Detta dokument är endast avsett som dokumentationshjälpmedel och institutionerna ansvarar inte för innehållet

►**B** **KOMMISSIONENS DIREKTIV 2002/69/EG**

av den ►C1 30 juli 2002 ◄

om fastställande av provtagnings- och analysmetoder vid offentlig kontroll av dioxiner och bestämning av dioxinlika PCB i livsmedel

(Text av betydelse för EES)

(EGT L 209, 6.8.2002, s. 5)

Rättat genom:

►**C1** Rättelse, EGT L 252, 20.9.2002, s. 40 (2002/69/EG)

▼B

KOMMISSIONENS DIREKTIV 2002/69/EG

av den ►C1 30 juli 2002 ◄

om fastställande av provtagnings- och analysmetoder vid offentlig kontroll av dioxiner och bestämning av dioxinlika PCB i livsmedel

(Text av betydelse för EES)

EUROPEISKA GEMENSKAPERNAS KOMMISSION HAR ANTAGIT DETTA DIREKTIV

med beaktande av Fördraget om upprättandet av Europeiska gemenskapen,

med beaktande av rådets direktiv 85/591/EEG av den 20 december 1985 om införande av provtagnings- och analysmetoder vid kontroll av livsmedel inom gemenskapen [1], ►C1 särskilt artiklarna 1 och 4 i detta ◄, och

av följande skäl:

(1) I kommissionens förordning (EG) nr 466/2001 [2], senast ändrad genom förordning (EG) nr 563/2002 [3] och ändrad genom rådets förordning (EG) nr 2375/2001 [4], fastställs gränsvärden för dioxiner och furaner i vissa livsmedel.

(2) I rådets direktiv 89/397/EEG av den 14 juni 1989 om offentlig kontroll av livsmedel [5] föreskrivs de allmänna principerna för hur den offentliga kontrollen av livsmedel skall genomföras. Genom rådets direktiv 93/99/EEG av den 29 oktober 1993 om ytterligare åtgärder för offentlig kontroll av livsmedel [6], införs ett system med kvalitetsnormer för laboratorier som medlemsstaterna anlitar för offentlig kontroll av livsmedel.

(3) I direktiv 85/591/EEG föreskrivs allmänna kriterier för provtagnings- och analysmetoder. I vissa fall måste mer specifika kriterier och/eller krav för analysmetoden fastställas, för att säkerställa att laboratorierna använder analysmetoder av jämförbar kvalitet.

(4) Bestämmelserna rörande provtagnings- och analysmetoder har fastställts på grundval av aktuell kunskap och kan komma att anpassas till utvecklingen när det gäller vetenskaplig och teknisk kunskap.

(5) Bestämmelserna i detta direktiv gäller endast provtagning och analys av dioxiner och dioxinlika PCB vid tillämpning av förordning (EG) nr 466/2001 och påverkar inte reglerna för provtagning samt provtagningarnas omfattning och frekvens som anges i bilagorna III och IV i rådets direktiv 96/23/EG av den 29 april 1996 om införande av kontrollåtgärder för vissa ämnen och restsubstanser av dessa i levande djur och i produkter framställda därav och som upphäver direktiven 85/358/EEG och 86/469/EEG samt besluten 89/187/EEG och 91/664/EEG [7]. De påverkar inte heller urvalskriterierna för provtagning enligt kommissionens beslut 98/179/EG av den 23 februari 1998 om fastställande av tillämpningsföreskrifter avseende offentlig provtagning för kontroll av vissa ämnen och resthalter av dessa i levande djur och animaliska produkter [8].

(6) Ett aktivt tillvägagångssätt bör tillämpas för att få heltäckande och tillförlitliga uppgifter om förekomsten av dioxinlika PCB i livsmedel. Därför bör krav fastställas för de analysmetoder som skall användas för bestämning av dioxinlika PCB i livsmedel.

---

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

▼B

(7) En metod för screeninganalys med dokumenterad, allmänt godtagen validering och hög kapacitet skulle kunna användas för urvalet av prov med betydande dioxinhalter. Dioxinhalterna i dessa prov kan sedan bestämmas genom en konfirmeringsanalys. Det är därför lämpligt att fastställa stränga krav för konfirmeringsanalys och minimikrav för screeningmetoden.

