

OCENJEVANJE DOSJEJEV ZA REGISTRACIJO AKTIVNIH SNOVI IN FITOFARMACEVTSKIH SREDSTEV V SLOVENIJI IN EVROPSKI UNIJI NA PODROČJU OSTANKOV PESTICIDOV V ŽIVILIH IN KRMI



**OCENJEVANJE DOSJEJEV ZA REGISTRACIJO
AKTIVNIH SNOVI IN FITOFARMACEVTSKIH
SREDSTEV V SLOVENIJI IN EVROPSKI UNIJI NA
PODROČJU OSTANKOV PESTICIDOV V ŽIVILIH IN
KRMI**

Helena Baša Česnik

Ljubljana 2024

Izdal in založil

Kmetijski inštitut Slovenije

Ljubljana, Hacquetova ulica 17

Avtorica dr. Helena Baša Česnik, univ. dipl. inž. kemije

Pregledali: mag. Sanja Vranac in Anita Križaj

Publikacija bo izšla v elektronski obliki in bo dostopna na spletni strani
Kmetijskega inštituta Slovenije https://www.kis.si/Druge_publicacije/

Katalogni zapis o publikaciji (CIP) pripravili v Narodni in univerzitetni knjižnici v Ljubljani

COBISS.SI-ID [190729219](#)

ISBN 978-961-6998-76-5 (PDF)

Vsebina

1 Uvod	4
2 Stabilnost ostankov	6
3 Metabolizem v rastlinah.....	9
4 Metabolizem v živalih.....	21
5 Poljski poskusi.....	26
6 Študije krmljenja rejnih živali.....	29
7 Študije predelave.....	32
8 Študije v naslednjih kulturah.....	35
9 Druge študije – ostanki v medu.....	37
10 Ocena tveganja	40
11 Analizne metode	47
12 Vrste ocen.....	48
13 Pomen izrazov in kratice.....	50
14 Literatura.....	51

1 UVOD

Aktivne snovi in fitofarmacevtska sredstva (FFS), ki so na trgu, gredo pred registracijo v Sloveniji in Evropski uniji skozi postopke ocenjevanja na šestih področjih:

- ocenjevanje identitete, fizikalno kemijskih in tehničnih lastnosti ter analitskih metod,
- ocenjevanje uporabe in učinkovitosti ter dodatnih informacij,
- ocenjevanje toksikoloških lastnosti in izpostavljenosti uporabnika,
- ocenjevanje podatkov o ostankih v ali na tretiranih proizvodih, živilih in krmi,
- ocenjevanje obnašanja in vpliva po uporabi v okolju,
- ocenjevanje ekotoksikoloških lastnosti.

V tej monografiji je predstavljeno področje ocenjevanja ostankov pesticidov v/na živilih in krmi.

Cilji ocenjevanja ostankov so:

- določiti snovi, katerih vsebnost spremljamo pri monitoringu za živila rastlinskega in živalskega izvora,
- preverjanje maksimalnih dovoljenih količin ostankov za živila rastlinskega in živalskega izvora ter krmo in
- izdelava ocene tveganja za kronično in akutno izpostavljenost potrošnikov kot posledica vnosa ostankov pesticidov s hrano.

S stališča ostankov so potrebne:

- študije stabilnosti ostankov,
- študije metabolizma v rastlinah in živalih,
- poljski poskusi,
- študije krmljenja rejnih živali,
- študije predelave,
- študije v naslednjih kulturah in
- ostale študije (med).

Vlagatelj, ki želi registrirati aktivno snov oziroma FFS, mora dokumentacijo pripraviti v skladu z veljavnimi smernicami. Naloga ocenjevalcev FFS za področje ostankov pesticidov je, da predloženo dokumentacijo pregledajo, študije ocenijo in na podlagi

slednjih pripravijo zaključke. Pri tem morajo upoštevati zahteve za izvedbo študij ter kriterije za določitev ključnih parametrov. Oceniti morajo tudi morebitne obrazložitve za odstopanja od veljavnih smernic, kjer je to dopustno in smiselno.

V naslednjih poglavjih so predstavljene glavne zahteve, ki jih morajo ocenjevalci upoštevati na področju ostankov pesticidov za namene odobritve aktivne snovi oziroma registracije FFS.

2 STABILNOST OSTANKOV

Za vse analizirane matrike (kmetijski pridelki, živila živalskega izvora, predelana živila ...), mora vlagatelj predložiti študije stabilnosti ostankov, ki pokrivajo celotno obdobje shranjevanja matrik. Slednje se običajno shranjuje pri $\leq -18\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Zahteve za izdelavo takšnih študij so podane v smernici OECD 506: Stability of Pesticide Residues in Stored Commodities.

Če so vzorci, v katerih merijo ostanke FFS, analizirani v roku 30 dni od časa shranjevanja pri $\leq -18\text{ }^{\circ}\text{C}$, študije stabilnosti ostankov niso potrebne. Vzorce, v katerih merijo ostanke FFS, morajo zamrzniti v roku 24 ur po obiranju/pobiranju/žetvi.

Študijo stabilnosti ostankov izvedejo tako, da naspajkajo netretirane matrike pri dovolj visoki koncentraciji, da lahko opazujejo morebiten razpad med shranjevanjem pri $\leq -18\text{ }^{\circ}\text{C}$. Običajno je to 10-kratna meja kvantitativne določitve analizne metode (Limit of quantification, LOQ). Ob določenih časovnih intervalih merijo koncentracije ostankov v naspajkanih, shranjenih vzorcih, ter istočasno preverjajo postopkovne izkoristke v času analize s sveže naspajkanimi vzorci. Pomembno je, da analizirajo naspajkane vzorce, ki jih shranijo pri $\leq -18\text{ }^{\circ}\text{C}$, tudi ob času 0, da izločijo morebitno napako pri spajkanju.

Ko definicija ostankov vsebuje več spojin, je potrebno dokazati stabilnost za vsako izmed njih. Spajkanje z mešanico spojin, ki jih opredeljuje definicija ostankov, ni priporočljivo, ker lahko pride do maskiranja razpadanja ene spojine v drugo.

Analizne metode, ki jih uporabljajo, morajo biti enake kot so validirane analizne metode, s katerimi merijo ostanke v kmetijski pridelkih, živilih živalskega izvora, predelanih živilih ...

Naspajkane vzorce morajo tretirati enako kot vzorce kmetijskih pridelkov, živil živalskega izvora, predelanih živil itd., v katerih merijo ostanke FFS. Takšne vzorce običajno homogenizirajo predno jih shranijo pri $\leq -18\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Poleg stabilnosti homogeniziranih vzorcev morajo poročati o stabilnosti ostankov FFS v ekstraktih v topilu, razen če spojine analizirajo isti dan, ko so bili pripravljeni

ekstrakti. Stabilnost spojin v ekstraktih običajno dokazujejo s proceduralnimi izkoristki.

Časovne periode, ob katerih merijo koncentracije ostankov FFS v naspajkanih vzorcih, shranjenih pri $\leq -18\text{ }^{\circ}\text{C}$, so običajno 0, 1, 3, 6, 12, 24 mesecev. Če sumijo na hiter razpad spojin, pa so časovni intervali običajno 0, 2, 4, 8 in 16 tednov. Najdaljši časovni interval mora pokrivati časovni interval shranjevanja matrik pri $\leq -18\text{ }^{\circ}\text{C}$ pri študijah poljskih poskusov, študijah na rejnih živalih, študijah predelave in študijah v naslednjih kulturah.

Ob vsakem časovnem intervalu morajo analizirati vsaj dve paralelki naspajkanega vzorca shranjenega pri $\leq -18\text{ }^{\circ}\text{C}$ in vsaj dve paralelki sveže naspajkanega vzorca za preverjanje proceduralnih izkoristkov.

Naspajkati in analizirati je potrebno predstavnike skupin:

- matrike z visoko vsebnostjo vode,
- matrike z visoko vsebnostjo maščob,
- matrike z visoko vsebnostjo beljakovin,
- matrike z visoko vsebnostjo škroba in
- matrike z visoko vsebnostjo kisline.

Pridelki, ki sodijo v posamezne skupine, so podani v smernici OECD 506: Stability of Pesticide Residues in Stored Commodities v Prilogi 1.

Ko je na treh predstavnikih skupine matrike z visoko vsebnostjo vode dokazana stabilnost pri shranjevanju pri $\leq -18\text{ }^{\circ}\text{C}$, nadaljnje dokazovanje za to skupino ni potrebno.

Ko je na dveh predstavnikih skupine matrike z visoko vsebnostjo maščob dokazana stabilnost pri shranjevanju pri $\leq -18\text{ }^{\circ}\text{C}$, nadaljnje dokazovanje za to skupino ni potrebno.

Ko je na matriki suhe stročnice dokazana stabilnost pri shranjevanju pri $\leq -18\text{ }^{\circ}\text{C}$, nadaljnje dokazovanje za skupino matrike z visoko vsebnostjo beljakovin ni potrebno.

Ko je na dveh predstavnikih matrike z visoko vsebnostjo škroba dokazana stabilnost pri shranjevanju pri $\leq -18\text{ }^{\circ}\text{C}$, nadaljnje dokazovanje za to skupino ni potrebno.

Ko je na dveh predstavnikih matrike z visoko vsebnostjo kisline dokazana stabilnost pri shranjevanju pri $\leq -18\text{ }^{\circ}\text{C}$, nadaljnje dokazovanje za to skupino ni potrebno.

Ko je na enem predstavniku vsake izmed petih skupin dokazana stabilnost pri shranjevanju pri $\leq -18\text{ }^{\circ}\text{C}$, nadaljnje dokazovanje stabilnosti ni potrebno za rastlinske materiale.

Ko obravnavamo uporabo na dveh ali več skupinah, podatki o stabilnosti pa niso dostopni za vseh pet skupin, je zahtevano število reprezentativnih matrik odvisno od kombinacije skupine in števila pridelkov iz vsake skupine, tretiranih z ostanki FFS. Presoja je takrat odvisna od primera do primera.

Če gre samo za uporabo na žitih, je potrebno pokriti stabilnost ostankov v zrnju in krmi.

V primeru živil živalskega izvora, je potrebno naspajkati in analizirati:

- mišice (za govedo in perutnino),
- jetra (za govedo in perutnino),
- mleko in
- jajca.

Če so ostanki stabilni v vseh zgoraj navedenih živalskih matrikah, je stabilnost dokazana za vse živalske matrike.

V glavnem velja, da so aktivne snovi/metaboliti stabilni, če njihova vsebnost ni manjša od 70 % naspajkanega nivoja vsebnosti (izkoristek vsaj 70 %). Če so proceduralni izkoristki okrog 100 %, naspajkane matrike, shranjene pri $\leq -18\text{ }^{\circ}\text{C}$, pa imajo majhne izkoristke, je to lahko znak razpada med shranjevanjem. Če pa so proceduralni izkoristki in izkoristki naspajkanih matrik shranjenih pri $\leq -18\text{ }^{\circ}\text{C}$ podobni, pa to lahko kaže na to, da do razpada ni prišlo.

Izkoristke za naspajkane matrike, shranjene pri $\leq -18\text{ }^{\circ}\text{C}$, se načeloma ne popravlja (preračunava) glede na proceduralne izkoristke. Za transparentnost je potrebno za rezultate podati dejanske, nepopravljene izkoristke za naspajkane matrike, shranjene pri $\leq -18\text{ }^{\circ}\text{C}$, in proceduralne izkoristke.

3 METABOLIZEM V RASTLINAH

Aktivne spojine lahko vstopajo v rastline skozi listno površino, plodove in korenine. Po nanosu na rastlino aktivne snovi izhlapevajo iz površine rastline, razpadajo in se pretvarjajo med procesom metabolizma v in na rastlini. Metabolizem v rastlinah je lahko počasnejši kot v živalih, ker rastline nimajo organov za razstrupljanje, kot so npr. jetra. Poleg tega se pri metabolizmu v rastlinah spojine ne morejo izločiti iz organizma kot se lahko pri živalih.

Metabolizem v rastlinskih matrikah preiskujemo v primarnih in naslednjih kulturah ter v predelanih matrikah.

3.1 METABOLIZEM V PRIMARNIH KULTURAH

Zahteve za izdelavo takšnih študij so podane v smernici OECD 501: Metabolism in crops.

Študije so potrebne, da se:

- oceni celoten ostanek po tretiranju pridelkov v posameznih delih rastline, kar omogoča ugotoviti, kakšna je porazdelitev ostankov (npr. ali se aktivna snov oziroma metaboliti absorbirajo skozi korenine ali krmo, ali prihaja do translokacije),
- identificira glavne komponente, na podlagi česar se postavi definicijo ostankov in
- razjasni pot metabolizma aktivne snovi v tretiranih pridelkih in s tem tudi oceni, ali je aktivna snov sistemik (absorbira skozi liste, korenine) ali nesistemik (ostane na listih).

Študije je potrebno izvajati z radioaktivno označenimi spojinami, kar omogoča sledenje degradaciji in kvantifikacijo celotnega ostanka, ostanka, ki se ga lahko ekstrahira, ter ostanka, ki se ga ne da ekstrahirati. Če ima aktivna snov v kemijski strukturi več obročev ali signifikantnih stranskih verig, je potrebno izvesti več študij, pri katerih se markira različne obroče oziroma stranske verige aktivne snovi.

Cilj študije je, da omogoča identifikacijo in opredelitev (characterization) vsaj 90 % celotnega radioaktivnega ostanka (total radioactive residue, TRR). Ali je študija dovolj jasno opredelila in/ali identificirala ostanke, pa je odvisno od nivoja radioaktivnosti, ki je ostal neidentificiran.

Za določitev glavne poti metabolizma so primarne kulture razdeljene v pet skupin:

- zelenjava-korenovke in gomoljnice,
- listnata zelenjava,
- sadje,
- stročnice in oljnice ter
- žita.

Seznam pridelkov, ki sodijo v posamezno skupino, je podan v Aneksu 1 smernice OECD 501.

Študije, izvedene na predstavniku ene skupine, zadoščajo za metabolizem na celotni skupini. Za pokritje vseh petih skupin so dovolj študije na predstavnikih vsaj treh skupin. Če je metabolizem v vseh treh skupinah podoben, se pričakuje, da je enak za vse skupine primarnih kultur in nadaljnje študije niso potrebne. Če obstajajo razlike v metabolnih poteh (ne v količini nastalih metabolitov), je potrebno izvesti nadaljnje študije za uporabo na kulturah iz preostalih skupin.

Tretiranje primarnih kultur mora biti enako kot je predvideno za predlagane uporabe: foliarno, tretiranje tal/ semen ali tretiranje po spravilu pridelka. Za tretiranje po spravilu je potrebna vsaj ena študija, če ni na voljo primerne študije za foliarno tretiranje. Študija s foliarnim tretiranjem lahko nadomesti študijo s tretiranjem po obiranju/žetvi, če je bil tretiranju izpostavljen zrel pridelek. Če se obravnava uporabe po obiranju/žetvi na velikem številu pridelkov iz različnih skupin, potem so potrebne do tri dodatne študije.

