

## II

(Ikke-lovgivningsmæssige retsakter)

## FORORDNINGER

## KOMMISSIONENS FORORDNING (EU) Nr. 252/2012

af 21. marts 2012

**om prøveudtagnings- og analysemetoder til offentlig kontrol af indholdet af dioxiner, dioxinlignende PCB'er og ikke-dioxinlignende PCB'er i visse fødevarer og om ophævelse af forordning (EF) nr. 1883/2006**

(EØS-relevant tekst)

EUROPA-KOMMISSIONEN HAR —

under henvisning til traktaten om Den Europæiske Unions funktionsmåde,

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

ud fra følgende betragtninger:

(1) Ved Kommissionens forordning (EF) nr. 1881/2006 af 19. december 2006 om fastsættelse af grænseværdier for bestemte forurenende stoffer i fødevarer <sup>(2)</sup> er der fastsat grænseværdier for ikke-dioxinlignende PCB'er, dioxiner og furaner og for summen af dioxiner, furaner og dioxinlignende PCB'er i visse fødevarer.

(2) Ved Kommissionens henstilling 2011/516/EU af 23. august 2011 om reduktion af forekomsten af dioxiner, furaner og PCB'er i foder og fødevarer <sup>(3)</sup> er der fastsat indgrebsværdier for at anspore til en proaktiv fremgangsmåde, der skal reducere forekomsten af polychlorerede dibenzo-*p*-dioxiner og polychlorerede dibenzofuraner (PCDD'er/PCDF'er) og dioxinlignende PCB'er i fødevarer. Disse indgrebsværdier er et redskab, som de kompetente myndigheder og virksomhedslederne kan anvende til at sætte fokus på de tilfælde, hvor det er relevant at identificere en forureningskilde og træffe foranstaltninger, der reducerer eller fjerner den.

(3) Ved Kommissionens forordning (EF) nr. 1883/2006 af 19. december 2006 om prøveudtagnings- og analysemetoder til offentlig kontrol af indholdet af dioxiner og dioxinlignende PCB'er i visse fødevarer <sup>(4)</sup> er der fastsat særlige bestemmelser om prøveudtagnings- og analysemetoder til offentlig kontrol.

(4) Med henblik på anvendelsen af nye grænseværdier for ikke-dioxinlignende PCB'er, fastsat efter fremlæggelsen af en videnskabelig udtalelse fra Den Europæiske Fødevareresikkerhedsautoritet (EFSA) om ikke-dioxinlignende PCB'er, og også med harmonisering på EU-plan og opdatering af kriterierne vedrørende screeningsmetoder for øje, er der behov for væsentlige ændringer. Af klarhedshensyn bør forordning (EF) nr. 1883/2006 derfor erstattes af nærværende forordning.

(5) Bestemmelserne i denne forordning vedrører udelukkende prøveudtagning og analyse af dioxiner, dioxinlignende PCB'er og ikke-dioxinlignende PCB'er med henblik på anvendelsen af forordning (EF) nr. 1881/2006. De berører ikke strategien for prøveudtagningen eller omfanget og hyppigheden af prøveudtagningen som fastsat i bilag III og IV til Rådets direktiv 96/23/EF af 29. april 1996 om de kontrolforanstaltninger, der skal iværksættes for visse stoffer og restkoncentrationer heraf i levende dyr og produkter heraf og om ophævelse af direktiv 85/358/EØF og 86/469/EØF og beslutning 89/187/EØF og 91/664/EØF <sup>(5)</sup>. Bestemmelserne berører heller ikke kriterierne for målrettet prøveudtagning fastsat i Kommissionens beslutning 98/179/EF af 23. februar 1998 om nærmere bestemmelser for officiel prøveudtagning til kontrol af visse stoffer og restkoncentrationer heraf i levende dyr og produkter heraf <sup>(6)</sup>.

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

<sup>(2)</sup> EUT L 364 af 20.12.2006, s. 5.

<sup>(3)</sup> EUT L 218 af 24.8.2011, s. 23.

<sup>(4)</sup> EUT L 364 af 20.12.2006, s. 32.

<sup>(5)</sup> EFT L 125 af 23.5.1996, s. 10.

<sup>(6)</sup> EFT L 65 af 5.3.1998, s. 31.

- (6) Der kan anvendes en screeningsanalysemetode med alment acceptabel validering og høj produktivitet til at identificere prøver med signifikant indhold af PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende PCB'er (ved at der fortrinsvis udvælges prøver, hvori indgrebsværdierne er overskredet, og med sikkerhed udvælges prøver, hvor grænseværdierne er overskredet). Det er nødvendigt at bestemme stikprøvernes indhold af PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende PCB'er efter en verifikationsanalysemetode. Der bør derfor fastsættes passende krav til screeningsmetoden, så det sikres, at andelen af falsk overensstemmende resultater for så vidt angår grænseværdierne er på under 5 %, samt strenge krav til verifikationsanalysemetoderne. Verifikationsmetoder gør det desuden muligt at bestemme lave baggrundskoncentrationer. Dette er vigtigt for at kunne følge udviklingen i niveauer over tid, vurdere eksponeringen og revurdere grænse- og indgrebsværdier.
- (7) Med hensyn til udtagning af prøver af meget store fisk er det nødvendigt, at der fastsættes nærmere bestemmelser om prøveudtagningen for at sikre en harmoniseret fremgangsmåde i hele Unionen.
- (8) Hos fisk af samme art og med oprindelse i samme område kan indholdet af dioxiner, dioxinlignende PCB'er og ikke-dioxinlignende PCB'er være forskelligt afhængigt af fiskens størrelse og/eller alder. Desuden er indholdet af dioxiner, dioxinlignende PCB'er og ikke-dioxinlignende PCB'er ikke nødvendigvis det samme i alle dele af fisken. Derfor er det nødvendigt, at der fastsættes nærmere bestemmelser om udtagningen og klargøringen af prøver for at sikre en harmoniseret fremgangsmåde i hele Unionen.
- (9) Det er vigtigt, at analyseresultater indberettes og fortolkes på en ensartet måde for at sikre ensartet håndhævelse i hele Unionen.
- (10) Foranstaltningerne i denne forordning er i overensstemmelse med udtalelse fra Den Stående Komité for Fødevarer, Dyresundhed, og hverken Europa-Parlamentet eller Rådet har modsat sig foranstaltningerne —

VEDTAGET DENNE FORORDNING:

#### Artikel 1

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

#### Artikel 2

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

#### Artikel 3

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

#### Artikel 4

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

#### Artikel 5

Forordning (EF) nr. 1883/2006 ophæves.

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

#### Artikel 6

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

Den anvendes fra ikrafttrædelsesdatoen.

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

Udfærdiget i Bruxelles, den 21. marts 2012.

På Kommissionens vegne  
José Manuel BARROSO  
Formand

## BILAG I

## Definitioner og forkortelser

## I. DEFINITIONER

Ved anvendelsen af denne forordning gælder definitionerne i bilag I til Kommissionens beslutning 2002/657/EF af 14. august 2002 om gennemførelsesbestemmelser til Rådets direktiv 96/23/EF for så vidt angår analysemetoders ydeevne og fortolkning af resultater <sup>(1)</sup>.

