РЕГЛАМЕНТ (ЕС) № 589/2014 НА КОМИСИЯТА

от 2 юни 2014 година

за определяне на методи за вземане на проби и анализ за контрол на съдържанието на диоксини, диоксиноподобни полихлорирани бифенили (PCB) и недиоксиноподобни PCB в определени храни и за отмяна на Регламент (ЕС) № 252/2012

(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 ([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) С Препоръка 2013/711/ЕС на Комисията ([3]) се определят прагове на интервенция (нива на действие), за да се насърчи активният подход за намаляване на наличието на полихлорирани дибензопарадиоксини (PCDD), полихлорирани дибензофурани (PCDF) и диоксиноподобни PCB в храните. Тези нива на действие са инструмент за компетентните органи и операторите, с който се подчертават онези случаи, в които е подходящо да се идентифицира източникът на замърсяване и да се предприемат мерки за неговото намаляване или отстраняване.

(3) С Регламент (ЕС) № 252/2012 на Комисията ([4]) от 21 март 2012 г. се въвеждат специални разпоредби във връзка с процедурата за вземане на проби и методите за анализ, които да се прилагат за целите на официалния контрол.

(4) 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 и на Препоръка 2013/711/ЕС. Те не засягат стратегията за вземане на проби, нито равнищата и честотата на вземане на проби, определени в приложения III и IV към Директива 96/23/ЕО на Съвета ([5]). Разпоредбите не засягат и критериите, свързани с ориентираното към целта вземане на проби, установени в Решение 98/179/ЕО на Комисията ([6]).

(5) За идентифициране на проби със значителни количества на PCDD/PCDF и на диоксиноподобни PCB (за предпочитане е отсяване на проби, при които нивата на действие 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 с достатъчна чувствителност 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 действие.

(6) 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.

([1]) ОВ L 165, 30.4.2004 г., стр. 1.

([2]) Регламент (ЕО) № 1881/2006 на Комисията от 19 декември 2006 г. за определяне на максимално допустимите количества на някои замърсители в храните (ОВ L 364, 20.12.2006 г., стр. 5).

([3]) Препоръка 2013/711/ЕС на Комисията от 3 декември 2013 г. за намаляване на наличието на диоксини, фурани и ПХБ във фуражите и храните (ОВ L 323, 4.12.2013 г., стр. 37).

([4]) Регламент (ЕС) № 252/2012 на Комисията от 21 март 2012 г. 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 (ОВ L 84, 23.3.2012 г., стр. 1).

([5]) Директива 96/23/ЕО на Съвета от 29 април 1996 г. относно мерките за наблюдение на определени вещества и остатъци от тях в живи животни и животински продукти и за отмяна на директиви 85/358/ЕИО и 86/469/ЕИО и на решения 89/187/ЕИО и 91/664/ЕИО (ОВ L 125, 23.5.1996 г., стр. 10).

([6]) 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 (ОВ L 65, 5.3.1998 г., стр. 31).

(7) При риби от един и същи вид с произход от един и същи район, количеството на диоксини, диоксиноподобни PCB и недиоксиноподобни PCB може да бъде различно в зависимост от размера и/или възрастта на рибата. Освен това количеството на диоксини, диоксиноподобни PCB и недиоксиноподобни PCB невинаги 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.

(8) 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.

(9) Техническият напредък и развитие показа, че освен газова хроматография/масспектрометрия с висока разделителна способност (GC-HRMS), като метод за потвърждение за проверка на съответствието с максимално допустимите количества може да се използва и газова хроматография/тандемна масспектрометрия (GC-MS/MS). Поради това Регламент (ЕС) № 252/2012 следва да бъде заменен с нов регламент, с който да се предвиди използването на газова хроматография/тандемна масспектрометрия (GC-MS/MS) като подходящ метод за потвърждение за проверка на съответствието спрямо максимално допустимите количества.

(10) Мерките, предвидени в настоящия регламент, са в съответствие със становището на Постоянния комитет по хранителната верига и здравето на животните,

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 анализите за 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 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 методите за анализ.

Член 5

Регламент (ЕС) № 252/2012 се отменя.

Позоваванията на отменения регламент се тълкуват като позовавания на настоящия регламент.

