A BIZOTTSÁG 589/2014/EU RENDELETE

(2014. június 2.)

az egyes élelmiszerekben előforduló dioxinok, dioxinjellegű PCB-k és nem dioxinjellegű PCB-k koncentrációjának ellenőrzésére szolgáló mintavételi és vizsgálati módszerek megállapításáról és az 252/2012/EU rendelet hatályon kívül helyezéséről

(EGT-vonatkozású szöveg)

AZ EURÓPAI BIZOTTSÁG,

tekintettel az Európai Unió működéséről szóló szerződésre,

tekintettel a takarmány- és élelmiszerjog, valamint az állat-egészségügyi és az állatok kíméletére vonatkozó szabályok követelményeinek történő megfelelés ellenőrzésének biztosítása céljából végrehajtott hatósági ellenőrzésekről szóló, 2004. április 29-i 882/2004/EK európai parlamenti és tanácsi rendeletre ([1]) és különösen annak 11. cikke (4) bekezdésére,

mivel:

(1) Az 1881/2006/EK bizottsági rendelet ([2]) megállapítja az egyes élelmiszerekben előforduló nem dioxinjellegű PCB-k, dioxinok és furánok, valamint a dioxinok, a furánok és a dioxinjellegű PCB-k összegének felső határértékeit.

(2) A 2013/711/EU bizottsági ajánlás ([3]) a polikórozott dibenzo-p-dioxinok, a poliklórozott dibenzo-furánok (PCDD-k/PCDF-ek) és a dioxinjellegű PCB-k élelmiszerekben való előfordulásának csökkentését célzó proaktív megközelítés ösztönzése érdekében beavatkozási szinteket határozott meg. Ezek a beavatkozási szintek az illetékes hatóságok és a gazdasági szereplők eszközei, amelyek segítségével meghatározhatják azokat az eseteket, amelyekben azonosítani kell a szennyeződés forrását és intézkedni kell a csökkentéséről vagy megszüntetéséről.

(3) A 2012. március 21-i 252/2012/EU bizottsági rendelet ([4]) konkrét rendelkezéseket állapít meg a hatósági ellenőrzések mintavételi eljárására és az elemzési módszerekre vonatkozóan.

(4) Az e rendeletben megállapított rendelkezések csak a dioxinok, a dioxinjellegű PCB-k és a nem dioxinjellegű PCB-k mintavételére és vizsgálatára vonatkoznak az 1881/2006/EK rendelet és a 2013/711/EK ajánlás végrehajtása tekintetében. Nem vonatkoznak a 96/23/EK tanácsi irányelv ([5]) III. és IV. mellékletében meghatározott mintavételi stratégiára, mintavételi szintekre és gyakoriságra. A 98/179/EK bizottsági határozatban ([6]) meghatározott, a mintavételre vonatkozó célkritériumokat sem érintik.

(5) A PCDD-ket/PCDF-eket és dioxinjellegű PCB-ket jelentős mennyiségben tartalmazó minták beazonosításához széles körben elfogadott hitelesítésű, nagy teljesítményű analitikai szűrőmódszer alkalmazható (lehetőleg olyan mintákat kell választani, amelyekben a koncentráció meghaladja a beavatkozási szinteket, és biztosítani kell a felső határértéket meghaladó koncentrációjú minták kiválasztását). Az ezekben a mintákban lévő PCDD/PCDF és dioxinjellegű PCB mennyiségét analitikai megerősítő módszerrel kell meghatározni. Indokolt ezért megfelelő követelményeket megállapítani a szűrőmódszerekre, biztosítva, hogy a felső határértékek tekintetében a „hamis megfelelő" arány 5 % alatt legyen, az analitikai megerősítő módszerekre pedig szigorú követelményeket kell megállapítani. A megerősítő módszereknek továbbá megfelelő érzékenység révén lehetővé kell tenniük a koncentrációk meghatározását a kis háttér-koncentrációk tartományában is. Ez fontos az időbeli tendenciák követéséhez, az expozíciófelméréshez, valamint a felső határértékek és a beavatkozási szintek újraértékeléséhez.

(6) A nagyon nagy halak mintavételéhez meg kell határozni a mintavételi módszert, hogy az az egész Unió területén egységes legyen.

([1]) HL L 165., 2004.4.30., 1. o.
([2]) A Bizottság 2006. december 19-i 1881/2006/EK rendelete az élelmiszerekben előforduló egyes szennyező anyagok felső határértékeinek meghatározásáról (HL L 364., 2006.12.20., 5. o.).
([3]) A Bizottság 2013. december 3-i 2013/711/EU ajánlása a takarmányokban és élelmiszerekben előforduló dioxinok, furánok és PCB-k csökkentéséről (HL L 323, 2013.8.24., 37. o.).
([4]) A Bizottság 2012. március 21-i 252/2012/EU rendelete az egyes élelmiszerekben előforduló dioxinok, dioxinszerű PCB-k és nem dioxinszerű PCB-k koncentrációjának hatósági ellenőrzésére szolgáló mintavételi és vizsgálati módszerek megállapításáról és az 1883/2006/EK rendelet hatályon kívül helyezéséről (HL L 84., 2012.3.23., 1. o.).
([5]) A Tanács 1996. április 29-i 96/23/EK irányelve az egyes élő állatokban és állati termékekben lévő anyagok és azok maradványainak ellenőrzésére szolgáló intézkedésekről, valamint a 85/358/EGK és 86/469/EGK irányelvek, továbbá a 89/187/EGK és 91/664/EGK határozatok hatályon kívül helyezéséről (HL L 125., 1996.5.23., 10. o.).
([6]) A Bizottság 1998. február 23-i 98/179/EK határozata egyes élő állatokban és állati termékekben lévő anyagok és azok maradványainak ellenőrzésére szolgáló hatósági mintavételes vizsgálatra vonatkozó részletes szabályok megállapításáról (HL L 65., 1998.3.5., 31. o.).

(7) Az ugyanabba a fajba tartozó és azonos régióból származó halak esetében a dioxinok, a dioxinjellegű PCB-k és a nem dioxinjellegű PCB-k szintje a hal méretétől és korától függően eltérhet. Ezenkívül a dioxinok, a dioxinjellegű PCB-k és a nem dioxinjellegű PCB-k szintje nem szükségszerűen azonos a hal valamennyi részében. Ezért meg kell határozni a mintavétel és a minta előkészítésének módszerét, hogy az az egész Unió területén egységes legyen.

(8) Fontos az analitikai eredmények egységes módon történő jelentése és értelmezése, hogy a végrehajtás az egész Unió területén egységes legyen.

(9) A műszaki fejlődésnek köszönhetően bebizonyosodott, hogy a gázkromatográfia/nagy felbontású tömegspektrometria (GC-HRMS) mellett a gázkromatográfia/tandem tömegspektometria (GC-MS/MS) is használható megerősítő módszerként a felső határértéknek való megfelelés ellenőrzése céljából. A 252/2012/EU rendeletet ezért új rendelettel kell felváltani, amely rendelkezik a gázkromatográfia/tandem tömegspektometria (GC-MS/MS) mint a felső határténeknek való megfelelés ellenőrzésére szolgáló megfelelő megerősítő módszer alkalmazásáról.

(10) Az e rendeletben előírt intézkedések összhangban vannak az Élelmiszerlánc- és Állategészségügyi Állandó Bizottság véleményével,

ELFOGADTA EZT A RENDELETET:

1. cikk

E rendelet alkalmazásában az I. mellékletben szereplő meghatározásokat és rövidítéseket kell alkalmazni.

2. cikk

Az 1881/2006/EK rendelet mellékletének 5. szakaszában felsorolt élelmiszerekben előforduló dioxinok, furánok, dioxinjellegű PCB-k és nem dioxinjellegű PCB-k koncentrációjának hatósági ellenőrzésére szolgáló mintavételt az e rendelet II. mellékletében meghatározott módszereknek megfelelően kell végrehajtani.

3. cikk

Az 1881/2006/EK rendelet mellékletének 5. szakaszában felsorolt élelmiszerekben előforduló dioxinok, furánok és dioxinjellegű PCB-k koncentrációjának hatósági ellenőrzésére szolgáló minta-előkészítést és mintaelemzést az e rendelet III. mellékletében meghatározott módszereknek megfelelően kell elvégezni.

4. cikk

Az 1881/2006/EK rendelet mellékletének 5. szakaszában felsorolt élelmiszerekben előforduló nem dioxinjellegű PCB-k koncentrációjának hatósági ellenőrzésére szolgáló mintaelemzést az e rendelet IV. mellékletében meghatározott analitikai módszerekre vonatkozó követelményeknek megfelelően kell végrehajtani.

5. cikk

A 252/2012/EU rendelet hatályát veszti.

A hatályon kívül helyezett rendeletre való hivatkozásokat erre a rendeletre való hivatkozásként kell értelmezni.

6. cikk

Ez a rendelet az *Európai Unió Hivatalos Lapjában* való kihirdetését követő huszadik napon lép hatályba.

Ez a rendelet teljes egészében kötelező és közvetlenül alkalmazandó valamennyi tagállamban.

Kelt Brüsszelben, 2014. június 2-án.

a Bizottság részéről

az elnök

José Manuel BARROSO

I. MELLÉKLET

FOGALOMMEGHATÁROZÁSOK ÉS RÖVIDÍTÉSEK

I. FOGALOMMEGHATÁROZÁSOK

E rendelet alkalmazásában a 96/23/EK tanácsi irányelvnek az analitikai módszerek elvégzése és az eredmények értelmezése tekintetében történő végrehajtásáról szóló, 2002. augusztus 14-i 2002/657/EK bizottsági határozat ([1]) I. mellékletében meghatározott fogalommeghatározások alkalmazandók.

Az említett fogalommeghatározásokon kívül e rendelet alkalmazásában a következő fogalommeghatározásokat kell alkalmazni:

1.1. *„Beavatkozási szint”*: egy adott anyagnak a 2013/711/EU ajánlás mellékletében megállapított azon szintje, amely fölött vizsgálatot indítanak az anyag forrásának azonosítására, amennyiben az anyagot nagy mennyiségben mutatják ki.

1.2. *„Szűrőmódszerek”*: azoknak a mintáknak a kiválasztása során alkalmazott módszer, melyekben a PCDD-k/PCDF-ek és a dioxinjellegű PCB-k koncentrációja meghaladja a felső határértéket vagy a beavatkozási szintet. E módszerek lehetővé teszik nagy mennyiségű minta költséghatékony feldolgozását, így pedig nagyobb az esély az olyan új szennyeződési esetek felismerésére, amelyek nagy fogyasztói expozíciót és egészségi kockázatot jelenthetnek. A szűrőmódszereknek bioanalitikai vagy GC-MS (gázkromatográfia-tömegspektrometriai) módszereken kell alapulniuk. A felső határértékeknek való megfelelés ellenőrzésekor a cut-off értéket meghaladó mintákból kapott eredményeket az eredeti minta teljes újbóli vizsgálata által kell ellenőrizni.

1.3. *„Megerősítő módszerek”*: olyan teljes vagy kiegészítő információkkal szolgáló módszerek, amelyek lehetővé teszik a PCDD-k/PCDF-ek és a dioxinjellegű PCB-k maximális koncentrációban vagy szükség esetén a beavatkozási szinten történő azonosítását és egyértelmű mennyiségi meghatározását. E módszerek gázkromatográfiát/nagyfelbontású tömegspektrometriát (GC-HRMS) vagy gázkromatográfiát/tandem tömegspektrometriát (GC-MS/MS) alkalmaznak.

1.4. *„Bioanalitikai módszerek”*: biológiai elveken működő módszerek, például sejtalapú tesztek, receptortesztek vagy immuntesztek. Ezek a szűrőmódszerek az eredményeket nem kongénerek szintjén adják meg, hanem csupán bioanalitikai egyenértékként (BEQ) jelzik a TEQ-értéket ([2]), ami azt jelenti, hogy a méréskor analitikai jelet adó, a mintakivonatban jelen lévő vegyületek közül esetleg nem felel meg mindegyik a TEQ-elv összes követelményének.

