KOMMISSIONENS FORORDNING (EU) Nr. 589/2014

af 2. juni 2014

om prøveudtagnings- og analysemetoder til kontrol af indholdet af dioxiner, dioxinlignende PCB'er og ikke-dioxinlignende PCB'er i visse fødevarer og om ophævelse af forordning (EU) nr. 252/2012

(EØS-relevant tekst)

EUROPA-KOMMISSIONEN HAR —

under henvisning til traktaten om Den Europæiske Unions funktionsmåde,

under henvisning til Europa-Parlamentets og Rådets forordning (EF) nr. 882/2004 af 29. april 2004 om offentlig kontrol med henblik på verifikation af, at foderstof- og fødevarelovgivningen samt dyresundheds- og dyrevelfærdsbestemmelserne overholdes ([1]), særlig artikel 11, stk. 4, og

ud fra følgende betragtninger:

(1) Ved Kommissionens forordning (EF) nr. 1881/2006 ([2]) er der fastsat grænseværdier for ikke-dioxinlignende PCB'er, dioxiner og furaner og for summen af dioxiner, furaner og dioxinlignende PCB'er i visse fødevarer.

(2) Ved Kommissionens henstilling 2013/711/EU ([3]) er der fastsat indgrebsværdier for at anspore til en proaktiv fremgangsmåde, der skal reducere forekomsten af polychlorerede dibenzo-p-dioxiner og polychlorerede dibenzofuraner (PCDD'er/PCDF'er) og dioxinlignende PCB'er i fødevarer. Disse indgrebsværdier er et redskab, som de kompetente myndigheder og virksomhedsledere kan anvende til at sætte fokus på de tilfælde, hvor det er relevant at identificere en forureningskilde og træffe foranstaltninger, der reducerer eller fjerner den.

(3) Ved Kommissionens forordning (EU) nr. 252/2012 af 21. marts 2012 ([4]) er der fastsat særlige bestemmelser om prøveudtagnings- og analysemetoder til offentlig kontrol.

(4) Bestemmelserne i nærværende forordning vedrører udelukkende prøveudtagning og analyse af dioxiner, dioxinlignende PCB'er og ikke-dioxinlignende PCB'er med henblik på anvendelsen af forordning (EF) 1881/2006 og henstilling 2013/711/EU. De berører ikke strategien for prøveudtagning, omfang og hyppighed af prøveudtagningen som fastlagt i bilag III og IV til Rådets direktiv 96/23/EF ([5]). De berører ikke kriterierne for målretning af prøveudtagningen i henhold til Kommissionens beslutning 98/179/EF ([6]).

(5) Der kan anvendes en screeningsanalysemetode med alment acceptabel validering og høj produktivitet til at identificere prøver med signifikant indhold af PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende PCB'er (ved at der fortrinsvis udvælges prøver, hvori indgrebsværdierne er overskredet, og med sikkerhed udvælges prøver, hvor grænseværdierne er overskredet). Det er nødvendigt at bestemme stikprøvernes indhold af PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende PCB'er efter en verifikationsanalysemetode. Der bør derfor fastsættes passende krav til screeningsmetoden, så det sikres, at andelen af resultater, der er falsk overensstemmende i forhold til grænseværdierne, er på under 5 %, samt strenge krav til verifikationsanalysemetoderne. Verifikationsmetoder, der er tilstrækkeligt følsomme, gør det desuden muligt at bestemme lave baggrundskoncentrationer. Dette er vigtigt for at kunne følge udviklingen i niveauer over tid, vurdere eksponeringen og revurdere grænse- og indgrebsværdier.

(6) Med hensyn til udtagning af prøver af meget store fisk er det nødvendigt, at der fastsættes nærmere bestemmelser om prøveudtagningen for at sikre en harmoniseret fremgangsmåde i hele Unionen.

([1]) EUT L 165 af 30.4.2004, s. 1.

([2]) Kommissionens forordning (EF) nr. 1881/2006 af 19. december 2006 om fastsættelse af grænseværdier for bestemte forurenende stoffer i fødevarer (EUT L 364 af 20.12.2006, s. 5).

([3]) Kommissionens henstilling 2013/711/EU af 3. december 2013 om reduktion af forekomsten af dioxiner, furaner og PCB'er i foder og fødevarer (EUT L 323 af 4.12.2013, s. 37).

([4]) Kommissionens forordning (EU) nr. 252/2012 af 21. marts 2012 om prøveudtagnings- og analysemetoder til offentlig kontrol af indholdet af dioxiner, dioxinlignende PCB'er og ikke-dioxinlignende PCB'er i visse fødevarer og om ophævelse af forordning (EF) nr. 1883/2006 (EUT L 84 af 23.3.2012, s. 1).

([5]) Rådets direktiv 96/23/EF af 29. april 1996 om de kontrolforanstaltninger, der skal iværksættes for visse stoffer og restkoncentrationer heraf i levende dyr og produkter heraf og om ophævelse af direktiv 85/358/EØF og 86/469/EØF og beslutning 89/187/EØF og 91/664/EØF (EFT L 125 af 23.5.1996, s. 10).

([6]) Kommissionens beslutning 98/179/EF af 23. februar 1998 om nærmere bestemmelser for officiel prøveudtagning til kontrol af visse stoffer og restkoncentrationer heraf i levende dyr og produkter heraf (EFT L 65 af 5.3.1998, s. 31).

(7) Hos fisk af samme art og med oprindelse i samme område kan indholdet af dioxiner, dioxinlignende PCB'er og ikke-dioxinlignende PCB'er være forskelligt afhængigt af fiskens størrelse og/eller alder. Desuden er indholdet af dioxiner, dioxinlignende PCB'er og ikke-dioxinlignende PCB'er ikke nødvendigvis det samme i alle dele af fisken. Derfor er det nødvendigt, at der fastsættes nærmere bestemmelser om udtagningen og klargøringen af prøver for at sikre en harmoniseret fremgangsmåde i hele Unionen.

(8) Det er vigtigt, at analyseresultater indberettes og fortolkes på en ensartet måde for at sikre en ensartet håndhævelse i hele Unionen.

(9) Som supplement til gaskromatografi/massespektrometri med høj opløsningsevne (GC/HRMS) har tekniske fremskridt og udviklinger vist, at gaskromatografi/tandemmassespektrometri (GC/MS-MS) også kan anvendes som en verifikationsmetode til at kontrollere, om grænseværdien overholdes. Forordning (EU) nr. 252/2012 bør derfor erstattes af en forordning, der fastsætter anvendelsen af gaskromatografi/tandemmassespektrometri (GC/MS-MS) som en passende verifikationsmetode til at kontrollere, om grænseværdien overholdes.

(10) Foranstaltningerne i denne forordning er i overensstemmelse med udtalelse fra Den Stående Komité for Fødevarekæden og Dyresundhed —

VEDTAGET DENNE FORORDNING:

Artikel 1

Ved anvendelsen af denne forordning gælder definitionerne og forkortelserne i bilag I.

Artikel 2

Udtagning af prøver med henblik på offentlig kontrol af indholdet af dioxiner, furaner, dioxinlignende PCB'er og ikke-dioxinlignende PCB'er i de fødevarer, der er anført i del 5 i bilaget til forordning (EF) nr. 1881/2006, skal foregå i overensstemmelse med metoderne i bilag II til nærværende forordning.

Artikel 3

Klargøring af prøver og analyser med henblik på kontrol af indholdet af dioxiner, furaner og dioxinlignende PCB'er i de fødevarer, der er anført i del 5 i bilaget til forordning (EF) nr. 1881/2006, skal foregå i overensstemmelse med metoderne i bilag III til nærværende forordning.

Artikel 4

Analyser med henblik på kontrol af indholdet af ikke-dioxinlignende PCB'er i de fødevarer, der er anført i del 5 i bilaget til forordning (EF) nr. 1881/2006, skal udføres i overensstemmelse med kravene til analysemetoder i bilag IV til nærværende forordning.

Artikel 5

Forordning (EU) nr. 252/2012 ophæves.

Henvisninger til den ophævede forordning gælder som henvisninger til nærværende forordning.

Artikel 6

Denne forordning træder i kraft på tyvendedagen efter offentliggørelsen i *Den Europæiske Unions Tidende*.

Denne forordning er bindende i alle enkeltheder og gælder umiddelbart i hver medlemsstat.

Udfærdiget i Bruxelles, den 2. juni 2014.

På Kommissionens vegne

José Manuel BARROSO

Formand

BILAG I

DEFINITIONER OG FORKORTELSER

I. DEFINITIONER

Ved anvendelsen af denne forordning gælder definitionerne i bilag I til Kommissionens beslutning 2002/657/EF ([1]).

I denne forordning gælder desuden følgende definitioner:

1.1. Ved »indgrebsværdi« forstås niveauet for forekomst af et givet stof, jf. bilaget til henstilling 2013/711/EU, som udløser undersøgelser til bestemmelse af kilden til det pågældende stof i tilfælde, hvor der påvises forhøjede værdier for stoffet.

1.2. Ved »screeningsmetoder« forstås metoder til udvælgelse af de stikprøver med indhold af PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende PCB'er, der overskrider grænse- eller indgrebsværdierne. De giver mulighed for omkostningseffektivitet og høj produktivitet med hensyn til antallet af screenede prøver, hvilket forbedrer mulighederne for at opdage nye hændelser med høj eksponering og sundhedsrisici for forbrugerne. Screeningsmetoder skal baseres på bioanalytiske metoder eller GC/MS-metoder. Resultaterne fra prøver, der overstiger afskæringsværdien, som kontrollerer, at grænseværdierne overholdes, skal verificeres ved en fuldstændig ny analyse af den originale prøve ved en verifikationsmetode.

1.3. Ved »verifikationsmetoder« forstås metoder, der giver fuldstændig eller supplerende information, så PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende PCB'er kan identificeres og bestemmes entydigt ved grænseværdien eller hvis nødvendigt ved indgrebsværdien. Sådanne metoder omfatter anvendelse af gaskromatografi/højtopløsende massespektrometri (GC/HRMS) eller gaskromatografi/tandemmassespektrometri (GC/MS-MS).

1.4. Ved »biologiske analysemetoder« forstås metoder, der er baseret på anvendelse af biologiske principper, såsom cellebaserede assays, receptorassays eller immunassays. Disse metoder giver ikke resultater på kongenerniveau men giver udelukkende en indikation ([2]) af TEQ-niveauet, udtrykt i bioanalytiske ækvivalenter (BEQ), hvorved der tages hensyn til det forhold, at det ikke nødvendigvis er alle forbindelser i et prøveekstrakt, som giver respons i testen, der opfylder samtlige TEQ-princippets forudsætninger.