(8) De bestämmelser som föreskrivs i detta direktiv är förenliga med yttrandet från Ständiga kommittén för livsmedelskedjan och djurhälsan.

HÄRIGENOM FÖRESKRIVS FÖLJANDE.

Artikel 1

Medlemsstaterna skall se till att provtagningen vid offentlig kontroll av halterna av dioxiner och furaner och bestämningen av dioxinlika PCB i livsmedel utförs enligt de metoder som beskrivs i bilaga I.

Artikel 2

Medlemsstaterna skall se till att den provberedning som görs och de analysmetoder som används vid offentlig kontroll av halterna av dioxiner och furaner och bestämningen av dioxinlika PCB i livsmedel uppfyller de krav som beskrivs i bilaga II.

Artikel 3

Medlemsstaterna skall sätta i kraft de lagar och andra författningar som är nödvändiga för att följa detta direktiv senast den 28 februari 2003. De skall genast underrätta kommissionen om detta.

När en medlemsstat antar dessa bestämmelser skall de innehålla en hänvisning till detta direktiv eller åtföljas av en sådan hänvisning när de offentliggörs. Närmare föreskrifter om hur hänvisningen skall göras skall varje medlemsstat själv utfärda.

Artikel 4

Detta direktiv träder i kraft den tjugonde dagen efter det att det har offentliggjorts i *Europeiska gemenskapernas officiella tidning*.

Artikel 5

Detta direktiv riktar sig till medlemsstaterna.

▼B

BILAGA I

PROVTAGNINGSMETODER VID OFFENTLIG KONTROLL AV DIOXINHALTER (PCDD/PCDF) OCH BESTÄMNING AV DIOXINLIKA PCB I VISSA LIVSMEDEL

1. **Syfte och omfattning**

Proven för offentlig kontroll av dioxinhalter (PCDD/PCDF) och för bestämning av dioxinlika PCB([1]) i livsmedel skall tas enligt de metoder som beskrivs nedan. De samlingsprov som man då får skall betraktas som representativa för de partier eller delpartier från vilka de tas. Bedömningen av huruvida de högsta tillåtna halterna – enligt kommissionens förordning (EG) nr 466/2001 om fastställande av högsta tillåtna halt för vissa främmande ämnen i livsmedel – överskrids eller inte, skall ske på grundval av de halter som bestäms i laboratorieproven.

([1]) Av Världshälsoorganisationen (WHO) fastställda toxiska ekvivalensfaktorer (TEF) för bedömningen av risker för människor på grundval av slutsaterna från WHO:s möte i Stockholm 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-värde
Dibenzo-p-dioxiner (”PCDD”)	
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”)	
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
”Dioxinlika” PCB: **non-orto PCP + mono-orto PCB**	
Non-orto PCB	
PCB 77	0,0001
PCB 81	0,0001
PCB 126	0,1
PCB 169	0,01
Mono-orto PCB	
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

Förkortningar: ”T” = tetra, ”Pe” = penta, ”Hx” = hexa, ”Hp” = hepta, ”O” = okta, ”CDD” = klordibenzodioxin, ”CDF” = klordibenzofuran, ”CB” = klorbifenyl.

▼B

2. **Definitioner**

Parti: En identifierbar mängd livsmedel från en och samma leverans som vid offentlig kontroll uppvisar samma egenskaper, exempelvis i fråga om ursprung, sort, emballeringsmetod, förpackare, avsändare och märkning. När det gäller fisk och fiskeriprodukter, skall även fiskarnas storlek vara jämförbar.

Delparti: En viss del som ingår i ett större parti och på vilken provtagningsmetoden skall tillämpas. Varje delparti skall hållas fysiskt åtskilt och vara identifierbart.

Delprov: En viss mängd material som tagits från ett och samma ställe i partiet eller delpartiet.

Samlingsprov: Summan av alla delprover som tagits ur partiet eller delpartier.

Laboratorieprov: En representativ del/kvantitet av det samlingsprov som är avsett för laboratorium.

3. **Allmänna bestämmelser**

3.1 *Personal*

Provtagningen skall utföras av en person som är kvalificerad och auktoriserad i enlighet med medlemsstatens normer.