1.5. *„A biológiai próba során észlelt visszanyerés”* a TCDD vagy a PCB-126 kalibrációs görbéjéből számított, a vakminta eredményeivel korrigált BEQ-érték osztva a GC/HRMS módszerrel meghatározott TEQ-értékkel. Olyan hatásokat igyekszik korrigálni, mint például a PCDD-k/PCDF-ek és a dioxinjellegű vegyületek vesztesége az extrakció és a mintatisztítás során, az extrakcióval átmenő más vegyületek reakciót erősítő vagy gyengítő (agonisztikus és antagonisztikus) hatása, a görbeilleszkedés minősége vagy a toxikológiai egyenérték-tényező (TEF) és a relatív hatóképesség (REP) értékei közötti különbségek. A biológiai próba során észlelt visszanyerés kiszámítása a reprezentatív kongénerkombinációkat a maximális vagy a beavatkozási szint körüli koncentrációkban tartalmazó, alkalmas referenciamintákból történik.

1.6. *„Félkvantitatív módszerek”* olyan módszerek, amelyek megközelítőleg megadják a feltételezett analit koncentrációját, a számszerű eredmények azonban nem teljesítik a mennyiségi (kvantitatív) meghatározás eredményeire vonatkozó követelményeket.

1.7. *„Egy adott kongéner specifikus meghatározási határa a mintában”*: a legkisebb analittartalom, amely elfogadható statisztikai bizonyossággal mérhető, teljesítve a nemzetközileg elfogadott szabványokban, így például az EN 6215:2012 szabványban (Animal feed – Determination of dioxins and dioxin-like PCBs by GC/HRMS and of indicator PCBs by GC/HRM; Állati takarmányok. Dioxinok és dioxinjellegű PCB-k meghatározása GC/HRMS módszerrel és indikátor PCB-k meghatározása GC/HRMS módszerrel) és/vagy a felülvizsgált EPA 1613 és 1668 módszerben leírt azonosítási kritériumokat.

Egy adott kongéner meghatározási határa a következőképpen azonosítható:

a) a mintakivonatban mért azon analitkoncentráció, amelynél két különböző vizsgált ion olyan analitikai jelet ad, amelynél a jel/zaj (S/N) arány a kisebb intenzitású jelre 3:1;

illetve, amennyiben technikai okokból a jel-zaj viszony számítása nem ad megbízható eredményt,

b) Egy kalibrációs görbe legkisebb koncentrációs pontja, amely elfogadható (≤ 30 %) és következetes (a minták analitikai sorozatának legalább a kezdetén és a végén mért) eltérést mutat az egyes mintasorozatokban a kalibrációs görbe valamennyi pontjára kiszámított átlagos relatív válaszfaktoroktól ([3]).

([1]) A Bizottság 2002. augusztus 14-i 2002/657/EK határozata a 96/23/EK tanácsi irányelvnek az analitikai módszerek elvégzése és az eredmények értelmezése tekintetében történő végrehajtásáról (HL L 221., 2002.8.17., 8. o.).

([2]) A bioanalitikai módszerek nem specifikusak a TEF-rendszerben szereplő rokonvegyületekre. A mintakivonatban lehetnek szerkezetileg hasonló más AhR-aktív vegyületek, amelyek hozzájárulnak az összreakcióhoz. A bioanalitikai eredmények ezért nem a minta TEQ-értéke becslésének, hanem csupán a TEQ-érték jelzésének tekinthetők.

([3]) A meghatározási határt a legkisebb koncentrációs pontból kell kiszámítani, figyelembe véve a belső standardok visszanyerését és a beviteli mintamennyiséget.

1.8. *„Felfelé kerekített érték”*: e fogalom szerint a mennyiségileg nem meghatározott egyes kongénerek hozzájárulásának értéke a meghatározási határ értékével egyenlő.

1.9. *„Lefelé kerekített érték”*: e fogalom szerint a mennyiségileg nem meghatározott egyes kongénerek hozzájárulásának értéke nullával egyenlő.

1.10. *„Középre kerekített érték”*: e fogalom szerint a mennyiségileg nem meghatározott egyes vegyületek hozzájárulásának értéke a meghatározási határ felével egyenlő.

1.11. *„Tétel”*: egy élelmiszercikk azonosítható, egyszerre szállított mennyisége, amelyről a hatósági ellenőr megállapította, hogy a származás, fajta, csomagolási típus, csomagoló, feladó és jelölések szempontjából közös jellemzőkkel bír. Hal és halászati termékek esetében a hal méretének is összehasonlíthatónak kell lennie. A szállítmány akkor is egy tételnek tekinthető, ha a hal mérete és/vagy tömege a szállítmányon belül nem összehasonlítható, de ebben az esetben különleges mintavételi eljárást kell alkalmazni.

1.12. *„Altétel”*: egy nagy tétel kijelölt része, amelyen a mintavételi eljárást alkalmazzák. Minden egyes altételnek fizikailag elkülönítettnek és azonosíthatónak kell lennie;

1.13. *„Elemi minta”*: a tétel vagy az altétel egyetlen pontjáról vett anyagmennyiség.

1.14. *„Egyesített minta”*: a tételből vagy altételből vett összes elemi minta egyesítésével kapott minta.

1.15. *„Laboratóriumi minta”*: az összesített minta laboratóriumba küldendő reprezentatív része/mennyisége.

II. ALKALMAZOTT RÖVIDÍTÉSEK

BEQ	Bioanalitikai egyenérték
GC	Gázkromatográfia
HRMS	Nagy felbontású tömegspektrometria
LRMS	Kis felbontású tömegspektrometria
MS/MS	Tandem tömegspektrometria
PCB	Poliklórozott bifenilek
PCDD	Polikórozott dibenzo-p-dioxinok
PCDF	Poliklórozott dibenzofuránok
QC	Minőség-ellenőrzés
REP	Relatív hatóképesség
TEF	Toxicitási egyenérték-tényező
TEQ	Toxicitási egyenérték
TCDD	Tetraklór-dibenzo-dioxin
U	U Kiterjesztett mérési bizonytalanság

II. MELLÉKLET

MINTAVÉTELI MÓDSZEREK AZ EGYES ÉLELMISZEREKBEN ELŐFORDULÓ DIOXINOK (PCDD-K/PCDF-EK), DIOXINJELLEGŰ PCB-K ÉS NEM DOXINJELLEGŰ PCB-K KONCENTRÁCIÓJÁNAK HATÓSÁGI ELLENŐRZÉSÉHEZ

I. ALKALMAZÁSI KÖR

Az élelmiszerekben előforduló dioxinok (PCDD-k/PCDF-ek), dioxinjellegű PCB-k és nem dioxinjellegű PCB-k (a továbbiakban: dioxinok és PCB-k) koncentrációjának hatósági ellenőrzéséhez az e mellékletben leírt módszereknek megfelelően kell mintát venni. Az így nyert egyesített minták reprezentatívnak tekintendők azon tételekre és altételekre, amelyekből a mintavétel történt. Az élelmiszerekben előforduló egyes szennyező anyagok felső határértékeinek meghatározásáról szóló 1881/2006/EK bizottsági rendeletben előírt felső határértékeknek való megfelelést a laboratóriumi minták elemzésével kapott koncentrációk alapján kell megállapítani.

II. ÁLTALÁNOS RENDELKEZÉSEK

1. **Személyzet**

A mintavételt egy, a tagállam által felhatalmazott személy végzi.

2. **Mintavételre szánt anyag**

Minden megvizsgálandó tételből vagy altételből külön-külön kell mintát venni.

3. **Óvintézkedések**

A mintavétel és a minták előkészítése során óvintézkedéseket kell tenni minden olyan változás elkerülésére, amely befolyásolná a dioxin- és a PCB-tartalmat, károsan befolyásolná az analitikai meghatározást, vagy csorbítaná az egyesített minták reprezentativitását.

4. **Elemi minták**

Az elemi mintákat lehetőség szerint a tétel vagy az altétel különböző, egymástól távoli helyeiről kell venni. Az ezen eljárástól történő eltéréseket fel kell jegyezni az e melléklet II.8. pontjában előírt mintavételi naplóba.

5. **Az egyesített minta előállítása**

Az egyesített mintát az összes elemi minta egyesítésével kell előállítani. Tömege legalább 1 kg, kivéve, ha ez a gyakorlatban nem megvalósítható, például ha egyetlen csomagból vesznek mintát, vagy ha a termék rendkívül nagy kereskedelmi értéket képvisel.

6. **Párhuzamos minták**

Az ellenőrzési, kereskedelmi (érdekvédelmi) és összehasonlítási (szakértői) célokra szolgáló párhuzamos mintákat a homogenizált egyesített mintából kell venni, ha ez nem ütközik az adott tagállam jogszabályaiba az élelmiszer-ipari szereplők jogai tekintetében. A hatósági ellenőrzésre vett laboratóriumi minták nagyságát úgy kell megválasztani, hogy az legalább két vizsgálatot lehetővé tegyen.

7. **A minták csomagolása és szállítása**

Minden mintát olyan tiszta, inert edénybe kell helyezni, amely megfelelő védelmet nyújt a szennyeződések, az edény belső fala általi adszorpció miatti komponensveszteség és a szállítás okozta károsodások ellen. Minden szükséges óvintézkedést meg kell tenni a minta összetételében a szállítás vagy a tárolás során esetleg bekövetkező változás elkerülése érdekében.

8. **A minták lezárása és címkézése**

A hatósági felhasználásra vett mintákat a mintavétel helyszínén le kell zárni, és a tagállamok szabályainak megfelelően azonosítóval kell ellátni.

A mintavételről jegyzőkönyvet kell felvenni – amely alapján a tétel egyértelműen azonosítható –, feltüntetve a mintavétel időpontját és helyét, továbbá minden olyan további információt, amely segítheti az elemzést végző személy munkáját.

III. MINTAVÉTELI TERV

Az alkalmazott mintavételi módszernek biztosítania kell, hogy az egyesített minta az ellenőrizendő (al)tétel vonatkozásában reprezentatív legyen.

1. **A tételek felosztása altételekre**

Amennyiben az altétel fizikailag elkülöníthető, a nagy tételeket altételekre kell osztani. A nagy ömlesztett szállítmányok formájában forgalmazott termékek esetében (pl. növényi olajok) az 1. táblázatot kell alkalmazni. Egyéb termékekre a 2. táblázat alkalmazandó. Tekintettel arra, hogy a tétel tömege nem mindig pontosan többszöröse az altételek tömegének, az altétel tömege – legfeljebb 20 %-kal – meghaladhatja az említett tömeget.

1. táblázat

A tételek felosztása altételekre, ömlesztett szállítmányok formájában forgalmazott termékek esetében

A tétel tömege (tonna)	Az altételek tömege vagy száma
≥ 1 500	500 tonna
> 300 és < 1 500	3 altétel
≥ 50 és ≥ 300	100 tonna
< 50	–

2. táblázat

A tételek felosztása altételekre egyéb termékek esetében

A tétel tömege (tonna)	Az altételek tömege vagy száma
≥ 15	15–30 tonna
< 15	–

2. **Az elemi minták száma**

Az összes elemi mintát összesítő egyesített mintának legalább 1 kg tömegűnek kell lennie (lásd e melléklet II.5. pontját).

A tételből vagy altételből veendő elemi minták legkisebb számát a 3. és 4. táblázat szerint kell meghatározni.

Folyékony ömlesztett termékek esetében a tételt vagy altételt kézi vagy gépi eszközökkel közvetlenül a mintavételt megelőzően a lehetőségekhez mérten alaposan össze kell keverni, amennyiben ez nem befolyásolja a termék minőségét. Ebben az esetben feltételezhető a szennyező anyagok homogén eloszlása egy adott tételen vagy altételen belül. Az egyesített minta előállításához ezért egy tételből vagy altételből elegendő három elemi mintát venni.

Az elemi minták tömegének hasonlónak kell lenniük. Egy elemi minta tömege legalább 100 gramm.

Az ezen eljárástól történő eltéréseket fel kell jegyezni az e melléklet II.8. pontjában előírt mintavételi naplóba. Az egyes állati termékekben lévő egyes anyagok és azok maradványai ellenőrzése céljából a 96/23/EK tanácsi irányelvben előírt mintavétel szintjeinek és gyakoriságának a megállapításáról szóló 97/747/EK határozat rendelkezéseinek megfelelően tyúktojások esetében az egyesített minta mennyisége legalább 12 tojás (ömlesztett tételek és egyedi csomagokból álló tételek esetében a 3. és a 4. táblázatot kell alkalmazni).

3. táblázat

Az egy tételből vagy altételből vételezendő elemi minták minimális száma

A tétel/altétel tömege vagy térfogata (kg vagy liter)	A vételezendő elemi minták minimális száma
< 50	3
50-től 500-ig	5
> 500	10

Ha a tétel vagy altétel egyedi csomagokból vagy egységekből áll, akkor az egyesített minta előállításához szükséges csomagok vagy egységek számát a 4. táblázat tartalmazza.

