

II

(Acte fără caracter legislativ)

REGULAMENTE

REGULAMENTUL (UE) NR. 252/2012 AL COMISIEI

din 21 martie 2012

de stabilire a metodelor de prelevare de probe și a metodelor de analiză pentru controlul oficial al nivelurilor de dioxine, de PCB-uri de tipul dioxinelor și de PCB-uri care nu sunt de tipul dioxinelor în anumite produse alimentare și de abrogare a Regulamentului (CE) nr. 1883/2006

(Text cu relevanță pentru SEE)

COMISIA EUROPEANĂ,

având în vedere Tratatul privind funcționarea Uniunii Europene,

având în vedere Regulamentul (CE) nr. 882/2004 al Parlamentului European și al Consiliului din 29 aprilie 2004 privind controalele oficiale efectuate pentru a asigura verificarea conformității cu legislația privind hrana pentru animale și produsele alimentare și cu normele de sănătate animală și de bunăstare a animalelor ⁽¹⁾, în special articolul 11 alineatul (4),

întrucât:

(1) Regulamentul (CE) nr. 1881/2006 al Comisiei din 19 decembrie 2006 de stabilire a nivelurilor maxime pentru anumiți contaminanți din produsele alimentare ⁽²⁾ prevede niveluri maxime pentru PCB-uri care nu sunt de tipul dioxinelor, dioxine și furani, precum și pentru suma dioxinelor, a furanilor și a PCB-urilor de tipul dioxinelor din anumite produse alimentare.

(2) Recomandarea 2011/516/UE a Comisiei din 23 august 2011 privind reducerea prezenței dioxinelor, a furanilor și a PCB din alimentația umană și animală ⁽³⁾ stabilește niveluri de acțiune pentru a stimula o abordare proactivă în vederea reducerii prezenței para-dibenzo-dioxinelor policlorurate și a dibenzofuranilor policlorurați (PCDD/F-uri) și a PCB-urilor de tipul dioxinelor în produsele alimentare. Respectivile niveluri de acțiune reprezintă un instrument aflat la dispoziția autorităților competente și a operatorilor economici pentru a evidenția acele cazuri în care este necesar să se identifice o sursă de contaminare și să se ia măsuri pentru reducerea sau eliminarea ei.

(3) Regulamentul (CE) nr. 1883/2006 al Comisiei din 19 decembrie 2006 de stabilire a metodelor de prelevare de probe și a metodelor de analiză pentru controlul oficial al nivelurilor de dioxine și de PCB-uri asemănători dioxinelor din anumite produse alimentare ⁽⁴⁾ stabilește dispoziții specifice privind procedura de prelevare de probe și metodele de analiză ce trebuie aplicate pentru controlul oficial.

(4) Aplicarea noilor niveluri maxime pentru PCB-urile care nu sunt de tipul dioxinelor, stabilite ca urmare a unui aviz științific din partea Autorității Europene pentru Siguranța Alimentară (EFSA) privind PCB-urile care nu sunt de tipul dioxinelor în vederea armonizării la nivelul Uniunii, precum și actualizarea criteriilor pentru metodele de screening necesită modificări semnificative. Prin urmare, din motive de claritate, este adecvat să se înlocuiască Regulamentul (CE) nr. 1883/2006 cu prezentul regulament.

(5) Dispozițiile din prezentul regulament se referă numai la prelevarea de probe și analizarea dioxinelor, a PCB-urilor de tipul dioxinelor și a PCB-urilor care nu sunt de tipul dioxinelor în vederea punerii în aplicare a Regulamentului (CE) nr. 1881/2006. Ele nu afectează strategia de prelevare a probelor, numărul și frecvența acestora, conform specificațiilor din anexele III și IV la Directiva 96/23/CE a Consiliului din 29 aprilie 1996 privind măsurile de monitorizare a anumitor substanțe și reziduuri ale acestora în animale vii și produse obținute de la animale și de abrogare a Directivelor 85/358/CEE și 86/469/CEE și a Deciziilor 89/187/CEE și 91/664/CEE ⁽⁵⁾. Ele nu afectează criteriile de prelevare țintită menționate în Decizia 98/179/CE a Comisiei din 23 februarie 1998 de stabilire a normelor detaliate privind prelevarea oficială de probe în vederea monitorizării anumitor substanțe și a reziduurilor acestora din animalele vii și produsele animale ⁽⁶⁾.

⁽¹⁾ JO L 165, 30.4.2004, p. 1.

⁽²⁾ JO L 364, 20.12.2006, p. 5.

⁽³⁾ JO L 218, 24.8.2011, p. 23.

⁽⁴⁾ JO L 364, 20.12.2006, p. 32.

⁽⁵⁾ JO L 125, 23.5.1996, p. 10.

⁽⁶⁾ JO L 65, 5.3.1998, p. 31.

- (6) Se poate utiliza o metodă analitică de screening cu o valabilitate larg acceptată și cu un debit sporit pentru identificarea probelor cu niveluri semnificative de PCDD/F-uri și PCB-uri de tipul dioxinelor (de preferință selectând probe care depășesc nivelurile de acțiune și asigurând selectarea de probe care depășesc nivelurile maxime). Nivelurile de PCDD/F-uri și PCB-uri de tipul dioxinelor din aceste probe trebuie să se determine printr-o metodă analitică de confirmare. Prin urmare, este necesar să se stabilească cerințe corespunzătoare pentru metoda de screening, asigurându-se că rata fals-conform cu privire la nivelurile maxime este mai mică de 5 %, precum și cerințe stricte pentru metodele analitice de confirmare. În plus, metodele de confirmare permit determinarea nivelurilor, de asemenea, la nivelul redus al intervalului de fond. Acest lucru este important pentru monitorizarea tendințelor în timp, pentru evaluarea expunerii și pentru reevaluarea nivelurilor maxime și de acțiune.
- (7) Pentru prelevarea de probe de la peștii foarte mari este necesar să se specifice procedura de prelevare astfel încât să se asigure o abordare armonizată la nivelul Uniunii.
- (8) În cazul peștilor care aparțin aceluiași specii și care provin din aceeași regiune, nivelul dioxinelor, al PCB-urilor de tipul dioxinelor și al PCB-urilor care nu sunt de tipul dioxinelor poate varia în funcție de mărimea și/sau de vârsta peștilor. Mai mult, nivelul dioxinelor, al PCB-urilor de tipul dioxinelor și al PCB-urilor care nu sunt de tipul dioxinelor nu este în mod necesar același în toate părțile peștelui. Prin urmare, este necesar ca prelevarea și pregătirea probei să fie specificate pentru a se asigura o abordare armonizată în cadrul Uniunii.
- (9) Este important ca rezultatele analitice să fie raportate și interpretate într-un mod uniform, pentru a se asigura o abordare armonizată a punerii în aplicare a legislației relevante pe întreg teritoriul Uniunii.
- (10) Măsurile prevăzute în prezentul regulament sunt conforme cu avizul Comitetului permanent pentru lanțul alimentar și sănătatea animală și nu au întâmpinat nicio opoziție din partea Parlamentului European sau a Consiliului,

ADOPTĂ PREZENTUL REGULAMENT:

Articolul 1

În sensul prezentului regulament, se aplică definițiile și abrevierile menționate în anexa I.

Articolul 2

Prelevarea de probe pentru controlul oficial al nivelurilor de dioxine, furani, PCB-uri de tipul dioxinelor și PCB-uri care nu sunt de tipul dioxinelor din produsele alimentare incluse în lista de la secțiunea 5 a anexei la Regulamentul (CE) nr. 1881/2006 se efectuează în conformitate cu metodele menționate în anexa II la prezentul regulament.

