II

(Незаконодателни актове)

РЕГЛАМЕНТИ

РЕГЛАМЕНТ (ЕС) № 252/2012 НА КОМИСИЯТА

от 21 март 2012 година

за определяне на методи за вземане на проби и анализ за целите на официалния контрол на съдържанието на диоксини, диоксиноподобни полихлорирани бифенили (PCB) и недиоксиноподобни PCB в определени храни, и за отмяна на Регламент (ЕО) № 1883/2006

(текст от значение за ЕИП)

ЕВРОПЕЙСКАТА КОМИСИЯ,

като взе предвид Договора за функционирането на Европейския съюз,

като взе предвид Регламент (ЕО) № 882/2004 на Европейския парламент и на Съвета от 29 април 2004 г. относно официалния контрол, провеждан с цел осигуряване на проверка на съответствието със законодателството в областта на фуражите и храните и правилата за опазване здравето на животните и хуманното отношение към животните ([1]), и по-специално член 11, параграф 4 от него,

като има предвид, че:

(1) В Регламент (ЕО) № 1881/2006 на Комисията от 19 декември 2006 г. за определяне на максимално допустимите количества на някои замърсители в храните ([2]) са установени максимално допустими количества за недиоксиноподобни PCB, диоксини и фурани, както и за сумата от диоксини, фурани и диоксиноподобни PCB в определени храни.

(2) В Препоръка на Комисията 2011/516/ЕС от 23 август 2011 г. за намаляване на наличието на диоксини, фурани и ПХБ във фуражите и храните ([3]) се установяват нива на действия с цел да се насърчи действеният подход за намаляване наличието на полихлорирани дибензо-парадиоксини и полихлорирани дибензофурани (PCDD/PCDF), както и диоксиноподобни PCB в храните. Тези нива на действия са инструмент за компетентните органи и операторите, с който се подчертават онези случаи, в които е подходящо да се идентифицира източник на замърсяване и да се предприемат мерки за неговото намаляване или отстраняване.

(3) В Регламент (ЕО) № 1883/2006 на Комисията от 19 декември 2006 г. за определяне на методи за вземане на проби и методи за анализ за целите на официалния контрол за съдържание на диоксини и диоксиноподобни полихлорирани бифенили (PCB) в определени храни ([4]) са установени специфични разпоредби относно процедурата на вземане на проби и методите за анализ, които се прилагат за целите на официалния контрол.

(4) Необходими са съществени изменения с оглед прилагането по отношение на недиоксиноподобните PCB на нови максимално допустими количества, установени в резултат на изготвеното от Европейския орган за безопасност на храните (ЕОБХ) научно становище относно недиоксиноподобните PCB, както и относно хармонизацията на равнището на Съюза, а също и с оглед актуализирането на критериите за скрининг методите. Следователно за по-голяма яснота е целесъобразно Регламент (ЕО) № 1883/2006 да бъде заменен с настоящия регламент.

(5) Разпоредбите в настоящия регламент се отнасят само до вземането на проби и анализа на диоксини, диоксиноподобни PCB и недиоксиноподобни PCB за целите на прилагането на Регламент (ЕО) № 1881/2006. Те не засягат нито стратегията на вземане на проби, нито нивата и честотата на вземане на проби, определени в приложения III и IV към Директива 96/23/ЕО на Съвета от 29 април 1996 г. относно мерките за наблюдение и контрол на някои вещества и на остатъчни количества от тях в живи животни и в продукти от животински произход, и за отмяна на Директива 85/358/ЕИО и Директива 86/469/ЕИО, както и на Решение 89/187/ЕИО и Решение 91/664/ЕИО ([5]). Посочените разпоредби не засягат критериите, свързани с ориентираното към целта вземане на проби, определени в Решение 98/179/ЕО на Комисията от 23 февруари 1998 г. за определяне на подробни правила за вземане на официални проби за мониторинга на определени вещества и остатъци от тях в живи животни и животински продукти ([6]).

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

(6) За идентифициране на проби със значителни количества на PCDD/PCDF и на диоксиноподобни PCB (за предпочитане е отсяване на проби, при които нивата на действия са надвишени, както и гарантирано отсяване на проби, при които са надвишени максимално допустимите количества) може да се използва скрининг метод за анализ, който е общопризнат и високоефективен. Необходимо е количеството на PCDD/PCDF и на диоксиноподобни PCB в тези проби да се определи с аналитичен метод за потвърждение. Поради това е целесъобразно по отношение на скрининг метода да бъдат установени подходящи изисквания, за да се гарантира, че делът на фалшивите резултати за съответствие спрямо максимално допустимите количества е под 5 %, а също и стриктни изисквания по отношение на аналитичните методи за потвърждение. Освен това методите за потвърждение позволяват определяне на съдържанието също и при ниските фонови нива. Това е важно за проследяването на тенденциите във времето, оценката на експозицията, както и за повторната оценка на максимално допустимите количества и на нивата на действия.

(7) При вземане на проби от много едри риби е необходимо вземането на пробите да бъде уточнено, за да се гарантира хармонизиран подход в целия Съюз.

(8) При риби от един и същи вид с произход от един и същи район, количеството на диоксини, диоксиноподобни PCB и недиоксиноподни PCB може да бъде различно в зависимост от размера и/или възрастта на рибата. Освен това количеството на диоксини, диоксиноподобни PCB и недиоксиноподни PCB не винаги е еднакво във всички части от рибата. Затова е необходимо вземането на проби и подготовката на пробите да бъдат уточнени, за да се гарантира хармонизиран подход в целия Съюз.

(9) Важно е резултатите от анализа да бъдат отчитани и тълкувани по единен начин, за да се гарантира хармонизиран подход към прилагане на законодателството в целия Съюз.

(10) Мерките, предвидени в настоящия регламент, са в съответствие със становището на Постоянния комитет по хранителната верига и здравето на животните и не бяха обект на възражение нито от страна на Европейския парламент, нито от страна на Съвета,

ПРИЕ НАСТОЯЩИЯ РЕГЛАМЕНТ:

Член 1

За целите на настоящия регламент се прилагат определенията и съкращенията, посочени в приложение I.

Член 2

Вземането на проби за целите на официалния контрол на съдържанието на диоксини, фурани, диоксиноподобни PCB и недиоксиноподобни PCB в храните, изброени в раздел 5 от приложението към Регламент (ЕО) № 1881/2006, се извършва в съответствие с определените в приложение II към настоящия регламент методи.

Член 3

Подготовката на пробите и анализът за целите на официалния контрол на съдържанието на диоксини, фурани и диоксиноподобни PCB в храните, изброени в раздел 5 от приложението към Регламент (ЕО) № 1881/2006, се извършва в съответствие с определените в приложение III към настоящия регламент методи.

Член 4

Анализите за целите на официалния контрол на съдържанието на недиоксиноподобни PCB в храните, изброени в раздел 5 от приложението към Регламент (ЕО) № 1881/2006, се извършва в съответствие с посочените в приложение IV към настоящия регламент изисквания за аналитични процедури.

Член 5

Регламент (ЕО) № 1883/2006 се отменя.

Позоваванията на отменения регламент се считат за позовавания на настоящия регламент.

Член 6

Настоящият регламент влиза в сила на двадесетия ден след публикуването му в *Официален вестник на Европейския съюз*.

Настоящият регламент се прилага от датата на влизането му в сила.

Настоящият регламент е задължителен в своята цялост и се прилага пряко във всички държави-членки.

Съставено в Брюксел на 21 март 2012 година.

За Комисията

Председател

José Manuel BARROSO

ПРИЛОЖЕНИЕ I

Определения и съкращения

I. ОПРЕДЕЛЕНИЯ

За целите на настоящия регламент се прилагат определенията, посочени в приложение I към Решение 2002/657/ЕО на Комисията от 14 август 2002 г. за прилагане на Директива 96/23/ЕО на Съвета по отношение изпълнението на аналитични методи и тълкуването на резултати [1].

Освен тези определения за целите на настоящия регламент се прилагат следните определения:

1.1. „Ниво на действия“ е нивото от дадено вещество, както е определено в приложението към Препоръка на Комисията 2011/516/ЕС, при което се налага провеждането на разследвания с цел устано вяване на източника на това вещество в случаите, в които са налице завишени количества от веществото.

1.2. „Биоаналитични методи“ са методи, които се основават на използването на биологични принципи като клетъчни анализи, рецепторни анализи или имуноанализи. Те не отчитат резултати на ниво конгенери, а само показват [2] нивото на токсичния еквивалент (TEQ), изразено в биоаналитични еквиваленти (BEQ), като потвърждават факта, че не всички съдържащи се в екстракта от проби съединения, които предизвикват отговор в изпитването, могат да се подчиняват на всички изисквания на принципа на TEQ.

1.3. „Експериментално измерен аналитичен добив при биоанализ“ е равнището на BEQ, изчислено от калибрационната крива на TCDD или на PCB 126, коригирано с резултатите от празната проба и след това разделено на стойността на TEQ, определена чрез GC/HRMS. Чрез него се цели коригиране на фактори като загуба на PCDD/PCDF и на диоксиноподобни съединения по време екстракцията и на пречистването, намаляване или увеличаване на отговора от успоредно извлечените съединения (агонистични и антагонистични ефекти), качество на съответствието на кривата или разлики между стойностите на TEF и на REP. Експериментално измереният аналитичен добив се изчислява от подходящи референтни проби с представителни модели на конгенери около нивото от значение.

1.4. „Полуколичествени методи“ са методи, които дават приблизителни данни за концентрацията на съответния аналит, като цифровият резултат не отговаря на изискванията за количествените методи.

1.5. „Приета специфична граница за количествено определяне на отделен конгенер“ е концентрацията на аналит в екстракта от проба, която предизвиква реакция от страна на техническото устройство за два различни йона, която трябва да се следи при съотношение S/N (сигнал/шум), равно на 3:1 за по-малко чувствителния сигнал, и при изпълнение на критериите за идентифициране, описани например в стандарт prEN 16215 (Фуражи. Определяне на диоксини и диоксиноподобни PCB чрез газова хроматография/масспектрометрия с висока разделителна способност (GC/HRMS) и на индикаторни PCB чрез GC/HRMS) и/или в метод EPA 1613, ревизия Б.

