II

(Neleģislatīvi akti)

REGULAS

KOMISIJAS REGULA (ES) Nr. 252/2012

(2012. gada 21. marts),

ar ko nosaka paraugu ņemšanas un analīzes metodes dioksīnu un dioksīniem līdzīgu polihlorbifenilu (*PCB*) un *PCB*, kuri nav līdzīgi dioksīniem, koncentrācijas oficiālai kontrolei konkrētos pārtikas produktos un atceļ Regulu (EK) Nr. 1883/2006

(Dokuments attiecas uz EEZ)

EIROPAS KOMISIJA,

ņemot vērā Līgumu par Eiropas Savienības darbību,

ņemot vērā Eiropas Parlamenta un Padomes 2004. gada 29. aprīļa Regulu (EK) Nr. 882/2004 par oficiālo kontroli, ko veic, lai nodrošinātu atbilstības pārbaudi saistībā ar dzīvnieku barības un pārtikas aprites tiesību aktiem un dzīvnieku veselības un dzīvnieku labturības noteikumiem ([1]), un jo īpaši tās 11. panta 4. punktu,

tā kā:

(1) Komisijas 2006. gada 19. decembra Regula (EK) Nr. 1881/2006, ar ko nosaka konkrētu piesārņotāju maksimāli pieļaujamo koncentrāciju pārtikas produktos ([2]), nosaka *PCB*, kas nav līdzīgi dioksīniem, dioksīnu un furānu maksimālo pieļaujamo koncentrāciju, kā arī dioksīnu, furānu un dioksīniem līdzīgu *PCB* summu konkrētos pārtikas produktos.

(2) Komisijas 2011. gada 23. augusta Ieteikumā 2011/516/ES par dioksīnu, furānu un *PCB* klātbūtnes samazināšanu dzīvnieku barībā un pārtikā ([3]) ir noteikti iedarbības koncentrācijas līmeņi, lai veicinātu aktīvu pieeju polihlordibenzoparadioksīnu un polihlordibenzofurānu (*PCDD/F*) un dioksīniem līdzīgu *PCB* klātbūtnes samazināšanai pārtikā. Šie iedarbības koncentrācijas līmeņi ir instruments, ko kompetentās iestādes un uzņēmēji var izmantot, lai izceltu gadījumus, kad jāidentificē piesārņojuma avots un jāveic pasākumi tā samazināšanai vai likvidēšanai.

(3) Komisijas 2006. gada 19. decembra Regulā (EK) Nr. 1883/2006, ar ko nosaka paraugu ņemšanas un analīzes metodes dioksīnu un dioksīniem līdzīgu *PCB* koncentrācijas oficiālai kontrolei noteiktos pārtikas produktos ([4]), ir iekļauti īpaši noteikumi par oficiālā kontrolē izmantojamo paraugu ņemšanas procedūru un analīzes metodēm.

(4) Lai piemērotu tādu *PCB* jauno maksimāli pieļaujamo koncentrāciju, kuri nav līdzīgi dioksīniem, kas noteikta pēc tam, kad no Eiropas Pārtikas nekaitīguma iestādes (*EFSA*) saņemts zinātnisks atzinums par *PCB*, kuri nav līdzīgi dioksīniem, un arī lai nodrošinātu saskaņošanu ES līmenī, kā arī atjauninātu skrīninga metožu kritērijus, nepieciešami būtiski grozījumi. Tāpēc skaidrības labad Regula (EK) Nr. 1883/2006 ir jāaizstāj ar šo regulu.

(5) Šīs regulas noteikumi attiecas tikai uz dioksīnu, dioksīniem līdzīgu *PCB* un *PCB*, kuri nav līdzīgi dioksīniem, paraugu ņemšanas metodēm un analīzes metodēm, kas izmantojamas, īstenojot Regulu (EK) Nr. 1881/2006. Tie neattiecas uz paraugu ņemšanas stratēģiju, paraugu daudzumu un ņemšanas biežumu, kas noteikti III un IV pielikumā Padomes 1996. gada 29. aprīļa Direktīvai 96/23/EK, ar ko paredz pasākumus, lai kontrolētu noteiktas vielas un to atliekas dzīvos dzīvniekos un dzīvnieku izcelsmes produktos, un ar ko atceļ Direktīvu 85/358/EEK un Direktīvu 86/469/EEK, kā arī Lēmumu 89/187/EEK un Lēmumu 91/664/EEK ([5]). Tie neietekmē paraugu ņemšanai izvirzītos kritērijus, kas noteikti Komisijas 1998. gada 23. februāra Lēmumā 98/179/EK, ar kuru paredz sīki izstrādātus noteikumus par paraugu oficiālu ņemšanu konkrētu vielu un to atlieku kontrolei dzīvos dzīvniekos un dzīvnieku valsts produktos ([6]).

([1]) OV L 165, 30.4.2004., 1. lpp.
([2]) OV L 364, 20.12.2006., 5. lpp.
([3]) OV L 218, 24.8.2011., 23. lpp.
([4]) OV L 364, 20.12.2006., 32. lpp.
([5]) OV L 125, 23.5.1996., 10. lpp.
([6]) OV L 65, 5.3.1998., 31. lpp.

(6) Skrīninga analīzes metodi ar plaši pieņemamu apstiprinājumu un liela skaita paraugu atlasi var izmantot, lai identificētu paraugus ar ievērojamu *PCDD/F* un dioksīniem līdzīgu *PCB* koncentrāciju (ieteicams atlasīt tādus paraugus, kuros pārsniegta iedarbības koncentrācija, un nodrošināt tādu paraugu atlasi, kuros tiek pārsniegta maksimālā pieļaujamā koncentrācija). *PCDD/F* un dioksīniem līdzīgu *PCB* koncentrācija šajos paraugos jānosaka ar apstiprinājuma analīzes metodi. Tāpēc ir jānosaka piemērotas prasības attiecībā uz skrīninga metodi, nodrošinot, ka maksimālās pieļaujamās koncentrācijas šķietamās atbilstības attiecība ir mazāka par 5 %, un stingras prasības attiecībā uz apstiprinājuma analīzes metodēm. Turklāt, izmantojot apstiprinājuma metodes, ir iespējams noteikt koncentrāciju arī zemā fona diapazonā. Tas ir svarīgi tendenču uzraudzībai laikā, iedarbības novērtēšanai un maksimālās koncentrācijas un iedarbības koncentrācijas atkārtotai novērtēšanai.

(7) Lai nodrošinātu visā Savienībā saskaņotu pieeju, attiecībā uz paraugiem no ļoti lielām zivīm jāprecizē paraugu ņemšanas veids.

(8) Vienas sugas un viena reģiona izcelsmes zivīs dioksīnu, dioksīniem līdzīgu *PCB* un *PCB*, kuri nav līdzīgi dioksīniem, koncentrācija var būt atšķirīga, ja atšķiras zivs izmērs un/vai vecums. Turklāt dažādās zivs daļās var būt atšķirīga dioksīnu, dioksīniem līdzīgu *PCB* un *PCB*, kas nav līdzīgi dioksīniem, koncentrācija. Tādēļ, lai visā Savienībā nodrošinātu saskaņotu pieeju, jāprecizē paraugu ņemšanas un sagatavošanas veids.

(9) Lai visā Savienībā nodrošinātu saskaņotu piemērošanas veidu, ir ļoti svarīgi vienveidīgi paziņot un interpretēt analīžu rezultātus.

(10) Šajā regulā paredzētie pasākumi ir saskaņā ar Pārtikas aprites un dzīvnieku veselības pastāvīgās komitejas atzinumu, un tiem nav iebildis ne Eiropas Parlaments, ne arī Padome,

IR PIEŅĒMUSI ŠO REGULU.

1. pants

Šajā regulā piemēro I pielikumā izklāstītās definīcijas un saīsinājumus.

2. pants

Paraugus dioksīnu, furānu, dioksīniem līdzīgu *PCB* un *PCB*, kas nav līdzīgi dioksīniem, koncentrācijas oficiālai kontrolei pārtikas produktos, kuri uzskaitīti Regulas (EK) Nr. 1881/2006 pielikuma 5. sadaļā, ņem saskaņā ar šīs regulas II pielikumā aprakstītajām metodēm.

3. pants

Paraugu sagatavošanu un analīzes dioksīnu, furānu un dioksīniem līdzīgu *PCB* koncentrācijas oficiālai kontrolei pārtikas produktos, kas uzskaitīti Regulas (EK) Nr. 1881/2006 pielikuma 5. sadaļā, veic saskaņā ar šīs regulas III pielikumā aprakstītajām metodēm.

4. pants

Analīzes *PCB*, kas nav līdzīgi dioksīniem, koncentrācijas oficiālai kontrolei pārtikas produktos, kuri uzskaitīti Regulas (EK) Nr. 1881/2006 pielikuma 5. sadaļā, veic saskaņā ar šīs regulas IV pielikumā aprakstītajām analīzes procedūru prasībām.

5. pants

Ar šo atceļ Regulu (EK) Nr. 1883/2006.

Atsauces uz atcelto regulu uzskata par atsaucēm uz šo regulu.

6. pants

Šī regula stājas spēkā divdesmitajā dienā pēc tās publicēšanas *Eiropas Savienības Oficiālajā Vēstnesī*.

To piemēro no spēkā stāšanās dienas.

Šī regula uzliek saistības kopumā un ir tieši piemērojama visās dalībvalstīs.

Briselē, 2012. gada 21. martā

Komisijas vārdā –
priekšsēdētājs
José Manuel BARROSO

I PIELIKUMS

Definīcijas un saīsinājumi

I. DEFINĪCIJAS

Šajā regulā piemēro definīcijas, kas noteiktas I pielikumā Komisijas 2002. gada 14. augusta Lēmumam 2002/657/EK, ar ko īsteno Padomes Direktīvu 96/23/EK par analīzes metožu veiktspēju un rezultātu interpretēšanu ([1]).

Papildus šīm definīcijām regulā piemēro arī turpmāk izklāstītās definīcijas.

1.1. "Iedarbības koncentrācija" ir konkrētās vielas koncentrācija, kas noteikta Ieteikuma 2011/516/ES pielikumā un kas ir pamatā tam, lai gadījumos, kad tiek konstatēta šīs vielas paaugstināta koncentrācija, sāktu izmeklēšanu ar mērķi identificēt tās avotu.

1.2. "Bioanalīzes metodes" ir metodes, kas balstītas uz tādu bioloģisko principu izmantošanu kā, piemēram, šūnu testi, receptoru testi vai imūntesti. Tās nesniedz rezultātus radniecīgas vielas līmenī, bet gan vienīgi norāda ([2]) toksiskuma ekvivalenta (*TEQ*) līmeni, izteiktu bioanalīzes ekvivalentos (*BEQ*), lai atzītu to, ka ne visi parauga ekstraktā esošie savienojumi, kas rada signālu testā, var atbilst visām *TEQ* principa prasībām.

1.3. "Biotesta acīmredzamā atgūstamība" ir *BEQ* līmenis, ko aprēķina, pamatojoties uz *TCDD* vai *PCB* 126 kalibrēšanas līkni, koriģētu ar tukšo paraugu un tad sadalītu ar *TEQ* līmeni, kas noteikts, izmantojot *GC/HRMS* metodi. Nolūks ir koriģēt tādus faktorus kā *PCDD/PCDF* un dioksīniem līdzīgu savienojumu zudumu ekstrakcijas un attīrīšanas posmos, vienlaikus ekstrahētos savienojumus, kas palielina vai samazina signālu (agoniska vai antagoniska ietekme), līknes atbilstības kvalitāti vai atšķirības starp *TEF* un relatīvās spējas (*REP*) vērtībām. Biotesta acīmredzamo atgūstamību aprēķina, pamatojoties uz piemērotiem standartparaugiem ar reprezentatīvām radniecīgām struktūrām koncentrācijā, kas aptuveni atbilst interesējošajai koncentrācijai.

1.4. "Daļēji kvantitatīvas metodes" ir metodes, ar ko var iegūt aptuvenu informāciju par iedomātās analizējamās vielas koncentrāciju, ja skaitliskais rezultāts neatbilst kvantitatīvo metožu prasībām.

1.5. "Pieņemtā īpašā kvantitatīvās noteikšanas robeža atsevišķām radniecīgām vielām" ir analizējamās vielas koncentrācija parauga ekstraktā, kas izraisa atbilstošu reakciju pie diviem dažādiem joniem, kurus uzrauga ar signāla/trokšņa attiecību 3:1 mazāk jutīgam signālam, un kas atbilst tādiem identifikācijas kritērijiem, kuri aprakstīti, piemēram, standartā *prEN* 16215 (Dzīvnieku barība – dioksīnu un dioksīniem līdzīgu *PCB* noteikšana ar *GC/HRMS* un indikatoru *PCB* noteikšana ar *GC/HRMS*) un/vai *EPA* 1613. metodes B pārskatītajā redakcijā.