4. táblázat

Az egyesített minta előállításához felhasználandó csomagok vagy egységek (elemi minták) száma, ha a tétel vagy altétel különálló csomagokból vagy egységekből áll

A tételt/altételt képező csomagok vagy egységek száma	A vételezendő csomagok vagy egységek száma
1-től 25-ig	legalább 1 csomag vagy egység
26-tól 100-ig	hozzávetőlegesen 5 %, legalább 2 csomag vagy egység
> 100	hozzávetőlegesen 5 %, legalább 10 csomag vagy egység

3. **Egyedi rendelkezések az összehasonlítható méretű és tömegű egész halakat tartalmazó tételek mintavételéhez**

A halak akkor tekinthetők összehasonlítható méretűeknek és tömegűeknek, ha a méretbeli és tömegbeli különbség nem haladja meg a körülbelül 50 %-ot.

A tételből vételezendő elemi minták száma a 3. táblázatban található. Az összes elemi mintát összesítő egyesített mintának legalább 1 kg tömegűnek kell lennie (lásd a II.5. pontot).

– Kis halakat tartalmazó tétel esetében (az egyes halak tömege hozzávetőleg 1 kg-nál kisebb) az egyesített mintát alkotó elemi mintaként egész halat kell venni. Ha az így kapott egyesített minta több mint 3 kg, az egyesített mintát alkotó halak középső, egyenként legalább 100 gramm tömegű részei képezhetik az elemi mintákat. A minta homogenizálásához azt az egész mennyiséget fel kell használni, amelyre a felső határérték vonatkozik.

  A halnak az a középső része, ahová a súlypontja esik. Ez legtöbbször a hátúszónál (ha a halnak van hátúszója) vagy a kopoltyúnyílás és a végbélnyílás közötti távolság felénél található.

– Nagyobb halakat tartalmazó tétel esetében (az egyes halak tömege hozzávetőleg 1 kg-nál nagyobb) az elemi minta a halak középső részéből áll. Minden elemi minta tömege legalább 100 gramm.

  Közepes méretű (hozzávetőleg 1–6 kg-os) halak esetében az elemi mintát a hal közepéből, a gerinctől a has felé vágott szelet formájában kell venni.

  Nagyon nagy (például hozzávetőleg 6 kg-nál nagyobb) halak esetében az elemi mintát a hal középső részéből, (elölnézetben) a jobb oldali hátsó-oldalsó színhúsból kell venni.Amennyiben egy ekkora darab kivétele a hal középső részéből jelentős gazdasági kárt okozna, a tétel nagyságától függetlenül három, egyenként legalább 350 gramm tömegű elemi minta vétele elegendőnek tekinthető, vagy ehelyett a hal farok- és fejtájékáról vett azonos nagyságú színhúsminta alkothatja az egész halra a dioxinszint vonatkozásában reprezentatívnak tekintett elemi mintát.

4. **Mintavétel különböző méretű és/vagy tömegű egész halakat tartalmazó tételekből**

– A minta összeállításával kapcsolatban a III.3. pont rendelkezéseit kell alkalmazni.

– Amennyiben egy méret- vagy tömegosztály/-kategória túlsúlyban van (a tétel körülbelül 80 %-át vagy még nagyobb hányadát képviseli), a mintát a meghatározó méretű vagy tömegű osztályba/kategóriába tartozó halakból kell venni. E mintát az egész tételre nézve reprezentatívnak kell tekinteni.

– Amennyiben egyik méret- vagy tömegosztály/-kategória sincs túlsúlyban, akkor gondoskodni kell arról, hogy a mintavételre kiválasztott halak a tételre nézve reprezentatívak legyenek. Az ilyen esetekre vonatkozó különleges iránymutatást a „Guidance on sampling of whole fishes of different size and/or weight (Útmutató a különböző méretű és/vagy tömegű egész halakból történő mintavételhez)” című kiadvány ([1]) tartalmazza.

5. **Mintavétel a kiskereskedelemben**

A kiskereskedelemben az élelmiszerekből lehetőség szerint e melléklet III.2. pontjában megállapított rendelkezések szerint kell mintát venni.

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

Amennyiben ez nem lehetséges, akkor a kiskereskedelemben más mintavételi módszer is alkalmazható, feltéve, hogy biztosítja, hogy a minta kielégítően reprezentatív legyen a mintavétel alapjául szolgáló tételre vagy altételre nézve.

IV. A TÉTEL VAGY ALTÉTEL ELŐÍRÁSOKNAK VALÓ MEGFELELÉSE

1. **A NEM DIOXINJELLEGŰ PCB-K TEKINTETÉBEN**

A tétel akkor fogadható el, ha az analitikai eredmény – a mérési bizonytalanságot is figyelembe véve – nem haladja meg az 1881/2006/EK rendeletben a nem dioxinjellegű PCB-kre megállapított felső határértéket.

A tétel nem felel meg az 1881/2006/EK rendeletben megállapított felső határértéknek, ha a felfelé kerekített analitikai eredmény két párhuzamos elemzéssel (*) megerősítve és a mérési bizonytalanságot is figyelembe véve az ésszerűség határain belül kétséget kizáróan meghaladja a felső határértéket. A mérési bizonytalanságot is figyelembe véve a megfelelőség ellenőrzésére a két meghatározás számtani középértéke szolgál.

A mérési bizonytalanságot a következő módszerek egyikével lehet figyelembe venni:

– a kiterjesztett bizonytalanság kiszámítása 2-es kiterjesztési tényező alkalmazásával, ami megközelítőleg 95 %-os megbízhatósági szintet ad. A tétel vagy altétel nem megfelelő, ha az U-val csökkentett mért érték meghaladja a megállapított megengedett határértéket,

– a 2002/657/EK határozat rendelkezéseinek megfelelő döntési határérték (CCα) meghatározása (a határozat I. mellékletének 3.1.2.5. pontja – meghatározott engedélyezett határértékkel rendelkező anyagok esete). A tétel vagy altétel nem megfelelő, ha a mért érték egyenlő a CCα-val, vagy meghaladja azt.

A fent említett szabályokat a hatósági ellenőrzés céljából vett mintákkal kapott analitikai eredményekre kell alkalmazni. Érdekvédelem vagy referencia céljából végzett elemzések esetében a nemzeti szabályok alkalmazandók.

2. **A DIOXINOK (PCDD-K/PCDF-EK) ÉS A DIOXINJELLEGŰ PCB-K TEKINTETÉBEN**

A tételt el kell fogadni, ha

– az 5 % alatti „hamis megfelelő” arányt biztosító szűrőmódszerrel végzett egyetlen elemzés analitikai eredménye azt mutatja, hogy a koncentráció nem haladja meg az 1881/2006/EK rendeletben a PCDD-kre/PCDF-ekre, illetve a PCDD-k/PCDF-ek és a dioxinjellegű PCB-k összegére megállapított határértéket,

– a valamely megerősítő módszerrel végzett egyetlen elemzés eredménye – a mérési bizonytalanságot is figyelembe véve – nem haladja meg az 1881/2006/EK rendeletben a PCDD-kre/PCDF-ekre, illetve a PCDD-k/PCDF-ek és a dioxinjellegű PCB-k összegére megállapított határértéket.

A szűrőtesztekhez cut-off értéket kell megállapítani a PCDD-kre/PCDF-ekre, illetve a PCDD-k/PCDF-ek és a dioxinjellegű PCB-k összegére megállapított határértéknek való megfelelés meghatározásához.

A tétel nem felel meg az 1881/2006/EK rendeletben megállapított felső határértéknek, ha a megerősítő módszerrel kapott, felfelé kerekített analitikai eredmény, két párhuzamos elemzéssel (**) megerősítve és a mérési bizonytalanságot is figyelembe véve az ésszerűség határain belül kétséget kizáróan meghaladja a felső határértéket. A mérési bizonytalanságot is figyelembe véve a két meghatározás számtani középértéke szolgál a megfelelőség ellenőrzésére.

A mérési bizonytalanságot a következő módszerek egyikével lehet figyelembe venni:

– a kiterjesztett bizonytalanság kiszámítása 2-es kiterjesztési tényező alkalmazásával, ami megközelítőleg 95 %-os megbízhatósági szintet ad. A tétel vagy altétel nem megfelelő, ha az U-val csökkentett mért érték meghaladja a megállapított megengedett határértéket. A PCDD-k/PCDF-ek és a dioxinjellegű PCB-k külön történő meghatározása esetén a PCDD-k/PCDF-ek és a dioxinjellegű PCB-k külön-külön kapott analitikai eredményei becsült kiterjesztett bizonytalanságának összegét kell használni a PCDD-k/PCDF-ek és a dioxinjellegű PCB-k összegének kiszámításához,

– a 2002/657/EK határozat rendelkezéseinek megfelelő döntési határérték (CCα) meghatározása által (az említett határozat I. mellékletének 3.1.2.5. pontja – meghatározott engedélyezett határértékkel rendelkező anyagok esete). A tétel vagy altétel nem megfelelő, ha a mért érték egyenlő a CCα-val, vagy meghaladja azt.

A fent említett szabályokat a hatósági ellenőrzés céljából vett mintákkal kapott analitikai eredményekre kell alkalmazni. Érdekvédelem vagy referencia céljából végzett elemzések esetében a nemzeti szabályok alkalmazandók.

(*) A két párhuzamos elemzésre akkor van szükség, ha a ^{13}C-jelölésű belső standardot alkalmazó megerősítő módszerekkel végzett első vizsgálat eredménye az adott analitok esetében nem megfelelést mutat. A két párhuzamos elemzésre azért van szükség, hogy ki lehessen zárni a minták belső keresztszennyeződésének vagy véletlen összecserélődésének lehetőségét. Ha az elemzést szennyeződési incidens miatt kell elvégezni, el lehet tekinteni a két párhuzamos elemzéssel történő megerősítéstől abban az esetben, ha az elemzésre kiválasztott minták nyomon követhetően a szennyeződéshez kapcsolódnak, a megállapított koncentráció pedig jelentős mértékben meghaladja a felső határértéket.

(**) A beavatkozási szintek ellenőrzésére szolgáló párhuzamos elemzés indokolása és követelményei megegyeznek a felső határérték tekintetében a (*) lábjegyzetben foglaltakkal.

V. A BEAVATKOZÁSI SZINTEK TÚLLÉPÉSE

A beavatkozási szintek a minták kiválasztásának eszközei azokban az esetekben, amelyekben azonosítani kell a szennyeződés forrását, és intézkedni kell a csökkentéséről vagy megszüntetéséről. A szűrőmódszereknél megfelelő cut-off értékeket kell meghatározni az ilyen minták kiválasztásához. Ha jelentős erőfeszítések szükségesek a szennyeződés forrásának beazonosításához és a szennyeződés csökkentéséhez vagy megszüntetéséhez, célszerű eljárás lehet két párhuzamos, megerősítő módszert alkalmazó elemzés végzése – a mérési bizonytalanságot is figyelembe véve – a beavatkozási szint túllépésének megerősítésére (**).

III. MELLÉKLET

AZ EGYES ÉLELMISZEREKBEN ELŐFORDULÓ DIOXINOK (PCDD-K/PCDF-EK) ÉS DIOXINJELLEGŰ PCB-K KONCENTRÁCIÓJÁNAK ELLENŐRZÉSÉHEZ HASZNÁLT MINTA-ELŐKÉSZÍTÉS ÉS AZ ELEMZÉSI MÓDSZEREKRE VONATKOZÓ KÖVETELMÉNYEK

1. ALKALMAZÁSI KÖR

Az e mellékletben előírt követelményeket kell alkalmazni az élelmiszereknek a 2,3,7,8-as szénatomokon helyettesített poliklórozott dibenzo-p-dioxinok és poliklórozott dibenzo-furánok (PCDD-k/PCDF-ek), valamint a dioxinjellegű poliklórozott bifenilek (dioxinjellegű PCB-k) koncentrációja tekintetében történő hatósági ellenőrzéséhez, továbbá egyéb szabályozási célokra.

