



AGENCIJA ZA SIGURNOST HRANE BOSNE I HERCEGOVINE



SMJERNICE

ANALITIČKA KONTROLA KVALITETE I POSTUPCI ZA
VALIDACIJU METODA ZA ANALIZU OSTATAKA PESTICIDA U
HRANI I HRANI ZA ŽIVOTINJE



Mostar, 2021.



ANALITIČKA KONTROLA KVALITETE I POSTUPCI ZA VALIDACIJU METODA ZA ANALIZU OSTATAKA PESTICIDA U HRANI I HRANI ZA ŽIVOTINJE

Ove Smjernice predstavljaju neslužbeni prijevod dokumenta Glavne uprave za zdravlje i sigurnost hrane Europske komisije „Document N° SANTE/12682/2019“. Prijevod je prilagođen pravnom okviru u Bosni i Hercegovini, a pripremljen je u sklopu IPA Twinning projekta „Podrška EU izgradnji kapaciteta i postupnom usklađivanju s pravnom stečevinom EU u sektoru sigurnosti hrane u Bosni i Hercegovini“.

Napomena: U slučaju eventualnih nejasnoća ili nedoumica u vezi s prijevodom, mjerodavan je izvorni dokument na engleskom jeziku, koji je dostupan na poveznici: <https://www.eurl-pesticides.eu/docs/public/home.asp?LabID=100&Lang=EN>

Sadržaj

A. Uvod i pravni temelj	2
B. Uzorkovanje, prijevoz, sljedivost i pohrana laboratorijskih uzoraka	3
Uzorkovanje	3
Prijevoz	3
Sljedivost	3
Pohrana	3
C. Analiza uzorka	4
Priprema i obrada uzorka	4
Udruživanje uzorka	4
Ekstrakcija	5
Uvjeti za ekstrakciju i učinkovitost	5
Čišćenje, koncentriranje/rekonstituiranje i skladištenje ekstrakata	5
Kromatografsko razdvajanje i određivanje	5
Kalibracija za kvantifikaciju	6
Opći zahtjevi	6
Analiti za kalibraciju	7
Kalibracija na matriksu	7
Standardno dodavanje	7
Učinci smjesa pesticida na kalibraciju	8
Kalibracija za pesticide koji su smjese izomera	8
Proceduralna standardna kalibracija	8
Kalibracija pomoću derivativnih standarda ili proizvoda razgradnje	8
Korištenje različitih internih standarda	8
Obrada podataka	9
Kontinuirana provjera učinkovitosti metode tijekom rutinske analize	9
Kvantitativne metode	9
Orijentacijske metode (engl. Screening methods)	11
Testiranje stručne osposobljenosti (engl. Proficiency testing, PT)	11
D. Identificiranje analita i potvrda rezultata	12
Identificiranje	12
Masena spektrometrija s kromatografijom	12
Potvrda rezultata	14
E. Izvještavanje o rezultatima	15
Iskazivanje rezultata	15
Izračun rezultata	15
Korekcija za iskorištenje	15

Zaokruživanje podataka	16
Kvalificiranje rezultata mjerom nesigurnošću	16
Tumačenje rezultata u svrhu provedbe	17
F. Standardi pesticida, osnovne („stock“) otopine i standardne otopine za kalibraciju.....	18
Identitet, čistoća i skladištenje referentnih standarda	18
Priprema i skladištenje osnovnih standarda.....	18
Priprema, korištenje i skladištenje radnih standarda.....	19
Ispitivanje i zamjena standarda	19
G. Validacija analitičke metode i kriteriji izvedbe	20
Kvantitativne metode	20
Kriteriji prihvatljivosti izvedbe metode.....	20
Orijentacijske metode	22
Kriteriji prihvatljivosti djelotvornosti metode	22
H. Dodatne preporuke.....	23
Kontaminacija	23
Interferencija	23
Dodatak A. Robne skupine i reprezentativni proizvodi.....	24
Prilog A. Postupak validacije metode: pregled i primjeri pristupa	27
Prilog B. Primjeri faktora konverzije.....	30
Prilog C. Primjeri procjene mjerne nesigurnosti rezultata	32
Prilog D. Primjer zaokruživanja, izvještavanja i tumačenja rezultata	39
Prilog E. Pojmovnik	41

A. Uvod i pravni temelj

A1 Smjernice u ovom dokumentu namijenjene su laboratorijima uključenim u službenu kontrolu ostataka pesticida u hrani i hrani za životinje. Ovo je dokument koji opisuje zahtjeve za validaciju metoda i analitičku kontrolu kvalitete (AKK) u svrhu podrške validnosti podataka dobivenih u okviru službenih kontrola ostataka pesticida, uključujući podatke iz monitoringa, koji se dostavljaju Agenciji za sigurnost hrane Bosne i Hercegovine i koriste za provjeru usklađenosti s maksimalnim razinama ostataka (MRL) ili procjenu izloženosti potrošača.

Ključni ciljevi su:

- osigurati usklađen, isplativ sustav osiguranja i kontrole kvalitete u Bosni i Hercegovini,
- osigurati kvalitetu i usporedivost analitičkih rezultata ,
- osigurati postizanje prihvatljive točnosti,
- osigurati izbjegavanje lažnih pozitivnih ili lažnih negativnih rezultata,
- podržati postupanje u skladu sa standardom ISO/IEC 17025 i njegovu konkretnu provedbu (standard za akreditaciju).

A2 Za definicije i objašnjenje pojmoveva korištenih u tekstu, potrebno je pogledati pojmovnik termina (Dodatak E).

A3 Ovaj je dokument komplementaran i integrira zahtjeve standarda ISO/IEC 17025. Stoga se treba konzultirati tijekom revizija i akreditacija službenih laboratorijskih za analizu ostataka pesticida sukladno standardu ISO/IEC 17025.

Laboratorijski određeni za službenu kontrolu ostataka pesticida moraju biti akreditirani u skladu s normom ISO/IEC 17025. Analitičke metode koje se koriste u kontekstu službene kontrole usklađene su s pravnim okvirom Bosne i Hercegovine ili međunarodno priznatim pravilima ili protokolima ili, u nedostatku naprijed navedenog, drugim metodama koje odgovaraju predviđenoj namjeni ili su razvijene u skladu sa znanstvenim protokolima. Ako naprijed navedeno nije primjenjivo, validacija analitičkih metoda može se dalje odvijati u jednom laboratoriju prema međunarodno prihvaćenom protokolu.

B. Uzorkovanje, prijevoz, sljedivost i pohrana laboratorijskih uzoraka

Uzorkovanje

B1 Uzorci hrane trebaju se uzimati u skladu s Pravilnikom o metodama uzorkovanja za provođenje službene kontrole ostataka pesticida u i na proizvodima biljnog i životinjskog podrijetla („Službeni glasnik BiH, broj 78/12). Propisi za hranu za životinje propisani su u Prilogu I Pravilnika o metodama uzorkovanja i analitičkim metodama za provedbu službenih kontrola hrane za životinje („Službeni glasnik BiH“, br. 65/13 i 28/16). U situacijama kada nije praktično nasumično uzimati primarne uzorke unutar serije, mora se evidentirati metoda uzorkovanja. Uzorke uzete sukladno navedenim pravnim propisima treba smatrati zakonitim, službenim laboratorijskim uzorcima, reprezentativnima za seriju ili pošiljku iz koje su uzeti. Zbog toga se doprinos varijabilnosti uzorkovanja varijabilnosti analitičkih rezultata ostataka ili njihovoj mjernoj nesigurnosti ne obrađuje u ovom dokumentu.

Prijevoz

B2 Uzorci se moraju prevoziti u laboratorij pod odgovarajućim uvjetima u čistim spremnicima i čvrstoj ambalaži. Polietilenske ili polipropilenske vrećice, po potrebi ventilirane, prihvatljive su za većinu uzoraka, ali je za uzorke koji se analiziraju na ostatke fumiganata potrebno koristiti vrećice s niskom propusnošću (npr. najlonski film). Uzorci proizvoda već pakirani za maloprodaju ne smiju se vaditi iz ambalaže prije transporta. Vrlo krhki ili kvarljivi proizvodi (npr. zrele maline) možda će se morati zamrznuti kako bi se izbjeglo kvarenje, a zatim prevoziti u „suhom ledu“ ili na sličan način, kako bi se izbjeglo otapanje u tranzitu. Uzorci koji su smrznuti za vrijeme uzimanja moraju se prevoziti bez odmrzavanja. Uzorci koji mogu biti oštećeni hlađenjem (npr. banane) moraju biti zaštićeni i od visokih i od niskih temperatura.

B3 Brzi transport u laboratorij, po mogućnosti u roku od jednog dana, ključan je za uzorke većine svježih proizvoda. Stanje uzoraka dostavljenih u laboratorij trebalo bi biti približno stanju koje bi bilo prihvatljivo razboritom kupcu, u suprotnom, uzorke treba smatrati neprikladnima za analizu.

Sljedivost

B4 Uzorci se moraju identificirati jasno i neizbrisivo, na način koji osigurava sljedivost. Potrebno je izbjegavati uporabu markera, koji sadrže organska otapala za označavanje vrećica u kojima su uzorci za analizu na ostatke fumiganata, posebno ako će se koristiti detektor za hvatanje elektrona.

B5 Po primitku, laboratorij mora svakom laboratorijskom uzorku dodijeliti jedinstvenu šifru.

Pohrana

B6 Laboratorijske uzorke koji se ne analiziraju odmah treba pohraniti pod uvjetima koji smanjuju propadanje na minimum. Svježe proizvode treba čuvati u hladnjaku, ali obično ne duže od pet dana. Osušeni proizvodi mogu se čuvati na sobnoj temperaturi, ali ako se očekuje da će biti pohranjeni dulje od dva tjedna, treba ih poduzorkovati i pohraniti u zamrzivač.

C. Analiza uzorka

C1 Svi postupci pripreme i obrade uzorka trebaju se provoditi u najkraćem mogućem vremenu, kako bi se na minimum svelo propadanje uzorka i gubitci pesticida. Analizu na ostatke vrlo labilnih ili hlapljivih pesticida treba započeti, a postupke koji mogu dovesti do gubitka analita treba završiti, što je prije moguće, po mogućnosti na dan primitka uzorka.

Priprema i obrada uzorka

C2 Potrebno je pripremiti uzorak, obraditi uzorak i izvršiti poduzorkovanje radi dobivanja analitičkih dijelova prije nego što dođe do bilo kakvog vidljivog pogoršanja. Dijelovi proizvoda koji bi trebali biti analizirani utvrđeni su u Pravilniku o maksimalnim razinama ostataka pesticida u i na hrani i hrani za životinje biljnog i životinjskog podrijetla, Aneks 1 („Službeni glasnik BiH, broj 48/21).

C3 Potrebno je pokazati da postupci obrade i pohrane uzorka nemaju značajnog utjecaja na ostatke prisutne u uzorku (vidi Pravilnik o metodama uzorkovanja za provođenje službene kontrole ostataka pesticida u i na proizvodima biljnog i životinjskog podrijetla). Kada postoje dokazi da usitnjavanje (rezanje i homogenizacija) na temperaturi okoline ima značajan utjecaj na razgradnju određenih ostataka pesticida, preporučuje se da se uzorci homogeniziraju na niskoj temperaturi (npr. smrznuti, odnosno, u prisutnosti „suhog leda“). U slučajevima kada je poznato da usitnjavanje utječe na ostatke (npr. ditiokarbamati ili fumiganti) i praktični alternativni postupci nisu dostupni, dio za analizu trebao bi se sastojati od cijelih jedinica robe ili dijelova uzetih s velikih jedinica. Za sve ostale analize, potrebno je usitniti cijeli laboratorijski uzorak. Da bi se poboljšala učinkovitost ekstrakcije iz proizvoda s niskim postotkom vlage (npr. žitarice, začini, suho bilje), preporučuje se da se dobiju čestice male veličine, po mogućnosti manje od 1 mm. Mljevenje treba izvesti tako da se izbjegne veliko zagrijavanje uzorka, jer toplota može uzrokovati gubljenje određenih pesticida.

C4 Usitnjavanjem uzorka potrebno je osigurati dovoljno homogen uzorak, kako bi varijabilnost poduzorkovanja bila prihvatljiva. Ako to nije moguće, potrebno je razmotriti korištenje većih dijelova za analizu ili replicirati dijelove, kako bi se mogla dobiti bolja procjena prave vrijednosti. Nakon homogenizacije ili mljevenja, uzorci se mogu razdvojiti u različite frakcije, npr. pulpa i kora u slučaju voća, te ljske i endosperm u slučaju žitarica. Frakcioniranje može nastati zbog razlika u veličini, obliku i gustoći. Budući da se pesticidi mogu heterogeno rasporediti između različitih frakcija, važno je osigurati da frakcije u dijelu za ispitivanje budu u istom omjeru kao u izvornom laboratorijskom uzorku. Preporučljivo je pohraniti u zamrzivač dovoljan broj poduzoraka ili dijelova za analitičko ispitivanje za onoliki broj analiza/ponovljenih analiza koje će vjerojatno biti potrebne.

Udruživanje uzorka

C5 Udruživanje pojedinačnih uzorka ili ekstrakata uzorka može se smatrati opcijom za analizu proizvoda s malom učestalošću ostataka pesticida (npr. organskih ili životinjskih proizvoda), pod uvjetom da je sustav otkrivanja dovoljno osjetljiv. Na primjer, prilikom udruživanja pet uzorka, granica kvantifikacije (LOQ) ili granica detekcije orientacijske metode (SDL) mora biti najmanje pet puta niža od granice izvještavanja (RL).

C6 Spajanje poduzoraka prije ekstrakcije smanjit će broj potrebnih analiza, ali će u nekim slučajevima možda biti potrebno dodatno miješanje ili homogenizacija spojenih poduzoraka prije uzimanja analitičkog dijela. Kao alternativa, ekstrakti uzorka mogu biti spojeni prije injektiranja. Izvorni uzorci ili ekstrakti moraju se ponovno analizirati u slučaju utvrđivanja relevantnih razina ostataka pesticida.

Ekstrakcija

Uvjeti za ekstrakciju i učinkovitost

C7 Iskorištenje prisutnih ostataka može biti niže od postotka iskorištenja dobivenog iz analize obogaćenih (spajkovanih) uzoraka. Kada je to izvedivo, uzorci koji sadrže prisutne ostatke mogu se analizirati u različitim uvjetima ekstrakcije, kako bi se dobole dobile dalje informacije o učinkovitosti ekstrakcije. Brojni parametri, poput obrade uzorka, temperature, pH vrijednosti, vremena itd., mogu utjecati na učinkovitost ekstrakcije i stabilnost analita. Da bi se poboljšala učinkovitost ekstrakcije proizvoda s niskim udjelom vlage (žitarice, suho voće), preporučuje se dodavanje vode uzorcima prije ekstrakcije. Potrebno je provjeriti utjecaj vremena mučkanja na gubitke analita, kako bi se izbjegli neprihvativi gubici. Kada definicija MRL pesticida obuhvaća soli, važno je da se soli odvoje korištenom analitičkom metodom. To se obično postiže dodavanjem vode prije ili tijekom postupka ekstrakcije. Može biti potrebna i promjena pH vrijednosti. Kada definicija ostataka obuhvaća estere ili konjugate, koji se ne mogu izravno analizirati, analitička metoda treba uključivati hidrolizu kao korak.

Čišćenje, koncentriranje/rekonstituiranje i skladištenje ekstrakata

C8 Čišćenje ili razrjeđivanje može biti potrebno, kao korak, kako bi se smanjila interferencija u matriksu i kontaminacija sustava instrumenata, što dovodi do poboljšane selektivnosti i otpornosti. Tehnike čišćenja iskorištavaju razliku u fizikalno-kemijskim svojstvima (npr. polaritet, topljivost, molekularna veličina) pesticida i komponenti matriksa. Međutim, uporaba čišćenja, kao koraka u metodama s više ostataka (multirezidualnoj metodi), može prouzročiti gubitke nekih pesticida.

C9 Koncentriranje ekstrakata uzorka može uzrokovati taloženje komponenti matriksa i u nekim slučajevima gubitak pesticida. Slično tome, razrjeđivanje ekstrakta otapalom drugog polariteta, također, može rezultirati gubitkom pesticida zbog smanjene topljivosti (npr. razrjeđivanje ekstrakata metanola ili acetonitrila vodom).

C10 Kako bi se izbjegli gubici tijekom koraka isparavanja, temperaturu treba održavati na što nižoj mogućoj razini. Mali volumen otapala s visokim vrelištem može se koristiti za „održavanje“. Mora se izbjegavati pjenjenje i snažno ključanje ekstrakata ili disperzija kapljica. Mlaz suhog dušika ili vakuumsko centrifugalno isparavanje je općenito poželjnije od uporabe struje zraka za isparavanje malih razmjera, jer je vjerojatnije da će zrak dovesti do oksidacije ili uvođenja vode i drugih mogućih kontaminanata.

C11 Stabilnost analita u ekstraktima treba procijeniti tijekom validacije metode. Pohrana ekstrakata u hladnjaku ili zamrzivaču svest će propadanje na minimum. Može doći do gubitka pesticida u ekstraktima na sobnoj temperaturi, npr. u bočicama u stalku za automatsko uzorkovanje nekog instrumenta (vijalama autosemplera instrumenta).

Kromatografsko razdvajanje i određivanje

C12 Ekstrakti uzorka obično se analiziraju pomoću kapilarne plinske kromatografije (GC), odnosno tekućinske kromatografije visoke ili ultra-visoke djelotvornosti (HPLC ili UPLC) u kombinaciji s masenom spektrometrijom (MS) za identifikaciju i kvantifikaciju ostataka pesticida u uzorcima hrane i hrane za životinje. Mogu se koristiti razni sustavi za otkrivanje masenom spektrometrijom, poput pojedinačnog ili trostrukog kvadrupola, ionske zamke, vremena leta ili orbitrapa. Tipične tehnike ionizacije su: ionizacija

elektronima (EI), kemijska ionizacija (CI), kemijska ionizacija pri atmosferskom tlaku (APCI) i ionizacija elektroraspršenjem (ESI). Mogu se koristiti različiti načini akvizicije, kao što su snimanje cjelokupnog spektra, praćenje odabralih iona (SIM), praćenje odabralih reakcija (SRM) i praćenje višestrukih reakcija (MRM).

C13 Danas se selektivni detektori za plinsku kromatografiju (ECD, FPD, PFPD, NPD) i tekućinsku kromatografiju (DAD, fluorescencija) rjeđe koriste, jer nude samo ograničenu specifičnost. Njihova uporaba, čak i u kombinaciji sa kolonama različitog polariteta, ne daje nedvosmislenu identifikaciju. Ova ograničenja mogu biti prihvatljiva za pesticide koji se često nađu, posebno ako se neki rezultati potvrde pomoću specifičnije tehnike otkrivanja. U svakom slučaju, takva ograničenja u stupnju identifikacije trebaju se napomenuti prilikom izvještavanja o rezultatima.

Kalibracija za kvantifikaciju

Opći zahtjevi

C14 Najniža razina kalibracije (LCL) mora biti jednaka ili niža od razine kalibracije koja odgovara razini izvještavanja (RL). RL ne smije biti niži od LOQ.

C15 Mora se koristiti kalibracija grupiranjem, osim ako se pokaže da sustav za određivanje ne sadrži značajne otklone, npr. praćenjem odziva internog standarda. Kalibracijski standardi trebaju se ubrizgati barem na početku i na kraju serije uzorka. Ako otklon između dva ubrizgavanja istog kalibracijskog standarda na točkama ispod i iznad očekivanih rezultata prelazi 30%, (uzimajući viši odziv kao 100 %), grupirane uzorce koji sadrže ostatke pesticida treba ponovno analizirati. Rezultati za one uzorce koji ne sadrže niti jedan od onih analita koji pokazuju neprihvatljiv otklon mogu se prihvatiti pod uvjetom da odziv na razini kalibracije koji odgovara razini ostataka ostane mjerljiv u cijeloj seriji, kako bi se na minimum svela mogućnost lažnih negativnih rezultata. Po potrebi, treba izvršiti pripremu sustava plinske kromatografije (GC) ili tekućinske kromatografije (LC) neposredno prije prve serije otopina kalibracijskog standarda u seriji analiza.

C16 Odziv detektora analita u ekstraktu uzorka trebao bi biti unutar raspona odziva ubrizganih otopina kalibracijskog standarda. Kada je potrebno, ekstrakti koji sadrže ostatke visoke razine, iznad kalibriranog područja, moraju se razrijediti i ponovno ubrizgati. Ako otopine kalibracijskog standarda odgovaraju matriksu (odlomak C21 - 23), koncentracija matriksa u kalibracijskom standardu također se treba proporcionalno razrijediti.