Член 6

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

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

Съставено в Брюксел на 2 юни 2014 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 ([1]).

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

1.1. „Ниво на действие“ означава нивото от дадено вещество, както е определено в приложението към Препоръка 2013/711/ЕС, при което се налага провеждането на разследвания с цел установяване на източника на това вещество в случаите, в които са налице завишени количества от веществото.

1.2. „Скрининг методи“означава методи, използвани за отсяване на пробите с нива на PCDD/PCDF и на диоксиноподобни PCB, които надвишават максимално допустимите количества или нивата на действие. Те позволяват 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 се основават на биоаналитични методи или методи на GC-MS. Резултатите от пробите, които надвишават граничните стойности за проверка на съответствието спрямо максимално допустимото количество, се проверяват посредством пълен повторен анализ от оригиналната проба чрез метод за потвърждение.

1.3. „Методи за потвърждение“ означава методи, които дават пълна или допълнителна информация, позволяваща идентифицирането и еднозначното количествено определяне на PCDD/PCDF и диоксиноподобни PCB по отношение на максимално допустимото количество или при необходимост, на нивото на действие. При тези методи се използва газова хроматография/масспектрометрия с висока разделителна способност (GC-HRMS) или газова хроматография/тандемна масспектрометрия (GC-MS/MS).

1.4. „Биоаналитични методи“ означава 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 при изпитването, могат да се подчиняват на всички изисквания на принципа на TEQ.

1.5. „Експериментално измерен аналитичен добив при биоанализ“ означава нивото на BEQ, изчислено от калибрационната крива на TCDD или на PCB 126, коригирано с резултатите от празната проба и след това разделено на нивото на TEQ, определено чрез метода за потвърждение. 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 при биоанализ се изчислява от подходящи референтни проби с представителни модели на конгенери около максимално допустимото количество или нивото на действие.

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

1.7. „Приета специфична граница за количествено определяне на отделен конгенер в дадена проба“ означава най-ниското съдържание на аналита, което може да бъде измерено при разумна степен на статистическа сигурност, при изпълнение на критериите за идентифициране, описани в международно признати стандарти, например в стандарт EN 16215:2012 (Фуражи — определяне на диоксини, диоксиноподобни PCB и на индикаторни PCB чрез GC/HRMS) и/или в последната редакция на методи EPA 1613 и 1668.

Границата за количествено определяне на отделен конгенер може да бъде определена като

а) концентрацията на даден аналит в екстракта от дадена проба, който 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 интензивния сигнал на необработени данни;

или, ако поради технически причини изчислението на съотношението сигнал/шум не дава надеждни резултати;

б) най-ниската точка на концентрация на калибрационна крива, която дава приемливо (≤ 30 %) и постоянно (измерено поне в началото и в края на дадена аналитична серия от проби) отклонение спрямо средния относителен фактор на отговор, изчислен за всички точки по калибрационната крива при всяка серия от проби ([3]).

([1]) 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 (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). В екстракта от пробата е възможно наличието на други структурно свързани съединения с активен AhR, които допринасят за общата реакция. Следователно биоаналитичните резултати не могат да се разглеждат като оценка, а по-скоро като показател за стойността на TEQ в пробата.

([3]) Границата за количествено определяне (LOQ) се изчислява от най-ниската точка на концентрация, като се отчете аналитичният добив от вътрешните стандарти и количеството на пробата.

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

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

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

1.11. „Партида“ означава 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.

1.12. „Подпартида“ означава 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.

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

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

1.15. „Лабораторна проба“ означава представителна част/количество от съставната проба, предназначено за лабораторията.

II. ИЗПОЛЗВАНИ СЪКРАЩЕНИЯ

BEQ	Биоаналитични еквиваленти
GC	Газова хроматография
HRMS	Масспектрометрия с висока разделителна способност
LRMS	Масспектрометрия с ниска разделителна способност
MS/MS	Тандемна масспектрометрия
PCB	Полихлорирани бифенили
PCDD	Полихлорирани дибензо-p-диоксини
PCDF	Полихлорирани дибензофурани
KK	Контрол на качеството
REP	Относителен потенциал
TEF	Фактор за токсична еквивалентност
TEQ	Токсични еквиваленти
TCDD	Тетрахлородибензодиоксин
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 недиоксиноподобни PCB, наричани по-нататък „диоксини и PCB“, в храните се вземат в съответствие с 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 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 повторни анализи.

