Dette dokument er et dokumentationsredskab, og institutionerne påtager sig intet ansvar herfor

►B

KOMMISSIONENS DIREKTIV 2002/69/EF

af ►C1 30. juli 2002 ◄

om prøveudtagnings- og analysemetoder til officiel kontrol af dioxinindholdet og bestemmelse af dioxinlignende PCB i levnedsmidler

(EØS-relevant tekst)

(EFT L 209 af 6.8.2002, s. 5)

Berigtiget ved:

►C1 Berigtigelse, EFT L 252 af 20.9.2002, s. 40 (2002/69/EF)

▼B

KOMMISSIONENS DIREKTIV 2002/69/EF

af ►C1 30. juli 2002 ◄

om prøveudtagnings- og analysemetoder til officiel kontrol af dioxinindholdet og bestemmelse af dioxinlignende PCB i levnedsmidler

(EØS-relevant tekst)

KOMMISSIONEN FOR DE EUROPÆISKE FÆLLESSKABER HAR —

under henvisning til traktaten om oprettelse af Det Europæiske Fællesskab,

under henvisning til Rådets direktiv 85/591/EØF af 20. december 1985 om indførelse af fælles prøveudtagnings- og analysemetoder til kontrol af levnedsmidler [1], ►C1 særlig artikel 1 og 4, og ◄

ud fra følgende betragtninger:

(1) Ved Kommissionens forordning (EF) nr. 466/2001 [2], senest ændret ved forordning (EF) nr. 563/2002 [3], og ændret ved Rådets forordning (EF) nr. 2375/2001 [4], er der fastsat grænseværdier for dioxiner og furaner i visse levnedsmidler.

(2) Rådets direktiv 89/397/EØF af 14. juni 1989 om offentlig kontrol med levnedsmidler [5] indeholder de generelle principper for gennemførelse af kontrol med levnedsmidler. Ved Rådets direktiv 93/99/EØF af 29. oktober 1993 om supplerende bestemmelser vedrørende offentlig kontrol med levnedsmidler [6] er der indført en ordning med kvalitetsnormer for de laboratorier, som medlemsstaterne betror den officielle kontrol af levnedsmidler.

(3) I direktiv 85/591/EØF er der fastsat generelle kriterier for prøveudtagnings- og analysemetoder. Det er i visse tilfælde imidlertid nødvendigt at fastsætte mere specifikke kriterier og/eller krav, som analysemetoden bør opfylde, for at det kan sikres, at de laboratorier, der står for kontrollen, anvender analysemetoder med samme præstationsgrad.

(4) Bestemmelserne om prøveudtagnings- og analysemetoder er blevet opstillet på grundlag af den nuværende viden, og de kan tilpasses på baggrund af udviklingen i den videnskabelige og teknologiske viden.

(5) Bestemmelserne i dette direktiv vedrører udelukkende prøveudtagning og analyser af dioxiner og dioxinlignende PCB med henblik på gennemførelse af forordning (EF) nr. 466/2001, og de berører ikke strategien for prøveudtagningen eller omfanget og hyppigheden af prøveudtagningen som fastsat i bilag III og IV til Rådets direktiv 96/23/EF af 29. april 1996 om de kontrolforanstaltninger, der skal iværksættes for visse stoffer og restkoncentrationer heraf i levende dyr og produkter heraf og om ophævelse af direktiv 85/358/EØF og 86/469/EØF og beslutning 89/187/EØF og 91/664/EØF [7]. Bestemmelserne berører heller ikke kriterierne for målrettet prøveudtagning fastsat i Kommissionens beslutning 98/179/EF af 23. februar 1998 om nærmere bestemmelser for officiel prøveudtagning til kontrol af visse stoffer og restkoncentrationer heraf i levende dyr og produkter heraf [8].

(6) Der bør anvendes en aktiv fremgangsmåde for at tilvejebringe omfattende, pålidelige data om forekomsten af dioxinlignende PCB i levnedsmidler. Der bør derfor fastsættes krav til de analy-

---

([1]) EFT L 372 af 31.12.1985, s. 50.
([2]) EFT L 77 af 16.3.2001, s. 1.
([3]) EFT L 86 af 3.4.2002, s. 5.
([4]) EFT L 321 af 6.12.2001, s. 1.
([5]) EFT L 186 af 30.6.1989, s. 23.
([6]) EFT L 290 af 24.11.1993, s. 14.
([7]) EFT L 125 af 23.5.1996, s. 10.
([8]) EFT L 65 af 5.3.1998, s. 31.

▼B

semetoder, der skal anvendes til bestemmelse af dioxinlignende PCB i levnedsmidler.

