

# FÖRORDNINGAR

## KOMMISSIONENS FÖRORDNING (EU) 2017/771

av den 3 maj 2017

### om ändring av förordning (EG) nr 152/2009 vad gäller metoderna för bestämning av halter av dioxiner och polyklorerade bifenyl

(Text av betydelse för EES)

EUROPEISKA KOMMISSIONEN HAR ANTAGIT DENNA FÖRORDNING

med beaktande av fördraget om Europeiska unionens funktionssätt,

med beaktande av Europaparlamentets och rådets förordning (EG) nr 882/2004 av den 29 april 2004 om offentlig kontroll för att säkerställa kontrollen av efterlevnaden av foder- och livsmedelslagstiftningen samt bestämmelserna om djurhälsa och djurskydd <sup>(1)</sup>, särskilt artikel 11.4, och

av följande skäl:

- (1) I kommissionens förordning (EG) nr 152/2009 <sup>(2)</sup> anges metoder för bestämning av halter av polyklorerade dibenso-p-dioxiner (PCDD), polyklorerade dibensofuraner (PCDF), dioxinlika polyklorerade bifenyl (PCB) och icke-dioxinlika PCB i foder.
- (2) EU:s referenslaboratorium för dioxiner och PCB i foder och livsmedel har visat att analysresultaten för dioxiner och PCB i vissa fall inte är tillförlitliga när prestandakriterierna i del B i bilaga V till förordning (EG) nr 152/2009 inte har tillämpats av de laboratorier som analyserar prov som foderföretagare tagit enligt Europaparlamentets och rådets förordning (EG) nr 183/2005 <sup>(3)</sup>. Tillämpningen av prestandakriterierna bör därför vara obligatorisk vid analys av prov.
- (3) Eftersom metoden med en beslutsgräns för att säkerställa att ett analysresultat överstiger gränsvärdet med en viss sannolikhet, enligt kommissionens beslut 2002/657/EG <sup>(4)</sup>, inte längre används vid analys av dioxiner, furaner och PCB i foder, bör denna metod strykas och endast metoden med den utvidgade mätosäkerheten beräknad med en täckningsfaktor på 2, vilket ger en konfidensgrad på cirka 95 %, bör kvarstå.
- (4) Det har utarbetats vägledningar för mätosäkerheten och för uppskattning av bestämningsgränsen (LOD) och kvantifieringsgränsen (LOQ). Det är lämpligt att hänvisa till dem.
- (5) I linje med rapporteringskraven för bioanalytiska screeningmetoder i del B i bilaga V till förordning (EG) nr 152/2009 bör det också fastställas särskilda rapporteringskrav för de fysikalisk-kemiska metoder som ska användas vid screening i kapitel II i den delen.
- (6) Eftersom dioxiner, dioxinlika PCB och icke-dioxinlika PCB i de flesta fall analyseras samtidigt bör prestandakriterierna för icke-dioxinlika PCB i del B kapitel III punkt 3.3 i bilaga V till förordning (EG) nr 152/2009 anpassas till prestandakriterierna för dioxiner och dioxinlika PCB. Detta är en förenkling som inte innebär några större praktiska förändringar eftersom det för icke-dioxinlika PCB gäller att konfirmeringsjonernas relativa intensitet jämfört med måljonernas är större än 50 %.

<sup>(1)</sup> EUT L 165, 30.4.2004, s. 1.

<sup>(2)</sup> Kommissionens förordning (EG) nr 152/2009 av den 27 januari 2009 om provtagnings- och analysmetoder för offentlig kontroll av foder (EUT L 54, 26.2.2009, s. 1).

<sup>(3)</sup> Europaparlamentets och rådets förordning (EG) nr 183/2005 av den 12 januari 2005 om fastställande av krav för foderhygien (EUT L 35, 8.2.2005, s. 1).

<sup>(4)</sup> Kommissionens beslut 2002/657/EG av den 14 augusti 2002 om genomförande av rådets direktiv 96/23/EG avseende analysmetoder och tolkning av resultat (EGT L 221, 17.8.2002, s. 8).

- (7) På grundval av de erfarenheter som gjorts bör vissa tekniska specifikationer anpassas, exempelvis vad gäller de utbyten för isotopmärkta standarder som föreskrivs i del B kapitel III punkterna 7.3 och 7.5 i bilaga V till förordning (EG) nr 152/2009.
- (8) Dessutom föreslås flera andra mindre ändringar av de nuvarande bestämmelserna för att göra terminologin mer enhetlig, vilket innebär att hela del B i bilaga V till förordning (EG) nr 152/2009 måste ersättas för att bibehålla textens läsbarhet.
- (9) Förordning (EG) nr 152/2009 bör därför ändras i enlighet med detta.
- (10) De åtgärder som föreskrivs i denna förordning är förenliga med yttrandet från ständiga kommittén för livsmedelskedjan och djurhälsa.

HÄRIGENOM FÖRESKRIVS FÖLJANDE.

*Artikel 1*

Del B i bilaga V till förordning (EG) nr 152/2009 ska ändras i enlighet med bilagan till den här förordningen.

*Artikel 2*

Denna förordning träder i kraft den tjugonde dagen efter det att den har offentliggjorts i *Europeiska unionens officiella tidning*.

Denna förordning är till alla delar bindande och direkt tillämplig i alla medlemsstater.

Utfärdad i Bryssel den 3 maj 2017.

*På kommissionens vägnar*  
Jean-Claude JUNCKER  
*Ordförande*

---

## BILAGA

I bilaga V till förordning (EG) nr 152/2009 ska del B "BESTÄMNING AV HALTER AV DIOXINER (PCDD/PCDF) OCH PCB" ersättas med följande:

"B. BESTÄMNING AV HALTER AV DIOXINER (PCDD/PCDF) OCH PCB

## KAPITEL I

**Provtagningsmetoder och tolkning av analysresultat****1. Tillämpningsområde och definitioner**

Provtagning för offentlig kontroll av halter av polyklorerade dibenso-p-dioxiner (PCDD) och polyklorerade dibensofuraner (PCDF) (nedan kallade *PCDD/PCDF*), dioxinlika polyklorerade bifenyler (nedan kallade *dioxinlika PCB*) <sup>(1)</sup> och icke-dioxinlika PCB i foder ska göras i enlighet med bilaga I. De kvantitativa kraven i fråga om kontroll av ämnen eller produkter som är jämnt fördelade i fodret enligt punkt 5.1 i bilaga I ska tillämpas. De erhållna samlingsproven ska betraktas som representativa för de partier eller delpartier från vilka de tas. De halter som bestäms i laboratorieproven ska ligga till grund för bedömningen av om proven är överensstämmande med gränsvärdena enligt direktiv 2002/32/EG.

I denna del B ska definitionerna i bilaga I till kommissionens beslut 2002/657/EG <sup>(2)</sup> gälla.

<sup>(1)</sup> Tabell över TEF-värden (toxiska ekvivalensfaktorer) för PCDD, PCDF och dioxinlika PCB: Världshälsoorganisationens toxicitetsekvivalensfaktorer (WHO-TEF) för bedömningen av risker för människor på grundval av slutsatserna från WHO:s expertmöte inom det internationella programmet för kemikaliesäkerhet (IPCS) i Genève i juni 2005 (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*, 2006, 93(2), s. 223–241.

Kongen	TEF-värde	Kongen	TEF-värde
Dibenso-p-dioxiner (PCDD) och dibenso-p-furaner (PCDF)		Dioxinlika PCB: non-orto PCB + mono-orto PCB	
2,3,7,8-TCDD	1		
1,2,3,7,8-PeCDD	1	Non-orto PCB	
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0,1	PCB 77	0,0001
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0,1	PCB 81	0,0003
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0,1	PCB 126	0,1
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0,01	PCB 169	0,03
OCDD	0,0003	Mono-orto PCB	
2,3,7,8-TCDF	0,1	PCB 105	0,00003
1,2,3,7,8-PeCDF	0,03	PCB 114	0,00003
2,3,4,7,8-PeCDF	0,3	PCB 118	0,00003
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0,1	PCB 123	0,00003
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0,1	PCB 156	0,00003
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0,1	PCB 157	0,00003
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0,1	PCB 167	0,00003
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0,01	PCB 189	0,00003
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0,01		
OCDF	0,0003		

Förkortningar: 'T' = tetra, 'Pe' = penta, 'Hx' = hexa, 'Hp' = hepta, 'O' = okta, 'CDD' = klordibensodioxin, 'CDF' = klordibensofuran, 'CB' = klorbifenyl.

<sup>(2)</sup> Kommissionens beslut 2002/657/EG av den 14 augusti 2002 om genomförande av rådets direktiv 96/23/EG avseende analysmetoder och tolkning av resultat (EGT L 221, 17.8.2002, s. 8).

Dessutom gäller följande definitioner:

*screeningmetoder*: metoder för att påvisa prov med halter av PCDD/PCDF och dioxinlika PCB som överskrider gränsvärdena eller åtgärdsgränserna. De ska ge en kostnadseffektiv och hög analyskapacitet och därigenom öka möjligheterna att upptäcka nya incidenter med hög exponering och hälsorisker för konsumenterna. Screeningmetoder ska baseras på bioanalytiska metoder eller GC-MS-metoder. Provresultat som överskrider den använda brytpunkten vid kontroll av överensstämmelsen med gränsvärdet ska kontrolleras genom en fullständig ny analys av det ursprungliga provet med en konfirmeringsmetod.