Articolul 3

Pregătirea și analizarea probelor pentru controlul oficial al nivelurilor de dioxine, furani și PCB-uri de tipul dioxinelor din produsele alimentare incluse în lista de la secțiunea 5 a anexei la Regulamentul (CE) nr. 1881/2006 se efectuează în conformitate cu metodele menționate în anexa III la prezentul regulament.

Articolul 4

Analizarea probelor pentru controlul oficial al nivelurilor de PCB-uri care nu sunt de tipul dioxinelor din produsele alimentare incluse în lista de la secțiunea 5 a anexei la Regulamentul (CE) nr. 1881/2006 se efectuează în conformitate cu cerințele pentru procedurile analitice menționate în anexa IV la prezentul regulament.

Articolul 5

Regulamentul (CE) nr. 1883/2006 se abrogă.

Trimiterile la regulamentul abrogat se interpretează ca trimiteri la prezentul regulament.

Articolul 6

Prezentul regulament intră în vigoare în a douăzecea zi de la data publicării în *Jurnalul Oficial al Uniunii Europene*.

Se aplică de la data intrării în vigoare.

Prezentul regulament este obligatoriu în toate elementele sale și se aplică direct în toate statele membre.

Adoptat la Bruxelles, 21 martie 2012.

Pentru Comisie
Președintele
José Manuel BARROSO

ANEXA I

Definiții și abrevieri

I. DEFINIȚII

În sensul prezentului regulament, se aplică definițiile menționate în anexa I la Decizia 2002/657/CE a Comisiei din 14 august 2002 de stabilire a normelor de aplicare a Directivei 96/23/CE a Consiliului privind efectuarea metodelor de analiză și interpretarea rezultatelor ⁽¹⁾.

În plus față de aceste definiții, în sensul prezentului regulament se aplică următoarele definiții:

- 1.1. „nivel de acțiune” înseamnă nivelul unei anumite substanțe, astfel cum este menționat în anexa la Recomandarea 2011/516/UE, care declanșează investigații pentru a identifica sursa respectivei substanțe în cazurile în care sunt detectate niveluri crescute ale substanței;
- 1.2. „metode bioanalitice” înseamnă metode bazate pe principii biologice precum teste bazate pe celule, teste bazate pe receptor sau imunoteste. Ele nu dau rezultate la nivel de congener, ci doar o indicație ⁽²⁾ cu privire la nivelul TEQ, exprimat în echivalente bioanalitice (BEQ), pentru a ține cont de faptul că nu toți compușii prezenți într-un extract de probă care determină un răspuns în cadrul testului pot îndeplini toate cerințele principiului TEQ;
- 1.3. „recuperarea aparentă a biotestului” înseamnă nivelul BEQ calculat pornind de la curba de calibrare a TCDD sau PCB 126 corectată în funcție de martor și apoi divizată la nivelul TEQ determinat prin GC/HRMS. Aceasta vizează corectarea factorilor cum ar fi pierderea de PCDD-uri/PCDF-uri și compuși de tipul dioxinelor în timpul etapelor de extracție și curățare, coextragerea compușilor care duc la intensificarea sau atenuarea răspunsului (efecte agoniste și antagoniste), calitatea de ajustare a curbei sau diferențele dintre valorile TEF și ale REP. Recuperarea aparentă a biotestului se calculează pornind de la probe de referință adecvate cu modele de congeneri reprezentativi în jurul nivelului de interes;
- 1.4. „metode semicantitative” înseamnă metode care dau o indicație aproximativă a concentrației de analit prezumtiv, în timp ce rezultatul numeric nu îndeplinește cerințele pentru metodele cantitative;
- 1.5. „limita specifică acceptată de cuantificare a unui congener individual” înseamnă concentrația unui analit în extractul dintr-o probă care produce un răspuns instrumental la doi ioni diferiți care urmează să fie controlați cu un raport S/Z (semnal/zgomot) de 3:1 pentru semnalul mai puțin intens și îndeplinirea criteriilor de identificare, astfel cum sunt descrise, de exemplu, în standardul prEN 16215 (Hrană pentru animale – Determinarea dioxinelor și a PCB-urilor de tipul dioxinelor prin GC/HRMS și a PCB-urilor indicatori prin GC/HRMS) și/sau în metoda EPA 1613, revizia B;
- 1.6. „estimare superioară” înseamnă conceptul care necesită utilizarea limitei de cuantificare pentru contribuția fiecărui congener necuantificat;
- 1.7. „estimare inferioară” înseamnă conceptul care necesită utilizarea valorii zero pentru contribuția fiecărui congener necuantificat;
- 1.8. „estimarea mediană” înseamnă conceptul care necesită utilizarea jumătății limitei de cuantificare, calculându-se contribuția fiecărui congener necuantificat;
- 1.9. „lot” înseamnă o cantitate identificabilă de produse alimentare livrată la un moment dat, pentru care oficialul stabilește că au caracteristici comune cum ar fi originea, varietatea, tipul de ambalaj, ambalatorul, expeditorul sau marcasele. În cazul peștilor și al produselor pescărești, mărimea peștilor trebuie să fie, de asemenea, comparabilă. În cazul în care mărimea și/sau greutatea peștilor nu sunt comparabile în cadrul unui lot, acesta poate să fie totuși luat în considerare ca fiind un lot, însă trebuie să se aplice o procedură specifică de prelevare de probe;
- 1.10. „sublot” înseamnă o anumită parte dintr-un lot mare, metoda de prelevare a probelor aplicându-se respectivei părți. Fiecare sublot trebuie să fie separat fizic și identificabil;
- 1.11. „probă elementară” înseamnă o cantitate de material prelevată dintr-un singur loc al lotului sau sublotului;
- 1.12. „probă globală” înseamnă totalul combinat al tuturor probelor elementare prelevate dintr-un lot sau sublot;
- 1.13. „probă de laborator” înseamnă o parte/cantitate reprezentativă din proba globală destinată laboratorului.

II. ABREVIERI UTILIZATE

BEQ *Bioanalytical Equivalents* – Echivalente bioanalitice

GC *Gas chromatography* – Cromatografie în fază gazoasă

⁽¹⁾ JO L 221, 17.8.2002, p. 8.

⁽²⁾ Metodele bioanalitice nu sunt specifice pentru congenerii incluși în schema TEF. În extractul de probă pot fi prezenți alți compuși AhR activi înrudiți structural, care contribuie la răspunsul global. Prin urmare, rezultatele bioanalitice nu pot fi o estimare, ci mai degrabă un indiciu al nivelului TEQ din probă.

HRMS *High resolution mass spectrometry* – Spectrometrie de masă cu rezoluție mare

LRMS *Low resolution mass spectrometry* – Spectrometrie de masă cu rezoluție mică

PCB *Polychlorinated biphenyls* – Bifenili policlorurați

PCDD *Polychlorinated dibenzo-p-dioxins* – Dibenzo-p-dioxine policlorurate

PCDF *Polychlorinated dibenzofurans* – Dibenzofurani policlorurați

QC *Quality control* – Controlul calității

REP *Relative potency* – Potență relativă

TEF *Toxic Equivalency Factor* – Factor de echivalență toxică

TEQ *Toxic Equivalents* – Echivalente toxice

TCDD *Tetrachlorodibenzodioxin* – Tetraclordibenzodioxină

U *Expanded measurement uncertainty* – Incertitudine de măsurare extinsă

ANEXA II

Metode de prelevare a probelor pentru controlul oficial al nivelurilor de dioxine (PCDD/PCDF), de PCB-uri de tipul dioxinelor și de PCB-uri care nu sunt de tipul dioxinelor din anumite produse alimentare

I. DOMENIUL DE APLICARE

Probele destinate controlului oficial al nivelurilor de dioxine (PCDD/PCDF), PCB-uri de tipul dioxinelor și PCB-uri care nu sunt de tipul dioxinelor, denumite în continuare „dioxine” și „PCB-uri”, din produsele alimentare, se prelevează în conformitate cu metodele descrise în prezenta anexă. Probele globale astfel obținute se consideră reprezentative pentru loturile sau subloturile din care sunt prelevate. Respectarea nivelurilor maxime prevăzute în Regulamentul (CE) nr. 1881/2006 al Comisiei de stabilire a nivelurilor maxime pentru anumiți contaminanți din produsele alimentare se constată pe baza nivelurilor determinate în probele de laborator.