Markirati je potrebno element v stabilni poziciji. Najpogosteje se uporablja ^{14}C , lahko pa tudi ^{35}S in ^{32}P . Radioaktivni element mora imeti čistočo vsaj 95 %. V nasprotnem primeru so potrebna dodatna pojasnila.

Tretiranje pri študijah mora biti izvedeno v skladu s kritično dobro kmetijsko prakso. Ko se v pridelkih pričakuje nizke ostanke, se študijo običajno izvede s preseženimi odmerki. Seveda je npr. pri herbicidih potrebno paziti, da odmerek ni takšen, da zaradi fitotoksičnosti uniči pridelek.

Rastline za namen študije lahko gojijo na polju ali v rastlinjaki.

Vzorčiti morajo pridelke v fazi, primerni za uživanje. Za pridelke, katere se uživa predno dozorijo kot je npr. mlada solata, je potrebno vzorčiti predno dozorijo. Analiza nezrelih pridelkov lahko namreč doprinese pri karakterizaciji in identifikaciji ostankov v primerih, ko so mejne (trigger) vrednosti presežene, a so ostanki v zrelih pridelkih premajhni, da bi omogočili karakterizacijo/identifikacijo metabolitov. V študijah lahko analizirajo tudi neužitne dele rastline, kot so listi jabolk, za pomoč pri identifikaciji metabolitov.

Analize praviloma izvajajo na homogeniziranih vzorcih. V nekaterih primerih pred homogenizacijo vzorce sperejo in v tej tekočini izmerijo ostanke, da lahko ocenijo nivo penetracije ostankov. V pridelkih z neužitno lupino kot so pomaranče, melone in banane morajo določiti porazdelitev ostankov med olupkom in pulpo.

Homogenizirane vzorce ekstrahirajo s topili različnih polarnosti in nato ostanke karakterizirajo in sicer kot: topni v organskih topilih, topni v vodi, nevtralni, kisli ali bazični, polarni, nepolarni, neekstrahirani ...

Metabolite iz ekstraktov nato izolirajo in identificirajo s tenkoplastno kromatografijo, tekočinsko kromatografijo in plinsko kromatografijo. Za vse tri vrste kromatografije izvajajo detekcijo z radioaktivnimi detektorji. V primeru tenkoplastne kromatografije so to avtoradiograf in radio-skenerji, v primeru tekočinske in plinske kromatografije pa je to scintilacijski števec. Pri identifikaciji metabolitov uporabljajo za detektor masni spektrometer.

Strategije za identifikacijo in karakterizacijo ekstrahiranih ostankov so:

- TRR < 10 %, koncentracija ostanka <0,01 mg/kg: karakterizacija/identifikacija nista potrební, če ostanek ne predstavlja toksikološkega tveganja.
- TRR < 10 %, koncentracija ostanka 0,01–0,05 mg/kg: ostanek je potrebno karakterizirati, dovolj je poskus identifikacije.
- TRR < 10 %, koncentracija ostanka > 0,05 mg/kg: karakterizacija/identifikacija je odvisna od primera do primera, odvisno kolikšen delež ostanka je bil identificiran.
- TRR > 10 %, koncentracija ostanka <0,01 mg/kg: ostanek je potrebno karakterizirati, dovolj je poskus identifikacije.
- TRR > 10 %, koncentracija ostanka 0,01–0,05 mg/kg: potrebno je vložiti veliko truda v identifikacijo ostankov.
- TRR > 10 %, koncentracija ostanka > 0,05 mg/kg: z vsemi možnimi pristopi je potrebno identificirati ostanke.

Če je koncentracija neekstrahiranega TRR < 0,05 mg/kg ali < 10 %, nadaljnji koraki za karakterizacijo niso potrebni. Če je koncentracija neekstrahiranega TRR > 10 %, ali > 0,05 mg/kg, je potrebno ta ostanek poskusiti karakterizirati/identificirati. V tem primeru se neekstrahirani ostanek pod reflukom hidrolizira s kislino ali bazo, razgradi z encimi, tvori inkapsulirane metabolite s površinsko aktivnimi snovmi in ultrazvokom ali razredči s kislino oziroma bazo.

Vzorci morajo biti pred analizo shranjeni pri $\leq -18\text{ }^{\circ}\text{C}$. Stabilnosti ostankov shranjenih pri $\leq -18\text{ }^{\circ}\text{C}$ ni potrebno dokazovati, če so vzorci analizirani v roku šestih mesecev od vzorčenja. Če se vzorce hrani več kot šest mesecev, je potrebno dokazovati, da so ostanki v takšnih vzorcih stabilni za čas shranjevanja.

Na podlagi opredeljenih/identificiranih metabolitov določijo definicijo ostankov. Definicija ostankov običajno zajema aktivno snov, lahko pa tudi aktivno snov in večje metabolite.

Večji metabolit je tisti, katerega vsebnost presega 0,05 mg/kg ali 10 % TRR, lahko pa tudi tisti, ki je toksikološko signifikanten, kar ocenjevalcu dosjejev na področju ostankov sporočijo toksikologi. Zato je pri ocenjevanju zelo pomembno tesno sodelovanje z ocenjevalci s področja toksikologije. Metabolit, ki presega 10 %

celotnega radioaktivnega ostanka, a je njegova koncentracija $<0,01$ mg/kg, je nesignifikanten.

Analize spojin, ki jih zajema definicija ostankov za monitoring, morajo izvajati laboratoriji, ki izvajajo rutinsko kontrolo ostankov FFS v kmetijskih pridelkih.

Spojine, ki jih zajema definicija ostankov za oceno tveganja, morajo ocenjevalci vključiti v izračun ocene tveganja za potrošnika, ki kmetijske pridelke uživa.

Izbor metabolitov za definicijo ostankov za rastline za monitoring so običajno aktivna snov ter analiti, ki so prisotni v velikih količinah v velikem številu matrik (najbolje v vseh, v katerih se ostanki lahko pojavijo), oziroma analiti, ki jih je lahko meriti v laboratorijih, po možnosti z multirezidualnimi metodami.

Izbor metabolitov za definicijo ostankov v rastlinah za oceno tveganja je odvisen od tega:

- ali so metaboliti signifikantni ($\geq 0,01$ mg/kg),
- ali so metaboliti genotoksični,
- ali so metaboliti potencialno toksični (ADI $<0,01$ mg/kg tt/dan, ARfD $<0,025$ mg/kg tt).

3.2 METABOLIZEM V NASLEDNJIH KULTURAH

Zahteve za izdelavo takšnih študij so podane v smernici OECD 502: Metabolism in Rotational Crops.

Naslednje kulture so tiste, ki jih posadimo/posejemo za kulturo, ki smo jo tretirali s FFS.

Študije metabolizma v naslednjih kulturah (confined rotational crop studies) so potrebne, da:

- podajo oceno vnosa TRR v naslednje kulture iz tal,
- identificirajo glavne komponente končnega ostanka v naslednjih kulturah,

- razjasnijo pot degradacije aktivnih snovi oziroma metabolitov, ki nastanejo v tleh, v naslednjih kulturah,
- podajo primerne omejitve za sajenje/sejanje naslednjih kultur,
- podajo informacijo, ali je potrebno izvesti poskuse na naslednjih kulturah na polju z namenom ugotavljanja dejanskega ostanka aktivne snovi oziroma metabolitov v naslednjih kulturah.

Študij metabolizma v naslednjih kulturah običajno ni potrebno izvajati za rastline, ki jih gojimo v trajnih (sadovnjaki, vinogradi, oljčni nasadi ...) in pol-trajnih nasadih (jagodičje ...).

Cilj študije je, da omogoča identifikacijo in karakterizacijo vsaj 90 % TRR. Včasih ni mogoče identificirati signifikantnega deleža ostankov, posebno ko je prisotna majhna količina ostanka, ko se ostanek vgradi v naravne produkte (kot npr. škrob ali sladkorji), ali ko se ostanek v veliki meri razgradi v številne komponente z majhnimi koncentracijami. Ali je študija dovolj jasno karakterizirala in/ali identificirala ostanke, je odvisno od nivoja radioaktivnosti, ki je ostal neidentificiran, od tega ali je naslednja kultura z neidentificiranimi ostanki živilo ali krma za živali, od kemijske strukture aktivne snovi in metabolitov ter od toksičnosti snovi, ki so po strukturi podobne potencialnim metabolitom.

Študije je potrebno izvajati z radioaktivno označenimi spojinami, kar omogoča sledenje degradaciji in kvantifikacijo celotnega ostanka. Če ima aktivna snov več obročev ali signifikantnih stranskih verig, je potrebno izvesti več študij, pri katerih se markira različne obroče oziroma stranske verige.

Označiti je potrebno element v stabilni poziciji. Najpogosteje se uporablja ^{14}C , lahko pa tudi ^{35}S in ^{32}P . Radioaktivni element mora imeti čistočo vsaj 95 %. V nasprotnem primeru so potrebna dodatna pojasnila.

Študije običajno izvajajo tako, da tretirajo peščeno-ilovnata tla z maksimalno letno dozo. Če je na etiketi navedeno, da se FFS uporablja na drugem tipu tal, morajo študijo izvesti na tipu tal, navedenem na etiketi. Če maksimalno letno dozo lahko dosežejo le z večkratnim tretiranjem, lahko uporabijo dobro kmetijsko prakso, podano

na etiketi, ali z zmanjšanim številom tretiranj pri večji dozi. Čas staranja tal se v tem primeru računa od zadnje aplikacije.

Naslednje kulture je potrebno posejati/posaditi 7–30, 60–270 in 270–365 dni po zadnji aplikaciji. Prvi interval pomeni možen izpad pridelka ali kulture, ki se jih sadi/seje kmalu po primarnih kulturah. Drugi interval pomeni značilen kolobar rastline, ki jo gojimo po žetvi/spravilu primarne kulture. Tretji interval pomeni rotacijo naslednje kulture po enem letu. V primeru, ko ima uporaba pesticida fitotoksični učinek na naslednjo kulturo pri intervalu 7–30 dni, je potrebno za prvi interval uporabiti drugačen časovni razmik.

Naslednje kulture, vključene v študijo, morajo biti predstavnice skupin:

- korenovke in gomoljnice (redkev, pesa ali korenje),
- žita (pšenica, ječmen, oves ali rž),
- listnata zelenjava (špinača ali solata).

V skupino korenovk in gomoljnic ne sodita čebula in česen. Soja lahko zamenja predstavnika listnate zelenjave. Kontrolnih rastlin ni potrebno vključiti v študijo, lahko pa se jih posadi/poseje na netretirano parcelo, kar omogoča določitev ozadja ali drugih interferenc pri analizah.

Študije lahko izvajajo na polju ali v rastlinjaki.

Vzorčiti morajo dele rastlin, ki se uživajo, kot tudi dele rastlin, ki se uporabljajo za krmo. Vzorci morajo vključevati:

- žito za klajo, seno, slamo in zrnje za žita,
- zrelo in nezrelo listnato zelenjavo in
- koren ali gomolj in nadzemni del rastline iz skupine korenovke in gomoljnice.

Nezrel pridelek je pridelek, ki doseže približno 50 % časovne periode potrebne za zreli pridelek.

Podatki o ostankih v nezreli listnati zelenjavi in v nadzemnem delu rastline iz skupine korenovke in gomoljnice so potrebni za ekstrapolacijo na širok nabor pridelkov.

Analize praviloma izvajajo na homogeniziranih vzorcih. Če je TRR < 0,01 mg/kg v delih rastlin za uživanje in krmo pri vseh treh časovnih intervalih, se običajno

nadaljnja karakterizacija ne zahteva. Če je TRR > 0,01 mg/kg, je potrebno določiti naravo ostankov.

Homogenizirane vzorce ekstrahirajo s serijo topil različnih polarnosti.

Homogenizirane vzorce ekstrahirajo s topili ali mešanico topil različnih polarnosti in nato ostanke karakterizirajo kot: topni v organskih topilih, topni v vodi, nevtralni, kisli ali bazični, polarni, nepolarni, neekstrahirani ...

Metabolite iz ekstraktov nato izolirajo in identificirajo s tenkoplastno kromatografijo, tekočinsko kromatografijo in plinsko kromatografijo. Za vse tri vrste kromatografije izvajajo detekcijo z radioaktivnimi detektorji. V primeru tenkoplastne kromatografije so to avtoradiograf in radio-skenerji, v primeru tekočinske in plinske kromatografije pa je to scintilacijski števec. Pri identifikaciji metabolitov za detektor uporabljajo masni spektrometer.

Strategije za identifikacijo in karakterizacijo ekstrahiranih ostankov so:

- TRR < 10 %, koncentracija ostanka <0,01 mg/kg: karakterizacija/identifikacija nista potrebni, če ostanek ne predstavlja toksikološkega tveganja.
- TRR < 10 %, koncentracija ostanka 0,01-0,05 mg/kg: ostanek je potrebno karakterizirati, dovolj je poskus identifikacije.
- TRR < 10 %, koncentracija ostanka > 0,05 mg/kg: karakterizacija/identifikacija je odvisna od primera do primera, odvisno kolikšen delež ostanka je bil identificiran.
- TRR > 10 %, koncentracija ostanka <0,01 mg/kg: ostanek je potrebno karakterizirati, dovolj je poskus identifikacije.
- TRR > 10 %, koncentracija ostanka 0,01-0,05 mg/kg: potrebno je vložiti veliko truda v identifikacijo ostankov.
- TRR > 10 %, koncentracija ostanka > 0,05 mg/kg: z vsemi možnimi pristopi je potrebno identificirati ostanke.

Če je koncentracija neekstrahiranega TRR < 0,05 mg/kg ali < 10 %, nadaljnji koraki za karakterizacijo niso potrebni. Če je koncentracija neekstrahiranega TRR > 10 % ali > 0,05 mg/kg, je potrebno ta ostanek poskusiti karakterizirati/identificirati. V tem primeru se neekstrahirani ostanek pod refluxom hidrolizira s kislino ali bazo,

razgradi z encimi, tvori inkapsulirane metabolite s površinsko aktivnimi snovmi in ultrazvokom ali razredči s kislino oziroma bazo.

Vzorci morajo biti pred analizo shranjeni pri $\leq -18\text{ }^{\circ}\text{C}$. Stabilnosti ostankov shranjenih pri $\leq -18\text{ }^{\circ}\text{C}$ ni potrebno dokazovati, če so vzorci analizirani v roku šestih mesecev od vzorčenja. Če se vzorce hrani več kot šest mesecev, je potrebno dokazovati, da so ostanki v takšnih vzorcih stabilni za čas shranjevanja.

Na podlagi karakteriziranih/identificiranih metabolitov določijo definicijo ostankov. Definicija ostankov običajno zajema aktivno snov, lahko pa tudi aktivno snov in večje metabolite.

Večji metabolit je tisti, katerega vsebnost presega 0,05 mg/kg ali 10 % TRR, lahko pa tudi tisti, ki je toksikološko signifikanten, kar ocenjevalcu dosjejev na področju ostankov sporočijo toksikologi. Metabolit, ki presega 10 % celotnega radioaktivnega ostanka, a je njegova koncentracija $< 0,01\text{ mg/kg}$, je nesignifikanten.