(7) Der kunne anvendes en screeningsanalysemetode med dokumenteret og alment acceptabel validering og høj produktivitet til at udvælge stikprøver med betydelige dioxinværdier. Det er derefter nødvendigt at bestemme stikprøvernes dioxinindhold ved en verifikationsmetode. Der bør derfor fastsættes specifikke krav til verifikationsmetoderne og minimumskrav til screeningsmetoden.

(8) De i dette direktiv fastsatte foranstaltninger er i overensstemmelse med udtalelse fra Den Stående Komité for Fødevarekæden og Dyresundhed —

UDSTEDT FØLGENDE DIREKTIV:

Artikel 1

Medlemsstaterne sikrer, at prøveudtagningen til officiel kontrol af indholdet af dioxiner og furaner og bestemmelse af indholdet af dioxinlignende PCB i levnedsmidler udføres efter de metoder, der er beskrevet i bilag I.

Artikel 2

Medlemsstaterne sikrer, at prøveforberedelsen og de analysemetoder, der anvendes til officiel kontrol af indholdet af dioxiner og furaner og bestemmelse af indholdet af dioxinlignende PCB i levnedsmidler, opfylder kriterierne i bilag II.

Artikel 3

Medlemsstaterne sætter de nødvendige love og administrative bestemmelser i kraft for at efterkomme dette direktiv senest den 28. februar 2003. De underretter straks Kommissionen derom.

Disse love og bestemmelser skal ved vedtagelsen indeholde en henvisning til dette direktiv eller skal ved offentliggørelsen ledsages af en sådan henvisning. De nærmere regler for henvisningen fastsættes af medlemsstaterne.

Artikel 4

Dette direktiv træder i kraft på tyvendedagen efter offentliggørelsen i *De Europæiske Fællesskabers Tidende*.

Artikel 5

Dette direktiv er rettet til medlemsstaterne.

▼B

BILAG I

PRØVEUDTAGNINGS- OG ANALYSEMETODER TIL OFFICIEL KONTROL AF INDHOLDET AF DIOXINER (PCDD/PCDF) OG BESTEMMELSE AF INDHOLDET AF DIOXINLIGNENDE PCB I BESTEMTE LEVNEDSMIDLER

1. **Formål og anvendelsesområde**

Prøver til officiel kontrol af indholdet af dioxiner (PCDD/PCDF) såvel som til bestemmelse af dioxinlignende PCB [1] i levnedsmidler udtages efter de metoder, der er beskrevet nedenfor. De derved fremkomne samlede prøver betragtes som repræsentative for de partier eller delpartier, de er udtaget fra. På grundlag af det indhold, der er konstateret i laboratorieprøverne, fastslås det, om grænseværdierne i forordning (EF) nr. 466/2001 om fastsættelse af grænseværdier for bestemte forurenende stoffer i levnedsmidler er overholdt.

[1] Skema over WHO's TEF til vurdering af risikoen for mennesker baseret på konklusionerne fra Verdenssundhedsorganisationens møde i Stockholm, Sverige, den 15.-18. juni 1997 (Van den Berg et al., (1998): »Toxic Equivalency Factors (TEFs) for PCBs, PCDDs, PCDFs for Humans and for Wildlife«. Environmental Health Perspectives, 106(12), 775).

Kongener	TEF-værdi
Dibenzo-p-dioxiner (»PCDD'er«)	
2,3,7,8-TCDD	1
1,2,3,7,8-PeCDD	1
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0,1
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0,1
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0,1
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0,01
OCDD	0,0001
Dibenzofuraner (»PCDF'er«)	
2,3,7,8-TCDF	0,1
1,2,3,7,8-PeCDF	0,05
2,3,4,7,8-PeCDF	0,5
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0,1
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0,1
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0,1
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0,1
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0,01
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0,01
OCDF	0,0001
»Dioxinlignende« PCB'er: **non-ortho-PCP'er og mono-ortho-PCB'er**	
Non-ortho-PCB'er	
PCB 77	0,0001
PCB 81	0,0001
PCB 126	0,1
PCB 169	0,01
Mono-ortho-PCB'er	
PCB 105	0,0001
PCB 114	0,0005
PCB 118	0,0001
PCB 123	0,0001
PCB 156	0,0005
PCB 157	0,0005
PCB 167	0,00001
PCB 189	0,0001

Anvendte forkortelser: »T« = tetra; »Pe« = penta; »Hx« = hexa; »Hp« = hepta; »O« = octa; »CDD« = chlordibenzodioxin; »CDF« = chlordibenzofuran; »CB« = chlorbiphenyl.