*konfirmeringsmetoder*: metoder för att få fram fullständig eller kompletterande information som möjliggör en entydig identifiering och kvantifiering av PCDD/PCDF och dioxinlika PCB vid gränsvärdet, eller vid behov vid åtgärdsgränsen. Sådana metoder bygger på gaskromatografi i kombination med högupplösande masspektrometri (GC-HRMS) eller gaskromatografi i kombination med tandem-masspektrometri (GC-MS/MS).

## 2. Partiets eller delpartiets överensstämmelse med gränsvärdet

### 2.1 *Icke-dioxinlika PCB*

Partiet eller delpartiet är överensstämmande med gränsvärdet om analysresultatet för summan av PCB 28, PCB 52, PCB 101, PCB 138, PCB 153 och PCB 180 (nedan kallade *icke-dioxinlika PCB*) inte överskrider gränsvärdet enligt direktiv 2002/32/EG, med beaktande av den utvidgade mätosäkerheten <sup>(1)</sup>. Partiet eller delpartiet är icke-överensstämmande med gränsvärdet enligt direktiv 2002/32/EG om det är ställt utom rimligt tvivel att medelvärdet av två analysresultat avseende den övre koncentrationen <sup>(2)</sup> fastställda genom analys av dubbelprov <sup>(3)</sup> överskrider gränsvärdet, med beaktande av den utvidgade mätosäkerheten, dvs. att den analyserade koncentrationen efter att den utvidgade mätosäkerheten subtraherats används för bedömning av överensstämmelse.

Den utvidgade mätosäkerheten beräknas med en täckningsfaktor på 2 som ger en konfidensgrad på cirka 95 %. Ett parti eller delparti är icke-överensstämmande om medelvärdet av de uppmätta värdena minus den utvidgade mätosäkerheten för medelvärdet är högre än gränsvärdet.

De bestämmelser som nämns i denna punkt ska tillämpas på de analysresultat som erhålls vid provtagning för offentlig kontroll. När det gäller analys för överklagande eller referensändamål ska nationella regler gälla.

### 2.2 *Dioxiner (PCDD/PCDF) och dioxinlika PCB*

Partiet eller delpartiet är överensstämmande med gränsvärdena i följande fall:

- En enda analys med en screeningmetod för vilken andelen prov som felaktigt bedömts överensstämma med gränsvärdet är lägre än 5 % ger ett resultat som visar att halten inte överskrider respektive gränsvärde för PCDD/PCDF och för summan av PCDD/PCDF och dioxinlika PCB enligt direktiv 2002/32/EG.
- En enda analys med en konfirmeringsmetod ger ett resultat som inte överskrider respektive gränsvärde för PCDD/PCDF och för summan av PCDD/PCDF och dioxinlika PCB enligt direktiv 2002/32/EG, med beaktande av den utvidgade mätosäkerheten.

<sup>(1)</sup> Principerna i vägledningen *Guidance Document on Measurement Uncertainty for Laboratories performing PCDD/F and PCB Analysis using Isotope Dilution Mass Spectrometry* ([http://ec.europa.eu/food/safety/animal-feed\\_en](http://ec.europa.eu/food/safety/animal-feed_en)) ska följas i tillämpliga fall.

<sup>(2)</sup> Begreppet *övre koncentration* kräver att man använder kvantifieringsgränsen för bidraget från varje icke-kvantifierad kongen. Begreppet *lägre koncentration* kräver att man använder noll för bidraget från varje icke-kvantifierad kongen. Begreppet *mellanvärde* kräver att man använder halva kvantifieringsgränsen vid beräkning av bidraget från varje icke-kvantifierad kongen. *Analys av dubbelprov*: en separat analys av de givna analyterna med användning av en andra alikvot från samma homogeniserade prov.

<sup>(3)</sup> I allmänhet gäller de krav för analys av dubbelprov som anges i kapitel C punkt 3 i bilaga II. För metoder med <sup>13</sup>C-märkt intern standard för de relevanta analyterna behövs dock analys av dubbelprov endast om resultatet från den första bestämningen inte är överensstämmande. Analys av dubbelprov behövs för att utesluta möjligheten av intern korskontamination eller oavsiktlig hopblandning av prov. När analysen utförs till följd av en föroreningsincident behöver resultatet inte konfirmeras genom analys av dubbelprov om de prov som valts ut för analys kan spåras till föroreningsincidenten och den uppmätta halten är betydligt över gränsvärdet.

För screeninganalyser ska en brytpunkt fastställas vad gäller bedömningen av om provet/n överensstämmer med gränsvärdet för PCDD/PCDF respektive för summan av PCDD/PCDF och dioxinlika PCB.

Partiet eller delpartiet är icke-överensstämmande med gränsvärdet enligt direktiv 2002/32/EG om det är ställt utom rimligt tvivel att medelvärdet av två analysresultat avseende den övre koncentrationen <sup>(1)</sup> fastställda genom analys av dubbelprov <sup>(2)</sup> med en konfirmeringsmetod överskrider gränsvärdet, med beaktande av den utvidgade mätosäkerheten, dvs. att den analyserade koncentrationen efter att den utvidgade mätosäkerheten subtraherats används för bedömning av överensstämmelse.

Den utvidgade mätosäkerheten beräknas med en täckningsfaktor på 2 som ger en konfidensgrad på cirka 95 %. Ett parti eller delparti är icke-överensstämmande om medelvärdet av de uppmätta värdena minus den utvidgade mätosäkerheten för medelvärdet är högre än gränsvärdet.

Summan av den skattade utvidgade mätosäkerheten för de enskilda analysresultaten för PCDD/PCDF och dioxinlika PCB ska användas när man anger summan av PCDD/PCDF och dioxinlika PCB.

De bestämmelser som nämns i denna punkt ska tillämpas på de analysresultat som erhålls vid provtagning för offentlig kontroll. När det gäller analys för överklagande eller referensändamål ska nationella regler gälla.

### 3. Resultat som överskrider de åtgärdsgränser som anges i bilaga II till direktiv 2002/32/EG

Åtgärdsgränserna fungerar som ett redskap för provurval i de fall där det är nödvändigt att identifiera en föroreningskälla och att vidta åtgärder för att minska eller eliminera den. Screeningmetoderna ska fastställa lämpliga brytpunkter för urvalet av dessa prov. Om det behövs betydande insatser för att identifiera en föroreningskälla och minska eller eliminera föroreningen är det lämpligt att bekräfta om åtgärdsgränsen överskridits genom att analysera dubbelprov med en konfirmeringsmetod, med beaktande av den utvidgade mätosäkerheten <sup>(3)</sup>.

## KAPITEL II

### **Provberedning och krav för analysmetoder för offentlig kontroll av halter av dioxiner (PCDD/PCDF) och dioxinlika PCB i foder**

#### 1. Tillämpningsområde

Kraven i detta kapitel ska tillämpas när foder analyseras för offentlig kontroll av halterna av 2,3,7,8-substituerade PCDD/PCDF och dioxinlika PCB och när det gäller provberedning och analyskrav för andra lagstadgade ändamål, inbegripet foderföretagarens kontroller för att säkerställa överensstämmelse med bestämmelserna i Europaparlamentets och rådets förordning (EG) nr 183/2005 <sup>(4)</sup>.

<sup>(1)</sup> Begreppet *övre koncentration* kräver att man använder kvantifieringsgränsen för bidraget från varje icke-kvantifierad kongen till TEQ-värdet (toxicitetsekvivalenter). Begreppet *lägre koncentration* kräver att man använder noll för bidraget från varje icke-kvantifierad kongen till TEQ-värdet. Begreppet *mellanvärde* kräver att man använder halva kvantifieringsgränsen vid beräkning av bidraget från varje icke-kvantifierad kongen till TEQ-värdet.

<sup>(2)</sup> I allmänhet gäller de krav för analys av dubbelprov som anges i kapitel C punkt 2 i bilaga II. För konfirmeringsmetoder med <sup>13</sup>C-märkt intern standard för de relevanta analyterna behövs dock analys av dubbelprov endast om resultatet från den första bestämningen inte är överensstämmande. Analys av dubbelprov behövs för att utesluta möjligheten av intern korskontamination eller oavsiktlig hopblandning av prov. När analysen utförs till följd av en föroreningsincident behöver resultatet inte konfirmeras genom analys av dubbelprov om de prov som valts ut för analys kan spåras till föroreningsincidenten och den uppmätta halten är betydligt över gränsvärdet.

<sup>(3)</sup> Samma förklaring och krav avseende analys av dubbelprov gäller för kontroll av åtgärdsgränser som för gränsvärden i fotnot 2.

<sup>(4)</sup> Europaparlamentets och rådets förordning (EG) nr 183/2005 av den 12 januari 2005 om fastställande av krav för foderhygien (EUT L 35, 8.2.2005, s. 1).