Az élelmiszerekben előforduló PCDD-k/PCDF-ek és dioxinjellegű PCB-k koncentrációjának ellenőrzése két különböző típusú analitikai módszerrel történhet:

a) **Szűrési módszerek**

A szűrési módszerek célja azoknak a mintáknak a kiválasztása, melyekben a PCDD-k/PCDF-ek és a dioxinjellegű PCB-k koncentrációja meghaladja a felső határértéket vagy a beavatkozási szintet. A szűrőmódszerekkel költséghatékonyan lehet nagy mennyiségű mintát feldolgozni, és így nagyobb az esély az olyan új szennyeződési esetek felismerésére, amelyek nagy fogyasztói expozíciót és egészségi kockázatot jelentenek. Alkalmazásuknak arra kell irányulnia, hogy ne forduljanak elő „hamis megfelelő" eredmények. A szűrőmódszerek közé tartozhatnak bioanalitikai módszerek és gázkromatográfiás/tömegspektrometriás (GC/MS) módszerek.

A szűrőmódszerek az analitikai eredményt összehasonlítják egy cut-off értékkel, és igen/nem választ adnak a felső határérték vagy a beavatkozási szint lehetséges túllépéséről. Az olyan mintákban, amelyek esetében feltételezhető a felső határértéket meghaladó eredmény, a PCDD-k/PCDF-ek koncentrációját, valamint a PCDD-k/PCDF-ek és a dioxinjellegű PCB-k összkoncentrációját megerősítő módszerrel kell meghatározni/megerősíteni.

Emellett a szűrőmódszerek jelezhetik a mintában lévő PCDD-k/PCDF-ek és dioxinjellegű PCB-k koncentrációját. Bioanalitikai szűrőmódszerek alkalmazása esetén az eredmény bioanalitikai egyenértékként (BEQ) fejezhető ki, míg fizikai-kémiai CG-MS-mérések alkalmazása esetén toxicitási egyenértékként (TEQ). A szűrőmódszerek számadattal megadott eredményei megfelelően mutatják a megfelelést, a feltételezett meg nem felelést vagy a beavatkozási szint túllépését, és amennyiben megerősítő módszerekkel történő nyomon követés szükséges, jelzi a koncentrációtartományt. Nem alkalmasak olyan célokra, mint például a háttér-koncentrációk értékelése, a bevitel becslése, a koncentráció időbeli tendenciáinak nyomon követése vagy a beavatkozási szint, illetve a felső határértékek felülvizsgálata.

b) **Megerősítő módszerek**

A megerősítő módszerek lehetővé teszik a mintában jelen lévő PCDD-k/PCDF-ek és dioxinjellegű PCB-k egyértelmű azonosítását és mennyiségi meghatározását, és teljes körű információt adnak a kongéneralapról. Ezért e módszerek lehetővé teszik a felső határértékek és a beavatkozási szintek ellenőrzését, ideértve a szűrőmódszerekkel kapott eredmények megerősítését. Ezen túlmenően az eredmények egyéb célokra – például az élelmiszer-ellenőrzésben az alacsony háttér-koncentrációk meghatározására, az időbeli tendenciák követésére, a lakossági expozíció felmérésére, valamint a beavatkozási szint és a felő határértékek esetleges felülvizsgálatát szolgáló adatbázis létrehozására – is alkalmazhatók. Fontosak továbbá a kongénerkombinációk megállapításához, hogy azonosítani lehessen a szennyeződés lehetséges forrását. Az ilyen módszerek GC-HRMS-t alkalmaznak. A felső határértéknek való megfelelés /nem megfelelés megerősítésére GC-MS/MS is alkalmazható.

2. HÁTTÉR

A toxicitási egyenértékben (TEQ) kifejezett koncentráció kiszámításához az egyes anyagok adott mintában mért koncentrációját meg kell szorozni az Egészségügyi Világszervezet (WHO) által megállapított és e melléklet függelékében felsorolt, hozzájuk tartozó toxicitási egyenérték-tényezővel (TEF), majd össze kell adni őket, és ez az érték adja a dioxinjellegű vegyületek toxicitási egyenértékben (TEQ) kifejezett összkoncentrációját.

Egy adott mátrix ellenőrzésére csak akkor alkalmazhatók szűrési és megerősítő módszerek, ha azok kellően érzékenyek ahhoz, hogy megbízhatóan kimutassák a beavatkozási szint vagy felső határérték körüli koncentrációkat.

3. MINŐSÉGBIZTOSÍTÁSI ELŐÍRÁSOK

– Intézkedéseket kell hozni, hogy a mintavétel és az analitikai eljárás szakaszaiban ne fordulhasson elő a minták keresztszennyeződése.

– A mintákat olyan üveg, alumínium, polipropilén vagy polietilén anyagú edényekben kell tárolni és szállítani, amelyek alkalmasak a minták olyan tárolására, hogy az azokban lévő PCDD-k/PCDF-ek és dioxinjellegű PCB-k koncentrációját semmilyen hatás ne érhesse. A papírpormaradékokat el kell távolítani a mintatartóból.

– A minták tárolása és szállítása során gondoskodni kell az élelmiszerminta épségének megőrzéséről.

– Adott esetben az egyes laboratóriumi mintákat finomra kell őrölni és alaposan össze kell keverni bizonyítottan teljes homogenizációt eredményező eljárással (például őrlés olyan finomságúra, hogy 1 mm-es szitán áthulljon); a túl nagy nedvességtartalmú mintákat őrlés előtt szárítani kell.

– Fontos ellenőrizni, hogy a reagensek, a laboratóriumi üvegeszközök és berendezések nem befolyásolhatják-e a TEQ-értékre vagy BEQ-értékre alapozott eredményeket.

– Vakpróbát kell végezni, azaz végre kell hajtani a teljes analitikai eljárást, a mintát kihagyva belőle.

– Bioanalitikai módszereknél rendkívül fontos ellenőrizni az elemzéshez használt összes laboratóriumi üvegeszközt és oldószert, hogy mentesek legyenek olyan vegyületektől, melyek a munkatartományban zavarhatnák a keresett vegyületek kimutatását. Az üvegeszközöket ki kell öblíteni oldószerrel és/vagy fel kell melegíteni olyan hőmérsékletre, amelyen a felületükről eltávoznak a nyomokban esetleg ott lévő PCDD-k/PCDF-ek, dioxinjellegű vegyületek és zavaró vegyületek.

– Az extrakcióhoz használt minta mennyiségének elegendőnek kell lennie ahhoz, hogy teljesüljenek a felső határértékeket vagy a beavatkozási szinteket magában foglaló, kellően alacsony munkatartományra vonatkozó követelmények.

– A vizsgált termékekre alkalmazott adott minta-előkészítési eljárásoknak nemzetközileg elfogadott iránymutatásokat kell követniük.

– Halak esetében a bőrt el kell távolítani, mivel a felső határérték a bőr nélküli színhúsra vonatkozik. Azonban a bőr belső oldalára tapadó minden színhúst és zsírszövetet gondosan és teljes egészében le kell kaparni a bőrről, és ezeket hozzá kell adni a vizsgálandó mintához.

4. A LABORATÓRIUMOKRA VONATKOZÓ KÖVETELMÉNYEK

– A 882/2004/EK európai parlamenti és tanácsi rendeletnek ([1]) megfelelően az analitikai minőségbiztosítás alkalmazásának biztosítása érdekében a laboratóriumokat az ISO 58 útmutató szerint működő elismert testületnek kell akkreditálnia. A laboratóriumokat az EN ISO/IEC 17025 szabvány szerint kell akkreditálni.

– A laboratóriumok szakmai felkészültségét olyan laboratóriumközi körvizsgálatokban való folyamatos, sikeres részvétellel kell bizonyítani, amelyek a PCDD-k/PCDF-ek és a dioxinjellegű PCB-k meghatározására irányulnak a megfelelő élelmiszermátrixokban és koncentrációtartományokban.

– A minták rutinszerű ellenőrzésére szűrőmódszereket alkalmazó laboratóriumoknak szoros együttműködést kell kialakítaniuk a megerősítő módszert alkalmazó laboratóriumokkal mind a minőség-ellenőrzés, mind a feltehetően nem megfelelő minták analitikai eredményeinek megerősítése terén.

5. A DIOXINOK (PCDD-K/PCDF-EK) ÉS DIOXINJELLEGŰ PCB-K TEKINTETÉBEN ALKALMAZOTT ANALITIKAI ELJÁRÁSOKRA VONATKOZÓ ALAPKÖVETELMÉNYEK

5.1. **Alacsony munkatartomány és a mennyiségi meghatározás határértéke**

– A PCDD-k/PCDF-ek esetében a kimutatható mennyiségnek a femtogrammos (10^{-15}g) tartomány felső részébe kell esnie, mivel az említett vegyületek közül több rendkívül mérgező. A legtöbb PCB-vegyület esetében már az is elegendő, ha a meghatározási határ a nanogrammos (10^{-9}g) tartományban van. A mérgezőbb dioxinjellegű PCB-kongénerek (és különösen a nem orto-helyzetben helyettesített kongénerek) méréséhez azonban a munkatartomány aljának el kell érnie a pikogrammos (10^{-12}g) tartomány alját.

5.2. **Nagy szelektivitás (specifikusság)**

– Meg kell tudni különböztetni a PCDD-ket/PCDF-eket és a dioxinjellegű PCB-ket azoktól a sokféle, együtt extrahálódó és a mérést esetleg zavaró más vegyületektől, amelyek több nagyságrenddel nagyobb koncentrációban lehetnek jelen, mint a keresett analitok. A gázkromatográfiás/tömegspektrometriás (GC-MS) módszerekkel meg kell tudni különböztetni egymástól a különböző kongénereket is, így például a mérgező vegyületeket (például a 2,3,7,8-as szénatomokon helyettesített tizenhét PCDD-t/PCDF-et és a tizenkét dioxinjellegű PCB-t) a többi kongénertől.

– A bioanalitikai módszerekkel ki kell tudni mutatni a keresett vegyületeket a PCDD-k/PCDF-ek, illetve dioxinjellegű PCB-k összegeként. A mintatisztítás célja az olyan vegyületek eltávolítása, amelyek „hamis nem megfelelő” eredményeket okoznak, vagy az olyanokét, amelyek a reakció gyengítésével „hamis megfelelő” eredményt okoznak.

([1]) Az Európai Parlament és a Tanács 2004. április 29-i 882/2004/EK rendelete a takarmány- és élelmiszerjog, valamint az állat-egészségügyi és az állatok kíméletére vonatkozó szabályok követelményeinek történő megfelelés ellenőrzésének biztosítása céljából végrehajtott hatósági ellenőrzésekről (HL L 165 ., 30/04/2004., 1. o.).

5.3. **Nagy adatpontosság (valódiság és módszerpontosság, biológiai próba során észlelt visszanyerés)**

– A GC-MS módszerek tekintetében a meghatározásnak hiteles becslést kell adnia a minta valódi koncentrációjáról. Nagy adatpontosság (a mérés pontossága: a mérés eredménye milyen pontosan egyezik meg a mérendő mennyiség valódi vagy hozzárendelt értékével) szükséges ahhoz, hogy a mintaelemzés eredményét ne kelljen elutasítani a kapott TEQ-érték gyenge megbízhatósága miatt. A pontosságot a *valódisággal* (egy hitelesített anyagban az adott komponensre mért átlagérték és a hitelesített érték közötti különbség, ez utóbbi százalékában kifejezve) és a *módszerpontossággal* (RSD_R vagy relatív szórás, amelyet a reprodukálhatósági körülmények között kapott eredményekből kell kiszámítani) fejezzük ki.

– A bioanalitikai módszerek esetében a biológiai próba során észlelt visszanyerést kell meghatározni.

5.4. **Hitelesítés a felső határérték tartományában és általános minőség-ellenőrző intézkedések**

– A laboratóriumoknak a hitelesítés és/vagy a rutinszerű elemzés során a módszerek alkalmasságát a felső határérték tartományában – például a felső határérték felénél, egyszeresénél és kétszeresénél – azzal kell igazolniuk, hogy az ismételt elemzések variációs együtthatója elfogadható.

– Belső minőség-ellenőrzési intézkedésként rendszeresen vakkontrollokkal és adalékolási (ún. szpájkolási) kísérleteket vagy kontrollminta-elemzést (lehetőleg hitelesített referenciaanyaggal) kell végezni. A vakkontrollokról, adalékolási (ún. szpájkolási) kísérletekről vagy a kontrollminta-elemzésekről minőség-ellenőrzési (QC) nyilvántartást kell vezetni, és ellenőrizni kell, hogy az analitikai alkalmasság valóban megfelel-e a követelményeknek.

