕЦИФИКАЦИЈАМА

Серија се прихвата ако аналитички резултат једне анализе не прелази одговарајућу максимално дозвољену количину диоксида и суму диоксида и РСВ сличних диоксида како је то утврђено прописом о максимално дозвољеним количинама за одређене контаминанте у храни, узимајући у обзир мјерну несигурност.

Серија се не прихвата ако горњи аналитички резултат, потврђен двоструком анализом, прелази максимално дозвољену количину ван разумне сумње, узимајући у обзир мјерну несигурност.

Узимање у обзир несигурности мјерења може се учинити у складу са једним од следећих приступа:

- израчунавањем проширене несигурности, користећи фактор покривања 2, чиме се добија поузданост од око 95%. Серија или подсерија је неусклађена ако је измјерена вриједност умањена за мјерну несигурност (У) изнад установљене максимално дозвољене количине. У случају одвојеног одређивања диоксида и РСВ сличних диоксида, мора се користити сума проширене несигурности за сваки резултат анализе диоксида и РСВ сличних диоксида засебно, како би се добио збир диоксида и РСВ сличних диоксида;
- путем процедуре калибрационе криве у складу са ISO 11843 (овдје се он назива критична вриједност нето варијабле стања). У овом случају користи се слијепи материјал који је ојачан око дозвољеног лимита у једнаким размацима. Узорци се анализирају након идентификације, тако што се направи нацрт сигнала у односу на додату концентрацију. Одговарајућа концентрација при дозвољеном лимиту плус 1,64 пута стандардна девијација репродукцибилности унутар лабораторије једнака је граници одлучивања ($\alpha = 5\%$);
- анализирањем најмање 20 бланко (слијепих) материјала по матрици који су ојачани супстанцом/супстанцама која се анализира при дозвољеном лимиту. Концентрација при дозвољеном лимиту плус 1,64 пута одговарајућа стандардна девијација једнака је граници одлучивања ($\alpha = 5\%$).

Садашња правила интерпретације примјењују се на аналитички резултат добијен на узорку за службену контролу.

АНЕКС II

ПРИПРЕМАЊЕ УЗОРКА И ЗАХТЈЕВИ ЗА МЕТОДЕ АНАЛИЗЕ КОЈЕ СЕ КОРИСТЕ ЗА СЛУЖБЕНУ КОНТРОЛУ КОЛИЧИНЕ ДИОКСИДА (PCDD/PCDF) И РСВ СЛИЧНИХ ДИОКСИДА У ОДРЕЂЕНОЈ ХРАНИ

1. ОБЛАСТ ПРИМЈЕНЕ

Захтјеви прописани у овом анексу примјењиваће се када се храна анализира за службену контролу количине диоксида (полихлоринисаних дибензо-п-диоксида (PCDD) и полихлоринисаних дибензофурана (PCDF) и РСВ сличних диоксида.

За праћење присуства диоксида у храни може се примјенити стратегија која укључује оријентациону (eng. *screening*) методу, како би се одабрали они узорци са количином диоксида и РСВ сличних диоксида испод 25% или они који прелази максимално дозвољену количину.

Концентрација диоксида и сума диоксида и РСВ сличних диоксида у узорцима са значајном количином мора се одредити/потврдити потврђујућом методом.

Оријентационе методе су методе које се користе да би се открила присутност диоксида и РСВ сличних диоксида при количини од интереса. Ове методе морају имати капацитет за већи проток узорака и користе се да би се испитао велики број узорака на потенцијалне позитивне узорке. Оне морају бити специфично дизајниране да се избјегну лажне негативне.

Потврђујуће методе су методе које пружају потпуне или комплементарне информације које омогућавају недвосмислену идентификацију и квантификацију диоксида и РСВ сличних диоксида при количини од интереса.