II. DISPOZIȚII GENERALE

1. Personal

Prelevarea de probe este efectuată de către o persoană autorizată, desemnată de statul membru.

2. Materialul din care se prelevează probe

Probele se prelevează separat din fiecare lot sau sublot de examinat.

3. Precauții

În timpul prelevării și pregătirii probelor se iau măsuri de precauție pentru a se evita orice modificări care ar putea afecta conținutul de dioxine și de PCB-uri, care ar putea afecta în mod negativ determinarea analitică sau ar face ca probele globale să fie nereprezentative.

4. Probe elementare

Pe cât posibil, probele elementare sunt prelevate din locuri diferite ale lotului sau sublotului. Nerespectarea unei astfel de proceduri se înregistrează în procesul-verbal menționat la punctul II.8 din prezenta anexă.

5. Pregătirea probei globale

Proba globală se obține prin combinarea probelor elementare. Ea va avea cel puțin 1 kg, cu excepția cazurilor în care nu este posibil, de exemplu, în cazul în care s-au prelevat probe dintr-un singur ambalaj sau în cazul în care produsul are o valoare comercială foarte mare.

6. Probe duplicat

Probele duplicat destinate punerii în aplicare a legislației relevante, apărării și constituirii unor referințe vor fi prelevate din proba globală omogenizată, cu excepția cazului în care această procedură este contrară reglementărilor statelor membre privind drepturile operatorilor din sectorul alimentar. Mărimea probelor de laborator destinate punerii în aplicare a legislației relevante trebuie să fie suficientă pentru a efectua analize duplicat.

7. Ambalarea și transportul probelor

Fiecare probă se introduce într-un recipient curat, dintr-un material inert, care oferă protecție corespunzătoare împotriva contaminării, a pierderilor de analiți prin adsorbție pe peretele intern al recipientului și împotriva deteriorării în timpul transportului. Se iau toate măsurile de precauție necesare pentru a se evita orice modificare a compoziției probei, care ar putea să apară în timpul transportului sau al depozitării.

8. Sigilarea și etichetarea probelor

Fiecare probă prelevată pentru utilizare oficială se sigilează la locul prelevării și se identifică respectând normele statelor membre.

Pentru fiecare prelevare de probe se întocmește un proces-verbal care să permită identificarea inechivocă a fiecărui lot și care să conțină data și locul prelevării, precum și orice informații suplimentare care ar putea să fie de ajutor analistului.

III. PLANUL DE PRELEVARE A PROBELOR

Metoda de prelevare a probelor aplicată asigură reprezentativitatea probei globale pentru (sub)lotul de controlat.

1. Împărțirea loturilor în subloturi

Loturile mari se împart în subloturi, cu condiția ca sublotul să poată fi separat fizic. Pentru produsele comercializate în vrac în loturi mari (de exemplu, uleiurile vegetale) se aplică valorile din tabelul 1. Pentru alte produse, se aplică valorile din tabelul 2. Având în vedere faptul că greutatea unui lot nu este întotdeauna un multiplu exact al greutateii subloturilor, greutatea sublotului poate depăși greutatea menționată cu maxim 20 %.

Tabelul 1

Împărțirea loturilor în subloturi pentru produsele comercializate în vrac în loturi

Greutatea lotului (în tone)	Greutatea sau numărul de subloturi
$\geq 1\,500$	500 de tone
> 300 și $< 1\,500$	3 subloturi
≥ 50 și ≤ 300	100 de tone
< 50	—

Tabelul 2

Împărțirea loturilor în subloturi pentru alte produse

Greutatea lotului (în tone)	Greutatea sau numărul de subloturi
≥ 15	15-30 de tone
< 15	—

2. Numărul de probe elementare

Proba globală care reunește toate probele elementare cântărește cel puțin 1 kg (a se vedea punctul II.5 din prezenta anexă).

Numărul minim de probe elementare care sunt prelevate din lot sau din sublot este cel indicat în tabelele 3 și 4.

În cazul produselor lichide în vrac, lotul sau sublotul este amestecat temeinic, cât mai mult posibil și astfel încât să nu afecteze calitatea produsului, prin mijloace mecanice sau manuale, imediat înainte de prelevarea probelor. În acest caz, se presupune că se realizează o repartizare omogenă a contaminanților dintr-un anumit lot sau sublot. Prin urmare, este suficientă prelevarea a trei probe elementare dintr-un lot sau sublot pentru a constitui proba globală.

Probele elementare trebuie să aibă o greutate similară. Greutatea unei probe elementare trebuie să fie de cel puțin 100 de grame.

Nerespectarea acestei proceduri se înregistrează în procesul-verbal menționat la punctul II.8 din prezenta anexă. În conformitate cu dispozițiile Deciziei 97/747/CE a Comisiei din 27 octombrie 1997 de stabilire a nivelurilor și frecvențelor prelevării de probe prevăzute de Directiva 96/23/CE a Consiliului pentru monitorizarea anumitor substanțe și a reziduurilor acestora existente în anumite produse de origine animală⁽¹⁾, mărimea probei globale pentru ouăle de găină este de cel puțin 12 ouă (pentru loturile în vrac și pentru loturile alcătuite din ambalaje individuale se aplică valorile din tabelele 3 și 4).

Tabelul 3

Numărul minim de probe elementare de prelevat din lot sau sublot

Greutatea sau volumul lotului/sublotului (în kg sau litri)	Numărul minim de probe elementare de prelevat
< 50	3
50-500	5
> 500	10

Dacă lotul sau sublotul constă din ambalaje sau unități individuale, numărul de ambalaje sau unități de prelevat pentru a forma o probă globală este menționat în tabelul 4.

⁽¹⁾ JO L 303, 6.11.1997, p. 12.

Tabelul 4

Numărul de ambalaje sau unități (probe elementare) de prelevat pentru a constitui proba globală în cazul în care lotul sau sublotul este format din ambalaje sau unități individuale

Numărul de ambalaje sau unități din lot/sublot	Numărul de ambalaje sau unități de prelevat
1-25	cel puțin 1 ambalaj sau 1 unitate
26-100	aproximativ 5 %, cel puțin 2 ambalaje sau unități
> 100	aproximativ 5 %, maximum 10 ambalaje sau unități

3. Dispoziții specifice pentru prelevarea de probe din loturi care conțin pești întregi cu mărimi și greutateți comparabile

Se consideră că peștii au mărimi și greutateți comparabile în cazul în care diferența de mărime și greutate nu depășește aproximativ 50 %.

Numărul de probe elementare de prelevat din lot este menționat în tabelul 3. Proba globală care reunește toate probele elementare trebuie să fie de cel puțin 1 kg (a se vedea punctul II.5).

- În cazul în care lotul din care se prelevează probe conține pești mici (pești individuali care cântăresc mai puțin de aproximativ 1 kg), aceștia se prelevează întregi ca probe elementare pentru a constitui proba globală. În cazul în care proba globală care rezultă cântărește mai mult de 3 kg, probele elementare pot consta din partea de mijloc, cântărind fiecare cel puțin 100 de grame, a peștilor care formează proba globală. Partea întreagă căreia i se aplică nivelul maxim se utilizează pentru omogenizarea probei.

