

II

(Muut kuin lainsäätämisyksessä hyväksyttävät säädökset)

ASETUKSET

KOMISSIO ASETUS (EU) N:o 252/2012,

annettu 21 päivänä maaliskuuta 2012,

näytteenotto- ja määrittämenetelmistä tietyissä elintarvikkeissa olevien dioksiinien, dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden ja muiden kuin dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden pitoisuuksien virallista tarkastusta varten sekä asetuksen (EY) N:o 1883/2006 kumoamisesta

(ETA:n kannalta merkityksellinen teksti)

EUROOPAN KOMISSIO, joka

ottaa huomioon Euroopan unionin toiminnasta tehdyn sopimuksen,

ottaa huomioon rehu- ja elintarvikelainsäädännön sekä eläinten terveyttä ja hyvinvointia koskevien sääntöjen mukaisuuden varmistamiseksi suoritettua virallisesta valvonnasta 29 päivänä huhtikuuta 2004 annetun Euroopan parlamentin ja neuvoston asetuksen (EY) N:o 882/2004⁽¹⁾ ja erityisesti sen 11 artiklan 4 kohdan,

sekä katsoo seuraavaa:

- (1) Tiettyjen elintarvikkeissa olevien vieraiden aineiden enimmäismäärien vahvistamisesta 19 päivänä joulukuuta 2006 annetussa komission asetuksessa (EY) N:o 1881/2006⁽²⁾ vahvistetaan enimmäismäärät muille kuin dioksiinien kaltaisille PCB-yhdisteille, dioksiineille ja furaaneille sekä dioksiinien, furaanien ja dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden summalle tietyissä elintarvikkeissa.
- (2) Dioksiinien, furaanien ja PCB-yhdisteiden vähentämisestä rehuista ja elintarvikkeista 23 päivänä elokuuta 2011 annetussa komission suosituksessa 2011/516/EU⁽³⁾ vahvistetaan toimintarajat, joiden tavoitteena on vähentää ennalta polykloorattujen dibentso-para-dioksiinien (PCDD) ja polykloorattujen dibentsofuraanien (PCDF) sekä dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden esiintymistä elintarvikkeissa. Toimintarajojen avulla toimivaltaiset viranomaiset ja toimijat voivat yksilöidä tapaukset, joissa on syytä tunnistaa saastumisen lähde ja toteuttaa toimia sen vähentämiseksi tai poistamiseksi.

- (3) Näytteenotto- ja määrittämenetelmistä tietyissä elintarvikkeissa olevien dioksiinien ja dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden pitoisuuksien virallista tarkastusta varten 19 päivänä joulukuuta 2006 annetussa komission asetuksessa (EY) N:o 1883/2006/EY⁽⁴⁾ vahvistetaan virallisessa tarkastuksessa sovellettavia näytteenotto- ja analyysimenetelmiä koskevat erityissäännökset.

- (4) Sen jälkeen kun uudet enimmäismäärät muille kuin dioksiinien kaltaisille PCB-yhdisteille voitiin vahvistaa Euroopan elintarviketurvallisuusviranomaisen (EFSA) annettua tieteellisen lausunnon muista kuin dioksiinien kaltaisista PCB-yhdisteistä, näiden enimmäismäärien soveltaminen sekä myös unionin tason yhdenmukaistaminen ja seulontamenetelmiä koskevien vaatimusten ajantasaistaminen edellyttävät huomattavia muutoksia. Selvyyden vuoksi on aiheellista korvata asetus (EY) N:o 1883/2006 tällä asetuksella.

- (5) Tässä asetuksessa vahvistetut säännökset koskevat ainoastaan dioksiinien, dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden ja muiden kuin dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden määrittämistä ja niihin liittyvää näytteenottoa asetuksen (EY) N:o 1881/2006 panemiseksi täytäntöön. Ne eivät ei vaikuta elävissä eläimissä ja niistä saatavissa tuotteissa olevien tiettyjen aineiden ja niiden jäämien osalta suoritettavista tarkastustoimenpiteistä ja direktiivien 85/358/ETY ja 86/469/ETY sekä päätösten 89/187/ETY ja 91/664/ETY kumoamisesta 29 päivänä huhtikuuta 1996 annetun neuvoston direktiivin 96/23/EY⁽⁵⁾ liitteissä III ja IV säädettyjen näytteenottostrategian, -tasojen ja -taajuuden soveltamiseen. Ne eivät vaikuta myöskään eräiden elävistä eläimistä ja eläintuotteista seurattavien aineiden ja niiden jäämien määrittämistä varten tehtävää virallista näytteenottoa koskevista yksityiskohtaisista säännöistä 23 päivänä helmikuuta 1998 tehdystä komission päätöksessä 98/179/EY⁽⁶⁾ säädettyjen kohdentamiskriteerien soveltamiseen.

⁽¹⁾ EUVL L 165, 30.4.2004, s. 1.

⁽²⁾ EUVL L 364, 20.12.2006, s. 5.

⁽³⁾ EUVL L 218, 24.8.2011, s. 23.

⁽⁴⁾ EUVL L 364, 20.12.2006, s. 32.

⁽⁵⁾ EYVL L 125, 23.5.1996, s.10.

⁽⁶⁾ EYVL L 65, 5.3.1998, s. 31.

- (6) Tehokasta seulonta-analyysimenetelmää, laajalti hyväksyttyä validointia ja suurta näytemäärää voidaan käyttää sellaisten näytteiden kartoittamiseen, joiden PCDD/PCDF-pitoisuudet ja dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden pitoisuudet ovat huomattavat (mieluiten valiten toimintarajan ylittäviä näytteitä ja varmistaen enimmäismäärät ylittävien näytteiden tulon valituiksi). Näiden näytteiden PCDD/PCDF-pitoisuudet ja dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden pitoisuudet täytyy määrittää varmistavan määrittämenetelmän avulla. Sen vuoksi on aiheellista vahvistaa seulontamenetelmää koskevat asianmukaiset vaatimukset sen varmistamiseksi, että väärin vaatimustenmukaisten tulosten osuus on enimmäismäärien osalta alle 5 prosenttia, sekä varmistavia määrittämenetelmiä koskevat tiukat vaatimukset. Varmistavat menetelmät mahdollistavat lisäksi pitoisuuksien määrittämisen myös matalilla taustapitoisuustasoilla. Tämä on merkittävää kehityssuuntauksien seurannan, altistumisen arvioinnin sekä enimmäismäärien ja toimintarajojen arvioinnin kannalta.
- (7) Erittäin suurikokoisten kalojen osalta on tarpeen määrittellä näytteenotto siten, että varmistetaan yhdenmukainen menettely kaikkialla unionissa.
- (8) Saman lajin ja samalta alueelta peräisin olevien kalojen dioksiinipitoisuudet, dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden pitoisuudet ja muiden kuin dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden pitoisuudet voivat vaihdella kalan koon ja/tai iän mukaan. Dioksiinien, dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden ja muiden kuin dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden pitoisuudet eivät välttämättä ole samat kalan kaikissa osissa. Siksi on tarpeen määrittellä näytteenotto ja näytteiden valmistelu siten, että varmistetaan yhdenmukainen menettely kaikkialla unionissa.
- (9) On tärkeää, että määritystulokset ilmoitetaan ja tulkitaan yhtenäisesti, jotta varmistetaan yhdenmukaistettu täytännönpano kaikkialla unionissa.
- (10) Tässä asetuksessa säädetty toimenpiteet ovat elintarviketjua ja eläinten terveyttä käsittelevän pysyvän komitean lausunnon mukaiset, eivätkä Euroopan parlamentti ja neuvosto ole vastustaneet niitä,

ON HYVÄKSYNYT TÄMÄN ASETUKSEN:

1 artikla

Tässä asetuksessa sovelletaan liitteessä I esitettyjä määritelmiä ja lyhenteitä.

2 artikla

Asetuksen (EY) N:o 1881/2006 liitteessä olevassa 5 jaksossa lueteltujen elintarvikkeiden dioksiini- ja furaanipitoisuuksien sekä dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden ja muiden kuin dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden pitoisuuksien viralliseen tarkastukseen tarkoitettujen näytteiden otettava tämän asetuksen liitteessä II vahvistettujen menetelmien mukaisesti.

3 artikla

Asetuksen (EY) N:o 1881/2006 liitteessä olevassa 5 jaksossa lueteltujen elintarvikkeiden dioksiini- ja furaanipitoisuuksien sekä dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden pitoisuuksien viralliseen tarkastukseen tarkoitettujen näytteiden valmistus ja analyysit on suoritettava tämän asetuksen liitteessä III vahvistettujen menetelmien mukaisesti.

4 artikla

Asetuksen (EY) N:o 1881/2006 liitteessä olevassa 5 jaksossa lueteltujen elintarvikkeiden muiden kuin dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden pitoisuuksien viralliseen tarkastukseen tarkoitettujen määritykset on suoritettava tämän asetuksen liitteessä IV vahvistettujen määrittämenetelmiä koskevien vaatimusten mukaisesti.

5 artikla

Kumotaan asetus (EY) N:o 1883/2006.

Viittauksia kumottuun asetukseen pidetään viittauksina tähän asetukseen.

6 artikla

Tämä asetus tulee voimaan kahdentenakymmenentenä päivänä sen jälkeen, kun se on julkaistu *Euroopan unionin virallisessa lehdessä*.

Sitä sovelletaan sen voimaantulopäivästä.

Tämä asetus on kaikilta osiltaan velvoittava, ja sitä sovelletaan sellaisenaan kaikissa jäsenvaltioissa.

Tehty Brysselissä 21 päivänä maaliskuuta 2012.

Komission puolesta
José Manuel BARROSO
Puheenjohtaja

LIITE I

Määritelmät ja lyhenteet

I MÄÄRITELMÄT

Tässä asetuksessa sovelletaan neuvoston direktiivin 96/23/EY täytäntöönpanosta määrittämenetelmien suorituskyvyn ja tulosten tulkinnan osalta 14 päivänä elokuuta 2002 tehdyn komission päätöksen 2002/657/EY ⁽¹⁾ liitteessä I vahvistettuja määritelmiä.

Näiden määritelmien lisäksi tässä asetuksessa sovelletaan seuraavia määritelmiä:

- 1.1 'Toimintarajalla' tarkoitetaan tietyn aineen määrää, joka on määritetty suosituksen 2011/516/EU liitteessä ja jonka ylittyessä käynnistetään tutkimukset saastumislähteen tunnistamiseksi tapauksissa, joissa havaitaan aineen kohonneita pitoisuuksia.
- 1.2 'Bioanalyttisillä menetelmillä' tarkoitetaan biologisiin periaatteisiin perustuvia menetelmiä, esimerkiksi solupohjaisia määrittäyksiä, reseptorimäärittäyksiä tai immunomäärittäyksiä. Niiden kautta ei saada tuloksia yhdistetasolla, vaan ainoastaan viite ⁽²⁾ TEQ-arvosta bioanalyttisinä ekvivalentteina (BEQ) ilmaistuna sen vuoksi, että kaikki vasteen tuottavassa näyteuutteessa olevat yhdisteet eivät täytä kaikkia TEQ-periaatteen vaatimuksia.
- 1.3 'Biotestin korjatulla saannolla' tarkoitetaan BEQ-arvoa, joka on laskettu TCDD:n tai PCB 126:n kalibrintikäyrästä korjattuna nollanäytteelle ja sen jälkeen jaettu GC-/HRMS-menetelmällä määritetyllä TEQ-arvolla. Sillä pyritään korjaamaan sellaisia tekijöitä kuin PCDD/PCDF-yhdisteiden ja dioksiinien kaltaisten yhdisteiden hävikkiä uuttamis- ja puhdistusvaiheissa, sellaisten mukana uuttuneiden yhdisteiden vaikutusta, jotka voivat voimistaa tai heikentää vastetta (agonistiset ja antagonistiset vaikutukset), käyrän sovituksen laatua tai toksisuusekvivalenssikertoimen (TEF) arvojen ja suhteellisen voimakkuuden (REP) arvojen välisiä eroja. Biotestin korjattu saanto lasketaan soveltuvista vertailunäytteistä, joissa on edustava kongeneerijakauma lähellä merkittävänä pidettyä tasoa olevissa pitoisuuksissa.
- 1.4 'Semikvantitatiivisilla menetelmillä' tarkoitetaan menetelmiä, jotka antavat suuntaa-antavan viitteen oletetun analyysin pitoisuudesta, mutta joiden numeerinen tulos ei täytä kvantitatiivisten menetelmien kriteerejä.
- 1.5 'Yksittäisen kongeneerin hyväksytyllä määrittärajalla' tarkoitetaan sitä näyteuutteessa olevan analyysin pitoisuutta, joka tuottaa kahdelle mitattavalle ionille mittalaitteessa vasteen, jossa vähemmän herkän ionin signaali-kohinasuhde on 3:1, ja joka täyttää tunnistamista koskevat kriteerit, jotka on kuvattu esimerkiksi standardissa prEN 16215 (Animal feed – Determination of dioxins and dioxin-like PCBs by GC/HRMS and of indicator PCBs by GC/HRMS) ja/tai EPA-menetelmän 1613 versiossa B.
- 1.6 'Suurimmilla arvoilla' tarkoitetaan käsitettä, jonka mukaan kunkin määrittämättä jääneen yhdisteen arvon oletetaan olevan määrittärajaa vastaava arvo.
- 1.7 'Pienimmillä arvoilla' tarkoitetaan käsitettä, jonka mukaan kunkin määrittämättä jääneen yhdisteen arvon oletetaan olevan nolla.
- 1.8 'Väliarvoilla' tarkoitetaan käsitettä, jonka mukaan kunkin määrittämättä jääneen yhdisteen arvon oletetaan olevan puolet määrittärajaa vastaavasta arvosta.
- 1.9 'Erällä' tarkoitetaan yhdellä kertaa toimitettua tunnistettavaa määrää elintarviketta, jonka osalta viranomaisen vahvistaa, että sillä on samoja ominaisuuksia, kuten alkuperä, lajike, pakkaustapa, pakkaaja, lähettäjä tai merkinnät. Kalojen ja kalastustuotteiden on lisäksi oltava kooltaan vertailukelpoisia. Mikäli tavaralähetysten kalat eivät ole kooltaan ja/tai painoltaan vertailukelpoisia, tavaralähetystä voidaan silti pitää yhtenä eränä, mutta näytteenottoon on sovellettava erityismenettelyä.
- 1.10 'Osaerällä' tarkoitetaan suuremmasta erästä näytteenottoa varten erotettua tiettyä osaa. Kunkin osaerän on oltava fyysisesti erillinen ja yksilöitävissä.
- 1.11 'Osanäytteellä' tarkoitetaan tutkittavan erän tai osaerän yhdestä ainoasta kohdasta otettua näytettä.
- 1.12 'Kokoomanäytteellä' tarkoitetaan kaikkien tutkittavasta erästä tai osaerästä otettujen osanäytteiden muodostamaa kokonaisuutta.
- 1.13 'Laboratorionäytteellä' tarkoitetaan laboratoriolle tarkoitettua kokoomanäytteen edustavaa osaa tai määrää.

II KÄYTETYT LYHENTEET

BEQ bioanalyttinen ekvivalentti

GC kaasukromatografia

⁽¹⁾ EYVL L 221, 17.8.2002, s. 8.

⁽²⁾ Bioanalyttiset menetelmät eivät kohdistu suoraan TEF-järjestelmään sisältyviin yhdisteisiin. Näyteuutteessa voi olla muita rakenteellisesti samankaltaisia AhR-aktiivisia yhdisteitä, jotka vaikuttavat kokonaisvasteeseen. Sen vuoksi bioanalyttisillä menetelmillä saadut tulokset eivät ole arvio näytteen TEQ-arvosta vaan viite siitä.

HRMS korkean erotuskyvyn (massaspektrometria)

LRMS matalan erotuskyvyn (massaspektrometria)

PCB polyklooratut bifenyylit

PCDD polyklooratut dibentso-*p*-dioksiinit

PCDF polyklooratut dibentsofuraanit

QC laadunvalvonta

REP suhteellinen voimakkuus

TEF toksisuusekvivalenssikerroin

TEQ toksisuusekvivalentti

TCDD tetraklooridibentsodioksiini

U laajennettu mittausepävarmuus

LIITE II

Näytteenottomenetelmät tietyissä elintarvikkeissa olevien dioksiinien (PCDD/PCDF), dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden ja muiden kuin dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden pitoisuuksien virallista tarkastusta varten

I SOVELTAMISALA

Näytteet, jotka on tarkoitettu elintarvikkeissa olevien dioksiinien (PCDD-/PCDF), dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden ja muiden kuin dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden pitoisuuksien viralliseen tarkastukseen, on otettava tässä liitteessä esitettyjen menetelmien mukaisesti. Tällä tavoin saatujen kokoomanäytteiden katsotaan edustavan erää tai osaa, joista ne on otettu. Laboratorionäytteistä määritettyjen pitoisuuksien perusteella arvioidaan, ovatko tutkittavat erät tietyjen elintarvikkeissa olevien vieraiden aineiden enimmäismäärien vahvistamisesta annetussa komission asetuksessa (EY) N:o 1881/2006 vahvistettujen enimmäismäärien mukaisia.

II YLEISET SÄÄNNÖKSET

1. Henkilöstö

Näytteenottajan on oltava kyseisessä jäsenvaltiossa voimassa olevien sääntöjen mukaisesti tähän tehtävään osoitettu henkilö.

2. Tuote, josta näyte otetaan

Jokaisesta tutkittavasta erästä tai osarästä on otettava erilliset näytteet.

3. Varotoimenpiteet

Näytteenoton ja näytteiden valmistuksen aikana on toteutettava varotoimenpiteitä, joilla vältetään kaikki mahdolliset muutokset, jotka voivat vaikuttaa dioksiinien ja PCB-yhdisteiden pitoisuuksiin, määrittämisen suorittamiseen tai kokoomanäytteen edustavuuteen.

4. Osanäytteet

Osanäytteet on mahdollisuuksien mukaan otettava tutkittavan erän tai osarän eri kohdista. Jos tästä menettelystä poiketaan, siitä on ilmoitettava tämän liitteen II.8 kohdassa tarkoitettua näytteenottotodistuksessa.

5. Kokoomanäytteen valmistus

Kokoomanäyte saadaan yhdistämällä osanäytteet. Näytteen painon on oltava vähintään 1 kg, ellei tämä ole epäkäytännöllistä esimerkiksi siksi, että näyte on yksittäinen pakkaus tai tuotteen kaupallinen arvo on hyvin korkea.

6. Rinnakkaisnäytteet

Valvontatoimenpiteisiin, kaupankäyntiin ja kiistojen ratkaisumenettelyihin tarkoitetut rinnakkaisnäytteet on otettava homogenoidusta kokoomanäytteestä, jos tällainen menettely on jäsenvaltiossa noudatettavien, elintarvikealan toimijan oikeuksia koskevien sääntöjen mukainen. Valvontatoimenpiteisiin tarkoitettujen laboratorionäytteiden on oltava kooltaan riittävän suuria, jotta määrittämisen suorittaminen ainakin toiseen kertaan on mahdollista.

7. Näytteiden pakkaaminen ja lähettäminen

Jokainen näyte on pakattava inertistä materiaalista valmistettuun puhtaaseen astiaan, joka suojaa näytettä riittävästi kontaminaatiolta, määritettävien aineiden imeytymiseltä astian sisäseinämiin sekä kuljetusvaurioilta. On toteutettava kaikki tarvittavat varotoimenpiteet, joilla estetään näytteen koostumuksen muuttuminen kuljetuksen tai varastoinnin aikana.

8. Näytteiden sinetöinti ja merkitseminen

Jokainen viralliseen käyttöön otettu näyte on sinetöitävä näytteenottopaikalla ja merkittävä jäsenvaltiossa voimassa olevien sääntöjen mukaisesti.

Kustakin näytteenotosta on laadittava näytteenottotodistus, jonka perusteella on mahdollista yksiselitteisesti tunnistaa erä, josta näyte on otettu. Näytteenottotodistuksessa on ilmoitettava näytteenottopaikka ja -aika sekä kaikki lisätiedot, joista voi olla hyötyä määrittämisen tekijälle.

III NÄYTTEENOTTOSUUNNITELMA

Käytettävällä näytteenottomenetelmällä on varmistettava, että kokoomanäyte on edustava otos tarkastettavasta erästä tai osarästä.

1. Erien jakaminen osariksi

Suuret erät on jaettava osariksi, jos osalien erottaminen on mahdollista. Suurina irtotavaraerinä myytäviin tuotteisiin (esim. kasvisöljyt) sovelletaan taulukkoa 1. Muihin tuotteisiin sovelletaan taulukkoa 2. Koska erän paino ei aina ole osalien painojen täsmällinen summa, osan paino saa ylittää ilmoitetun painon enintään 20 prosentilla.

Taulukko 1

Irtotavarana myytävien tuote-erien jakaminen osariksi

Erän paino (tonnia)	Osalien paino tai lukumäärä
$\geq 1\,500$	500 tonnia
> 300 mutta $< 1\,500$	3 osaa
≥ 50 mutta ≤ 300	100 tonnia
< 50	—

Taulukko 2

Muiden tuote-erien jakaminen osariksi

Erän paino (tonnia)	Osalien paino tai lukumäärä
≥ 15	15–30 tonnia
< 15	—

2. Osanäytteiden lukumäärä

Kaikki osanäytteet yhdistävän kokoomanäytteen painon on oltava vähintään 1 kg (ks. tämän liitteen II.5 kohta).

Erästä tai osarästä otettavien osanäytteiden vähimmäismäärän on oltava taulukoissa 3 ja 4 annetun mukainen.

Kun kyseessä on irtotavarana myytävä nestemäinen tuote, erä tai osarä on sekoitettava huolellisesti joko käsin tai koneellisesti juuri ennen näytteenottoa, jos se on mahdollista ja edellyttäen, että se ei vaikuta tuotteen laatuun. Tällöin voidaan olettaa, että vierasaineet ovat jakautuneet homogeenisesti tietyssä erässä tai osarässä. Sen vuoksi riittää, että erästä tai osarästä otetaan kolme osanäytettä kokoomanäytettä varten.

Osanäytteiden on oltava samanpainoisia. Osanäytteen painon on oltava vähintään 100 grammaa.

Jos tästä menettelystä poiketaan, siitä on ilmoitettava tämän liitteen II.8 kohdassa tarkoitettua näytteenottotodistuksessa. Neuvoston direktiivissä 96/23/EY säädettyjen näytteenottotasojen ja -taajuuksien vahvistamisesta tietyjen aineiden ja niiden jäämien valvomiseksi tietyissä eläintuotteissa 27 päivänä lokakuuta 1997 tehdyn komission päätöksen 97/747/EY⁽¹⁾ säännösten mukaisesti kananmunien kokoomanäytteen koko on vähintään 12 munaa (irtoeristä ja erillisistä pakkauksista koostuviin eriin sovelletaan taulukoita 3 ja 4).

Taulukko 3

Tutkittavasta erästä tai osarästä otettavien osanäytteiden vähimmäislukumäärä

Erän/osarän paino tai tilavuus (kilogrammaa tai litraa)	Osanäytteiden vähimmäislukumäärä
< 50	3
50–500	5
> 500	10

Jos erä tai osarä koostuu erillisistä pakkauksista tai yksiköistä, kokoomanäytteen muodostamiseksi otettavien pakkausten tai yksiköiden lukumäärä esitetään taulukossa 4.

⁽¹⁾ EYVL L 303, 6.11.1997, s. 12.

Taulukko 4

Kokoomanäytteen muodostamiseksi otettavien pakkausten tai yksiköiden (osanäytteiden) lukumäärä, jos erä tai osaerä koostuu erillisistä pakkauksista tai yksiköistä

Pakkausten tai yksiköiden lukumäärä erässä/osaerässä	Näytteeksi otettavien pakkausten tai yksiköiden lukumäärä
1–25	vähintään 1 pakkaus tai yksikkö
26–100	noin 5 %, vähintään 2 pakkausta tai yksikköä
> 100	noin 5 %, enintään 10 pakkausta tai yksikköä

3. Erityissännökset, joita sovelletaan otettaessa näytteitä kooltaan ja painoltaan vertailukelpoisia kokonaisia kaloja sisältävistä eristä

Kalojen katsotaan olevan kooltaan ja painoltaan vertailukelpoisia, jos koon ja painon ero on enintään noin 50 prosenttia.