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 другите продукти се прилага таблица 2. Като се има предвид, че теглото на партидата невинаги 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 (тонове)	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 за определяне на равнищата и честотата на вземане на проби, предвидени от Директива 96/23/ЕО за наблюдението на определени вещества и остатъци от тях в някои животински продукти, размерът на съставната проба за кокоши яйца 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 килограми 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.

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“ ([1]).

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.

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

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.

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 (*), без съмнение надвишава максимално допустимото количество, като се отчита неопределеността на измерването. За проверка на съответствието се използва осреднената стойност от двете определяния, 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 доверителна вероятност 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 скрининг 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 максимално допустимите количества, 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 (**), без съмнение надвишава максимално допустимото количество, като се отчита неопределеността на измерването. За проверка на съответствието се използва средната стойност от двете определяния, 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 доверителна вероятност 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 оценената разширена 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.

(*) Повторният анализ е необходим, ако резултатът от първото определяне чрез прилагане на методи за потвърждение при използване на маркиран с ^{13}C вътрешен стандарт за съответните аналити сочи несъответствие. Повторният анализ е необходим, за да се изключи възможността от вътрешно кръстосано замърсяване или от случайно смесване на пробите. 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, и откритото количество е значително над максимално допустимото количество.

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

V. НАДВИШАВАНЕ НА НИВАТА НА ДЕЙСТВИЕ

Нивата на действие 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. В случай че са необходими значителни усилия за идентифициране на източника или за намаляване или отстраняване на замърсяването, може да е целесъобразно надвишаването на нивата на действие да се потвърди чрез повторен анализ при използване на метод за потвърждение и като се отчита неопределеността на измерването (**).

ПРИЛОЖЕНИЕ III

ПОДГОТОВКА НА ПРОБИТЕ И ИЗИСКВАНИЯ КЪМ МЕТОДИТЕ ЗА АНАЛИЗ, ИЗПОЛЗВАНИ ЗА 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-p-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 чрез два различни вида аналитични методи:

а) **Скрининг методи**

Целта на скрининг методите е отсяване на пробите с нива на PCDD/PCDF и на диоксиноподобни PCB, които надвишават максимално допустимите количества или нивата на действие. Тези методи позволяват 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. С прилагането им се цели избягване на фалшивите резултати за съответствие. Скрининг методите могат да включват биоаналитични методи и методи GC/MS.

Чрез тях се извършва сравнение на резултата от анализа с граничната стойност и се получава отговор от вида „да/не“ относно евентуалното надвишаване на максимално допустимото количество или нивото на действие. Концентрацията на PCDD/PCDF и сумата от PCDD/PCDF и диоксиноподобните PCB в пробите, за които има съмнение за несъответствие спрямо максимално допустимото количество, трябва да бъдат определени/потвърдени чрез метод за потвърждение.

Освен това скрининг методите може да дадат индикация за количествата на PCDD/PCDF и диоксиноподобните PCB, които се съдържат в пробата. При прилагане на биоаналитични скрининг методи резултатът се изразява като биоаналитични еквиваленти (BEQ), докато при прилагане на физикохимични GC-MS той се изразява като токсични еквиваленти (TEQ). Цифрово изразените резултати от скрининг методите са подходящи за доказване на съответствието или на съмненията за несъответствие или надвишаване на нивата на действие и при проследяване чрез методи за потвърждение показват диапазона на нивата. Те не са подходящи за цели като извършване на оценка на фоновите нива, предварителна оценка на количеството, проследяване на тенденции във времето при нивата или повторна оценка на нивата на действие и на максимално допустимите количества.

