II

(Muud kui seadusandlikud aktid)

MÄÄRUSED

KOMISJONI MÄÄRUS (EL) nr 252/2012,

21. märts 2012,

millega sätestatakse proovivõtu- ja analüüsimeetodid dioksiinide, dioksiinitaoliste PCBde ja mittedioksiinitaoliste PCBde sisalduse ametlikuks kontrollimiseks teatavates toiduainetes ning tunnistatakse kehtetuks määrus (EÜ) nr 1883/2006

(EMPs kohaldatav tekst)

EUROOPA KOMISJON,

võttes arvesse Euroopa Liidu toimimise lepingut,

võttes arvesse Euroopa Parlamendi ja nõukogu 29. aprilli 2004. aasta määrust (EÜ) nr 882/2004 ametlike kontrollide kohta, mida tehakse sööda- ja toidualaste õigusnormide ning loomatervishoidu ja loomade heaolu käsitlevate eeskirjade täitmise kontrollimise tagamiseks, ([1]) eriti selle artikli 11 lõiget 4,

ning arvestades järgmist:

(1) Komisjoni 19. detsembri 2006. aasta määruses (EÜ) nr 1881/2006, millega sätestatakse teatavate saasteainete piirnormid toiduainetes, ([2]) on sätestatud mittedioksiinitaoliste PCBde, dioksiinide ja furaanide ning dioksiinide, furaanide ja dioksiinilaadsete PCBde summa piirnormid teatavates toiduainetes.

(2) Komisjoni 23. augusti 2011. aasta soovituses 2011/516/EL dioksiinide, furaanide ja polüklooritud bifenüülide (PCBde) sisalduse vähendamise kohta söödas ja toiduainetes ([3]) on sätestatud häiretasemed, et hoogustada polüklorodibensoparadioksiinide (PCDD), polüklorodibensofuraanide (PCDF) ja dioksiinitaoliste PCBde sisalduse vähendamist toidus. Selliste häiretasemete abil saavad pädevad asutused ja ettevõtjad tuua välja juhtumid, mille puhul on asjakohane teha kindlaks saasteallikas ja rakendada meetmeid saastumise vähendamiseks või kõrvaldamiseks.

(3) Komisjoni 19. detsembri 2006. aasta määruses (EÜ) nr 1883/2006, millega sätestatakse proovivõtu- ja analüüsimeetodid dioksiinide ja dioksiinilaadsete PCBde sisalduse ametlikuks kontrolliks teatavates toiduainetes, ([4]) on kehtestatud erisätted proovivõtu- ja analüüsimeetodite rakendamise kohta ametlikul kontrollimisel.

(4) Pärast Euroopa Toiduohutusameti (toiduohutusameti) mittedioksiinitaolisi PCBsid käsitleva teadusliku arvamuse kättesaadavaks tegemist kehtestatud mittedioksiinitaoliste PCBde uute piirnormide kohaldamine, ühtlustamise tagamine Euroopa Liidu tasandil ning sõelumismeetodite kriteeriumide ajakohastamine nõuavad suuri muudatusi. Seetõttu on selguse huvides asjakohane asendada määrus (EÜ) nr 1883/2006 käesoleva määrusega.

(5) Käesoleva määruse sätetes on käsitletud üksnes dioksiinide, dioksiinitaoliste ja mittedioksiinitaoliste PCBde proovide võtmist ja analüüse määruse (EÜ) nr 1881/2006 rakendamise eesmärgil. Nendega ei mõjutata nõukogu 29. aprilli 1996. aasta direktiivi 96/23/EÜ (millega nähakse ette teatavate ainete ja nende jääkide kontrollimise meetmed elusloomades ja loomsetes toodetes ning tunnistatakse kehtetuks direktiivid 85/358/EMÜ ja 86/469/EMÜ ning otsused 89/187/EMÜ ja 91/664/EMÜ) ([5]) III ja IV lisas täpsustatud proovivõtustrateegiat, proovivõtu mahtu ega sagedust. Nende sätetega ei mõjutata ka komisjoni 23. veebruari 1998. aasta otsuses 98/179/EÜ (millega kehtestatakse teatavate elusloomades ja loomsetes toodetes esinevate ainete ja ainejääkide seire üksikasjalikud ametliku proovide võtmise eeskirjad) ([6]) sätestatud proovide võtmise kriteeriume.

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

(6) Et leida märkimisväärse polüklorodibensoparadioksiinide ja polüklorodibensofuraanide (PCDD/F) ning dioksiinitaoliste PCBde sisaldusega proove, võiks proove uurida üldtunnustatult valideeritud ning suure jõudlusega sõelumismeetodiga (eelkõige valides häiretaset ületavaid proove ja tagades piirnorme ületava sisaldusega proovide valimise). Selliste proovide PCDD/Fide ja dioksiinitaoliste PCBde sisaldus määratakse kinnitava analüüsimeetodiga. Seepärast tuleb kehtestada asjakohased sõelumismeetodit käsitlevad nõuded, millega tagatakse, et piirnormile vastavust kinnitavate valenegatiivsete tulemuste määr jääks alla 5 %, ja ranged kinnitavat analüüsimeetodit käsitlevad nõuded. Lisaks võimaldavad kinnitavad meetodid määrata sisaldust ka nõrga fooni korral. See on tähtis, et jälgida ajalisi suundumusi, hinnata kokkupuudet ning ümber hinnata piirnorme ja häiretasemeid.

(7) Väga suurte kalade puhul on proovide võtmist vaja täpsustada, et tagada ühetaoline toimimine kogu liidu ulatuses.

(8) Sama liiki ja samast piirkonnast pärinevates kalades võib dioksiinide, dioksiinitaoliste PCBde ja mittedioksiinitaoliste PCBde sisaldus olla sõltuvalt kalade suurusest ja/või vanusest erinev. Pealegi ei ole dioksiinide, dioksiinitaoliste PCBde ja mittedioksiinitaoliste PCBde sisaldus kala kõikides osades tingimata ühesugune. Seepärast tuleb proovide võtmine ja ettevalmistamine täpselt kindlaks määrata, et tagada ühetaoline toimimine kogu Euroopa Liidus.

(9) On tähtis, et analüüsitulemustest teatataks ja neid tõlgendataks ühtmoodi, et tagada ühtne rakendamine kogu Euroopa Liidus.

(10) Käesoleva määrusega ette nähtud meetmed on kooskõlas alalise toiduahela ja loomatervishoiu komitee arvamusega ning ei Euroopa Parlament ega nõukogu ei ole vastuväiteid esitanud,

ON VASTU VÕTNUD KÄESOLEVA MÄÄRUSE:

Artikkel 1

Käesolevas määruses kasutatakse I lisas sätestatud mõisteid ja lühendeid.

Artikkel 2

Proovid määruse (EÜ) nr 1881/2006 lisa 5. jaos loetletud toiduainete dioksiinide, furaanide, dioksiinitaoliste PCBde ja mittedioksiinitaoliste PCBde sisalduse ametlikuks kontrolliks võetakse vastavalt käesoleva määruse II lisas sätestatud meetoditele.

Artikkel 3

Proovid määruse (EÜ) nr 1881/2006 lisa 5. jaos loetletud toiduainete dioksiinide, furaanide ja dioksiinitaoliste PCBde sisalduse ametlikuks kontrolliks valmistatakse ette ja neid analüüsitakse vastavalt käesoleva määruse III lisas sätestatud meetoditele.

Artikkel 4

Analüüsid määruse (EÜ) nr 1881/2006 lisa 5. jaos loetletud toiduainete mittedioksiinitaoliste PCBde sisalduse ametlikuks kontrolliks tehakse vastavalt käesoleva määruse IV lisas sätestatud analüüsinõuetele.

Artikkel 5

Määrus (EÜ) nr 1883/2006 tunnistatakse kehtetuks.

Viiteid kehtetuks tunnistatud määrusele käsitatakse viidetena käesolevale määrusele.

Artikkel 6

Käesolev määrus jõustub kahekümnendal päeval pärast selle avaldamist *Euroopa Liidu Teatajas.*

Seda kohaldatakse alates selle jõustumise kuupäevast.

Käesolev määrus on tervikuna siduv ja vahetult kohaldatav kõikides liikmesriikides.

Brüssel, 21. märts 2012

Komisjoni nimel

president

José Manuel BARROSO

I LISA

Mõisted ja lühendid

I. MÕISTED

Käesolevas määruses kasutatakse komisjoni 14. augusti 2002. aasta otsuse 2002/657/EÜ (millega rakendatakse nõukogu direktiivi 96/23/EÜ analüüsimeetodite tulemuslikkuse ja tulemuste tõlgendamise osas) ([1]) I lisas sätestatud mõisteid.

Lisaks osutatud mõistetele kasutatakse käesolevas määruses järgmisi mõisteid.

1.1. „Häiretase" – soovituse 2011/516/EL lisas sätestatud asjaomase aine sisaldus, mille puhul algatatakse uurimine, et teha kindlaks aine allikas juhtudel, kui leitakse, et aine sisaldus on suurenenud.

1.2. „Bioanalüütilised meetodid" – bioloogilistele põhimõtetele tuginevad meetodid, mille puhul kasutatakse nt rakupõhiseid, retseptor- ja immuunanalüüse. Need meetodid ei anna tulemusi analoogi tasandil, vaid lihtsalt toksilisusekvivalendi (TEQ) väärtuse, ([2]) mis väljendatakse bioanalüütilistes ekvivalentides (BEQdes), võtmaks arvesse asjaolu, et kõik prooviekstraktis leiduvad ühendid, mille reaktsioon ilmneb analüüsis, ei allu TEQ-põhimõtte nõuetele.

1.3. „Bioanalüüsi näiline saagis" – BEQ väärtus, mis arvutatakse 2,3,7,8-tetraklorodibenso-p-dioksiini (TCDD) või PCB 126 kaliibrimiskõvera alusel, mida korrigeeritakse tühikatse põhjal ja mis jagatakse seejärel GC/HRMS-meetodi abil määratud TEQ väärtusega. Sellega püütakse korrigeerida selliseid tegureid nagu PCDD/Fide ning dioksiinitaoliste ühendite kadu ekstraheerimisel ja puhastamisel, kaasa ekstraheeruvad ühendid, mis suurendavad või vähendavad tulemust (agonistlik ja antagonistlik toime), kaliibrimiskõvera võimalik vigasus või toksilisusfaktori (TEF) ja suhtelise potentsuse (REP) väärtuse erinevus. Bioanalüüsi näiline saagis arvutatakse sobivate etalonproovide alusel, milles representatiivsete analoogide sisaldus ligikaudu vastab ainete sisalduse vahekorrale proovis ja on huvipakkuva kontsentratsiooni vahemikus.

1.4. „Poolkvantitatiivsed meetodid" – meetodid, mis näitavad oletatava määratava aine ligikaudset sisaldust, kuigi numbrilised tulemused ei vasta kvantitatiivse meetodi nõuetele.

