

## II

(Μη νομοθετικές πράξεις)

## ΚΑΝΟΝΙΣΜΟΙ

## ΚΑΝΟΝΙΣΜΟΣ (ΕΕ) αριθ. 709/2014 ΤΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ

της 20ής Ιουνίου 2014

για την τροποποίηση του κανονισμού (ΕΚ) αριθ. 152/2009 όσον αφορά τον προσδιορισμό των επιπέδων των διοξινών και των πολυχλωριωμένων διφαινυλίων

(Κείμενο που παρουσιάζει ενδιαφέρον για τον ΕΟΧ)

Η ΕΥΡΩΠΑΪΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ,

Έχοντας υπόψη τη Συνθήκη για τη λειτουργία της Ευρωπαϊκής Ένωσης,

Έχοντας υπόψη τον κανονισμό (ΕΚ) αριθ. 882/2004 του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου, της 29ης Απριλίου 2004, για τη διενέργεια επισήμων ελέγχων της συμμόρφωσης προς τη νομοθεσία περί ζωοτροφών και τροφίμων και προς τους κανόνες για την υγεία και την καλή διαβίωση των ζώων <sup>(1)</sup>, και ιδίως το άρθρο 11 παράγραφος 4,

Εκτιμώντας τα ακόλουθα:

- (1) Ο κανονισμός (ΕΚ) αριθ. 152/2009 της Επιτροπής <sup>(2)</sup> περιλαμβάνει μεθόδους για τον προσδιορισμό των επιπέδων των πολυχλωριωμένων διβενζο-π-διοξινών (PCDD), των πολυχλωριωμένων διβενζοφουρανίων (PCDF) και των παρόμοιων με διοξίνες πολυχλωριωμένων διφαινυλίων (PCB) στις ζωοτροφές.
- (2) Θα πρέπει να καθοριστούν απαιτήσεις σχετικά με τις μεθόδους διαλογής με τις οποίες ταυτοποιούνται τα δείγματα με σημαντικά επίπεδα PCDD/F και παρόμοια με διοξίνες PCB (με επιλογή, κατά προτίμηση, δειγμάτων τα οποία υπερβαίνουν τα όρια ανάληψης δράσης και με εξασφάλιση της επιλογής δειγμάτων που υπερβαίνουν τα ανώτατα επίπεδα) και οι οποίες έχουν υψηλή απόδοση. Όσον αφορά τα ανώτατα επίπεδα, το ποσοστό των ψευδοσυμμορφούμενων αποτελεσμάτων των εν λόγω μεθόδων διαλογής πρέπει να είναι κάτω από 5 %.
- (3) Όταν τα αποτελέσματα που επιτυγχάνονται με τη μέθοδο διαλογής υπερβαίνουν την τιμή αποκοπής, το αρχικό δείγμα θα πρέπει να αναλύεται με τη βοήθεια μεθόδου ικανής για την ταυτοποίηση και τον ποσοτικό προσδιορισμό των PCDD/F και των παρόμοιων με διοξίνες PCB που περιλαμβάνονται στο δείγμα. Εφεξής, οι μέθοδοι αυτές αναφέρονται ως «μέθοδοι επιβεβαίωσης». Η τεχνική πρόοδος και οι εξελίξεις έχουν καταδείξει ότι η χρήση αεριοχρωματογραφίας/δίδυμης φασματομετρίας μαζών (GC-MS/MS) θα πρέπει να διατεθεί για χρήση ως μέθοδος επιβεβαίωσης για τον έλεγχο της συμμόρφωσης με το ανώτατο επίπεδο, πέραν της αεριοχρωματογραφίας/φασματομετρίας μαζών υψηλής διακριτικής ικανότητας (GC-HRMS).
- (4) Από την πείρα που αποκτήθηκε με την εφαρμογή των κανόνων που ισχύουν σήμερα, ενδείκνυται μια τροποποίηση όσον αφορά τις τρέχουσες διατάξεις σχετικά με την αναγκαιότητα της δεύτερης ανάλυσης, τη διαπίστωση της συμμόρφωσης σε περίπτωση δεύτερης ανάλυσης και την απαίτηση για αποδεκτή διαφορά μεταξύ των αποτελεσμάτων ανώτατου ορίου και κατώτατου ορίου.
- (5) Συνεπώς, ο κανονισμός (ΕΚ) αριθ. 152/2009 θα πρέπει να τροποποιηθεί αναλόγως.
- (6) Τα μέτρα που προβλέπονται στον παρόντα κανονισμό είναι σύμφωνα με τη γνώμη της μόνιμης επιτροπής για την τροφική αλυσίδα και την υγεία των ζώων,

<sup>(1)</sup> ΕΕ L 165 της 30.4.2004, σ. 1.

<sup>(2)</sup> Κανονισμός (ΕΚ) αριθ. 152/2009 της Επιτροπής, της 27ης Ιανουαρίου 2009, για τον καθορισμό μεθόδων δειγματοληψίας και ανάλυσης για τον επίσημο έλεγχο των ζωοτροφών (ΕΕ L 54 της 26.2.2009, σ. 1).

ΕΞΕΔΩΣΕ ΤΟΝ ΠΑΡΟΝΤΑ ΚΑΝΟΝΙΣΜΟ:

*Άρθρο 1*

Το μέρος Β του παραρτήματος V του κανονισμού (ΕΚ) αριθ. 152/2009 τροποποιείται σύμφωνα με το παράρτημα του παρόντος κανονισμού.

*Άρθρο 2*

Ο παρών κανονισμός αρχίζει να ισχύει την εικοστή ημέρα από τη δημοσίευσή του στην *Επίσημη Εφημερίδα της Ευρωπαϊκής Ένωσης*.

Ο παρών κανονισμός είναι δεσμευτικός ως προς όλα τα μέρη του και ισχύει άμεσα σε κάθε κράτος μέλος.

Βρυξέλλες, 20 Ιουνίου 2014.

Για την Επιτροπή  
Ο Πρόεδρος  
José Manuel BARROSO

## ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

Στο παράρτημα ν του κανονισμού (ΕΚ) αριθ. 152/2009, το μέρος Β «ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΤΩΝ ΔΙΟΞΙΝΩΝ (PCDD/PCDF) ΚΑΙ ΤΩΝ PCB» αντικαθίσταται από το ακόλουθο κείμενο:

«Β. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΤΩΝ ΔΙΟΞΙΝΩΝ (PCDD/PCDF) ΚΑΙ ΤΩΝ PCB

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ Ι

**Μέθοδοι δειγματοληψίας και ερμηνεία των αποτελεσμάτων των αναλύσεων****1. Σκοπός και πεδίο εφαρμογής**

Τα δείγματα που προορίζονται για τον επίσημο έλεγχο των επιπέδων των πολυχλωριωμένων διβενζο-π-διοξινών (PCDD), των πολυχλωριωμένων διβενζοφουρανίων (PCDF), των παρόμοιων με διοξίνες πολυχλωριωμένων διφαινυλίων (PCB) <sup>(1)</sup>\* και των μη παρόμοιων με διοξίνες PCB στις ζωτροφές λαμβάνονται σύμφωνα με τις διατάξεις του παραρτήματος Ι. Ισχύουν οι ποσοτικές απαιτήσεις σε σχέση με τον έλεγχο των ουσιών ή προϊόντων που κατανέμονται ομοιόμορφα μέσα στις ζωτροφές, όπως προβλέπεται στο σημείο 5.1 του παραρτήματος Ι. Τα συνολικά δείγματα που λαμβάνονται με τον τρόπο αυτό θεωρούνται αντιπροσωπευτικά των παρτίδων ή υποπαρτίδων από τις οποίες ελήφθησαν. Η συμμόρφωση με τα ανώτατα επίπεδα που προβλέπονται στην οδηγία 2002/32/ΕΚ διαπιστώνεται με βάση τα επίπεδα που προσδιορίζονται στα εργαστηριακά δείγματα.

Για τους σκοπούς του παρόντος μέρους Β εφαρμόζονται οι ορισμοί του παραρτήματος Ι της απόφασης 2002/657/ΕΚ της Επιτροπής <sup>(2)</sup>\*.

Επιπλέον των εν λόγω ορισμών, για τους σκοπούς του παρόντος μέρους Β εφαρμόζονται και οι ακόλουθοι ορισμοί:

“Μέθοδοι διαλογής”: μέθοδοι που χρησιμοποιούνται για την επιλογή δειγμάτων με επίπεδα PCDD/F και παρόμοιων με διοξίνες PCB που υπερβαίνουν τα ανώτατα επίπεδα ή τα όρια ανάληψης δράσης. Επιτρέπουν επεξεργασία μεγάλων ποσοτήτων δειγμάτων, με καλή σχέση κόστους/αποτελεσματικότητας, αυξάνοντας έτσι τις πιθανότητες εντοπισμού νέων περιστατικών με υψηλή έκθεση και κινδύνους για την υγεία των καταναλωτών. Οι μέθοδοι διαλογής βασίζονται σε βιοαναλυτικές μεθόδους ή μεθόδους GC-MS. Τα αποτελέσματα των δειγμάτων που υπερβαίνουν την τιμή αποκοπής όσον αφορά τον έλεγχο της συμμόρφωσης με το ανώτατο επίπεδο επαληθεύονται με πλήρη νέα ανάλυση από το αρχικό δείγμα με μια μέθοδο επιβεβαίωσης.

“Μέθοδοι επιβεβαίωσης”: μέθοδοι που παρέχουν πλήρεις ή συμπληρωματικές πληροφορίες οι οποίες δίνουν τη δυνατότητα ταυτοποίησης και σαφούς ποσοτικού προσδιορισμού των PCDD/F και των παρόμοιων με διοξίνες PCB στο ανώτατο επίπεδο ή, σε περίπτωση ανάγκης, στο επίπεδο του ορίου ανάληψης δράσης. Οι μέθοδοι αυτές χρησιμοποιούν αεριοχρωματογραφία/φασματομετρία μαζών υψηλής διακριτικής ικανότητας (GC-HRMS) ή αεριοχρωματογραφία/δίδυμη φασματομετρία μαζών (GC-MS/MS).

**2. Συμμόρφωση της παρτίδας ή της υποπαρτίδας με το ανώτατο επίπεδο****2.1. Όσον αφορά τα μη παρόμοια με διοξίνες PCB**

Η παρτίδα συμμορφώνεται με το ανώτατο επίπεδο αν το αναλυτικό αποτέλεσμα δεν υπερβαίνει το ανώτατο επίπεδο των μη παρόμοιων με διοξίνες PCB που προβλέπεται στην οδηγία 202/32/ΕΚ, λαμβανομένης υπόψη της αβεβαιότητας μέτρησης.

Η παρτίδα δεν συμμορφώνεται με το ανώτατο επίπεδο αν το αναλυτικό αποτέλεσμα ανώτατου ορίου <sup>(3)</sup>\* που επιβεβαιώθηκε από δεύτερη ανάλυση <sup>(4)</sup>\* υπερβαίνει το ανώτατο επίπεδο που προβλέπεται στην οδηγία 2001/32/ΕΚ, λαμβανομένης υπόψη της αβεβαιότητας μέτρησης. Για την εξακρίβωση της συμμόρφωσης χρησιμοποιείται ο μέσος όρος των αποτελεσμάτων των δύο προσδιορισμών, λαμβανομένης υπόψη της αβεβαιότητας μέτρησης.

Η αβεβαιότητα μέτρησης λαμβάνεται υπόψη σύμφωνα με μία από τις ακόλουθες προσεγγίσεις:

- με υπολογισμό της διευρυμένης αβεβαιότητας, χρησιμοποιώντας συντελεστή κάλυψης 2 που δίνει επίπεδο εμπιστοσύνης περίπου 95 %. Μια παρτίδα ή υποπαρτίδα θεωρείται μη συμμορφούμενη αν η μετρούμενη τιμή μείον  $U$  υπερβαίνει το ανώτατο επίπεδο,
- με τον καθορισμό του ορίου απόφασης (CCa) σύμφωνα με το σημείο 3.1.2.5 του παραρτήματος Ι της απόφασης 2002/657/ΕΚ. Μια παρτίδα ή υποπαρτίδα θεωρείται μη συμμορφούμενη αν η μετρούμενη τιμή ισούται ή υπερβαίνει το όριο απόφασης CCa.

Οι παράγραφοι 1, 2 και 3 εφαρμόζονται για τα αποτελέσματα των αναλύσεων που προκύπτουν από το δείγμα που λαμβάνεται για επίσημο έλεγχο. Στην περίπτωση αναλύσεων για λόγους προσφυγής ή αναφοράς, εφαρμόζεται η εθνική νομοθεσία.

## 2.2. Όσον αφορά τα PCDD/F και τα παρόμοια με διοξίνες PCB

Η παρτίδα συμμορφώνεται με τα ανώτατα επίπεδα αν το αναλυτικό αποτέλεσμα μεμονωμένης ανάλυσης,

- που εκτελείται με τη μέθοδο διαλογής με ποσοστό ψευδοσυμμορφούμενων αποτελεσμάτων χαμηλότερο από 5 %, δείχνει ότι το επίπεδο δεν υπερβαίνει το αντίστοιχο ανώτατο επίπεδο των PCDD/F και το άθροισμα των PCDD/F και των παρόμοιων με διοξίνες PCB που καθορίζονται στην οδηγία 2002/32/ΕΚ,
- που εκτελείται με μέθοδο επιβεβαίωσης, δεν υπερβαίνει το αντίστοιχο ανώτατο επίπεδο των PCDD/PCDF και το άθροισμα των PCDD/PCDF και των παρόμοιων με διοξίνες PCB που καθορίζονται στην οδηγία 2002/32/ΕΚ, λαμβανομένης υπόψη της αβεβαιότητας μέτρησης.

Για τις δοκιμασίες διαλογής καθορίζεται μια τιμή αποκοπής (cut-off value) για τη λήψη των αποφάσεων σχετικά με τη συμμόρφωση ή μη του δείγματος με τα αντίστοιχα ανώτατα επίπεδα τα οποία έχουν καθοριστεί είτε για τις PCDD/PCDF είτε για το άθροισμα των PCDD/PCDF και των παρόμοιων με διοξίνες PCB.