Erästä otettavien osanäytteiden lukumäärä määritellään taulukossa 3. Kaikki osanäytteet yhdistävän kokoomanäytteen painon on oltava vähintään 1 kg (ks. II.5 kohta).

- Jos tutkittavaan erään sisältyy pienikokoisia kaloja (noin alle 1 kg:n painoisia yksittäisiä kaloja), kokonainen kala otetaan osanäytteenä mukaan kokoomanäytteeseen. Jos tulokseksi saadun kokoomanäytteen paino on yli 3 kg, osanäytteet voivat koostua kokoomanäytteen muodostavien kalojen keskiosista, joista kunkin paino on vähintään 100 grammaa. Näytteen homogenointiin käytetään koko se määrä, johon sovelletaan enimmäismäärää.

Kalan keskiosassa on kalan painopiste. Se sijaitsee useimmiten selkäevän kohdalla (jos kalalla on selkäevä) tai kidusaukon ja peräaukon puolivälissä.

- Jos tutkittavaan erään sisältyy suurempia kaloja (noin yli 1 kg:n painoisia yksittäisiä kaloja), osanäyte koostuu kalan keskiosasta. Kukin osanäyte painaa vähintään 100 grammaa.

Keskikokoisista (noin 1–6 kg:n painoisista) kaloista otetaan osanäyte leikkaamalla kalan keskiosasta viipale, joka ulottuu selkärangasta vatsaan.

Hyvin suurikokoisista (esim. yli 6 kg painavista) kaloista otetaan osanäyte edestä katsoen oikeanpuoleisesta selkä- ja kylkilihaksesta kalan keskiosasta. Jos tällaisen näyteenpalan ottaminen kalan keskiosasta merkitsisi merkittävää taloudellista tappiota, voidaan pitää riittävänä, että otetaan erän koosta riippumatta joko kolme osanäytettä, joista kukin painaa vähintään 350 grammaa, tai vastaavan kokoiset näytteet pyrstön ja pään läheltä, jotta saadaan koko kalan dioksiinipitoisuuden kannalta edustava osanäyte.

4. Näytteenotto eristä, joihin sisältyy kooltaan ja/tai painoltaan erilaisia kokonaisia kaloja

- Näytteen koostumukseen sovelletaan III.3 kohdassa vahvistettuja säännöksiä.
- Jos jokin koko- tai painoluokka on vallitseva (noin 80 prosenttia tai enemmän erästä), näyte otetaan vallitsevan kokoisista tai painoisista kaloista. Kyseisen näytteen katsotaan edustavan koko erää.
- Ellei mikään koko- tai painoluokka ole vallitseva, on varmistettava, että näytteeseen valitut kalat edustavat koko erää. Kyseisiä tapauksia varten annetaan erityisohjeita oppaassa "Guidance document on sampling of whole fishes of different size and/or weight" ⁽²⁾.

5. Näytteenotto vähittäismyyntivaiheessa

Elintarvikkeista on vähittäismyyntivaiheessa mahdollisuuksien mukaan otettava näytteet tämän liitteen III.2 kohdassa vahvistettujen näytteenottosäännösten mukaisesti.

Jos se ei ole mahdollista, vähittäismyyntivaiheessa voidaan käyttää muuta näytteenottomenetelmää edellyttäen, että sillä varmistetaan tutkittavan erän tai osaerän riittävä edustavuus.

⁽²⁾ Ks. http://ec.europa.eu/food/food/chemicalsafety/contaminants/dioxins_en.htm

IV ERÄN TAI OSAERÄN SÄÄNNÖSTENMUKAISUUS

1. Muut kuin dioksiinien kaltaiset PCB-yhdisteet

Erä hyväksytään, jos määrittystulos ei ylitä asetuksessa (EY) N:o 1881/2006 muille kuin dioksiinien kaltaisille PCB-yhdisteille vahvistettua enimmäismäärää, kun otetaan huomioon mittausepävarmuus.

Erä ei ole asetuksessa (EY) N:o 1881/2006 vahvistettujen enimmäismäärää koskevien vaatimusten mukainen, jos suurimman arvon mukainen määrittystulos, joka on vahvistettu toistomäärityksellä ⁽³⁾, ylittää enimmäismäärän selvästi, kun otetaan huomioon mittausepävarmuus.

Mittausepävarmuus voidaan ottaa huomioon jollakin seuraavista tavoista:

- Lasketaan laajennettu epävarmuus käyttäen kattavuuskerrointa 2, jolloin luotettavuustaso on noin 95 %. Erä tai osa-erä ei ole vaatimustenmukainen, jos mitattu arvo, josta on vähennetty mittausepävarmuustekijä U, ylittää sallitun enimmäismäärän.
- Vahvistetaan päätösraja (CC_α) 14 päivänä elokuuta 2002 tehdyn komission päätöksen 2002/657/EY mukaisesti (päätöksen liitteessä I oleva 3.1.2.5 kohta – aineet, joille on vahvistettu sallittu raja). Erä tai osaerä ei ole vaatimustenmukainen, jos mitattu arvo on suurempi tai yhtä suuri kuin CC_α.

Edellä mainittuja tulkintasääntöjä sovelletaan virallista tarkastusta varten otettujen näytteiden määrittystuloksiin. Oikeustoimiin ja kiistojen ratkaisumenettelyihin tarkoitettuihin määrittämiin sovelletaan kansallisia sääntöjä.

2. Dioksiinit (PCDD/PCDF) ja dioksiinien kaltaiset PCB-yhdisteet

Erä hyväksytään, jos yhden analyysin tulos,

- joka on saatu seulontamenetelmällä, jossa väärien vaatimustenmukaisten tulosten osuus on alle 5 %, osoittaa, ettei pitoisuus ylitä enimmäismäärää, joka on vahvistettu PCDD/PCDF-yhdisteille sekä PCDD/PCDF-yhdisteiden ja dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden summalle asetuksessa (EY) N:o 1881/2006,
- joka on saatu varmistusmenetelmällä, ei ylitä enimmäismäärää, jotka on vahvistettu PCDD/PCDF-yhdisteille sekä PCDD/PCDF-yhdisteiden ja dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden summalle asetuksessa (EY) N:o 1881/2006, kun otetaan huomioon mittausepävarmuus.

Seulontamäärittysten osalta on vahvistettava cut-off-arvo sen määrittämiseksi, noudattaako näyte niitä merkittävänä pidettyjä pitoisuuksia, jotka on vahvistettu joko PCDD/PCDF-yhdisteille tai PCDD/PCDF-yhdisteiden ja dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden summalle.

Erä ei ole asetuksessa (EY) N:o 1881/2006 vahvistettujen enimmäismäärää koskevien vaatimusten mukainen, jos varmistusmenetelmällä saadun suurimman arvon mukainen määrittystulos, joka on vahvistettu toistomäärityksessä ⁽³⁾, ylittää enimmäismäärän selvästi, kun otetaan huomioon mittausepävarmuus.

Mittausepävarmuus voidaan ottaa huomioon jollakin seuraavista tavoista:

- Lasketaan laajennettu epävarmuus käyttäen kattavuuskerrointa 2, jolloin luotettavuustaso on noin 95 %. Erä tai osa-erä ei ole säännösten mukainen, jos mitattu arvo, josta on vähennetty mittausepävarmuustekijä U, ylittää sallitun enimmäismäärän. Jos PCDD/PCDF-yhdisteiden ja dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden pitoisuudet määritetään erikseen, PCDD/PCDF-yhdisteiden ja dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden erillisten määrittystulosten yhteenlaskettua arvioitua laajennettua epävarmuutta on käytettävä PCDD/PCDF-yhdisteiden ja dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden summan laajennettuna epävarmuutena.
- Vahvistetaan päätösraja (CC_α) 14 päivänä elokuuta 2002 tehdyn komission päätöksen 2002/657/EY mukaisesti (päätöksen liitteessä I oleva 3.1.2.5 kohta – aineet, joille on vahvistettu sallittu raja). Erä tai osaerä ei ole vaatimustenmukainen, jos mitattu arvo on suurempi tai yhtä suuri kuin CC_α.

Edellä mainittuja tulkintasääntöjä sovelletaan virallista tarkastusta varten otettujen näytteiden määrittystuloksiin. Oikeustoimiin ja kiistojen ratkaisumenettelyihin tarkoitettuihin määrittämiin sovelletaan kansallisia sääntöjä.

⁽³⁾ Toistomääritys on tarpeen, jotta voidaan sulkea pois mahdollinen sisäinen ristikontaminaatio tai näytteiden sekoittuminen vahingossa. Vaatimustenmukaisuus varmistetaan ensimmäisen määrittämyksen perusteella ja huomioon otetaan mittausepävarmuus. Jos määrittäminen suoritetaan kontaminaatiotapauksen yhteydessä, varmistus toistomäärityksellä voidaan jättää tekemättä, mikäli määrittämyksen valitut näytteet liittyvät jäljitettävyyden perusteella kontaminaatiotapaukseen.

V TOIMINTARAJOJEN YLITTYMINEN

Toimintarajojen avulla voidaan valita näytteet niissä tapauksissa, joissa on tarpeen tunnistaa saastumisen lähde ja toteuttaa toimia sen vähentämiseksi tai poistamiseksi. Seulontamenetelmillä määritetään tarkoituksenmukaiset cut-off-arvot näiden näytteiden valintaan. Lähteen tunnistamiseksi ja saastumisen vähentämiseksi tai poistamiseksi tarvittavat toimet toteutetaan ainoastaan siinä tapauksessa, että toimintarajan ylittyminen on vahvistettu toistomäärityksellä käyttäen varmistusmenetelmää ja ottaen huomioon mittausepävarmuus ⁽⁴⁾.

⁽⁴⁾ Toimintarajojen tarkistukseen liittyvään toistomääritykseen sovelletaan samoja perusteita ja vaatimuksia kuin enimmäismääriin, ks. alaviite 3.

LIITE III

Näytteiden valmistus sekä tietyissä elintarvikkeissa olevien dioksiinien (PCDD/PCDF) ja dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden pitoisuuksien virallisessa tarkastuksessa käytettäviä määrittämenetelmiä koskevat vaatimukset

1. SOVELTAMISALA

Tässä liitteessä vahvistettuja vaatimuksia on sovellettava analysoitaessa elintarvikkeita 2,3,7,8-substituoitujen polykloorattujen dibentso-*p*-dioksiinien (PCDD:t), polykloorattujen dibentsofuraanien (PCDF:t) ja dioksiinien kaltaisten polykloorattujen bifenyyliden (dioksiinien kaltaiset PCB:t) pitoisuuksien virallista tarkastusta ja muita sääntelytarkoituksia varten.

PCDD/PCDF-yhdisteiden ja dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden esiintymistä elintarvikkeissa valvotaan kahdessa eri tarkoituksessa:

- a) Niiden näytteiden valitseminen, joissa PCDD/PCDF-yhdisteiden ja dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden pitoisuudet ylittävät enimmäismäärät tai toimintarajat. Tähän lähestymistapaan voi sisältyä seulontamenetelmä, joka mahdollistaa suuren näyteenkäsittelykapasiteetin, on kustannustehokas ja parantaa mahdollisuutta havaita uusia tapauksia, joihin liittyy merkittäviä altistumis- ja terveysriskejä kuluttajien kannalta. Seulontamenetelmiin voi kuulua bioanalyttisiä menetelmiä ja GC-MS-menetelmiä. Niiden tavoitteena tulisi olla väärin vaatimustenmukaisten tulosten välttäminen. Jos näytteissä on merkittäviä PCDD/PCDF-pitoisuuksia sekä PCDD/PCDF-yhdisteiden ja dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden summan pitoisuuksia, pitoisuudet on määritettävä tai vahvistettava varmistavan menetelmän avulla.
- b) PCDD/PCDF-yhdisteiden ja dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden pitoisuuksien määrittäminen elintarvikkeenäytteissä matalilla taustapitoisuustasolla. Tämä on tärkeää kehityssuuntauksien seuraamiseksi, väestön altistumisen arvioimiseksi ja tietokannan luomiseksi toimintarajojen ja enimmäismäärien mahdollista uudelleenarviointia varten. Tavoite saavutetaan varmistusmenetelmin, joiden avulla PCDD/PCDF-yhdisteet ja dioksiinien kaltaiset PCB-yhdisteet voidaan tunnistaa ja kvantifioida yksiselitteisesti merkittävänä pidetyillä pitoisuuksilla. Näitä menetelmiä voidaan käyttää seulontamenetelmillä saatujen tulosten varmistamiseen ja matalien taustapitoisuustasojen määrittämiseen elintarvikkeiden valvonnassa. Ne ovat merkittäviä myös kongeneerijakauman määrittämisessä, jotta mahdolliset saastumislähteet voidaan kartoittaa. Nykyisin tällaiset varmistusmenetelmät ovat korkean erotuskyvyn kaasukromatografia-massaspektrometriamenetelmiä (HRGC/HRMS).