Övervakningen av förekomsten av PCDD/PCDF och dioxinlika PCB i foder kan utföras med två olika typer av analysmetoder:

a) *Screeningmetoder*

Syftet med screeningmetoder är att påvisa prov med halter av PCDD/PCDF och dioxinlika PCB som överskrider gränsvärdena eller åtgärdsgränserna. Screeningmetoder ska säkerställa en kostnadseffektiv och hög analyskapacitet och därigenom öka möjligheterna att upptäcka nya incidenter med hög exponering och hälsorisker för konsumenterna. När dessa metoder används ska man sträva efter att undvika resultat som felaktigt bedömts överensstämma. De kan bland annat bestå av bioanalytiska metoder och GC-MS-metoder.

Screeningmetoder jämför analysresultatet med en brytpunkt och ger ett ja/nej-svar för bedömning av om gränsvärdet eller åtgärdsgränsen eventuellt har överskridits. Koncentrationen av PCDD/PCDF och av summan av PCDD/PCDF och dioxinlika PCB i prov som misstänks vara icke-överensstämmande med gränsvärdet ska bestämmas eller bekräftas med en konfirmeringsmetod.

Screeningmetoderna kan dessutom ge en indikation på halterna av de PCDD/PCDF och dioxinlika PCB som förekommer i provet. Om bioanalytiska screeningmetoder används ska resultatet uttryckas som bioanalytiska ekvivalenter (BEQ), medan om fysikalisk-kemiska GC-MS-metoder används ska resultatet uttryckas som toxicitetsekvivalenter (TEQ). Screeningmetodernas resultat i form av numeriska värden är lämpliga för att visa på överensstämmelse eller misstänkt icke-överensstämmelse eller på att åtgärdsgränsen överskridits, och ger en indikation på koncentrationsintervallet vid uppföljning med konfirmeringsmetoder. Däremot är de inte lämpliga för utvärdering av bakgrundshalter, uppskattning av intag, uppföljning av tidstrender avseende halter eller omprövning av åtgärdsgränser och gränsvärden.

b) *Konfirmeringsmetoder*

Konfirmeringsmetoder möjliggör en entydig identifiering och kvantifiering av de PCDD/PCDF och dioxinlika PCB som förekommer i ett prov och ger fullständig information på kongennivå. Dessa metoder möjliggör därför kontroll av gränsvärden och åtgärdsgränser, inklusive konfirmering av de resultat som erhållits med screeningmetoder. Dessutom kan resultaten användas för andra ändamål, t.ex. bestämning av låga bakgrundshalter vid foderövervakning, uppföljning av tidstrender, bedömning av exponering samt för att bygga upp en databas för eventuell omprövning av åtgärdsgränser och gränsvärden. De är också viktiga för att fastställa kongenmönster så att källan till en eventuell förorening kan identifieras. Sådana metoder bygger på GC-HRMS. För att bekräfta överensstämmelse eller icke-överensstämmelse med gränsvärdet kan även GC-MS/MS användas.

## 2. **Bakgrund**

För att beräkna den totala koncentrationen av dioxinlika föreningar i ett prov, den så kallade *toxicitetsekvivalenten* (TEQ), ska koncentrationen av varje enskilt ämne i ett givet prov multipliceras med respektive ämnes toxicitetsekvivalensfaktor (TEF) (se fotnot 1 i kapitel I) och därefter adderas.

I denna del B avses med *den accepterade särskilda kvantifieringsgränsen för en enskild kongen* den lägsta analythalten som med rimlig statistisk säkerhet kan mätas och som uppfyller de identifieringskriterier som beskrivs i internationellt erkända standarder, t.ex. standarden EN 16215:2012 (*Djurfoder – Bestämning av dioxiner och dioxinlika PCB:er med GC/HRMS och av indikator-PCB:er med GC/HRMS*) och/eller i EPA-metoderna 1613 och 1668, med senare revideringar.

Kvantifieringsgränsen för en enskild kongen kan identifieras

- a) som den koncentration av en analyt i ett provextrakt som ger en instrumentrespons för de två skilda joner som ska övervakas, med ett S/N-förhållande (signal-brusförhållande) på 3:1 för den mindre känsliga rådatasignalen, eller

- b) om beräkningen av signal-brusförhållandet på grund av tekniska skäl inte ger tillförlitliga resultat, som den lägsta koncentrationen på en kalibreringskurva som ger en godtagbar ( $\leq 30\%$ ) och konsekvent (uppmätt åtminstone i början och slutet av en provserie) avvikelse till den genomsnittliga relativa responsfaktorn som beräknats för alla punkter på kalibreringskurvan för varje provserie. Kvantifieringsgränsen beräknas utifrån den lägsta koncentrationen med beaktande av utbytet för interna standarder och mängden prov.

Bioanalytiska screeningmetoder ger inte resultat på kongennivå utan endast en indikation <sup>(1)</sup> på TEQ-värdet, uttryckt som BEQ, på grund av att det i ett provextrakt även kan finnas föreningar som ger en respons i analysen men som inte uppfyller TEQ-principens alla krav.

Screeningmetoder och konfirmeringsmetoder får endast användas för kontroll av en viss matris om metoderna har tillräckligt hög känslighet för att på ett tillförlitligt sätt påvisa halter vid åtgärdsgränsen eller gränsvärdet.

### 3. **Krav för kvalitetssäkring**

- 3.1 Åtgärder ska vidtas för att undvika korskontaminering under alla moment vid provtagning och analys.
- 3.2 Proven ska lagras och transporteras i behållare av glas, aluminium, polypropen eller polyeten som är lämpade för lagring och inte påverkar halterna av PCDD/PCDF och dioxinlika PCB i proven. Spår av pappersdamm ska avlägsnas från provbehållaren.
- 3.3 Proven ska lagras och transporteras på ett sådant sätt att foderprovet bibehålls i oförändrat tillstånd.
- 3.4 Varje laboratorieprov ska vid behov finmalas och blandas omsorgsfullt enligt en metod som garanterar fullständig homogenisering (t.ex. så att de passerar en 1 mm sikt). Om vattenhalten är för hög ska proven torkas innan de mals.
- 3.5 Reagenser, glasvaror och utrustning ska kontrolleras för om de eventuellt kan påverka de TEQ- eller BEQ-baserade resultaten.
- 3.6 En analys av ett blankprov ska göras genom att man utför hela analysen men utelämnar provet.
- 3.7 För bioanalytiska metoder ska alla glasvaror och lösningsmedel som används analyseras för att garantera att de är fria från ämnen som kan störa påvisandet av målföreningar i mätområdet. Glasvaror ska sköljas med lösningsmedel eller upphettas till de temperaturer som krävs för att avlägsna spår av PCDD/PCDF, dioxinlika föreningar och störande föreningar från dess yta.
- 3.8 Det prov som extraheras ska vara tillräckligt stort för att uppfylla kraven vad gäller ett tillräckligt lågt mätområde som inkluderar gränsvärden eller åtgärdsgränser.
- 3.9 De särskilda provberedningsförfaranden som används för de givna produkterna ska följa internationellt accepterade riktlinjer.

### 4. **Krav för laboratorier**

- 4.1 I enlighet med förordning (EG) nr 882/2004 ska laboratorier ackrediteras av ett godkänt ackrediteringsorgan som verkar enligt ISO Guide 58 för att säkerställa att de tillämpar ett system för kvalitetssäkring av analysverksamheten. Laboratorierna ska ackrediteras enligt standarden EN ISO/IEC 17025. Principerna i de tekniska vägledningarna om uppskattning av mätosäkerhet och kvantifieringsgränser vid analys av PCDD/PCDF och PCB ska följas i tillämpliga fall <sup>(2)</sup>.

<sup>(1)</sup> Bioanalytiska metoder är inte specifika för de kongener som ingår i TEF-systemet. Även andra strukturellt besläktade föreningar som aktiverar Ah-receptorn kan förekomma i provextraktet och därigenom bidra till den totala responsen. Bioanalytiska resultat kan därför inte vara en uppskattning av, utan snarare en indikation på TEQ-värdet i provet.

<sup>(2)</sup> *Guidance Document on Measurement Uncertainty for Laboratories performing PCDD/F and PCB Analysis using Isotope Dilution Mass Spectrometry* ([http://ec.europa.eu/food/safety/animal-feed\\_en](http://ec.europa.eu/food/safety/animal-feed_en)) och *Guidance Document on the Estimation of LOD and LOQ for Measurements in the Field of Contaminants in Feed and Food* ([http://ec.europa.eu/food/safety/animal-feed\\_en](http://ec.europa.eu/food/safety/animal-feed_en)).

- 4.2 Laboratoriekompetensen ska bevisas genom fortlöpande medverkan i provningsjämförelser för bestämning av halten av PCDD/PCDF och dioxinlika PCB i relevanta fodermatriser och koncentrationsintervall.
- 4.3 Laboratorier som använder screeningmetoder vid rutinkontroll av prov ska ha ett nära samarbete med laboratorier som använder konfirmeringsmetoden, både för kvalitetskontroll och för att konfirmera analysresultatet för misstänkta prov.