▼B

2. **Definitioner**

»parti«: En identificerbar mængde af et levnedsmiddel, der leveres på én gang, og hvorom det ved den officielle kontrol konstateres, at den har fælles kendetegn, såsom oprindelse, art, emballagetype, emballeringsvirksomhed, afsender eller mærker. I forbindelse med fisk og fiskerivarer skal også størrelsen være sammenlignelig

»delparti«: Del af et stort parti, der udvælges med henblik på anvendelse af prøveudtagningsmetoden. Hvert delparti skal være fysisk adskilt og identificerbart

»enkeltprøve«: En materialemængde, der udtages fra et enkelt sted i partiet eller delpartiet

»samlet prøve«: Det materiale, der fremkommer ved, at man samler alle enkeltprøverne fra partiet eller delpartiet

»laboratorieprøve«: En repræsentativ del/mængde af den samlede prøve bestemt til laboratoriebrug.

3. **Almindelige bestemmelser**

3.1. *Personale*

Prøveudtagningen foretages af en kvalificeret person, som medlemsstaterne har udpeget.

3.2. *Materiale til prøveudtagning*

Prøveudtagningen af hvert parti, som skal undersøges, foregår separat.

3.3. *Forholdsregler*

Under prøveudtagningen og forberedelsen af laboratorieprøverne skal der træffes forholdsregler for at undgå ændringer, som kan påvirke indholdet af dioxin og dioxinlignende PCB, have uheldig indflydelse på analyseresultatet eller gøre de samlede prøver urepræsentative.

3.4. *Enkeltprøver*

Enkeltprøver bør så vidt muligt udtages forskellige steder i hele partiet eller delpartiet. Afvigelser fra denne fremgangsmåde skal registreres i det skema, der er nævnt i punkt 3.8.

3.5. *Forberedelse af den samlede prøve*

Den samlede prøve sammensættes ved, at alle enkeltprøverne samles. Den skal udgøre mindst 1 kg, medmindre det ikke lader sig gøre, f.eks. hvis prøven består af en enkelt pakning.

3.6. *Underopdeling af en samlet prøve til laboratorieprøver med henblik på håndhævelse og beskyttelse og til referenceformål*

Laboratorieprøverne, der udtages med henblik på håndhævelse af reglerne, til beskyttelse af handelen og til referenceformål, skal tages fra den homogeniserede samlede prøve, medmindre dette er i modstrid med medlemsstatens forskrifter for prøveudtagning. Laboratorieprøver til håndhævelse af reglerne skal have en størrelse, der er tilstrækkelig til, at der kan udføres mindst to analyser.

3.7. *Emballering og forsendelse af samlede prøver og laboratorieprøver*

Hver samlet prøve og hver laboratorieprøve skal anbringes i en ren beholder af inert materiale, der giver tilstrækkelig beskyttelse mod forurening, mod, at indersiden af beholderen absorberer analysander, og mod beskadigelse under forsendelse. Alle de nødvendige forholdsregler skal træffes for at undgå ændringer af den samlede prøves og laboratorieprøvens sammensætning, som kan opstå under transport eller opbevaring.

3.8. *Forsegling og mærkning af samlede prøver og laboratorieprøver*

Hver prøve, der udtages til officiel brug, skal forsegles på prøveudtagningsstedet og identificeres i henhold til medlemsstaternes forskrifter. Der skal udarbejdes et skema over hver enkelt prøveudtagning, således at hvert parti entydigt kan identificeres med angivelse af dato og sted for prøveudtagningen og yderligere oplysninger, som kan være til hjælp for laboratoriet.

▼B

4. **Prøveudtagningsplaner**

Den anvendte prøveudtagningsmetode skal sikre, at den samlede prøve er repræsentativ for det parti, der skal kontrolleres.

Antal enkeltprøver

For mælk og olie, hvor det kan antages, at de pågældende kontaminanter er fordelt homogent i et givet parti, er det nok at udtage tre enkeltprøver pr. parti, som tilsammen udgør den samlede prøve. Der skal angives en reference til partinummeret. For de øvrige produkter er mindsteantallet af enkeltprøver, der skal udtages fra partiet, angivet i tabel 1.