Partea din mijloc a peștelui este cea unde se află centrul de gravitate. Acesta este localizat, în cele mai multe cazuri, la nivelul aripioarei dorsale (în cazul în care peștele are aripioară dorsală) sau la mijlocul distanței dintre branhiile și anus.

- În cazul în care lotul din care se prelevează probe conține pești mai mari (fiecare cântărind mai mult de aproximativ 1 kg), proba elementară este reprezentată de partea din mijloc a peștelui. Fiecare probă elementară cântărește cel puțin 100 de grame.

În cazul peștilor de mărime intermediară (aproximativ 1-6 kg), proba elementară constă dintr-o bucată prelevată din partea mijlocie a peștelui, între coloana vertebrală și abdomen.

Pentru peștii foarte mari (de exemplu > aproximativ 6 kg), proba elementară este prelevată din masa musculară dorso-laterală de pe partea dreaptă (vedere frontală), de la mijlocul peștelui. În cazul în care prelevarea unei asemenea bucăți din partea de mijloc a peștelui ar însemna o pagubă economică semnificativă, prelevarea a trei probe elementare de câte cel puțin 350 de grame fiecare poate fi considerată ca fiind suficientă, indiferent de dimensiunea lotului sau, alternativ, pot fi prelevate câte o parte egală din masa musculară din apropierea cozii și din cea din apropierea capului pentru a constitui proba elementară care să fie reprezentativă pentru nivelul de dioxine din peștele întreg.

4. Prelevarea de probe din loturile de pește care conțin pești întregi de mărimi și/sau greutateți diferite

- În ceea ce privește constituirea probei, se aplică dispozițiile de la punctul III.3.
- În cazul în care predomină o clasă/categorie de mărime sau greutate (aproximativ 80% sau mai mult din lot), proba se prelevează de la peștii cu mărime sau greutate predominantă. Această probă se consideră reprezentativă pentru întregul lot.
- În cazul în care nu predomină o anumită clasă/categorie de mărime sau de greutate, trebuie să se asigure faptul că peștii selectați în vederea prelevării de probe sunt reprezentativi pentru lot. Instrucțiuni specifice pentru astfel de cazuri sunt puse la dispoziție în „Ghidul de prelevare de probe din pești întregi de mărimi și/sau greutate diferite” ⁽²⁾.

5. Prelevarea probelor în etapa comerțului cu amănuntul

Prelevarea de probe din produsele alimentare în etapa de vânzare cu amănuntul se efectuează, în măsura posibilului, în conformitate cu dispozițiile referitoare la prelevarea de probe menționate la punctul III.2 din prezenta anexă.

Dacă nu este posibil, se poate utiliza o metodă alternativă de prelevare a probelor în etapa de vânzare cu amănuntul, cu condiția să se asigure o reprezentativitate suficientă a lotului sau sublotului din care se prelevează probele.

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

IV. CONFORMITATEA LOTULUI SAU A SUBLOTULUI CU SPECIFICAȚIILE

1. În ceea ce privește PCB-urile care nu sunt de tipul dioxinelor

Lotul este acceptat dacă rezultatul analitic nu depășește nivelul maxim de PCB-uri care nu sunt de tipul dioxinelor menționat în Regulamentul (CE) nr. 1881/2006, ținând cont de incertitudinea de măsurare.

Lotul nu este conform cu nivelul maxim menționat în Regulamentul (CE) nr. 1881/2006 în cazul în care rezultatul analitic pe baza estimării superioare, confirmat printr-o analiză duplicat ⁽³⁾ depășește indubitabil nivelul maxim ținând cont de incertitudinea de măsurare.

Incetitudinea de măsurare se poate lua în considerare în conformitate cu una din următoarele abordări:

- calculându-se incertitudinea extinsă cu ajutorul unui coeficient de acoperire cu valoarea 2, care conferă un nivel de încredere de aproximativ 95%. Un lot sau un sublot nu este conform în cazul în care valoarea măsurată minus U depășește nivelul permis stabilit;
- prin stabilirea limitei de decizie (CCa) în conformitate cu dispozițiile Deciziei 2002/657/CE (punctul 3.1.2.5 din anexa I la decizia respectivă – cazul substanțelor pentru care este stabilită o limită permisă). Un lot sau un sublot nu este conform în cazul în care valoarea măsurată este egală sau mai mare decât CCa.

Normele menționate mai sus se aplică pentru rezultatul analitic obținut pentru proba care face obiectul controlului oficial. În cazul analizei realizate în scopuri de apărare sau de referire, se aplică normele naționale.

2. În ceea ce privește dioxinele (PCDD/PCDF) și PCB-urile de tipul dioxinelor

Lotul este acceptat dacă rezultatul unei singure analize:

- efectuate printr-o metodă de screening cu o rată de falsă-conformitate de sub 5 % indică faptul că nivelul nu depășește nivelul maxim respectiv de PCDD/F-uri și suma dintre PCDD/F-uri și PCB-uri de tipul dioxinelor, astfel cum sunt menționate în Regulamentul (CE) nr. 1881/2006;
- efectuate printr-o metodă de confirmare nu depășește nivelul maxim respectiv de PCDD/F-uri și suma dintre PCDD/F-uri și PCB-uri de tipul dioxinelor, astfel cum sunt menționate în Regulamentul (CE) nr. 1881/2006, ținând cont de incertitudinea de măsurare.

Pentru testele de screening, se stabilește o valoare-limită în vederea luării unei decizii cu privire la conformitatea cu nivelurile respective de interes stabilite fie pentru PCDD/F-uri, fie pentru suma dintre PCDD/F-uri și PCB-uri de tipul dioxinelor.

Lotul este neconform cu nivelul maxim stabilit prin Regulamentul (CE) nr. 1881/2006 în cazul în care rezultatul analitic pe baza estimării superioare obținut printr-o metodă de confirmare și confirmat printr-o analiză duplicat ⁽³⁾ depășește indubitabil nivelul maxim ținând cont de incertitudinea de măsurare.

Incetitudinea de măsurare se poate lua în considerare în conformitate cu una din următoarele abordări:

- calculându-se incertitudinea extinsă cu ajutorul unui coeficient de acoperire cu valoarea 2, care conferă un nivel de încredere de aproximativ 95%. Un lot sau un sublot nu este conform în cazul în care valoarea măsurată minus U depășește nivelul permis stabilit. În cazul unei determinări separate a PCDD/F-urilor și a PCB-urilor de tipul dioxinelor, suma incertitudinii extinse estimate a rezultatelor analitice separate ale PCDD/F-urilor și PCB-urilor de tipul dioxinelor trebuie utilizată pentru incertitudinea extinsă estimată a sumei dintre PCDD/F-uri și PCB-uri de tipul dioxinelor;
- prin stabilirea limitei de decizie (CCa) în conformitate cu dispozițiile Deciziei 2002/657/CE (punctul 3.1.2.5 din anexa I la decizia respectivă – cazul substanțelor pentru care este stabilită o limită permisă), un lot sau un sublot nu este conform în cazul în care valoarea măsurată este egală sau mai mare decât CCa.

Normele menționate mai sus se aplică pentru rezultatul analitic obținut pentru proba care face obiectul controlului oficial. În cazul analizei realizate în scopuri de apărare sau de referință, se aplică normele naționale.