Desuden gælder i denne forordning følgende definitioner:

- 1.1. Ved »indgrebsværdi« forstår niveau for forekomst af et givet stof, jf. bilaget til henstilling 2011/516/EU, som udløser undersøgelser til bestemmelse af kilden til det pågældende stof i tilfælde, hvor der påvises forhøjede værdier for stoffet.
- 1.2. Ved »biologiske analysemetoder« forstår metoder baseret på anvendelse af biologiske principper, såsom cellebase-rede assays, receptorassays eller immunassays. Disse metoder giver ikke resultater på kongerniveau, men giver udelukkende en indikation <sup>(2)</sup> af TEQ-niveauet, udtrykt i bioanalytiske ækvivalenter (BEQ), hvorved der tages hensyn til det forhold, at det ikke nødvendigvis er alle forbindelser i et prøveekstrakt, som giver respons i testen, der opfylder samtlige TEQ-princippets forudsætninger.
- 1.3. Ved »tilsyneladende bioassay-genfindelse« forstår BEQ-niveauet beregnet ud fra TCDD- eller PCB 126-kalibreringskurven, korrigeret for blindprøven og efterfølgende divideret med det GC/HRMS-bestemte TEQ-niveau. Formålet er at korrigere for faktorer såsom tabet af PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende forbindelser i ekstraktions- og oprensingsfasen, medekstraherede forbindelser, som forstærker eller svækker responsen (henholdsvis agonistisk og antagonistisk virkning), kvaliteten af kurvetilpasningen eller forskelle mellem henholdsvis TEF- og REP-værdierne. Den tilsyneladende bioassay-genfindelse beregnes ud fra passende referenceprøver med repræsentative kongerniveauer omkring det relevante niveau.
- 1.4. Ved »semikvantitative metoder« forstår metoder, der giver en tilnærmet indikation af koncentrationen af den formodede (putative) analysand, uden at det numeriske resultat opfylder kravene til kvantitative metoder.
- 1.5. Ved »den accepterede specifikke bestemmelsesgrænse for en enkeltkongener« forstår koncentrationen af en analysand i prøveekstraktet, som giver et instrumentrespons for de to forskellige ioner, der skal undersøges, med et signal-støj-forhold på 3:1 for det svageste signal, og som opfylder identifikationskriterierne som beskrevet i bl.a. standard prEN 16215 (Animal feed — Determination of dioxins and dioxin-like PCBs by GC/HRMS and of indicator PCBs by GC/HRMS) og/eller EPA-metode 1613 revision B.
- 1.6. Ved »øvre koncentration« forstår, at hver ikke-bestemt kongeners bidrag anses for at være lig med bestemmelsesgrænsen.
- 1.7. Ved »nedre koncentration« forstår, at hver ikke-bestemt kongeners bidrag anses for at være nul.
- 1.8. Ved »middelkoncentration« forstår, at hver ikke-bestemt kongeners bidrag anses for at være lig med halvdelen af bestemmelsesgrænsen.
- 1.9. Ved »parti« forstår en identificerbar mængde af en fødevarer, der leveres på én gang, og hvorom det ved den offentlige kontrol konstateres, at den har fælles kendetegn, såsom oprindelse, art, emballagetype, emballeringsvirksomhed, afsender eller mærker. For så vidt angår fisk og fiskevarer skal også fiskenes størrelse være sammenlignelig. Hvis fiskene i en sending ikke har sammenlignelig størrelse og/eller vægt, kan sendingen fortsat betragtes som et parti, men der skal anvendes en særlig prøveudtagningsprocedure.
- 1.10. Ved »delparti« forstår en del af et stort parti, der udvælges med henblik på anvendelse af prøveudtagningsmetoden. Hvert delparti skal være fysisk adskilt og identificerbart.
- 1.11. Ved »enkeltprøve« forstår en materialemængde, der udtages fra et enkelt sted i partiet eller delpartiet.
- 1.12. Ved »samleprøve« forstår det materiale, der fremkommer ved, at man samler alle enkeltprøverne fra partiet eller delpartiet.
- 1.13. Ved »laboratorieprøve« forstår en repræsentativ delmængde af samleprøven bestemt til laboratoriebrug.

## II. ANVENDTE FORKORTELSER

BEQ Bioanalytiske ækvivalenter

GC Gaskromatografi

<sup>(1)</sup> EFT L 221 af 17.8.2002, s. 8.

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

HRMS	Højopløsende massespektrometri
LRMS	Lavtopløsende massespektrometri
PCB'er	Polychlorerede biphenyler
PCDD'er	Polychlorerede dibenzo- <i>p</i> -dioxiner
PCDF'er	Polychlorerede dibenzofuraner
REP	Relativ styrke
TEF	Toksicitetsækvivalensfaktor
TEQ	Toksicitetsækvivalenter
TCDD	Tetrachlordibenzodioxin
U	Ekspanderet måleusikkerhed

---

## BILAG II

**Prøveudtagningsmetoder til offentlig kontrol af indholdet af dioxiner (PCDD'er/PCDF'er), dioxinlignende PCB'er og ikke-dioxinlignende PCB'er i visse fødevarer**

## I. ANVENDELSESOMRÅDE

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

## II. ALMINDELIGE BESTEMMELSER

**1. Personale**

Prøveudtagningen foretages af en af medlemsstaten udpeget og autoriseret person.

**2. Materiale til prøveudtagning**

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

**3. Forholdsregler**

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

**4. Enkeltprøver**

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

**5. Klargøring af samleprøven**

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

**6. Kontraprøver**

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

**7. Emballering og forsendelse af prøver**

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

**8. Forsegling og mærkning af prøver**

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

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

## III. PRØVEUDTAGNINGSPLAN

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

### 1. Opdeling af partier i delpartier

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

Tabel 1

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

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

Tabel 2

#### Opdeling af partier i delpartier for øvrige produkter

Partiets vægt (tons)	Delpartiernes vægt eller antal
≥ 15	15-30 tons
< 15	—

### 2. Antal enkeltprøver

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

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

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

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

Afvigelser fra denne fremgangsmåde registreres i det skema, der er nævnt i del II, punkt 8, i dette bilag. I overensstemmelse med Kommissionens beslutning 97/747/EF af 27. oktober 1997 om omfang og hyppighed af den i Rådets direktiv 96/23/EF omhandlede prøveudtagning med henblik på overvågning af visse stoffer og restkoncentrationer heraf i visse animalske produkter <sup>(1)</sup> fastsættes størrelsen af samleprøven for hønseæg til mindst 12 æg (både for partier i løs vægt og for partier bestående af enkeltpakninger, jf. tabel 3 og 4).

Tabel 3

#### Mindsteantal enkeltprøver, der skal udtages fra partiet eller delpartiet

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

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

<sup>(1)</sup> EFT L 303 af 6.11.1997, s. 12.

Tabel 4

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

— Hvis der ikke er en fremherskende størrelse eller vægtklasse/kategori, sikres det, at de fisk, der udvælges til prøveudtagning, er repræsentative for partiet. Der findes en særlig vejledning for sådanne tilfælde i »Guidance on sampling of whole fishes of different size and/or weight«<sup>(2)</sup> (vejledning om udtagning af prøver fra fiskepartier, der indeholder hele fisk af uensartet størrelse og/eller vægt).

**5. Prøveudtagning i detailledet**

Udtagning af prøver af fødevarer i detailledet skal så vidt muligt ske i henhold til prøveudtagningsbestemmelserne i del III, punkt 2, i dette bilag.

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

<sup>(2)</sup> [http://ec.europa.eu/food/food/chemicalsafety/contaminants/dioxins\\_en.htm](http://ec.europa.eu/food/food/chemicalsafety/contaminants/dioxins_en.htm)

## IV. PARTIETS ELLER DELPARTIETS OVERENSSTEMMELSE MED KRAVENE

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

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

Partiet overholder ikke den grænseværdi, der er fastsat i forordning (EF) nr. 1881/2006, hvis analyseresultatets øvre koncentration — bekræftet ved endnu en analyse <sup>(3)</sup> — utvivlsomt overskrider grænseværdien, idet der tages hensyn til måleusikkerheden.