1.5. „Individuaalse analoogi aktsepteeritav kvantitatiivse määramise piir" – määratava aine kontsentratsioon sellises prooviekstraktis, mis tekitab seadmes signaali kahe erineva iooniga, kusjuures nõrgema signaali puhul on signaali/müra suhtarv 3: 1, ning mis vastab näiteks standardis prEN 16215 („Loomasööt – dioksiinide ja dioksiinitaoliste PCBde sisalduse määramine gaasikromatograafia/kõrglahutus-massispektromeetria (GC/HRMS) abil ning indikaator-PCBde sisalduse määramine GC/HRMSi abil") ja/või EPA-meetodi 1613 versioonis B kirjeldatud määramiskriteeriumidele.

1.6. „Ülemine tõke" – põhimõte, mille kohaselt iga kvantitatiivselt määramata analoogi väärtus võetakse võrdseks määramispiiri väärtusega.

1.7. „Alumine tõke" – põhimõte, mille kohaselt iga kvantitatiivselt määramata analoogi väärtus võetakse võrdseks nulliga.

1.8. „Vaheväärtus" – põhimõte, mille kohaselt iga kvantitatiivselt määramata analoogi väärtus võetakse võrdseks poolega määramispiiri väärtusest.

1.9. „Partii" – eristatav toidukogus, mis on tarnitud ühe saadetisena ning mille puhul ametnik on kindlaks teinud järgmised ühised omadused: päritolu, sort, pakkimisviis, pakkija, saatja või märgistused. Kala ja kalandustoodete puhul peab olema võrreldav ka kalade suurus. Kui kalade suurus ja/või kaal ei ole saadetise ulatuses võrreldav, võib saadetist siiski käsitada partiina, kuid kohaldada tuleb spetsiaalset proovivõtumenetlust.

1.10. „Osapartii" – suure partii kindlaksmääratud osa, millest proovivõtumeetodi kohaselt võetakse proov. Iga osapartii peab olema füüsiliselt eraldatud ja kindlakstehtav.

1.11. „Üksikproov" – partii või osapartii ühest kohast võetud proov.

1.12. „Kogumproov" – kõikide partiist või osapartiist võetud üksikproovide kogum.

1.13. „Laboriproov" – labori jaoks ette nähtud kogumproovist eraldatud representatiivne kogus/osa.

II. KASUTATUD LÜHENDID

BEQ bioanalüütilised ekvivalendid

GC gaasikromatograafia

([1]) EÜT L 221, 17.8.2002, lk 8.

([2]) Bioanalüütiliste meetoditega ei määrata üksnes toksilisusfaktori (TEF) süsteemi kuuluvaid analooge. Prooviekstrakt võib sisaldada muid struktuurilt taoliseid AhR-aktiivseid ühendeid, mis mõjutavad üldist tulemust. Seega ei saa bioanalüütilist tulemust pidada TEQ taseme hinnanguks, pigem on see viide TEQ võimalikule tasemele proovis.

HRMS	kõrglahutus-massispektromeetria
LRMS	madala lahutusvõimega massispektromeetria
PCBd	polüklooritud bifenüülid
PCDDd	polüklorodibenso-*p*-dioksiinid
PCDFid	polüklorodibensofuraanid
REP	suhteline potentsus
TEF	toksilisuse ekvivalentfaktor
TEQ	toksilisusekvivalent
TCDD	2,3,7,8-tetraklorodibenso-*p*-dioksiin
U	laiendatud mõõtemääramatus

II LISA

Proovivõtumeetodid dioksiinide (PCDD/PCDF), dioksiinitaoliste PCBde ja mittedioksiinitaoliste PCBde sisalduse ametlikuks kontrolliks teatavates toiduainetes

I. REGULEERIMISALA

Proovid dioksiinide (PCDD/PCDF), dioksiinitaoliste PCBde ja mittedioksiinitaoliste PCBde (edaspidi koos „dioksiinid ja PCBd") sisalduse ametlikuks kontrolliks toiduainetes võetakse vastavalt käesolevas lisas kirjeldatud meetoditele. Selliselt saadud kogumproove käsitatakse representatiivsena partii või osapartii suhtes, millest need on võetud. Komisjoni määruses (EÜ) nr 1881/2006 (millega sätestatakse teatavate saasteainete piirnormid toiduainetes) sätestatud piirnormidele vastavust kontrollitakse laboriproovides määratud sisalduste alusel.

II. ÜLDSÄTTED

1. **Töötajad**

Proove võtab liikmesriigi määratud volitatud isik.

2. **Materjal, millest proovid võetakse**

Igast uuritavast partiist või osapartiist võetakse proovid eraldi.

3. **Ettevaatusabinõud**

Proovide võtmise ja ettevalmistamise käigus võetakse tarvitusele ettevaatusabinõud, et vältida muutusi, mis võivad mõjutada dioksiinide ja PCBde sisaldust, kahjustada analüüsi tulemusi või muuta kogumproovid mitterepresentatiivseks.

4. **Üksikproovid**

Võimaluse korral võetakse üksikproovid ühtlaselt kogu partii või osapartii eri kohtadest. Kõrvalekaldumine sellest reeglist tuleb märkida käesoleva lisa II punkti alapunktis 8 ette nähtud protokolli.

5. **Kogumproovi ettevalmistamine**

Kogumproov saadakse üksikproovide ühendamise teel. Selle mass peab olema vähemalt 1 kg, välja arvatud juhul, kui see ei ole otstarbekas, näiteks kui proov on võetud üksikpakendist või kui tootel on väga suur kaubanduslik väärtus.

6. **Paralleelproovid**

Eeskirjade täitmise tagamiseks, kaitse- ja vahekohtumenetluse eesmärgil võetakse paralleelproovid homogeniseeritud kogumproovist, välja arvatud juhul, kui see on vastuolus liikmesriigi eeskirjades kajastatud toiduettevõtjate õigustega. Eeskirjade täitmise tagamiseks võetavad laboriproovid peavad olema piisavalt suured, et võimaldada vähemalt kordusanalüüsi.

7. **Proovide pakkimine ja transport**

Iga proov asetatakse puhtasse, inertsest materjalist nõusse, milles proov on kaitstud saastumise eest, määratava aine kao eest (määratav aine ei tohi adsorbeeruda nõu siseseintele) ja transpordi ajal tekkida võivate kahjustuste eest. Võetakse kõik vajalikud ettevaatusabinõud, et vältida proovi koostise muutumist transpordi või säilitamise ajal.

8. **Proovide pitseerimine ja märgistamine**

Iga ametlikuks kasutamiseks võetud proov pitseeritakse proovivõtukohas ja tähistatakse vastavalt liikmesriikide eeskirjadele.

Iga proovivõtt protokollitakse ja protokoll säilitatakse, et oleks võimalik iga partiid üheselt kindlaks teha; protokolli märgitakse proovivõtu aeg ja koht ning muu lisateave, mis võib analüüsijale abiks olla.

III. PROOVIVÕTUKAVA

Kohaldatav proovivõtumeetod peab tagama, et kogumproov on kontrollitava (osa)partii suhtes representatiivne.

1. **Partiide jagamine osapartiideks**

Suured partiid jagatakse osapartiideks tingimusel, et osapartiid on võimalik füüsiliselt eraldada. Suurte mahtkaubasaadetistena turustatavate toodete suhtes (nt taimeõlid) kohaldatakse tabelit 1. Muude toodete suhtes kohaldatakse tabelit 2. Võttes arvesse seda, et partii mass ei ole alati osapartiide massi täiskordne, võib osapartii mass ületada ettenähtud massi kuni 20 %.

Tabel 1

Mahtkaubasaadetistena turustatavate toodete partiide jagamine osapartiideks

Partii mass (tonnides)	Osapartiide mass või arv
≥ 1 500	500 tonni
> 300 ja < 1 500	3 osapartiid
≥ 50 ja ≤ 300	100 tonni
< 50	—

Tabel 2

Muude toodete partiide jagamine osapartiideks

Partii mass (tonnides)	Osapartiide mass või arv
≥ 15	15–30 tonni
< 15	—

2. **Üksikproovide arv**

Kõikide üksikproovide liitmisel saadud kogumproovi mass peab olema vähemalt 1 kg (vt käesoleva lisa II punkti alapunkti 5).

Partiist või osapartiist võetavate üksikproovide miinimumarv on esitatud tabelites 3 ja 4.

Vedela mahtkauba puhul segatakse partii või osapartii vahetult enne proovivõtmist kas käsitsi või mehaaniliselt võimalikult põhjalikult läbi, kui see ei mõjutaks toote kvaliteeti. Sellisel juhul eeldatakse, et saasteainete jaotus asjaomases partiis või osapartiis on ühtlane. Seepärast piisab, kui kogumproovi jaoks võetakse partiist või osapartiist kolm üksikproovi.

Üksikproovid peavad olema ühesuguse massiga. Üksikproovi mass peab olema vähemalt 100 grammi.

Kõrvalekaldumine sellest menetlusest tuleb märkida käesoleva lisa II punkti alapunktis 8 ette nähtud protokolli. Kooskõlas komisjoni 27. oktoobri 1997. aasta otsusega 97/747/EÜ (millega määratakse kindlaks nõukogu direktiiviga 96/23/EÜ ettenähtud proovide võtmise mahud ja sagedused teatavate loomsetes toodetes esinevate ainete ja ainejääkide seireks) [1] on kanamunade puhul kogumproovi suurus vähemalt 12 muna (pakendamata ja üksikutest pakenditest koosnevate partiide suhtes kohaldatakse tabeleid 3 ja 4).

Tabel 3

Partiist või osapartiist võetavate üksikproovide miinimumarv

Partii/osapartii mass või maht (kilogrammides või liitrites)	Võetavate üksikproovide miinimumarv
< 50	3
50–500	5
> 500	10

Kui partii või osapartii koosneb üksikutest pakenditest või ühikutest, on kogumproovi saamiseks võetavate pakendite või ühikute arv tabelis 4 esitatud pakendite või ühikute arv.

[1] EÜT L 303, 6.11.1997, lk 12.

Tabel 4

Kogumproovi jaoks võetavate pakendite või ühikute (üksikproovide) arv, kui partii või osapartii koosneb üksikpakenditest või ühikutest

Pakendite või ühikute arv partiis/osapartiis	Võetavate pakendite või ühikute arv
1–25	vähemalt 1 pakend või ühik
26–100	ligikaudu 5 %, kuid vähemalt 2 pakendit või ühikut
> 100	ligikaudu 5 %, kuid mitte rohkem kui 10 pakendit või ühikut

3. **Võrreldava suuruse ja massiga terveid kalu sisaldavatest partiidest proovide võtmise erinõuded**

Kalad on võrreldava suuruse ja massiga, kui suuruse ja massi vahe ei ületa ligikaudu 50 %.

Partiist võetavate üksikproovide arv on esitatud tabelis 3. Kõikidest üksikproovidest moodustatud kogumproovi mass peab olema vähemalt 1 kg (vt II punkti alapunkt 5).

— Kui uuritav partii koosneb väikestest kaladest (ühe kala mass on alla 1 kg), võetakse kogumproovi saamiseks üksikproovidena terveid kalu. Kui selliselt saadud kogumproovi mass ületab 3 kg, võib üksikproove võtta kogumproovi moodustavate kalade keskmisest osast, kusjuures iga üksikproov peab kaaluma vähemalt 100 g. Üldkogust, mille suhtes kohaldatakse piirnormi, kasutatakse proovi homogeniseerimiseks.