2. ОСНОВА

Концентрације појединачних супстанци у датом узорку треба помножити са њиховим одговарајућим фактором токсичке еквиваленције (eng. *Toxic Equivalency Factor*, у даљњем тексту: TEF), како је то установила Свјетска здравствена организација (eng. *World Health Organisation*), и који су наведени у дијелу 9. овог Анекса и након тога ће се сабрати да би се добила укупна концентрација једињења сличних диоксида изражена као токсички еквиваленти (eng. *Toxic Equivalents*, у даљњем тексту: TEQ)

У сврху овог Правилника, прихваћена граница квантификације појединачног конгенера је концентрација анализата у екстракту узорка који даје инструментални одзив на два различита јона за које се врши мониторинг са односом 3:1 сигнала и шума (eng. *signal/noise ratio S/N*) за мање осјетљиви сигнал и испуњава основне захтјеве као што су нпр. вријеме задржавања и однос изотопа у складу са процедуром одређивања како је то прописано у ЕПА методи 1613 ревизија Б.

3. ЗАХТЈЕВИ ЗА ОБЕЗБЈЕЂЕЊЕ КВАЛИТЕТА КОЈИ СЕ МОРАЈУ ИСПУНИТИ ЗА ПРИПРЕМАЊЕ УЗОРКА

- Морају се предузети мјере да би се избјегла унакрсна контаминација у свакој фази процедуре узорковања и анализе.
- Узорци се морају чувати и превозити у стакленим, алуминијским, полипропиленским или полиетиленским контејнерима.
- Трагови папирне прашине морају се одстранити из контејнера за узорак. Стаклено посуђе мора се испрати растварачима који су сертификовани да не садрже диоксине или који су претходно контролисани на присуство диоксида.
- Чување и превоз узорка мора се спроводити на начин који одржава интегритет узорка хране.
- У оној мјери у којој је то релевантно, потребно је сваки лабораторијски узорак фино самљети и темељито измијешати, користећи процес којим се постиже потпуна хомогенизација (нпр. самљети да прође кроз сито од 1 мм); ако је садржај влаге превелик, узорци морају бити осушени прије мљења.
- Извршити слијепу (eng. *blank*) анализу спроводећи комплетну аналитичку процедуру изостављајући само узорак.
- Маса узорка који се користи за екстракцију мора бити довољна да се испуне захтјеви који се односе на осјетљивост.
- Специфичне процедуре припреме узорка које се користе за производе који се разматрају морају бити валидиране у складу са међународнопризнатим смјерницама.
- У случају рибе, мора се одстранити кожа јер се максимално дозвољена количина примјењује на мишићно месо без коже. Међутим, потребно је све остатке мишићног меса и масног ткива на унутрашњој страни коже пажљиво и потпуно остругати са коже и те остатке мишићног меса и масног ткива додати узорку који се анализира.

4. ЗАХТЈЕВИ ЗА ЛАБОРАТОРИЈЕ

- Лабораторије морају доказати ефикасност извођења методе у одређеном распону према циљаном интересном подручју, нпр. 0,5; 1 односно два пута већом количином од значајне количине, са прихватљивом релативном стандардном девијацијом (RSD_R) поновљене анализе. За појединости о критеријумима прихватљивости види тачку 5.
- Лимит квантификације (граница одређивања) за потврђујућу методу мора бити у распону од око једне петине количине од интереса (максимално дозвољене количине).
- Редовне слијепе контроле и експерименти или анализа контролних узорака (по могућности, ако су доступни сертификовани референтни материјали) морају се спроводити као унутрашње мјере контроле квалитета.
- Способност лабораторије биће доказана континуираним успешним учешћем у међулабораторијским студијама за одређивање диоксина и РСВ сличних диоксинима у одговарајућим матрицама хране и хране за животиње.
- У складу са важећим прописима о службеној контроли, лабораторије мора акредитовати признато тијело које ради у складу са ISO водичем 58, како би се обезбједило квалитет у анализи. Лабораторије морају бити акредитоване према захтјевима BAS/EN ISO/IEC 17025 стандарда.