1.6. „Горна граница“ е принцип, който изисква използването на границата на количествено определяне за изчисляване на участието на всеки конгенер, който не е количествено определен.

1.7. „Долна граница“ е принцип, който изисква използването на стойност нула за изчисляване на участието на всеки конгенер, който не е количествено определен.

1.8. „Средна граница“ е принцип, който изисква използване на половината от границата на количествено определяне за изчисляване на участието на всеки конгенер, който не е количествено определен.

1.9. „Партида“ е определено количество от храна, която е доставена по едно и също време и за която от длъжностно лице са установени общи характеристики като произход, разновидност, вид на опаковката, пакетиращо предприятие, доставчик или маркировка. По отношение на рибите и рибните продукти се изисква също и сравнимост на размерите на отделните риби. В случаите, в които рибите от една пратка са с различен размер и/или тегло, пратката би могла да се приеме за една партида, но трябва да се приложи специфична процедура за вземане на проби.

1.10. „Подпартида“ е част от голяма партида, установена с оглед на прилагането на даден метод за вземане на проби върху тази избрана част. Всяка подпартида трябва да бъде физически обособена и точно определена.

1.11. „Точкова проба“ е количество материал, взет от едно и също място в партидата или подпартидата.

1.12. „Съставна проба“ е комбинираното общо количество от всички точкови проби, взети от партидата или подпартидата.

1.13. „Лабораторна проба“ е представителна част/количество от съставната проба, предназначено за лабораторията.

II. ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ

BEQ Биоаналитични еквиваленти

GC Газова хроматография

[1] ОВ L 221, 17.8.2002 г., стр. 8.

[2] Биоаналитичните методи не са характерни за конгенерите, които са включени в схемата за TEF (фактор за токсична еквивалентност). Други структурно свързани AhR-активни съединения могат да присъстват в екстракта от пробата, като допринасят за цялостния отговор. Следователно биоаналитичните резултати не могат да се разглеждат като оценка, а по-скоро като показател за стойността на TEQ в пробата.

HRMS	Масспектрометрия с висока разделителна способност
LRMS	Масспектрометрия с ниска разделителна способност
PCB	Полихлорирани бифенили
PCDD	Полихлорирани дибензо-р-диоксини
PCDF	Полихлорирани дибензофурани
КК	Контрол на качеството
REP	Относителен потенциал
TEF	Фактор за токсична еквивалентност
TEQ	Токсични еквиваленти
TCDD	Тетрахлордибензодиоксин
U	Разширена неопределеност на измерването

ПРИЛОЖЕНИЕ II

Методи за вземане на проби за целите на официалния контрол на съдържанието на диоксини (PCDD/PCDF), диоксиноподобни PCB и недиоксиноподобни PCB в определени храни

I. ОБХВАТ

Пробите, предназначени за официалния контрол на съдържанието на диоксини (PCDD/PCDF), диоксиноподобни PCB и недиоксиноподни PCB, наричани по-долу „диоксини и PCB“, в храните се вземат съгласно методите, описани в настоящото приложение. Така получените съставни проби се разглеждат като представителни за партидите или подпартидите, от които са взети. Съответствието с максимално допустимите количества, посочени в Регламент (ЕО) № 1881/2006 на Комисията за определяне на максимално допустимите количества на някои замърсители в храните, се определя въз основа на количествата, установени в лабораторните проби.

II. ОБЩИ РАЗПОРЕДБИ

1. **Персонал**

Пробите се вземат от упълномощено лице, посочено от държавата-членка.

2. **Материал, от който се вземат проби**

От всяка партида или подпартида, подлежаща на анализ, се вземат отделни проби.

3. **Необходими предпазни мерки**

При вземането на проби и подготовката на лабораторни проби се вземат предпазни мерки с цел недопускане на каквито и да е промени, които биха могли да окажат влияние върху съдържанието на диоксини и на PCB, да повлияят неблагоприятно върху аналитичното определяне или да направят съставните проби непредставителни.

4. **Точкови проби**

Доколкото е възможно, точковите проби се вземат от различни места, разпределени в рамките на цялата партида или подпартида. Всяко отклонение от тази процедура се отбелязва в протокола за вземане на проби съгласно точка II.8 от настоящото приложение.

5. **Подготовка на съставната проба**

Съставната проба се формира чрез обединяване на всички точкови проби. Тя трябва да тежи поне 1 kg, освен ако това е практически необосновано, например когато се взема образец от единична опаковка или когато продуктът има много висока търговска стойност.

6. **Идентични лабораторни проби**

От хомогенизираната съставна проба се вземат идентични проби за целите на официалния контрол, на защита или арбитраж, освен ако процедурата не противоречи на установените от държавите-членки правила относно правата на ръководителите на хранителните предприятия. Размерът на лабораторните проби за целите на официалния контрол трябва да бъде достатъчен, за да позволи провеждане на поне два анализа.

7. **Пакетиране и предаване на пробите**

Всяка проба се поставя в чист инертен съд, осигуряващ подходяща защита от замърсяване, от загуба на аналит вследствие на прилепване към вътрешната стена на съда, както и от повреда при транспортирането. По време на транспортиране или при съхранение се вземат всички необходими предпазни мерки за недопускане на промени в състава на пробите.

8. **Запечатване и маркиране на пробите**

Всяка проба, взета за официална употреба, се запечатва на мястото, където е взета, и се обозначава в съответствие с разпоредбите на държавите-членки.

За всяка проба се съхранява протокол за вземане на проби, който позволява всяка партида да бъде еднозначно идентифицирана и който съдържа датата и мястото на вземане на пробата, както и допълнителна информация, която може да бъде от полза за извършващия анализа.

III. ПЛАН ЗА ВЗЕМАНЕ НА ПРОБИТЕ

Прилаганият метод за вземане на проби трябва да гарантира, че съставната проба е представителна за партидата/подпартидата, подлежаща на контрол.

1. **Разделяне на партидите на подпартиди**

Големите партиди се разделят на подпартиди, при условие че подпартидата може да бъде физически отделена. За продуктите, продавани като големи пратки в насипно/наливно състояние (например растителни масла), се прилага таблица 1. За други продукти се прилага таблица 2. Като се има предвид, че теглото на партидата не винаги е точно кратно число на теглото на подпартидите, теглото на подпартидата може да надвишава посоченото тегло максимум с 20 %.

Таблица 1

Разделяне на партидите на подпартиди при продавани в насипно състояние продукти

Тегло на партидата (тон)	Тегло или брой на подпартидите
≥ 1 500	500 тона
> 300 и < 1 500	3 подпартиди
≥ 50 и ≤ 300	100 тона
< 50	—

Таблица 2

Разделяне на партидите на подпартиди при други продукти

Тегло на партидата (тон)	Тегло или брой на подпартидите
≥ 15	15 — 30 тона
< 15	—

2. **Брой точкови проби**

Теглото на съставната проба, обединяваща всички точкови проби, трябва да бъде най-малко 1 kg (вж. точка II.5 от настоящото приложение).

Минималният брой точкови проби, който трябва да се вземе от партидата или подпартидата, е посочен в таблици 3 и 4.

При продукти в наливно състояние непосредствено преди вземането на пробата ръчно или с механични средства партидата или подпартидата се смесва оптимално, без да се нарушава качеството на продукта. В този случай се приема, че замърсителите са разпределени равномерно в рамките на дадената партида или подпартида. Следователно за получаването на съставната проба е достатъчно да се вземат три точкови проби от дадена партида или подпартида.

Точковите проби трябва да бъдат със сходно тегло. Теглото на точковата проба трябва да бъде най-малко 100 g.

Всяко отклонение от тази процедура се отбелязва в протокола за вземане на проби, предвиден в точка II.8 от настоящото приложение. В съответствие с разпоредбите на Решение 97/747/ЕО на Комисията от 27 октомври 1997 г. за определяне на равнищата и честотата на вземане на проби, предвидени от Директива 96/23/ЕО на Съвета относно наблюдение на някои вещества и остатъци от тях в определени продукти от животински произход [1], размерът на съставната проба за яйца от кокошки е най-малко 12 яйца (за насипни партиди, както и за партиди, състоящи се от отделни опаковки, се прилагат таблици 3 и 4).

Таблица 3

Минимален брой точкови проби за вземане от една партида или подпартида

Тегло или обем на партидата/подпартидата (в кг или литри)	Минимален брой точкови проби за вземане
< 50	3
от 50 до 500	5
> 500	10

В случай че партидата или подпартидата се състои от отделни опаковки или единици от продукта, броят на опаковките или единиците, които трябва да се вземат за образуване на съставната проба, се определя съгласно таблица 4.

[1] ОВ L 303, 6.11.1997 г., стр. 12.

Таблица 4

Брой на опаковките или единиците от продукта (точкови проби), които се вземат за образуване на съставната проба, когато партидата или подпартидата се състои от отделни опаковки или единици от продукта

Брой опаковки или единици в партидата/подпартидата	Брой опаковки или единици за вземане
от 1 до 25	поне една опаковка или единица
от 26 до 100	около 5 %, поне 2 опаковки или единици
> 100	около 5 %, максимум 10 опаковки или единици

3. **Специфични разпоредби за вземане на проби от партиди, съдържащи цели риби, съпоставими по размер и тегло**

Смята се, че рибите са съпоставими по размер и тегло, в случай че разликата в размера и теглото им не е повече от около 50 %.

Броят точкови проби, които следва да се вземат от партидата, е посочен в таблица 3. Теглото на съставната проба, обединяваща всички точкови проби, трябва да бъде поне 1 kg (вж. точка II.5).