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

- ved at beregne den ekspanderede usikkerhed, idet der anvendes en dækningsfaktor på 2, hvilket giver et konfidensniveau på ca. 95 %. Et parti eller delparti opfylder ikke kravene (dvs. er ikke-overensstemmende), hvis den målte værdi minus U ligger over det tilladte niveau
- ved at fastlægge beslutningsgrænsen (CC<sub>α</sub>) i henhold til Kommissionens beslutning 2002/657/EF (punkt 3.1.2.5 i bilag I til samme beslutning — for stoffer, for hvilke der er fastsat et tilladt niveau). Et parti eller delparti er ikke-overensstemmende, hvis den målte værdi er lig med eller højere end CC<sub>α</sub>.

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

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

Partiet godkendes, hvis resultatet fra en enkelt analyse

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

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

Partiet overholder ikke den grænseværdi, der er fastsat i forordning (EF) nr. 1881/2006, hvis analyseresultatets øvre koncentration — påvist efter en verifikationsmetode og bekræftet ved endnu en analyse <sup>(3)</sup> — utvivlsomt overskrider grænseværdien, idet der tages hensyn til måleusikkerheden.

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

- ved at beregne den ekspanderede usikkerhed, idet der anvendes en dækningsfaktor på 2, hvilket giver et konfidensniveau på ca. 95 %. Et parti eller delparti er ikke-overensstemmende, hvis den målte værdi minus U ligger over det tilladte niveau. Hvis PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende PCB'er bestemmes separat, anvendes summen af den anslåede ekspanderede usikkerhed på de separate analyseresultater vedrørende PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende PCB'er som den anslåede ekspanderede usikkerhed på summen af PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende PCB'er
- ved at fastlægge beslutningsgrænsen (CC<sub>α</sub>) i henhold til beslutning 2002/657/EF (punkt 3.1.2.5 i bilag I til samme beslutning — for stoffer, for hvilke der er fastsat et tilladt niveau); et parti eller delparti er ikke-overensstemmende, hvis den målte værdi er lig med eller højere end CC<sub>α</sub>.

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

<sup>(3)</sup> En sådan ekstra analyse er nødvendig for at udelukke muligheden for intern krydskontaminering eller utilsigtet sammenblanding af prøver. Den første analyse, hvor der tages hensyn til måleusikkerheden, anvendes til at verificere, om kravene er opfyldt. Hvis analysen gennemføres i forbindelse med en hændelse med forurening, kan bekræftelse ved en ekstra analyse undlades, såfremt de prøver, der er udtaget til analyse, ved hjælp af sporbarhed kan relateres til forureningshændelsen.



## V. OVERSKRIDELSE AF INDGREBSVÆRDIER

Indgrebsværdier er et redskab til udvælgelse af prøver i tilfælde, hvor det er relevant at identificere en forureningskilde og træffe foranstaltninger, der reducerer eller fjerner den. Med screeningsmetoder fastlægges der relevante afskæringsværdier til udvælgelse af de pågældende prøver. De nødvendige foranstaltninger til at identificere en kilde og til at reducere eller fjerne forureningen træffes kun, hvis overskridelsen af indgrebsværdien bekræftes ved endnu en analyse under anvendelse af en verifikationsmetode og under hensyntagen til måleusikkerheden <sup>(4)</sup>.

---

<sup>(4)</sup> Forklarende bemærkninger og krav vedrørende dobbeltanalyse til kontrol af indgrebsværdier: jf. fodnote 3 (afsnit om grænseværdier).

## BILAG III

**Klargøring af prøver og krav til analysemetoder, der anvendes ved offentlig kontrol af indholdet af dioxiner (PCDD'er/PCDF'er) og dioxinlignende PCB'er i visse fødevarer**

## 1. ANVENDELSESOMRÅDE

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

Indholdet af PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende PCB'er i fødevarer kan overvåges med udgangspunkt i to forskellige målsætninger:

- a) udvælgelse af stikprøver med indhold af PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende PCB'er, der overskrider grænseværdierne eller indgrebsværdierne. Denne fremgangsmåde kan omfatte en screeningsmetode, som giver mulighed for omkostningseffektivitet og høj produktivitet med hensyn til antallet af screenede prøver, hvilket forbedrer mulighederne for at opdage nye hændelser med høj eksponering og sundhedsrisici for forbrugerne. Screeningsmetoder kan omfatte biologiske analysemetoder og GC/MS-metoder. De bør anvendes med henblik på at undgå falsk overensstemmende resultater. Koncentrationen af PCDD'er/PCDF'er og summen af PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende PCB'er i prøver med signifikante indhold skal bestemmes/bekræftes efter en verifikationsmetode
- b) bestemmelse af indholdet af PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende PCB'er i fødevarer i intervallet for lave baggrundskoncentrationer. Dette er vigtigt for at kunne følge udviklingen i niveauer over tid, vurdere befolkningens eksponering og opbygge en database til brug for en eventuel revurdering af indgrebsværdier og grænseværdier. Dette mål nås ved hjælp af verifikationsmetoder, der gør det muligt at identificere og kvantificere PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende PCB'er entydigt på det relevante niveau. Disse metoder kan anvendes til at bekræfte resultater fra screeningsmetoder og til at bestemme lave baggrundsniveauer i forbindelse med overvågningen af fødevarer. De er også vigtige redskaber til at klarlægge kongenermønstre med henblik på at identificere kilden til en eventuel forurening. De pågældende metoder omfatter i dag anvendelse af højopløsende gaskromatografi/højopløsende massespektrometri (HRGC/HRMS).

2. KLASSIFIKATION AF METODER EFTER KVANTIFICERINGSGRAD <sup>(1)</sup>

»Kvalitative metoder« giver et ja/nej-respons for forekomst af de relevante analysander, uden at koncentrationen af den formodede analysand bestemmes kvantitativt. Disse metoder kan bringes til at give semi-kvantitative resultater, men anvendes udelukkende til at tilvejebringe et ja/nej-svar på, om et indhold ligger over eller under et bestemt niveau, f.eks. detektionsgrænsen, bestemmelsesgrænsen eller en afskæringsværdi.

Ved kontrol af grænse- og indgrebsværdier for PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende forbindelser i fødevarer kan der anvendes screeningsmetoder, der er baseret på sammenholdelse af analyseresultatet med en afskæringsværdi, og som giver et ja/nej-svar på, om den pågældende værdi er overskredet. Der er til dette formål indført bioanalytiske metoder. Som en generel betragtning kunne der også udvikles fysisk-kemiske metoder; for så vidt angår de TEQ-baserede grænse- og indgrebsværdier og den komplicerede analyse med den påkrævede bestemmelse af de relevante enkeltkongener findes der dog ingen praktiske eksempler på sådanne metoder.

»Semi-kvantitative metoder« giver en tilnærmet indikation af koncentrationen, hvilket kan være en nyttig information om størrelsesordenen af analysandkoncentrationen og gøre det lettere at fastlægge kalibreringsområdet til den verifikationstest, som skal udføres efterfølgende, samt letter kvalitetskontrolarbejdet. Af eksempler kan nævnes:

- bioanalytiske metoder, som gør det muligt at påvise de relevante analysander, indbefatter en kalibreringskurve, giver et ja/nej-svar på, om det relevante niveau er overskredet, og gør det muligt at indberette resultatet som bioanalytiske ækvivalenter (BEQ), som er en indikation af TEQ-værdien i prøven
- fysisk-kemiske test (f.eks. GC-MS/MS eller GC/LRMS), hvor de målte karakteristika vedrørende metodepræcision ikke opfylder kravene til kvantitative test.