5. ЗАХТЈЕВИ КОЈЕ МОРА ИСПУНИТИ АНАЛИТИЧКА ПРОЦЕДУРА ЗА ДИОКСИНЕ И РСВ СЛИЧНИХ ДИОКСИНИМА

Основни захтјеви за прихватање аналитичке процедуре:

- *Висока осјетљивост и ниски лимити детекције.* За PCDD и PCDF количине које је могуће детектовати морају бити изражене у пикограм (pg) TEQ (10^{-12} g) распону због екстремне токсичности неких од ових једињења. Познато је да се PCB јављају у већој количини од PCDD и PCDF. За већину PCB конгенера, довољна је осјетљивост изражену у нанограм (10^{-9} g) распону. Међутим, за мјерење више токсичних PCB сличних диоксинима конгенера (посебно не-орто супституисаних конгенера) мора се постићи иста осјетљивост као за PCDD и PCDF.
- *Висока селективност (специфичност).* Захтијева се разликовање PCDD, PCDF и PCB сличних диоксинима од многих других коекстрахованих (интерферирајућих) и евентуално сметајућих једињења који су присутни при концентрацијама и до неколико редова величине већим од концентрација аналита од интереса. За методе гасне хроматографије/масене спектрометрије (GC/MS) диференцијација међу разним конгенерима је неопходна, као између токсичних (нпр. седамнаест 2,3,7,8-супституисаних PCDD и PCDF, те 12 PCB сличних диоксинима) и других конгенера. Биолошки тестови морају бити такви да је могуће одредити TEQ вриједности селективно као суму PCDD, PCDF и PCB сличних диоксинима.
- *Висока тачност (истинитост и прецизност).* Одређивање мора пружити валидну процјену истините концентрације аналита у узорку. Висока тачност (тачност мјерења: подударност резултата мјерења са истинитом или додијељеном вриједности предмета мјерења) неопходна је да би се избјегло одбијање резултата анализе узорка на основу слабе поузданости оцјене TEQ. Тачност се изражава као истинитост (разлика између средње вриједности предмета мјерења за аналит у сертификованом материјалу и његове сертификоване вриједности, изражена у процентима те вриједности) и прецизност (RSD_R релативна стандардна девијација израчуната из резултата

добитених под условима репродуцибилности - обновљивости).

Оријентационе методе могу се састојати од биолошких тестова и GC/MS метода; потврђујуће методе су методе гасне хроматографије високе резолуције/масене спектрометрије високе резолуције (HRGC/HRMS). Сљедећи критеријуми морају бити испуњени за укупну TEQ вриједност:

	Оријентационе методе	Потврђујуће методе
Учесталост лажног негативног резултата	< 1 %	
Истинитост		- 20 % до + 20 %
Прецизност (RSD_R)	< 30 %	< 15 %

6. ПОСЕБНИ ЗАХТЈЕВИ ЗА GC/MS МЕТОДЕ КОЈИ СЕ МОРАЈУ ИСПУНИТИ ЗА ОРИЈЕНТАЦИОНЕ ИЛИ ПОТВРЂУЈУЋЕ МЕТОДЕ

- Додавање ^{13}C -означених 2, 3, 7, 8-хлор супституисаних унутрашњих PCDD/F стандарда и ^{13}C -означених унутрашњих PCB сличних диоксинима стандарда мора се спровести на самом почетку аналитичке методе, нпр. прије екстракције да би се валидирала аналитичка процедура. Мора се додати бар један конгенер за сваку од тетра до окта хлоринисаних хомологних група за PCDD/F и бар један конгенер за сваку хомологну групу за PCB сличних диоксинима (алтернативно, један конгенер за сваку функцију снимања масено спектрометријски одабраног јона који се користи за мониторинг PCDD/Ф PCB сличних диоксинима). Мора бити јасна предност, дефинитивно у случају потврђујућих метода, за употребу свих 17 ^{13}C -означених 2,3,7,8-супституисаних унутрашњих PCDD/F стандарда и свих 12 ^{13}C -означених унутрашњих PCB сличних диоксинима стандарда.

Релативни фактори одговора такође се морају одредити за оне конгенере за које није додан ^{13}C -означени аналог, користећи одговарајуће калибрационе растворе.

