ΚΑΝΟΝΙΣΜΟΣ (ΕΕ) αριθ. 278/2012 ΤΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ

της 28ης Μαρτίου 2012

για 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 ([1]), και ιδίως το άρθρο 11 παράγραφος 4,

Εκτιμώντας τα ακόλουθα:

(1) Η οδηγία 2002/32/ΕΚ του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου, της 7ης Μαΐου 2002, σχετικά με τις ανεπιθύμητες ουσίες στις ζωοτροφές ([2]) προβλέπει ανώτατα όρια για τις διοξίνες, τα φουράνια και τα πολυχλωριωμένα διφαινύλια (PCB) στις ζωοτροφές και όρια ανάληψης δράσης· σε περίπτωση υπέρβασης αυτών των ορίων τα κράτη μέλη πρέπει να διεξάγουν έρευνες για τον εντοπισμό των πηγών των ανεπιθύμητων ουσιών.

(2) Ο κανονισμός (ΕΚ) αριθ. 152/2009, της 27ης Ιανουαρίου 2009, για τον καθορισμό μεθόδων δειγματοληψίας και ανάλυσης για τον επίσημο έλεγχο των ζωοτροφών ([3]) 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.

(3) Μπορεί να χρησιμοποιηθεί μια αναλυτική μέθοδος διαλογής με ευρέως αποδεκτή επικύρωση και υψηλή διεκπεραιωτική ικανότητα για τον εντοπισμό δειγμάτων με σημαντικά επίπεδα PCDD/F και παρόμοιων με διοξίνες PCB (θα πρέπει, κατά προτίμηση, να επιλέγονται δείγματα που υπερβαίνουν τα όρια ανάληψης δράσης και να διασφαλίζεται η επιλογή δειγμάτων που υπερβαίνουν τα ανώτατα επίπεδα). Τα επίπεδα των PCDD/F και των παρόμοιων με διοξίνες PCB πρέπει να προσδιορίζονται με επιβεβαιωτική μέθοδο ανάλυσης. Για το λόγο αυτό είναι σκόπιμο να καθοριστούν, αφενός, κατάλληλες απαιτήσεις για τη μέθοδο διαλογής που θα διασφαλίζουν ότι το ψευδοσυμμορφούμενο ποσοστό όσον αφορά τα ανώτατα επίπεδα είναι λιγότερο από 5 % και, αφετέρου, αυστηρές απαιτήσεις για τις επιβεβαιωτικές μεθόδους ανάλυσης. Επιπλέον, οι επιβεβαιωτικές μέθοδοι επιτρέπουν τον προσδιορισμό των επιπέδων και στην περιοχή χαμηλών επιπέδων υποβάθρου. Ο προσδιορισμός αυτός είναι σημαντικός για την παρακολούθηση των διαχρονικών τάσεων, την εκτίμηση της έκθεσης και την επαναξιολόγηση των ανώτατων επιπέδων και των ορίων ανάληψης δράσης.

(4) Η τροποποίηση των ανώτατων επιπέδων των διοξινών και των παρόμοιων με διοξίνες PCB και η θέσπιση σχετικών επιπέδων για τα μη παρόμοια με διοξίνες PCB στην οδηγία 2002/32/ΕΚ, καθώς και η ανάγκη επικαιροποίησης των κριτηρίων για τις μεθόδους διαλογής, καθιστούν αναγκαία την τροποποίηση των κανόνων προσδιορισμού των διοξινών και των PCB στις ζωοτροφές, οι οποίοι προβλέπονται στο μέρος Β του παραρτήματος V του κανονισμού (ΕΚ) αριθ. 152/2009. Για λόγους σαφήνειας και καλύτερης κατανόησης, είναι αναγκαία η αντικατάσταση του μέρους Β του παραρτήματος V.

(5) Έχει πρωταρχική σημασία τα αποτελέσματα των αναλύσεων να καταγράφονται και να ερμηνεύονται με ενιαίο τρόπο, έτσι ώστε να εξασφαλίζεται η εναρμονισμένη τήρηση των κανόνων σε όλη την Ένωση.

(6) Επομένως, θα πρέπει να τροποποιηθεί αναλόγως το παράρτημα V του κανονισμού (ΕΚ) αριθ. 152/2009.

(7) Τα μέτρα που προβλέπονται στον παρόντα κανονισμό είναι σύμφωνα με τη γνώμη της μόνιμης επιτροπής για την τροφική αλυσίδα και την υγεία των ζώων και ούτε το Ευρωπαϊκό Κοινοβούλιο ούτε το Συμβούλιο αντιτάχθηκαν σ' αυτά,

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*.

Εφαρμόζεται από την ημερομηνία έναρξης ισχύος.

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

Βρυξέλλες, 28 Μαρτίου 2012.

Για την Επιτροπή

Ο Πρόεδρος

José Manuel BARROSO

([1]) ΕΕ L 165 της 30.4.2004, σ. 1.
([2]) ΕΕ L 140 της 30.5.2002, σ. 10.
([3]) ΕΕ L 54 της 26.2.2009, σ. 1.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

Στο παράρτημα V του κανονισμού (ΕΚ) αριθ. 152/2009, το μέρος (Β) «ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΤΩΝ ΔΙΟΞΙΝΩΝ (PCDD/PCDF) ΚΑΙ ΤΩΝ ΠΑΡΟΜΟΙΩΝ ΜΕ ΤΙΣ ΔΙΟΞΙΝΕΣ PCB» αντικαθίσταται από τα εξής:

«Β. ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΤΩΝ ΔΙΟΞΙΝΩΝ (PCDD/PCDF) ΚΑΙ 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), πολυχλωριωμένων διβενζοφουρανίων (PCDF), παρόμοιων με διοξίνες πολυχλωριωμένων διφαινυλίων (PCB) (*) και μη παρόμοιων με διοξίνες PCB στις ζωοτροφές 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 ζωοτροφές, όπως προβλέπεται στο σημείο 5.Α 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.

(*) 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 εμπειρογνωμόνων 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
Διβενζο-π-διοξίνες (PCDD) και διβενζοφουράνια (PCDF)		**«Παρόμοια με διοξίνες» PCB Μη-ορθο PCB + Μονο-ορθο PCB**	
2,3,7,8-TCDD	1		
1,2,3,7,8-PeCDD	1	*Μη-ορθο PCB*	
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0,1	PCB 77	0,0001
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0,1	PCB 81	0,0003
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0,1	PCB 126	0,1
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0,01	PCB 169	0,03
OCDD	0,0003		
		Μονο-ορθο PCB	
2,3,7,8-TCDF	0,1	PCB 105	0,00003
1,2,3,7,8-PeCDF	0,03	PCB 114	0,00003
2,3,4,7,8-PeCDF	0,3	PCB 118	0,00003
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0,1	PCB 123	0,00003
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0,1	PCB 156	0,00003
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0,1	PCB 157	0,00003
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0,1	PCB 167	0,00003
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0,01	PCB 189	0,00003
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0,01		
OCDF	0,0003		

Συντμήσεις που χρησιμοποιήθηκαν: «T» = τετρα, «Pe» = πεντα, «Hx» = εξα, «Hp» = επτα, «O» = οκτα, «CDD» = χλωροδιβενζοδιοξίνη, «CDF» = χλωροδιβενζοφουράνιο, «CB» = χλωροδιφαινύλιο.

Για τους σκοπούς του παρόντος μέρους του παραρτήματος V, ισχύουν οι ορισμοί του παραρτήματος Ι της απόφασης 2002/657/ΕΚ της Επιτροπής, της 14ης Αυγούστου 2002, για εφαρμογή της οδηγίας 96/23/ΕΚ του Συμβουλίου σχετικά με την επίδοση των αναλυτικών μεθόδων και την ερμηνεία των αποτελεσμάτων (**).

(**) ΕΕ L 221 της 17.8.2002, σ. 8.

2. **Συμμόρφωση της παρτίδας ή της υποπαρτίδας με τις προδιαγραφές**

2.1. *Όσον αφορά τα μη παρόμοια με διοξίνες PCB*

Η παρτίδα ικανοποιεί τις προδιαγραφές, εάν το αναλυτικό αποτέλεσμα δεν υπερβαίνει το ανώτατο επίπεδο των μη παρόμοιων με διοξίνες PCB που προβλέπεται στην οδηγία 2002/32/ΕΚ, λαμβανομένης υπόψη της αβεβαιότητας των μετρήσεων.

Η παρτίδα δεν ικανοποιεί τις προδιαγραφές, εάν το αναλυτικό αποτέλεσμα ανώτερου ορίου (***) που επιβεβαιώθηκε από δεύτερη ανάλυση (****) υπερβαίνει το ανώτατο επίπεδο που προβλέπεται στην οδηγία 2002/32/ΕΚ, λαμβανομένης υπόψη της αβεβαιότητας των μετρήσεων.