Η παρτίδα δεν συμμορφώνεται με το ανώτατο επίπεδο αν το αναλυτικό αποτέλεσμα ανώτατου ορίου (\*)\*, που ελήφθη με μέθοδο επιβεβαίωσης και επιβεβαιώθηκε με δεύτερη ανάλυση, υπερβαίνει το ανώτατο επίπεδο που προβλέπεται στην οδηγία 2002/32/ΕΚ, λαμβανομένης υπόψη της αβεβαιότητας μέτρησης (\*)\*. Για την εξακρίβωση της συμμόρφωσης χρησιμοποιείται ο μέσος όρος των αποτελεσμάτων των δύο προσδιορισμών, λαμβανομένης υπόψη της αβεβαιότητας μέτρησης.

Η αβεβαιότητα μέτρησης λαμβάνεται υπόψη σύμφωνα με μία από τις ακόλουθες προσεγγίσεις:

- με υπολογισμό της διευρυμένης αβεβαιότητας, χρησιμοποιώντας συντελεστή κάλυψης 2 που δίνει επίπεδο εμπιστοσύνης περίπου 95 %. Μια παρτίδα ή υποπαρτίδα δεν συμμορφώνεται με τις προδιαγραφές αν η μετρούμενη τιμή μείον U υπερβαίνει το ανώτατο επίπεδο. Σε περίπτωση χωριστού προσδιορισμού των PCDD/PCDF και των παρόμοιων με διοξίνες PCB, χρησιμοποιείται για το άθροισμα των διοξινών και των παρόμοιων με διοξίνες PCB το άθροισμα των εκτιμήσεων της διευρυμένης αβεβαιότητας των χωριστών αναλυτικών αποτελεσμάτων για τις PCDD/PCDF και για τα παρόμοια με διοξίνες PCB,
- με τον καθορισμό του ορίου απόφασης (CCA), σύμφωνα με το σημείο 3.1.2.5 του παραρτήματος της απόφασης 2002/657/ΕΚ της Επιτροπής. Μια παρτίδα ή υποπαρτίδα θεωρείται μη συμμορφούμενη αν η μετρούμενη τιμή ισούται ή υπερβαίνει το όριο απόφασης CCA.

Οι παράγραφοι 1 έως 4 εφαρμόζονται για τα αποτελέσματα των αναλύσεων που προκύπτουν από το δείγμα που λαμβάνεται για επίσημο έλεγχο. Στην περίπτωση αναλύσεων για λόγους προσφυγής ή αναφοράς, εφαρμόζεται η εθνική νομοθεσία.

## 3. Αποτελέσματα που υπερβαίνουν τα όρια ανάληψης δράσης σύμφωνα με το παράρτημα II της οδηγίας 2002/32/ΕΚ

Τα όρια ανάληψης δράσης χρησιμεύουν ως μέσο για την επιλογή δειγμάτων στις περιπτώσεις κατά τις οποίες είναι αναγκαίο να εντοπιστεί η πηγή της επιμόλυνσης και να ληφθούν μέτρα για τη μείωση ή την εξάλειψή της. Οι μέθοδοι διαλογής καθορίζουν τις κατάλληλες τιμές αποκοπής για την επιλογή αυτών των δειγμάτων. Στην περίπτωση που απαιτούνται σημαντικές προσπάθειες για τον προσδιορισμό μιας πηγής και τη μείωση ή την εξάλειψη της επιμόλυνσης, μπορεί να ενδείκνυται να επιβεβαιωθεί η υπέρβαση του ορίου ανάληψης δράσης μέσω δεύτερης ανάλυσης δείγματος χρησιμοποιώντας μια μέθοδο επιβεβαίωσης και λαμβάνοντας υπόψη την αβεβαιότητα μέτρησης (\*)\*.

### ΚΕΦΑΛΑΙΟ II

## Προετοιμασία των δειγμάτων και απαιτήσεις για τις μεθόδους ανάλυσης που χρησιμοποιούνται για τον επίσημο έλεγχο των επιπέδων των διοξινών (PCDD/PCDF) και των παρόμοιων με διοξίνες PCB σε ζωοτροφές

### 1. Πεδίο εφαρμογής

Οι απαιτήσεις που καθορίζονται στο παρόν κεφάλαιο εφαρμόζονται στις αναλύσεις ζωοτροφών για τον επίσημο έλεγχο των επιπέδων των υποκατεστημένων στις θέσεις 2,3,7,8 πολυχλωριωμένων διβενζο-π-διοξινών και πολυχλωριωμένων διβενζοφουρανίων (PCDD/F) και των παρόμοιων με διοξίνες πολυχλωριωμένων διφαινυλίων (παρόμοια με διοξίνες PCB) και για άλλους κανονιστικούς σκοπούς.

Ο έλεγχος για την παρουσία PCDD/F και παρόμοιων με διοξίνες PCB στις ζωοτροφές μπορεί να διενεργηθεί με δύο διαφορετικούς τύπους αναλυτικών μεθόδων:

#### α) Μέθοδοι διαλογής

Στόχος των μεθόδων διαλογής είναι η επιλογή δειγμάτων με επίπεδα PCDD/F και παρόμοιων με διοξίνες PCB που υπερβαίνουν τα ανώτατα επίπεδα ή τα όρια ανάληψης δράσης. Οι μέθοδοι διαλογής επιτρέπουν επεξεργασία μεγάλων ποσοτήτων δειγμάτων, με καλή σχέση κόστους/αποτελεσματικότητας, αυξάνοντας έτσι τις πιθανότητες εντοπισμού νέων περιστατικών με υψηλή έκθεση και κινδύνους για την υγεία των καταναλωτών. Η εφαρμογή τους πρέπει να αποσκοπεί στην αποφυγή αποτελεσμάτων ψευδούς συμμόρφωσης. Μπορεί να περιλαμβάνουν βιοαναλυτικές μεθόδους και μεθόδους GC-MS.

Οι μέθοδοι διαλογής συγκρίνουν το αναλυτικό αποτέλεσμα με μια τιμή αποκοπής, παρέχοντας μια απόφαση τύπου ναι/όχι για πιθανή υπέρβαση του ανώτατου επιπέδου ή του ορίου ανάληψης δράσης. Η συγκέντρωση των PCDD/F και του αθροίσματος των PCDD/F και των παρόμοιων με διοξίνες PCB σε δείγματα για τα οποία υπάρχουν υπόνοιες ότι δεν συμμορφώνονται με το ανώτατο επίπεδο πρέπει να προσδιορίζεται/επιβεβαιώνεται με μια μέθοδο επιβεβαίωσης.

Επιπλέον, οι μέθοδοι διαλογής μπορούν να παρέχουν ένδειξη των επιπέδων των PCDD/F και των παρόμοιων με διοξίνες PCB που περιέχονται στο δείγμα. Σε περίπτωση εφαρμογής βιοαναλυτικών μεθόδων διαλογής, το αποτέλεσμα εκφράζεται σε βιοαναλυτικά ισοδύναμα (BEQ), ενώ σε περίπτωση εφαρμογής φυσικοχημικών μεθόδων GC-MS εκφράζεται σε τοξικά ισοδύναμα (TEQ). Τα αριθμητικώς υποδεικνυόμενα αποτελέσματα των μεθόδων διαλογής είναι κατάλληλα για να καταδείξουν τη συμμόρφωση ή την υπόνοια μη συμμόρφωσης ή την υπέρβαση των ορίων ανάληψης δράσης και να παράσχουν μια ένδειξη για το φάσμα των επιπέδων σε περίπτωση ελέγχου με μεθόδους επιβεβαίωσης. Δεν είναι κατάλληλα για σκοπούς όπως η εκτίμηση των ιστορικών επιπέδων, η εκτίμηση της πρόσληψης, η παρακολούθηση της χρονικής εξέλιξης των επιπέδων ή η εκ νέου αξιολόγηση των ορίων ανάληψης δράσης και των ανώτατων επιπέδων.

#### β) Μέθοδοι επιβεβαίωσης

Οι μέθοδοι επιβεβαίωσης επιτρέπουν την αναμφισβήτητη ταυτοποίηση και την ποσοτικοποίηση των PCDD/F και των παρόμοιων με διοξίνες PCB που υπάρχουν σε ένα δείγμα, καθώς και την παροχή πλήρων στοιχείων σε επίπεδο συγγενών ουσιών. Ως εκ τούτου, οι μέθοδοι αυτές επιτρέπουν τον έλεγχο των ανώτατων επιπέδων και των ορίων ανάληψης δράσης, καθώς και την επιβεβαίωση των αποτελεσμάτων που λαμβάνονται από μεθόδους διαλογής. Επιπλέον, τα αποτελέσματα μπορούν να χρησιμοποιούνται για τον προσδιορισμό των χαμηλών επιπέδων υπόβαθρου κατά τον έλεγχο των ζωοτροφών, την παρακολούθηση των χρονικών τάσεων, την αξιολόγηση της έκθεσης και τη δημιουργία βάσης δεδομένων για πιθανή επαναξιολόγηση των ορίων ανάληψης δράσης και των ανώτατων επιπέδων. Αυτές οι μέθοδοι είναι επίσης σημαντικές για τον καθορισμό του προφίλ συγγενών ουσιών με σκοπό για τον εντοπισμό της πηγής πιθανής επιμόλυνσης. Αυτές οι μέθοδοι χρησιμοποιούν GC-HRMS. Για την επιβεβαίωση της συμμόρφωσης ή της μη συμμόρφωσης με το ανώτατο επίπεδο, μπορεί να χρησιμοποιηθεί και GC-MS/MS.

## 2. Ιστορικό

Για τον υπολογισμό των τοξικών ισοδυνάμων (TEQ), οι συγκεντρώσεις των επιμέρους ουσιών σε ένα δεδομένο δείγμα πολλαπλασιάζονται επί τον αντίστοιχο συντελεστή τοξικής ισοδυναμίας τους (TEF) [βλ. υποσημείωση (\*) του κεφαλαίου I] και στη συνέχεια αθροίζονται για να προκύψει η συνολική συγκέντρωση των παρόμοιων με διοξίνες ενώσεων, εκφρασμένη σε τοξικά ισοδύναμα (TEQ).

Για τους σκοπούς του παρόντος μέρους Β, το αποδεκτό ειδικό όριο ποσοτικού προσδιορισμού μιας επιμέρους συγγενούς ουσίας είναι η χαμηλότερη περιεκτικότητα της προσδιοριζόμενης ουσίας που μπορεί να μετρηθεί με ικανοποιητική στατιστική βεβαιότητα και η οποία πληροί τα κριτήρια ταυτοποίησης που περιγράφονται σε διεθνώς αναγνωρισμένα πρότυπα, για παράδειγμα στο πρότυπο EN 16215:2012 (Ζωοτροφές — Προσδιορισμός των διοξινών και των παρόμοιων με διοξίνες PCB με την τεχνική GC-HRMS και των δεικτών PCB με την τεχνική GC-HRMS) και/ή στις μεθόδους του Οργανισμού Προστασίας Περιβάλλοντος (EPA) 1613 και 1668 όπως αναθεωρήθηκαν.

Το όριο ποσοτικού προσδιορισμού μιας επιμέρους συγγενούς ουσίας είναι δυνατόν να προσδιοριστεί ως

- α) η συγκέντρωση μιας προσδιοριζόμενης ουσίας στο εκχύλισμα δείγματος η οποία παράγει απόκριση των οργάνων σε δύο διαφορετικά ιόντα που πρόκειται να ελεγχθούν με λόγο σήματος προς θόρυβο (S/N) 3:1 για το λιγότερο εντατικό σήμα ανεπεξέργαστων δεδομένων· ή
- β) αν, για τεχνικούς λόγους, ο υπολογισμός του λόγου σήματος προς θόρυβο δεν παρέχει αξιόπιστα αποτελέσματα, το κατώτατο σημείο συγκέντρωσης σε μια καμπύλη βαθμονόμησης που παρέχει μια αποδεκτή ( $\leq 30\%$ ) και συνεπή (μετρημένη τουλάχιστον στην αρχή και στο τέλος μιας αναλυτικής σειράς δειγμάτων) απόκλιση από τον μέσο σχετικό συντελεστή απόκρισης, υπολογισμένη για όλα τα σημεία στην καμπύλη βαθμονόμησης σε κάθε σειρά δειγμάτων. Το όριο ποσοτικού προσδιορισμού (LOQ) υπολογίζεται από το κατώτατο σημείο συγκέντρωσης λαμβάνοντας υπόψη την ανάκτηση των εσωτερικών προτύπων και τη φόρτωση δείγματος.

Οι βιοαναλυτικές μέθοδοι διαλογής δεν δίνουν αποτελέσματα στο επίπεδο των συγγενών ουσιών αλλά παρέχουν απλώς μια ένδειξη (\*) του επιπέδου TEQ, εκφρασμένου σε βιοαναλυτικά ισοδύναμα (BEQ), ώστε να λαμβάνεται υπόψη ότι είναι πιθανό κάποιες από τις ενώσεις που περιέχονται σε ένα εκχύλισμα δείγματος και προκαλούν απόκριση στη δοκιμή να μην ικανοποιούν όλες τις απαιτήσεις της αρχής TEQ.

Οι μέθοδοι διαλογής και οι μέθοδοι επιβεβαίωσης μπορούν να εφαρμόζονται μόνο για τον έλεγχο συγκεκριμένης μήτρας αν είναι αρκετά ευαίσθητες ώστε να ανιχνεύουν με αξιόπιστο τρόπο συγκεντρώσεις στο όριο ανάληψης δράσης ή στο ανώτατο επίπεδο.

## 3. Απαιτήσεις ασφάλειας ποιότητας

- 3.1. Πρέπει να λαμβάνονται μέτρα για την αποφυγή της επιμόλυνσης σε κάθε στάδιο της διαδικασίας δειγματοληψίας και ανάλυσης.
- 3.2. Τα δείγματα πρέπει να αποθηκεύονται και να μεταφέρονται σε κατάλληλους για τον σκοπό αυτό περιέκτες από γυαλί, αλουμίνιο, πολυπροπυλένιο ή πολυαιθυλένιο, έτσι ώστε να μην επηρεάζεται η περιεκτικότητα των δειγμάτων σε PCDD/F και σε παρόμοιες με διοξίνες PCB. Πρέπει να αφαιρούνται τα ίχνη σκόνης χαρτιού από τον περιέκτη του δείγματος.