б) **Методи за потвърждение**

Методите за потвърждение позволяват еднозначното идентифициране и количествено определяне на съдържащите се в дадена проба PCDD/PCDF и диоксиноподобни PCB и предоставят пълна информация въз основа на конгенерите. Следователно тези методи позволяват извършването на контрол на максимално допустимите количества и нивата на действие, в т.ч. потвърждаване на резултатите, получени чрез скрининг методите. Освен това резултатите могат да бъдат използвани за други цели, като например определяне на ниски фонови нива при мониторинг на храните, проследяване на тенденции във времето, извършване на оценка на експозицията на населението и създаване на база данни за евентуална повторна оценка на нивата на действие и на максимално допустимите количества. Те са важни също така за установяването на модели на конгенери с оглед идентифицирането на източника на евентуално замърсяване. При тези методи се използва GC-HRMS. За потвърждаване на съответствието или несъответствието спрямо максимално допустимите количества може да се използва и GC-MS/MS.

2. 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 на максимално допустимото количество или на нивото на действие.

3. 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 при 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 на максимално допустимото количество или на нивото на действие.

— 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.

4. ИЗИСКВАНИЯ КЪМ ЛАБОРАТОРИИТЕ

— В съответствие с разпоредбите на Регламент (ЕО) № 882/2004 на Европейския парламент и на Съвета ([1]) 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.

— 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.

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

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

— Подлежащите на откриване количества от PCDD/PCDF, 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 за количествено определяне от порядъка на нанограма (10^{-9} g). Въпреки това за измерването на по-токсичните диоксиноподобни конгенери на PCB (и по-специално неортозаместените) долната граница на работния обхват трябва да достига до ниските стойности от порядъка на пикограма (10^{-12} g).

5.2. **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.

([1]) 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 (ОВ L 165, 30.4.2004 г., стр. 1).

5.3. **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 измереното 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* (разлика между средната стойност, измерена за даден аналит в сертифициран материал и неговата сертифицирана стойност, изразена като процент от тази стойност) и *прецизност* (RSD_R, относително стандартно отклонение, което се изчислява на базата на резултатите, получени при възпроизводими условия).

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

5.4. **Валидиране в диапазона на максимално допустимите количества 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 максимално допустимото количество, например на нива 0,5, 1 и 2 пъти по-високи от максимално допустимото количество 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.

5.5. **Граница за количествено определяне**

— 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 ниво на отчитане за обработването на проби, чийто отговор е под това ниво. Нивото на отчитане трябва доказано да се различава най-малко три пъти от нивото при процедурите с празни проби, като отговорът е под работния обхват. Следователно това ниво 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 за количествено определяне (LOQ) трябва да бъде около 1/5 от максимално допустимото количество.

5.6. **Аналитични критерии**

— За да се получат надеждни резултати чрез методите за потвърждение или скрининг методите, в диапазона на максимално допустимото количество или нивото на действие 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.

5.7. **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 6 от настоящото приложение. Специфичните изисквания по отношение на клетъчните биоаналитични методи са изложени в точка 7 от настоящото приложение.

— Лабораториите, които прилагат скрининг методи 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 със и без добавяне на 2,3,7,8-TCDD в съответствие с максимално допустимото количество или нивото на действие с цел да се провери възможността за евентуално потискане на отговора в резултат на 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 по-ниска от изчислената (сумарната) концентрация с повече от 25 %, това е показател за потенциално потискане на сигнала и съответната проба трябва да бъде подложена на анализ за потвърждаване. 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.

— 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 действие. Действителният дял на фалшивите резултати за 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 действие, 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 се проверяват чрез пълен повторен анализ на пълен повторен анализ на оригиналната проба чрез метод за потвърждение. 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, като при предишен скрининг за пробата са били установени съмнения за несъответствие. Оценката на ползата от скрининг метода обаче 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 нивото 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.

6. СПЕЦИФИЧНИ ИЗИСКВАНИЯ КЪМ МЕТОДИТЕ GC-MS, КОИТО ТРЯБВА ДА БЪДАТ ИЗПЪЛНЕНИ ЗА ЦЕЛИТЕ НА СКРИНИНГА ИЛИ ПОТВЪРЖДАВАНЕТО

6.1. **Приемливи разлики между горногранични и долногранични резултати за нивата на WHO-TEQ**

— Разликата между горногранично и долногранично ниво не надвишава 20 % за потвърждение на надвишаването на максимално допустимото количество или при необходимост, на нивото на действие.