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

— με υπολογισμό της διευρυμένης αβεβαιότητας (U), χρησιμοποιώντας συντελεστή κάλυψης 2 που δίνει διάστημα εμπιστοσύνης περίπου 95 %. Μια παρτίδα ή υποπαρτίδα θεωρείται μη συμμορφούμενη εάν η μετρούμενη τιμή μείον U υπερβαίνει το ανώτατο επίπεδο·

— με τον καθορισμό του ορίου απόφασης (CCα) σύμφωνα με το σημείο 3.1.2.5 του παραρτήματος I της απόφασης 2002/657/ΕΚ. Μια παρτίδα ή υποπαρτίδα θεωρείται μη συμμορφούμενη εάν η μετρούμενη τιμή ισούται ή υπερβαίνει το όριο απόφασης CCα.

Οι παρόντες ερμηνευτικοί κανόνες ισχύουν για τα αποτελέσματα των αναλύσεων που προκύπτουν από δείγμα που έχει ληφθεί για επίσημο έλεγχο. Στην περίπτωση αναλύσεων για λόγους προσφυγής ή αναφοράς, εφαρμόζεται η εθνική νομοθεσία.

(***) Η έννοια του «ανώτερου ορίου» απαιτεί τη χρησιμοποίηση του ορίου του ποσοτικού προσδιορισμού για τη συμμετοχή κάθε μη ποσοτικά προσδιορισμένης συγγενούς ουσίας. Η έννοια του «κατώτερου 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.

(****) Η δεύτερη ανάλυση είναι απαραίτητη για να αποκλειστεί η πιθανότητα εσωτερικής επιμόλυνσης ή τυχαίας ανάμειξης των δειγμάτων. Η πρώτη ανάλυση, λαμβανομένης υπόψη της αβεβαιότητας των μετρήσεων, χρησιμοποιείται για την εξακρίβωση της συμμόρφωσης. Στην περίπτωση που η ανάλυση εκτελείται στο πλαίσιο ενός περιστατικού μόλυνσης, η επιβεβαίωση με δεύτερη ανάλυση μπορεί να παραλειφθεί εάν τα δείγματα που επιλέγονται για ανάλυση μπορούν να συνδεθούν με το περιστατικό μόλυνσης μέσω ιχνηλασιμότητας.

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

Η παρτίδα ικανοποιεί τις προδιαγραφές εάν 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 επιβεβαιωτική μέθοδο, 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 των μετρήσεων.

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 επίπεδα που ενδιαφέρουν και τα οποία έχουν καθοριστεί είτε για τα PCDD/PCDF είτε για το άθροισμα των PCDD/PCDF και των παρόμοιων με διοξίνες PCB.

Η παρτίδα θεωρείται μη συμμορφούμενη εάν το αναλυτικό αποτέλεσμα ανώτερου ορίου (*****), που ελήφθη με επιβεβαιωτική μέθοδο και επιβεβαιώθηκε με δεύτερη ανάλυση, υπερβαίνει το ανώτατο επίπεδο που καθορίζεται στην οδηγία 2002/32/ΕΚ, λαμβανομένης υπόψη της αβεβαιότητας των μετρήσεων (******).

Η αβεβαιότητα των μετρήσεων λαμβάνεται υπόψη σύμφωνα με μια από τις ακόλουθες προσεγγίσεις:

— με υπολογισμό της διευρυμένης αβεβαιότητας (U), χρησιμοποιώντας συντελεστή κάλυψης 2 που δίνει διάστημα εμπιστοσύνης περίπου 95 %. Μια παρτίδα ή υποπαρτίδα δεν συμμορφώνεται με τις προδιαγραφές εάν 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 τα PCDD/PCDF και για τα παρόμοια με διοξίνες PCB,

— με τον καθορισμό του ορίου απόφασης (CCα), σύμφωνα με το σημείο 3.1.2.5 του παραρτήματος της απόφασης 2002/657/ΕΚ της Επιτροπής. Μια παρτίδα ή υποπαρτίδα θεωρείται μη συμμορφούμενη εάν η μετρούμενη τιμή ισούται ή υπερβαίνει το CCα.

Οι παρόντες ερμηνευτικοί κανόνες ισχύουν για τα αποτελέσματα των αναλύσεων που προκύπτουν από δείγμα που έχει ληφθεί για επίσημο έλεγχο. Στην περίπτωση αναλύσεων για λόγους προσφυγής ή αναφοράς, εφαρμόζεται η εθνική νομοθεσία.

(*****) Η έννοια του «ανώτερου ορίου» απαιτεί τη χρησιμοποίηση του ορίου ποσοτικού προσδιορισμού για τη συμμετοχή κάθε μη ποσοτικά προσδιορισμένης συγγενούς ουσίας στο τοξικό ισοδύναμο (TEQ). Η έννοια του «κατώτερου 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.

(******) Η δεύτερη ανάλυση είναι απαραίτητη για να αποκλειστεί η πιθανότητα εσωτερικής επιμόλυνσης ή τυχαίας ανάμειξης των δειγμάτων. Η πρώτη ανάλυση, λαμβανομένης υπόψη της αβεβαιότητας των μετρήσεων, χρησιμοποιείται για την εξακρίβωση της συμμόρφωσης. Στην περίπτωση που η ανάλυση εκτελείται στο πλαίσιο ενός περιστατικού μόλυνσης, η επιβεβαίωση με δεύτερη ανάλυση μπορεί να παραλειφθεί εάν τα δείγματα που επιλέγονται για ανάλυση μπορούν να συνδεθούν με το περιστατικό μόλυνσης μέσω ιχνηλασιμότητας.

3. **Αποτελέσματα που υπερβαίνουν τα όρια ανάληψης δράσης σύμφωνα με το παράρτημα ΙΙ 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 μόλυνσης 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. Οι ενέργειες που απαιτούνται για τον εντοπισμό μιας πηγής και τη μείωση ή εξάλειψη της μόλυνσης αναλαμβάνονται μόνο εάν έχει επιβεβαιωθεί η υπέρβαση των ορίων ανάληψης δράσης με δεύτερη ανάλυση μέσω της χρησιμοποίησης της επιβεβαιωτικής μεθόδου και λαμβανομένης υπόψη της αβεβαιότητας των μετρήσεων (*******).

(*******) Οι εξηγήσεις και οι απαιτήσεις για τη δεύτερη ανάλυση για τον έλεγχο των ορίων ανάληψης δράσης είναι ίδιες με εκείνες της υποσημείωσης (*****) για τα ανώτατα επίπεδα.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΙΙ

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 παράρτημα 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 κανονιστικούς σκοπούς.

Η παρακολούθηση της παρουσίας PCDD/F και παρόμοιων με διοξίνες PCB στις ζωοτροφές μπορεί να διενεργείται με δύο στόχους:

α) την επιλογή των δειγμάτων με επίπεδα PCDD/F και παρόμοιων με διοξίνες PCB που υπερβαίνουν τα ανώτατα επίπεδα ή τα όρια ανάληψης δράσης. Η προσέγγιση αυτή μπορεί να περιλαμβάνει μέθοδο διαλογής που επιτρέπει την αποτελεσματική από άποψη κόστους διεκπεραίωση μεγάλων αριθμών δειγμάτων με αποτέλεσμα να αυξάνονται οι πιθανότητες εντοπισμού νέων περιστατικών με υψηλούς κινδύνους έκθεσης και κινδύνους για την υγεία των καταναλωτών. Οι μέθοδοι διαλογής μπορούν να περιλαμβάνουν βιοαναλυτικές μεθόδους και μεθόδους GC/MS. Η εφαρμογή τους πρέπει να αποσκοπεί στην αποφυγή ψευδοσυμμορφούμενων αποτελεσμάτων. Στα δείγματα που παρουσιάζουν σημαντικά επίπεδα, πρέπει να προσδιορίζεται/επιβεβαιώνεται με επιβεβαιωτική μέθοδο η συγκέντρωση PCDD/F και το άθροισμα των PCDD/F και των παρόμοιων με διοξίνες PCB·

β) τον προσδιορισμό των επιπέδων των PCDD/F και των παρόμοιων με διοξίνες PCB σε δείγματα ζωοτροφών στην περιοχή των χαμηλών επιπέδων υπόβαθρου. Αυτό είναι σημαντικό για την παρακολούθηση των διαχρονικών τάσεων, την εκτίμηση της έκθεσης του πληθυσμού και τη δημιουργία βάσης δεδομένων για πιθανή επαναξιολόγηση των ορίων ανάληψης δράσης και των ανώτατων επιπέδων. Ο στόχος αυτός επιτυγχάνεται με τις επιβεβαιωτικές μεθόδους που επιτρέπουν την πέραν κάθε αμφιβολίας ταυτοποίηση και ποσοτικό υπολογισμό των PCDD/F και των παρόμοιων με διοξίνες PCB στο επίπεδο που ενδιαφέρει. Οι εν λόγω μέθοδοι μπορούν να χρησιμοποιούνται για την επιβεβαίωση των αποτελεσμάτων που λαμβάνονται με μεθόδους διαλογής και για τον προσδιορισμό των χαμηλών επιπέδων υπόβαθρου κατά τον έλεγχο των ζωοτροφών. Οι μέθοδοι αυτές είναι σημαντικές και για τον καθορισμό προφίλ συγγενών ουσιών για τον εντοπισμό της πηγής πιθανής μόλυνσης. Επί του παρόντος, οι μέθοδοι αυτές χρησιμοποιούν αεριοχρωματογραφία υψηλής διαχωριστικής ικανότητας/φασματομετρία μάζας υψηλής διαχωριστικής ικανότητας (GC/HRMS).