- 3.3. Η αποθήκευση και η μεταφορά των δειγμάτων πρέπει να διεξάγονται κατά τρόπο ώστε να διατηρείται η ακεραιότητα του δείγματος ζωτροφής.
- 3.4. Εφόσον ενδείκνυται, κάθε εργαστηριακό δείγμα κονιοποιείται και αναμειγνύεται πλήρως με διαδικασία που αποδεδειγμένα επιτυγχάνει πλήρη ομογενοποίηση (π.χ. το κονιοποιημένο δείγμα να διέρχεται από κόσκινο 1 mm)· τα δείγματα ξηραίνονται πριν από την κονιοποίηση αν η περιεκτικότητα σε υγρασία είναι πολύ υψηλή.
- 3.5. Πρέπει να διενεργείται έλεγχος των αντιδραστηρίων, των γυάλινων σκευών και του εξοπλισμού για το ενδεχόμενο να επηρεάζουν τα αποτελέσματα που βασίζονται στα TEQ ή τα BEQ.
- 3.6. Πρέπει να εκτελείται ανάλυση τυφλού δείγματος με τη διεξαγωγή ολόκληρης της αναλυτικής διαδικασίας, από την οποία παραλείπεται μόνο το δείγμα.
- 3.7. Για τις βιοαναλυτικές μεθόδους, πρέπει να εξακριβώνεται αν όλα τα γυάλινα σκεύη και οι διαλύτες που χρησιμοποιούνται στην ανάλυση είναι απαλλαγμένα από ενώσεις που παρεμποδίζουν την ανίχνευση των στοχευόμενων ενώσεων στο πεδίο τιμών εργασίας. Τα γυάλινα σκεύη πλένονται με διαλύτες ή θερμαίνονται σε θερμοκρασίες κατάλληλες για την απομάκρυνση από την επιφάνειά τους των ιχνών PCDD/F, παρόμοιων με διοξίνες ενώσεων και παρεμποδιστικών ενώσεων.
- 3.8. Η ποσότητα των δειγμάτων που χρησιμοποιείται για την εκχύλιση πρέπει να είναι αρκετή ώστε να πληρούνται οι απαιτήσεις όσον αφορά ένα επαρκώς χαμηλό πεδίο τιμών εργασίας, συμπεριλαμβανομένων των συγκεντρώσεων ανώτατων επιπέδων ή ορίων ανάλυσης δράσης.
- 3.9. Κατά τις ειδικές διαδικασίες προετοιμασίας των δειγμάτων που χρησιμοποιούνται για τα υπό εξέταση προϊόντα τηρούνται οι διεθνώς αποδεκτές κατευθυντήριες γραμμές.

#### 4. Απαιτήσεις για τα εργαστήρια

- 4.1. Σύμφωνα με τις διατάξεις του κανονισμού (ΕΚ) αριθ. 882/2004, η διαπίστευση των εργαστηρίων γίνεται από αναγνωρισμένο οργανισμό που λειτουργεί σύμφωνα με τον οδηγό ISO 58, ώστε να εξασφαλίζεται ότι τα εργαστήρια εφαρμόζουν μεθόδους διασφάλισης της ποιότητας. Η διαπίστευση των εργαστηρίων πραγματοποιείται σύμφωνα με το πρότυπο EN ISO/IEC 17025.
- 4.2. Η επάρκεια των εργαστηρίων πρέπει να αποδεικνύεται με συνεχή επιτυχή συμμετοχή σε διεργαστηριακές μελέτες για τον προσδιορισμό των PCDD/F και των παρόμοιων με διοξίνες PCB σε σχετικές μήτρες δείγματος ζωτροφών και περιοχές συκέντρωσης.
- 4.3. Τα εργαστήρια που εφαρμόζουν μεθόδους διαλογής για έλεγχο ρουτίνας των δειγμάτων συνεργάζονται στενά με τα εργαστήρια που εφαρμόζουν τη μέθοδο επιβεβαίωσης, τόσο για τον έλεγχο ποιότητας όσο και για την επιβεβαίωση του αναλυτικού αποτελέσματος των ύποπτων δειγμάτων.

#### 5. Βασικές απαιτήσεις που πρέπει να τηρεί μια αναλυτική διαδικασία για τις διοξίνες (PCDD/FS) και τα παρόμοια με διοξίνες PCB

##### 5.1. Το χαμηλό εύρος εργασίας και τα όρια ποσοτικού προσδιορισμού

Όσον αφορά τις PCDD/PCDF, οι ανιχνεύσιμες ποσότητες πρέπει να είναι στην ανώτερη κλίμακα των φεμτογραμμάτων ( $10^{-15}$  g) εξαιτίας της εξαιρετικής τοξικότητας ορισμένων από τις ενώσεις αυτές. Για τα περισσότερα συγγενή PCB, το όριο του ποσοτικού προσδιορισμού στο φάσμα των νανογραμμάτων ( $10^{-9}$  g) είναι ήδη επαρκές. Για τη μέτρηση των πιο τοξικών παρόμοιων με διοξίνες συγγενών PCB (ιδίως των μη-ορθο-υποκατεστημένων συγγενών ουσιών), το κατώτατο άκρο του πεδίου τιμών εργασίας πρέπει να φθάνει τα χαμηλά επίπεδα των πικογραμμάτων ( $10^{-12}$  g). Για όλα τα υπόλοιπα συγγενή PCB, ένα όριο ποσοτικού προσδιορισμού στην κλίμακα των νανογραμμάτων ( $10^{-9}$  g) είναι ήδη επαρκές.

##### 5.2. Υψηλή εκλεκτικότητα (ειδικότητα)

- 5.2.1. Οι PCDD/PCDF και τα παρόμοια με διοξίνες PCB πρέπει να διακρίνονται από την πληθώρα άλλων ενώσεων που συνεχυλίζονται και πιθανώς είναι παρεμποδιστικές και οι οποίες περιέχονται σε συγκεντρώσεις έως και πολλές τάξεις μεγέθους υψηλότερες από εκείνες των προσδιοριζόμενων ουσιών που ενδιαφέρουν. Για τις μεθόδους GC-MS είναι αναγκαία η διαφοροποίηση μεταξύ των διαφόρων συγγενών ουσιών, όπως μεταξύ των τοξικών (π.χ. τα δεκαεπτά υποκατεστημένα στις θέσεις 2,3,7,8 PCDD/PCDF και τα δώδεκα παρόμοια με διοξίνες PCB) και των άλλων συγγενών ουσιών.
- 5.2.2. Οι βιοαναλυτικές μέθοδοι πρέπει να μπορούν να ανιχνεύουν τις στοχευόμενες ενώσεις, όπως το άθροισμα των PCDD/PCDF και/ή των παρόμοιων με διοξίνες PCB. Ο καθαρισμός των δειγμάτων αποσκοπεί στην αφαίρεση των ενώσεων που προκαλούν ψευδώς μη συμμορφούμενα αποτελέσματα ή ενώσεις που μπορούν να μειώσουν την απόκριση, προκαλώντας ψευδώς συμμορφούμενα αποτελέσματα.

- 5.3. Υψηλή ακρίβεια (ορθότητα και πιστότητα, φαινόμενη ανάκτηση βιολογικής δοκιμασίας)
- 5.3.1. Για τις μεθόδους GC-MS ο προσδιορισμός παρέχει έγκυρη εκτίμηση της αληθούς συγκέντρωσης σε ένα δείγμα. Η υψηλή ορθότητα είναι αναγκαία για να αποφευχθεί η απόρριψη του αποτελέσματος της ανάλυσης του δείγματος λόγω έλλειψης αξιοπιστίας του προσδιορισμού του TEQ. Η ακρίβεια εκφράζεται ως ορθότητα (διαφορά μεταξύ της μέσης τιμής που μετρήθηκε για μια προσδιοριζόμενη ουσία σε ένα πιστοποιημένο υλικό και της πιστοποιημένης τιμής του, που εκφράζεται ως ποσοστό της τιμής αυτής) και ως πιστότητα ( $RSD_R$ , σχετική τυπική απόκλιση που υπολογίζεται με βάση τα αποτελέσματα που προκύπτουν υπό συνθήκες αναπαραγωγιμότητας).
- 5.3.2. Για τις βιοαναλυτικές μεθόδους προσδιορίζεται η φαινόμενη ανάκτηση βιολογικής δοκιμασίας. Ως φαινόμενη ανάκτηση βιολογικής δοκιμασίας νοείται το επίπεδο BEQ υπολογισμένο από την καμπύλη βαθμονόμησης TCDD ή PCB 126 με διόρθωση για τυφλό και κατόπιν διαίρεση διά της τιμής TEQ που καθορίζεται με τη μέθοδο επιβεβαίωσης. Αποσκοπεί στη διόρθωση παραγόντων όπως η απώλεια PCDD/PCDF και παρόμοιων με διοξίνες ενώσεων κατά τα στάδια της εκχύλισης και του καθαρισμού, οι συνεκχυλιζόμενες ενώσεις που αυξάνουν ή μειώνουν την απόκριση (αγωνιστική και ανταγωνιστική επίδραση), η ποιότητα της προσαρμογής της καμπύλης ή οι διαφορές μεταξύ των τιμών συντελεστή τοξικής ισοδυναμίας (TEF) και σχετικής ισχύος (REP). Η φαινόμενη ανάκτηση βιολογικής δοκιμασίας υπολογίζεται από κατάλληλα δείγματα αναφοράς με αντιπροσωπευτικό προφίλ συγγενών ουσιών κοντά στο επίπεδο που ενδιαφέρει.
- 5.4. Επικύρωση στο εύρος του ανώτατου επιπέδου και γενικά μέτρα ελέγχου ποιότητας
- 5.4.1. Τα εργαστήρια αποδεικνύουν την επίδοση μιας μεθόδου στην κλίμακα του ανώτατου επιπέδου, π.χ. 0,5, 1 και 2 φορές το ανώτατο επίπεδο, συμπεριλαμβανομένου ενός αποδεκτού συντελεστή μεταβλητότητας για επαναλαμβανόμενες αναλύσεις, κατά τη διάρκεια της διαδικασίας επικύρωσης και της ανάλυσης ρουτίνας.
- 5.4.2. Οι τακτικές τυφλές δοκιμές και πειράματα εμβολιασμού των δειγμάτων ή η ανάλυση των δειγμάτων ελέγχου (κατά προτίμηση, εφόσον είναι διαθέσιμο, πιστοποιημένου υλικού αναφοράς) πρέπει να εκτελούνται ως μέτρα εσωτερικής διασφάλισης της ποιότητας. Τα διαγράμματα ποιοτικού ελέγχου για τους τυφλούς ελέγχους, τα πειράματα εμβολιασμού και τις αναλύσεις δειγμάτων-μαρτύρων καταγράφονται και ελέγχονται ώστε να εξασφαλίζεται ότι οι αναλυτικές επιδόσεις πληρούν τις απαιτήσεις.
- 5.5. Όριο ποσοτικού προσδιορισμού
- 5.5.1. Για μια βιοαναλυτική μέθοδο διαλογής, ο καθορισμός του ορίου ποσοτικού προσδιορισμού (LOQ) δεν είναι απαραίτητη προϋπόθεση, αλλά πρέπει να αποδεικνύεται ότι η μέθοδος μπορεί να κάνει διάκριση μεταξύ της τιμής του τυφλού και της τιμής αποκοπής. Κατά την αναφορά του επιπέδου BEQ καθορίζεται ένα επίπεδο δήλωσης ώστε να καλύπτονται τα δείγματα με απόκριση χαμηλότερη από αυτό το επίπεδο. Το επίπεδο αναφοράς πρέπει αποδεδειγμένα να είναι τουλάχιστον τριπλάσιο εκείνου των τυφλών δειγμάτων διαδικασίας, με απόκριση χαμηλότερη από το εύρος εργασίας. Επομένως, πρέπει να υπολογίζεται με βάση δείγματα που περιέχουν περίπου το απαιτούμενο ελάχιστο επίπεδο των στοχευόμενων ενώσεων και όχι με βάση τον λόγο σήματος προς θόρυβο ή το τυφλό δοκιμασίας.
- 5.5.2. Το LOQ για μια μέθοδο επιβεβαίωσης αντιστοιχεί περίπου στο ένα πέμπτο του ανώτατου επιπέδου.
- 5.6. Κριτήρια ανάλυσης
- Για αξιόπιστα αποτελέσματα από μεθόδους επιβεβαίωσης ή μεθόδους διαλογής πρέπει να πληρούνται τα ακόλουθα κριτήρια στην περιοχή του ανώτατου επιπέδου ή του ορίου ανάληψης δράσης για την τιμή TEQ ή BEQ, αντίστοιχα, είτε προσδιορίζεται ως συνολικό TEQ (ως άθροισμα των PCDD/PCDF και των παρόμοιων με διοξίνες PCB) είτε χωριστά για τις PCDD/PCDF και τα παρόμοια με διοξίνες PCB:

	Διαλογή με βιοαναλυτικές ή φυσικοχημικές μεθόδους	Μέθοδοι επιβεβαίωσης
Ποσοστό ψευδώς συμμορφούμενων <sup>(1)</sup>	< 5 %	
Ορθότητα		- 20 % έως + 20 %
Επαναληψιμότητα ( $RSD_r$ )	< 20 %	
Ενδοεργαστηριακή αναπαραγωγιμότητα ( $RSD_R$ )	< 25 %	< 15 %