## 5. **Grundläggande krav för analysmetoder för dioxiner (PCDD/PCDF) och dioxinlika PCB**

### 5.1 *Lågt mätområde och låga kvantifieringsgränser*

Eftersom vissa typer av PCDD/PCDF är extremt toxiska ska detektionsgränsen för dessa föreningar vara i storleksordningen femtogram ( $10^{-15}$  g). För de flesta PCB-kongener räcker det att kvantifieringsgränsen är i storleksordningen nanogram ( $10^{-9}$  g). Vid mätning av mer toxiska dioxinlika PCB-kongener (särskilt kongener som inte är substituerade på orto-position, s.k. non-orto kongener) ska de lägsta halterna i mätområdet vara i storleksordningen picogram ( $10^{-12}$  g). För alla andra PCB-kongener räcker det att kvantifieringsgränsen är i storleksordningen nanogram ( $10^{-9}$  g).

### 5.2 *Hög selektivitet (specificitet)*

5.2.1 PCDD/PCDF och dioxinlika PCB ska kunna skiljas från en stor mängd andra föreningar som extraheras samtidigt och som förekommer i koncentrationer flerfaldigt högre än hos de givna analyterna och som kan störa analysen. GC-MS-metoder ska kunna särskilja mellan olika kongener, exempelvis mellan de toxiska kongenerna (t.ex. de sju 2,3,7,8-substituerade PCDD/PCDF och de tolv dioxinlika PCB) och andra kongener.

5.2.2 Bioanalytiska metoder ska kunna påvisa målföreningar och ange dem som summan av PCDD/PCDF och/eller dioxinlika PCB. Upprening av prov ska syfta till att avlägsna föreningar som orsakar resultat som felaktigt bedömts vara icke-överensstämmande eller föreningar som kan minska responsen, vilket orsakar resultat som felaktigt bedömts överensstämma.

### 5.3 *Hög noggrannhet (riktighet och precision, skenbart utbyte för bioassay)*

5.3.1 Bestämning med GC-MS-metoder ska ge en giltig uppskattning av den sanna koncentrationen i ett prov. En hög noggrannhet krävs för att resultatet av en provanalys inte ska avvisas på grund av att det fastställda TEQ-värdet har för dålig tillförlitlighet. Noggrannheten uttrycks som *riktighet* (skillnaden mellan det medelvärde som har uppmätts för en analyt i ett certifierat material och dess certifierade värde, uttryckt som ett procenttal av detta värde) och *precision* ( $RSD_R$ , dvs. den relativa standardavvikelsen beräknad utifrån de resultat som erhållits under reproducerbara förhållanden).

5.3.2 För bioanalytiska metoder ska det skenbara utbytet för bioassay bestämmas. Det skenbara utbytet för bioassay motsvaras av det BEQ-värde som beräknas utifrån kalibreringskurvan för TCDD eller PCB 126, korrigeras för blank och därefter delas med det TEQ-värde som fastställs med konfirmeringsmetoden. Syftet är att korrigera för faktorer som till exempel förlusten av PCDD/PCDF och dioxinlika föreningar under extraktions- och uppreningsstegen, föreningar som extraherats samtidigt och ökar eller minskar resultatet (agonistiska och antagonistiska effekter), kvaliteten på kurvpasningen eller skillnader mellan TEF-värden och REP-värden (relativ potensfaktor). Det skenbara utbytet för bioassay beräknas utifrån lämpliga referensprov med representativa kongenmönster kring den givna nivån.

### 5.4 *Validering i intervallet för gränsvärdet och allmänna åtgärder för kvalitetskontroll*

5.4.1 Laboratorierna ska visa en metods prestanda i intervallet för gränsvärdet, t.ex. 0,5 gång, 1 gång och 2 gånger gränsvärdet med en godtagbar variationskoefficient för upprepade analyser, under valideringsförloppet och rutinanalyser.



5.4.2 Laboratorierna ska regelbundet analysera blankprov och spikade prov eller kontrollprov (helst certifierat referensmaterial om sådant finns) som en åtgärd för intern kvalitetskontroll. Kontrollkort för analyser av blankprov, spikade prov eller kontrollprov ska framställas och kontrolleras för att säkerställa att den analytiska prestandan uppfyller kraven.

#### 5.5 *Kvantifieringsgräns*

5.5.1 För en bioanalytisk screeningmetod är det inte ett absolut krav att kvantifieringsgränsen fastställs, men metoden ska bevisligen kunna särskilja mellan blankprovet och brytpunkten. När ett BEQ-värde anges ska en rapporteringsnivå fastställas för att hantera prov som ger en respons under denna nivå. Rapporteringsnivån ska bevisligen vara skild från metodens blankprov med åtminstone en faktor på tre och ge respons vid halter under mätområdet. Den ska därför beräknas utifrån prov med halter av målföreningarna kring de miniminivåer som krävs och inte utifrån ett S/N-förhållande (signal-brusförhållande) eller ett blankprov.

5.5.2 Kvantifieringsgränsen för en konfirmeringsmetod ska motsvara ungefär en femtedel av gränsvärdet.

#### 5.6 *Analyskriterier*

För att resultaten från konfirmerings- eller screeningmetoder ska vara tillförlitliga ska följande kriterier vara uppfyllda i intervallet för gränsvärdet för TEQ-värdet respektive BEQ-värdet, vilka kan bestämmas antingen för summan av PCDD/PCDF och dioxinlika PCB (dvs. totalt TEQ eller totalt BEQ) eller separat för PCDD/PCDF och för dioxinlika PCB.

	Screening med bioanalytiska eller fysikalisk-kemiska metoder	Konfirmeringsmetoder
Andelen prov som felaktigt bedömts vara överensstämmande (*)	< 5 %	
Riktighet		– 20 % till + 20 %
Repetierbarhet (RSD <sub>r</sub> )	< 20 %	
Intermediärt precisionsmått (RSD <sub>R</sub> )	< 25 %	< 15 %

(\*) Med avseende på gränsvärdena.

#### 5.7 *Särskilda krav för screeningmetoder*

5.7.1 Både GC-MS och bioanalytiska metoder får användas för screening. För GC-MS-metoder ska kraven i punkt 6 uppfyllas. För cellbaserade bioanalytiska metoder anges särskilda krav i punkt 7.

5.7.2 Laboratorier som använder screeningmetoder vid rutinkontroll av prov ska ha ett nära samarbete med laboratorier som använder konfirmeringsmetoden.

5.7.3 Screeningmetodens prestanda ska kontrolleras vid rutinanalyser genom kvalitetskontroll av analysverksamheten och löpande metodvalidering. Det ska finnas ett fortlöpande program för att kontrollera överensstämmande resultat.

#### 5.7.4 Kontroll av en eventuell hämning av cellens respons och cytotoxicitet

Vid rutinmässig screening ska 20 % av provextrakten analyseras med och utan tillsats av 2,3,7,8-TCDD i en halt som motsvarar gränsvärdet eller åtgärdsgränsen för att kontrollera om responsen eventuellt hämmas av störande ämnen i provextraktet. Den uppmätta koncentrationen i det spikade provet ska jämföras med summan av koncentrationen i det ej spikade provet och den tillsatta koncentrationen. Om den uppmätta koncentrationen är mer än 25 % lägre än den beräknade koncentrationen (summan) tyder detta på att signalen eventuellt hämmas och det berörda provet ska genomgå konfirmeringsanalys med GC-HRMS. Resultaten ska övervakas med kontrollkort.

#### 5.7.5 Kvalitetskontroll av överensstämmande prov

Ungefär 2–10 % av de överensstämmande proven ska konfirmeras med GC-HRMS, beroende på provmatrisen och laboratoriets erfarenhetsnivå.

#### 5.7.6 Kvalitetskontrolluppgifter som grund för bestämning av andelen prov som felaktigt bedömts överensstämma

Efter screening av prov vars halter ligger under eller över gränsvärdena eller åtgärdsgränserna ska man bestämma andelen resultat som felaktigt bedömts överensstämma. Den faktiska andelen prov som felaktigt bedömts överensstämma ska vara lägre än 5 %. När man vid kvalitetskontrollen av överensstämmande prov har tillgång till minst 20 konfirmerade resultat per matris eller matrisgrupp ska dessa uppgifter användas som grund för att dra slutsatser om andelen prov som felaktigt bedömts överensstämma. Resultat från prov som analyserats i provningsjämförelser eller vid föroreningsincidenter och som täcker koncentrationsintervall upp till exempelvis två gånger gränsvärdet kan också tas med i de minst 20 resultat som ska ingå i utvärderingen. Proven ska täcka de vanligaste kongenmönstren och komma från olika källor.

Även om det främsta syftet med screeningmetoder är att påvisa prov som överskrider åtgärdsgränsen, är gränsvärdet kriteriet för att fastställa andelen som felaktigt bedömts överensstämma, med beaktande av den utvidgade mätosäkerheten för konfirmeringsmetoden.

#### 5.7.7 Screeningresultat som eventuellt är icke-överensstämmande ska alltid kontrolleras genom en fullständig ny analys av det ursprungliga provet med en konfirmeringsmetod. Dessa prov kan också användas för att utvärdera andelen resultat som felaktigt bedömts vara icke-överensstämmande. För screeningmetoder motsvaras andelen prov som felaktigt bedömts vara icke-överensstämmande av den fraktion prov som med hjälp av konfirmeringsanalyser konstaterats överensstämma, även om dessa prov hade konstaterats vara eventuellt icke-överensstämmande vid tidigare screening. Utvärderingen av hur väl screeningmetoden fungerar ska göras på grundval av en jämförelse mellan antalet prov som felaktigt bedömts vara icke-överensstämmande och det totala antalet prov som kontrollerats. Detta värde ska vara så lågt att det lönar sig att använda en screeningmetod.