2. **Ταξινόμηση των μεθόδων με βάση τον βαθμό ποσοτικού προσδιορισμού** (********)

(********) Προσαρμοσμένη στα PCDD/F και τις παρόμοιες με διοξίνες ενώσεις από το έγγραφο «Guidelines for the validation of screening methods for residues of veterinary medicines» (Κατευθυντήριες γραμμές για την επικύρωση των μεθόδων διαλογής για κατάλοιπα κτηνιατρικών φαρμάκων), Εργαστήρια αναφοράς της ΕΕ (CRLs) για τα κατάλοιπα κτηνιατρικών φαρμάκων και επιμολυντών σε τρόφιμα ζωικής προέλευσης σε Fougeres, Βερολίνο και Bilthoven, 20/1/2010, http://ec.europa.eu/food/food/chemicalsafety/residues/lab_analysis_en.htm

2.1. Οι *ποιοτικές μέθοδοι* δίνουν θετική/αρνητική απάντηση ως προς την παρουσία αναλυτών (προσδιοριζόμενων ουσιών) που ενδιαφέρουν, χωρίς ποσοτική ένδειξη της συγκέντρωσης του υποτιθέμενου αναλύτη. Αυτές οι μέθοδοι μπορούν να δώσουν ημιποσοτικά αποτελέσματα, αλλά χρησιμοποιούνται αποκλειστικά για να δώσουν θετική/αρνητική απάντηση στο ερώτημα αν τα επίπεδα είναι υψηλότερα ή χαμηλότερα από μια ορισμένη τιμή, π.χ. όριο ανίχνευσης, όριο ποσοτικού προσδιορισμού ή τιμές αποκοπής.

Όσον αφορά τον έλεγχο των ανώτατων επιπέδων και των ορίων ανάληψης δράσης για τα PCDD/PCDF και τα παρόμοια με διοξίνες PCB στις ζωοτροφές, μπορούν να εφαρμόζονται μέθοδοι διαλογής που βασίζονται στη σύγκριση του αποτελέσματος της ανάλυσης με μια τιμή αποκοπής και επιβεβαιώνουν ή όχι την ένδειξη πιθανής υπέρβασης του επιπέδου που ενδιαφέρει.

2.2. *Ημιποσοτικές μέθοδοι* είναι οι μέθοδοι που παρέχουν κατά προσέγγιση ένδειξη της συγκέντρωσης του υποτιθέμενου αναλύτη και των οποίων το αριθμητικό αποτέλεσμα δεν πληροί τις απαιτήσεις των ποσοτικών μεθόδων. Μπορούν να χρησιμοποιούνται για την παροχή πληροφοριών όσον αφορά το εύρος συγκεντρώσεων του αναλύτη προκειμένου ο αναλυτής να αποφασίσει σε ποιο πεδίο τιμών θα κάνει τη βαθμονόμηση για την επιβεβαιωτική δοκιμή που πρόκειται να ακολουθήσει και για τον ποιοτικό έλεγχο. Για παράδειγμα, οι ακόλουθες μέθοδοι θεωρούνται ημιποσοτικές:

α) μέθοδοι που βασίζονται στη χρήση βιολογικών αρχών, όπως κυτταρικές δοκιμασίες, δοκιμασίες με υποδοχείς ή ανοσολογικές δοκιμασίες, στο εξής «βιοαναλυτικές μέθοδοι», και οι οποίες μπορούν να ανιχνεύουν τους αναλύτες που ενδιαφέρουν, περιλαμβάνουν καμπύλη βαθμονόμησης, επιβεβαιώνουν ή όχι την ένδειξη πιθανής υπέρβασης του επιπέδου που ενδιαφέρει και επιτρέπουν την αναφορά του αποτελέσματος εκφρασμένου σε βιοαναλυτικά ισοδύναμα (BEQ), που αποτελούν ένδειξη της τιμής TEQ στο δείγμα·

β) φυσικοχημική δοκιμή [π.χ. αεριοχρωματογραφία-φασματομετρία μάζας/φασματομετρία μάζας (GC-MS/MS) ή αεριοχρωματογραφία/φασματομετρία μάζας χαμηλής διαχωριστικής ικανότητας (GC/LRMS)] στην οποία τα μετρηθέντα χαρακτηριστικά ακρίβειας της μεθόδου δεν πληρούν τις απαιτήσεις για τις ποσοτικές δοκιμές.

2.3. Οι *ποσοτικές μέθοδοι* πληρούν τις ίδιες απαιτήσεις για την ορθότητα, το δυναμικό πεδίο τιμών και την ακρίβεια, όπως οι επιβεβαιωτικές δοκιμές. Όταν απαιτείται ποσοτικός προσδιορισμός, οι ποσοτικές μέθοδοι επικυρώνονται όπως και οι επιβεβαιωτικές μέθοδοι.

3. **Ιστορικό**

Για τον υπολογισμό των τοξικών ισοδυνάμων (TEQ), οι συγκεντρώσεις των επιμέρους ουσιών σε ένα δεδομένο δείγμα πολλαπλασιάζονται επί τον αντίστοιχο συντελεστή τοξικής ισοδυναμίας (TEF), που έχει καθοριστεί από την Παγκόσμια Οργάνωση Υγείας και περιλαμβάνεται στον κατάλογο του προσαρτήματος του παρόντος παραρτήματος, 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 του παραρτήματος V, το αποδεκτό ειδικό όριο ποσοτικού προσδιορισμού μιας επιμέρους συγγενούς ουσίας είναι η συγκέντρωση ενός αναλύτη στο εκχύλισμα ενός δείγματος η οποία προκαλεί απόκριση του οργάνου για τα δυο διαφορετικά ιόντα που παρακολουθούνται με λόγο σήματος προς θόρυβο τουλάχιστον 3:1 για το ασθενέστερο σήμα και πληροί απόλυτα τα κριτήρια ταυτοποίησης που περιγράφονται, για παράδειγμα, στο πρότυπο prEN 16215 [Ζωοτροφές – Προσδιορισμός διοξινών και παρόμοιων με διοξίνες PCB με αεριοχρωματογραφία/φασματομετρία μάζας υψηλής διαχωριστικής ικανότητας (GC/HRMS) και των PCB-δεικτών με αεριοχρωματογραφία/φασματομετρία μάζας υψηλής διαχωριστικής ικανότητας (GC/HRMS)] ή/και στη μέθοδο EPA 1613, αναθεώρηση B.

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 επιβεβαιωτικές μέθοδοι μπορούν να εφαρμόζονται μόνο για τον έλεγχο συγκεκριμένης μήτρας δείγματος, εάν είναι αρκετά ευαίσθητες ώστε να ανιχνεύουν με αξιόπιστο τρόπο συγκεντρώσεις στο επίπεδο που ενδιαφέρει (όριο ανάληψης δράσης ή ανώτατο επίπεδο).

(*********) Οι βιοαναλυτικές μέθοδοι δεν είναι εξειδικευμένες για τις συγγενείς ουσίες που περιλαμβάνονται στο σύστημα των TEF. Μπορεί να υπάρχουν στο εκχύλισμα δείγματος άλλες ανάλογης δομής ενώσεις με δράση στους AhR (υποδοχείς αρυλικών υδρογονανθράκων) που να συμβάλλουν στη συνολική απόκριση. Επομένως, τα βιοαναλυτικά αποτελέσματα δεν μπορούν να αποτελούν εκτίμηση αλλά μάλλον ένδειξη του επιπέδου TEQ στο δείγμα.

4. **Απαιτήσεις διασφάλισης ποιότητας**

4.1. Πρέπει να λαμβάνονται μέτρα για την αποφυγή της επιμόλυνσης σε κάθε στάδιο της διαδικασίας δειγματοληψίας και ανάλυσης.

4.2. Τα δείγματα πρέπει να αποθηκεύονται και να μεταφέρονται σε κατάλληλους για το 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.

4.3. Η αποθήκευση και η μεταφορά των δειγμάτων πρέπει να διεξάγονται κατά τρόπο ώστε να διατηρείται η ακεραιότητα του δείγματος ζωοτροφής.

4.4. 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.

4.5. 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.

4.6. Πρέπει να εκτελείται ανάλυση τυφλού δείγματος με τη διεξαγωγή ολόκληρης της αναλυτικής διαδικασίας, από την οποία παραλείπεται μόνο το δείγμα.

4.7. 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.

4.8. 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 που ενδιαφέρουν.

4.9. Κατά τις ειδικές διαδικασίες προετοιμασίας των δειγμάτων που χρησιμοποιούνται για τα υπό εξέταση προϊόντα τηρούνται οι διεθνώς αποδεκτές κατευθυντήριες γραμμές.

5. **Απαιτήσεις για τα εργαστήρια**

5.1. 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 αναλυτικής ποιότητας. Η διαπίστευση των εργαστηρίων πραγματοποιείται σύμφωνα με το πρότυπο EN ISO/IEC 17025.

5.2. 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 ζωοτροφών και περιοχές συγκέντρωσης.