Den samlede prøve, der består af alle enkeltprøverne, skal veje mindst 1 kg (jf. punkt 3.5). Enkeltprøverne skal have samme vægt. En enkeltprøve bør veje mindst 100 g. Enkeltprøvens vægt afhænger af partikelstørrelsen i partiet. Afvigelser fra denne fremgangsmåde skal registreres i det skema, der er nævnt i punkt 3.8. I overensstemmelse med Kommissionens beslutning 97/747/EF af 27. oktober 1997 om omfang og hyppighed af den i Rådets direktiv 96/23/EF omhandlede prøveudtagning med henblik på overvågning af visse stoffer og restkoncentrationer heraf i visse animalske produkter [1] fastsættes prøvestørrelsen for hønseæg til mindst 12 æg (både for partier i løs afvejning og for partier bestående af enkeltpakninger, jf. tabel 1 og 2).

TABEL 1

Mindsteantallet af enkeltprøver, der skal udtages fra partiet

Partiets vægt (kg)	Mindsteantal enkeltprøver, der skal udtages
< 50	3
50 til 500	5
> 500	10

Hvis partiet består af enkeltpakninger, skal der for at danne den samlede prøve udtages det antal pakninger, der er fastsat i tabel 2.

TABEL 2

Antal pakninger (enkeltprøver), der for at danne den samlede prøve skal udtages, hvis partiet består af enkeltpakninger

Antal pakninger eller enheder i partiet	Antal pakninger eller enheder, der skal udtages
1 til 25	1 pakning eller enhed
26 til 100	Ca. 5 %, dog mindst 2 pakninger eller enheder
> 100	Ca. 5 %, dog højst 10 pakninger eller enheder

5. **Partiets eller delpartiets overensstemmelse med kravene**

Kontrollaboratoriet skal analysere laboratorieprøven til håndhævelse af reglerne ved to analyser, hvis resultatet af den første analyse ligger mindre end 20 % under eller over grænseværdien, og beregne det gennemsnitlige resultat. Partiet godkendes, hvis resultatet af den første prøve ligger mere end 20 % under grænseværdien, eller, når det er nødvendigt med en analyse mere, hvis middelværdien er i overensstemmelse med den pågældende grænseværdi, der er fastsat i forordning (EF) nr. 466/2001.

[1] EFT L 303 af 6.11.1997, s. 12.

▼B

BILAG II

FORBEREDELSE AF PRØVER OG KRAV TIL ANALYSEMETODER, DER ANVENDES VED OFFICIEL KONTROL AF INDHOLDET AF DIOXINER (PCDD/PCDF) OG BESTEMMELSE AF INDHOLDET AF DIOXINLIGNENDE PCB I BESTEMTE LEVNEDSMIDLER

1. **Formål og anvendelsesområde**

Følgende krav bør anvendes, når levnedsmidler analyseres med henblik på officiel kontrol af indholdet af dioxin (polychlorerede dibenzo-p-dioxiner (PCDD) og polychlorerede dibenzofuraner (PCDF)) og bestemmelse af dioxinlignende polychlorerede biphenyler (PCB).

Indholdet af dioxin i levnedsmidler kan overvåges på grundlag af en strategi, der omfatter en screeningsmetode med henblik på at udvælge stikprøver med indhold af dioxin og dioxinlignende PCB, der ligger mindre end 30-40 % under eller ligger over det relevante niveau. Stikprøvernes dioxinindhold skal bestemmes/bekræftes ved en verifikationsmetode.

Screeningsmetoder er metoder, der anvendes til at påvise tilstedeværelsen af dioxin og dioxinlignende PCB på det relevante niveau. Disse metoder har en høj produktivitet og anvendes til at undersøge store mængder prøver for eventuelle positive resultater. De skal især forhindre falsk negative resultater.

Verifikationsmetoder er metoder, der giver fuldstændig eller supplerende information, så dioxin og dioxinlignende PCB kan identificeres og bestemmes entydigt på det relevante niveau.

2. **Baggrund**

Fordi miljøprøver og biologiske prøver (inklusive prøver af levnedsmidler) generelt indeholder komplekse blandinger af forskellige dioxinkongenere, er begrebet toksicitetsækvivalensfaktor (TEF) blevet udviklet for at lette risikovurderingen. Sådanne TEF'er er blevet fastsat for udtrykke koncentrationer af blandinger af 2,3,7,8-substituerede PCDD'er og PCDF'er og for nyligt nogle non-ortho- og mono-ortho-chlorsubstituerede PCB'er med dioxinlignende aktivitet i toksicitetsækvivalenter (TEQ) af 2,3,7,8-TCDD (jf. fodnote 1 i bilag I).

Koncentrationerne af de enkelte stoffer i en given prøve ganges med deres respektive TEF, og summen heraf giver den samlede koncentration af dioxinlignende forbindelser udtrykt i TEQ.

»Øvre koncentration« betyder, at hver ikke-bestemt kongeners bidrag til TEQ anses for værende lig med bestemmelsesgrænsen.