#### 5.7.8 Bioanalytiska metoder ska under valideringsbetingelser ge en godtagbar indikation på TEQ-värdet, beräknat och uttryckt som BEQ.

Även för bioanalytiska metoder som används under repeterbarhetsbetingelser bör normalt sett den interna repeterbarheten ( $RSD_i$ ) vara lägre än reproducerbarheten ( $RSD_R$ ).

## 6. Särskilda krav för GC-MS-metoder för screening eller konfirmering

### 6.1 Godtagbara skillnader mellan WHO-TEQ-värdena avseende den övre och den lägre koncentrationen

Det får inte skilja mer än 20 % mellan den övre och den lägre koncentrationen vid konfirmering av att gränsvärdet, eller vid behov åtgärdsgränsen, har överskridits.

## 6.2 Kontroll av utbytet

6.2.1 För validering av analysmetoden ska <sup>13</sup>C-märkta 2,3,7,8-klorsubstituerade interna PCDD/PCDF-standarder och <sup>13</sup>C-märkta interna dioxinlika PCB-standarder tillsättas alldeles i början av analysen, t.ex. före extraktionen. Minst en kongen för varje tetra- till oktaklorerad homolog grupp av PCDD/PCDF och minst en kongen för varje homolog grupp av dioxinlika PCB ska tillsättas (alternativt tillsätts minst en kongen för varje masspektrometrisk SIR-funktion [*selected ion recording*] som används för att övervaka PCDD/PCDF och dioxinlika PCB). För konfirmeringsmetoder ska alla de sju <sup>13</sup>C-märkta 2,3,7,8-substituerade interna PCDD/PCDF-standarderna och alla de tolv <sup>13</sup>C-märkta interna dioxinlika PCB-standarderna användas.

6.2.2 Med hjälp av lämpliga kalibreringslösningar ska de relativa responsfaktorerna också bestämmas för de kongener till vilka ingen <sup>13</sup>C-märkt analog tillsätts.

6.2.3 För foder av vegetabiliskt eller animaliskt ursprung som innehåller mindre än 10 % fett ska interna standarder tillsättas före extraktionen. För foder av animaliskt ursprung som innehåller mer än 10 % fett ska interna standarder tillsättas antingen före eller efter fettextraktionen. Extraktionens effektivitet ska valideras på lämpligt sätt, beroende på när de interna standarderna tillsätts.

6.2.4 Innan en GC-MS-analys utförs ska en eller två utbytesstandarder (surrogat) tillsättas.

6.2.5 Det krävs en kontroll av utbytet. För konfirmeringsmetoder ska utbytet för de enskilda interna standarderna ligga i intervallet 60–120 %. Lägre eller högre utbytesgrad för enskilda kongener – särskilt för vissa hepta- och oktaklorerade dibenso-p-dioxiner och dibensofuraner – ska godtas under förutsättning att deras bidrag till TEQ-värdet inte överstiger 10 % av det totala TEQ-värdet (baserat på summan av PCDD/PCDF och dioxinlika PCB). För GC-MS-screeningmetoder ska utbytet ligga i intervallet 30–140 %.

## 6.3 Avlägsnande av störande ämnen

— PCDD/PCDF ska separeras från störande klorföreningar, såsom icke-dioxinlika PCB och klorerade difenyletrar, med hjälp av lämpliga kromatografiska tekniker (lämpligtvis med en florisil-, aluminiumoxid- och/eller kolkolonn).

— Gaskromatografisk separation av isomerer ska ha mindre än 25 % mellan två toppar för 1,2,3,4,7,8-HxCDF och 1,2,3,6,7,8-HxCDF.

## 6.4 Kalibrering med standardkurva

Kalibreringskurvan ska omfatta det relevanta intervallet för gränsvärdet eller åtgärdsgränsen.

## 6.5 Särskilda kriterier för konfirmeringsmetoder

— För GC-HRMS:

Vid HRMS ska upplösningen vara större än eller lika med 10 000 i hela massområdet vid 10 % valley.

De ska uppfylla ytterligare kriterier för identifiering och konfirmering som beskrivs i internationellt erkända standarder, t.ex. standarden EN 16215:2012 (*Djurfoder – Bestämning av dioxiner och dioxinlika PCB:er med GC/HRMS och av indikator-PCB:er med GC/HRMS*) och/eller i EPA-metoderna 1613 och 1668, med senare revideringar.

— För GC-MS/MS:

Övervakning av minst två specifika moderjoner, var och en med en specifik motsvarande dotterjon från transitionen, för alla märkta och omärkta analyter som omfattas av analysens tillämpningsområde.

Högsta tillåtna tolerans för relativ jonintensitet på  $\pm 15\%$  för utvalda dotterjoner från transitionen i jämförelse med beräknade eller uppmätta värden (medelvärde från kalibreringsstandarder) vid identiska MS/MS-betingelser, i synnerhet kollisionsenergi och kollisionsgastryck, för varje transition av en analyt.

Upplösningen för varje kvadrupol ska minst motsvara upplösningen för en massenhet (dvs. tillräcklig upplösning för att separera två toppar som skiljer sig åt med en massenhet) i syfte att minimera risken för att eventuella interferenser stör de givna analyterna.

De ska uppfylla ytterligare kriterier som beskrivs i internationellt erkända standarder, t.ex. standarden EN 16215:2012 (*Djurfoder – Bestämning av dioxiner och dioxinlika PCB:er med GC/HRMS och av indikator-PCB:er med GC/HRMS*) och/eller i EPA-metoderna 1613 och 1668, med senare revideringar, utom kravet på att använda GC-HRMS.

## 7. Särskilda krav för bioanalytiska metoder

Bioanalytiska metoder bygger på biologiska principer såsom cellbaserade metoder, receptorbaserade metoder eller immunologiska metoder. I denna punkt 7 fastställs krav för bioanalytiska metoder i allmänhet.

Med en screeningmetod klassificeras enkelt uttryckt ett prov antingen som överensstämmande eller som misstänkt icke-överensstämmande genom en jämförelse mellan det beräknade BEQ-värdet och brytpunkten (se punkt 7.3). Prov under brytpunkten är överensstämmande, medan prov som är lika med eller över brytpunkten är misstänkt icke-överensstämmande och kräver analys med en konfirmeringsmetod. I praktiken kan ett BEQ-värde som motsvarar  $2/3$  av gränsvärdet användas som brytpunkt, förutsatt att det kan säkerställas att andelen prov som felaktigt bedömts vara överensstämmande är lägre än  $5\%$  och att andelen prov som felaktigt bedömts vara icke-överensstämmande är godtagbar. Om man använder separata gränsvärden för PCDD/PCDF och för summan av PCDD/PCDF och dioxinlika PCB krävs lämpliga brytpunkter för bioassay av PCDD/PCDF för att utan fraktionering kunna kontrollera provens överensstämmelse. För kontroll av prov som överskrider åtgärdsgränserna är en lämplig procentandel av respektive åtgärdsgräns passande som brytpunkt.

Om ett vägledande värde uttrycks i BEQ ska provresultaten ges i mätområdet och överstiga rapporteringsgränsen (se punkt 7.1.1 och 7.1.6).

### 7.1 Utvärdering av försöksrespons

#### 7.1.1 Allmänna krav

— När man beräknar koncentrationer utifrån en kalibreringskurva för TCDD kommer de högsta koncentrationerna i kurvan att ha en hög variation (hög variationskoefficient). Mätområdet är det område där variationskoefficienten är mindre än  $15\%$ . Den lägsta koncentrationen i mätområdet (rapporteringsgränsen) ska ligga över metodens blankvärde med åtminstone en faktor på tre. Den högsta koncentrationen i mätområdet motsvaras vanligtvis av  $EC_{70}$ -värdet ( $70\%$  av den maximalt effektiva koncentrationen), men den är lägre om variationskoefficienten överstiger  $15\%$  i detta område. Mätområdet ska fastställas under valideringen. Brytpunkterna (se punkt 7.3) ska med god marginal ligga inom mätområdet.

— Standardlösningar och provextrakt ska analyseras som trippelprov eller åtminstone som dubbelprov. När dubbelprov analyseras ska en standardlösning eller ett kontrollextrakt som provas i 4–6 brunnar (fördelade över plattan) ge en respons eller en koncentration (endast möjligt i mätområdet) som har en variationskoefficient mindre än  $15\%$ .