1.5. Ved »tilsyneladende bioassay-genfinding« forstås BEQ-niveauet beregnet ud fra TCDD- eller PCB 126-kalibreringskurven, korrigeret for blindprøven og efterfølgende divideret med det TEQ-niveau, der er bestemt ved verifikationsmetoden. Formålet er at korrigere for faktorer såsom tabet af PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende forbindelser i ekstraktions- og oprensningsfasen, medekstraherede forbindelser, som forstærker eller svækker responset (henholdsvis agonistisk og antagonistisk virkning), kvaliteten af kurvetilpasningen eller forskelle mellem henholdsvis TEF- og REP-værdierne. Den tilsyneladende bioassay-genfinding beregnes ud fra passende referenceprøver med repræsentative kongenermønstre omkring grænse- eller indgrebsværdien.

1.6. Ved »semikvantitative metoder« forstås metoder, der giver en tilnærmet indikation af koncentrationen af den formodede (putative) analyt, uden at det numeriske resultat opfylder kravene til kvantitative metoder.

1.7. Ved »den accepterede specifikke bestemmelsesgrænse for en enkelt kongener i en prøve« forstås det laveste indhold af analyt, der kan påvises med rimelig statistisk sikkerhed, og der opfylder identifikationskriterierne, som er baseret på internationalt anerkendte standarder, f.eks. standard EN 16215:2012 (Foderstoffer — Bestemmelse af dioxiner og dioxinlignende PCB-forbindelser samt indikator-PCB-forbindelser ved GC/HRMS) og/eller EPA-metoderne 1613 og 1668 som revideret.

Bestemmelsesgrænsen for en enkelt kongener kan identificeres som:

a) koncentrationen af en analyt i det prøveekstrakt, som giver en instrumentrespons for de to forskellige ioner, der skal undersøges, med et signal-støj-forhold på 3:1 for det mindst intensive rå data signal

eller, hvis signal-støj-beregningen af tekniske grunde ikke giver et pålideligt resultat,

b) det laveste koncentrationspunkt på en kalibreringskurve, der giver en acceptabel (≤ 30 %) og konsekvent (målt i det mindste ved begyndelsen eller slutningen af en analytisk prøveserie) afvigelse fra den gennemsnitlige relative responsfaktor, der beregnes ud fra alle punkter på kalibreringskurven i hver prøveserie ([3]).

([1]) Kommissionens beslutning 2002/657/EF af 14. august 2002 om gennemførelsesbestemmelser til Rådets direktiv 96/23/EF for så vidt angår analysemetoders ydeevne og fortolkning af resultater (EFT L 221 af 17.8.2002, s. 8).

([2]) Bioanalytiske metoder er ikke specifikt udformet til kongenerne i TEF-skemaet. I prøveekstraktet kan der forekomme andre strukturelt beslægtede AhR-aktive forbindelser, som bidrager til den samlede prøvereaktion. Resultaterne af bioanalytiske metoder kan derfor ikke være et estimat, men snarere en indikation af TEQ-indholdet i prøven.

([3]) Bestemmelsesgrænsen (LOQ) beregnes ud fra det laveste koncentrationspunkt, idet der tages hensyn til genfinding af interne standarder og prøvemængde.

1.8. Ved »øvre koncentration« forstås, at hver ikke-bestemt kongeners bidrag anses for at være lig med bestemmelsesgrænsen.

1.9. Ved »nedre koncentration« forstås, at hver ikke-bestemt kongeners bidrag anses for at være nul.

1.10. Ved »middelkoncentration« forstås, at hver ikke-bestemt kongeners bidrag anses for at være lig med halvdelen af bestemmelsesgrænsen.

1.11. Ved »parti« forstås en identificerbar mængde af en fødevare, der leveres på én gang, og hvorom det ved den offentlige kontrol konstateres, at den har fælles kendetegn, såsom oprindelse, art, emballagetype, emballeringsvirksomhed, afsender eller mærker. For så vidt angår fisk og fiskevarer skal også fiskenes størrelse være sammenlignelig. Hvis fiskene i en sending ikke har sammenlignelig størrelse og/eller vægt, kan sendingen fortsat betragtes som et parti, men der skal anvendes en særlig prøveudtagningsprocedure.

1.12. Ved »delparti« forstås en del af et stort parti, der udvælges med henblik på anvendelse af prøveudtagningsmetoden. Hvert delparti skal være fysisk adskilt og identificerbart.

1.13. Ved »enkeltprøve« forstås en materialemængde, der udtages fra et enkelt sted i partiet eller delpartiet.

1.14. Ved »samleprøve« forstås det materiale, der fremkommer ved, at man samler alle enkeltprøverne fra partiet eller delpartiet.

1.15. Ved »laboratorieprøve« forstås en repræsentativ del/mængde af samleprøven bestemt til laboratoriebrug.

II. ANVENDTE FORKORTELSER

BEQ	Bioanalytiske ækvivalenter
GC	Gaskromatografi
HRMS	Højtopløsende massespektrometri
LRMS	Lavtopløsende massespektrometri
MS/MS	Tandemmassespektrometri
PCB'er	Polychlorerede biphenyler
PCDD'er	Polychlorerede dibenzo-p-dioxiner
PCDF'er	Polychlorerede dibenzofuraner
QC	Kvalitetskontrol
REP	Relativ styrke
TEF	Toksicitetsækvivalensfaktor
TEQ	Toksicitetsækvivalenter
TCDD	Tetrachlordibenzodioxin
U	Ekspanderet måleusikkerhed

BILAG II

PRØVEUDTAGNINGSMETODER TIL OFFENTLIG KONTROL AF INDHOLDET AF DIOXINER (PCDD'ER/PCDF'ER), DIOXINLIGNENDE PCB'ER OG IKKE-DIOXINLIGNENDE PCB'ER I VISSE FØDEVARER

I. ANVENDELSESOMRÅDE

Prøver til offentlig kontrol af indholdet af dioxiner (PCDD'er/PCDF'er), dioxinlignende PCB'er og ikke-dioxinlignende PCB'er (i det følgende benævnt »dioxiner og PCB'er«) i fødevarer udtages efter de metoder, der er fastsat i dette bilag. De derved fremkomne samleprøver betragtes som repræsentative for de partier eller delpartier, de er udtaget fra. På grundlag af det indhold, der er konstateret i laboratorieprøverne, fastslås det, om grænseværdierne i forordning (EF) nr. 1881/2006 om fastsættelse af grænseværdier for bestemte forurenende stoffer i fødevarer er overholdt.

II. ALMINDELIGE BESTEMMELSER

1. **Personale**

Prøveudtagningen foretages af en af medlemsstaten udpeget og autoriseret person.

2. **Materiale til prøveudtagning**

Prøveudtagningen af hvert parti eller delparti, som skal undersøges, foregår separat.

3. **Forholdsregler**

Under udtagning og klargøring af prøver træffes der forholdsregler for at undgå ændringer, som kan påvirke indholdet af dioxiner og PCB'er, have uheldig indflydelse på analyseresultatet eller gøre samleprøverne urepræsentative.

4. **Enkeltprøver**

Enkeltprøver udtages så vidt muligt forskellige steder i partiet eller delpartiet. Afvigelser fra denne fremgangsmåde registreres i det skema, der er nævnt i del II, punkt 8, i dette bilag.

5. **Klargøring af samleprøven**

Samleprøven sammensættes ved, at enkeltprøverne samles. Den skal veje mindst 1 kg, medmindre det ikke lader sig gøre, f.eks. hvis prøven er udtaget fra en enkelt pakning, eller hvis produktet har en meget høj handelsværdi.

6. **Kontraprøver**

Kontraprøverne, der udtages med henblik på håndhævelse af reglerne, som bevismiddel og til referenceformål, udtages af den homogeniserede samleprøve, medmindre dette er i modstrid med medlemsstaternes forskrifter om fødevarevirksomhedslederens rettigheder. Laboratorieprøver til håndhævelse af reglerne skal have en størrelse, der er tilstrækkelig til, at der kan udføres mindst to analyser.

7. **Emballering og forsendelse af prøver**

Hver prøve anbringes i en ren beholder af inert materiale, der giver tilstrækkelig beskyttelse mod forurening, mod, at indersiden af beholderen adsorberer analytter, og mod beskadigelse under forsendelse. Alle de nødvendige forholdsregler træffes for at undgå ændringer i prøvens sammensætning, som kan opstå under transport eller opbevaring.

8. **Forsegling og mærkning af prøver**

Hver prøve, der udtages til officiel brug, forsegles på prøveudtagningsstedet og identificeres i henhold til medlemsstatens forskrifter.

Der udarbejdes et skema over hver enkelt prøveudtagning, således at hvert parti entydigt kan identificeres, med angivelse af dato og sted for prøveudtagningen samt eventuelle yderligere oplysninger, som kan være til hjælp for laboranten.

III. PRØVEUDTAGNINGSPLAN

Den anvendte prøveudtagningsmetode skal sikre, at samleprøven er repræsentativ for det (del)parti, der skal kontrolleres.

1. **Opdeling af partier i delpartier**

Hvis delpartiet kan udskilles fysisk, opdeles store partier i delpartier. For produkter, der handles i store bulksendinger (f.eks. vegetabilsk olie), anvendes tabel 1. For andre produkter anvendes tabel 2. Da partiets vægt ikke altid er et nøjagtigt multiplum af delpartiernes vægt, kan delpartiets vægt overstige den nævnte vægt, dog højst med 20 %.

Tabel 1

Opdeling af partier i delpartier for produkter, der handles i bulksendinger

Partiets vægt (ton)	Delpartiernes vægt eller antal
≥ 1 500	500 ton
> 300 og < 1 500	3 delpartier
≥ 50 og ≤ 300	100 ton
< 50	—

Tabel 2

Opdeling af partier i delpartier for øvrige produkter

Partiets vægt (ton)	Delpartiernes vægt eller antal
≥ 15	15 til 30 ton
< 15	—

2. **Antal enkeltprøver**

Samleprøven, der består af alle enkeltprøverne, skal veje mindst 1 kg (jf. del II, punkt 5, i dette bilag).

Mindsteantallet af enkeltprøver, der skal udtages fra partiet eller delpartiet, er angivet i tabel 3 og 4.

For så vidt angår flydende produkter i løs vægt blandes partiet eller delpartiet så grundigt som muligt, og på en måde så det ikke påvirker produktets kvalitet, enten manuelt eller mekanisk umiddelbart inden prøveudtagningen. I så fald antages det, at forekommende forurenende stoffer er fordelt ensartet i et givet parti eller delparti. Det er derfor tilstrækkeligt at udtage tre enkeltprøver fra et parti eller delparti, som tilsammen udgør samleprøven.

Enkeltprøverne skal have omtrent samme vægt. En enkeltprøve skal veje mindst 100 g.

Afvigelser fra denne fremgangsmåde skal registreres i det skema, der er nævnt i del II, punkt 8, i dette bilag. I overensstemmelse med beslutning 97/747/EF om omfang og hyppighed af den i direktiv 96/23/EF omhandlede prøveudtagning med henblik på overvågning af visse stoffer og restkoncentrationer heraf i visse animalske produkter fastsættes størrelsen af samleprøven for hønseæg til mindst 12 æg (både for partier i løs vægt og for partier bestående af enkeltpakninger, jf. tabel 3 og 4).