- За храну биљног и животињског поријекла која садржи мање од 10% масноће, додавање унутрашњих стандарда је обавезно прије екстракције. За храну животињског поријекла која садржи више од 10% масноће, унутрашњи стандарди се могу додати или прије екстракције или након екстракције масноће. Спроводи се одговарајућа валидација ефикасности екстракције, зависно од фазе у којој се уводе унутрашњи стандарди и од тога да ли се резултати извјештавају на основу цијелог узорка производа или масноће.
- Прије GC/MS анализе морају се додати 1 или 2 (сурогат) стандарда ради провјере искоришћења.
- Контрола искоришћења је неопходна. За потврдне методе искоришћење појединачних унутрашњих стандарда мора бити у распону од 60% до 120%. Мање или веће искоришћење за појединачне конгенере, посебно за неке хепта и окта хлорисане дибензодиоксине и дибензофуране, прихватљиво је под условом да њихово учешће у вриједности TEQ не прелази 10% укупне TEQ вриједности (на основу суме PCDD/F и PCB сличних диоксинима). За оријентационе методе, искоришћење мора да буде у распону од 30% до 140%.
- Раздвајање диоксина од сметајућих хлорисаних једињења као што су PCB који нису слични диоксинима и хлорисани дифенил етери спровешће се одговарајућим хроматографским техникама (по могућности са флорисил, алумина и/или угљеном колоном).
- Довољно је гасно хроматографско раздвајање изомера (<25 % врх до врха између 1, 2, 3, 4, 7, 8- HxCDF и 1, 2, 3, 6, 7, 8- HxCDF).

- Одређивање ће се провести на основу ЕПА методе 1613 ревизија Б: Тетра- до окта хлоринисани диоксини и фурани изотопним разблаживањем HRGC/HRMS или другом методом са еквивалентним критеријумима за извођење.
- Разлика између горњограничне количине и доњограничне количине не смије прелазити 20% за храну која је контаминирана диоксином од око 1 pg WHO - TEQ/g масноће (на бази суме PCDD/PCDF и PCV сличних диоксинима). За храну са ниским садржајем масноће морају се примјењивати исти захтјеви за количину контаминације од око 1 pg WHO - TEQ/g производа. За ниже количине контаминације, нпр. 0,50 pg WHO - TEQ/g производа, разлика између горњограничне количине и доњограничне количине може бити у распону од 25% до 40%.

7. ОРИЈЕНТАЦИОНЕ МЕТОДЕ АНАЛИЗЕ

7.1. Увод

Различити аналитички приступи могу се примијенити за оријентационе методе: потпуни оријентациони приступ и квантитативни приступ.

Оријентациони приступ

Резултати анализе узорака упоређују се са резултатима референтног узорка. Узорци чији су резултати мањи од резултата референтног узорка сматрају се негативним, а они с већим резултатима су они за које се сумња да су позитивни.

Захтјеви:

- Слијепи и референтни узорци треба да буду укључени у сваку серију тестова који су екстраховани и тестирани у исто вријеме под истим условима. Резултат референтног узорка мора бити несумњиво већи од резултата слијепе пробе.
- Контрола измјерених резултата спроводи се додатним референтним узорцима којима су количине 0,5 и 2 пута веће од значајне количине.
- За испитивање осталих матрица потребно је доказати прикладност једног или више референтних узорка, најбоље укључивањем узорка за које је HRGC/HRMS анализа показала да садрже TEQ у нивоу референтног узорка или тако да се слијепој проби дода стандард у тој количини.
- Пошто се за биолошке тестове не могу користити унутрашњи стандарди, спроводе се тестови о поновљивости да би се добиле информације о стандардној девијацији у оквиру једне тестне серије. Коefицијент варијације мора бити испод 30%.
- За биолошке тестове дефинишу се циљни састојци, могуће сметње и максималне количине које се могу толерисати за слијепе пробе.