<sup>(1)</sup> Tilpasset til PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende forbindelser fra »Guidelines for the validation of screening methods for residues of veterinary medicines«, EU-referencelaboratorierne for restkoncentrationer af veterinærlægemidler og forurenende stoffer i animalske fødevarer i Fougères, Berlin og Bilthoven, 20. januar 2010 ([http://ec.europa.eu/food/food/chemicalsafety/residues/lab\\_analysis\\_en.htm](http://ec.europa.eu/food/food/chemicalsafety/residues/lab_analysis_en.htm)).

»Kvantitative metoder« opfylder de samme krav vedrørende nøjagtighed, dynamikområde og præcision som verifikationstest. Når kvantificering er påkrævet, valideres disse metoder som verifikationsmetoder som beskrevet i dette dokument for PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende PCB'er.

### 3. BAGGRUND

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

Screenings- og verifikationsmetoder må kun anvendes til kontrol af en bestemt matrix, hvis metoderne er tilstrækkeligt følsomme til på pålidelig vis at påvise forekomst på det relevante niveau (indgrebs- eller grænseværdi).

### 4. KVALITETSSIKRINGSKRAV

- Der træffes foranstaltninger til at undgå krydskontaminering i alle faser af prøveudtagnings- og analyseproceduren.
- Prøverne opbevares og transporteres i beholdere af glas, aluminium, polypropylen eller polyethylen, som egner sig til opbevaring, uden at mængden af PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende PCB'er i prøverne påvirkes. Spor af papirstøv fjernes fra prøvebeholderen.
- Opbevaring og transport af fødevareprøven skal foregå, så prøvens integritet bevares.
- Alle laboratorieprøver findeles og blandes grundigt, hvis det er relevant, efter en metode, for hvilken det er godtgjort, at den resulterer i fuldstændig homogenisering (f.eks. så prøven kan sigtes gennem en 1 mm-sigte); prøverne tørres før formalingen, hvis vandindholdet er for højt.
- Det er altid vigtigt at kontrollere, at reagenser, glasudstyr og andet udstyr ikke påvirker TEQ- eller BEQ-baserede resultater.
- Der foretages en blindprøveanalyse ved at gennemføre hele analyseproceduren, blot med udeladelse af prøven.
- For så vidt angår bioanalytiske metoder er det meget vigtigt at kontrollere, at alt glasudstyr og alle opløsningsmidler, der anvendes til analyser, er fri for forbindelser, der interfererer med påvisningen af målforbindelser i måleområdet. Glasudstyr skylles med opløsningsmidler og/eller opvarmes til temperaturer, der er tilstrækkeligt høje til at fjerne spor af PCDD'er/PCDF'er, dioxinlignende forbindelser og interfererende forbindelser fra udstyrets overflader.
- Den prøvemængde, der anvendes til ekstraktionen, skal være tilstrækkelig til, at kravene vedrørende et tilstrækkeligt lavt måleområde, som dækker de relevante koncentrationer, er opfyldt.
- De specifikke procedurer for klargøring af prøver, som anvendes for de pågældende produkter, skal være i overensstemmelse med internationalt anerkendte retningslinjer.
- Når det drejer sig om fisk, fjernes skindet, da grænseværdien gælder for muskelkød uden skind. Det er imidlertid nødvendigt, at alle rester af muskelkød og fedtvæv på indersiden af skindet omhyggeligt skræbes fuldstændig af skindet, og at disse rester indgår i den prøve, der skal analyseres.

### 5. LABORATORIEKRAV

- I henhold til forordning (EF) nr. 882/2004 skal laboratorier være akkrediteret af et anerkendt organ, der fungerer i overensstemmelse med ISO-vejledning 58, for at sikre, at de anvender analysekvalitetssikring. Laboratorier akkrediteres ifølge EN ISO/IEC 17025-standarden.
- Laboratoriets præstationer dokumenteres ved løbende, vellykket deltagelse i laboratoriesammenligninger vedrørende bestemmelse af PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende PCB'er i de relevante fødevarematrixer og koncentrationsområder.
- Laboratorier, der anvender screeningsmetoder til rutinemæssig kontrol af prøver, skal etablere et tæt samarbejde med laboratorier, der anvender verifikationsmetoden — både i forbindelse med kvalitetskontrol og til bekræftelse af analyseresultater for mistænkte prøver.

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

6.1. Lavt måleområde og bestemmelsesgrænser

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

6.2. Høj selektivitet (specificitet)

- Der skal kunne skelnes mellem PCDD'er, PCDF'er og dioxinlignende PCB'er og en lang række andre, potentielt interfererende forbindelser i prøveekstraktet, som forekommer i koncentrationer, der er op til mange gange højere end analysandernes. For gaskromatografi/massespektrometri (GC/MS)-metoders vedkommende skal der kunne skelnes mellem forskellige kongenerer, f.eks. mellem toksiske kongenerer (f.eks. de 17 2,3,7,8-substituerede PCDD'er/PCDF'er og 12 dioxinlignende PCB'er) og andre kongenerer.
- Bioanalytiske metoder skal kunne påvise målforbindelserne som summen af PCDD'er/PCDF'er og/eller dioxinlignende PCB'er. Ved oprensningen af prøver skal det tilstræbes at fjerne forbindelser, der giver falsk ikke-overensstemmende resultater, og forbindelser, der kan svække responset og give falsk overensstemmende resultater.

6.3. Høj nøjagtighed (korrekthed og præcision, tilsyneladende bioassay-genfindelse)

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

6.4. Validering inden for det relevante interval og kvalitetskontrol generelt

- Laboratorierne skal dokumentere en metodes ydeevne inden for det relevante interval, f.eks. 0,5, 1 og 2 gange det relevante niveau med en acceptabel variationskoefficient for gentagne analyser, som led i valideringsproceduren og/eller i forbindelse med rutinemæssige analyser.
- Som interne kvalitetskontrolforanstaltninger gennemføres der regelmæssigt blindprøvekontrol og spikingforsøg eller analyse af kontrolprøver (om muligt med certificeret referencemateriale). Kvalitetskontrolkort for blindprøvekontroller, spikingforsøg eller analyser af kontrolprøver registreres og kontrolleres for at sikre, at den analytiske ydeevne er i overensstemmelse med gældende krav.

6.5. Bestemmelsesgrænse

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

6.6. Analysekriterier

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

	Screening efter bioanalytiske eller fysisk-kemiske metoder	Verifikationsmetoder
Falsk overensstemmende-andel (*)	< 5 %	
Korrekthed		- 20 % til + 20 %
Repeterbarhed (RSD <sub>p</sub> )	< 20 %	
Intern reproducerbarhed (RSD <sub>R</sub> )	< 25 %	< 15 %

(\*) I forhold til grænseværdierne.