C17 Poželjan je višerazinski postupak kalibracije (tri ili više koncentracija). Mora se koristiti odgovarajuća kalibracijska funkcija (npr. linearna, kvadratna, sa ili bez vaganja). Odstupanje od unatrag izračunatih koncentracija kalibracijskih standarda od stvarnih koncentracija pomoću kalibracijske krivulje u odgovarajućem području ne smiju biti veće od $\pm 20\%$.

C18 Kalibracija interpolacijom između dviju razina je prihvatljiva, uz uvjet da razlika između dvije razine nije veća od faktora 10 i da faktori odziva grupiranih kalibracijskih standarda budu u prihvatljivim granicama. Faktori odziva grupiranih kalibracijskih standarda na svakoj razini ne smiju se razlikovati za više od 20% (uzimajući viši odziv kao 100%).

C19 Jednorazinski postupak kalibracije također može dati točne rezultate ako je vrijednost odziva detektora analita u ekstraktu uzorka približna vrijednosti odziva jednorazinskog kalibracijskog standarda (unutar $\pm 30\%$). Ako se analit doda u uzorak u svrhu određivanja iskorištenja na razini koja odgovara najnižoj razini kalibracije (LCL), vrijednosti iskorištenja $<100\%$ mogu se izračunati pomoću jedne točke

kalibracijske krive na LCL. Ovaj konkretni izračun namijenjen je samo kao pokazatelj analitičkih performansi koje se mogu postići na LCL i ne znači da se ostaci <LCL mogu odrediti na taj način.

Analiti za kalibraciju

C20 Svi ciljani analiti moraju se ubrizgati u svaku seriju uzoraka, barem na razini koja odgovara RL. Potreban je dovoljan odziv na ovoj razini i treba ga provjeriti kako bi se izbjegli lažno negativni rezultati.

Kalibracija na matriksu

C21 Poznato je da se utjecaji matriksa često javljaju i kod metode GC i kod metode LC, a trebali bi se procijeniti u početnoj fazi provjere valjanosti metode. Kalibracija na matriksu obično se koristi za kompenzaciju utjecaja matriksa. Za kalibraciju bi se trebali koristiti ekstrakti kontrolnog matriksa, po mogućnosti istog tipa kao i uzorak. Alternativni praktični pristup radi kompenzacije utjecaja matriksa u analizi GC jeste upotreba tvari za zaštitu analita koje se dodaju i ekstraktima uzorka i otopinama kalibracijskog standarda, kako bi se izjednačio odziv pesticida u otapalima za kalibraciju i ekstraktima uzorka. Najučinkovitiji način kompenzacije utjecaja matriksa je uporaba standardnog dodavanja ili izotopski označenih internih standarda.

C22 U GC, kalibracija reprezentativnog matriksa, korištenjem jednog reprezentativnog matriksa ili smjese matriksa, može se koristiti za kalibriranje serije uzoraka koji sadrže različite proizvode. Iako je to poželjnije od korištenja kalibracijskih standarda u otapalu, u usporedbi s točnim kalibriranjem na matriksu, vjerojatno će ta kalibracija biti manje točna. Preporuča se da se procijene relativni utjecaji matriksa i sukladno tome modificira pristup.

C23 Kompenzaciju za utjecaj matriksa u LC MS (tekućinska kromatografija sa masenom spektrometrijom) teže je postići, jer utjecaji matriksa ovise o koeluciji svakog pojedinog pesticida s istodobno ekstrahiranim komponentama matriksa, koje se razlikuju između različitih proizvoda. Stoga će upotreba kalibracije na matriksu vjerojatno biti manje učinkovita u usporedbi s GC.

Standardno dodavanje

C24 Standardno dodavanje je alternativni pristup korištenju standarda kalibracije na matriksu. Ovaj postupak osmišljen je kako bi nadoknadio utjecaje matriksa i gubitke pri iskorištenju. Ova tehnika pretpostavlja određeno znanje o vjerojatnoj razini ostataka analita u uzorku (npr. iz prve analize), tako da je količina dodanog analita slična onoj koja je već prisutna u uzorku. Posebno se preporučuje da se standardno dodavanje koristi za potvrdu kvantitativnu analizu u slučajevima prekoračenja MRL (maksimalna razina ostatka), odnosno, kada nema prikladnog slijepog (blank) materijala za pripremu kalibracijskih otopina u matriksu. Za standardno dodavanje, ispitni uzorak dijeli se na tri (ili po mogućnosti više) dijela za ispitivanje. Jedan dio se analizira izravno, a sve veće količine analita dodaju se ostalim dijelovima za ispitivanje neposredno prije ekstrakcije. Količina analita dodana u dio za ispitivanje treba biti između jedan i pet puta veća od procijenjene količine analita koji je već prisutan u uzorku. Koncentracija analita prisutnog u ekstraktu uzorka „bez dodatka“ izračunava se iz relativnih odziva analita u ekstraktu uzorka i ekstraktima uzorka s dodacima. U pristupu koji podrazumijeva standardno dodavanje, koncentracija analita u ekstraktu uzorka za ispitivanje dobiva se ekstrapolacijom, te je zbog toga linearni odziv u odgovarajućem rasponu koncentracije presudan za postizanje točnih rezultata.

C25 Dodavanje najmanje dvije poznate količine analita u alikvote ekstrakta uzorka, npr. prije ubrizgavanja, drugi je oblik standardnog dodavanja. U ovom slučaju, prilagodba se vrši samo za moguće pogreške pri ubrizgavanju i utjecaje matriksa, ali ne i za nisko iskorištenje.

Učinci smjesa pesticida na kalibraciju

C26 Odziv detektora pojedinih pesticida u kalibracijskim standardima od više pesticida može biti pod utjecajem jednog ili više drugih pesticida u istoj otopini. Prije njihove uporabe, otopine kalibracijskog standarda sa više pesticida, pripremljene u čistom otapalu, treba provjeriti u odnosu na otopine kalibracijskog standarda sa po jednim pesticidom (ili manjim brojem pesticida) kako bi se potvrdila sličnost odziva detektora. Ako se odzivi značajno razlikuju, ostaci se moraju određivati pomoću pojedinačnih kalibracijskih standarda, a ostaci se moraju kvantificirati pomoću pojedinačnih kalibracijskih standarda u matriksu, ili, još bolje, standardnim dodavanjem.

Kalibracija za pesticide koji su smjese izomera

C27 Kvantifikacija koja uključuje otopine kalibracijskog standarda koje su smjese izomera, može se postići korištenjem: sume površina pikova, sume visina pikova ili mjerjenjem pojedine komponente, ovisno o tome što je najtočnije.

Proceduralna standardna kalibracija

C28 Uporaba proceduralnih standarda kroz cijelu proceduru analize alternativna je vrsta kalibracije. Ovaj pristup može kompenzirati utjecaje matriksa i nisko iskorištenje ekstrakcije povezane s određenim kombinacijama pesticid/proizvod, posebno tamo gdje interni standardi nisu dostupni ili su preskupi. Primjenjiv je samo kada niz uzoraka iste vrste treba obraditi u istoj seriji (npr. proizvodi životinjskog podrijetla, proizvodi s velikim udjelom masnoće). Standardi se pripremaju spajkovanjem (obogaćivanjem) niza slijepih uzoraka za analizu različitim količinama analita prije ekstrakcije. Potom se analiziraju na potpuno isti način kao i uzorci.

C29 Druga primjena proceduralne kalibracije je ona gdje pesticide treba derivatizirati, ali referentni standardi derivata nisu dostupni ili je prinos od derivatizacije nizak ili jako ovisi o matriksu. U takvim slučajevima preporuča se dodavanje standarda slijepim ekstraktima matriksa neposredno prije koraka derivatizacije. U ovom slučaju će kalibracija proceduralnog standarda također kompenzirati različite prinose od derivatizacije.

Kalibracija pomoću derivatnih standarda ili proizvoda razgradnje

C30 Kada je pesticid određen kao derivat ili proizvod razgradnje, otopine kalibracijskog standarda trebaju se pripremiti od „čistog“ referentnog standarda derivata ili proizvoda razgradnje, ako je dostupan.

Korištenje različitih internih standarda

C31 Interni standard (IS) je kemijski spoj koji se dodaje ispitnom dijelu uzorka ili ekstraktu uzorka u poznatoj količini u određenoj fazi analize, kako bi se provjerilo ispravno izvođenje analitičke metode ili njenog dijela. IS treba biti kemijski stabilan i/ili demonstrirati isto ponašanje kao ciljani analit.

C32 Ovisno o fazi analitičke metode u kojoj se vrši dodavanje IS, koriste se različiti izrazi. Interni standard za ubrizgavanje (I IS), koji se naziva i instrumentalni interni standard, dodaje se završnim ekstraktima, neposredno prije koraka određivanja (tj. prilikom injektiranja). On će omogućiti provjeru i moguću korekciju varijacija u volumenu ubrizgavanja. Proceduralni interni standard (P - IS) je interni standard dodan na početku analitičke metode kako bi se objasnili razni izvori pogrešaka u svim fazama te metode. IS se također može dodati u različitoj fazi analitičke metode kako bi se ispravile sustavne i slučajne pogreške koje su se mogle dogoditi tijekom određene faze analitičke metode. Pri odabiru IS treba biti siguran da oni ne ometaju analizu ciljanih analita i da je vrlo malo vjerojatno da su prisutni u uzorcima za analizu.

C33 Za multirezidualne metode preporučljivo je koristiti više od jednog IS u slučaju da je iskorištenje ili detekcija primarnog IS ugroženo. Ako se koriste samo za prilagodbu za jednostavne volumetrijske varijacije, IS bi trebali pokazivati minimalne gubitke ili učinke matriksa. Pri analizi određene skupine analita sa sličnim svojstvima, IS se može odabrati da pokazuje slična svojstva i analitičko ponašanje kao analiti od interesa. Ako IS koji se koristi za izračun ima značajno drugačije ponašanje (npr. u pogledu iskorištenja ili učinka matriksa) u odnosu na jedan ili više ciljanih analita, uvest će dodatnu pogrešku u sve kvantifikacije.

C34 Kada se IS doda u svaku od otopina kalibracijskog standarda u poznatoj koncentraciji, omjer odziva analita i odziva IS na detektoru i IS dobiven iz ubrizgane otopine kalibracijskog standarda se prikazuje u odnosu na njihove koncentracije respektivno ili istim redoslijedom. Koncentracija analita se zatim dobije usporedbom odziva analita i odziva IS na detektoru iz ekstrakta uzorka sa odzivima analita i IS iz kalibracijske krivulje.

C35 Izotopski označeni interni standard (IL - IS) je interni standard s istom kemijskom strukturom i elementnim sastavom kao ciljani analit, ali jedan ili više atoma molekule ciljanog analita supstituirani su izotopima (npr. deuterij, ^{15}N , ^{13}C , ^{18}O). Preduvjet za uporabu IL-IS-ova IS-a je korištenje masene spektrometrije, koja omogućuje istodobno otkrivanje koelucijskih neoznačenih analita i odgovarajućih IL-IS-ova. IL IS mogu se koristiti za preciznu kompenzaciju gubitaka analita i volumetrijskih varijacija tijekom postupka, kao i za utjecaje matriksa i otklon odziva u kromatografskom sustavu detekcije. IL-IS će također ispraviti gubitke prilikom pohrane ekstrakta (npr. zbog razgradnje). Korištenje IL IS-ova neće nadoknaditi nepotpunu ekstrakciju prisutnih ostataka.

C36 IL-IS-ovi također se mogu koristiti za olakšavanje identifikacije analita, jer bi vrijeme zadržavanja i oblik pika ciljanog analita i odgovarajući IL IS trebali biti jednaki.

C37 IL IS trebaju biti uglavnom bez izvornog analita kako bi se rizik od lažno pozitivnih rezultata sveo na minimum. U slučaju deuteriranih standarda, razmjena deuterija s atomima vodika, npr. u otapalima, može dovesti do lažno pozitivnih rezultata i/ili negativno utjecati na kvantitativne rezultate.

Obrada podataka

C38 Analitičar mora pregledati kromatograme, provjeriti, te po potrebi, prilagoditi stanje bazne linije. Tamo gdje postoje interferirajući pikovi i nečistoće, mora se usvojiti dosljedan pristup pozicioniranja bazne linije. Može se koristiti površina pika ili visina pika, ovisno o tome što daje točnije rezultate.

Kontinuirana provjera učinkovitosti metode tijekom rutinske analize

Kvantitativne metode

Rutinska provjera iskorištenja

C39 Tamo gdje je to izvedivo, iskorištenja svih analita iz opsega metode trebaju se mjeriti unutar svake serije analiza. Ako ovo zahtijeva nerazmjerne velik broj određivanja iskorištenja, broj analita može se smanjiti. Međutim, trebao bi biti u skladu s minimalnim brojem navedenim u tablici 1. To znači da najmanje 10% analita (s najmanje 5) treba biti uključeno po sustavu za detekciju.

Tablica 1. Minimalna učestalost provjere iskorištenja (verifikacija rezultata kvantitativne metode)

	Analiti za provjeru iskorištenja (minimum)	Svi drugi analiti
Broj analita	Najmanje 10% opsega po sustavu detekcije koji obuhvaća sve kritične aspekte metode	U okviru tekućeg programa kako bi se uključili svi drugi analiti, kao i predstavnici proizvoda iz različitih skupina proizvoda
Minimalna učestalost provjere iskorištenja	Svaka serija	Barem svakih 12 mjeseci, poželjno svakih 6 mjeseci
Razina	RL	RL

C40 Ako je u nekom trenutku tijekom tekućeg programa (tablica 1) iskorištenje analita izvan prihvatljivog raspona (vidi odlomak C43), tada se svi rezultati dobiveni od zadnjeg zadovoljavajućeg iskorištenja moraju smatrati potencijalno pogrešnima.

C41 Iskorištenje analita uobičajeno treba odrediti spajkovanjem (obogaćivanjem) unutar raspona koji odgovara RL i $2-10 \times RL$, ili na MRL, ili na razini od posebne važnosti za uzorke koji se analiziraju. Razina obogaćivanja može se promijeniti kako bi se pružile informacije o analitičkim rezultatima u rasponu koncentracija. Iskorištenje na razinama koje odgovaraju RL i MRL posebno je važno. U slučajevima kada slijepi (blank) materijal nije dostupan (npr. kad se anorganski bromid treba određivati na niskim razinama) ili ako jedini dostupni slijepi materijal sadrži interferirajući spoj, razina obogaćivanja za iskorištenje treba biti ≥ 3 puta od razine prisutne u slijepom materijalu. Koncentraciju analita (ili očitu koncentraciju analita) u takvom ekstraktu slijepog matriksa treba odrediti iz više dijelova za analizu. Ako je potrebno, iskorištenja se mogu izračunati koristeći kalibraciju kod koje je oduzeta vrijednost slijepog (kontrolnog) uzorka, ali se upotreba takve kalibracije treba prijaviti s rezultatima. Oni se moraju odrediti iz matriksa korištenog u eksperimentima s obogaćivanjem, dok vrijednosti slijepog ili kontrolnog uzorka ne bi trebale biti veće od 30% razine ostataka koji odgovara RL..

C42 Ondje gdje se ostatak određuje kao zajednička funkcionalna grupa, rutinsko iskorištenje može se odrediti uporabom komponente koja ili obično prevladava u ostacima ili će vjerojatno imati najniže iskorištenje.

Kriteriji prihvatljivosti za rutinsko iskorištenje

C43 Prihvatljive granice za pojedinačne rezultate iskorištenja obično bi trebale biti u rasponu prosjeka iskorištenja $+- 2x$ RSD (relativno standardno odstupanje). Za svaku skupinu proizvoda (vidi Dodatak A) prosjek iskorištenja i RSD-ova mogu se uzeti iz početne validacije metode ili iz tekućih rezultata iskorištenja (unutar laboratorijske obnovljivosti, RSD_{wR}). Praktični zadani raspon od 60 do 140% može se koristiti za pojedinačna iskorištenja u rutinskoj analizi. Iskorištenja izvan naprijed navedenog raspona obično bi zahtijevala ponovnu analizu serije, ali rezultati mogu biti prihvatljivi u određenim opravdanim slučajevima. Primjerice, tamo gdje je pojedinačno iskorištenje neprihvatljivo visoko i nisu otkriveni ostaci, nije potrebno ponovno analizirati uzorke kako bi se dokazalo odsustvo ostataka. Međutim, stalno visoka iskorištenja ili RSD-ovi veći od $\pm 20\%$ moraju se istražiti.

C44 Analiza potvrđenih referentnih materijala (CRM) poželjnija je opcija za dokazivanje djelotvornosti metode. Kao alternativa, umjesto toga mogu se redovito analizirati uzorci u internoj kontroli kvalitete. Gdje je to moguće, razmjena takvih materijala između laboratorijskih pruža dodatnu, neovisnu provjeru točnosti.

Orijentacijske metode (engl. Screening methods)

C45 Orijentacijske metode, posebno one koje uključuju automatizirano otkrivanje temeljeno na MS-u (masenoj spektrometriji), nude laboratorijsima isplativo sredstvo za proširenje svog analitičkog opsega na analite s potencijalno malom vjerojatnošću prisutnosti u uzorcima. Analite koji se češće pojavljuju treba nastaviti tražiti i mjeriti potvrđenim kvantitativnim multirezidualnim metodama.

C46 Za kvalitativne multirezidualne metode koje ciljaju vrlo velik broj analita, možda neće biti moguće uključiti sve analite iz opsega u svaku seriju analiza. Da bi se provjerila ukupna učinkovitost metode za svaku seriju, najmanje 10% analita (iz potvrđenog opsega) koji obuhvaćaju sve kritične točke metode treba dodati u matriks. U tekućem programu, rezultat svih analita iz potvrđenog opsega treba provjeriti kako je naznačeno u tablici 2.

C47 Kada se koristi orijentacijska metoda, otopina kalibracijskog standarda koja odgovara RL ili SDL treba biti postavljena barem na početku i na kraju niza uzoraka, kako bi se osiguralo da analiti ostanu vidljivi kroz cijelu seriju uzoraka u nizu. Kada se detektira analit, o njemu se može samo uvjetno izvijestiti. Naknadna potvrđena analiza korištenjem validirane kvantitativne metode, uključujući odgovarajući postupak kalibracije, mora se primijeniti prije nego što se može izvijestiti o pouzdanom kvantitativnom rezultatu. Ako analit nije detektiran, tada se rezultat navodi kao <SDL mg/kg ili <RL mg/kg.

Tablica 2. Najmanja učestalost provjera detektibilnosti (verifikacija učinkovitosti orijentacijskom metodom).

	Analiti za provjeru detektibilnosti (minimum)	Svi drugi analiti
Broj analita	Najmanje 10% opsega po sustavu detekcije koji obuhvaća sve ključne aspekte metode	Svi analiti iz potvrđenog kvalitativnog opsega
Minimalna učestalost provjera iskorištenja	Svaka serija	Barem svakih 12 mjeseci, poželjno svakih 6 mjeseci
Razina	SDL ili RL, vidi G8	SDL ili RL
Kriterij	Svi detektibilni analiti	Svi (validirani) detektibilni analiti

Testiranje stručne osposobljenosti (engl. Proficiency testing, PT)

C48 Svi laboratorijski za službene kontrole obvezni su redovito sudjelovati u programima provjere stručne osposobljenosti, posebno onima koje organiziraju EUR-ovi (referentni laboratorijski EU). Kada se prijave lažno pozitivni ili negativni rezultati ili je točnost (z vrijednost) postignuta na bilo kojoj od provjera stručne osposobljenosti sumnjiva ili neprihvatljiva, problem(e) treba istražiti. Lažni pozitivni, negativni rezultati ili neprihvatljiva učinkovitost moraju se ispraviti prije nastavka daljeg utvrđivanja kombinacija analita/matriksa.

D. Identificiranje analita i potvrda rezultata

Identificiranje

Masena spektrometrija s kromatografijom

D1 Masena spektrometrija povezana sa kromatografskim sustavom razdvajanja vrlo je moćna kombinacija za identifikaciju analita u ekstraktu uzorka. Istodobno osigurava retencijsko vrijeme (vrijeme zadržavanja), omjere masa/naboj i podatke o relativnoj zastupljenosti (intenzitetu).