<sup>(1)</sup> όσον αφορά τα ανώτατα επίπεδα

## 5.7. Ειδικές απαιτήσεις για μεθόδους διαλογής

- 5.7.1. Για τη διαλογή μπορούν να χρησιμοποιηθούν τόσο οι μέθοδοι GC-MS όσο και βιοαναλυτικές μέθοδοι. Για τις μεθόδους GC-MS πρέπει να πληρούνται οι απαιτήσεις του σημείου 6. Για τις κυτταρικές βιοαναλυτικές μεθόδους καθορίζονται ειδικές απαιτήσεις στο σημείο 7.
- 5.7.2. Τα εργαστήρια που εφαρμόζουν μεθόδους διαλογής για τον έλεγχο ρουτίνας των δειγμάτων συνεργάζονται στενά με τα εργαστήρια που εφαρμόζουν τη μέθοδο επιβεβαίωσης.
- 5.7.3. Η επαλήθευση των επιδόσεων της μεθόδου διαλογής είναι αναγκαία κατά τη διάρκεια της ανάλυσης ρουτίνας, μέσω αναλυτικού ελέγχου ποιότητας και μεθόδου διαρκούς επικύρωσης. Πρέπει να υπάρχει πρόγραμμα συνεχούς ελέγχου των συμμορφούμενων αποτελεσμάτων.
- 5.7.4. Έλεγχος για πιθανή καταστολή της κυτταρικής απόκρισης και της κυτταροτοξικότητας:

Το 20 % των εκχυλισμάτων δειγμάτων υποβάλλονται σε μέτρηση με διαλογή ρουτίνας χωρίς και με την προσθήκη 2,3,7,8-TCDD που αντιστοιχούν στο ανώτατο επίπεδο ή στο όριο ανάληψης δράσης, για να ελεγχθεί αν η απόκριση εξαλείφεται ενδεχομένως από παρεμποδιστές που βρίσκονται στο εκχύλισμα δείγματος. Η μετρούμενη συγκέντρωση του εμβολιασμένου δείγματος συγκρίνεται με το άθροισμα της συγκέντρωσης του μη εμβολιασμένου εκχυλισματος και της συγκέντρωσης εμβολιασμού. Αν αυτή η μετρούμενη συγκέντρωση είναι χαμηλότερη από την υπολογισθείσα συγκέντρωση (άθροισμα) κατά ποσοστό άνω του 25 %, αυτό αποτελεί ένδειξη πιθανής καταστολής του σήματος και το αντίστοιχο δείγμα πρέπει να υποβληθεί σε επιβεβαιωτική ανάλυση με GC-HRMS. Τα αποτελέσματα παρακολουθούνται σε διαγράμματα ποιοτικού ελέγχου.

- 5.7.5. Ποιοτικός έλεγχος σε συμμορφούμενα δείγματα:

Περίπου 2 έως 10 % των συμμορφούμενων δειγμάτων, ανάλογα με το υπόστρωμα του δείγματος και την εργαστηριακή πείρα, επιβεβαιώνονται με της GC-HRMS.

- 5.7.6. Προσδιορισμός των ποσοστών ψευδοσυμμορφούμενων αποτελεσμάτων με βάση τα στοιχεία του ποιοτικού ελέγχου:

Προσδιορίζεται το ποσοστό των ψευδοσυμμορφούμενων αποτελεσμάτων από τη διαλογή των δειγμάτων κάτω και πάνω από το ανώτατο επίπεδο ή το όριο ανάληψης δράσης. Τα πραγματικά ποσοστά ψευδώς συμμορφούμενων είναι κάτω από 5 %. Όταν από τον ποιοτικό έλεγχο σε συμμορφούμενα δείγματα προκύπτουν τουλάχιστον 20 επιβεβαιωμένα αποτελέσματα ανά μήτρα/ομάδα μητρών δείγματος, τα συμπεράσματα για το ποσοστό των ψευδοσυμμορφούμενων αποτελεσμάτων εξαγονται από αυτά τα στοιχεία. Στον ελάχιστο αριθμό των 20 αποτελεσμάτων για την αξιολόγηση του ποσοστού των ψευδοσυμμορφούμενων μπορούν να περιλαμβάνονται επίσης τα αποτελέσματα από δείγματα που έχουν αναλυθεί σε δοκιμές δακτυλίου ή κατά τα περιστατικά επιμόλυνσης και καλύπτουν εύρος συγκεντρώσεων έως και, π.χ., το διπλάσιο του ανώτατου επιπέδου (AE). Τα δείγματα καλύπτουν τα συχνότερα προφίλ συγγενών ουσιών και αντιπροσωπεύουν διάφορες πηγές.

Παρότι οι δοκιμασίες διαλογής αποσκοπούν κατά προτίμηση στην ανίχνευση δειγμάτων που υπερβαίνουν το όριο ανάληψης δράσης, το κριτήριο προσδιορισμού των ποσοστών των ψευδοσυμμορφούμενων αποτελεσμάτων είναι το ανώτατο επίπεδο, λαμβανομένης υπόψη της αβεβαιότητας μέτρησης της μεθόδου επιβεβαίωσης.

- 5.7.7. Τα δυνητικώς μη συμμορφούμενα δείγματα από τη διαλογή επαληθεύονται πάντα με πλήρη νέα ανάλυση του αρχικού δείγματος με μια επιβεβαιωτική μέθοδο ανάλυσης. Τα εν λόγω δείγματα μπορούν επίσης να χρησιμοποιηθούν για την αξιολόγηση του ποσοστού των ψευδώς συμμορφούμενων αποτελεσμάτων. Για τις μεθόδους διαλογής, το ποσοστό των ψευδοσυμμορφούμενων αποτελεσμάτων αντιστοιχεί στο μέρος των αποτελεσμάτων των οποίων η συμμόρφωση επιβεβαιώνεται μέσω της επιβεβαιωτικής ανάλυσης, ενώ στην προηγούμενη διαλογή είχε δηλωθεί ότι υπήρχαν υπόνοιες μη συμμόρφωσης του δείγματος. Η αξιολόγηση των πλεονεκτημάτων της μεθόδου διαλογής βασίζεται στη σύγκριση των ψευδώς μη συμμορφούμενων δειγμάτων με τον συνολικό αριθμό των ελεγχθέντων δειγμάτων. Αυτό το ποσοστό είναι αρκετά χαμηλό ώστε η χρήση της μεθόδου διαλογής να είναι πλεονεκτική.
- 5.7.8. Τουλάχιστον με βάση τους όρους επικύρωσης, οι βιοαναλυτικές μέθοδοι παρέχουν έγκυρη ένδειξη του επιπέδου TEQ, υπολογισμένου και εκφρασμένου σε BEQ.

Επίσης για τις βιοαναλυτικές μεθόδους που εφαρμόζονται σε συνθήκες επαναληψιμότητας, η διεργαστηριακή RSD<sub>r</sub> είναι κατά κανόνα μικρότερη από την αναπαραγωγιμότητα RSD<sub>R</sub>.

## 6. Ειδικές απαιτήσεις για μεθόδους GC-MS που πρέπει να τηρούνται για σκοπούς διαλογής ή επιβεβαίωσης

- 6.1. Αποδεκτές διαφορές μεταξύ αποτελεσμάτων WHO-TEQ ανώτατου και κατώτατου ορίου

Η διαφορά μεταξύ ανώτατου και κατώτατου ορίου δεν θα πρέπει να υπερβαίνει το 20 % για την επαλήθευση της υπέρβασης του ανώτατου επιπέδου ή, σε περίπτωση ανάγκης, των ορίων ανάληψης δράσης.



- 6.2. Έλεγχος ποσοστών ανάκτησης
- 6.2.1. Η προσθήκη των εσωτερικών προτύπων υποκατεστημένα στις θέσεις 2, 3, 7, 8 PCDD/PCDF με ισοτοπική επισήμανση  $^{13}\text{C}$  και παρόμοια με διοξίνες PCB με ισοτοπική επισήμανση  $^{13}\text{C}$  πρέπει να πραγματοποιείται πολύ νωρίς, στην αρχή της μεθόδου ανάλυσης, δηλαδή πριν από την εκχύλιση, προκειμένου να επικυρώνεται η αναλυτική διαδικασία. Πρέπει να προστίθεται τουλάχιστον μία συγγενής ουσία για καθεμία από τις ομόλογες ομάδες των τετρα- έως οκτα-χλωριωμένων PCDD/PCDF και τουλάχιστον μία συγγενής ουσία για καθεμία από τις ομόλογες ομάδες των παρόμοιων με διοξίνες PCB (εναλλακτικά, τουλάχιστον μία συγγενής ουσία για κάθε φασματομετρική λειτουργία καταγραφής επιλεγμένου ιόντος που χρησιμοποιείται για την παρακολούθηση των PCDD/PCDF και των παρόμοιων με διοξίνες PCB). Στην περίπτωση των μεθόδων επιβεβαίωσης, χρησιμοποιούνται ως εσωτερικά πρότυπα και τα 17 υποκατεστημένα στις θέσεις 2,3,7,8 PCDD/PCDF με ισοτοπική επισήμανση  $^{13}\text{C}$ , καθώς επίσης και τα 12 παρόμοια με διοξίνες PCB με ισοτοπική επισήμανση  $^{13}\text{C}$ .
- 6.2.2. Πρέπει επίσης να προσδιοριστούν οι σχετικοί συντελεστές απόκρισης για εκείνες τις συγγενείς ουσίες για τις οποίες δεν προστίθεται κανένα ανάλογο με ισοτοπική επισήμανση  $^{13}\text{C}$  με τη χρησιμοποίηση των κατάλληλων διαλυμάτων.
- 6.2.3. Για τις ζωτροφές φυτικής προέλευσης και τις ζωτροφές ζωικής προέλευσης που περιέχουν λιγότερο από 10 % λίπος, είναι υποχρεωτική η προσθήκη των εσωτερικών προτύπων πριν από την εκχύλιση. Για τις ζωτροφές ζωικής προέλευσης που περιέχουν περισσότερο από 10 % λίπος, τα εσωτερικά πρότυπα μπορούν να προστίθενται είτε πριν είτε μετά την εκχύλιση του λίπους. Πραγματοποιείται κατάλληλη επικύρωση της αποτελεσματικότητας της εκχύλισης, ανάλογα με το στάδιο στο οποίο εισάγονται εσωτερικά πρότυπα και ανάλογα με το αν τα αποτελέσματα αναφέρονται με βάση το προϊόν ή το λίπος.
- 6.2.4. Πριν από την ανάλυση GC-MS πρέπει να προστίθενται 1 ή 2 πρότυπα ανάκτησης (υποκατάστατα).
- 6.2.5. Απαιτείται έλεγχος της ανάκτησης. Για τις μεθόδους επιβεβαίωσης, τα ποσοστά ανάκτησης των μεμονωμένων εσωτερικών προτύπων κυμαίνονται από 60 έως 120 %. Χαμηλότερα ή υψηλότερα ποσοστά ανάκτησης για επιμέρους συγγενείς ουσίες, ιδίως ορισμένες επτα- και οκτα-χλωριωμένες διβενζοδιοξίνες και διβενζοφουράνια, είναι αποδεκτά, υπό τον όρο ότι η συμμετοχή τους στην τιμή TEQ δεν υπερβαίνει το 10 % της συνολικής τιμής TEQ (με βάση το άθροισμα των PCDD/PCDF και των παρόμοιων με διοξίνες PCB). Για τις μεθόδους διαλογής GC-MS τα ποσοστά ανάκτησης κυμαίνονται από 30 έως 140 %.
- 6.3. Αφαίρεση ενώσεων που παρεμποδίζουν
- Διαχωρίζονται οι PCDD/PCDF από τις παρεμποδιστικές χλωριωμένες ενώσεις, όπως τα μη παρόμοια με διοξίνες PCB και οι χλωριωμένοι διφαινυλικοί αιθέρες, με τις κατάλληλες χρωματογραφικές τεχνικές (κατά προτίμηση με στήλη florisiil, αλουμίνας και/ή άνθρακα).
  - Κατά τον διαχωρισμό των ισομερών με αεριοχρωματογραφία, η απόσταση μεταξύ των κορυφών που αντιστοιχούν στα 1,2,3,4,7,8-HxCDF και 1,2,3,6,7,8-HxCDF είναι < 25 %).
- 6.4. Βαθμονόμηση με πρότυπη καμπύλη
- Το εύρος της καμπύλης βαθμονόμησης καλύπτει το σχετικό εύρος του ανώτατου επιπέδου ή των ορίων ανάληψης δράσης.
- 6.5. Ειδικά κριτήρια για τις μεθόδους επιβεβαίωσης
- Για την GC-HRMS:

Στη μέθοδο HRMS, η διακριτική ικανότητα πρέπει τυπικά να είναι ίση ή μεγαλύτερη των 10 000 για ολόκληρο το πεδίο τιμών μάζας σε κοιλίδα 10 %.

Εκπλήρωση περαιτέρω κριτηρίων ταυτοποίησης και επιβεβαίωσης όπως περιγράφεται σε διεθνώς αναγνωρισμένα πρότυπα, για παράδειγμα στο πρότυπο EN 16215:2012 (Ζωοτροφές — Προσδιορισμός των διοξινών και των παρόμοιων με διοξίνες PCB με την τεχνική GC-HRMS και των δεικτών PCB με την τεχνική GC-HRMS) και/ή στις μεθόδους EPA 1613 και 1668 όπως αναθεωρήθηκαν.
  - Για την GC-MS/MS:

Έλεγχος τουλάχιστον 2 ειδικών μητρικών ιόντων, καθένα με ένα συγκεκριμένο αντίστοιχο θυγατρικό ιόν μετάβασης για όλες τις επισημασμένες και μη επισημασμένες προσδιοριζόμενες ουσίες στο πεδίο εφαρμογής της ανάλυσης.

Μέγιστη επιτρεπόμενη τιμή ανοχής των σχετικών εντάσεων ιόντων  $\pm 15$  % για επιλεγμένα θυγατρικά ιόντα μετάβασης σε σύγκριση με υπολογισμένες ή μετρημένες τιμές (μέσος όρος από πρότυπα βαθμονόμησης), με την εφαρμογή ιδίων συνθηκών MS/MS, ιδίως την ενέργεια σύγκρουσης και την πίεση αερίου σύγκρουσης, για κάθε μετάβαση μιας προσδιοριζόμενης ουσίας.