Tabel 3

Mindsteantal enkeltprøver, der skal udtages fra partiet eller delpartiet

Partiets/delpartiets vægt eller rumfang (kg eller l)	Mindsteantal enkeltprøver, der skal udtages
< 50	3
50 til 500	5
> 500	10

Hvis partiet eller delpartiet består af enkeltpakninger eller enheder, skal der for at danne samleprøven udtages det antal pakninger eller enheder, der er fastsat i tabel 4.

Tabel 4

Antal pakninger eller enheder (enkeltprøver), der skal udtages for at danne samleprøven, hvis partiet eller delpartiet består af enkeltpakninger eller enheder

Antal pakninger eller enheder i partiet/delpartiet	Antal pakninger eller enheder, der skal udtages
1 til 25	mindst 1 pakning eller enhed
26 til 100	ca. 5 %, dog mindst 2 pakninger eller enheder
> 100	ca. 5 %, dog højst 10 pakninger eller enheder

3. **Særlige bestemmelser om udtagning af prøver af partier, der indeholder hele fisk, hvis størrelse og vægt kan sidestilles**

Fisks størrelse og vægt anses for at kunne sidestilles, hvis forskellen i størrelse og vægt ikke er større end ca. 50 %.

Antallet af enkeltprøver, der skal udtages fra partiet, er fastsat i tabel 3. Samleprøven, der består af alle enkeltprøverne, skal veje mindst 1 kg (jf. del II, punkt 5).

— Hvis det parti, der skal udtages prøver fra, indeholder små fisk (hvor de enkelte fisk vejer < ca. 1 kg), tages hele fisk som enkeltprøver, der tilsammen udgør samleprøven. Hvis det resulterer i en samleprøve, der vejer over 3 kg, kan enkeltprøverne bestå af midterdelen af de fisk, der udgør denne samleprøve, idet enkeltprøverne hver skal veje mindst 100 g. Den samlede mængde, som grænseværdien gælder for, anvendes til homogenisering af prøven.

  En fisks midterdel er der, hvor tyngdepunktet er. I de fleste tilfælde er det placeret ved rygfinnen (for fisk, der har en rygfinne) eller midtvejs mellem gælleåbningen og gattet.

— Hvis det parti, der skal udtages prøver fra, indeholder større fisk (hvor de enkelte fisk vejer over ca. 1 kg), består enkeltprøven af midterdelen af fisken. Enkeltprøverne skal hver især veje mindst 100 g.

  For mellemstore fisk (ca. 1-6 kg) udtages enkeltprøven som en skive af fisken fra rygraden til bugen i midterdelen af fisken.

  For meget store fisk (f.eks. > ca. 6 kg) udtages enkeltprøven fra kødet i rygmusklen i midterdelen i højre side (set forfra). Hvis udtagning af et sådant stykke fra midterdelen af fisken ville indebære et betydeligt økonomisk tab, kan udtagning af tre enkeltprøver på hver mindst 350 g anses som fyldestgørende uanset partiets størrelse, eller der kan som alternativ udtages lige store dele muskelkød nær haledelen og muskelkød nær hoveddelen fra én og samme fisk, som så udgør den enkeltprøve, der er repræsentativ for dioxinindholdet i hele fisken.

4. **Udtagning af prøver af fiskepartier, der indeholder hele fisk af uensartet størrelse og/eller vægt**

— Bestemmelserne i del III, punkt 3, om prøver finder anvendelse.

— Hvis en størrelse eller en vægtklasse/kategori er fremherskende (ca. 80 % eller derover af partiet), udtages prøven fra fisk med den fremherskende størrelse eller vægt. Prøven anses for at være repræsentativ for hele partiet.

— Hvis der ikke er en fremherskende størrelse eller vægtklasse/kategori, sikres det, at de fisk, der udvælges til prøveudtagning, er repræsentative for partiet. Der findes en særlig vejledning for sådanne tilfælde i »Guidance on sampling of whole fishes of different size and/or weight« ([1]) (vejledning om udtagning af prøver fra fiskepartier, der indeholder hele fisk af uensartet størrelse og/eller vægt).

5. **Prøveudtagning i detailleddet**

Prøver af fødevarer i detailleddet skal så vidt muligt udtages i henhold til prøveudtagningsbestemmelserne i del III, punkt 2, i dette bilag.

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

Hvis dette ikke er muligt, kan alternative metoder til prøveudtagning i detailleddet anvendes, hvis de sikrer, at prøveudtagningen er tilstrækkeligt repræsentativ for det pågældende parti eller delparti.

IV. PARTIETS ELLER DELPARTIETS OVERENSSTEMMELSE MED KRAVENE

1. **For så vidt angår ikke-dioxinlignende PCB'er**

Partiet godkendes, hvis analyseresultatet ikke overskrider den grænseværdi for ikke-dioxinlignende PCB'er, der er fastsat i forordning (EF) nr. 1881/2006, idet der tages hensyn til måleusikkerheden.

Partiet er ikke-overensstemmende med den grænseværdi, der er fastsat i forordning (EF) nr. 1881/2006, hvis analyseresultatets øvre koncentration bekræftet ved en ekstra analyse (*) utvivlsomt overskrider grænseværdien, idet der tages hensyn til måleusikkerheden. Gennemsnittet af de to bestemmelser, hvor der tages hensyn til måleusikkerheden, anvendes til at verificere, om kravene er opfyldt.

Der kan tages hensyn til måleusikkerheden på en af følgende måder:

— ved at beregne den ekspanderede usikkerhed, idet der anvendes en dækningsfaktor på 2, hvilket giver et konfidensniveau på ca. 95 %. Et parti eller delparti opfylder ikke kravene (dvs. er ikke-overensstemmende), hvis den målte værdi minus U ligger over det tilladte niveau

— ved at fastlægge beslutningsgrænsen (CCα) i henhold til beslutning 2002/657/EF (punkt 3.1.2.5 i bilag I til samme beslutning — for stoffer, der er fastsat et tilladt niveau for). Et parti eller delparti er ikke-overensstemmende, hvis den målte værdi er lig med eller højere end CCα.

Ovennævnte bestemmelser gælder for analyseresultater af prøver udtaget ved offentlig kontrol. For kontraprøveanalyser eller analyser til referenceformål gælder de nationale regler.

2. **For så vidt angår dioxiner (PCDD'er/PCDF'er) og dioxinlignende PCB'er**

Partiet godkendes, hvis resultatet fra en enkelt analyse

— udført efter en screeningsmetode med en andel af falsk overensstemmende resultater på under 5 % viser, at indholdet ikke overskrider den pågældende grænseværdi for PCDD'er/PCDF'er eller for summen af PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende PCB'er, der er fastsat i forordning (EF) nr. 1881/2006

— udført efter en verifikationsmetode ikke overskrider den pågældende grænseværdi for PCDD'er/PCDF'er eller for summen af PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende PCB'er, der er fastsat i forordning (EF) nr. 1881/2006, idet der tages hensyn til måleusikkerheden.

For screeningsassays fastlægges en afskæringsværdi, som lægges til grund for beslutningen om, hvorvidt de pågældende grænseværdier, der er fastsat for enten PCDD'er/PCDF'er eller for summen af PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende PCB'er, er overholdt.

Partiet overholder ikke den grænseværdi, der er fastsat i forordning (EF) nr. 1881/2006, hvis analyseresultatets øvre koncentration påvist ved en verifikationsmetode og bekræftet ved en ekstra analyse (**) utvivlsomt overskrider grænseværdien, idet der tages hensyn til måleusikkerheden. Gennemsnittet af de to bestemmelser, hvor der tages hensyn til måleusikkerheden, anvendes til at verificere, om kravene er opfyldt.

Der kan tages hensyn til måleusikkerheden på en af følgende måder:

— ved at beregne den ekspanderede usikkerhed, idet der anvendes en dækningsfaktor på 2, hvilket giver et konfidensniveau på ca. 95 %. Et parti eller delparti er ikke-overensstemmende, hvis den målte værdi minus U ligger over det tilladte niveau. Hvis PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende PCB'er bestemmes separat, anvendes summen af den anslåede ekspanderede usikkerhed på de separate analyseresultater vedrørende PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende PCB'er som den anslåede ekspanderede usikkerhed på summen af PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende PCB'er

— ved at fastlægge beslutningsgrænsen (CCα) i henhold til beslutning 2002/657/EF (punkt 3.1.2.5 i bilag I til samme beslutning — for stoffer, der er fastsat et tilladt niveau for). Et parti eller delparti er ikke-overensstemmende, hvis den målte værdi er lig med eller højere end CCα.

Ovennævnte bestemmelser gælder for analyseresultater af prøver udtaget ved offentlig kontrol. For kontraprøveanalyser eller analyser til referenceformål gælder de nationale regler.

(*) Det er nødvendigt med en ekstra analyse, hvis resultatet af den første bestemmelse, hvorved der anvendes verifikationsmetoder ved brug af ^{13}C-mærkede interne standarder for den relevante analyt, ikke stemmer overens med kravene. En sådan ekstra analyse er nødvendig for at udelukke muligheden for intern krydskontaminering eller utilsigtet sammenblanding af prøver. Hvis analysen gennemføres i forbindelse med en hændelse med forurening, kan bekræftelse ved en ekstra analyse undlades, såfremt de prøver, der er udtaget til analyse, ved hjælp af sporbarhed kan relateres til forureningshændelsen, og den konstaterede værdi ligger betydeligt over grænseværdien.

(**) For forklarende bemærkninger og krav vedrørende ekstra analyser til kontrol af indgrebsværdier jf. fodnote (*) om grænseværdier.

V. OVERSKRIDELSE AF INDGREBSVÆRDIER

Indgrebsværdier er et redskab til udvælgelse af prøver i tilfælde, hvor det er relevant at identificere en forureningskilde og træffe foranstaltninger, der reducerer eller fjerner den. Med screeningsmetoder fastlægges der relevante afskæringsværdier til udvælgelse af de pågældende prøver. Hvis betydelige foranstaltninger er nødvendige for at identificere en kilde og for at reducere eller fjerne forureningen, kan det være relevant at bekræfte overskridelsen af indgrebsværdien ved en ekstra analyse under anvendelse af en verifikationsmetode og under hensyntagen til måleusikkerheden (**).

BILAG III

KLARGØRING AF PRØVER OG KRAV TIL ANALYSEMETODER, DER ANVENDES VED KONTROL AF INDHOLDET AF DIOXINER (PCDD'ER/PCDF'ER) OG DIOXINLIGNENDE PCB'ER I VISSE FØDEVARER

1. ANVENDELSESOMRÅDE

Kravene i dette bilag anvendes, når fødevarer analyseres med henblik på offentlig kontrol af indholdet af 2,3,7,8-substituerede polychlorerede dibenzo-p-dioxiner og polychlorerede dibenzofuraner (PCDD'er/PCDF'er) og dioxinlignende polychlorerede biphenyler (dioxinlignende PCB'er) og til andre forskriftsmæssige formål.