3.2 *Provtagningsmaterial*

Varje parti som skall analyseras måste provtas separat.

3.3 *Säkerhetsåtgärder*

Under provtagningen och beredningen av laboratorieprover skall åtgärder vidtas för att undvika förändringar som kan påverka halten av dioxiner och dioxinlika PCB, samt negativt påverka den analytiska bestämningen eller samlingsprovens representativitet.

3.4 *Delprov*

Så långt det är praktiskt möjligt skall delproven tas från olika ställen i partiet eller delpartiet. Alla avvikelser från denna regel skall anges i det protokoll som avses i punkt 3.8.

3.5 *Beredning av samlingsprov*

Samlingsprovet erhålls genom blandning av alla enskilda prov. Samlingsprovet skall väga minst 1 kg, utom när detta är praktiskt omöjligt, t.ex. när endast en förpackning har provtagits.

3.6 *Uppdelning av samlingsprov i laboratorieprov för tillsynsåtgärder, överklagande och referens*

Laboratorieprover för tillsynsåtgärder, handel (överklagande) och referens skall tas från det homogeniserade samlingsprovet på villkor att detta sker enligt medlemsstaternas föreskrifter om provtagning. Laboratorieprover för tillsynsåtgärder skall vara så stora att de räcker till åtminstone en dubbelbestämning.

3.7 *Emballering och transport av samlings- och laboratorieprov*

Varje samlings- och laboratorieprov skall placeras i en ren behållare av inaktivt material som ger tillräckligt skydd mot föroreningar, förlust av analyter genom absorption till behållarens innervägg och skador under transporten. Alla nödvändiga åtgärder skall också vidtas för att undvika att samlings- och laboratorieprovets sammansättning förändras under transport eller lagring.

3.8 *Försegling och märkning av samlings- och laboratorieprov*

Varje prov som tas för offentlig kontroll skall förseglas på provtagningsstället samt identifieras enligt de föreskrifter som gäller i medlemsstaterna. För varje provtagning skall ett protokoll upprättas, som gör det möjligt att entydigt identifiera partiet. Dessutom skall datum och plats för provtagningen anges tillsammans med all ytterligare information som kan vara till hjälp för den som utför analysen.

▼B

4. **Provtagningsplaner**

Genom den provtagningsmetod som tillämpas skall det säkerställas att samlingsprovet är representativt för det parti som skall kontrolleras.

Antal delprover

När det gäller mjölk och oljor för vilka man kan anta att det främmande ämnet i fråga är jämnt fördelat i ett visst parti, räcker det att ta tre enskilda prov per parti, vilket sedan utgör samlingsprovet. Partiets nummer skall anges. För andra produkter skall det minsta antalet delprover som skall tas från partiet vara det antal som anges i tabell 1.

Samlingsprovet som är en blandning av alla enskilda prov skall väga minst 1 kg (se punkt 3.5). Delproverna skall ha i stort sett samma vikt. Vikten av ett delprov bör vara åtminstone 100 gram. Delprovets vikt är beroende av storleken på förpackningarna (enheterna) i partiet. Avvikelser från detta förfarande skall redovisas i det protokoll som avses i punkt 3.8. I enlighet med bestämmelserna i kommissionens beslut 97/747/EG av den 27 oktober 1997 om fastställande av omfattning och frekvens av provtagningar som föreskrivs i rådets direktiv 96/23/EG för kontroll av vissa ämnen och restsubstanser av dessa i vissa animaliska produkter [1] skall provstorleken för hönsägg vara minst 12 ägg (både för partier med ägg i bulk och partier som består av enskilda förpackningar, tabellerna 1 och 2).

TABELL 1

Minsta antal delprover som skall tas från ett parti

Partiets vikt (kg)	Minsta antal delprover
< 50	3
50–500	5
> 500	10

För partier som består av enskilda förpackningar anges i tabell 2 det antal förpackningar som skall tas för att slås samman till ett samlingsprov.