2. MENETELMIEN LUOKITTELU NIIDEN KVANTITOINTIASTEEN PERUSTEELLA ⁽¹⁾

"Kvalitatiivisilla menetelmillä" saadaan vastaus siihen, onko näytteessä tarkasteltavana olevia analyyttejä, mutta niillä ei saada kvantitatiivista tietoa oletetun analyytin pitoisuudesta. Näiden menetelmien avulla voi olla mahdollista saada semikvantitatiivisia tuloksia, mutta niitä käytetään yksinomaan kyllä/ei-päätöksen raportointiin indikaationa siitä, ovatko pitoisuudet tiettyjen rajojen – toteamisrajan, määritysrajan tai cut-off-arvojen – ylä- tai alapuolella.

Elintarvikkeissa olevien PCDD/PCDF-yhdisteiden ja dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden enimmäismäärien ja toimintarajojen valvonnassa voidaan käyttää seulontamenetelmiä, jotka perustuvat määrittystuloksen ja cut-off-arvon keskinäiseen vertailuun ja antavat myönteisen tai kielteisen viitteen siitä, onko merkittävänä pidetty pitoisuus mahdollisesti ylittynyt. Tätä tarkoitusta varten on otettu käyttöön bioanalyttisiä menetelmiä. Myös fysikaaliskemiallisia menetelmiä voitaisiin kehittää, mutta TEQ-arvoon perustuvista enimmäismääristä ja toimintarajoista sekä monimutkaisista analyyseistä, jotka täyttävät asianomaisten yksittäisten yhdisteiden määrittämistä koskevat vaatimukset, ei ole käytännön esimerkkejä.

"Semikvantitatiivisilla menetelmillä" saadaan pitoisuudesta suuntaa-antava viite, josta voidaan saada hyödyllistä tietoa analyytin pitoisuuden vaihtelualueesta, josta voi olla apua määrittämisessä varmistavassa testissä käytettävää kalibrointialuetta ja jota voidaan hyödyntää laadunvalvonnassa. Esimerkkejä näistä menetelmistä ovat seuraavat:

- bioanalyttiset menetelmät, joilla pystytään havaitsemaan tarkasteltavana olevat analyytit, sisältävät kalibrointikäyrän, antavat myönteisen tai kielteisen viitteen siitä, onko merkittävänä pidetty taso mahdollisesti ylittynyt ja mahdollistavat tuloksen ilmoittamisen bioanalyttisinä ekvivalentteina (BEQ), joka on suuntaa-antava viite näytteen TEQ-arvosta,
- fysikaalis-kemiallinen testi (esim. GC-MS/MS tai GC/LRMS), jossa menetelmän mitattu tarkkuus ei täytä kvantitatiivisten testien vaatimuksia.

⁽¹⁾ Mukautettu PCDD/PCDF-yhdisteitä ja dioksiinien kaltaisia yhdisteitä varten asiakirjasta "Guidelines for the validation of screening methods for residues of veterinary medicines", EU Reference Laboratories (EURLs) for residues of veterinary medicines and contaminants in food of animal origin in Fougères, Berlin and Bilthoven, 20.1.2010, http://ec.europa.eu/food/food/chemicalsafety/residues/lab_analysis_en.htm.

"Kvantitatiiviset menetelmät" täyttävät samat tarkkuutta, mittausaluetta ja täsmällisyyttä koskevat vaatimukset kuin varmentavat testit. Kun vaaditaan kvantitatiivista määrittystä, nämä menetelmät on validoitava varmistavina menetelminä, kuten tässä asiakirjassa esitetään PCDD/PCDF-yhdisteiden sekä dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden osalta.

3. TAUSTA

Toksisuusekvivalenttien (TEQ) pitoisuudet lasketaan siten, että annetussa näytteessä olevien yksittäisten aineiden pitoisuudet kerrotaan WHO:n vahvistamalla ja tämän liitteen lisäyksessä mainitulla kunkin aineen toksisuusekvivalenssikertoimella (TEF) ja saadut määrät lasketaan yhteen, jolloin tulokseksi saadaan dioksiinien kaltaisten yhdisteiden kokonaispitoisuus toksisuusekvivalentteina ilmaistuna.

Seulonta- ja varmistusmenetelmiä voidaan käyttää ainoastaan tietyn matriisin tarkastuksessa, jos menetelmät ovat riittävät herkkiä ja kykenevät luotettavasti havaitsemaan määrät merkittävänä pidetyillä pitoisuuksilla (toimintaraja tai enimmäismäärä).

4. LAADUNVARMISTUSTA KOSKEVAT VAATIMUKSET

- On toimittava ristikontaminaation välttämiseksi kussakin näytteenoton ja analyysin vaiheessa.
- Näytteet on varastoitava ja kuljetettava varastointiin soveltuissa lasista, alumiinista, polypropyleenistä tai polyetyleenistä valmistetuissa säiliöissä, jotka eivät vaikuta PCDD/PCDF-yhdisteiden ja dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden pitoisuuksiin näytteissä. Paperipölyjäämät on poistettava näytesäiliöistä.
- Näytteiden varastointi ja kuljetus on toteutettava siten, että elintarvikenäyte pysyy koskemattomana.
- Jokainen laboratorionäyte jauhetaan tarvittaessa hienoksi ja sekoitetaan huolellisesti käyttäen menetelmää, jonka on osoitettu homogenoivan näytteen täydellisesti (esim. hienonnus 1 mm:n siivilän läpäiseviksi hiukkasiksi). Jos näytteiden kosteuspitoisuus on liian korkea, ne on kuivattava ennen hienontamista.
- Reagenssit, lasi ja laitteet on yleisesti syytä tarkistaa sen varalta, että ne voivat vaikuttaa TEQ- ja BEQ-arvoihin perustuviin tuloksiin.
- On suoritettava ilman näytettä tehtävä nolla-analyysi, jossa käydään läpi kaikki analyysin vaiheet.
- Bioanalyttisten menetelmien osalta määrittämisessä käytettävät lasitavarat ja liuottimet on testattava sen toteamiseksi, ettei niissä ole yhdisteitä, jotka voivat häiritä kohdeyhdisteiden havaitsemista mittausalueella. Lasitavarat on huuhdeltava liuottimilla ja/tai kuumennettava lämpötiloihin, jotka soveltuvat PCDD/PCDF-yhdisteiden, dioksiinien kaltaisten yhdisteiden ja lasitavaroitten pinnalta peräisin olevien häiriöitä aiheuttavien yhdisteiden poistamiseen.
- Uuttamisessa käytettävän näytteen määrän on oltava riittävä, jotta täytetään vaatimukset, jotka koskevat riittävän matalaa mittausaluetta ja kyseessä olevia pitoisuuksia.
- Tarkasteltavien tuotteiden yhteydessä käytettäviin näytteiden valmistusmenetelmiin on sovellettava kansainvälisesti hyväksyttyjä suuntaviivoja.
- Kalan nahka on poistettava, koska enimmäispitoisuus koskee nahatonta lihaa. Kaikki lihan ja rasvakudoksen jäänteet on kuitenkin kaavittava huolellisesti ja kokonaisuudessaan nahan sisäpuolelta ja lisättävä analysoitavaan näytteeseen.

5. LABORATORIOITA KOSKEVAT VAATIMUKSET

- Asetuksen (EY) N:o 882/2004 säännösten mukaisesti laboratorioden on oltava ISO-oppaan 58 mukaisesti toimivan tunnustetun laitoksen hyväksymiä, millä varmistetaan, että laboratoriot soveltavat analyttistä laadunvarmistusta. Laboratorioden hyväksyntä on tehtävä EN ISO/IEC 17025 -standardin mukaisesti.
- Laboratorion pätevyys osoitetaan sen osallistumisella jatkuvasti hyvin tuloksiin laboratorioden välisiin tutkimuksiin, jotka koskevat PCDD/PCDF-yhdisteiden ja dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden määrittämistä asiamukaisissa elintarvikemateriaaleissa ja pitoisuusalueilla.
- Seulontamenetelmiä näytteiden rutiinitarkastuksissa käyttävien laboratorioden on tehtävä tiivistä yhteistyötä varmistusmenetelmää käyttävien laboratorioden kanssa laadunvalvonnan ja vaatimustenvastaisiksi epäiltyjen näytteiden määrittäytuloksen varmistuksen osalta.

6. PERUSVAATIMUKSET DIOKSIINIEN (PCDD/PCDF) JA DIOKSIINIEN KALTAISTEN PCB-YHDISTEIDEN ANALYYSILLE

6.1 Matala mittausalue ja määrittäysrajat

- Koska osa PCDD/PCDF-yhdisteistä on erittäin myrkyllisiä, ne on pystyttävä havaitsemaan jo femtogrammin (10⁻¹⁵ g) ilmaistavan alueen ylemmillä arvoilla. Useimpien PCB-yhdisteiden osalta määrittäysrajaksi riittää nanogrammin (10⁻⁹ g) ilmaistava alue. Toksisempien dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden (erityisesti non-orto-substituoitujen yhdisteiden) mittauksessa mittausalueen ala-arvojen on oltava pikogrammin (10⁻¹² g) ilmaistavan alueen alimpia arvoja.

6.2 Hyvä selektiivisyys (spesifisyys)

- PCDD/PCDF-yhdisteet sekä dioksiinien kaltaiset PCB-yhdisteet on voitava erottaa lukuista muista uuttamisessa mukana tulevista ja mahdollisesti häiriöitä aiheuttavista yhdisteistä, joiden pitoisuudet voivat olla moninkertaisia verrattuna tarkasteltavien analyttien pitoisuuksiin. Kaasukromatografia-massaspektrometrimenetelmissä (GC-MS) on pystyttävä tarvittaessa erottelemaan eri yhdisteet, kuten toksiset yhdisteet (esim. seitsemäntoista 2,3,7,8-substituoitua PCDD- ja PCDF-yhdistettä ja kaksitoista dioksiinien kaltaista PCB-yhdistettä) muista yhdisteistä.
- Bioanalyttisten menetelmien on kyettävä havaitsemaan kohdeyhdisteet PCDD/PCDF-yhdisteiden ja/tai dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden summana. Näytteen puhdistamisella pyritään poistamaan yhdisteet, jotka voivat aiheuttaa vääriä vaatimustenvastaisia tuloksia, tai yhdisteet, jotka voivat heikentää vastetta ja johtaa vääriin vaatimustenmukaisiin tuloksiin.

6.3 Hyvä tarkkuus (oikeellisuus ja täsmällisyys, biotestin korjattu saanto)

- GC-MS-menetelmien osalta määrittäyksessä on pystyttävä antamaan pätevä arvio aineen todellisesta pitoisuudesta näytteessä. Hyvä tarkkuus (mittauksen tarkkuus: mittauksen tuloksen ja mittaussuureen todellisen tai annetun arvon läheisyys) on välttämätöntä, jotta voidaan välttää näytteen määrittäytuloksen hylkääminen sen perusteella, että määritetyn TEQ-arvon luotettavuus on heikko. Tarkkuus ilmaistaan *oikeellisuutena* (sertifioidusta materiaalista mitatun tutkittavan aineen määrän keskiarvon ja sen sertifioitujen arvojen erotus prosentteina tästä arvosta) ja *täsmällisyytenä* (RSD_R on uusittavissa olosuhteissa saaduista tuloksista laskettu suhteellinen standardipoikkeama).
- Bioanalyttisten menetelmien osalta on määritettävä biotestin korjattu saanto.