— В случай че партидата, от която ще бъдат взети проби, съдържа малки риби (отделни риби с тегло на една риба < около 1 kg), се приема, че една цяла риба представлява точкова проба за формиране на съставната проба. В случай че получената съставна проба тежи над 3 kg, точковите проби могат да се състоят от средната част, която следва да тежи поне 100 g, на формиращите съставната проба риби. Цялата част, за която се отнася максимално допустимото количество, се използва за хомогенизиране на пробата.

Средната част на рибата е мястото, където се намира центърът на тежестта. Това място е най-често при гръбната перка (в случай че рибата има гръбна перка) или по средата между хрилете и ануса.

— В случай че партидата, от която ще бъдат взети проби, съдържа по-големи риби (отделни риби с тегло на една риба над около 1 kg), точковата проба следва да се състои от средната част на рибата. Всяка точкова проба следва да тежи най-малко 100 g.

За риби със среден размер (около 1—6 kg) точковата проба се взема като парче от рибата, отрязано от гръбнака до корема в средната част на рибата.

За много едри риби (напр. > около 6 kg) точковата проба се взема от месото на страничния гръбен мускул, разположен от дясната страна (гледано отпред) в средната част на рибата. В случай че вземането на такова парче от средната част на рибата би довело до съществени икономически щети, вземането на поне три точкови проби с тегло поне 350 g за всяка проба може да се приеме като достатъчно, независимо от размера на партидата. Друг вариант е да се вземат равни части от мускулното месо близо до опашката и от мускулното месо близо главата на отделната риба, така че получената точкова проба да бъде представителна по отношение на съдържанието на диоксини в цялата риба.

4. **Вземане на проби от партиди, съдържащи цели риби с различни размери и/или тегло**

— По отношение на формирането на пробите се прилагат разпоредбите в точка III.3.

— Когато преобладават риби с определен размер или тегло (около 80 % или повече от партидата), пробата се взема от рибите с преобладаващия размер или тегло. Пробата се счита за представителна по отношение на цялата партида.

— Когато не преобладават риби с определен размер или тегло, трябва да се гарантира, че избраните за пробата риби са представителни по отношение на партидата. За такива случаи са предвидени специални указания в „Насоки относно вземането на проби от цели риби с различен размер и/или тегло“ ([2]).

5. **Вземане на проби при търговия с храни на дребно**

Проби от храни при търговия на дребно се вземат при възможност в съответствие с разпоредбите за вземане на проби, посочени в точка III.2 от настоящото приложение.

Когато това не е осъществимо, може да бъде приложен алтернативен метод за вземане на проби при търговия на дребно, при условие че такъв метод гарантира достатъчна представителност по отношение на партидата или подпартидата, от която са взети пробите.

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

IV. СЪОТВЕТСТВИЕ НА ПАРТИДАТА ИЛИ ПОДПАРТИДАТА СЪС СПЕЦИФИКАЦИЯТА

1. **Недиоксиноподобни PCB**

Партидата се приема, ако резултатът от анализа не надвишава максимално допустимото количество на недиоксиноподобни PCB, определено в Регламент (ЕО) № 1881/2006, като се отчита неопределеността на измерването.

Партидата не съответства на максимално допустимото количество, определено в Регламент (ЕО) № 1881/2006, ако горнограничният резултат от анализа, потвърден с повторен анализ ([3]), без съмнение надвишава максимално допустимото количество, като се отчита неопределеността на измерването.

Неопределеността на измерването може да се вземе предвид, като се приложи един от следните подходи:

— като се изчисли разширената неопределеност, използвайки фактор на покриване 2, който дава ниво на достоверност приблизително 95 %. Дадена партида или подпартида не съответства на разпоредбите, ако измерената стойност минус U е над установеното допустимо количество;

— като се установи критична граница (CCα) в съответствие с разпоредбите на Решение 2002/657/ЕО (точка 3.1.2.5 от приложение I към посоченото решение — при вещества с установена допустима граница). Партидата или подпартидата не отговаря на изискванията, ако измерената стойност е по-голяма или равна на CCα.

Посочените по-горе правила се прилагат по отношение на резултата, получен при анализа на пробата за целите на официалния контрол. При извършване на анализ с цел защита или за справка се прилагат националните правила.

2. **Диоксини (PCDD/PCDF) и диоксиноподобни PCB**

Партидата се приема, ако резултатът от еднократен анализ:

— извършен чрез скринингов метод с дял на фалшивите резултати за съответствие под 5 %, сочи, че нивото не надвишава съответното максимално допустимо количество на PCDD/PCDF, нито сумата от PCDD/PCDF и диоксиноподобните PCB, както е предвидено в Регламент (ЕО) № 1881/2006;

— извършен чрез метод за потвърждение, не надвишава съответното максимално допустимо количество на PCDD/PCDF, нито сумата от PCDD/PCDF и диоксиноподобните PCB, както е предвидено в Регламент (ЕО) № 1881/2006, като се отчита неопределеността на измерването.

При скрининг анализите трябва да се установят гранични стойности с оглед определянето на съответствието на пробата с нивата от значение, установени за PCDD/PCDF или за сумата от PCDD/PCDF и диоксиноподобните PCB.

Партидата не съответства на максимално допустимото количество, определено в Регламент (ЕО) № 1881/2006, ако горнограничният резултат от анализа, получен чрез метод за потвърждение и потвърден с повторен анализ ([3]), без съмнение надвишава максимално допустимото количество, като се отчита неопределеността на измерването.

Неопределеността на измерването може да се вземе предвид, като се приложи един от следните подходи:

— като се изчисли разширената неопределеност, използвайки фактор на покриване 2, който дава ниво на достоверност приблизително 95 %. Дадена партида или подпартида не съответства на разпоредбите, ако измерената стойност минус U е над установеното допустимо количество. В случай че PCDD/PCDF и диоксиноподобните PCB се определят поотделно, за разширената неопределеност на сумата от PCDD/PCDF и диоксиноподобните PCB се използва сумата от оценената разширена неопределеност на отделните резултати от анализа на PCDD/PCDF и на диоксиноподобните PCB;

— като се установи критична граница (CCα) в съответствие с разпоредбите на Решение 2002/657/ЕО (точка 3.1.2.5 от приложение I към посоченото решение — при вещества с установена допустима граница). Партидата или подпартидата не отговаря на изискванията, ако измерената стойност е по-голяма или равна на CCα.

Посочените по-горе правила се прилагат по отношение на резултата, получен при анализа на пробата за целите на официалния контрол. При извършване на анализ с цел защита или за справка се прилагат националните правила.

([3]) Повторният анализ е необходим, за да се изключи възможността от вътрешно кръстосано замърсяване или от случайно смесване на пробите. Първият анализ се използва за проверка на съответствието, като се отчита неопределеността на измерването. В случай че анализът се провежда в контекста на инцидент, при който е налице замърсяване, потвърждението чрез повторен анализ може да не се извършва, ако избраните за анализ проби могат да бъдат проследени и свързани с инцидента, при който е получено замърсяването.

V. НАДВИШАВАНЕ НА НИВАТА НА ДЕЙСТВИЯ

Нивата на действия са инструмент за отсяване на проби в случаите, в които е подходящо да се идентифицира източник на замърсяване и да се вземат мерки за неговото намаляване или отстраняване. Чрез скрининг методите трябва да се установят подходящи гранични стойности за отсяване на посочените проби. Мероприятията, необходими за идентифициране на източника или за намаляване или отстраняване на замърсяването, се извършват само ако надвишаването на нивата на действия се потвърди чрез повторен анализ при използване на метод за потвърждение и като се отчита неопределеността на измерването ([4]).

([4]) Обясненията и изискванията за повторен анализ за контрол на нивата за действия са същите като тези в бележка под линия 3 относно максимално допустимите количества.

ПРИЛОЖЕНИЕ III

Подготовка на пробите и изисквания към методите за анализ, използвани за целите на официалния контрол на съдържанието на диоксини (PCDD/PCDF) и на диоксиноподобни PCB в определени храни

1. ПРИЛОЖНО ПОЛЕ

Изискванията, изложени в настоящото приложение, се прилагат при анализа на храни за целите на официалния контрол на съдържанието на заместените на 2,3,7,8 позиция полихлорирани дибензо-р-диоксини и полихлорирани дибензофурани (PCDD/PCDF) и диоксиноподобни полихлорирани бифенили (диоксиноподобни PCB), както и за други регулаторни цели.

Наблюдението за наличие на PCDD/PCDF и на диоксиноподобни PCB в храните може да се извършва с две различни цели:

а) отсяване на пробите с нива на PCDD/PCDF и на диоксиноподобни PCB, които надвишават максимално допустимите количества или нивата на действия. Този подход може да включва скрининг метод, който позволява икономически целесъобразна обработка на голям брой проби, като по този начин се увеличава вероятността за откриване на нови инциденти с висока степен на изложеност и рискове за здравето на потребителите. Скрининг методите могат да включват биоаналитични методи и методи GC/MS. С прилагането им се цели избягване на фалшивите резултати за съответствие. Концентрацията на PCDD/PCDF и сумата от PCDD/PCDF и диоксиноподобните PCB в пробите със значителни количества трябва да бъдат определени/потвърдени чрез метод за потвърждение;

б) определяне на количествата на PCDD/PCDF и на диоксиноподобни PCB в проби от храни в обхвата на ниските фонови нива. Това е важно с оглед проследяването на тенденциите във времето, оценката на излагането на населението, както и създаването на база данни за евентуална повторна оценка на нивата на действия и на максимално допустимите количества. Тази цел се постига чрез методи за потвърждение, които позволяват еднозначното идентифициране и количествено определяне на PCDD/PCDF и диоксиноподобните PCB на нивото от значение. Посочените методи могат да се използват за потвърждаване на резултатите, получени чрез скрининг методи, както и за определяне на ниските фонови нива при наблюдението на храните. Те са важни също така за установяването на модели на конгенери с оглед идентифицирането на източника на евентуално замърсяване. Понастоящем при тези методи се използват газова хроматография с висока разделителна способност или масспектрометрия с висока разделителна способност (HRGC/HRMS).