1.6. "Augšējā robeža" ir jēdziens, kas paredz kvantitatīvās noteikšanas robežas izmantošanu attiecībā uz katru kvantitatīvi nenoteiktās radniecīgās vielas daļu.

1.7. "Apakšējā robeža" ir jēdziens, kas paredz nulles izmantošanu attiecībā uz katru kvantitatīvi nenoteiktās radniecīgās vielas daļu.

1.8. "Vidējā robeža" ir jēdziens, kas paredz puses no kvantitatīvās noteikšanas robežas izmantošanu katras kvantitatīvi nenoteiktās radniecīgās vielas daļas aprēķināšanai.

1.9. "Partija" ir identificējams pārtikas daudzums, ko piegādā vienā reizē un kam ir oficiāli noteikti kopīgi raksturlielumi, piemēram, izcelsme, šķirne, iepakojuma veids, iepakotājs, nosūtītājs vai marķējums. Zivju un zvejniecības produktu gadījumā arī zivju lielumam jābūt salīdzināmam. Ja vienā sūtījumā esošo zivju lielums un/vai svars nav salīdzināms, sūtījumu tomēr var uzskatīt par partiju, tikai jāpielieto īpaša paraugu ņemšanas procedūra.

1.10. "Apakšpartija" ir lielas partijas daļa, kas izraudzīta paraugu ņemšanai, izmantojot noteiktu paraugu ņemšanas metodi. Katrai apakšpartijai jābūt fiziski nodalītai un identificējamai.

1.11. "Elementārparaugs" ir tāda materiāla daudzums, kas ņemts kādā vienā partijas vai apakšpartijas vietā.

1.12. "Kopparaugs" ir visu no partijas vai apakšpartijas ņemto elementārparaugu kopums.

1.13. "Laboratorijas paraugs" ir analīzēm laboratorijā paredzēta kopparauga reprezentatīva daļa vai daudzums.

II. LIETOTIE SAĪSINĀJUMI

BEQ bioanalīzes ekvivalenti

GC gāzes hromatogrāfija

([1]) OV L 221, 17.8.2002., 8. lpp.

([2]) Bioanalīzes metodes neattiecas konkrēti uz radniecīgajām vielām, kas iekļautas toksiskuma ekvivalenta koeficienta (*TEF*) shēmā. Parauga ekstraktā, kas veido kopējo signālu, var ietilpt citi strukturāli saistīti AhR-aktīvi savienojumi. Tāpēc bioanalīzes rezultāti nevar būt aplēse, bet drīzāk gan norāde par *TEQ* līmeni paraugā.

HRMS augstas izšķirtspējas masspektrometrija

LRMS zemas izšķirtspējas masspektrometrija

PCB polihlorbifenili

PCDD polihlordibenzo-p-dioksīni

PCDF polihlordibenzofurāni

QC kvalitātes kontrole

REP relatīvā spēja

TEF toksiskuma ekvivalenta koeficients

TEQ toksiskuma ekvivalenti

TCDD tetrahlorodibenzodioksīns

U paplašinātā mērījuma neprecizitāte

II PIELIKUMS

Paraugu ņemšanas metodes dioksīnu (*PCDD/PCDF*), dioksīniem līdzīgu *PCB* un *PCB*, kas nav līdzīgi dioksīniem, koncentrācijas oficiālai kontrolei konkrētos pārtikas produktos

I. DARBĪBAS JOMA

Paraugus dioksīnu (*PCDD/PCDF*), dioksīniem līdzīgu *PCB* un *PCB*, kas nav līdzīgi dioksīniem, koncentrācijas oficiālajai kontrolei pārtikas produktos ņem saskaņā ar šajā pielikumā aprakstītajām metodēm. Tādā veidā iegūtos kopparaugus uzskata par reprezentatīviem attiecīgajām partijām vai apakšpartijām, no kurām tie ņemti. Atbilstību maksimāli pieļaujamai koncentrācijai, kas noteikta Komisijas Regulā (EK) Nr. 1881/2006, ar kuru nosaka konkrētu piesārņotāju maksimāli pieļaujamo koncentrāciju pārtikas produktos, konstatē, ņemot vērā laboratorijas paraugos kvantitatīvi noteikto koncentrāciju.

II. VISPĀRĪGI NOTEIKUMI

1. **Personāls**

Paraugu ņemšanu veic pilnvarota persona, kuru izraudzījusies dalībvalsts.

2. **Materiāls, no kā ņem paraugus**

No katras pārbaudāmās partijas vai apakšpartijas paraugus ņem atsevišķi.

3. **Piesardzības pasākumi**

Ņemot paraugus un gatavojot paraugus, jāveic piesardzības pasākumi, lai nepieļautu paraugu izmaiņas, kas varētu ietekmēt dioksīnu un *PCB* saturu tajos, nevēlami ietekmēt analīzi vai padarīt kopparaugus nereprezentatīvus.

4. **Elementārparaugi**

Cik iespējams, elementārparaugus ņem dažādās partijas vai apakšpartijas vietās. Atkāpes no šīs procedūras jāreģistrē šā pielikuma II.8. punktā paredzētajā paraugu ņemšanas protokolā.

5. **Kopparauga sagatavošana**

Kopparaugu veido, apvienojot elementārparaugus. Tā masa ir vismaz 1 kg, izņemot gadījumus, kad tas nav iespējams, piemēram, ja paraugam ņem vienu iepakotu vienību vai ja produktam ir ļoti augsta komerciālā vērtība.

6. **Paralēlie paraugi**

Paralēlos paraugus prasību izpildes, apstiprināšanas un kontroles nolūkiem ņem no homogenizēta kopparauga, ja tas nav pretrunā noteikumiem dalībvalstu pārtikas nozares uzņēmēju tiesībās. Prasību izpildes nolūkiem laboratorijas paraugiem jābūt vismaz tik lieliem, lai vajadzības gadījumā varētu veikt atkārtotas analīzes.

7. **Paraugu iepakošana un pārsūtīšana**

Katru paraugu ievieto tīrā inerta materiāla konteinerā, kas pietiekami aizsargā pret piesārņojumu, no analizējamo vielu zudumiem, kuri rodas, tiem adsorbējoties uz konteinera iekšējās sienas, kā arī pret bojājumiem/zudumiem, kas rodas transportēšanas laikā. Veic visus vajadzīgos pasākumus, lai novērstu jebkuras tādas izmaiņas parauga sastāvā, kas varētu rasties, to pārvadājot vai glabājot.

8. **Paraugu plombēšana un marķēšana**

Katru oficiālam lietojumam ņemtu paraugu plombē parauga ņemšanas vietā un identificē saskaņā ar attiecīgās dalībvalsts noteikumiem.

Par katru paraugu ņemšanu raksta protokolu, nodrošinot to, ka katru partiju var nepārprotami identificēt, un norādot paraugu ņemšanas vietu un dienu, kā arī visu analīžu veicējiem noderīgo papildu informāciju.

III. PARAUGU ŅEMŠANAS PLĀNS

Ar paraugu ņemšanas metodi nodrošina, ka kopparaugs ir reprezentatīvs pārbaudāmajai (apakš)partijai.

1. **Partiju sadalīšana apakšpartijās**

Lielas partijas sadala apakšpartijās ar nosacījumu, ka apakšpartijas var fiziski nošķirt. Ražojumiem, ko pārdod lielos beztaras apjomos (piemēram, augu eļļas), piemēro 1. tabulu. Citiem ražojumiem piemēro 2. tabulu. Tā kā apakšpartiju svars ne vienmēr precīzi sakrīt, tas nedrīkst pārsniegt vidējo aritmētisko apakšpartijas svaru par vairāk nekā 20 %.

1. tabula

Partiju sadalīšana apakšpartijās liela apjoma beztaras ražojumiem

Partijas svars (t)	Apakšpartiju svars vai skaits
≥ 1 500	500 tonnu
> 300 un < 1 500	3 apakšpartijas
≥ 50 un ≤ 300	100 tonnu
< 50	—

2. tabula

Partiju sadalīšana apakšpartijās (citi ražojumi)

Partijas svars (t)	Apakšpartiju svars vai skaits
≥ 15	15–30 tonnu
< 15	—

2. **Elementārparaugu skaits**

No visiem elementārparaugiem izveidotā kopparauga masa ir vismaz 1 kg (sk. šā pielikuma II.5. punktu).

Minimālais elementārparaugu skaits, kas jāņem no vienas partijas vai apakšpartijas, norādīts 3. un 4. tabulā.

Šķidrajiem beztaras ražojumiem partija un apakšpartija tieši pirms paraugu ņemšanas ir kārtīgi jāsamaisa manuāli vai mehāniski, bet tikai tik daudz, lai nepasliktinātu ražojuma kvalitāti. Šādi attiecīgajā partijā vai apakšpartijā var iegūt vienmērīgu piesārņotāju koncentrāciju. Tādēļ kopparauga veidošanai pietiek ar trijiem no partijas vai apakšpartijas ņemtiem elementārparaugiem.

Visu elementārparaugu masa ir aptuveni vienāda. Elementārparauga masa ir vismaz 100 gramu.

Atkāpes no šīs procedūras reģistrē šā pielikuma II.8. punktā paredzētajā protokolā. Saskaņā ar Komisijas 1997. gada 27. oktobra Lēmumu 97/747/EK, ar ko nosaka, cik daudz un cik bieži ņem paraugus saskaņā ar Padomes Direktīvu 96/23/EK par konkrētu vielu un to atlieku kontroli konkrētos dzīvnieku izcelsmes produktos [1], vistu olu kopparaugā ir vismaz 12 olu (attiecībā uz beztaras partijām un partijām, kas sastāv no atsevišķiem iepakojumiem, piemēro 3. un 4. tabulu).

3. tabula

No katras partijas vai apakšpartijas ņemamo elementārparaugu minimālais skaits

Partijas/apakšpartijas svars vai tilpums (kilogramos vai litros)	Minimālais elementārparaugu skaits, kas jāņem
< 50	3
50–500	5
> 500	10

Ja partija vai apakšpartija sastāv no atsevišķiem iepakojumiem vai vienībām, tad apvienotajam paraugam ņem tādu iepakojumu vai vienību skaitu, kāds norādīts 4. tabulā.

[1] OV L 303, 6.11.1997., 12. lpp.

4. tabula

Iepakojumu vai vienību (elementārparaugu) skaits, ko ņem, lai izveidotu kopparaugu, ja partija vai apakšpartija sastāv no atsevišķiem iepakojumiem vai vienībām

Iepakojumu vai vienību skaits partijā/apakšpartijā	Iepakojumu vai vienību skaits, kas jāņem
1–25	vismaz 1 iepakojums vai vienība
26–100	aptuveni 5 %, vismaz 2 iepakojumi vai vienības
> 100	aptuveni 5 %, ne vairāk par 10 iepakojumiem vai vienībām

3. **Īpaši noteikumi par paraugu ņemšanu no partijām, kurās ir veselas zivis ar salīdzināmu svaru un lielumu**

Zivju izmēru un svaru uzskata par salīdzināmiem, ja tie neatšķiras vairāk kā par 50 %.

No partijas ņemamo elementārparaugu skaits ir norādīts 3. tabulā. No visiem elementārparaugiem izveidotā kopparauga masa ir vismaz 1 kg (sk. II.5. punktu).

— Ja partijā, no kuras ņemams paraugs, ir mazas zivis (atsevišķas zivs svars < 1 kg), kopparaugam kā elementārparaugu ņem visu zivi. Ja šādi iegūtais kopparaugs sver vairāk par 3 kg, elementārparaugi var sastāvēt no kopparaugu veidojošo zivju vidējās daļas, kas katra sver vismaz 100 gramus. Parauga homogenizēšanai izmanto visu daļu, uz kuru attiecas maksimālā pieļaujamā koncentrācija.

Zivs vidējā daļā ir tās smaguma centrs. Tas lielākoties atrodas tās muguras spurā (ja zivij ir muguras spura) vai tieši vidū starp žaunu atveri un anālo atveri.

— Ja partijā, no kuras ņemams paraugs, ir lielākas zivis (atsevišķas zivs svars ir lielāks par aptuveni 1 kg), elementārparaugu veido zivs vidējā daļa. Katrs elementārparaugs sver vismaz 100 gramus.