Η διακριτική ικανότητα για κάθε τετράπολο θα οριστεί ως ίση ή ανώτερη της διακριτικής ικανότητας μάζας μονάδας (διακριτική ικανότητα μάζας μονάδας: επαρκής διακριτική ικανότητα για τον διαχωρισμό δύο κορυφών ανά μία μονάδα μάζας) για την ελαχιστοποίηση πιθανών παρεμβολών στις προσδιοριζόμενες ουσίες που ενδιαφέρουν.

Εκ πλήρωσης περαιτέρω κριτηρίων όπως περιγράφονται σε διεθνώς αναγνωρισμένα πρότυπα, για παράδειγμα στο πρότυπο EN 16215:2012 (Ζωστροφές — Προσδιορισμός των διοξινών και των παρόμοιων με διοξίνες PCB με την τεχνική GC-HRMS και των δεικτών PCB με την τεχνική GC-HRMS) και/ή στις μεθόδους EPA 1613 και 1668 όπως αναθεωρήθηκαν, με εξαίρεση την υποχρέωση χρήσης GC-HRMS.

## 7. Ειδικές απαιτήσεις για τις βιοαναλυτικές μεθόδους

Οι βιοαναλυτικές μέθοδοι είναι μέθοδοι που βασίζονται στη χρήση βιολογικών αρχών όπως οι δοκιμασίες με βάση κύτταρα, οι δοκιμασίες με υποδοχείς ή οι ανοσολογικές δοκιμασίες. Το παρόν σημείο 7 καθορίζει απαιτήσεις για βιοαναλυτικές μεθόδους γενικά.

Κατ' αρχήν, μια μέθοδος διαλογής ταξινομεί ένα δείγμα ως συμμορφούμενο ή πιθανώς μη συμμορφούμενο. Για τον σκοπό αυτό, το υπολογιζόμενο επίπεδο BEQ συγκρίνεται με την τιμή αποκοπής (βλέπε 7.3). Τα δείγματα κάτω από την τιμή αποκοπής δηλώνονται ως συμμορφούμενα· για τα δείγματα που βρίσκονται στην τιμή αποκοπής ή πάνω από αυτήν υπάρχει υπόνοια ότι δεν συμμορφώνονται και απαιτείται ανάλυση με μέθοδο επιβεβαίωσης. Στην πράξη, ένα επίπεδο BEQ που αντιστοιχεί στα 2/3 του ανώτατου επιπέδου μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως η πιο κατάλληλη τιμή αποκοπής που εξασφαλίζει ένα ποσοστό ψευδώς συμμορφούμενων κάτω από 5 % και ένα αποδεκτό ποσοστό για ψευδώς μη συμμορφούμενα αποτελέσματα. Με χωριστά μέγιστα επίπεδα για PCDD/F και για το άθροισμα των PCDD/F και των παρόμοιων με διοξίνες PCB, ο έλεγχος της συμμόρφωσης των δειγμάτων χωρίς κλασμάτωση απαιτεί κατάλληλες τιμές αποκοπής για τη βιολογική δοκιμασία για τις PCDD/F. Για τον έλεγχο των δειγμάτων που υπερβαίνουν τα όρια ανάληψης δράσης, ως τιμή αποκοπής θα μπορούσε κάλλιστα να ληφθεί ένα κατάλληλο ποσοστό του αντίστοιχου ορίου ανάληψης δράσης.

Επίσης, στην περίπτωση ορισμένων βιοαναλυτικών μεθόδων, μπορεί να δοθεί για τα δείγματα στο εύρος εργασίας ενδεικτικό επίπεδο εκφρασμένο σε BEQ, το οποίο να υπερβαίνει το όριο αναφοράς (βλέπε 7.1.1 και 7.1.6).

### 7.1. Αξιολόγηση της απόκρισης στη δοκιμή

#### 7.1.1. Γενικές απαιτήσεις

- Κατά τον υπολογισμό των συγκεντρώσεων σε μια καμπύλη βαθμονόμησης TCDD, οι τιμές στο κατώτατο και ανώτατο άκρο της καμπύλης θα δείχνουν σημαντική διαφορά [μεγάλος συντελεστής μεταβλητότητας (CV)]. Το εύρος εργασίας είναι η περιοχή στην οποία αυτή η CV είναι μικρότερη από 15 %. Το κατώτατο άκρο του πεδίου τιμών εργασίας (όριο δήλωσης) ορίζεται τουλάχιστον σε επίπεδο τριπλάσιο εκείνου των τυφλών δειγμάτων διαδικασίας. Το ανώτατο άκρο του εύρους εργασίας αντιπροσωπεύεται συνήθως από την τιμή EC70 (70 % της μέγιστης πραγματικής συγκέντρωσης), αλλά είναι σε χαμηλότερο επίπεδο αν η CV είναι υψηλότερη από το 15 % σε αυτό το εύρος. Το πεδίο εργασίας καθορίζεται κατά την επικύρωση. Η τιμή αποκοπής (βλέπε σημείο 7.3) πρέπει να βρίσκεται εντός του πεδίου τιμών εργασίας.
- Τα πρότυπα διαλύματα και τα εκχυλίσματα των δειγμάτων υποβάλλονται σε δοκιμασία τουλάχιστον εις διπλούν. Σε περίπτωση δοκιμασιών εις διπλούν, ένα πρότυπο διάλυμα ή ένα πρότυπο εκχύλισμα που υποβάλλεται σε δοκιμή καταναμημένο σε 4 έως 6 θήκες σε όλη την πλάκα παράγει απόκριση ή συγκέντρωση (δυνατό μόνο στο εύρος εργασίας) με βάση  $CV < 15 \%$ .

#### 7.1.2. Βαθμονόμηση

##### 7.1.2.1. Βαθμονόμηση με πρότυπη καμπύλη

- Τα επίπεδα στα δείγματα μπορούν να εκτιμώνται με σύγκριση της απόκρισης στη δοκιμή με μια καμπύλη βαθμονόμησης με TCDD (ή PCB 126 ή τυποποιημένο μείγμα PCDD/PCDF/παρόμοιων με διοξίνες PCB) για τον υπολογισμό του επιπέδου BEQ στο εκχύλισμα και κατόπιν στο δείγμα.
- Η καμπύλη βαθμονόμησης περιέχει 8 έως 12 συγκεντρώσεις (τουλάχιστον εις διπλούν), με επαρκή αριθμό συγκεντρώσεων στο χαμηλότερο τμήμα της καμπύλης (εύρος εργασίας). Αποδίδεται ιδιαίτερη προσοχή στην ποιότητα της προσαρμογής της καμπύλης στο εύρος εργασίας. Οι τιμές R2 ως τέτοιες έχουν μικρή ή καμία αξία για την εκτίμηση της καταλληλότητας της προσαρμογής σε μη γραμμική παλινδρόμηση. Επιτυγχάνεται καλύτερη προσαρμογή με την ελαχιστοποίηση της διαφοράς μεταξύ των υπολογιζόμενων και των παρατηρούμενων επιπέδων στο πεδίο τιμών εργασίας της καμπύλης (π.χ. με την ελαχιστοποίηση του αθροίσματος των ελαχίστων τετραγώνων).
- Στη συνέχεια, το εκτιμώμενο επίπεδο στο εκχύλισμα του δείγματος διορθώνεται ως προς το επίπεδο BEQ που υπολογίζεται για ένα τυφλό δείγμα μήτρας/διάλυτη (για να ληφθούν υπόψη οι προσμείξεις από διαλύτες και χημικές ουσίες που χρησιμοποιήθηκαν) και ως προς τη φαινόμενη ανάκτηση (που υπολογίζεται από το επίπεδο BEQ κατάλληλων δειγμάτων αναφοράς με αντιπροσωπευτικά προφίλ συγγενών ουσιών κοντά στο ανώτατο επίπεδο ή στο όριο ανάληψης δράσης). Για να γίνει η διόρθωση ως προς την ανάκτηση, η φαινόμενη ανάκτηση πρέπει να βρίσκεται εντός του απαιτούμενου πεδίου τιμών (βλέπε σημείο 7.1.4). Τα δείγματα αναφοράς που χρησιμοποιούνται για τη διόρθωση ως προς την ανάκτηση πρέπει να πληρούν τις απαιτήσεις του σημείου 7.2.

#### 7.1.2.2. Βαθμονόμηση με δείγματα αναφοράς

Εναλλακτικά μπορεί να χρησιμοποιείται μια καμπύλη βαθμονόμησης που χαράσσεται με τη βοήθεια τουλάχιστον τεσσάρων δειγμάτων αναφοράς (βλέπε σημείο 7.2.4: ένα τυφλό δείγμα μήτρας, συν τρία δείγματα αναφοράς με επίπεδα 0,5, 1,0 και 2,0 φορές το ανώτατο επίπεδο ή το όριο ανάληψης δράσης), με αποτέλεσμα να μην υπάρχει πλέον ανάγκη για διόρθωση ως προς το τυφλό και την ανάκτηση. Στην περίπτωση αυτή η απόκριση της δοκιμής που αντιστοιχεί στα 2/3 του ανώτατου επιπέδου (βλέπε σημείο 7.3) μπορεί να υπολογιστεί άμεσα από τα δείγματα αυτά και να χρησιμοποιηθεί ως τιμή αποκοπής. Για τον έλεγχο των δειγμάτων που υπερβαίνουν τα όρια ανάληψης δράσης, ως τιμή αποκοπής θα μπορούσε κάλλιστα να ληφθεί ένα κατάλληλο ποσοστό των εν λόγω ορίων ανάληψης δράσης.

#### 7.1.3. Χωριστός προσδιορισμός των PCDD/PCDF και των παρόμοιων με διοξίνες PCB

Τα εκχυλίσματα μπορούν να διαιρούνται σε μέρη που περιέχουν τις PCDD/PCDF και τα παρόμοια με διοξίνες PCB, έτσι ώστε να αναφέρονται χωριστά τα επίπεδα TEQ (σε BEQ) των PCDD/PCDF και των παρόμοιων με διοξίνες PCB. Η πρότυπη καμπύλη βαθμονόμησης των PCB 126 χρησιμοποιείται κατά προτίμηση για την αξιολόγηση των αποτελεσμάτων για το τμήμα που περιέχει τα παρόμοια με διοξίνες PCB.

#### 7.1.4. Φαινόμενες ανακτήσεις βιολογικής διαδικασίας

Η “φαινόμενη ανάκτηση βιολογικής διαδικασίας” υπολογίζεται από κατάλληλα δείγματα αναφοράς με αντιπροσωπευτικά προφίλ συγγενών ουσιών, περίπου στο ανώτατο επίπεδο ή στο όριο ανάληψης δράσης και εκφράζεται ως ποσοστό του επιπέδου BEQ σε σύγκριση με το επίπεδο TEQ. Ανάλογα με τον τύπο της δοκιμασίας και το σύστημα TEF (\*) που χρησιμοποιείται, οι διαφορές μεταξύ των συντελεστών TEF και REP για τα παρόμοια με διοξίνες PCB μπορούν να προκαλέσουν χαμηλά ποσοστά φαινόμενης ανάκτησης για τα παρόμοια με διοξίνες PCB σε σύγκριση με τις PCDD/PCDF. Επομένως, σε περίπτωση χωριστού προσδιορισμού των PCDD/F και των παρόμοιων με διοξίνες PCB, η φαινόμενη ανάκτηση βιολογικής δοκιμασίας είναι: για τα παρόμοια με διοξίνες PCB 20 % έως 60 % και για τις PCDD/PCDF 50 % έως 130 % (το εύρος αυτό ισχύει για την καμπύλη βαθμονόμησης με TCDD). Επειδή η συμμετοχή των παρόμοιων με διοξίνες PCB στο άθροισμα των PCDD/F και των παρόμοιων με διοξίνες PCB μπορεί να ποικίλλει μεταξύ των διαφορετικών μητρών δειγματος και δειγμάτων, η φαινόμενη ανάκτηση βιολογικής δοκιμασίας για το άθροισμα των PCDD/PCDF και των παρόμοιων με διοξίνες PCB αντανακλά αυτά τα πεδία τιμών και κυμαίνεται μεταξύ 30 % και 130 %. Σε περίπτωση σημαντικής αναθεώρησης των τιμών TEF για τη νομοθεσία της Ένωσης για τις PCDD/PCDF και τα παρόμοια με διοξίνες PCB, επιβάλλεται η αναθεώρηση αυτών των πεδίων τιμών.

#### 7.1.5. Έλεγχος των ποσοστών ανάκτησης για τον καθαρισμό

Η απώλεια ενώσεων κατά τη διάρκεια του καθαρισμού ελέγχεται κατά την επικύρωση. Ένα τυφλό δείγμα εμβολιασμένο με μείγμα των διαφόρων συγγενών ουσιών υποβάλλεται σε καθαρισμό ( $n = 3$  τουλάχιστον), και η ανάκτηση και η μεταβλητότητα ελέγχονται με μια μέθοδο επιβεβαίωσης. Η ανάκτηση κυμαίνεται από 60 % έως 120 %, ιδίως για τις συγγενείς ουσίες που συμμετέχουν σε ποσοστό πάνω από 10 % στο επίπεδο TEQ σε διάφορα μείγματα.

#### 7.1.6. Όριο αναφοράς

Κατά την αναφορά του επιπέδου BEQ, πρέπει να καθορίζεται ένα όριο αναφοράς από σχετικά υποστρώματα που περιέχουν τυπικά προφίλ συγγενών ουσιών, αλλά όχι από την καμπύλη βαθμονόμησης του προτύπου εξαιτίας της μικρής ακριβείας στο κατώτατο όριο της καμπύλης. Πρέπει να λαμβάνονται υπόψη οι επιδράσεις της εκχύλισης και του καθαρισμού. Το όριο δήλωσης πρέπει να ορίζεται τουλάχιστον σε επίπεδο τριπλάσιο εκείνου των τυφλών δειγμάτων διαδικασίας.

#### 7.2. Χρήση δειγμάτων αναφοράς

7.2.1. Τα δείγματα αναφοράς αντιπροσωπεύουν τη μήτρα του δειγματος, τα προφίλ συγγενών ουσιών και το εύρος συγκεντρώσεων για τις PCDD/PCDF και τα παρόμοια με διοξίνες PCB κοντά στο ανώτατο επίπεδο ή στο όριο ανάληψης δράσης.