2. КЛАСИФИЦИРАНЕ НА МЕТОДИТЕ СПОРЕД ТЯХНАТА СТЕПЕН НА КОЛИЧЕСТВЕНО ОПРЕДЕЛЯНЕ [1]

„Качествените методи“ показват дали аналитите от значение са налице, или не, без да предоставят количествени данни за концентрацията на предполагаемия аналит. Въпреки че биха могли потенциално да предоставят и полуколичествени резултати, тези методи се използват единствено за вземане на решение от вида „да/не“ като показател за нива над или под определени диапазони, например граница на откриване, граница на количествено определяне или гранични стойности.

За контрол на максимално допустимите количества и на нивата на действия относно PCDD/PCDF и диоксиноподобните съединения в храните могат да се прилагат скрининг методи, които се основават на сравнение на резултата от анализа с граничната стойност и които дават отговор от вида „да/не“, като показват евентуалното надвишаване на нивото от значение. За тази цел бяха въведени биоаналитичните методи. Като цяло могат да бъдат разработени също и физикохимични методи; що се отнася обаче до максимално допустимите количества и нивата на действия на база TEQ, както и до сложния анализ, при който се изисква определяне на съответните отделни конгенери, не съществуват практически примери.

„Полуколичествените методи“ показват приблизително концентрацията, което може да представлява полезна информация относно диапазона на концентрацията на аналита, а също да бъде от полза и за извършващия анализа при вземането на решение относно калибрационния обхват на теста за потвърждение, който да бъде извършен впоследствие, както и за целите на контрола на качеството. Някои примери включват:

— биоаналитични методи, които позволяват откриване на аналитите от значение, включват калибрационна крива, дават отговор от типа „да/не“ относно евентуалното надвишаване на нивото от значение и позволяват отчитане на резултата под формата на биоаналитични еквиваленти (BEQ), като показват стойността на TEQ в пробата;

— физикохимичен тест (например GC-MS/MS или GC/LRMS), при който измерените характеристики за прецизност на метода не отговарят на изискванията за количествените тестове.

[1] Адаптирани към PCDD/Fs и диоксиноподобни съединения съгласно „Насоки за валидиране на скрининг методи за остатъчни вещества от ветеринарни лекарствени продукти“, Референтни лаборатории на ЕС за остатъчни вещества от ветеринарни лекарствени продукти и замърсители в храните от животински произход във Фужер, Берлин и Билтховен, 20.1.2010 г., http://ec.europa.eu/food/food/chemicalsafety/residues/lab_analysis_en.htm

„Количествените методи“ отговарят на същите изисквания за точност, динамичен обхват и прецизност като тестовете за потвърждение. Когато се изисква количествено определяне, тези методи трябва да бъдат валидирани като методи за потвърждение, както е описано в настоящия документ по отношение на PCDD/PCDF и на диоксиноподобните PCB.

3. КОНТЕКСТ

За да се изчислят концентрациите на токсичните еквиваленти (TEQ), концентрациите на отделните вещества в дадена проба се умножават по съответния им фактор за токсична еквивалентност (TEF), установен от Световната здравна организация и включен в допълнението към настоящото приложение, и след това се сумират, за да се получи общата концентрация на диоксиноподобните съединения, изразени като токсични еквиваленти (TEQ).

Скрининг методите и методите за потвърждение могат да се използват за контрол на определена матрица само ако са достатъчно чувствителни с оглед надеждното откриване на количества на нивото от значение (нивото на действия или максимално допустимото количество).

4. ИЗИСКВАНИЯ ЗА ОСИГУРЯВАНЕ НА КАЧЕСТВОТО

— Трябва да се вземат мерки за избягване на кръстосано замърсяване на всеки етап от процедурата за вземане на проби и от анализа.

— Пробите се съхраняват и транспортират в контейнери от стъкло, алуминий, полипропилен или полиетилен, подходящи за съхранение без да се оказва никакво влияние върху нивата на PCDD/PCDF и диоксиноподобните PCB в пробите. От контейнера за съхранение на пробата се премахват следите от хартиен прах.

— Съхранението и транспортирането на пробите се извършват по начин, при който се запазва целостта на пробата от храна.

— Доколкото е уместно, всяка лабораторна проба се смила фино и се смесва оптимално чрез използване на процес, с който е доказано, че се постига пълно хомогенизиране (например смилане, което позволява преминаване през сито с размер на отворите 1 mm); пробите се изсушават преди смилането, ако съдържанието на влага в тях е твърде високо.

— Важно е да се осъществява контрол на реагентите, лабораторната стъклария и оборудването от гледна точка на възможното им влияние върху резултатите на база TEQ или BEQ.

— Анализ на празна проба се извършва, като се изпълнява цялата аналитична процедура и се пропуска единствено пробата.

— При биоаналитичните методи е от изключително значение цялата стъклария и разтворителите, използвани в анализа, да преминат изпитвания за отсъствие на съединения, които интерферират при откриването на целевите съединения в работния обхват. Стъкларията се изплаква с разтворители и/или се загрява до температури, подходящи за отстраняване на следи от PCDD/PCDF, диоксиноподобни и интерфериращи съединения от нейната повърхност.

— Количеството на пробата, използвано за екстракцията, трябва да бъде достатъчно, за да отговаря на изискванията за достатъчно нисък работен обхват, включително концентрациите от значение.

— Специфичните процедури за подготовка на пробите, използвани при разглежданите продукти, се основават на международно приетите насоки.

— При рибите кожата трябва да се отстрани, тъй като максимално допустимото количество се отнася за мускулното месо без кожата. Необходимо е обаче останалото мускулно месо, както и мастната тъкан от вътрешната страна на кожата внимателно и изцяло да се отделят от кожата и да се добавят към пробата за анализ.

5. ИЗИСКВАНИЯ КЪМ ЛАБОРАТОРИИТЕ

— В съответствие с разпоредбите на Регламент (ЕО) № 882/2004 лабораториите трябва да бъдат акредитирани от признат орган, действащ в съответствие с Ръководство 58 на ISO, с цел да се гарантира осигуряване на качество при анализите. Лабораториите трябва да бъдат акредитирани в съответствие със стандарт EN ISO/IEC 17025.

— Компетентността на лабораторията трябва да бъде доказана чрез постоянно успешно участие в междулабораторни изследвания за определяне на PCDD/PCDF и диоксиноподобни PCB в съответните матрици от храни и диапазони на концентрация.

— Лабораториите, които прилагат скрининг методи за рутинен контрол на пробите, трябва да установяват тясно сътрудничество с лаборатории, прилагащи метода за потвърждение, както за целите на контрола на качеството, така и за потвърждаване на аналитичния резултат за проби, за които съществува съмнение за несъответствие.

6. ОСНОВНИ ИЗИСКВАНИЯ, НА КОИТО ТРЯБВА ДА ОТГОВАРЯ АНАЛИТИЧНАТА ПРОЦЕДУРА ЗА ДИОКСИНИ (PCDD/PCDF) И ДИОКСИНОПОДОБНИ PCB

6.1. **Нисък работен обхват и граници за количествено определяне**

— За PCDD/PCDF количествата, подлежащи на откриване, трябва да бъдат в горната граница на фемтограма (10^{-15} g) поради изключително високата токсичност на някои от тези съединения. За повечето конгенери на PCB е достатъчна граница на количествено определяне от порядъка на нанограма (10^{-9} g). Въпреки това за измерването на по-токсичните диоксиноподобни конгенери на PCB (и по-специално не-ортозаместените) долната граница на работния обхват трябва да достига до ниските стойности от порядъка на пикограма (10^{-12} g).

6.2. **Висока избирателност (специфичност)**

— Необходимо е разграничаване между PCDD/PCDF и диоксиноподобните PCB и множество други налични съвместно екстрахирани и вероятно интерфериращи съединения, чиито концентрации са до няколко степени по-високи от тези на аналитите от значение. При методите газова хроматография/масспектрометрия (GC/MS) е необходимо разграничаване между различните конгенери, например между токсичните конгенери (напр. седемнадесетте заместени на 2,3,7,8 позиция PCDD/PCDF и дванадесетте диоксиноподобни PCB) и други видове конгенери.

— Биоаналитичните методи трябва да позволяват откриването на целевите съединения като сумата на PCDD/PCDF и/или диоксиноподобните PCB. С пречистването на пробите се цели отстраняване на съединения, предизвикващи фалшиви резултати за несъответствие или на съединения, които могат да доведат до понижаване на отговора, като предизвикат фалшиви резултати за съответствие.

6.3. **Висока точност (истинност и прецизност, експериментално измерен аналитичен добив при биоанализ)**

— При методите GC/MS определянето трябва да даде валидна оценка за истинската концентрация в дадена проба. Високата степен на точност (точност на измерването: близостта на съответствие на резултата от измерването с истинската или приписваната стойност на измерваното количество) е необходима, за да се избегне отхвърляне на резултата от анализа на дадена проба поради ниска степен на надеждност на определеното ниво на TEQ. Точността се изразява като „истинност“ (разликата между средноаритметичната стойност, измерена за даден аналит в сертифициран материал, и неговата стойност по сертификат, изразена като процент от тази стойност) и „прецизност“ (относително стандартно отклонение RSD_R, изчислено от резултати, получени при условия на възпроизводимост).

— За биоаналитичните методи трябва да се определи експериментално измереният аналитичен добив при биоанализ.

6.4. **Валидиране в обхвата на нивото от значение и общи мерки за контрол на качеството**

— По време на процедурата за валидиране и/или по време на рутинните анализи лабораториите трябва да докажат ефективността на даден метод в диапазона на нивото от значение, например на нива 0,5, 1 и 2 пъти по-високи от нивото от значение при приемлив коефициент на вариация за повтарящи се анализи.