Vidēja lieluma zivīm (apmēram 1–6 kg) elementārparaugu ņem, zivs vidējā daļā nogriežot sloksni zivs gaļas no mugurkaula līdz vēderdaļai.

Ļoti lielām zivīm (piemēram, smagākām par 6 kg) elementārparaugu ņem no gaļas zivs labajā pusē (frontālais skats) pie dorsālā laterālā muskuļa zivs vidējā daļā. Ja, ņemot šādu paraugu zivs vidējā daļā, tiktu ievērojami mazināta tās tirdzniecības vērtība, šādu paraugu var aizstāt ar trim elementārparaugiem, kas katrs sver vismaz 350 gramus, neatkarīgi no partijas lieluma, vai – pastāv alternatīva iespēja tikpat lielu elementārparaugu, kurš uzskatāms par reprezentatīvu dioksīnu koncentrācijai visā zivī, ņemt no muskuļu gaļas, kas atrodas zivs astes daļā, un no muskuļu gaļas, kura atrodas tuvu tās pašas zivs galvas daļai.

4. **Paraugu ņemšana no zivju partijām, kurās ir veselas zivis ar dažādiem izmēriem un/vai svaru**

— Piemēro III.3. punkta noteikumus par parauga veidošanu.

— Ja kāds zivs izmērs vai svars ir pārsvarā (apmēram 80 % vai vairāk no partijas apjoma), paraugu ņem no šā pārsvarā esošā izmēra vai svara zivīm. Šo paraugu uzskata par reprezentatīvu attiecībā uz visu partiju.

— Ja neviens zivs izmērs vai svars nav pārsvarā, jānodrošina, lai paraugam izvēlētās zivis būtu reprezentatīvas attiecībā uz partiju. Īpaši ieteikumi saistībā ar šādiem gadījumiem ir sniegti *Guidance on sampling of whole fishes of different size and/or weight* (Vadlīnijas paraugu atlasei no dažāda lieluma un/vai svara veselām zivīm) [2].

5. **Paraugu ņemšana mazumtirdzniecības posmā**

Pārtikas paraugu ņemšana mazumtirdzniecības posmā pēc iespējas jāveic saskaņā ar paraugu ņemšanas nosacījumiem, kas noteikti šā pielikuma III.2. punktā.

Ja tas nav iespējams, mazumtirdzniecības posmā var izmantot alternatīvu paraugu ņemšanas procedūru, ja tā nodrošina partijai vai apakšpartijai pietiekami reprezentatīvu paraugu iegūšanu.

[2] http://ec.europa.eu/food/food/chemicalsafety/contaminants/dioxins_en.htm

IV. PARTIJAS VAI APAKŠPARTIJAS ATBILSTĪBA SPECIFIKĀCIJAI

1. **Attiecībā uz *PCB*, kas nav līdzīgi dioksīniem**

Ievērojot mērījumu neprecizitāti, partiju pieņem, ja analīzes rezultāts nepārsniedz Regulā (EK) Nr. 1881/2006 noteikto tādu *PCB* maksimālo pieļaujamo koncentrāciju, kuri nav līdzīgi dioksīniem.

Partija tiek uzskatīta par neatbilstošu maksimālajai pieļaujamajai koncentrācijai, kas noteikta Regulā (EK) Nr. 1881/2006, ja augšējās robežas analīžu rezultāti, kuri apstiprināti otrreizējā analīzē ([3]), acīmredzami pārsniedz maksimālo pieļaujamo koncentrāciju, ņemot vērā mērījumu neprecizitāti.

Mērījumu neprecizitāti var ņemt vērā saskaņā ar vienu no šādām pieejām:

— aprēķinot izvērsto neprecizitāti, izmantojot paplašinājuma koeficientu 2, kas nodrošina aptuveni 95 % ticamības līmeni. Partija vai apakšpartija nav atbilstoša, ja, atņemot U (paplašinātā mērījuma neprecizitāte) no aprēķinātās vērtības, iegūtā vērtība ir virs noteiktās atļautās vērtības,

— nosakot izšķiršanas robežu (CCα) saskaņā ar noteikumiem Lēmumā 2002/657/EK (šā lēmuma I pielikuma 3.1.2.5. punkts – vielas, kurām ir noteikta atļautā robeža). Partija vai apakšpartija nav atbilstoša, ja aprēķinātā vērtība ir vienāda ar CCα vai lielāka par to.

Iepriekš minētos noteikumus piemēro analīžu rezultātiem, kas iegūti, analizējot oficiālai kontrolei ņemtu paraugu. Analīzēm, kas vajadzīgas aizstāvības vai arbitrāžas vajadzībām, piemēro attiecīgās valsts tiesību normas.

2. **Attiecībā uz dioksīniem (*PCDD*/*PCDF*) un dioksīniem līdzīgiem *PCB***

Partiju pieņem, ja rezultāti, kurus iegūst tādā atsevišķā analīzē:

— ko veic, izmantojot skrīninga metodi ar šķietamās atbilstības attiecību zemāku par 5 %, liecina par to, ka koncentrācija nepārsniedz attiecīgo maksimāli pieļaujamo koncentrāciju, kas Regulā (EK) Nr. 1881/2006 noteikta attiecībā uz *PCDD/F* un *PCDD/F* un dioksīniem līdzīgo *PCB* summu,

— ko veic, izmantojot apstiprinājuma metodi, nepārsniedz attiecīgo maksimāli pieļaujamo koncentrāciju, kas Regulā (EK) Nr. 1881/2006 noteikta attiecībā uz *PCDD/F* un *PCDD/F* un dioksīniem līdzīgo *PCB* summu, ņemot vērā mērījumu neprecizitāti.

Skrīninga testos robežvērtību nosaka, lai lemtu par atbilstību attiecīgajai interesējošajai koncentrācijai, kas noteikta attiecībā uz *PCDD/F* vai *PCDD/F* un dioksīniem līdzīgo *PCB* summu.

Partija tiek uzskatīta par neatbilstošu maksimālajai pieļaujamajai koncentrācijai, kas noteikta Regulā (EK) Nr. 1881/2006, ja augšējās robežas analīžu rezultāti, kuri iegūti ar apstiprinājuma metodi un apstiprināti otrreizējā analīzē ([3]), acīmredzami pārsniedz maksimālo pieļaujamo koncentrāciju, ņemot vērā mērījumu neprecizitāti.

Mērījumu neprecizitāti var ņemt vērā saskaņā ar vienu no šādām pieejām:

— aprēķinot izvērsto neprecizitāti, izmantojot paplašinājuma koeficientu 2, kas nodrošina aptuveni 95 % ticamības līmeni. Partija vai apakšpartija nav atbilstoša, ja, atņemot U no aprēķinātās vērtības, iegūtā vērtība ir virs noteiktās atļautās vērtības. Ja *PCDD/F* un dioksīniem līdzīgus *PCB* nosaka atsevišķi, atsevišķo *PCDD/F* un dioksīniem līdzīgu *PCB* analīžu rezultātu aprēķinātā izvērstās neprecizitātes summa ir jāizmanto kā *PCDD/F* un dioksīniem līdzīgu *PCB* summas aprēķinātā izvērstā neprecizitāte,

— nosakot izšķiršanas robežu (CCα) saskaņā ar noteikumiem Lēmumā 2002/657/EK (šā lēmuma I pielikuma 3.1.2.5. punkts – vielas, kurām ir noteikta atļautā robeža), partija vai apakšpartija nav atbilstoša, ja aprēķinātā vērtība ir vienāda ar CCα vai lielāka par to.

Iepriekš minētos noteikumus piemēro analīžu rezultātiem, kas iegūti, analizējot oficiālai kontrolei ņemtu paraugu. Analīzēm, kas vajadzīgas aizstāvības vai arbitrāžas vajadzībām, piemēro attiecīgās valsts tiesību normas.

([3]) Otrreizēja analīze ir nepieciešama, lai nepieļautu savstarpēju piesārņošanos vai paraugu nejaušu sajaukšanos. Pirmo analīzi izmanto atbilstības pārbaudei, ņemot vērā mērījumu neprecizitāti. Ja analīze tiek veikta sakarā ar piesārņojumu, otrreizēju analīzi apstiprinājuma gūšanai var neveikt, ja iespējams izsekot tam, ka analīzei atlasītie paraugi ir saistīti ar notikušo piesārņojumu.

V. IEDARBĪBAS KONCENTRĀCIJAS PĀRSNIEGŠANA

Iedarbības koncentrāciju izmanto paraugu atlasei gadījumos, kad ir jāidentificē piesārņojuma avots un jāveic pasākumi tā samazināšanai vai likvidēšanai. Ar skrīninga metodēm tiek noteiktas atbilstīgas robežvērtības šo paraugu atlasei. Pasākumus, kas nepieciešami avota identificēšanai un piesārņojuma samazināšanai vai likvidēšanai, veic tikai tad, ja iedarbības koncentrācijas pārsniegšana ir apstiprināta atkārtotā analīzē, kura veikta ar apstiprinošo metodi, un ir ņemta vērā mērījuma neprecizitāte ([4]).

([4]) Iedarbības koncentrācijas kontroles nolūkā veiktās otrreizējās analīzes skaidrojums un prasības identiskas tam, kā norādīts 3. zemsvītras piezīmē attiecībā uz maksimālo pieļaujamo koncentrāciju.

III PIELIKUMS

Paraugu gatavošana un prasības attiecībā uz analīzes metodēm, ko izmanto dioksīnu (*PCDD/PCDF*) un dioksīniem līdzīgu *PCB* koncentrācijas oficiālai kontrolei konkrētos pārtikas produktos

1. PIEMĒROŠANAS JOMA

Šajā pielikumā noteiktās prasības jāpiemēro gadījumos, kad pārtikas produktu analīzi veic 2,3,7,8-aizvietoto polihlordibenzo-p-dioksīnu un polihlordibenzofurānu (*PCDD/F*) un dioksīniem līdzīgu polihlorbifenilu (dioksīniem līdzīgu *PCB*) koncentrācijas oficiālai kontrolei un citām regulatīvām vajadzībām.

PCDD/F un dioksīniem līdzīgu *PCB* klātbūtnes uzraudzībai pārtikas produktos var būt divi atšķirīgi mērķi:

a) to paraugu atlase, kuros *PCDD/F* un dioksīniem līdzīgu *PCB* koncentrācija pārsniedz maksimālo pieļaujamo koncentrāciju vai iedarbības koncentrāciju. Šajā pieejā var būt izmantota skrīninga metode, kas nodrošina iespēju rentabli apstrādāt lielu daudzumu paraugu, tādējādi uzlabojot izredzes atklāt jaunus incidentus ar augstu iedarbību uz patērētājiem un apdraudējumu to veselībai. Skrīninga metodēs var ietilpt bioanalīzes metodes un *GC/MS* metodes. To piemērošanā jācenšas izvairīties no šķietamās atbilstības rezultātiem. *PCDD/F* un *PCDD/F* un dioksīniem līdzīgu *PCB* summas koncentrācija šajos paraugos ar ievērojamu koncentrāciju ir jānosaka/jāapstiprina, izmantojot apstiprinājuma metodi;

b) *PCDD/F* un dioksīniem līdzīgu *PCB* koncentrācijas noteikšana pārtikas produktu paraugos zemu fona līmeņu diapazonā. Tas ir svarīgi, lai varētu uzraudzīt tendences laikā, novērtēt populācijas pakļaušanu iedarbībai un izveidot datubāzi iedarbības koncentrācijas un maksimālās pieļaujamās koncentrācijas iespējamai atkārtotai novērtēšanai. Šis mērķis tiek sasniegts, izmantojot apstiprinājuma metodes, kas ļauj nepārprotami identificēt un kvantitatīvi noteikt *PCDD/F* un dioksīniem līdzīgus *PCB* interesējošajā koncentrācijā. Šīs metodes var izmantot ar skrīninga metodēm iegūto rezultātu apstiprināšanai un zemu fona līmeņu noteikšanai pārtikas uzraudzībā. Tām ir būtiska nozīme arī radniecīgo struktūru noteikšanā, lai identificētu iespējamā piesārņojuma avotu. Pašlaik šādās metodēs izmanto augstas izšķirtspējas gāzes hromatogrāfiju/ augstas izšķirtspējas masspektrometriju (*HRGC/HRMS*).