## 7.1.2 Kalibrering

### 7.1.2.1 Kalibrering med standardkurva

- Provhalter ska skattas genom att försöksresponsen jämförs med en kalibreringskurva för TCDD (eller PCB 126 eller en standardblandning med PCDD/PCDF och dioxinlika PCB) utifrån vilken BEQ-värdet kan beräknas i extraktet och därefter i provet.
- Kalibreringskurvor ska bestå av 8–12 koncentrationer (åtminstone som dubbelprov) och ha tillräckligt med koncentrationer i den nedre delen av kurvan (mätområdet). Särskild uppmärksamhet ska ägnas kvaliteten på kurvpassningen i mätområdet. När man ska bedöma anpassningsgraden vid icke-linjär regression är  $R^2$ -värdet i sig inte viktigt. Man uppnår en bättre kurvpassning genom att minimera skillnaden mellan beräknade och observerade koncentrationer inom kurvans mätområde, t.ex. genom att minimera residualkvadratsumman.
- Den skattade halten i provextraktet korrigeras därefter för BEQ-värdet hos ett blankprov för matrisen eller lösningsmedlet (för att beakta föroreningar från lösningsmedel och andra kemikalier som använts) och för det skenbara utbytet (som beräknats utifrån BEQ-värdet för lämpliga referensprov med representativa kongenmönster kring gränsvärdet eller åtgärdsgränsen). När man korrigerar för ett utbyte ska det skenbara utbytet ligga inom det intervall som krävs (se punkt 7.1.4). Referensprov som används för att korrigera utbytet ska uppfylla de krav som anges i punkt 7.2.

### 7.1.2.2 Kalibrering med referensprov

Om egenskaperna hos referensprovets matris överensstämmer med dem hos de okända provens matris kan man också använda en kalibreringskurva som genererats från minst fyra referensprov (se punkt 7.2.4: ett blankprov för matrisen och tre referensprov på 0,5 gång, 1 gång och 2 gånger gränsvärdet eller åtgärdsgränsen), varigenom man inte behöver korrigera för blank och utbyte. I detta fall kan den försöksrespons som motsvarar 2/3 av gränsvärdet (se punkt 7.3) beräknas direkt utifrån dessa prov och användas som brytpunkt. För kontroll av prov som överskrider åtgärdsgränserna är en lämplig procentandel av dessa åtgärdsgränser passande som brytpunkt.

## 7.1.3 Separat bestämning av PCDD/PCDF och dioxinlika PCB

Extrakt kan delas upp i fraktioner som innehåller dels PCDD/PCDF, dels dioxinlika PCB, vilket gör att man kan ange separata TEQ-värden för PCDD/PCDF och för dioxinlika PCB (uttryckta som BEQ). Företrädesvis ska man använda en kalibreringskurva för PCB 126-standard för att utvärdera resultaten för den fraktion som innehåller dioxinlika PCB.

## 7.1.4 Skenbart utbyte för bioassay

Det skenbara utbytet för bioassay ska beräknas utifrån lämpliga referensprov med representativa kongenmönster kring gränsvärdet eller åtgärdsgränsen och uttryckas som en procentandel av BEQ-värdet i jämförelse med TEQ-värdet. Beroende på vilken typ av analysmetod och vilka TEF-värden<sup>(1)</sup> som används kan skillnaderna mellan TEF- och REP-faktorerna för dioxinlika PCB ge upphov till låga skenbara utbyten för dioxinlika PCB i jämförelse med för PCDD/PCDF. Om en separat bestämning av PCDD/PCDF och dioxinlika PCB utförs ska därför de skenbara utbytena för bioassay ligga i intervallet 20–60 % för dioxinlika PCB och i intervallet 50–130 % för PCDD/PCDF (intervallen gäller för kalibreringskurvan för TCDD). Bidraget från dioxinlika PCB till summan av PCDD/PCDF och dioxinlika PCB kan variera mellan olika matriser och prov. Dessa variationer återspeglas i de skenbara utbytena för bioassay, vilka ska ligga i intervallet 30–130 % för summan av PCDD/PCDF och dioxinlika PCB. Om TEF-värdena för PCDD/PCDF och dioxinlika PCB i EU-lagstiftningen skulle ändras väsentligt, måste dessa intervall ses över.

<sup>(1)</sup> Nuvarande krav är grundade på de TEF-värden som offentliggjorts i Martin Van den Berg m.fl., *Toxicological Sciences*, 2006, 93(2), s. 223–241.

### 7.1.5 Kontroll av utbytet efter upprening

Förlusten av föreningar under uppreningen ska kontrolleras under valideringen. Ett blankprov som spikats med en blandning av olika kongener ska genomgå upprening (minst  $n = 3$ ) och därefter ska utbyte och variabilitet kontrolleras med en konfirmeringsmetod. Utbytet ska ligga i intervallet 60–120 %, särskilt för kongener som i olika blandningar bidrar med mer än 10 % till TEQ-värdet.

### 7.1.6 Rapporteringsgräns

Vid rapportering av BEQ-värden ska en rapporteringsgräns bestämmas utifrån relevanta matrisprov som omfattar typiska kongenmönster. Däremot ska inte kalibreringskurvan för standarder användas eftersom precisionen är låg för den nedre delen av kurvan. Även effekter från extraktion och upprening ska beaktas. Rapporteringsgränsen ska ligga över metodens blankvärde med åtminstone en faktor på tre.

## 7.2 Användning av referensprov

7.2.1 Referensproven ska representera provmatriser, kongenmönster och koncentrationsintervall för PCDD/PCDF och dioxinlika PCB kring gränsvärdet eller åtgärdsgränsen.

7.2.2 Ett blankprov för matrisen, eller när detta inte är möjligt ett blankprov för metoden, och ett referensprov vid gränsvärdet eller åtgärdsgränsen ska ingå i varje försöksserie. Dessa prov ska extraheras och analyseras samtidigt under identiska betingelser. Referensprovet ska ha en klart högre respons än blankprovet eftersom detta säkerställer metodens lämplighet. Dessa prov kan användas för att korrigera för blank och utbyte.

7.2.3 De referensprov som valts ut för att korrigera för utbyte ska vara representativa för alla proven, vilket innebär att kongenmönstren inte ska resultera i att halterna underskattas.

7.2.4 För kontroll av gränsvärdet eller åtgärdsgränsen kan ytterligare referensprov på exempelvis 0,5 gång och 2 gånger gränsvärdet eller åtgärdsgränsen tas med i syfte att visa analysens prestanda inom det givna intervallet. Dessa prov kan kombineras för att beräkna BEQ-värdena i proven (se punkt 7.1.2.2).

## 7.3 Bestämning av brytpunkter

Förhållandet mellan bioanalytiska resultat angivna som BEQ och resultat från konfirmeringsmetoden angivna som TEQ ska fastställas, till exempel genom matrisanpassade kalibreringsexperiment som omfattar referensprov spikade med 0 gång, 0,5 gång, 1 gång och 2 gånger gränsvärdet och 6 prov per halt (totalt  $n = 24$ ). Korrektionsfaktorer (blank och utbyte) kan beräknas utifrån detta förhållande, men de ska kontrolleras i enlighet med punkt 7.2.2.

Brytpunkter ska fastställas för bedömning av om prov överensstämmer med gränsvärdena, eller vid behov för kontroll av åtgärdsgränserna, med respektive gränsvärden eller åtgärdsgränser som fastställts för antingen PCDD/PCDF och dioxinlika PCB var för sig, eller för summan av PCDD/PCDF och dioxinlika PCB. De representeras av den *nedre* gränsen för fördelningen av de bioanalytiska resultaten (korrigerade för blank och utbyte) som motsvarar beslutsgränsen för konfirmeringsmetoden med en konfidensgrad på 95 %, vilket innebär att andelen prov som felaktigt bedömts vara överensstämmande är mindre än 5 % och  $RSD_R$  är mindre än 25 %. Beslutsgränsen för konfirmeringsmetoden motsvaras av gränsvärdet, med beaktande av den utvidgade mätosäkerheten.

Brytpunkten (uttryckt som BEQ) kan beräknas enligt ett av de sätt som anges i punkt 7.3.1, 7.3.2 och 7.3.3 (se figur 1).

- 7.3.1 Med användning av det *nedre* konfidensbandet i det 95-procentiga prediktionsintervallet för beslutsgränsen för konfirmeringsmetoden och med formeln

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

där

$\text{BEQ}_{\text{DL}}$  BEQ-värdet som motsvarar beslutsgränsen för konfirmeringsmetoden, vilket är gränsvärdet med beaktande av den utvidgade mätosäkerheten

$s_{y,x}$  residualstandardavvikelse

$t_{\alpha,f=m-2}$  students t-faktor ( $\alpha = 5\%$ ,  $f =$  frihetsgrader, ensidiga)

$m$  totalt antal kalibreringspunkter (index  $j$ )

$n$  antal prov per koncentration (repetitioner)

$x_i$  provkoncentration för kalibreringspunkt  $i$  analyserad med en konfirmeringsmetod (uttryckt som TEQ)

$\bar{x}$  medelvärdet av koncentrationerna för alla kalibreringsprov (uttryckt som TEQ)

$$Q_{xx} = \sum_{j=1}^m (x_j - \bar{x})^2 \text{ parametern kvadratsumma, } i = \text{index för kalibreringspunkt } i$$