5.5. **A meghatározási határ**

– A bioanalitikai szűrőmódszereknél nem feltétlenül szükséges, hogy meg legyen határozva meghatározási határ (LOQ), de a módszerről bizonyítani kell, hogy meg tudja különböztetni a vakmintával kapott eredményeket az alsó küszöbértéktől. BEQ-érték megadásakor az e koncentráció alatti reakciót mutató minták kezelése céljából meg kell határozni egy jelentési határértéket. A jelentési határértéknek igazoltan legalább háromszor nagyobbnak kell lennie az elemzési vakmintákkal kapott eredménynél úgy, hogy az értéknek a munkatartomány alá kell esnie. Ezért ezt a keresett vegyületet az előírt minimumkoncentráció körüli koncentrációban tartalmazó mintákból, nem pedig a jel/zaj arányból vagy mérési vakmintából kell kiszámítani.

– Megerősítő módszer esetében a meghatározási határnak (LOQ) a keresett koncentráció körülbelül egyötödénél kell lennie.

5.6. **Analitikai kritériumok**

– Annak érdekében, hogy a megerősítő vagy szűrőmódszerek megbízható eredményeket adjanak, a felső határértékek vagy a beavatkozási szintek tartományában a következő kritériumoknak kell teljesülniük a TEQ-értékre, illetve a BEQ-értékre, függetlenül attól, hogy a meghatározás TEQ-összértékként (a PCDD-k/PCDF-ek és a dioxinjellegű PCB-k összegeként) vagy külön a PCDD-kre/PCDF-re és külön a dioxinjellegű PCB-kre történik-e:

	Szűrés bioanalitikai vagy fizikai-kémiai módszerekkel	Megerősítő módszerek
„Hamis megfelelő” arány (*)	< 5 %	
Valódiság		– 20 %-tól + 20 %-ig
Ismételhetőség (RSD_r)	< 20 %	
Laboratóriumon belüli reprodukálhatóság (RSD_R)	< 25 %	< 15 %

(*) A felső határértékhez képest.

5.7. **A szűrőmódszerekre vonatkozó egyedi követelmények**

– A szűréshez használhatók mind GC-MS módszerek, mind bioanalitikai módszerek. A GC-MS módszerekre az e melléklet 6. pontjában előírt követelményeket kell alkalmazni. A sejtalapú bioanalitikai módszerekre vonatkozó egyedi követelményeket e melléklet 7. pontja írja le.

– A minták rutinszerű ellenőrzéséhez szűrőmódszereket alkalmazó laboratóriumoknak szoros együttműködést kell kialakítaniuk a megerősítő módszert alkalmazó laboratóriumokkal.

– A szűrőmódszerek alkalmasságát a rutinszerű elemzések során analitikai minőség-ellenőrzéssel és a módszer folyamatos hitelesítésével kell ellenőrizni. A „megfelelő” eredmények ellenőrzésére folyamatos programot kell alkalmazni.

– A sejtreakció és a citotoxicitás esetleges elnyomásának ellenőrzése:

A mintakivonatok 20 %-át kell mérni rutinszerű szűréssel, a keresett koncentrációnak megfelelően hozzáadott 2,3,7,8-TCDD-vel és anélkül, annak ellenőrzésére, hogy a mintakivonatban jelen lévő zavaró anyagok miatt előfordulhat-e reakcióelnyomás. Az adalékolt minta mért koncentrációját össze kell hasonlítani az adalékolás nélküli kivonat koncentrációjának és az adalékolási koncentrációnak az összegével. Ha a mért koncentráció több mint 25 %-kal kisebb a számított (össz)koncentrációnál, akkor ez azt mutatja, hogy fennáll a reakcióelnyomás lehetősége, és az érintett mintát megerősítő elemzéssel meg kell vizsgálni. Az eredményeket a minőség-ellenőrző nyilvántartásban figyelemmel kell kísérni.

– A „megfelelő” minták minőség-ellenőrzése:

A mintamátrixtól és a laboratóriumi gyakorlattól függően a „megfelelő” minták megközelítőleg 2–10 %-ával el kell végezni a megerősítést.

– A „hamis megfelelő” arányok meghatározása a minőség-ellenőrzési adatokból:

A felső határérték vagy a beavatkozási szint alatti és feletti minták szűrése alapján meg kell határozni a hamis megfelelő eredmények arányát. A tényleges „hamis megfelelő” aránynak 5 % alatt kell lennie.

Ha mátrixonként vagy mátrixcsoportonként van legalább 20 megerősített eredmény a „megfelelő” minták minőség-ellenőrzéséből, akkor a „hamis megfelelő” arányt ebből az adatbázisból kell megállapítani. A körvizsgálatokban vagy a szennyeződési esetek során elemzett minták eredményei, amelyek például akár a felső határérték kétszereséig terjedő koncentrációtartományokba is tartozhatnak, szintén felvehetők a „hamis megfelelő” arány kiszámításához minimumként használandó 20 eredmény közé. A mintáknak le kell fedniük a különféle forrásokat reprezentáló, leggyakoribb kongénerkombinációkat.

Noha a szűrőteszteknek lehetőleg azt kell célozniuk, hogy kimutassák a beavatkozási szintet meghaladó mintákat, a „hamis megfelelő” arányok meghatározásának kritériuma a felső határérték, figyelembe véve a megerősítő módszer mérési bizonytalanságát.

– A szűrőmódszerekből származó, potenciálisan nem megfelelő eredményeket az eredeti minta teljes újbóli vizsgálata által kell ellenőrizni. Ezek a minták a „hamis nem megfelelő” eredmények arányának kiszámításához is használhatók. A szűrőmódszereknél a „hamis nem megfelelő” eredmények aránya a korábbi szűréskor „feltehetően nem megfelelő”-nek minősített minták megerősítő elemzéssel „megfelelő”-ként megerősített eredményeinek hányada. A szűrőmódszer előnyös voltát a „hamis nem megfelelő” mintáknak az összes ellenőrzött mintával való összehasonlítása alapján kell értékelni. Ennek az aránynak elég kicsinek kell lennie ahhoz, hogy a szűrővizsgálati módszer alkalmazása előnyös legyen.

– A bioanalitikai módszereknek, legalábbis a hitelesítési körülmények között, hitelesen kell jelezniük – a BEQ-érték kiszámításával és megadásával – a TEQ-értéket.

– A megismételhetőségi körülmények között alkalmazott bioanalitikai módszerekre is igaz, hogy a laboratóriumon belüli RSD_r jellemzően kisebb, mint az RSD_R-reprodukálhatóság.

6. A SZŰRÉS ÉS MEGERŐSÍTÉS CÉLJÁBÓL ALKALMAZOTT GC-MS MÓDSZEREKRE VONATKOZÓ SPECIFIKUS KÖVETELMÉNYEK

6.1. A felfelé kerekített és a lefelé kerekített WHO-TEQ koncentrációk közötti elfogadható különbség

– A felfelé kerekített és a lefelé kerekített koncentrációk közötti különbség nem haladhatja meg a 20 %-ot a maximális határérték vagy szükség esetén a beavatkozási szint túllépésének megerősítése céljából.

6.2. A visszanyerések ellenőrzése

– Az elemzési eljárás hitelesítéséhez az analitikai eljárás legelején, például az extrakció előtt a 2,3,7,8-as szénatomokon helyettesített PCDD-kből/PCDF-ekből készített, ^{13}C-jelölésű belső standardokat és a dioxinjellegű PCB-kből készített, ^{13}C-jelölésű belső standardokat hozzá kell adni a mintákhoz. A tetraklórozottól az oktaklórozottig terjedő PCDD/PCDF homológ csoportok mindegyikéből legalább egy kongénert, továbbá a dioxinjellegű PCB homológ csoportok mindegyikéből legalább egy kongénert kell hozzáadni a mintához (más megoldásként legalább egy-egy kongénert a PCDD-k/PCDF-ek és dioxinjellegű PCB-k ellenőrzéséhez használt tömegspektrometriás szelektív ionkövetéses funkciókhoz). A megerősítő módszerek esetében a 2,3,7,8-as szénatomokon helyettesített mind a tizenhét PCDD-ből/PCDF-ből készített, ^{13}C-jelölésű belső standardot és mind a tizenkét dioxinjellegű PCB-ből készített, ^{13}C-jelölésű belső standardot használni kell.

– Ezenkívül megfelelő kalibráló oldatok alkalmazásával relatív válaszfaktorokat kell meghatározni azon kongénerekre, amelyek ^{13}C-jelölésű analógja nem lett hozzáadva a mintához.

– A növényi eredetű élelmiszerek és a 10 %-nál kevesebb zsírt tartalmazó állati eredetű élelmiszerek esetében a belső standardokat kötelezően az extrahálás előtt kell a mintához adni. A 10 %-nál nagyobb zsírtartalmú állati eredetű élelmiszerek esetében a belső standardokat vagy a zsírextrakció előtt, vagy az után kell a mintához adni. Az extrakció hatékonyságát megfelelően hitelesíteni kell, figyelembe véve, hogy a belső standardok hozzáadása melyik szakaszban történt, illetve hogy az eredményeket termékre vagy zsírra kell-e jelenteni.

– GC-MS elemzés előtt a visszanyerés mérésére egy vagy két (kísérő) standardot is hozzá kell adni a mintához.

– A visszanyerést ellenőrizni kell. A megerősítő módszerek esetében az egyes belső standardoknál a visszanyerésnek a 60–120 %-os tartományban kell lennie. Egyes kongénereknél, különösen néhány 7, illetve 8 klóratomot tartalmazó dibenzo-p-dioxin és dibenzo-furán esetében ennél kisebb vagy nagyobb visszanyerés is elfogadható, feltéve, hogy TEQ-értékük részaránya a PCDD-k/PCDF-ek és dioxinjellegű PCB-k összegén alapuló TEQ-összértéken belül legfeljebb 10 %. A szűrési módszerek esetében a visszanyerésnek a 30–140 %-os tartományban kell lennie.

6.3. **A zavaró anyagok eltávolítása**

– A PCDD-ket/PCDF-eket megfelelő kromatográfiás eljárással (lehetőleg florisil-, alumínium-oxid- és/vagy szénoszlopon) el kell választani a zavaró klórozott vegyületektől, így például a nem dioxinjellegű PCB-ktől és a klórozott difenil-éterektől.

– Az izomereket elegendő gázkromatográfiás eljárással elválasztani (< 25 % lehet a csúcsok közötti eltérés az 1,2,3,4,7,8-HxCDF és az 1,2,3,6,7,8-HxCDF esetében).

6.4. **Kalibrálás standard görbével**

– A kalibrációs görbe tartományának le kell fednie a felső határérték vagy a beavatkozási szint megfelelő tartományát.

6.5. **A megerősítő módszerekre vonatkozó specifikus követelmények**

– A GC-HRMS tekintetében:

A HRMS esetében a felbontás a teljes tömegtartományra nézve jellemzően legalább 10 000 vagy annál nagyobb, 10 %-os mélypont mellett.

A nemzetközi szabványokban – például az EN 6215:2012 szabványban (Animal feed – Determination of dioxins and dioxin-like PCBs by GC/HRMS and of indicator PCBs by GC/HRM; Állati takarmányok. Dioxinok és dioxinjellegű PCB-k meghatározása GC/HRMS módszerrel és indikátor PCB-k meghatározása GC/HRMS módszerrel) és/vagy a felülvizsgált EPA 1613 és 1668 módszerekben – ismertetett további azonosítási és megerősítési kritériumok teljesülése.

– A GC-MS/MS tekintetében:

legalább két specifikus anyaion nyomon követése, melyek a vizsgálat keretében minden jelölt és nem jelölt analit tekintetében rendelkeznek egy specifikus, megfelelő ionátmenettel.

A relatív ionintenzitásokhoz engedélyezett maximum tűréshatár a kiválasztott ionátmenetek esetében a kiszámított vagy mért értékekhez viszonyítva ± 15 % (a kalibrációs standardokból származó átlag), az analit minden egyes átmenete esetében azonos MS/MS-feltételek alkalmazása mellett (mindenekelőtt ütközési energia és ütközési gáznyomás).

Az egyes quadrupolok felbontását úgy kell beállítani, hogy – a vizsgálat szempontjából fontos analitokkal kapcsolatos interferencia minimalizálása érdekében – megegyezzen az egységnyi tömegfelbontással, vagy nagyobb legyen annál (egységnyi tömegfelbontás: ahhoz elegendő felbontás, hogy egy tömegegységet két csúcsra bontson).