⁽³⁾ Analiza duplicat este necesară pentru a exclude posibilitatea contaminării încrucișate interne sau a încurcării accidentale a probelor. Prima analiză, care ține cont de incertitudinea de măsurare, se utilizează pentru verificarea conformității. În cazul în care analiza este efectuată în contextul unui episod de contaminare, se poate omite confirmarea printr-o analiză duplicat atunci când probele selecționate pentru analiză sunt asociate, prin intermediul trasabilității, cu episodul de contaminare.

V. DEPĂȘIREA NIVELURILOR DE ACȚIUNE

Nivelurile de acțiune servesc ca instrument pentru selectarea probelor în cazurile în care este necesar să se identifice o sursă de contaminare și să se ia măsuri pentru reducerea sau eliminarea acesteia. Metodele de screening stabilesc valori-limită corespunzătoare pentru selectarea acestor probe. Eforturile necesare pentru a identifica o sursă și a reduce sau elimina contaminarea se realizează numai în cazul în care depășirea nivelului de acțiune este confirmată printr-o analiză duplicat utilizând o metodă de confirmare și ținând cont de incertitudinea de măsurare ⁽⁴⁾.

⁽⁴⁾ Explicațiile și cerințele pentru analiza duplicat în vederea verificării nivelurilor de acțiune sunt identice cu cele de la nota de subsol 3 pentru nivelurile maxime.

ANEXA III

Pregătirea probelor și cerințe privind metodele de analiză utilizate în cadrul controlului oficial al nivelurilor de dioxine (PCDD/PCDF) și de PCB-uri de tipul dioxinelor din anumite produse alimentare

1. DOMENIUL DE APLICARE

Cerințele stabilite în prezenta anexă se aplică atunci când produsele alimentare sunt analizate în cadrul controlului oficial al nivelurilor de p-dibenzodioxine policlorurate 2,3,7,8-substituite și dibenzofurani policlorurați (PCDD/F-uri) și bifenili policlorurați (PCB-uri) de tipul dioxinelor, precum și în alte scopuri de reglementare.

Monitorizarea prezenței PCDD/F-urilor și a PCB-urilor de tipul dioxinelor în produsele alimentare poate fi efectuată cu două obiective diferite:

- (a) selectarea acelor probe cu niveluri de PCDD/F-uri și PCB-uri de tipul dioxinelor care depășesc nivelurile maxime sau nivelurile de acțiune. Această abordare poate implica o metodă de screening care permite o capacitate sporită de analiză a probelor, eficiență din punctul de vedere al costurilor, sporind astfel șansa de a descoperi noi incidente cu un nivel mare de expunere și riscuri de sănătate importante pentru consumatori. Metodele de screening pot să cuprindă metode bioanalitice și metode GC/MS. Aplicarea lor ar trebui să urmărească evitarea rezultatelor false-conforme. Concentrația de PCDD/F-uri și suma dintre PCDD/F-uri și PCB-uri de tipul dioxinelor din acele probe cu niveluri semnificative trebuie determinată/confirmată printr-o metodă de confirmare;
- (b) determinarea nivelurilor de PCDD/F-uri și PCB-uri de tipul dioxinelor din probele de produse alimentare în intervalul nivelurilor de fond mici. Acest fapt este important pentru a urmări tendințele în timp, evaluarea expunerii populației și pentru a crea o bază de date pentru posibila reevaluare a nivelurilor de acțiune și a nivelurilor maxime. Acest obiectiv este atins prin metode de confirmare care permit PCDD/F-urilor și PCB-urilor de tipul dioxinelor să fie identificate și cuantificate fără echivoc la nivelul de interes. Aceste metode pot fi utilizate pentru confirmarea rezultatelor obținute prin metode de screening și pentru determinarea nivelurilor de fond mici în cadrul monitorizării produselor alimentare. Ele sunt, de asemenea, importante pentru stabilirea modelelor pentru congeneri în scopul de a identifica sursa unei posibile contaminări. În prezent, astfel de metode utilizează cromatografia de rezoluție mare în fază gazoasă/spectrometria de masă cu rezoluție mare (HRGC/HRMS).

2. CLASIFICAREA METODELOR ÎN FUNCȚIE DE GRADUL LOR DE CUANTIFICARE ⁽¹⁾

„Metodele calitative” oferă un rezultat pozitiv/negativ privind prezența analiților de interes, fără indicare cuantificată a concentrației de analit prezumtiv. Aceste metode calitative au potențialul de a furniza rezultate semicantitative, însă sunt utilizate exclusiv pentru a lua o decizie da/nu ca un indiciu al nivelurilor superioare sau inferioare față de anumite valori, de exemplu, limita de detectare, limita de cuantificare sau valorile-limită.

Pentru controlul nivelurilor maxime și de acțiune pentru PCDD/F-uri și PCB-uri de tipul dioxinelor din produsele alimentare se pot aplica metode de screening care se bazează pe compararea rezultatului analitic cu o valoare-limită și care conferă o decizie da/nu pentru a indica posibila depășire a nivelului de interes. În acest scop, au fost introduse metode bioanalitice. În general, ar putea fi dezvoltate și metode fizico-chimice; cu toate acestea, în ceea ce privește nivelurile maxime și de acțiune bazate pe TEQ și analiza complexă cu necesitatea determinării congenerilor individuali relevanți, nu există exemple practice.

„Metodele semicantitative” oferă o indicație aproximativă a concentrației care poate fi utilă ca informație pentru intervalul de concentrații al analitului și de ajutor pentru analist în a stabili intervalul de calibrare pentru testul de confirmare care urmează să fie efectuat, precum și pentru controlul calității. Printre exemple se numără:

- metode bioanalitice care pot detecta analiții de interes, includ o curbă de calibrare, conferă o decizie da/nu pentru indicarea posibilității depășirii nivelului de interes și permit raportarea rezultatelor ca echivalente bioanalitice (BEQ), fiind o indicație pentru valoarea TEQ a probei;
- teste fizico-chimice (de exemplu, GC-MS/MS sau GC/LRMS), caz în care caracteristicile de precizie a măsurării ale metodei nu îndeplinesc cerințele pentru testele cantitative.

⁽¹⁾ Adaptat la PCDD/F-uri și compuși de tipul dioxinelor din „Ghidul de validare a metodelor de screening pentru reziduurile de medicamente veterinare”, Laboratoarele de referință ale UE pentru reziduurile de medicamente veterinare și contaminanți din alimentele de origine animală din Fougères, Berlin și Bilthoven, 20/1/2010, http://ec.europa.eu/food/food/chemicalsafety/residues/lab_analysis_en.htm

„Metodele cantitative” îndeplinesc aceleași cerințe de acuratețe, interval dinamic și precizie ca testele de confirmare. În cazul în care este necesară cuantificarea, aceste metode trebuie validate ca metode de confirmare, astfel cum se explică în detaliu în prezentul document pentru PCDD/F-uri și PCB-uri de tipul dioxinelor.

3. CONTEXT

Pentru calcularea concentrațiilor echivalentelor toxice (TEQ), concentrațiile fiecărei substanțe dintr-o probă dată se înmulțesc cu factorul de echivalență toxică (TEF) corespunzător, astfel cum au fost stabiliți de către Organizația Mondială a Sănătății și cum apar în lista din appendicele la prezenta anexă, și apoi acestea se adună pentru a obține concentrația totală de compuși de tipul dioxinelor exprimată ca TEQ-uri.

Metodele de screening și de confirmare pot fi aplicate pentru controlul unei anumite matrice numai dacă metodele sunt suficient de sensibile pentru a detecta în mod fiabil niveluri la nivelul de interes (nivel de acțiune sau maxim).