Kala keskmine osa on osa, milles asub kala raskuskese. See asub enamasti seljauime kohal (kui kalal on seljauim) või lõpuseava ja päraku vahelise tüki keskel.

— Kui uuritav partii koosneb suurematest kaladest (ühe kala mass on üle 1 kg), võetakse üksikproov kala keskmisest osast. Iga üksikproov peab kaaluma vähemalt 100 grammi.

Keskmise suurusega kalade puhul (massiga umbes 1–6 kg) võetakse üksikprooviks selgroost kõhuni ulatuv lõik kala keskmises osas.

Väga suurte kalade puhul (massiga üle 6 kg) võetakse üksikproov (eestvaates) parempoolsest külgmisest seljalihasest kala keskmises osas. Kui kala keskmisest osast sellise tüki eraldamine tekitaks olulist majanduslikku kahju, peetakse partii suurusest olenemata piisavaks kolme vähemalt 350 g üksikproovi võtmist; teise võimalusena võib võtta ühe kala sabaosa ja peaosa lähedalt võrdsed kogused lihasmassi, et saada üksikproov, mida peetakse terve kala dioksiinisisalduse suhtes representatiivseks.

4. **Proovide võtmine eri suuruse ja/või massiga terveid kalu sisaldavatest partiidest**

— Proovide võtmise suhtes kohaldatakse III punkti alapunkti 3.

— Kui teatud suurus- või massiklass/-kategooria on ülekaalus (ligikaudu 80 % või rohkem partiist), võetakse proov ülekaalus olevasse suurus- või massiklassi/-kategooriasse kuuluvatest kaladest. Sellist proovi peetakse representatiivseks kogu partii suhtes.

— Kui ükski suurus- või massiklass/-kategooria ei ole ülekaalus, tuleb tagada, et proovi jaoks valitud kalad on partii suhtes representatiivsed. Erijuhised sellisteks juhtumiteks on esitatud dokumendis „Guidance on sampling of whole fishes of different size and/or weight" [2] („Juhised proovide võtmiseks eri suuruse ja/või massiga tervetest kaladest").

5. **Proovide võtmine jaemüügietapis**

Jaemüügietapis tuleb võimaluse korral toiduainetest proove võtta kooskõlas käesoleva lisa III punkti alapunkti 2 sätetega.

Kui see ei ole võimalik, võib jaemüügietapis kasutada alternatiivseid proovivõtumeetodeid tingimusel, et need tagavad uuritava partii või osapartii suhtes piisava representatiivsuse.

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

IV. PARTII VÕI OSAPARTII NÕUETEKOHASUS

1. **Mittedioksiinitaoliste PSBde puhul**

Partiid peetakse nõuetele vastavaks, kui analüüsi tulemus ei ületa määruses (EÜ) nr 1881/2006 sätestatud mittedioksiinitaoliste PCBde sisalduse piirnormi, võttes arvesse mõõtemääramatust.

Partii ei vasta määruses (EÜ) nr 1881/2006 sätestatud piirnormile, kui kordusanalüüsiga [3] kinnitatud analüüsitulemuse ülemine tõke on mõõtemääramatust arvesse võttes ilma kahtluseta kõrgem kui piirnorm.

Mõõtemääramatust võib arvestada ühel järgmistest viisidest:

— arvutatakse laiendatud mõõtemääramatus, kasutades kattefaktorit 2, mis tagab ligikaudu 95 % usaldusväärsuse. Partii või osapartii ei ole nõuetekohane, kui mõõdetud väärtus, millest lahutatakse U, ületab lubatud normi;

— vastavalt otsusele 2002/657/EÜ (otsuse I lisa punkt 3.1.2.5 – ained, mille kohta on kehtestatud lubatud piirnormid) määratakse kindlaks otsustuspiir (CCα, *decision limit* [osutatud otsuse tõlkes „määramispiir"]); partii või osapartii ei vasta nõuetele, kui mõõdetud väärtus võrdub CCα-ga või on sellest suurem.

Eespool esitatud eeskirju kohaldatakse ametlikuks kontrolliks ette nähtud proovide analüüsitulemuste suhtes. Kaitse- või vahekohtumenetluse eesmärgil tehtavate analüüside puhul kohaldatakse siseriiklikke eeskirju.

2. **Dioksiinide (PCDD/PCDF) ja dioksiinitaoliste PCBde puhul**

Partiid peetakse nõuetele vastavaks, kui ühe analüüsi tulemus,

— mis on saadud sõelumismeetodiga, mille valenegatiivsete tulemuste määr on alla 5 %, näitab, et sisaldus ei ületa asjaomast määruses (EÜ) nr 1881/2006 sätestatud dioksiinide (PCDD/PCDF) piirnormi ega dioksiinide ja dioksiinitaoliste PCBde summa piirnormi;

— mis on saadud kinnitava meetodiga, näitab, et sisaldus ei ületa asjaomast määruses (EÜ) nr 1881/2006 sätestatud dioksiinide (PCDD/PCDF) piirnormi ega dioksiinide ja dioksiinitaoliste PCBde summa piirnormi, kui võetakse arvesse mõõtemääramatust.

Sõeluuringu puhul määratakse kindlaks künnis, mille järgi otsustatakse, kas proov vastab kas dioksiinide (PCDD/PCDF) jaoks kindlaks määratud huvipakkuvale kontsentratsioonile või dioksiinide ja dioksiinitaoliste PCBde summa jaoks kindlaks määratud huvipakkuvale kontsentratsioonile.

Partii ei vasta määruses (EÜ) nr 1881/2006 sätestatud piirnormile, kui kinnitava meetodi abil saadud analüüsitulemuse ülemine tõke, mida kinnitab kordusanalüüs, [3] on mõõtemääramatust arvesse võttes ilma kahtluseta kõrgem kui piirnorm.

Mõõtemääramatust võib arvestada ühel järgmistest viisidest:

— arvutatakse laiendatud mõõtemääramatus, kasutades kattefaktorit 2, mis tagab ligikaudu 95 % suuruse usaldusväärsuse. Partii või osapartii ei vasta nõuetele, kui mõõdetud väärtus, millest lahutatakse U, ületab lubatud normi. Kui PCDD/Fide ja dioksiinitaoliste PCBde sisaldus määratakse eraldi, tuleb PCDD/Fide ja dioksiinitaoliste PCBde summa hinnangulise laiendatud mõõtemääramatusena kasutada PCDD/Fide tulemuse ja dioksiinitaoliste PCBde tulemuse hinnanguliste laiendatud mõõtemääramatuste summat;

— vastavalt otsusele 2002/657/EÜ (otsuse I lisa punkt 3.1.2.5 – ained, mille kohta on kehtestatud lubatud piirnormid) määratakse kindlaks otsustuspiir (CCα); partii või osapartii ei vasta nõuetele, kui mõõdetud väärtus võrdub CCα-ga või on sellest suurem.

Eespool esitatud eeskirju kohaldatakse ametlikuks kontrolliks ette nähtud proovide analüüsitulemuste suhtes. Kaitse- või vahekohtumenetluse eesmärgil tehtavate analüüside suhtes kohaldatakse siseriiklikke eeskirju.

[3] Kordusanalüüs on vajalik, et välistada sisemise ristsaastumise või proovide juhusliku segiajamise võimalus. Nõuetele vastavust hinnatakse esimese analüüsi abil, võttes arvesse mõõtemääramatust. Juhul kui analüüse tehakse seoses teadaoleva saastumisjuhtumiga, võidakse kinnitav kordusanalüüs tegemata jätta, kui analüüsiks võetud proovide puhul suudetakse dokumentaalselt tõendada, et need on seotud kõnealuse saastumisjuhtumiga.

V. HÄIRETASEMETE ÜLETAMINE

Häiretasemeid kasutatakse proovide valimiseks juhul, kui on vaja kindlaks teha saasteallikas ja võtta meetmeid saastumise vähendamiseks või kõrvaldamiseks. Sõelumismeetodiga määratakse kindlaks nende proovide valimiseks sobivad künnised. Saasteallika kindlakstegemiseks ja saastumise vähendamiseks või kõrvaldamiseks vajalikke meetmeid võetakse ainult juhul, kui kaks kinnitava meetodiga tehtud analüüsi koos mõõtemääramatuse arvessevõtmisega kinnitavad häiretaseme ületamist ([4]).

([4]) Häiretasemete kontrollimiseks tehtava kordusanalüüsi suhtes kehtivad samad selgitused ja nõuded, mis on esitatud joonealuses märkuses 3 piirnormide kohta.

III LISA

Proovi ettevalmistamine ja nõuded analüüsimeetoditele, mida kasutatakse dioksiinide (PCDDD/PCDFid) ja dioksiinitaoliste PCBde sisalduse ametlikuks kontrollimiseks teatavates toiduainetes

1. KOHALDAMISALA

Käesolevas lisas sätestatud nõudeid kohaldatakse toiduainete analüüsimisel 2,3,7,8-asendatud polüklorodibenso-*p*-dioksiinide ja polüklorodibensofuraanide (PCDD/Fid) ning dioksiinitaoliste polüklooritud bifenüülide (dioksiinitaolised PCBd) sisalduse ametlikuks kontrolliks ja muudel regulatiivsetel eesmärkidel.

PCDD/Fide ja dioksiinitaoliste PCBde esinemist toiduainetes võib kontrollida kahel eri eesmärgil:

a) selliste proovide väljaselgitamine, mille PCDD/Fide ja dioksiinitaoliste PCBde sisaldus ületab piirnormi või häiretaseme. Selleks võidakse kasutada kulutõhusaid suure jõudlusega sõelumismeetodeid, mis suurendab tarbijate jaoks suurt kokkupuute- ja terviseriski kujutavate uute juhtumite avastamise võimalusi. Sõelumismeetodid võivad hõlmata bioanalüütilisi ja GC/MS-meetodeid. Nende kasutamisel tuleks sihiks seada valenegatiivsete tulemuste vältimine. Väljaselgitatud proovides tuleb PCDD/Fide sisaldus ning PCDD/Fide ja dioksiinitaoliste PCBde summa määrata/kinnitada kinnitava meetodi abil;

b) toiduainete proovide PCDD/Fide ja dioksiinitaoliste PCBde sisalduse kindlaksmääramine madala foonisisalduse vahemikus. See on tähtis, et jälgida ajalisi suundumusi, hinnata elanikkonna kokkupuudet ning koostada andmebaas häiretasemete ning piirnormide võimalikuks ümberhindamiseks. See eesmärk saavutatakse kinnitavate meetoditega, mis võimaldavad huvipakkuvas kontsentratsioonis PCDDsid/PCDFe ja dioksiinitaoliseid PCBsid üheselt kindlaks teha ja koguseliselt määrata. Selliseid meetodeid saab kasutada sõelumismeetodiga saadud tulemuste kinnitamiseks ja madala foonisisalduse kindlaksmääramiseks toiduainete seires. Need meetodid on olulised ka analoogide kombinatsioonide kindlakstegemiseks, et tuvastada võimalik saasteallikas. Praegu kasutatakse selleks kõrglahutus-gaasikromatograafiat/massispektromeetriat (HRGC/HRMS).

