

## II

(Muut kuin lainsäätämisyksessä hyväksyttävät säädökset)

## ASETUKSET

**KOMISSION ASETUS (EU) N:o 709/2014,**

**annettu 20 päivänä kesäkuuta 2014,**

**asetuksen (EY) N:o 152/2009 muuttamisesta dioksiinien ja polykloorattujen bifenyyliden pitoisuuksien määrittämisen osalta**

**(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 suoritusta virallisesta valvonnasta 29 päivänä huhtikuuta 2004 annetun Euroopan parlamentin ja neuvoston asetuksen (EY) N:o 882/2004 <sup>(1)</sup> ja erityisesti sen 11 artiklan 4 kohdan,

sekä katsoo seuraavaa:

- (1) Komission asetus (EY) N:o 152/2009 <sup>(2)</sup> sisältää menetelmät polykloorattujen dibentso-para-dioksiinien (PCDD:t), polykloorattujen dibentsofuraanien (PCDF:t) ja dioksiinien kaltaisten polykloorattujen bifenyyliden (PCB-yhdisteiden) määrittämiseksi rehussa.
- (2) Olisi vahvistettava sellaisia seulontamenetelmiä koskevat vaatimukset, joilla tunnistetaan näytteet, joiden PCDD/PCDF-pitoisuudet ja dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden pitoisuudet ovat merkittäviä (mieluiten valitsemalla toimintarajat ylittäviä näytteitä ja varmistamalla, että valituksi tulee enimmäismäärät ylittäviä näytteitä), ja joiden näytteenkäsittelykapasiteetti on suuri. Mitä enimmäismääriin tulee, näillä seulontamenetelmillä saatujen väärin vaatimustenmukaisten tulosten osuuden olisi oltava alle 5 prosenttia.
- (3) Jos seulontamenetelmällä saadut tulokset ylittävät cut-off-arvon, alkuperäinen näyte olisi analysoitava menetelmällä, jolla pystytään tunnistamaan ja määrittämään näytteeseen sisältyvät PCDD/PCDF-yhdisteet ja dioksiinien kaltaiset PCB-yhdisteet. Tällaisista menetelmistä käytetään jäljempänä nimitystä 'varmistusmenetelmät'. Tekninen kehitys on osoittanut, että kaasukromatografian/korkearesoluutioisen massaspektrometrian (GC-HRMS) lisäksi myös kaasukromatografian/tandem-massaspektrometrian (GC-MS/MS) käyttäminen varmistusmenetelmänä olisi sallittava enimmäismäärän noudattamisen tarkistamisessa.
- (4) Voimassa olevien sääntöjen soveltamisesta saatujen kokemusten perusteella nykyisiä säännöksiä on aiheellista muuttaa rinnakkaismäärityksen tarpeellisuuden, vaatimustenmukaisuuden arvioimisen rinnakkaismäärityksessä sekä suurimpien ja pienimpien tulosten hyväksyttävää eroa koskevan vaatimuksen osalta.
- (5) Sen vuoksi asetusta (EY) N:o 152/2009 olisi muutettava.
- (6) Tässä asetuksessa säädetyt toimenpiteet ovat elintarvikeketjua ja eläinten terveyttä käsittelevän pysyvän komitean lausunnon mukaiset,

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

<sup>(2)</sup> Komission asetus (EY) N:o 152/2009, annettu 27 päivänä tammikuuta 2009, näytteenotto- ja määritysmenetelmistä rehujen virallista valvontaa varten (EUVL L 54, 26.2.2009, s. 1).

ON HYVÄKSYNYT TÄMÄN ASETUKSEN:

*1 artikla*

Muutetaan asetuksen (EY) N:o 152/2009 liitteessä V oleva B osa tämän asetuksen liitteen mukaisesti.

*2 artikla*

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

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

Tehty Brysselissä 20 päivänä kesäkuuta 2014.

*Komission puolesta*  
*Puheenjohtaja*  
José Manuel BARROSO

## LIITE

Korvataan asetuksen (EY) N:o 152/2009 liitteessä V oleva B osa ”DIOKSIINIEN (PCDD/PCDF) JA PCB-YHDISTEIDEN PITOISUUKSIEN MÄÄRITTÄMINEN” seuraavasti:

”B. DIOKSIINIEN (PCDD/PCDF) JA PCB-YHDISTEIDEN PITOISUUKSIEN MÄÄRITTÄMINEN

## I LUKU

**Näytteenottomenetelmät ja määrittystulosten tulkinta****1. Tarkoitus ja soveltamisala**

Rehun polykloorattujen dibentso-para-dioksiinien (PCDD-yhdisteiden), polykloorattujen dibentsofuraanien (PCDF-yhdisteiden), dioksiinien kaltaisten polykloorattujen bifenyyliden (PCB-yhdisteiden) (\*) ja muiden kuin dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden pitoisuuksien viralliseen valvontaan tarkoitettuja näytteitä on otettava liitteessä I vahvistettujen säännösten mukaisesti. Rehuun tasaisesti jakautuneiden aineiden tai tuotteiden valvontaan on sovellettava liitteessä I olevassa 5.1 kohdassa vahvistettuja määriä koskevia vaatimuksia. Tällä tavoin saatujen kokoomanäytteiden katsotaan edustavan eriä tai osia, joista ne on otettu. Laboratorionäytteistä määritettyjen pitoisuuksien perusteella arvioidaan, noudattavatko tutkittavat erät niitä enimmäismääriä, jotka on vahvistettu direktiivissä 2002/32/EY.

Tässä B osassa sovelletaan komission päätöksen 2002/657/EY (\*) liitteessä I vahvistettuja määritelmiä.

Kyseisten määritelmien lisäksi tässä B osassa sovelletaan seuraavia määritelmiä:

’Seulontamenetelmillä’ tarkoitetaan niiden näytteiden valitsemista, joissa PCDD/PCDF-yhdisteiden ja dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden pitoisuudet ylittävät enimmäismäärät tai toimintakynnykset. Seulontamenetelmien on mahdollistettava suuri näytteenkäsittelykapasiteetti, joka on kustannustehokas ja parantaa mahdollisuutta havaita uusia tapauksia, joihin liittyy merkittäviä altistumis- ja terveysriskejä kuluttajien kannalta. Seulontamenetelmien on perustuttava bioanalyttisiin tai GC-MS-menetelmiin. Enimmäismäärän noudattamisen tarkastamiseksi otetuista cut-off-arvon ylittävistä näytteistä saadut tulokset on tarkistettava tekemällä alkuperäisestä näytteestä täydellinen uusi analyysi varmistusmenetelmällä.

’Varmistusmenetelmillä’ tarkoitetaan menetelmiä, joilla saadaan täydelliset tiedot tai lisätietoja, joiden avulla PCDD/PCDF-yhdisteet ja dioksiinien kaltaiset PCB-yhdisteet voidaan tunnistaa ja määrittää yksiselitteisesti enimmäistasolla tai tarvittaessa toimintakynnyksellä. Tällaisia varmistusmenetelmiä ovat korkean erotuskyvyn kaasukromatografia/korkean erotuskyvyn massaspektrometria (GC-HRMS) tai kaasukromatografia/tandem-massaspektrometria (GC-MS/MS).

**2. Erän tai osan enimmäismäärää koskevien vaatimusten mukaisuus****2.1 Muut kuin dioksiinien kaltaiset PCB-yhdisteet**

Erä on enimmäismäärää koskevien vaatimusten mukainen, jos määrittystulos ei ylitä direktiivissä (EY) N:o 2002/32/EY muille kuin dioksiinien kaltaisille PCB-yhdisteille vahvistettua enimmäismäärää, kun otetaan huomioon mittausepävarmuus.

Erä ei ole enimmäismäärää koskevien vaatimusten mukainen, jos suurimman arvon (\*) 2 mukainen määrittystulos, joka on vahvistettu toistomäärityksellä (\*), ylittää direktiivissä 2002/32/EY vahvistetun enimmäismäärän, kun otetaan huomioon mittausepävarmuus. Vaatimustenmukaisuuden varmistamiseen käytetään näiden kahden määrittelyn keskiarvoa, mittausepävarmuus huomioon ottaen.

Mittausepävarmuus otetaan 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 enimmäismäärän.
- Vahvistetaan päätösraja (CCa) päätöksen 2002/657/EY liitteessä I olevan 3.1.2.5 kohdan mukaisesti. Erä tai osaerä ei ole vaatimustenmukainen, jos mitattu arvo on suurempi tai yhtä suuri kuin CCa.

1, 2 ja 3 kohtaa sovelletaan virallista valvontaa varten otettujen näytteiden määrittystuloksiin. Suoja- ja riitojenratkaisutoimenpiteitä varten suoritettaviin määrittäisiin sovelletaan kansallisia sääntöjä.