Zahtjevi za kromatografiju

D2 Minimalno prihvatljivo retencijsko vrijeme analita koji se ispituje/u trebalo bi biti barem dvostruko duže od retencijskog vremena koje odgovara praznom volumenu kolone. Retencijsko vrijeme analita u ekstraktu treba odgovarati retencijskom vremenu kalibracijskog standarda (možda će morati biti na matriksu) s tolerancijom od $\pm 0,1$ min, i za plinsku i za tekućinsku kromatografiju. Veća odstupanja retencijskog vremena su prihvatljiva ako se i retencijsko vrijeme i oblik pika analita podudaraju s onima odgovarajućeg IL-IS ili su dokazi iz potvrđne studije dostupni. IL-IS može biti posebno koristan ondje gdje kromatografski postupak pokazuje promjene retencijskog vremena izazvane matriksom ili izobličenja oblika pika. Dodavanje analita u većoj koncentraciji za koji se sumnja da je prisutan u uzorku također će pomoći povećanju povjerenja u identifikaciju.

Zahtjevi za masenu spektrometriju (MS)

D3 Detekcija masenom spektrometrijom (MS) može dati spektre mase, izotopske obrasce i/ili signale za odabrane ione. Iako spektri mase mogu biti vrlo specifični za jedan analit, vrijednosti podudaranja se razlikuju ovisno o softveru koji se koristi, što onemogućava postavljanje općih smjernica o vrijednosti podudaranja za identifikaciju. To znači da laboratoriji koji koriste spektralno podudaranje za identifikaciju trebaju odrediti vlastite kriterije i pokazati da odgovaraju namjeni. Smjernice za identifikaciju na temelju spektara MS ograničene su na neke preporuke, dok za identifikaciju na temelju odabralih iona postoje detaljniji kriteriji.

Preporuke u vezi s identifikacijom pomoću spektara MS

D4 Referentni spektri za analit trebaju se proizvesti pomoću istih instrumenata i u uvjetima koji se koriste za analizu uzorka. Ako su očite velike razlike između objavljenog spektra i spektra generiranog u laboratoriju, mora se pokazati da je potonji valjan. Da bi se izbjeglo izobličenje omjera iona, koncentracija iona analita ne smije preoptereti detektor. Referentni spektar u softveru instrumenta može potjecati iz prethodnog ubrizgavanja (bez prisutnog matriksa), ali je poželjno da se dobiva iz iste analitičke serije.

D5 U slučaju snimanja cjelokupnih spektara, možda će biti potrebno izvršiti pažljivo oduzimanje pozadinskih spektara, ručno ili automatski, uklanjanjem smetnji da bi se jasnije vidjeli traženi signal ili drugim algoritmima, kako bi se osiguralo da rezultirajući spektar iz kromatografskog pika bude reprezentativan. Kad god se koristi pozadinska korekcija, mora se primjenjivati ujednačeno tijekom serije i biti jasno evidentirana.

Zahtjevi za identifikaciju pomoću odabralih iona

D6 Identifikacija se zasniva na ispravnom odabiru iona. Oni moraju biti dovoljno selektivni za analit u matriksu koji se analizira, i u odgovarajućem rasponu koncentracija. Molekularni ioni, (de)protonirane molekule ili aduktni ioni vrlo su karakteristični za analit i trebali bi biti uključeni u postupak mjerena i identifikacije kad god je to moguće. Općenito, a posebno u jednofaznom MS, ioni s visokom vrijednošću m/z su selektivniji nego ioni s niskom vrijednošću m/z (npr. (m/z <100). Međutim, ioni velike mase m/z koji nastaju gubitkom vode ili gubitkom zajedničkih udjela mogu biti od male koristi. Iako karakteristični izotopski ioni, posebno klasteri Cl ili Br, mogu biti posebno korisni, odabrani ioni ne smiju potjecati isključivo iz istog dijela molekule analita. Izbor iona za identifikaciju može se promijeniti ovisno o pozadinskoj interferenciji. U masenoj spektrometriji visoke rezolucije, selektivnost iona analita određuje se uskoču prozora za ekstrakciju mase (MEW) koji se koristi za dobivanje kromatograma ekstrahiranih iona. Što je uži prozor za ekstrakciju mase, veća je selektivnost. Međutim, najmanji MEW koji se može koristiti odnosi se na masenu rezoluciju.

D7 Kromatogrami iona iz ekstrakta uzorka trebali bi imati pikove sličnog retencijskog vremena, oblika i odziva kao oni dobiveni iz kalibracijskih standarda analiziranih u usporedivim koncentracijama u istoj seriji. Kromatografski pikovi različitih odabranih iona za analit moraju se u potpunosti preklapati. Ako ionski kromatogram pokazuje znatnu kromatografsku interferenciju, u njega se ne smije pouzdati za identifikaciju.

D8 Različite vrste i načini detektora masenog spektrometra daju različite stupnjeve selektivnosti, što je povezano s povjerenjem u identifikaciju. Zahtjevi za identifikaciju dati su u tablici 3. Treba ih smatrati vodičem za kriterije za identifikaciju, a ne apsolutnim kriterijima koji dokazuju prisutnost ili odsutnost nekog analita.

Tablica 3. Zahtjevi za identifikaciju za različite tehnike masene spektrometrije¹

Detektor MS/Karakteristike		Prikupljanje	Zahtjevi za identifikaciju	
Rezolucija	Tipični sustavi (primjeri)		minimalan broj iona	drugo
Jedinična masena rezolucija	jednostruki kvadrupol MS, ionska stupica, vrijeme leta	snimanje cijelokupnog spektra, ograničeni raspon m/z, praćenje odabranih iona (SIM)	3 iona	S/N≥3 ^{d)} Pikovi analita iz oba produkt iona u kromatogramima ekstrahiranih iona moraju se u potpunosti preklapati Omjer iona iz ekstrakata uzorka treba biti unutar ±30% (relativno) prosječnih kalibracijskih standarda iz istog niza
	trostruka kvadrupol tandem masena spektrometrija, ionska stupica, (Q-trap), (Q-TOF), (Q-Orbitrap)	praćenje odabranih ili višestrukih reakcija, masena rezolucija za izdvajanje prekursor iona jednaka jediničnoj masenoj rezoluciji ili bolja od nje	2 produkt iona	
Točno maseno mjerjenje	MS visoke rezolucije: (Q-) TOF (Q-) Orbitrap FT-ICR-MS sektorska MS	snimanje cijelokupnog spektra, ograničeni raspon m/z, praćenje odabranih iona (SIM), fragmentacija sa ili bez odabira prekursor iona, ili kombinacija	2 iona s točnošću mase ≤5 ppm ^{a, b, c)}	S/N≥3 ^{d)} Pikovi analita iz prekursor, odnosno, produkt iona u kromatogramima ekstrahiranih iona

¹ Za definiciju termina koji se odnose na masenu spektrometriju, vidi Murray i dr. (2013) Pure Appl. Chem. 85:1515-1609.

		navedenog		moraju se u potpunosti preklapati Omjer iona: vidi D12
--	--	-----------	--	---

- a) po mogućnosti uključujući molekularni ion, (de)protoniranu molekulu ili aduktni ion
- b) uključujući barem jedan fragmentirani ion
- c) $< 1 \text{ mDa}$ za $\text{m/z} < 200$
- d) u slučaju da nema šuma, signal mora postojati u najmanje 5 uzastopnih snimki

D9 Relativna zastupljenost odabralih iona, izražena u odnosu na najzastupljeniji ion, mora odgovarati zastupljenosti referentnog iona. Referentna zastupljenost iona je prosjek dobiven iz kalibracijskih standarda u otapalu na usporedivim koncentracijama, izmjerena istim slijedom i pod istim uvjetima kao i uzorci. Standardi u matriksu mogu se koristiti umjesto standarda u otapalu dok god se može pokazati da ne sadrže interferenciju zaione na retencijskom vremenu analita. Za utvrđivanje referentnog intenziteta (zastupljenosti) iona, treba isključiti odzive izvan linearog raspona.

D10 Veće tolerancije mogu dovesti do većeg postotka lažno pozitivnih rezultata. Slično tome, ako se tolerancije smanje, tada će se povećati vjerojatnost lažnih negativnih rezultata. Tolerancija navedena u tablici 3^{2,3} ne treba se uzimati kao apsolutno ograničenje, a ne preporučuje se tumačenje automatskih podataka na temelju kriterija bez komplementarnog tumačenja iskusnog analitičara.

D11 Sve dok se postiže dovoljna osjetljivost i selektivnost za oba iona, a odzivi su unutar linearog raspona, pokazatelji zastupljenosti iona u jediničnoj masenoj rezoluciji tandemne masene spektrometrije pokazali su se konzistentnima³ i ne bi trebali odstupati više od 30% (relativno) od referentne vrijednosti.

D12 Za precizno mjerenje mase/masenu spektrometriju visoke razlučivosti, na varijabilnost intenziteta iona ne utječe samo S/N (omjer signal/šum) pikova u ekstrahiranim ionskim kromatogramima, već može utjecati i način generiranja fragmentarnih iona i matriksa. Na primjer, raspon prekursor iona odabralih u slučaju skeniranja fragmentacije ('svi ioni', prekursori ioni raspona od 100 Da, 10 Da ili 1 Da) rezultira različitim populacijama matričnih iona u kolizionoj ćeliji što može utjecati na fragmentaciju u usporedbi sa standardima u otapalu. Nadalje, omjer dvaju iona generiranih jednom fragmentacijom daje konzistentnije omjere iona od odnosa prekursora iz snimanja cijelokupnog spektra i fragmenta iona iz skeniranja fragmentacije. Iz tog razloga ne može se dati opća smjernica za vrijednost ionskog omjera. Zbog dodane vrijednosti točnog mjerenja mase, podudaranja ionskih omjera nisu potrebna. Međutim, mogu pružiti dodatnu podršku za identifikaciju.

D13 Za veći stupanj pouzdanosti u identifikaciji mogu se dobiti dodatni dokazi iz dodatnih podataka iz masene spektrometrije. Na primjer, vrednovanjem snimanja cijelokupnih spektara, molekularni ion, karakteristične izvedenice molekularnog iona, karakteristični fragmenti i izotopni ioni.

D14 Kromatografski profil izomera analita također može pružiti dokaze. Dodatni dokazi mogu se potražiti korištenjem različitog sustava kromatografskog razdvajanja, odnosno druge ionizacijske tehnike MS-om.

Potvrda rezultata

² H.G.J. Mol, P. Zomer, M. García López, R.J. Fussell, J. Scholten, A. de Kok, A. Wolheim, M. Anastassiades, A. Lozano, A. Fernandez Alba. *Analytica Chimica Acta* 873 (2015.) 1-13

³ S.J. Lehotay, Y. Sapozhnikova, H.G.J. Mol, *Trends in Analytical Chemistry* 69 (2015) 62-75.

D15 Ako početna analiza ne daje nesumnjivu identifikaciju ili ne udovoljava zahtjevima za kvantitativnu analizu, potrebna je potvrDNA analiza. To može uključivati ponovnu analizu ekstrakta ili uzorka. U slučajevima kada je MRL premašen, uvijek je potrebna analiza drugog dijela uzorka za analizu. Za neuobičajene kombinacije pesticid/matriks također se preporučuje potvrDNA analiza.

D16 Korištenje različitih tehnika određivanja, odnosno, potvrđivanje kvalitativnih, odnosno, kvantitativnih rezultata od neovisnog stručnog laboratorija pružit će dodatne dokaze.

E. Izvještavanje o rezultatima

Iskazivanje rezultata

E1 Uvijek se moraju navesti rezultati izmjerениh pojedinačnih analita, a njihove koncentracije treba izraziti u mg/kg. Ako definicija ostataka uključuje više od jednog analita (vidi primjere, Dodatak B), pripadajući zbroj analita mora se izračunati kako je navedeno u definiciji ostatka i mora se koristiti za provjeru sukladnosti s MRL-om. Ako analitičke mogućnosti laboratorija ne dopuštaju kvantificiranje punog zbroja ostatka kako je navedeno u definiciji ostatka, dio zbroja može se izračunati, ali to treba biti jasno naznačeno u izvješću. U slučaju elektroničkog podnošenja rezultata za uzorce koji su dio programa praćenja moraju se dostaviti koncentracije svih pojedinačnih analita i njihov LOQ.

E2 Za kvantitativne metode, ostaci pojedinačnih analita ispod RL moraju se navesti kao <RL mg/kg. Tamo gdje se koriste orientacijske metode, a pesticid nije otkriven, rezultat se mora navesti kao <SDL mg/kg.

Izračun rezultata

E3 Kada se isti homogenizirani uzorak analizira pomoću dvije tehnike, rezultat treba biti onaj dobiven uporabom tehnike koja se smatra najtočnijom. Ako se dva rezultata dobivaju dvjema jednakim točnim tehnikama ili ponovljenim mjerjenjima korištenjem iste tehnike, treba navesti srednju vrijednost rezultata.

U slučaju da postoje dvije replike, relativna razlika pojedinačnih rezultata ne bi trebala prelaziti 30% srednje vrijednosti. Kod rezultata bliskih RL, varijacija može biti veća i potreban je dodatni oprez pri odluci je li ta granica premašena.

Korekcija za iskorištenje

E4 Praktično, rezultati ostataka ne moraju se korigovati za iskorištenje kada je prosječno iskorištenje u rasponu od 80 do 120%, a zadana proširena mjerna nesigurnost od 50% nije prekoračena.

U slučaju korekcije za iskorištenje, početni rezultat dobiven za primjenjivi pesticid nakon analize množi se s faktorom [100% / iskorištenje%]. Što se tiče postotka iskorištenja koji se koristi za korekciju za iskorištenje, postoji više mogućnosti. One uključuju srednju vrijednost iskorištenja dobivenu tijekom inicijalne validacije metode, srednju vrijednost iskorištenja dobivenu validacijom u tijeku ili (srednje) iskorištenje dobiveno za jedan ili više obogaćenih (spajkovanih) uzorka analiziranih istodobno s uzorcima za analizu.

Najprikladnija opcija ovisi o podatcima za iskorištenje koji su dostupni za metodu za različite pesticide i matrikse, te se stoga mogu razlikovati za različite laboratorije.

Aspekti koje treba uzeti u obzir pri odabiru između opcija uključuju pouzdanost i dosljednost iskorištenja pesticida za određeni matriks ili skupinu matriksa tijekom vremena i ovisnost iskorištenja o koncentraciji. Podatci dobiveni validacijom tijekom duljeg vremenskog razdoblja koji obuhvaćaju višestruke matrikse iz

neke skupine proizvoda (vidi Dodatak A) pružaju vrijedne informacije za donošenje informirane odluke, kao i u kojoj se mjeri mogu odrediti prosjeci iskorištenja iz različitih matriksa.

E5 U slučaju manjka podataka o prikladnosti srednjeg postotka iskorištenja koji se koristi za korekciju za iskorištenje, mogu se razmotriti alternativni pristupi za obračun gubitaka iskorištenja kako bi se izbjegla potreba za korekcijom za iskorištenje, npr. upotreba standardnog dodavanja prije ekstrakcija uzorka (C24), dodavanje izotopski obilježenog internog standarda (interni standard (IL – IS, C35) IS, C35) prije ekstrakcije uzorka ili uporaba proceduralne kalibracije (C28).

Zaokruživanje podataka

E6 Nužno je održavati ujednačenost u izvještavanju o rezultatima ostataka pesticida. Općenito, rezultate na ili iznad RL ali $<10 \text{ mg/kg}$, treba zaokružiti na dvije značajne brojke. Rezultati $\geq 10 \text{ mg/kg}$ mogu se zaokružiti na tri značajne brojke ili na cijeli broj. RL treba zaokružiti na jednu značajnu brojku kod rezultata $<10 \text{ mg/kg}$ i dvije značajne brojke kod rezultata $\geq 10 \text{ mg/kg}$. Ova pravila zaokruživanja ne odražavaju nužno neizvjesnost povezanu s prijavljenim podacima.

Dodatne značajne brojke mogu se zabilježiti u svrhu statističke analize i prilikom izvještavanja o rezultatima za testove osposobljenosti. U nekim slučajevima zaokruživanje može biti specificirano programom praćenja ili kontrole ili dogovoren sa naručiocem usluge. Zaokruživanje na značajne brojke treba izvršiti nakon izračuna rezultata. Vidi Dodatak D.

Kvalificiranje rezultata mjernom nesigurnošću

E7 Standard ISO/IEC 17025 zahtijeva da laboratorijski utvrde i stave na raspolaganje (proširenu) mjerne nesigurnost (MU), izraženu kao U, povezanu s analitičkim rezultatima. Laboratorijski trebaju imati dovoljno podataka o ponovljivosti/obnovljivosti iz validacije/verifikacije metode, međulaboratorijskih ispitivanja (npr. testovi osposobljenosti) i testova interne kontrole kvaliteta koji se mogu koristiti za procjenu mjerne nesigurnosti.⁴

MU opisuje raspon oko rezultata koji se izvještava ili eksperimentalnog rezultata unutar kojeg se očekuje da će istinita vrijednost biti unutar definirane vjerojatnosti (razine pouzdanosti). Rasponi MU moraju uzeti u obzir sve potencijalne izvore pogrešaka.

E8 Podaci o mjerne nesigurnosti⁵ trebaju se primjenjivati oprezno kako bi se izbjeglo stvaranje lažnog osjećaja sigurnosti o istinitoj vrijednosti. Procjene tipičnih MU koje se temelje na prethodnim podacima možda neće odražavati MU povezanu s analizom trenutnog uzorka. Tipična merna nesigurnost MU može se direktno navesti prema ISO (Anonimni autor, 1995, 'Vodič za izražavanje nesigurnosti u mjerenu' ISBN 92-67-1018899) ili pristup Eurachem⁶. Može se koristiti obnovljivost RSD (ili ponovljivost RSD ako podaci o obnovljivosti nisu dostupni), ali doprinos dodatnih izvora nesigurnosti (npr. heterogenost laboratorijskog uzorka iz kojeg je uzet dio uzorka za analizu) zbog razlika u postupcima koji se koriste za pripremu uzorka, obradu uzorka i poduzorkovanje također trebaju biti uključeni. Također treba uzeti u obzir učinkovitost ekstrakcije i razlike u koncentracijama standarda. Podaci MU odnose se prvenstveno na analit i matriks koji se koriste i trebali bi se extrapolirati na druge kombinacije analit/matriks s krajnjim oprezom. MU teži rasti na nižim razinama ostataka, posebno s približavanjem LOQ. Stoga će možda biti potrebno generirati podatke o MU u rasponu razina ostataka kako bi odražavali one koji se obično nađu tijekom rutinske analize.

⁴ Codex Alimentarius Smjernice Komisije CAC/GL 59-2006, Smjernice za procjenu nesigurnosti rezultata.

⁵ L. Alder *et al.*, Estimation of measurement uncertainty in pesticide residue analysis. J. AOAC Intern., 84 (2001) 1569-1577.

⁶ Vodič EURACHEM/CITAC, Kvantificiranje neizvjesnosti u analitičkom mjerenu, 3. izdanje 2012, http://www.eurachem.org/images/stories/guides/pdf/QUAM2012_P1.pdf

E9 Dva su pristupa za procjenu MU s primjerom izračuna izražena u Dodatku C. Jedan se temelji na korištenju unutar laboratorijskih podataka dobivenih kontrolom kvalitete za pojedine pesticide u skupini proizvoda. Drugi se bavi pristupom koji izvodi generičku mjeru nesigurnost za multirezidualne laboratorijske metode na temelju ukupne kombinacije unutar laboratorijske preciznosti i mernog odstupanja (bias) izvedenog iz provjere sposobljenosti.

E10 Praktični pristup kojim laboratorij može provjeriti svoju procjenu mjerne nesigurnosti, na temelju vlastitih laboratorijskih podataka, jest ocjenjivanje svoje djelotvornosti u nedavnim testovima sposobljenosti (vidi Dodatak C).

Rezultati ispitivanja sposobljenosti mogu pružiti važan pokazatelj doprinosa među laboratorijskog mernog odstupanja mernoj nesigurnosti pojedinog laboratorija. Ponovljene analize određenog uzorka, u kombinaciji s istodobnim određivanjima iskorištenja, mogu poboljšati točnost pojedinog laboratorijskog rezultata i poboljšati procjenu MU. Ovi podatci o nesigurnosti uključivat će ponovljivost poduzorkovanja i analize, ali ne i bilo kakvo međulaboratorijsko merno odstupanje. Ova će se praksa obično primjenjivati kada su analitički rezultati izuzetno važni (npr. provjera usklađenosti s MRL-om).