6.4 Validointi merkittävänä pidetyillä pitoisuuksilla ja yleiset laadunvalvontatoimet

- Laboratorioiden on osoitettava menetelmän suorituskky merkittävänä pidetyillä pitoisuuksilla, esimerkiksi 0,5 ×, 1 × ja 2 × merkittävä pitoisuus, ja toistomittausten hajonnan on oltava hyväksyttävä validointimenetelyn ja/tai rutiinianalyysin aikana.
- Sisäistä laadunvalvontaa varten on analysoitava säännöllisesti nollanäytteitä tai näytteitä, joihin on lisätty analyttia, tai erityisiä kontrollinäytteitä mieluiten sertifioituilla vertailuaineilla, jos niitä on saatavilla. Nollanäytteiden, näytteiden, joihin on lisätty analyttia, tai kontrollinäytteiden tulokset on kirjattava laadunvalvontakortteihin. Tulosten avulla on varmistettava, että määrittäysmenetelmien suorituskky täyttää vaatimukset.

6.5 Määrittäysraja

- Määrittäysrajan (LOQ) vahvistaminen ei ole bioanalyttisessä seulontamenetelmässä välttämätöntä, mutta menetelmällä on pystyttävä erottamaan toisistaan nolla- ja cut-off-arvo. BEQ-arvon ilmoittamista varten on vahvistettava raportointipitoisuus, jotta voidaan käsitellä näytteitä, joiden vaste alittaa tätä pitoisuutta vastaavan vasteen. On osoitettava, että raportointipitoisuus eroaa vähintään kertoimella kolme sellaisen nollanäytteen pitoisuudesta, jonka vaste on mittausalueen alarajan alapuolella. Siksi se lasketaan näytteistä, jotka sisältävät kohdeyhdisteitä noin vaaditun vähimmäispitoisuuden verran, eikä signaali-kohinasuhteesta tai nollamäärittäyksestä.
- Varmistusmenetelmän määrittäysrajan (LOQ) on oltava noin yksi viidesosa merkittävänä pidetystä pitoisuudesta.

6.6 Analyttiset vaatimukset

- Varmistus- tai seulontamenetelmistä saatujen luotettavien tulosten osalta TEQ- tai BEQ-arvojen on täytettävä seuraavat vaatimukset, määritettiin ne sitten TEQ-kokonaisarvoina, (eli PCDD/PCDF-yhdisteiden ja dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden summana) tai erikseen PCDD/PCDF-yhdisteille ja dioksiinien kaltaisille PCB-yhdisteille).

	Seulonta bioanalyttisin tai fyysikaaliskemiallisin menetelmin	Varmistusmenetelmät
Väärien vaatimustenmukaisten tulosten osuus (*)	< 5 %	
Oikeellisuus		– 20 % – + 20 %
Toistettavuus (RSD _p)	< 20 %	
Laboratorionsisäinen uusittavuus (RSD _R)	< 25 %	< 15 %

(*) enimmäismäärien osalta

6.7 Seulontamenetelmiä koskevat erityisvaatimukset

— Seulontaan voidaan käyttää sekä GC-MS-menetelmiä että bioanalyttisiä menetelmiä. GC-MS-menetelmien on täytettävä tämän liitteen 7 kohdassa esitetyt vaatimukset. Solupohjaisten bioanalyttisten menetelmien erityisvaatimukset esitetään tämän liitteen 8 kohdassa.

— Seulontamenetelmiä näytteiden rutiinitarkastuksissa käyttävien laboratorioiden on tehtävä tiivistä yhteistyötä varmistusmenetelmää käyttävien laboratorioiden kanssa.

— Seulontamenetelmän suorituskky on tarkistettava rutiinianalyysin aikana analyttisellä laadunvalvonnalla ja menetelmän jatkuvalla validoinnilla. Vaatimustenmukaisia tuloksia on valvottava jatkuvalla ohjelmalla.

— *Soluvasteen mahdollinen vaimentuminen ja sytotoksisuus on tarkistettava*

Varsinaisen määrityksen lisäksi rutiiniseurannassa 20 %:iin näyteuutteista lisätään merkittävänä pidetty pitoisuus 2,3,7,8-TCDD-yhdistettä. Tällä varmistetaan, laskevatko näyteuutteessa olevat häiritsevät yhdisteet mahdollisesti määritysmenetelmän vastetta. Lisäsnäytteen pitoisuutta verrataan sellaisen näytteen pitoisuuteen, johon ei ole lisätty analyttia, ja lisätyn pitoisuuden summaan. Jos tämä mitattu pitoisuus on enemmän kuin 25 % matalampi kuin laskettu pitoisuuksien summa, se on indikaatio mahdollisesta signaalin vaimentumisesta, jolloin kyseiselle näytteelle on tehtävä GC-HRMS-varmistusanalyysi. Tuloksia seurataan laadunvalvontakortilla.

— *Vaatimustenmukaisten näytteiden laadunvalvonta*

Noin 2–10 % vaatimustenmukaisista näytteistä on varmistettava GC-HRMS-analyysillä näytematriisista ja laboratoriosta saadun kokemuksen mukaan.

— *Väärien vaatimustenmukaisten näytteiden osuuden määrittäminen laadunvalvontatiedoista*

Enimmäismäärän tai toimintarajan ylittävien ja alittavien väärien vaatimustenmukaisten tulosten osuus näytteiden seulonnassa on määritettävä. Todellisten väärien vaatimustenmukaisten tulosten osuuden on oltava alle 5 %.

Kun vaatimustenmukaisten näytteiden laadunvalvonnasta on saatavissa vähintään 20 vahvistettua tulosta matriisia tai matriisiryhmää kohti, väärien vaatimustenmukaisten näytteiden osuutta koskevat johtopäätökset on tehtävä kyseisestä tietokannasta. Väärien vaatimustenmukaisten näytteiden osuuden arviointia varten tarvittavaan 20 tuloksen vähimmäismäärään voidaan sisällyttää myös vertailutesteissä tai kontaminaatiotapauksen yhteydessä analysoidujen näytteiden ne tulokset, joissa pitoisuudet ovat enimmillään esim. 2 × enimmäismäärä. Näytteiden on katettava yleisimmät kongeneerijakaumat eri lähteistä.

Vaikka seulontamäärityksissä on mieluiten pyrittävä havaitsemaan toimintarajan ylittävät näytteet, väärien vaatimustenmukaisten näytteiden osuuden määrittämisen kriteerinä on enimmäismäärä, kun otetaan huomioon mittausepävarmuus varmistusmenetelmässä.

— Seulonnan perusteella vaatimustenvastaisiksi epäillyt näytteet on aina tarkistettava varmistavalla määritysmenetelmällä (GC-HRMS). Näitä näytteitä voidaan myös käyttää väärien vaatimustenvastaisten tulosten osuuden arvioimiseen. Seulontamenetelmien osalta "väärien vaatimustenvastaisten tulosten" osuuden muodostavat ne tulokset, joiden on GC-HRMS-varmistusmenetelmällä vahvistettu olevan vaatimustenmukaisia, vaikka edeltävän seulonnan perusteella näytteen on epäilty olevan vaatimustenvastainen. Seulontamenetelmän hyödyllisyyden arviointi perustuu kuitenkin siihen, että väärien vaatimustenvastaisten näytteiden määrää verrataan tarkistettujen näytteiden kokonaismäärään. Tämän osuuden pitää olla niin pieni, että seulontavälineen käytöstä on hyötyä.

- Bioanalyttisten menetelmien on ainakin validointiolosuhteissa tuotettava pätevä indikaatio TEQ-tasosta, laskettuna ja ilmaistuna BEQ-arvona.
- Toistettavissa olosuhteissa bioanalyttisten menetelmien laboratorionsisäisen RSD_r :n tulisi tyypillisesti olla pienempi kuin uusittavuus RSD_R .

7. SEULONNASSA TAI VARMISTUKSESSA KÄYTETTÄVIÄ GC-HRMS-MENETELMIÄ KOSKEVAT ERITYISVAATIMUKSET

7.1 Yleiset vaatimukset

- Suurimman ja pienimmän arvon välinen ero saa olla enintään 20 % elintarvikkeilla, joiden kontaminaatio on noin 1 pg WHO-TEQ rasvagrammaa kohden (perustana PCDD/PCDF-yhdisteiden ja dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden summa). Vähärasvaisiin elintarvikkeisiin on sovellettava vastaavia vaatimuksia pitoisuuden ollessa noin 1 pg WHO-TEQ tuotteen painogrammaa kohden. Pienemmillä kontaminaatiopitoisuuksilla – esim. 0,5 pg WHO-TEQ tuotteen painogrammaa kohden – suurimman ja pienimmän arvon ero voi olla 25–40 %.

7.2 Saantojen valvonta

- Määrittämenetelmän validoimiseksi on aivan menetelmän alussa eli esimerkiksi ennen uuttamista lisättävä ^{13}C -leimattuja 2,3,7,8-kloorisubstituoituja sisäisiä PCDD/PCDF-standardeja ja ^{13}C -leimattuja dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden sisäisiä standardeja. On lisättävä vähintään yhtä näistä yhdisteistä kutakin tetra-oktakloorattua PCDD/PCDF-homologiryhmää kohden ja vähintään yhtä näistä yhdisteistä kutakin dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden homologiryhmää kohden (tai vaihtoehtoisesti vähintään yhtä näistä yhdisteistä kutakin PCDD/PCDF-yhdisteiden ja dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden valvonnassa käytettyä massaspektirillä määritettyä ionia kohden). Varmistusmenetelmien yhteydessä on käytettävä kaikkia 17:ää ^{13}C -leimattua 2,3,7,8-kloorisubstituoitua sisäistä PCDD/PCDF-standardia ja kaikkia 12:ta ^{13}C -leimattua dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden sisäistä standardia.
- Suhteelliset vastekertoimet on asianmukaista kalibrointiliuosta käyttäen määritettävä myös niille aineille, joiden osalta ei lisätä ^{13}C -leimattua analogia.
- Kasvipäraisistä elintarvikkeista ja alle 10 % rasvaa sisältävistä eläinperäisistä elintarvikkeista otettuihin näytteisiin sisäiset standardit on lisättävä ennen uuttamista. Yli 10 % rasvaa sisältävistä eläinperäisistä elintarvikkeista otettuihin näytteisiin ne voidaan lisätä joko ennen uuttamista tai rasvojen uuttamisen jälkeen. Uuttamisen tehokkuus on validoitava asianmukaisesti sen mukaan, missä vaiheessa sisäiset standardit lisätään, ja sen mukaan, ilmoitetaanko tulokset tuotteessa vai rasvassa olevan pitoisuuden perusteella.
- Ennen GC-MS-analyysia on lisättävä 1 tai 2 saantostandardia.
- Saantojen valvonta on välttämätöntä. Varmistusmenetelmissä sisäisten standardien saantojen on oltava 60–120 %. Pienemmät tai suuremmat saantoarvot voidaan hyväksyä erityisesti hepta- ja oktakloorattujen dibentso-p-dioksiinien ja dibentsofuraanien osalta edellyttäen, että niiden vaikutus TEQ-arvoon on enintään 10 % TEQ-arvon kokonaismäärästä (perustana PCDD/PCDF-yhdisteiden ja dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden summa). GC-MS-seulontamenetelmissä saantojen on oltava 30–140 %.

7.3 Häiritsevien aineiden poistaminen

- PCDD/PCDF-yhdisteet on erotettava häiriöitä aiheuttavista klooratuista yhdisteistä – esimerkiksi muista kuin dioksiinien kaltaisista PCB-yhdisteistä ja klooratuista bifenyylieteereistä – soveltuvilla kromatografiateknikoilla (mieluiten florisil-, alumiinioksidi- ja/tai hiilikolonneilla).
- Isomeerien erotuksen kaasukromatografian avulla on oltava riittävä (< 25 % laakso 1,2,3,4,7,8-HxCDF:n ja 1,2,3,6,7,8-HxCDF:n välillä).

7.4 Kalibrointi standardikäyrän avulla

- Kalibrointikäyrän vaihteluvälin laajuuden on oltava riittävä kattaakseen relevantit merkittävänä pidetyt pitoisuudet.

8. BIOANALYYTTISIA MENETELMIÄ KOSKEVAT ERITYISVAATIMUKSET

Bioanalyttiset menetelmät ovat menetelmiä, jotka perustuvat biologisiin periaatteisiin, esimerkiksi solupohjaiset määritykset, reseptorimääritykset tai immunomääritykset. Tässä 8 kohdassa vahvistetaan bioanalyttisia menetelmiä koskevat yleiset vaatimukset.