A nemzetközi szabványokban – például az EN 6215:2012 szabványban (Animal feed – Determination of dioxins and dioxin-like PCBs by GC/HRMS and of indicator PCBs by GC/HRM; Állati takarmányok. Dioxinok és dioxinjellegű PCB-k meghatározása GC/HRMS módszerrel és indikátor PCB-k meghatározása GC/HRMS módszerrel) és/vagy a felülvizsgált EPA 1613 és 1668 módszerekben – ismertetett további azonosítási és megerősítési kritériumok teljesülése, a GC-HRMS alkalmazására vonatkozó kötelezettséget leszámítva.

7. A BIOANALITIKAI MÓDSZEREKRE VONATKOZÓ EGYEDI KÖVETELMÉNYEK

A bioanalitikai módszerek biológiai alapelvek használatán alapuló módszerek, mint például sejtalapú tesztek, receptortesztek vagy immuntesztek. E 7. pont általánosságban leírja a bioanalitikai módszerekre vonatkozó követelményeket.

Egy szűrőmódszer alapvetően „megfelelő”-nek vagy „feltehetően nem megfelelő”-nek minősít egy mintát. Ehhez a számított BEQ-értéket össze kell hasonlítani a cut-off értékkel (lásd a 7.3. pontot). Az alsó küszöbérték alatti minták „megfelelő”-nek minősülnek, az azzal egyenlő vagy a feletti értékű minták pedig „feltehetően nem megfelelő”-nek, melyeket megerősítő módszerrel elemezni kell. A gyakorlatban a felső határérték 2/3-ának megfelelő BEQ-érték alkalmazható a legalkalmasabb alsó küszöbértékként, ami biztosítja, hogy a „hamis megfelelő” arány 5 % alatt legyen, és a „hamis nem megfelelő” eredmények aránya is elfogadható legyen. Mivel külön felső határértékek vannak a PCDD-kre/PCDF-kre, illetve a PCDD-k/PCDF-ek és a dioxinjellegű PCB-k összegére, a minták frakcionálás nélküli megfelelőség-ellenőrzéséhez a biológiai próbáknál megfelelő alsó küszöbértékek szükségesek a PCDD-k/PCDF-ek vonatkozásában. A beavatkozási szinteket meghaladó minták ellenőrzéséhez a beavatkozási szintek megfelelő százalékaránya lehet az alkalmas alsó küszöbérték.

Egyes bioanalitikai módszereknél továbbá tájékoztató BEQ-érték adható meg a munkatartományba eső és a jelentési határértéket meghaladó mintákra (lásd a 7.1.1. és a 7.1.6. pontot).

7.1. **A mérési reakciók kiértékelése**

7.1.1. *Általános követelmények*

– Ha a koncentrációk kiszámítása TCDD-s kalibrációs görbével történik, akkor a görbe alsó és felső végénél lévő értékek nagy szórást (nagy variációs együtthatót [CV]) mutatnak. A munkatartomány az a terület, ahol ez a CV kisebb, mint 15 %. A munkatartomány alját (jelentési határérték) úgy kell meghatározni, hogy az jelentősen (legalább háromszor) nagyobb legyen az elemzési vakmintákkal kapott eredményeknél. A munkatartomány tetejét általában az EC_{70} jelenti (a legnagyobb hatásos koncentráció 70 %-a), de ennél kisebbnek kell lennie, ha ebben a tartományban a CV nagyobb, mint 15 %. A munkatartományt a hitelesítés során kell meghatározni. Az alsó küszöbértékeknek (lásd a 7.3. pontot) a munkatartomány belsejében kell lenniük.

– A standard oldatokat és a mintakivonatokat legalább két párhuzamos elemzéssel kell mérni. Két párhuzamos elemzéskor a lemezen elosztva 4–6 cellában mért standard oldatnak vagy kontrollkivonatnak olyan reakciókat vagy koncentrációkat kell adnia (ez csak a munkatartományban lehetséges), amelyek variációs együtthatója (CV) < 15 %.

7.1.2. *Kalibrálás*

7.1.2.1. Kalibrálás standard görbével

– A mintában lévő mennyiségeket a mérési reakció és a TCDD-vel (vagy a PCB-126-tal vagy pedig PCDD-ből/PCDF-ből/dioxinjellegű PCB-ből álló standard keverékkel) készített kalibrációs görbe összehasonlításával kell megbecsülni, és ez alapján lehet kiszámítani a kivonatra és ezt követően a mintára jellemző BEQ-értéket.

– A kalibrációs görbéknek 8–12 (legalább két párhuzamos elemzéssel kapott) koncentrációt kell tartalmazniuk úgy, hogy elegendő koncentráció legyen a görbe alsó részén (a munkatartományban). Külön figyelmet kell fordítani a munkatartományban a görbeilleszkedés minőségére. Ennél az R^2-érték kevéssé vagy egyáltalán nem használható az illeszkedés jóságának becslésére a nem lineáris regresszió esetében. Jobb illeszkedést lehet elérni a görbe munkatartományában számított és mért koncentrációk közötti legkisebb különbségek, például a legkisebb maradék négyzetösszeg alkalmazásával.

– A mintakivonat becsült koncentrációját ezután korrigálni kell egy vakmátrixra/vakoldószerre számított BEQ-értékkel (az alkalmazott oldószerek és vegyszerek szennyeződéseinek figyelembe vétele céljából) és az észlelt visszanyeréssel (ennek kiszámítása a reprezentatív kongénerkombinációkat a keresett koncentráció körüli koncentrációkban tartalmazó, alkalmas referenciaminták BEQ-értékéből történik). A visszanyeréssel való korrigáláshoz az észlelt visszanyerésnek mindig az előírt tartományba kell esnie (lásd a 7.1.4. pontot). A visszanyeréssel való korrigáláshoz használt referenciamintáknak meg kell felelniük a 7.2. pontban ismertetett követelményeknek.

7.1.2.2. Kalibrálás referenciamintákkal

Más megoldásként használható legalább négy, a felső határérték vagy a beavatkozási szint körüli koncentrációjú referenciamintával (lásd a 7.2. pontot): – egy vakmátrix, plusz három referenciaminta, melyek koncentrációja a keresett koncentráció 0,5-szerese, 1,0-szerese, illetve 2,0-szerese – készített kalibrációs görbe; így nincs szükség a vakminta eredményeivel és a visszanyeréssel történő korrigálásra. Ebben az esetben a felső határérték 2/3-ának megfelelő mérési reakció (lásd a 7.3. pontot) közvetlenül kiszámítható ezekből a mintákból, és alsó küszöbértékként használható. A beavatkozási szinteket meghaladó minták ellenőrzéséhez a beavatkozási szintek megfelelő százalékaránya lehet az alkalmas alsó küszöbérték.

7.1.3. *A PCDD-k/PCDF-ek és a dioxinjellegű PCB-k meghatározása külön-külön*

A kivonatok szétválaszthatók olyan frakciókra, melyek PCDD-ket/PCDF-eket, illetve dioxinjellegű PCB-ket tartalmaznak, így külön-külön meghatározható a PCDD-k/PCDF-ek, illetve a dioxinjellegű PCB-k TEQ-értéke (BEQ-értékként kifejezve). A dioxinjellegű PCB-ket tartalmazó frakció eredményeinek kiszámításához lehetőleg a PCB-126-tal készített standarddal felvett kalibrációs görbét kell használni.

7.1.4. *Biológiai próba során észlelt visszanyerés*

A „biológiai próba során észlelt visszanyerést” a felső határérték vagy a beavatkozási szint körüli reprezentatív kongénerkombinációkat tartalmazó alkalmas referenciamintákból kell kiszámítani, és a BEQ-értéknek a TEQ-értékhez viszonyított százalékában kell megadni. A próba típusától és az alkalmazott TEF-értékektől ([1]) függően a dioxinjellegű PCB-kre vonatkozó TEF- és REP-tényezők közötti különbségek a dioxinjellegű PCB-k esetében a PCDD-khez/PCDF-ekhez viszonyítva kis észlelt visszanyerést okozhatnak. Ezért ha a PCDD-k/PCDF-ek és a dioxinjellegű PCB-k meghatározása külön-külön történik, akkor a biológiai próba során észlelt visszanyerésnek a következőnek kell lennie: dioxinjellegű PCB-knél 20–60 %, PCDD-knél/PCDF-eknél pedig 50–130 % (a tartományok a TCDD-s kalibrációs görbére vonatkoznak). Mivel a dioxinjellegű PCB-k hozzájárulása a PCDD-k/PCDF-ek és a dioxinjellegű PCB-k összegéhez a mátrixoktól és a mintáktól függően változhat, a biológiai próba összegparaméterére vonatkozó észlelt visszanyerések tükrözik ezeket a tartományokat, és ezeknek 30 % és 130 % között kell lenniük.

7.1.5. *A visszanyerések ellenőrzése mintatisztításnál*

A mintatisztítás során előforduló vegyületvesztést a hitelesítéskor ellenőrizni kell. A különböző kongénerek keverékével adalékolt vakmintán el kell végezni a mintatisztítást (n = legalább 3), és a visszanyerést és a variabilitást megerősítő módszerrel kell ellenőrizni. A visszanyerésnek 60 % és 120 % között kell lennie, főként olyan kongénereknél, amelyek 10 %-nál nagyobb mértékben járulnak hozzá a TEQ-értékhez a különféle keverékekben.

7.1.6. *Jelentési határérték*

A BEQ-értékeknek a jelentésben történő megadásához jelentési határértéket kell meghatározni jellemző kongénerkombinációkat tartalmazó adott mátrixmintákból (nem a standard kalibrációs görbéből, mivel a görbe alján kicsi a módszerpontosság). Figyelembe kell venni az extrakció és a mintatisztítás hatásait. A jelentési határértéket úgy kell meghatározni, hogy az jelentősen (legalább háromszor) nagyobb legyen az elemzési vakmintákkal kapott eredményeknél.

7.2. **Referenciaminták használata**

– A referenciamintáknak reprezentálniuk kell a mintamátrixot, a kongénerkombinációkat és a PCDD-knek/PCDF-eknek és a dioxinjellegű PCB-knek a felső határérték vagy beavatkozási szint körüli koncentrációtartományait.

– Mindegyik méréssorozatban lennie kell lehetőleg egy vakmátrixnak vagy, ha ez nem lehetséges, elemzési vakmintának, valamint a felső határérték vagy beavatkozási szint körüli koncentrációjú referenciamintának. Ezeket a mintákat egyidőben és azonos körülmények között kell extrahálni és elemezni. A referenciamintának egyértelműen nagyobb reakciót kell adnia, mint a vakmintának, így biztosítva az elemzés alkalmasságát. Ezek a minták használhatók a vakminta eredményeivel és a visszanyeréssel való korrigáláshoz.

– A visszanyeréssel való korrigáláshoz választott referenciamintáknak az elemzett mintákra nézve reprezentatívaknak kell lenniük, ami azt jelenti, hogy a kongénerkombinációk nem okozhatják a koncentrációk alábecslését.

– A felső határérték vagy beavatkozási szint ellenőrzésére például a felső határérték vagy beavatkozási szint felének és kétszeresének megfelelő további referenciamintákat is alkalmazni lehet annak igazolására, hogy az elemzés alkalmassága a keresett tartományban megfelelő. Ezek a minták együttesen használhatók az elemzett minták BEQ-értékeinek kiszámítására (lásd a 7.1.2.2. pontot).

7.3. **A cut-off értékek meghatározása**

Meg kell határozni a BEQ-értékként kapott bioanalitikai eredmények és a megerősítő módszerekkel kapott TEQ-értékek közötti összefüggést (például egyeztetett mátrixokkal végzett kalibrálási kísérletekkel, a felső határérték 0-szorosával, 0,5-szeresével, 1-szeresével és 2-szeresével egyenlő koncentrációkra adalékolt referenciamintákat használva, mindegyik koncentrációnál hat-hat ismétléssel [n = 24]). Ebből az összefüggésből meg lehet becsülni a korrigálási tényezőket (vakminta és visszanyerés), de azokat minden méréssorozatban elemzési vakminták/vakmátrixok és visszanyerési minták segítségével ellenőrizni kell (lásd a 7.2. pontot).