2. METOŽU KLASIFIKĀCIJA, PAMATOJOTIES UZ TO KVANTITATĪVĀS NOTEIKŠANAS PAKĀPI [1]

Kvalitatīvajās metodēs tiek sniegta "jā/nē" atbilde uz jautājumu par nosakāmo vielu klātbūtni, skaitliski nenorādot iedomātās analizējamās vielas koncentrāciju. Ar šīm metodēm būtu iespējams iegūt daļēji kvantitatīvus rezultātus, taču tās izmanto vienīgi tam, lai sniegtu "jā/nē" atbildi uz jautājumu par koncentrāciju virs noteikta līmeņa, piemēram, noteikšanas robežas, kvantitatīvās noteikšanas robežas vai robežvērtībām, vai zem tā.

PCDD/F un dioksīniem līdzīgu savienojumu maksimālās pieļaujamās koncentrācijas un iedarbības koncentrācijas pārtikā kontrolei var izmantot skrīninga metodes, kuru pamatā ir analīzes rezultātu salīdzināšana ar robežvērtību un kuras sniedz "jā/nē" atbildi uz jautājumu par interesējošās koncentrācijas iespējamo pārsniegšanu. Šim nolūkam tika ieviestas bioanalīzes metodes. Varētu izstrādāt arī fizikāli ķīmiskas metodes, taču nav praktisku piemēru attiecībā uz tādu maksimālo pieļaujamo koncentrāciju un iedarbības koncentrāciju, kuras pamatā ir *TEQ*, kā arī attiecībā uz komplekso analīzi, kurā jānosaka būtiskās atsevišķās radniecīgās vielas.

Daļēji kvantitatīvas metodes sniedz aptuvenu informāciju par koncentrāciju, kas var būt lietderīga kā informācija par analizējamās vielas koncentrācijas diapazonu un palīdz analizētājam pieņemt lēmumu par kalibrācijas diapazonu apstiprinājuma testam, kurš sekojoši jāveic, un kvalitātes kontroles vajadzībām. Piemēri:

— bioanalīzes metodes, ar ko iespējams konstatēt nosakāmās vielas, ietver kalibrēšanas līknes, tās sniedz "jā/nē" atbildi uz jautājumu par interesējošās koncentrācijas iespējamo pārsniegšanu un ļauj paziņot rezultātu kā bioanalīzes ekvivalentus (*BEQ*), kuri ir norāde par *TEQ* vērtību attiecīgajā paraugā,

— fizikāli ķīmiskais tests (piemēram, *GC-MS/MS* vai *GC/LRMS*), kurā mērāmie metodes precizitātes parametri neatbilst kvantitatīvo testu prasībām.

[1] Pielāgots *PCDD/F* un dioksīniem līdzīgiem savienojumiem no , ES references laboratorijas attiecībā uz veterināro zāļu un piesārņotāju atliekām dzīvnieku izcelsmes pārtikā Fugerā, Berlīnē un Bilthovenā, 20.1.2010., http://ec.europa.eu/food/food/chemicalsafety/residues/lab_analysis_en.htm.

Kvantitatīvās metodes atbilst tām pašām pareizības, dinamiskā diapazona un precizitātes prasībām, kurām atbilst apstiprinājuma testi. Ja nepieciešama kvantitatīva noteikšana, šīs metodes validē kā apstiprinājuma metodes atbilstīgi tam, kā sīki izklāstīts šajā dokumentā, runājot par *PCDD/F* un dioksīniem līdzīgiem *PCB*.

3. VISPĀRĪGA INFORMĀCIJA

Lai aprēķinātu toksiskuma ekvivalentu (*TEQ*) koncentrāciju, attiecīgajā paraugā ietilpstošo atsevišķo vielu koncentrāciju reizina ar šo vielu toksiskuma ekvivalenta koeficientu (*TEF*), ko noteikusi Pasaules Veselības organizācija un kas norādīts šā pielikuma papildinājumā, un rezultātus pēc tam summē, iegūstot dioksīniem līdzīgo savienojumu kopējo koncentrāciju, kura izteikta kā *TEQ*.

Skrīninga un apstiprinājuma metodes var piemērot noteiktas matricas kontrolē vienīgi tad, ja šīs metodes ir pietiekami jutīgas, lai ar tām varētu noteikt koncentrācijas ticamību interesējošajā koncentrācijā (iedarbības koncentrācijā vai maksimālajā pieļaujamajā koncentrācijā).

4. KVALITĀTES NODROŠINĀŠANAS PRASĪBAS

— Jāveic pasākumi, lai nevienā paraugu ņemšanas un analīzes posmā nepieļautu paraugu savstarpēju piesārņošanos.

— Paraugi jāglabā un jātransportē stikla, alumīnija, polipropilēna vai polietilēna traukos, kas piemēroti glabāšanai un neietekmē *PCDD/F* un dioksīniem līdzīgu *PCB* koncentrāciju paraugos. No parauga trauka jānotīra papīra putekļu paliekas.

— Paraugi jāglabā un jātransportē tā, lai nodrošinātu attiecīgo pārtikas produktu paraugu integritāti.

— Vajadzības gadījumā katru laboratorijas paraugu rūpīgi sasmalcina un rūpīgi samaisa, izmantojot apstrādi, kas nodrošina pilnīgu homogenizāciju (piemēram, samaļ tā, lai paraugs pilnībā izietu caur 1 mm sietu); pārlieku mitri paraugi pirms sasmalcināšanas jāizžāvē.

— Ļoti svarīgi pārbaudīt, kā reaģenti, stikla trauki un aprīkojums ietekmē uz *TEQ* un *BEQ* balstītus rezultātus.

— Tukšo analīzi veic, izpildot visu analītisko procedūru bez analizējamā parauga.

— Bioanalīzes metožu gadījumā ir ļoti svarīgi pārbaudīt, vai analīzē izmantotie stikla trauki un šķīdinātāji nesatur savienojumus, kas traucētu nosakāmo savienojumu konstatēšanu darba diapazonā. Stikla trauki jāskalo ar šķīdinātājiem un/vai jākarsē temperatūrā, kas piemērota tam, lai notīrītu *PCDD/F*, dioksīnam līdzīgu savienojumu un traucējošo savienojumu pēdas no to virsmas.

— Ekstrakcijai izmantojamā parauga daudzumam jābūt pietiekami lielam, lai tiktu ievērotas prasības attiecībā uz pietiekami zemu darba diapazonu, kurā ietilpst interesējošā koncentrācija.

— Īpašajām paraugu sagatavošanas procedūrām, ko izmanto attiecīgajiem produktiem, jāatbilst starptautiski pieņemtām vadlīnijām.

— Pārbaudot zivis, tām ir jānoņem āda, jo maksimālā koncentrācija attiecas uz muskuļu gaļu bez ādas. Tomēr visa atlikusī muskuļu gaļa un taukaudi ādas iekšpusē ir uzmanīgi un pilnībā jānokasa no ādas, un šie muskuļu gaļas un taukaudu atlikumi ir jāpievieno analizējamajam paraugam.

5. PRASĪBAS LABORATORIJĀM

— Lai garantētu, ka laboratorijas piemēro kvalitātes sistēmu analītisko rezultātu kvalitātes nodrošināšanai, saskaņā ar Regulu (EK) Nr. 882/2004 tās jāakreditē atzītā iestādē, kura darbojas saskaņā ar *ISO Guide 58*. Laboratorijas jāakreditē, ievērojot EN ISO/IEC 17025 standartu.

— Laboratoriju kompetence ir pastāvīgi jāapliecina, tām sekmīgi piedaloties starplaboratoriju pētījumos, kuros kvantitatīvi nosaka *PCDD/F* un dioksīniem līdzīgus *PCB* attiecīgajās pārtikas matricās un koncentrācijas diapazonos.

— Laboratorijas, kas piemēro skrīninga metodes paraugu regulārai pārbaudei, gan kvalitātes kontrolē, gan aizdomīgo paraugu analīzes rezultātu apstiprināšanā izveido ciešu sadarbību ar laboratorijām, kuras piemēro apstiprinājuma metodi.

6. PAMATPRASĪBAS, KAS JĀIEVĒRO, VEICOT ANALĪZES PROCEDŪRAS DIOKSĪNU (*PCDD/F*) UN DIOKSĪNIEM LĪDZĪGU *PCB* NOTEIKŠANAI

6.1. **Zems darbības diapazons un kvantitatīvās noteikšanas robežas**

— *PCDD/F* gadījumā nosakāmajam daudzumam jābūt augšējā femtograma (10^{-15} g) diapazonā, jo daži no šiem savienojumiem ir ārkārtīgi toksiski. Attiecībā uz lielāko daļu *PCB* radniecīgo vielu kvantitatīvās noteikšanas robežu ir pietiekami izteikt nanogramos (10^{-9} g). Tomēr, lai kvantitatīvi noteiktu toksiskākas dioksīniem līdzīgu *PCB* radniecīgās vielas (jo īpaši orto-neizvietotās radniecīgās vielas), darbības diapazona lejasgalam jāsasniedz zema pikogramu (10^{-12} g) koncentrācija.

6.2. **Augsta selektivitāte (specifiskums)**

— Jāatšķir *PCDD/F* un dioksīniem līdzīgi *PCB* no daudziem citiem vienlaikus ekstrahētiem savienojumiem un varbūtēji traucējošiem savienojumiem, kuru koncentrācija līdz vairākām kārtām pārsniedz nosakāmās vielas koncentrāciju. Ja izmanto gāzu hromatogrāfijas/masspektrometrijas (*GC/MS*) metodes, jādiferencē dažādas tādas atšķirīgas radniecīgas vielas kā toksiskās radniecīgās vielas (piemēram, septiņpadsmit 2,3,7,8-aizvietotie *PCDD/F* un divpadsmit dioksīniem līdzīgie *PCB*) un citas radniecīgas vielas.

— Izmantojot bioanalīzes metodes, nosakāmos savienojumus jāspēj konstatēt kā *PCDD/F* un/vai dioksīniem līdzīgo *PCB* summu. Parauga attīrīšanā jācenšas atbrīvot to no visiem savienojumiem, kas rada šķietami neatbilstošus rezultātus, vai no savienojumiem, kuri var samazināt signālu, radot šķietami atbilstošus rezultātus.

6.3. **Augsta precizitāte (pareizība un precizitāte, biotesta acīmredzamā atgūstamība)**

— Runājot par *GC/MS* metodēm, kvantitatīvajā noteikšanā jāiegūst pareizs patiesās koncentrācijas novērtējums paraugā. Augsta precizitāte (mērījuma precizitāte – mērāmā lieluma izmērītās vērtības un tā patiesās vai pieņemtās vērtības sakritība) ir vajadzīga, lai noteiktā *TEQ* līmeņa mazās ticamības dēļ nevarētu noraidīt parauga analīzes rezultātus. Precizitāti izsaka ar "pareizību" (starpība starp analizējamās vielas vidējo vērtību, kas izmērīta, analizējot sertificētu standartmateriālu, un tās sertificēto vērtību, kuru izsaka procentos no šīs vērtības) un "precizitāti" (RSD_R relatīvā standartnovirze, ko aprēķina no atkārtojamības apstākļos iegūtiem rezultātiem).

— Bioanalīzes metodēs ir jānosaka biotestu acīmredzamā atgūstamība.

6.4. **Apstiprināšana interesējošās koncentrācijas diapazonā un vispārēji kvalitātes kontroles pasākumi**

— Apstiprināšanas procedūrā un/vai regulārajā analīzē laboratorijas pierāda metodes efektivitāti interesējošās koncentrācijas diapazonā, kas ir, piemēram, 0,5 ×, 1 × un 2 × interesējošā koncentrācija, un ka šajā diapazonā ir pieņemams atkārtotu analīžu noviržu koeficients.

— Kvalitātes iekšējās kontroles nolūkos regulāri izdara tukšo paraugu analīzes un eksperimentus ar standartpiedevu metodi vai kontrolparaugu analīzes (ja iespējams, ieteicams izmantot sertificētu standartmateriālu). Jāizveido un jāpārbauda tukšo paraugu analīzes, eksperimentu ar standartpiedevu metodi vai kontrolparaugu analīzes kvalitātes kontroles grafiki, lai pārliecinātos, ka analītiskā veiktspēja atbilst izvirzītajām prasībām.

6.5. **Kvantitatīvās noteikšanas robeža**

— Bioanalīzes skrīninga metodes gadījumā *LOQ* noteikšana nav obligāta prasība, bet ir jāapliecina, ka ar šo metodi ir iespējams atšķirt tukšo paraugu no parauga ar robežvērtību. Nodrošinot *BEQ* līmeni, jānosaka ziņošanas līmenis, lai risinātu jautājumu par tiem paraugiem, kuru signāls ir zemāks par šo līmeni. Ziņošanas līmenim ievērojami jāatšķiras (vismaz trīs reizes) no procedūras tukšajiem paraugiem ar signālu, kas zemāks par darbības diapazonu. Tāpēc tas jāaprēķina, izmantojot paraugus, kas satur nosakāmos savienojumus aptuveni noteiktajā minimālajā koncentrācijā, nevis izmantojot signāla/trokšņa attiecību vai tukšo testa paraugu.