Spojine, ki jih zajema definicija ostankov za monitoring, morajo v kmetijskih pridelkih analizirati laboratoriji, ki izvajajo rutinsko kontrolo ostankov FFS.

Spojine, ki jih zajema definicija ostankov za oceno tveganja, morajo ocenjevalci vključiti v izračun ocene tveganja za potrošnika, ki kmetijske pridelke uživa.

Izbor metabolitov za definicijo ostankov za rastline za monitoring so običajno aktivna snov ter analiti, ki so prisotni v velikih količinah v velikem številu matrik (najbolje v vseh, v katerih se ostanki lahko pojavijo), oziroma analiti, ki jih je lahko meriti v laboratorijih, po možnosti z multirezidualnimi metodami.

Izbor metabolitov za definicijo ostankov za rastline za oceno tveganja je odvisen od tega:

- ali so metaboliti signifikantni ($\geq 0,01\text{ mg/kg}$),
- ali so metaboliti genotoksični,
- ali so metaboliti potencialno toksični ($\text{ADI} < 0,01\text{ mg/kg tt/dan}$, $\text{ARfD} < 0,025\text{ mg/kg tt}$).

Definicija ostankov za naslednje kulture se lahko razlikuje od definicije ostankov za primarne kulture.

3.3 METABOLIZEM V PREDELANIH ŽIVILIH

Študije niso potrebne, če so ostanki FFS v kmetijskem pridelku < LOQ (Limit Of Quantification = meja kvantitativne določitve metode).

Zahteve za izdelavo takšnih študij so podane v smernici OECD 507: Nature of Pesticide Residues in Processed Commodities – High Temperature Hydrolysis.

Študije metabolizma v predelanih živilih so potrebne, da:

- podajo oceno relativne sestave celotnega ostanka v procesiranem živilu,
- identificirajo glavne komponente končnega ostanka v predelanih živilih,
- razjasnijo pot razgradnje aktivne snovi v predelanih živilih pri hidroliznih pogojih.

Tehnologije predelave vključujejo:

- kuhanje zelenjave, stročnic in žit v vodi,
- pripravo konzerviranega sadja,
- pripravo sadnih sokov,
- stiskanje jedilnega olja,
- pripravo alkoholnih napitkov, piva in vina,
- pripravo kruha,
- pripravo instant rezancev,
- cvrtje zelenjave, mesa in rib,
- fermentacijo mleka in zelenjave.

Za enostavne fizične postopke, kot so mletje in prešanje, se predpostavlja, da ne vplivajo na naravo ostankov, ker pri predelavi ne prihaja do temperaturnih sprememb. Parameter, ki najverjetneje vpliva na naravo ostankov med procesiranjem živil, je hidroliza. Postopek hidrolize aktivne snovi oziroma metabolitov spremljajo brez prisotnosti matrike. Običajno pripravijo raztopine z radioaktivno označeno aktivno

snovjo v steriliziranem pufru koncentracije 1,0 mg/L, in jih izpostavijo reprezentativnim pogojem hidrolize:

- pH 4, 90 °C, 20 minut (simulacija pasterizacije in pečenja),
- pH 5, 100 °C, 60 minut (simulacija kuhanja),
- pH 6, 120 °C, 20 minut (simulacija vretja in sterilizacije).

Markirati je potrebno element v stabilni poziciji. Najpogosteje se uporablja ^{14}C , lahko pa tudi ^{35}S in ^{32}P . Radioaktivni element mora imeti čistočo vsaj 95 %. V nasprotnem primeru so potrebna dodatna pojasnila. Če poskuse izvajajo s foto-labilnimi snovmi, morajo poskrbeti, da ne prihaja do fotolitičnih učinkov.

Ostanke karakterizirajo kot: topni v organskih topilih, topni v vodi, nevtralni, kisli ali bazični, polarni, nepolarni

Metabolite nato izolirajo in identificirajo s tenkoplastno kromatografijo, tekočinsko kromatografijo in plinsko kromatografijo. Za vse tri vrste kromatografije detekcijo izvajajo z radioaktivnimi detektorji. V primeru tenkoplastne kromatografije so to avtoradiograf in radio-skenerji, v primeru tekočinske in plinske kromatografije pa je to scintilacijski števec. Pri identifikaciji metabolitov za detektor uporabljajo masni spektrometer.

Strategije za identifikacijo in karakterizacijo ekstrahiranih ostankov so:

1. Za spojine, ki imajo visoko topnost v vodi ($>0,5$ mg/L):
 - TRR < 10 %, koncentracija ostanka $<0,01$ mg/L: karakterizacija/identifikacija nista potrebni, če ostanek ne predstavlja toksikološkega tveganja.
 - TRR < 10 %, koncentracija ostanka 0,01-0,05 mg/L: ostanek je potrebno karakterizirati, dovolj je poskus identifikacije.
 - TRR < 10 %, koncentracija ostanka $> 0,05$ mg/L: karakterizacija/identifikacija je odvisna od primera do primera, odvisno kolikšen delež ostanka je bil identificiran.
 - TRR ≥ 10 %: z vsemi možnimi pristopi je potrebno identificirati ostanke.

2. Za spojine, ki imajo nizko topnost v vodi (0,01-0,5 mg/L):

- TRR < 10 %, koncentracija ostanka <0,01 mg/L: karakterizacija/identifikacija nista potrebni, če ostanek ne predstavlja toksikološkega tveganja.
- TRR < 10 %, koncentracija ostanka 0,01-0,05 mg/L: ostanek je potrebno karakterizirati, dovolj je poskus identifikacije.
- TRR < 10 %, koncentracija ostanka > 0,05 mg/L: potrebno je vložiti veliko truda v identifikacijo ostankov, končno je lahko sprejeta karakterizacija.
- TRR ≥ 10 %, koncentracija ostanka <0,01 mg/L: ostanek je potrebno karakterizirati, dovolj je poskus identifikacije.
- TRR ≥ 10 %, koncentracija ostanka 0,01-0,05 mg/L: potrebno je vložiti veliko truda v identifikacijo ostankov.
- TRR ≥ 10 %, koncentracija ostanka > 0,05 mg/L: z vsemi možnimi pristopi je potrebno identificirati ostanke.

Vzorci morajo biti pred analizo shranjeni pri ≤ -18 °C. Stabilnosti ostankov shranjenih pri ≤ -18 °C ni potrebno dokazovati, če so vzorci analizirani v roku šestih mesecev od vzorčenja. Če se vzorce hrani več kot šest mesecev, je potrebno dokazovati, da so ostanki v takšnih vzorcih stabilni za čas shranjevanja.

Na podlagi karakteriziranih/identificiranih metabolitov določijo definicijo ostankov. Definicija ostankov običajno zajema aktivno snov, lahko pa tudi aktivno snov in večje metabolite.

Večji metabolit je tisti, katerega vsebnost znaša ≥ 10 % TRR, lahko pa tudi tisti, ki je toksikološko signifikanten, kar ocenjevalcu dosjejev na področju ostankov sporočijo toksikologi.

Spojine, ki jih zajema definicija ostankov za monitoring, morajo v predelanih živilih analizirati laboratoriji, ki izvajajo rutinsko kontrolo ostankov FFS.

Spojine, ki jih zajema definicija ostankov za oceno tveganja, morajo ocenjevalci vključiti v izračun ocene tveganja za potrošnika, ki procesirana živila uživa.

Definicija ostankov za procesirana živila se lahko razlikuje od definicije ostankov za primarne kulture.

4 METABOLIZEM V ŽIVALIH

Živali zaužijejo ostanke FFS pri krmljenju s kmetijskimi pridelki, tretiranimi s FFS. Zato se lahko v živilih živalskega izvora (meso, mleko, jajca, užitna drobovina) posledično nahajajo ostanki FFS, ki jih uživajo potrošniki.

Izračunati je potrebno vnos ostankov v živali z dieto. Količina vnosa v živali se izračunava z EFSA modelom animal model 2017. V model je potrebno vnesti ostanke, ki jih vsebujejo rastline oziroma deli rastline, s katerimi krmimo živali. Model izračuna vnos v prežvekovalce, perutnino in prašiče v mg/kg celotne diete in v mg/kg tt/dan.

Študije niso potrebne, če je vsebnost ostankov v kmetijskih pridelkih pod mejo kvantitativne določitve metode oziroma če izračuni pokažejo, da je vnos ostankov v živali zanemarljiv ($< 0,1$ mg/kg celotne diete oziroma $< 0,004$ mg/kg tt/dan).

Zahteve za izdelavo takšnih študij so podane v smernici OECD 503: Metabolism in Livestock.

Študije se običajno izvaja na prežvekovalcih, ki dajejo mleko in perutnini. Le-te:

- podajo oceno celotnih ostankov v užitnih tkivih in v njihovih izločkih,
- identificirajo glavne komponente končnega ostanka v užitnih tkivih, na čemer je osnovana definicija ostankov za monitoring in oceno tveganja,
- razjasnijo metabolično pot ostankov FFS v prežvekovalcih in perutnini,
- dokažejo, ali so ostanki FFS topni v maščobah.

Študije na prežvekovalcih lahko naredijo na eni živali, študije na perutnini pa za vsak odmerek na desetih živalih. V primeru, da želi vlagatelj opustiti študije rejnih živali, morajo študije metabolizma izvesti na dveh živalih za prežvekovalce in na vsaj dveh skupinah po deset živali za perutnino.

Cilj študije je omogočiti identifikacijo in karakterizacijo vsaj 90 % TRR v vsakem užitem tkivu, mleku in jajcih. V veliko primerih ni mogoče identificirati signifikantnih deležev TRR, posebno ko je celotna količina ostanka majhna, ko se ostanek vgradi v biomolekule ali ko se ostanek v veliki meri metabolizira v številne spojine z majhnimi koncentracijami. V takem primeru je pomembno, da se jasno predstavi koncentracijske nivoje komponent in se le-te, če je le mogoče, karakterizira.

Poskuse običajno izvajajo na kozah, ki dajejo mleko, in kokoših nesnicah. Študije na prašičih pa so potrebne le, če je metabolizem na podganah (te študije ocenjujejo toksikologi) signifikantno drugačen od metabolizma na prežvekovalcih ali perutnini.

Te razlike lahko zajemajo:

- razlike v obsegu metabolizma,
- razlike v naravi ostanka,
- prisotnost metabolitov s podstrukturami, ki so potencialno toksične.

V poskus morajo vedno vključiti kontrolno žival.

Minimalni odmerek ostankov FFS mora biti približno enak pričakovanemu vnosu s tretirano krmo, ki vsebuje najvišje ostanke. Visoke, pretirane doze so običajno potrebne zato, da tkiva vsebujejo dovolj ostanka za karakterizacijo oziroma identifikacijo. Da lahko izmerimo ostanke v živalskih tkivih, mora biti odmerek vnosa v živali dovolj visoka. Običajno je ta odmerek vsaj 10 mg/kg v dieti, ne pa manjša od minimalnega pričakovanega vnosa s krmo. Vnos v živali je oralen. Zato mora biti vnos v živali najmanj 10 mg/kg v dieti in sicer oralno. Prežvekovalci in prašiči bi morali prejemati določeni odmerek ostankov FFS vsaj pet dni, perutnina pa vsaj sedem dni.

Živalim ne smejo dajati prevelike doze, saj bi slednja lahko povzročila indukcijo encimatskih poti in spremenila nivoje specifične radioaktivnosti v tkivih, mleku in jajcih z maskiranjem stopnje prenosa, kar bi onemogočilo identifikacijo spojin končnega ostanka.

Študije je potrebno izvajati z radioaktivno označenimi spojinami, kar omogoča kvantifikacijo celotnega ostanka, ostanka, ki se ga lahko ekstrahira, ter ostanka, ki se ga ne da ekstrahirati. Če ima aktivna snov več obročev ali signifikantnih stranskih verig, je potrebno izvesti več študij, pri katerih se markira različne obroče oziroma stranske verige. Markirati je potrebno element v stabilni poziciji. Najpogosteje se uporablja ^{14}C , lahko pa tudi ^{35}S in ^{32}P .

Živalim je potrebno dozirati eno spojino, običajno aktivno snov. Ni dovoljeno dozirati mešanice aktivne snovi in metabolitov. Če se v krmi nahajajo metaboliti, ki so metaboliti tudi v živalskih tkivih, jajcih in mleku, potem dodatna študija z metaboliti, ki nastanejo v rastlini (krmi), ni potrebna. Če krma vsebuje metabolit, ki predstavlja glavni delež TRR, je lahko potrebna študija, kjer živalim dozirajo metabolit, ki nastane v rastlini.

Po zaključku predvidenega obdobja se odvzamejo vzorci vseh užitnih tkiv. Zakol živali mora biti izvršen 6–12 ur po zadnji prejeti dozi in v nobenem primeru več kot 24 ur po zadnji prejeti dozi.

Izločke (urin, blato), mleko in jajca morajo vzorčiti dvakrat dnevno. Tkiva, vzorčena za analize, morajo obsegati vsaj mišice, jetra, ledvica (le prežvekovalci) in maščobo. Pri mleku morajo ločiti vodni del in maščobno frakcijo.

Homogenizirane vzorce ekstrahirajo s topili različnih polarnosti in nato ostanke karakterizirajo kot: topni v organskih topilih, topni v vodi, nevtralni, kisli ali bazični, polarni, nepolarni, neekstrahirani ...

Metabolite iz ekstraktov nato izolirajo in identificirajo s tenkoplastno kromatografijo, tekočinsko kromatografijo in plinsko kromatografijo. Za vse tri vrste kromatografije detekcijo izvajajo z radioaktivnimi detektorji. V primeru tenkoplastne kromatografije so to avtoradiograf in radio-skenerji, v primeru tekočinske in plinske kromatografije pa je to scintilacijski števec. Pri identifikaciji metabolitov za detektor uporabljajo masni spektrometer.

Strategije za identifikacijo in karakterizacijo ekstrahiranih ostankov so:

- TRR < 10 %, koncentracija ostanka < 0,01 mg/kg: karakterizacija/identifikacija nista potrebni, če ostanek ne predstavlja toksikološkega tveganja.
- TRR < 10 %, koncentracija ostanka 0,01–0,05 mg/kg: ostanek je potrebno karakterizirati, dovolj je poskus identifikacije.
- TRR < 10 %, koncentracija ostanka > 0,05 mg/kg: karakterizacija/identifikacija je odvisna od primera do primera, odvisno kolikšen delež ostanka je bil identificiran.
- TRR > 10 %, koncentracija ostanka < 0,01 mg/kg: ostanek je potrebno karakterizirati, dovolj je poskus identifikacije.
- TRR > 10 %, koncentracija ostanka 0,01–0,05 mg/kg: potrebno je vložiti veliko truda v identifikacijo ostankov.
- TRR > 10 %, koncentracija ostanka > 0,05 mg/kg: z vsemi možnimi pristopi je potrebno identificirati ostanke.