## 2.2 PCDD/PCDF-yhdisteet ja dioksiinien kaltaiset PCB-yhdisteet

Erä on enimmäismäärien mukainen, jos tulos yhdestä analyysistä,

- joka on suoritettu seulontamenetelmällä, jossa väärin vaatimustenmukaisten tulosten osuus on alle 5 %, osoittaa, ettei pitoisuus ylitä enimmäismäärää, joka on vahvistettu direktiivissä 2002/32/EY PCDD/PCDF-yhdisteille sekä PCDD/PCDF-yhdisteiden ja dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden summalle,
- joka on suoritettu varmistusmenetelmällä, ei ylitä enimmäismäärää, joka on vahvistettu direktiivissä 2002/32/EY PCDD/PCDF-yhdisteille sekä PCDD/PCDF-yhdisteiden ja dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden summalle, kun otetaan huomioon mittausepävarmuus.

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

Erä ei ole enimmäismäärää koskevien vaatimusten mukainen, jos varmistusmenetelmällä saadun suurimman arvon <sup>(3)</sup>\* mukainen määrittystulos, joka on vahvistettu toistomäärityksellä, ylittää direktiivissä 2002/32/EY vahvistetun enimmäismäärän, kun otetaan huomioon mittausepävarmuus <sup>(6)</sup>\* 2. Vaatimustenmukaisuuden varmistamiseen käytetään näiden kahden määrittelyn keskiarvoa, mittausepävarmuus huomioon ottaen.

Mittausepävarmuus otetaan 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 enimmäismäärän. Jos PCDD/PCDF-yhdisteiden ja dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden pitoisuudet määritetään erikseen, PCDD/PCDF-yhdisteiden ja dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden erillisten määrittelytulosten yhteenlaskettua arvioitua laajennettua epävarmuutta on käytettävä PCDD/PCDF-yhdisteiden ja dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden pitoisuuksien summana.
- Vahvistetaan päätösraja (CCa) päätöksen 2002/657/EY liitteessä I olevan 3.1.2.5 kohdan mukaisesti. Erä tai osaerä ei ole vaatimustenmukainen, jos mitattu arvo on suurempi tai yhtä suuri kuin CCa.

1–4 kohtaa sovelletaan virallista valvontaa varten otettujen näytteiden määritystuloksiin. Suoja- ja riitojenratkaisutoimenpiteitä varten suoritettaviin määrityksiin sovelletaan kansallisia sääntöjä.

## 3. Tulokset, jotka ylittävät direktiivin 2002/32/EY liitteessä II vahvistetut toimintakynnykset

Toimintakynnyksien 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 valitsemiseksi. Jos lähteen tunnistamiseksi ja saastumisen vähentämiseksi tai poistamiseksi tarvitaan huomattavia ponnistuksia, toimintakynnyksen ylittyminen saattaa olla aiheellista vahvistaa toistomäärityksellä käyttäen varmistusmenetelmää ja ottaen huomioon mittausepävarmuus <sup>(7)</sup>\*.

### II LUKU

## **Näytteiden valmistus ja vaatimukset, jotka rehussa olevien dioksiinipitoisuuksien (PCDD/PCDF) ja dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden virallisessa valvonnassa käytettyjen määritysmenetelmien on täytettävä**

### 1. Soveltamisala

Tässä luvussa vahvistettuja vaatimuksia on sovellettava analysoitaessa rehua 2,3,7,8-substituoitujen polykloorattujen dibentso-para-dioksiinien (PCDD:t) ja polykloorattujen dibentsofuraanien (PCDF:t) ja dioksiinien kaltaisten polykloorattujen bifenyylien (dioksiinien kaltaiset PCB:t) pitoisuuksien virallista valvontaa ja muita sääntelytarkoituksia varten.

PCDD/PCDF-yhdisteiden ja dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden esiintymistä rehussa voidaan valvoa kahdella erityyppisellä määritysmenetelmällä:

#### a) Seulontamenetelmät

Seulontamenetelmillä pyritään valitsemaan ne näytteet, joissa PCDD/PCDF-yhdisteiden ja dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden pitoisuudet ylittävät enimmäismäärät tai toimintakynnykset. Seulontamenetelmien olisi mahdollistettava suuri näytteenkäsittelykapasiteetti, joka on kustannustehokas ja parantaa mahdollisuutta havaita uusia tapauksia, joihin liittyy merkittäviä altistumis- ja terveysriskejä kuluttajien kannalta. Niiden tavoitteena tulisi olla väärin vaatimustenmukaisten tulosten välttäminen. Niihin voi kuulua bioanalyttisiä menetelmiä ja GC-MS-menetelmiä.

Seulontamenetelmät perustuvat määrittystuloksen ja cut-off-arvon keskinäiseen vertailuun ja antavat myönteisen tai kielteisen viitteen siitä, ylittyykö enimmäismäärä tai toimintakynnys. PCDD/PCDF-pitoisuus sekä PCDD/PCDF-yhdisteiden ja dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden summa näytteissä, joiden epäillään olevan enimmäismäärää koskevien vaatimusten vastaisia, on määritettävä tai vahvistettava varmistusmenetelmän avulla.

Lisäksi seulontamenetelmät voivat antaa viitteen PCDD/PCDF-yhdisteiden ja dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden pitoisuuksista näytteessä. Sovellettaessa bioanalyttisiä seulontamenetelmiä tulos ilmaistaan bioanalyttisinä ekvivalentteina (BEQ), kun taas sovellettaessa fysikaalis-kemiallisia GC-MS-menetelmiä se ilmaistaan toksisuusekvivalentteina (TEQ). Seulontamenetelmien numeerisesti ilmoitetut tulokset soveltuvat vaatimustenmukaisuuden, epäilyn vaatimustenvastaisuuden tai toimintakynnysten ylittymisen osoittamiseen, ja ne antavat viitteen pitoisuuksien vaihteluvälistä, kun suoritetaan jatkotoimia varmistusmenetelmin. Ne eivät sovellu esimerkiksi taustapitoisuustasojen arvioimiseen, saannin arvioimiseen, pitoisuuksien kehityssuuntausten seuraamiseen tai toimintakynnysten ja enimmäismäärien uudelleenarviointiin.

#### b) Varmistusmenetelmät

Varmistusmenetelmät mahdollistavat näytteessä esiintyvien PCDD/PCDF-yhdisteiden ja dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden yksiselitteisen tunnistamisen ja määrittämisen ja antavat täydelliset tiedot kongeneerin tasolla. Sen vuoksi näiden menetelmien avulla voidaan valvoa enimmäismääriä ja toimintakynnyksiä sekä vahvistaa seulontamenetelmillä saadut tulokset. Lisäksi tuloksia voidaan käyttää muihin tarkoituksiin, kuten matalien taustapitoisuustasojen määrittämiseen rehuvalvonnassa, kehityssuuntausten seuraamiseen, väestön altistumisen arvioimiseen ja tietokannan luomiseen enimmäismäärien ja toimintakynnysten mahdollista uudelleenarviointia varten. Ne ovat merkittäviä myös kongeneerijakauman määrittämisessä, jotta mahdolliset saastumislähteet voidaan kartoittaa. Tällaiset menetelmät ovat GC-HRMS-menetelmiä. Sen vahvistamiseksi, noudattaako näyte enimmäismäärää koskevia vaatimuksia, voidaan käyttää myös GC-MS/MS-menetelmää.

## 2. Tausta

Toksisuusekvivalenttien (TEQ) pitoisuudet lasketaan siten, että tietyssä näytteessä olevien yksittäisten aineiden pitoisuudet kerrotaan kunkin aineen toksisuusekvivalentssikertoimella (TEF) (ks. alaviite 2\* luvussa I) ja saadut määrät lasketaan yhteen, jolloin tulokseksi saadaan dioksiinien kaltaisten yhdisteiden kokonaispitoisuus toksisuusekvivalentteina ilmaistuna.

Tässä B osassa yksittäisen kongeneerin hyväksytyllä määritysrajalla tarkoitetaan matalinta analyysin pitoisuutta, joka voidaan mitata kohtuullisella tilastollisella varmuudella ja joka täyttää tunnistamista koskevat kriteerit, jotka on kuvattu kansainvälisesti tunnustetuissa standardeissa, esimerkiksi standardissa EN 16215:2012 (Animal feed — Determination of dioxins and dioxin-like PCBs by GC-HRMS and of indicator PCBs by GC-HRMS) ja/tai tarkistetuissa EPA-menetelmissä 1613 ja 1668.