Seulontamenetelmän perusteella luokitellaan, onko näyte vaatimusten mukainen vai epäilläänkö, ettei se täytä vaatimuksia. Laskettua BEQ-arvoa verrataan cut-off-arvoon (ks. 8.3 kohta). Jos näytteen arvo on alle cut-off-arvon, sitä pidetään vaatimustenmukaisena. Jos näytteen arvo on yhtä suuri tai suurempi kuin cut-off-arvo, näytteen epäillään olevan vaatimusten vastainen, ja sille on tehtävä analyysi varmistusmenetelmällä. Käytännössä soveltuvimpana cut-off-arvona voidaan pitää BEQ-arvoa, joka on $2/3$ enimmäismäärästä, sillä näin voidaan varmistaa, että väriin vaatimustenmukaisten tulosten osuus jää alle 5 %:n ja että väriin vaatimustenvastaisten tulosten osuus on hyväksyttävä. Koska PCDD/PCDF-yhdisteillä sekä PCDD/PCDF-yhdisteiden ja dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden summalla on erilliset enimmäismäärät, näytteiden vaatimustenmukaisuuden tarkistaminen ilman fraktiointitilasta edellyttää, että PCDD/PCDF-yhdisteillä on tarkoituksenmukaiset cut-off-arvot biotestejä varten. Toimintarajat ylittävien näytteiden tarkastuksen yhteydessä cut-off-arvoksi soveltuu tarkoituksenmukainen prosenttiosuus kustakin merkittävänä pidetystä pitoisuudesta.

Joidenkin bioanalyttisten menetelmien tapauksessa voidaan antaa BEQ-arvona ilmaistu indikaatiivinen määrä sellaisia näytteitä varten, jotka sisältyvät mittausalueelle ja ylittävät raportointirajan (ks. 8.1.1 ja 8.1.6).

8.1 Testivasteen arviointi

8.1.1 Yleiset vaatimukset

- Laskettaessa pitoisuuksia TCDD-kalibrointikäyrän avulla käyrän ala- ja yläpäässä olevissa arvoissa on suurta vaihtelua (korkea variaatiokerroin, jäljempänä 'CV'). Mittausalue on alue, jossa tämä CV on alle 15 %. Mittausalueen ala-arvot (raportointiraja) on lisäksi asetettava huomattavasti (soveltamalla vähintään kerrointa kolme) menettelyn nolla-analyysin tulosta korkeammaksi. Mittausalueen yläarvo esitetään yleensä EC₇₀-arvona (70 % vaikuttavan pitoisuuden enimmäismäärästä), mutta se on matalampi, jos CV on suurempi kuin 15 % tällä vaihteluvälillä. Mittausalue on määritettävä validoinnin aikana. Cut-off-arvojen (ks. 8.3 kohta) on oltava selvästi mittausalueen sisällä.
- Standardin liuokset ja näyteuutteet on testattava vähintään kahtena toistomäärittäksenä. Toistomäärittäksiä käytettäessä mikrotitrauslevyn eri osista valituissa 4–6 kuopassa testatun standardiliuoksen tai varmistusuutteen on tuotettava vaste tai pitoisuus (mahdollinen vain mittausalueella), jossa CV < 15 %.

8.1.2 Kalibrointi

8.1.2.1 Kalibrointi standardikäyrän avulla

- Näytteissä olevat pitoisuudet voidaan arvioida vertaamalla testivastetta TCDD:n (tai PCB 126:n tai PCDD:n/PCDF:n/dioksiinien kaltaisen PCB:n standardiseoksen) kalibrointikäyrään ja laskea sen perusteella BEQ-arvo uutteesta ja sitä kautta näytteestä.
- Kalibrointikäyriin on sisällyttävä 8–12 pitoisuutta (ainakin toistomäärittäksinä) siten, että käyrän alapäässä on riittävästi pitoisuuksia (mittausalue). Erityistä huomiota on kiinnitettävä käyrän sovitukseen mittausalueella. R²-arvolla sellaisenaan on vain vähäinen tai olematon arvo arvioitaessa epälineaarisen regression sovitusta. Parempi sovitus saadaan aikaan minimoimalla laskettujen ja havaittujen määrien välinen ero (esimerkiksi minimoimalla neliöön korotettujen jäämien summa).
- Seuraavaksi näyteuutteen arvioitu pitoisuus korjataan perustana matriisi/liuotin-nollanäytteelle lasketun BEQ-arvon (jotta otetaan huomioon epäpuhtaudet käytetyistä liuottimista ja kemikaaleista) ja korjatun saannon perusteella (lasketaan sellaisten soveltuvien vertailunäytteiden BEQ-arvosta, joissa on edustava kongeneerijakauma lähellä merkittävänä pidettyä tasoa). Jotta saanto voidaan korjata, korjatun saannon on aina oltava vaadittavan vaihteluvälin sisällä (ks. 8.1.4 kohta). Saannon korjaamisessa käytettävien vertailunäytteiden on täytettävä 8.2 kohdassa esitetyt vaatimukset.

8.1.2.2 Kalibrointi vertailunäytteiden avulla

Vaihtoehtoisesti voidaan käyttää kalibrointikäyrää, joka on tuotettu vähintään neljän lähellä merkittävänä pidettyä pitoisuutta olevan vertailunäytteen avulla (ks. 8.2 kohta: yksi matriisinolla ja kolme vertailunäytettä, joiden pitoisuudet ovat $0,5 \times$, $1,0 \times$ ja $2,0 \times$ merkittävänä pidetty pitoisuus), jolloin nollanäytettä ja saantoa ei tarvitse korjata. Tällöin testivaste, joka vastaa $2/3$ enimmäismäärästä (ks. 8.3 kohta), voidaan laskea suoraan näistä näytteistä ja sitä voidaan käyttää cut-off-arvona. Toimintarajat ylittävien näytteiden tarkastuksen yhteydessä cut-off-arvoksi soveltuu tarkoituksenmukainen prosenttiosuus kustakin toimintarajasta.

8.1.3 PCDD/PCDF-yhdisteiden ja dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden erillinen määrittäminen

Uutteet voidaan jakaa PCDD/PCDF-yhdisteitä ja dioksiinien kaltaisia PCB-yhdisteitä sisältäviin fraktioihin, jotta PCDD/PCDF-yhdisteiden ja dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden TEQ-arvot (BEQ:ina) voidaan ilmoittaa erillisinä. Dioksiinien kaltaisia PCB-yhdisteitä sisältävän fraktion tulosten arvioinnissa olisi käytettävä PCB 126:n standardilla tuotettua kalibrointikäyrää.

8.1.4 Biotestien korjatut saannot

"Biotestin korjattu saanto" on laskettava soveltuvista vertailunäytteistä, joissa kongeneerijakauma on lähellä merkittävänä pidettyä pitoisuutta ja ilmaistaan prosenttiosuutena BEQ-arvosta verrattuna TEQ-arvoon. Sen mukaan, minkä tyyppistä testiä ja TEF-arvoa⁽¹⁾ käytetään, dioksiinien kaltaisiin PCB-yhdisteisiin sovellettavien TEF- ja REP-kertoimien väliset erot voivat johtaa siihen, että dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden korjatut saannot ovat matalia PCDD/PCDF-yhdisteisiin verrattuna. Jos PCDD/PCDF-yhdisteille ja dioksiinien kaltaisille PCB-yhdisteille tehdään erillinen määrittäminen, biotestien korjatut saannot ovat sen vuoksi seuraavat: dioksiinien kaltaisille PCB-yhdisteille 25–60 % ja PCDD/PCDF-yhdisteille 50–130 % (vaihteluvälejä sovelletaan TCDD:n kalibrointikäyrään). Koska dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden vaikutus PCDD/PCDF-yhdisteiden ja dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden summaan voi vaihdella eri matriisien ja näytteiden välillä, biotestin korjatut saannot summamuutujan osalta heijastavat näitä vaihteluvälejä ja niiden on oltava 30–130 %.

8.1.5 Saantojen valvonta puhdistusta varten

- Yhdisteiden hävikki puhdistuksen aikana on tarkastettava validoinnin yhteydessä. Eri yhdisteillä säädetylle nollanäytteelle on tehtävä puhdistus (vähintään $n = 3$), ja saanto ja vaihtelevuus on tarkistettava GC/HRMS-määrityksellä. Saannon on oltava 60–120 % etenkin niiden yhdisteiden osalta, joiden vaikutus eri seosten TEQ-arvoon on enemmän kuin 10 %.

8.1.6 Raportointiraja

- BEQ-arvoista raportoimista varten raportointiraja on määritettävä relevanttien matriisinäytteiden perusteella, joilla on tyypillinen kongeneerijakauma, mutta ei standardien kalibrointikäyrän perusteella, koska käyrän alarajojen tarkkuus ei ole riittävä. Huomioon on otettava uuttamisen ja puhdistuksen vaikutukset. Raportointiraja on asetettava huomattavasti menettelyn nolla-analyysin tulosta korkeammaksi (soveltamalla vähintään kerrointa kolme).

8.2 Vertailunäytteiden käyttö

- Vertailunäytteiden on edustettava näytematriisia, kongeneerijakaumaa ja pitoisuusalueita PCDD/PCDF-yhdisteiden ja dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden osalta lähellä merkittävänä pidettyä pitoisuutta (toimintaraja tai enimmäismäärä).
- Kuhunkin testisarjaan on sisällytettävä nolla-analyysi tai mieluiten nollamatriisi sekä vertailunäyte, jonka pitoisuus vastaa merkittävänä pidettyä pitoisuutta. Nämä näytteet on uutettava ja testattava samanaikaisesti identtissä oloissa. Vertailunäytteen vasteen on oltava selvästi kohonnut verrattuna nollanäytteeseen, jotta testin soveltuvuus voidaan varmistaa. Näitä näytteitä voidaan käyttää nolla- ja saantokorjauksiin.
- Saantokorjauksen suorittamiseen valittujen vertailunäytteiden on edustettava testinäytteitä, eli näytteiden kongeneerijakauma ei saa johtaa määrien aliarvioimiseen.
- Lisäksi voidaan käyttää esimerkiksi 0,5- ja 2-kertaista merkittävänä pidettyä pitoisuutta edustavia ylimääräisiä vertailunäytteitä, joilla osoitetaan testin toimivuus halutulla mittausalueella merkittävänä pidettyjen pitoisuuksien tarkastusta varten. Yhdessä näitä näytteitä voidaan käyttää testinäytteiden BEQ-arvojen laskemiseen (ks. 8.1.2.2 kohta).

8.3 Cut-off-arvojen määrittäminen

BEQ-arvoina ilmaistujen bioanalyttisten tulosten ja TEQ-arvoina ilmaistujen GC-HRMS-tulosten välinen suhde on määritettävä esimerkiksi kalibroinnilla, jossa vertailunäytteisiin, joissa on samanlainen matriisi, on lisätty analyttinä 0 ×, 0,5 ×, 1 × ja 2 × enimmäismäärä, ja jossa kukin näyte määritetään 6 kertaa ($n=24$). Korjauskertoimet (nolla ja saanto) voidaan arvioida tämän suhteen perusteella, mutta ne on tarkistettava kussakin testisarjassa sisällyttämällä mukaan menetelmänollat ja/tai matriisinollat ja saantonäytteet (ks. 8.2 kohta).

Cut-off-arvot on määritettävä sen arvioimiseksi, vastaako näyte enimmäismääriä koskevia vaatimuksia, tai tarvittaessa toimintarajojen valvontaa varten, joko erikseen PCDD/PCDF-yhdisteille ja dioksiinien kaltaisille PCB-yhdisteille tai PCDD/PCDF-yhdisteiden ja dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden summalle. Niitä edustaa bioanalyttisten tulosten jakauman *alempi* piste (korjattuna nollanäytteelle ja saannolle), joka vastaa GC-HRMS:n päätösrajaa 95 %:n luottamusrajalla, mikä tarkoittaa, että väärin vaatimustenmukaisten tulosten osuus on < 5 % ja $RSD_R < 25$ %. GC-HRMS:n päätösraja on sama kuin enimmäismäärä, kun otetaan huomioon mittausepävarmuus.