6.2. **Контрол на аналитичния добив**

— 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 позиция, 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 PCB). При методите за потвърждение се използват всичките седемнадесет вътрешни стандарта за PCDD/PCDF, маркирани с ^{13}C и заместени на 2, 3, 7 и 8 позиция, и всичките 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 трябва да се прибавят един или два стандарта за аналитичния добив (сурогат).

— Необходимо е да се извършва контрол на аналитичния добив. При методите за потвърждение стойностите на аналитичния добив за отделните вътрешни стандарти трябва да бъдат в интервала от 60 до 120 %. Допустими са по-ниски или по-високи проценти на аналитичен добив за отделни конгенери, по-специално определени хепта- и октахлорирани дибензо-р-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 за аналитичния добив следва да бъдат в интервала от 30 до 140 %.

6.3. **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).

6.4. **Калибриране чрез стандартна крива**

— Обхватът на калибрационната крива трябва да покрива съответния диапазон на максимално допустимите количества или нивата на действие.

6.5. **Специфични критерии по отношение на скрининг методите**

— За GC-HRMS:

При HRMS обикновено разделителната способност е по-голяма или равна на 10 000 за целия масов обхват при минимум 10 %.

Изпълнение на други критерии за идентифициране и потвърждаване, описани в международно признати стандарти, например в стандарт EN 16215:2012 (Фуражи — определяне на диоксини, диоксиноподобни PCB и на индикаторни PCB чрез GC/HRMS) и/или в последната редакция на методи EPA 1613 и 1668.

— За GC-MS/MS:

Мониторинг на най-малко 2 специфични йона прекурсори, всеки от които с един специален йон на преходен продукт, за всички маркирани и немаркирани аналити, предмет на анализа.

Максимален разрешен толеранс на относителните интензитети на йона от ± 15 % за избрани йони на преходен продукт в сравнение с изчислените или измерените стойности (средно от калибрационните стандарти), при прилагане на идентични условия MS/MS, и по-специално енергия на сблъсъка и налягане на газа при сблъсъка за всеки преход на даден аналит.

Разделителната способност за всеки квадрупол се настройва на по-добра или равна на разделителната способност на единичната маса (разделителна способност на единичната маса: достатъчна разделителна способност, която да отдели един от друг два върха на една масова единица), за да се сведат до минимум интерференциите върху аналитите от значение.

Изпълнение на другите критерии, описани в международно признати стандарти, например в стандарт EN 16215:2012 (Фуражи — определяне на диоксини, диоксиноподобни PCB и на индикаторни PCB чрез GC/HRMS) и/или в последната редакция на методи EPA 1613 и 1668, с изключение на задължението за използване на GC-HRMS.

7. 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 7 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 ниво на BEQ се сравнява с граничната стойност (вж. точка 7.3). 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 ниво на BEQ, което отговаря на 2/3 от максимално допустимото количество, може да послужи като гранична стойност, при условие че е осигурен 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 гранична стойност при проверката на пробите, които надвишават нивата на действие, може да послужи подходящ процент от съответното ниво на действие.

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 7.1.1 и 7.1.6).

7.1. **Оценка на отговора на изследването**

7.1.1. *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 %. Долната граница на работния обхват (границата на отчитане) трябва да бъде зададена значително (поне 3 пъти) над нивото 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 обхват CV е над 15 %. Работният обхват се определя по време на валидирането. Граничните стойности (вж. точка 7.3) 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, изследвани в 4 до 6 ямки, разпределени върху лабораторната плака, дават отговор или концентрация (възможно само в рамките на работния обхват) на база CV < 15 %.

7.1.2. *Калибриране*

7.1.2.1. Калибриране чрез стандартна крива

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

— Калибрационните криви трябва да съдържат от 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 нивото на BEQ, изчислено за матрица/празна проба разтворител (за да се вземат предвид примесите от използваните разтворители и химикали), както и за експериментално измерения аналитичен добив (изчислено от нивото на BEQ на подходящи референтни проби с представителни модели на конгенера около максимално допустимото количество или нивото на действие). За извършване на корекция за аналитичен добив, експериментално измереният аналитичен добив трябва да бъде винаги в рамките на необходимия обхват (вж. точка 7.1.4). Референтните проби, които се използват за корекция за аналитичен добив, следва да отговарят на изискванията, посочени в точка 7.2.