Indholdet af PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende PCB'er i fødevarer kan overvåges ved i to forskellige slags analysemetoder:

a) **Screeningsmetoder**

Målet med screeningsmetoder er at udvælge de stikprøver med indhold af PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende PCB'er, der overskrider grænse- eller indgrebsværdierne. Screeningsmetoder bør give mulighed for omkostningseffektivitet og høj produktivitet med hensyn til antallet af screenede prøver, hvilket forbedrer mulighederne for at opdage nye hændelser med høj eksponering og sundhedsrisici for forbrugerne. Screeningsmetoderne bør anvendes med henblik på at undgå falsk overensstemmende resultater. De kan omfatte biologiske analysemetoder og GC/MS-metoder.

Screeningsmetoder sammenligner analyseresultatet med en afskæringsværdi ved at give et ja/nej-svar vedrørende mulig overskridelse af grænse- eller indgrebsværdien. Koncentrationen af PCDD'er/PCDF'er og summen af PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende PCB'er i prøver, der mistænkes for at være ikke-overensstemmende med grænseværdien, skal bestemmes/bekræftes ved en verifikationsmetode.

Desuden kan screeningsmetoder give en indikation på indholdet af PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende PCB'er i prøver. I tilfælde, hvor bioanalytiske screeningsmetoder anvendes, udtrykkes resultatet som bioanalytiske ækvivalenter (BEQ), hvorimod i tilfælde, hvor fysisk-kemiske GC/MS-metoder anvendes, udtrykkes det som toksicitetsækvivalenter (TEQ). De resultater af screeningsmetoder, der udtrykkes numerisk, egner sig som dokumentation for overensstemmelse eller mistænkt ikke-overensstemmelse eller overskridelse af indgrebsværdier og giver en indikation af værdiintervallet, i tilfælde af at prøverne følges op af verifikationsmetoder. De er ikke egnet i tilfælde, hvor formålene er at evaluere baggrundsniveauer, vurdere indtaget, følge udviklingen i niveauer over tid eller at revurdere indgrebs- og grænseværdier.

b) **Verifikationsmetoder**

Verifikationsmetoder gør det muligt at give en entydig identifikation og kvantificering af PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende PCB'er i prøver og at give fuldstændige oplysninger om kongenere. Af den grund gør disse metoder det muligt at kontrollere grænse- og indgrebsværdier, herunder at bekræfte resultater af screeningsmetoder. Endvidere kan resultater anvendes til andre formål som til at bestemme lave baggrundsniveauer i forbindelse med overvågningen af fødevarer, følge udviklingen i niveauer over tid, vurdere befolkningens eksponering og til at opbygge en database til brug for en eventuel revurdering af indgrebs- og grænseværdier. De er også vigtige redskaber til at klarlægge kongenermønstre med henblik på at identificere kilden til en eventuel forurening. Sådanne metoder omfatter anvendelse af GC/HRMS. GC/MS-MS kan også anvendes til at bekræfte, om grænseværdierne er blevet overholdt eller ikke.

2. BAGGRUND

Til beregning af koncentrationer af toksicitetsækvivalenter (TEQ) ganges koncentrationerne af de enkelte stoffer i en given prøve med deres respektive toksicitetsækvivalensfaktor (TEF), der er fastsat af Verdenssundhedsorganisationen, og som er anført i tillægget til dette bilag, og summen heraf giver den samlede koncentration af dioxinlignende forbindelser udtrykt i TEQ.

Screenings- og verifikationsmetoder må kun anvendes til kontrol af en bestemt matrix, hvis metoderne er tilstrækkeligt følsomme til på pålidelig vis at påvise forekomst ved grænse- eller indgrebsværdien.

3. KVALITETSSIKRINGSKRAV

— Der skal træffes foranstaltninger for at undgå krydskontaminering i alle faser af prøveudtagnings- og analyseproceduren.

— Prøverne skal opbevares og transporteres i beholdere af glas, aluminium, polypropylen eller polyethylen, som egner sig til opbevaring, uden at mængden af PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende PCB'er i prøverne påvirkes. Spor af papirstøv fjernes fra prøvebeholderen.

— Opbevaring og transport af fødevareprøven skal foregå, så den ikke forringes.

— Alle laboratorieprøver findeles og blandes grundigt, hvis det er relevant, efter en metode, for hvilken det er godtgjort, at den resulterer i fuldstændig homogenisering (f.eks. så prøven kan sigtes gennem en 1 mm-sigte). Prøverne tørres før formalingen, hvis vandindholdet er for højt.

— Det er altid vigtigt at kontrollere, at reagenser, glasudstyr og andet udstyr ikke påvirker TEQ- eller BEQ-baserede resultater.

— Der foretages en blindprøveanalyse ved at gennemføre hele analyseproceduren, blot med udeladelse af prøven.

— For så vidt angår bioanalytiske metoder er det meget vigtigt at kontrollere, at alt glasudstyr og alle opløsningsmidler, der anvendes til analyser, er fri for forbindelser, der interfererer med påvisningen af målforbindelser i måleområdet. Glasudstyr skylles med opløsningsmidler og/eller opvarmes til temperaturer, der er tilstrækkeligt høje til at fjerne spor af PCDD'er/PCDF'er, dioxinlignende forbindelser og interfererende forbindelser fra udstyrets overflader.

— Den prøvemængde, der anvendes til ekstraktionen, skal være tilstrækkelig til, at kravene vedrørende et tilstrækkelig lavt måleområde, herunder koncentrationer af grænse- eller indgrebsværdier, er opfyldt.

— De specifikke procedurer for klargøring af prøver, som anvendes for de pågældende produkter, skal være i overensstemmelse med internationalt anerkendte retningslinjer.

— Når det drejer sig om fisk, fjernes skindet, da grænseværdien gælder for muskelkød uden skind. Det er imidlertid nødvendigt, at alle rester af muskelkød og fedtvæv på indersiden af skindet omhyggeligt skrabes fuldstændig af skindet, og at disse rester indgår i den prøve, der skal analyseres.

4. KRAV TIL LABORATORIER

— I henhold til bestemmelserne i Europa-Parlamentets og Rådets forordning (EF) nr. 882/2004 ([1]) skal laboratorier være akkrediteret af et anerkendt organ, der fungerer i overensstemmelse med ISO-vejledning 58, for at sikre, at de anvender analysekvalitetssikring. Laboratorier akkrediteres i overensstemmelse med EN ISO/IEC 17025-standarden.

— Laboratoriets præstationer dokumenteres ved løbende, vellykket deltagelse i laboratoriesammenligninger vedrørende bestemmelse af PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende PCB'er i de relevante fødevarematrixer og koncentrationsområder.

— Laboratorier, der anvender screeningsmetoder til rutinemæssig kontrol af prøver, skal etablere et tæt samarbejde med laboratorier, der anvender verifikationsmetoden — både i forbindelse med kvalitetskontrol og til at bekræfte analyseresultater for mistænkte prøver.

5. GRUNDLÆGGENDE KRAV TIL PROCEDURER FOR ANALYSE AF DIOXINER (PCDD'ER/PCDF'ER) OG DIOXINLIGNENDE PCB'ER

5.1. **Lavt måleområde og bestemmelsesgrænser**

— For PCDD'er/PCDF'er skal de påviselige mængder befinde sig i det øvre femtogram-interval (10^{-15} g) på grund af visse af disse forbindelsers ekstremt høje toksicitet. For de fleste PCB-kongenere er det tilstrækkeligt med en bestemmelsesgrænse i nanogram-intervallet (10^{-9} g). Til måling af de mere toksiske dioxinlignende PCB-kongenere (især non-ortho-substituerede kongenere) skal den nedre del af måleområdet dog ligge i den nedre del af pikogram-intervallet (10^{-12} g).

5.2. **Høj selektivitet (specificitet)**

— PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende PCB'er skal kunne skelnes fra en lang række andre ledsagestoffer, der er fremkommet ved ekstraktionen, og som muligvis er interfererende forbindelser i koncentrationer, der er op til mange gange højere end analyttens. For gaskromatografi/massespektrometri (GC/MS)-metoders vedkommende skal der kunne skelnes mellem forskellige kongenere, f.eks. mellem toksiske kongenere (f.eks. de sytten 2,3,7,8-substituerede PCDD'er/PCDF'er og tolv dioxinlignende PCB'er) og andre kongenere.

— Bioanalytiske metoder skal kunne påvise målforbindelserne som summen af PCDD'er/PCDF'er og/eller dioxinlignende PCB'er. Ved oprensningen af prøver skal det tilstræbes at fjerne forbindelser, der giver falsk ikke-overensstemmende resultater, og forbindelser, der kan svække responset og give falsk overensstemmende resultater.

([1]) Europa-Parlamentets og Rådets forordning (EF) nr. 882/2004 af 29. april 2004 om offentlig kontrol med henblik på verifikation af, at foderstof- og fødevarelovgivningen samt dyresundheds- og dyrevelfærdsbestemmelserne overholdes (EUT L 165 af 30.4.2004, s. 1).

5.3. **Høj nøjagtighed (korrekthed og præcision, tilsyneladende bioassay-genfinding)**

— For så vidt angår GC/MS-metoder skal bestemmelsen give et pålideligt skøn over den korrekte koncentration i en prøve. Høj nøjagtighed (målingens nøjagtighed: graden af overensstemmelse mellem måleresultatet og den målte genstands sande eller tillagte værdi) er nødvendig for at undgå, at et resultat af en analyse afvises på grundlag af lav pålidelighed af det bestemte TEQ-niveau. Nøjagtighed udtrykkes som *korrekthed* (forskellen mellem den målte middelværdi for en analyt i et certificeret materiale og dens certificerede værdi, udtrykt i procent af den certificerede værdi) og *præcision* (RSD_R, relativ standardafvigelse beregnet ud fra resultater, der er fremkommet under reproducerbarhedsforhold).

— For bioanalytiske metoder bestemmes den tilsyneladende bioassay-genfinding.

5.4. **Validering inden for grænseværdiintervallet og kvalitetskontrol generelt**

— Laboratorierne skal dokumentere en metodes ydeevne inden for grænseværdiintervallet, f.eks. 0,5, 1 og 2 gange grænseværdien med en acceptabel variationskoefficient for gentagne analyser, som led i valideringsproceduren og/eller i forbindelse med rutinemæssige analyser.