Yksittäisen kongeneerin hyväksytyt määritysraja voi olla

- a) se näyteuutteesta olevan analyysin pitoisuus, joka tuottaa kahdelle mitattavalle ionille mittalaitteessa vasteen, jossa vähemmän herkän raakadatasignaalin signaali-kohinasuhde on 3:1; tai
- b) jos signaali-kohinasuhteen laskelma ei teknisistä syistä tuota luotettavia tuloksia, kalibrointikäyrällä oleva alin pitoisuus, joka antaa hyväksyttävän ( $\leq 30\%$ ) ja johdonmukaisen (mitattuna vähintään näytesarjan alusta ja lopusta) poikkeaman keskimääräisestä suhteellisesta vastekertoimesta, joka on laskettu kalibrointikäyrän kaikille pisteille kussakin näytesarjassa. Määritysraja lasketaan alimmasta pitoisuudesta ottaen huomioon sisäisten standardien saannot ja näytteen määrä.

Bioanalyttisillä seulontamenetelmillä ei saada tuloksia kongeneeritasolla, vaan ainoastaan viite<sup>(8)</sup>\* TEQ-tasosta bioanalyttisinä ekvivalentteina (BEQ) ilmaistuna sen vuoksi, että kaikki vasteen tuottavassa näyteuutteesta olevat yhdisteet eivät täytä kaikkia TEQ-periaatteen vaatimuksia.

Seulonta- ja varmistusmenetelmiä voidaan käyttää tietyn matriisin tarkastuksessa ainoastaan, jos menetelmät ovat riittävät herkkiä ja kykenevät luotettavasti havaitsemaan määrät toimintakynnyksellä tai enimmäismäärällä.

## 3. Laadunvarmistusta koskevat vaatimukset

- 3.1 On toimittava ristikontaminaation välttämiseksi kussakin näytteenoton ja analyysin vaiheessa.
- 3.2 Näytteet on varastoitava ja kuljetettava varastointiin soveltuvissa lasista, alumiinista, polypropyleenistä tai polyetyleenistä valmistetuissa säiliöissä, jotka eivät vaikuta PCDD/PCDF-yhdisteiden ja dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden pitoisuuksiin näytteissä. Paperipölyjäämät on poistettava näytesäiliöstä.

- 3.3 Näytteiden varastointi ja kuljetus on järjestettävä niin, että rehunäyte pysyy koskemattomana.
- 3.4 Jokainen laboratorionäyte jauhetaan tarvittaessa hienoksi ja sekoitetaan huolellisesti käyttäen menetelmää, jonka on osoitettu homogenoivan näytteen täydellisesti (esim. hienonnuksella 1 mm:n siivilän läpäiseviksi hiukkasiksi). Liian kosteat näytteet on kuivattava ennen hienontamista.
- 3.5 Reagenssit, lasitavarat ja laitteet on tarkistettava sen varalta, että ne voivat osaltaan vaikuttaa TEQ- ja BEQ-arvoihin perustuviin tuloksiin.
- 3.6 On suoritettava ilman näytettä tehtävä nolla-analyysi, jossa käydään läpi kaikki analyysin vaiheet.
- 3.7 Bioanalyttisten menetelmien osalta määrittäessä käytettävät lasitavarat ja liuottimet on testattava sen toteamiseksi, ettei niissä ole yhdisteitä, jotka voivat häiritä kohdeyhdisteiden havaitsemista mitta-alueella. Lasitavarat on huuhdeltava liuottimilla tai kuumennettava lämpötiloihin, jotka soveltuvat PCDD/PCDF-yhdisteiden, dioksiinien kaltaisten yhdisteiden ja häiriöitä aiheuttavien yhdisteiden poistamiseen lasitavaroiden pinnalta.
- 3.8 Uuttamisessa käytettävän näytteen määrän on oltava riittävä, jotta täytetään vaatimukset, jotka koskevat riittävän matalaa mitta-alueella, joka käsittää enimmäismäärien tai toimintakynnysten suuruiset pitoisuudet.
- 3.9 Tarkasteltavien tuotteiden yhteydessä käytettäviin näytteiden valmistusmenetelmiin on sovellettava kansainvälisesti hyväksytyjä suuntaviivoja.

#### 4. Laboratorioita koskevat vaatimukset

- 4.1 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.
- 4.2 Laboratorion pätevyys osoitetaan sen osallistumisella jatkuvasti hyvin tuloksiin laboratorioden välisiin tutkimuksiin, jotka koskevat PCDD/PCDF-yhdisteiden ja dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden määrittämistä asianmukaisissa rehumatriiseissa ja pitoisuusalueilla.
- 4.3 Seulontamenetelmiä näytteiden rutiinitarkastuksissa käyttävien laboratorioden on tehtävä tiivistä yhteistyötä varmistusmenetelmää käyttävien laboratorioden kanssa laadunvalvonnan ja vaatimustenvastaisiksi epäiltyjen näytteiden määritystuloksen varmistuksen osalta.

#### 5. Perusvaatimukset dioksiinien (PCDD/PCDF-yhdisteiden) ja dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden analyysille

##### 5.1 Matala mitta-alue ja määrittämissuorat

Koska osa PCDD/PCDF-yhdisteistä on erittäin myrkyllisiä, ne on pystyttävä havaitsemaan jo femtogrammoina ( $10^{-15}$  g) ilmaistavan alueen ylemmillä arvoilla. Useimpien PCB-kongeneerien osalta määrittämissuoraksi riittää nanogrammoina ( $10^{-9}$  g) ilmaistava alue. Toksisempien dioksiinien kaltaisten PCB-kongeneerien (erityisesti ei-orto-substituoitujen kongeneerien) mittaustuloksen alarajojen on oltava pikogrammoina ( $10^{-12}$  g) ilmaistavan alueen alimpia arvoja. Kaikkien muiden PCB-yhdisteiden osalta määrittämissuoraksi riittää nanogrammoina ( $10^{-9}$  g) ilmaistava alue.

##### 5.2 Hyvä selektiivisyys (spesifisyys)

- 5.2.1 PCDD/PCDF-yhdisteet ja dioksiinien kaltaiset PCB-yhdisteet on voitava erottaa lukuisista muista uuttamisessa mukana tulevista ja mahdollisesti häiriöitä aiheuttavista yhdisteistä, joiden pitoisuudet voivat olla moninkertaisia verrattuna tarkasteltavien analyttien pitoisuuksiin. GC-MS-menetelmissä on pystyttävä tarvittaessa erottelemaan eri kongeneerit, kuten toksiset kongeneerit (esim. seitsemäntoista 2,3,7,8-substituotua PCDD/PCDF-yhdistettä ja kaksitoista dioksiinien kaltaista PCB-yhdistettä) muista kongeneereista.
- 5.2.2 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 vaatimustenvastaisiin tuloksiin.

- 5.3 Hyvä tarkkuus (oikeellisuus ja täsmällisyys, biotestin korjattu saanto)
- 5.3.1 GC-MS-menettelmien osalta määrittämissä on pystyttävä antamaan pätevä arvio aineen todellisesta pitoisuudesta näytteessä. Hyvä tarkkuus on välttämätön, jotta voidaan välttää näytteen määritystuloksen hylkääminen sen perusteella, että määritetyn TEQ-arvon luotettavuus on heikko. Tarkkuus ilmaistaan *oikeellisuutena* (sertifioidusta materiaalista mitatun tutkittavan aineen määrän keskiarvon ja sertifioitujen arvojen erotus prosentteina tästä arvosta) ja *täsmällisyytenä* ( $RSD_R$  on uusittavissa olosuhteissa saaduista tuloksista laskettu suhteellinen standardipoikkeama).
- 5.3.2 Bioanalyttisten menetelmien osalta on määritettävä biotestin korjattu saanto. Biotestin korjatulla saannolla tarkoitetaan BEQ-arvoa, joka on laskettu TCDD:n tai PCB 126:n kalibrointikäyrästä korjattuna nollanäytteelle ja sen jälkeen jaettu varmistusmenetelmällä 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.
- 5.4 Validointi enimmäispitoisuusalueella ja yleiset laadunvalvontatoimet
- 5.4.1 Laboratorioiden on osoitettava menetelmän suorituskyky enimmäispitoisuuksilla, esimerkiksi 0,5 ×, 1 × ja 2 × enimmäismäärä, ja toistomittauksen hajonnan on oltava hyväksyttävä validointimenettelyn ja rutiinianalyysin aikana.
- 5.4.2 Sisäistä laadunvalvontaa varten on analysoitava säännöllisesti nollanäytteitä ja näytteitä, joihin on lisätty analyyyttiä, tai kontrollinäytteitä (mieluiten sertifioituilla vertailuaineilla, jos niitä on saatavilla). Nollanäytteiden, näytteiden, joihin on lisätty analyyyttiä, tai kontrollinäytteiden tulokset on kirjattava laadunvalvontakortteihin. Tulosten avulla on varmistettava, että määrittämissä menetelmien suorituskyky täyttää vaatimukset.
- 5.5 Määrittämissä raja
- 5.5.1 Määrittämissä rajan (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 nollamäärittämisestä.
- 5.5.2 Varmistusmenetelmän määrittämissä rajan (LOQ) on oltava noin yksi viidesosa enimmäismäärästä.
- 5.6 Analyttiset vaatimukset
- Varmistus- tai seulontamenetelmistä saatujen luotettavien tulosten osalta TEQ- tai BEQ-arvojen enimmäismäärien tai toimintakynnyksen on täytettävä seuraavat vaatimukset mittausalueella, 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 fysikaalis-kemiallisin menetelmin	Varmistusmenetelmät
Värien vaatimustenmukaisten tulosten osuus <sup>(1)</sup>	< 5 %	
Oikeellisuus		- 20 % + 20 %
Toistettavuus ( $RSD_p$ )	< 20 %	
Laboratorionsisäinen uusittavuus ( $RSD_R$ )	< 25 %	< 15 %

<sup>(1)</sup> Enimmäismäärien osalta.