— Като вътрешни мерки за контрол на качеството трябва да се извършват редовни изпитвания на празни проби и експерименти с добавка на референтен материал или анализи на контролни проби (за предпочитане е сертифициран референтен материал, ако е наличен). С цел да се гарантира, че анализите се извършват в съответствие с изискванията, диаграмите за контрола на качеството (КК) за изпитванията на празни проби, експериментите с добавка на референтен материал или анализа на контролните проби трябва да се регистрират и проверяват.

6.5. **Граница на количествено определяне (LOQ)**

— За биоаналитичните скрининг методи установяването на LOQ не е задължително изискване, но трябва да бъде доказано, че методът може да разграничи стойността при празна проба и граничната стойност. При представяне на нивото на BEQ трябва да се установи равнище на отчитане за обработването на проби, чийто отговор е под това равнище. Равнището на отчитане трябва доказано да се различава най-малко три пъти от равнището при процедурите с празни проби, като отговорът е под работния обхват. Следователно това равнище се изчислява от проби, в които целевите съединения се съдържат на равнище около изискваното минимално ниво, а не от съотношението S/N или от аналитична празна проба.

— При методите за потвърждение границата на количествено определяне (LOQ) трябва да бъде около 1/5 от нивото от значение.

6.6. **Аналитични критерии**

— За постигане на надеждни резултати чрез методите за потвърждение или за скрининг трябва да бъдат изпълнени следните критерии по отношение на стойността на TEQ и съответно на BEQ, независимо дали е определена като общ TEQ (като сума от PCDD/PCDF и диоксиноподобните PCB), или поотделно за PCDD/PCDF и за диоксиноподобните PCB.

	Скрининг чрез биоаналитични или физикохимични методи	Методи за потвърждение
Дял на фалшивите резултати за съответствие (*)	< 5%	
Истинност		от – 20 % до + 20 %
Повторяемост (RSD_r)	< 20%	
Вътрешнолабораторна възпроизводимост (RSD_R)	< 25%	< 15%

(*) спрямо максимално допустимите количества

6.7. **Специфични изисквания относно скрининг методите**

— За целите на скрининга могат да се използват както GC/MS, така и биоаналитични методи. По отношение на методите GC/MS се прилагат изискванията, посочени в точка 7 от настоящото приложение. Специфичните изисквания по отношение на клетъчните биоаналитични методи са изложени в т. 8 от настоящото приложение.

— Лабораториите, които прилагат скринингметоди за рутинен контрол на пробите, трябва да установят тясно сътрудничество с лаборатории, които прилагат метода за потвърждение.

— По време на рутинните анализи се изисква проверка на ефективността на скрининг метода чрез аналитичен контрол на качеството и текущо валидиране на метода. Необходима е непрекъсната програма за контрол на резултатите, които отговарят на изискванията.

— *Проверка за възможно потискане на клетъчния отговор и цитотоксичност*

20 % от екстрактите от проби трябва да бъдат измерени при рутинен скрининг без и със добавяне на 2,3,7,8-TCDD в съответствие с нивото от значение с цел да се провери дали е възможно отговорът да е потиснат от интерфериращите вещества, намиращи се в екстракта от пробата. Измерената концентрация на пробата с добавен референтен материал се сравнява със сумата от концентрацията на екстракта без добавка плюс концентрацията на добавката. Ако тази измерена концентрация е над 25 %, по-ниска от изчислената (сумарната) концентрация, това е показател за потенциално потискане на сигнала и съответната проба трябва да бъде подложена на анализ за потвърждаване чрез GC/HRMS. Резултатите трябва да се наблюдават посредством диаграми за контрол на качеството.

— *Контрол на качеството на проби, съответстващи на изискванията*

В зависимост от матричната проба и опита на лабораторията приблизително между 2 и 10 % от пробите, които съответстват на изискванията, трябва да бъдат потвърдени чрез GC/HRMS.

— *Определяне на дела на фалшивите резултати за съответствие въз основа на данните от КК*

Определя се делът на фалшивите резултати за съответствие при скрининг на проби под и над максимално допустимото количество или нивото на действия. Действителният дял на фалшивите резултати на съответствие трябва да бъде под 5 %.

След като от контрола на качеството на съответстващите проби бъдат получени минимум 20 потвърдени резултата за всяка матрица/група матрици, въз основа на тази база данни се правят заключения относно дела на фалшивите резултати на съответствие. Резултатите от проби с диапазон на концентрацията например до 2 пъти максимално допустимото количество, анализирани при кръгови изследвания или при инциденти със замърсяване, също могат да бъдат включени в минимума от 20 резултата за оценка на дела на фалшивите резултати на съответствие. Пробите трябва да обхващат най-често срещаните модели на конгенери, които представляват различни източници.

Въпреки че целта на скрининг анализите трябва да бъде преди всичко откриването на проби, в които са надвишени нивата на действия, критерият за определяне на дела на фалшивите резултати за съответствие е максимално допустимото количество, като се отчита неопределеността на измерването на метода за потвърждение.

— Потенциалните резултати на несъответствие, получени при скрининга, винаги трябва да се проверяват чрез аналитичен метод за потвърждение (GC/HRMS). Тези проби могат да бъдат използвани също така за оценка на дела на фалшивите резултати за несъответствие. При скрининг методите делът на „фалшивите резултати за несъответствие“ е частта от резултатите, потвърдени като съответстващи чрез потвърдителен анализ с GC/HRMS, като при предишен скрининг за пробата са били установени съмнения за несъответствие. Оценката обаче на **ползата** от скрининг метода трябва да се основава на сравнение на пробите с фалшиво несъответствие с общия брой на проверените проби. Това съотношение трябва да бъде достатъчно ниско, за да може използването на скрининг метода да бъде от полза.

— Биоаналитичните методи трябва да предоставят валидна индикация за равнището на TEQ, изчислено и изразено като BEQ, поне при валидирането.

— Освен това при биоаналитичните методи, прилагани в условия на повторяемост, вътрешнолабораторното RSD_r обикновено е по-малко от RSD_R в условия на възпроизводимост.

7. СПЕЦИФИЧНИ ИЗИСКВАНИЯ КЪМ МЕТОДИТЕ GC/MS, КОИТО ТРЯБВА БЪДАТ ИЗПЪЛНЕНИ ЗА ЦЕЛИТЕ НА СКРИНИНГА ИЛИ ПОТВЪРЖДЕНИЕТО

7.1. **Общи изисквания**

— Разликата между горната и долната граница не трябва да надвишава 20 % за храните със замърсяване около 1 pg WHO-TEQ/g мазнини (на база сумата от PCDD/PCDF и диоксиноподобните PCB). За храните с ниско съдържание на мазнини трябва да се прилагат същите изисквания за нива на замърсяване от около 1 pg WHO-TEQ/g продукт. За по-ниски нива на замърсяване, например 0,5 pg WHO-TEQ/g продукт, разликата между горната и долната граница може да бъде в интервала от 25 % до 40 %.

7.2. **Контрол на възстановяването**

— За да се валидира аналитичната процедура, още в самото начало на аналитичния метод, например преди фазата на екстракция, трябва да се добавят вътрешни стандарти за PCDD/ PCDF, маркирани с ^{13}C и заместени с хлор на 2, 3, 7 и 8 позиции, както и вътрешни стандарти за диоксиноподобни PCB, маркирани с ^{13}C. Трябва да се добави най-малко един конгенер за всяка от тетра- до октахлорираните хомоложни групи за PCDD/PCDF и най-малко един конгенер за всяка от хомоложните групи за диоксиноподобните PCB (или най-малко един конгенер за всяка избрана йонозаписваща функция при масспектрометрията за наблюдение на PCDD/PCDF и диоксиноподобни PCBs). При методите за потвърждение се използват всички седемнадесет вътрешни стандарта за PCDD/PCDF, маркирани с ^{13}C и заместени на 2,3,7,8- позиции, и всички дванадесет вътрешни стандарта за диоксиноподобни PCB, маркирани с ^{13}C.

— За конгенерите, за които не се добавя маркиран с ^{13}C аналог, също трябва да се определят относителните фактори на отговор чрез използване на подходящи калибриращи разтвори.

— За храни от растителен произход и храни от животински произход със съдържание на мазнини под 10 % добавянето на вътрешните стандарти трябва задължително да се извърши преди екстракцията. За храни от животински произход със съдържание на мазнини над 10 % вътрешните стандарти могат да се добавят както преди, така и след екстракцията на мазнините. Ефикасността на екстракцията трябва да бъде валидирана по подходящ начин в зависимост от етапа, на който са били добавени вътрешните стандарти, и от това дали резултатите са били отчетени за продукта или на база мазнини.

— Преди анализа с GC/MS се прибавят един или два стандарта за възстановяване (сурогат).

— Необходимо е да се извършва контрол на възстановяването. При методите за потвърждение стойностите на възстановяването за отделните вътрешни стандарти трябва да бъдат в интервала от 60 % до 120 %. Допустими са по-ниски или по-високи проценти на възстановяване за отделни конгенери, по-специално определени хепта- и октахлорирани дибензо-p-диоксини и дибензофурани, при условие че участието им в стойността на TEQ не надхвърля 10 % от общата стойност на TEQ (на база сумата от PCDD/PCDF и диоксиноподобните PCB). За скрининг методите чрез GC/MS процентите на възстановяването трябва да бъдат в интервала от 30 % до 140 %.

7.3. **Отстраняване на интерфериращи вещества**

— Отделянето на PCDD/PCDF от интерфериращите хлорирани съединения като недиоксиноподобни PCB и хлорирани дифенилови етери се извършва чрез подходящи хроматографски техники (за предпочитане с флоризилова, алуминиева и/или въглеродна колона).

— Отделянето на изомерите чрез газова хроматография трябва да бъде достатъчно (< 25 % от пик до пик между 1,2,3,4,7,8-HxCDF и 1,2,3,6,7,8-HxCDF).

7.4. **Калибриране чрез стандартна крива**

— Обхватът на калибрационната крива трябва да покрива съответния диапазон на нивата от значение.