TABELL 2

Antal förpackningar (delprover) att tas till ett samlingsprov från partier bestående av enskilda förpackningar

Antal förpackningar eller enheter i partiet	Antal förpackningar eller enheter som skall ingå
1–25	1 förpackning eller enhet
26–100	cirka 5 %, minst 2 förpackningar eller enheter
> 100	cirka 5 %, högst 10 förpackningar eller enheter

5. **Partiets eller delpartiets överensstämmelse med specifikationen**

Kontrollaboratoriet skall göra två analyser av sådana laboratorieprov som är avsedda för tillsynsåtgärder i de fall då resultatet av den första analysen ligger mindre än 20 % under eller över den högsta tillåtna halten, samt beräkna medelvärdet av resultaten. Partiet godkänns om resultatet av den första analysen ligger mer än 20 % under den högsta tillåtna halten, eller, när två analyser är nödvändiga, om medelvärdet inte överskrider respektive högsta tillåtna halt enligt förordning (EG) nr 466/2001.

[1] EGT L 303, 6.11.1997, s. 12.

▼B

BILAGA II

BEREDNING AV PROV OCH KRAV PÅ ANALYSMETODER VID OFFENTLIG KONTROLL AV DIOXINHALTER (PCDD/PCDF) OCH BESTÄMNING AV DIOXINLIKA PCB-FORMER I VISSA LIVSMEDEL

1. **Syfte och tillämpningsområde**

Dessa krav skall tillämpas när livsmedel analyseras för offentlig kontroll av halterna av dioxiner (polyklorerade dibenzo-p-dioxiner [PCDD] och polyklorerade dibenzofuraner [PCDF]) samt för bestämning av dioxinlika PCB:er.

Förekomsten av dioxiner i livsmedel kan kontrolleras genom användning av screeningmetoder för urval av prover med halter av dioxiner och dioxinlika PCB:er som överskrider eller ligger mindre än 30–40 % under en given nivå. Dioxinkoncentrationerna i dessa prover med betydande halter skall bestämmas/verifieras genom en konfirmeringsmetod.

Screeningmetoder är metoder som används för att upptäcka förekomsten av dioxiner och dioxinlika PCB:er på eller över en given nivå. Dessa metoder har en hög provkapacitet och används för att från ett stort antal prover skilja ut de med eventuellt positiva resultat. De är utformade så att falskt negativa resultat skall undvikas.

Konfirmeringsmetoder är metoder som ger fullständig eller kompletterande information så att dioxiner och dioxinlika PCB:er otvetydigt kan identifieras och kvantifieras på den givna nivån.

2. **Bakgrund**

Eftersom prov från miljön och från olika biologiska material (inklusive livsmedelsprov) i regel innehåller komplexa blandningar av olika dioxinkongener har begreppet toxiska ekvivalensfaktorer (Toxic Equivalency Factors – TEF) utvecklats för att underlätta riskbedömningen. Dessa toxiska ekvivalensfaktorer har utarbetats för att man skall kunna ange halten för blandningar av 2,3,7,8-substituerade PCDD:er och PCDF:er, och på senare tid vissa non-orto- och mono-orto-klorsubstituerade PCB:er med dioxinlika egenskaper, i toxiska ekvivalenter (TEQ) av 2,3,7,8-TCDD (se fotnot 1 i bilaga I).

Halten av de enskilda ämnena i ett visst prov multipliceras med respektive toxisk ekvivalensfaktor (TEF), och de erhållna värdena adderas därefter för att man skall få fram den totala halten av dioxinlika föreningar uttryckt som TCDD-ekvivalenter (TEQ).

Begreppet ”övre koncentrationer” innebär användning av kvantifieringsgränsen för bidraget från varje icke kvantifierad kongen till TEQ-värdet.

Begreppet ”lägre koncentrationer” innebär användning av noll för bidraget från varje icke kvantifierad kongen till TEQ-värdet.

Begreppet ”mellanvärde” innebär användning av halva kvantifieringsgränsen vid beräkning av bidraget från varje icke kvantifierad kongen till TEQ-värdet.