— Som interne kvalitetskontrolforanstaltninger skal der regelmæssigt gennemføres blindprøvekontrol og spikingforsøg eller analyse af kontrolprøver (om muligt med certificeret referencemateriale). Kvalitetskontrolkort til blindprøvekontrol, spikingforsøg eller analyser af kontrolprøver registreres og kontrolleres for at sikre, at den analytiske ydeevne er i overensstemmelse med gældende krav.

5.5. **Bestemmelsesgrænse**

— For så vidt angår bioanalytiske screeningsmetoder er fastlæggelse af bestemmelsesgrænsen (LOQ) ikke et ufravigeligt krav, men det skal godtgøres, at metoden gør det muligt at skelne blindprøveværdien fra afskæringsværdien. I forbindelse med fastlæggelsen af et BEQ-niveau fastsættes et rapporteringsniveau med henblik på håndtering af prøver, som giver et respons under dette niveau. Det skal dokumenteres, at rapporteringsniveauet adskiller sig fra procedureblindprøver med som minimum en faktor tre, med et respons under måleområdet. Det skal derfor beregnes ud fra prøver med et indhold af målforbindelserne omkring det krævede minimumsniveau og ikke ud fra et bestemt signal-støj-forhold eller en assay-blindprøve.

— Bestemmelsesgrænsen (LOQ) for en verifikationsmetode skal være på ca. en femtedel af grænseværdien.

5.6. **Analysekriterier**

— For at sikre pålidelige resultater af verifikationsmetoder eller screeningsmetoderne skal følgende kriterier være opfyldt inden for grænseværdi- eller afskæringsværdiintervallet for henholdsvis TEQ- eller BEQ-værdien, bestemt enten som samlet TEQ (som summen af PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende PCB'er) eller separat for henholdsvis PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende PCB'er.

	Screening efter bioanalytiske eller fysisk-kemiske metoder	Verifikationsmetoder
Andel af falsk overensstemmende (*)	< 5 %	
Korrekthed		– 20 % til + 20 %
Repeterbarhed (RSD_r)	< 20 %	
Intern reproducerbarhed (RSD_R)	< 25 %	< 15 %

(*) I forhold til grænseværdierne.

5.7. **Specifikke krav til screeningsmetoder**

— Både GC/MS-metoder og bioanalytiske metoder kan anvendes til screening. For GC/MS-metoder gælder kravene i punkt 6 i dette bilag. Der er fastsat specifikke krav til cellebaserede bioanalytiske metoder i punkt 7 i dette bilag.

— Laboratorier, der anvender screeningsmetoder til rutinemæssig kontrol af prøver, skal etablere et tæt samarbejde med laboratorier, der anvender verifikationsmetoden.

— I forbindelse med rutinemæssige analyser skal screeningsmetodens ydeevne efterprøves ved analysekvalitetskontrol og ved løbende metodevalidering. Der skal opereres med et fast program for kontrol af overensstemmende resultater.

— Kontrol af eventuel hæmning af celleresponset og cytotoxicitet.

20 % af prøveekstrakterne måles i forbindelse med rutinemæssig screening med og uden 2,3,7,8-TCDD tilsat i overensstemmelse med grænse- eller indgrebsværdien med henblik på at kontrollere, om responset måske hæmmes af interfererende stoffer i prøveekstraktet. Den målte koncentration af den spikede prøve sammenholdes med summen af koncentrationen af det ikke-spikede ekstrakt og spikingkoncentrationen. Hvis denne målte koncentration er over 25 % mindre end den beregnede (sum-)koncentration, er dette en indikation af mulig signalhæmning, og den pågældende prøve skal underkastes en verifikationsanalyse. Resultaterne registreres i kvalitetskontrolkort.

— Kvalitetskontrol af overensstemmende prøver

Ca. 2-10 % af de overensstemmende prøver, afhængigt af prøvematrix og laboratoriets erfaring, skal bekræftes.

— Bestemmelse af andelen af falsk overensstemmende resultater fra kvalitetskontroldata

Andelen af falsk overensstemmende resultater fra screening af prøver, der ligger under og over grænse- eller indgrebsværdierne, skal bestemmes. Den faktiske andel af falsk overensstemmende resultater skal ligge under 5 %.

Når der foreligger mindst 20 bekræftede resultater pr. matrix/matrixgruppe fra kvalitetskontrollen af overensstemmende prøver, drages konklusionerne vedrørende andelen af falsk overensstemmende resultater på grundlag af denne database. Resultaterne fra prøver, der er analyseret i ringtest eller i forbindelse med forureningshændelser, og der dækker et koncentrationsområde på op til f.eks. 2 gange grænseværdien, kan også tælles med i de mindst 20 resultater, der skal lægges til grund for evalueringen af andelen af falsk overensstemmende resultater. Prøverne skal dække de mest almindelige kongenermønstre og repræsentere forskellige kilder.

Selv om screeningsassays fortrinsvis skal have til formål at påvise prøver, for hvilke indgrebsværdien er overskredet, er kriteriet for bestemmelse af andelen af falsk overensstemmende resultater grænseværdien, under hensyntagen til måleusikkerheden ved verifikationsmetoden.

— Eventuelle ikke-overensstemmende resultater fra screeninger skal altid verificeres ved en fuldstændig ny analyse af den originale prøve ved en verifikationsmetode. Disse prøver kan også anvendes til at evaluere andelen af falsk ikke-overensstemmende resultater. For screeningsmetoder er andelen af »falsk ikke-overensstemmende resultater« andelen af resultater, for hvilke det ved hjælp af verifikationsanalyse er bekræftet, at de opfylder kravene (dvs. er overensstemmende), efter at prøven i en tidligere screening har været mistænkt for at være ikke-overensstemmende. Vurderingen af screeningsmetodens hensigtsmæssighed skal dog baseres på sammenholdelse af antallet af falsk ikke-overensstemmende prøver med det samlede antal kontrollerede prøver. Denne andel skal være tilstrækkeligt lille til, at screening med fordel kan anvendes.

— Bioanalytiske metoder skal, i det mindste under valideringsbetingelser, give en brugbar indikation af TEQ-niveauet, beregnet og udtrykt som BEQ.

— Også for bioanalytiske metoder, der gennemføres under repeterbarhedsbetingelser, er den interne RSD_r typisk lavere end reproducerbarheden RSD_R.

6. SPECIFIKKE KRAV, SOM GC/MS-METODER SKAL OPFYLDE MED HENBLIK PÅ SCREENING ELLER VERIFIKATION

6.1. **Acceptable differencer mellem de øvre og de nedre WHO-TEQ-niveauer**

— For at bekræfte at grænseværdierne eller, hvis nødvendigt, indgrebsværdierne overskrides, må differencen mellem den øvre og den nedre koncentration ikke overstige 20 %.

6.2. **Genfindingskontrol**

— For at validere analyseproceduren tilsættes ^{13}C-mærkede 2,3,7,8-chlorsubstituerede PCDD'er/PCDF'er og ^{13}C-mærkede dioxinlignende PCB'er som intern standard helt fra begyndelsen af analysen, f.eks. inden ekstraktion. Der tilsættes mindst én kongener for hver af de tetra- til octa-chlorerede homologe grupper af PCDD'er/PCDF'er og mindst én kongener for hver af de homologe grupper af dioxinlignende PCB'er (alternativt tilsættes mindst én kongener for hver massespektrometrisk udvalgt ionregistreringsfunktion, der anvendes til overvågning af PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende PCB'er). For så vidt angår verifikationsmetoder anvendes alle 17 ^{13}C-mærkede 2,3,7,8-substituerede PCDD'er/PCDF'er og alle 12 ^{13}C-mærkede dioxinlignende PCB'er som intern standard.

— Der bestemmes også relative responsfaktorer for de kongenere, som der ikke tilsættes en ^{13}C-mærket analog for, ved hjælp af relevante kalibreringsopløsninger.

— For vegetabilske fødevarer og animalske fødevarer, der indeholder under 10 % fedt, er det obligatorisk at tilsætte interne standarder inden ekstraktionen. For animalske fødevarer, der indeholder over 10 % fedt, kan de interne standarder tilsættes enten før eller efter fedtekstraktionen. Der foretages en hensigtsmæssig validering af ekstraktionseffektiviteten, afhængigt af det trin, hvor de interne standarder tilsættes, og af, om resultaterne er produktbaserede eller fedtbaserede.

— Inden GC/MS-analyse tilsættes en eller to genfindingsstandarder (surrogat).

— Det er nødvendigt med genfindingskontrol. Niveauet for genfinding af de enkelte interne standarder i verifikationsmetoder skal ligge på mellem 60 og 120 %. Lavere eller højere genfinding for enkeltkongenere, navnlig for visse hepta- og octa-chlorerede dibenzo-p-dioxiner og dibenzofuraner, kan accepteres, på betingelse af at deres bidrag til TEQ-værdien ikke udgør mere end 10 % af den samlede TEQ-værdi (baseret på summen af PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende PCB'er). Niveauet for genfinding ved screeningsmetoder skal ligge mellem 30 og 140 %.

6.3. **Fjernelse af interfererende stoffer**

— PCDD'er/PCDF'er skal separeres fra interfererende chlorerede forbindelser som f.eks. ikke-dioxinlignende PCB'er og chlorerede diphenylethere ved hjælp af egnede kromatografiske metoder (helst med florisil-, alumina- og/eller carbonkolonne).

— Det er tilstrækkeligt med gaskromatografisk separation af isomerer (< 25 % målt mellem toppene for 1,2,3,4,7,8-HxCDF og 1,2,3,6,7,8-HxCDF).

6.4. **Kalibrering med standardkurve**

— Kalibreringskurveintervallet skal dække de relevante grænse- eller indgrebsværdiintervaller.

6.5. **Specifikke kriterier til verifikationsmetoder**

— For så vidt angår GC/HRMS:

Ved HRMS skal opløsningen typisk være større end 10 000 for hele masseintervallet ved 10 % af tophøjderne.

Opfyldelse af yderligere kriterier for identifikation og bekræftelse som er baseret på internationalt anerkendte standarder, f.eks. i standard EN 16215:2012 (Foderstoffer — Bestemmelse af dioxiner og dioxinlignende PCB-forbindelser samt indikator-PCB-forbindelser ved GC/HRMS) og/eller EPA-metoderne 1613 og 1668 som revideret.

— For så vidt angår GC/MS-MS:

Overvågning af mindst 2 specifikke prækursor-ioner, hver med et specifik tilsvarende overgangsprodukt-ion, for alle mærkede og ikke mærkede analytter inden for analysens anvendelsesområde.

Maksimalt tilladte tolerancegrænser for relative ionintensiteter på ± 15 % for udvalgte overgangsprodukt-ioner sammenholdt med beregnede eller målte værdier (middelværdi fra kalibreringsstandarder) ved anvendelse af identiske MS/MS-betingelser, særlig kollisionsenergi og kollisionsgastryk, for hver overgang af en analyt.