#### 6.7. Specifikke krav til screeningsmetoder

- Både GC/MS-metoder og bioanalytiske metoder kan anvendes til screening. For GC/MS-metoder gælder kravene i punkt 7 i dette bilag. Der er fastsat specifikke krav til cellebaserede bioanalytiske metoder i punkt 8 i dette bilag.
- Laboratorier, der anvender screeningsmetoder til rutinemæssig kontrol af prøver, skal etablere et tæt samarbejde med laboratorier, der anvender verifikationsmetoden.
- Screeningsmetodens ydeevne skal efterprøves i forbindelse med rutinemæssige analyser, ved analysekvalitetskontrol og ved løbende metodevalidering. Der skal opereres med et fast program for kontrol af overensstemmende resultater.
- *Kontrol af eventuel hæmning af celleresponset og cytotoxicitet*

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

- *Kvalitetskontrol af overensstemmende prøver*

Ca. 2-10 % af de overensstemmende prøver, afhængigt af prøvematrix og laboratoriets erfaring, bekræftes ved hjælp af GC/HRMS.

- *Bestemmelse af andelen af falsk overensstemmende resultater fra kvalitetskontrolldata*

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

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

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

- Potentielt ikke-overensstemmende screeningresultater skal altid bekræftes ved hjælp af en verifikationsanalysemetode (GC/HRMS). Disse prøver kan også anvendes til at evaluere andelen af falsk ikke-overensstemmende resultater. For screeningsmetoder er andelen af »falsk ikke-overensstemmende resultater« andelen af resultater, for hvilke det ved hjælp af en GC/HRMS-verifikationsanalyse er bekræftet, at de opfylder kravene (dvs. er overensstemmende), efter at prøven i en tidligere screening har været mistænkt for at være ikke-overensstemmende. Vurderingen af screeningsmetodens hensigtsmæssighed baseres dog på sammenholdelse af antallet af falsk ikke-overensstemmende prøver med det samlede antal kontrollerede prøver. Denne andel skal være tilstrækkeligt lille til, at screening med fordel kan anvendes.

- Bioanalytiske metoder skal, i det mindste under valideringsbetingelser, give en brugbar indikation af TEQ-niveauet, beregnet og udtrykt som BEQ.
- Også for bioanalytiske metoder, der gennemføres under repeterbarhedsbetingelser, er den interne  $RSD_r$  typisk lavere end reproducerbarheden  $RSD_R$ .

## 7. SPECIFIKKE KRAV, SOM GC/HRMS-METODER SKAL OPFYLDE MED HENBLIK PÅ SCREENING ELLER VERIFIKATION

### 7.1. Generelle krav

- Forskellen mellem den øvre og den nedre koncentration må ikke overstige 20 % for fødevarer med en forurening på ca. 1 pg WHO-TEQ/g fedtstof (baseret på summen af PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende PCB'er). For fødevarer med lavt fedtindhold anvendes samme krav ved et forureningsniveau på ca. 1 pg WHO-TEQ/g produkt. For lavere forureningsniveauer, f.eks. på 0,5 pg WHO-TEQ/g produkt, kan der være en difference på 25-40 % mellem den øvre og den nedre koncentration.

### 7.2. Genfindelseskontrol

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

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

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

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

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

### 7.3. Fjernelse af interfererende stoffer

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

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

### 7.4. Kalibrering med standardkurve

- Kalibreringskurven skal dække de relevante niveauer.

## 8. SPECIFIKKE KRAV TIL BIOANALYTISKE METODER

Bioanalytiske metoder er metoder baseret på anvendelse af biologiske principper, såsom cellebaserede assays, receptorassays eller immunassays. Dette punkt (punkt 8) indeholder krav til bioanalytiske metoder generelt.

Med en screeningsmetode klassificeres en prøve principielt som overensstemmende eller som mistænkt for at være ikke-overensstemmende. I det øjemed sammenholdes det beregnede BEQ-niveau med afskæringsværdien (jf. punkt 8.3). Prøver, der giver resultater under afskæringsværdien, erklæres for overensstemmende, mens prøver, der ligger på eller over afskæringsværdien, erklæres for ikke-overensstemmende og nødvendiggør analyse efter en verifikationsmetode. I praksis kan et BEQ-niveau på 2/3 af grænseværdien være den mest hensigtsmæssige afskæringsværdi, som sikrer en andel af falsk overensstemmende resultater på under 5 % og en acceptabel andel af falsk ikke-overensstemmende resultater. Med særskilte grænseværdier for henholdsvis PCDD'er/PCDF'er og for summen af PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende PCB'er er passende bioassay-afskæringsværdier for PCDD'er/PCDF'er en forudsætning for at kunne kontrollere prøvernes overensstemmelse uden fraktionering. Til kontrol af prøver, for hvilke indgrebsværdierne er overskredet, vil en passende procentdel af de respektive relevante niveauer være en egnet afskæringsværdi.

Der kan desuden for visse bioanalytiske metoders vedkommende fastsættes et vejledende niveau udtrykt i BEQ for prøver i måleområdet, der ligger over rapporteringsgrænsen (jf. punkt 8.1.1 og 8.1.6).

## 8.1. Evaluering af testresponset

### 8.1.1. Generelle krav

- Ved beregning af koncentrationerne ud fra en TCDD-kalibreringskurve vil værdierne i den nederste og den øverste del af kurven vise en stor spredning (en høj variationskoefficient (CV)). Måleområdet er det område, hvor CV er på under 15 %. Den nedre del af måleområdet (rapporteringsniveauet) skal endvidere sættes væsentligt højere (som minimum med en faktor tre) end procedureblindprøverne. Den øvre del af måleområdet er normalt repræsenteret ved EC<sub>70</sub>-værdien (70 % af den højeste effektive koncentration), men er lavere, hvis CV ligger over 15 % inden for dette interval. Måleområdet fastsættes i forbindelse med validering. Afskæringsværdierne (jf. punkt 8.3) skal ligge klart inden for måleområdet.
- Standardopløsninger og prøveekstrakter testes mindst to gange. Ved dobbeltbestemmelse skal en standardopløsning eller et kontrolekstrakt, der testes i 4-6 huller fordelt over hele pladen, give et respons eller en koncentration (kun muligt i måleområdet) baseret på en CV på < 15 %.

### 8.1.2. Kalibrering

#### 8.1.2.1. Kalibrering med standardkurve

- Indholdet i prøver kan anslås ved at sammenholde testresponset med en kalibreringskurve for TCDD (eller PCB 126 eller en standardblanding af PCDD/PCDF/dioxinlignende PCB) med henblik på at beregne BEQ-niveauet i ekstraktet og efterfølgende i prøven.
- Kalibreringskurver skal indbefatte 8-12 koncentrationer (som minimum dobbeltbestemmelser), idet der skal være tilstrækkeligt med koncentrationer i den nederste del af kurven (måleområdet). Der lægges særlig vægt på kvaliteten af kurvetilpasningen i måleområdet. R<sup>2</sup>-værdien er som sådan af begrænset eller slet ingen værdi som grundlag for en goodness-of-fit-vurdering ved ikke-lineær regression. Der opnås et bedre fit ved at minimere forskellen mellem beregnede og observerede niveauer i kurvens måleområde (f.eks. ved at minimere summen af kvadrerede residualer).
- Det anslåede indhold i prøveekstraktet korrigeres efterfølgende for det BEQ-niveau, der er beregnet for en matrix/opløsningsmiddel-blindprøve (for at tage urenheder fra de anvendte opløsningsmidler og kemikalier i betragtning), og den tilsyneladende genfindelse (som beregnes ud fra BEQ-niveauet i passende referenceprøver med repræsentative kongenermønstre omkring det relevante niveau). Til korrektion for genfindelse skal den tilsyneladende genfindelse altid ligge inden for det krævede interval (jf. punkt 8.1.4). Referenceprøver, der anvendes til korrektion for genfindelse, skal opfylde kravene i punkt 8.2.