3. **Krav på kvalitetssäkring vid beredning av prov**

— Åtgärder skall vidtas för att undvika korskontaminering under alla moment vid provtagning och analys.
— Proven skall förvaras och transporteras i behållare av glas, aluminium, polypropylen eller polyetylen. Spår av pappersdamm skall avlägsnas från provbehållaren. Glasvaror skall sköljas med lösningsmedel som vid kontroll visat sig vara dioxinfria.
— Proven skall förvaras och transporteras på ett sådant sätt att livsmedelsprovet bibehålls i oförändrat tillstånd.
— Prov för laboratorieanalys skall vid behov finmalas och blandas omsorgsfullt enligt en metod som garanterar fullständig homogenisering (t.ex. så att de passerar en 1 mm sikt). Om vattenhalten är för hög skall proven torkas innan de mals.
— En analys med blankprov skall göras genom att man utför hela analysprocessen och endast utelämnar provet.
— Vikten på det prov som extraheras skall vara tillräckligt hög för att kraven på känslighet skall uppfyllas.
— Det finns många tillfredsställande provberedningsmetoder som kan användas för de produkter som avses. Metoderna skall vara validerade enligt internationellt accepterade riktlinjer.

▼B

4. **Krav på laboratorier**

— Laboratorierna skall påvisa en metods prestanda i området kring den givna nivån, t.ex. 0,5 ×, 1 × och 2 × den givna nivån, med en godtagbar variationskoefficient för upprepade analyser. Närmare uppgifter om acceptanskriterier anges i punkt 5.

— Kvantifieringsgränsen för en konfirmeringsmetod bör motsvara ungefär en femtedel av den givna nivån för att uppnå godtagbara variationskoefficienter i området kring den givna nivån.

— Regelbundna blankprov och standardtillsatser eller analys av kontrollprov (helst med certifierat referensmaterial om sådant finns) skall utföras såsom interna åtgärder för kvalitetskontroll.

— Det bästa sättet att styrka kompetensen när det gäller enskilda analysmetoder är framgångsrik medverkan i provningsjämförelser för bedömning av laboratoriekompetens. En framgångsrik medverkan i sådana jämförelser när det exempelvis gäller analys av prov från jord eller avloppsvatten behöver dock inte nödvändigtvis innebära att kompetens även finns när det gäller prov från livsmedel eller foder, vars föroreningshalter är lägre. Därför är det obligatoriskt att fortlöpande delta i provningsjämförelser för bestämning av halten av dioxiner och dioxinlika PCB:er i de foder- eller livsmedelsmatriser det gäller.

— Enligt bestämmelserna i direktiv 93/99/EEG skall laboratorierna ackrediteras av ett godkänt ackrediteringsorgan som verkar enligt ISO Guide 58 för att säkerställa att de tillämpar ett system för kvalitetssäkring av analysverksamheten. Laboratorierna skall ackrediteras enligt standarden ISO/IEC/17025:1999.

5. **Krav på analysmetoder för dioxiner och dioxinlika PCB-former**

Grundläggande krav för godtagande av analysmetoder:

— *Hög känslighet och låg detektionsgräns*: Eftersom vissa typer av PCDD och PCDF är extremt toxiska måste detektionsgränsen för dessa ämnen ligga i storleksordningen pikogram TEQ (10^{-12} g). Det är känt att PCB:er brukar förekomma i högre halter än PCDD och PCDF. För de flesta PCB-kongener räcker det att känsligheten ligger i storleksordningen nanogram (10^{-9} g). Vid mätning av mer toxiska dioxinlika PCB-kongener (särskilt non-ortosubstituerade kongener) måste dock samma känslighet uppnås som för PCDD och PCDF.

— *Hög selektivitet (specificitet)*: PCDD, PCDF och dioxinlika PCB:er måste kunna skiljas från en stor mängd andra föreningar som extraheras samtidigt och som kan påverka analysen. Halten av de senare ämnena kan vara flerfaldigt högre än av de analyter som skall bestämmas. Metoder som bygger på gaskromatografi i kombination med masspektrometri (GC/MS) måste kunna särskilja mellan olika kongener, exempelvis mellan toxiska sådana (t.ex. de sjutton 2,3,7,8-substituerade PCDD:erna och PCDF:erna samt dioxinlika PCB:er) och andra, icke-toxiska. Med biologiska testsystem skall det vara möjligt att fastställa TEQ-värden selektivt som summan av PCDD:er, PCDF:er och dioxinlika PCB:er.