Če je koncentracija neekstrahiranega TRR < 0,05 mg/kg ali < 10 %, nadaljnji koraki za karakterizacijo niso potrebni. Če je koncentracija neekstrahiranega TRR > 10 %, ali > 0,05 mg/kg je potrebno ta ostanek poskusiti karakterizirati/identificirati. V tem primeru se neekstrahirani ostanek pod reflukso hidrolizira s kislino ali bazo, razgradi z encimi, tvori inkapsulirane metabolite s površinsko aktivnimi snovmi in ultrazvokom ali razredči s kislino oziroma bazo.

Vzorci morajo biti pred analizo shranjeni pri $\leq -18\text{ }^{\circ}\text{C}$. Stabilnosti ostankov shranjenih pri $\leq -18\text{ }^{\circ}\text{C}$ ni potrebno dokazovati, če so vzorci analizirani v roku šestih mesecev od vzorčenja. Če se vzorce hrani več kot šest mesecev, je potrebno dokazovati, da so ostanki v takšnih vzorcih stabilni za čas shranjevanja.

Na podlagi karakteriziranih/identificiranih metabolitov določijo definicijo ostankov. Definicija ostankov običajno zajema aktivno snov, lahko pa tudi aktivno snov in večje metabolite.

Večji metabolit je tisti, katerega vsebnost presega 0,05 mg/kg ali 10 % TRR, lahko pa tudi tisti, ki je toksikološko signifikanten, kar ocenjevalcu dosjejev na področju ostankov sporočijo toksikologi. Metabolit, ki presega 10 % celotnega radioaktivnega ostanka, a je njegova koncentracija < 0,01 mg/kg, je nesignifikanten.

Spojine, ki jih zajema definicija ostankov za monitoring živil živalskega izvora, morajo analizirati laboratoriji, ki izvajajo rutinsko kontrolo ostankov FFS.

Spojine, ki jih zajema definicija ostankov za oceno tveganja, morajo ocenjevalci vključiti v izračun ocene tveganja za potrošnika, ki živila živalskega izvora uživa.

Izbor metabolitov za definicijo ostankov za živila živalskega izvora za monitoring so običajno aktivna snov ter analiti, ki so prisotni v velikih količinah v velikem številu matrik (najbolje v vseh, v katerih se ostanki lahko pojavijo), oziroma analiti, ki jih je lahko meriti v laboratorijih, po možnosti z multirezidualnimi metodami.

Izbor metabolitov za definicijo ostankov za živila živalskega izvora za oceno tveganja je odvisen od tega:

- ali so metaboliti signifikantni ($\geq 0,01$ mg/kg),
- ali so metaboliti genotoksični,
- ali so metaboliti potencialno toksični ($ADI < 0,01$ mg/kg tt/dan, $ARfD < 0,025$ mg/kg tt).

5 POLJSKI POSKUSI

Zahteve za izdelavo takšnih študij so podane v smernicah:

- OECD 509: Crop Field Trial,
- OECD, Series on Pesticides No. 66, and Series on testing and Assessment No. 164, Draft Guidance Document on Crop Field Trials, second edition, March 2016,
- SANTE/2019/12752: Technical Guidelines on data requirements for setting maximum residue levels, comparability of residue trials and extrapolation of residue data on products from plant and animal origin.

Pridelki rastlin, tretiranih s FFS, morajo biti varni za potrošnika. Zato so v Evropski Uniji postavili enotne maksimalne dovoljene količine ostankov (Maximum Residue Levels, MRLs). MRLji so meje za trgovanje, ne-pa toksikološke meje. Morajo pa biti toksikološko sprejemljivi. Prvi korak pri določanju teh mejnih vrednosti je izvedba poljskih poskusov.

Glavne kulture so tiste, katerih dnevno zaužita količina je večja od 0,125 g/kg bw/dan ali tiste, ki jih gojijo na področju večjem od 20.000 ha in jih pridelajo več kot 400.000 ton na leto. Ostale kulture so manjše kulture.

Za glavne kulture (npr. jabolka, krompir, paradižnik, solata) je potrebno v dveh sezonah izvesti vsaj 8 poljskih poskusov na severu oziroma vsaj 8 poljskih poskusov na jugu Evrope (katere države sodijo v sever in katere v jug je opredeljeno v SANTE/2019/12752), odvisno od tega, kje želijo FFS registrirati. Za manjše kulture (npr. česen, artičoke, rabarbara) je potrebno izvesti vsaj 4 poljske poskuse na severu oziroma vsaj 4 poljske poskuse na jugu Evrope. Za pridelke, tretirane po pravilu, je potrebno izvesti vsaj 4 poskuse. Če vsaj štirje poljski poskusi za glavne kulture oziroma vsaj trije poljski poskusi za manjše kulture, lahko izvedeni tudi v isti sezoni, pokažejo, da so ostanki FFS < LOQ, nadaljnji poskusi običajno niso potrebni.

Za registracijo v Sloveniji so potrebni poljski poskusi v severni Evropi. Poljski poskusi so neodvisni, če so locirani vsaj 20 km narazen in imajo datume sajenja/sejanja oziroma tretiranja > 30 dni narazen.

Poskuse morajo izvesti vsaj v dveh rastnih sezonah, razen če so ostanki < LOQ.

Poljskih poskusov ni potrebno opravljati za vsako posamezno kulturo. Med posameznimi kulturami oziroma skupinami rastlin so dovoljene ekstrapolacije. Če so npr. izvedeni poljski poskusi na jabolkih, je mogoče poskuse ekstrapolirati na celotno skupino pečkato sadje. Ekstrapolacije so podane v Tabeli 3 dokumenta SANTE/2019/12752.

Poljske poskuse morajo izvesti v skladu z dobro kmetijsko prakso, kar pomeni, da morajo kmetijske rastline tretirati v skladu z predvideno uporabo. Pomembni so število aplikacij, odmerek FFS oziroma aktivne snovi in karenci (čas med zadnjim tretiranjem in spravilom pridelka). Dovoljeno je 25 % odstopanje, a le za enega izmed parametrov (le za odmerek, le za karenci ali le za število tretiranj). V nekaterih primerih je razvojna faza rastline (BBCH) bolj pomembna od karenci. Ko gre npr. za tretiranje v zgodnji fazi rasti ali ko gre za žita. Za fazo rasti pravilo 25 % ne velja. Vsaj polovica poskusov bi morala biti izvedena pri več časovnih intervalih (3 do 5-ih), ne samo pri karenci, ki je na etiketi. To omogoča oceno, ali ostanki s karenci padajo ali ne.

Količina odvzetega vzorca je predpisana v OECD 509, Tabela1.

V laboratoriju določijo tiste ostanki FFS v kmetijskem pridelku, ki so vključeni v definicijo ostankov (metabolizem v rastlinah). LOQ morajo biti v območju 0,01–0,05 mg/kg ali manj. Testirati morajo proceduralne izkoristke. Vzorce shranjujejo pri ≤ -18 °C. Stabilnost ostankov dokazujejo le za vzorce, ki niso bili analizirani znotraj časovnega okvira 30 dni po vzorčenju.

Če je odmerek previsok ali prenizek, je mogoč preračun ostankov z upoštevanjem principa proporcionalnosti, a le v primeru, ko je odmerek znotraj intervala 0,3X in 4X od predvidene rabe. Preračun ostankov navzgor je omejen s faktorjem 3, preračun navzdol pa s faktorjem 5. Principa proporcionalnosti ne smemo uporabiti za herbicide, regulatorje rasti ali za tretiranje z granulami, ter za ostanki < LOQ. Ko definicija ostankov vključuje metabolite, je potrebno princip proporcionalnosti uporabiti na preračunu ostankov v skladu z definicijo in ne na posameznih komponentah.

Iz dobljenih vsebnosti ostankov FFS, izračunajo MRL po treh metodah: (R(maks), R(ber) in MRL(OECD)). Sprejeti MRL je običajno cela številka, ki je večja ali enaka izračunanim MRL, hkrati pa je najboljši približek izračunanih MRL. Pri poljskih poskusih, kjer so ostanki FFS pod mejo kvantitativne določitve metode (LOQ), se MRL postavi na LOQ.

Premostitvene študije (bridging studies) so zaželeni, ko je zahtevana registracija za FFS z drugo formulacijo oziroma drugim načinom aplikacije kot je tista, s katero so bili izvedeni poljski poskusi. S takimi študijami običajno skušajo dokazati, da se ostanki zaradi uporabe FFS z drugo formulacijo ne spremenijo. V tem primeru je potrebno predložiti podatke za vsaj 3 glavne skupine kultur (enega predstavnika na skupino) izmed skupin: listnata zelenjava, korenovke, sadje/zelenjava-plodovke, žita in stročnice/oljnice. Dovolj so poskusi iz ene sezone, če so locirani na področjih, ki zajemajo različne klimatske pogoje. Dovoljeno je 25 % odstopanje od doze, števila tretiranja ali karence.

Poljski poskusi so običajno podani v preglednicah, ki vsebujejo vsaj podatke kot so navedeni v spodnji tabeli. Iz ostankov, dobljenih pri dobri kmetijski praksi, se izračuna MRL. Ti ostanki so v tabeli podčrtani. Če je ostanek pri daljši karenci od predvidene večji od ostanka pri karenci na etiketi, se upošteva višji ostanek.

Preglednica 1: Poljska poskusa na grozdju pri dobri kmetijski praksi 2 x 50 g a.s./ha, karenci 14 dni

Pridelek	Odmerek tretiranja v g a.s./ha	Datum tretiranja	Faza rasti	Analizirani del	Ostanki (mg/kg)	Karenca (dnevi)
grozdje	50 51	29. 8. 2013 9. 9. 2013	BBCH 81–83 BBCH 83–85	grozdne jagode	0,051	7
					0,029	14
					<u>0,032</u>	21
grozdje	49 50	30. 8. 2013 10. 9. 2013	BBCH 81–83 BBCH 83–85	grozdne jagode	0,043	7
					<u>0,030</u>	14
					0,017	21

6 ŠTUDIJE KRMLJENJA REJNIH ŽIVALI

Zahteve za izdelavo takšnih študij so podane v smernici OECD 505: Residues in Livestock.

Študije so potrebne za kvantifikacijo ostankov v mesu, mleku, jajcih, jetrih in ledvicah po uporabi FFS na rastlinah, ki so krma za živali. Na podlagi rezultatov postavijo MRL in izvedejo oceno tveganja za potrošnika.

Študije običajno izvedejo na prežvekovalcih (govedu – običajno so to krave molznice) in perutnini (kokoših nesnicah). Rezultate študij na kravah lahko ekstrapolirajo na druge domače živali (prežvekovalce, konje, prašiče, zajce in druge) in rezultate študij na kokoših nesnicah na purane, goske, race in druge.

Ko so metabolne poti na glodalcih (običajno podganah) signifikantno drugačne od tistih na prežvekovalcih (običajno kozah), je običajno potrebna študija metabolizma na prašičih. Če se metabolne poti v študiji na prašičih razlikujejo od tistih na prežvekovalcih, je potrebno narediti tudi študijo krmljenja na prašičih.

Študije krmljenja rejnih živali niso potrebne, ko so ostanki v krmi, tretirani v skladu z dobro kmetijsko prakso, $< \text{LOQ}$, razen, ko študija metabolizma kaže potencialno signifikantno bioakumulacijo pesticida v živilih živalskega izvora.

V primerih, ko je študija metabolizma izvedena z dozo 10 x (doza 1 x je pričakovan vnos v živali) in so ostanki, ki se jih meri v vseh živilih živalskega izvora $< \text{LOQ}$ (običajno $< 0,01 \text{ mg/kg}$), se merljivih ostankov v živilih živalskega izvora ne pričakuje. V teh primerih študija metabolizma lahko služi kot študija krmljenja rejnih živali. V primerih, ko študije krmljenja rejnih živali pokažejo, da so ostanki v živilih živalskega izvora $< \text{LOQ}$, se MRL postavi na LOQ.

Študije izvedejo tako, da živalim dozirajo spojine, za katere so ugotovili, da so relevantne pri študijah metabolizma v rastlinah, študijah metabolizma v naslednjih kulturah in študijah metabolizma v predelanih živilih. Če je aktivna snov glavni ostanek v rastlinah in krmi in ko se le-ta presnavlja v rastlinah podobno kot v živalih,

je primerno živali krmiti le z aktivno spojino. Če glavnino ostanka v rastlinah in krmi predstavlja metabolit, je primerno izvajati študije le z metabolitom. V splošnem ni priporočljivo izvajati študij z mešanicami.

Substance dozirajo živalim s kapsulami ali pomešane s krmo.

Doze, ki jih prejemajo živali, običajno znašajo 1 x, 3 x in 10 x dozo izračunane doze vnosa v živali (1 x, 3 x in 10 x calculated dietary burden). Dozo vnosa v živali se izračunava z EFSA modelom animal model 2017. Za 1 x se vzame maksimalno dozo vnosa od predstavnika iste skupine (npr. če je doza vnosa maksimalna za govedo (beef cattle), se vzame to dozo, kljub temu, da se študija izvaja na kravah molznicah (dairy cattle)).

Število živali vključenih v študijo mora biti:

- pri govedu: 1 za kontrolo in 3 živali na vsako dozo, če gre za spojine, ki se bio-akumulirajo, mora imeti skupina, ki prejema najvišjo dozo, najmanj 3 dodatne živali,
- pri perutnini: 3–4 kokoši za kontrolo (ena za vsako dozo) in 9–10 živali na vsako dozo, če gre za spojine, ki se bio-akumulirajo, mora imeti skupina, ki prejema najvišjo dozo, najmanj 9 dodatnih živali.

Pred začetkom doziranja je priporočljivo, da se živali aklimatizira. Nato jim dnevno dozirajo spojine vsaj 28 dni, ali dokler ni dosežen plato v mleku ali jajcih (lahko več kot 28 dni). Včasih, ko pri 1 x dozi ugotovijo ostanke v živilih živalskega izvora, želijo ugotoviti ali nivo ostankov pada na LOQ metode po končanem doziranju. V tem primeru je običajno mleko glavna pot odstranjevanja substanc iz živali. Študije, pri katerih ugotavljajo padanje ostankov, izvedejo pri najvišji dozi, z zakolom ob več časovnih točkah. V vsako točko naj bi vključili 3 živali.

Študije omogočajo tudi opredelitev ostankov kot: topni v maščobah, netopni v maščobah. Ta opredelitev bazira na porazdelitvi ostankov med mišicami in maščobo, kar ugotovijo iz študij metabolizma in študij krmljenja rejnih živali.

Vzorci mleka in jajc morajo pobrati že pred začetkom doziranja, da ugotovijo stanje v kontrolnih vzorcih. Po doziranju morajo mleko in jajca vzorčiti vsaj dvakrat tedensko

(vsake 3–4 dni). Na dneve vzorčenja morajo zbirati mleko dvakrat dnevno (zjutraj in popoldan). Ko ostanki v mleku in jajcih dosežejo plato, jih lahko analizirajo v tedenskih intervalih.