5.3. Τα εργαστήρια που εφαρμόζουν μεθόδους διαλογής για έλεγχο ρουτίνας των δειγμάτων συνεργάζονται στενά με τα εργαστήρια που εφαρμόζουν την επιβεβαιωτική μέθοδο, τόσο για τον έλεγχο ποιότητας όσο και για την επιβεβαίωση του αναλυτικού αποτελέσματος των ύποπτων δειγμάτων.

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

6.1. *Χαμηλό πεδίο τιμών εργασίας και όρια ποσοτικού προσδιορισμού*

Όσον αφορά τα PCDD/PCDF, οι ανιχνεύσιμες ποσότητες πρέπει να είναι στην ανώτερη κλίμακα των φεμτογραμμαρίων (10^{-15}g) εξαιτίας της εξαιρετικής τοξικότητας ορισμένων από τις ενώσεις αυτές. Για τα περισσότερα συγγενή PCB, το όριο του ποσοτικού προσδιορισμού στην κλίμακα των νανογραμμαρίων (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 κατώτερο άκρο του πεδίου τιμών εργασίας πρέπει να φθάνει τα χαμηλά επίπεδα των πικογραμμαρίων (10^{-12}g). Για όλα τα υπόλοιπα συγγενή PCB, ένα όριο ποσοτικού προσδιορισμού στην κλίμακα των νανογραμμαρίων (10^{-9}g) είναι ήδη επαρκές.

6.2. *Υψηλή εκλεκτικότητα (ειδικότητα).*

6.2.1. Τα PCDD/PCDF και τα παρόμοια με διοξίνες PCB πρέπει να διακρίνονται από την πληθώρα άλλων ενώσεων που συνεκχυλίζονται και πιθανώς είναι παρεμποδιστικές και οι οποίες περιέχονται σε συγκεντρώσεις έως και πολλές τάξεις μεγέθους υψηλότερες από εκείνες των αναλυτών 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.

6.2.2. Οι βιοαναλυτικές μέθοδοι πρέπει να μπορούν να ανιχνεύουν τις στοχευόμενες ενώσεις, όπως το άθροισμα των PCDD/PCDF και των παρόμοιων με διοξίνες PCB. Ο καθαρισμός των δειγμάτων αποσκοπεί στην απομάκρυνση των ενώσεων που οδηγούν σε ψευδώς μη συμμορφούμενα αποτελέσματα ή που μπορούν να μειώσουν την απόκριση, οδηγώντας σε ψευδοσυμμορφούμενα αποτελέσματα.

6.3. *Υψηλή ορθότητα (αληθότητα και ακρίβεια, φαινόμενη ανάκτηση βιολογικής δοκιμασίας)*

6.3.1. 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 ορθότητα εκφράζεται ως *αληθότητα* (διαφορά μεταξύ της μέσης τιμής που μετρήθηκε για έναν αναλύτη σε ένα πιστοποιημένο υλικό και της πιστοποιημένης τιμής του, εκφραζόμενη ως ποσοστό της τιμής αυτής) και ως *ακρίβεια* (RSD_R, σχετική τυπική απόκλιση που υπολογίζεται από τα αποτελέσματα τα οποία προκύπτουν υπό συνθήκες αναπαραγωγιμότητας).

6.3.2. Για τις βιοαναλυτικές μεθόδους, προσδιορίζεται η φαινόμενη ανάκτηση βιολογικής δοκιμασίας. Ως φαινόμενη ανάκτηση βιολογικής δοκιμασίας νοείται σημαίνει το επίπεδο BEQ που υπολογίζεται από την καμπύλη βαθμονόμησης με TCDD ή PCB 126, αφού διορθωθεί ως προς το τυφλό και στη συνέχεια διαιρεθεί διά της τιμής TEQ που προσδιορίζεται με τη μέθοδο GC/HRMS. 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 αντιπροσωπευτικά προφίλ συγγενών ουσιών κοντά στο επίπεδο που ενδιαφέρει.

6.4. *Επικύρωση στην περιοχή του επιπέδου που ενδιαφέρει και γενικά μέτρα ποιοτικού ελέγχου*

6.4.1. Τα εργαστήρια αποδεικνύουν την επίδοση μιας μεθόδου στην κλίμακα που ενδιαφέρει, π.χ. 0,5, 1 και 2 φορές το επίπεδο που ενδιαφέρει, συμπεριλαμβανομένου ενός αποδεκτού συντελεστή μεταβλητότητας για επαναλαμβανόμενες αναλύσεις, κατά τη διάρκεια της διαδικασίας επικύρωσης και της ανάλυσης ρουτίνας.

6.4.2. Πρέπει να διενεργούνται τακτικά τυφλοί έλεγχοι και πειράματα εμβολιασμού δειγμάτων ή αναλύσεις δειγμάτων-μαρτύρων (κατά προτίμηση, εφόσον είναι διαθέσιμο, πιστοποιημένου υλικού αναφοράς) ως μέτρα εσωτερικού ποιοτικού ελέγχου. 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.

6.5. *Όριο ποσοτικού προσδιορισμού*

6.5.1. 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 δήλωσης πρέπει αποδεδειγμένα να είναι τουλάχιστον τριπλάσιο εκείνου των τυφλών δειγμάτων διαδικασίας, με απόκριση χαμηλότερη από το πεδίο τιμών 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.

6.5.2. Το LOQ για μια επιβεβαιωτική μέθοδο αντιστοιχεί περίπου στο ένα πέμπτο του επιπέδου που ενδιαφέρει.

6.6. *Κριτήρια ανάλυσης*

Για να προκύπτουν αξιόπιστα αποτελέσματα από τις επιβεβαιωτικές μεθόδους ή τις μεθόδους διαλογής, πρέπει να ικανοποιούνται τα ακόλουθα κριτήρια για την τιμή TEQ ή την τιμή BEQ, αντίστοιχα, είτε ως συνολική τιμή TEQ (άθροισμα των PCDD/PCDF και των παρόμοιων με διοξίνες PCB) είτε χωριστά για τα PCDD/PCDF και τα παρόμοια με διοξίνες PCB.

	Διαλογή με βιοαναλυτικές ή φυσικοχημικές μεθόδους	Επιβεβαιωτικές μέθοδοι
Ποσοστό ψευδοσυμμορφούμενων αποτελεσμάτων (*)	< 5 %	
Αληθότητα		– 20 % έως + 20 %
Επαναληψιμότητα (RSD_r)	< 20 %	
Ενδοεργαστηριακή αναπαραγωγιμότητα (RSD_R)	< 25 %	< 15 %

(*) Όσον αφορά τα ανώτατα επίπεδα.

6.7. *Ειδικές απαιτήσεις για μεθόδους διαλογής*

6.7.1. Για τη διαλογή μπορούν να χρησιμοποιούνται τόσο οι μέθοδοι GC/MS όσο και βιοαναλυτικές μέθοδοι. Για τις μεθόδους GC/MS πρέπει να πληρούνται οι απαιτήσεις του σημείου 7. Για τις κυτταρικές βιοαναλυτικές μεθόδους καθορίζονται ειδικές απαιτήσεις στο σημείο 8.

6.7.2. Τα εργαστήρια που εφαρμόζουν μεθόδους διαλογής για τον έλεγχο ρουτίνας των δειγμάτων συνεργάζονται στενά με τα εργαστήρια που εφαρμόζουν την επιβεβαιωτική μέθοδο.

6.7.3. Απαιτείται επαλήθευση των επιδόσεων της μεθόδου διαλογής κατά τη διάρκεια των αναλύσεων, μέσω αναλυτικού ποιοτικού ελέγχου και διαρκούς επικύρωσης μεθόδου. Πρέπει να υπάρχει πρόγραμμα συνεχούς ελέγχου των συμμορφούμενων αποτελεσμάτων.

6.7.4. 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 σε ποσότητα που αντιστοιχεί στο επίπεδο που ενδιαφέρει, για να ελεγχθεί αν η απόκριση καταστέλλεται ενδεχομένως από παρεμποδιστικές ουσίες που περιέχονται στο εκχύλισμα δείγματος. Η μετρούμενη συγκέντρωση του εμβολιασμένου δείγματος συγκρίνεται με το άθροισμα της συγκέντρωσης του μη εμβολιασμένου εκχυλίσματος 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.

6.7.5. Ποιοτικός έλεγχος σε συμμορφούμενα δείγματα

Περίπου το 2 έως 10 % των συμμορφούμενων δειγμάτων, ανάλογα με τη μήτρα δείγματος και την εργαστηριακή πείρα, επιβεβαιώνονται με τη μέθοδο GC/HRMS.

6.7.6. 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 ψευδοσυμμορφούμενων αποτελεσμάτων πρέπει να είναι μικρότερα 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 εξάγονται 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 μόλυνσης και καλύπτουν εύρος συγκεντρώσεων έως και, π.χ., το διπλάσιο του ανώτατου επιπέδου (ΑΕ). Τα δείγματα καλύπτουν τα συχνότερα εμφανιζόμενα προφίλ συγγενών ουσιών και αντιπροσωπεύουν διάφορες πηγές.