7.2.2. Σε κάθε σειρά δοκιμών πρέπει να περιλαμβάνονται ένα τυφλό δείγμα μήτρας και, αν αυτό δεν είναι δυνατόν, ένα τυφλό δείγμα διαδικασίας και ένα δείγμα αναφοράς στο ανώτατο επίπεδο ή στο όριο ανάληψης δράσης. Αυτά τα δείγματα πρέπει να υποβάλλονται σε εκχύλιση και δοκιμή ταυτόχρονα και υπό τις ίδιες συνθήκες. Το δείγμα αναφοράς πρέπει να παρουσιάζει μια σαφώς υψηλότερη απόκριση σε σύγκριση με το τυφλό δείγμα, ώστε να εξασφαλίζεται η καταλληλότητα της δοκιμής. Αυτά τα δείγματα μπορούν να χρησιμοποιηθούν για διόρθωση τυφλού και ανάκτηση.

7.2.3. Τα δείγματα αναφοράς που επιλέγονται για τη διόρθωση ως προς την ανάκτηση είναι αντιπροσωπευτικά των δειγμάτων της δοκιμής, πράγμα που σημαίνει ότι τα προφίλ των συγγενών ουσιών δεν μπορούν να οδηγήσουν σε υποτίμηση των επιπέδων.

7.2.4. Μπορεί να συμπεριληφθούν πρόσθετα δείγματα αναφοράς με, π.χ., 0,5 και 2 φορές το ανώτατο επίπεδο ή το όριο ανάληψης δράσης, ώστε να καταδειχτεί η ορθή επίδοση της δοκιμασίας στην περιοχή που ενδιαφέρει για τον έλεγχο του ανώτατου επιπέδου ή του ορίου ανάληψης δράσης. Αυτά τα δείγματα, συνδυασμένα, μπορούν να χρησιμοποιούνται για τον υπολογισμό των επιπέδων BEQ στα δείγματα δοκιμών (βλέπε σημείο 7.1.2.2).

## 7.3. Καθορισμός των τιμών αποκοπής

Καθορίζεται η σχέση μεταξύ των βιοαναλυτικών αποτελεσμάτων σε BEQ και των αποτελεσμάτων της μεθόδου επιβεβαίωσης σε TEQ, π.χ. με πειράματα βαθμονόμησης με αντιστοιχία μήτρας, που περιλαμβάνουν δείγματα αναφοράς εμβολιασμένα με 0, 0,5, 1 και 2 φορές το ανώτατο επίπεδο (ΑΕ), με 6 επαναλήψεις για κάθε επίπεδο (n = 24). Οι διορθωτικοί συντελεστές (ως προς το τυφλό και την ανάκτηση) μπορούν να εκτιμηθούν από αυτή τη σχέση, αλλά πρέπει να ελέγχονται σύμφωνα με το σημείο 7.2.2.

Καθορίζονται τιμές αποκοπής για τη διαπίστωση της συμμόρφωσης ενός δείγματος με τα ανώτατα επίπεδα ή, στην περίπτωση του ελέγχου των ορίων ανάληψης δράσης, κατά περίπτωση, της συμμόρφωσης με τα αντίστοιχα ανώτατα επίπεδα ή το όριο ανάληψης δράσης που έχουν καθοριστεί είτε μόνο για τις PCDD/PCDF και τα παρόμοια με διοξίνες PCB είτε για το άθροισμα των PCDD/PCDF και των παρόμοιων με διοξίνες PCB. Εκφράζονται από το χαμηλότερο άκρο της κατανομής των βιοαναλυτικών αποτελεσμάτων (που διορθώνονται για τυφλό και ποσοστό ανάκτησης) τα οποία αντιστοιχούν στο όριο απόφασης της μεθόδου επιβεβαίωσης βάσει επιπέδου εμπιστοσύνης 95 %, με ποσοστό ψευδώς ανταποκρινόμενων < 5 %, και RSD<sub>R</sub> < 25 %. Το όριο απόφασης της μεθόδου επιβεβαίωσης είναι το ανώτατο επίπεδο, λαμβανομένης υπόψη της αβεβαιότητας μέτρησης.

Η τιμή αποκοπής (σε BEQ) μπορεί να υπολογιστεί σύμφωνα με μία από τις προσεγγίσεις που καθορίζονται στα σημεία 7.3.1, 7.3.2 και 7.3.3 (βλέπε σχήμα 1).

## 7.3.1. Χρήση του κατώτατου σημείου του διαστήματος πρόβλεψης 95 % στο όριο απόφασης της μεθόδου επιβεβαίωσης:

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

όπου:

$\text{BEQ}_{\text{DL}}$  το BEQ αντιστοιχεί στο όριο απόφασης της μεθόδου επιβεβαίωσης, που είναι το ανώτατο επίπεδο συμπεριλαμβανομένης της αβεβαιότητας μέτρησης

$S_{y,x}$  τυπική απόκλιση των υπολοίπων

$t_{\alpha, f = m - 2}$  συντελεστής Student ( $\alpha = 5 \%$ ,  $f =$  βαθμοί ελευθερίας, μόνο μία πλευρά)

$m$  συνολικός αριθμός σημείων βαθμονόμησης (δείκτης  $j$ )

$n$  αριθμός επαναλήψεων σε κάθε επίπεδο

$x_i$  συγκέντρωση δείγματος (σε TEQ) του σημείου βαθμονόμησης  $i$  που προσδιορίζεται με μια μέθοδο επιβεβαίωσης

$\bar{x}$  μέση τιμή των συγκεντρώσεων (σε TEQ) όλων των δειγμάτων βαθμονόμησης

$Q_{xx} = \sum_{j=1}^m (x_j - \bar{x})^2$  παράμετρος του αθροίσματος των τετραγώνων,  $i =$  δείκτης του σημείου βαθμονόμησης  $i$

7.3.2. Υπολογισμός των βιοαναλυτικών αποτελεσμάτων (με διόρθωση ως προς το τυφλό και την ανάκτηση) πολλαπλής ανάλυσης ( $n \geq 6$ ) δειγμάτων επιμολυσμένων στο επίπεδο του ορίου της απόφασης με τη μέθοδο επιβεβαίωσης, όπως το κατώτατο άκρο της κατανομής των στοιχείων που αντιστοιχούν στη μέση τιμή BEQ:

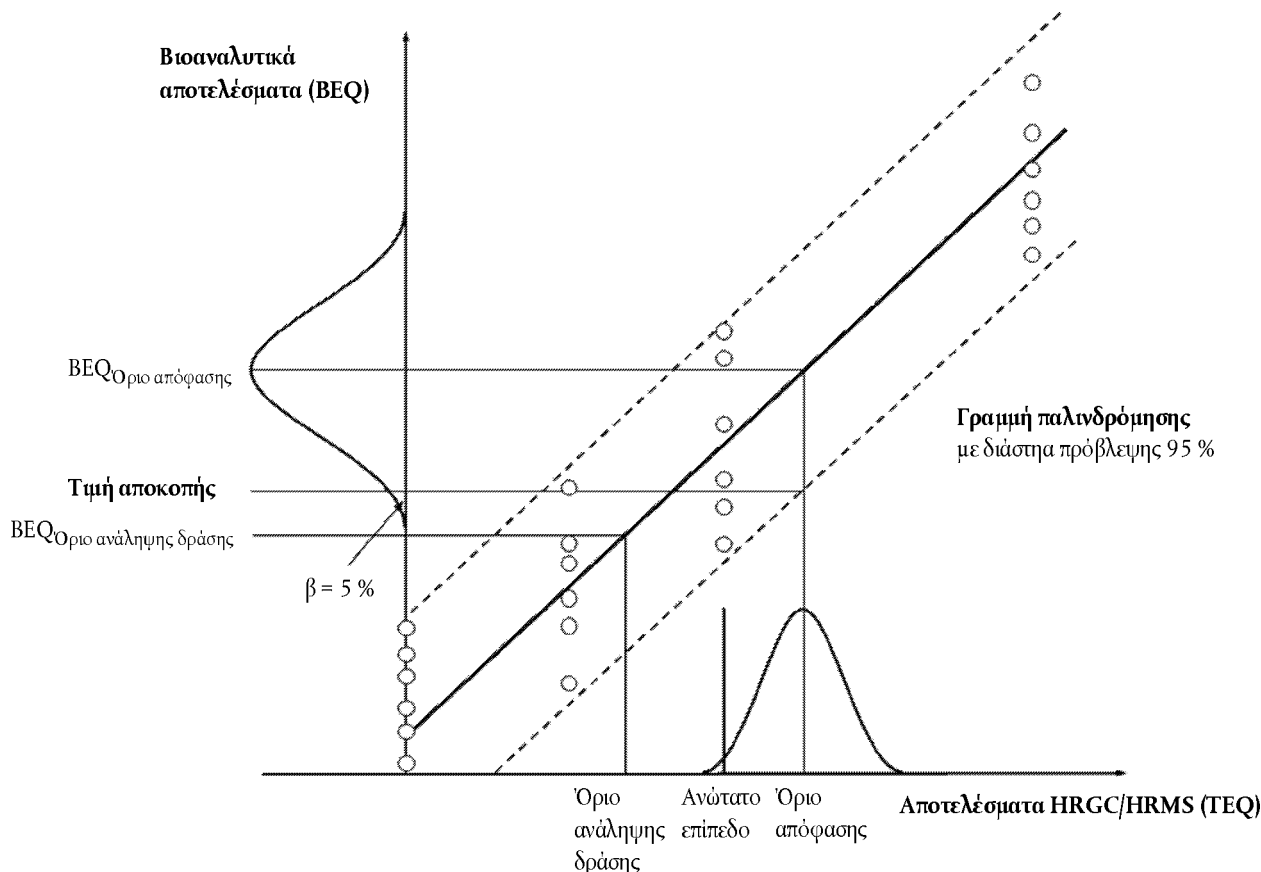
$$\text{Τιμή αποκοπής} = \text{BEQ}_{\text{DL}} - 1,64x\text{SD}_R$$

με:

$\text{SD}_R$  τυπική απόκλιση των αποτελεσμάτων των βιολογικών δοκιμασιών σε  $\text{BEQ}_{\text{DL}}$ , μετρημένα σε συνθήκες επαναληψιμότητας εντός εργαστηρίου

- 7.3.3. Υπολογισμός ως μέση τιμή των βιοαναλυτικών αποτελεσμάτων (σε BEQ, με διόρθωση ως προς το τυφλό και την ανάκτηση) από πολλαπλή ανάλυση ( $n \geq 6$ ) δειγμάτων επιμολυσμένων σε επίπεδο ίσο με τα  $2/3$  του ανώτατου επιπέδου ή του ορίου ανάληψης δράσης· αυτή η διαδικασία βασίζεται στην παρατήρηση ότι αυτό το επίπεδο θα είναι περίπου η τιμή αποκοπής που προσδιορίζεται στο σημείο 7.3.1 ή στο σημείο 7.3.2:

Διάγραμμα 1.



Διάγραμμα 1. Ο υπολογισμός των τιμών αποκοπής με βάση επίπεδο εμπιστοσύνης 95 %, με ποσοστό ψευδώς συμμορφούμενων  $< 5 \%$  και  $RSD_R < 25 \%$ :

1. από το κατώτατο σημείο του διαστήματος πρόβλεψης 95 % στο όριο απόφασης της μεθόδου επιβεβαίωσης,
2. από πολλαπλή ανάλυση ( $n \geq 6$ ) δειγμάτων επιμολυσμένων στο όριο απόφασης της μεθόδου επιβεβαίωσης ως το κατώτατο άκρο της κατανομής των στοιχείων (που απεικονίζεται στο διάγραμμα με κωδωνοειδή καμπύλη) στην αντίστοιχη μέση τιμή BEQ.

#### 7.3.4. Περιορισμοί των τιμών αποκοπής

Οι τιμές αποκοπής βάσει των BEQ που υπολογίζονται από την  $RSD_R$  και επιτυγχάνονται κατά την επικύρωση με τη χρήση περιορισμένου αριθμού δειγμάτων με διαφορετική μήτρα/προφίλ συγγενών ουσιών μπορεί να είναι υψηλότερες από τα ανώτατα επίπεδα ή τα όρια ανάληψης δράσης βάσει των TEQ λόγω της μεγαλύτερης ακρίβειας από εκείνη που επιτυγχάνεται συνήθως όταν πρέπει να ελεγχθεί ένα άγνωστο φάσμα πιθανών προφίλ συγγενών ουσιών. Σε τέτοιες περιπτώσεις, οι τιμές αποκοπής υπολογίζονται από μια  $RSD_R = 25 \%$ , ή προτιμώνται τα δύο τρίτα του ανώτατου επιπέδου ή του ορίου ανάληψης δράσης.

#### 7.4. Χαρακτηριστικά επιδόσεων

- 7.4.1. Δεδομένου ότι δεν μπορούν να χρησιμοποιηθούν εσωτερικά πρότυπα σε βιοαναλυτικές μεθόδους, πραγματοποιούνται οι δοκιμές επαναληψιμότητας για να αντληθούν πληροφορίες σχετικά με την τυπική απόκλιση στο πλαίσιο μιας σειράς δοκιμών και μεταξύ σειρών δοκιμών. Η επαναληψιμότητα είναι κάτω από 20 % και η διεργαστηριακή αναπαραγωγιμότητα κάτω από 25 %. Αυτό βασίζεται στα υπολογιζόμενα επίπεδα σε BEQ μετά τη διόρθωση τυφλού και του ποσοστού ανάκτησης.
- 7.4.2. Στο πλαίσιο της διαδικασίας επικύρωσης, πρέπει να αποδεικνύεται ότι η δοκιμή μπορεί να κάνει διάκριση μεταξύ ενός τυφλού δείγματος και ενός επιπέδου ίσου με την τιμή αποκοπής, επιτρέποντας έτσι την ταυτοποίηση των δειγμάτων που υπερβαίνουν την αντίστοιχη τιμή αποκοπής (βλέπε σημείο 7.1.2).
- 7.4.3. Ορίζονται οι ενώσεις-στόχοι, οι πιθανές παρεμποδίσεις και τα μέγιστα ανεκτά επίπεδα τυφλού.