— Kvantitatīvās noteikšanas robežai (*LOQ*) apstiprinājuma metodē ir jāietilpst diapazonā, kas atbilst aptuveni vienai piektdaļai no interesējošās koncentrācijas.

6.6. **Analīzes kritēriji**

— Lai ar apstiprinājuma vai skrīninga metodēm iegūtu ticamus rezultātus, turpmāk norādītie kritēriji ir jāizpilda attiecībā uz *TEQ* vērtību, respektīvi, attiecībā uz *BEQ* vērtību, ko nosaka kā kopējo *TEQ* (kā *PCDD/F* un dioksīniem līdzīgu *PCB* summu) vai atsevišķi *PCDD/F* un dioksīniem līdzīgajiem *PCB*.

	Skrīnings, izmantojot bioanalīzes vai fizikāli ķīmiskās metodes	Apstiprinājuma metodes
Šķietamās atbilstības attiecība (*)	< 5 %	
Ticamība		no – 20 % līdz + 20 %
Atkārtojamība (RSD_r)	< 20 %	
Reproducējamība laboratorijā (RSD_R)	< 25 %	< 15 %

(*) Attiecībā uz maksimālo pieļaujamo koncentrāciju.

6.7. **Īpašas prasības skrīninga metodēm**

— Par skrīninga metodēm var izmantot gan *GC/MS* metodes, gan bioanalīzes metodes. Attiecībā uz *GC/MS* metodēm jāievēro šā pielikuma 7. punktā noteiktās prasības. Attiecībā uz šūnu bioanalīzes metodēm īpašas prasības noteiktas šā pielikuma 8. punktā.

— Laboratorijas, kas piemēro skrīninga metodes paraugu regulārajās pārbaudēs, izveido ciešu sadarbību ar laboratorijām, kuras piemēro apstiprinājuma metodi.

— Regulārās analīzes laikā ir jāveic skrīninga metodes veiktspējas pārbaude, izmantojot analīzes kvalitātes kontroli un nepārtrauktu metodes novērtēšanu. Jāpiemēro nepārtraukta programma atbilstīgo rezultātu kontrolei.

— *Šūnas signāla un citotoksicitātes iespējamās apslāpēšanas kontrole*

20 % no parauga ekstraktiem mērījumus veic regulārajā skrīningā, nepievienojot 2,3,7,8-*TCDD* vai pievienojot to atbilstoši interesējošajai koncentrācijai, lai pārbaudītu, vai parauga ekstraktā ietilpstošās traucējošās vielas neapslāpē signālu. Izmērīto piesātinātā parauga koncentrāciju salīdzina ar nepiesātinātā ekstrakta koncentrācijas un piesātinājuma koncentrācijas summu. Ja šī izmērītā koncentrācija ir par vairāk nekā 25 % mazāka par aprēķināto (summāro) koncentrāciju, tas liecina par iespējamo signāla apslāpēšanu, un attiecībā uz konkrēto paraugu ir jāveic *GC/HRMS* apstiprinājuma analīze. Rezultātus novēro kvalitātes kontroles grafikos.

— *Kvalitātes kontrole attiecībā uz atbilstīgiem paraugiem*

Atkarībā no parauga matricas un laboratorijas pieredzes aptuveni 2–10 % no atbilstīgajiem paraugiem ir jāapstiprina ar *GC/HRMS*.

— *Šķietamās atbilstības attiecības noteikšana, pamatojoties uz kvalitātes kontroles datiem*

Jānosaka tādu paraugu skrīningā iegūto šķietamās atbilstības rezultātu attiecība, kuros koncentrācija ir zemāka un augstāka par maksimālo pieļaujamo koncentrāciju vai iedarbības koncentrāciju. Faktiskajai šķietamās atbilstības attiecībai jābūt mazākai par 5 %.

Pēc tam, kad atbilstīgo paraugu kvalitātes kontrolē no katras matricas / matricu grupas ir iegūti vismaz 20 apstiprināti rezultāti, izdara secinājumus par šķietamās atbilstības attiecību, pamatojoties uz šo datubāzi. Minimālajā 20 rezultātu grupā, ko izmanto šķietamās atbilstības attiecības novērtēšanai, var iekļaut arī rezultātus, kuri iegūti, analizējot paraugus starplaboratoriju salīdzinošajā testēšanā vai piesārņojuma incidentos, ar koncentrācijas diapazonu līdz, piemēram, 2 × maksimālā pieļaujamā koncentrācija (*ML*). Ar paraugiem ir jāaptver visbiežāk sastopamās radniecīgās struktūras no dažādiem avotiem.

Lai gan skrīninga testos pirmām kārtām jācenšas noteikt paraugus, kas pārsniedz iedarbības koncentrāciju, šķietamās atbilstības attiecības noteikšanas kritērijs ir maksimālā pieļaujamā koncentrācija, ievērojot apstiprinājuma metodes mērījumu neprecizitāti.

— Iespējamos neatbilstošos skrīninga rezultātus vienmēr pārbauda, izmantojot apstiprinājuma analīzes metodi (*GC/HRMS*). Šos paraugus var arī izmantot, lai novērtētu šķietami neatbilstošo rezultātu attiecību. Skrīninga metožu gadījumā "šķietami neatbilstošo rezultātu" attiecība ir to rezultātu daļa, kas apstiprināti kā atbilstoši *GC/HRMS* apstiprinājuma analīzē, lai gan iepriekšējā skrīningā bija radušās aizdomas, ka attiecīgais paraugs ir neatbilstošs. Tomēr skrīninga metodes izdevīgumu novērtē, pamatojoties uz šķietami neatbilstošu paraugu salīdzinājumu ar kopējo pārbaudīto paraugu skaitu. Lai skrīninga instrumenta izmantošana būtu izdevīga, šai attiecībai ir jābūt pietiekami zemai.

— Vismaz apstiprināšanas apstākļos bioanalīzes metodes sniedz ticamu norādi par *TEQ* līmeni, kas aprēķināts un izteikts kā *BEQ*.

— Arī to bioanalīzes metožu gadījumā, kas tiek piemērotas atkārtojamības apstākļos, laboratorijas RSD_r parasti būtu mazāks par reproducējamību RSD_R.

7. ĪPAŠAS PRASĪBAS, KAS ATTIECAS UZ *GC/HRMS* METODĒM, KURAS IZMANTO SKRĪNINGAM VAI APSTIPRINĀŠANAI

7.1. **Vispārējas prasības**

— Starpība starp augšējo un apakšējo robežu nedrīkst pārsniegt 20 % attiecībā uz pārtikas produktiem, kuros piesārņojums ir aptuveni 1 pg PVO *TEQ* uz gramu tauku (noteikts, pamatojoties uz *PCDD/F* un dioksīniem līdzīgu *PCB* summu). Pārtikas produktiem ar zemu tauku saturu attiecībā uz piesārņojuma līmeni piemēro tādas pašas prasības – aptuveni 1 pg PVO *TEQ* uz gramu produkta. Ja piesārņojums ir mazāks, piemēram, 0,5 pg PVO *TEQ* uz gramu produkta, starpība starp augšējo un apakšējo robežu var būt no 25 % līdz 40 %.

7.2. **Atgūstamības kontrole**

— Lai analīzes procedūra būtu atzīstama par derīgu, sākot analīzi, piemēram, pirms ekstrakcijas, jāpievieno ar ^{13}C iezīmēti 2,3,7,8-hloraizvietoti iekšējie *PCDD/F* standarti un ar ^{13}C iezīmēti dioksīniem līdzīgu *PCB* iekšējie standarti. Katrai tetra- līdz oktahloratvasināto *PCDD/F* homologu grupai jāpievieno vismaz viena radniecīga viela, un vismaz viena radniecīga viela jāpievieno katrai dioksīniem līdzīgu *PCB* homologu grupai (alternatīvi jāpievieno vismaz viena radniecīga viela uz katru masspektrometrijai izraudzīto reģistrējamo jonu funkciju, ko izmanto *PCDD/F* un dioksīniem līdzīgu *PCB* uzraudzībai). Apstiprinājuma metožu gadījumā izmanto visus 17 ar ^{13}C iezīmētus 2,3,7,8,-aizvietotos iekšējos *PCDD/F* standartus un visus 12 ar ^{13}C iezīmētus dioksīniem līdzīgu *PCB* iekšējos standartus.

— Izmantojot attiecīgus kalibrēšanas šķīdumus, signāla relatīvā attiecība pret masas vienību jānosaka arī tām radniecīgajām vielām, kam nepievieno ar ^{13}C iezīmētu analogu.

— Pirms ekstrakcijas iekšējie standarti obligāti jāpievieno tiem augu un dzīvnieku izcelsmes pārtikas produktiem, kuros ir mazāk nekā 10 % taukvielu. Analizējot dzīvnieku izcelsmes pārtikas produktus, kas satur vairāk nekā 10 % tauku, iekšējos standartus var pievienot pirms vai pēc tauku ekstrakcijas. Atkarībā no tā, kurā analīzes posmā pievieno iekšējos standartus un vai rezultātus izsaka produktam vai arī tikai taukiem, jānovērtē ekstrakcijas efektivitāte.

— Pirms *GC/MS* analīzes jāpievieno 1 vai 2 atgūstamības (surogāta) standarti.

— Nepieciešama atgūstamības kontrole. Attiecībā uz apstiprinājuma metodēm atsevišķo iekšējo standartu atgūstamībai jābūt diapazonā no 60 % līdz 120 %. Lielāka vai mazāka atsevišķu radniecīgo vielu, jo īpaši dažu hepta- un oktahloratvasināto dibenzo-p-dioksīnu un dibenzofurānu, atgūstamība ir pieņemama ar nosacījumu, ka to daļa *TEQ* vērtībā nepārsniedz 10 % no kopējās *TEQ* vērtības (pamatojoties uz *PCDD/F* un dioksīniem līdzīgu *PCB* summu). Ja piemēro *GC/MS* skrīninga metodes, atgūstamībai jābūt diapazonā no 30 % līdz 140 %.

7.3. **Traucējošo vielu izvadīšana**

— No tādiem traucējošiem hloratvasinātiem savienojumiem kā *PCB*, kas nav līdzīgi dioksīniem, un hloratvasinātiem difenilēteriem *PCDD/F* jāatdala ar piemērotām hromatogrāfijas metodēm (ieteicams, ar florisila, alumīnija oksīda un/vai aktīvās ogles kolonnu).

— Izomēru atdalīšanai gāzu hromatogrāfijā jābūt pietiekamai (1,2,3,4,7,8-*HxCDF* signāla attiecība pret 1,2,3,6,7,8-*HxCDF* signālu < 25 %).

7.4. **Kalibrēšana ar standartlīkni**

— Attiecīgajam interesējošās koncentrācijas vērtību diapazonam jāietilpst kalibrēšanas līknes diapazonā.

8. ĪPAŠAS PRASĪBAS BIOANALĪZES METODĒM

Bioanalīzes metodes ir metodes, kuru pamatā ir tādu bioloģisko principu izmantošana kā šūnu testi, receptoru testi vai imūntesti. Šajā 8. punktā noteiktas vispārējās prasības bioanalīzes testiem.

Ar skrīninga metodi paraugs principā tiek klasificēts kā atbilstīgs paraugs vai kā tāds paraugs, attiecībā uz kuru pastāv aizdomas par neatbilstību. Šai nolūkā aprēķinātais *BEQ* līmenis tiek salīdzināts ar robežvērtību (sk. 8.3. punktu). Paraugi, kuri nesasniedz robežvērtību, tiek uzskatīti par atbilstošiem paraugiem, bet paraugi, kuri ir vienādi ar robežvērtību vai pārsniedz to, tiek uzskatīti par iespējami neatbilstošiem paraugiem, kas jāanalizē, izmantojot apstiprinājuma metodi. Praksē *BEQ* līmeni, kas atbilst 2/3 no maksimālās pieļaujamās koncentrācijas, var izmantot kā vispiemērotāko robežvērtību, kura nodrošina, ka šķietamās atbilstības attiecība ir zemāka par 5 %, un pieņemamu šķietami neatbilstošo rezultātu attiecību. Ņemot vērā, ka *PCDD/F* maksimālā pieļaujamā koncentrācija atšķiras no maksimālās pieļaujamās koncentrācijas, ko piemēro attiecībā uz *PCDD/F* un dioksīniem līdzīgu *PCB* summu, paraugu atbilstības pārbaudei, neveicot frakcionēšanu, nepieciešamas piemērotas *PCDD/F* biotestu robežvērtības. Iedarbības koncentrāciju pārsniegušo paraugu pārbaudēs kā robežvērtību var noteikt atbilstīgu procentuālu daļu no attiecīgās interesējošās koncentrācijas.