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

6.7.7. Τα δείγματα για τα οποία υπάρχει υπόνοια μη συμμόρφωσης από τη διαλογή επαληθεύονται πάντα μέσω επιβεβαιωτικής μεθόδου ανάλυσης (GC/HRMS). Τα εν λόγω δείγματα μπορούν επίσης να χρησιμοποιούνται για την αξιολόγηση του ποσοστού των ψευδοσυμμορφούμενων αποτελεσμάτων. Για τις μεθόδους διαλογής, το ποσοστό των ψευδοσυμμορφούμενων αποτελεσμάτων αντιστοιχεί στο μέρος των αποτελεσμάτων των οποίων η συμμόρφωση επιβεβαιώνεται μέσω της επιβεβαιωτικής ανάλυσης GC/HRMS, 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 το συνολικό αριθμό των ελεγχθέντων δειγμάτων. Αυτό το ποσοστό πρέπει να είναι αρκετά χαμηλό για να θεωρείται πλεονεκτική η χρήση της μεθόδου διαλογής.

6.7.8. Τουλάχιστον υπό συνθήκες επικύρωσης, οι βιοαναλυτικές μέθοδοι παρέχουν έγκυρη ένδειξη του επιπέδου TEQ, υπολογισμένου και εκφρασμένου σε BEQ.

Επίσης, για τις βιοαναλυτικές μεθόδους που εφαρμόζονται υπό συνθήκες επαναληψιμότητας, η ενδοεργαστηριακή RSD_r είναι κατά κανόνα μικρότερη από την αναπαραγωγιμότητα RSD_R.

7. **Ειδικές απαιτήσεις για μεθόδους GC/MS που πρέπει να τηρούνται για σκοπούς διαλογής ή επιβεβαίωσης**

7.1. *Γενικές απαιτήσεις*

Η διαφορά μεταξύ του ανώτερου και του κατώτερου ορίου των αποτελεσμάτων δεν πρέπει να υπερβαίνει το 20 % για τις ζωοτροφές με μόλυνση περίπου 1 ng WHO-TEQ/g προϊόντος, με υγρασία 12 % (με βάση το άθροισμα των PCDD/F και των παρόμοιων με διοξίνες PCB). Για χαμηλότερα επίπεδα μόλυνσης, π.χ. 0,5 ng WHO-TEQ/g προϊόντος, η διαφορά μεταξύ ανώτερου και κατώτερου ορίου μπορεί να κυμαίνεται μεταξύ 25 % και 40 %.

7.2. *Έλεγχος των ποσοστών ανάκτησης*

7.2.1. Η προσθήκη των εσωτερικών προτύπων υποκατεστημένα στις θέσεις 2, 3, 7, 8 PCDD/PCDF με ισοτοπική επισήμανση ^{13}C και παρόμοια με διοξίνες PCB με ισοτοπική επισήμανση ^{13}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 επιβεβαιωτικών μεθόδων, χρησιμοποιούνται ως εσωτερικά πρότυπα και τα 17 υποκατεστημένα στις θέσεις 2,3,7,8 PCDD/PCDF με ισοτοπική επισήμανση ^{13}C, καθώς επίσης και τα 12 παρόμοια με διοξίνες PCB με ισοτοπική επισήμανση ^{13}C.

7.2.2. Πρέπει επίσης να προσδιορίζονται οι συντελεστές σχετικής απόκρισης για τις συγγενείς ουσίες για τις οποίες δεν προστίθεται ανάλογη ουσία με ισοτοπική επισήμανση ^{13}C, με τη χρησιμοποίηση των κατάλληλων διαλυμάτων βαθμονόμησης.

7.2.3. Για τις ζωοτροφές φυτικής προέλευσης και τις ζωοτροφές ζωικής προέλευσης που περιέχουν λιγότερο από 10 % λίπος, είναι υποχρεωτική η προσθήκη των εσωτερικών προτύπων πριν από την εκχύλιση. Για τις ζωοτροφές 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 απόδοσης της εκχύλισης, ανάλογα με το στάδιο στο οποίο εισάγονται εσωτερικά πρότυπα και με το αν τα αποτελέσματα αναφέρονται με βάση το προϊόν ή το λίπος.

7.2.4. Πριν από την ανάλυση GC/MS, πρέπει να προστίθενται ένα ή δύο πρότυπα ανάκτησης (υποκατάστατα).

7.2.5. Απαιτείται έλεγχος της ανάκτησης. Για τις μεθόδους επιβεβαίωσης, τα ποσοστά ανάκτησης των επιμέρους 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 %.

7.3. *Απομάκρυνση παρεμποδιστικών ουσιών*

— Διαχωρίζονται τα 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 florisil, αλουμίνας ή/και 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 %).

7.4. *Βαθμονόμηση με πρότυπη καμπύλη*

Το εύρος της καμπύλης βαθμονόμησης καλύπτει το σχετικό εύρος των επιπέδων που ενδιαφέρουν.

8. **Ειδικές απαιτήσεις για τις βιοαναλυτικές μεθόδους**

Οι βιοαναλυτικές μέθοδοι είναι μέθοδοι που βασίζονται στη χρήση βιολογικών αρχών, όπως οι κυτταρικές δοκιμασίες, οι δοκιμασίες με υποδοχείς ή οι ανοσολογικές δοκιμασίες. Το παρόν σημείο 8 καθορίζει απαιτήσεις για τις βιοαναλυτικές μεθόδους γενικά.

Καταρχήν, 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 σημείο 8.3). 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 επιβεβαιωτική μέθοδο. Στην πράξη, ένα επίπεδο BEQ που αντιστοιχεί στα 2/3 του ανώτατου επιπέδου μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως η πιο κατάλληλη τιμή αποκοπής που εξασφαλίζει ποσοστό ψευδοσυμμορφούμενων αποτελεσμάτων κάτω από 5 % και ένα αποδεκτό ποσοστό ψευδώς μη συμμορφούμενων αποτελεσμάτων. Με χωριστά ανώτατα επίπεδα για τα 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 της βιολογικής δοκιμασίας για PCDD/F. Για τον έλεγχο των δειγμάτων που υπερβαίνουν τα όρια ανάληψης δράσης, η τιμή αποκοπής μπορεί να είναι ένα κατάλληλο ποσοστό του αντίστοιχου επιπέδου που ενδιαφέρει.

Επίσης, στην περίπτωση ορισμένων βιοαναλυτικών μεθόδων, μπορεί να αναφέρεται ένα ενδεικτικό επίπεδο, εκφρασμένο σε BEQ, για τα δείγματα που περικλείονται στο πεδίο τιμών εργασίας και υπερβαίνουν το όριο δήλωσης (βλέπε σημεία 8.1.1 και 8.1.6).

8.1. *Αξιολόγηση της απόκρισης στη δοκιμή*

8.1.1. Γενικές απαιτήσεις

— Κατά τον υπολογισμό των συγκεντρώσεων από καμπύλη βαθμονόμησης με TCDD, οι τιμές στο κατώτερο και στο ανώτερο άκρο της καμπύλης θα εμφανίζουν σημαντική μεταβλητότητα [υψηλός συντελεστής μεταβλητότητας (CV)]. Το πεδίο τιμών εργασίας είναι η περιοχή στην οποία αυτή η CV είναι μικρότερη από 15 %. Το κατώτερο άκρο του πεδίου τιμών εργασίας (όριο δήλωσης) ορίζεται τουλάχιστον σε επίπεδο τριπλάσιο εκείνου των τυφλών δειγμάτων διαδικασίας. Το ανώτερο άκρο του πεδίου τιμών εργασίας αντιπροσωπεύεται συνήθως από την τιμή EC_{70} (70 % της μέγιστης αποτελεσματικής συγκέντρωσης), αλλά είναι χαμηλότερο αν η CV είναι μεγαλύτερη από 15 % σε αυτή την περιοχή. Το πεδίο τιμών εργασίας καθορίζεται κατά την επικύρωση. Η τιμή αποκοπής (βλέπε σημείο 8.3) πρέπει να βρίσκεται εντός του πεδίου τιμών εργασίας.

— Τα πρότυπα διαλύματα και τα εκχυλίσματα των δειγμάτων υποβάλλονται σε δοκιμή τουλάχιστον εις διπλούν. Κατά τη διπλή δοκιμή, ένα πρότυπο διάλυμα ή ένα εκχύλισμα-μάρτυρας σε 4 έως 6 μικροκυψελίδες κατανεμημένες σε όλη την πλάκα, προκαλεί απόκριση ή συγκέντρωση (δυνατό μόνο στο πεδίο τιμών εργασίας) με βάση CV < 15 %.

8.1.2. Βαθμονόμηση

8.1.2.1. *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 κατώτερο μέρος της (πεδίο τιμών εργασίας). Αποδίδεται ιδιαίτερη προσοχή στην ποιότητα της προσαρμογής της καμπύλης στο πεδίο τιμών εργασίας. Οι τιμές R^2 από μόνες τους έχουν μικρή ή μηδενική 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 ελάχιστων τετραγώνων).

— Στη συνέχεια, το εκτιμώμενο επίπεδο στο εκχύλισμα του δείγματος διορθώνεται ως προς το επίπεδο BEQ που υπολογίζεται για ένα τυφλό δείγμα μήτρας/διαλύτη (για να ληφθούν υπόψη οι προσμίξεις 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 επίπεδο που ενδιαφέρει). Για να γίνει η διόρθωση ως προς την ανάκτηση, η φαινόμενη ανάκτηση πρέπει να βρίσκεται εντός του απαιτούμενου πεδίου τιμών (βλέπε σημείο 8.1.4). Τα δείγματα αναφοράς που χρησιμοποιούνται για τη διόρθωση ως προς την ανάκτηση πρέπει να πληρούν τις απαιτήσεις του σημείου 8.2.