## 5.7 Seulontamenetelmiä koskevat erityisvaatimukset

5.7.1 Seulontaan voidaan käyttää sekä GC-MS-menetelmiä että bioanalyttisiä menetelmiä. GC-MS-menetelmien on täytettävä 6 kohdassa esitetyt vaatimukset. Solupohjaisten bioanalyttisten menetelmien erityisvaatimukset esitetään 7 kohdassa.

5.7.2 Seulontamenetelmiä näytteiden rutiinitarkastuksissa käyttävien laboratorioden on tehtävä tiivistä yhteistyötä varmistusmenetelmää käyttävien laboratorioden kanssa.

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

5.7.4 Soluvasteen mahdollinen vaimentuminen ja sytotoksisuus on tarkistettava:

Rutiiniseurannassa 20 % näyteuutteista mitataan sekä siten, että niihin on lisätty enimmäismäärää tai toimintakynnystä vastaava pitoisuus 2,3,7,8-TCDD-yhdistettä, että lisäämättä kyseistä yhdistettä, millä tarkistetaan vaimentavakko 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 laadunvalvontakorteilla.

5.7.5 Vaatimustenmukaisten näytteiden laadunvalvonta:

Näytematriisista ja laboratoriossa saadusta kokemuksesta riippuen noin 2–10 % vaatimustenmukaisista näytteistä on varmistettava GC-HRMS-analyysillä.

5.7.6 Väärien vaatimustenmukaisten näytteiden osuuden määrittäminen laadunvalvontatiedoista:

Enimmäismäärän tai toimintakynnyksen 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 kontaminaatiotapausten yhteydessä analysoitujen näytteiden ne tulokset, joissa pitoisuudet ovat enimmillään esim.  $2 \times$  enimmäismäärä. Näytteiden on katettava eri näytelähteitä edustavat yleisimmät kongeneerijakaumat.

Vaikka seulontamäärityksissä on mieluiten pyrittävä havaitsemaan toimintakynnyksen ylittävät näytteet, väärien vaatimustenmukaisten näytteiden osuuden määrittämisen kriteerinä on enimmäistaso, kun otetaan huomioon mittaukseen liittyvät epävarmuustekijät varmistusmenetelmässä.

5.7.7 Seulonnan mahdollisesti vaatimustenvastaiset tulokset on aina tarkistettava tekemällä alkuperäisestä näytteestä täydellinen uusi analyysi varmistusmenetelmällä. Näitä näytteitä voidaan myös käyttää väärien vaatimustenvastaisten tulosten osuuden arvioimiseen. Seulontamenetelmien osalta väärien vaatimustenvastaisten tulosten osuuden muodostavat ne tulokset, joiden on varmistusmenetelmällä vahvistettu olevan vaatimustenmukaisia, vaikka edeltävän seulonnan perusteella näytteen on ilmoitettu olevan mahdollisesti vaatimustenvastainen. Seulontamenetelmän hyödyllisyyden arvioinnin on perustuttava siihen, että väärien vaatimustenvastaisten näytteiden määrää verrataan tarkistettujen näytteiden kokonaismäärään. Tämän osuuden pitää olla niin pieni, että seulontavälineen käytöstä on hyötyä.

5.7.8 Bioanalyttisten menetelmien on ainakin validointiolosuhteissa tuotettava pätevä indikaatio TEQ-tasosta, laskettuna ja ilmaistuna BEQ-arvona.

Bioanalyttisten menetelmien laboratorionsisäisen  $RSD_{i,n}$  tulisi toistettavissa olosuhteissa tyypillisesti olla pienempi kuin uusittavuus  $RSD_R$ .

## 6. Seulonnassa tai varmistuksessa käytettäviä GC-MS-menetelmiä koskevat erityisvaatimukset

6.1 WHO-TEQ-tulosten suurimman ja pienimmän arvon hyväksyttävät erot

Enimmäismäärän tai tarvittaessa toimintakynnyksen ylityksen varmistuksessa suurimman ja pienimmän arvon ero saa olla enintään 20 %.



## 6.2 Saantojen valvonta

- 6.2.1 Määrittymenettelyjen validoimiseksi on aivan menetelmän alussa eli esimerkiksi ennen uuttamista lisättävä <sup>13</sup>C-leimattuja 2,3,7,8-kloorisubstituoituja sisäisiä PCDD/PCDF-standardeja ja <sup>13</sup>C-leimattuja dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden sisäisiä standardeja. On lisättävä vähintään yhtä näistä kongeneereista kutakin tetra-<sup>13</sup>C-<sup>13</sup>C-leimattua PCDD/PCDF-homologiryhmää kohden ja vähintään yhtä näistä kongeneereista kutakin dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden homologiryhmää kohden (tai vaihtoehtoisesti vähintään yhtä näistä kongeneereista kutakin PCDD/PCDF-yhdisteiden ja dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden valvonnassa käytettyä massaspektrillä määritettyä ionia kohden). Varmistusmenetelmien yhteydessä on käytettävä kaikkia 17:ää <sup>13</sup>C-leimattua 2,3,7,8-kloorisubstituoitua sisäistä PCDD/PCDF-standardia ja kaikkia 12:ta <sup>13</sup>C-leimattua dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden sisäistä standardia.
- 6.2.2 Suhteelliset vastekertoimet on asianmukaista kalibrointiliuosta käyttäen määritettävä myös niille kongeneereille, joiden osalta ei lisätä <sup>13</sup>C-leimattua analogia.
- 6.2.3 Kasvipärisistä rehuista ja alle 10 % rasvaa sisältävistä eläinperäisistä rehuista otettuihin näytteisiin on lisättävä sisäiset standardit ennen uuttamista. Yli 10 % rasvaa sisältävistä eläinperäisistä rehuista otettuihin näytteisiin ne on lisättävä joko ennen rasvojen uuttamista tai 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.
- 6.2.4 Ennen GC-MS-analyysia on lisättävä 1 tai 2 saantostandardia.
- 6.2.5 Saantojen valvonta on välttämätöntä. Varmistusmenetelmissä sisäisten standardien saantojen on oltava 60–120 %. Yksittäisten kongeneerien pienemmät tai suuremmat saantoarvot voidaan hyväksyä erityisesti heptaja oktakloorattujen dibentso-para-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 %.

## 6.3 Häiritsevien aineiden poistaminen

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

## 6.4 Kalibrointi standardikäyrän avulla

Kalibrointikäyrän vaihteluvälin laajuuden on oltava riittävä kattaakseen enimmäismäärien tai toimintakynnysten relevantin vaihteluvälin.

## 6.5 Varmistusmenetelmiä koskevat erityisvaatimukset

- GC-HRMS:

HRMS-menetelmässä erotuskyvyn on yleensä oltava koko massa-alueella vähintään 10 000 käyttäen 10 % laakson määritelmää.

Tunnistamista ja varmistamista koskevien lisäkritereiden, jotka on kuvattu kansainvälisesti tunnistetussa standardissa, esim. standardissa EN 16215:2012 (Animal feed — Determination of dioxins and dioxin-like PCBs by GC-HRMS and of indicator PCBs by GC-HRMS) ja/tai tarkistetuissa EPA-menetelmissä 1613 ja 1668, täytyminen.

- GC-MS/MS:

Vähintään kahden spesifisen prekursori-ionin valvonta, joista kummallakin on spesifinen vastaava siirtymätuoteioni kaikilla leimatuilla ja leimaamattomilla analyteilla tutkittavalla alueella.

Suhteellisten ioni-intensiteettien suurin sallittu toleranssi  $\pm 15$  % valituilla siirtymätuoteioneilla verrattuna laskettuihin tai mitattuihin arvoihin (kalibrointistandardien keskiarvo) identtisissä MS/MS-olosuhteissa, etenkin törmäysenergian ja törmäyskaasupaineen suhteen, kullakin analyytin siirtymällä.