2. MEETODITE KLASSIFITSEERIMINE MÄÄRAMISTÄPSUSE JÄRGI ([1])

Kvalitatiivsed meetodid annavad vastuse vaatlusaluste analüütide olemasolu või puudumise kohta, näitamata eeldatava analüüdi kontsentratsiooni. Need meetodid võivad anda poolkvantitatiivseid tulemusi, kuid neid kasutatakse ainult selleks, et teha kindlaks, kas sisaldus on teatud vahemikust, näiteks avastamispiirist, määramispiirist või künnisest, suurem või väiksem.

PCDD/Fide ja dioksiinitaoliste ühendite piirnormide ja häiretasemete kontrollimiseks toiduainetes võib kasutada sõelumismeetodeid, mis põhinevad analüüsitulemuse võrdlemisel künnisega ja näitavad, kas huvipakkuv kontsentratsioon on ületatud või mitte. Selleks on võetud kasutusele bioanalüütilised meetodid. Üldiselt võidakse töötada välja ka füüsikalis-keemilisi meetodeid; TEQ-põhiste piirnormide ja häiretasemete ning asjaomaste individuaalsete analoogide kindlaksmääramiseks vajaliku keeruka analüüsi kohta praktilised näited siiski puuduvad.

Poolkvantitatiivsed meetodid näitavad ligikaudset kontsentratsiooni, mis võib anda kasulikku teavet määratava aine kontsentratsioonivahemike kohta ja aitab analüüsijal leida kaliibrimisvahemikku järgneva kinnitava analüüsi jaoks ning kvaliteedi kontrolliks. Kõnealused meetodid on näiteks järgmised:

— bioanalüütilised meetodid, mille abil on võimalik avastada huvipakkuvaid määratavaid aineid, hõlmavad kaliibrimiskõverat, näitavad, kas huvipakkuv kontsentratsioon on ületatud või mitte, ja võimaldavad esitada tulemuse bioanalüütilistes ekvivalentides (BEQdes), mis näitavad proovi TEQ väärtust;

— füüsikalis-keemiline analüüs (nt gaasikromatograafia-massispektromeetria/massispektromeetria (GC-MS/MS) või gaasikromatograafia / madala lahutusvõimega massispektomeetria (GC/LRMS)), mille puhul mõõdetavad meetodi täpsusnäitajad ei vasta kvantitatiivse analüüsi nõuetele.

([1]) Kohandatud PCDD/Fidele ja dioksiinitaolistele ühenditele, mis on nimetatud dokumendis „Guidelines for the validation of screening methods for residues of veterinary medicines" („Veterinaarravimite jääkide sõelumismeetodite valideerimise juhised"), mille on koostanud Fougeres's, Berliinis ja Bilthovenis asuvad ELi referentlaborid loomset päritolu toidus esinevate veterinaarravimite jääkide ja saasteainete kontrollimiseks, 20/1/2010, http://ec.europa.eu/food/food/chemicalsafety/residues/lab_analysis_en.htm.

Kvantitatiivsed meetodid vastavad kinnitavate meetoditega samadele mõõtetäpsuse, mõõtmisvahemiku ja kordustäpsuse nõuetele. Kvantitatiivseks määramiseks tuleb meetod kinnitava meetodina valideerida, nagu on käesolevas dokumendis üksikasjalikult kirjeldatud PCDD/Fide ja dioksiinitaoliste PCBde puhul.

3. TAUST

Toksilisusekvivalentides (TEQdes) väljendatud kontsentratsioonide arvutamiseks korrutatakse individuaalsete ainete kontsentratsioonid asjaomases proovis vastava toksilisuse ekvivalentfaktoriga (TEF), mille on kindlaks määranud Maailma Terviseorganisatsioon (WHO) ja mis on loetletud käesoleva lisa liites, ja liidetakse seejärel kokku, et saada TEQdes väljendatud dioksiinitaoliste ühendite üldkontsentratsioon.

Sõelumis- ja kinnitavaid meetodeid saab teatud uuritavas materjalis sisalduse kontrollimiseks kasutada ainult juhul, kui kõnealused meetodid on piisavalt tundlikud, et ainete sisaldust huvipakkuval kontsentratsioonil (häiretase või piirnorm) usaldusväärselt kindlaks teha.

4. KVALITEEDI TAGAMISE NÕUDED

— Igas proovivõtu- ja analüüsietapis tuleb võtta meetmed ristsaastumise vältimiseks.

— Proove tuleb säilitada ja transportida säilitamiseks sobivates klaas-, alumiinium-, polüpropüleen- või polüetüleennõudes, mis ei mõjuta proovide PCDD/Fide ja dioksiinitaoliste PCBde sisaldust. Paberitolmu jäägid tuleb proovinõust eemaldada.

— Proove tuleb säilitada ja transportida nii, et toiduproovi koostises ei toimuks muutusi.

— Vajaduse korral laboriproov jahvatatakse ja segatakse põhjalikult meetodil, mis tagab täielikult homogeense proovi (näiteks jahvatatakse proov nii peeneks, et see läheks läbi 1 mm suuruste avadega sõela); kui proovi niiskusesisaldus on liiga suur, tuleb seda enne jahvatamist kuivatada.

— Tähtis on kontrollida, et reaktiivid, klaasnõud ja seadmed ei mõjutaks TEQdes või BEQdes väljendatud tulemusi.

— Tehakse tühikatse, mille puhul läbitakse kõik analüüsietapid ilma proovita.

— Bioanalüütiliste meetodite puhul on väga tähtis kontrollida, et ükski analüüsil kasutatav klaasnõu ega lahusti ei sisaldaks ühendeid, mis segavad sihtühendi avastamist töövahemikus. Klaasnõu tuleb loputada lahustitega ja/või kuumutada temperatuuril, mis sobib PCDD/Fide, dioksiinitaoliste ühendite ja segavate ühendite jääkide eemaldamiseks selle pinnalt.

— Ekstraheeritava proovi suurus peab olema piisav, et see vastaks nõuetele, mida kohaldatakse piisavalt väikeses kontsentratsioonivahemikus, sh huvipakkuval kontsentratsioonil töötamise korral.

— Uuritavatest toodetest võetud proovide ettevalmistamiseks kasutatavate konkreetsete meetodite puhul tuleb järgida rahvusvaheliselt tunnustatud juhiseid.

— Kaladelt tuleb eemaldada nahk, sest piirnormi kohaldatakse nahata lihasmassi suhtes. Kõik lihas- ja rasvkoe jäägid tuleb naha sisepinnalt siiski hoolikalt ja täielikult maha kaapida ning lisada analüüsitava proovi hulka.

5. LABORITE NÕUDED

— Vastavalt määrusele (EÜ) nr 882/2004 peavad laborid olema ISO juhendi 58 kohaselt tegutseva tunnustatud asutuse poolt akrediteeritud, millega tagatakse, et nad kohaldavad analüüsimisel kvaliteeditagamissüsteemi. Laborid akrediteeritakse standardi EN ISO/IEC 17025 kohaselt.

— Labori pädevust tuleb tõendada pideva eduka osalemisega laboritevahelistes uuringutes, mida korraldatakse PCDD/Fide ja dioksiinitaoliste PCBde sisalduse määramiseks asjakohastes toiduainetes ja kontsentratsioonivahemikes.

— Laborid, kes kasutavad proovide tavakontrolliks sõelumismeetodeid, teevad nii kvaliteedi kontrollimisel kui ka saastekahtlusega proovide analüüside kinnitamisel tihedat koostööd kinnitavat meetodit kasutavate laboritega.

6. DIOKSIINIDE (PCDD/FIDE) JA DIOKSIINITAOLISTE PCBDE ANALÜÜSI PUHUL ESITATAVAD PÕHINÕUDED

6.1. **Väikese kontsentratsiooniga töövahemik ja määramispiirid**

— PCDD/Fide avastatavad kogused peavad mõne nimetatud ühendi äärmiselt suure toksilisuse tõttu jääma femtogrammi (10^{-15} g) ülemisse vahemikku. Enamiku PCBde analoogide puhul piisab nanogrammi täpsusega (10^{-9} g) määramispiirist. Toksilisemate dioksiinitaoliste PCBde analoogide (eriti orto-asendamata analoogide) mõõtmiseks peab töövahemiku alumine osa ulatuma pikogrammi (10^{-12} g) madalamate väärtusteni.

6.2. **Suur selektiivsus (spetsiifilisus)**

— PCDD/Fisid ja dioksiinitaoliseid PCBsid peab olema võimalik eristada paljudest muudest kaasa ekstraheeruvatest ja segada võivatest ühenditest, mille kontsentratsioon võib vaatlusaluste analüütide kontsentratsiooniga võrreldes olla mitu suurusjärku suurem. Gaasikromatograafia/massispektromeetria (GC/MS) meetodite puhul peab olema võimalik eristada eri analooge, näiteks toksilisi analooge (nt seitseteist 2,3,7,8-asendatud PCDD/Fi ning kaksteist dioksiinitaolist PCBd) muudest analoogidest.

— Bioanalüütiliste meetoditega peab olema võimalik tuvastada sihtühendeid PCDD/Fide ja/või dioksiinitaoliste PCBde summana. Proove tuleb puhastada, et kõrvaldada ühendid, mis põhjustavad valepositiivseid tulemusi, või ühendid, mis võivad tulemust vähendada, põhjustades valenegatiivseid tulemusi.

6.3. **Suur mõõtetäpsus (tõesus ja kordustäpsus, bioanalüüsi näiline saagis)**

— GC/MS-meetodite puhul peab määramine andma pädeva hinnangu aine tegeliku kontsentratsiooni kohta proovis. Suur mõõtetäpsus (mõõtetäpsus iseloomustab mõõtmise tulemuse ja tegeliku või etteantud mõõdetava väärtuse kooskõla) on vajalik selleks, et vältida analüüsitulemuse tagasilükkamist kindlaksmääratud TEQ väärtuse vähese usaldusväärsuse tõttu. Mõõtetäpsust väljendatakse „tõesuse” (sertifitseeritud aine analüüsimisel mõõdetud analüüdi keskmise väärtuse ja selle sertifitseeritud väärtuse vahe, väljendatuna protsentides) ja „kordustäpsusena” (RSD_R – suhteline standardhälve, mis arvutatakse korratavuse tingimustes saadud tulemuste põhjal).

— Bioanalüütiliste meetodite puhul määratakse kindlaks bioanalüüsi näiline saagis.

6.4. **Valideerimine huvipakkuva kontsentratsiooni vahemikus ja üldised kvaliteedikontrolli meetmed**

— Labor tõendab valideerimismenetluse ja/või tavaanalüüsi käigus meetodi tulemuslikkust huvipakkuva kontsentratsiooni vahemikus, nt 0,5-, 1- ja 2-kordsel huvipakkuval kontsentratsioonil, kusjuures variatsioonikordaja peab kordusanalüüsi puhul olema vastuvõetav.

— Sisemiste kvaliteedikontrolli meetmetena tuleb teha regulaarseid tühi- ja rikastamiskatseid või analüüsida kontrollproove (võimaluse korral tuleb eelistada sertifitseeritud etalonaineid). Tühi- ja rikastamiskatsete ning kontrollproovide analüüsi kohta tuleb koostada kvaliteedikontrolli kaardid, mille alusel kontrollitakse, kas analüüside tulemuslikkus vastab nõuetele.