»Nedre koncentration« betyder, at hver ikke-bestemt kongeners bidrag til TEQ anses for værende nul.

»Middelkoncentration« betyder, at hver ikke-bestemt kongeners bidrag til TEQ anses for værende lig med halvdelen af bestemmelsesgrænsen.

3. **Krav til kvalitetssikring, som skal overholdes ved prøveforberedelse**

— Der skal tages forholdsregler for at undgå krydskontaminering i alle faser af prøveudtagnings- og analyseproceduren.
— Prøverne skal opbevares og transporteres i beholdere af glas, aluminium, polypropylen eller polyethylen. Spor af papirstøv skal fjernes fra prøvebeholderen. Glasgenstande bør skylles med opløsningsmidler, der forinden er blevet kontrolleret for dioxinforekomst.
— Opbevaring og transport af levnedsmiddelprøven skal foregå, så den ikke forringes.
— Alle laboratorieprøver finmales og blandes grundigt, hvis det er relevant, efter en metode, hvorom det er godtgjort, at den resulterer i fuldstændig homogenisering (f.eks. så prøven kan sigtes gennem en 1 mm-sigte); prøverne skal tørres før formalingen, hvis vandindholdet er for højt.
— Der foretages en blindprøveanalyse ved at gennemføre hele analyseproceduren, blot med udeladelse af prøven.
— Vægten af den prøve, der anvendes til ekstraktionen, skal være tilstrækkelig til at opfylde følsomhedskravene.
— Der findes mange tilfredsstillende særlige procedurer for prøveforberedelse, som kan anvendes i forbindelse med de pågældende produkter. Procedurerne skal valideres efter internationalt anerkendte retningslinjer.

▼B

4. **Laboratoriekrav**

— Laboratorierne skal dokumentere en metodes præstation inden for det relevante niveaus interval, f.eks. 0,5, 1 og 2 gange det relevante niveau med en acceptabel variationskoefficient for gentagne analyser. Se nærmere om godkendelseskriterierne i punkt 5.

— Bestemmelsesgrænsen for en verifikationsmetode bør ligge inden for ca. en femtedel af det relevante niveau, så det sikres, at der tages højde for acceptable variationskoefficienter inden for det relevante niveaus interval.

— Som interne kvalitetskontrolforanstaltninger bør der gennemføres regelmæssig blindprøvekontrol og standardtilsætningsforsøg eller analyse af kontrolstikprøver (om muligt helst med certificeret referencemateriale).

— Vellykket deltagelse i sammenlignende laboratorieprøvninger, hvor laboratoriets præstationer vurderes, er den måde, som kompetence vedrørende specifikke analyser bedst kan godtgøres på. Vellykket deltagelse i sammenlignende laboratorieprøvninger vedrørende f.eks. jord- og spildevandsprøver er imidlertid ikke nødvendigvis noget bevis for, at laboratoriet også har kompetence vedrørende prøver af levnedsmidler eller foder, som har et lavere forureningsniveau. Løbende deltagelse i sammenlignende laboratorieprøvninger vedrørende bestemmelse af dioxin og dioxinlignende PCB i de relevante foder-/levnedsmiddelmatrixer er derfor obligatorisk.

— I henhold til direktiv 93/99/EØF skal laboratorier være godkendt af et anerkendt organ, der fungerer i overensstemmelse med ISO-vejledning 58, for at sikre, at de anvender analysekvalitetssikring. Laboratorier bør godkendes ifølge ISO/IEC/17025:1999-standarden.

5. **Krav til procedurer for analyse af dioxin og dioxinlignende PCB**

Grundlæggende krav med henblik på godkendelse af analyseprocedurer

— *Høj følsomhed og lave påvisningsgrænser*. For PCDD'er og PCDF'er skal de påviselige mængder befinde sig i pikogram-TEQ-intervallet (10^{-12} g) på grund af visse af disse forbindelsers ekstremt høje toksicitet. Det er kendt, at PCB forekommer i højere niveauer end PCDD og PCDF. For de fleste PCB-kongenere er det tilstrækkeligt med en følsomhed i nanogram-intervallet (10^{-9} g). Til måling af mere toksiske dioxinlignende PCB-kongenere (især non-ortho-substituerede kongenere) skal den samme følsomhed som for PCDD og PCDF dog opnås.