Kunkin kvadrupolin erotuskyky asetetaan vähintään yhtä suureksi tai paremmaksi kuin yksikkömassaresoluutio (yksikkömassaresoluutio: riittävä resoluutio kahden vierekkäisillä kokonaisilla massaluvuilla olevan piikin erottumiseksi ilman merkittävää päällekkäisyyttä) tarkasteltavana oleviin analyytteihin mahdollisesti kohdistuvien häiriöiden minimoimiseksi.

Lisäkritereiden, jotka on kuvattu kansainvälisesti tunnistetussa standardissa, esim. standardissa EN 16215:2012 (Animal feed — Determination of dioxins and dioxin-like PCBs by GC-HRMS and of indicator PCBs by GC-HRMS) ja/tai tarkistetuissa EPA-menettelyissä 1613 ja 1668, täyttyminen, lukuun ottamatta velvoitetta käyttää GC-HRMS-menettelyä.

## 7. Bioanalyttisiä menetelmiä koskevat erityisvaatimukset

Bioanalyttiset menetelmät ovat menetelmiä, jotka perustuvat biologisiin periaatteisiin, esimerkiksi solupohjaiset määritykset, reseptorimääritykset tai immunomääritykset. Tässä 7 kohdassa vahvistetaan bioanalyttisiä menetelmiä koskevat yleiset vaatimukset.

Seulontamenetelmän perusteella periaatteessa luokitellaan, onko näyte vaatimusten mukainen vai epäilläänkö, ettei se täytä vaatimuksia. Laskettua BEQ-arvoa verrataan tätä varten cut-off-arvoon (ks. 7.3 kohta). Jos näytteen arvo on alle cut-off-arvon, sitä pidetään vaatimustenmukaisena. Jos näytteen arvo on yhtä suuri tai suurempi kuin raja-arvo, näytteen epäillään olevan vaatimusten vastainen, ja sille on tehtävä analyysi varmistusmenetelmällä. Käytännössä cut-off-arvona voidaan pitää BEQ-arvoa, joka on  $\frac{2}{3}$  enimmäismäärästä, edellyttäen, että väärin vaatimustenmukaisten tulosten osuus jää alle 5 %:n ja että väärin vaatimustenvastaisen 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 fraktiointitislausta edellyttää, että PCDD/PCDF-yhdisteillä on tarkoituksenmukaiset cut-off-arvot biotestejä varten. Toimintakynnykset ylittävien näytteiden tarkastuksen yhteydessä cut-off-arvoksi soveltuu tarkoituksenmukainen prosenttiosuus kustakin toimintakynnyksestä.

Joidenkin bioanalyttisten menetelmien tapauksessa voidaan antaa BEQ-arvona ilmaistu indikaatiivinen määrä sellaisia näytteitä varten, jotka sisältyvät mittausalueelle ja ylittävät raportointirajan (ks. 7.1.1 ja 7.1.6 kohta).

### 7.1 Testivasteen arviointi

#### 7.1.1 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-arvo (raportointiraja) on asetettava nollanäytettä korkeammaksi soveltamalla vähintään kerrointa kolme. Mittausalueen yläarvo esitetään yleensä  $EC_{70}$ -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. 7.3 kohta) on oltava selvästi mittausalueen sisällä.
- Standardiliuokset ja näyteuutteet on testattava vähintään kahtena toistomäärityksenä. Toistomäärityksiä käytettäessä mikrotitrauslevyn eri osista valituissa 4–6 kuopassa testatun standardiliuoksen tai varmistusuutteen on tuotettava vaste tai pitoisuus (mahdollinen vain mittausalueella), jossa  $CV < 15 \%$ .

#### 7.1.2 Kalibrointi

##### 7.1.2.1 Kalibrointi standardikäyrän avulla

- Näytteissä olevat pitoisuudet on arvioitava vertaamalla testivastetta TCDD:n (tai PCB 126:n tai PCDD:n/PCDF:n/dioksiinien kaltaisen PCB:n standardiseokseen) kalibrointikäyrään ja laskemalla sen perusteella BEQ-arvo uutteen ja sitä kautta näytteessä.
- Kalibrointikäyriin on sisällyttävä 8–12 pitoisuutta (ainakin toistomäärityksinä) siten, että käyrän alapäässä on riittävästi pitoisuuksia (mittausalue). Erityistä huomiota on kiinnitettävä käyrän sovitukseen mittausalueella.  $R^2$ -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 on korjattava matriisi/liuotin-nollanäytteelle lasketun BEQ-arvon (jotta otetaan huomioon epäpuhtaudet käytetyistä liuottimista ja kemikaaleista) ja korjatun saannon perusteella (lasketaan sellaisten soveltuviin vertailunäytteiden BEQ-arvosta, joissa on edustava kongeneerijakauma lähellä enimmäismäärää tai toimintakynnystä olevilla pitoisuuksilla). Jotta saanto voidaan korjata, korjatun saannon on oltava vaadittavan vaihteluvälän sisällä (ks. 7.1.4 kohta). Saannon korjaamisessa käytettävien vertailunäytteiden on täytettävä 7.2 kohdassa esitetyt vaatimukset.

#### 7.1.2.2 Kalibrointi vertailunäytteiden avulla

Vaihtoehtoisesti voidaan käyttää kalibrointikäyrää, joka on tuotettu vähintään neljän vertailunäytteen avulla (ks. 7.2.4 kohta: voidaan ottaa yksi matriisinolla ja kolme vertailunäytettä, joiden pitoisuudet ovat 0,5 ×, 1,0 × ja 2,0 × enimmäismäärä tai toimintakynnys), jolloin nollanäytettä ja saantoa ei tarvitse korjata. Tällöin testivaste, joka vastaa 2/3 enimmäismäärästä (ks. 7.3 kohta), voidaan laskea suoraan näistä näytteistä ja sitä voidaan käyttää cut-off-arvona. Toimintakynnykset ylittävien näytteiden tarkastuksen yhteydessä cut-off-arvoksi soveltuu tarkoituksenmukainen prosenttiosuus kustakin toimintakynnyksestä.

#### 7.1.3 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.

#### 7.1.4 Biotestien korjatut saannot

'Biotestin korjattu saanto' on laskettava soveltuvista vertailunäytteistä, joissa kongeneerijakauma on lähellä enimmäismäärää tai toimintakynnystä ja ilmaistaan prosenttiosuutena BEQ-arvosta verrattuna TEQ-arvoon. Sen mukaan, minkä tyyppistä testiä ja TEF-arvoja (\*)<sup>2</sup> 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 20–60 % 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 PCDD/PCDF-yhdisteiden ja dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden summan osalta heijastavat näitä vaihteluvälejä ja niiden on oltava 30–130 %. Jos unionin lainsäädännössä ilmenee merkittävästi muutettuja PCDD/PCDF-yhdisteiden ja dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden TEF-arvoja, kyseiset vaihteluvälit on tarkistettava.

#### 7.1.5 Saantojen valvonta puhdistusta varten

Yhdisteiden hävikki puhdistuksen aikana on tarkistettava validoinnin yhteydessä. Nollanäyte, johon on lisätty eri kongeneerien seosta, on puhdistettava (vähintään n = 3), ja saanto ja vaihtelevuus on tarkistettava varmistusmenetelmällä. Saannon on oltava 60–120 % etenkin niiden kongeneerien osalta, joiden vaikutus eri seosten TEQ-arvoon on enemmän kuin 10 %.

#### 7.1.6 Raportointiraja

BEQ-arvoista raportointiraja on määritettävä raportointiraja relevanttien matriisinäytteiden perusteella, joilla on tyypillinen kongeneerijakauma, mutta ei standardien kalibrointikäyrän perusteella, koska käyrän aliarvojen tarkkuus ei ole riittävä. Uuttamisen ja puhdistuksen vaikutukset on otettava huomioon. Raportointiraja on asetettava nollanäytettä korkeammaksi soveltamalla vähintään kerrointa kolme.

### 7.2 Vertailunäytteiden käyttö

7.2.1 Vertailunäytteiden on edustettava näytematriisia, kongeneerijakaumia ja pitoisuusalueita PCDD/PCDF-yhdisteiden ja dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden osalta lähellä enimmäismäärää tai toimintakynnystä olevilla pitoisuuksilla.

7.2.2 Kuhunkin testisarjaan on sisällytettävä matriisinolla tai mieluiten nollanäyte sekä viitenäyte, jonka pitoisuus vastaa enimmäismäärää tai toimintakynnystä. Nämä näytteet on uutettava ja testattava samanaikaisesti identtissä oloissa. Vertailunäytteen vasteen on oltava selvästi kohonnut verrattuna nollanäytteeseen, jotta testin soveltuvuus olisi taattu. Näitä näytteitä voidaan käyttää nolla- ja saantokorjauksiin.

7.2.3 Saantokorjauksen suorittamiseen valittujen vertailunäytteiden on edustettava testinäytteitä, eli näytteiden kongeneerijakaumat eivät saa johtaa määrien aliarvioimiseen.