4. CERINȚE DE ASIGURARE A CALITĂȚII

- Trebuie luate măsuri pentru a se evita contaminarea încrucișată în fiecare etapă a procedurii de prelevare de probe și de analizare.
- Probele trebuie depozitate și transportate în recipiente de sticlă, aluminiu, polipropilenă sau polietilenă, corespunzătoare pentru depozitare, fără nicio influență asupra nivelurilor de PCDD/F-uri și PCB-uri de tipul dioxinelor din probe. Urmele de praf de hârtie trebuie îndepărtate de pe recipientul cu probe.
- Depozitarea și transportul probelor trebuie efectuate astfel încât să se păstreze integritatea probei de produs alimentar.
- În măsura în care este relevant, fiecare probă de laborator se macină fin și se amestecă temeinic printr-un procedeu dovedit că realizează o omogenizare completă (de exemplu, proba este măcinată fin astfel încât să treacă printr-o sită cu ochiuri de 1 mm); probele trebuie uscate înainte de măcinare, în cazul în care conținutul de apă este prea mare.
- Controlul reactivilor, al sticlăriei și al echipamentului în vederea detectării unei posibile influențe a rezultatelor bazate pe TEQ sau BEQ sunt de importanță generală.
- Se realizează o analiză martor parcurgând întreaga procedură analitică, însă fără probă.
- Pentru metodele bioanalitice, este de mare importanță ca toată sticlăria și toți solvenții utilizați în cadrul analizei să fie testați pentru a se constata dacă sunt liberi de compuși care interferează cu detectarea compușilor-țintă în intervalul de lucru. Sticlăria se clătește cu solvenți sau/și se încălzește la temperaturi adecvate pentru a elimina urmele de PCDD/F-uri, de compuși de tipul dioxinelor și compuși interferenți de pe suprafața acesteia.
- Cantitatea de probă utilizată pentru extracție trebuie să fie suficientă pentru a îndeplini cerințele referitoare la un interval de lucru aflat la niveluri suficient de mici, inclusiv concentrațiile de interes.
- Procedurile specifice de pregătire a probelor utilizate pentru produsele avute în vedere urmează orientări recunoscute la nivel internațional.
- În cazul peștilor, pielea trebuie îndepărtată, deoarece nivelul maxim se aplică mușchiului fără piele. Cu toate acestea, este necesar ca întreg restul de țesut muscular și adipos de pe partea internă a pielii să fie îndepărtat de piele cu grijă și în întregime și adăugat la proba de analizat.

5. CERINȚE PENTRU LABORATOARE

- În conformitate cu dispozițiile Regulamentului (CE) nr. 882/2004, laboratoarele sunt acreditate de un organism recunoscut care funcționează în conformitate cu Ghidul ISO 58, pentru a se asigura aplicarea de către acestea a procedurilor de asigurare a calității analizelor. Laboratoarele sunt acreditate conform standardului EN ISO/IEC 17025.
- Competența laboratoarelor se demonstrează prin participarea continuă și cu succes la studiile interlaboratoare pentru determinarea PCDD/F-urilor și a PCB-urilor de tipul dioxinelor în matricele de produse alimentare și în intervalele de concentrații relevante.
- Laboratoarele care aplică metode de screening pentru controlul de rutină al probelor stabilesc o cooperare strânsă cu laboratoarele care aplică metoda de confirmare, atât pentru controlul calității, cât și pentru confirmarea rezultatului analitic al probelor suspectate.

6. CERINȚE DE BAZĂ PRIVIND PROCEDURILE ANALITICE REFERITOARE LA DIOXINE (PCDD/F-URI) ȘI PCB-URI DE TIPUL DIOXINELOR

6.1. **Interval de lucru și limite de cuantificare în gama de niveluri mici**

- Pentru PCDD/F-uri, cantitățile detectabile trebuie să fie în gama superioară a femtogramelor (10^{-15} g) din cauza toxicității extreme a unora dintre acești compuși. Pentru majoritatea congenerilor PCB, limita de cuantificare de ordinul nanogramelor (10^{-9} g) este deja suficientă. Totuși, pentru măsurarea congenerilor PCB-urilor de tipul dioxinelor mai toxici (în special a congenerilor non-orto substituiți), extremitatea inferioară a intervalului de lucru trebuie să ajungă la nivelurile mici de ordinul picogramelor (10^{-12} g).

6.2. **Selectivitate (specificitate) mare**

- Este necesar să se facă o distincție între PCDD/F-uri și PCB-uri de tipul dioxinelor și o multitudine de alți compuși coextrași și care pot să interfereze, prezenți în concentrații cu până la câteva ordine de mărime mai mari decât cele ale analiților de interes. Pentru metodele bazate pe cromatografie în fază gazoasă/spectrometrie de masă (GC/MS) este necesară o diferențiere între diverșii congeneri, respectiv între cei toxici (de exemplu, cele șaptesprezece PCDD/F-uri 2,3,7,8-substituite și cele doisprezece PCB-uri de tipul dioxinelor) și alți congeneri.
- Metodele bioanalitice sunt capabile să detecteze compușii-țintă ca sumă de PCDD/F-uri și/sau PCB-uri de tipul dioxinelor. Curățarea probelor are drept scop eliminarea compușilor care duc la rezultate false-neconforme sau a compușilor care pot atenua răspunsul, ducând la rezultate false-conforme.

6.3. **Acuratețe mare (autenticitate și precizie, recuperare aparentă a biotestului)**

- Pentru metodele GC/MS, determinarea oferă o estimare valabilă a concentrației reale dintr-o probă. Acuratețea mare (acuratețea măsurătorii: concordanța cât mai bună între rezultatul unei măsurători și valoarea reală sau alocată a mărimii măsurabile) este necesară pentru a evita respingerea rezultatului analizei unei probe în temeiul fiabilității slabe a nivelului TEQ determinat. Acuratețea se exprimă prin „autenticitate” (diferența dintre valoarea medie măsurată pentru un analit pe un material certificat și valoarea sa certificată, exprimată ca procent din această valoare) și „precizie” (deviația standard relativă RSD_R calculată pe baza rezultatelor generate în condiții de reproductibilitate).
- Pentru metodele bioanalitice, se determină recuperarea aparentă a biotestului.

6.4. **Validarea în intervalul nivelului de interes și măsuri generale de control al calității**

- Laboratoarele demonstrează performanța unei metode în intervalul nivelului de interes, de exemplu, $0,5 \times 1 \times$ și $2 \times$ nivelul de interes, cu un coeficient de variație acceptabil pentru analize repetate, în timpul procedurii de validare și/sau în timpul analizei de rutină.
- Ca măsuri interne de control al calității, se efectuează periodic controale martor, experimente cu îmbogățire sau analize ale unor probe de control (dacă este posibil, cu material de referință certificat). Se înregistrează și se verifică grafice de control al calității (QC) pentru controalele martor, experimentele cu îmbogățire sau analizele unor probe de control, pentru a se garanta că performanța analitică este conformă cerințelor.

6.5. **Limita de cuantificare**

- Pentru o metodă bioanalitică de screening, stabilirea LOQ nu este o cerință indispensabilă, însă metoda trebuie să demonstreze că poate face distincție între valoarea-martor și valoarea-limită. La furnizarea unui nivel BEQ, se stabilește un nivel de raportare pentru a se lua decizii legate de probele care prezintă un răspuns sub acest nivel. Trebuie dovedit că nivelul de raportare este diferit față de probele martor din cadrul procedurii cu un factor care are cel puțin valoarea trei, cu un răspuns inferior intervalului de lucru. Prin urmare, se calculează pornind de la probe care conțin compușii-țintă în jurul nivelului minim necesar și nu de la un raport S/Z sau un test martor.
- Limita de cuantificare (LOQ) pentru o metodă de confirmare este aproximativ o cincime din nivelul de interes.