E11 Upotreba RL vrijednosti kao najnižih spajkovanih razina tijekom validacije metode eliminira potrebu za razmatranjem nesigurnosti povezane s utvrđenim razinama ostataka koje su <RL.

Tumačenje rezultata u svrhu provedbe

E12 Procjena da li uzorak sadrži ostatke veće od MRL je općenito samo problem u slučajevima kada je razina relativno blizu MRL -a. Prilikom odlučivanja potrebno je uzeti u obzir podatke analitičke kontrole kvalitete i rezultate dobivene ponovljenom analizom, zajedno sa procijenjenom mernom nesigurnošću Također se mora uzeti u obzir mogućnost gubitka ostataka ili unakrsne kontaminacije, koji su se dogodili prije, tijekom ili nakon uzorkovanja.

E13 Zadana proširena merna nesigurnost MU od 50% (što odgovara razini povjerenja od 95% i faktoru pokrivenosti od 2) izračunata je iz testova sposobljenosti EU. Općenito, ova vrijednost od 50% pokriva međulaboratorijsku varijabilnost među europskim laboratorijima i preporučuje se da je koriste regulatorna tijela u slučajevima izvršenja odluka (prekoračenja MRL-a). Preduvjet za uporabu 50% zadane proširene MU je da laboratorij mora dokazati da je njegova proširena MU ispod 50%.

E14 Ako laboratorijski imaju pojedinačne slučajeve neprihvatljivo visoke ponovljivosti ili unutar laboratorijske obnovljivosti - RSD_{WR} (npr. pri vrlo niskim razinama koncentracije) ili nezadovoljavajuće z-vrijednosti tijekom ispitivanja sposobljenosti, mora se razmotriti upotreba odgovarajuće veće vrijednosti MU. Za rezultate dobivene metodama za pojedinačne ostatke, posebno ako su korišteni stabilni izotopski unutarnji standardi, može se opravdati niža proširena MU, posebno ako je utvrđena na osnovu niže međulaboratorijske obnovljivosti RSD_{WR} (<25%)

E15 Ako se zahtijeva, rezultat se izražava zajedno s proširenom MU na sljedeći način:

Rezultat = $x \pm U$ (jedinice), pri čemu x predstavlja izmjerenu vrijednost. Za službenu kontrolu hrane od strane regulatornih tijela, usklađenost s MRL-om mora se provjeriti prepostavljajući da je dobijena vrijednost iznad MRL kada se uzme u obzir proširena merna nesigurnost ($x - U > MRL$). S ovim pravilom odluke, vrijednost mjerne veličine trebala bi biti iznad MRL-a s najmanje 97,5% povjerenja.⁷ Dakle, uzorak se smatra nesuskladnim ako je $x - U > MRL$. Npr., u slučaju da je $MRL = 1$ rezultat $x = 2,2$, a $U = 50\%$, tada je $x-U = 2,2 - 1,1 (= 50\% \text{ od } 2,2) = 1,1$, što je > MRL.

⁷ Vodič EURACHEM/CITAC, Korištenje informacija o neizvjesnosti u procjeni usklađenosti, 1. izdanje, 2007.

F. Standardi pesticida, osnovne („stock“) otopine i standardne otopine za kalibraciju

Identitet, čistoća i skladištenje referentnih standarda

F1 Referentni standardi analita trebaju biti poznate čistoće, mora im biti dodijeljeni jedinstveni identifikacijski kod i moraju biti evidentirani na način koji osigurava punu sljedivost (uključujući izvor opskrbe, broj oznake, datum primitka i mjesto skladištenja). Treba ih čuvati na niskoj temperaturi, po mogućnosti u zamrzivaču, s isključenim svjetлом i vlagom, tj. pod uvjetima koji na minimum svode brzinu razgradnje. U takvim uvjetima, datum isteka naveden od strane dobavljača, koji se često temelji na manje strogim uvjetima skladištenja, može se zamijeniti, prema potrebi za svaki standard, datumom koji omogućava skladištenje do 10 godina. Na taj se način može zadržati referentni standard i dodijeliti novi datum isteka, pod uvjetom da je provjeren do odgovarajućeg datuma i da se pokaže da njegova čistoća ostaje prihvatljiva. Idealno bi bilo provjeriti kemijski identitet svježe nabavljenog referentnog standarda ako je analit nov u laboratoriju. Samo za potrebe orientacijskih metoda, referentni standardi i izvedena rješenja mogu se koristiti nakon isteka roka valjanosti, pod uvjetom da se RL može postići. Ako je pesticid otkriven, za kvantificiranje se mora koristiti novi ili certificirani referentni standard i standardna kalibracijska otopina od njega.

Priprema i skladištenje osnovnih standarda

F2 Pri pripremi osnovnog standarda (otopine, disperzije ili plinovita razrjeđenja) od referentnih standarda (analiti i unutarnji standardi), dokumentacija treba biti takva da osigura potpunu sljedivost. Moraju se zabilježiti datum pripreme, identitet i masa (ili volumen, za visoko hlapljive analite) referentnog standarda i identitet i volumen otapala (ili drugih razrjeđivača). Otapala moraju biti odgovarajuća za analit (topljivost, bez kemijskih reakcija) i metodu analize. Tijekom uravnoteženja referentnog standarda na sobnu temperaturu mora se isključiti vлага i koncentracije se moraju korigirati na čistoću referentnog standarda.

F3 Za pripremu osnovnog standarda ne smije se vagati manje od 10 mg "referentnog" standarda pomoću vase s 5 decimalnih mjesta. Temperatura okoline trebala bi odgovarati temperaturi na kojoj je stakleni sud kalibriran, inače bi se priprema osnovnog i radnog standarda trebala temeljiti na mjerenu mase. Hlapive tekuće analite treba dozirati volumenom ili masom (ako je gustoća poznata) izravno u otapalo.

Plinoviti (fumigantni) analiti mogu se dozirati mjehurićima u otapalo i vaganjem prenesene mase ili pripremom plinovitih razrjeđenja (npr. štrcaljkom koja ne propušta plin, izbjegavajući kontakt s reaktivnim metalima).

F4 Osnovni standardi moraju biti neizbrisivo označeni, treba im se odrediti datum isteka i čuvati ih na niskoj temperaturi u mraku u spremnicima koji sprečavaju gubitak otapala i ulazak vode.

Nakon uravnoteženja na sobnu temperaturu, otopine se moraju ponovno izmiješati i izvršiti provjeru kako bi se osiguralo da analit ostane potpuno otopljen, posebno tamo gdje je topljivost na niskim temperaturama ograničena. Korištenje različitog otapala, različiti uvjeti skladištenja ili priprema osnovnih („stock“) otopina s nižom koncentracijom mogu pomoći u prevladavanju ovog problema.

Stabilnost pesticida može ovisiti o otapalu koje se koristi. Trenutno dostupni podaci pokazuju da su osnovni standardi velike većine pesticida, kada se adekvatno skladište, dovoljno stabilni nekoliko godina kada se pripremaju u organskim otapalima poput toluena, acetona, acetonitrila, metanola ili etil acetata.

F5 Za suspenzije (npr. ditiokarbamati) i otopine (ili plinovite otopine) visoko hlapljivih fumiganata koje treba pripremiti svježe, koncentraciju otopine analita treba usporediti s drugom otopinom pripremljenom neovisno u isto vrijeme.

Priprema, korištenje i skladištenje radnih standarda

F6 Pri pripremi radnih standarda mora se voditi evidencija o identitetu i količini svih otopina i otapala koja se koriste. Što se tiče osnovnih otopina, otapala moraju odgovarati analitu (topljivost, bez kemijskih reakcija) i metodi analize. Standardi moraju biti neizbrisivo označeni, treba im dodijeliti datum isteka i pohraniti ih na niskoj temperaturi, u mraku, u spremnicima koji sprečavaju gubitak otapala i ulazak vode. Zatvarači posuda posebno su skloni gubicima isparavanjem (osim što su potencijalni izvor onečišćenja) i, ukoliko se žele zadržati radne otopine, trebalo bi ih zamijeniti što je prije moguće nakon probijanja iglom. Nakon temperiranja, otopine se moraju promiješati i izvršiti provjeru kako bi se osiguralo da analit ostane u otopini, posebno tamo gdje je topljivost na niskim temperaturama ograničena.

F7 Pri razvoju ili validaciji metode, ili za analite koji su novi u laboratoriju, trebalo bi pokazati da je detektirani odziv posljedica analita, a ne nečistoće ili artefakta. Ako tijekom ekstrakcije, čišćenja ili odvajanja dođe do razgradnje analita, a produkt razgradnje obično se nalazi u uzorcima, ali isključen iz definicije ostataka, tada se rezultati moraju potvrditi upotrebom alternativne tehnike koja zaobilazi ovaj problem.

Ispitivanje i zamjena standarda

F8 Stabilnost postojećeg i možda „referentnog“ standarda na isteku roka valjanosti može se provjeriti pripremom novog osnovnog standarda i uspoređivanjem odgovora detektora. Usporedbu treba izvršiti primjenom prikladnih razrjeđenja pojedinih standarda ili mješavina standarda. Neobjasnive razlike u vidljivim koncentracijama između starih i novih standarda moraju se istražiti. Razlike u koncentracijama nove i stare otopine mogu biti posljedica brojnih čimbenika koji nisu samo razgradnja analita, (npr. taloženje analita, isparavanje otapala, razlike u čistoći između starih i novih referentnih standarda, pogreške u vaganju ili pogreške u instrumentalnoj analizi).

F9 Srednje vrijednosti iz najmanje pet ponovljenih mjerena za svaku od dviju otopina (staru i novu) obično se ne bi trebale razlikovati za više od $\pm 10\%$. Za srednju vrijednost nove otopine uzima se 100%, a koristi se i kao osnova za izračun postotne razlike.

Tamo gdje razlika srednje vrijednosti premašuje $\pm 10\%$ u odnosu na novi standard, tada treba prilagoditi vrijeme ili uvjete skladištenja. I staru i novu otopinu bi trebalo provjeriti naspram druge nove otopine koja se priprema neovisno od prve dvije.

F10 Također treba uzeti u obzir varijabilnost (od najmanje 5) ponovljenih injektiranja (izraženu kao ponovljivost RSDr). Treba težiti maloj varijabilnosti kako bi se smanjila nesigurnost izračunate razlike koncentracije između nove i stare otopine.

Interni standard može se koristiti za smanjenje varijacija mjerena. Nadalje, preporuča se umetanje starih i novih standarda naizmjenično kako bi se smanjila svaka greška uzrokovana pomicanjem signala.

F11 Ako postoje dovoljni dokazi (podatci iz ≥ 2 druga laboratorija) da je određeni pesticid stabilan koristeći određene uvjete skladištenja (vrijeme, otapalo, temperatura itd.), tada drugi laboratorijski koji reproduciraju te uvjete skladištenja mogu u skladu s tim smanjiti vlastite provjere stabilnosti. Međutim, moguće isparavanje otapala mora se redovito gravimetrijski provjeravati. U nekim će se slučajevima osnovnim otopinama možda morati dodati određeni aditivi (npr. kiseline) kako bi se sprječila razgradnja analita.

G. Validacija analitičke metode i kriteriji izvedbe

Kvantitativne metode

G1 Unutarlaboratorijsku validaciju metode treba provesti kako bi se pružili dokazi da je metoda prikladna za predviđenu namjenu. Validacija metode zahtjev je tijela za akreditaciju, a mora se podržati i proširiti provjerom uspješnosti metode tijekom rutinske analize (analitička kontrola kvalitete i potvrda tekuće metode). Tamo gdje je to izvedivo, svi postupci (koraci) koji se poduzimaju u metodi trebaju biti validirani.

G2 Reprezentativni matriksi mogu se koristiti za validaciju multirezidualnih metoda ili metode analize pojedinačnih analita. Ovisno o namjeravanom opsegu metode, mora se validirati najmanje jedan reprezentativni proizvod iz svake skupine proizvoda, kako je opisano u Prilogu A. Kada se metoda primjenjuje na širi spektar matriksa, trebaju se prikupiti dopunski podaci za validaciju, npr. dobiveni iz QC-a tijekom rutinskih analiza. Primjer praktičnog pristupa postupku validacije predstavljen je u Dodatku A.

G3 Metoda se mora testirati kako bi se procijenila osjetljivost/linearnost, prosječno iskorištenje (kao mjera istinitosti ili mjernog odstupanja), preciznost (kao ponovljivost RSD_r) i LOQ. Osim kvantitativnog aspekta validacije, također se moraju procijeniti identifikacijski parametri, npr. omjer iona i vrijeme zadržavanja. Potrebno je najmanje pet replikata (za provjeru iskorištenja i preciznosti) na ciljanom LOQ ili RL metode i najmanje na još jednoj višoj razini, na primjer, dva do 10 puta ciljani LOQ ili MRL. Gdje definicija ostatka uključuje dva ili više analita, gdje god je to moguće, metodu treba validirati za sve analite uključene u definiciju ostatka.

G4 Ako analitička metoda ne dopušta određivanje iskorištavanja (na primjer, izravna analiza uzoraka tekućine, SPME ili analiza plinskog prostora), tada se samo preciznost (ne točnost ili istinitost) određuje iz ponovljenih analiza kalibracijskih standarda. Obično se pretpostavlja da je mjerno odstupanje nula, iako to nije nužno tako. U SPME i analizi plinskog prostora istinitost i preciznost kalibracije mogu ovisiti o mjeri u kojoj je analit uravnotežen u odnosu na matriks. Tamo gdje metode ovise o ravnoteži, to se mora dokazati tijekom validacije metode.

G5 Ako su rezultati izraženi na temelju udjela masti ili suhe tvari, metoda koja se koristi za određivanje suhe tvari ili udjela masti trebala bi biti potvrđena široko priznatom metodom. Za hranu za životinje metode navedene u Dodatku III Pravilnika o metodama uzorkovanja i analitičkim metodama za provedbu službenih kontrola hrane za životinje ("Službeni glasnik BiH", br. 65/13 i 28/16) su obvezni.

Kriteriji prihvatljivosti izvedbe metode

G6 Kvantitativna analitička metoda treba pokazati, i u početnoj i u proširenoj fazi validacije, sposobnost da pruži prihvatljiva prosječna iskorištenja na svakoj razini obogaćenja za barem po jedan reprezentativni proizvod iz svake od relevantnih skupina proizvoda (vidi Dodatak A i tablicu 4). Prosječno iskorištenje iz početne validacije trebalo bi biti u rasponu od 70 - 120%, s povezanim ponovljivošću RSD_r ≤ 20%, za sve analite unutar opsega metode. U iznimnim slučajevima mogu se prihvati srednje vrijednosti iskorištenja izvan raspona od 70 - 120% ako su dosljedne (RSD_r ≤ 20%) i osnova za to je dobro utvrđena (npr. zbog raspodjele analita u koraku razdvajanja), ali srednje iskorištenje ne smije biti niže od 30% ili više od 140%. Unutar laboratorijska obnovljivost (RSD_{wR}), koja se može odrediti iz tekućih podataka kontrole kvalitete u rutinskim analizama, trebala bi biti ≤ 20%, isključujući bilo kakav doprinos zbog heterogenosti uzorka. LOQ je najniža spajkovana razina tokom validacije koja zadovoljava ove kriterije prihvatljivosti performansi metode.

G7 Validacija se također mora koristiti za provjeru sposobnosti metode da identificira analit u skladu sa zahtjevima navedenim u odjeljku D. U opravdanim slučajevima, validacijski podaci mogu se koristiti za postavljanje kriterija utemeljenih na performansama metode, za pojedinačne analite, umjesto primjene općih kriterija datih u tablici 4.

Tablica 4. Validacioni parametri i kriteriji

Parametar	Što/kako	Kriterij	Unakrsna referenca na dokument o analitičkoj kontroli kvalitete
Osjetljivost/linearnost	Provjera linearnosti s pet razina	Odstupanje koncentracije izračunate naknadno iz kalibracione krivulje $\leq \pm 20\%$	C14-C19
Utjecaj matriksa	Usporedba odziva standarda u otapalu i standarda u matriksu	*	C21-C29
LOQ	Najniža spajkovana razina koja zadovoljava kriterije identifikacije i kriterije izvedbe metode za iskorištenje i preciznost	$\leq MRL$	G6 ⁸
(Specifičnost	Odziv u slijepom reagensu i slijepim kontrolnim uzorcima	$\leq 30\%$ od razine izvještavanja	C41
Iskorištenost	Prosječno iskorištenje za svaku ispitani spajkovani razinu	70-120%	G3, G6
Preciznost (RSD_r)	Ponovljivost RSD_r za svaku ispitani spajkovani razinu	$\leq 20\%$	G3, G6
Preciznost (RSD_{wR})	Unutarlaboratorijska obnovljivost, izvedena od tekuće/kontinuirane validacije/potvrde metode	$\leq 20\%$	G3, G6
Robusnost	Prosječno iskorištenje i RSD_{wR} izvedeni od tekuće validacije/potvrde metode	Vidi prednji tekst	G6, C39-C44
Ionski omjer	Provjera usklađenosti sa zahtjevima identifikacije kod	Tablica 3	Odjeljak D

⁸ SANCO/12574/2014, "Radni dokument o zbrajanju LOQ u slučaju složenih definicija ostataka"

Vrijeme zadržavanja (retencijsko vrijeme)	tehnika MS	$\pm 0,1$ minuta	D2
---	------------	------------------	----

* U slučaju smanjenja ili pojačanja signala za više od 20%, učinci matriksa moraju se riješiti u kalibraciji (C21-C29)

Orijentacijske metode

G8 Za orijentacijske metode treba uspostaviti pouzdanost detekcije analita na određenoj razini koncentracije. To se može postići korištenjem orijentacijskih metoda na temelju razina ostataka iz validacije kvantitativne metode ili orijentacijskih metoda na temelju SDL iz validacije kvalitativne metode.

G9 Validacija orijentacijske metode koja se temelji na SDL-u može se usredotočiti na detektibilnost. Za svaku skupinu proizvoda (vidi Dodatak A), osnovna validacija trebala bi uključivati analizu najmanje 20 uzorka spajkovanih na procijenjeni SDL. Odabrani uzorci trebali bi predstavljati više proizvoda iz iste skupine proizvoda, s minimalno dva uzorka za svaki pojedini proizvod i bit će reprezentativni za predviđeni opseg laboratorija. Dodatni podatci o validaciji mogu se prikupiti iz podataka tekuće analitičke kontrole kvalitete i podataka i provjere djelotvornosti metode tijekom rutinske analize.

Kriteriji prihvatljivosti djelotvornosti metode

G10 Kada je orijentacijska metoda namijenjena za korištenje samo kao kvalitativna metoda, ne postoje zahtjevi u vezi s iskorištenjem analita. Da bi se utvrdila selektivnost, moguću prisutnost lažnih detekcija treba provjeriti pomoću uzorka bez obogaćenja (po mogućnosti "slijepih" uzorka). Pod uvjetom da su analiti koji su probno otkriveni orijentacijskom metodom identificirani i potvrđeni drugom analizom uzorka pomoću odgovarajuće potvrđne metode, nema potrebe za strogim kriterijem za broj lažno pozitivnih detekcija. SDL kvalitativne orijentacijske metode je najniža razina na kojoj je analit otkriven (ne mora ispunjavati identifikacijske kriterije masene spektrometrije) u najmanje 95% uzorka (tj. prihvatljiva lažno negativna stopa od 5%).

G11 Za analite koji nisu bili uključeni u početnu ili tekuću validaciju metode, razina pouzdanosti detekcije na određenoj razini ostataka neće biti poznata. Slijedom toga, analiti izvan područja validacije mogu se otkriti uporabom metode, ali se SDL ne može navesti.

G12 Kad se koristi kvalitativna orijentacijska metoda, samo se validirani analiti mogu dodati u rutinski opseg ispitivanja laboratorija.

H. Dodatne preporuke

Kontaminacija

H1 Uzorci moraju biti odvojeni jedni od drugih i od drugih izvora potencijalne kontaminacije tijekom prijevoza u laboratorij i skladištenja. To je osobito važno kod površinskih ostataka ili kod hlapljivih analita. Uzorce za koje se zna ili se vjeruje da imaju ostatke treba dvostruko zatvoriti u polietilenske ili najlonske vrećice, te ih odvojeno transportirati i obraditi.

H2 Volumetrijska oprema, poput odmjernih tikvica, pipeta i šprica, mora se pažljivo očistiti, posebno prije ponovne upotrebe. Koliko je to moguće, posebne staklene posude itd. treba odrediti za standarde i ekstrakte uzorka, kako bi se izbjegla unakrsna kontaminacija. Treba izbjegavati upotrebu pretjerano ogrebanih staklenih predmeta. Treba provjeriti otapala koja se koriste za analizu ostataka fumiganta kako bi se osiguralo da ne sadrže ciljane analite.