Opløsningen for hver quadrupol skal enten kunne sidestilles med eller være bedre end enhedsmasseopløsningen (enhedsmasseopløsning: tilstrækkelig opløsning til at adskille en masseenhed i to toppe) for at minimere eventuelle interferenser på den pågældende analyt.

Opfyldelse af yderligere kriterier som er baseret på internationalt anerkendte standarder, f.eks. i standard EN 16215:2012 (Foderstoffer — Bestemmelse af dioxiner og dioxinlignende PCB-forbindelser samt indikator-PCB-forbindelser ved GC/HRMS) og/eller EPA-metoderne 1613 og 1668 som revideret, undtagen pligten til at anvende GC/HRMS.

7. SPECIFIKKE KRAV TIL BIOANALYTISKE METODER

Bioanalytiske metoder er metoder, der er baseret på anvendelse af biologiske principper, såsom cellebaserede assays, receptorassays eller immunassays. Dette punkt 7 indeholder krav til bioanalytiske metoder generelt.

Med en screeningsmetode klassificeres en prøve principielt som overensstemmende eller som mistænkt for at være ikke-overensstemmende. I det øjemed sammenholdes det beregnede BEQ-niveau med afskæringsværdien (jf. punkt 7.3). Prøver, der giver resultater under afskæringsværdien, erklæres for overensstemmende, mens prøver, der ligger på eller over afskæringsværdien, erklæres for ikke-overensstemmende og nødvendiggør analyse efter en verifikationsmetode. I praksis kan et BEQ-niveau på 2/3 af grænseværdien være en afskæringsværdi, hvis en andel af falsk overensstemmende resultater på under 5 % og en acceptabel andel af falsk ikke-overensstemmende resultater sikres. Med særskilte grænseværdier for henholdsvis PCDD'er/PCDF'er og for summen af PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende PCB'er er passende bioassay-afskæringsværdier for PCDD'er/PCDF'er en forudsætning for at kunne kontrollere prøvernes overensstemmelse uden fraktionering. Til kontrol af prøver, for hvilke indgrebsværdierne er overskredet, vil en passende procentdel af den pågældende indgrebsværdi være en egnet afskæringsværdi.

Der kan desuden for visse bioanalytiske metoders vedkommende fastsættes et vejledende niveau udtrykt i BEQ for prøver i måleområdet, der ligger over rapporteringsgrænsen (jf. punkt 7.1.1 og 7.1.6).

7.1. **Evaluering af testresponset**

7.1.1. *Generelle krav*

— Ved beregning af koncentrationerne ud fra en TCDD-kalibreringskurve vil værdierne i den nederste og den øverste del af kurven vise en stor spredning (en høj variationskoefficient (CV)). Måleområdet er det område, hvor CV er under 15 %. Den nedre del af måleområdet (rapporteringsniveauet) skal endvidere sættes væsentligt højere (som minimum med en faktor tre) end procedureblindprøverne. Den øvre del afmåleområdet er normalt repræsenteret ved EC_{70}-værdien (70 % af den højeste effektive koncentration), men er lavere, hvis CV ligger over 15 % inden for dette interval. Måleområdet skal fastsættes i forbindelse med validering. Afskæringsværdierne (jf. punkt 7.3) skal ligge klart inden for måleområdet.

— Standardopløsninger og prøveekstrakter testes mindst to gange. Ved dobbeltbestemmelse skal en standardopløsning eller et kontrolekstrakt, der testes i 4-6 huller fordelt over hele pladen, give et respons eller en koncentration (kun muligt i måleområdet), der er baseret på en CV på < 15 %.

7.1.2. *Kalibrering*

7.1.2.1. Kalibrering med standardkurve

— Indholdet i prøver kan anslås ved at sammenholde testresponset med en kalibreringskurve for TCDD (eller PCB 126 eller en standardblanding af PCDD/PCDF/dioxinlignende PCB) med henblik på at beregne BEQ-niveauet i ekstraktet og efterfølgende i prøven.

— Kalibreringskurver skal indbefatte 8-12 koncentrationer (som minimum dobbeltbestemmelser), idet der skal være tilstrækkeligt med koncentrationer i den nederste del af kurven (måleområdet). Der lægges særlig vægt på kvaliteten af kurvetilpasningen i måleområdet. R^2-værdien er som sådan af begrænset eller slet ingen værdi som grundlag for en goodness-of-fit-vurdering ved ikke-lineær regression. Der opnås et bedre fit ved at minimere forskellen mellem beregnede og observerede niveauer i kurvens måleområde (f.eks. ved at minimere summen af kvadrerede residualer).

— Det anslåede indhold i prøveekstraktet korrigeres efterfølgende for det BEQ-niveau, der er beregnet for en matrix/opløsningsmiddel-blindprøve (for at tage urenheder fra de anvendte opløsningsmidler og kemikalier i betragtning), og den tilsyneladende genfinding (som beregnes ud fra BEQ-niveauet i passende referenceprøver med repræsentative kongenermønstre omkring grænse- eller indgrebsværdien). Til korrektion for genfinding skal den tilsyneladende genfinding altid ligge inden for det krævede interval (jf. punkt 7.1.4). Referenceprøver, der anvendes til korrektion for genfinding, skal opfylde kravene i punkt 7.2.

7.1.2.2. Kalibrering med referenceprøver

Alternativt kan der anvendes en kalibreringskurve fremstillet på grundlag af mindst fire referenceprøver (jf. punkt 7.2): 1 matrixblindprøve plus 3 referenceprøver på 0,5, 1,0 og 2,0 gange grænse- eller indgrebsværdien), hvorved behovet for at korrigere for blindprøve og genfinding bortfalder. I dette tilfælde kan det testrespons, som svarer til 2/3 af grænseværdien (jf. punkt 7.3), beregnes direkte ud fra disse prøver og anvendes som afskæringsværdi. Til kontrol af prøver, for hvilke indgrebsværdierne er overskredet, vil en passende procentdel af disse indgrebsværdier være en egnet afskæringsværdi.

7.1.3. *Separat bestemmelse af henholdsvis PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende PCB'er*

Ekstrakter kan opdeles i fraktioner indeholdende henholdsvis PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende PCB'er, således at TEQ-niveauet (i BEQ) kan angives særskilt for henholdsvis PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende PCB'er. Der anvendes fortrinsvis en PCB 126-standardkalibreringskurve til at evaluere resultaterne for den fraktion, der indeholder dioxinlignende PCB'er.

7.1.4. *Tilsyneladende bioassay-genfinding*

Den »tilsyneladende bioassay-genfinding« beregnes ud fra passende referenceprøver med repræsentative kongenermønstre omkring grænse- eller indgrebsværdien og udtrykkes som procent af BEQ-niveauet i forhold til TEQ-niveauet. Forskellene mellem TEF- og REP-faktorer for dioxinlignende PCB'er kan, afhængigt af hvilken type assay og TEF'er ([1]) der anvendes, resultere i lave tilsyneladende genfindingsprocenter for dioxinlignende PCB'er i forhold til PCDD'er/PCDF'er. Hvis PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende PCB'er bestemmes separat, er den tilsyneladende bioassay-genfinding derfor 20-60 % for dioxinlignende PCB'er og 50-130 % for PCDD'er/PCDF'er (disse intervaller gælder for TCDD-kalibreringskurven). Eftersom dioxinlignende PCB'ers bidrag til summen af PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende PCB'er kan variere afhængigt af forskellige matrixer og prøver, afspejler den tilsyneladende bioassay-genfinding for sumparameteren disse intervaller og skal være på 30-130 %.

7.1.5. *Kontrol af genfinding efter oprensning*

Tabet af forbindelser under oprensningen kontrolleres i forbindelse med validering. En blindprøve tilsat en blanding af de forskellige kongenere underkastes oprensning (mindst n = 3), og genfinding og variabilitet kontrolleres ved hjælp af en verifikationsmetode. Genfindingen skal være på mellem 60 og 120 %, især for kongenere, der bidrager med over 10 % af TEQ-niveauet i forskellige blandinger.

7.1.6. *Rapporteringsgrænse*

Ved indberetning af BEQ-niveauer fastlægges der en rapporteringsgrænse ud fra relevante matrixprøver med typiske kongenermønstre, men ikke ud fra standardernes kalibreringskurve, idet præcisionen i den nederste del af kurven er lav. Der tages hensyn til virkningerne af ekstraktion og oprensning. Rapporteringsgrænsen sættes væsentligt højere (som minimum med en faktor tre) end procedureblindprøverne.

7.2. **Anvendelse af referenceprøver**

— Referenceprøver skal repræsentere prøvematrix, kongenermønstre og koncentrationsområder for PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende PCB'er omkring grænse- og indgrebsværdien.

— Hver analyserække skal omfatte en procedureblindprøve, eller hellere en matrixblindprøve, og en referenceprøve inden for grænse- eller indgrebsværdien. Disse prøver ekstraheres og analyseres samtidig under identiske betingelser. Referenceprøven skal udvise en klart kraftigere reaktion end blindprøven, så der er sikkerhed for testens egnethed. Prøverne kan anvendes til korrektion for blindprøve og genfinding.

— Referenceprøver, der udvælges til korrektion for genfinding, skal være repræsentative for de klargjorte prøver, hvilket betyder, at bestemte kongenermønstre ikke må føre til, at niveauerne vurderes for lavt.

— Der kan inkluderes ekstra referenceprøver på f.eks. 0,5 og 2 gange grænse- eller indgrebsværdien for at vise analysemetodens ydeevne inden for det interval, der er relevant for kontrollen af grænse- eller indgrebsværdien. Kombineret kan disse prøver anvendes til beregning af BEQ-niveauerne i de klargjorte prøver (jf. punkt 7.1.2.2).

7.3. **Fastlæggelse af afskæringsværdier**

Relationen mellem bioanalytiske resultater i BEQ og resultater fra verifikationsmetoder i TEQ fastlægges (f.eks. ved hjælp af matrixtilpassede kalibreringsforsøg med referenceprøver tilsat 0, 0,5, 1 og 2 gange grænseværdien, med seks gentagelser på hvert niveau (n = 24)). Korrektionsfaktorer (blindprøve og genfinding) kan beregnes skønsmæssigt ud fra dette forhold, men skal efterprøves i hver enkelt analyserække, ved at der inkluderes procedure/matrix-blindprøver og genfindingsprøver (jf. punkt 7.2).

Der fastlægges afskæringsværdier for at kunne afgøre, om en prøve overholder de fastsatte grænseværdier, eller for, hvor det er relevant, at kunne kontrollere indgrebsværdierne i forhold til de relevante grænse- eller indgrebsværdier, der er fastsat for enten PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende PCB'er hver for sig eller for summen af PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende PCB'er. De repræsenteres ved det *nedre* endepunkt i fordelingen af bioanalytiske resultater (korrigeret for blindprøve og genfinding), som svarer til verifikationsmetodens beslutningsgrænse, med et konfidensniveau på 95 %, hvilket indebærer en falsk-overensstemmende andel på < 5 %, og en RSD_R på < 25 %. Verifikationsmetodens beslutningsgrænse er grænseværdien, under hensyntagen til måleusikkerheden.