— *Høj selektivitet (specificitet)*. PCDD, PCDF og dioxinlignende PCB skal kunne skelnes fra en lang række andre ledsagestoffer, der er fremkommet ved ekstraktionen, og som muligvis er interfererende forbindelser i koncentrationer, der er op til mange gange højere end analysandens. For gaschromatografi/massespektrometri-(GC/MS)-metoders vedkommende skal der kunne skelnes mellem forskellige kongenere, f.eks. mellem toksiske kongenere (f.eks. de 17 2,3,7,8-substituerede PCDD'er og PCDF'er og dioxinlignende PCB'er) og andre kongenere. Bioassays bør kunne bestemme TEQ-værdier selektivt som summen af PCDD'er, PCDF'er og dioxinlignende PCB'er.

— *Høj nøjagtighed (korrekthed og præcision)*. Bestemmelsen bør give et pålideligt skøn over den korrekte koncentration i en prøve. Høj nøjagtighed (målingens nøjagtighed: graden af overensstemmelse mellem måleresultatet og den målte genstands korrekte eller tillagte værdi) er nødvendig for at undgå, at et resultat af en analyse afvises på grundlag af lav pålidelighed af den skønnede TEQ. Nøjagtighed udtrykkes som korrekthed (forskellen mellem den målte gennemsnitsværdi for en analysand i et certificeret materiale og dens certificerede værdi, udtrykt i procent af den certificerede værdi) og præcision (præcision beregnes normalt som en standardafvigelse, inklusive repeterbarhed og reproducerbarhed, og viser graden af overensstemmelse mellem resultater, der er opnået ved at anvende forsøgsmetoden flere gange under nærmere fastsatte betingelser).

Screeningsmetoder kan omfatte GC/MS-analysemetoder og bioassays, og verifikationsmetoder er gaschromatografi med høj opløsningsevne/massespektrometri med høj opløsningsevne (HRGC/HRMS). Følgende kriterier skal overholdes i forhold til den samlede TEQ-værdi:

	Screeningsmetoder	Verifikationsmetoder
Falsk negativ-andel	< 1 %	
Korrekthed		– 20 % til + 20 %
CV	< 30 %	< 15 %

▼B

6. **Specifikke krav, som GC/MS-metoder skal opfylde med henblik på screening eller verifikation**

— For at validere analyseproceduren tilsættes ^{13}C-mærkede 2,3,7,8-chlor-substituerede PCDD/F-standarder (og ^{13}C-mærkede interne dioxinlignende PCB-standarder, hvis dioxinlignende PCB skal bestemmes) helt i begyndelse af analysen, dvs. inden ekstraktion. Mindst en af disse kongenere for hver af de tetra- til octa-chlorerede homologe grupper af PCDD/F (og mindst en kongener for hver af de homologe grupper af dioxinlignende PCB, hvis dioxinlignende PCB skal bestemmes) skal tilsættes. (Alternativt tilsættes mindst en kongener for hver massespektometrisk udvalgte ionregistreringsfunktion, der anvendes til overvågning af PCDD/F og dioxinlignende PCB). Det bedste er dog — navnlig ved verifikationsmetoder — at anvende alle 17 ^{13}C-mærkede 2,3,7,8-substituerede interne PCDD/F-standarder og 12 ^{13}C-mærkede interne dioxinlignende PCB-standarder (hvis dioxinlignende PCB skal bestemmes).

Ligeledes bør der bestemmes relative reaktionsfaktorer for de kongenere, som der ikke tilsættes en ^{13}C-mærket analog for, ved hjælp af relevante kalibereringsopløsninger.

— For vegetabilske fødevarer og animalske fødevarer, der indeholder under 10 % fedt, er det obligatorisk at tilsætte interne standarder inden ekstraktionen. For animalske fødevarer, der indeholder over 10 % fedt, kan de interne standarder tilsættes enten før ekstraktionen eller efter fedtekstraktionen. Der bør foretages en hensigtsmæssig validering af ekstraktionseffektiviteten, afhængigt af den fase, hvor de interne standarder indføres, og af, om resultaterne er produktbaserede eller fedtbaserede.

— Inden GC/MS-analyse skal der tilsættes en eller to genfindelsesstandard(er) (surrogat).

— Det er nødvendigt med genfindelseskontrol. Niveauet for genfindelse af de enkelte interne standarder i verifikationsmetoder bør ligge mellem 60 og 120 %. Lavere eller højere genfindelse for enkeltkongenere, navnlig for visse hepta- og octa-chlorerede dibenzodioxiner og dibenzofuraner, kan accepteres, på betingelse af at deres bidrag til TEQ-værdi ikke udgør mere end 10 % af den samlede TEQ-værdi (kun baseret på PCDD/F). Niveauet for genfindelse ved screeningsmetoder bør ligge mellem 30 og 140 %.