H3 Kada se koristi unutarnji (interni) standard, mora se izbjegavati nemamjerno onečišćenje ekstrakata ili otopina analita s unutarnjim standardom ili obrnuto.

H4 Tamo gdje se analit pojavljuje prirodno ili kao zagađivač ili se proizvodi tijekom analize (npr. bifenil u bilju, anorganski bromid u svim robama, sumpor iz tla ili ugljični disulfid iz vrste Brassicaceae), ostaci niske razine od upotrebe pesticida ne mogu se razlikovati od pozadinskih razina. Pri tumačenju rezultata mora se uzeti u obzir prirodna pojava ovih analita. Ditiokarbamat, prekursori ugljikovog disulfida, etileniourea ili difenilamin mogu se pojaviti u određenim vrstama gumenih proizvoda i taj se izvor onečišćenja mora izbjegavati.

Interferencija

H5 Oprema, spremnici, otapala (uključujući vodu), reagensi, pomoćna sredstva za filtriranje itd. trebaju se provjeriti kao izvori mogućih interferencija. Predmeti od gume i plastike (npr. brtve, zaštitne rukavice i boce za pranje), lakovi i maziva česti su izvori interferencije. Brtve trebaju biti obložene PTFE-om. Ekstrakte treba čuvati izvan kontakta s brtvama, posebno nakon probijanja, na primjer držanjem bočica uspravno. Brtve (zatvarači) bočica možda će se morati brzo zamijeniti nakon probijanja ako je potrebna ponovna analiza ekstrakata. Analizom slijepih reagensa treba utvrditi izvore interferencija u korištenoj opremi ili materijalima.

H6 Utjecaji matriksa ili interferencije matriksa od prirodnih sastojaka uzorka su česti. Interferencije mogu biti svojstvene korištenom sustavu za određivanje, varirati u pojavi i intenzitetu, a mogu biti i diskretne prirode. Ako interferencije imaju odziv koji se preklapa sa odzivom analita, možda će biti potreban drugačiji sustav čišćenja ili određivanja. Utjecaji matriksa u smislu suzbijanja ili poboljšanja iskorištenja sustava detekcije obrađeni su u prvom stavku C21. Ako nije moguće eliminirati utjecaje matriksa ili kompenzirati takve utjecaje kalibracijom na matriksu, ukupna točnost analize ipak bi trebala biti u skladu s kriterijima prvog stavka G6.

Dodatak A. Robne skupine i reprezentativni proizvodi⁹

Povrće i voće, žitarice i hrana životinjskog podrijetla

Robne skupine	Tipične robne kategorije unutar skupine	Tipične reprezentativne robe unutar kategorije
1. Visok sadržaj vode	Jabučasto voće	Jabuke, kruške
	Košturnjavo voće	Marellice, trešnje, breskve
	Ostalo voće	Banane
	Lukovičasto povrće	Luk, poriluk
	Plodonosno povrće	Rajčica, paprika, krastavac, dinja
	Kupusnjače	Karfiol, prokulica, kupus, brokula
	Lisnato povrće i svježe začinsko bilje	Salata, špinat, bosiljak
	Povrće sa stabljikom	Celer, šparoge
	Svježe mahunarke	Svježi grašak s mahunama, grašak, grašak šećerac, grah, grah trklijaš, mahune
	Svježe gljive	Sampinjoni, lisičarke
2. Visok sadržaj kiselina i visok sadržaj vode ¹⁰	Korjenasto i gomoljasto povrće	Šećerna repa, mrkva, krumpir, slatki krumpir
	Citrusi	Limuni, mandarine, tangerine, naranče
3. Visok udio šećera i nizak sadržaj vode ¹¹	Sitno voće i bobice	Jagode, borovnice, maline, crne ribiz, crveni ribiz, bijeli ribiz, grožđe
	Med, suho voće	Med, grožđice, suhe marellice, suhe šljive, džemovi od voća
	Orašasti plodovi	Orasi, lješnjaci, kesteni
4a. Visok udio ulja i vrlo nizak udio vode	Uljarice	Uljana repica, suncokret, sjeme pamuka, soja, kikiriki, sezam itd.
	Paste od orašastih plodova i uljanih sjemenki	Maslac od kikirikija, tahin, pasta od lješnjaka
	Masno voće i proizvodi	Masline, avokado i paste od njih
5. Visok sadržaj škroba i / ili proteina i nizak sadržaj vode i masti	Suhe mahunarke/mahunarke	Vrtni grah, sušeni široki grah, sušeni grah haricot (žuta, bijela/mornarska, smeđa, pjegava), leća

⁹ Na temelju dokumenta OECD-a Publikacije o zaštiti okoliša, zdravlju i sigurnosti, serija o ispitivanju i procjeni, br. 72 i serija o pesticidima br. 39

¹⁰ Ako se koristi pufer za stabilizaciju promjena pH u koraku ekstrakcije, tada se robna skupina 2 može spojiti s robnom skupinom 1.

¹¹ Kad se robe iz skupine 3 miješaju s vodom prije ekstrakcije da bi se postigao udio vode > 70%, ova robna skupina može se spojiti s grupom 1. Razine ostataka (RL) treba prilagoditi kako bi se uzeli u obzir manji dijelovi uzorka (npr. ako se za roba skupine 1 i 5 koristi cijelina od 10 g, a za skupinu 3 5g, RL skupine 3 trebao bi biti dvostruko veći od RL skupine 1, osim ako je roba koja pripada skupini 3 uspješno validirana na nižoj razini).

	Zrna žitarica i proizvodi od njih	Zrna pšenice, raži, ječma i zobi; kukuruz, riža, integralni kruh, bijeli kruh, krekeri, žitarice za doručak, tjestenina, brašno
6. „Teške ili jedinstvene robe“ ¹²		Hmelj Zrna kakaa i njihovi proizvodi, kava, čaj Začini
7. Meso (mišići) i plodovi mora	Crveni mišići	Govedina, svinjetina, janjetina, divljač, konjetina
	Bijeli mišići	Piletina, pačetina, puretina
	Iznutrice	Jetra, bubrezi
	Riba	Bakalar, koljak, losos, pastrva
8. Mlijeko i mliječni proizvodi	Mlijeko	Kravljе, kozje i bivolje mlijeko
	Sir	Kravlji i kozji sir
	Mliječni proizvodi	Jogurt, vrhnje
9. Jaja	Jaja	Kokošja, pačja, prepeličja i guščja jaja
10. Mast iz hrane životinjskog podrijetla	Masnoća iz mesa	Bubrežna mast, salo
	Mliječna mast ¹³	Maslac

Hrana za životinje

Robne skupine	Tipične robne kategorije unutar skupine ¹⁴	Tipične reprezentativne robe unutar kategorije
1. Visok sadržaj vode	Krmni usjevi Kupušnjače Lišće korjenastog i gomoljastog povrća Korijen i gomolj Silaža	Trave, lucerka, djettelina, repica Kelj/kupus Listovi i vrhovi šećerne repe Korjeni šećerne repe i krmne repe, mrkva, krumpir Kukuruz, djettelina, trave Nusproizvodi i otpad od hrane, poput komine jabuke, komine rajčice, kore, pahuljica i pulpe krumpira, pulpe šećerne repe, melasa ¹⁵
2. Visok sadržaj kiselina i visok		Nusproizvodi i otpad od hrane

¹² „Teške robe“ trebaju biti u potpunosti validirane samo ako se često analiziraju. Ako se analiziraju samo povremeno, provjera valjanosti može se svesti samo na provjeru praga izvještavanja spajkovanjem slijepih ekstrakata.

¹³ Ako se metode za određivanje nepolarnih pesticida u proizvodima iz skupine 7 temelje na ekstrahiranoj masti, te se robe mogu spojiti sa skupinom 10.

¹⁴ Kada je roba zajednička i hrani i hrani za životinje, npr. žitarice, potrebna je samo jedna validacija.

¹⁵ Omjer veličine uzorka i vode mora se optimizirati za pojedinu robu dodavanjem vode prije ekstrakcije kako bi se simulirao sirovi proizvod.

sadržaj vode		kao što je citrusna komina
3. Visok udio ulja i vrlo nizak udio vode	Uljano sjeme, uljno voće, njihovi proizvodi i nusproizvodi Mast/ulje biljnog i životinjskog podrijetla	Sjeme pamuka, laneno sjeme, sjeme repice, sjeme sezama, sjeme suncokreta, sjeme soje Palmino ulje, ulje repice, sojino ulje, riblje ulje Mješavina s visokim udjelom lipida
4. Srednji udio ulja i nizak udio vode	Pogača i brašno od uljanih sjemenki	Maslina, repica, suncokret, sjeme pamuka, pogacha ili brašno od soje
5. Visok sadržaj škroba i / ili proteina i nizak sadržaj vode i masti	Žitarice, njihovi proizvodi, nusproizvodi i otpad od hrane Sjeme mahunarki Nusproizvodi i otpad od hrane	Ječam, zob, kukuruz, riža, raž, pir, zrna tritikale i pšenice, pahuljice, srednjaci, ljske i mekinje. Kruh, žitarice pivovara i destilerija Mješavina na bazi žitarica Sušeni grah, grašak, leća ljske sjemena
6. „Teške ili jedinstvene robe“	Slama Sijeno Gotove mješavine	Slama od ječma, zobi, kukuruza, riže, raži i pšenice Trava Nusproizvodi i otpad od hrane kao što je krumpirov protein i destilat masnih kiselina
7. Meso i plodovi mora	Mješavina hrane za životinje životinjskog podrijetla	Riblje brašno
8. Mlijeko i mlijecni proizvodi	Mlijeko	Zamjena za mlijeko Nusproizvodi i otpad od hrane kao što je surutka u prahu ¹⁵

Prilog A. Postupak validacije metode: pregled i primjeri pristupa

Potvrda se provodi nakon završetka razvoja metode ili prije nego što se metoda koja nije prethodno korištena uvede u rutinski analizu. Razlikujemo početnu validaciju kvantitativne analitičke metode koja se primjenjuje u laboratoriju prvi put i proširenje opsega postojeće validirane metode za nove analite i matrikse.

Kvantitativna analiza

1. Početna puna validacija

Validaciju treba izvršiti:

- za sve analite unutar opsega metode,
- za najmanje jednu robu iz svake robne skupine (ukoliko su u okviru zahtijevanog opsega metode ili koliko je primjenjiva na uzorke analizirane u laboratoriju).

Eksperimentalna:

Tipičan primjer eksperimentalnog postavljanja validacije je:

Skup uzoraka (poduzorci iz 1 homogeniziranog uzorka):

- Slijepa proba reagensa („reagent blank“)
- 1 slijepa proba uzorka (nespajkovan, bez obogaćenja)
- 5 obogaćenih uzoraka na ciljanom LOQ
- 5 obogaćenih uzoraka na 2 - 10x ciljanoj LOQ

Instrumentalna sekvenca (serija):

- Kalibracijski standardi
- Slijepa proba reagensa
- Slijepa proba uzorka
- 5 obogaćenih uzoraka na ciljanom LOQ
- 5 obogaćenih uzoraka na 2 - 10 x ciljanoj LOQ
- Kalibracijski standardi

Spajkovanje (obogaćivanje) proizvoda je kritična točka u postupcima validacije. Općenito, postupak spajkovanja trebao bi odražavati što je više moguće tehnike korištene tijekom rutinske primjene metode. Ako se na primjer uzorci melju kriogeno i ekstrahiraju u smrznutom stanju, spajkovanje treba izvršiti na smrznutim cjelinama za analizu slijepog materijala i odmah ih ekstrahirati. Ako su uzorci mljeveni na sobnoj temperaturi i ekstrahirani u prosjeku nakon 20 minuta, spajkovanje treba izvršiti na cjelinama za analizu slijepog materijala na sobnoj temperaturi i ekstrahirati nakon 20 minuta stajanja. Općenito, spajkovanje neće simulirati prisutne ostatke, čak i ako spajkovan uzorak stoji određeno vrijeme. Da bi se proučila relativna ekstraktabilnost prisutnih ostataka, trebaju se uzeti poljoprivredno tretirani uzorci.

Vrednovanje podataka:

Ubrizgajte niz uzoraka, kalibrirajte i kvantificirajte kako je opisano u ovom dokumentu AQC.

Procijenite parametre iz tablice 4 i provjerite ih prema kriterijima.

2. Proširenje opsega metode: novi analiti

Novi analiti koji se dodaju u prethodno validiranu metodu moraju biti potvrđeni istim postupkom, kao što je gore opisano za početnu validaciju.

Alternativno, validacija novih analita može se integrirati u kontinuirani postupak kontrole kvalitete. Kao primjer: uz svaku seriju rutinskih uzoraka jedna ili više roba iz primjenjive robne kategorije spajkuje se na LOQ i jednu drugu višu razinu.

Utvrđite iskorištenje i pojavu bilo kakvih smetnji u odgovarajućem uzorku bez obogaćenja. Kadaje za obje razine prikupljeno pet vrijednosti iskorištenja, može se odrediti srednje iskorištenje i unutarlaboratorijska obnovljivost (RSD wR) i provjeriti u odnosu na kriterije iz tablice 4.

3. Proširenje opsega metode: novi matriksi

Pragmatičan način provjere primjenjivosti metode na druge matrikse iz iste robne skupine jest izvođenje pomoću kontinuirane kontrole kvalitete koja se provodi istovremeno s analizom uzoraka. Vidi dalji tekst.

4. Kontinuirana validacija/potvrda izvedbe

Svrha kontinuirane validacije metode je:

- pokazati robusnost procjenom srednjeg iskorištenja i unutar laboratorijske obnovljivosti (RSDwR),
- pokazati da manje prilagodbe metode učinjene tijekom vremena ne utječu neprihvatljivo na izvedbu metode,
- pokazati primjenjivost na druge robe iz iste kategorije robe (vidjeti također Dodatak 1),
- odrediti prihvatljive granice za pojedinačne rezultate iskorištenja tijekom rutinske analize.

Eksperimentalno:

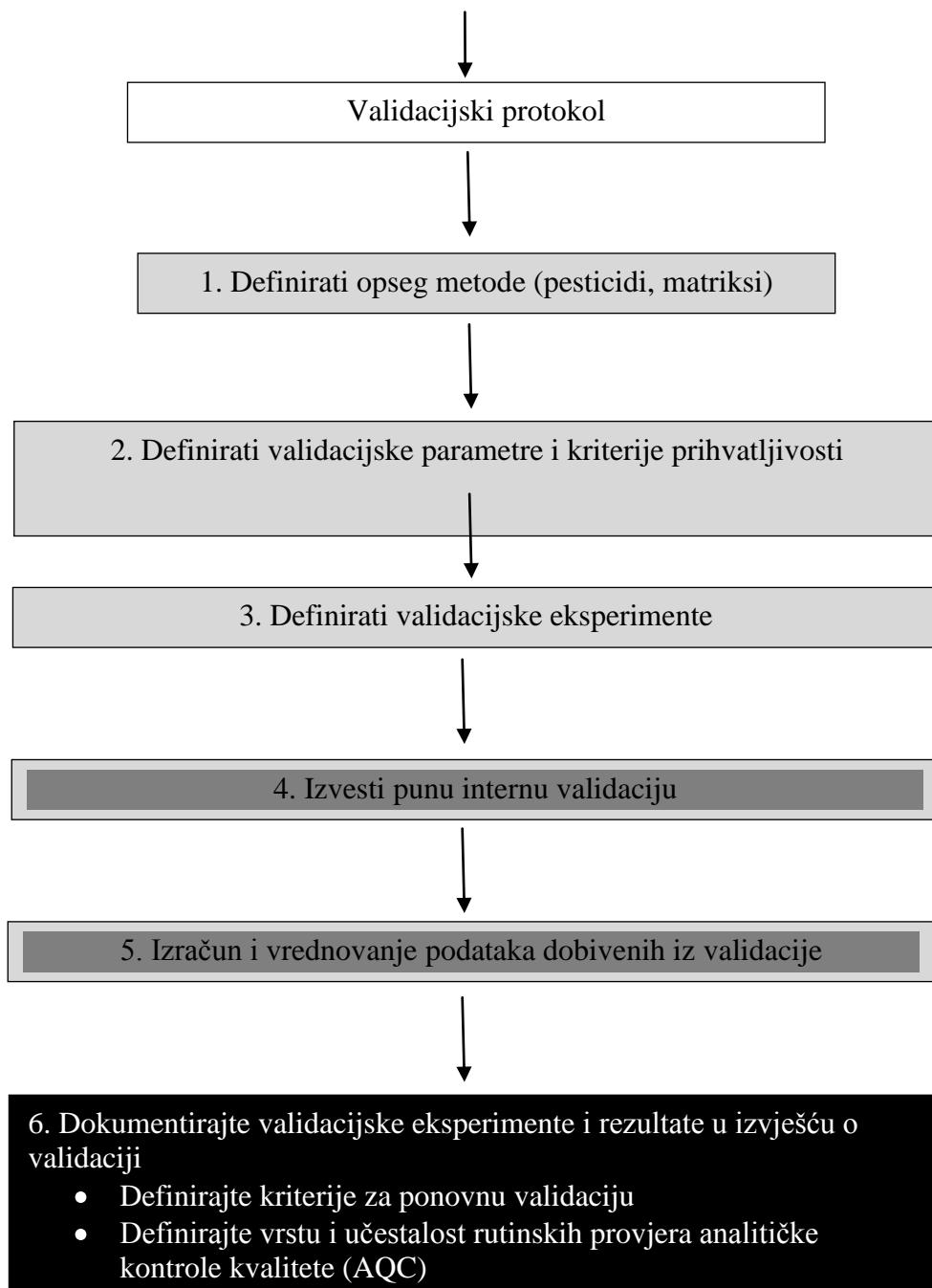
Tipično, uz svaku seriju rutinski analiziranih uzoraka, jedan ili više uzoraka različitih roba iz primjenjive kategorije roba spajkuju se analitima i analiziraju istodobno s uzorcima.

Vrednovanje podataka:

Za svaki analit odredite iskorištenje i pojavu bilo kakvih smetnji u odgovarajućem uzorku bez obogaćenja. Periodično (npr. godišnje) utvrđujte prosječno iskorištenje i obnovljivost (RSD wR) i provjeravajte dobivene podatke prema kriterijima iz tablice 4. Ti se podaci također mogu koristiti za postavljanje ili ažuriranje granica prihvatljivosti kod utvrđivanja pojedinačnih iskorištenja kako je navedeno u stavku *Orijentacijske metode* dokumenta i procjene mjerne nesigurnosti.

Kriteriji identifikacije: vrijeme zadržavanja, vidi D2, kriteriji MS, vidi tablicu 3 i D12.

INICIJALNI PLAN VALIDACIJE ZA KVANTITATIVNE METODE



Prilog B. Primjeri faktora konverzije

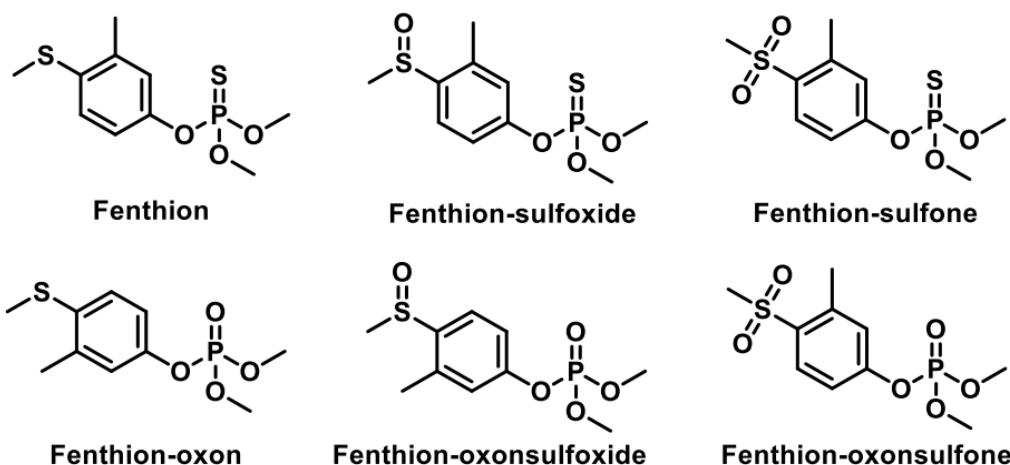
Definicije maksimalnih razina ostataka MRL za brojne pesticide uključuju ne samo matični pesticid, već i njegove metabolite ili druge proizvode transformacije.