([1]) Gældende krav er baseret på TEF'erne, som er offentliggjort i: M. Van den Berg et al, Toxicol Sci 93 (2), 223–241 (2006).

I praksis kan afskæringsværdien (i BEQ) beregnes i overensstemmelse med følgende (jf. figur 1):

7.3.1. Anvendelse af det *nedre* bånd i forventningsintervallet på 95 % ved verifikationsmetodens beslutningsgrænse

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

hvor:

BEQ_{DL} er den BEQ, der svarer til verifikationsmetodens beslutningsgrænse, som er grænseværdien under hensyntagen til måleusikkerheden

$s_{y,x}$ er den residuale standardafvigelse

$t_{\alpha,f=m-2}$ er Student-faktoren (α = 5 %, f = frihedsgrader, enkeltsidet)

m er det samlede antal kalibreringspunkter (indeks j)

n er antallet af gentagelser på hvert niveau

x_i prøvekoncentration (i TEQ) for kalibreringspunktet i bestemt ved en verifikationsmetode

$\overline{x}$ er gennemsnittet af koncentrationerne (i TEQ) af samtlige kalibreringsprøver

$Q_{xx} = \sum_{j=1}^{m}(x_i - \overline{x})^2$ er kvadratsum-parameteren,

i = indeks for kalibreringspunktet i.

7.3.2. Beregning ud fra bioanalytiske resultater (korrigeret for blindprøve og genfinding) fra flere analyser af prøver ($n \geq 6$) forurenet i koncentrationer ved verifikationsmetodens beslutningsgrænse som det *nedre* endepunkt i fordelingen af data ved den tilsvarende BEQ-middelværdi:

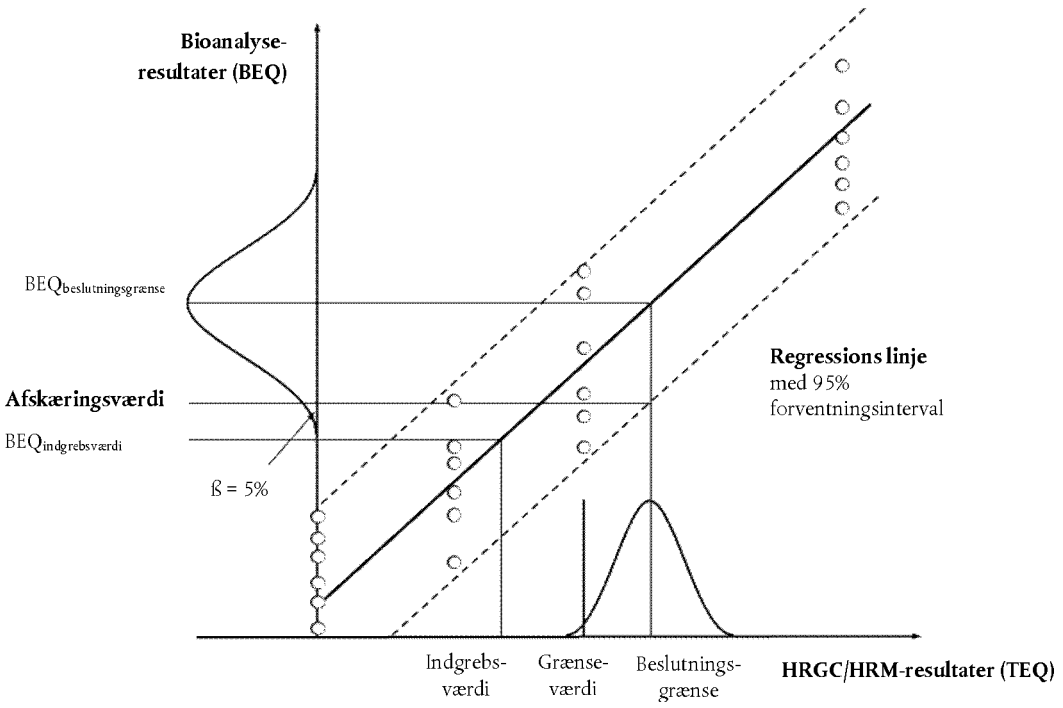
$$\text{Afskæringsværdi} = BEQ_{DL} - 1{,}64 \times SD_R$$

hvor:

SD_R er standardafvigelse for resultaterne af bioassay ved BEQ_{DL}, målt under interne reproducerbarhedsbetingelser.

7.3.3. Beregning som middelværdi af bioanalytiske resultater (i BEQ, korrigeret for blindprøve og genfinding) fra flere analyser af prøver ($n \geq 6$) forurenet i koncentrationer på 2/3 af grænse- eller indgrebsværdien. Dette er baseret på den observation, at dette niveau vil ligge på omkring den afskæringsværdi, der er fastlagt i overensstemmelse med punkt 7.3.1 og 7.3.2.

Figur 1



Beregning af afskæringsværdier med et konfidensniveau på 95 %, hvilket indebærer en andel af falsk overensstemmende på < 5 %, og en RSD_R på < 25 %:

1. fra det *nedre* bånd i forventningsintervallet på 95 % ved verifikationsmetodens beslutningsgrænse

2. fra flere analyser af prøver (n ≥ 6) forurenet i koncentrationer ved verifikationsmetodens beslutningsgrænse som det *nedre* endepunkt i fordelingen af data (i figuren repræsenteret ved en klokkelignende kurve) ved den tilsvarende BEQ-middelværdi:

7.3.4. Begrænsninger for afskæringsværdier

BEQ-baserede afskæringsværdier beregnet ud fra RSD_R, som er tilvejebragt i forbindelse med validering med et begrænset antal prøver med forskellige matrix/kongenermønstre, kan være højere end de TEQ-baserede grænse- eller indgrebsværdier, fordi der opnås en højere præcision end den, der kan opnås i rutinemæssige analyser, når et ukendt spektrum af mulige kongenermønstre skal kontrolleres. I sådanne tilfælde beregnes afskæringsværdierne med udgangspunkt i en RSD_R på 25 % eller, hvis det er muligt, to tredjedele af grænse- eller indgrebsværdien.

7.4. **Karakteristika for metodens ydeevne**

— Da interne standarder ikke kan anvendes i bioanalytiske metoder, skal der gennemføres repeterbarhedstests for at tilvejebringe oplysninger om standardafvigelsen inden for og mellem de enkelte testrækker. Repeterbarheden skal være på under 20 %, mens den interne reproducerbarhed skal ligge på under 25 %. Til grund lægges de beregnede niveauer i BEQ efter korrektion for blindprøve og genfinding.

— Det dokumenteres som led i valideringsprocessen, at testen kan skelne mellem en blindprøve og et indhold på afskæringsværdien, således at det er muligt at identificere prøver over den tilsvarende afskæringsværdi (jf. punkt 7.1.2).

— Målforbindelser, mulige interferenser og højeste tolererede værdier for blindprøver skal fastlægges.

— Standardafvigelsen i responset eller i den koncentration, der beregnes ud fra responset (kun muligt i måleområdet), ved tredobbelt bestemmelse af et prøveekstrakt må ikke være over 15 %.

— De ukorrigerede resultater af referenceprøven/prøverne udtrykt i BEQ (blindprøve og grænse- og indgrebsværdi) bruges til at evaluere den bioanalytiske metodes ydeevne over et konstant tidsrum.

— Kvalitetskontrolkort for procedureblindprøver og for hver enkelt type referenceprøve registreres og kontrolleres med henblik på at sikre, at den analytiske ydeevne er i overensstemmelse med gældende krav, især for procedureblindprøverne for så vidt angår den påkrævede minimumsdifference i forhold til den nedre del af måleområdet og for referenceprøverne med hensyn til den interne reproducerbarhed. Procedureblindprøver skal holdes under streng kontrol for at undgå falsk overensstemmende resultater ved fratrækning af værdierne.

— Resultaterne fra verifikationsmetoderne af mistænkte prøver samt 2-10 % af de overensstemmende prøver (mindst 20 prøver pr. matrix) skal indsamles og lægges til grund for en evaluering af screeningsmetodens ydeevne og relationen mellem BEQ og TEQ. Denne database kan anvendes til revurdering af de afskæringsværdier, der finder anvendelse på rutinemæssige prøver til de validerede matrixer.

— En metodes gode ydeevne kan også dokumenteres ved deltagelse i ringtest. Resultaterne fra prøver, der er analyseret i ringtest og dækker et koncentrationsområde på op til f.eks. 2 gange grænseværdien, kan også inkluderes i evalueringen af andelen af falsk overensstemmende resultater, såfremt laboratoriet kan dokumentere gode præstationer. Prøverne skal dække de mest almindelige kongenermønstre og repræsentere forskellige kilder.

— I forbindelse med hændelser kan afskæringsværdierne revurderes på baggrund af de specifikke matrix- og kongenermønstre, der observeres under denne enkelte hændelse.

8. INDBERETNING AF RESULTATER

Verifikationsmetoder

— Så vidt den anvendte analyseprocedure tillader det, skal analyseresultaterne omfatte værdierne for de enkelte PCDD/PCDF- og dioxinlignende PCB-kongenere og angives som nedre koncentrationer, øvre koncentrationer og middelkoncentrationer, med henblik på at sikre, at indberetningen af resultater omfatter så mange oplysninger som muligt, så resultaterne kan fortolkes i overensstemmelse med specifikke krav.

— Rapporten skal også omfatte oplysninger om den metode, der er anvendt til ekstraktion af PCDD'er/PCDF'er, dioxinlignende PCB'er og fedtstoffer. Prøvens fedtindhold bestemmes og indberettes for fødevareprøver med grænseværdier udtrykt i forhold til fedtmængden og en forventet fedtkoncentration i størrelsesordenen 0-2 % (i overensstemmelse med gældende lovgivning). For andre prøver er det valgfrit at bestemme fedtindholdet.

— Tallene for genfinding af de enkelte interne standarder skal stilles til rådighed, hvis genfindingen ligger uden for det interval, der er angivet i punkt 6.2, hvis grænseværdierne er overskredet (i dette tilfælde genfindingen for en af to analyser), og i øvrige tilfælde efter anmodning.

— Da der skal tages hensyn til måleusikkerheden, når det afgøres, om en prøve er overensstemmende, skal denne parameter ligeledes være tilgængelig. Analyseresultaterne indberettes derfor som x +/– U, hvor x er analyseresultatet og U er den ekspanderede måleusikkerhed, idet der anvendes en dækningsfaktor på 2, hvilket giver et konfidensniveau på ca. 95 %. Hvis PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende PCB'er bestemmes separat, anvendes summen af den anslåede ekspanderede usikkerhed for de separate analyseresultater vedrørende PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende PCB'er for summen af PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende PCB'er.