— Der bør gennemføres separation af dioxiner fra interfererende chlorerede forbindelser som f.eks. PCB og chlorerede diphenylethere ved hjælp af relevante chromatografiske metoder (helst med florisil-, alumina- og/eller carbonkolonne).

— Det bør være tilstrækkeligt med gaschromatografisk separation af isomerer (< 25 % topafstand mellem 1,2,3,4,7,8-HxCDF og 1,2,3,6,7,8-HxCDF).

— Bestemmelse bør foretages ved hjælp af EPA-metode 1613, revision B »Tetra-through octa-chlorinated dioxins and furans by isotope dilution HRGC/HRMS«, eller en anden metode, der opfylder tilsvarende krav.

— Forskellen mellem øvre og nedre niveau bør ikke overstige 20 % for fødevarer med en dioxinforurening på ca. 1 pg WHO-TEQ/g fedtstof (kun baseret på PCDD/PCDF). For fødevarer med lavt fedtindhold anvendes samme krav til forureningsniveauer på ca. 1 pg WHO-TEQ/g produkt. For lavere forureningsniveauer, f.eks. på 0,50 pg WHO-TEQ/g produkt, kan der være en difference på 25-40 % mellem den øvre og den nedre koncentration.

7. **Screeningsanalysemetoder**

7.1. *Indledning*

I forbindelse med screeningsmetoden kan der anvendes forskellige analysefremgangsmåder: ren screening eller en kvantitativ indfaldsvinkel.

Screening alene

Prøvernes reaktion sammenlignes med reaktionen for en referenceprøve, som ligger på det relevante niveau. Prøver med en reaktion, der ligger under referenceprøvens, erklæres negative, men dem med en højere reaktion formodes at være positive. Krav:

— Hver analyserække skal omfatte en blindprøve og referenceprøve(r), som ekstraheres og analyseres samtidig under identiske betingelser. Referenceprøven skal udvise en klart kraftigere reaktion end en blindprøve.

▼B

— Der bør anvendes ekstra referenceprøver på 0,5 og 2 gange det relevante niveau for at vise analysens egen præstation inden for det interval, der er relevant for kontrollen af det relevante niveau.

— Når andre matrixer analyseres, skal referenceprøvens/-prøvernes egnethed godtgøres, helst ved at inddrage prøver, som HRGC/HRMS har vist har et TEQ-niveau, der nogenlunde svarer til indholdet i referenceprøven, eller i en blindprøve tilsat standard op til det pågældende niveau.

— Da interne standarder ikke kan anvendes i bioassays, er repeterbarhedsanalyser meget vigtige for at tilvejebringe oplysninger om standardafvigelsen inden for en og samme analyserække. Variationskoefficienterne bør ligge under 30 %.

— For bioassays vedkommende bør målforbindelser, mulige interferenser og højeste tolererede værdier for blindprøver fastlægges.

Kvantitativ indfaldsvinkel

Den kvantitative metode forudsætter standardfortyndingsrækker, dobbelt eller tredobbelt oprensning og måling samt blindprøve og kontrol af genfindelse. Resultatet kan udtrykkes som TEQ, idet det antages, at de forbindelser, der afføder signalet, er i overensstemmelse med TEQ-princippet. Det kan ske ved at anvende TCDD (eller en dioxin/furan-standardblanding) til at frembringe en kalibreringskurve til beregning af TEQ-niveauet i ekstraktet og dermed i prøven. Derefter foretages en korrektion for det TEQ-niveau, der er beregnet for en blindprøve (for at tage urenheder fra de anvendte opløsningsmidler og kemikalier i betragtning), og en genfindelse (som beregnes fra TEQ-niveauet i en kvalitetskontrolprøve, der ca. ligger på det relevante niveau). Det er vigtigt at bemærke, at en del af det genfindelsestab, der tilsyneladende viser sig, kan skyldes matrixvirkninger og/eller forskelle mellem TEF-værdierne i de pågældende bioassays og de officielle TEF-værdier, som WHO har fastsat.

7.2. *Krav til screeningsanalysemetoder*

— GC/MS-analysemetoder og bioassays kan anvendes til screening. For GC/MS-metoder kan kravene i punkt 6 anvendes. Der er fastsat specifikke krav til cellebaserede bioassays i punkt 7.3 og til analysekitbaserede bioassays i punkt 7.4.

— Det er nødvendigt med oplysninger om antallet af falsk positive og falsk negative resultater fra en stor mængde stikprøver, der ligger under og over grænseværdierne eller indsatsgrænserne, i sammenligning med TEQ-indholdet som bestemt ved en verifikationsmetode. Den faktiske andel af falsk negative prøver bør ligge under 1 %. Andelen af falsk positive prøver bør være tilstrækkeligt lav til, at screening med fordel kan anvendes.