8.1.2.2. *Βαθμονόμηση με δείγματα αναφοράς*

Εναλλακτικά μπορεί να χρησιμοποιείται μια καμπύλη βαθμονόμησης που χαράσσεται με τη βοήθεια τουλάχιστον 4 δειγμάτων αναφοράς κοντά στο επίπεδο που ενδιαφέρει (βλέπε σημείο 8.2.4: ένα τυφλό δείγμα μήτρας, συν τρία δείγματα αναφοράς με επίπεδα 0,5, 1,0 και 2,0 φορές το επίπεδο που ενδιαφέρει), με αποτέλεσμα να μην υπάρχει πλέον ανάγκη για διόρθωση ως προς το τυφλό και την ανάκτηση. Στην περίπτωση αυτή, η απόκριση στη δοκιμή που αντιστοιχεί στα 2/3 του ανώτατου επιπέδου (βλέπε σημείο 8.3) μπορεί να υπολογιστεί απευθείας 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 αυτών των ορίων ανάληψης δράσης.

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

Τα εκχυλίσματα μπορούν να διαιρούνται σε μέρη που περιέχουν τα 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. Για την αξιολόγηση των αποτελεσμάτων για το μέρος που περιέχει τα παρόμοια με διοξίνες PCB χρησιμοποιείται, κατά προτίμηση, η πρότυπη καμπύλη βαθμονόμησης με PCB 126.

8.1.4. Φαινόμενη ανάκτηση βιολογικής δοκιμασίας

Η φαινόμενη ανάκτηση βιολογικής δοκιμασίας υπολογίζεται από κατάλληλα δείγματα αναφοράς, με αντιπροσωπευτικά προφίλ συγγενών ουσιών κοντά στο επίπεδο που ενδιαφέρει, 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 τα 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 25 % έως 60 % και για τα 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 δείγματος 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 τα PCDD/PCDF και τα παρόμοια με διοξίνες PCB επιβάλλεται η αναθεώρηση αυτών των πεδίων τιμών.

(**********) Οι ισχύουσες απαιτήσεις βασίζονται στις TEF που δημοσιεύτηκαν στο: M. Van den Berg et al, Toxicol Sci 93 (2), 223–241 (2006).

8.1.5. Έλεγχος των ποσοστών ανάκτησης για τον καθαρισμό

Κατά την επικύρωση ελέγχεται η απώλεια ενώσεων κατά τη διάρκεια του καθαρισμού. Ένα τυφλό δείγμα εμβολιασμένο με μείγμα των διαφόρων συγγενών ουσιών υποβάλλεται σε καθαρισμό (n = 3 τουλάχιστον) και η ανάκτηση και μεταβλητότητα ελέγχονται με ανάλυση GC/HRMS. 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.

8.1.6. Όριο δήλωσης

Για την αναφορά επιπέδων BEQ, καθορίζεται ένα όριο δήλωσης από σχετικά δείγματα μήτρας που περιέχουν τυπικά προφίλ συγγενών ουσιών, αλλά όχι από την καμπύλη βαθμονόμησης των προτύπων, εξαιτίας της χαμηλής ακρίβειας στην κατώτερη περιοχή 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.

8.2. *Χρήση δειγμάτων αναφοράς*

8.2.1. Τα δείγματα αναφοράς αντιπροσωπεύουν τη μήτρα του δείγματος, τα προφίλ συγγενών ουσιών και το εύρος συγκεντρώσεων για τα PCDD/PCDF και τα παρόμοια με διοξίνες PCB κοντά στο επίπεδο που ενδιαφέρει.

8.2.2. Σε κάθε σειρά δοκιμών πρέπει να περιλαμβάνονται ένα τυφλό δείγμα μήτρας και, εάν αυτό δεν είναι δυνατό, ένα τυφλό δείγμα διαδικασίας και ένα δείγμα αναφοράς στο επίπεδο που ενδιαφέρει. 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 χρησιμοποιούνται για διόρθωση ως προς το τυφλό και την ανάκτηση.

8.2.3. 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.

8.2.4. Μπορούν να συμπεριλαμβάνονται επιπλέον δείγματα αναφοράς με συγκέντρωση π.χ. 0,5 φορά και 2 φορές το επίπεδο που ενδιαφέρει, ώστε να αποδεικνύεται η κατάλληλη επίδοση της δοκιμής στο πεδίο τιμών που ενδιαφέρει για τον έλεγχο του επιπέδου που ενδιαφέρει. Αυτά τα δείγματα, συνδυασμένα, μπορούν να χρησιμοποιούνται για τον υπολογισμό των επιπέδων BEQ στα δείγματα δοκιμών (βλέπε σημείο 8.1.2.2).

8.3. *Καθορισμός των τιμών αποκοπής*

Καθορίζεται η σχέση μεταξύ των βιοαναλυτικών αποτελεσμάτων σε BEQ και των αποτελεσμάτων της GC/HRMS σε TEQ, π.χ. με πειράματα βαθμονόμησης με αντιστοίχιση μήτρας, που περιλαμβάνουν δείγματα αναφοράς εμβολιασμένα με 0, 0,5, 1 και 2 φορές το ανώτατο επίπεδο, 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 8.2.2.

Καθορίζονται τιμές αποκοπής για τη διαπίστωση της συμμόρφωσης ενός δείγματος με τα ανώτατα επίπεδα ή, στην περίπτωση του ελέγχου των ορίων ανάληψης δράσης,, της συμμόρφωσης με τα αντίστοιχα επίπεδα που ενδιαφέρουν και τα οποία έχουν καθοριστεί είτε μόνο για τα PCDD/PCDF και τα παρόμοια με διοξίνες PCB, είτε για το άθροισμα των PCDD/PCDF και των παρόμοιων με διοξίνες PCB. Αντιπροσωπεύονται από το *κατώτερο* άκρο της κατανομής των βιοαναλυτικών αποτελεσμάτων (διορθωμένων ως προς το τυφλό και την ανάκτηση) το οποίο αντιστοιχεί στο όριο απόφασης της GC/HRMS με διάστημα εμπιστοσύνης 95 %, δηλαδή με ποσοστό ψευδοσυμμορφούμενων αποτελεσμάτων < 5 %, και RSD_R < 25 %. Το όριο απόφασης της GC/HRMS είναι το ανώτατο επίπεδο, λαμβανομένης υπόψη της αβεβαιότητας των μετρήσεων.

Η τιμή αποκοπής (σε BEQ) μπορεί να υπολογιστεί σύμφωνα με μία από τις προσεγγίσεις που καθορίζονται στα σημεία 8.3.1, 8.3.2 και 8.3.3 (βλέπε σχήμα 1):

8.3.1. Χρήση της *χαμηλότερης* περιοχής του διαστήματος πρόβλεψης 95 % στο όριο απόφασης της GC/HRMS

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

όπου:

BEQ_{DL} το BEQ που αντιστοιχεί στο όριο απόφασης της GC/HRMS και είναι το ανώτατο επίπεδο, συμπεριλαμβανομένης της αβεβαιότητας των μετρήσεων

$s_{y,x}$ τυπική απόκλιση υπολοίπων

$t_{\alpha,f=m-2}$ ο συντελεστής student (α = 5 %, f = βαθμοί ελευθερίας, μονόπλευρος έλεγχος)

m συνολικός αριθμός σημείων βαθμονόμησης (δείκτης j)

n αριθμός επαναλήψεων σε κάθε επίπεδο

x_i συγκέντρωση του δείγματος της GC/HRMS (σε TEQ) του σημείου βαθμονόμησης i

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

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

8.3.2. Υπολογισμός από βιοαναλυτικά αποτελέσματα (διορθωμένα ως προς το τυφλό και την ανάκτηση) πολλαπλής ανάλυσης (n ≥ 6) δειγμάτων μολυσμένων σε επίπεδο ίσο με το όριο απόφασης της GC/HRMS, ως το *κατώτερο* άκρο της κατανομής των δεδομένων στην αντίστοιχη μέση τιμή BEQ:

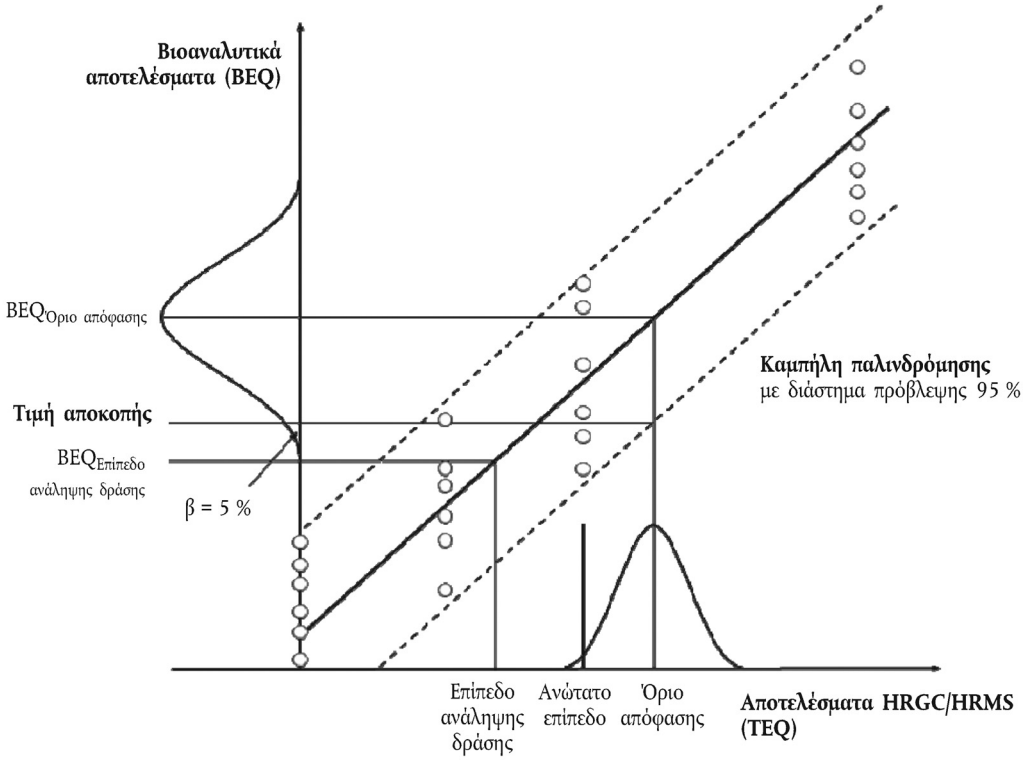
$$\text{Τιμή αποκοπής} = BEQ_{DL} - 1{,}64 \times SD_R$$

όπου:

SD_R τυπική απόκλιση των αποτελεσμάτων βιολογικής δοκιμασία στο BEQ_{DL}, μετρούμενη υπό συνθήκες ενδοεργαστηριακής επαναληψιμότητας

8.3.3. Υπολογισμός ως μέση τιμή των βιοαναλυτικών αποτελεσμάτων (σε BEQ, με διόρθωση ως προς το τυφλό και την ανάκτηση) από πολλαπλή ανάλυση (n ≥ 6) δειγμάτων μολυσμένων σε επίπεδο ίσο με τα 2/3 του επιπέδου που ενδιαφέρει· αυτή η διαδικασία βασίζεται στην παρατήρηση ότι αυτό το επίπεδο θα είναι περίπου η τιμή αποκοπής που προσδιορίζεται στο σημείο 8.3.1 ή 8.3.2:

Σχήμα 1



Υπολογισμός των τιμών αποκοπής με διάστημα εμπιστοσύνης 95 %, δηλαδή με ποσοστό ψευδοσυμμορφούμενων αποτελεσμάτων < 5 % και RSD_R < 25 %: 1. από τη *χαμηλότερη* περιοχή του διαστήματος πρόβλεψης 95 % στο όριο απόφασης της HRGC/HRMS, 2. από πολλαπλή ανάλυση (n ≥ 6) δειγμάτων μολυσμένων σε επίπεδο ίσο με το όριο απόφασης της HRGC/HRMS, ως το *κατώτερο* άκρο της κατανομής των δεδομένων (που παριστάνεται στο γράφημα με κωδωνοειδή καμπύλη) στην αντίστοιχη μέση τιμή BEQ.

8.3.4. Περιορισμοί στις τιμές αποκοπής:

Οι τιμές αποκοπής βάσει των BEQ που υπολογίζονται από την RSD_R, η οποία επιτυγχάνεται κατά την επικύρωση με τη χρήση περιορισμένου αριθμού δειγμάτων με διαφορετικές μήτρες/προφίλ συγγενών ουσιών, μπορεί να είναι υψηλότερες από τα επίπεδα ενδιαφέροντος βάσει των TEQ, λόγω μεγαλύτερης ακρίβειας από εκείνη που επιτυγχάνεται στις αναλύσεις ρουτίνας όταν πρέπει να ελεγχθεί ένα άγνωστο φάσμα πιθανών προφίλ συγγενών ουσιών. Σε αυτές τις περιπτώσεις οι τιμές αποκοπής υπολογίζονται από μια RSD_R = 25 % ή προτιμώνται τα δύο τρίτα του επιπέδου που ενδιαφέρει.

8.4. *Χαρακτηριστικά επιδόσεων*

8.4.1. Εκτελούνται δοκιμές για την επαναληψιμότητα των βιοαναλυτικών μεθόδων προκειμένου να αντλούνται πληροφορίες σχετικά με την τυπική απόκλιση στα πλαίσια μιας σειράς δοκιμών. Η επαναληψιμότητα είναι μικρότερη από 20 % και η ενδοεργαστηριακή αναπαραγωγιμότητα μικρότερη από 25 %, με βάση τα υπολογιζόμενα επίπεδα, σε BEQ, μετά τη διόρθωση ως προς το τυφλό και την ανάκτηση.

8.4.2. 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 8.1.2).

8.4.3. Πρέπει να καθορίζονται οι στοχευόμενες ενώσεις, οι πιθανές παρεμποδίσεις και τα μέγιστα ανεκτά επίπεδα τυφλού.

8.4.4. 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 %.

8.4.5. Τα μη διορθωμένα αποτελέσματα για το δείγμα/τα δείγματα αναφοράς, σε BEQ (τυφλό και επίπεδο που ενδιαφέρει), χρησιμοποιούνται για την αξιολόγηση της επίδοσης της βιοαναλυτικής μεθόδου για μια σταθερή περίοδο.

8.4.6. 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 κατώτερο 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.

8.4.7. Τα αποτελέσματα από τις αναλύσεις με GC/HRMS των δειγμάτων για τα οποία υπάρχει υπόνοια ότι δεν συμμορφώνονται και του 2 % έως 10 % των δειγμάτων που συμμορφώνονται (τουλάχιστον 20 δείγματα ανά μήτρα δείγματος) 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 ισχύουν για τα δείγματα ρουτίνας για τις επικυρωμένες μήτρες δείγματος.

8.4.8. 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 προφίλ συγγενών ουσιών με τη μεγαλύτερη συχνότητα εμφάνισης και αντιπροσωπεύουν διάφορες πηγές.

8.4.9. Κατά τη διάρκεια περιστατικών μπορούν να επαναξιολογούνται οι τιμές αποκοπής, ώστε να αντιπροσωπεύουν καλύτερα τις συγκεκριμένες μήτρες δείγματος και προφίλ συγγενών ουσιών του μεμονωμένου περιστατικού.

9. **Αναφορά των αποτελεσμάτων**

9.1. *Επιβεβαιωτικές μέθοδοι*

9.1.1. 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 κατώτερου ορίου, ανώτερου 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.

9.1.2. Η έκθεση περιλαμβάνει τη χρησιμοποιούμενη μέθοδο για την εκχύλιση των PCDD/PCDF, των παρόμοιων με διοξίνες PCB και των λιπιδίων.

9.1.3. Τα ποσοστά ανάκτησης των επιμέρους εσωτερικών προτύπων πρέπει να αναφέρονται σε περίπτωση που βρίσκονται εκτός του εύρους που αναφέρεται στο σημείο 7.2.5, σε περίπτωση υπέρβασης του ανώτατου επιπέδου, καθώς και σε άλλες περιπτώσεις, κατόπιν σχετικής αίτησης.

9.1.4. Η αβεβαιότητα των μετρήσεων πρέπει να αναφέρεται, επειδή η παράμετρος αυτή πρέπει να λαμβάνεται υπόψη όταν κρίνεται αν ένα δείγμα συμμορφώνεται ή όχι. Τα αποτελέσματα της ανάλυσης πρέπει επομένως να αναφέρονται ως «x +/- U», όπου x είναι το αποτέλεσμα της ανάλυσης και U είναι η διευρυμένη αβεβαιότητα των μετρήσεων, χρησιμοποιώντας συντελεστή κάλυψης 2 ο οποίος δίνει διάστημα 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 τα PCDD/PCDF και τα παρόμοια με διοξίνες PCB.

9.1.5. Εάν η αβεβαιότητα των μετρήσεων λαμβάνεται υπόψη μέσω του CCα (όπως περιγράφεται στο σημείο 2.2), πρέπει να αναφέρεται αυτή η παράμετρος.

9.1.6. Τα αποτελέσματα εκφράζονται στις ίδιες μονάδες και με τον ίδιο (τουλάχιστον) αριθμό σημαντικών ψηφίων όπως τα ανώτατα επίπεδα που καθορίζονται στην οδηγία 2002/32/ΕΚ.

9.2. *Βιοαναλυτικές μέθοδοι διαλογής*

9.2.1. Το αποτέλεσμα της διαλογής εκφράζεται ως «συμμορφούμενο» ή «πιθανώς μη συμμορφούμενο» («ύποπτο»).

9.2.2. Επιπλέον, μπορεί να αναφέρεται ένα αποτέλεσμα για τα PCDD/PCDF ή/και τα παρόμοια με διοξίνες PCB, εκφρασμένο σε BEQ (αντί των TEQ).