6.6. **Criterii analitice**

- Pentru ca metodele de confirmare sau de screening să ofere rezultate fiabile trebuie să fie respectate următoarele criterii pentru valoarea TEQ sau BEQ, indiferent dacă este determinată ca TEQ total (ca sumă de PCDD/F-uri și PCB-uri de tipul dioxinelor) sau separat pentru PCDD/F-uri și pentru PCB de tipul dioxinelor:

	Screening cu metode bioanalitice sau fizico-chimice	Metode de confirmare
Rată de fals-conform (*)	< 5 %	
Autenticitate		-20 % până la + 20 %
Repetabilitate (RSD _r)	< 20 %	
Reproductibilitatea intralaborator (RSD _R)	< 25 %	< 15 %

(*) cu privire la nivelurile maxime

6.7. Cerințe specifice pentru metodele de screening

- Atât metodele GC/MS, cât și metodele bioanalitice, pot fi folosite pentru screening. Pentru metodele GC/MS trebuie să se utilizeze cerințele menționate la punctul 7 al prezentei anexe. Pentru metodele bioanalitice bazate pe celule sunt prevăzute cerințe specifice la punctul 8 din prezenta anexă.
- Laboratoarele care aplică metode de screening pentru controlul de rutină al probelor stabilesc o cooperare strânsă cu laboratoarele care aplică metoda de confirmare.
- Performanța metodei de screening trebuie verificată în timpul analizei de rutină, printr-un control al calității analizelor și printr-o validare continuă a metodei. Trebuie să existe un program continuu pentru controlul rezultatelor conforme.
- Verificarea posibilei suprimări a răspunsului celular și a citotoxicității

20 % din extractele de probe sunt măsurate în screeningul de rutină cu și fără 2,3,7,8-TCDD care se adaugă în funcție de nivelul de interes, pentru a verifica dacă răspunsul este, eventual, suprimat de către substanțele interferente prezente în extractul de probă. Concentrația măsurată a probei îmbogățite se compară cu suma concentrației extractului neîmbogățit, plus concentrația cu îmbogățire. Dacă această concentrație măsurată este mai mică cu mai mult de 25 % față de concentrația (suma) calculată, aceasta indică posibilitatea eliminării semnalului, iar proba respectivă trebuie supusă analizei de confirmare prin GC/HRMS. Rezultatele sunt monitorizate prin grafice de control al calității.

- Controlul calității probelor conforme

Aproximativ 2-10 % din probele conforme, în funcție de matricea probei și de experiența laboratorului, se confirmă prin GC/HRMS.

- Determinarea ratelor fals-conform pornind de la datele QC

Se determină rata rezultatelor false-conforme care rezultă din screeningul probelor sub și peste nivelul maxim sau de acțiune. Ratele false-conforme reale sunt sub 5 %.

Atunci când, în urma controlului de calitate al probelor conforme, sunt disponibile cel puțin 20 de rezultate confirmate per matrice/grup de matrice, concluziile privind rata fals-conform trebuie să fie desprinse din această bază de date. Rezultatele probelor analizate prin intermediul testărilor interlaboratoare sau în timpul incidentelor de contaminare, care acoperă un interval de concentrații de până la, de exemplu, $2 \times$ nivelul maxim (NM), pot fi, de asemenea, incluse în cele cel puțin 20 de rezultate pentru evaluarea ratei fals-conform. Probele acoperă cele mai frecvente modele realizate de congeneri, reprezentând diverse surse.

Deși testele de screening au, preferabil, ca scop detectarea probelor care depășesc nivelul de acțiune, criteriul de determinare a ratelor false-conforme este nivelul maxim, ținând seama de incertitudinea de măsurare a metodei de confirmare.

- Probele potențial neconforme care rezultă în urma screeningului trebuie să fie întotdeauna verificate printr-o metodă analitică de confirmare (GC/HRMS). Aceste probe pot fi, de asemenea, folosite pentru a evalua rata rezultatelor false-neconforme. Pentru metodele de screening, rata „rezultatelor false-neconforme” este procentul rezultatelor confirmate ca fiind conforme în urma analizei de confirmare prin GC/HRMS, în timp ce, în screeningul anterior, s-a declarat că proba este suspectată de a fi neconformă. Totuși, evaluarea caracterului avantajos al metodei de screening se bazează pe compararea probelor false-neconforme cu numărul total de probe verificate. Această rată este suficient de mică pentru a face ca utilizarea unui instrument de screening să fie avantajoasă.

- Cel puțin în condiții de validare, metodele bioanalitice oferă o indicație valabilă a nivelului TEQ, calculat și exprimat ca BEQ.
- Și pentru metodele bioanalitice efectuate în condiții de repetabilitate, valoarea RSD_r intralaborator ar fi, în general, mai mică decât RSD_R (reproductibilitate).

7. CERINȚE SPECIFICE PRIVIND METODELE GC/HRMS CARE TREBUIE RESPECTATE PENTRU SCREENING SAU CONFIRMARE.

7.1. Cerințe generale

- Diferența dintre estimarea superioară și estimarea inferioară nu trebuie să depășească 20 % pentru produsele alimentare cu o contaminare de aproximativ 1 pg OMS-TEQ/g de grăsime (pe baza sumei dintre PCDD/F-uri și PCB-uri de tipul dioxinelor). Pentru produsele alimentare cu conținut scăzut de grăsime, trebuie să se aplice aceleași cerințe pentru nivelurile de contaminare, de aproximativ 1 pg OMS-TEQ/g produs. Pentru niveluri de contaminare inferioare, de exemplu, 0,5 pg OMS-TEQ/g de produs, diferența dintre estimarea superioară și estimarea inferioară poate fi între 25 % și 40 %.

7.2. Controlul recuperărilor

- Pentru a se valida procedura analitică, la începutul efectuării analizei, de exemplu, înaintea fazei de extracție, trebuie să se adauge etaloane interne de PCDD/F-uri substituite cu clor la pozițiile 2,3,7,8 și marcate cu ^{13}C , precum și etaloane interne de PCB-uri de tipul dioxinelor marcate cu ^{13}C . Trebuie adăugat cel puțin un congener pentru fiecare din grupele omoloage tetra- până la octo-clorurate de PCDD/F-uri și cel puțin un congener pentru fiecare dintre grupele omoloage de PCB-uri de tipul dioxinelor (alternativ, cel puțin un congener pentru fiecare funcție de înregistrare a ionului selecționat prin spectrometrie de masă, utilizat pentru monitorizarea PCDD/F-urilor și a PCB-urilor de tipul dioxinelor). În cazul metodelor de confirmare, trebuie să fie utilizate toate cele 17 etaloane interne de PCDD/F-uri substituite la pozițiile 2,3,7,8, și marcate cu ^{13}C , precum și toate cele 12 etaloane interne de PCB-uri de tipul dioxinelor marcate cu ^{13}C .

- De asemenea, se determină factorii de răspuns relativ pentru acei congengeri pentru care nu se adaugă niciun analog marcat cu ^{13}C , utilizându-se soluții de calibrare corespunzătoare.

- Pentru produsele alimentare de origine vegetală și cele de origine animală care conțin mai puțin de 10 % grăsime, este obligatorie adăugarea etaloanelor interne înainte de extracție. Pentru produsele alimentare de origine animală care conțin mai mult de 10 % grăsime, etaloanele interne se pot adăuga fie înainte, fie după extracția grăsimii. Se procedează la o validare corespunzătoare a eficacității extracției, în funcție de etapa în care se introduc etaloanele interne și de modul în care sunt prezentate rezultatele (pe bază de produs sau de grăsimi).