7.2.4 Lisäksi voidaan käyttää esimerkiksi 0,5- ja 2-kertaista enimmäismäärää tai toimintakynnystä edustavia ylimääräisiä vertailunäytteitä, joilla osoitetaan testin toimivuus halutulla mittausalueella enimmäismäärän tai toimintakynnyksen valvontaa varten. Yhdessä näitä näytteitä voidaan käyttää testinäytteiden BEQ-arvojen laskemiseen (ks. 7.1.2.2 kohta).

## 7.3 Cut-off-arvojen määrittäminen

BEQ-arvoina ilmaistujen bioanalyttisten tulosten ja TEQ-arvoina ilmaistujen varmistusmenetelmän tulosten välinen suhde on määritettävä esimerkiksi kalibroinnilla, jossa vertailunäytteisiin, joissa on samanlainen matriisi, on lisätty analyyttiä 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 7.2.2 kohdan mukaisesti.

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

Cut-off-arvo (BEQ-arvona ilmaistuna) voidaan laskea 7.3.1, 7.3.2 tai 7.3.3 kohdassa esitetyn mallin avulla (ks. kuva 1).

7.3.1 Kun käytetään 95 %:n ennustevälin *alempaa* kaistaa varmistusmenetelmän päätösrajalla:

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

jossa

$\text{BEQ}_{\text{DL}}$  varmistusmenetelmän päätösrajaa vastaava BEQ, joka vastaa enimmäismäärää mittausepävarmuus mukaan luettuna

$s_{y,x}$  jäännöksen keskihajonta

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

$m$  kalibrointipisteiden kokonaismäärä (indeksi  $j$ )

$n$  toistojen lukumäärä kullakin tasolla

$x_i$  näytteen pitoisuus (TEQ-arvona) kalibrointipisteessä  $i$  varmistusmenetelmällä määritettynä

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

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

7.3.2 Laskeminen (nollan ja saannon suhteen korjatuista) bioanalyttisistä tuloksista, kun on analysoitu useita näytteitä ( $n \geq 6$ ), jotka on kontaminoitu varmistusmenetelmän päätösrajalla, joka on mittaustulosten jakauman *alempi* piste vastaavalla BEQ:n keskiarvolla:

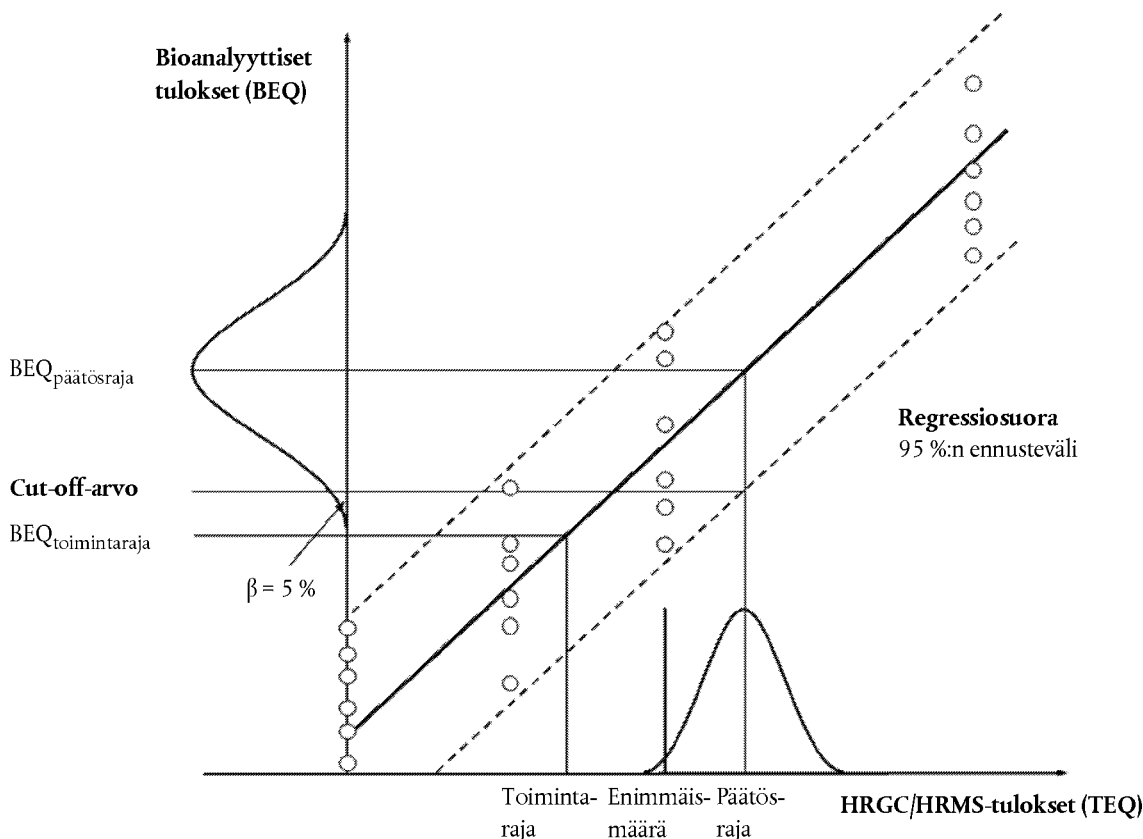
$$\text{Cut-off-arvo} = \text{BEQ}_{\text{DL}} - 1,64 \times \text{SD}_R$$

jossa

$\text{SD}_R$  biologisten määrittäytulosten keskihajonta kohdassa  $\text{BEQ}_{\text{DL}}$ , mitattuna laboratorionsisäisissä uusittavuusoloissa

- 7.3.3 Laskeminen bioanalyttisten tulosten keskiarvona (BEQ-arvona, korjattuna nollan ja saannon suhteen), kun on analysoitu useita näytteitä ( $n > 6$ ), jotka on kontaminoitu tasolla 2/3 enimmäismäärästä tai toimintakynnyksestä. Tämä perustuu havaintoon siitä, että kyseinen pitoisuus on 7.3.1 tai 7.3.2 kohdan mukaan määritetyn cut-off-arvon lähistöllä:

Kuva 1



Kuva 1. 95 %-n luottamustasoon perustuva cut-off-arvon laskenta, mikä tarkoittaa, että värien vaatimustenmu-  
kaisten tulosten osuus on  $< 5 \%$  ja  $RSD_R < 25 \%$ :

1. kun käytetään 95 %-n ennustevälin *alempaa* kaistaa varmistusmenetelmän päätösrajalla
2. kun on analysoitu useita näytteitä ( $n > 6$ ), jotka on kontaminoitu varmistusmenetelmän päätösrajalla, joka on mittaustulosten jakauman *alempi* piste (jota kuvassa esittää kellonmuotoinen käyrä) vastaavalla BEQ:n keskiarvolla.

#### 7.3.4 Cut-off-arvoja koskevat rajoitukset

BEQ-arvoihin perustuvat cut-off-arvot, jotka on laskettu validoinnin aikana saadusta  $RSD_R$ -arvosta käyttämällä rajallista määrää näytteitä, joiden matriisit ja/tai kongeneerijakaumat ovat erilaisia, saattavat olla korkeammat kuin TEQ-arvoihin perustuvat enimmäismäärät tai toimintakynnykset, koska tarkkuus on tällöin parempi kuin rutiinitesteissä, kun mahdollisten kongeneerijakaumien tuntematon spektri on tarkastettava. Tällöin cut-off-arvot on laskettava siten, että  $RSD_R = 25 \%$ , tai mieluiten on käytettävä kaksi kolmasosaa enimmäismäärästä tai toimintakynnyksestä.

#### 7.4 Suorituskykyä koskevat tiedot

- 7.4.1 Koska bioanalyttisissä menetelmissä ei voida käyttää sisäisiä standardeja, bioanalyttisten menetelmien toistettavuus on testattava, jotta saadaan tietoja yksittäisen koesarjan sisäisestä ja koesarjojen välisestä keskihajonnasta. Toistettavuuden on oltava alle 20 % ja laboratorionsisäisen uusittavuuden alle 25 %. Tämän on perustuttava BEQ-arvona ilmaistuihin laskettuihin määriin nolla- ja saantokorjauksen jälkeen.
- 7.4.2 Validointiprosessin yhteydessä on osoitettava, että testillä pystytään erottamaan toisistaan nolla- ja cut-off-arvo, jolloin vastaavan cut-off-arvon ylittävät näytteet voidaan tunnistaa (ks. 7.1.2 kohta).
- 7.4.3 On määriteltävä kohdeyhdisteet, mahdolliset häiriöt sekä suurimmat hyväksyttävät nollatasot.