7.1.2.2. Калибриране с референтни проби

Като алтернатива може да се използва калибрационна крива, съставена въз основа на поне 4 референтни проби (вж. точка 7.2): една празна проба от матрица плюс три референтни проби със стойност 0,5, 1 и 2 пъти стойността на максимално допустимото количество или нивото на действие, като така не се налага корекция за празна проба и за добив. В този случай отговорът на изследването, съответстващ на 2/3 от максимално допустимото количество (вж. точка 7.3), 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 действие, би могъл да се използва подходящ процент от тези нива на действие.

7.1.3. *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.

7.1.4. *Експериментално измерени аналитични добиви при биоанализ*

Експерименталното измереният аналитичен добив при биоанализ се изчислява от подходящи референтни проби с представителни модели на конгенери около максимално допустимото количество или нивото на действие и се изразява като процент от нивото на BEQ спрямо нивото 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 PCDD/PCDF и на диоксиноподобните PCB, експерименталното измереният аналитичен добив при биоанализ е: за диоксиноподобни PCB — от 20 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 %.

7.1.5. *Контрол на аналитичния добив 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 аналитичният добив и вариациите се проверяват чрез метод за потвърждение. Аналитичният добив трябва да бъде между 60 и 120 % особено за конгенери, чийто дял в нивото на TEQ в различни смеси е над 10 %.

7.1.6. *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 нивото при процедурите с празни проби (поне три пъти над него).

7.2. **Използване на референтни проби**

— Референтните проби представляват матрични проби, модели на конгенери и интервали на концентрация за PCDD/PCDF и диоксиноподобни PCB около максимално допустимото количество или нивото на действие.

— 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 максимално допустимото количество или нивото на действие. Тези проби се подлагат на екстракция и се изследват 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 аналитичен добив.

— Референтните проби, които са избрани за корекция за аналитичен добив, 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 максимално допустимото количество или нивото на действие могат да се включат допълнителни референтни проби със стойности например 0,5 и 2 пъти стойността на максимално допустимото количество или нивото на действие 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 7.1.2.2).

7.3. **Определяне на гранични стойности**

Трябва да се установи връзка между биоаналитичните резултати, изразени в BEQ, и резултатите от методите за потвърждение, изразени в TEQ (например чрез калибрационни експерименти, 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 аналитичен добив) могат да бъдат оценени въз основа на посочената връзка, но те трябва да бъдат проверявани за всяка серия от изпитвания, като се включат процедури с празни проби или празни проби от матрица, както и проби от аналитичния добив (7.2).

Граничните стойности се установяват с оглед взимане на решение за съответствието на пробите спрямо максимално допустимите количества или за контрол на нивата на действие, ако е необходимо, като съответните максимално допустими количества или нива на действие се задават или поотделно 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 аналитичен добив), съответстваща на критичната граница при метода за потвърждение въз основа на 95-процентна доверителна вероятност, което предполага процент на фалшивите резултати за съответствие < 5 %, и при RSD_R < 25 %. Критичната граница при метода за потвърждение е максимално допустимото количество, като се отчита неопределеността на измерването.

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

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

7.3.1. Използване на *долната* граница на 95-процентния интервал на предвиждане при критична граница при метода за потвърждение:

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

където:

BEQ_{DL} BEQ съответства на критичната граница при метода за потвърждение, 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 концентрация на пробата (изразена в TEQ) в калибрационна точка i, определена чрез метода за потвърждение

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

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

i = индекс за калибрационна точка i

7.3.2. Изчисляване въз основа на биоаналитични резултати (коригирани за празна проба и за аналитичен добив) от множество анализи на проби (n ≥ 6), замърсени на нивото на критичната граница при метода за потвърждение, като *долна* крайна точка на разпределението на данните при съответната осреднена стойност на BEQ:

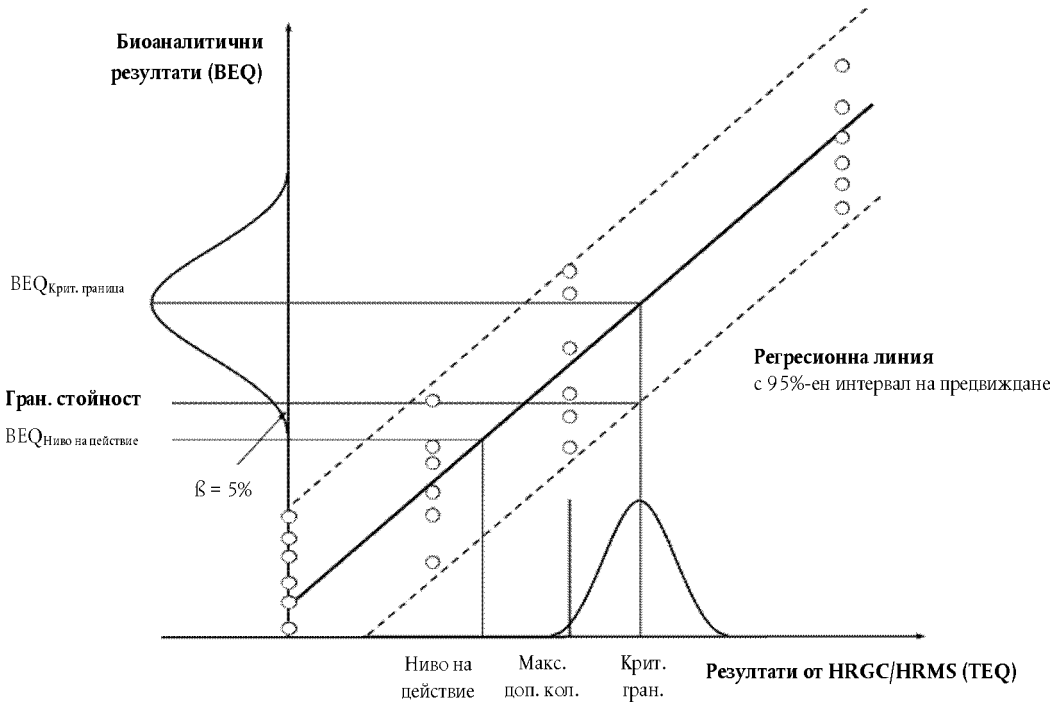
$$\text{граничнастойност} = BEQ_{DL} - 1{,}64 \times SD_R$$

където:

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

7.3.3. Изчисляване като средна стойност на биоаналитичните резултати (изразени в BEQ, коригирани за празна проба и за аналитичен добив) от множество анализи на проби (n ≥ 6), замърсени на 2/3 от нивото на максимално допустимото количество или нивото на действие. В този случай се има предвид наблюдението, че това ниво ще бъде около граничната стойност, определена съгласно точка 7.3.1 или 7.3.2.

Графика 1



Изчисляване на гранични стойности въз основа на 95-процентна доверителна вероятност, при което делът на фалшивите резултати на съответствие е < 5 %, а RSD_Rе < 25 %:

1. от *долната* граница на 95-процентния интервал на предвиждане при критичната граница при метода за потвърждение

2. от множество анализи на проби (n ≥ 6), замърсени на нивото на критичната граница при метода за потвърждение, като *долна* крайна точка на разпределението на данните (представен на графиката чрез камбановидна крива) при съответната осреднена стойност на BEQ.

7.3.4. 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 максимално допустимите количества или нивата на действие 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 максимално допустимото количество или нивото на действие.

7.4. **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 изпитвания 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 аналитичен добив.

— Като част от процеса на валидиране трябва да се докаже, че чрез изследването се постига разграничаване между празна проба и ниво, равно на граничната стойност, което позволява да се идентифицират пробите над съответната гранична стойност (вж. точка 7.1.2).

— 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 на нивото на максимално допустимото количество или на нивото на действие), 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 методите за потвърждение 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 преоценка, която да отрази специфичната матрица и модела на конгенера при конкретния инцидент.

8. ПРЕДСТАВЯНЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ

Методи за потвърждение

— Доколкото позволява аналитичната процедура, резултатите от анализа следва да включват количествата на отделните конгенери на PCDD/PCDF и диоксиноподобни PCB и да се отбелязват като долна граница, горна граница и средна граница с цел да се включи максимално възможната информация при изразяването на резултатите, позволяваща интерпретирането им в съответствие със специфичните 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, 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 аналитичния добив за отделните вътрешни стандарти трябва да бъдат представени в случаите, в които аналитичният добив е извън обхвата, посочен в точка 6.2, когато максимално допустимото количество е надвишено (в този случай — аналитичния добив за един или два повторни анализа) 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 доверителна вероятност 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 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.

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 1). 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 максимално допустимото количество или нивото на действие, на което се базира оценката.

— В отчета се посочва видът на използваното изследване, 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 количества или нива на действие, 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.

— При проби, за които има съмнение за несъответствие, отчетът трябва да включва бележка относно действията, които да бъдат предприети. Концентрацията на PCDD/PCDF и сумата от PCDD/PCDF и диоксиноподобните PCB в пробите с повишени количества трябва да бъдат определени/потвърдени чрез метод за потвърждение.

Допълнение

ФТЕ на СЗО за оценка на риска за хора, изготвени въз основа на заключенията на работния семинар на експертите в рамките на Международната програма за химическа безопасност (МПХБ) на Световната здравна организация (СЗО), 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 + моно-орто PCB**	
2,3,7,8-TCDD	1	**Не-орто PCB**	
1,2,3,7,8-PeCDD	1		
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: Т = тетра; Ре = пента; Нх = хекса; Нр = хепта; О = окта; CDD = хлородибензодиоксин; CDF = хлородибензофуран; СВ = хлоробифенил.

ПРИЛОЖЕНИЕ IV

ПОДГОТОВКА НА ПРОБИТЕ И ИЗИСКВАНИЯ КЪМ МЕТОДИТЕ ЗА АНАЛИЗ, ИЗПОЛЗВАНИ ПРИ КОНТРОЛ НА СЪДЪРЖАНИЕТО НА НЕДИОКСИНОПОДОБНИ PCB (PCB № 28, 52, 101, 138, 153, 180) В ОПРЕДЕЛЕНИ ХРАНИ

Посочените в настоящото приложение изисквания се прилагат за анализа за целите на официалния контрол на нивата на недиоксиноподобни полихлорирани бифенили (недиоксиноподобни PCB) и за други регулаторни цели.

1. **Приложими методи за откриване:**

Газова хроматография/електроноулавяща 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.

(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 техниките за GC-MS:

— 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 йон/потвърдителните йони:

Относителен интензитет на потвърдителния йон/потвърдителните йони в сравнение с базовия йон	GC-EI-MS (относително отклонение)	GC-CI-MS, GC-MS^n (относително отклонение)
> 50 %	± 10 %	± 20 %
от > 20 до 50 %	± 15 %	± 25 %
от > 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 диапазона на максимално допустимото количество (от 0,5 до 2 пъти максимално допустимото количество) 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 максималната граница ([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.

6. **Контрол на аналитичния добив:**

— 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 аналитичния добив при вътрешни стандарти;

  — общоприетият аналитичен добив при изотопно белязани вътрешни стандарти е между 50 и 120 %;

  — допустима е по-ниска или по-висока степен на аналитичен добив 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 аналитичния добив при вътрешния/вътрешните стандарт/стандарти за всяка проба;

  — приемливият аналитичен добив за вътрешния/вътрешните стандарт/стандарти е между 60 и 120 %;

  — корекция на резултатите за аналитичен добив за вътрешни стандарти.

— Аналитичният добив при небелязани конгенери се проверява чрез проби с добавен референтен материал или проби за контрол на качеството с концентрации в диапазона на максимално допустимото количество. Приемливият аналитичен добив 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 на максимално допустимото количество:**

Истинност	от – 30 до + 30 %
Междинна прецизност (процент 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 установени максимално 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.

([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.

— Данните за аналитичния добив за отделните вътрешни стандарти трябва да бъдат представени в случаите, в които аналитичният добив е извън обхвата, посочен в точка 6, когато максимално допустимото количество е надвишено 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 доверителна вероятност 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.