Prežvekovalce morajo zaklati v roku 24 ur po zadnji prejeti dozi, perutnino pa 6 ur po zadnji prejeti dozi. Izjema so morebitne živali, pri katerih se spremlja, ali nivo ostankov pada na LOQ metode po končanem doziranju.

Po zakolu odvzamejo prežvekovalcem vzorce mesa, maščobe, jeter in ledvica. Perutnini po zakolu odvzamejo vzorce mesa, kože z maščobo in jetra. Prašičem po zakolu odvzamejo vzorce mesa, maščobe, jetra, ledvica in kože.

Vzorce shranjujejo pri $\leq -18\text{ }^{\circ}\text{C}$. Stabilnost ostankov dokazujejo le za vzorce, ki niso bili analizirani znotraj časovnega okvira 30 dni po vzorčenju.

LOQ morajo biti v območju 0,01–0,05 mg/kg ali manj. Naspajkane prazne vzorce morajo analizirati skupaj z vzorci iz študije, da metodo ustrezno validirajo oziroma preverijo proceduralne izkoristke.

Najvišji nivo ostankov FFS pri pričakovanem vnosu aktivne snovi, oziroma njenih signifikantnih metabolitov, je običajno MRL za analizirane proizvode. Če ostankov ni, je MRL postavljen na LOQ. Če študije niso izvedene pri 1 x izračunani dozi, najvišji nivo ostankov (highest residue) izračunajo s predpostavko linearnosti iz ostankov, dobljenih pri dozi, ki je najbližje 1 x izračunani dozi.

Študije niso potrebne, če je vsebnost ostankov v kmetijskih pridelkih $< \text{LOQ}$ oziroma če izračuni pokažejo, da je vnos ostankov v živali zanemarljiv ($< 0,1\text{ mg/kg}$ celotne diete oziroma $< 0,004\text{ mg/kg tt/dan}$). Tudi v primerih, ko je FFS namenjeno izključno za uporabo na kmetijskih pridelkih, ki niso krma za živali (npr. grozdje), študije krmljenja rejnih živali niso relevantne.

7 ŠTUDIJE PREDELAVE

Zahteve za izdelavo takšnih študij so podane v smernici OECD 508: Magnitude of the Pesticide Residues in Processed Commodities.

Te študije dajo vpogled v prenos ostankov iz primarnih kultur (surovih proizvodov) v procesirane proizvode. Cilj je oceniti faktor predelave, ki ga potrebujejo:

- pri oceni tveganja za potrošnika, ki živila uživa,
- pri natančnejšem izračunu vnosa ostankov v živali s krmo,
- za postavitev MRL za procesirana živila,
- za ugotavljanje skladnosti z MRL za primarne kulture (srove proizvode).

Pri študijah najprej tretirajo primarne kulture pri dobri kmetijski praksi ali pri bolj kritični dobri kmetijski praksi, z željo, da dobijo dovolj visoke ostanke in bi posledično lahko merili ostanke > LOQ tudi v predelanih proizvodih. Nato vzorčijo primarne kulture in jih izpostavijo procesom predelave, kot so:

- priprava sadnega soka,
- priprava alkoholnih pijač,
- priprava sokov iz zelenjave,
- priprava olj,
- mletje žitnih zrn,
- proizvodnja silaže,
- priprava sladkorja,
- priprava konzerviranega sadja,
- priprava marmelad, želeja, ter kašic iz sadja,
- priprava kuhane zelenjave in stročnic,
- priprava konzervirane zelenjave,
- priprava cvrte in/ali pečene zelenjave,
- priprava proizvodov živalskega izvora – kuhanje, cvrtje, fermentacija ...,
- dehidracija sadja, zelenjave, krompirja,
- fermentacija soje in riža ter
- kisanje kumar in zelja.

Sledi merjenje koncentracije ostankov in razgradnih produktov, ki so vključeni v definicijo ostankov, ki izhaja iz študij metabolizma v predelanih živilih.

Nato izračunajo faktorja predelave, ki je kvocient med ostankom v procesiranem živilu in ostankom v primarni kulturi, ki jo procesirajo. V primeru, ko sta na voljo dva, trije ali več neodvisnih poskusov, je faktor predelave srednja vrednost faktorjev predelave iz posameznih poskusov. Če sta faktorja predelave iz dveh poskusov nezdružljiva (npr. za faktor 10 različna), je bolje kot rezultat izbrati enega izmed njiju, običajno je to večji faktor predelave. V primeru, ko se dva poskusa razlikujeta za več kot 50 %, je najbolje izvesti še en neodvisen poskus.

Iz porazdelitvenega koeficienta n-oktanol/voda, stabilnosti pri hidrolizi, stabilnosti pri visoki temperaturi in topnosti lahko predpostavijo, ali se bodo ostanki koncentrirali v olju (ko je porazdelitveni koeficient n-oktanol/voda > 3), ali npr. v soku (ko je ostanek topen v vodi).

Če so ostanki FFS v kmetijskem pridelku < LOQ, študije niso potrebne.

Za proizvode iz iste skupine (tipa proizvodov) predpostavijo, da se faktorje predelave ekstrapolira iz ene skupine v drugo. Npr. iz pomaranč v pomarančni sok in kašo na druge citruse.

V primeru različnih postopkov pridelave dva poskusa nista dovolj. To velja za:

- vino: postopek pridelave belega in rdečega vina se razlikujeta, zato sta potrebna vsaj dva poskusa za belo in dva za rdeče vino,
- mletje koruze: suho in mokro mletje, ravno tako sta potrebna vsaj dva poskusa za suho in dva poskusa za mokro mletje,
- proizvodnja olja: če je mogoča ekstrakcija topil in pridelava s hladnim stiskanjem, sta ravno tako potrebna vsaj dva poskusa za vsak način proizvodnje olja.

Vzorci shranjujejo pri ≤ -18 °C. Če pri študijah stabilnosti ostankov v petih različnih skupinah (če je mogoče tudi v živilih živalskega izvora) ni opaziti razpada, potem posebne študije za stabilnost ostankov shranjenih pri ≤ -18 °C niso potrebne. Če študije pokažejo nestabilnost v kateremkoli proizvodu (surovem proizvodu, živalskem

tkivu ali procesiranem proizvodu), morajo proizvode analizirati znotraj časovnega okvirja, v katerem je dokazana stabilnost.

Primer podajanja rezultatov iz študij predelave je prikazan v spodnji preglednici.

Preglednica 2: Primer postopkov predelave v malinah

procesirani proizvod	št. poskusov	faktor predelave	srednji faktor procesiranja
oprano sadje	3	0,63; 0,72; 1,2	0,72
voda v kateri so sadje oprali	3	0,30; 0,31; 0,63	0,31
marmelada	3	0,52; 0,53; 1,0	0,53

8 ŠTUDIJE V NASLEDNJIH KULTURAH

Zahteve za izdelavo takšnih študij so podane v smernici OECD 504: Residues in Rotational Crops (Limited Field Studies).

Naslednje kulture so tiste, ki jih posadimo/posejemo za kulturo, ki smo jo tretirali s FFS.

Študije v naslednjih kulturah izvedejo, če rezultati metabolizma v naslednjih kulturah kažejo, da prihaja do signifikantne akumulacije ostankov iz tal v rastline, namenjene za uživanje ali krmo.

Študije so potrebne, da določijo, kakšna količina ostankov se akumulira v naslednje kulture preko vnosa iz tal, ki so bila tretirana pri dejanski dobri kmetijski praksi. Te podatke uporabijo za določitev omejitev sajenja/sejanja. Npr. koliko časa mora preteči od tretiranja primarne kulture do sajenja/sejanja naslednje kulture, da v naslednjih kulturah ni signifikantnih ostankov. Lahko pa se na podlagi rezultatov določi tudi MRL, ki pokrivajo ne samo primarne, pač pa tudi naslednje kulture.

Načrt študije mora biti tak, da odraža najslabši možni scenarij. Npr. če primarne kulture tretirajo pri dobri kmetijski praksi 2 x 50 g a.s./ha, potem študije izvedejo tako, da zemljo tretirajo z dozo 1 x 100 g a.s./ha (letni odmerek), ter nato v določenih časovnih intervalih posadijo/posejejo naslednje kulture.

Študije se ne zahtevajo za trajne (npr. sadovnjaki, vinogradi) ali pol-trajne nasade (npr. jagodičje), ker se smatra, da tam ne gojijo naslednjih kultur.

Študije morajo izvesti na dveh različnih geografskih področjih, na katerih se uporablja pesticid. Če primarno kulturo gojijo le v enem geografskem območju, morajo poskuse izvesti na dveh različnih testnih področjih znotraj tega območja. Enega izmed testov bi morali izvesti na peščeno ilovnatih tleh. Vsako testno mesto mora vključevati kontrolne parcele.

Študijo lahko izvedejo tako, da na parceli gojijo najprej primarno kulturo, ki jo tretirajo, za njo pa naslednje kulture ali tako, da tretirajo zemljo pri maksimalni dobri kmetijski praksi in maksimalnem številu aplikacij, ter nato po določenih časovnih intervalih v zemljo posadijo/posejejo naslednje kulture.

Naslednje kulture morajo biti predstavniki skupin: korenovke in gomoljnice, listnata zelenjava in žita (npr. pšenica ali ječmen). Če rotacija naslednje kulture ni pokrita s temi tremi predstavniki, dodajo predstavnika oljnic/stročnic (npr. soja).

Časovni intervali rotacije naslednjih kultur so:

- 7 do 30 dni: v primeru, če pride pri primarni kulturi do izpada pridelka,
- 60 do 270 dni: ta primer odraža tipični interval spravila pridelka ter
- 270 do 365 dni: ta interval odraža naslednje kulture, sajene/sejane naslednje leto.

Včasih, ko ima pesticid fitotoksični učinek, naslednje kulture ni mogoče saditi/sejati 7–30 dni po tretiranju tal.

Analizirati morajo vse dele rastline naslednje kulture, vključno z listi korenovk in gomoljnic (dele rastlin primerne za uživanje in krmo). Pri analizah morajo upoštevati definicijo ostankov za naslednje kulture. Vzporedno z analizami morajo testirati proceduralne izkoristke. LOQ morajo biti primerljivi s tistimi za primarne kulture, kar pomeni v območju 0,01–0,05 mg/kg ali manj.

Vzorci shranjujejo pri ≤ -18 °C. Stabilnost ostankov dokazujejo le za vzorce, ki niso bili analizirani znotraj časovnega okvira 30 dni po vzorčenju.

9 DRUGE ŠTUDIJE – OSTANKI V MEDU

Zahteve za izdelavo takšnih študij so podane v smernici Technical guidelines for determining the magnitude of pesticide residues in honey and setting Maximum Residue Levels in honey, SANTE/11956/2016 rev. 9, 14 September 2018.

Študije niso potrebne, če ostankov v medu ne pričakujejo. Npr., ko tretirajo rastline, ki niso medonosne, ali ko tretirajo rastline po cvetenju. V tem primeru MRL postavijo na privzeto vrednost 0,05 mg/kg. Seznam medonosnih rastlin se nahaja v Prilogi II v smernici SANTE/11956/2016 rev. 9.

Študije so potrebne, ko je aktivna snov sistemik in lahko vse vrste tretiranj povzročijo ostanke v medu.

Če je najvišji ostanek izmerjen v nadzemnem delu rastline (tretirane rastline ali neciljne rastline kot je podrast ali okoliška rastlina) 1 dan po tretiranju pod 0,05 mg/kg, je pričakovati, da bo ostanek v medu pod 0,05 mg/kg. V tem primeru MRL postavijo na privzeto vrednost 0,05 mg/kg.

Če je najvišji ostanek izmerjen v nadzemnem delu rastline $\geq 0,05$ mg/kg in $< 0,5$ mg/kg, lahko postavijo MRL na vrednosti najvišjega ostanka, če je takšen MRL varen za potrošnika.

Če je najvišji ostanek izmerjen v nadzemnem delu rastline $\geq 0,5$ mg/kg, so potrebni poskusi in sicer iz prenosa iz sirupa ali iz poljskih oziroma poskusov v tunelih. Poskuse je potrebno narediti glede na najslabši možni scenarij na močno medonosni rastlini kot sta oljna ogrščica ali facelija.

Poskusi s sirupom

Pri teh poskusih pesticide dodajo v vodno sladkorno raztopino (vsaj 50 % masa/volumen), ki jo imenujejo raztopina za hranjenje. 2 l sveže pripravljene raztopine za krmljenje morajo postaviti v vsak panj enkrat dnevno ali takoj, ko zmanjka predhodne raztopine za krmljenje. Krmljenje čebel morajo izvajati 4 zaporedne dneve.

Potrebni so poskusi z vsaj 4 tuneli in enim kontrolnim tunelom.

Čebelarje družine ostanejo v tunelih, dokler med ne doseže zrelosti (njegova vsebnost vode mora biti manjša od 20 %), kar se običajno zgodi po enem ali dveh tednih. Nato odvzamejo vzorce medu. Vsak vzorec mora imeti približno 100 g.

Če so ostanki v medu višji od 0,05 mg/kg, lahko MRL postavijo s faktorjem prenosa iz sirupa v med: najvišji ostanek v rastlinah (glede na definicijo ostankov za monitoring) x srednji faktor prenosa.

Poljski poskusi

Poskuse izvedejo s tretiranjem medonosne rastline pri kritični dobri kmetijski praksi. Polje mora biti veliko 1–3 ha. V okolici z radijem 2–3 km ne sme biti drugih cvetočih rastlin. Izjema so rastline, ki so manj privlačne za čebele kot tretirane rastline. Takšne rastline ne smejo biti prisotne v radiju 500 m.

Potrebni so vsaj 4 poskusi, lahko znotraj iste rastne sezone, morajo pa jih izvesti na različnih geografskih področjih.

Panje morajo pripeljati na polje na dan tretiranja v primeru aplikacije s pršenjem. Za druge načine aplikacij morajo panje pripeljati takrat, da se čebele lahko pasejo, ko so ostanki v nadzemnem delu rastline največji. Čebelarje družine ostanejo na polju, dokler med ne doseže zrelosti (njegova vsebnost vode mora biti manjša od 20 %), kar se običajno zgodi 7–21 dni po tretiranju ali začetku cvetenja. Nato odvzamejo vzorce. Laboratorijski vzorec mora imeti vsaj 0,5 kg medu.

Poskusi v tunelih

Pri teh študijah omejijo polje in čebele s tunelom, kar zagotavlja, da se čebele pasejo le na tretiranih rastlinah. Medonosne rastline tretirajo pri kritični dobri kmetijski praksi.

Vsak poskus mora imeti eno kontrolno in eno tretirano polje, vsako v svojem tunelu. Velikost tunela mora biti vsaj 120 m². Tunel mora imeti na sredini eno pot široko približno 50 cm, da je mogoč nanos pesticida.

Potrebni so vsaj 4 poskusi, lahko znotraj iste rastne sezone. Lokacije poskusov morajo biti vsaj 10 km narazen.

Panje morajo pripeljati v tunele zvečer pred tretiranjem, v primeru aplikacije s pršenjem. Tretiranje morajo izvesti prvi dan pred poldnevom, da se lahko čebele že

prvi dan pasejo čim več časa na tretiranih rastlinah. Za druge načine aplikacij morajo tretiranje izvesti takrat, da se čebele lahko pasejo, ko so ostanki v nadzemnem delu rastline največji.