Turklāt atsevišķu bioanalīzes metožu gadījumā attiecībā uz darbības diapazonā ietilpstošiem un ziņošanas robežu pārsniedzošiem paraugiem var norādīt indikatīvu koncentrāciju, kas izteikta *BEQ* (sk. 8.1.1. un 8.1.6. punktu).

8.1. **Testa signāla novērtējums**

8.1.1. *Vispārējas prasības*

— Kad aprēķina koncentrāciju no *TCDD* kalibrēšanas līknes, vērtības līknes lejasgalā un augšgalā atspoguļos augstu variāciju (augsts variācijas koeficients (*CV*)). Darbības diapazons ir lauks, kurā *CV* ir mazāks par 15 %. Darbības diapazona lejasgals (ziņošanas robeža) ir jānosaka ievērojami (vismaz trīs reizes) augstāk par procedūras tukšajiem paraugiem. Darbības diapazona augšgalā parasti atrodas EC_{70} vērtība (70 % no maksimālās efektīvās koncentrācijas), taču tā ir zemāka, ja *CV* šajā diapazonā ir lielāks par 15 %. Darbības diapazons ir jāizveido apstiprināšanas procesa laikā. Arī robežvērtībām (8.3. punkts) jāietilpst darbības diapazonā.

— Standarta šķīdumi un parauga ekstrakti jātestē vismaz divos eksemplāros. Ja izmanto divus eksemplārus, standarta šķīdumam vai kontroles ekstraktam, kas testēts 4–6 vienā platē nodalītos padziļinājumos, jārada signāls vai koncentrācija (iespējams vienīgi darbības diapazonā), pamatojoties uz *CV* < 15 %.

8.1.2. *Kalibrēšana*

8.1.2.1. Kalibrēšana ar standartlīkni

— Paraugos koncentrāciju var novērtēt, salīdzinot testa signālu ar *TCDD* kalibrēšanas līkni (vai *PCB* 126 vai *PCDD/F*/dioksīnam līdzīga *PCB* standartmaisījumu), lai aprēķinātu *BEQ* līmeni ekstraktā un pēc tam arī paraugā.

— Kalibrēšanas līknēs jāietilpst 8–12 koncentrācijas vērtībām (vismaz divu eksemplāru gadījumā) ar pietiekamu koncentrācijas vērtību skaitu līknes lejasdaļā (darbības diapazons). Īpaša uzmanība jāpievērš līknes atbilstības kvalitātei darbības diapazonā. Pašai R^2 vērtībai ir neliela nozīme līknes derīguma novērtēšanā nelineārā regresijā vai vispār nav šādas nozīmes. Labāka līknes atbilstība tiks nodrošināta, samazinot atšķirību starp aprēķināto koncentrāciju un novēroto koncentrāciju līknes darbības diapazonā (piemēram, samazinot atlikumu kvadrātu summu).

— Prognozētā koncentrācija parauga ekstraktā pēc tam tiek koriģēta par *BEQ* līmeni, kas aprēķināts attiecībā uz matricas/šķīdinātāja tukšo paraugu (lai ņemtu vērā izmantoto šķīdinātāju un ķimikāliju piemaisījumus), un par acīmredzamo atgūstamību (kas aprēķināta, pamatojoties uz piemērotu standartparaugu ar reprezentatīvām radniecīgām struktūrām aptuveni interesējošajā koncentrācijā *BEQ* līmeni). Lai varētu veikt atgūstamības korekciju, acīmredzamajai atgūstamībai vienmēr ir jāietilpst noteiktajā diapazonā (sk. 8.1.4. punktu). Atgūstamības korekcijā izmantotajiem standartparaugiem jāatbilst 8.2. punktā noteiktajām prasībām.

8.1.2.2. Kalibrēšana ar standartparaugiem

Var izmantot arī tādu kalibrācijas līkni, kas sagatavota no vismaz četriem standartparaugiem (sk. 8.2. punktu: viena tukša matrica kopā ar trīs standartparaugiem ar koncentrāciju, kas attiecīgi 0,5, 1 un 2 reizes pārsniedz interesējošo koncentrāciju) aptuveni interesējošajā koncentrācijā, tādējādi likvidējot nepieciešamību veikt ar tukšo paraugu un atgūstamību saistītas korekcijas. Šajā gadījumā testa signālu, kas atbilst 2/3 no maksimālās pieļaujamās koncentrācijas (sk. 8.3. punktu), var aprēķināt tieši no šiem paraugiem un izmantot kā robežvērtību. Iedarbības koncentrāciju pārsniegušo paraugu pārbaudēm kā robežvērtību var izmantot atbilstīgo procentuālo daļu no šīs iedarbības koncentrācijas.

8.1.3. *PCDD/F un dioksīniem līdzīgu PCB atsevišķa noteikšana*

Ekstraktus var sadalīt daļās, kas satur *PCDD/F* un dioksīniem līdzīgus *PCB*, ļaujot atsevišķi norādīt *PCDD/F* un dioksīniem līdzīgu *PCB TEQ* līmeņus (izteiktus *BEQ*). *PCB* 126 standarta kalibrācijas līkne pirmām kārtām jāizmanto, lai novērtētu dioksīniem līdzīgo *PCB* saturošās daļas uzrādītos rezultātus.

8.1.4. *Biotestu acīmredzamā atgūstamība*

"Biotestu acīmredzamo atgūstamību" aprēķina, pamatojoties uz piemērotiem standartparaugiem ar reprezentatīvām radniecīgām struktūrām aptuveni interesējošajā koncentrācijā, un izsaka kā *BEQ* līmeņa procentuālu attiecību pret *TEQ* līmeni. Atkarībā no izmantotā testa veida un *TEF* [1] atšķirības starp *TEF* un *REP* koeficientiem, ko piemēro attiecībā uz dioksīniem līdzīgiem *PCB*, var radīt zemu acīmredzamo atgūstamību dioksīniem līdzīgajiem *PCB* salīdzinājumā ar *PCDD/F*. Tāpēc, ja *PCDD/F* un dioksīniem līdzīgu *PCB* noteikšanu veic atsevišķi, biotestu acīmredzamajai atgūstamībai jābūt šādai: dioksīniem līdzīgajiem *PCB* – 25–60 %, *PCDD/F* – 50–130 % (diapazoni attiecas uz *TCDD* kalibrācijas līkni). Tā kā dažādās matricās un paraugos dioksīniem līdzīgu *PCB* daļa *PCDD/F* un dioksīniem līdzīgu *PCB* summā var savstarpēji atšķirties, biotestu acīmredzamā atgūstamība summas rādītājam atspoguļo šos diapazonus, un tai jāietilpst 30–130 % diapazonā.

8.1.5. *Atgūstamības kontrole attīrīšanas gadījumā*

— Apstiprināšanā ir jāpārbauda attīrīšanā zaudētie savienojumi. Attīrīšanai ir jāiesniedz ar dažādu radniecīgu vielu maisījumu piesātināts tukšs paraugs (n nav mazāks par 3), un *GC/HRMS* analīzē jāpārbauda atgūstamība un mainīgums. Atgūstamībai jābūt 60–120 % diapazonā, un tas jo īpaši attiecas uz tām radniecīgajām vielām, kas dažādos maisījumos veido vairāk par 10 % no *TEQ* līmeņa.

8.1.6. *Ziņošanas robeža*

— Kad tiek paziņoti *BEQ* līmeņi, ziņošanas robežas noteikšanai jāizmanto attiecīgie matricas paraugi ar tipiskajām radniecīgajām struktūrām, bet ne standartu kalibrācijas līkne, ņemot vērā līknes zemākā diapazona zemo precizitāti. Jāņem vērā ekstrahēšanas un attīrīšanas radītā ietekme. Ziņošanas robeža ir jānosaka ievērojami (vismaz trīs reizes) augstāk par procedūras tukšajiem paraugiem.

8.2. **Standartparaugu izmantošana**

— Standartparaugiem ir jāreprezentē *PCDD/F* un dioksīniem līdzīgu *PCB* parauga matrica, radniecīgas struktūras un koncentrācijas diapazoni aptuveni interesējošajā koncentrācijā (maksimālajā pieļaujamajā koncentrācijā vai iedarbības koncentrācijā).

— Analīžu sērijā jāiekļauj procedūras tukšais paraugs vai, ieteicams, matricas tukšais paraugs un standartparaugs interesējošajā koncentrācijā. Šie paraugi ir jāekstrahē un jātestē vienlaikus un identiskos apstākļos. Salīdzinājumā ar tukšo paraugu standartparauga signālam ir jābūt izteikti augstākam, tādējādi apliecinot testa piemērotību. Šos paraugus var izmantot tukšo paraugu un atgūstamības korekcijām.

— Standartparaugiem, kas izraudzīti atgūstamības korekcijas veikšanai, jāreprezentē testa paraugi, proti, radniecīgās struktūras nedrīkst izraisīt to, ka koncentrācija tiek novērtēta pārāk zemu.

— Jāiekļauj papildu standartparaugi, kuros attiecīgā koncentrācija ir, piemēram, 0,5 un 2 reizes lielāka par interesējošo koncentrāciju, lai parādītu analīzes efektivitāti nepieciešamajā diapazonā, nolūkā kontrolēt nosakāmo koncentrāciju. Šos paraugus apvienojot, tos var izmantot *BEQ* līmeņa aprēķināšanai testa paraugos (8.1.2.2. punkts).

8.3. **Robežvērtību noteikšana**

Jānoskaidro saistība starp bioanalīzes rezultātiem, izteiktiem ar *BEQ*, un *GC/HRMS* rezultātiem, izteiktiem ar *TEQ* (piemēram, veicot matricās saskaņotus kalibrēšanas eksperimentus ar standartparaugiem, kuros piesātinājuma koncentrācija ir 0, 0,5, 1 un 2 reizes lielāka par maksimālo pieļaujamo koncentrāciju (*ML*), ar 6 atkārtojumiem katrā koncentrācijas līmenī (n = 24)). Korekcijas koeficientus (tukšs paraugs un atgūstamība) var aprēķināt, pamatojoties uz šo saistību, taču katrā analīžu sērijā tā ir jāpārbauda, iekļaujot procedūru/matricu tukšos paraugus un atgūstamības paraugus (8.2. punkts).

Robežvērtības nosaka, lai varētu noteikt parauga atbilstību maksimālajai pieļaujamajai koncentrācijai vai nepieciešamības gadījumā veikt iedarbības koncentrācijas kontroli, attiecīgajai interesējošajai koncentrācijai esot noteiktai atsevišķi attiecībā uz *PCDD/F* un dioksīniem līdzīgiem *PCB* vai attiecībā uz *PCDD/F* un dioksīniem līdzīgu *PCB* summu. Tās reprezentē bioanalīzes rezultātu sadalījuma *zemākais* parametrs (koriģēts attiecībā uz tukšajiem paraugiem un atgūstamību) atbilstīgi *GC/HRMS* izšķiršanas robežai, pamatojoties uz 95 % augstu ticamības līmeni, kas nozīmē, ka šķietamās atbilstības attiecība ir mazāka par 5 %, un uz RSD_R, kurš ir mazāks par 25 %. *GC/HRMS* izšķiršanas robeža ir maksimālā pieļaujamā koncentrācija, ņemot vērā mērījuma neprecizitāti.

Praksē robežvērtību (izteiktu ar *BEQ*) var aprēķināt, piemērojot turpmāk izklāstītās pieejas (sk. 1. attēlu).

[1] Spēkā esošo prasību pamatā ir *TEF*, kas publicēta: *M. Van den Berg* un citi, *Toxicol. Sci.* 93 (2), 223.–241. lpp. (2006. gads).