6.5. **Määramispiir**

— Bioanalüütilise sõelumismeetodi puhul ei ole määramispiiri tingimata vaja määrata, kuid tuleb tõendada, et meetodiga on võimalik eristada tühikatsel saavutatud väärtust ja künnist. BEQ väärtuse esitamise korral määratakse kindlaks teatamiskünnis, et tegeleda proovidega, mis annavad kõnealusest künnisest madalamal tasemel tulemuse. Tuleb tõendada, et teatamiskünnis erineb menetluse tühiproovide väärtusest vähemalt kolm korda ja vastus jääb allapoole töövahemikku. Seepärast arvutatakse see proovide alusel, mis sisaldavad sihtühendeid ligikaudu nõutud miinimumtasandil, mitte signaali-müra suhte või tühikatse alusel.

— Kinnitava meetodi puhul peab määramispiir (LOQ) olema ligikaudu üks viiendik huvipakkuvast kontsentratsioonist.

6.6. **Analüüsikriteeriumid**

— Kinnitava või sõelumismeetodi abil usaldusväärsete tulemuste saamiseks peavad TEQ väärtus ja vastav BEQ väärtus vastama järgmistele kriteeriumidele, olenemata sellest, kas see määratakse kindlaks TEQ koguväärtusena (PCDD/Fide ja dioksiinitaoliste PCBde summana) või PCDD/PCDFi ja dioksiinitaoliste PCBde kohta eraldi.

	Sõeluuring bioanalüütiliste või füüsikalis-keemiliste meetoditega	Kinnitavad meetodid
Valenegatiivsete tulemuste määr (*)	< 5 %	
Tõesus		– 20 % kuni + 20 %
Korduvus (RSD_r)	< 20 %	
Laborisisene korratavus (RSD_R)	< 25 %	< 15 %

(*) piirnormide puhul

6.7. **Sõelumismeetodile esitatavad erinõuded**

— Sõeluuringuks võib kasutada nii GC/MS-meetodit kui ka bioanalüütilisi meetodeid. GC/MS-meetodi suhtes kohaldatakse käesoleva lisa punktis 7 sätestatud nõudeid. Rakupõhisele bioanalüütilisele meetodile esitatavad erinõuded on sätestatud käesoleva lisa punktis 8.

— Laborid, kes kasutavad proovide tavakontrolliks sõelumismeetodeid, peavad tegema tihedat koostööd kinnitavat meetodit kasutavate laboritega.

— Tavaanalüüside käigus tuleb kontrollida sõelumismeetodi tulemuslikkust analüüsi kvaliteedi kontrolli ja meetodi pideva valideerimise teel. Nõuetele vastavate tulemuste kontrolliks peab olema kehtestatud pidev kava.

— *Kontrollida tuleb raku reaktsiooni võimalikku pärssumist ja tsütotoksilisust*

20 % prooviekstraktidest kontrollitakse tavapärasel sõeluuringul, lisades neile või jättes lisamata huvipakkuvale kontsentratsioonile vastavas koguses 2,3,7,8-TCDDd, et kontrollida, kas prooviekstraktis esinevad segavad ained võivad reaktsiooni pärssida. Rikastatud proovis mõõdetud kontsentratsiooni võrreldakse rikastamata ekstrakti kontsentratsiooni ja rikastava aine kontsentratsiooni summaga. Kui see mõõdetud sisaldus jääb rohkem kui 25 % arvutatud (summaarsest) kontsentratsioonist väiksemaks, viitab see signaali võimalikule pärssumisele ja asjaomast proovi tuleb analüüsida GC/HRMS-meetodi abil tehtava kinnitava analüüsiga. Tulemusi kontrollitakse kvaliteedikontrolli kaartide põhjal.

— *Nõuetele vastavate proovide kvaliteedikontroll*

Ligikaudu 2–10 % nõuetele vastavate proovide tulemustest tuleb olenevalt uuritava proovi materjalist ja labori kogemustest kinnitada GC/HRMS-meetodiga.

— *Valenegatiivsete tulemuste määra arvutamine kvaliteedikontrolli andmete põhjal*

Määratakse, kui suur on valenegatiivsete tulemuste määr, mis on saadud alla- ja ülespoole piirnorme või häiretasemeid jäävate proovide sõeluuringul. Valenegatiivsete vastuste tegelik määr peab jääma alla 5 %.

Kui proovimaterjali / -materjalide rühma kohta on olemas vähemalt 20 nõuetele vastava proovi kvaliteedikontrolliga kinnitatud tulemused, arvutatakse nende andmete põhjal valenegatiivsete tulemuste määr. Valenegatiivsete tulemuste määra arvutamiseks vajaliku minimaalse 20 tulemuse hulka võib arvata ka laboritevahelistes võrdluskatsetes või seoses saastumisjuhtumiga analüüsitud proovide tulemused, milles määratava aine kontsentratsioon ületab piirnormi näiteks kaks korda. Proovid peavad hõlmama levinumaid analoogide kombinatsioone, mis pärinevad eri allikatest.

Kuigi sõeluuringu eelistatav eesmärk on teha kindlaks häiretaset ületavad proovid, lähtutakse valenegatiivsete tulemuste määra kindlaksmääramisel piirnormist, võttes arvesse kinnitava meetodi mõõtemääramatust.

— Sõelumismeetodil leitud võimalikke nõuetele mittevastavaid proove kontrollitakse alati kinnitava analüüsimeetodiga (GC/HRMS). Neid proove võib kasutada ka valepositiivsete tulemuste osa hindamiseks. Sõelumismeetodi puhul on „valepositiivsete tulemuste" määr selliste tulemuste osa, mis tunnistatakse GC/HRMS-meetodil tehtud kinnitava analüüsiga nõuetele vastavaks, kuigi varasemal sõeluuringul osutus proov nõuetele mittevastavuse kahtlusega prooviks. Sõelumismeetodi eeliste hindamisel tuleb valepositiivse tulemuse andnud proovide arvu siiski võrrelda kontrollitud proovide koguarvuga. See määr peab olema piisavalt väike, et sõelumismeetodit oleks mõtet kasutada.

— Bioanalüütilised meetodid peavad vähemalt valideerimistingimustes näitama usaldusväärselt, milline on BEQdes arvutatud ja väljendatud TEQ väärtus.

— Ka korduvuse tingimustes peaks rakendatud bioanalüütiliste meetodite laborisisene RSD_r olema tavaliselt väiksem kui korratavuse RSD_R.

7. GC/HRMS-MEETODITELE ESITATAVAD ERINÕUDED, MIDA TULEB TÄITA SÕELUURINGU VÕI KINNITAVA ANALÜÜSI PUHUL

7.1. **Üldnõuded**

— Toiduainete puhul, mille saasteainete sisaldus on ligikaudu 1 pg WHO-TEQ 1 g rasva kohta (PCDD/Fide ja dioksiinitaoliste PCBde summa alusel), ei tohi ülemise ja alumise tõkke vahe ületada 20 %. Sama nõuet kohaldatakse ka vähese rasvasisaldusega toiduainete suhtes, mille dioksiinisisaldus on ligikaudu 1 pg WHO-TEQ 1 g toote kohta. Väiksema dioksiinisisalduse puhul, näiteks 0,5 pg WHO-TEQ 1 g toote kohta, võib ülemise ja alumise tõkke vahe olla 25–40 %.

7.2. **Saagiste kontroll**

— Analüüsimeetodi valideerimiseks tuleb analüüsimise alguses, näiteks enne ekstraheerimist, lisada ^{13}C-märgistatud 2,3,7,8-kloorasendatud PCDD/Fide sisestandardeid ja ^{13}C-märgistatud dioksiinitaoliste PCBde sisestandardeid. Iga tetra- kuni oktaklooritud PCDD/Fide homoloogilise rühma kohta ning iga dioksiinitaoliste PCBde homoloogilise rühma kohta tuleb lisada vähemalt üks analoog (alternatiivina võib lisada vähemalt ühe analoogi iga massispektromeetriliselt selekteeritud iooni registreerimisfunktsiooni kohta, mida kasutatakse PCDD/Fide ja dioksiinitaoliste PCBde sisalduse kontrolliks). Kinnitavate meetodite puhul tuleb kasutada kõiki seitsetteist ^{13}C-märgistatud 2,3,7,8-asendatud PCDD/Fide sisestandardit ja kõiki kahtteist ^{13}C-märgistatud dioksiinitaoliste PCBde sisestandardit.

— Suhtelised kaliibrimistegurid tuleb asjakohaseid kaliibrimislahuseid kasutades määrata ka sellistele analoogidele, mille puhul ^{13}C-märgistatud analoogi ei lisata.

— Taimsete ja loomsete toiduainete puhul, mille rasvasisaldus on väiksem kui 10 %, tuleb sisestandardid lisada enne ekstraheerimist. Loomsete toiduainete puhul, mille rasvasisaldus on suurem kui 10 %, võib sisestandardid lisada kas enne või pärast rasva ekstraheerimist. Ekstraheerimise tõhusus tuleb valideerida sobival viisil olenevalt sellest, millisel analüüsietapil sisestandardid lisatakse ja kas analüüsitulemused esitatakse toote või rasva kohta.

— Enne GC/MS-analüüsi tuleb lisada üks või kaks saagisestandardit (surrogaatstandardit).

— Saagist tuleb kontrollida. Kinnitava meetodi puhul peab individuaalse sisestandardi saagis olema vahemikus 60–120 %. Individuaalsete analoogide, eriti mõnede hepta- ja oktaklooritud dibenso-*p*-dioksiinide ja dibensofuraanide puhul on väiksemad või suuremad saagised vastuvõetavad üksnes tingimusel, et nende osa TEQ väärtuses ei ületa 10 % TEQ koguväärtusest (PCDD/Fide ja dioksiinitaoliste PCBde summa alusel). GC/MS-sõelumismeetodite puhul peab saagis olema vahemikus 30–140 %.

7.3. **Segavate ainete eraldamine**

— PCDD/Fid eraldatakse segavatest klooritud ühenditest, näiteks muudest kui dioksiinitaolistest PCBdest ja klooritud difenüüleetritest, sobiva kromatograafilise meetodiga (eelistada tuleks florisil-, alumiiniumoksiid- ja/või süsinikkolonne).

— Isomeeride gaasikromatograafiline lahutamine peab olema piisav (1,2,3,4,7,8-HxCDFi ja 1,2,3,6,7,8-HxCDFi piikide kattuvus on < 25 %).

7.4. **Kaliibrimine standardkõveraga**

— Kaliibrimiskõvera vahemik peab hõlmama asjakohast huvipakkuvate kontsentratsioonide vahemikku.

8. BIOANALÜÜTILISTELE MEETODITELE ESITATAVAD ERINÕUDED

Bioanalüütilised meetodid on bioloogilistele põhimõtetele tuginevad meetodid, nagu rakupõhine, retseptor- ja immuunanalüüs. Käesolevas punktis 8 sätestatakse bioanalüütilistele meetoditele esitatavad üldnõuded.