Po tretiranju, panje pustijo v tunelih dokler med ne dozori (njegova vsebnost vode mora biti manjša od 20 %), kar se običajno zgodi 7–14 dni po naselitvi čebel v tunele, ali ob koncu cvetenja (kar se pač prej zgodi). Nato odvzamejo vzorce medu. Vsak vzorec mora imeti približno 100 g.

Vzorce shranjujejo pri ≤ -18 °C. Stabilnost ostankov dokazujejo le za vzorce, ki niso bili analizirani znotraj časovnega okvira 30 dni po vzorčenju.

Na podlagi ostankov v vzorcih medu, pridobljenih iz kateregakoli izmed treh vrst poskusov, s tremi statističnimi metodami (Rmax, Rber, Rounded MRL OECD), izračunajo MRL enako kot za sadje in zelenjavo.

10 OCENA TVEGANJA

Evropska agencija za varno hrano (European Food Safety Agency, EFSA) je izdelala model za izdelavo ocene tveganja, v katerega je vključila diete iz Evropske unije (PRIMo model, trenutno veljaven model rev. 3.1). Z modelom lahko izračunajo kronično in akutno izpostavljenost potrošnikov. Model je dostopen na povezavi <https://www.efsa.europa.eu/en/supporting/pub/en-1605> (Risk assessment tool).

S kronično izpostavljenostjo potrošnika izračunajo, koliko snovi lahko človek zaužije vsak dan do konca življenja, ne da bi to imelo negativne posledice na njegovo zdravje. V model vnesejo MRL ali srednjo vrednost (Supervised Trial Median Residue, STMR) posamezne aktivne spojine in sprejemljivi dnevni vnos (Acceptable Daily Intake, ADI) spojine. ADI dobijo na spletni povezavi <https://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/start/screen/active-substances>. Model primerja te vrednosti in kronično izpostavljenost potrošnika poda v % ADI (Theoretical Maximum Daily Intake, TMDI). Meja za sprejemljivost kronične izpostavljenosti je ≤ 100 % ADI.

Z akutno izpostavljenostjo potrošnika izračunajo, koliko snovi lahko človek zaužije z enim obrokom, ne da bi to imelo negativne posledice na njegovo zdravje. V model vnesejo MRL ali najvišjo vsebnost posamezne aktivne spojine (Highest Residue, HR) in akutno referenčno dozo (Acute Reference Dose, ARfD) spojine. ARfD dobijo na spletni povezavi <https://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/start/screen/active-substances>. Model primerja te vrednosti in akutno izpostavljenost potrošnika poda v % ARfD (International Estimated Short Term Intake, IESTI). Meja za sprejemljivost akutne izpostavljenosti je ≤ 100 % ARfD.

V primeru, ko definicija ostankov zajema več snovi ločeno, je potrebno izračunati oceno tveganja za vsako posebej. Če definicija ostankov zajema več snovi, ki so izražene kot aktivna snov, potem se uporabi ostanek, ki zajema vse te snovi, izražen kot aktivna snov. Če so na voljo faktorji pretvorbe, ki ostanke, ki jih spremljamo pri monitoringu, pretvorijo v ostanke, ki pokrivajo oceno tveganja, potem pri izračunu ocene tveganja s slednjimi pomnožimo ostanek iz monitoringa.

V primeru presežene izpostavljenosti sredstva oziroma aktivne snovi ne smemo odobriti za uporabo na kulturi, ki ima preseženo akutno izpostavljenost.

Spodaj je podan primer ocene tveganja za aktivno snov amisulbrom z vnosom MRL-jev v EFSA PRIMo model Rev. 3.1, kjer je ADI 0,1 mg/kg bw/d in ARfD 0.3 mg/kg bw. Rezultati za kronično izpostavljenost so podani na Sliki 1 in za akutno izpostavljenost na Sliki 2. Najvišja kronična izpostavljenost znaša 3 % ADI za dieto za odrasle Špance, najvišja akutna izpostavljenost pa 51 % ARfD za solato, ki jo uživajo otroci.

Slika 1: Kronična izpostavljenost za amisulbrom

 European Food Safety Authority EFSA PRIMo revision 3.1; 2019/03/19			amisulbrom LOQs (mg/kg) range from: to: Toxicological reference values ADI (mg/kg bw/day): 0,1 ARID (mg/kg bw): 0,3 Source of ADI: EFSA Source of ARID: EFSA Year of evaluation: 2014 Year of evaluation: 2014				Input values Details - chronic risk assessment Supplementary results - chronic risk assessment Details - acute risk assessment/children Details - acute risk assessment/adults				
Comments:											
Normal mode											
Chronic risk assessment: JMPR methodology (IEDI/TMDI)											
			No of diets exceeding the ADI : ---								
	Calculated exposure (% of ADI)	MS Diet	Exposure (µg/kg bw per day)	Highest contributor to MS diet (in % of ADI)	Commodity / group of commodities	2nd contributor to MS diet (in % of ADI)	Commodity / group of commodities	3rd contributor to MS diet (in % of ADI)	Commodity / group of commodities	MRLs set at the LOQ (in % of ADI)	commodities not under assessment (in % of ADI)
TMDI/NED/IEDI calculation (based on average food consumption)	3%	ES adult	2,89	2%	Lettuces	0,3%	Tomatoes	0,2%	Wine grapes		
	3%	GEMS/Food G06	2,86	1%	Tomatoes	0,5%	Table grapes	0,4%	Lettuces		
	3%	GEMS/Food G07	2,66	1,0%	Lettuces	0,7%	Wine grapes	0,4%	Tomatoes		
	3%	GEMS/Food G10	2,57	1%	Lettuces	0,5%	Tomatoes	0,2%	Wine grapes		
	2%	ES child	2,45	2%	Lettuces	0,4%	Tomatoes	0,1%	Milk: Cattle		
	2%	NL toddler	2,43	0,8%	Table grapes	0,6%	Milk: Cattle	0,4%	Tomatoes		
	2%	PT general	2,33	1%	Wine grapes	0,4%	Lettuces	0,4%	Tomatoes		
	2%	SE general	2,31	2%	Lettuces	0,3%	Tomatoes	0,1%	Milk: Cattle		
	2%	GEMS/Food G08	2,29	0,8%	Lettuces	0,5%	Wine grapes	0,5%	Tomatoes		
	2%	IT adult	2,19	2%	Lettuces	0,5%	Tomatoes	0,1%	Table grapes		
	2%	RO general	2,14	0,8%	Wine grapes	0,8%	Tomatoes	0,1%	Milk: Cattle		
	2%	DE child	2,02	0,7%	Table grapes	0,4%	Tomatoes	0,3%	Lettuces		
	2%	GEMS/Food G15	1,98	0,5%	Wine grapes	0,5%	Tomatoes	0,4%	Lettuces		
	2%	IT toddler	1,97	1%	Lettuces	0,6%	Tomatoes	0,1%	Wheat		
	2%	GEMS/Food G11	1,80	0,5%	Wine grapes	0,4%	Tomatoes	0,3%	Lettuces		
	2%	DE women 14-50 yr	1,69	0,5%	Lettuces	0,4%	Wine grapes	0,3%	Tomatoes		
	2%	NL child	1,68	0,5%	Table grapes	0,3%	Lettuces	0,2%	Milk: Cattle		
	2%	IE adult	1,68	0,6%	Wine grapes	0,3%	Lettuces	0,2%	Tomatoes		
	2%	FR adult	1,64	1%	Wine grapes	0,2%	Tomatoes	0,1%	Table grapes		
	2%	DE general	1,54	0,4%	Wine grapes	0,4%	Lettuces	0,3%	Tomatoes		
	1%	UK vegetarian	1,40	0,6%	Lettuces	0,4%	Wine grapes	0,2%	Tomatoes		
	1%	UK adult	1,33	0,5%	Wine grapes	0,5%	Lettuces	0,2%	Tomatoes		
	1%	FI adult	1,32	0,6%	Lettuces	0,3%	Coffee beans	0,2%	Tomatoes		
	1%	DK adult	1,28	0,5%	Wine grapes	0,4%	Lettuces	0,2%	Tomatoes		
	1%	DK child	1,27	0,6%	Lettuces	0,2%	Tomatoes	0,1%	Milk: Cattle		
	1%	FR child 3-15 yr	1,26	0,3%	Tomatoes	0,2%	Milk: Cattle	0,2%	Wine grapes		
	1%	NL general	1,25	0,4%	Lettuces	0,3%	Wine grapes	0,2%	Tomatoes		
	0,9%	UK toddler	0,90	0,2%	Tomatoes	0,2%	Milk: Cattle	0,1%	Table grapes		
	0,9%	FR toddler 2-3 yr	0,87	0,3%	Milk: Cattle	0,2%	Tomatoes	0,1%	Wine grapes		
	0,8%	UK infant	0,77	0,4%	Milk: Cattle	0,1%	Tomatoes	0,0%	Potatoes		
	0,7%	FI 6 yr	0,73	0,3%	Lettuces	0,2%	Tomatoes	0,1%	Table grapes		
	0,7%	LT adult	0,67	0,3%	Lettuces	0,2%	Tomatoes	0,0%	Milk: Cattle		
	0,7%	PL general	0,66	0,4%	Tomatoes	0,2%	Table grapes	0,1%	Lettuces		
	0,7%	FI 3 yr	0,65	0,2%	Tomatoes	0,1%	Lettuces	0,1%	Table grapes		
	0,4%	FR infant	0,36	0,2%	Milk: Cattle	0,0%	Tomatoes	0,0%	Wine grapes		
	0,2%	IE child	0,16	0,0%	Milk: Cattle	0,0%	Table grapes	0,0%	Lettuces		
Conclusion: The estimated long-term dietary intake (TMDI/NED/IEDI) was below the ADI. The long-term intake of residues of amisulbrom is unlikely to present a public health concern.											