8.3.1. 95 % prognozes intervāla *apakšējās* joslas izmantošana pie *GC/HRMS* izšķiršanas robežas

$$\text{Robežvērtība} = BEQ_{DL} - s_{y,x} * t_{\alpha,f=m-2}\sqrt{1/n + 1/m + (x_i - \bar{x})^2/Q_{xx.}}$$

kur:

BEQ_{DL} *BEQ*, kas atbilst *GC/HRMS* izšķiršanas robežai, kura ir *ML* ar vērā ņemtu mērījuma neprecizitāti,

$s_{y,x}$ atlikuma standartnovirze,

$t_{\alpha,f=m-2}$ studentu faktors (α = 5 %, f = brīvības pakāpes, vienpusējas),

m kalibrācijas punktu kopējais skaits (rādītājs j),

n atkārtojumu skaits katrā līmenī,

x_i *GC/HRMS* paraugu koncentrācija (izteikta ar *TEQ*) kalibrācijas punktam i,

$\bar{x}$ visu kalibrācijas paraugu koncentrācijas vērtību vidējā vērtība (izteikta ar *TEQ*),

$Q_{xx} = \sum_{j=1}^{m}(x_i - \bar{x})^2$ kvadrātu summas parametrs, i = kalibrācijas punkta i rādītājs.

8.3.2. Aprēķins, izmantojot bioanalīzes rezultātus (koriģētus attiecībā uz tukšajiem paraugiem un atgūstamību) no *GC/HRMS* izšķiršanas robežas līmenī piesārņotu paraugu vairākkārtīgas analīzes (n ≥ 6), kā datu sadalījuma *apakšējais* parametrs pie atbilstošās vidējās *BEQ* vērtības:

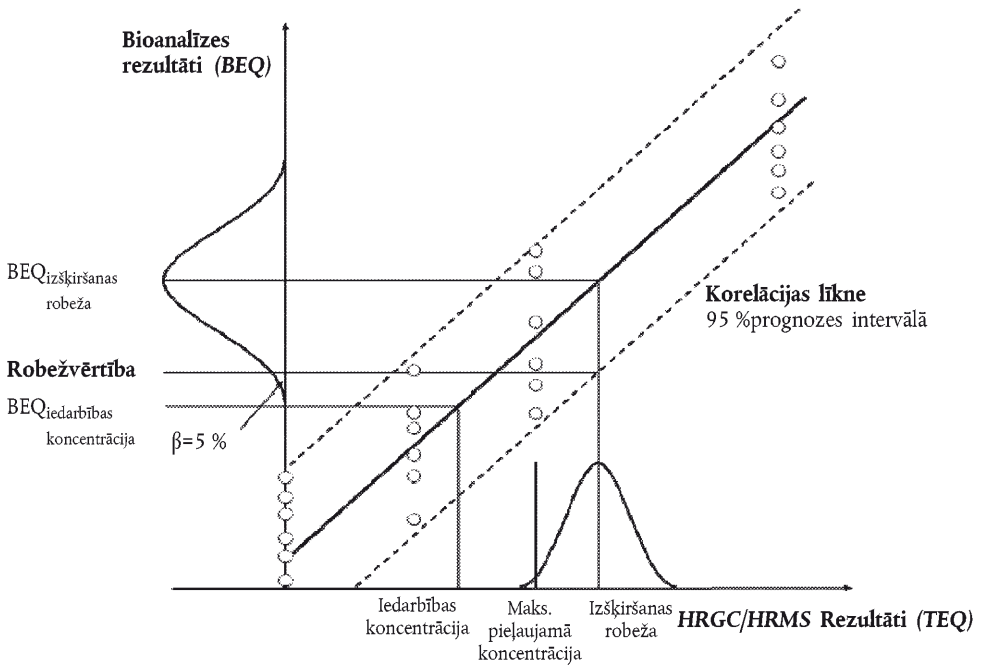
$$\text{robežvērtība} = BEQ_{DL} - 1{,}64 \times SD_R,$$

kur:

SD_R biotesta rezultātu standartnovirze pie BEQ_{DL}, mērīta laboratorijas reproducējamības apstākļos.

8.3.3. Aprēķins kā tādu bioanalīzes rezultātu (izteiktu ar *BEQ*, koriģētu attiecībā uz tukšajiem paraugiem un atgūstamību) vidējā vērtība, kas iegūti tādu paraugu vairākkārtīgā analīzē (n ≥ 6), kuru piesārņojums ir 2/3 no interesējošās koncentrācijas. Tā pamatā ir novērojums, ka šāda koncentrācija aptuveni atbildīs robežvērtībai, kas noteikta saskaņā ar 8.3.1. vai 8.3.2. punktu.

1. attēls



Robežvērtību aprēķins, pamatojoties uz 95 % augstu ticamības līmeni, kas nozīmē, ka šķietamās atbilstības attiecība ir mazāka par 5 %, un uz RSD_R, mazāku par 25 %: 1. no 95 % prognozes intervāla *apakšējās* joslas pie *HRGC/HRMS* izšķiršanas robežas, 2. no tādu paraugu vairākkārtīgas analīzes (n ≥ 6), kas piesārņoti *HRGC/HRMS* izšķiršanas robežas līmenī, kā datu sadalījuma zemākais parametrs (attēlots ar zvana formas līkni 1. attēlā) pie atbilstošās vidējās *BEQ* vērtības.

8.3.4. *Robežvērtību ierobežojumi*

Uz *BEQ* balstītas robežvērtības, kuru aprēķināšanai izmantots RSD_R, kas iegūts apstiprināšanā, izmantojot ierobežotu paraugu skaitu ar atšķirīgu matricu / radniecīgām struktūrām, var būt augstākas par interesējošo koncentrāciju, kura balstīta uz *TEQ*, ņemot vērā, ka ir iespējams iegūt augstāku precizitāti salīdzinājumā ar regulārajiem pasākumiem, kad jāpārbauda nezināms iespējamo radniecīgo struktūru spektrs. Šādos gadījumos robežvērtības aprēķina, pamatojoties uz RSD_R = 25 %, vai izvēlas divas trešdaļas no interesējošās koncentrācijas.

8.4. **Veiktspējas raksturlielumi**

— Tā kā bioanalīzes metodēs nav iespējams izmantot iekšējos standartus, tad, lai noteiktu rezultātu standartnovirzi vienā analīžu sērijā un starp analīžu sērijām, ir jāveic atkārtojamības testi. Atkārtojamībai jābūt zemākai par 20 %, bet reproducējamībai laboratorijā – zemākai par 25 %. Tam jābūt balstītam uz aprēķinātajiem līmeņiem bioanalīzes ekvivalentos pēc tukšo paraugu un atgūstamības koriģēšanas.

— Apstiprināšanas procesā jāparāda, ka tests spēj izšķirt starp tukšu paraugu un robežvērtībai atbilstošu līmeni, ļaujot veikt visu to paraugu identifikāciju, kas pārsniedz atbilstīgo robežvērtību (sk. 8.1.2. punktu).

— Jādefinē nosakāmie savienojumi, iespējamie traucējumi un maksimālās pieļaujamās tukšo paraugu koncentrācijas vērtības.

— Procentuālā standartnovirze signālā vai koncentrācijā, kas aprēķināta, pamatojoties uz parauga ekstrakta trīskāršā kvantitatīvajā noteikšanā iegūtu signālu (iespējams vienīgi darbības diapazonā), nedrīkst pārsniegt 15 %.

— Standartparauga(-u) nekoriģētos rezultātus, izteiktus ar *BEQ* (tukšais paraugs un interesējošā koncentrācija), izmanto bioanalīzes metodes veiktspējas novērtēšanā konstantā laika posmā.

— Jāizveido un jāpārbauda procedūru tukšo paraugu un katra standartparauga veida kvalitātes kontroles grafiki, lai pārliecinātos, ka analītiskā veiktspēja atbilst prasībām, jo īpaši procedūras tukšo paraugu gadījumā attiecībā uz noteikto minimālo atšķirību no darbības diapazona lejasgala vērtības un standartparaugu gadījumā – attiecībā uz reproducējamību laboratorijā. Procedūru tukšie paraugi ir pienācīgi jākontrolē, lai novērstu šķietami atbilstošus rezultātus, kad tiek veikta atņemšana.

— Rezultāti, kas iegūti aizdomīgo paraugu *GC/HRMS* analīzē, un 2–10 % no atbilstošajiem paraugiem (vismaz 20 paraugi katrā matricā) ir jāapkopo un jāizmanto, lai novērtētu skrīninga metodes veiktspēju un *BEQ* un *TEQ* savstarpējo saistību. Šo datubāzi varētu izmantot to robežvērtību atkārtotai novērtēšanai, ko piemēro attiecībā uz regulārajiem paraugiem apstiprinātajās matricās.

— Sekmīgu metodes veiktspēju arī ir iespējams pierādīt, piedaloties starplaboratoriju salīdzinošajā testēšanā. Rezultātus, kas iegūti no starplaboratoriju salīdzinošajā testēšanā analizētajiem paraugiem un aptver koncentrācijas diapazonu līdz, piemēram, 2 × *ML* līmenim, var iekļaut arī šķietamās atbilstības attiecības novērtējumā, ja laboratorija spēj pierādīt tās sekmīgo veiktspēju. Ar paraugiem ir jāaptver visbiežāk sastopamās radniecīgās struktūras no dažādiem avotiem.

— Incidentos robežvērtības var novērtēt atkārtoti, atspoguļojot konkrētā incidenta matricu un radniecīgās struktūras.

9. REZULTĀTU PAZIŅOŠANA

Apstiprinājuma metodes

— Ciktāl saskaņā ar izmantoto analīzes procedūru iespējams, analīžu rezultātos jānorāda atsevišķu *PCDD/F* un dioksīniem līdzīgu *PCB* radniecīgu vielu koncentrācija, norādot apakšējo, augšējo un vidējo robežu, lai ziņojumā iekļautu maksimāli daudz informācijas par rezultātiem un tādējādi dotu iespēju tos interpretēt saskaņā ar īpašām prasībām.

— Ziņojumā jānorāda arī izmantotā *PCDD/F*, dioksīniem līdzīgu *PCB* un lipīdu ekstrakcijas metode. Lipīdu saturu paraugā nosaka un paziņo attiecībā uz pārtikas paraugiem ar maksimālo pieļaujamo koncentrāciju vai iedarbības koncentrāciju, izsakot attiecībā pret tauku saturu, un paredzamo tauku koncentrāciju diapazonā 0–2 % (atbilstīgi spēkā esošajiem tiesību aktiem), bet citu paraugu gadījumā lipīdu satura noteikšana nav obligāta.

— Atsevišķu iekšējo standartu atgūstamība jānorāda, ja atgūstamība nav 7.2. punktā norādītajās robežās, ir pārsniegta maksimāli pieļaujamā koncentrācija, kā arī citos gadījumos pēc pieprasījuma.

— Tā kā, lemjot par parauga atbilstību, ir jāņem vērā mērījumu neprecizitāte, ir jāsniedz arī šis rādītājs. Tādējādi analīzes rezultāti jāpaziņo kā x +/– U, kur x ir analīzes rezultāti un U ir paplašinātā mērījuma neprecizitāte, izmantojot koeficientu 2, kas dod aptuveni 95 % ticamības pakāpi. Ja *PCDD/F* un dioksīniem līdzīgus *PCB* nosaka atsevišķi, atsevišķo *PCDD/F* un dioksīniem līdzīgu *PCB* analīžu rezultātu aprēķinātā izvērstās nenoteiktības summa ir jāizmanto kā *PCDD/F* un dioksīniem līdzīgu *PCB* summa.

— Ja, piemērojot CCα (kā aprakstīts II pielikuma IV.2. punktā), tiek ņemta vērā mērījumu neprecizitāte, ir jāpaziņo arī šis rādītājs.

— Rezultāti jāizteic tādās pašās vienībās un ar (vismaz) tādu pašu nozīmīgu rādītāju skaitu kā maksimālā robeža, kas noteikta Regulā (EK) Nr. 1881/2006.

Bioanalīzes skrīninga metodes

— Skrīninga rezultāti ir jāizsaka kā atbilstoši rezultāti vai kā tādi rezultāti, attiecībā uz kuriem pastāv aizdomas par neatbilstību ("aizdomīgie rezultāti").

— Turklāt attiecībā uz *PCDD/F* un/vai dioksīniem līdzīgiem *PCB* var sniegt bioanalīzes ekvivalentos (*BEQ*) (nevis *TEQ*) izteiktus rezultātus (sk. III pielikuma 2. punktu).

— Ja attiecībā uz aprēķināto *BEQ* līmeni mērījumu neprecizitāte tiek norādīta kā, piemēram, standartnovirze, tai jābūt balstītai uz vismaz trīskāršu parauga analīzi (tostarp ekstrakciju, attīrīšanu un testa signāla noteikšanu).