- 7.4.4 Vasteen tai vasteesta lasketun pitoisuuden (mahdollista ainoastaan mittausalueella) prosentuaalinen keskihajonta kunkin näyteuutteen kolminkertaisessa määrittäyksessä saa olla enintään 15 %.
- 7.4.5 BEQ-arvoina ilmaistuja vertailunäytte(id)en korjaamattomia tuloksia (nollanäyte ja enimmäistasolla tai toimintakykyä) käytetään bioanalyttisen menetelmän suorituskyvyn arviointiin vakiomittaisella ajanjaksolla.
- 7.4.6 Nollanäytteille ja kullekin vertailunäytetyypille on luotava laadunvalvontakortit, jotka on tarkastettava. Näin varmistetaan, että analyttinen suorituskyky vastaa vaatimuksia. Tämä koskee etenkin nollanäytteiden ja mittausalueen ala-arvojen välistä vähimmäiseroa ja vertailunäytteiden laboratorionsisäistä uusittavuutta. Nollanäytteet on tarkastettava huolellisesti, jotta vältetään väärät vaatimustenmukaiset tulokset vähentämisen yhteydessä.
- 7.4.7 Tulokset varmistusmenetelmillä saaduista vaatimustenvastaisiksi epäilyistä näytteistä ja 2–10 prosentista vaatimustenmukaisia näytteitä (vähintään 20 näytettä matriisia kohden) on koottava, ja niitä on käytettävä seulontamenetelmän suorituskyvyn sekä BEQ-arvon ja TEQ-arvon välisen suhteen arvioimisessa. Tätä tietokantaa voidaan hyödyntää rutiininäytteisiin sovellettavien cut-off-arvojen uudelleen arvioinnissa validoitujen matriisien osalta.
- 7.4.8 Menetelmän hyvä suorituskyky voidaan osoittaa myös osallistamalla vertailutesteihin. Jos laboratorio kykenee osoittamaan hyvän suorituskykensä, vertailutesteissä analysoitujen näytteiden tulokset, joissa pitoisuudet ovat enimmillään esim. 2 × enimmäismäärä, voidaan sisällyttää väärin vaatimustenmukaisten näytteiden osuuden arviointiin. Näytteiden on katettava eri näytelähteitä edustavat yleisimmät kongeneerijakaumat.
- 7.4.9 Kontaminaatiotapauksissa cut-off-arvot voidaan arvioida uudelleen ottaen huomioon näytematriisi ja tapauksessa esiintyneet kongeneerijakaumat.

## 8. Tulosten raportointi

### 8.1 Varmistusmenetelmät

- 8.1.1 Jos käytetty määritysmenetelmä 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.
- 8.1.2 Raportissa on myös ilmoitettava PCDD/PCDF-yhdisteiden ja dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden ja uuttamisessa käytetty menetelmä.
- 8.1.3 Yksittäisten sisäisten standardien saantotiedot on ilmoitettava, jos saantojen arvot ovat 6.2.5 kohdassa mainitun alueen ulkopuolella tai jos enimmäismäärä ylittyy (tällöin on ilmoitettava jommankumman toistomäärityksen saantotiedot). Muissa tapauksissa ne on toimitettava pyydettyinä.
- 8.1.4 Koska mittausepävarmuus on otettava huomioon päätettäessä näytteen vaatimustenmukaisuudesta, tiedot tästä muuttujasta on ilmoitettava. Siksi määritystulos on ilmoitettava muodossa  $x \pm U$ , jossa  $x$  on määritystulos ja  $U$  on laajennettu mittausepävarmuus, jossa käytetään kattavuuskerrointa 2, jolloin luotettavuustaso on noin 95 %. Jos PCDD/PCDF-yhdisteiden ja dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden pitoisuudet määritetään erikseen, PCDD/PCDF-yhdisteiden ja dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden erillisten määritystulosten yhteenlaskettua arvioitua laajennettua epävarmuutta on käytettävä PCDD/PCDF-yhdisteiden ja dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden pitoisuuksien summana.
- 8.1.5 Jos mittausepävarmuus otetaan huomioon soveltamalla päätösrajaa  $CC\alpha$  (I luvun 2.2 kohdassa kuvatulla tavalla), tiedot tästä muuttujasta on ilmoitettava.
- 8.1.6 Tulokset on ilmaistava samoina yksikköinä ja vähintään yhtä monen merkitsevän numeron tarkkuudella kuin direktiivissä 2002/32/EY vahvistetut enimmäispitoisuudet.

### 8.2 Bioanalyttiset seulontamenetelmät

- 8.2.1 Seulonnan tuloksen perusteella näytteen ilmoitetaan olevan 'vaatimustenmukainen' tai sen 'epäillä olevan vaatimustenvastainen'.
- 8.2.2 Lisäksi tulos voidaan ilmaista PCDD/PCDF-yhdisteiden ja/tai dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden osalta BEQ-arvona eikä TEQ-arvona.
- 8.2.3 Jos näytteen vaste on raportointirajan alapuolella, näytteellä ilmoitetaan olevan 'raportointirajaa matalampi arvo'.

- 8.2.4 Kunkin näytematriisityypin osalta raportissa on mainittava enimmäismäärä tai toimintakynnys, johon arviointi perustuu.
- 8.2.5 Raportissa on mainittava käytetyn testin tyyppi, testin peruseriaate ja kalibrointimenetelmä.
- 8.2.6 Raportissa on myös ilmoitettava PCDD/PCDF-yhdisteiden ja dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden ja uuttamisessa käytetty menetelmä.
- 8.2.7 Jos näytteiden epäillään olevan vaatimusten vastaisia, raporttiin on liitettävä selvitys toteutettavista toimenpiteistä. Jos näytteissä on merkittäviä PCDD/PCDF-pitoisuuksia sekä PCDD/PCDF-yhdisteiden ja dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden summan pitoisuuksia, kohonneet pitoisuudet on määritettävä tai vahvistettava varmistusmenetelmän avulla.

### III LUKU

#### **Näytteiden valmistus ja vaatimukset, jotka koskevat muiden kuin dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden (PCB # 28, 52, 101, 138, 153, 180) pitoisuuksien virallisessa valvonnassa käytettäviä määrittämenetelmiä**

##### 1. Soveltamisala

Tässä luvussa vahvistettuja vaatimuksia on sovellettava analysoitaessa rehuja muiden kuin dioksiinien kaltaisten polykloorattujen bifenyyliden (muut kuin dioksiinien kaltaiset PCB:t) pitoisuuksien virallista valvontaa ja muita sääntelytarkoituksia varten.

##### 2. Soveltuvat osoitusmenetelmät

Kaasukromatografia-elektronisieppausdetektio (GC-ECD), GC-LRMS, GC-MS/MS, GC-HRMS tai vastaavat menetelmät.

##### 3. Tarkasteltavana olevien analyttien tunnistus ja varmistus

- 3.1 Suhteellinen retentioaika verrattuna sisäisiin standardeihin tai vertailustandardeihin (hyväksyttävä poikkeama +/- 0,25 %).
- 3.2 On varmistettava, että kaikki kuusi indikaattori-PCB-yhdistettä (PCB 28, PCB 52, PCB 101, PCB 138, PCB 153 ja PCB 180) erotetaan mittausta häiritsevistä aineista ja eritoten mukana eluotuvista PCB-yhdisteistä kaasukromatografian avulla, erityisesti jos joidenkin näytteiden pitoisuudet ovat laillisissa rajoissa, ja vaatimustenvastaisuus on vahvistettava.

*[Mukana eluotuvia kongeneereja 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 kongeneerien aiheuttamat häiriöt.]*

##### 3.3 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 ion) ja sekundaaris(t)en ion(i)e(n) kalibrointistandardista:

Sekundaaris(t)en ion(i)e(n) suhteellinen intensiteetti verrattuna kohdeioniin	GC-EI-MS (suhteellinen poikkeama)	GC-CI-MS, GC-MS <sup>n</sup> (suhteellinen poikkeama)
> 50 %	± 10 %	± 20 %
> 20 %–50 %	± 15 %	± 25 %
> 10 %–20 %	± 20 %	± 30 %
≤ 10 %	± 50 % <sup>(1)</sup>	± 50 % <sup>(1)</sup>

<sup>(1)</sup> Saatavilla on riittävä lukumäärä massafragmentteja, joiden suhteellinen intensiteetti on yli 10 %, joten ei ole suositeltavaa käyttää sekundaarista ionia, jonka suhteellinen intensiteetti on alle 10 % kohdeioniin verrattuna.

#### 3.4 GC-ECD-tekniikoita koskevat vaatimukset

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

#### 4. Menetelmän suorituskyvyn osoittaminen

Menetelmän suorituskyky on validoitava enimmäispitoisuuden mittausalueella (0,5–2 × enimmäismäärä), ja toistettujen mittausten variaatiokertoimen on oltava hyväksyttävä (ks. 9 kohta, kohtalaista tarkkuutta koskevat vaatimukset).