U primjeru 1, zbroj komponenata izražava se kao fention, nakon prilagodbe za različite težine molekula (faktori konverzije). U primjeru 2, zbroj metaflumizona E i metaflumizona Z izražen je kao njihov aritmetički zbroj (metaflumizona).

Sljedeći primjeri ilustriraju dvije različite vrste zbrajanja koje su potrebne kako bi se udovoljilo zahtjevima definicije ostataka.

Primjer 1.

Fention, njegovi sulfoksid i sulfon i njihovi analogi kisika (oksoni), svi se pojavljuju u definiciji ostataka i svi bi ih trebali uključiti u analizu.



Primjer izračunavanja konverzijskog faktora (C_f)

$$C_{\text{Fention SO do Fentiona}} = (Mw_{\text{Fention}} / Mw_{\text{Fention SO}}) \times C_{\text{Fention SO}} = (278,3 / 294,3) \times C_{\text{Fention SO}} = 0,946 \times C_{\text{Fention SO}}$$

Spoj			Mw	C _f
Fention	RR'S	P=S	278,3	1,00
Fention sulfoksid	RR'SO	P=S	294,3	0,946
Fention sulfon	RR'SO ₂	P=S	310,3	0,897
Fention okson	RR'S	P=O	262,3	1,06
Fention okson sulfoksid	RR'SO	P=O	278,3	1,00
Fention okson sulfon	R'SO ₂	P=O	294,3	0,946

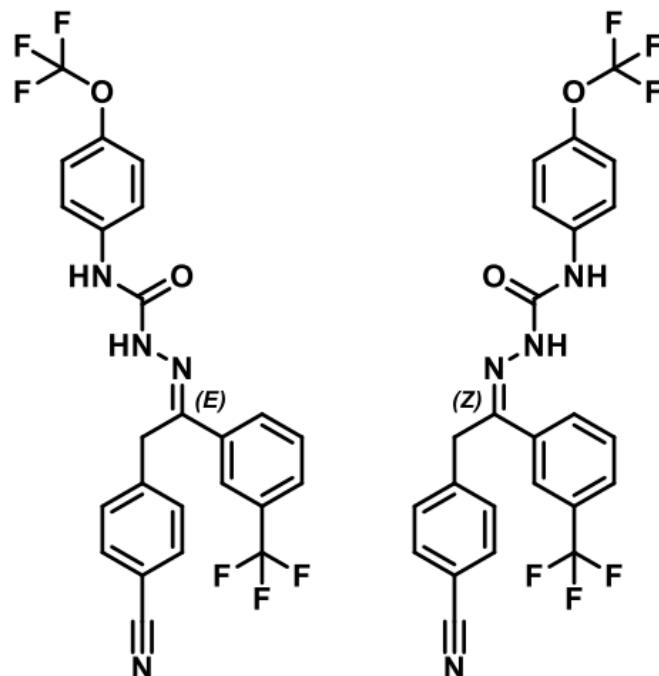
Definicija ostataka: Fention (fention i njegov analog kisika, njihovi sulfoksiidi i sulfoni izraženi kao matični)

Tamo gdje je ostatak definiran kao zbroj matičnih proizvoda i produkata transformacije, koncentracije proizvoda transformacije treba prilagoditi prema njihovoj molekulskoj masi, koja se dodaje ukupnoj koncentraciji ostatka.

$$C_{\text{FenthionSum}} = 1,00 \times C_{\text{Fenthion}} + 0,946 \times C_{\text{Fenthion SO}} + 0,897 \times C_{\text{Fenthion SO}_2} + 1,06 \times C_{\text{Fenthionoxon}} + 1,00 \times C_{\text{Fentionokson SO}} + 0,946 \times C_{\text{Fentionokson SO}_2}$$

Primjer 2.

Definicija ostataka: Metaflumizon (zbroj E- i Z izomera)



$$C_{\text{Metaflumizon}} = 1,00 \times C_{\text{Metaflumizon E}} + 1,00 \times C_{\text{Metaflumizon Z}}$$

Prilog C. Primjeri procjene mjerne nesigurnosti rezultata

Utvrđivanje mjerne nesigurnosti (MU) zahtjev je prema ISO/IEC 17025 (E7). Također je potrebno dokazati da vlastita MU laboratorija ne prelazi 50% zadane vrijednosti koju koriste regulatorna tijela u slučajevima odluka o izvršenju (E13).

Da bi se procijenila MU rezultata za određivanje ostataka pesticida, preporučuje se pročitati nekoliko dokumenata koji pomažu u boljem razumijevanju ove teme, poput Smjernica Eurachema¹⁶, Nordtesta¹⁷, Eurolaba¹⁸, Codex CAC/GL 59-2006¹⁹ i A. Valverde et al²⁰.

U ovom su prilogu opisana dva pristupa za procjenu MU i pruženi su primjeri izračuna. Prva se bavi procjenom MU na temelju podataka o QC unutar laboratorija za pojedine pesticide u robnoj skupini. Drugi se bavi pristupom koji izvodi generički MU za laboratorijske metode za više ostataka na temelju ukupne kombinacije unutarlaboratorijske preciznosti i mjernog odstupanja izvedenog iz provjere osposobljenosti (PT).

U primjerima se uzimaju u obzir samo laboratorijske varijabilnosti i mjerno odstupanje, jer su oni obično glavni čimbenici. Međutim, drugi čimbenici poput heterogenosti laboratorijskog uzorka i tolerancije u razlikama standardnih otopina (F9) mogu pridonijeti ukupnoj MU. Doprinosi su značajni kada je njihova nesigurnost veća od jedne trećine veličine najvećeg doprinositelja.

U oba primjera koristi se faktor pokrivanja od $k = 2$ za izračunavanje proširene MU označene U iz relativne standardne nesigurnosti u jednadžbi 1.

$U' = k \times u'$ Jednadžba 1

Pristup 1. Procjena MU na temelju unutarlaboratorijske validacije/podataka iz kontrole kvalitete

Ovdje se procjena temelji na ^{16, 17, 19}:

$$u' = \sqrt{u'(bias)^2 + u'(preciznost)^2}$$

Jednadžba 2

gdje je

u' = mjerena nesigurnost

$u'(bias)$ = komponenta nesigurnosti za mjerno odstupanje (bias)

$u'(preciznost)$ = komponenta nesigurnosti za preciznost

U principu, komponenta preciznosti trebala bi se procijeniti iz eksperimenata koji se razlikuju od onih koji se koriste za procjenu mjernog odstupanja komponente, a potonja bi se po mogućnosti trebala temeljiti na vanjskom (neovisnom) izvoru, kao što su referentne vrijednosti CRM i PT. U stvarnosti, za većinu kombinacija pesticid/matriks dostupni su samo podaci internih kontrolnih uzoraka (spajkovani uzorci), a

¹⁶ Vodič EURACHEM/CITAC, Kvantificiranje neizvjesnosti u analitičkommjerenu, 3. izdanje, 2012, http://www.eurachem.org/images/stories/guides/pdf/QUAM2012_P1.pdf

¹⁷ NORDTEST NT TR 537 edition 4 2017:11. http://www.nordtest.info/images/documents/nt-technical-reports/NT_TR_537_edition4_English_Handbook_for_calculation_of_measurement_uncertainty_in_environmental_laboratories.pdf

¹⁸ EUROLAB Technical Report 1/2007: Measurement uncertainty revised: alternative approaches to uncertainty evaluation, European Federation of National Associations of Measurement, Testing and Analytical Laboratories, www.eurolab.org, Pariz, 2007

¹⁹ Codex Alimentarius Commission, CAC/GL 59-2006 (Amendment 1-2011) Guidelines on Estimation of Uncertainty of Results, Rim 2006 i 2011

²⁰ A. Valverde, A. Aguilera, A. Valverde-Monterreal, Practical and valid guidelines for realistic estimation of measurement uncertainty in multi-residue analysis of pesticides, Food Control 71 (2017) 1-9.

komponente mjernog odstupanja i preciznosti mogu se procijeniti samo iz istih (u tijeku) eksperimenata za validaciju.

Prva procjena u' (bias) i u' (preciznost) obično se dobiva u početnoj fazi validacije za svaku kombinaciju pesticid/reprezentativni matriks/razina. Međutim, puno realnija procjena izračunava se za svaki pesticid iz većeg broja (obično ≥ 10) dugoročnih QC testova (spajkovani uzorci) za svaki pesticid za jedan ili više matriksa iste robe.

Procjena komponente u' (bias) bez korekcije za iskorištenje

Bias je razlika između izmjerene vrijednosti i istinite vrijednosti. U nedostatku vrijednosti dodijeljenih CRM-u ili PT-u, istinita vrijednost je spajkovana koncentracija, a bias je razlika između spajkovane koncentracije i izmjerene koncentracije. Relativni bias određuje se formulom:

$$\text{Relativni bias} = \frac{\text{izmjerena koncentracija} - \text{spajkovana koncentracija}}{\text{spajkovana koncentracija}} \times 100\% \quad \text{Jednadžba 3}$$

u' (bias) može se izračunati pomoću sljedeće jednadžbe:

$$u'(\text{bias}) = \sqrt{\text{RMS}'(\text{bias})^2 + u'(\text{Cref})^2} \quad \text{Jednadžba 4}$$

$$\text{s RMS}'(\text{bias}) = \text{korijen srednje vrijednosti kvadrata relativnog bias-a} = \sqrt{\frac{\sum \text{bias}_i^2}{N}} = \sqrt{\text{srednja vrijednost}_{\text{bias}}^2 + SD.P^2 \text{bias}}$$

gdje je srednja vrijednost_{bias}= prosjek relativnog bias-a

SD.Pbias= standardna devijacija populacije relativnog bias-a (stdev.p u Excelu)

$u'(\text{C ref})$ = nesigurnost spajkovane koncentracije.

Kad se certificirani analitički standardi i kalibrirani/provjereni volumetrijski materijal/vaga koriste za pripremu spajkovanih uzoraka, može se prepostaviti da je nesigurnost povezana s razinom spajkovanja zanemariva. Jednadžba 4 zatim se pojednostavljuje na:

$$u'(\text{bias}) = \sqrt{\text{sredna vrijednost}_{\text{bias}}^2 + SD.P_{\text{bias}}^2} \quad \text{Jednadžba 5}$$

Procjena komponente u' (bias) s korekcijom za iskorištenje

U slučaju da se rezultat analize matematički korigira za iskorištenje pomoću faktora iskorištenosti (vidi E4), tada se u' (bias) može izračunati pomoću sljedeće jednadžbe:

$$u'(\text{bias}) = \sqrt{\left(\frac{\text{RSD}_{\text{WR}}}{\sqrt{N}}\right)^2 + u'(\text{Cref})^2} \quad \text{Jednadžba 6}$$

gdje je RSD_{WR} = unutarlaboratorijska obnovljivost iskorištenja

N = broj testova iskorištenja

Kada se za pripremu spajkovanih uzoraka koriste certificirani analitički standardi i kalibrirani /provjereni volumetrijski materijal/vaga, može se prepostaviti da je nesigurnost povezana s razinom spajkovanja zanemariva. Jednadžba se 6 zatim pojednostavljuje na:

$$u'(\text{bias}) = \frac{\text{RSD}_{wR}}{\sqrt{N}}$$

Jednadžba 7

Procjena komponente u' (preciznost)

Kao komponenta preciznosti unutarlaboratorijske obnovljivosti (RSD_{wR}) pesticida koristi se:

$$u'(\text{preciznost}) = \text{RSD}_{wR}$$

Jednadžba 8

Poželjno je da se RSD_{wR} dobije iz spajkovanih uzoraka od ≥ 10 serija uzoraka tijekom duljeg vremenskog razdoblja (kontinuirana validacija). Kada se analizira više matriksa iz robne skupine i koristi se jedna vrijednost RSD_{wR} za tu skupinu, RSD_{wR} bi se trebao temeljiti na uzorcima različitih matriksa koji odražavaju opseg analize kako bi se dobila realna procjena za robnu skupinu. Preporuča se povremeno ponovno procijeniti RSD_{wR} , npr. svake godine, ili u slučaju niske učestalosti primjene metode svakih 20 rezultata i razmotriti ažuriranje RSD_{wR} (bilo korištenjem cijelog skupa podataka ili samo novijih podataka).

Ako podaci o validaciji koja je u tijeku (još) nisu dostupni, mogu se koristiti podaci ponovljivosti iz početne validacije. Imajte na umu da će osobito kada ovo predstavlja samo jedan matriks analiziran u jednom danu, to vjerojatno rezultirati podcenjivanjem komponente preciznosti.

Procjena kombinirane mjerne nesigurnosti

Kombinirana merna nesigurnost procjenjuje se jednadžbom 2, a korištenjem jednadžbi 5 i 8 je:

$$u' = \sqrt{sredna\ vrijednost_{bias}^2 + SD \cdot P_{bias}^2 + \text{RSD}_{wR}^2}$$

Jednadžba 9

Kada se rezultati analize matematički korigiraju za iskorištenje pomoću faktora iskorištenja, kombinirana merna nesigurnost procjenjuje se jednadžbom 2, koristeći jednadžbe 7 i 8:

$$u' = \sqrt{\left(\frac{\text{RSD}_{wR}}{\sqrt{N}}\right)^2 + \text{RSD}_{wR}^2}$$

Jednadžba 10

Napomena: kada je $N \geq 9$, u' je približno RSD_{wR}

Primjeri izračuna:

Primjer A.

Ovaj se primjer odnosi na svaku situaciju u kojoj rezultati nisu korigirani za iskorištenje. Laboratorij analizira pesticid X u voću i povrću (robna skupina 1, Dodatak A). U svaku seriju uzoraka uključen je uzorak spajkovan na 0,050 mg/kg. Svaki put se bira drugi matriks kako bi se uzela u obzir varijabilnost matriksa iz ove robne skupine. U ovom se primjeru merna nesigurnost temelji na podatcima iz kontrole kvalitete dobivenim nakon devet serija analiza (Tablica I).

Tablica I. Primjer A, pesticid X (mali bias, dobra unutarlaboratorijska obnovljivost)

Datum	QC uzorci spajkovani na razinu 0,05 mg/kg	Izmjereno (mg/kg)	Rel. bias (%) Jednadžba 3
10/01	Jabuka	0.051	2

26/01	Kruška	0.045	-10
04/02	Salata	0.050	0
08/02	Cvjetača	0.056	12
22/02	Višnja	0.052	4
28/02	Luk	0.046	-8
05/03	Francuski grah	0.048	-4
06/03	Mrkve	0.045	-10
22/03	Poriluk	0.037	-26
	N	9	
	Srednja vrijednost	0.0478	-4.4
	SD.bias (Stdev,p)(%)		10.232
	Izmjena standardne devijacije (mg/kg)(stdev.s)	0.00543	
	RSD _{WR} (%)	11.357	
	$u'(bias) (\%)$ (jednadžba 5)		11.1555
	$u'(\text{preciznost}) = RSD_{WR} (\%)$ (jednadžba 8)	11.357	
	$u'(\text{kombinacija}) (\%)$ (jednadžbe od 2 do 9)	15.920	
	$u'(\text{proširena MU}) (\%)$ (jednadžba 1)	31.839	

Procijenjena proširena mjerna nesigurnost iznosi 32%. Za pesticid X, laboratorij je pokazao da prošireni MU ne prelazi zadatu vrijednost od 50% (E13). Regulatorna tijela mogu koristiti 50% zadane vrijednosti za odluke o provedbi.

Primjer B.

Ovaj je primjer sličan primjeru A, ali za ovaj pesticid primjećuje se relativno veliko mjerno odstupanje. Kao što se može vidjeti iz izračuna u tablici II, dok je RSD_{WR} isti kao u primjeru A, veći bias rezultira proširenim MU od 63%.

Tablica II. Primjer B, pesticid Y (visoki bias, dobra unutarlaboratorijska obnovljivost)

Datum	QC uzorci spajkovani na razinu 0,05 mg/kg	Izmjereno (mg/kg)	Rel. mjerno odstupanje (%) Jednadžba 3
10/01	Jabuka	0.038	-24
26/01	Kruška	0.034	-32
04/02	Salata	0.037	-26
08/02	Cvjetača	0.042	-16
22/02	Višnja	0.039	-22
28/02	Luk	0.034	-32
05/03	Francuski grah	0.036	-28
06/03	Mrkve	0.034	-32
22/03	Poriluk	0.028	-44
	N	9	
	Srednja vrijednost	0.0358	-28.4

SD.P _{mjerno odst (Stddev.p)(%)}	7.470
Izmjena standardne devijacije (mg/kg)(stddev.s)	0.00396
RSD _{wR (%)}	11.073
$u'(mjerno odst.)\%$ (jednadžba 5)	29.4090
$u'(preciznost)=$ RSD _{wR (%)} (jednadžba 8)	11.073
$u'kombinacija \%$ (jednadžbe od 2 do 9)	31.424
$u'(proširena MU)\%$ (jednadžba 1)	62.849

Za pesticid Y, laboratorij je pokazao da proširena mjerna neizvjesnost premašuje 50% zadane vrijednosti (E13) kada se rezultati ne korigiraju za iskorištenje. Ako su na kraju analitičkog programa rezultati ispravljeni za prosječno iskorištenje postignuto tijekom tromjesečnog razdoblja, tada u '(bias) treba odravljati nesigurnost povezana sa prosječnim iskorištenjem i primjenjuje se jednadžba 7. Prosječno iskorištenje u primjeru B je $[100\% - bias\%] = 71,6\%$. RSD_{wR} ovog iskorištenja jednako je RSD_{wR} izmjerena koncentracija (11,073%). Uz to, u '(bias) prema jednadžbi 7 iznosi 3,691%, što rezultira kombiniranim u' od 11,672% i proširenom mernom nesigurnosti od 23%.

Pristup 2. Procjena generičkog MU-a pomoću podataka PT

Jasno je da za multirezidualne metode primijenjene na širok raspon matriksa, izračun pojedinačnih MU-a (mjerne nesigurnosti) možda nije uvijek moguće jer zahtjeva znatne napore, a podaci o mernom odstupanju možda neće biti dostupni za sve pesticide u dovoljnom broju matriksa. Kao alternativa pristupu 1, proširena MU može se izračunati korištenjem relativne standardne devijacije unutarlaboratorijske obnovljivosti u kombinaciji s procjenama metode i laboratorijskom mernom odstupanju pomoću podataka provjere sposobnosti (PT)² primjenom jednadžbe 11.

$$u' = \sqrt{U'(RSD_{wR})^2 + U'(bias)^2} \quad \text{Jednadžba 11}$$

U jednadžbi 11:

u' je kombinirana standardna nesigurnost

u' (RSD_{wR}) je unutarlaboratorijska obnovljivost

u' (bias) je komponenta nesigurnosti koja proizlazi iz metode i laboratorijskog mernog odstupanja, procijenjenog iz podataka PT.

Za izračunavanje u' (RSD_{wR}) poželjno je upotrijebiti podatke o dugotrajnoj kontroli kvalitete (QC), premda se mogu uključiti i iskorištenja iz validacijskih rezultata.

Napomena: unutarlaboratorijska varijabilnost koja dolazi od kalibracije smatra se uključenom u dugoročnu varijabilnost iskorištenja dugoročne kontrole kvalitete¹.

Izračunava se standardno odstupanje svih postotaka iskorištenja uzetih u obzir.

Za ovdje predstavljeni primjer, uzimaju se validacijska iskorištenja za sve pesticide koji su validirani istom metodom višestrukih ostataka (MRM) i za koje se laboratorij koristi za sudjelovanje u PT. Također su uključeni podaci za iskorištenja dobiveni iz kontrole kvalitete u rasponu od 60% do 140% za dvije

različite razine i za matrice voća i povrća koje se normalno analiziraju u laboratoriju. Mora se uzeti u obzir najmanje 31 rezultat. Za dvije metode: jednu za LC s 93 pesticida i drugu za GC s 66 pesticida, standardno odstupanje svih postotaka iskorištavanja je 0,15. Stoga je $U' (RSD_{WR}) = 0,15$.

Komponenta U' (bias) izračunava se na temelju rezultata laboratorija u PT studijama kako je navedeno u mnogim smjernicama¹⁴. Sudjelovanje službenih laboratorija EU-a u EUPT-ima je obvezno.

Stoga će uzimanje rezultata iz najmanje 2 EUPT-FV pružiti dovoljno podataka (iznad 31 rezultat) za provođenje ovog pristupa.