Sõelumismeetodiga liigitatakse proov põhimõtteliselt nõuetele vastavaks või nõuetele mittevastavuse kahtlusega prooviks. Selleks võrreldakse arvutatud BEQ väärtust künnisega (vt punkt 8.3). Allapoole künnist jäävad proovid tunnistatakse nõuetele vastavaks; künnisega võrdsete või seda ületavate proovide puhul kahtlustatakse nõuetele mittevastavust ja neid tuleb analüüsida kinnitava meetodiga. Praktikas võib kõige sobivamaks künniseks olla BEQ väärtus, mis vastab 2/3 piirnormist ja tagab, et valenegatiivsete tulemuste määr jääb alla 5 % ja valepositiivsete tulemuste määr on vastuvõetav. Kui PCDD/Fide piirnorm ning PCDD/Fide ja dioksiinitaoliste PCBde summa piirnorm on erinevad, on proovide nõuetele vastavuse kontrollimiseks ilma fraktsioneerimiseta vaja PCDD/Fide jaoks asjakohaseid bioanalüüsi künniseid. Häiretaset ületavate proovide kontrollimisel sobib künniseks asjakohane protsent vastavast huvipakkuvast kontsentratsioonist.

Lisaks võidakse teatud bioanalüütiliste meetodite puhul määrata töövahemikku jäävatele ja teatamiskünnise ületavatele proovidele BEQdes väljendatud soovituslik sisaldus (vt punktid 8.1.1 ja 8.1.6).

8.1. **Analüüsitulemuse hindamine**

8.1.1. *Üldnõuded*

— Kui kontsentratsioone arvutatakse TCDD kaliibrimiskõvera alusel, iseloomustab kõvera alumise ja ülemise osa väärtusi suur varieeruvus (variatsioonikoefitsiendi CV suur väärtus). Töövahemik on ala, kus CV on väiksem kui 15 %. Töövahemiku alumine piir (teatamiskünnis) peab olema oluliselt (vähemalt kolm korda) suurem tühikatse tulemusest. Töövahemiku ülemine piir esitatakse tavaliselt EC_{70} väärtusena (70 % suurimast toimet avaldavast kontsentratsioonist), kuid see on väiksem, kui CV on selles vahemikus suurem kui 15 %. Töövahemik määratakse valideerimise käigus. Ka künnised (punkt 8.3) peavad kindlalt jääma töövahemikku.

— Standardlahuseid ja prooviekstrakte analüüsitakse vähemalt kaks korda. Kahekordse analüüsimise korral annab analüüsitav standardlahus või kontrollekstrakt, mida analüüsitakse neljas kuni kuues üle plaadi jaotatud süvendis, vastuse või sisalduse (võimalik ainult töövahemikus), mis põhineb CV-l, mis on väiksem kui 15 %.

8.1.2. *Kaliibrimine*

8.1.2.1. Kaliibrimine standardkõveraga

— Proovide dioksiinisisaldust võib hinnata, võrreldes analüüsitulemust TCDD (või PCB 126 või PCDD/Fi / dioksiinitaolise PCB standardsegu) kaliibrimiskõveraga, et arvutada ekstrakti ja seejärel proovi BEQ väärtus.

— Kaliibrimiskõver peab hõlmama 8–12 kontsentratsiooni (vähemalt kahe paralleelmõõtmisega), nii et kõvera alumises osas (töövahemikus) on piisavalt kontsentratsioone. Erilist tähelepanu tuleb pöörata regressioonikõvera kvaliteedile töövahemikus. Mittelineaarse regressiooni korral ei ole R^2 väärtusest kui sellisest regressiooni kvaliteedi hindamisel eriti või üldse abi. Parem regressioonikõver kõvera töövahemikus saavutatakse arvutatud ja mõõdetud sisalduste vahede minimeerimisega (nt ruuthälvete summa minimeerimisega).

— Seejärel korrigeeritakse proovi ekstrakti hinnangulist dioksiinisisaldust uuritava materjali / lahusti tühikatse alusel arvutatud BEQ väärtuse põhjal (et võtta arvesse kasutatud lahustites ja kemikaalides esinevaid lisandeid) ning näilise saagise põhjal (arvutatakse sellise sobiva etalonproovi BEQ väärtuse alusel, mille representatiivne analoogikombinatsioon vastab umbkaudu huvipakkuvale kontsentratsioonile). Saagise korrigeerimiseks peab näiline saagis alati olema nõutavas vahemikus (vt punkt 8.1.4). Saagise korrigeerimiseks kasutatavad etalonproovid peavad vastama punktis 8.2 sätestatud nõuetele.

8.1.2.2. Kaliibrimine etalonproovide abil

Teise võimalusena võib kasutada vähemalt nelja huvipakkuvale kontsentratsioonile ligikaudu vastava etalonproovi alusel (vt punkt 8.2: üks uuritava materjali tühikatse ning kolm etalonproovi 0,5-, 1,0- ja 2,0-kordsel huvipakkuval kontsentratsioonil) koostatud kaliibrimiskõverat, mis kõrvaldab vajaduse teha parandid tühikatse ja saagise arvestamiseks. Sellisel juhul võib otse nende proovide alusel arvutada analüüsitulemuse, mis vastab 2/3 piirnormist (vt punkt 8.3), ja kasutada seda künnisena. Häiretaset ületavate proovide kontrollimisel on sobivaks künniseks asjakohane protsent neist häiretasemetest.

8.1.3. *PCDD/Fide ja dioksiinitaoliste PCBde eraldi määramine*

Ekstraktid võib jagada PCDD/Fisid ja dioksiinitaoliseid PCBsid sisaldavateks osadeks, mis võimaldab eraldi kindlaks määrata PCDD/Fide ja dioksiinitaoliste PCBde TEQ väärtused (BEQdes). Dioksiinitaoliseid PCBsid sisaldava osa analüüsimise tulemuste hindamiseks tuleks eelistatavalt kasutada standardi PCB 126 kaliibrimiskõverat.

8.1.4. *Bioanalüüsi näilised saagised*

Bioanalüüsi näiline saagis arvutatakse sobivate etalonproovide alusel, mille representatiivne analoogide kombinatsioon vastab ligikaudu huvipakkuvale kontsentratsioonile, ja see väljendatakse BEQ väärtuse protsendina TEQ väärtusest. Olenevalt analüüsi liigist ja kasutatud TEFist ([1]) võib dioksiinitaoliste PCBde TEF- ja REP-kordajate erinevuse tulemusel dioksiinitaoliste PCBde näiline saagis olla võrreldes PCDD/Fi saagisega väike. Seepärast peab PCDD/Fide ja dioksiinitaoliste PCBde sisalduse eraldi määramisel bioanalüüsi näiline saagis olema järgmine: dioksiinitaolised PCBd: 25–60 %, PCDD/Fid: 50–130 % (vahemik kehtib TCDD kaliibrimiskõvera kasutamisel). Dioksiinitaoliste PCBde osa PCDD/Fide ja dioksiinitaoliste PCBde summas võib eri proovimaterjalide ja proovide puhul olla erinev; need vahemikud kajastuvad summa bioanalüüsi näilises saagises, mis peab olema 30–130 %.

8.1.5. *Saagiste kontroll puhastamisel*

— Valideerimisel kontrollitakse ühendite kadu puhastamisel. Eri analoogide seguga rikastatud tühiproov (paralleelkatsete arv n on vähemalt 3) puhastatakse ning saagist ja varieeruvust kontrollitakse GC/HRMS-analüüsiga. Saagis peab olema vahemikus 60–120 %, eelkõige selliste analoogide puhul, mis moodustavad eri segude TEQ väärtusest rohkem kui 10 %.

8.1.6. *Teatamiskünnis*

— BEQ väärtustest teatamisel tuleb teatamiskünnis kindlaks määrata tüüpiliste analoogide kombinatsioonidega asjakohasest materjalist proovide alusel, mitte standardite kaliibrimiskõvera alusel, kuna kõvera alumises osas on täpsus väike. Ekstraheerimise ja puhastamise mõju tuleb arvesse võtta. Teatamiskünnis peab olema tühikatse väärtusest oluliselt (vähemalt kolm korda) suurem.

8.2. **Etalonproovide kasutamine**

— Etalonproovid peavad esindama uuritava proovi materjali, analoogide kombinatsioone ja PCDD/Fide ning dioksiinitaoliste PCBde kontsentratsioonivahemikke, mis umbes vastavad huvipakkuvale kontsentratsioonile (piirnorm või häiretase).

— Igas katseseerias tuleb kasutada tühikatset, eelistatavalt uuritava proovi materjaliga tühikatset ja huvipakkuva kontsentratsiooniga etalonproovi. Neid proove tuleb ekstraheerida ja analüüsida samal ajal ja samades tingimustes. Etalonproovi dioksiinisisaldus peab olema selgelt suurem tühiproovi dioksiinisisaldusest, mis tõendab, et analüüs on tehtud õigesti. Neid proove võib kasutada tühikatset ja saagist arvestava parandi tegemisel.

— Saagiseparandi tegemiseks valitud etalonproovid peavad olema analüüsitava proovi suhtes representatiivsed, st analoogide kombinatsioonid ei tohi põhjustada sisalduse alahindamist.

— Selleks et tõendada analüüsi nõuetekohast tulemuslikkust huvipakkuva kontsentratsiooni kontrollimisel huvipakkuva kontsentratsiooni vahemikus, võib lisaks kasutada näiteks 0,5- ja 2-kordsele huvipakkuvale kontsentratsioonile vastavaid etalonproove. Üheskoos võib neid proove kasutada analüüsitavate proovide BEQ väärtuse arvutamiseks (punkt 8.1.2.2).

8.3. **Künniste määramine**

BEQ väärtustes väljendatud bioanalüütiliste tulemuste ja TEQ väärtustes väljendatud GC/HRMS-analüüsi tulemuste suhe määratakse nt asjakohase proovimaterjaliga tehtud kaliibrimiskatsetega, milles kasutatakse etalonproove, mille rikastustasemed võrduvad 0, 0,5-, 1- ja 2-kordse piirnormiga ja mida korratakse igal tasemel kuus korda (n = 24). Selle sõltuvuse alusel saab hinnata (tühiproovi ja saagise) parandid, kuid neid tuleb igas katseseerias kontrollida, lisades proovimaterjalita tühikatse / proovimaterjaliga tühikatse ja saagiseproovi (punkt 8.2).

Künnised määratakse selleks, et otsustada, kas proov vastab piirnormile, või vajaduse korral häiretaseme kontrollimiseks, kusjuures asjaomased huvipakkuvad kontsentratsioonid on kehtestatud kas PCDD/Fide või dioksiinitaoliste PCBde jaoks või PCDD/Fide ja dioksiinitaoliste PCBde summa jaoks. Künnis on bioanalüüsi tulemuste (mida on parandatud tühikatse ja saagise arvestamiseks) jaotuse *alumine* piir, mis vastab 95 % usaldusväärsusega GC/HRMS-analüüsi otsustuspiirile (eeldades, et valenegatiivsete tulemuste määr on < 5 % ja RSD_R < 25 %). GC/HRMS otsustuspiir on piirnorm, võttes arvesse mõõtemääramatust.

Praktikas võib künnise (BEQdes) arvutada, kasutades üht järgmistest meetoditest (vt joonis 1).

([1]) Kehtivad nõuded põhinevad TEFil, mis on avaldatud järgmises artiklis: M. Van den Berg *et al.*, *Toxicol. Sci.* 93 (2), 223–241 (2006).