Käytännössä cut-off-arvo (BEQ-arvona ilmaistuna) voidaan laskea seuraavien mallien avulla (ks. kuvio 1):

⁽¹⁾ Nykyiset vaatimukset perustuvat seuraavassa asiakirjassa julkaistuihin TEF-arvoihin: M. Van den Berg et al, Toxicol. Sci. 93 (2), 223–241 (2006).

8.3.1 Kun käytetään 95 %:n ennustevälin *alempaa* kaistaa GC-HRMS-päätösrajalla

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

jossa:

BEQ_{DL} GC-HRMS-päätösrajaa vastaava BEQ, joka vastaa enimmäismäärää mittausepävarmuus mukaan luetuna

$s_{y,x}$ jäännöksen keskihajonta

$t_{\alpha,f=m-2}$ Studentin kerroin ($\alpha = 5\%$, $f =$ vapausasteet, yksipuoliset)

m kalibrointipisteiden kokonaismäärä (indeksi j)

n toistojen lukumäärä kullakin tasolla

x_i GC-HRMS-näytteen pitoisuus (TEQ-arvona) kalibrointipisteessä i (eli kalibrointinäytteen i konsentraatio?)

$\bar{x}$ kaikkien kalibrointinäytteiden pitoisuuksien keskiarvo (TEQ-arvona)

$$Q_{xx} = \sum_{j=1}^m (x_i - \bar{x})^2 \text{ neliösummamuuuttuja, } i = \text{kalibrointipisteen } i \text{ indeksi}$$

8.3.2 Laskeminen nollan ja saannon suhteen korjatuista bioanalyttisistä tuloksista, kun on analysoitu useita ($n > 6$) GC/HRMS-päätösrajalla kontaminoituja näytteitä, jolloin on määrä saada mittaustulosten jakauman *alempi* piste vastaavalla BEQ-arvolla:

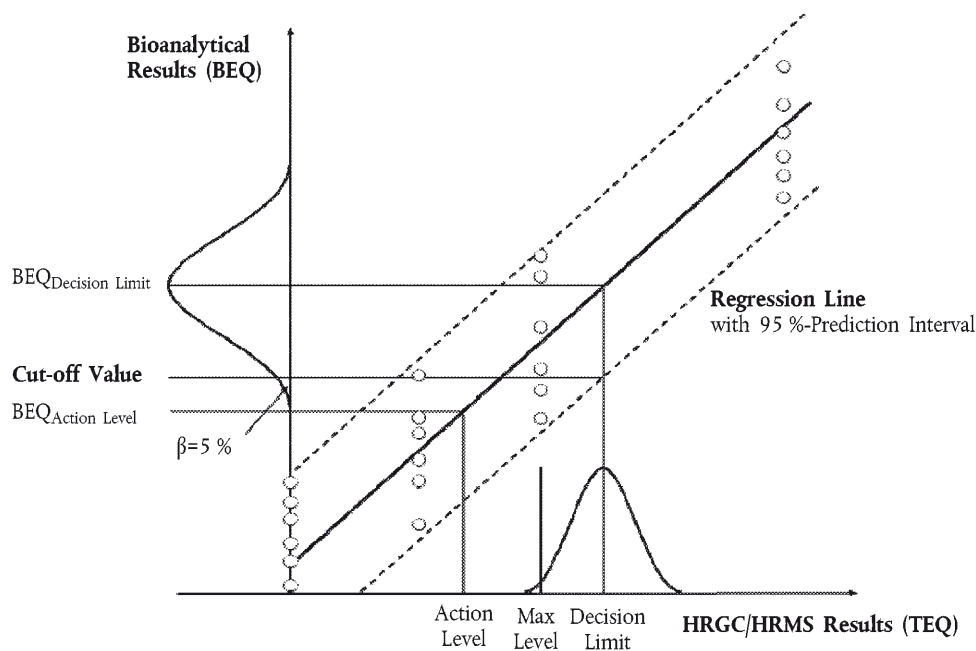
$$\text{Raja-arvo} = \text{BEQ}_{\text{DL}} - 1.64 \times \text{SD}_R$$

jossa

SD_R biologisten määrittystulosten keskihajonta kohdassa BEQ_{DL} , mitattuna laboratorionsisäisissä uusittavuusoloissa.

8.3.3 Laskeminen bioanalyttisten tulosten keskiarvona (BEQ-arvoina korjattuna nollan ja saannon suhteen), kun on analysoitu useita näytteitä ($n > 6$), jotka on kontaminoitu tasolla 2/3 merkittävänä pidetystä pitoisuudesta. Tämä perustuu havaintoon, että tämä taso on 8.3.1 tai 8.3.2 kohdan mukaan määritetyn cut-off-arvon lähistöllä.

Kuva 1



95 %:n luottamustasoon perustuva cut-off-arvon laskenta, mikä tarkoittaa, että väärien vaatimustenmukaisten tulosten osuus on $< 5\%$ ja $RSD_R < 25\%$: 1. kun käytetään 95 %:n ennustevälin *alempaa* kaistaa HRGC/HRMS-päätösrajalla, 2. kun on analysoitu useita näytteitä ($n > 6$), jotka on kontaminoitu HRGC/HRMS-päätösrajalla, joka on mittaustulosten jakauman *alempi* piste (jota kuvassa esittää kellonmuotoinen käyrä) vastaavalla BEQ:n keskiarvolla.

8.3.4 Raja-arvoja koskevat rajoitukset

BEQ-arvoihin perustuvat cut-off-arvot, jotka on laskettu validoinnin aikana saadusta suhteellisesta standardipoikkeamasta (RSD_R) käyttämällä rajallista määrää näytteitä, joiden matriisit ja/tai kongeneerit ovat erilaisia, saattavat olla korkeammat kuin TEQ-arvoihin perustuvat merkittävänä pidetyt pitoisuudet, koska tarkkuus on tällöin parempi kuin rutiinitesteissä, joissa on otettava huomioon, että yhdisteiden spektri voi olla tuntematon. Tällöin cut-off-arvot on laskettava siten, että suhteellinen standardipoikkeama $RSD_R = 25\%$, tai on käytettävä kaksi kolmasosaa merkittävänä pidetystä pitoisuudesta.

8.4 Suorituskykyä koskevat tiedot

- Koska bioanalyttisissä menetelmissä ei voida käyttää sisäisiä standardeja, on toistettavuus testattava, jotta saadaa tietoa yksittäisen koesarjan sisäisestä ja koesarjojen välisestä keskihajonnasta. Toistettavuuden on oltava alle 20 %, laboratorionsisäisen uusittavuuden alle 25 %. Tämän on perustuttava BEQ-arvona ilmaistuihin laskettuihin arvoihin nolla- ja saantokorjauksen jälkeen.
- Validointiprosessin yhteydessä on osoitettava, että testillä pystytään erottamaan toisistaan nolla- ja cut-off-arvo, jolloin vastaavan cut-off-arvon ylittävät näytteet voidaan tunnistaa (ks. 8.1.2 kohta).
- On määriteltävä kohdeyhdisteet, mahdolliset häiriöt sekä suurimmat hyväksyttävät nollatasot.
- Vasteen tai vasteesta lasketun pitoisuuden (mahdolla ainoastaan mittausalueella) prosentuaalinen keskihajonta kunkin näyteuutteen kolminkertaisessa määrittämisessä saa olla enintään 15 %.
- BEQ-arvoina ilmaistuja vertailunäytteiden korjaamattomia tuloksia (nollanäyte ja merkittävänä pidetty pitoisuus) käytetään bioanalyttisen menetelmän suorituskyvyn arviointiin vakiomittaisella ajanjaksolla.
- Menetelmänollanäytteille ja kullekin vertailunäytetyypille on luotava laadunvalvontakortit, jotka on tarkastettava. Näin varmistetaan, että analyttinen suorituskyky vastaa vaatimuksia. Tämä koskee etenkin menetelmänollanäytteiden ja mittausalueen alhaisten arvojen välistä vähimmäiseroa ja vertailunäytteiden laboratorionsisäistä uusittavuutta. Menetelmänollanäytteet on tarkistettava huolellisesti, jotta vältetään väärät vaatimustenmukaiset tulokset vähennyslaskun yhteydessä.
- Vaatimustenvastaisiksi epäillyille näytteille ja 2–10 prosentille vaatimustenmukaisista näytteistä (vähintään 20 näytettä matriisia kohden) tehtyjen GC-HRMS-analyysointien tulokset on koottava, ja niitä on käytettävä seulontamenetelmän suorituskyvyn sekä BEQ-arvon ja TEQ-arvon välisen suhteen arvioimisessa. Tätä tietokantaa voitaisiin hyödyntää rutiininäytteisiin sovellettavien cut-off-arvojen uudelleen arvioinnissa validoitujen matriisien osalta.
- Menetelmän hyvä suorituskyky voidaan osoittaa myös osallistumalla vertailutesteihin. Jos laboratorio kykenee osoittamaan hyvän suorituskykynsä, vertailutesteissä analysoitujen näytteiden tulokset, joissa pitoisuudet ovat enimmillään esim. 2 x enimmäismäärä, voidaan sisällyttää myös väärien vaatimustenmukaisten näytteiden osuuden arviointiin. Näytteiden on katettava erilaisia näytelähteitä edustavat yleisimmät kongeneerit.
- Kontaminaatiotapauksissa cut-off-arvot voidaan arvioida uudelleen ottaen huomioon näytematriisi ja tapauksessa esiintyneet kongeneerit.

9. TULOSTEN RAPORTOINTI

Varmistusmenetelmät

- Jos käytetty määrittämenetelmä sallii, määritystuloksiin on sisällyttävä yksittäisten PCDD/PCDF-yhdisteiden ja dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden pitoisuudet. Tulokset on ilmoitettava pienimpinä, suurimpina ja väliarvoina, jotta tulosten raportointiin saadaan mukaan mahdollisimman paljon tietoja. Näin tuloksia pystytään tulkitsemaan kulloistenkin vaatimusten mukaisesti.
- Raportissa on myös ilmoitettava PCDD/PCDF-yhdisteiden, dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden ja rasvojen uuttamisessa käytetty menetelmä. Näytteen rasvapitoisuus on määritettävä ja ilmoitettava sellaisten elintarvikenäytteiden osalta, joille enimmäismäärät tai toimintarajat ilmoitetaan rasvapitoisuutta kohti ja joiden rasvapitoisuuden odotetaan olevan 0–2 % (voimassa olevan lainsäädännön mukaisesti), muiden näytteiden osalta rasvapitoisuuden määrittäminen on vapaaehtoista.

- Yksittäisten sisäisten standardien saantotiedot on ilmoitettava, jos saantojen arvo on 7.2 kohdassa mainitun alueen ulkopuolella tai jos enimmäismäärä ylittyy. Muissa tapauksissa ne on toimitettava pyydettyä.
- Koska mittausepävarmuus on otettava huomioon päätettäessä näytteen vaatimustenmukaisuudesta, tiedot tästä muuttujasta on myös ilmoitettava. Siksi määrittystulos on ilmoitettava muodossa $x \pm U$, jossa x on määrittystulos ja U on laajennettu mittausepävarmuus, jossa käytetään kattavuuskerrointa 2, jolloin luottamustaso on noin 95 %. Jos PCDD/PCDF-yhdisteiden ja dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden pitoisuudet määritetään erikseen, erillisten analyysitulosten yhteenlaskettua arvioitua laajennettua epävarmuutta on käytettävä PCDD/PCDF-yhdisteiden ja dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden pitoisuuksien summaa varten.
- Jos mittausepävarmuus otetaan huomioon soveltamalla päätösrajaa CCa (liitteessä II olevassa IV.2 kohdassa kuvatulla tavalla), tiedot tästä muuttujasta on ilmoitettava.
- Tulokset on ilmaistava samoina yksikköinä ja (vähintään) yhtä monen merkitsevän numeron tarkkuudella kuin asetuksessa (EY) N:o 1881/2006 vahvistetut enimmäispitoisuudet.