— Hvis der tages hensyn til måleusikkerheden ved at anvende CCα (se beskrivelsen i bilag II, del IV, punkt 2), indberettes denne parameter.

— Resultaterne angives i samme enheder og med (mindst) samme antal betydende cifre som de grænseværdier, der er fastsat i forordning (EF) nr. 1881/2006.

Bioanalytiske screeningsmetoder

— Resultatet af screeningen udtrykkes som værende overensstemmende eller som mistænkt for at være ikke-overensstemmende (»mistænkt«).

— Derudover kan et resultat for PCDD'er/PCDF'er og/eller dioxinlignende PCB'er udtrykt i bioanalytiske ækvivalenter (BEQ) (ikke TEQ) oplyses (jf. bilag III, punkt 1). Prøver, der giver et respons under rapporteringsgrænsen, udtrykkes som værende under rapporteringsgrænsen.

— Rapporten skal for hver enkelt type prøvematrix give oplysninger om grænse- eller indgrebsværdien, som vurderingen er baseret på.

— Rapporten skal indeholde oplysninger om, hvilken type test der er anvendt, det grundlæggende prøvningsprincip og den anvendte kalibreringsmåde.

— Rapporten skal også omfatte oplysninger om den metode, der er anvendt til ekstraktion af PCDD'er/PCDF'er, dioxinlignende PCB'er og fedtstoffer. Prøvens fedtindhold bestemmes og indberettes for fødevareprøver med grænse- eller indgrebsværdier udtrykt i forhold til fedtmængden og en forventet fedtkoncentration i størrelsesordenen 0-2 % (i overensstemmelse med gældende lovgivning). For andre prøver er det valgfrit at bestemme fedtindholdet.

— I tilfælde, hvor prøver mistænkes for at være ikke-overensstemmende, skal rapporten indeholde en bemærkning om den foranstaltning, der skal træffes. Koncentrationen af PCDD'er/PCDF'er og summen af PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende PCB'er i prøver med forhøjet indhold skal bestemmes/bekræftes ved en verifikationsmetode.

Tillæg til BILAG III

WHO-TEF til vurdering af risikoen for mennesker baseret på konklusionerne fra Verdenssundhedsorganisationens (WHO) ekspertmøde i Genève i juni 2005 om det internationale program for sikkerhed i forbindelse med kemikalier (IPCS) (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)).

Kongener	TEF-værdi	Kongener	TEF-værdi
Dibenzo-p-dioxiner (»PCDD'er«)		»Dioxinlignende« PCB'er: **non-ortho-PCB'er + mono-ortho-PCB'er**	
2,3,7,8-TCDD	1	**Non-ortho-PCB'er**	
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		
Dibenzofuraner (»PCDF'er«)		**Mono-ortho-PCB'er**	
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		

Anvendte forkortelser: »T« = tetra, »Pe« = penta, »Hx« = hexa, »Hp« = hepta, »O« = octa, »CDD« = chlordibenzodioxin, »CDF« = chlordibenzofuran, »CB« = chlorbiphenyl.

BILAG IV

KLARGØRING AF PRØVER OG KRAV TIL ANALYSEMETODER, DER ANVENDES VED KONTROL AF INDHOLDET AF IKKE-DIOXINLIGNENDE PCB'ER (PCB 28, 52, 101, 138, 153 OG 180) I VISSE FØDEVARER

Kravene i dette bilag skal anvendes, når fødevarer analyseres med henblik på offentlig kontrol af indholdet af ikke-dioxinlignende polychlorerede biphenyler (ikke-dioxinlignende PCB'er) og til andre forskriftsmæssige formål.

1. **Påvisningsmetoder, der kan anvendes**

Gaskromatografi/elektronindfangningsdetektion (GC/ECD), GC/LRMS, GC/MS-MS, GC/HRMS eller tilsvarende metoder.

2. **Identifikation og bekræftelse af de relevante analytter**

— Relativ retentionstid i forhold til interne standarder eller referencestandarder (tilladt afvigelse: +/– 0,25 %).

— Gaskromatografisk separation af alle seks indikator-PCB'er (PCB 28, PCB 52, PCB 101, PCB 138, PCB 153 og PCB 180) fra interfererende stoffer, navnlig fra co-eluerende PCB'er, især hvis niveauet i de pågældende prøver ligger i nærheden af de ved lov fastsatte grænser, og en overskridelse skal bekræftes.

(Kongenere, der erfaringsmæssigt ofte co-eluerer, er f.eks.. PCB 28/31, PCB 52/69 og PCB 138/163/164. For så vidt angår GC/MS skal der også tages hensyn til mulige interferenser fra fragmenter af højere chlorerede kongenere.)

— For så vidt angår GC/MS-teknikker:

  — Overvågning af mindst:

    — to specifikke ioner ved HRMS

    — to specifikke ioner med en m/z-værdi på > 200 eller tre specifikke ioner med en m/z-værdi på > 100 ved LRMS

    — 1 prækursor-ion og 2 produkt-ioner ved MS-MS.

  — Tilladte maksimumstolerancer for isotopforholdet for udvalgte massefragmenter:

Relativ afvigelse for isotopforholdet for udvalgte massefragmenter fra teoretisk isotopforhold eller kalibreringsstandard for mål-ionen (den hyppigst forekommende af de målte ioner) og kvalifikator-ionen/ionerne:

Kvalifikator-ionens/ionernes relative intensitet i forhold til mål-ionen	GC-EI-MS (relativ afvigelse)	GC-CI-MS, GC/MS^n (relativ afvigelse)
> 50 %	± 10 %	± 20 %
> 20 % til 50 %	± 15 %	± 25 %
> 10 % til 20 %	± 20 %	± 30 %
≤ 10 %	± 50 % (*)	± 50 % (*)

(*) Da der er et tilstrækkeligt antal massefragmenter med en relativ intensitet på > 10 % til rådighed, kan det ikke anbefales at anvende kvalifikator-ioner med en relativ intensitet på under 10 % i forhold til mål-ionen.

— For så vidt angår GC-ECD:

Bekræftelse af resultater, der overskrider tolerancegrænsen, med to GC-kolonner med stationære faser med forskellig polaritet.

3. **Dokumentation for metodens ydeevne**

Validering inden for grænseværdien (0,5 til 2 gange grænseværdien) med en acceptabel variationskoefficient for gentagne analyser (jf. kravene til intermediær præcision i punkt 8).

4. **Bestemmelsesgrænse**

Blindprøverne må ikke repræsentere over 30 % af den forureningsgrad, som svarer til grænseværdien ([1]).

5. **Kvalitetskontrol**

Regelmæssig blindprøvekontrol, analyse af spikede prøver, kvalitetskontrolprøver og deltagelse i laboratoriesammenligninger vedrørende de relevante matrixer.

6. **Genfindingskontrol**

— Anvendelse af egnede interne standarder med fysisk-kemiske egenskaber, der er sammenlignelige med de relevante analytters.

— Tilsætning af interne standarder:

  — Tilsætning til produkter (inden ekstraktion og oprensning)

  — Tilsætning kan også ske til ekstraheret fedt (inden oprensning), hvis grænseværdien er udtrykt i forhold til fedtmængden.

— Krav til metoder, hvor alle seks isotopmærkede indikator-PCB-kongenere anvendes:

  — Korrektion af resultater for genfinding af interne standarder

  — Generelt acceptabel genfindingsprocent for isotopmærkede interne standarder på mellem 50 og 120 %

  — En lavere eller højere genfindingsprocent er acceptabel for enkeltkongenere, der bidrager til summen af de seks indikator-PCB'er med under 10 %.

— Krav til metoder, hvor ikke alle seks isotopmærkede interne standarder eller andre interne standarder anvendes:

  — Genfindingskontrol for de(n) interne standard(er) for hver enkelt prøve

  — Acceptabel genfindingsprocent for interne standarder på mellem 60 og 120 %

  — Korrektion af resultater for genfinding af interne standarder.

— Genfindingen af umærkede kongenere kontrolleres ved hjælp af spikede prøver eller kvalitetskontrolprøver med koncentrationer inden for grænseværdien. Den acceptable genfindingsprocent for disse kongenere er på mellem 70 og 120 %.

7. **Krav til laboratorier**

I henhold til bestemmelserne i forordning (EF) nr. 882/2004 skal laboratorier være akkrediteret af et anerkendt organ, der fungerer i overensstemmelse med ISO-vejledning 58, for at sikre, at de anvender analysekvalitetssikring. Laboratorier akkrediteres i overensstemmelse med EN ISO/IEC 17025-standarden.

8. **Karakteristika for metodens ydeevne: Kriterier vedrørende summen af de seks indikator-PCB'er inden for grænseværdien:**

Korrekthed	– 30 til + 30 %
Intermediær præcision (RSD %)	≤ 20 %
Forskel mellem øvre og nedre koncentration (beregnet)	≤ 20 %

9. **Indberetning af resultater**

— Så vidt den anvendte analyseprocedure tillader det, skal analyseresultaterne omfatte værdierne for de enkelte PCB-kongenere og angives som nedre koncentrationer, øvre koncentrationer og middelkoncentrationer, med henblik på at sikre, at indberetningen af resultater omfatter så mange oplysninger som muligt, så resultaterne kan fortolkes i overensstemmelse med specifikke krav.

— Rapporten skal også omfatte oplysninger om den metode, der er anvendt til ekstraktion af PCB'er og fedtstoffer. Prøvens fedtindhold bestemmes og indberettes for fødevareprøver med grænseværdier udtrykt i forhold til fedtmængden og en forventet fedtkoncentration i størrelsesordenen 0-2 % (i overensstemmelse med gældende lovgivning). For andre prøver er det valgfrit at bestemme fedtindholdet.

([1]) Det må på det kraftigste anbefales, at bidraget fra reagensblindprøven til indholdet af et forurenende stof i en prøve er lavere. Det er laboratoriets ansvar at kontrollere variationen i blindprøveniveauet, især hvis blindprøveindholdet fratrækkes.

— Tallene for genfinding af de enkelte interne standarder skal stilles til rådighed, hvis genfindingen ligger uden for det interval, der er angivet i punkt 6, hvis grænseværdierne er overskredet, og i øvrige tilfælde efter anmodning.

— Da der skal tages hensyn til måleusikkerheden, når det afgøres, om en prøve er overensstemmende, skal denne parameter ligeledes være tilgængelig. Analyseresultaterne indberettes derfor som x +/– U, hvor x er analyseresultatet og U er den ekspanderede måleusikkerhed, idet der anvendes en dækningsfaktor på 2, hvilket giver et konfidensniveau på ca. 95 %.

— Hvis der tages hensyn til måleusikkerheden ved at anvende CCα (se beskrivelsen i bilag II, del IV, punkt 1), indberettes denne parameter.

— Resultaterne angives i samme enheder og med (mindst) samme antal betydende cifre som de grænseværdier, der er fastsat i forordning (EF) nr. 1881/2006.