— *Hög noggrannhet (riktighet och precision)*: Bestämningen skall ge en god uppskattning av den faktiska halten i ett prov. En hög noggrannhet (mätningens noggrannhet: visar hur nära mätresultatet överensstämmer med provets sanna eller angivna halt) krävs för att resultatet av en provanalys inte skall avvisas på grund av dålig tillförlitlighet när det gäller uppskattningen av TEQ-värdet. Noggrannheten uttrycks som riktighet (skillnaden mellan det medelvärde som har mätts upp för en analyt i ett certifierat material och dess certifierade värde, uttryckt i procent av det certifierade värdet) och precision (precisionen beräknas vanligen som en standardavvikelse, innefattande repeterbarhet och reproducerbarhet, och visar graden av överensstämmelse mellan de resultat som erhållits vid upprepad analys med användande av samma analysmetodik enligt föreskrivna villkor).

Screeningmetoderna kan inbegripa biologiska testsystem och metoder som bygger på gaskromatografi i kombination med masspektrometri. Konfirmeringsmetoder är metoder som bygger på högupplösande gaskromatografi i kombination med högupplösande masspektrometri (HRGC/HRMS). Följande krav måste uppfyllas för det totala TEQ-värdet:

	Screeningmetoder	Konfirmeringsmetoder
Falska negativa resultat	< 1 %	
Riktighet		– 20 % till + 20 %

▼B

	Screeningmetoder	Konfirmeringsmetoder
Variationskoefficient	< 30 %	< 15 %

6. **Särskilda krav på GC/MS-metoder för screening- eller konfirmeringsmetoder**

— Interna standarder i form av ^{13}C-märkt 2,3,7,8-klorsubstituerat PCDD/F (och i form av ^{13}C-märkta dioxinlika PCB-standarder, om dioxinlika PCB:er skall bestämmas) måste tillsättas alldeles i början av analysmetoden, t.ex. före extraktionen för att validera analysmetoden. Minst en kongen för varje tetra- till oktaklorerad homolog grupp av PCDD/F (och minst en kongen för varje homolog grupp av dioxinlika PCB:er, om dioxinlika PCB:er skall bestämmas) skall tillsättas (alternativt tillsätts minst en kongen för varje masspektrometriska SIR-funktion (selektiv jonregistrering), som används för att kontrollera PCDD/F och dioxinlika PCB:er). Det klart bästa är, särskilt för konfirmeringsmetoder, att använda alla de sjutton ^{13}C-märkta 2,3,7,8-substituerade interna PCDD/F-standarderna och alla de tolv ^{13}C-märkta interna dioxinlika PCB-standarderna (om dioxinlika PCB:er skall bestämmas).

De relativa responsfaktorerna skall också bestämmas för de kongener till vilka ingen ^{13}C-märkt analog tillsätts med hjälp av lämpliga kalibreringslösningar.

— För livsmedel av vegetabiliskt och animaliskt ursprung som innehåller mindre än 10 % fett skall intern standard tillsättas innan extraktionen görs. För livsmedel av animaliskt ursprung som innehåller mer än 10 % fett kan interna standarder tillsättas antingen före eller efter extraktionen av fett. En lämplig validering av extraktionens effektivitet skall ske med hänsyn till när de interna standarderna tillsätts och till huruvida resultaten rapporteras på produkt- eller fettviktsbasis.

— Innan en GC/MS-analys utförs måste en eller två utbytesstandarder (surrogat) tillsättas.

— En kontroll av utbytet är nödvändig. För konfirmeringsmetoder skall utbytet av de enskilda interna standarderna ligga inom intervallet 60–120 %. Lägre eller högre utbytesgrad för enskilda kongener – särskilt för vissa hepta- och oktaklorerade dibenzodioxiner och dibenzofuraner – kan godtas under förutsättning att deras bidrag till det totala TEQ-värdet inte överstiger 10 % (bygger endast på PCDD/F). För screeningmetoder skall utbytet ligga inom intervallet 30–140 %.

— Dioxiner skall separeras från interfererande klorföreningar såsom PCB:er och klorerade difenyletrar med hjälp av en lämplig kromatografisk teknik (lämpligtvis med hjälp av en florisil-, aluminiumoxid- och/eller kolkolonn).

— Gaskromatografisk separation av isomerer bör vara tillräcklig (< 25 % från topp till topp mellan 1,2,3,4,7,8-HxCDF och 1,2,3,6,7,8-HxCDF).