Slika 2: Akutna izpostavljenost za amisulbrom

Acute risk assessment /children					Acute risk assessment / adults / general population					Acute risk assessment /children					Acute risk assessment / adults / general population				
Details - acute risk assessment /children					Details - acute risk assessment/adults					Hide IESTI new calculations					Show IESTI new calculations				
The acute risk assessment is based on the ARID. The calculation is based on the large portion of the most critical consumer group.										IESTI new calculations: The calculation is performed with the MRL and the peeling/processing factor (PF), taking into account the residue in the edible portion and/or the conversion factor for the residue definition (CF). For case 2a, 2b and 3 calculations a variability factor of 3 is used. Since this methodology is not based on internationally agreed principles, the results are considered as indicative only. Since this methodology is not based on internationally agreed principles, the results are considered as indicative only.									
Show results for all crops																			
Unprocessed commodities	Results for children No. of commodities for which ARID/ADI is exceeded (IESTI):				Results for adults No. of commodities for which ARID/ADI is exceeded (IESTI):				IESTI new Results for children No. of commodities for which ARID/ADI is exceeded (IESTI new):				IESTI new Results for adults No. of commodities for which ARID/ADI is exceeded (IESTI new):						
	---				---				---				---						
	IESTI				IESTI				IESTI new				IESTI new						
	Highest % of ARID/ADI	Commodities	MRL / input for RA (mg/kg)	Exposure (µg/kg bw)	Highest % of ARID/ADI	Commodities	MRL / input for RA (mg/kg)	Exposure (µg/kg bw)	Highest % of ARID/ADI	Commodities	MRL / input for RA (mg/kg)	Exposure (µg/kg bw)	Highest % of ARID/ADI	Commodities	MRL / input for RA (mg/kg)	Exposure (µg/kg bw)			
	51%	Lettuces	4 / 4	152	16%	Lettuces	4 / 4	49	30%	Lettuces	4 / 4	91	10%	Lettuces	4 / 4	29			
	12%	Table grapes	0.5 / 0.5	36	6%	Table grapes	0.5 / 0.5	17	7%	Table grapes	0.5 / 0.5	22	4%	Wine grapes	0.5 / 0.5	12			
	8%	Tomatoes	0.4 / 0.4	23	4%	Wine grapes	0.5 / 0.5	12	4%	Tomatoes	0.4 / 0.4	12	3%	Table grapes	0.5 / 0.5	10			
	3%	Aubergines/egg plants	0.4 / 0.4	10.0	4%	Aubergines/egg plants	0.4 / 0.4	11	2%	Aubergines/egg plants	0.4 / 0.4	6.0	3%	Aubergines/egg plants	0.4 / 0.4	7.7			
	2%	Wine grapes	0.5 / 0.5	4.6	2%	Tomatoes	0.4 / 0.4	6.3	2%	Wine grapes	0.5 / 0.5	4.6	3%	Tomatoes	0.4 / 0.4	7.7			
	0.5%	Potatoes	0.01 / 0.01	1.5	0.1%	Head cabbages	0.01 / 0.01	0.42	0.4%	Milk: Cattle	0.01 / 0.01	1.2	0.2%	Oranges	0.01 / 0.01	0.47			
0.5%	Melons	0.01 / 0.01	1.5	0.1%	Watermelons	0.01 / 0.01	0.41	0.3%	Melons	0.01 / 0.01	0.91	0.1%	Plums	0.01 / 0.01	0.39				
0.5%	Pears	0.01 / 0.01	1.4	0.1%	Melons	0.01 / 0.01	0.39	0.2%	Watermelons	0.01 / 0.01	0.73	0.1%	Milk: Cattle	0.01 / 0.01	0.39				
0.4%	Oranges	0.01 / 0.01	1.3	0.1%	Milk: Cattle	0.01 / 0.01	0.39	0.2%	Oranges	0.01 / 0.01	0.67	0.1%	Pears	0.01 / 0.01	0.36				
0.4%	Milk: Cattle	0.01 / 0.01	1.2	0.1%	Swedes/rutabagas	0.01 / 0.01	0.34	0.2%	Potatoes	0.01 / 0.01	0.66	0.1%	Mandarins	0.01 / 0.01	0.33				
0.4%	Watermelons	0.01 / 0.01	1.2	0.1%	Oranges	0.01 / 0.01	0.31	0.2%	Apples	0.01 / 0.01	0.62	0.1%	Potatoes	0.01 / 0.01	0.31				
0.4%	Apples	0.01 / 0.01	1.1	0.1%	Pears	0.01 / 0.01	0.31	0.2%	Bananas	0.01 / 0.01	0.61	0.10%	Apples	0.01 / 0.01	0.30				
0.3%	Pineapples	0.01 / 0.01	1.0	0.10%	Potatoes	0.01 / 0.01	0.30	0.2%	Pineapples	0.01 / 0.01	0.61	0.09%	Bananas	0.01 / 0.01	0.28				
0.3%	Bananas	0.01 / 0.01	0.97	0.10%	Pineapples	0.01 / 0.01	0.30	0.2%	Pears	0.01 / 0.01	0.59	0.09%	Yams	0.01 / 0.01	0.27				
0.3%	Peaches	0.01 / 0.01	0.95	0.09%	Yams	0.01 / 0.01	0.28	0.2%	Peaches	0.01 / 0.01	0.54	0.09%	Kaki/Japanese persimmons	0.01 / 0.01	0.27				
Expand/collapse list																			
Total number of commodities exceeding the ARID/ADI in children and adult diets (IESTI calculation)								Total number of commodities found exceeding the ARID/ADI in children and adult diets (IESTI new calculation)											
Processed commodities	Results for children No. of processed commodities for which ARID/ADI is exceeded (IESTI):				Results for adults No. of processed commodities for which ARID/ADI is exceeded (IESTI):				IESTI new Results for children No. of processed commodities for which ARID/ADI is exceeded (IESTI new):				IESTI new Results for adults No. of processed commodities for which ARID/ADI is exceeded (IESTI new):						
	---				---				---				---						
	IESTI				IESTI				IESTI new				IESTI new						
	Highest % of ARID/ADI	Processed commodities	MRL / input for RA (mg/kg)	Exposure (µg/kg bw)	Highest % of ARID/ADI	Processed commodities	MRL / input for RA (mg/kg)	Exposure (µg/kg bw)	Highest % of ARID/ADI	Processed commodities	MRL / input for RA (mg/kg)	Exposure (µg/kg bw)	Highest % of ARID/ADI	Processed commodities	MRL / input for RA (mg/kg)	Exposure (µg/kg bw)			
	7%	Wine grapes / juice	0.5 / 0.5	22	3%	Wine grapes / juice	0.5 / 0.5	10	7%	Wine grapes / juice	0.5 / 0.5	22	3%	Wine grapes / juice	0.5 / 0.5	10			
	3%	Tomatoes / juice	0.4 / 0.4	7.6	2%	Wine grapes / wine	0.5 / 0.5	4.7	3%	Tomatoes / juice	0.4 / 0.4	7.6	2%	Wine grapes / wine	0.5 / 0.5	4.7			
	1%	Tomatoes / sauce/puree	0.4 / 0.4	3.8	1%	Tomatoes / sauce/puree	0.4 / 0.4	3.3	1%	Tomatoes / sauce/puree	0.4 / 0.4	3.8	1%	Tomatoes / sauce/puree	0.4 / 0.4	3.3			
	0.4%	Sugar beets (root) / sugar	0.01 / 0.12	1.1	1.0%	Table grapes / raisins	0.5 / 2.35	2.9	0.4%	Sugar beets (root) / sugar	0.01 / 0.12	1.1	1.0%	Table grapes / raisins	0.5 / 2.35	2.9			
	0.3%	Potatoes / fried	0.01 / 0.01	0.93	0.2%	Pumpkins / boiled	0.01 / 0.01	0.55	0.2%	Potatoes / dried (flakes)	0.01 / 0.05	0.59	0.1%	Sugar beets (root) / sugar	0.01 / 0.12	0.44			
	0.3%	Pumpkins / boiled	0.01 / 0.01	0.89	0.1%	Sugar beets (root) / sugar	0.01 / 0.12	0.44	0.2%	Apples / juice	0.01 / 0.01	0.54	0.1%	Pumpkins / boiled	0.01 / 0.01	0.40			
	0.3%	Witloofs / boiled	0.01 / 0.01	0.89	0.1%	Cauliflowers / boiled	0.01 / 0.01	0.42	0.2%	Pumpkins / boiled	0.01 / 0.01	0.53	0.1%	Apples / juice	0.01 / 0.01	0.33			
	0.3%	Broccoli / boiled	0.01 / 0.01	0.79	0.1%	Beetroots / boiled	0.01 / 0.01	0.39	0.2%	Oranges / juice	0.01 / 0.01	0.53	0.08%	Cauliflowers / boiled	0.01 / 0.01	0.25			
	0.2%	Cauliflowers / boiled	0.01 / 0.01	0.70	0.1%	Celeries / boiled	0.01 / 0.01	0.34	0.2%	Broccoli / boiled	0.01 / 0.01	0.47	0.08%	Coffee beans / extraction	0.05 / 0.01	0.24			
	0.2%	Escaroles/broad-leaved er	0.01 / 0.01	0.66	0.1%	Apples / juice	0.01 / 0.01	0.33	0.2%	Witloofs / boiled	0.01 / 0.01	0.47	0.07%	Witloofs / boiled	0.01 / 0.01	0.22			
	0.2%	Potatoes / dried (flakes)	0.01 / 0.05	0.59	0.08%	Broccoli / boiled	0.01 / 0.01	0.24	0.1%	Potatoes / fried	0.01 / 0.01	0.44	0.07%	Celeries / boiled	0.01 / 0.01	0.20			
	0.2%	Leeks / boiled	0.01 / 0.01	0.57	0.08%	Coffee beans / extraction	0.05 / 0.01	0.24	0.1%	Cauliflowers / boiled	0.01 / 0.01	0.42	0.07%	Broccoli / boiled	0.01 / 0.01	0.20			
	0.2%	Apples / juice	0.01 / 0.01	0.54	0.08%	Courgettes / boiled	0.01 / 0.01	0.23	0.1%	Escaroles/broad-leaved	0.01 / 0.01	0.40	0.06%	Rhubarbs / sauce/puree	0.01 / 0.01	0.19			
	0.2%	Oranges / juice	0.01 / 0.01	0.53	0.07%	Parsnips / boiled	0.01 / 0.01	0.21	0.1%	Carrots / juice	0.01 / 0.01	0.36	0.06%	Beetroots / boiled	0.01 / 0.01	0.17			
	0.2%	Turnips / boiled	0.01 / 0.01	0.51	0.07%	Kohlrabies / boiled	0.01 / 0.01	0.21	0.1%	Leeks / boiled	0.01 / 0.01	0.33	0.05%	Courgettes / boiled	0.01 / 0.01	0.16			
	Expand/collapse list																		
	Conclusion: No exceedance of the toxicological reference value was identified for any unprocessed commodity. A short term intake of residues of amisulbrom is unlikely to present a public health risk. For processed commodities, no exceedance of the ARID/ADI was identified.																		

Spodaj je podan primer ocene tveganja za aktivno snov acetamiprid z vnosom MRL-jev v EFSA PRIMo model Rev. 3.1, kjer je ADI 0,025 mg/kg bw/d in ARfD 0.025 mg/kg bw. Rezultati za kronično izpostavljenost so podani na Sliki 3 in za akutno izpostavljenost na Sliki 4.

Najvišja kronična izpostavljenost znaša 123 % ADI za dieto za nizozemske otroke stare 1-3 let. Kronična izpostavljenost je previsoka in predstavlja tveganje za potrošnika. V tem primeru namesto MRL-jev v model vstavijo dostopne STMR-je, ki so del ocene ali EFSA poročila o reviziji MRL. Če je pri takšnem preračunu kronična izpostavljenost ≤ 100 % ADI, je tveganje za potrošnika sprejemljivo.

Najvišja akutna izpostavljenost znaša 477 % ARfD za pomaranče, ki jih uživajo otroci. V tem primeru namesto MRL-jev v model vstavijo dostopne HR-je, ki so del ocene ali EFSA poročila o reviziji MRL. Če je pri takšnem preračunu akutna izpostavljenost ≤ 100 % ARfD, je akutno tveganje za potrošnika sprejemljivo. V nasprotnem primeru registracija na živilih, katerih akutna izpostavljenost predstavlja tveganje za potrošnika, ni sprejemljiva.

Slika 3: Kronična izpostavljenost za acetamidrid

 European Food Safety Authority EFSA PRIMo revision 3.1; 2019/03/19		acetamidrid						Input values											
		LOQs (mg/kg) range from: to:						Details - chronic risk assessment				Supplementary results - chronic risk assessment							
		Toxicological reference values																	
		ADI (mg/kg bw/day):			0,025			ARID (mg/kg bw):			0,025			Details - acute risk assessment/children				Details - acute risk assessment/adults	
Source of ADI:			EFSA			Source of ARID:			EFSA										
Year of evaluation:			2016			Year of evaluation:			2016										
Comments:																			
Normal mode																			
Chronic risk assessment: JMPR methodology (IEDI/TMDI)																			
				No of diets exceeding the ADI :						1									
	Calculated exposure (% of ADI)		MS Diet	Expsoure (µg/kg bw per day)	Highest contributor to MS diet (in % of ADI)	Commodity / group of commodities		2nd contributor to MS diet (in % of ADI)		Commodity / group of commodities		3rd contributor to MS diet (in % of ADI)		Commodity / group of commodities		Exposure resulting from MRLs set at the LOQ (in % of ADI)		commodities not under assessment (in % of ADI)	
TMDI/NED/IEDI calculation (based on average food consumption)	123%	NL toddler	30,67	48%	Milk: Cattle			17%	Apples			9%	Bananas						
	79%	DE child	19,81	20%	Apples			16%	Milk: Cattle			14%	Oranges						
	64%	NL child	16,10	20%	Milk: Cattle			9%	Apples			5%	Oranges						
	55%	FR child 3 15 yr	13,69	18%	Milk: Cattle			12%	Oranges			3%	Bovine: Muscle/meat						
	53%	FR toddler 2 3 yr	13,14	23%	Milk: Cattle			5%	Oranges			5%	Apples						
	51%	UK infant	12,82	31%	Milk: Cattle			5%	Oranges			3%	Apples						
	49%	ES child	12,13	10%	Milk: Cattle			9%	Olives for oil production			8%	Oranges						
	43%	GEMS/Food G08	10,68	10%	Olives for oil production			4%	Milk: Cattle			4%	Swine: Muscle/meat						
	41%	SE general	10,25	10%	Milk: Cattle			9%	Bovine: Muscle/meat			3%	Bananas						
	41%	UK toddler	10,24	17%	Milk: Cattle			7%	Oranges			3%	Apples						
	41%	GEMS/Food G07	10,15	5%	Milk: Cattle			5%	Oranges			4%	Olives for oil production						
	39%	GEMS/Food G06	9,82	7%	Tomatoes			4%	Olives for oil production			4%	Oranges						
	38%	DE women 14-50 yr	9,47	10%	Milk: Cattle			7%	Oranges			4%	Apples						
	37%	GEMS/Food G10	9,21	5%	Olives for oil production			4%	Milk: Cattle			4%	Oranges						
	36%	DE general	8,97	10%	Milk: Cattle			6%	Oranges			4%	Apples						
	35%	GEMS/Food G11	8,80	6%	Milk: Cattle			3%	Olives for oil production			3%	Oranges						
	35%	GEMS/Food G15	8,77	6%	Milk: Cattle			3%	Swine: Muscle/meat			2%	Oranges						
	34%	DK child	8,59	10%	Milk: Cattle			4%	Swine: Muscle/meat			4%	Apples						
	34%	IE adult	8,40	4%	Oranges			3%	Milk: Cattle			3%	Grapefruits						
	33%	RO general	8,31	9%	Milk: Cattle			4%	Tomatoes			3%	Wine grapes						
	31%	ES adult	7,70	5%	Olives for oil production			5%	Oranges			4%	Milk: Cattle						
	27%	NL general	6,83	7%	Milk: Cattle			4%	Oranges			2%	Apples						
	25%	FR infant	6,30	13%	Milk: Cattle			3%	Apples			1%	Beans (with pods)						
	22%	FR adult	5,53	5%	Wine grapes			4%	Milk: Cattle			2%	Oranges						
	21%	PT general	5,27	5%	Wine grapes			3%	Olives for oil production			2%	Oranges						
	17%	DK adult	4,37	4%	Milk: Cattle			2%	Wine grapes			2%	Swine: Muscle/meat						
	17%	IT toddler	4,18	3%	Tomatoes			3%	Wheat			2%	Lettuces						
	15%	FI 3 yr	3,87	2%	Bananas			2%	Cucumbers			2%	Apples						
	15%	UK vegetarian	3,84	3%	Oranges			3%	Milk: Cattle			2%	Wine grapes						
	15%	IT adult	3,65	2%	Tomatoes			2%	Lettuces			2%	Wheat						
	14%	UK adult	3,48	2%	Milk: Cattle			2%	Wine grapes			2%	Oranges						
	14%	LT adult	3,48	3%	Milk: Cattle			3%	Apples			2%	Swine: Muscle/meat						
	11%	FI 6 yr	2,84	1%	Bananas			1%	Mandarins			1%	Cucumbers						
	10%	FI adult	2,47	1%	Oranges			1%	Coffee beans			1%	Tomatoes						
	10%	PL general	2,40	3%	Apples			2%	Tomatoes			0,6%	Table grapes						
	6%	IE child	1,59	3%	Milk: Cattle			0,5%	Apples			0,5%	Wheat						
Conclusion: The estimated TMDI/NED/IEDI was in the range of 0 % to 122,7 % of the ADI. For 1 diet(s) the ADI is exceeded.																			