- 7.3.2 Beräknat utifrån de bioanalytiska resultaten (korrigerade för blank och utbyte) från flera analyser av prov ( $n \geq 6$ ) som förorenats med en halt som motsvarar beslutsgränsen för konfirmeringsmetoden, vilken är den *nedre* gränsen för fördelningen vid motsvarande medelvärde för BEQ, och med formeln

$$\text{brytpunkt} = \text{BEQ}_{\text{DL}} - 1,64 \times \text{SD}_R$$

där

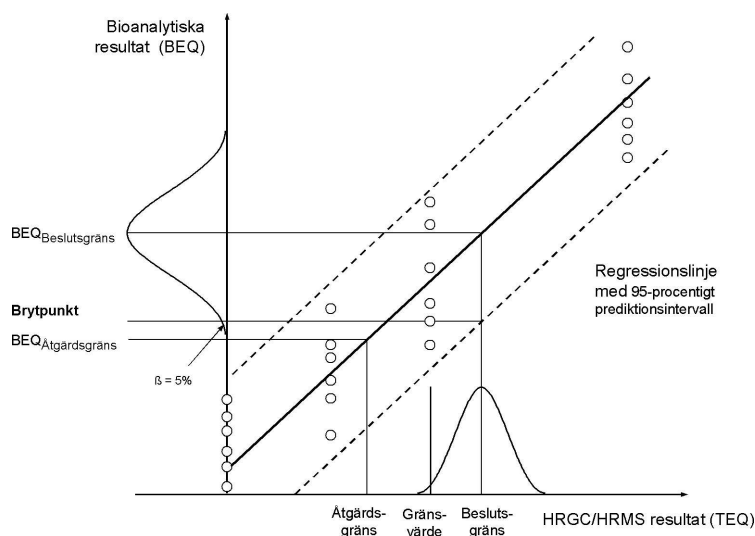
$\text{SD}_R$  standardavvikelse för resultat från bioassay vid  $\text{BEQ}_{\text{DL}}$ , mätt under reproducerbara betingelser inom laboratoriet.

- 7.3.3 Beräknat som medelvärdet av de bioanalytiska resultaten (uttryckta som BEQ, korrigerade för blank och utbyte) utifrån flera analyser av prov ( $n \geq 6$ ) som förorenats med en halt som motsvarar  $2/3$  av gränsvärdet eller åtgärdsgränsen. Detta grundas på att denna halt kommer att ligga kring den brytpunkt som fastställts enligt punkt 7.3.1 eller 7.3.2.

Tillvägagångssätt för beräkning av brytpunkter som bygger på en 95-procentig konfidensgrad, vilket innebär att andelen prov som felaktigt bedömts vara överensstämmande är mindre än 5 %, och  $\text{RSD}_R$  är mindre än 25 %.

1. Utifrån det *nedre* konfidensbandet i det 95-procentiga prediktionsintervallet för beslutsgränsen för konfirmeringsmetoden.
2. Utifrån flera analyser av prov ( $n \geq 6$ ) som förorenats med en halt som motsvarar beslutsgränsen för konfirmeringsmetoden, vilket är den *nedre* gränsen för fördelningen (en klockformad kurva i figuren) vid motsvarande medelvärde för BEQ.

Figur 1



### 7.3.4 Begränsningar för brytpunkter

De BEQ-baserade brytpunkter som beräknats utifrån den  $RSD_R$  som fastställts under valideringen med hjälp av ett begränsat antal prov med olika matriser eller kongenmönster kan vara högre än de gränsvärden eller åtgärdsgränser som baserats på TEQ-värden, eftersom en bättre precision kan uppnås vid validering än vid rutinanalyser då ett okänt spektrum av möjliga kongenmönster måste kontrolleras. I sådana fall ska brytpunkterna helst beräknas utifrån en  $RSD_R$  som motsvarar 25 % eller  $2/3$  av gränsvärdet eller åtgärdsgränsen.

## 7.4 Prestanda

- 7.4.1 Eftersom inga interna standarder kan användas i bioanalytiska metoder ska försök som kontrollerar repeterbarheten hos dessa metoder utföras i syfte att bedöma standardavvikelsen inom en försöksserie och mellan försöksserier. Repeterbarheten ska vara under 20 % och reproducerbarheten inom laboratoriet under 25 %. Detta ska grundas på de beräknade halterna uttryckta som BEQ efter korrigering för blank och utbyte.
- 7.4.2 Under valideringsförfarandet ska det visas att metoden kan skilja mellan ett blankprov och ett prov med en halt som motsvarar brytpunkten, så att prov som ligger över den relevanta brytpunkten kan identifieras (se punkt 7.1.2).
- 7.4.3 Målföreningar, möjliga interferenser och högsta godtagbara värden för blankprov ska definieras.
- 7.4.4 Vid analys av ett provextrakt ( $n = 3$ ) får standardavvikelsen inte överstiga 15 % för en respons eller en koncentration som beräknats utifrån responsen (endast möjligt i mätområdet).
- 7.4.5 De okorrigerade resultaten från referensprov, uttryckta som BEQ (blank och vid gränsvärdet eller åtgärdsgränsen), ska användas vid utvärderingen av den bioanalytiska metodens prestanda under en konstant tidsperiod.
- 7.4.6 Kontrollkort för metodens blankprov och för varje typ av referensprov ska framställas och kontrolleras för att säkerställa att den analytiska prestandan uppfyller kraven, särskilt för metodens blankprov när det gäller kravet på minsta skillnad till de lägsta koncentrationerna i mätområdet och för referensprov när det gäller reproducerbarheten inom laboratoriet. Metodens blankprov ska kontrolleras så att man när blankprovet dras av från provresultatet inte får resultat som felaktigt bedöms vara överensstämmande.



- 7.4.7 Resultaten från analyserna med konfirmeringsmetoderna av misstänkta prov och av 2–10 % av de överensstämmande proven (minst 20 prov per matris) ska samlas in och användas för att utvärdera screeningmetodens prestanda och förhållandet mellan BEQ- och TEQ-värdena. Dessa uppgifter kan användas för omprövning av de brytpunkter som tillämpas på rutinprov för validerade matriser.
- 7.4.8 Att en metod har en bra prestanda kan också visas genom deltagande i provningsjämförelser. Om ett laboratorium kan visa en bra prestanda kan också resultaten från prov som analyserats i provningsjämförelser och som täcker koncentrationsintervallet upp till exempelvis två gånger gränsvärdet tas med i utvärderingen av andelen prov som felaktigt bedömts vara överensstämmande. Proven ska täcka de vanligaste kongenmönstren och komma från olika källor.
- 7.4.9 Vid incidenter kan brytpunkterna omprövas för att återspegla den specifika matrisen och kongenmönstret för denna enda incident.

## 8. Rapportering av resultat

### 8.1 Konfirmeringsmetoder

- 8.1.1 Analysresultaten ska innehålla halterna av de enskilda PCDD/PCDF- och dioxinlika PCB-kongenerna och TEQ-värdena angivna som lägre koncentrationer, övre koncentrationer och mellanvärden. Rapporteringen av resultat ska på så sätt ge maximalt med information och därigenom göra det möjligt att tolka resultaten utifrån särskilda krav.
- 8.1.2 Rapporten ska ange den metod som använts för extraktionen av PCDD/PCDF och dioxinlika PCB.
- 8.1.3 Utbytena för de enskilda interna standarderna ska redovisas om de ligger utanför det intervall som anges i punkt 6.2.5 eller när gränsvärdet överskrids (i så fall ska utbytet för ett av de två dubbelproven anges). I övriga fall ska de redovisas på begäran.
- 8.1.4 Eftersom den utvidgade mätosäkerheten ska beaktas vid bedömning av om ett prov är överensstämmande ska denna parameter anges. Analysresultatet ska anges som  $x \pm U$ , där  $x$  är analysresultatet och  $U$  den utvidgade mätosäkerheten beräknad med en täckningsfaktor på 2, vilket ger en konfidensgrad på cirka 95 %. Om det har gjorts en separat bestämning av PCDD/PCDF och av dioxinlika PCB ska summan av den skattade utvidgade mätosäkerheten för de enskilda analysresultaten användas när man anger summan av PCDD/PCDF och dioxinlika PCB.
- 8.1.5 Resultaten ska anges i samma enheter och med minst samma antal signifikanta siffror som används för att ange gränsvärdena i direktiv 2002/32/EG.

### 8.2 Bioanalytiska screeningmetoder

- 8.2.1 Resultatet från screeningen ska anges som 'överensstämmande' eller som 'misstänkt icke-överensstämmande'.
- 8.2.2 Dessutom kan ett vägledande resultat för PCDD/PCDF och/eller dioxinlika PCB, uttryckt som BEQ och inte som TEQ, anges.
- 8.2.3 Prov vars respons ligger under rapporteringsgränsen ska anges som 'under rapporteringsgränsen'. Prov vars respons ligger över mätområdet ska anges som 'överskridande mätområdet' och den halt som motsvarar den högsta koncentrationen i mätområdet ska anges som BEQ.
- 8.2.4 För varje typ av provmatris ska rapporten innehålla uppgifter om det gränsvärde eller den åtgärdsgräns som utvärderingen baseras på.
- 8.2.5 Rapporten ska innehålla uppgifter om typ av försök som har gjorts, den grundläggande principen för försöket och typ av kalibrering.