- 7.4.4. Η επί τοις εκατό τυπική απόκλιση της απόκρισης ή της συγκέντρωσης, που υπολογίζεται με βάση την απόκριση (είναι δυνατόν μόνο στο πεδίο τιμών εργασίας) σε τριπλό προσδιορισμό με εκχύλισμα δείγματος, δεν πρέπει να υπερβαίνει το 15 %.
- 7.4.5. Τα μη διορθωμένα αποτελέσματα για το (τα) δείγμα(-τα) αναφοράς, σε BEQ (τυφλό και στο ανώτατο επίπεδο ή στο όριο ανάληψης δράσης), χρησιμοποιούνται για την αξιολόγηση της επίδοσης της βιοαναλυτικής μεθόδου για μια σταθερή περίοδο.
- 7.4.6. Τα διαγράμματα ποιοτικού ελέγχου για τα τυφλά δείγματα διαδικασίας και κάθε είδος δείγματος αναφοράς καταγράφονται και ελέγχονται ώστε να εξασφαλίζεται ότι η αναλυτική επίδοση είναι σύμφωνη με τις απαιτήσεις, ιδίως όσον αφορά την απαιτούμενη ελάχιστη διαφορά από το κατώτατο άκρο του πεδίου τιμών εργασίας, για τα τυφλά δείγματα διαδικασίας, και όσον αφορά την ενδοεργαστηριακή αναπαραγωγιμότητα, για τα δείγματα αναφοράς. Τα τυφλά δείγματα διαδικασίας πρέπει να ελέγχονται κατά τρόπο ώστε να αποφεύγονται τα ψευδοσυμμορφούμενα αποτελέσματα κατά την αφαίρεση των επιπέδων των δειγμάτων αυτών.
- 7.4.7. Τα αποτελέσματα των δειγμάτων για τα οποία υπάρχει υπόνοια ότι δεν συμμορφώνονται και τα οποία λαμβάνονται από τις μεθόδους επιβεβαίωσης καθώς και του 2 έως 10 % των δειγμάτων που συμμορφώνονται (τουλάχιστον 20 δείγματα ανά μήτρα) συγκεντρώνονται και χρησιμοποιούνται για την αξιολόγηση της επίδοσης της μεθόδου διαλογής και της σχέσης μεταξύ BEQ και TEQ. Αυτή η βάση δεδομένων μπορεί να χρησιμοποιείται για την επαναξιολόγηση των τιμών αποκοπής που εφαρμόζονται στα δείγματα ρουτίνας για τις επικυρωμένες μήτρες.
- 7.4.8. Η επιτυχής επίδοση μιας μεθόδου μπορεί επίσης να αποδειχθεί με τη συμμετοχή σε δοκιμές δακτυλίου. Τα αποτελέσματα από τα δείγματα που αναλύονται στις δοκιμές δακτυλίου και καλύπτουν εύρος συγκεντρώσεων έως και, π.χ., το διπλάσιο του ανώτατου επιπέδου, μπορούν επίσης να συμπεριλαμβάνονται στην αξιολόγηση του ποσοστού των ψευδοσυμμορφούμενων αποτελεσμάτων, εφόσον ένα εργαστήριο είναι σε θέση να αποδείξει την επιτυχή του επίδοση. Τα δείγματα καλύπτουν τα συχνότερα προφίλ συγγενών ουσιών και αντιπροσωπεύουν διάφορες πηγές.
- 7.4.9. Κατά τη διάρκεια των περιστατικών οι τιμές αποκοπής μπορούν να αξιολογηθούν εκ νέου και να αντανακλούν την ειδική μήτρα και το ειδικό προφίλ συγγενών ουσιών αυτού του συγκεκριμένου περιστατικού.

## 8. Αναφορά των αποτελεσμάτων

### 8.1. Μέθοδοι επιβεβαίωσης

- 8.1.1. Εφόσον η χρησιμοποιούμενη διαδικασία ανάλυσης το επιτρέπει, τα αποτελέσματα της ανάλυσης περιέχουν τα επίπεδα των επιμέρους συγγενών των PCDD/PCDF και των παρόμοιων με διοξίνες PCB και αναφέρονται ως κατώτατου ορίου, ανώτατου ορίου και μεσαίου ορίου προκειμένου να περιλαμβάνεται το μέγιστο δυνατό σύνολο πληροφοριών στην υποβαλλόμενη έκθεση των αποτελεσμάτων και να διευκολύνεται έτσι η ερμηνεία τους σύμφωνα με τις ειδικές απαιτήσεις.
- 8.1.2. Η έκθεση περιλαμβάνει τη χρησιμοποιούμενη μέθοδο για την εκχύλιση των PCDD/PCDF και των παρόμοιων με διοξίνες PCB.
- 8.1.3. Οι ανακτήσεις των μεμονωμένων εσωτερικών προτύπων πρέπει να καθίστανται διαθέσιμες στην περίπτωση που οι ανακτήσεις είναι εκτός του εύρους που αναφέρεται στο σημείο 6.2.5, στην περίπτωση που υπερβαίνεται το ανώτατο επίπεδο (στην περίπτωση αυτή, οι ανακτήσεις για μία από τις δύο αναλύσεις) και σε άλλες περιπτώσεις κατόπιν σχετικής αίτησης.
- 8.1.4. Η αβεβαιότητα μέτρησης πρέπει να αναφέρεται, επειδή η παράμετρος αυτή πρέπει να λαμβάνεται υπόψη όταν κρίνεται αν ένα δείγμα συμμορφώνεται ή όχι. Τα αποτελέσματα της ανάλυσης πρέπει να αναφέρονται ως “ $x \pm U$ ”, όπου  $x$  είναι το αποτέλεσμα της ανάλυσης και  $U$  είναι η διευρυμένη αβεβαιότητα μέτρησης, χρησιμοποιώντας συντελεστή κάλυψης 2, ο οποίος δίνει επίπεδο εμπιστοσύνης περίπου 95 %. Σε περίπτωση χωριστού προσδιορισμού των PCDD/PCDF και των παρόμοιων με διοξίνες PCB, πρέπει να χρησιμοποιείται για το άθροισμα των PCDD/PCDF και των παρόμοιων με διοξίνες PCB το άθροισμα των εκτιμήσεων της διευρυμένης αβεβαιότητας των χωριστών αναλυτικών αποτελεσμάτων για τις PCDD/PCDF και τα παρόμοια με διοξίνες PCB.
- 8.1.5. Αν η αβεβαιότητα μέτρησης λαμβάνεται υπόψη μέσω του CCA (όπως περιγράφεται στο κεφάλαιο I σημείο 2.2 του παρόντος μέρους B), πρέπει να αναφέρεται αυτή η παράμετρος.
- 8.1.6. Τα αποτελέσματα εκφράζονται στις ίδιες μονάδες και με τον ίδιο (τουλάχιστον) αριθμό σημαντικών ψηφίων όπως τα ανώτατα επίπεδα που καθορίζονται στην οδηγία 2002/32/EK.
- 8.2. Βιοαναλυτικές μέθοδοι διαλογής
- 8.2.1. Το αποτέλεσμα της διαλογής εκφράζεται ως “συμμορφούμενο” ή “πιθανώς μη συμμορφούμενο” (“ύποπτο”).
- 8.2.2. Επιπλέον, μπορεί να αναφέρεται ένα αποτέλεσμα για τις PCDD/PCDF και/ή τα παρόμοια με διοξίνες PCB, εκφρασμένο σε BEQ (αντί των TEQ).
- 8.2.3. Τα δείγματα με απόκριση χαμηλότερη από το όριο δήλωσης αναφέρονται με την ένδειξη “κάτω από το όριο δήλωσης”.

- 8.2.4. Για κάθε είδος μήτρας δείγματος η έκθεση αναφέρει το ανώτατο επίπεδο ή το όριο ανάληψης δράσης στο οποίο βασίζεται η αξιολόγηση.
- 8.2.5. Η έκθεση αναφέρει τον τύπο της εφαρμοζόμενης δοκιμής, τη βασική αρχή της και το είδος της βαθμονόμησης.
- 8.2.6. Η έκθεση περιλαμβάνει τη χρησιμοποιούμενη μέθοδο για την εκχύλιση των PCDD/PCDF και των παρόμοιων με διοξίνες PCB.
- 8.2.7. Στην περίπτωση δειγμάτων για τα οποία υπάρχουν υπόνοιες ότι είναι μη συμμορφούμενα, η έκθεση πρέπει να περιλαμβάνει σημείωμα σχετικά με τα μέτρα που πρέπει να ληφθούν. Η συγκέντρωση των PCDD/F και το άθροισμα των PCDD/F και των παρόμοιων με διοξίνες PCB στα δείγματα με σημαντικά επίπεδα πρέπει να προσδιοριστεί/επιβεβαιωθεί με μια μέθοδο επιβεβαίωσης.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ III

**Προετοιμασία των δειγμάτων και απαιτήσεις για τις μεθόδους ανάλυσης που χρησιμοποιούνται για τον επίσημο έλεγχο των επιπέδων των μη παρόμοιων με διοξίνες PCB (PCB # 28, 52, 101, 138, 153, 180)****1. Πεδίο εφαρμογής**

Οι απαιτήσεις που ορίζονται στο παρόν κεφάλαιο εφαρμόζονται στις αναλύσεις ζωοτροφών για τον επίσημο έλεγχο των επιπέδων των μη παρόμοιων με διοξίνες πολυχλωριωμένων διφαινυλίων (μη παρόμοιων με διοξίνες PCB) και για άλλους κανονιστικούς σκοπούς.

**2. Εφαρμοζόμενες μέθοδοι ανάλυσης**

Αεριοχρωματογραφία/Ανίχνευση σύλληψης ηλεκτρονίων (GC-ECD), GC-LRMS, GC-MS/MS, GC-HRMS ή ισοδύναμες μέθοδοι.

**3. Ταυτοποίηση και επιβεβαίωση των προσδιοριζόμενων ουσιών που ενδιαφέρουν**

- 3.1. Ο σχετικός χρόνος κατακράτησης σε σχέση με τα εσωτερικά πρότυπα ή πρότυπα αναφοράς (αποδεκτή απόκλιση +/- 0,25 %).
- 3.2. Ο διαχωρισμός με αεριοχρωματογραφία και των έξι δεικτών PCB (PCB 28, PCB 52, PCB 101, PCB 138, PCB 153 και PCB 180) από παρεμποδιστές, κυρίως συνεκλυόμενα PCB, ιδίως αν τα επίπεδα των δειγμάτων είναι στο επίπεδο των νόμιμων ορίων και πρέπει να επιβεβαιωθεί η μη συμμόρφωση.

[Οι συγγενείς ουσίες που διαπιστώνεται συχνά ότι συνεκλύονται είναι π.χ. τα PCB 28/31, PCB 52/69 και PCB 138/163/164. Για τις τεχνικές GC-MS, λαμβάνονται επίσης υπόψη πιθανές παρεμποδιστές από θραύσματα συγγενών ουσιών υψηλότερου βαθμού χλωρίωσης.

**3.3. Απαιτήσεις για τις τεχνικές GC-MS:**

Παρακολούθηση τουλάχιστον:

- α) δύο ειδικών ιόντων για την HRMS·
- β) δύο ειδικών ιόντων με  $m/z > 200$  ή τριών ειδικών ιόντων με  $m/z > 100$  για την LRMS·
- γ) ενός πρόδρομου ιόντος και δύο θυγατρικών ιόντων για την MS-MS.

Μέγιστες επιτρεπόμενες τιμές ανοχής για τους λόγους έντασης των επιλεγμένων θραυσμάτων μαζών:

Η σχετική απόκλιση του λόγου αφθονίας των επιλεγμένων θραυσμάτων μαζών από τη θεωρητική ένταση ή την πρότυπη καμπύλη βαθμονόμησης για στοχευόμενο ιόν (το πιο έντονο ιόν που παρακολουθείται) και προσδιοριστικό(-ά) ιόν(-ντα):

Σχετική ένταση του (των) προσδιοριστικού(-ών) ιόντος(-ων) σε σύγκριση με το στοχευόμενο ιόν	GC-EI-MS (σχετική απόκλιση)	GC-CI-MS, GC-MS <sup>n</sup> (σχετική απόκλιση)
> 50 %	± 10 %	± 20 %
> 20 % έως 50 %	± 15 %	± 25 %
> 10 % έως 20 %	± 20 %	± 30 %
≤ 10 %	± 50 % <sup>(1)</sup>	± 50 % <sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup> Επαρκής αριθμός θραυσμάτων μαζών με διαθέσιμη σχετική ένταση > 10 %, και για τον λόγο αυτό δεν συνιστάται η χρήση προσδιοριστικού(-ών) ιόντος(-ων) με σχετική ένταση χαμηλότερη από 10 % σε σύγκριση με το στοχευόμενο ιόν.

### 3.4. Απαιτήσεις για τις τεχνικές GC/ECD

Επιβεβαίωση των αποτελεσμάτων που υπερβαίνουν την ανοχή με δύο στήλες GC με στατικές φάσεις διαφορετικής πολικότητας.

### 4. Απόδειξη της επίδοσης της μεθόδου

Επικύρωση της επίδοσης της μεθόδου στην περιοχή του ανώτατου επιπέδου (0,5 έως 2 φορές το ανώτατο επίπεδο) με αποδεκτό συντελεστή μεταβλητότητας για επαναλαμβανόμενες αναλύσεις (βλέπε απαιτήσεις για ενδιάμεση ακρίβεια στο σημείο 9).

### 5. Όριο ποσοτικού προσδιορισμού

Οι τιμές του τυφλού δείγματος δεν είναι μεγαλύτερες από το 30 % του επιπέδου επιμόλυνσης που αντιστοιχεί στο ανώτατο επίπεδο <sup>(10)</sup>\*.