9.2.3. Εάν αναφέρεται η αβεβαιότητα των μετρήσεων όσον αφορά το επίπεδο BEQ που υπολογίστηκε, π.χ. ως τυπική απόκλιση, πρέπει να βασίζεται τουλάχιστον σε τριπλή ανάλυση του δείγματος (της εκχύλισης, του καθαρισμού και του προσδιορισμού της απόκρισης στη δοκιμή συμπεριλαμβανομένων).

9.2.4. Τα δείγματα με απόκριση χαμηλότερη από το όριο δήλωσης αναφέρονται με την ένδειξη «κάτω από το όριο δήλωσης».

9.2.5. Για κάθε είδος μήτρας δείγματος η έκθεση αναφέρει το επίπεδο που ενδιαφέρει στο οποίο βασίζεται η αξιολόγηση.

9.2.6. Η έκθεση αναφέρει τον τύπο της εφαρμοζόμενης δοκιμής, τη βασική αρχή της και το είδος της βαθμονόμησης.

9.2.7. Η έκθεση περιλαμβάνει τη χρησιμοποιούμενη μέθοδο για την εκχύλιση των PCDD/PCDF, των παρόμοιων με διοξίνες PCB και των λιπιδίων.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ III

Προετοιμασια των δειγματων και απαιτησεισ για τισ μεθοδουσ αναλυσησ που χρησιμοποιουνται για τον επισημο ελεγχο των επιπεδων των μη παρομοιων με τισ διοξινεσ PCB (PCB # 28, 52, 101, 138, 153, 180)

1. **Ισχύουσες μέθοδοι ανίχνευσης**

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

2. **ΤΑΥΤΟΠΟΙΗΣΗ ΚΑΙ ΕΠΙΒΕΒΑΙΩΣΗ ΤΩΝ ΑΝΑΛΥΤΩΝ ΠΟΥ ΕΝΔΙΑΦΕΡΟΥΝ**

2.1. Σχετικός χρόνος κατακράτησης σε σχέση με τα εσωτερικά πρότυπα ή πρότυπα αναφοράς (αποδεκτή απόκλιση +/– 0,25 %).

2.2. Αεριοχρωματογραφικός διαχωρισμός και των έξι PCB-δεικτών (PCB 28, PCB 52, PCB 101, PCB 138, PCB 153 και PCB 180) από παρεμποδιστικές ουσίες, κυρίως από τα συνεκλουόμενα PCB, ιδίως αν τα επίπεδα των δειγμάτων βρίσκονται κοντά στα νόμιμα όρια και πρέπει να επιβεβαιωθεί η μη συμμόρφωση.

Σημείωση: Συγγενείς ουσίες που διαπιστώνεται συχνά ότι συνεκλούονται είναι π.χ. τα PCB 28/31, PCB 52/69 και PCB 138/163/164. Για τη μέθοδο GC/MS πρέπει επίσης να λαμβάνονται υπόψη οι πιθανές παρεμποδίσεις από θραύσματα συγγενών ουσιών υψηλότερου βαθμού χλωρίωσης.

2.3. *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 αφθονίας των επιλεγμένων θραυσμάτων μαζών:

Σχετική απόκλιση του λόγου αφθονίας των επιλεγμένων θραυσμάτων μαζών από τη θεωρητική αφθονία ή την πρότυπη καμπύλη βαθμονόμησης για το στοχευόμενο ιόν (το πιο άφθονο ιόν που παρακολουθείται) και το (τα) προσδιοριστικό (-ά) ιόν(-τα):

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

(*) Είναι διαθέσιμος επαρκής αριθμός θραυσμάτων μαζών με σχετική ένταση > 10 % και για το λόγο αυτό δεν συνιστάται η χρήση προσδιοριστικού(-ών) ιόντος(-ων) με σχετική ένταση χαμηλότερη από 10 % σε σύγκριση με το στοχευόμενο ιόν.

2.4. *Απαιτήσεις για τις τεχνικές GC/ECD:*

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

3. **Απόδειξη της επίδοσης της μεθόδου**

Επικύρωση της επίδοσης της μεθόδου στην περιοχή του επιπέδου που ενδιαφέρει (0,5 έως 2 φορές το επίπεδο που ενδιαφέρει) με αποδεκτό συντελεστή μεταβλητότητας για επαναλαμβανόμενες αναλύσεις (βλέπε απαιτήσεις για ενδιάμεση ακρίβεια στο σημείο 8).

4. **Όριο ποσοτικού προσδιορισμού**

Οι τιμές του τυφλού δείγματος δεν είναι μεγαλύτερες από το 30 % του επιπέδου μόλυνσης που αντιστοιχεί στο ανώτατο επίπεδο (**********).

(**********) Συνιστάται ιδιαιτέρως η μικρότερη συμμετοχή του επιπέδου του τυφλού δείγματος αντιδραστηρίου στο επίπεδο μιας πρόσμιξης δείγματος. Ο έλεγχος της μεταβλητότητας των επιπέδων των τυφλών δειγμάτων, κυρίως αν αυτά αφαιρούνται, αποτελεί αρμοδιότητα του εργαστηρίου.

5. **Ποιοτικός έλεγχος**

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

6. **Έλεγχος ποσοστών ανάκτησης**

6.1. Χρήση κατάλληλων εσωτερικών προτύπων με φυσικοχημικές ιδιότητες παρόμοιες με των αναλυτών που ενδιαφέρουν.

6.2. Προσθήκη εσωτερικών προτύπων:

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

6.3. Απαιτήσεις για τις μεθόδους που χρησιμοποιούν και τα έξι συγγενή PCB δείκτες με ισοτοπική επισήμανση:

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

β) ανάκτηση 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 %.

6.4. Απαιτήσεις για τις μεθόδους που δεν χρησιμοποιούν και τα έξι εσωτερικά πρότυπα με ισοτοπική επισήμανση ή χρησιμοποιούν άλλα εσωτερικά πρότυπα:

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

β) ανάκτηση των εσωτερικών προτύπων με ισοτοπική επισήμανση από 60 έως 120 %·

γ) τα αποτελέσματα πρέπει να διορθώνονται ως προς την ανάκτηση των εσωτερικών προτύπων.

6.5. Τα ποσοστά ανάκτησης των συγγενών ουσιών χωρίς ισοτοπική επισήμανση ελέγχονται με εμβολιασμένα δείγματα ή δείγματα ποιοτικού ελέγχου με συγκεντρώσεις στο εύρος του επιπέδου που ενδιαφέρει. Τα ποσοστά ανάκτησης γι' αυτές τις συγγενείς ουσίες θεωρούνται αποδεκτά εάν κυμαίνονται μεταξύ 70 % και 120 %.

7. **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.

8. **Χαρακτηριστικά επιδόσεων: Κριτήρια για το άθροισμα των έξι PCB-δεικτών στο επίπεδο που ενδιαφέρει:**

Αληθότητα	– 30 έως + 30 %
Ενδιάμεση ακρίβεια (RSD %)	≤ 20 %
Διαφορά μεταξύ των υπολογισμών του ανώτερου και του κατώτερου ορίου	≤ 20 %

9. **Έκθεση των αποτελεσμάτων**

9.1. Εφόσον η χρησιμοποιούμενη διαδικασία ανάλυσης το επιτρέπει, τα αποτελέσματα της ανάλυσης πρέπει να περιέχουν τα επίπεδα των επιμέρους συγγενών PCB και να αναφέρονται ως κατώτερου ορίου, ανώτερου 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.

9.2. Η έκθεση πρέπει να περιλαμβάνει τη χρησιμοποιούμενη μέθοδο για την εκχύλιση των PCB και των λιπιδίων.

9.3. Τα ποσοστά ανάκτησης των επιμέρους εσωτερικών προτύπων πρέπει να αναφέρονται σε περίπτωση που βρίσκονται εκτός του εύρους που αναφέρεται στο σημείο 6, σε περίπτωση υπέρβασης του ανώτατου επιπέδου, καθώς και σε άλλες περιπτώσεις, κατόπιν σχετικής αίτησης.

9.4. Η αβεβαιότητα των μετρήσεων πρέπει να αναφέρεται, επειδή η παράμετρος αυτή πρέπει να λαμβάνεται υπόψη όταν κρίνεται αν ένα δείγμα συμμορφώνεται ή όχι. Τα αποτελέσματα της ανάλυσης πρέπει επομένως να αναφέρονται ως «x +/- U», όπου x είναι το αποτέλεσμα της ανάλυσης και U είναι η διευρυμένη αβεβαιότητα των μετρήσεων, χρησιμοποιώντας συντελεστή κάλυψης 2 ο οποίος δίνει διάστημα εμπιστοσύνης περίπου 95 %.

9.5. Εάν η αβεβαιότητα των μετρήσεων λαμβάνεται υπόψη μέσω του CCα (όπως περιγράφεται στο κεφάλαιο I, σημείο 2.1), η παράμετρος αυτή πρέπει να αναφέρεται.

9.6. Τα αποτελέσματα εκφράζονται στις ίδιες μονάδες και με τον ίδιο (τουλάχιστον) αριθμό σημαντικών ψηφίων όπως τα ανώτατα επίπεδα που καθορίζονται στην οδηγία 2002/32/ΕΚ.»