Alsó küszöbértéket kell megállapítani annak eldöntéséhez, hogy a minta megfelel-e a PCDD-kre/PCDF-ekre és a dioxinjellegű PCB-kre külön-külön, vagy pedig a PCDD-k/PCDF-ek és a dioxinjellegű PCB-k összegére meghatározott felső határértéknek, illetve adott esetben a beavatkozási szint ellenőrzése érdekében. Ezeket a (vakminta eredményeivel és a visszanyeréssel korrigált) bioanalitikai eredmények eloszlásának *alsó* v égpontja jelenti, amely megfelel a megerősítő módszernél használt, 5 %-nál kisebb „hamis megfelelő” arányt és 25 %-nál kisebb RSD_R-t feltételező 95 %-os megbízhatósági szinten alapuló döntési határértéknek. A megerősítő módszernél használt döntési határérték a felső határérték, figyelembe véve a mérési bizonytalanságot.

([1]) A jelenlegi előírások az alábbi kiadványban közzétett TEF-rendszeren alapulnak: Van den Berg és mtsai., Toxicol Sci 93 (2), 223–241. o. (2006).

A gyakorlatban a (BEQ-értékként kifejezett) alsó küszöbérték a következő módszerek egyikével számítható ki (lásd az 1. ábrát):

7.3.1. A 95 %-os predikciós intervallum *alsó* sávja a megerősítő módszernél használt döntési határértéknél:

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

ahol:

BEQ_{DL} A megerősítő módszer döntési határértékének – amely a mérési bizonytalanságot is tartalmazó felső határérték – megfelelő BEQ

$s_{y,x}$ maradék szórás

$t_{\alpha,f=m-2}$ Student-tényező (α = 5 %, f = szabadságfok, egyoldali)

m a kalibrációs pontok összesen (j index)

n az ismétlések száma az egyes koncentrációknál

x_i az i. kalibrációs pontnál a minta megerősítő módszerrel mért koncentrációja (TEQ-értékként)

$\overline{x}$ az összes kalibrálási minta koncentrációjának átlaga (TEQ-értékben)

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

i = az i. kalibrálási pont indexe

7.3.2. A megerősítő módszer döntési határértékének megfelelő szennyezettségű minták párhuzamos elemzéseinek (n > 6) (a vakminta eredményeivel és a visszanyeréssel korrigált) bioanalitikai eredményeiből, az eloszlási görbének a megfelelő BEQ-átlagértéknél lévő *alsó* végpontjaként:

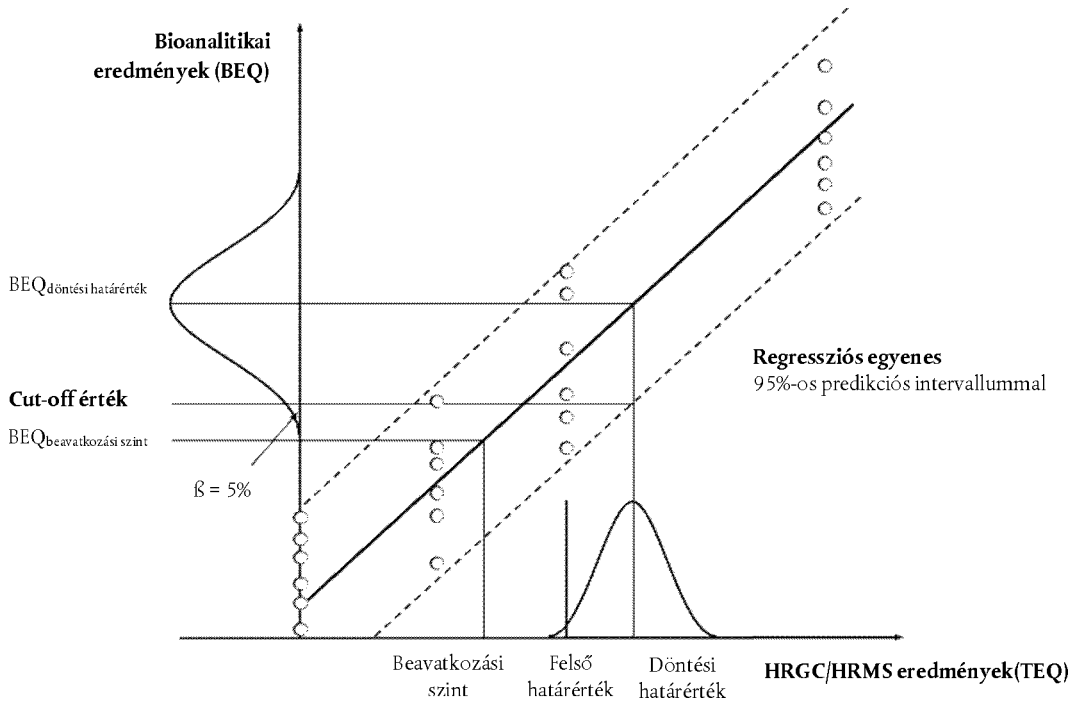
$$\text{Cut-offérték} = BEQ_{DL} - 1{,}64 \times SD_R$$

ahol:

SD_R a biológiai próbák BEQ_{DL}-értékre kapott eredményeinek szórása, a laboratóriumon belüli reprodukálhatóság körülményei között mérve.

7.3.3. Számítás a felső határérték vagy a beavatkozási szint 2/3-ának megfelelő szennyezettségű minták párhuzamos elemzéseinek (n > 6) a (vakminta eredményeivel és a visszanyeréssel korrigált, BEQ-értékként kifejezett) bioanalitikai eredmények átlagértékeként: Ez azon a megfigyelésen alapul, hogy a koncentráció a 7.3.1. pontban vagy a 7.3.2. pontban meghatározott alsó küszöbérték körül lesz.

1. ábra



5 %-nál kisebb „hamis megfelelő” arányt és 25 %-nál kisebb RSD_R-t feltételező 95 %-os megbízhatósági szinten alapuló alsó küszöbértékek kiszámítása:

1. A 95 %-os predikciós intervallum *alsó* sávja a megerősítő módszernél használt döntési határértéknél:

2. A megerősítő módszer döntési határértékének megfelelő szennyezettségű minták párhuzamos elemzéseinek (n > 6) bioanalitikai eredményeiből, az eloszlási görbének (az ábrán a harang alakú görbe) a megfelelő BEQ-átlagértéknél lévő alsó végpontjaként.

7.3.4. Az alsó küszöbértékek korlátozásai:

A korlátozott számú, különböző mátrixú/kongénerkombinációjú mintákkal végzett hitelesítés során kapott RSD_R-ből kiszámított, BEQ-értéken alapuló alsó küszöbértékek nagyobbak lehetnek a TEQ-értéken alapuló felső határértékeknél vagy beavatkozási szinteknél, mivel hitelesítéskor nagyobb módszerpontosság érhető el, mint a rutinszerű elemzéseknél, ahol a lehetséges kongénerkombinációk ismeretlen skáláját kell ellenőrizni. Ilyen esetekben az alsó küszöbérték kiszámításához RSD_R = 25 %-ot kell venni, vagy pedig a felső határértékek vagy a beavatkozási szint kétharmadát célszerű alsó küszöbértéknek tekinteni.

7.4. **Alkalmasságjellemzők**

– Mivel a bioanalitikai módszereknél nem alkalmazható belső standard, a méréssorozatokon belüli és a sorozatok közötti szórás megállapításához vizsgálni kell a bioanalitikai módszerek megismételhetőségét. A megismételhetőségnek 20 % alatt, a laboratóriumon belüli reprodukálhatóságnak pedig 25 % alatt kell lennie. Ehhez a vakminta eredményeivel és a visszanyeréssel korrigált BEQ-értékként számított koncentrációkat kell használni.

– A hitelesítési eljárás részeként a tesztről ki kell mutatni, hogy különbséget tesz a vakminta eredménye és az alsó küszöbérték között, és így lehetővé teszi a megfelelő alsó küszöbérték felett lévő minták azonosítását (lásd a 7.1.2. pontot).

– Meg kell határozni a keresett vegyületeket, az esetleges interferenciákat és a vakminták elfogadható legnagyobb értékeit.

– Egy mintakivonat három párhuzamos meghatározásakor kapott reakciók vagy az ilyen reakcióból számított koncentrációk (csak a munkatartományban lehetséges) százalékos szórása nem lehet nagyobb 15 %-nál.

– A referenciaminták BEQ-értékként kifejezett, korrigálás (vakminta és felső határérték vagy beavatkozási szint körüli koncentráció) nélküli eredményeit kell használni a bioanalitikai módszer egy meghatározott időszak alatti alkalmasságának értékelésére.

– Az elemzési vakmintákról és a referenciaminták egyes típusairól minőség-ellenőrzési nyilvántartást kell vezetni, és ellenőrizni kell, hogy az analitikai alkalmasság biztosan megfelel-e a követelményeknek, az elemzési vakminták esetében főként a munkatartomány aljához képest előírt legkisebb különbség, a referenciaminták esetében pedig főként a laboratóriumon belüli reprodukálhatóság tekintetében. Az elemzési vakmintáknál ügyelni kell arra, hogy a kivonás miatt ne keletkezhessenek „hamis megfelelő” eredmények.

– A szűrőmódszer alkalmasságának, valamint a BEQ és a TEQ közötti összefüggés értékeléséhez a feltehetően nem megfelelő mintáknak és a megfelelő minták 2–10 %-ának (mátrixonként legalább 20 minta) megerősítő módszerrel végzett elemzéséből származó eredményeket össze kell gyűjteni és fel kell használni. Ez az adatbázis használható a hitelesített mátrixokkal végzett rutinszerű elemzésekre vonatkozó alsó küszöbértékek újraértékeléséhez.

– A módszerek alkalmassága igazolható körvizsgálatokban való részvétellel is. A körvizsgálatokban elemzett minták eredményei – a felső határérték kétszereséig terjedő koncentrációtartományokban – felhasználhatók a „hamis megfelelő” arány kiszámításához, ha a laboratórium igazolni tudja az alkalmasságot. A mintáknak le kell fedniük a különféle forrásokat reprezentáló, leggyakoribb kongénerkombinációkat.

– Szennyeződési eseteknél az alsó küszöbértékek átértékelhetők, hogy tükrözzék az adott külön esemény egyedi mátrix- és vegyületkombinációit.

8. AZ EREDMÉNYEK JELENTÉSE

Megerősítő módszerek

– Amennyire az alkalmazott analitikai eljárás lehetővé teszi, az analitikai eredmények között fel kell tüntetni az egyes PCDD-/PCDF- és dioxinjellegű PCB-kongénerek koncentrációit, és ezeket felfelé, lefelé és középre kerekített értékként kell a jelentésben megadni, hogy az az eredményekről a lehető legtöbb információt tartalmazza, lehetővé téve az eredményeknek a vonatkozó követelmények szerinti értelmezését.

– A jelentésnek a PCDD-k/PCDF-ek, a dioxinjellegű PCB-k és a lipidek extrahálásához használt módszert is tartalmaznia kell. Olyan élelmiszerminták esetében, amelyeknél a felső határérték zsírra vetítve van meghatározva, és a zsírtartalomnak 0–2 % között kell lennie (a jelenlegi jogszabályoknak megfelelően), a lipidtartalmat meg kell határozni, és jelenteni kell, míg a többi minta esetében a lipidtartalom meghatározása nem kötelező.

– Meg kell adni az egyes belső standardok visszanyerését abban az esetben, ha a visszanyerés kívül esik a 6.2. pontban megadott tartományon, ha az eredmények meghaladják a felső határértéket (ebben az esetben meg kell adni a két párhuzamos elemzés visszanyeréseit) vagy kérésre más esetekben.

– Mivel a minta megfelelőségéről való döntésnél figyelembe kell venni a mérési bizonytalanságot, ezt a paramétert is meg kell adni. Az analitikai eredményeket tehát x +/– U formában kell megadni a jelentésben, ahol x az analitikai eredmény, U a kiterjesztett mérési bizonytalanság; a kiterjesztési tényező 2, amely körülbelül 95 %-os megbízhatósági szintet eredményez. A PCDD-k/PCDF-ek és a dioxinjellegű PCB-k külön történő meghatározása esetén a PCDD-k/PCDF-ek és a dioxinjellegű PCB-k külön-külön kapott analitikai eredményeinél kapott kiterjesztett bizonytalanságok összegét kell használni a PCDD-k/PCDF-ek és a dioxinjellegű PCB-k összegének kiszámításához.

– Ha a mérési bizonytalanság figyelembevétele a CCα alkalmazásával történik (a II. melléklet IV. pontjának 2. alpontjában leírt módon), akkor ezt a paramétert is meg kell adni a jelentésben.