### 6. Ποιοτικός έλεγχος

Τακτικοί τυφλοί έλεγχοι, αναλύσεις εμβολιασμένων δειγμάτων, δείγματα ποιοτικού ελέγχου, συμμετοχή σε διεργαστηριακές μελέτες για σχετικές μήτρες.

### 7. Έλεγχος ανακτήσεων

7.1. Χρήση κατάλληλων εσωτερικών προτύπων με φυσικοχημικές ιδιότητες παρόμοιες με των προσδιοριζόμενων ουσιών που ενδιαφέρουν.

7.2. Προσθήκη εσωτερικών προτύπων:

Προσθήκη στα προϊόντα (πριν από τη διαδικασία εκχύλισης και καθαρισμού).

7.3. Οι απαιτήσεις για τις μεθόδους που χρησιμοποιούν και τους έξι ομοειδείς δείκτες PCB με ισοτοπική επισήμανση:

α) διόρθωση των αποτελεσμάτων ως προς την ανάκτηση των εσωτερικών προτύπων·

β) ανακτήσεις των εσωτερικών προτύπων με ισοτοπική επισήμανση από 50 έως 120 %·

γ) είναι αποδεκτά χαμηλότερα ή υψηλότερα ποσοστά ανάκτησης για τις επιμέρους συγγενείς ουσίες με συμμετοχή στο άθροισμα των έξι PCB-δεικτών μικρότερη από 10 %.

7.4. Οι απαιτήσεις για τις μεθόδους που δεν χρησιμοποιούν και τα έξι εσωτερικά πρότυπα με ισοτοπική επισήμανση ή άλλα εσωτερικά πρότυπα:

α) έλεγχος της ανάκτησης του (των) εσωτερικού(-ών) προτύπου(-ων) για κάθε δείγμα·

β) ανακτήσεις των εσωτερικών προτύπων από 60 έως 120 %·

γ) διόρθωση των αποτελεσμάτων ως προς την ανάκτηση των εσωτερικών προτύπων.

7.5. Οι ανακτήσεις των συγγενών ουσιών ελέγχονται με εμβολιασμένα δείγματα ή δείγματα ποιοτικού ελέγχου με συγκεντρώσεις στην περιοχή του ανώτατου επιπέδου. Τα ποσοστά ανάκτησης γι' αυτές τις συγγενείς ουσίες θεωρούνται αποδεκτά αν κυμαίνονται μεταξύ 70 % και 120 %.

### 8. Απαιτήσεις για τα εργαστήρια

Σύμφωνα με τις διατάξεις του κανονισμού (ΕΚ) αριθ. 882/2004, η διαπίστευση των εργαστηρίων γίνεται από αναγνωρισμένο οργανισμό που λειτουργεί σύμφωνα με τον οδηγό ISO 58, ώστε να εξασφαλίζεται ότι τα εργαστήρια εφαρμόζουν μεθόδους διασφάλισης της ποιότητας. Η διαπίστευση των εργαστηρίων πραγματοποιείται σύμφωνα με το πρότυπο EN ISO/IEC 17025.

### 9. Χαρακτηριστικά επιδόσεων: Κριτήρια για το σύνολο των έξι δεικτών PCB στο ανώτατο επίπεδο

Ορθότητα	- 30 έως + 30 %
Ενδιάμεση πιστότητα (RSD %)	≤ 20 %
Διαφορά μεταξύ του υπολογισμού του ανώτατου και του κατώτατου ορίου	≤ 20 %



## 10. Αναφορά των αποτελεσμάτων

- 10.1. Εφόσον η χρησιμοποιούμενη διαδικασία ανάλυσης το επιτρέπει, τα αποτελέσματα της ανάλυσης πρέπει να περιέχουν τα επίπεδα των επιμέρους συγγενών PCB και να αναφέρονται ως κατώτατου ορίου, ανώτατου ορίου και μεσαίου ορίου, προκειμένου να περιλαμβάνεται το μέγιστο δυνατό σύνολο πληροφοριών στην υποβαλλόμενη έκθεση των αποτελεσμάτων και να διευκολύνεται έτσι η ερμηνεία τους σύμφωνα με τις ειδικές απαιτήσεις.
- 10.2. Η έκθεση πρέπει να περιλαμβάνει τη χρησιμοποιούμενη μέθοδο για την εκχύλιση των PCB και των λιπιδίων.
- 10.3. Τα ποσοστά ανάκτησης των επιμέρους εσωτερικών προτύπων πρέπει να αναφέρονται σε περίπτωση που βρίσκονται εκτός του εύρους που αναφέρεται στο σημείο 7, σε περίπτωση υπέρβασης του ανώτατου επιπέδου, καθώς και σε άλλες περιπτώσεις, κατόπιν σχετικής αίτησης.
- 10.4. Επειδή η αβεβαιότητα μέτρησης πρέπει να λαμβάνεται υπόψη κατά τη λήψη απόφασης για το αν ένα δείγμα ανταποκρίνεται, αυτή η παράμετρος γνωστοποιείται επίσης. Τα αποτελέσματα της ανάλυσης πρέπει να αναφέρονται ως “x +/- U”, όπου x είναι το αποτέλεσμα της ανάλυσης και U είναι η διευρυμένη αβεβαιότητα μέτρησης, χρησιμοποιώντας συντελεστή κάλυψης 2, ο οποίος δίνει επίπεδο εμπιστοσύνης περίπου 95 %.
- 10.5. Αν η αβεβαιότητα μέτρησης λαμβάνεται υπόψη μέσω του CCa (όπως περιγράφεται στο κεφάλαιο I, σημείο 2.1), η παράμετρος αυτή πρέπει να αναφέρεται.
- 10.6. Τα αποτελέσματα εκφράζονται στις ίδιες μονάδες και με τον ίδιο (τουλάχιστον) αριθμό σημαντικών ψηφίων όπως τα ανώτατα επίπεδα που καθορίζονται στην οδηγία 2002/32/EK.

(<sup>1</sup>)\* Πίνακας TEF (= συντελεστές τοξικής ισοδυναμίας) για διοξίνες, φουράνια και παρόμοια με διοξίνες PCB:

Οι WHO-TEF για την εκτίμηση της επικινδυνότητας για τον άνθρωπο βασίζονται στα συμπεράσματα της συνεδρίασης εμπειρογνομόνων του Διεθνούς Προγράμματος για την Ασφάλεια των Χημικών Ουσιών (IPCS) της Παγκόσμιας Οργάνωσης Υγείας, που διεξήχθη στη Γενεύη τον Ιούνιο του 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 93(2), 223-241 (2006)].

Συγγενής ουσία	Τιμή TEF	Συγγενής ουσία	Τιμή TEF	
<b>Διβενζο-π-διοξίνες (PCDD) και διβενζοφουράνια (PCDF)</b>		<b>“Παρόμοια με διοξίνες” PCB Μη-ορθο PCB + Μονο-ορθο PCB</b>		
2,3,7,8-TCDD	1	<b>Μη-ορθο PCB</b>		
1,2,3,7,8-PeCDD	1			
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0.1		PCB 77	0.0001
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0.1		PCB 81	0.0003
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0.1		PCB 126	0.1
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0.01		PCB 169	0.03
OCDD	0.0003	<b>Μονο-ορθο PCB</b>		
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			

Συντομογραφίες που χρησιμοποιήθηκαν: “T” = τετρα· “Pe” = πεντα· “Hx” = εξα· “Hp” = επτα· “O” = οκτα· “CDD” = χλωροδιβενζοδιοξίνη· “CDF” = χλωροδιβενζοφουράνιο· “CB” = χλωροδιφαινύλιο.

- (<sup>2</sup>)\* Απόφαση 2002/657/EK της Επιτροπής, της 14ης Αυγούστου 2002, για εφαρμογή της οδηγίας 96/23/EK του Συμβουλίου σχετικά με την επίδοση των αναλυτικών μεθόδων και την ερμηνεία των αποτελεσμάτων (EE L 221 της 17.8.2002, σ. 8).
- (<sup>3</sup>)\* Η έννοια του “ανώτατου ορίου” απαιτεί τη χρησιμοποίηση του ορίου του ποσοτικού προσδιορισμού για τη συμμετοχή κάθε μη ποσοτικά προσδιορισμένης συγγενούς ουσίας. Η έννοια του “κατώτατου ορίου” απαιτεί τη χρησιμοποίηση του μηδέν για τη συμμετοχή κάθε μη ποσοτικά προσδιορισμένης συγγενούς ουσίας. Η έννοια του “μεσαίου ορίου” απαιτεί τη χρησιμοποίηση του μισού του ορίου ποσοτικού προσδιορισμού για τον υπολογισμό της συμμετοχής κάθε μη ποσοτικά προσδιορισμένης συγγενούς ουσίας.
- (<sup>4</sup>)\* Γενικά, εφαρμόζονται οι απαιτήσεις για τη δεύτερη ανάλυση, όπως προβλέπεται στο παράρτημα II κεφάλαιο Γ σημείο 3. Ωστόσο, για τις μεθόδους επιβεβαίωσης με τη χρήση εσωτερικού προτύπου με ισοτοπική επισήμανση <sup>13</sup>C για τις σχετικές προσδιοριζόμενες ουσίες, η δεύτερη ανάλυση είναι απαραίτητη μόνο αν το αποτέλεσμα του πρώτου προσδιορισμού που εφαρμόζει τέτοιες επιβεβαιωτικές μεθόδους δεν είναι συμμορφούμενο. Η δεύτερη ανάλυση είναι απαραίτητη για να αποκλειστεί η πιθανότητα εσωτερικής διασταυρούμενης επιμόλυνσης ή τυχαίας ανάμειξης δειγμάτων. Στην περίπτωση που η ανάλυση εκτελείται στο πλαίσιο ενός περιστατικού επιμόλυνσης, η επιβεβαίωση με δεύτερη ανάλυση μπορεί να παραλειφθεί αν τα δείγματα που επιλέγονται για ανάλυση μπορούν να συνδεθούν με το περιστατικό επιμόλυνσης μέσω ιχνηλασιμότητας και το επίπεδο που βρέθηκε υπερβαίνει σημαντικά το ανώτατο επίπεδο.
- (<sup>5</sup>)\* Η έννοια του “ανώτατου ορίου” απαιτεί τη χρησιμοποίηση του ορίου ποσοτικού προσδιορισμού για τη συμμετοχή κάθε μη ποσοτικά προσδιορισμένης συγγενούς ουσίας στο τοξικό ισοδύναμο (TEQ). Η έννοια του “κατώτατου ορίου” απαιτεί τη χρησιμοποίηση του μηδέν για τη συμμετοχή κάθε μη ποσοτικά προσδιορισμένης συγγενούς ουσίας στο TEQ. Η έννοια του “μεσαίου ορίου” απαιτεί τη χρησιμοποίηση του μισού του ορίου ποσοτικού προσδιορισμού για τον υπολογισμό της συμμετοχής κάθε μη ποσοτικά προσδιορισμένης συγγενούς ουσίας στο TEQ.
- (<sup>6</sup>)\* Γενικά, εφαρμόζονται οι απαιτήσεις για τη δεύτερη ανάλυση, όπως προβλέπεται στο παράρτημα II κεφάλαιο Γ σημείο 3. Ωστόσο, για τις μεθόδους επιβεβαίωσης με τη χρήση εσωτερικού προτύπου με ισοτοπική επισήμανση <sup>13</sup>C για τις σχετικές προσδιοριζόμενες ουσίες, η δεύτερη ανάλυση είναι απαραίτητη μόνο αν το αποτέλεσμα του πρώτου προσδιορισμού που εφαρμόζει τέτοιες επιβεβαιωτικές μεθόδους δεν είναι συμμορφούμενο. Η δεύτερη ανάλυση είναι απαραίτητη για να αποκλειστεί η πιθανότητα εσωτερικής διασταυρούμενης επιμόλυνσης ή τυχαίας ανάμειξης δειγμάτων. Στην περίπτωση που η ανάλυση εκτελείται στο πλαίσιο ενός περιστατικού επιμόλυνσης, η επιβεβαίωση με δεύτερη ανάλυση μπορεί να παραλειφθεί αν τα δείγματα που επιλέγονται για ανάλυση μπορούν να συνδεθούν με το περιστατικό επιμόλυνσης μέσω ιχνηλασιμότητας και το επίπεδο που βρέθηκε υπερβαίνει σημαντικά το ανώτατο επίπεδο.
- (<sup>7</sup>)\* Οι εξηγήσεις και οι απαιτήσεις για τη δεύτερη ανάλυση για τον έλεγχο των ορίων ανάλυσης δράσης είναι ίδιες με εκείνες της υποσημείωσης (\*\*\*\*\*) για τα ανώτατα επίπεδα.
- (<sup>8</sup>)\* Οι βιοαναλυτικές μέθοδοι δεν είναι ειδικές γι' αυτές τις συγγενείς ουσίες που περιλαμβάνονται στο σύστημα των TEF (συντελεστών τοξικής ισοδυναμίας). Άλλες ανάλογης δομής ενώσεις με δράση στους AhR (υποδοχείς αρυλικών υδρογονανθράκων) μπορεί να υπάρχουν στο δείγμα και να συμβάλλουν στη συνολική ανταπόκριση. Επομένως, τα βιοαναλυτικά αποτελέσματα δεν μπορούν να αποτελούν εκτίμηση, αλλά μάλλον ένδειξη του επιπέδου TEQ στο δείγμα.
- (<sup>9</sup>)\* Οι τρέχουσες απαιτήσεις βασίζονται στα TEF που δημοσιεύτηκαν στο: M. Van den Berg et al, Toxicol Sci 93 (2), 223-241 (2006).
- (<sup>10</sup>)\* Συνιστάται ιδιαίτερος η συμμετοχή του σήματος του τυφλού δείγματος να διατηρείται όσο το δυνατόν χαμηλά σε σχέση με το επίπεδο σε ένα επιμολυσμένο δείγμα. Ο έλεγχος της μεταβλητότητας των επιπέδων τυφλού, κυρίως αν τα επίπεδα τυφλού αφαιρούνται από το αποτέλεσμα, αποτελεί αρμοδιότητα του εργαστηρίου.»