#### 8.1.2.2. Kalibrering med referenceprøver

Alternativt kan der anvendes en kalibreringskurve fremstillet på grundlag af mindst fire referenceprøver (jf. punkt 8.2: 1 matrixblindprøve plus 3 referenceprøver på 0,5, 1 og 2 gange det relevante niveau) omkring det relevante niveau, hvorved behovet for at korrigere for blindprøve og genfindelse bortfalder. I dette tilfælde kan det testrespons, som svarer til 2/3 af grænseværdien (jf. punkt 8.3), beregnes direkte ud fra disse prøver og anvendes som afskæringsværdi. Til kontrol af prøver, for hvilke indgrebsværdierne er overskredet, vil en passende procentdel af disse indgrebsværdier være en egnet afskæringsværdi.

### 8.1.3. Separat bestemmelse af henholdsvis PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende PCB'er

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

#### 8.1.4. Tilsyneladende bioassay-genfindelse

»Den tilsyneladende bioassay-genfindelse« beregnes ud fra passende referenceprøver med repræsentative kongenermønstre omkring det relevante niveau og udtrykkes som procent af BEQ-niveauet i forhold til TEQ-niveauet. Forskellene mellem TEF- og REP-faktorer for dioxinlignende PCB'er kan, afhængigt af hvilken type assay og TEF'er<sup>(1)</sup> der anvendes, resultere i lave tilsyneladende genfindelsesprocenter for dioxinlignende PCB'er i forhold til PCDD'er/PCDF'er. Hvis PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende PCB'er bestemmes separat, er den tilsyneladende bioassay-genfindelse derfor 25-60 % for dioxinlignende PCB'er og 50-130 % for PCDD'er/PCDF'er (disse intervaller gælder for TCDD-kalibreringskurven). Eftersom dioxinlignende PCB'ers bidrag til summen af PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende PCB'er kan variere afhængigt af forskellige matrixer og prøver, afspejler den tilsyneladende bioassay-genfindelse for sumpparameteren disse intervaller og skal være på 30-130 %.

#### 8.1.5. Kontrol af genfindelse efter oprensning

— Tabet af forbindelser under oprensningen kontrolleres i forbindelse med validering. En blindprøve tilsat en blanding af de forskellige kongener underkastes oprensning (mindst  $n = 3$ ), og genfindelse og variabilitet kontrolleres ved hjælp af en GC/HRMS-analyse. Genfindelsen skal være på mellem 60 og 120 %, især for kongener, der bidrager med over 10 % af TEQ-niveauet i forskellige blandinger.

#### 8.1.6. Rapporteringsgrænse

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

### 8.2. Anvendelse af referenceprøver

— Referenceprøver skal repræsentere prøvematrix, kongenermønstre og koncentrationsområder for PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende PCB'er omkring det relevante niveau (grænse/indgrebsværdier).

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

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

— Der kan inkluderes ekstra referenceprøver på f.eks. 0,5 og 2 gange det relevante niveau for at vise analysemetodens ydeevne inden for det interval, der er relevant for kontrollen af det relevante niveau. Kombineret kan disse prøver anvendes til beregning af BEQ-niveauerne i de klargjorte prøver (jf. punkt 8.1.2.2).

### 8.3. Fastlæggelse af afskæringsværdier

Relationen mellem bioanalytiske resultater i BEQ og GC/HRMS-resultater i TEQ fastlægges (f.eks. ved hjælp af matrixtilpassede kalibreringsforsøg med referenceprøver tilsat 0, 0,5, 1 og 2 gange grænseværdien, med seks gentagelser på hvert niveau ( $n = 24$ )). Korrektionsfaktorer (blindprøve og genfindelse) kan beregnes skønmæssigt ud fra dette forhold, men skal efterprøves i hver enkelt analyserække, ved at der inkluderes procedure/matrix-blindprøver og genfindelsesprøver (jf. punkt 8.2).

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

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

<sup>(1)</sup> Gældende krav er baseret på TEF'erne, som er offentliggjort i: M. Van den Berg et al, Toxicol. Sci. 93 (2), 223-241 (2006).



- 8.3.1. Anvendelse af det *nedre* bånd i forventningsintervallet på 95 % ved GC/HRMS-beslutningsgrænsen:

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

hvor:

$\text{BEQ}_{\text{DL}}$  er den BEQ, der svarer til GC/HRMS-beslutningsgrænsen, som er grænseværdien under hensyntagen til målesikkerheden

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

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

$m$  er det samlede antal kalibreringspunkter (indeks  $j$ )

$n$  er antallet af gentagelser på hvert niveau

$x_i$  er GC/HRMS-prøvekonzentrationen (i TEQ) for kalibreringspunktet  $i$

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

$Q_{xx} = \sum_{j=1}^m (x_j - \bar{x})^2$  er kvadratsum-parameteren,  $i = \text{indeks for kalibreringspunktet } i$ .

- 8.3.2. Beregning ud fra bioanalytiske resultater (korrigeret for blindprøve og genfindelse) fra flere analyser af prøver ( $n \geq 6$ ) forurenede i koncentrationer ved GC/HRMS-beslutningsgrænsen som det *nedre* endepunkt i fordelingen af data ved den tilsvarende BEQ-middelværdi:

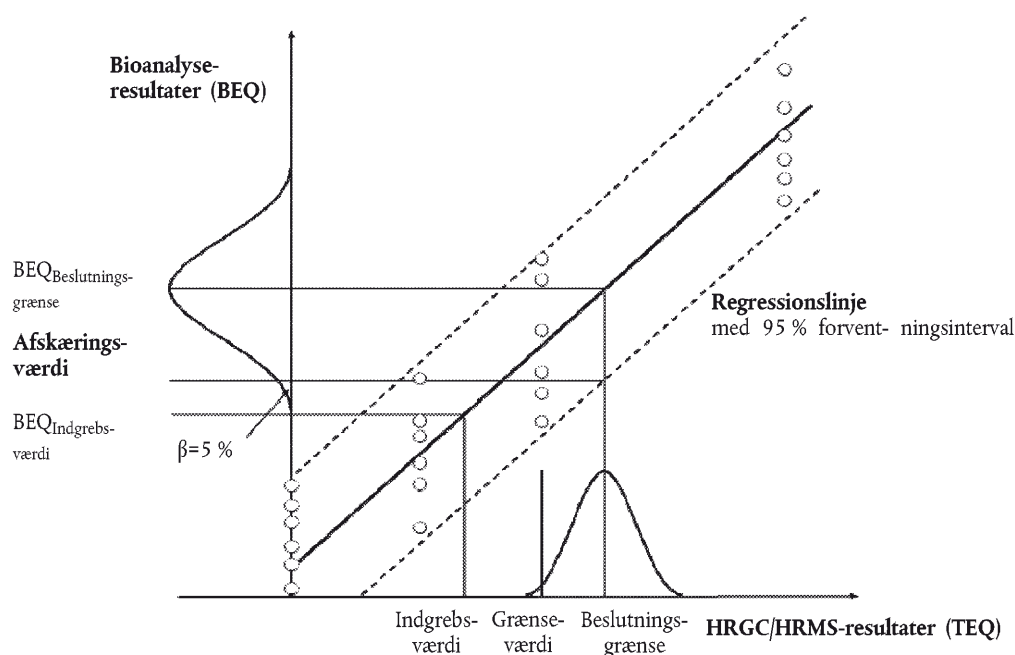
$$\text{Afskæringsværdi} = \text{BEQ}_{\text{DL}} - 1,64 * \text{SD}_R$$

hvor:

$\text{SD}_R$  er standardafvigelse for resultaterne af bioassay ved  $\text{BEQ}_{\text{DL}}$ , målt under interne reproducerbarhedsbetingelser.