– Az eredményeket ugyanabban a mértékegységben és legalább ugyanannyi tizedesjeggyel kell megadni, ahogy az 1881/2006/EK rendelet a felső határértékeket megadja.

Bioanalitikai szűrőmódszerek

– A szűrés eredményét „megfelelő” vagy „feltehetően nem megfelelő” megjelöléssel kell megadni.

– Ezenkívül az eredmény a PCDD-kre/PCDF-ekre, illetve dioxinjellegű PCB-kre megadható (TEQ-érték helyett) bioanalitikai egyenértékként (BEQ-értékként) (lásd a III. melléklet 1. pontját). A jelentési határérték alatti reakciókat adó mintákat „jelentési határérték alatt” megjelöléssel kell feltüntetni.

– A jelentésnek a mintamátrix minden típusa esetében tartalmaznia kell az értékelés alapját képező felső határértéket vagy beavatkozási szintet.

– A jelentésnek tartalmaznia kell az alkalmazott teszt típusát, a teszt alapelvét és a kalibráció típusát.

– A jelentésnek a PCDD-k/PCDF-ek, a dioxinjellegű PCB-k és a lipidek extrahálásához használt módszert is tartalmaznia kell. Olyan élelmiszerminták esetében, amelyeknél a felső határérték vagy a beavatkozási szint zsírra vetítve van meghatározva, és a zsírtartalomnak 0–2 % között kell lennie (a jelenlegi jogszabályoknak megfelelően), a lipidtartalmat meg kell határozni, és jelenteni kell, míg a többi minta esetében a lipidtartalom meghatározása nem kötelező.

– Ha valamely mintával kapcsolatban felmerül, hogy feltehetően nem felel meg, a jelentésben szerepelnie kell a szükséges intézkedésre vonatkozó megjegyzésnek. A keresett vegyületeket jelentős mennyiségben tartalmazó mintákban a PCDD-k/PCDF-ek koncentrációját, valamint a PCDD-k/PCDF-ek és a dioxinjellegű PCB-k összkoncentrációját megerősítő módszerrel kell meghatározni/megerősíteni.

A III. melléklet függeléke

Az Egészségügyi Világszervezet (WHO) Nemzetközi Vegyi Biztonsági Programja (IPCS) keretében 2005 júniusában Genfben tartott szakértői konferencia megállapításai alapján számított, a humán kockázatok felméréséhez használt WHO-TEF-értékek (Martin van den Berg és mtsai.: The 2005 World Health Organization Re-evaluation of Human and Mammalian Toxic Equivalency Factors for Dioxins and Dioxin-like Compounds [Dioxinok és dioxinjellegű vegyületek emberekre és emlősökre vonatkozó toxicitási egyenérték-tényezőinek az Egészségügyi Világszervezet által 2005-ben végzett újraértékelése]).

Kongéner (rokonvegyület)	TEF-érték	Kongéner (rokonvegyület)	TEF-érték
Dibenzo-p-dioxinok („PCDD-k”)		„Dioxinjellegű” PCB-k **nem-orto PCB-k + mono-orto PCB-k**	
2,3,7,8-TCDD	1	**Nem orto-PCB-k**	
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		
Dibenzo-furánok („CDF-ek”)		**Mono-orto PCB-k**	
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		

Alkalmazott rövidítések: „T” = tetra; „Pe” = penta; „Hx” = hexa; „Hp” = hepta; „O” = okta; „CDD” = klór-dibenzo-dioxin; „CDF” = klór-dibenzo-furán; „CB” = klór-bifenil.

IV. MELLÉKLET

AZ EGYES ÉLELMISZEREKBEN ELŐFORDULÓ NEM DIOXINJELLEGŰ PCB-K (PCB-28, -52, -101, -138, -153, -180) KONCENTRÁCIÓJÁNAK ELLENŐRZÉSÉHEZ HASZNÁLT MINTA-ELŐKÉSZÍTÉS ÉS AZ ELEMZÉSI MÓDSZEREKRE VONATKOZÓ KÖVETELMÉNYEK

Az e mellékletben leírt követelményeket kell alkalmazni az élelmiszerek nem dioxinjellegű poliklórozott bifeniltartalmának (nem dioxinjellegű PCB-k) hatósági ellenőrzése során és más szabályozási célokból kifolyólag.

1. **Az alkalmazandó kimutatási módszerek:**

Gázkromatográfia/elektronbefogásos kimutatás (GC-ECD), GC-LRMS, GC-MS/MS, GC-HRMS vagy egyenértékű módszerek

2. **A keresett analitok beazonosítása és megerősítése:**

– A belső standardokhoz vagy referenciastandardokhoz viszonyított relatív retenciós idő (elfogadható eltérés: +/– 0,25 %).

– Mind a hat indikátor PCB (PCB-28, PCB-52, PCB-101, PCB-138, PCB-153 és PCB-180) gázkromatográfiás elválasztása az interferáló anyagoktól, főként az együtt eluálódó PCB-ktől, különösen, ha a minták koncentrációi a jogszabályi határértékek tartományában vagy a fölött vannak, és a meg nem felelést meg kell erősíteni.

(A tapasztalatok szerint a következő kongénereknél például gyakran előfordul az együttes eluáció: PCB-28/-31, PCB-52/-69 és PCB-138/-163/-164. A GC-MS módszernél figyelembe kell venni a nagyobb mértékben klórozott kongénerek fragmentumai által okozott potenciális zavarást is.)

– A GC-MS módszerek tekintetében:

  – Mérni kell legalább a következőket:

    – a HRMS esetében két meghatározott ion,

    – az LRMS esetében két meghatározott m/z > 200 ion vagy három meghatározott m/z > 100 ion,

    – az MS-MS esetében 1 elővegyület- és 2 termékion.

  – Kiválasztott tömegfragmentumok gyakoriságára megengedett tűrések:

Kiválasztott tömegfragmentumok gyakoriságának relatív eltérése az elméleti gyakorisághoz vagy a keresett ion (a vizsgált ionok közül a leggyakoribb) és a minősítő ion(ok) kalibrációs standardjához képest:

A minősítő ion(ok) relatív intenzitása a keresett ionhoz képest	GC-EI-MS (relatív eltérés)	GC-CI-MS, GC-MS^n (relatív eltérés)
> 50 %	± 10 %	± 20 %
> 20 %–50 %	± 15 %	± 25 %
> 10 %–20 %	± 20 %	± 30 %
≤ 10 %	± 50 % (*)	± 50 % (*)

(*) Mivel elegendő 10 %-nál nagyobb relatív intenzitású tömegfragmentum áll rendelkezésre, a keresett ionhoz képest 10 %-nál kisebb relatív intenzitású minősítő ion(ok) használata nem ajánlott.

– A GC-ECD tekintetében:

A tűrést meghaladó eredményeket különböző polaritású állófázist használó két gázkromatográfiás oszloppal meg kell erősíteni.

3. **A módszerek alkalmasságának igazolása:**

A módszerek alkalmasságát a felső határérték tartományában (a felső határérték felétől a kétszereséig) kell hitelesíteni úgy, hogy az ismételt elemzések elfogadható variációs együtthatót adjanak (a közbenső módszerpontosságra vonatkozó előírásokat lásd a 8. pontban).

4. **Meghatározási határ:**

A vakmintákkal kapott eredmények nem lehetnek nagyobbak a felső határértéknek megfelelő szennyeződéskoncentráció 30 %-ánál ([1]).

5. **Minőségellenőrzés:**

Rendszeres vakkontrollmérések, adalékolt minták elemzése, minőség-ellenőrzési minták, részvétel a vonatkozó mátrixokkal végzett laboratóriumközi körvizsgálatokban.

6. **A visszanyerések ellenőrzése:**

– A keresett analitokhoz hasonló fizikai-kémiai tulajdonságokkal rendelkező alkalmas belső standardokat kell használni.

– Belső standardok használata:

  – Hozzáadás a termékekhez (extrahálás és mintatisztítás előtt);

  – Lehetséges hozzáadás az extrahált zsírhoz (a mintatisztítás előtt) is, ha a felső érték zsírra vetítve van meghatározva.

– A mind a hat izotópos jelölésű indikátor PCB-vegyületet használó módszerekre vonatkozó előírások:

  – az eredményeket korrigálni kell a belső standardok visszanyerésével,

  – az izotópjelölésű belső standardok általánosan elfogadott visszanyerése 50 és 120 % közé esik,

  – A hat indikátor PCB összegéhez 10 %-nál kisebb mértékben hozzájáruló egyes kongénereknél elfogadható ennél kisebb vagy nagyobb visszanyerés.

– A nem mind a hat izotópos jelölésű indikátor PCB-ből készített belső standardokat vagy más belső standardokat használó módszerekre vonatkozó előírások:

  – a belső standardok visszanyerését minden minta esetében ellenőrizni kell,

  – a belső standardok elfogadott visszanyerése 60 és 120 % közé esik,

  – az eredményeket korrigálni kell a belső standardok visszanyerésével.

– A nem jelölt kongénerek visszanyerését olyan adalékolt mintákkal vagy minőség-ellenőrzési mintákkal kell ellenőrizni, amelyek koncentrációja a felső határérték körüli tartományba esik. Ezeknek a kongénereknek a visszanyerése akkor elfogadható, ha 70 és 120 % közé esik.

7. **A laboratóriumokra vonatkozó követelmények**

A 882/2004/EK rendeletnek megfelelően az analitikai minőségbiztosítás alkalmazásának biztosítása érdekében a laboratóriumokat az ISO 58 útmutató szerint működő elismert testületnek kell akkreditálnia. A laboratóriumokat az EN ISO/IEC 17025 szabvány szerint kell akkreditálni.

8. **Alkalmasságjellemzők: A felső határértéken jelen lévő hat indikátor PCB-összegére vonatkozó kritériumok**

Valódiság	−30 %-tól +30 %-ig
Közbenső módszerpontosság (RSD%)	≤ 20 %
A felfelé és a lefelé kerekítés közötti különbség	≤ 20 %

9. **Az eredmények jelentése**

– Amennyire az alkalmazott analitikai eljárás lehetővé teszi, az analitikai eredmények között fel kell tüntetni az egyes PCB-kongénerek koncentrációit, és ezeket felfelé, lefelé és középre kerekített értékként kell a jelentésben megadni, hogy az az eredményekről a lehető legtöbb információt tartalmazza, lehetővé téve az eredményeknek a vonatkozó követelmények szerinti értelmezését.

– A jelentésnek a PCB-k és a lipidek extrahálásához használt módszert is tartalmaznia kell. Olyan élelmiszerminták esetében, amelyeknél a felső határérték zsírra vetítve van meghatározva, és a zsírtartalomnak 0–2 % között kell lennie (a jelenlegi jogszabályoknak megfelelően), a lipidtartalmat meg kell határozni, és jelenteni kell, míg a többi minta esetében a lipidtartalom meghatározása nem kötelező.

([1]) Határozottan ajánlott, hogy a reagenssel készített vakminta koncentrációjának hozzájárulása a mintában lévő szennyeződés koncentrációjához ennél kisebb legyen. A laboratórium felelőssége a vakminták koncentrációeltéréseinek ellenőrzés alatt tartása, különösen akkor, ha a vakmintákkal kapott eredményeket le kell vonni az analitikai eredményekből.

– Meg kell adni az egyes belső standardok visszanyerését abban az esetben, ha a visszanyerés kívül esik a 6. pontban megadott tartományon, amennyiben az eredmények meghaladják a felső határértéket vagy más esetekben, ha arra kérés érkezik.

– Mivel a minta megfelelőségéről való döntésnél figyelembe kell venni a mérési bizonytalanságot, ezt a paramétert is meg kell adni. Az analitikai eredményeket tehát x +/– U formában kell megadni a jelentésben, ahol x az analitikai eredmény, U a kiterjesztett mérési bizonytalanság – a kiterjesztési tényező 2, amely körülbelül 95 %-os megbízhatósági szintet eredményez.

– Ha a mérési bizonytalanság figyelembevétele a CCα alkalmazásával történik (a II. melléklet IV. pontjának 1. alpontjában leírt módon), akkor ezt a paramétert is meg kell adni a jelentésben.

– Az eredményeket ugyanabban a mértékegységben és legalább ugyanannyi tizedesjeggyel kell megadni, ahogy az 1881/2006/EK rendelet a felső határértékeket megadja.