— Bestämningen skall ske enligt det amerikanska miljöskyddsorganets (Environment Protection Agency) metod 1613, revidering B: ”Tetra- through octa-chlorinated dioxins and furans by isotope dilution HRGC/HRMS” eller någon annan metod med motsvarande resultatkriterier.

— Skillnaden mellan den övre och den lägre beräknade halten bör inte överstiga 20 % för livsmedel med en dioxinkontaminering på cirka 1 pg WHO-TEQ/g fett (endast PCDD/PCDF). För livsmedel med låg fetthalt gäller samma krav vid kontamineringsnivåer på cirka 1 pg WHO-TEQ/g produkt. För lägre kontamineringsgrader, t.ex. 0,50 pg WHO-TEQ/g produkt, kan skillnaden mellan övre och lägre koncentrationer ligga inom ett intervall på 25–40 %.

7. **Metoder för screening**

7.1 *Inledning*

Vid användande av screeningmetod kan olika analytiska tillvägagångssätt tillämpas: enkel screening eller kvantitativ bestämning.

Enkel screening

Provens respons jämförs med responsen från referensprovet vid den givna nivån. Prover vars respons ligger under referensprovets skall betraktas som negativa, medan de som uppvisar starkare respons skall ses som misstänkt positiva. Följande krav gäller:

— Varje testserie skall innehålla ett blankprov och ett referensprov, som skall extraheras och testas samtidigt med proverna under identiska

▼B

förhållanden. Referensprovet måste visa klart högre respons än blankprovet.

— Extra referensprov på 0,5 och 2 gånger den givna nivån skall tas med för att påvisa analysens tillförlitlighet inom ett relevant intervall för kontrollen av den givna nivån.

— När andra matriser testas måste referensprovens användbarhet påvisas, helst genom att man tar med prov som vid bestämning med HRGC/HRMS visat sig innehålla ungefär samma TEQ-halt som referensprovet, eller ett blankprov där motsvarande mängd tillsatts.

— Eftersom inga interna standarder kan användas i biologiska testsystem, är test för att kontrollera repeterbarheten mycket viktiga för att bedöma standardavvikelsen inom en testserie. Variationskoefficienten bör vara under 30 %.

— För biologiska testsystem bör det definieras vilka substanser som detekteras, möjliga interferenser samt de högsta värden för blankprov som är godtagbara.

Kvantitativ bestämning

Den kvantitativa bestämningen kräver standardspädningsserier, dubbel eller tredubbel upprening och mätning samt kontroll av blankprov och utbyte. Resultatet kan uttryckas som ett TEQ-värde, varvid det antas att de föreningar som ger upphov till signalen följer TEQ-principen. I detta syfte används TCDD (eller en standardblandning av dioxin och furan) för att konstruera en kalibreringskurva, och med hjälp av denna beräknas sedan TEQ-värdet i extraktet, och därigenom i själva provet. Det erhållna TEQ-värdet korrigeras för det TEQ-värde som beräknats för ett blankprov (för att beakta föroreningar från lösningsmedel och andra kemikalier som använts) och det beräknade utbytet (som beräknats utifrån TEQ-värdet i ett prov för kvalitetskontroll som ungefär motsvarar den givna nivån). Det är viktigt att observera att en del av den synbara utbytesförlusten kan bero på matriseffekter och/eller skillnader mellan TEF-värdena i de biologiska testsystemen och de officiella TEF-värden som WHO fastställt.

7.2 *Krav på analysmetoder vid screening*

— GC/MS-metoder för analys samt biologiska testsystem kan användas vid screening. För GC/MS-metoder skall kraven enligt punkt 6 tillämpas. För cellbaserade biologiska testsystem fastställs särskilda krav i punkt 7.3 och för biologiska testsystem i form av kit i punkt 7.4.

— Det är nödvändigt med information om antalet falskt positiva och falskt negativa resultat från ett stort antal prover, vars halter ligger under respektive över de högsta tillåtna halterna eller åtgärdsgränserna, i jämförelse med de TEQ-värden som bestämts med en konfirmeringsmetod. Den faktiska frekvensen av falskt negativa resultat bör vara under 1 %. Frekvensen av falskt positiva prov skall vara så låg att det lönar sig att använda en screeningmetod.