8. СПЕЦИФИЧНИ ИЗИСКВАНИЯ ПО ОТНОШЕНИЕ НА БИОАНАЛИТИЧНИТЕ МЕТОДИ

Биоаналитичните методи са методи, основани на използването на биологични принципи като клетъчни анализи, рецепторни анализи или имуноанализи. В настоящата точка 8 се установяват изискванията по отношение на биоаналитичните методи като цяло.

По принцип при скрининг метода дадена проба се класифицира като съответстваща проба или като проба, за която има съмнение за несъответствие. За тази цел изчисленото равнище на BEQ се сравнява с граничната стойност (вж. точка 8.3). Пробите със стойност под граничната се определят като съответстващи, а за пробите със стойност, равна на граничната или над нея, има съмнение за несъответствие и се налага анализ чрез метод за потвърждение. На практика равнище на BEQ, което отговаря на 2/3 от максимално допустимото количество, може да послужи като най-подходящата гранична стойност, осигуряваща дял на фалшивите резултати за съответствие под 5 % и приемлив дял на резултатите за фалшиво несъответствие. При различни максимално допустими количества за PCDD/PCDF и за сумата от PCDD/PCDF и диоксиноподобните PCB проверката на съответствието на проби без разделяне на части изисква биоанализът да има подходящи гранични стойности за PCDD/PCDF. За проверка на проби, при които са надвишени нивата на действия, като гранична стойност би могъл да се използва подходящ процент от съответното ниво от значение.

Освен това при някои биоаналитични методи може да се определи ориентировъчно ниво, изразено в BEQ, за проби в рамките на работния обхват, които превишават границата на отчитане (вж. точки 8.1.1 и 8.1.6).

8.1. **Оценка на отговора на теста**

8.1.1. *Общи изисквания*

— При изчисляване на концентрациите от калибрационна крива за TCDD, стойностите в ниската и високата част на кривата ще показват висока вариация (висок коефициент на вариация (CV). Работният обхват е областта, в която CV е под 15 %. В допълнение, долната граница на работния обхват (границата на отчитане) трябва да бъде зададена значително (поне 3 пъти) над равнището при процедурите с празни проби. Горната границата на работния обхват обикновено се представя чрез стойност EC_{70} (70 % от максималната ефективна концентрация), но с по-ниска стойност, ако в този интервал CV е над 15 %. Работният обхват трябва да се определи по време на валидирането. Граничните стойности (вж. точка 8.3) трябва задължително да бъдат в рамките на работния обхват.

— За стандартните разтвори и екстрактите от проби се провеждат поне два анализа. При повторните анализи стандартният разтвор или контролният екстракт, тествани в 4 до 6 ямки, разпределени върху лабораторната плака, дават отговор или концентрация (възможно само в рамките на работния обхват) на база CV < 15 %.

8.1.2. *Калибриране*

8.1.2.1. Калибриране чрез стандартна крива

— Нивата в пробите могат да бъдат оценени чрез сравняване на отговора на теста с калибрационна крива на TCDD (или PCB 126 или стандартна смес от PCDD/F/диоксиноподобни PCB), за да се изчисли нивото на BEQ в екстракта, а след това и в пробата.

— Калибрационните криви трябва да съдържат 8 до 12 концентрации (поне при повторните анализи) с достатъчно концентрации в долната част на кривата (работния обхват). Трябва да се обърне специално внимание на качеството на съответствието на кривата спрямо работния обхват. При оценката на степента на съответствие при нелинейна регресия стойността R^2 като такава има малко или никакво значение. По-голямо съответствие се постига чрез свеждане до минимум на разликата между изчислените и наблюдаваните нива в работния обхват на кривата (например чрез свеждане до минимум на сбора от квадратите на остатъците).

— Впоследствие оцененото ниво в екстракта от пробата се коригира за равнището на BEQ, изчислено за матрица/празна проба разтворител (за да се вземат предвид онечистванията от използваните разтворители и химикали), както и за експериментално измерения аналитичен добив (изчислено от равнището на BEQ на подходящи референтни проби с представителни модели на конгенера около нивото от значение). За извършване на корекция за възстановяване, експерименталното измерения аналитичен добив трябва да бъде винаги в рамките на необходимия обхват (вж. точка 8.1.4.). Референтните проби, които се използват за корекция за възстановяване, следва да отговарят на изискванията, посочени в точка 8.2.

8.1.2.2. Калибриране с референтни проби

Като алтернатива може да бъде използвана калибрационна крива, съставена въз основа на поне 4 референтни проби (вж. точка 8.2: една празна проба от матрица плюс три референтни проби със стойност 0,5, 1,0 и 2,0 пъти стойността на нивото от значение) около нивото от значение, като така не се налага корекция за празна проба и за възстановяване. В този случай отговорът на теста, съответстващ на 2/3 от максимално допустимото количество (вж. точка 8.3), може да бъде изчислен пряко от тези проби и да бъде използван като гранична стойност. За гранична стойност при проверката на пробите, които надвишават нивата на действия, би могъл да се използва подходящ процент от тези нива на действия.

8.1.3. *Отделно определяне на PCDD/PCDF и диоксиноподобните PCB*

Екстрактите могат да бъдат разделени на части, съдържащи PCDD/PCDF и диоксиноподобни PCB, което позволява отчитане на равнищата на TEQ (изразени като BEQ) поотделно за PCDD/PCDF и за диоксиноподобните PCB. За предпочитане е да се използва калибрационна крива със стандарт PCB 126 при оценката на резултатите за частта, която съдържа диоксиноподобни PCB.

8.1.4. *Експериментално измерени аналитични добиви при биоанализ*

Експерименталното измереният аналитичен добив при биоанализ се изчислява от подходящи референтни проби с представителни модели на конгенери около нивото от значение и се изразява като процент от равнището на BEQ спрямо равнището на TEQ. В зависимост от вида на анализа и на използваните TEF ([1]), разликите между факторите TEF и REP за диоксиноподобните PCB могат да доведат до ниски експериментално измерени аналитични добиви за диоксиноподобните PCB в сравнение с PCDD/PCDF. Следователно, ако се извършва отделно определяне на PPCDD/PCDF и на диоксиноподобните PCB, експерименталното измереният аналитичен добив при биоанализ е: за диоксиноподобни PCB — от 25 % до 60 %, за PCDD/PCDF — от 50% до 130% (интервалите се прилагат за калибрационната крива за TCDD). Тъй като делът на диоксиноподобните PCB в сумата от PCDD/PCDF и диоксиноподобни PCB може да варира между различните матрици и проби, експерименталното измереният аналитичен добив при биоанализ за параметъра на сумата отразява тези разлики и трябва да бъде между 30 % и 130 %.

8.1.5. *Контрол на възстановяването при пречистване*

— Загубата на съединения по време на пречистването трябва да бъде проверена при валидирането. Празна проба, към която е добавена смес от различните конгенери, се подлага на пречистване (най-малко n = 3), а възстановяването и вариациите се проверяват чрез GC/HRMS анализ. Възстановяването трябва да бъде между 60 % и 120 % особено за конгенери, чийто дял в равнището на TEQ в различни смеси е над 10 %.

8.1.6. *Граница на отчитане*

— При отчитане на равнищата на BEQ границата на отчитане се определя от съответните матрични проби, които включват типични модели на конгенери, а не от калибрационната крива на стандартите поради ниската прецизност в долната част на кривата. Трябва да се вземе предвид въздействието на екстракцията и на пречистването. Границата на отчитане следва бъде установена доста над равнището при процедурите с празни проби (поне три пъти над него).

8.2. **Използване на референтни проби**

— Референтните проби представляват матрични проби, модели на конгенери и интервали на концентрация за PCDD/PCDF и диоксиноподобни PCB около нивото от значение (максимално допустимото количество или нивата на действия).

— Във всяка серия от изпитвания следва да бъде включена процедура с празна проба, или за предпочитане празна проба от матрица, както и референтна проба със стойност на нивото от значение. Тези проби се подлагат на екстракция и се тестват по едно и също време при еднакви условия. Референтната проба следва да покаже много по-ясен отговор в сравнение с празната проба, като по този начин се гарантира пригодността на изпитването. Тези проби могат да се използват за корекция за празна проба и за възстановяване.

— Референтните проби, които са избрани за корекция за възстановяване, трябва да бъдат представителни по отношение на пробите за изпитване, което означава, че моделите на конгенерите не трябва да водят до подценяване на нивата.

— При контрола на нивото от значение могат да се включат допълнителни референтни проби със стойности например 0,5 и 2 пъти стойността на нивото от значение с цел установяване ефективността на изпитването в интервала от значение. Съчетани, тези проби могат да се използват за изчисляване на равнищата на BEQ в пробите за изпитване (вж. точка 8.1.2.2).

8.3. **Определяне на гранични стойности**

Трябва да се установи връзка между биоаналитичните резултати, изразени в BEQ и резултатите от GC/HRMS, изразени в TEQ (например чрез калибрационни ескперименти, при които се отчита влиянието на матрицата върху калибрационните прави и които включват референтни проби с добавка 0, 0,5, 1 и 2 пъти максимално допустимото количество с 6 повторения на всяко ниво (n = 24). Факторите за корекция (за празна проба и за възстановяване) могат да бъдат оценени въз основа на посочената връзка, но те трябва да бъдат проверявани при всяка серия от изпитвания чрез включване на процедура с празни проби или празна проба от матрица, както и проби за възстановяване (вж. точка 8.2).

Граничните стойности се установяват с оглед взимане на решение за съответствието на пробите спрямо максимално допустимите количества или за контрол на нивата на действия, ако е необходимо, като съответните нива от значение се задават или по отделно за PCDD/PCDF и за диоксиноподобните PCB, или за сумата от PCDD/PCDF и диоксиноподобните PCB. Тези стойности са представени чрез *долната* крайна точка на разпределението на биоаналитичните резултати (коригирани за празна проба и за възстановяване), съответстваща на критичната граница при GC/HRMS въз основа на 95-процентно равнище на достоверност, което предполага процент на фалшивите резултати за съответствие < 5 %, и при RSD_R < 25 %. Критичната граница при GC/HRMS е максимално допустимото количество, като се отчита неопределеността на измерването.