- 8.3.3. Beregning som middelværdi af bioanalytiske resultater (i BEQ, korrigeret for blindprøve og genfindelse) fra flere analyser af prøver ( $n \geq 6$ ) forurenede i koncentrationer på 2/3 af det relevante niveau. Dette er baseret på den observation, at dette niveau vil ligge på omkring den afskæringsværdi, der er fastlagt i overensstemmelse med punkt 8.3.1 og 8.3.2:

Figur 1



Beregning af afskæringsværdier med et konfidensniveau på 95 %, hvilket indebærer en falsk overensstemmende andel på < 5 %, og en  $RSD_R$  på < 25 %: 1. fra det *nedre* bånd i forventningsintervallet på 95 % ved HRGC/HRMS-beslutningsgrænsen, 2. fra flere analyser af prøver ( $n \geq 6$ ) forurenet i koncentrationer ved HRGC/HRMS-beslutningsgrænsen som det *nedre* endepunkt i fordelingen af data (i figuren repræsenteret ved en klokkelignende kurve) ved den tilsvarende BEQ-middelværdi.

#### 8.3.4. Begrænsninger for afskæringsværdier

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

#### 8.4. Karakteristika for metodens ydeevne

- Da interne standarder ikke kan anvendes i bioanalytiske metoder, skal der gennemføres repeterbarhedsanalyser for at tilvejebringe oplysninger om standardafvigelsen inden for og mellem de enkelte analyserækker. Repeterbarheden skal være på under 20 %, mens den interne reproducerbarhed skal ligge på under 25 %. Til grund lægges de beregnede niveauer i BEQ efter korrektion for blindprøve og genfindelse.
- Det skal som led i valideringsprocessen dokumenteres, at testen kan skelne mellem en blindprøve og et indhold på afskæringsværdien, således at det er muligt at identificere prøver over den tilsvarende afskæringsværdi (jf. punkt 8.1.2).
- Målforbindinger, mulige interferenser og højeste tolererede værdier for blindprøver fastlægges.
- Standardafvigelsen i responset eller i den koncentration, der beregnes ud fra responset (kun muligt i måleområdet), ved tredobbelt bestemmelse af et prøveekstrakt må ikke være på over 15 %.
- De ukorrigerede resultater af referenceprøven/prøverne udtrykt i BEQ (blindprøve og relevant niveau) bruges til at evaluere den bioanalytiske metodes ydeevne over et konstant tidsrum.
- Kvalitetskontrollkort for procedureblindprøver og for hver enkelt type referenceprøve registreres og kontrolleres med henblik på at sikre, at den analytiske ydeevne er i overensstemmelse med gældende krav, især for procedureblindprøverne for så vidt angår den påkrævede minimumsdifference i forhold til den nedre del af måleområdet og for referenceprøverne med hensyn til den interne reproducerbarhed. Procedureblindprøver skal holdes under streng kontrol for at undgå falsk overensstemmende resultater ved fratækning af værdierne.
- Resultaterne fra GC/HRMS-analyserne af mistænkte prøver samt 2-10 % af de overensstemmende prøver (mindst 20 prøver pr. matrix) indsamles og lægges til grund for en evaluering af screeningsmetodens ydeevne og relationen mellem BEQ og TEQ. Denne database kan anvendes til revurdering af de afskæringsværdier, der finder anvendelse på rutinemæssige prøver til de validerede matrixer.
- En metodes gode ydeevne kan også dokumenteres ved deltagelse i ringtest. Resultaterne fra prøver, der er analyseret i ringtest og dækker et koncentrationsområde på op til f.eks. 2 gange grænseværdien, kan også inkluderes i evalueringen af andelen af falsk overensstemmende resultater, såfremt laboratoriet kan dokumentere gode præstationer. Prøverne skal dække de mest almindelige kongenermønstre og repræsentere forskellige kilder.
- I forbindelse med hændelser kan afskæringsværdierne revurderes på baggrund af de specifikke matrix- og kongenermønstre, der observeres under den pågældende hændelse.

### 9. INDBERETNING AF RESULTATER

#### Verifikationsmetoder

- Så vidt den anvendte analyseprocedure tillader det, skal analyseresultaterne omfatte værdierne for de enkelte PCDD/PCDF- og dioxinlignende PCB-kongener og angives som nedre koncentrationer, øvre koncentrationer og middelkoncentrationer, med henblik på at sikre, at indberetningen af resultater omfatter så mange oplysninger som muligt, så resultaterne kan fortolkes i overensstemmelse med specifikke krav.
- Rapporten skal også omfatte oplysninger om den metode, der er anvendt til ekstraktion af PCDD'er/PCDF'er, dioxinlignende PCB'er og fedtstoffer. Prøvens fedtindhold bestemmes og indberettes for fødevareprøver med grænse/indgrebsværdier udtrykt i forhold til fedtmængden og en forventet fedtkoncentration i størrelsesordenen 0-2 % (i overensstemmelse med gældende lovgivning); for andre prøver er det valgfrit at bestemme fedtindholdet.

- Tallene for genfindelse af de enkelte interne standarder skal stilles til rådighed, hvis genfindelsen ligger uden for det interval, der er angivet i punkt 7.2, hvis grænseværdierne er overskredet, og i øvrige tilfælde efter anmodning.
- Da der skal tages hensyn til måleusikkerheden, når det afgøres, om en prøve er overensstemmende, skal denne parameter ligeledes være tilgængelig. Analyseresultaterne indberettes derfor som  $x \pm U$ , hvor  $x$  er analyseresultatet og  $U$  er den ekspanderede måleusikkerhed, idet der anvendes en dækningsfaktor på 2, hvilket giver et konfidensniveau på ca. 95 %. Hvis PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende PCB'er bestemmes separat, anvendes summen af den anslåede ekspanderede usikkerhed for de separate analyseresultater vedrørende PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende PCB'er for summen af PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende PCB'er.
- Hvis der tages hensyn til måleusikkerheden ved at anvende  $CC\alpha$  (se beskrivelsen i bilag II, del IV, punkt 2), indberettes denne parameter.
- Resultaterne angives i samme enheder og med (mindst) samme antal betydende cifre som de grænseværdier, der er fastsat i forordning (EF) nr. 1881/2006.

#### Bioanalytiske screeningsmetoder

- Resultatet af screeningen udtrykkes som værende overensstemmende eller som mistænkt for at være ikke-overensstemmende («mistænkt»).
  - Derudover kan et resultat for PCDD'er/PCDF'er og/eller dioxinlignende PCB'er udtrykt i bioanalytiske ækivalenter (BEQ) (ikke TEQ) oplyses (jf. bilag III, punkt 2).
  - Hvis måleusikkerheden for det beregnede BEQ-niveau oplyses, f.eks. standardafvigelsen, skal den være baseret på mindst en tredobbelt analyse (omfattende ekstraktion, oprensning og bestemmelse af testresponset) af prøven.
  - Prøver, der giver et respons under rapporteringsgrænsen, udtrykkes som værende under rapporteringsgrænsen.
  - Rapporten skal for hver enkelt type prøvematrix give oplysninger om det relevante niveau (grænse/indgrebsværdi), som vurderingen er baseret på.
  - Rapporten skal indeholde oplysninger om, hvilken type test der er anvendt, samt om det grundlæggende prøvningsprincip og den anvendte kalibreringsmåde.
  - Rapporten skal også omfatte oplysninger om den metode, der er anvendt til ekstraktion af PCDD'er/PCDF'er, dioxinlignende PCB'er og fedtstoffer. Prøvens fedtindhold bestemmes og indberettes for fødevarerprøver med grænse/indgrebsværdier udtrykt i forhold til fedtmængden og en forventet fedtkoncentration i størrelsesordenen 0-2 % (i overensstemmelse med gældende lovgivning); for andre prøver er det valgfrit at bestemme fedtindholdet.
-

## Tillæg til BILAG III

WHO-TEF til vurdering af risikoen for mennesker baseret på konklusionerne fra Verdenssundhedsorganisationens (WHO) ekspertmøde i Genève i juni 2005 om det internationale program for sikkerhed i forbindelse med kemikalier (IPCS) (Martin van den Berg et al., The 2005 World Health Organization Re-evaluation of Human and Mammalian Toxic Equivalency Factors for Dioxins and Dioxin-like Compounds. Toxicological Sciences 93(2), 223-241 (2006)).