— Paraugus, kuru signālu vērtība ir zemāka par ziņošanas robežu, izsaka kā tādus, kas ir zemāki par ziņošanas robežu.

— Attiecībā uz katru parauga matricas veidu ziņojumā ir jānorāda novērtējuma pamatā esošā interesējošā koncentrācija (maksimālā pieļaujamā koncentrācija, iedarbības koncentrācija).

— Ziņojumā norāda izmantotā testa veidu, galveno testa principu un kalibrēšanas veidu.

— Ziņojumā norāda arī izmantotā *PCDD/F*, dioksīniem līdzīgu *PCB* un lipīdu ekstrakcijas metodi. Lipīdu saturu paraugā nosaka un paziņo attiecībā uz pārtikas paraugiem ar maksimālo pieļaujamo koncentrāciju vai iedarbības koncentrāciju, izsakot attiecībā pret tauku saturu, un paredzamo tauku koncentrāciju diapazonā 0–2 % (atbilstīgi spēkā esošajiem tiesību aktiem), bet citu paraugu gadījumā lipīdu satura noteikšana nav obligāta.

III PIELIKUMA papildinājums

PVO *TEF* tabula, lai novērtētu cilvēku apdraudējumu, pamatojoties uz Pasaules Veselības organizācijas secinājumiem Starptautiskās ķīmiskās drošības programmas (*IPCS*) ekspertu sanāksmē, kas notika Ženēvā 2005. gada jūnijā (*Martin van den Berg* un citi, *The 2005 World Health Organization Re-evaluation of Human and Mammalian Toxic Equivalency Factors for Dioxins and Dioxin-like Compounds*. *Toxicological Sciences* 93(2), 223.–241. lpp. (2006. gads))

Radniecīgā viela	*TEF* vērtība	Radniecīgā viela	*TEF* vērtība
Dibenzo-p-dioksīni (*PCDD*)		**"Dioksīniem līdzīgi" *PCB*: neorto *PCB* + mono-orto *PCB***	
2,3,7,8-*TCDD*	1		
1,2,3,7,8-*PeCDD*	1	*Neorto PCB*	
1,2,3,4,7,8-*HxCDD*	0,1	*PCB* 77	0,0001
1,2,3,6,7,8-*HxCDD*	0,1	*PCB* 81	0,0003
1,2,3,7,8,9-*HxCDD*	0,1	*PCB* 126	0,1
1,2,3,4,6,7,8-*HpCDD*	0,01	*PCB* 169	0,03
OCDD	0,0003		
Dibenzofurāni (*PCDF*)		*Mono-orto PCB*	
2,3,7,8-*TCDF*	0,1	*PCB* 105	0,00003
1,2,3,7,8-*PeCDF*	0,03	*PCB* 114	0,00003
2,3,4,7,8-*PeCDF*	0,3	*PCB* 118	0,00003
1,2,3,4,7,8-*HxCDF*	0,1	*PCB* 123	0,00003
1,2,3,6,7,8-*HxCDF*	0,1	*PCB* 156	0,00003
1,2,3,7,8,9-*HxCDF*	0,1	*PCB* 157	0,00003
2,3,4,6,7,8-*HxCDF*	0,1	*PCB* 167	0,00003
1,2,3,4,6,7,8-*HpCDF*	0,01	*PCB* 189	0,00003
1,2,3,4,7,8,9-*HpCDF*	0,01		
OCDF	0,0003		

Lietotie saīsinājumi: "*T*" = tetra; "*Pe*" = penta; "*Hx*" = heksa; "*Hp*" = hepta; "*O*" = okta; "*CDD*" = hlordibenzodioksīns; "*CDF*" = hlordibenzofurāns; "*CB*" = hlorbifenils.

IV PIELIKUMS

Paraugu gatavošana un prasības attiecībā uz analīzes metodēm, ko izmanto tādu *PCB* koncentrācijas oficiālai kontrolei konkrētos pārtikas produktos, kuri nav līdzīgi dioksīniem (*PCB* # 28, 52, 101, 138, 153, 180)

1. **Piemērojamās noteikšanas metodes**

Gāzes hromatogrāfija / elektronu satveres detektors (*GC/ECD*), *GC/LRMS*, *GC/MS-MS*, *GC/HRMS* vai līdzvērtīgas metodes.

2. **Nosakāmo vielu identifikācija un apstiprināšana**

— Relatīvais aiztures laiks attiecībā uz iekšējiem standartiem vai atsauces standartiem (pieļaujamā novirze +/– 0,25 %).

— Visu sešu indikatoru *PCB* (*PCB* 28, *PCB* 52, *PCB* 101, *PCB* 138, *PCB* 153 un *PCB* 180) atdalīšana gāzu hromatogrāfijā no traucējošajām vielām, jo īpaši no vienlaikus eluējošajiem *PCB*, it īpaši tad, ja paraugu koncentrācijas vērtības ietilpst atļauto robežu diapazonā un ir jāapstiprina neatbilstība.

Piezīme. Radniecīgās vielas, kas bieži vien eluē vienlaikus, ir, piemēram, *PCB* 28/31, *PCB* 52/69 un *PCB* 138/163/164. *GC/MS* gadījumā ir jāapsver arī iespējamie traucējumi, ko var radīt augstāk hloratvasinātas radniecīgās vielas.

— *GC/MS* paņēmieni

— Kontrolēt vismaz:

— divus konkrētus jonus *HRMS* gadījumā,

— divus konkrētus jonus, kam m/z > 200, vai trīs konkrētus jonus, kuriem m/z > 100, *LRMS* gadījumā,

— 1 prekursoru un 2 produkta jonus *MS-MS* gadījumā.

— Maksimālās atļautās pielaides satura attiecībai atlasītajiem masas fragmentiem

Atlasīto masas fragmentu satura attiecības relatīvā novirze no teorētiskās satura attiecības vai kalibrācijas standarta mērķa jonam (visizplatītākajam novērotajam jonam) un kvalifikatoram(-iem) jonam(-iem)

Kvalifikatora(-u) jona(-u) relatīvā intensitāte salīdzinājumā ar mērķa jonu	GC-EI-MS (relatīvā novirze)	GC-CI-MS, GC-MS^n (relatīvā novirze)
> 50 %	± 10 %	± 20 %
> 20–50 %	± 15 %	± 25 %
> 10–20 %	± 20 %	± 30 %
≤ 10 %	± 50 % (*)	± 50 % (*)

(*) Pieejams pietiekams masas fragmentu skaits ar relatīvo intensitāti > 10 %, tāpēc nav ieteicams izmantot kvalifikatoru(-us) jonu(-us) ar relatīvo intensitāti, kas par 10 % zemāka nekā mērķa jonam.

— *GC/ECD* gadījumā

To rezultātu apstiprinājums, kuri pārsniedz pielaidi ar divām *GC* ailēm ar atšķirīgas polaritātes nekustīgajām fāzēm.

3. **Metodes veiktspējas demonstrējums**

Apstiprinājums interesējošās koncentrācijas diapazonā (0,5–2 reizes vairāk par interesējošo koncentrāciju) ar pieņemamu variāciju koeficientu atkārtotai analīzei (prasības, ko piemēro attiecībā uz starpprecizitāti, sk. 8. punktā).

4. **Kvantitatīvās noteikšanas robeža**

Tukšā parauga vērtības nedrīkst būt augstākas par 30 % no piesārņojuma līmeņa, kas atbilst maksimālajai pieļaujamajai koncentrācijai ([1]).

5. **Kvalitātes kontrole**

Regulāra tukšo paraugu kontrole, piesātināto paraugu analīze, kvalitātes kontroles paraugi, līdzdalība attiecīgajām matricām veltītos starplaboratoriju pētījumos.

([1]) Ļoti ieteicams, lai reaģenta tukšā parauga koncentrācijas daļa parauga piesārņojuma koncentrācijā būtu iespējami zemāka. Laboratorija ir atbildīga par tukšā parauga koncentrācijas vērtību maiņas kontroli, jo īpaši, ja tukšā parauga koncentrācijas vērtības tiek atskaitītas.

6. **Atgūstamības kontrole**

— Izmantot piemērotus iekšējos standartus ar fizikāli ķīmiskām īpašībām, kas ir salīdzināmas ar nosakāmajām vielām.

— Iekšējo standartu pievienošana:

  — pievienošana produktiem (pirms ekstrakcijas un attīrīšanas procesa),

  — pievienošanu iespējams veikt arī ekstrahētajiem taukiem (pirms attīrīšanas procesa), ja maksimālā pieļaujamā koncentrācija izteikta uz tauku bāzes.

— Prasības metodēm, kurās izmanto visas sešas ar izotopiem marķētas indikatoram *PCB* radniecīgās vielas:

  — rezultātu korekcija iekšējo standartu atgūstamībai,

  — ar izotopiem marķētu iekšējo standartu vispāratzīta atgūstamība ir diapazonā no 50 % līdz 120 %,

  — zemāka vai augstāka atgūstamība atsevišķām radniecīgām vielām, kuru veidotā daļa sešu indikatoru *PCB* summā ir mazāka par 10 %, ir pieņemama.

— Prasības metodēm, kurās neizmanto visus sešus ar izotopiem marķētos iekšējos standartus vai izmanto citus iekšējos standartus:

  — iekšējā(-o) standarta(-u) atgūstamības kontrole katra parauga gadījumā,

  — 60–120 % liela iekšējā(-o) standarta(-u) atgūstamība ir pieņemama,

  — rezultātu korekcija iekšējo standartu atgūstamībai.

— Nemarķēto radniecīgo vielu atgūstamību pārbauda, izmantojot piesātinātos paraugus vai kvalitātes kontroles paraugus, kuru koncentrācijas vērtības ietilpst interesējošās koncentrācijas diapazonā. Attiecībā uz šīm radniecīgajām vielām ir pieņemama 70–120 % liela atgūstamība.

7. **Prasības laboratorijām**

Lai garantētu, ka laboratorijas izmanto kvalitātes sistēmu analītisko rezultātu kvalitātes nodrošināšanai, saskaņā ar Regulas (EK) Nr. 882/2004 noteikumiem tās jāakreditē atzītā iestādē, kas darbojas saskaņā ar *ISO Guide 58*. Laboratorijas akreditē atbilstīgi EN ISO/IEC 17025 standartam.

8. **Veiktspējas raksturlielumi – kritēriji sešu indikatoru *PCB* summai interesējošajā koncentrācijā**

Ticamība	no – 30 līdz + 30 %
Starpprecizitāte (*RSD* %)	≤ 20 %
Atšķirība starp aprēķināto augšējo robežu un apakšējo robežu	≤ 20 %

9. **Rezultātu paziņošana**

— Ciktāl saskaņā ar izmantoto analīzes procedūru iespējams, analīžu rezultātos jānorāda atsevišķu *PCB* radniecīgo vielu koncentrācija, norādot apakšējo, augšējo un vidējo robežu, lai ziņojumā iekļautu maksimāli daudz informācijas par rezultātiem un tādējādi dotu iespēju tos interpretēt saskaņā ar īpašām prasībām.

— Ziņojumā jānorāda arī izmantotā *PCB* un lipīdu ekstrakcijas metode. Lipīdu saturu paraugā nosaka un paziņo attiecībā uz pārtikas paraugiem ar maksimālo pieļaujamo koncentrāciju, izsakot attiecībā pret tauku saturu, un paredzamo tauku koncentrāciju diapazonā 0–2 % (atbilstīgi spēkā esošajiem tiesību aktiem), bet citu paraugu gadījumā lipīdu satura noteikšana nav obligāta.

— Atsevišķu iekšējo standartu atgūstamība jānorāda, ja atgūstamība nav 6. punktā norādītajās robežās, ir pārsniegta maksimāli pieļaujamā koncentrācija, kā arī citos gadījumos pēc pieprasījuma.

— Tā kā, lemjot par parauga atbilstību, ir jāņem vērā mērījumu neprecizitāte, ir jāsniedz arī šis rādītājs. Tādējādi analīzes rezultāti jāpaziņo kā x +/– U, kur x ir analīzes rezultāti un U ir paplašinātā mērījuma neprecizitāte, izmantojot koeficientu 2, kas dod aptuveni 95 % ticamības pakāpi.

— Ja, piemērojot CCα (kā aprakstīts II pielikuma IV.1. punktā), tiek ņemta vērā mērījumu neprecizitāte, ir jāpaziņo arī šis rādītājs.

— Rezultāti jāizsaka tādās pašās vienībās un ar (vismaz) tādu pašu nozīmīgu rādītāju skaitu kā maksimālā robeža, kas noteikta Regulā (EK) Nr. 1881/2006.