#### 5. Määrittämissärajat

Nolla-arvot eivät saa ylittää 30:tä prosenttia enimmäistasoa vastaavasta kontaminaatiotasosta <sup>(10)</sup>\*.

#### 6. Laadunvalvonta

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

#### 7. Saantojen valvonta

7.1 On käytettävä sopivia sisäisiä standardeja, joiden fysikaalis-kemialliset ominaisuudet ovat vastaavat kuin tarkasteltavana olevilla analyyyteillä.

7.2 Sisäisten standardien lisääminen:

Lisääminen tuotteisiin (ennen uuttoa ja puhdistusta).

7.3 Vaatimukset menetelmille, joissa käytetään kaikkia kuutta isotooppileimattua indikaattori-PCB-kongeneeria:

- tulokset on oikaistava sisäisten standardien saantojen suhteen,
- isotooppileimattujen sisäisten standardien saantojen on oltava 50–120 %,
- pienemmät tai suuremmat saannot voidaan hyväksyä yksittäisille kongeneereille, jos niiden osuus kuuden indikaattori-PCB-yhdisteen yhteismäärästä on alle 10 %.

7.4 Vaatimukset menetelmille, joissa ei käytetä kaikkia kuutta isotooppileimattua sisäistä standardia tai muuta sisäistä standardia:

- sisäisten standardien saannot on tarkastettava kaikista näytteistä,
- sisäisten standardien saantojen on oltava 60–120 %,
- tulokset on oikaistava sisäisten standardien saantojen suhteen.

7.5 Leimaamattomien kongeneerien saannot tarkastetaan sellaisten näytteiden avulla, joihin on lisätty analyyyttiä, tai laadunvalvontanäytteiden avulla, joiden pitoisuudet ovat enimmäismäärän vaihteluvälillä. Näiden kongeneerien hyväksyttävät saannot ovat 70–120 %.

#### 8. 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 analytyttistä laadunvarmistusta. Laboratorioiden hyväksyntä on tehtävä EN ISO/IEC 17025 -standardin mukaisesti.

#### 9. Suorituskykyä koskevat tiedot: kriteerit, jotka koskevat kuuden indikaattori-PCB-yhdisteen summaa enimmäismäärän tasolla

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



## 10. Tulosten raportointi

- 10.1 Mikäli määrittämenetelmä sallii, analyysin tuloksiin on sisällyttävä yksittäisten PCB-kongeneerien pitoisuudet ja tulokset on ilmoitettava pienimpinä, suurimpina ja väliarvoina, jotta tulosten raportointiin saataisiin mukaan mahdollisimman paljon tietoja. Näin tuloksia pystytään tulkitsemaan kulloistenkin vaatimusten mukaisesti.
- 10.2 Raportissa on ilmoitettava PCB-yhdisteiden ja rasvojen uuttamisessa käytetty menetelmä.
- 10.3 Yksittäisten sisäisten standardien saantotiedot on toimitettava, jos saantojen arvo on 7 kohdassa tarkoitetun alueen ulkopuolella tai jos enimmäismäärä ylittyy. Muissa tapauksissa ne on toimitettava pyydettyä.
- 10.4 Koska mittausepävarmuus on otettava huomioon päätettäessä näytteen vaatimustenmukaisuudesta, tiedot tästä muuttujasta on myös ilmoitettava. Siksi määritystulos on ilmoitettava muodossa  $x \pm U$ , jossa  $x$  on määritystulos ja  $U$  on laajennettu mittausepävarmuus, jossa käytetään kattavuuskerrointa 2, jolloin luotettavuustaso on noin 95 %.
- 10.5 Jos mittausepävarmuus otetaan huomioon soveltamalla päätösrajaa CC<sub>a</sub> (I luvun 2.1 kohdassa kuvatulla tavalla), tiedot tästä muuttujasta on ilmoitettava.
- 10.6 Tulokset on ilmaistava samoina yksikköinä ja vähintään yhtä monen merkitsevän numeron tarkkuudella kuin direktiivissä 2002/32/EY vahvistetut enimmäismäärät.

(<sup>1</sup>)\* Dioksiinien, furaanien ja dioksiinien kaltaisten PCB-yhdisteiden toksisuusekvivalenssikertoimia (Toxic Equivalency Factor, TEF) koskeva taulukko:

Ihmisille aiheutuvan riskin arvioinnissa käytettävät WHO:n toksisuusekvivalenssikertoimet (TEF) perustuvat Genevessä kesäkuussa 2005 pidetyn Maailman terveysjärjestön (WHO) asiantuntijakokouksen päätelmiin (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)).

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

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

- (<sup>2</sup>)\* Komission päätös 2002/657/EY, tehty 14 päivänä elokuuta 2002, neuvoston direktiivin 96/23/EY täytäntöönpanosta määrittämenetelmien suorituskyvyn ja tulosten tulkinnan osalta (EYVL L 221, 17.8.2002, s. 8).
- (<sup>3</sup>)\* Suurimmat arvot: kunkin määrittämättä jääneen kongeneerin arvon oletetaan olevan määrittärajaa vastaava arvo. Pienimmät arvot: kunkin määrittämättä jääneen kongeneerin arvon oletetaan olevan nolla. Väliarvot: kunkin määrittämättä jääneen kongeneerin arvon oletetaan olevan puolet määrittärajaa vastaavasta arvosta.
- (<sup>4</sup>)\* Yleisesti sovelletaan liitteessä II olevan C luvun 3 kohdassa vahvistettuja toistomäärittäystä koskevia vaatimuksia. Kuitenkin varmistusmenetelmissä, joissa käytetään <sup>13</sup>C-leimattua sisäistä standardia asianomaisten analyyttien osalta, toistomäärittäys on tarpeen ainoastaan, jos tällaisia varmistusmenetelmiä käytettäessä ensimmäisen määrittäytksen tulos ei ole vaatimustenmukainen. Toistomäärittäys on tarpeen, jotta voidaan sulkea pois mahdollinen sisäinen ristikontaminaatio tai näytteiden sekoittuminen vahingossa. Jos määrittäys suoritetaan kontaminaatiotapauksen yhteydessä, varmistus toistomäärittäyksellä voidaan jättää tekemättä, mikäli määrittäykseen valitut näytteet liittyvät jäljitettävyyden perusteella kontaminaatiotapaukseen ja havaittu määrä ylittää huomattavasti enimmäismäärän.
- (<sup>5</sup>)\* Suurimmat arvot: toksisuusekvivalenttia TEQ laskettaessa oletetaan kunkin määrittämättä jääneen kongeneerin arvoksi määrittärajaa vastaava arvo. Pienimmät arvot: TEQ:ta laskettaessa oletetaan kunkin määrittämättä jääneen kongeneerin arvoksi nolla. Väliarvot: TEQ:ta laskettaessa oletetaan kunkin määrittämättä jääneen kongeneerin arvoksi puolet määrittärajaa vastaavasta arvosta.
- (<sup>6</sup>)\* Yleisesti sovelletaan liitteessä II olevan C luvun 3 kohdassa vahvistettuja toistomäärittäystä koskevia vaatimuksia. Kuitenkin varmistusmenetelmissä, joissa käytetään <sup>13</sup>C-leimattua sisäistä standardia asianomaisten analyyttien osalta, toistomäärittäys on tarpeen ainoastaan, jos tällaisia varmistusmenetelmiä käytettäessä ensimmäisen määrittäytksen tulos ei ole vaatimustenmukainen. Toistomäärittäys on tarpeen, jotta voidaan sulkea pois mahdollinen sisäinen ristikontaminaatio tai näytteiden sekoittuminen vahingossa. Jos määrittäys suoritetaan kontaminaatiotapauksen yhteydessä, varmistus toistomäärittäyksellä voidaan jättää tekemättä, mikäli määrittäykseen valitut näytteet liittyvät jäljitettävyyden perusteella kontaminaatiotapaukseen ja havaittu määrä ylittää huomattavasti enimmäismäärän.
- (<sup>7</sup>)\* Toimintakynnysten tarkistukseen liittyvään toistomäärittäykseen sovelletaan samoja kriteerejä ja vaatimuksia kuin enimmäismääriin, ks. alaviite 5<sup>o</sup>.
- (<sup>8</sup>)\* Bioanalyttiset menetelmät eivät kohdistu suoraan TEF-järjestelmään sisältyviin kongeneereihin. 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.
- (<sup>9</sup>)\* Nykyiset vaatimukset perustuvat seuraavassa asiakirjassa julkaistuihin TEF-arvoihin: M. Van den Berg *et al.*, *Toxicol Sci* 93 (2), 223–241 (2006).
- (<sup>10</sup>)\* On erittäin suositeltavaa, että reagenssinolla vaikuttaa vain vähän näytteessä olevan kontaminantin tasoon. Laboratorion on seurattava nollatasojen vaihtelua etenkin, jos nollatasot vähennetään mittausarvoista.”
-