Bioanalyttiset seulontamenetelmät

- Seulonnan tuloksen perusteella näytteen ilmoitetaan olevan "vaatimustenmukainen" tai sen "epäillään olevan vaatimustenvastainen".
- Lisäksi tulos voidaan ilmaista PCDD/PCDF-yhdisteiden ja/tai dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden osalta BEQ-arvona eikä TEQ-arvona (ks. liitteessä III oleva 2 kohta).
- Jos mittausepävarmuus lasketulla BEQ-tasolla ilmoitetaan esimerkiksi keskihajontana, on näytteelle tehtävä vähintään kolminkertainen analyysi, johon kuuluu uutto, puhdistus ja testivasteen määrittäminen.
- Jos näytteen vaste on raportointirajan alapuolella, näytteellä ilmoitetaan olevan raportointirajaa matalampi arvo.
- Kunkin näytematriisityypin osalta raportissa on mainittava merkittävänä pidetty taso (enimmäismäärä, toimintaraja), johon arviointi perustuu.
- Raportissa on mainittava käytetyn testin tyyppi, testin peruseriaate ja kalibrointimenetelmä.
- Raportissa on myös ilmoitettava PCDD/PCDF-yhdisteiden, dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden ja rasvojen uuttamisessa käytetty menetelmä. Näytteen rasvapitoisuus on määritettävä ja ilmoitettava sellaisten elintarvikkeenäytteiden osalta, joille enimmäismäärät tai toimintarajat ilmoitetaan rasvapitoisuutta kohti ja joiden rasvapitoisuuden odotetaan olevan 0–2 % (voimassa olevan lainsäädännön mukaisesti), muiden näytteiden osalta rasvapitoisuuden määrittäminen on vapaaehtoista.

LIITTEEN III lisäys

Ihmisille aiheutuvan riskin arvioinnissa käytettävät WHO:n toksisuusekvivalenssikertoimet (TEF) perustuvat Genevessä kesäkuussa 2005 pidetyn Maailman terveysjärjestön (WHO) asiantuntijakokouksen päätelmiin (International Programme on Chemical Safety (IPCS)) (Martin van den Berg et al., The 2005 World Health Organization Re-evaluation of Human and Mammalian Toxic Equivalency Factors for Dioxins and Dioxin-like Compounds. Toxicological Sciences 93(2), 223–241 (2006))

Yhdiste	TEF-arvo	Yhdiste	TEF-arvo
Dibentso-p-dioksiinit (PCDD:t)		Dioksiinien kaltaiset PCB-yhdisteet: non-orto-PCB-yhdisteet ja mono-orto-PCB-yhdisteet	
2,3,7,8-TCDD	1		
1,2,3,7,8-PeCDD	1	<i>Non-orto-PCB-yhdisteet</i>	
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0,1	PCB 77	0,0001
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0,1	PCB 81	0,0003
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0,1	PCB 126	0,1
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0,01	PCB 169	0,03
OCDD	0,0003		
Dibentsofuraanit (PCDF:t)		<i>Mono-orto-PCB-yhdisteet</i>	
2,3,7,8-TCDF	0,1	PCB 105	0,00003
1,2,3,7,8-PeCDF	0,03	PCB 114	0,00003
2,3,4,7,8-PeCDF	0,3	PCB 118	0,00003
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0,1	PCB 123	0,00003
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0,1	PCB 156	0,00003
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0,1	PCB 157	0,00003
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0,1	PCB 167	0,00003
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0,01	PCB 189	0,00003
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0,01		
OCDF	0,0003		

Käytetyt lyhenteet: T = tetra; Pe = penta; Hx = heksa; Hp = hepta; O = okta; CDD = klooridibentsodioksiini; CDF = klooridibentsofuraani; CB = klooribifenyyl.

LIITE IV

Näytteiden valmistus ja tietyissä elintarvikkeissa esiintyvien muiden kuin dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden (PCB 28, 52, 101, 138, 153, 180) pitoisuuksien virallisessa tarkastuksessa käytettäviä määrittämenetelmiä koskevat vaatimukset

1. Soveltuvat osoitusmenetelmät

Kaasu-nestekromatografia elektroninsieppausdetektorilla käyttäen (GC/ECD), GC/LRMS, GC/MS-MS, GC/HRMS tai vastaava menetelmä.

2. Tarkasteltavana olevien analyttien tunnistus ja varmistus

— Suhteellinen retentioaika verrattuna sisäisiin standardeihin tai vertailustandardeihin (hyväksyttävä poikkeama $\pm 0,25$ %).

— On varmistettava, että kaikki kuusi indikaattori-PCB-yhdistettä (PCB 28, PCB 52, PCB 101, PCB 138, PCB 153 ja PCB 180) erotetaan mittausta häiritsevästä aineista ja eritoten mukana eluoituvista PCB-yhdisteistä kaasukromatografian avulla, erityisesti jos joidenkin näytteiden pitoisuudet ovat laillisissa rajoissa, ja vaatimustenvastaisuus on vahvistettava.

[Mukana eluoituvia samantyyppisiä yhdisteitä ovat usein esimerkiksi PCB 28/31, PCB 52/69 ja PCB 138/163/164. GC-MS-menetelmien osalta on otettava huomioon myös mahdolliset useampia klooriatomeja sisältävien molekyylien osien aiheuttamat häiriöt.]

— GC-MS-tekniikkaa koskevat vaatimukset

— Vähintään seuraavien valvonta:

— kaksi spesifistä ionia HRMS-menetelmässä,

— kaksi spesifistä ionia, joiden $m/z > 200$, tai kolme spesifistä ionia, joiden $m/z > 100$, LRMS-menetelmässä;

— 1 prekursori- ja 2 tuoteionia MS-MS-menetelmässä.

— Suurimmat sallitut toleranssit valikoitujen massafragmenttien määrien suhteille:

Valikoitujen massafragmenttien määräsuhteen suhteellinen poikkeama teoreettisesta määrästä tai kohdeionin (runsaimmin esiintyvä mitattu ionin) ja sekundaaris(ten) ionin(e)n kalibrointistandardista:

Sekundaaristen ionin(e)n suhteellinen intensiteetti verrattuna kohdeioniin	GC-EI-MS (suhteellinen poikkeama)	GC-CI-MS, GC-MS ⁿ (suhteellinen poikkeama)
> 50 %	± 10 %	± 20 %
> 20 % – 50 %	± 15 %	± 25 %
> 10 % – 20 %	± 20 %	± 30 %
≤ 10 %	± 50 % (*)	± 50 % (*)

(*) Saatavilla riittävä lukumäärä massafragmenteja, joiden suhteellinen intensiteetti on yli 10 %, siksi ei ole suositeltavaa käyttää sekundaarista ionia, jonka suhteellinen intensiteetti on alle 10 % kohdeioniin verrattuna.

— GC-ECD-tekniikkaa koskevat vaatimukset:

Toleranssin ylittävät tulokset on varmistettava kahdella kaasukromatografikolonnilla, joiden stationäärifaasin polariteetti on erilainen.

3. Menetelmän suorituskyvyn osoittaminen

Suorituskyky on validoitava merkittävänä pidetyllä mittausalueella ($0,5-2 \times$ merkittävänä pidetty pitoisuus), ja toistettujen mittausten variaatiokertoimen on oltava hyväksyttävä (ks. 8 kohta, kohtalaista tarkkuutta koskevat vaatimukset).

4. Kvantitointiraja

Nolla-arvot eivät saa ylittää 30:tä prosenttia enimmäistasoa vastaavasta kontaminaatiotasosta (¹).

5. Laadunvalvonta

Nollanäytteiden säännöllinen mittaus; sellaisten näytteiden analyysi, joihin on lisätty analyttia; laadunvalvontanäytteet; osallistuminen asianomaisia matriiseja koskeviin laboratorioden välisiin tutkimuksiin.

(¹) On erittäin suositeltavaa, että reagenssinolla vaikuttaa vain vähän näytteessä olevan kontaminantin tasoon. Laboratorion on seurattava nollatasojen vaihtelua etenkin, jos nollatasot vähennetään mittausravintoa.

6. Saantojen valvonta

- On käytettävä sopivia sisäisiä standardeja, joiden fysikaalis-kemialliset ominaisuudet ovat samantapaiset kuin tarkasteltavana olevilla analyteillä.
- Sisäisten standardien lisääminen:
 - Lisääminen tuotteisiin (ennen uuttoa ja puhdistusta);
 - Myös lisäys uutettuun rasvaan (ennen puhdistusprosessia) on mahdollista, jos enimmäismäärä ilmoitetaan suhteessa rasvapitoisuuteen.
- Vaatimukset menetelmille, joissa käytetään kaikkia kuutta isotooppileimattua indikaattori-PCB-yhdistettä:
 - Tulokset on oikaistava sisäisten standardien saantojen suhteen.
 - Isotooppileimattujen sisäisten standardien yleisesti hyväksytyt saannot ovat 50–120 %.
 - Pienemmät tai suuremmat saannot voidaan hyväksyä yksittäisille yhdisteille, jos niiden osuus kuuden indikaattori-PCB-yhdisteen yhteismäärästä on alle 10 %.
- Vaatimukset menetelmille, joissa ei käytetä kaikkia kuutta isotooppileimattua sisäistä standardia tai muuta sisäistä standardia:
 - Sisäisten standardien saannot on tarkastettava kaikista näytteistä,
 - Sisäisten standardien hyväksytyt saannot ovat 60–120 %,
 - Tulokset on oikaistava sisäisten standardien saantojen suhteen.
- Leimaamattomien yhdisteiden saannot tarkastetaan sellaisten näytteiden avulla, joihin on lisätty analyttää, tai laadunvalvontanäytteiden avulla, joiden pitoisuudet ovat merkittävänä pidetyllä vaihteluvälillä. Näiden yhdisteiden hyväksyttävät saannot ovat 70–120 %.

7. Laboratorioita koskevat vaatimukset

Asetuksen (EY) N:o 882/2004 säännösten mukaisesti laboratorioiden on oltava ISO-oppaan 58 mukaisesti toimivan tunnustetun laitoksen hyväksymiä, millä varmistetaan, että laboratoriot soveltavat analyttistä laadunvarmistusta. Laboratorioiden hyväksyntä on tehtävä EN ISO/IEC 17025 -standardin mukaisesti.

8. Suorituskykyä koskevat tiedot: kriteerit, jotka koskevat kuuden indikaattori-PCB-yhdisteen summaa raja-arvoa lähellä olevalla pitoisuudella

Oikeellisuus	– 30 – + 30 %
Kohtalainen tarkkuus (RSD%)	≤ 20 %
Suurimman ja pienimmän arvon erotus	≤ 20 %

9. Tulosten raportointi

- Mikäli analyttinen menetelmä sallii, analyysin tuloksiin on sisällyttävä yksittäisten PCB-yhdisteiden pitoisuudet ja tulokset on ilmoitettava pienimpinä, suurimpina ja väliarvoina, jotta tulosten raportointiin saataisiin mukaan mahdollisimman paljon tietoja, jolloin tuloksia pystytään tulkitsemaan erityisten vaatimusten mukaisesti.
- Raportissa on myös ilmoitettava PCB-yhdisteiden ja rasvojen uuttamisessa käytetty menetelmä. Näytteen rasvapitoisuus on määritettävä ja ilmoitettava sellaisten elintarvikenäytteiden osalta, joille enimmäismäärät ilmoitetaan rasvapitoisuutta kohti ja joiden rasvapitoisuuden odotetaan olevan 0–2 % (voimassa olevan lainsäädännön mukaisesti), muiden näytteiden osalta rasvapitoisuuden määrittäminen on vapaaehtoista.
- Yksittäisten sisäisten standardien saantotiedot on toimitettava, jos saantojen arvo on 6 kohdassa mainitun alueen ulkopuolella tai jos enimmäismäärä ylittyy. Muissa tapauksissa ne on toimitettava pyydettyäessä.
- Koska mittausepävarmuus on otettava huomioon päätettäessä näytteen vaatimustenmukaisuudesta, tiedot tästä muuttujasta on myös ilmoitettava. Siksi määrittystulos on ilmoitettava muodossa $x \pm U$, jossa x on määrittystulos ja U on laajennettu mittausepävarmuustekijä, jossa käytetään kattavuuskerrointa 2, jolloin luotettavuustaso on noin 95 %.
- Jos mittausepävarmuus otetaan huomioon soveltamalla päätösrajaa $CC\alpha$ (liitteessä II olevassa IV.1 kohdassa kuvattulla tavalla), tiedot tästä muuttujasta on ilmoitettava.
- Tulokset on ilmaistava samoina yksikköinä ja (vähintään) yhtä monen merkitsevän numeron tarkkuudella kuin asetuksessa (EY) N:o 1881/2006 vahvistetut enimmäispitoisuudet.