Квантитативни приступ

Квантитативни приступ захтијева серију разблажених стандарда, двоструко или троструко чишћење и мјерење као и контроле слијепог узорка и искоришћење. Резултат се може изразити као TEQ, тиме претпостављајући да састојци који су одговорни за сигнал одговарају принципу TEQ. Ово се може извршити користећи TCDD (или стандардна мјешавина диоксин/фуран/PCV сличних диоксинима) да би се произвела калибрациона крива у сврху израчунавања нивоа TEQ у екстракту и у узорку. Резултат се накнадно коригује за TEQ ниво израчунат за слијепи узорак (да би се узеле у обзир нечистоће из употријебљених растварача и хемикалија) и искоришћење (израчунат из TEQ нивоа у узорку за контролу квалитета око нивоа од интереса). Битно је напоменути да дио привидног губитка искоришћења може бити због ефекта матрице и/или разлика између TEF вриједности у биолошким тестовима и службених TEF вриједности које је поставила НХО.

7.2. Захтјеви за методе анализе које се користе за оријентацију

- GC/MS методе анализе и биолошки тестови могу се користити за оријентацију. Користиће се захтјеви за GC/MS методе који су прописани у дијелу 6. Специфични захтјеви за биолошке тестове на бази ћелија прописани су у тачки 7.3. овог Анекса, а за биолошке тестове на бази китова у тачки 7.4. овог Анекса.
- Неопходне су информације о броју лажних позитивних и лажних негативних резултата велике групе узорака испод и изнад максималне количине или акционе количине у поређењу са садржајем TEQ одређеним путем потврђујуће методе анализе. Стварна учесталост лажних негативних узорака мора бити испод 1%. Учесталост лажних позитивних узорака мора бити довољно мала како би се употреба оријентационих алата учинила корисном.
- Позитивни резултати увијек се морају потврдити потврђујућом методом анализе (HRGC/HRMS). Додатно, узорци великог распона TEQ вриједности морају се потврдити HRGC/HRMS методом (приближно 2% до 10% негативних узорака). Информације о подударности између резултата биолошких тестова и HRGC/HRMS морају се учинити доступним.

7.3. Специфични захтјеви за биолошке тестове на бази ћелија

- Када се спроводе биолошки тестови, свако спровођење теста захтијева серију референтних концентрација TCDD или мјешавине диоксин/фуран/PCV сличних диоксинима (потпуна крива дозе-одзива са $R^2 > 0,95$). Међутим, ради оријентације може се користити проширена крива малих количина за анализирање узорака са малим количинама.
- Референтна концентрација TCDD (око 3x лимит квантификације) у табели контроле квалитета користиће се за резултате биолошких тестова током константног временског периода. Алтернатива може бити релативни одзив референтног узорка у поређењу са калибрационом линијом TCDD, јер одзив ћелија може зависити од многих фактора.
- Потребно је забиљежити табеле контроле квалитета (QC) за сваку врсту референтног материјала и провјерити их да би се видјело да ли је резултат у складу са датим смјерницама.
- Посебно код квантитативних израчунавања, индукција коришћених разблажења узорка мора се налазити у линеарном дијелу криве одзива. Узорци изнад линеарног дијела криве одзива морају се разблажити и поново тестирати. Дакле, потребно је тестирати истовремено најмање три или више разблажења.
- Процентуална стандардна девијација не смије бити изнад 15% код троструко одређивања за свако разблажење узорка и не смије бити изнад 30% између три независна експеримента.
- Лимит детекције може се поставити као 3x стандардна девијација слијепог растварача или одзива позадине. Други приступ је примијенити одзив који је изнад одзива позадине (фактор индукције 5x слијепог растварача) који се израчунава са калибрационе криве која вриједи за тај дан. Лимит квантификације може се поставити као 5 до 6x стандардна девијација слијепог растварача или одзива позадине или примијенити одзив који је изнад одзива позадине (фактор индукције 10x слијепог растварача) који се израчунава са калибрационе криве која вриједи за тај дан.

7.4. Специфични захтјеви за биолошке тестове на бази китова

- Мора се обезбиједити да биолошки тестови на бази китова посједују задовољавајућу осјетљивост и поузданост да би се могли примијенити на храну.