8.3.1. Künnise määramine 95 % usaldusvahemiku *alumise* piiri kasutamisega GC/HRMS-analüüsi jaoks kindlaksmääratud otsustuspiiril

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

kus:

BEQ_{DL} on BEQ, mis vastab GC/HRMS-analüüsi jaoks kindlaks määratud otsustuspiirile ja on piirnorm, mille puhul on arvesse võetud mõõtemääramatust

$s_{y,x}$ on jääkstandardhälve

$t_{\alpha,f=m-2}$ on Studenti tegur (α = 5 %, f = vabadusastmete arv, ühepoolse piiranguga)

m on kaliibrimispunktide koguarv (indeks j)

n korduste arv igal tasemel

x_i kaliibrimispunkti i GC/HRMS proovi kontsentratsioon (TEQdes)

$\bar{x}$ kõikide kaliibrimisproovide keskmine kontsentratsioon (TEQdes)

$Q_{xx} = \sum_{j=1}^{m}(x_i - \bar{x})^2$ ruutude summa parameeter, i = kaliibrimispunkti i indeks

8.3.2. Künnise arvutamine GC/HRMS-analüüsi jaoks kindlaks määratud otsustuspiiril saastatud proovide korduval analüüsimisel (n ≥ 6) saadud (tühikatse ja saagise arvestamiseks parandatud) bioanalüütilistest tulemustest; künnis on andmete jaotuse *alumine* piir asjaomase keskmise BEQ väärtuse juures:

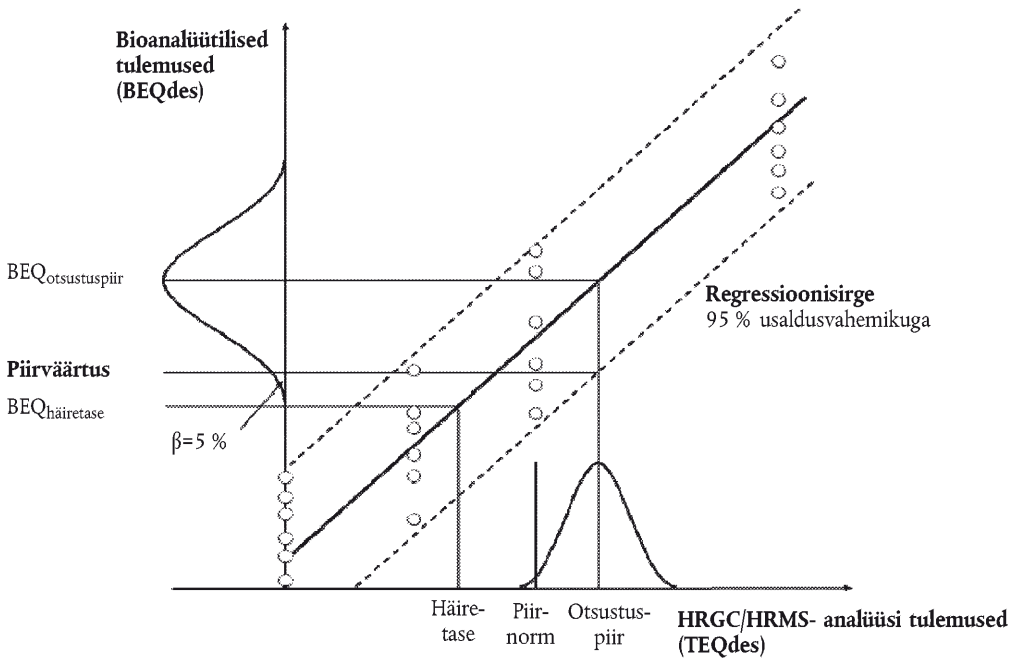
$$\text{künnis} = BEQ_{DL} - 1{,}64 \times SD_R$$

kus

SD_R on bioanalüüsi tulemuste standardhälve BEQ_{DL} tasemel, mõõdetuna laborisisese korratavuse tingimustes

8.3.3. Künnise arvutamine bioanalüütiliste tulemuste keskväärtusena (BEQdes, parandatud tühikatse ja saagise arvestamiseks) 2/3 huvipakkuva kontsentratsiooni ulatuses saastatud proovide mitmekordse (n ≥ 6) analüüsimise alusel. See põhineb tähelepanekul, et kõnealune tase vastab umbkaudu punkti 8.3.1 või 8.3.2 alusel kindlaks määratud künnisele.

Joonis 1



Künniste arvutamine 95 % usaldusnivoo juures eeldusel, et valenegatiivsete tulemuste määr < 5 % ja RSD_R < 25 %: 1) 95 % usaldusvahemiku *alumise* piiri alusel HRGC/HRMS-analüüsi jaoks kindlaks määratud otsustuspiiri juures; 2) HRGC/HRMS-analüüsi jaoks kindlaks määratud otsustuspiiril saastatud proovide mitmekordse analüüsimise (n ≥ 6) alusel saadud tulemuste jaotuse (joonisel kellukesekujuline kõver) *alumise* piiri järgi sellekohase keskmise BEQ väärtuse juures.

8.3.4. *Künnistele kehtestatud piirangud*

BEQ-põhised künnised, mis on arvutatud valideerimise käigus saadud RSD_R alusel, kasutades piiratud arvu eri proovimaterjalide/analoogide kombinatsioonidega proove, võivad olla kõrgemad kui TEQ-põhised huvipakkuvad kontsentratsioonid, kuna valideerimisel saavutatakse suurem kordustäpsus kui tavaolukorras (kus tuleb kontrollida võimalike analoogide kombinatsioonide tundmatut spektrit). Sellisel juhul võetakse künnise arvutamisel aluseks RSD_R = 25 % või eelistatakse 2/3 huvipakkuvast kontsentratsioonist.

8.4. **Tulemuslikkuse näitajad**

— Bioanalüütiliste meetodite puhul ei ole võimalik kasutada sisestandardeid, seepärast on väga tähtis teha katseseeriasisese ja katseseeriatevahelise standardhälbe kohta andmete saamiseks korduvuskatsed. Korduvus peab olema alla 20 %, laborisisene korratavus alla 25 %. See peab põhinema arvutatud BEQ väärtustel pärast tühikatse- ja saagiseparandi arvessevõtmist.

— Valideerimise käigus tõendatakse, et analüüs võimaldab eristada tühiproovi ja künnisele vastavat kontsentratsiooni, mis võimaldab kindlaks teha proovid, milles asjaomane künnis on ületatud (vt punkt 8.1.2).

— Määratakse kindlaks sihtühendid, võimalikud segavad tegurid ja tühikatse suurimad lubatud väärtused.

— Ühe prooviekstrakti kolmekordsel määramisel saadud tulemuse (võimalik üksnes töövahemikus) alusel arvutatud standardhälve ei tohi analüüsitulemuses või kontsentratsioonis ületada 15 %.

— Bioanalüütilise meetodi tulemuslikkuse hindamiseks kindlal ajavahemikul kasutatakse etalonproovi(de) (tühikatse ja huvipakkuv kontsentratsioon) korrigeerimata tulemusi, mis on väljendatud BEQdes.

— Määramismeetodi tühikatsete ja iga tüüpi etalonproovide kohta tuleb koostada kvaliteedikontrolli kaardid ja kontrollida, kas analüüsi tulemuslikkus vastab nõuetele; eelkõige on nõutav teatava miinimumerinevuse olemasolu määramismeetodi tühikatsete ja töövahemiku alumise piiri vahel ning etalonproovide puhul on nõutav laborisisene korratavus. Määramismeetodi tühikatseid tuleb põhjalikult kontrollida, et vältida valenegatiivsete tulemuste saamist pärast lahutamist.

— Nõuetele mittevastavuse kahtlusega proovide ja 2–10 % nõuetekohaste proovide (vähemalt 20 proovi iga uuritava materjali kohta) GC/HRMS-analüüsi tulemused tuleb koondada ja kasutada sõelumismeetodi tulemuslikkuse ja BEQ ning TEQ suhte hindamiseks. Neid andmeid võib kasutada tavaproovide suhtes kohaldatavate künniste ümberhindamiseks valideeritud proovimaterjalide jaoks.

— Meetodi tulemuslikkust võib tõendada ka laboritevahelistes võrdluskatsetes osalemisega. Võrdluskatsete käigus analüüsitud proovid hõlmavad nt kuni kahekordse piirnormini ulatuvat kontsentratsioonivahemikku ja nende tulemusi võib kasutada ka valenegatiivsete tulemuste määra hindamisel, kui labor suudab tõendada oma suutlikkust. Proovid peavad hõlmama levinumaid analoogide kombinatsioone, mis pärinevad eri allikatest.

— Saastumisjuhtumite korral võidakse künnised ümber hinnata, võttes arvesse asjaomase juhtumi proovimaterjali ja analoogide kombinatsioone.

9. TULEMUSTE ESITAMINE

Kinnitavad meetodid

— Selleks et tulemuste aruanne sisaldaks võimalikult palju andmeid ja võimaldaks tulemuste tõlgendamist erinõuete kohaselt, peavad analüüsitulemused, kui kasutatud analüüsimeetod seda võimaldab, hõlmama individuaalsete PCDD/Fi ja dioksiinitaoliste PCB analoogide sisaldust ning olema esitatud alumise ja ülemise tõkke ning vaheväärtusena.

— Aruandesse tuleb märkida ka PCDD/Fide, dioksiinitaoliste PCBde ja lipiidide ekstraheerimiseks kasutatud meetod. Proovi lipiidisisaldus määratakse ja esitatakse rasvapõhise piirnormi või rasvapõhise häiretasemega toiduproovide puhul, mille eeldatav rasvasisaldus on vahemikus 0–2 % (kooskõlas kehtivate õigusaktidega); muude proovide puhul esitatakse lipiidisisaldus vajaduse korral.

— Individuaalsete sisestandardite saagised tuleb esitada juhul, kui need jäävad väljapoole punktis 7.2 nimetatud vahemikku, kui on ületatud piirnormi ja kui nende teatamist nõutakse.

— Kuna proovi nõuetelevastavuse hindamisel tuleb arvestada mõõtemääramatust, tuleb esitada ka see näitaja. Seega esitatakse analüüsitulemus järgmisel kujul: x +/– U, kus x on analüüsitulemus ja U on laiendatud mõõtemääramatus, kusjuures arvutamisel kasutatakse kattegurit 2, mis annab usaldusväärsuse tasemeks ligikaudu 95 %. Kui PCDD/Fid ja dioksiinitaolised PCBd määratakse eraldi, tuleb PCDD/Fide ja dioksiinitaoliste PCBde summa kohta kasutada PCDD/Fide ja dioksiinitaoliste PCBde eraldi analüüsitulemuste hinnanguliste laiendatud mõõtemääramatuste summat.

— Kui mõõtemääramatust võetakse arvesse CCα kohaldamisega (nagu on kirjeldatud II lisa IV punkti alapunktis 2), tuleb see näitaja esitada.

— Tulemused esitatakse samades ühikutes ja (vähemalt) sama täpsusega, nagu on esitatud määruses (EÜ) nr 1881/2006 sätestatud piirnormid.

Bioanalüütilised sõelumismeetodid

— Sõeluuringu tulemus esitatakse järgmisel kujul: nõuetele vastav või nõuetele mittevastavuse kahtlusega („kahtlane").