На практика граничната стойност (изразена в BEQ) може да бъде изчислена, като се приложат следните подходи (вж. графика 1):

([1]) Настоящите изисквания се базират на TEF, публикувани в: M. Van den Berg et al, Toxicol Sci 93 (2), 223–241 (2006).

8.3.1. Използване на *долната* граница на 95-процентния интервал на предвиждане при критична граница при GC/HRMS

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

където:

BEQ_{DL} BEQ съответства на критичната граница при GC/HRMS, която представлява максимално допустимото количество при отчитане на неопределеността на измерването

$s_{y,x}$ остатъчно стандартно отклонение

$t_{\alpha,f=m-2}$ коефициент на Стюдънт (α = 5 %, f = степени на свобода, едностранни)

m общ брой калибрационни точки (индекс j)

n брой повторения на всяко ниво

x_i GC/HRMS концентрация на пробата (изразена в TEQ) на калибрационна точка i

$\bar{x}$ средна стойност на концентрациите (изразена в TEQ) на всички калибрационни проби

$Q_{xx} = \sum_{j=1}^{m}(x_i - \bar{x})^2$ параметър за сумата на квадрат, i = индекс за калибрационна точка i

8.3.2. Изчисляване въз основа на биоаналитични резултати (коригирани за празна проба и за възстановяване) от множество анализи на проби (n≥6), замърсени на нивото на критичната граница при GC/HRMS, като *долна* крайна точка на разпределението на данните при съответната осреднена стойност на BEQ:

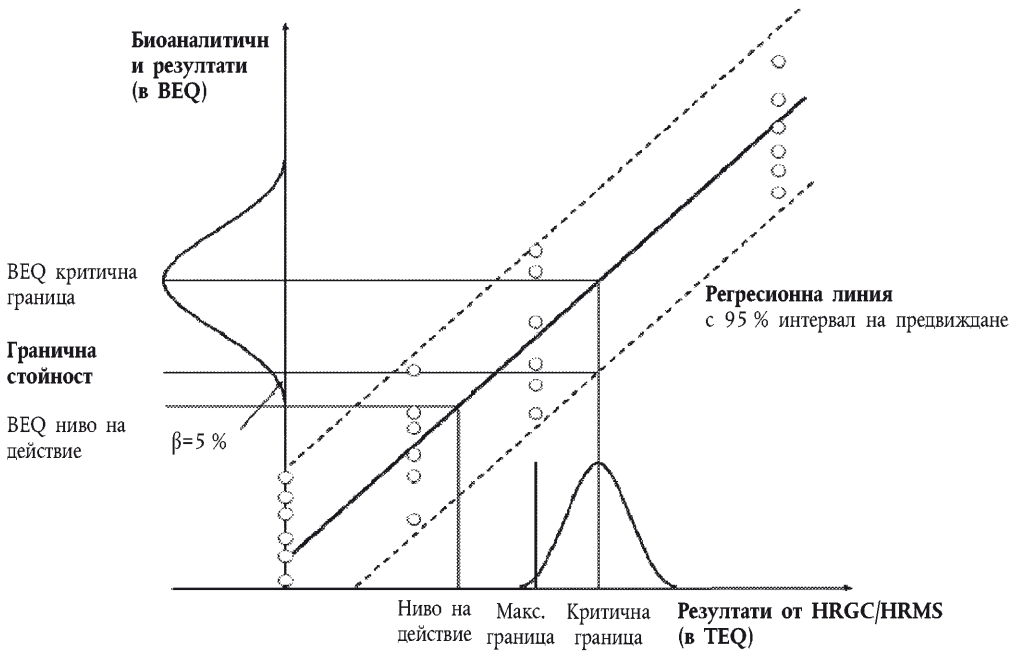
$$\text{Гранична стойност} = BEQ_{DL} - 1{,}64 \times SD_R$$

където:

SD_R стандартно отклонение на резултатите на биоанализа при BEQ_{DL}, измерено в условия на вътрешнолабораторна възпроизводимост

8.3.3. Изчисляване като средна стойност на биоаналитични резултати (изразени в BEQ, коригирани за празна проба и за възстановяване) от множество анализи на проби (n≥6), замърсени на ниво 2/3 от нивото от значение, като се има предвид наблюдението, че това ниво ще бъде около граничната стойност, определена съгласно точка 8.3.1 или 8.3.2.

Графика 1



Изчисляване на гранични стойности въз основа на 95-процентно равнище на достоверност, при което делът на фалшивите резултати на съответствие е < 5 %, а RSD_R е < 25 %: 1. от *долната* граница на 95-процентния интервал на предвиждане при критичната граница при HRGC/HRMS, 2. от множество анализи на проби ($n \geq 6$), замърсени на нивото на критичната граница при HRGC/HRMS като *долна* крайна точка на разпространението на данните (представено на графиката като крива във форма на камбана) при съответната осреднена стойност на BEQ.

8.3.4. *Ограничения за граничните стойности:*

Граничните стойности на база BEQ, които са изчислени от RSD_R, постигнато по време на валидирането при използване на ограничен брой проби с различни модели на матриците/конгенерите, могат да бъдат по-високи от нивата от значение на база TEQ поради по-голямата прецизност в сравнение с постиганата при рутинни условия, при които трябва да се контролира неизвестен спектър от възможни модели на конгенери. В такива случаи граничните стойности се изчисляват при RSD_R, което е равно на 25 % или, за предпочитане — на две трети от нивото от значение.

8.4. **Характеристики за ефективност**

— Тъй като при биоаналитичните методи не могат да се използват вътрешни стандарти, за да се получат данни за стандартното отклонение в рамките на изпитванията и между различните серии изпитвания, се извършват тестове за повторяемост. Повторяемостта трябва да бъде под 20 %, а вътрешнолабораторната възпроизводимост — под 25 %. Това се базира на изчислените като BEQ нива след корекция за празна проба и за възстановяване.

— Като част от процеса на валидиране трябва да се докаже, че чрез теста се постига разграничаване между празна проба и ниво, равно на граничната стойност, което позволява да се идентифицират пробите над съответната гранична стойност (вж. точка 8.1.2).

— Трябва да бъдат определени целевите съединения, възможните интерференции, както и максимално допустимите количества в празната проба.

— Процентното стандартно отклонение в отговора или в концентрацията, изчислена от отговора (възможно само в работния обхват) при трикратно определяне на екстракт от проба, не трябва да надхвърля 15 %.

— Некоригираните резултати от референтната/референтните проба/проби, изразени в BEQ (празна проба и ниво от значение), се използват за оценка на ефективността на биоаналитичния метод спрямо постоянен период от време.

— За да се гарантира, че анализите се провеждат в съответствие с изискванията, се регистрират и проверяват диаграми за контрол на качеството (КК) за процедурите с празни проби, както и за всеки вид референтна проба; за процедурите с празни проби по-специално това се извършва по отношение на изискваната минимална разлика спрямо ниската част на работния обхват, а за референтните проби — по отношение на вътрешнолабораторната възпроизводимост. Процедурите с празни проби трябва да бъдат контролирани стриктно, за да се избегнат фалшиви резултати за съответствие при приспадането.

— Резултатите от анализите чрез GC/HRMS на проби, за които има съмнение за несъответствие, както и на 2 % — 10 % от съответстващите на изискванията проби (минимум 20 проби за матрица) се събират и се използват за оценка на ефективността на скрининг метода и на връзката между BEQ и TEQ. Тази база данни може да бъде използвана за повторна оценка на граничните стойности, които се прилагат при рутинните проби за валидираните матрици.

— Ефикасността на метода може да бъде доказана също и чрез участие в кръгови изпитвания. Резултатите от пробите с концентрация например до 2 пъти максимално допустимото количество, анализирани при кръговите изпитвания, също могат да бъдат включени при оценяването на дела на фалшивите резултати за съответствие, ако лабораторията докаже своята ефективност. Пробите трябва да обхващат най-често срещаните модели на конгенери, които представляват различни източници.

— При инциденти граничните стойности могат да бъдат подлагани на повторна оценка, която да отрази специфичната матрица и модела на конгенера при конкретния инцидент.

9. ПРЕДСТАВЯНЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ

Методи за потвърждение

— Доколкото аналитичната процедура позволява, резултатите от анализа трябва да включват количествата на отделните конгенери на PCDD/PCDF и на диоксиноподобните PCB, както и да бъдат представени като долна граница, горна граница и средна граница с цел при представянето им да бъде включена възможно най-много информация, което ще позволи тълкуването им в съответствие със специфични изисквания.

— Отчетът включва също така информация за метода, използван при екстракцията на PCDD/PCDF, диоксиноподобни PCB и мазнини. Съдържанието на мазнини в пробата се определя и представя за проби от храни, за които има установени максимално допустими количества или нива на действия, изразени на база мазнини, и при които очакваната концентрация е между 0 % и 2 % (в съответствие с действащото законодателство); за други видове проби определянето на съдържанието на мазнини не е задължително.

— Данните за възстановяването за отделните вътрешни стандарти трябва да бъдат представени в случаите, в които възстановяването е извън обхвата, посочен в точка 7.2, когато максимално допустимото количество е надвишено или в други случаи при поискване.

— Тъй като при решението за съответствието на пробата трябва да бъде взета предвид неопределеността на измерването, този параметър също трябва да бъде представен. Така аналитичните резултати трябва да бъдат представени като x +/– U, където x е аналитичният резултат, а U — разширената неопределеност на измерването, като се използва фактор на покриване 2, който дава ниво на достоверност приблизително 95 %. В случай че PCDD/PCDF и диоксиноподобните PCB се определят поотделно, за разширената неопределеност на сумата от PCDD/PCDF и диоксиноподобните PCB се използва сумата от оценената разширена неопределеност на отделните резултати от анализа на PCDD/PCDF и на диоксиноподобните PCB.