Slika 4: Akutna izpostavljenost za acetamiprid

Acute risk assessment /children					Acute risk assessment / adults / general population					Acute risk assessment /children					Acute risk assessment / adults / general population					
Details - acute risk assessment /children					Details - acute risk assessment/adults					Hide IESTI new calculations					Show IESTI new calculations					
The acute risk assessment is based on the ARID. The calculation is based on the large portion of the most critical consumer group.										IESTI new calculations: The calculation is performed with the MRL and the peeling/processing factor (PF), taking into account the residue in the edible portion and/or the conversion factor for the residue definition (CF). For case 2a, 2b and 3 calculations a variability factor of 3 is used. Since this methodology is not based on internationally agreed principles, the results are considered as indicative only. Since this methodology is not based on internationally agreed principles, the results are considered as indicative only.										
Show results for all crops																				
Unprocessed commodities	Results for children No. of commodities for which ARID/ADI is exceeded (IESTI):					Results for adults No. of commodities for which ARID/ADI is exceeded (IESTI):					IESTI new Results for children No. of commodities for which ARID/ADI is exceeded (IESTI new):					IESTI new Results for adults No. of commodities for which ARID/ADI is exceeded (IESTI new):				
	13					1					5					2				
	IESTI					IESTI					IESTI new					IESTI new				
	Highest % of ARID/ADI		MRL / input for RA (mg/kg)		Exposure (µg/kg bw)	Highest % of ARID/ADI		MRL / input for RA (mg/kg)		Exposure (µg/kg bw)	Highest % of ARID/ADI		MRL / input for RA (mg/kg)		Exposure (µg/kg bw)	Highest % of ARID/ADI		MRL / input for RA (mg/kg)		Exposure (µg/kg bw)
	Commodities					Commodities					Commodities					Commodities				
	477%	Oranges	0.9 / 0.9	119		110%	Oranges	0.9 / 0.9	28		241%	Oranges	0.9 / 0.9	60		169%	Oranges	0.9 / 0.9	42	
	283%	Grapefruits	0.9 / 0.9	71		73%	Blueberries	2 / 2	18		170%	Grapefruits	0.9 / 0.9	42		119%	Mandarins	0.9 / 0.9	30	
	228%	Lettuces	1.5 / 1.5	57		73%	Lettuces	1.5 / 1.5	18		157%	Apricots	0.8 / 0.8	39		76%	Grapefruits	0.9 / 0.9	19	
	222%	Pears	0.4 / 0.4	55		68%	Table grapes	0.5 / 0.5	17		137%	Lettuces	1.5 / 1.5	34		73%	Blueberries	2 / 2	18	
	213%	Mandarins	0.9 / 0.9	53		67%	Head cabbages	0.4 / 0.4	17		133%	Mandarins	0.9 / 0.9	33		66%	Blackberries	2 / 2	16	
172%	Apples	0.4 / 0.4	43		66%	Blackberries	2 / 2	16		99%	Milk: Cattle	0.2 / 0.2	25		60%	Cherries (sweet)	1.5 / 1.5	15		
155%	Bananas	0.4 / 0.4	39		65%	Mandarins	0.9 / 0.9	16		99%	Apples	0.4 / 0.4	25		57%	Pears	0.4 / 0.4	14		
146%	Table grapes	0.5 / 0.5	36		64%	Grapefruits	0.9 / 0.9	16		98%	Bananas	0.4 / 0.4	25		57%	Asparagus	0.8 / 0.8	14		
123%	Lemons	0.9 / 0.9	31		64%	Red mustards	3 / 3	16		95%	Pears	0.4 / 0.4	24		53%	Currants (red, black and white)	2 / 2	13		
121%	Melons	0.2 / 0.2	30		60%	Cherries (sweet)	1.5 / 1.5	15		88%	Table grapes	0.5 / 0.5	22		48%	Apples	0.4 / 0.4	12		
116%	Tomatoes	0.5 / 0.5	29		53%	Currants (red, black and	2 / 2	13		86%	Blackberries	2 / 2	21		47%	Wine grapes	0.5 / 0.5	12		
112%	Apricots	0.8 / 0.8	28		49%	Pears	0.4 / 0.4	12		84%	Lemons	0.9 / 0.9	21		45%	Bananas	0.4 / 0.4	11		
105%	Cucumbers	0.4 / 0.4	26		49%	Quinces	0.8 / 0.8	12		74%	Raspberries (red and	2 / 2	18		44%	Lettuces	1.5 / 1.5	11		
99%	Milk: Cattle	0.2 / 0.2	25		47%	Wine grapes	0.5 / 0.5	12		73%	Cherries (sweet)	1.5 / 1.5	18		43%	Raspberries (red and yellow)	2 / 2	11		
98%	Watermelons	0.2 / 0.2	24		45%	Chards/beet leaves	0.6 / 0.6	11		73%	Melons	0.2 / 0.2	18		41%	Apricots	0.8 / 0.8	10		
Expand/collapse list																				
Total number of commodities exceeding the ARID/ADI in children and adult diets (IESTI calculation)										Total number of commodities found exceeding the ARID/ADI in children and adult diets (IESTI new calculation)										
13										5										
Processed commodities	Results for children No of processed commodities for which ARID/ADI is exceeded (IESTI):					Results for adults No of processed commodities for which ARID/ADI is exceeded (IESTI):					Results for children No of processed commodities for which ARID/ADI is exceeded (IESTI new):					Results for adults No of processed commodities for which ARID/ADI is exceeded (IESTI new):				
	6					1					3					1				
	IESTI					IESTI					IESTI new					IESTI new				
	Highest % of ARID/ADI		MRL / input for RA (mg/kg)		Exposure (µg/kg bw)	Highest % of ARID/ADI		MRL / input for RA (mg/kg)		Exposure (µg/kg bw)	Highest % of ARID/ADI		MRL / input for RA (mg/kg)		Exposure (µg/kg bw)	Highest % of ARID/ADI		MRL / input for RA (mg/kg)		Exposure (µg/kg bw)
	Processed commodities					Processed commodities					Processed commodities					Processed commodities				
	229%	Currants (red, black and w	2 / 2	57		102%	Currants (red, black and	2 / 2	26		229%	Currants (red, black and	2 / 2	57		102%	Currants (red, black and white) /	2 / 2	26	
	190%	Oranges / juice	0.9 / 0.9	47		73%	Elderberries / juice	2 / 2	18		190%	Oranges / juice	0.9 / 0.9	47		73%	Elderberries / juice	2 / 2	18	
	128%	Elderberries / juice	2 / 2	32		67%	Cauliflowers / boiled	0.4 / 0.4	17		128%	Elderberries / juice	2 / 2	32		54%	Oranges / juice	0.9 / 0.9	14	
	126%	Broccoli / boiled	0.4 / 0.4	32		54%	Oranges / juice	0.9 / 0.9	14		94%	Raspberries / juice	2 / 2	23		53%	Apples / juice	0.4 / 0.4	13	
	111%	Cauliflowers / boiled	0.4 / 0.4	28		53%	Apples / juice	0.4 / 0.4	13		87%	Wine grapes / juice	0.5 / 0.5	22		42%	Wine grapes / juice	0.5 / 0.5	10	
106%	Escaroles/broad-leaved er	0.4 / 0.4	27		44%	Pumpkins / boiled	0.2 / 0.2	11		87%	Apples / juice	0.4 / 0.4	22		40%	Cauliflowers / boiled	0.4 / 0.4	10.0		
94%	Raspberries / juice	2 / 2	23		42%	Wine grapes / juice	0.5 / 0.5	10		76%	Broccoli / boiled	0.4 / 0.4	19		39%	Grapefruits / juice	0.9 / 0.9	9.8		
87%	Wine grapes / juice	0.5 / 0.5	22		39%	Grapefruits / juice	0.9 / 0.9	9.8		67%	Cauliflowers / boiled	0.4 / 0.4	17		32%	Broccoli / boiled	0.4 / 0.4	8.0		
87%	Apples / juice	0.4 / 0.4	22		39%	Broccoli / boiled	0.4 / 0.4	9.6		64%	Escaroles/broad-leaved	0.4 / 0.4	16		32%	Pumpkins / boiled	0.2 / 0.2	8.0		
75%	Chards/beet leaves / boile	0.6 / 0.6	19		37%	Courgettes / boiled	0.4 / 0.4	9.1		52%	Pears / juice	0.4 / 0.4	13		25%	Courgettes / boiled	0.4 / 0.4	6.4		
71%	Pumpkins / boiled	0.2 / 0.2	18		33%	Escaroles/broad-leaved	0.4 / 0.4	8.2		46%	Cranberries / juice	2 / 2	12		25%	Escaroles/broad-leaved endives /	0.4 / 0.4	6.2		
57%	Courgettes / boiled	0.4 / 0.4	14		30%	Chards/beet leaves /	0.6 / 0.6	7.5		43%	Pumpkins / boiled	0.2 / 0.2	11		21%	Chards/beet leaves / boiled	0.6 / 0.6	5.3		
55%	Gherkins / pickled	0.6 / 0.6	14		20%	Spinaches / frozen; boiled	0.6 / 0.6	5.0		38%	Tomatoes / juice	0.5 / 0.5	9.5		20%	Spinaches / frozen; boiled	0.6 / 0.6	5.0		
52%	Pears / juice	0.4 / 0.4	13		19%	Wine grapes / wine	0.5 / 0.5	4.7		34%	Courgettes / boiled	0.4 / 0.4	8.5		19%	Wine grapes / wine	0.5 / 0.5	4.7		
46%	Cranberries / juice	2 / 2	12		16%	Tomatoes / sauce/puree	0.5 / 0.5	4.1		33%	Spinaches / frozen; boiled	0.6 / 0.6	8.3		16%	Tomatoes / sauce/puree	0.5 / 0.5	4.1		
Expand/collapse list																				
Conclusion: The estimated short term intake (IESTI) exceeded the toxicological reference value for 13 commodities.																				
For processed commodities, the toxicological reference value was exceeded in one or several cases.																				

11 ANALIZNE METODE

Zahteve za analizne metode so podane v smernici SANTE/2020/12830, Rev. 1: Guidance Document on Pesticide Analytical Methods for Risk Assessment and Post-approval Control and Monitoring Purposes

V vseh do sedaj omenjenih študijah, morajo ostanke meriti z validiranimi analiznimi metodami (razen pri študijah metabolizma, kjer uporabljajo radioaktivno označene aktivne spojine). Med analizami pa morajo testirati postopkovne izkoristke.

Linearnost mora biti testirana na 3 koncentracijskih nivojih v dveh ponovitvah ali na 5 koncentracijskih nivojih v eni ponovitvi.

Slepa vrednost ne sme presegati 30 % LOQ-ja.

Točnost (izkoristek) morajo testirati na koncentracijskem nivoju 1 x LOQ (5 ponovitev), 10 x LOQ (5 ponovitev).

Izkoristek mora biti:

- pri konc. nivoju $\leq 0,01$ mg/kg 60-120 % , RSD ≤ 30 %,
- pri konc. nivoju $> 0,01 - \leq 0,1$ mg/kg 70-120 % , RSD ≤ 20 %,
- pri konc. nivoju $> 0,1 - \leq 1,0$ mg/kg 70-110 % , RSD ≤ 15 %,
- pri konc. nivoju > 1 mg/kg 70-110 % , RSD ≤ 10 %.

Pomembno je, da analizne metode oceni ocenjevalec, ki ocenjuje fizikalno-kemijske lastnosti in analizne metode. Samo metode, ki zadostijo tem kriterijem, so sprejemljive za uporabo v študijah, ki jih izvajajo na področju ostankov.

12 VRSTE OCEN

Vrste ocen, ki jih opravlja ocenjevalec v grobem delimo na:

- nacionalne
- conske in
- ocene aktivne snovi.

Nacionalne ocene pišejo na podlagi conskih ocen.

Conske ocene pišejo za severno, srednjo ali južno cono EU, na podlagi EU zaključkov za aktivno snov (Draft Assessment Report, Draft Renewal Assessment Report, EFSA opinions ...) ter morebitnih dodatnih študij. Slovenija sodi v srednjo cono EU. Razdelitev je opredeljena v Uredbi (ES) št. 1107/2009. Vlagatelj se odloči, katera država članica EU, bo naredila consko oceno za celotno cono. Oceno komentirajo vlagatelj ter ostale države članice, predvsem iz tiste cone, za katero se ocena izdeluje.

Interconske ocene pišejo za celotno EU. Te ocene obravnavajo uporabe v zaprtih prostorih, za katere obstaja le ena cona. Oceno komentirajo vlagatelj ter ostale države članice.

Ocene aktivne snovi izvajajo posamezne države članice na nivoju EU. Ocenjujejo vse študije, ki jih je vlagatelj predložil, tudi tiste, ki so bile že predhodno ocenjene na EU nivoju. Ocene komentirajo vlagatelj, države članice EU ter EFSA.

Več o vrstah ocen je opisano v publikaciji:

GROS, Katarina. Slovensko nacionalno ocenjevanje ekotoksikološkega tveganja fitofarmacevtskih sredstev. Ljubljana: Kmetijski inštitut Slovenije, 2023. https://www.kis.si/f/docs/Druge_publicacije/Slovensko_nacionalno_ocenjevanej_ekotoks2023.pdf.

Na področju ostankov je prvi korak ocenjevanja pregled tabele s predlagano uporabo FFS. Izbrati in oceniti je potrebno kritično uporabo. Če za kritično dobro kmetijsko prakso na posamezni vrsti kmetijskih rastlin ni ovir za registracijo, so pokrite vse dobre kmetijske prakse. Primer večih dobrih kmetijskih praks je podan v Preglednici

3. Kritična dobra kmetijska praksa je tista z največjim številom tretiranj, z maksimalno dozo tretiranja in najkrajšo karenco, to je v Preglednici 3, uporaba št. 4.

Preglednica 3: Primer dobrih kmetijskih praks za namizno grozdje za aktivno snov fenheksamid

št. uporabe	pridelek	področje	država	način aplikacije	interval med tretiranj / čas tretiranja	št. tretiranj	odmerek tretiranja (kg a.s./ha)	voda (L/ha)	karenca (dnevi)
1	namizno grozdje	EU-sever	Slovenija	foliarno	8 dni BBCH 69–89	1–2	0.750	800–1000	14
2	namizno grozdje	EU-sever	Slovenija	foliarno	8 dni BBCH 69–89	1–2	0.750	800–1000	21
3	namizno grozdje	EU-sever	Madžarska	foliarno	8 dni BBCH 61–85	1–3	0.500	600–1000	14
4	namizno grozdje	EU-sever	Belgija	foliarno	10 dni BBCH 55–89	1–4	0.750	200–1200	7

13 POMEN IZRAZOV IN KRATICE

ADI = Acceptable Daily Intake = sprejemljivi dnevni vnos

ARfD = Acute Reference Dose = akutna referenčna doza

EFSA = European Food Safety Agency = Evropska agencija za varno hrano

FFS = fitofarmacevtsko sredstvo

HR = Highest Residue = najvišji ostanek iz poskusov

Kultura = kmetijska rastlina

LOQ = limit of quantification = meja kvantitativne določitve metode

Matrika = kmetijski pridelek (npr. jabolka, solata ...)

MRL = Maximum Residue Level = maksimalna dovoljena količina ostanka

Naspajkati matriko = dodati aktivno snov matriki, ki ne vsebuje ostankov pesticidov.

Procedural recovery = postopkovni izkoristek pri analizah za metodo

STMR = Supervised Trial Median Residue = srednja vrednost ostankov iz poskusov

TRR = total radioactive residue = celotni radioaktivni ostanek

14 LITERATURA

GROS, Katarina. Slovensko nacionalno ocenjevanje ekotoksikološkega tveganja fitofarmacevtskih sredstev. Ljubljana: Kmetijski inštitut Slovenije, 2023.

https://www.kis.si/f/docs/Druge_publicacije/Slovensko_nacionalno_ocenjevanje_ekotoks2023.pdf.

OECD 501: Metabolism in crops.

OECD 502: Metabolism in Rotational Crops.

OECD 503: Metabolism in Livestock.

OECD 504: Residues in Rotational Crops (Limited Field Studies).

OECD 505: Residues in Livestock.

OECD 506: Stability of Pesticide Residues in Stored Commodities.

OECD 507: Nature of Pesticide Residues in Processed Commodities – High Temperature Hydrolysis

OECD 508: Magnitude of the Pesticide Residues in Processed Commodities

OECD 509: Crop Field Trial

OECD, Series on Pesticides No. 66, and Series on testing and Assessment No. 164, Draft Guidance Document on Crop Field Trials, second edition, March 2016

SANTE/11956/2016 rev. 9, 14 September 2018. Technical guidelines for determining the magnitude of pesticide residues in honey and setting Maximum Residue Levels in honey.

SANTE/2019/12752: Technical Guidelines on data requirements for setting maximum residue levels, comparability of residue trials and extrapolation of residue data on products from plant and animal origin.

SANTE/2020/12830, Rev. 1: Guidance Document on Pesticide Analytical Methods for Risk Assessment and Post-approval Control and Monitoring Purposes

UREDBA (ES) št. 1107/2009 EVROPSKEGA PARLAMENTA IN SVETA z dne 21. oktobra 2009 o dajanju fitofarmacevtskih sredstev v promet in razveljavitvi direktiv Sveta 79/117/EGS in 91/414/EGS