— Positive resultater skal altid bekræftes ved hjælp af en verifikationsmetode (HRGC/HRMS). Prøver inden for et stort TEQ-interval bør endvidere bekræftes ved HRGC/HRMS (ca. 2-10 % af de negative prøver). Der bør foreligge oplysninger om overensstemmelsesgraden mellem bioassay- og HRGC/HRMS-resultater.

7.3. *Specifikke krav til cellebaserede bioassays*

— Når der gennemføres et bioassay, kræves der ved hver analyse en referencekoncentrationsrække af TCDD eller en dioxin/furan-blanding (fuld dosis-respons-kurve med $R^2 > 0,95$). Til screeningsformål kan der dog anvendes en udvidet lavniveaukurve til analyse af prøver med lavt indhold.

— Der bør anvendes en TCDD-referencekoncentration (på ca. tre gange bestemmelsesgrænsen) på et kvalitetskontrolskema til resultatet af bioassayet over et konstant tidsrum. Et alternativ kunne være en referenceprøves relative reaktion i sammenligning med TCDD-kalibreringslinjen, da cellernes reaktion kan påvirkes af mange faktorer.

— Kvalitetskontrolkort (QC) for hver type referencemateriale bør registreres og kontrolleres for at sikre, at resultatet er i overensstemmelse med de fastsatte retningslinjer.

— Navnlig med henblik på kvantitative beregninger skal induktionen af den anvendte prøveopløsning ligge inden for den lineære del af reaktionskurven. Prøver, der ligger over reaktionskurvens lineære del, skal opløses og analyseres igen. Derfor anbefales det at analysere mindst tre eller flere opløsninger på én gang.

— Standardafvigelsen bør ikke udgøre over 15 % i tredobbelt bestemmelse for hver prøveopløsning og ikke over 30 % mellem tre indbyrdes uafhængige forsøg.

— Påvisningsgrænsen kan sættes til tre gange standardafvigelsen i forhold til blindprøven af opløsningsmiddel eller til baggrundsreaktionen. Man

▼B

kan også anvende en reaktion, der ligger over baggrunden (induktionsfaktor fem gange blindprøven af opløsningsmiddel), beregnet i forhold til dagens kalibreringskurve. Bestemmelsesgrænsen kan sættes til fem til seks gange standardafvigelsen i forhold til blindprøven af opløsningsmiddel eller til baggrundsreaktionen, eller man kan anvende en reaktion, der ligger klart over baggrunden (induktionsfaktor ti gange blindprøven af opløsningsmiddel), beregnet i forhold til dagens kalibreringskurve.

7.4. *Specifikke krav til analysekitbaserede bioassays* ([1])

— Producentens vejledning om prøveforberedelse og analyser skal følges.

— Analysekit, hvis udløbsdato er overskredet, bør ikke anvendes.

— Materialer eller bestanddele, der er beregnet til at blive anvendt sammen med andre kit, bør ikke anvendes.

— Analysekit bør opbevares inden for det interval, der er angivet for opbevaringstemperatur, og anvendes ved den angivne anvendelsestemperatur.

— Påvisningsgrænsen for immunassays bestemmes som tre gange standardafvigelsen baseret på tidobbelt analyse af blindprøven divideret med hældningsværdien af den lineære regressionsligning.

— Der bør anvendes referencestandarder til analyser i laboratoriet for at sikre, at reaktionen på standarden ligger inden for et acceptabelt interval.

8. **Indberetning af resultater**

Så vidt den anvendte analyseprocedure tillader det, bør analyseresultaterne omfatte værdierne for de enkelte PCDD/F- og PCB-kongenere og registreres som nedre koncentrationer, øvre koncentrationer og middelkoncentrationer, med henblik på at registreringen af resultater omfatter så mange oplysninger som muligt, så resultaterne kan fortolkes i overensstemmelse med specifikke krav.

Rapporten skal også oplyse om prøvens fedtindhold og om, hvilken metode der er anvendt til fedtekstraktion.

Tallene for genfindelse af de enkelte interne standarder skal stilles til rådighed, hvis genfindelsen ligger uden for det interval, der er angivet i punkt 6, hvis grænseværdierne er overskredet, og i øvrige tilfælde efter anmodning.

([1]) Der er endnu ikke fremlagt dokumentation for, at analysekitbaserede bioassays, der findes i handelen, er tilstrækkeligt følsomme og pålidelige til, at de kan anvendes til screening for forekomst af dioxin på de krævede niveauer i prøver af fødevarer og foder.