Za ovaj primjer, dva prijavljena rezultata EUPT-FV su ukupno 39 rezultata pesticida. Iz ove dvije PT informacije koje treba koristiti su dodijeljena vrijednost ili medijan, stvarna disperzija rezultata koje su laboratoriji prijavili za svaki od pesticida prisutnih u uzorku (Q_n ili robusna standardna devijacija) i broj laboratorija koji izvještavaju o kvantitativnim rezultatima za te pesticide.

Tablica III prikazuje broj EUPT-FV u kojem je sudjelovao laboratorij (stupac A), prijavljeni pesticidi (stupac B), prijavljena koncentracija pesticida (stupac C), dodijeljena vrijednost ili medijan (stupac D), kvadrat pristranost (stupac E) koji je $[(stupac\ C - stupac\ D) / (stupac\ D)]^2$, zatim disperzija podataka sudionika ili Q_n (stupac F), zatim broj laboratorija koji izvještavaju o rezultatima za svaki od pesticida (stupac G), zatim kvadratni korijen stupca G (stupac H), a zatim koeficijent između stupca F i stupca H (stupac I).

Tada se koristi jednadžba 12:

$$U' = \sqrt{RMS_{bias}^2 + U'(C_{ref})^2} \quad \text{Jednadžba 12}$$

Gdje je:

- RMS'_{bias} je srednji kvadratni korijen zbroja kvadrata bias-a [(zbroj stupca E) podijeljen s brojem rezultata preuzetim iz PT-a ($m = 39$)] kako je naznačeno u jednadžbi 13.

$$RMS'_{bias} = \sqrt{\sum \frac{(bias_i')^2}{m}} = \sqrt{\frac{1.999}{39}} = 0.2263 \quad \text{Jednadžba 13}$$

- $U'(C_{ref})$ je procjena prosjeka za nekoliko PT-a. Izračunava se kao zbroj Q_n podijeljen s kvadratnim korijenom broja rezultata koji su laboratoriji prijavili za svaki od pesticida u opsegu (stupac I), a zatim podijeljen s brojem rezultata (m) preuzetim s PT-a (39) i pomnoženo s faktorom 1.253 prema ISO 13528²¹.

ISO navodi da se $U'(C_{ref})$ mora pomnožiti s ovim faktorom, kad god je dodijeljena vrijednost u PT-ima sredina. Izračunava se prema jednadžbi 14.

$$U'(C_{ref}) = \frac{\sum_i \frac{Q_n}{\sqrt{N_o}}}{m} \times 1.253 = \frac{0.9326}{39} \times 1.253 = 0.02996 \quad \text{Jednadžba 14}$$

Kada unesemo rezultate iz jednadžbe 13 i 14 u jednadžbu 12, dobivamo $U' (bias)$:

$$U' (bias) = \sqrt{(RMS_{bias}')^2 + U'(C_{ref})^2} = \sqrt{0.2263^2 + 0.02996^2} = 0.2284$$

²¹ ISO 13528: Statističke metode za upotrebu u ispitivanju sposobnosti međulaboratorijskim usporedbama, Međunarodna organizacija za standardizaciju

Napomena: u' (bias) može se izračunati iz sudjelovanja laboratorija u drugim PT-ovima.
Sada se vratimo na jednadžbu 11 i unos u' (RSD_{WR}) = 0.15 i u' (bias):

$$U' = \sqrt{U'^2(RSD_{WR})^2 + U'^2(bias)^2} = \sqrt{0.15^2 + 0.2284^2} = 0.2732$$

Dakle, natrag na jednadžbu 1, $u' = 0.27$ i proširena mjerna neizvjesnost je prema tome:
 $U' = k \times u' = 2 \times 0.273 = 0.546$ $U' = 54.6\%$

Tablica III

A	B	C	D	E	F	G	H	I
EUPT-FV	Pesticides	Lab Results	PT Assigned Values	$(bias')^2$	Qn	No. Results	$\sqrt{No.}$	$\frac{Qn}{\sqrt{No.}}$
EUPT-FV-10 Carrot	Acetamiprid	0.337	0.419	0.0383	0.18	85	9.220	0.020
	Boscalid	0.139	0.238	0.1720	0.22	74	8.602	0.026
	Chlorpyrifos-methyl	0.056	0.078	0.0796	0.26	126	11.225	0.023
	Diazinon	0.412	0.603	0.1003	0.24	125	11.180	0.021
	Endosulfan Sulphate	0.062	0.102	0.1538	0.29	110	10.488	0.028
	Hexythiazox	0.396	0.509	0.0493	0.29	80	8.944	0.032
	Isofenphos-methyl	0.436	0.499	0.0159	0.17	69	8.307	0.020
	Kresoxim-methyl	0.028	0.050	0.1936	0.22	113	10.630	0.021
	Malathion	0.697	0.771	0.0091	0.32	124	11.136	0.029
	Methamidophos	0.245	0.342	0.0798	0.37	103	10.149	0.036
	Methiocarb	0.096	0.157	0.1510	0.31	65	8.062	0.038
	Methomyl	0.538	0.739	0.0740	0.22	88	9.381	0.023
	Oxamyl	0.274	0.322	0.0222	0.19	84	9.165	0.021
	Pendimethalin	0.056	0.074	0.0592	0.21	96	9.798	0.021
	Phosmet	0.139	0.236	0.1689	0.28	95	9.747	0.029
	Quinoxifen	0.244	0.298	0.0328	0.23	95	9.747	0.024
	Triadimenol	0.265	0.331	0.0398	0.27	103	10.149	0.027
	Vinclozolin	0.90	1.04	0.0181	0.24	124	11.136	0.022
EUPT-FV-11 Cauliflower	Aldicarb	0.679	0.658	0.0010	0.20	91	9.539	0.021
	Azinphos-methyl	0.349	0.355	0.0003	0.28	128	11.314	0.025
	Boscalid	0.373	0.414	0.0098	0.25	102	10.100	0.025
	Buprofezin	0.453	0.638	0.0841	0.30	118	10.863	0.028
	Cadusafos	0.810	0.611	0.1061	0.24	76	8.718	0.028
	Carbofuran	0.245	0.283	0.0180	0.20	107	10.344	0.019
	Deltamethrin	0.138	0.157	0.0146	0.25	130	11.402	0.022
	Diazinon	1.140	1.25	0.0077	0.26	144	12.000	0.022
	Isofenphos-methyl	0.498	0.54	0.0060	0.24	86	9.274	0.026
	Lambda-cyhalothrin	0.211	0.266	0.0428	0.24	138	11.747	0.020
	Metalaxyl	0.445	0.45	0.0001	0.21	122	11.045	0.019
	Methamidophos	0.341	0.4045	0.0246	0.33	109	10.440	0.032
	Methidathion	0.453	0.472	0.0016	0.24	136	11.662	0.021
	Methomyl	0.190	0.277	0.0986	0.18	84	9.165	0.020
	Monocrotophos	0.322	0.4375	0.0697	0.21	95	9.747	0.022
	Oxamyl	0.230	0.2485	0.0055	0.17	89	9.434	0.018
	Parathion-methyl	0.277	0.32	0.0181	0.24	129	11.358	0.021
	Phosalone	0.383	0.368	0.0017	0.30	136	11.662	0.026
	Procymidone	0.750	0.78	0.0015	0.20	136	11.662	0.017
	Thiacloprid	0.961	0.879	0.0087	0.15	82	9.055	0.017
	Triazophos	0.612	0.538	0.0189	0.30	132	11.489	0.026
$\sum(bias')^2$				1.999	$\sum \frac{Qn}{\sqrt{No.}}$		0.9326	
				No. of Results (m) 39				

Prilog D. Primjer zaokruživanja, izvještavanja i tumačenja rezultata

Zaokruživanje:

Sljedeća opća pravila predložena su za zaokruživanje rezultata koncentracije ostataka pesticida:

- Rezultat treba zaokružiti na dvije značajne brojke za rezultate $< 10 \text{ mg/kg}$ ili tri značajne brojke (ili na cijeli broj) za rezultate $\geq 10 \text{ mg/kg}$ (vidi odlomak E6).
- Ako je znamenka koja slijedi znamenku koja se zaokružuje u primarnom rezultatu 0, 1, 2, 3 ili 4, znamenka se neće promijeniti kada se primjeni zaokruživanje.
- Ako je znamenka koja slijedi znamenku koja se zaokružuje u primarnom rezultatu 5, 6, 7, 8 ili 9, znamenka će se povećati za jednu jedinicu kada se primjeni zaokruživanje.
- Proširena mjerna nesigurnost procijenit će se pomoću konačnog zaokruženog rezultata.
- Vrijednost proširene nesigurnosti zaokružit će se uporabom istih pravila. Vrijednost proširene nesigurnosti treba dati s jednakim brojem decimala kao i zaokruženi rezultat.

Primjer:

Primarni rezultat = 0.02454705 mg/kg

Ovaj rezultat treba zaokružiti na dvije značajne brojke (0.02454705)

Rezultat nakon zaokruživanja = 0.025 mg/kg (konačni rezultat; dvije značajne brojke)

Primarna vrijednost za proširenu nesigurnost(50% kriterija) = $0.025/2 = 0.0125 \text{ mg/kg}$

Zaokružena vrijednost proširene nesigurnosti = 0.013 mg/kg

PRIJAVLJENI REZULTAT = 0.025 mg/kg \pm 0.013 mg/kg (k = 2; 95%)

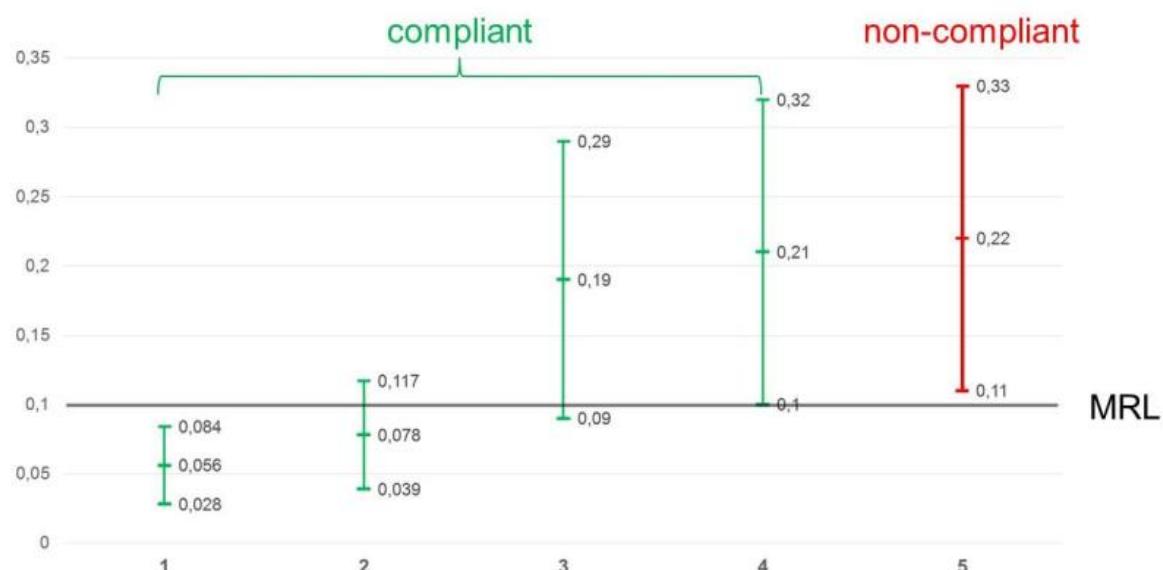
Primjeri zaokruživanja i tumačenja rezultata:

U sljedećoj tablici dati su primjeri zaokruživanja i tumačenja rezultata. U stupcima Primarni rezultat i Primarna vrijednost za proširenu nesigurnost znamenka koju treba zaokružiti označena je podebljanim slovima. Tumačenje rezultata je u skladu s E15 gdje je navedeno da se uzorak smatra nesukladnim ako je $x - U > MRL$.

No.	Primary result (mg/kg)	Rounded result (mg/kg)	Primary value for the Expanded Uncertainty (mg/kg)	Rounded value of the Expanded Uncertainty (mg/kg)	Reported result (mg/kg)	Result plus Expanded Uncertainty (mg/kg)	Result minus Expanded Uncertainty (mg/kg)	MRL (mg/kg)	Interpretation
1	0.05 5 97	0.056	± 0.028	± 0.028	0.056 ± 0.028	0.084	0.028	0.1	Result plus expanded uncertainty $< MRL$; Compliant
2	0.07 8 43	0.078	± 0.039	± 0.039	0.078 ± 0.039	0.117	0.039	0.1	Result $< MRL$; Compliant

										Result > MRL;
3	0.1943	0.19	± 0.095	± 0.10	0.19 ± 0.10	0.29	0.09	0.1	Compliant due to the uncertainty interval	
4	0.2134	0.21	± 0.105	± 0.11	0.21 ± 0.11	0.32	0.10	0.1	Result > MRL; Compliant due to the uncertainty interval	
5	0.2168	0.22	± 0.110	± 0.11	0.22 ± 0.11	0.33	0.11	0.1	Result minus expanded uncertainty > MRL; Non-compliant	

Prijavljeni rezultati s obzirom na njihove nesigurnosti.



Prilog E. Pojmovnik

Točnost (eng. accuracy)	Stupanj podudarnosti između rezultata ispitivanja i stvarne ili prihvaćene referentne vrijednosti. Kada se primjenjuje na skup rezultata, podrazumijeva kombinaciju nasumične greške (procijenjene kao preciznost) i srednje sustavne pogreške (istinitost ili mjerno odstupanje) (ISO 5725-1).
Aduktni ion (eng. adduct ion)	Ion nastao interakcijom prekursor iona i jednog ili više atoma ili molekula radi formiranja iona koji sadrži sve sastavne atome prekursor iona kao i dodatne atome pridruženih atoma ili molekula.
Analit (eng. analyte)	Kemijska tvar kojoj je potrebno odrediti koncentraciju (ili masu). U smislu ovih postupaka: pesticid ili metabolit, produkt razgradnje ili derivat pesticida ili internog standarda.
AQC – analytical quality control	Analitička kontrola kvalitete. Zahtjevi za mjerjenje i bilježenje namijenjeni prikazivanju djelotvornosti analitičke metode u rutinskoj praksi. Podatci nadopunjuju podatke nastale pri validaciji metode. Podatci iz analitičke kontrole kvalitete mogu se koristiti za validaciju proširenja metode na nove analite, nove matriksse i nove razine. Sinonim terminima interna kontrola kvalitete (IQC) i provjera djelotvornosti. Istodobni podatci AQC su oni nastali tijekom analize serije u koju je uključen određeni uzorak.
Serija (analiza)	Za ekstrakciju, čišćenje i slične postupke, serija je niz uzoraka koje usporedo obrađuje analitičar (ili tim analitičara), obično u jednom danu, a treba sadržavati barem jedno utvrđenje iskorištenja. Za sustav utvrđivanja, serija je niz uzet bez značajnijeg vremenskog prekida, a koji uključuje sva relevantna kalibracijska utvrđenja (što se naziva i „sekvenca“, „kromatografski slijed“, itd.). Serija za utvrđivanje može sadržavati više od jedne serije za ekstrakciju. Ovaj dokument ne podrazumijeva „seriju“ u smislu IUPAC-a ili Codexa, koji se odnosi na proizvodne serije ili serije u poljoprivrednoj proizvodnji.
Mjerno odstupanje (eng. bias)	Razlika između srednje izmjerene vrijednosti i stvarne vrijednosti (referentne vrijednosti).
Slijepa proba (eng. blank)	(i) Materijal (uzorak ili dio ili ekstrakt uzorka) za koji se zna da ne sadrži razine traženog/ih analita koje je moguće otkriti. Naziva se i slijepa proba uzorka (matriksa). (ii) Primjena cijelokupnog analitičkog postupka uz korištenje samo otapala i reagenasa; bez ispitnog dijela uzorka (voda može zamijeniti uzorak kako bi ispitivanje bilo realistično). Naziva se i slijepa proba reagensa.
Kalibracija grupiranjem (eng. bracketing calibration)	Organiziranje analitičke serije tako da se sustav detekcije kalibrira neposredno prije i poslije ispitivanja uzorka. Na primjer: kalibrant 1, kalibrant 2, uzorak 1, uzorak n. kalibrant

	1, kalibrant 2.
Kalibracija (eng. calibration)	Utvrđivanje odnosa između promatranog signala (odziva sustava za detekciju) ciljanog analita u ekstraktu uzorka i poznatih količina analita pripremljenog kao standardne otopine. U ovom se dokumentu kalibracija ne odnosi na kalibraciji opreme za vaganje i mjerjenje zapremine, masenu kalibraciju masenih spektrometara i tako dalje.
Kalibracijski standard (eng. calibration standard)	Otopina (ili drugi rastvor) analita (i internog standarda, ukoliko se koristi) koja se koristi za kalibraciju sustava za određivanje. Može se pripremiti od radnog standarda ili može biti na matriksu.
Potvrđeni referentni materijal (eng. certified reference material, CRM)	Vidi referentni materijal.
Kemijska ionizacija (eng. chemical ionisation, CI)	Kemijska ionizacija za GC-MS(/MS)
Usitnjavanje (eng. comminution)	Proces reduciranja čvrstog uzorka na manje fragmente miješanjem, drobljenjem, pulverizacijom, mljevenjem, itd.
Potvrda (eng. confirmation)	<p>Potvrda je kombinacija dviju ili više analiza koje se međusobno slažu (u idealnom slučaju, primjenom ortogonalne selektivnosti metoda) od kojih barem jedna udovoljava kriterijima identifikacije.</p> <p>Nemoguće je potvrditi potpuno odsustvo ostataka. Usvajanjem „RL“ na LCL izbjegava se neopravданo visoka cijena potvrde prisutnost ili odsutnost ostataka na nepotrebno niskim razinama.</p> <p>Priroda i opseg potvrde potrebeni za pozitivan rezultat ovise o važnosti rezultata i učestalosti pronalaska sličnih ostataka.</p> <p>Analize temeljene na ECD-u obično zahtijevaju potvrdu zbog nedostatka konkretnosti.</p> <p>Tehnike masene spektrometrije često su najpraktičniji i najmanje dvosmislen pristup potvrdi.</p> <p>Postupci analitičke kontrole kvalitete za potvrdu trebaju biti rigorozni.</p>
Kontaminacija (eng. contamination)	Nenamjerno uvođenje ciljanog analita u uzorak, ekstrakt, rastvor internog standarda, itd. bilo kojim putem i u bilo kojoj fazi uzorkovanja ili ispitivanja.
Sustav određivanja/detekcije (eng. determination/detection system)	Svaki sustav koji se koristi za detekciju i određivanje koncentracije ili mase analita. Na primjer: GC-MS(/MS), GC-FPD, LC-MS/MS, LC-ToF, itd.
Odstupanje koncentracije izračunate unatrag (eng. deviation of back-calculated concentration)	<p>Odstupanje izračunate koncentracije kalibracijskih standarda po kalibracijskoj funkciji od stvarnih koncentracija</p> <p>Odstupanje koncentracije izračunate unatrag (%) = $(C_{\text{izmjeren}} - C_{\text{stvarna}}) \times 100 / C_{\text{stvarna}}$</p>
ECD - electron-capture detector	Detektor elektronskog zahvata.
EI - electron ionisation	Ionizacija elektronima