— Lisaks sellele võib PCDD/Fide ja/või dioksiinitaoliste PCBde sisalduse esitada bioanalüütilistes ekvivalentides (BEQdes) (mitte TEQdes) (vt III lisa punkt 2).

— Kui arvutatud BEQ taseme mõõtemääramatus esitatakse nt standardhälbena, peab see põhinema vähemalt proovi kolmekordsel analüüsil (mis iga kord hõlmab ekstraheerimist, puhastamist ja katsetulemuse kindlaksmääramist).

— Allapoole teatamispiiri jääva tulemusega proovi tulemus esitatakse kui teatamispiirist allapoole jääv proov.

— Aruandes tuleb iga proovimaterjali tüübi kohta esitada huvipakkuv sisaldus (piirnorm, häiretase), millel hindamine põhineb.

— Aruandes esitatakse kasutatud analüüsi liik, peamised analüüsi põhimõtted ja kaliibrimise viis.

— Aruandes esitatakse ka PCDD/Fide, dioksiinitaoliste PCBde ja lipiidide ekstraheerimiseks kasutatud meetod. Rasvapõhise piirnormi või rasvapõhise häiretasemega toiduproovide puhul ja kui eeldatav rasvasisaldus on vahemikus 0–2 %, määratakse ja esitatakse proovi lipiidisisaldus (kooskõlas kehtivate õigusaktidega); muude proovide puhul esitatakse lipiidisisaldus vajaduse korral.

III LISA liide

Inimeste tervist ähvardavate ohtude hindamisel kasutatavad Maailma Terviseorganisatsiooni (WHO) TEFi väärtused, mis põhinevad 2005. aasta juunis Genfis peetud rahvusvahelise kemikaaliohutusprogrammi (IPCS) ekspertide kohtumise järeldustel (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)).

Analoog	TEFi väärtus	Analoog	TEFi väärtus
Polüklorodibenso-p-dioksiinid (PCDDd)		**Dioksiinitaolised PCBd, orto-asendamata PCBd + mono-orto-asendatud PCBd**	
2,3,7,8-TCDD	1		
1,2,3,7,8-PeCDD	1	*Orto-asendamata PCBd*	
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		
Polüklorodibensofuraanid (PCDFid)		*Mono-orto-asendatud PCBd*	
		PCB 105	0,00003
2,3,7,8-TCDF	0,1	PCB 114	0,00003
1,2,3,7,8-PeCDF	0,03	PCB 118	0,00003
2,3,4,7,8-PeCDF	0,3	PCB 123	0,00003
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0,1	PCB 156	0,00003
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0,1	PCB 157	0,00003
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0,1	PCB 167	0,00003
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0,1	PCB 189	0,00003
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0,01		
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0,01		
OCDF	0,0003		

Kasutatud lühendid: T = tetra, Pe = penta, Hx = heksa, Hp = hepta, O = okta, CDD = klorodibensodioksiin, CDF = klorodibensofuraan, CB = klorobifenüül.

IV LISA

Proovide ettevalmistamine ja nõuded analüüsimeetoditele, mida kasutatakse mittedioksiinitaoliste PCBde (PCB nr 28, 52, 101, 138, 153, 180) sisalduse ametlikuks kontrolliks teatavates toiduainetes

1. **Kohaldatavad määramismeetodid**

Gaasikromatograafia ja elektronhaarde detekteerimine (GC/ECD), gaasikromatograafia ja madala lahutusvõimega massispektromeetria (GC/LRMS), kromatomassispektromeetria (GC/MS-MS), gaasikromatograafia ja kõrglahutus-massispektromeetria (GC/HRMS) või samaväärne meetod.

2. **Vaatlusaluste analüütide tuvastamine ja kinnitamine**

— Suhteline retentsiooniaeg, mis vastab sisestandarditele või etalonstandarditele (lubatud hälve +/– 0,25 %).

— Kinnitada tuleb kõigi kuue indikaator-PCB (PCB 28, PCB 52, PCB 101, PCB 138, PCB 153 ja PCB 180) gaasikromatograafiline eraldamine segavatest ainetest, eelkõige koos elueeruvatest PCBdest, ennekõike kui proovides leiduvad sisaldused on kehtiva piirnormi piires ning kui tuleb kinnitada nõuetele mittevastavust.

Märkus. Sageli koos elueeruvad analoogid on nt PCB 28/31, PCB 52/69 ja PCB 138/163/164. GC/MS-meetodi puhul tuleb arvesse võtta ka tugevamalt klooritud analoogide fragmentide võimalikku segavat mõju.

— GC/MS-meetodi puhul:

— tuleb kontrollida vähemalt järgmist:

— HRMSi puhul kaht konkreetset iooni;

— LRMSi puhul kaht konkreetset iooni, mille puhul m/z > 200, või kolme konkreetset iooni, mille puhul m/z > 100;

— MS-MS puhul üht eellasiooni ja kaht järglasiooni.

— Valitud massiosade isotoopkoguste suhte suurimad lubatud hälbed

Valitud massifragmentide isotoopkoguste suhte suhteline hälve teoreetilisest isotoopide kogusest või sihtiooni (kõige levinum kontrollitav ioon) ja iseloomuliku iooni (iseloomulike ioonide) kaliibrimisstandardist:

Iseloomuliku iooni (iseloomulike ioonide) suhteline intensiivsus, võrreldes sihtiooniga	GC-EI-MS (suhteline hälve)	GC-CI-MS, GC-MS^n (suhteline hälve)
> 50 %	± 10 %	± 20 %
> 20 % – 50 %	± 15 %	± 25 %
> 10 % – 20 %	± 20 %	± 30 %
≤ 10 %	± 50 % (*)	± 50 % (*)

(*) Ei soovitata kasutada iseloomulikke ioone, mille suhteline intensiivsus on vähem kui 10 % võrreldes sihtiooniga, kuna on olemas piisav arv massifragmente, mille suhteline intensiivsus on üle 10 %.

— GC/ECD-meetodi puhul:

tolerantsi ületavate tulemuste kinnitamine kahe GC-kolonniga, millel on eri polaarsusega statsionaarne faas.

3. **Meetodi tulemuslikkuse tõendamine**

Meetodi tulemuslikkuse valideerimine huvipakkuva kontsentratsiooni vahemikus (0,5- kuni 2-kordsel huvipakkuval kontsentratsioonil); tõendatakse, et korduvanalüüsi variatsioonikordaja on vastuvõetav (vt vahetäpsuse nõuded, punkt 8).

4. **Määramispiir**

Tühikatse väärtused ei tohi ületada 30 % piirnormile vastavast saastetasemest ([1]).

5. **Kvaliteedikontroll**

Korrapärased tühikatsed, rikastatud proovide analüüs, kvaliteedikontrolli proovid, osalemine asjaomaste proovimaterjalidega tehtud laboritevahelistes uuringutes.

([1]) On väga soovitatav, et reaktiivi tühikatse väärtus oleks madal võrreldes proovis leiduva saasteaine tasemega. Labor on kohustatud kontrollima tühikatse väärtuse muutumist, eriti siis, kui tühikatse väärtus tuleb lahutada.

6. **Saagiste kontroll**

— Sobivate sisestandardite kasutamine, millel on vaatlusaluste analüütidega võrreldavad füüsikalis-keemilised omadused.

— Sisestandardite lisamine:

  — lisamine toodetele (enne ekstraheerimist ja puhastamist);

  — neid võib lisada ka ekstraheeritud rasvadele (enne puhastamist), kui piirnorm on avaldatud rasva kaudu.

— Selliste meetodite nõuded, mille puhul kasutatakse kõiki kuut isotoopmärgistatud indikaator-PCB analoogi:

  — tulemuste korrigeerimine, et võtta arvesse sisestandardite saagiseid;

  — isotoopmärgistatud sisestandardite üldiselt aktsepteeritavad saagised on 50–120 %;

  — individuaalsetel analoogidel, mille osatähtsus kuue indikaator-PCB summas on alla 10 %, võivad olla suuremad või väiksemad saagised.

— Selliste meetodite nõuded, mille puhul ei kasutata kõiki kuut isotoopmärgistatud sisestandardit või kasutatakse muid sisestandardeid:

  — iga proovi sisestandardi(te) saagise kontroll;

  — sisestandardi(te) aktsepteeritav saagis on 60–120 %;

  — tulemuste korrigeerimine, et võtta arvesse sisestandardite saagiseid.

— Märgistamata analoogide saagiseid kontrollitakse rikastatud proovide või kvaliteedikontrolli proovidega, mille kontsentratsioonid on huvipakkuva kontsentratsiooni vahemikus. Nende analoogide aktsepteeritavad saagised on 70–120 %.

7. **Nõuded laboritele**

Vastavalt määrusele (EÜ) nr 882/2004 peavad laborid olema ISO juhendi 58 kohaselt tegutseva tunnustatud asutuse poolt akrediteeritud, millega tagatakse, et laborid kohaldavad analüüsimisel kvaliteeditagamissüsteemi. Laborid akrediteeritakse standardi EN ISO/IEC 17025 kohaselt.

8. **Tulemuslikkuse näitajad: kuue huvipakkuvale kontsentratsioonile vastava indikaator-PCB summa suhtes kohaldatavad kriteeriumid**

Tõesus	– 30 kuni + 30 %
Vahetäpsus (RSD %)	≤ 20 %
Ülemise ja alumise tõkke erinevus	≤ 20 %

9. **Tulemuste esitamine**

— Selleks et tulemuste aruanne sisaldaks võimalikult palju andmeid ja võimaldaks tulemuste tõlgendamist erinõuete kohaselt, peavad analüüsitulemused, kui kasutatud analüüsimeetod seda võimaldab, hõlmama individuaalsete PCB analoogide sisaldust ning olema esitatud alumise ja ülemise tõkke ning vaheväärtusena.

— Aruandesse tuleb märkida ka PCBde ja lipiidide ekstraheerimiseks kasutatud meetod. Proovi lipiidisisaldus määratakse ja esitatakse rasvapõhise piirnormiga toiduproovide puhul, mille eeldatav rasvasisaldus on vahemikus 0–2 % (kooskõlas kehtivate õigusaktidega); muude proovide puhul määratakse lipiidisisaldus vajaduse korral.

— Individuaalsete sisestandardite saagised tuleb esitada juhul, kui need jäävad väljapoole punktis 6 nimetatud vahemikku või kui on ületatud piirnormi ja kui neist teatamist nõutakse.

— Kuna proovi nõuetelevastavuse hindamisel tuleb arvestada mõõtemääramatust, tuleb esitada ka see näitaja. Seega esitatakse analüüsitulemus järgmisel kujul: x +/– U, kus x on analüüsitulemus ja U on laiendatud mõõtemääramatus, kusjuures arvutamisel kasutatakse katketegurit 2, mis annab usaldusväärsuse tasemeks ligikaudu 95 %.

— Kui mõõtemääramatust võetakse arvesse CCα kohaldamisega (nagu on kirjeldatud II lisa IV punkti alapunktis 1), tuleb see näitaja esitada.

— Tulemused tuleb esitada samades ühikutes ja (vähemalt) sama täpsusega, nagu on esitatud määruses (EÜ) nr 1881/2006 sätestatud piirnormid.