— Positiva resultat måste alltid kontrolleras med en konfirmeringsmetod – högupplösande gaskromatografi (HRGC)/högupplösande masspektrometri (HRMS). Dessutom skall ytterligare prov från ett stort TEQ-intervall kontrolleras med HRGC/HRMS (cirka 2–10 % av de negativa proven). Uppgifter om överensstämmelse mellan resultaten från biologiska testsystem respektive HRGC/HRMS-metoder skall finnas tillgängliga.

7.3 *Särskilda krav på cellbaserade biologiska testsystem*

— När biologiska testsystem används skall varje testkörning omfatta en serie av referenskoncentrationer av TCDD eller en dioxin-/furanblandning (fullständig dos-responskurva där $R^2 > 0,95$). För screening kan dock en utvidgad lågnivåkurva för analys av prov med låga halter användas.

— En TCDD-referenskoncentration (motsvarande ungefär 3 gånger kvantifikationsgränsen) på ett kvalitetskontrollformulär skall användas för resultatet från det biologiska testet under en konstant tidsperiod. Ett alternativ skulle kunna vara den relativa responsen från ett referensprov i jämförelse med TCDD-kalibreringskurvan, eftersom cellernas respons kan bero på många faktorer.

— Kvalitetskontrolldiagram för varje typ av referensmaterial skall framställas och kontrolleras för att säkerställa att resultatet är i enlighet med de fastställda riktlinjerna.

— Särskilt när det gäller kvantitativa beräkningar måste induktionen av det utspädda provet befinna sig inom den linjära delen av responskurvan. Prov ovanför den linjära delen av responskurvan måste spädas ut och testas på nytt. Därför rekommenderas det att minst tre spädningar testas samtidigt.

▼B

— Standardavvikelsen skall inte överstiga 15 % vid tredubbel bestämning av varje provspädning och inte 30 % mellan tre oberoende försök.

— Detektionsgränsen kan sättas till 3 gånger standardavvikelsen för blankprovlösningen eller bakgrundsresponsen. Ett annat tillvägagångssätt är att använda en respons som ligger över bakgrunden (induktionsfaktor 5 gånger blankprovlösningen) som beräknats från dagens kalibreringskurva. Kvantifikationsgränsen kan sättas till 5–6 gånger standardavvikelsen för blankprovlösningen eller bakgrundsresponsen eller så kan man använda en respons som ligger klart över bakgrunden (induktionsfaktor 10 gånger blankprovlösningen) som beräknats från dagens kalibreringskurva.

7.4 *Särskilda krav på biologiska testsystem i form av kit* ([1])

— Tillverkarens anvisningar för beredning av prov och för analyser måste följas.

— Testkit vars ”bäst före”-datum överskridits skall inte användas.

— Material eller komponenter som utformats för användning med andra kit skall inte användas.

— Testkit skall förvaras inom det angivna intervallet för lagringstemperatur och användas vid den angivna användningstemperaturen.

— Detektionsgränsen för immunologiska testsystem skall fastställas som 3 gånger standardavvikelsen vid 10 upprepade anlayser av blankprovet, delat med lutningskoefficienten för den linjära regressionsekvationen.

— Referensstandarder skall användas för laboratorietest för att säkerställa att responsen för standarden ligger inom ett godtagbart intervall.

8. **Rapportering av resultat**

I den utsträckning den använda analysmetoden medger det skall analysresultaten innehålla halterna av de enskilda PCDD/F- och PCB-kongenerna rapporterade som lägre koncentrationer, övre koncentrationer och mellanvärde för att vid rapporteringen av resultat ge så mycket information som möjligt och på så sätt ge möjlighet att allt efter önskemål tolka resultaten.

Rapporten skall också innehålla uppgifter om fetthalten i provet samt om den metod som använts för extraktionen av fettet.

Utbytena av de enskilda interna standarderna måste redovisas om utbytena ligger utanför det intervall som anges i punkt 6, eller när de högsta tillåtna halterna överskrids, samt i övriga fall på begäran.

([1]) Hittills har inga bevis lagts fram för att de biologiska testsystem i form av kit som är tillgängliga på marknaden är tillräckligt känsliga och tillförlitliga för att kunna användas vid screening av förekomsten av dioxiner på de nivåer som förekommer i prov från livsmedel och foder.