- 8.2.6 Rapporten ska ange den metod som använts för extraktion av PCDD/PCDF och dioxinlika PCB.
- 8.2.7 För prov som misstänks vara icke-överensstämmande ska rapporten innehålla information om de åtgärder som ska vidtas. Koncentrationen av PCDD/PCDF och summan av PCDD/PCDF och dioxinlika PCB i proven med förhöjda halter ska bestämmas/bekräftas med en konfirmeringsmetod.
- 8.2.8 Icke-överensstämmande resultat ska endast rapporteras från konfirmeringsanalys.
- 8.3 *Fysikalisk-kemiska screeningmetoder*
- 8.3.1 Resultaten från screeningen ska anges som 'överensstämmande' eller som 'misstänkt icke-överensstämmande'.
- 8.3.2 För varje typ av provmatris ska rapporten innehålla uppgifter om det gränsvärde eller den åtgärdsgräns som utvärderingen baseras på.
- 8.3.3 Halter för enskilda PCDD/PCDF- och/eller dioxinlika PCB-kongener samt TEQ-värden kan dessutom anges angivna som lägre koncentrationer, övre koncentrationer och mellanvärden. Resultaten ska anges i samma enheter och med minst samma antal signifikanta siffror som används för att ange gränsvärden i direktiv 2002/32/EG.
- 8.3.4 Utbytena för de enskilda interna standarderna ska redovisas om de ligger utanför det intervall som anges i punkt 6.2.5 eller när gränsvärdet överskrids (i så fall ska utbytet för ett av de två dubbelproven anges). I övriga fall ska de redovisas på begäran.
- 8.3.5 Rapporten ska ange den GC-MS-metod som använts.
- 8.3.6 Rapporten ska ange den metod som använts för extraktion av PCDD/PCDF och dioxinlika PCB.
- 8.3.7 För prov som misstänks vara icke-överensstämmande ska rapporten innehålla information om de åtgärder som ska vidtas. Koncentrationen av PCDD/PCDF och summan av PCDD/PCDF och dioxinlika PCB i proven med förhöjda halter ska bestämmas/bekräftas med en konfirmeringsmetod.
- 8.3.8 Bedömningen av om ett prov är icke-överensstämmande kan endast göras efter konfirmeringsanalys.

### KAPITEL III

#### ***Provberedning och krav för analysmetoder för offentlig kontroll av halter av icke-dioxinlika PCB i foder***

##### **1. Tillämpningsområde**

Kraven i denna bilaga ska tillämpas när foder analyseras för offentlig kontroll av halterna av icke-dioxinlika PCB och när det gäller provberedning och analyskrav för andra lagstadgade ändamål, inbegripet foderföretagarens kontroller för att säkerställa överensstämmelse med bestämmelserna i förordning (EG) nr 183/2005.

##### **2. Detektionsmetoder som ska användas**

Gaskromatografi i kombination med elektroninfångningsdetektion (GC-ECD), GC-LRMS, GC-MS/MS, GC-HRMS eller likvärdiga metoder.

### 3. Identifiering och konfirmering av givna analyter

3.1 Relativ retentionstid i förhållande till interna standarder eller referensstandarder (godtagbar avvikelse  $\pm 0,25$  %).

3.2 Gaskromatografisk separation av icke-dioxinlika PCB från störande ämnen, särskilt andra PCB som elueras samtidigt, i synnerhet om provhalterna ligger i intervallet för lagstadgade gränsvärden och det ska konfirmeras att proven är icke-överensstämmande <sup>(1)</sup>.

3.3 Krav för GC-MS-metoder

Övervakning av minst följande antal molekyljoner eller joner karakteristiska för molekyllklostret:

a) Två specifika joner för HRMS.

b) Tre specifika joner för LRMS.

c) Två specifika moderjoner, var och en med en specifik motsvarande dotterjon från transitionen, för MS-MS.

Högsta tillåtna toleranser för kvoten för förekomsten av utvalda massfragment:

Relativ avvikelse mellan kvoten för förekomsten av utvalda massfragment från den teoretiska förekomsten eller kalibreringsstandarderna för måljon (den vanligast förekommande jonen som övervakas) och konfirmeringsjon(er):  $\pm 15$  %.

3.4 Krav för GC-ECD-metoder

Resultat som överskrider gränsvärdet ska konfirmeras med hjälp av två GC-kolonner som har stationära faser med olika polaritet.

### 4. Bevis för metodens prestanda

Metodens prestanda ska valideras i intervallet för gränsvärdet (0,5–2 gånger gränsvärdet) med en godtagbar variationskoefficient för upprepade analyser (se krav för intermediärt precisionsmått i punkt 9).

### 5. Kvantifieringsgräns

Summan av kvantifieringsgränserna <sup>(2)</sup> för icke-dioxinlika PCB får inte vara högre än 1/3 av gränsvärdet <sup>(3)</sup>.

### 6. Kvalitetskontroll

Laboratorierna ska regelbundet kontrollera blankprov, analysera spikade prov och prov för kvalitetskontroll samt medverka i provningsjämförelser med relevanta matriser.

### 7. Kontroll av utbytet

7.1 Lämpliga interna standarder med fysikalisk-kemiska egenskaper som är jämförbara med de givna analyternas ska användas.

<sup>(1)</sup> Kongener som ofta elueras samtidigt är t.ex. PCB 28/31, PCB 52/69 och PCB 138/163/164. När det gäller GC-MS ska även eventuella interferenser från fragment av mer högklorerade kongener beaktas.

<sup>(2)</sup> Principerna i vägledningen *Guidance Document on the Estimation of LOD and LOQ for Measurements in the Field of Contaminants in Feed and Food* ([http://ec.europa.eu/food/safety/animal-feed\\_en](http://ec.europa.eu/food/safety/animal-feed_en)) ska följas i tillämpliga fall.

<sup>(3)</sup> Reagensblankprovet bör lämna ett så litet bidrag som möjligt till halten av en förorening i ett prov. Det är laboratoriets skyldighet att kontrollera hur halterna i blankproven varierar, i synnerhet om blankproven dras av från proven.

## 7.2 Tillsats av intern standard

Ska tillsättas produkter före extraktion och upprening.

## 7.3 Krav för metoder som använder alla sex isotopmärkta icke-dioxinlika PCB-kongener:

- a) Resultaten ska korrigeras för de interna standardernas utbyten.
- b) Utbytet för isotopmärkta interna standarder ska ligga i intervallet 60–120 %.
- c) Ett lägre eller högre utbyte för enskilda kongener vars bidrag till summan av icke-dioxinlika PCB är mindre än 10 % är godtagbart.

## 7.4 Krav för metoder som inte använder alla sex isotopmärkta interna standarder eller använder andra interna standarder:

- a) Utbyten för interna standarder ska kontrolleras för varje prov.
- b) Utbytena för interna standarder ska ligga i intervallet 60–120 %.
- c) Resultaten ska korrigeras för de interna standardernas utbyten.

## 7.5 Utbytena för omärkta kongener ska kontrolleras genom spikade prov eller prov för kvalitetskontroll med koncentrationer i intervallet för gränsvärdet. Godtagbara utbyten för dessa kongener ska ligga i intervallet 60–120 %.

8. **Krav för laboratorier**

I enlighet med förordning (EG) nr 882/2004 ska laboratorier ackrediteras av ett godkänt ackrediteringsorgan som verkar enligt ISO Guide 58 för att säkerställa att de tillämpar ett system för kvalitetssäkring av analysverksamheten. Laboratorier ska ackrediteras enligt standarden EN ISO/IEC 17025. Principerna i vägledningen *Technical Guidelines for the estimation of measurement uncertainty and limits of quantification for PCB analysis* ska dessutom följas i tillämpliga fall <sup>(1)</sup>.

9. **Prestanda: Kriterier för summan av icke-dioxinlika PCB vid gränsvärdet**

	Masspektrometri med isotoputspädning <sup>(1)</sup>	Andra metoder
Riktighet	– 20 % till + 20 %	– 30 % till + 30 %
Intermediärt precisionsmått (RSD %)	≤ 15 %	≤ 20 %
Skillnaden mellan beräkningen av övre och lägre koncentration	≤ 20 %	≤ 20 %

<sup>(1)</sup> Alla sex <sup>13</sup>C-märkta analogerna ska användas som interna standarder.

10. **Rapportering av resultat**

## 10.1 Analysresultaten ska innehålla halterna av de enskilda icke-dioxinlika PCB och summan av dessa PCB-kongener angivna som lägre koncentrationer, övre koncentrationer och mellanvärden. Rapporteringen av resultaten ska på så sätt ge maximalt med information och därigenom göra det möjligt att tolka resultaten utifrån särskilda krav.

<sup>(1)</sup> Nuvarande krav är grundade på de TEF-värden som offentliggjorts i Martin Van den Berg m.fl., *Toxicological Sciences*, 2006, 93(2), s. 223–241.

- 10.2 Rapporten ska ange den metod som använts för extraktion av PCB.
- 10.3 Utbytena för de enskilda interna standarderna ska redovisas om de ligger utanför det intervall som anges i punkt 7 eller när gränsvärdet överskrids. I övriga fall ska de redovisas på begäran.
- 10.4 Eftersom den utvidgade mätosäkerheten ska beaktas vid bedömning av om ett prov är överensstämmande ska också denna parameter anges. Analysresultatet ska anges som  $x \pm U$ , där  $x$  är analysresultatet och  $U$  den utvidgade mätosäkerheten beräknad med en täckningsfaktor på 2, vilket ger en konfidensgrad på cirka 95 %.
- 10.5 Resultaten ska anges i samma enheter och med minst samma antal signifikanta siffror som används för att ange gränsvärden i direktiv 2002/32/EG.”
-