— Ако неопределеността на измерването се взема предвид чрез прилагане на CCα (както е описано в приложение II, точка IV.2), този параметър трябва да бъде представен.

— Резултатите се изразяват в същите единици и (най-малко) със същия брой значещи цифри като определените в Регламент (ЕО) № 1881/2006 максимално допустими количества.

Биоаналитични скрининг методи

— Резултатът от скрининга се представя като резултат за съответствие или резултат със съмнение за несъответствие.

— В допълнение резултатът за PCDD/PCDF и/или за диоксиноподобните PCB може да се представи като изразен в биоаналитични еквиваленти (BEQ), а не в TEQ (вж. приложение III, точка 2).

— Ако е представена неопределеност на измерването за изчисленото равнище на BEQ, например като стандартно отклонение, представянето трябва да е въз основа на поне трикратен анализ на пробата (включително екстракция, пречистване и определяне на отговора на теста).

— Пробите, чийто отговор е под границата на отчитане, се представят като проби под границата на отчитане.

— За всеки тип матрична проба в отчета се посочва нивото от значение (максимално допустимо количество, ниво на действие), на което се базира оценката.

— В отчета се посочва видът на използвания тест, принципът, на който той се базира, както и видът на калибрирането.

— Отчетът включва също така информация за метода, използван при екстракцията на PCDD/PCDF, диоксиноподобни PCB и мазнини. Съдържанието на мазнини в пробата се определя и представя за проби от храни, за които има установени максимално допустими количествания на действия, изразени на база мазнини, и при които очакваната концентрация е между 0 % и 2 % (в съответствие с действащото законодателство); за други видове проби определянето на съдържанието на мазнини не е задължително.

Допълнение към ПРИЛОЖЕНИЕ III

Фактори за токсична еквивалентност (TEF) на Световната здравна организация (СЗО) за оценка на риска за човека, изготвени въз основа на заключенията на работния семинар на експертите в рамките на Международната програма за химическа безопасност (IPCS), проведен в Женева през юни 2005 г. (Martin van den Berg et al., 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 (2006)

Конгенер	Стойност на TEF	Конгенер	Стойност на TEF
Дибензо-р-диоксини (PCDD)		**„Диоксиноподобни“ PCB, Не-орто PCB и Моно-орто PCB**	
2,3,7,8-TCDD	1		
1,2,3,7,8-PeCDD	1	*Не-орто 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		
Дибензофурани („PCDF“)		*Моно-орто 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		

Използвани съкращения: „T“ = тетра; „Pe“ = пента; „Hx“ = хекса; „Hp“ = хепта; „O“ = окта; „CDD“ = хлородибензодиоксин; „CDF“ = хлородибензофуран; „CB“ = хлоробифенил.“

ПРИЛОЖЕНИЕ IV

Подготовка на пробите и изисквания към методите за анализ, използвани при официалния контрол на съдържанието на недиоксиноподобни PCB (PCB № 28, 52, 101, 138, 153, 180) в определени храни

1. **Приложими методи за откриване**

Газова хроматография/Електорноулавяща детекция (GC/ECD), GC/LRMS, GC/MS-MS, GC/HRMS или еквивалентни методи.

2. **Идентифициране и потвърждаване на аналитите от значение**

— Време на относително задържане спрямо вътрешните стандарти или референтните стандарти (допустимо отклонение от +/– 0,25 %).

— Отделяне посредством газова хроматография на всички шест индикаторни PCB (PCB 28, PCB 52, PCB 101, PCB 138, PCB 153 и PCB 180) от интерфериращите вещества, по-специално съвместно елуиращи PCB, особено ако количествата в пробите са в рамките на законово установените ограничения и несъответствието трябва да бъде потвърдено.

Бележка: конгенери, за които е установено, че често елуират съвместно, са например PCB 28/31, PCB 52/69 и PCB 138/163/164. При GC/MS трябва да се вземат предвид и възможните интерференции, причинени от фрагменти от конгенери с по-високо съдържание на хлор.

— За GC/MS техники:

— Наблюдение най-малко на:

— два специфични йона за HRMS,

— два специфични йона при m/z > 200 или три специфични йона при m/z > 100 за LRMS,

— 1 прекурсор и 2 производни йона за MS-MS.

— Максимално допустим толеранс за интензитетното съотношение за избраните масови фрагменти:

Относително отклонение на интензитетното съотношение на избрани масови фрагменти от теоретичния интензитет или калибрационния стандарт за базовия йон (най-силно присъстващия наблюдаван йон) и за потвърдителния/потвърдителните йон/йони:

Относителен интензитет на потвърдителния/ите йон/и в сравнение с базовия йон	GC-EI-MS (относително отклонение)	GC-CI-MS, GC-MS^n (относително отклонение)
> 50 %	± 10 %	± 20 %
> 20 % до 50 %	± 15 %	± 25 %
> 10 % до 20 %	± 20 %	± 30 %
≤ 10 %	± 50 % (*)	± 50 % (*)

(*) Налице е достатъчен брой масови фрагменти с относителен интензитет > 10 %, следователно не е препоръчително използването на потвърдителния/потвърдителните йон/йони с относителен интензитет, по-малък от 10 % в сравнение с целевия йон.

— За GC/ECD:

Потвърждаване на резултатите, които надхвърлят толеранса, с две GC колони с неподвижни фази с различна полярност.

3. **Доказване на ефективността на метода**

Валидиране в обхвата на нивото от значение (от 0,5 до 2 пъти нивото от значение) с приемлив коефициент на вариация за повтарящите се анализи (вж. изисквания за междинна прецизност в точка 8).

4. **Граница за количествено определяне**

Стойностите от изпитвания на празни проби не трябва да бъдат над 30 % от нивото на замърсяване, съответстващо на максимално допустимото количество ([1]).

5. **Контрол на качеството**

Редовни контролни изпитвания на празни проби, анализ на проби с добавка на референтен материал, проби за контрол на качеството, участие в междулабораторни изследвания за съответните матрици.

([1]) Препоръчително е делът на нивото на реагента при празна проба в нивото на замърсителя в дадена проба да бъде по-нисък. Лабораторията е отговорна за контрола на вариацията в нивата при празни проби, и по-специално ако нивата при празна проба се приспадат.

6. **Контрол на възстановяването**

— Използване на подходящи вътрешни стандарти с физикохимични свойства, сравними с тези на аналитите от значение.

— Добавяне на вътрешни стандарти:

— Добавяне към продукти (преди екстракцията и пречистването);

— Добавянето е възможно и за екстрахирани мазнини (преди пречистването), ако максимално допустимото количество е изразено на база мазнини.

— Изисквания за методите, при които се използват всички шест изотопно белязани конгенери на индикаторни PCB:

— корекция на резултатите за възстановяване при вътрешни стандарти;

— общоприетото възстановяване при изотопно белязани вътрешни стандарти е между 50 % и 120 %;

— допустима е по-ниска или по-висока степен на възстановяване за отделни конгенери, при които участието в сумата от шестте индикаторни PCB е под 10 %.

— Изисквания за методите, при които не всички шест изотопно белязани вътрешни стандарта се използват, или при които се използват други вътрешни стандарти:

— контрол на възстановяването при вътрешния/вътрешните стандарт/стандарти за всяка проба;

— приемливото възстановяване за вътрешния/вътрешните стандарт/стандарти е между 60 % и 120 %;

— корекция на резултатите за възстановяване за вътрешни стандарти.

— Възстановяването при небелязани конгенери се проверява чрез проби с добавен референтен материал или проби за контрол на качеството с концентрации в обхвата на нивото от значение. Приемливото възстановяване за посочените конгенери е между 70 % и 120 %.

7. **Изисквания към лабораториите**

В съответствие с разпоредбите на Регламент (ЕО) № 882/2004 лабораториите трябва да бъдат акредитирани от признат орган, действащ в съответствие с Ръководство 58 на ISO, с цел да се гарантира осигуряване на качеството при анализите. Лабораториите трябва да бъдат акредитирани в съответствие със стандарт EN ISO/IEC 17025.

8. **Характеристики за ефективност: критерии за сумата от шестте индикаторни PCB на нивото от значение**

Истинност	– 30 % до + 30 %
Междинна прецизност (% RSD)	≤ 20 %
Разлика между изчислението за горна и долна граница	≤ 20 %

9. **Представяне на резултатите**

— Доколкото аналитичната процедура позволява, резултатите от анализа трябва да включват нивата на отделните конгенери на PCB и да бъдат представени като долна граница, горна граница и средна граница с цел при представянето им да бъде включена възможно най-много информация, което да позволи тълкуване в съответствие със специфични изисквания.

— Отчетът трябва да включва също така данни за метода, използван за екстракция на PCB и на мазнини. Съдържанието на мазнини в пробата се определя и представя за проби от храни, за които има установенимаксимално допустими количества, изразени на база мазнини, и при които очакваната концентрация е между 0 % и 2 % (в съответствие с действащото законодателство); за други видове проби определянето на съдържанието на мазнини не е задължително.

— Данните за възстановяването за отделните вътрешни стандарти трябва да бъдат представени в случаите, в които възстановяването е извън обхвата, посочен в точка 6, когато максималната граница е надвишена или в други случаи при поискване.

— Тъй като при установяването на съответствието на пробата неопределеността на измерването трябва да бъде взета предвид, този параметър трябва също да бъде представен. Така аналитичните резултати трябва да бъдат представени като x +/– U, където x е аналитичният резултат, а U — разширената неопределеност на измерването, като се използва фактор на покриване 2, който дава ниво на достоверност приблизително 95 %.

— Ако неопределеността на измерването се взема предвид чрез прилагане на CCα (както е описано в приложение II, точка IV.1), този параметър трябва да бъде представен.

— Резултатите трябва да бъдат изразени в същите единици и (най-малко) със същия брой значещи цифри като определените в Регламент (ЕО) № 1881/2006 максимално допустими количества.