EU (eng. European Union)	Europska unija
Lažno negativni rezultat (eng. false negative)	Rezultat koji pogrešno ukazuje da koncentracija analita ne prelazi određenu vrijednost.
Lažno pozitivni rezultat (eng. false negative)	Rezultat koji pogrešno ukazuje da koncentracija analita prelazi određenu vrijednost.
FPD i PFPD - flame photometric detector i pulsed flame photometric detector	Plameno-fotometrijski detektor i pulsno-plameni fotometrijski detektor (može biti samo za detekciju sumpora ili fosfora).
Fragmentirani ion (eng. fragment ion)	Prodot ion koji je rezultat disocijacije prekursor iona.
GC - gas chromatography	Plinska kromatografija
Identifikacija (eng. identification)	<p>Je kvalitativni rezultat metode koji je u mogućnosti dati strukturne informacije (npr. korištenjem detekcije masenom spektrometrijom (MS)) koje zadovoljavaju prihvatljive kriterije u svrhu ispitivanja.</p> <p>Proces prikupljanja dovoljnih dokaza kako bi se osigurao valjan rezultat za određeni uzorak. Da bi mogli biti kvantificirani, analiti moraju biti pravilno identificirani.</p> <p>Postupci analitičke kontrole kvalitete za identifikaciju trebaju biti rigorozni.</p>
Interferencija (eng. interference)	Pozitivan ili negativan odziv koji proizvode drugi spoj(evi), a ne analit, koji doprinosi odzivu izmjerrenom za analit ili čini integraciju odziva analita manje sigurnom ili točnom. Interferencija se također slobodno naziva "kemijski šum" (za razliku od elektronskog šuma, „šuma plamena“, itd.). Učinci matriksa su suptilni oblik interferencije. Veća selektivnost detektora može smanjiti neke oblike interferencije. Ako se interferencija ne može kompenzirati, njeni učinci mogu biti prihvatljivi ako ne postoji značajan utjecaj na točnost.
Unutarnja kontrola kvalitete (eng. internal quality control, IQC)	Vidi AQC.
Interni standardi (eng. internal standards)	Definicije su navedene u glavnom dijelu teksta (C31-C37)
Laboratorijski uzorak (eng. laboratory sample)	Uzorak poslan i primljen u laboratorij.
LC - liquid chromatography	Tekućinska kromatografija (prije svega tekućinska kromatografija visoke djelotvornosti, HPLC, i tekućinska kromatografija ultra visoke djelotvornosti, UPLC).
LCL - lowest calibrated level	Najniža razina kalibracije. Najniža koncentracija (ili masa) analita s kojom se sustav određivanja uspješno kalibrira kroz cijelu seriju analize. Vidi također „granica izvještavanja“.
LC-MS/MS - liquid chromatographic separation coupled with tandem mass spectrometric detection	Separacija tekućinskom kromatografijom sa detekcijom tandem masenom spektrometrijom
Razina (eng. level)	U ovom dokumentu, odnosi se na koncentraciju (npr. mg/kg, µg/ml) ili količinu (npr. ng, pg).
LOD - level of determination (kako je definirana u Uredbi 396/2005)	Granica određivanja podrazumijeva validiranu najnižu koncentraciju ostataka koja se može količinski odrediti i o kojoj se može izvjestiti putem rutinskog praćenja uz pomoć

	validiranih metoda; U ovom smislu može se smatrati LOQ (vidi u daljem tekstu).
LOQ - limit of quantitation (quantification)	<p>Granica kvantitacije (granica kvantifikacije). Najniža koncentracija ili masa analita koja je validirana uz prihvatljuvu točnost primjenom potpune analitičke metode i kriterija za identifikaciju.</p> <p>Izraz LOQ ima prednost pred izrazom LOD, jer se njegovim korištenjem izbjegava moguća zamjena s izrazom „granica detekcije“ (eng. limit of detection, LOD). Međutim, u Uredbi 396/2005, MRL (maksimalna razina ostataka) koji su postavljeni na granicu kvantifikacije/određivanja navode se kao LOD MRL, ne kao LOQ MRL.</p>
Točnost mase (eng. mass accuracy):	<p>Točnost mase je odstupanje <i>točno</i> mjerene mase od izračunate <i>točne</i> mase jednog iona. Može se izraziti kao apsolutna vrijednost u miliDaltonima (mDa) ili kao relativna vrijednost pogreške u dijelovima na milijun (ppm) i izračunava se na sljedeći način:</p> <p>(točno mjerena masa – izračunata točna masa)</p> <p>Primjer:</p> <p>eksperimentalno izmjerena masa = 239,15098 teoretska točna masa m/z iona = 239,15028 Točnost mase = $(239,15098 - 239,15028) / 239,15028 * 10^6 = 0,7 \text{ mDa}$ ili (točno mjerena masa – izračunata točna masa)/izračunata točna masa * 10^6</p> <p>Primjer:</p> <p>eksperimentalno izmjerena masa = 239,15098 teoretska točna masa m/z iona = 239,15028 Točnost mase = $(239,15098 - 239,15028) / 239,15028 * 10^6 = 2,9 \text{ ppm}$</p>
Raspon ekstrakcije mase (eng. mass extraction window, MEW)	Širina raspona mase oko točno izmjerene mase korištene za dobijanje kromatograma ekstrakcijskog iona, npr. točno izračunata masa $\pm 1 \text{ mDa}$ ili točno izračunata masa $\pm 5 \text{ ppm}$.
Masena razlučivost (eng. mass resolution)	<p>Masena razlučivost (definicija širine pika, eng. FWHM): $(m/z) / \Delta(m/z)$, gdje je $\Delta(m/z)$ puna širina pika masenog profila na polovini maksimalne visine.</p> <p>Razlučivost instrumenta masene spektrometrije je sposobnost razlikovanja između dva iona sa sličnim vrijednostima m/z (IUPAC-ova definicija:²² najmanja razlika u masi između dva pika jednake veličine tako da je dolina između njih određeni dio visine pika).</p>
Razlučiva snaga (eng. mass resolving power)	<p>Razlučiva snaga: mijera sposobnosti masenog spektrometra za davanje određene vrijednosti masene razlučivosti (dakle: specifikacija instrumenta)</p> <p>Razlučiva snaga, definirana na punoj širini na polu maksimuma (FWHM) je $m / \Delta m$, gdje je m m/z koji se mjeri, a</p>

²² Murray et al (2013. Pure Appl. Chem., 85, str. 1515-1609

	<p>Δm je širina masenog pika na pola visine pika.</p> <p>Napomena 1: za instrumente magnetskog sektora koristi se druga definicija („dolina 10%“). Otprilike, razlika između dvije definicije jeste faktor 2 (tj. 10 000 razlučive snage metodom dolina 10% jednako je 20 000 razlučive snage pomoću FWHM).</p> <p>Napomena 2: razlučiva snaga često dovodi do zabune ili se koristi u istom značenju kao masena razlučivost (vidi definiciju u prednjem tekstu).</p>
Slijepi matriks (eng. matrix blank)	Vidi slijepi materijal
Utjecaj matriksa (eng. matrix effect)	Utjecaj jednog ili više zajednički ekstrahiranih spojeva iz uzorka na mjerjenje koncentracije ili mase analita. Može se promatrati kao povećani ili smanjeni odziv detektora u usporedbi s odzivom otopina s otapalima analita. Prisutnost ili odsutnost takvih utjecaja može se prikazati uspoređivanjem odziva proizvedenog iz analita u otapalu s onim koji je dobijen od iste količine analita u ekstraktu uzorka.
Kalibracija na matriksu /matriks kalibracija (eng. matrix-matched/matrix-based calibration)	Kalibracija koja koristi standarde pripremljene u ekstraktu istog (na matriksu) ili bilo kojeg drugog slijepog matriksa.
Može (eng. may)	MAY u ovom dokumentu znači možda ili moguća opcija (aktivnost je po izboru).
Metoda (eng. method)	Niz postupaka ili koraka, od primitka uzorka do izračuna rezultata i izvještavanja o njima.
Validacija metode (eng. method validation)	Proces karakterizacije izvedbe koji se očekuje od metode u smislu njenog opsega, specifičnosti, točnosti, osjetljivosti, ponovljivosti i unutarlaboratorijske obnovljivosti. Neke informacije o svim svojstvima osim unutarlaboratorijske obnovljivosti treba utvrditi prije analize uzorka, dok se podatci o obnovljivosti i proširenju opsega mogu proizvesti iz analitičke kontrole kvalitete (eng. AQC) tijekom analize uzorka. Gdje god je to moguće, procjena točnosti treba uključivati analizu potvrđenih referentnih materijala, sudjelovanje u provjerama sposobnosti ili drugim međulaboratorijskim usporedbama.
MRL - maximum residue level	Maksimalna razina ostataka. Uredba br. 396/2005 navodi MRL za kombinacije pesticida/proizvoda, zvjezdica označava da je MRL * postavljen na LOQ ili približnu vrijednost, dok je sam LOQ ovdje dogovoren brojka, a ne izmjerena vrijednost.
MRM - multi-reside method	U analizi ostataka pesticida: metoda za više vrsta ostataka
MRM - multiple reaction monitoring, praćenje višestrukih reakcija	U masenoj spektrometriji: primjena praćenja odabranih reakcija (eng. selected reaction monitoring, SRM) na više produkt iona od jednog ili više prekursor iona.
MS - mass spectrometry	Masena spektrometrija.
MS/MS - tandem mass spectrometry	Tandemna spektrometrija masa, ovdje se podrazumijeva da uključuje MS ⁿ . Postupak masene spektrometrije (MS) u kojem se ioni odabranog omjera mase i naboja (m/z) iz postupka primarne ionizacije izoliraju, fragmentiraju obično

	sudarom i odvajaju se produkt ioni (MS/MS ili MS ²). U masenim spektrometrima s ionskom stupicom, postupak se može ponavljati na nizu produkt iona (MS ⁿ), iako to obično nije praktično s niskom razinom ostataka.
Mora (must)	MORA u ovom dokumentu znači apsolutni uvjet (aktivnost je obvezna). NE SMIJE znači apsolutno ne.
Nesukladan ostatak/Ostatak koji ne ispunjava uvjete (ili protuzakonit ostatak) (eng. non-compliant (or violative) residue)	Ostatak koji prekoračuje maksimalnu razinu (eng. MRL) za više od proširene mjerne nesigurnosti
NPD - nitrogen-phosphorus detector	Detektor dušika i fosfora
Provjera djelotvornosti (eng. performance verification)	Vidi Kontrola analitičke kvalitete (AQC)
Preciznost (eng. precision)	Stepen podudarnosti između neovisnih rezultata ispitivanja dobijenih pod unaprijed određenim propisanim uvjetima. Što je manji nasumični dio eksperimentalnih pogrešaka koji utječe na rezultate, to je postupak precizniji. Mjera preciznosti (ili nepreciznosti) je standardna devijacija.
Prekursor ion (eng. precursor ion)	Ion koji reagira kako bi stvorio određene produkt ione ili pretrpi određene neutralne gubitke. Reakcija može biti različitih vrsta, uključujući promjenu ion unimolekularne disocijacije/molekularna reakcija u pobuđenom stanju, kojoj možda prethodi izomerizacija.
Priprema/punjjenje (eng. priming) (injektora i kolona GC)	Učinci postupka punjenja nalikuju dugotrajnim učincima matriksa i uglavnom se javljaju u plinskoj kromatografiji. Obično se može ubrizgati alikvot ekstrakta uzorka koji nije podvrgnut čišćenju nakon postavljanja nove kolone ili lajnера (inserta) injektora ili na početku serije određivanja. Cilj je "deaktivirati" sustav GC i maksimizirati prijenos analita na detektor. U nekim slučajevima mogu se ubrizgati velike količine analita s istim ciljem. U takvim je slučajevima od presudne važnosti da se ubrizgavanje otapala ili slijepih ekstrakata uradi prije analize uzorka kako bi se osiguralo nepostojanje prijenosa analita. Učinci pripreme su rijetko trajni i možda neće eliminirati učinke matriksa.
Slijepi uzorak (eng. procedural blank)	Vidi slijepi materijal.
Produkt ion (eng. product ion)	Ion nastao kao proizvod reakcije koja uključuje određeni prekursor ion.
Slijepi reagens (eng. reagent blank)	Vidi slijepi materijal.
Iskorištenje (eng. recovery) (analita putem analitičke metode)	Udio analita koji ostaje u točki konačnog određivanja nakon njegovog dodavanja (obično slijepom uzorku) neposredno prije ekstrakcije. Obično se izražava u postotcima. Rutinsko iskorištenje odnosi se na utvrđivanje(a) obavljeno s analizom svake serije uzorka.
Referentni materijal (eng. reference material)	Materijal okarakteriziran s obzirom na pojmovno homogeni sadržaj analita. Potvrđeni referentni materijali (eng. CRM) obično su okarakterizirani u brojnim laboratorijima za koncentraciju i homogenost raspodjele analita. Interni referentni materijali karakterizirani su u laboratoriju vlasnika i

	točnost može biti nepoznata.
Referentni spektar (eng. reference spectrum)	Spektar proizvoda (MS) apsorpcijske (npr. UV IR) fluorescentne ionizacije itd. izведен iz analita koji mogu biti karakteristični za to. Referentni maseni spektar po mogućnosti trebao bi biti proizveden od "čistog" standarda (ili otopine "čistog" standard) instrumentom koji se koristi za analizu uzorka, a moraju se koristiti i slični uvjeti ionizacije.
„Referentni standard (eng. „reference“ standard)	Čvrsti, tekući ili plinoviti spoj koji je pripremljen u uglavnom pročišćenom obliku i pakiran na odgovarajući način kako bi se osigurala stabilnost i omogućili prijevoz i skladištenje. Rok trajnosti u uvjetima skladištenja ili čistoća moraju biti navedeni, kao i sadržaj hidratantne vode i izomerni sastav, gdje je to relevantno. Kada se standardi kupuju u otopini, treba ih tretirati kao sekundarne standarde (tj. kao osnovne ili radne otopine).
Ponovljivost (eng. repeatability (r))	Preciznost (standardno odstupanje) mjerjenja analita (obično se dobiva iz iskorištenja ili analize referentnog materijala) dobivena istom metodom na istim uzorcima u jednom laboratoriju, primjenom iste opreme od strane istog (istih) analitičara u kratkom vremenskom razdoblju.. Mjera preciznosti obično se izražava u smislu nepreciznosti i izračunava se kao standardna devijacija rezultata ispitivanja. Može se definirati i kao vrijednost ispod koje se može očekivati da s određenom vjerojatnošću leži absolutna razlika između dva pojedinačna rezultata ispitivanja na identičnom materijalu dobivena pod navedenim uvjetima (npr. 95%)
Odziv (eng. response)	Apsolutni ili relativni signal koji izlazi iz detektora kada nađe na analit.
RSD – relative standard deviation	Relativno standardno odstupanje (relativna standardna devijacija) (koeficijent varijacije).
Uzorak (eng. sample)	Opći pojam s mnogo značenja, ali u ovim se smjernicama odnosi na laboratorijski uzorak, ispitni uzorak, dio za analizu ili alikvot ekstrakta.
Priprema uzorka (eng. sample preparation)	Prvi od dva procesa koji su možda potrebni za pretvorbu laboratorijskog uzorka u ispitni uzorak. Uklanjanje dijelova koji se neće analizirati, ako je potrebno.
Obrada uzorka (eng. sample processing)	Drugi od dva postupka koji su možda potrebni za pretvaranje laboratorijskog uzorka u ispitni uzorak. Proces homogenizacije, usitnjavanja, miješanja, itd. ako je potrebno.
SDL - screening detection limit (kvalitativna orientacijska metoda)	Granica detekcije orientacijske metode za kvalitativnu orientacijsku metodu je najniža koncentracija na kojoj se dokazano može otkriti određeni analit (pri tom ne mora nužno ispunjavati kriterij nedvosmislenе identifikacije) u najmanje 95% uzoraka (tj. prihvata se stopa lažno negativnih rezultata od 5%)
Selektivnost (eng. selectivity)	Sposobnost ekstrakcije, čišćenja, derivatizacije, sustava razdvajanja i (posebno) detektora, da pravi razliku između analita i drugih spojeva. GC ECD je selektivni sustav određivanja koji ne nudi specifičnost.

Treba, trebalo bi (eng. should)	TREBA, TREBALO BI u ovom dokumentu znači preporuku koja se može ignorirati, ali samo u određenim okolnostima (iz valjanih razloga), dok se pune implikacije ignoriranja preporuke moraju razumjeti i pažljivo procijeniti prije odabira druge vrste djelovanja. NE SMIJE znači da se nešto ne preporučuje, iako može biti prihvatljivo u određenim okolnostima, ali pune implikacije ignoriranja preporuke moraju se razumjeti i pažljivo procijeniti.
Značajne brojke (eng. significant figures)	One znamenke u broju koje su sa sigurnošću poznate, plus prva nesigurna znamenka. Pr. 3 značajne brojke. $0,104, 1,04, 104, 1,04 \times 10^4$ 1 i srednja 0 su sigurni, dok je 4 nesigurna znamenka, ali značajna. Napomena: Početne nule nikada nisu značajne. Eksponencijalni broj nema utjecaj na broj značajnih brojki.
SIM – selected ion monitoring	Praćenje odabralih iona. Rad masenog spektrometra u kojem se bilježi zastupljenost nekoliko iona specifičnih vrijednosti m/z umjesto cijelokupnog masenog spektra.
S/N – signal-to-noise ratio	Omjer signal-šum.
Razrjeđivanje čvrste faze (eng. solid phase dilution)	Razrjeđivanje pesticida distribucijom unutar fino podijeljene krute tvari, kao što je škrbni prah. Obično se koristi samo za netopive analite, poput složenih ditiokarbamata.
Specifičnost (eng. specificity)	Sposobnost detektora (potpomognuta selektivnošću ekstrakcije, čišćenja, derivatizacije ili razdvajanja ako je potrebno) za davanje signala koji učinkovito identificiraju analit. GC/MS s EI je prilično neselektivan sustav za određivanje sposoban za visoku specifičnost. MS i MS ⁿ visoke razlučivosti mogu biti vrlo selektivni i vrlo specifični.
Obogaćivanje ili spajkovanje (eng. spike ili spiking)	Dodavanje analita u svrhu određivanja iskorištenja ili standardnog dodavanja.
SPME – solid phase micro-extraction	Mikroekstrakcija na čvrstoj fazi
SRM – selected reaction monitoring	Praćenje odabralih reakcija. Mjerenje određenih produkt iona koje odgovara m/z odabralih prekursor iona preko dvije ili više stadija masene spektrometrije (MS ⁿ).
Standard (eng. standard)	Opći pojam koji se može odnositi na "čist" standard, osnovni standard, radni standard ili kalibracijski standard.
Osnovna standardna otopina (eng. stock standard solution)	Najkoncentriranija otopina (ili razrjeđenje čvrste tvari, itd.) "čistog" standarda ili internog standarda iz kojeg se koriste alikvoti za pripremu radnih standardnih otopina ili kalibracijskih standardnih otopina.
Dio uzorka za analizu (eng. test portion)	Reprezentativni poduzorak testnog uzorka, tj. onaj dio koji treba analizirati.
Testni uzorak (eng. test sample)	Laboratorijski uzorak nakon uklanjanja svih dijelova koje ne treba analizirati, npr. zemlje zalijepljene za kosti. Može se, a ne mora, usitniti ili izmiješati prije izvlačenja dijelova za analizu. Vidi također Direktivu br. 2002/63/EZ.
Istinitost (eng. trueness)	Mjera istinitosti obično se izražava kao "mjerno odstupanje".

	Blizina slaganja između prosječne vrijednosti dobivene iz niza rezultata ispitivanja (tj. srednjeg iskorištenja) i prihvaćene referentne ili istinite vrijednost (ISO 5725 1).
Nesigurnost (mjerena) (eng. uncertainty (of measurement))	Raspon oko prijavljenog rezultata unutar kojeg se očekuje da se nalazi istinita vrijednost s određenom vjerojatnošću (razina povjerenja obično je 95%). Podatci o nesigurnosti trebali bi obuhvaćati istinitost (mjerno odstupanje) i obnovljivost.
Jedinica (uzorak) (eng. unit (sample))	Jedna voćka, komad povrća, animalni proizvod, zrno žitarice, limenka, itd. Na primjer jabuka, odrezak, zrno pšenice, limenka juhe od rajčice.
Jedinična masena rezolucija (eng. unit mass resolution)	Takva masena razlučivost u kojoj je moguće jasno razlikovati pik što odgovara ionu sa jediničnim nabojem od njemu susjednih udaljenih 1 dalton, obično s najviše 5 - 10% preklapanja.
Validacija	Potvrđivanje metode ispitivanjem i pribavljanjem objektivnih dokaza da su ispunjeni posebni zahtjevi za predviđenu namjenu.
Protuzakonit ostatak (violative residue)	Ostatak koji premašuje MRL ili je protuzakonit iz bilo kojeg drugog razloga.
Obnovljivost (reproducibilnost)/Unutarlaboratorijska obnovljivost (eng. within-laboratory reproducibility)	Preciznost (standardna devijacija) mjerena analita (obično se dobiva iz iskorištenja ili analize referentnog materijala) dobivena istom metodom na istim uzorcima u različitim laboratorijima, primjenom različite opreme od strane različitih analitičara. Mjera preciznosti obično se izražava u smislu nepreciznosti i izračunava se kao standardna devijacija rezultata ispitivanja. Unutarlaboratorijska obnovljivost (RSD_{wR}) je ona dobivena u jednom laboratoriju pod navedenim uvjetima.
Radna standardna otopina (eng. working standard solution)	Opći pojam koji se koristi za opisivanje razrjeđenja proizvedenih iz osnovnog standarda koja se koriste, na primjer, za obogaćivanje kod određivanja iskorištenja ili pripremu standardnih kalibracijskih otopina.