- Moraју се поштовати упутства произвођача за припрему и анализу узорка.
- Тестни китови не смију се користити након истека рока трајања.
- Не смију се користити материјали или компоненте китова који су намијењени за другу употребу.
- Тестни китови морају се чувати унутар назначеног распона температуре чувања и морају се користити само при назначеној температури за употребу.
- Лимит детекције за имунолошке тестове одређује се као 3x стандардна девијација на основу 10 поновљених анализа слијепих проба која ће се подијелити са вриједношћу нагиба једначине линеарне регресије.
- Морају се користити референтни стандарди за тестирања у лабораторији како би се обезбиједило да је одзив на стандард у оквиру прихватљивог распона.

2,3,7,8-TCDF	0,1	PCB 105	0,0001
1,2,3,7,8-PeCDF	0,05	PCB 114	0,0005
2,3,4,7,8-PeCDF	0,5	PCB 118	0,0001
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0,1	PCB 123	0,0001
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0,1	PCB 156	0,0005
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0,1	PCB 157	0,0005
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0,1	PCB 167	0,00001
1,2,3,4,6,7,8-HPCDF	0,01	PCB 189	0,0001
1,2,3,4,7,8,9-HPCDF	0,01		
OCDF	0,0001		

Употријебљене скраћенице: "Т" = тетра; "Ре" = пента; "Нх" = хекса; "Нр" = хепта; "О" = окта; "СDD" = хлоридбензодиоксин; "CDF" = хлоридбензофуран; "СВ" = хлоробифенил.

8. ИЗВЈЕШТАВАЊЕ О РЕЗУЛТАТИМА

У мјери у којој то омогућава коришћена аналитичка процедура, аналитички резултати морају садржавати количине појединачних PCDD/F и РСВ конгенера и бити извјештени као доњогранични, горњогранични и средњогранични, како би се укључио максимум информација код извјештавања резултата и тако омогућило тумачење резултата у складу са специфичним захтјевима.

Извјештај такође мора садржавати садржај липида узорка као и методу која је коришћена за екстракцију липида.

Искоришћење сваког појединачног унутрашњег стандарда мора бити доступно у случају да су вриједности за искоришћење изван распона који се наводи у Дијелу 6, у случају када је прекорачена максимална количина и у другим случајевима, на захтјев.

Пошто се несигурност мјерења мора узети у обзир приликом одлучивања о усклађености узорка, овај параметар такође мора бити доступан. Аналитички резултати морају се исказати као $x \pm U$, гдје је x аналитички резултат, а U је проширена мјерна несигурност, користећи фактор покривања 2 који даје ниво повјерења од приближно 95%. У случају одвојеног одређивања диоксина и РСВ сличних диоксинима, мора се користити сума оцијењених проширених несигурности појединачних аналитичких резултата за диоксине и РСВ сличних диоксинима за суму диоксина и РСВ сличних диоксинима.

Ако је мјерна несигурност узета у обзир примјеном СС вриједности (како је то описано у Анексу I, Дио 5), овај параметар мора бити наведен.

Резултати морају бити изражени у истим јединицама и са (барем) истим бројем значајних цифри, као и максимално дозвољена количина која је утврђена прописом о максимално дозвољеним количинама за одређене контаминанте у храни.

9. ТАБЕЛА WHO TEF ЗА ОЦЈЕНУ РИЗИКА ЗА ЉУДЕ

Конгенер	TEF вриједност	Конгенер	TEF вриједност
Дибензо-п-диоксини (PCDD)		PCB сличних диоксинима: Нон-орто PCB + Mono-орто PCB	
2,3,7,8-TCDD	1		
1,2,3,7,8-PeCDD	1	Нон-орто PCB	
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0,1	PCB 77	0,0001
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0,1	PCB 81	0,0001
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0,1	PCB 126	0,1
1,2,3,4,6,7,8-HPCDD	0,01	PCB 169	0,01
OCDD	0,0001		
Дибензофурани (PCDF)		Моно-орто PCB	