Kongener	TEF-værdi	Kongener	TEF-værdi
<b>Dibenzo-p-dioxiner (PCDD'er)</b>		<b>Dioxinlignende PCB'er: non-ortho-PCB'er + mono-ortho- PCB'er</b>	
2,3,7,8-TCDD	1		
1,2,3,7,8-PeCDD	1	<i>Non-ortho-PCB'er</i>	
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		
<b>Dibenzofuraner (PCDF'er)</b>		<i>Mono-ortho-PCB'er</i>	
2,3,7,8-TCDF	0,1	PCB 105	0,00003
1,2,3,7,8-PeCDF	0,03	PCB 114	0,00003
2,3,4,7,8-PeCDF	0,3	PCB 118	0,00003
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0,1	PCB 123	0,00003
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0,1	PCB 156	0,00003
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0,1	PCB 157	0,00003
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0,1	PCB 167	0,00003
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0,01	PCB 189	0,00003
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0,01		
OCDF	0,0003		

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

## BILAG IV

**Klargøring af prøver og krav til analysemetoder, der anvendes ved offentlig kontrol af indholdet af ikke-dioxinlignende PCB'er (PCB 28, 52, 101, 138, 153 og 180) i visse fødevarer****1. Påvisningsmetoder, der kan anvendes**

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

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

— Relativ retentionstid i forhold til interne standarder eller referencestandarder (tilladt afvigelse:  $\pm 0,25\%$ ).

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

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

— GC/MS-metoder:

— Overvågning af mindst:

— to specifikke ioner ved HRMS

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

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

— Tilladte maksimumstolerancer for isotopforholdet for udvalgte massefragmenter:

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

Kvalifikatorionens/ionernes relative intensitet i forhold til målionen	GC-EI-MS (relativ afvigelse)	GC-CI-MS, GC-MS <sup>n</sup> (relativ afvigelse)
> 50 %	$\pm 10\%$	$\pm 20\%$
> 20 % til 50 %	$\pm 15\%$	$\pm 25\%$
> 10 % til 20 %	$\pm 20\%$	$\pm 30\%$
$\leq 10\%$	$\pm 50\%$ (*)	$\pm 50\%$ (*)

(\*) Da der er et tilstrækkeligt antal massefragmenter med en relativ intensitet på  $> 10\%$  til rådighed, kan det ikke anbefales at anvende kvalifikatorioner med en relativ intensitet på under  $10\%$  i forhold til målionen.

— GC/ECD:

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

**3. Dokumentation for metodens ydeevne**

Validering inden for det relevante interval (0,5 til 2 gange det relevante niveau) med en acceptabel variationskoefficient for gentagne analyser (jf. kravene til intern reproducerbarhed (intermediær præcision) i punkt 8).

**4. Bestemmelsesgrænse**

Blindprøverne må ikke repræsentere over  $30\%$  af den forureningsgrad, som svarer til grænseværdien <sup>(1)</sup>.

**5. Kvalitetskontrol**

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

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

## 6. Genfindelseskontrol

- Anvendelse af egnede interne standarder med fysisk-kemiske egenskaber, der er sammenlignelige med de relevante analysanders.
- Tilsætning af interne standarder:
  - Tilsætning til produkter (inden ekstraktion og oprensning)
  - Tilsætning kan også ske til ekstraheret fedt (inden oprensning), hvis grænseværdien er udtrykt i forhold til fedtmængden.
- Krav til metoder, hvor alle seks isotopmærkede indikator-PCB-kongenere anvendes:
  - Korrektion af resultater for genfindelse af interne standarder
  - Generelt acceptabel genfindelsesprocent for isotopmærkede interne standarder på mellem 50 og 120 %
  - En lavere eller højere genfindelsesprocent er acceptabel for enkeltkongenere, der bidrager til summen af de seks indikator-PCB'er med under 10 %.
- Krav til metoder, hvor ikke alle seks isotopmærkede interne standarder eller andre interne standarder anvendes:
  - Genfindelseskontrol for de(n) interne standard(er) for hver enkelt prøve
  - Acceptabel genfindelsesprocent for interne standarder på mellem 60 og 120 %
  - Korrektion af resultater for genfindelse af interne standarder.
- Genfindelsen af umærkede kongenere kontrolleres ved hjælp af spikede prøver eller kvalitetskontrolprøver med koncentrationer inden for det relevante interval. Den acceptable genfindelsesprocent for disse kongenere er på mellem 70 og 120 %.

## 7. Krav til laboratorier

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

## 8. Karakteristika for metodens ydeevne: Kriterier vedrørende summen af de seks indikator-PCB'er på det relevante niveau

Korrekthed	- 30 % til + 30 %
Intern reproducerbarhed (intermediær præcision) (RSD%)	≤ 20 %
Forskel mellem øvre og nedre koncentration (beregnet)	≤ 20 %

## 9. Indberetning af resultater

- Så vidt den anvendte analyseprocedure tillader det, skal analyseresultaterne omfatte værdierne for de enkelte PCB-kongenere og angives som nedre koncentrationer, øvre koncentrationer og middelkoncentrationer, med henblik på at sikre, at indberetningen af resultater omfatter så mange oplysninger som muligt, så resultaterne kan fortolkes i overensstemmelse med specifikke krav.
- Rapporten skal også omfatte oplysninger om den metode, der er anvendt til ekstraktion af PCB'er og fedtstoffer. Prøvens fedtindhold bestemmes og indberettes for fødevarerprøver med grænseværdier udtrykt i forhold til fedtmængden og en forventet fedtkoncentration i størrelsesordenen 0-2 % (i overensstemmelse med gældende lovgivning); for andre prøver er det valgfrit at bestemme fedtindholdet.
- Tallene for genfindelse af de enkelte interne standarder skal stilles til rådighed, hvis genfindelsen ligger uden for det interval, der er angivet i punkt 6, hvis grænseværdierne er overskredet, og i øvrige tilfælde efter anmodning.
- Da der skal tages hensyn til måleusikkerheden, når det afgøres, om en prøve er overensstemmende, skal denne parameter ligeledes være tilgængelig. Analyseresultaterne indberettes derfor som  $x \pm U$ , hvor  $x$  er analyseresultatet og  $U$  er den ekspanderede måleusikkerhed, idet der anvendes en dækningsfaktor på 2, hvilket giver et konfidensniveau på ca. 95 %.
- Hvis der tages hensyn til måleusikkerheden ved at anvende  $CC\alpha$  (se beskrivelsen i bilag II, del IV, punkt 1), indberettes denne parameter.
- Resultaterne angives i samme enheder og med (mindst) samme antal betydende cifre som de grænseværdier, der er fastsat i forordning (EF) nr. 1881/2006.