- Înaintea analizei GC/MS, trebuie să se adauge 1 sau 2 etaloane de recuperare (surogat).

- Este necesar controlul recuperării. Pentru metodele de confirmare, recuperările de etaloane interne individuale trebuie să se situeze în intervalul 60-120 %. Sunt acceptabile recuperări inferioare sau superioare pentru congengeri individuali, în special pentru unele p-dibenzodioxine și unii dibenzofurani hepta- și octo-clorurați, atât timp cât contribuția acestora la valoarea TEQ nu depășește 10 % din valoarea TEQ totală (bazată pe suma dintre PCDD/F-uri și PCB-uri de tipul dioxinelor). Pentru metodele de screening prin GC/MS, recuperările trebuie să se situeze în intervalul 30-140 %.

7.3. Eliminarea substanțelor interferente

- Separarea PCDD/F-urilor de compuși clorurați interferenți, cum sunt PCB-urile care nu sunt de tipul dioxinelor și bifenileterii clorurați, se realizează prin tehnici cromatografice adecvate (de preferință pe coloană de florisil, alumină și/sau cărbune).
- Separarea izomerilor prin cromatografie în fază gazoasă trebuie să fie suficientă (< 25 % de la pic la pic între 1,2,3,4,7,8-HxCDF și 1,2,3,6,7,8-HxCDF).

7.4. Calibrarea cu curba standard

- Intervalul curbei de calibrare trebuie să acopere intervalul relevant de niveluri de interes.

8. CERINȚE SPECIFICE PENTRU METODELE BIOANALITICE

Metodele bioanalitice sunt metode bazate pe utilizarea de principii biologice precum testele pe bază de celule sau de receptori sau imunoteste. Prezentul punct 8 stabilește cerințe pentru metodele bioanalitice în general.

O metodă de screening, în principiu, clasifică o probă ca fiind conformă sau suspectată a fi neconformă. În acest scop, nivelul BEQ calculat este comparat cu valoarea-limită (a se vedea 8.3). Probele sub valoarea-limită sunt declarate conforme, probele egale sau peste valoarea-limită sunt declarate ca fiind suspectate a fi neconforme, necesitând analiză printr-o metodă de confirmare. În practică, un nivel BEQ corespunzând la 2/3 din nivelul maxim poate servi drept cea mai adecvată valoare-limită care asigură o rată fals-conform sub 5 % și o rată acceptabilă pentru rezultate false-neconforme. Cu niveluri maxime diferite pentru PCDD/F-uri și pentru suma dintre PCDD/F-uri și PCB-uri de tipul dioxinelor, verificarea conformității probelor fără fracționare necesită valori-limită corespunzătoare ale biotestelor pentru PCDD/F-uri. Pentru verificarea probelor care depășesc nivelurile de acțiune, un procent adecvat al nivelului de interes respectiv ar fi potrivit ca valoare-limită.

În plus, în cazul anumitor metode bioanalitice, un nivel indicativ exprimat în BEQ-uri poate fi furnizat pentru probele din intervalul de lucru și care depășesc limita de raportare (a se vedea 8.1.1 și 8.1.6).

8.1. Evaluarea răspunsului la test

8.1.1. Cerințe generale

- Atunci când se calculează concentrațiile pornind de la o curbă de calibrare a TCDD, valorile la extremitățile inferioare și superioare ale curbei vor prezenta o variație importantă [coeficient de variație (CV) mare]. Intervalul de lucru este aria în care acest CV este mai mică decât 15 %. Extremitatea inferioară a intervalului de lucru (limita de raportare) trebuie să fie fixată semnificativ (cel puțin cu un factor de trei) peste martorii procedurii. Extremitatea superioară a intervalului de lucru este, de obicei, reprezentată de valoarea EC₇₀ (70 % din concentrația maximă efectivă), dar mai scăzută dacă CV este mai mare de 15 % în acest interval. Intervalul de lucru este stabilit în timpul validării. Valorile-limită (8.3) trebuie să fie situate în intervalul de lucru.
- Soluțiile etalon și extractele de probe trebuie să fie testate cel puțin în duplicat. Atunci când se utilizează duplicate, o soluție etalon sau un extract de control testat (testat) în 4 până la 6 godeuri repartizate pe placă produce un răspuns sau o concentrație (posibilă doar în intervalul de lucru) pe baza unui CV < 15 %.

8.1.2. Calibrarea

8.1.2.1. Calibrarea cu curba standard

- Nivelurile din probe pot fi estimate prin compararea răspunsului la test cu o curbă de calibrare a TCDD (sau a PCB 126 sau a unui amestec etalon de PCDD/F/PCB-uri de tipul dioxinelor) pentru a se calcula nivelul BEQ din extract și, prin urmare, din probă.
- Curbele de calibrare conțin între 8 și 12 concentrații (cel puțin în duplicate), cu concentrații suficiente în partea inferioară a curbei (intervalul de lucru). Se acordă atenție specială calității ajustării curbei în intervalul de lucru. Ca atare, valoarea R² are valoare redusă sau nicio valoare în estimarea calității ajustării în regresia nelineară. Se ajunge la o ajustare mai bună prin reducerea la minimum a diferenței între nivelurile calculate și cele observate în intervalul de lucru al curbei (de exemplu, prin reducerea la minimum a sumei pătratelor rezidualelor).
- Nivelul estimat din extractul de probă este corectat ulterior în funcție de nivelul BEQ calculat pentru o probă-martor de matrice/solvent (pentru a se ține cont de impuritățile din solvenți și din substanțele chimice utilizate) și recuperarea aparentă (calculată pornind de la nivelul BEQ al probelor de referință adecvate cu modele reprezentative de congeneri în jurul nivelului de interes). Pentru a efectua o corecție a recuperării, recuperarea aparentă trebuie să fie situată întotdeauna în intervalul necesar (a se vedea punctul 8.1.4). Probele de referință utilizate pentru corecția recuperării trebuie să respecte cerințele de la punctul 8.2.

8.1.2.2. Calibrarea cu probe de referință

Alternativ, o curbă de calibrare realizată pe baza a cel puțin 4 probe de referință (a se vedea punctul 8.2: o matrice-martor, plus trei probe de referință de 0,5 ×, 1 × și 2 × nivelul de interes) în jurul nivelului de interes poate fi utilizată, eliminând necesitatea de a corecta în funcție de martor și recuperare. În acest caz, răspunsul la test corespunzând la 2/3 din nivelul maxim (a se vedea 8.3) poate fi calculat direct din aceste probe și utilizat ca valoare-limită. Pentru verificarea probelor care depășesc nivelurile de acțiune, un procentaj corespunzător al acestor niveluri de acțiune ar corespunde ca valoare-limită.

8.1.3. Determinare separată a PCDD/F-urilor și a PCB-urilor de tipul dioxinelor

Extractele pot fi divizate în fracțiuni care conțin PCDD/F-uri și PCB-uri de tipul dioxinelor, permițând o indicare separată a nivelurilor TEQ pentru PCDD/F-uri și PCB-uri de tipul dioxinelor (în BEQ). Se utilizează, de preferință, o curbă de calibrare standard a PCB 126 pentru evaluarea rezultatelor fracțiunii care conține PCB-uri de tipul dioxinelor.

8.1.4. Recuperări aparente ale biotestului

„Recuperarea aparentă a biotestului” se calculează pornind de la probe de referință adecvate cu modele reprezentative pentru congeneri în jurul nivelului de interes și exprimate ca procentaj al nivelului BEQ în comparație cu nivelul TEQ. În funcție de tipul de test și de TEF⁽¹⁾ utilizate, diferențele între factorii TEF și REP pentru PCB-urile de tipul dioxinelor pot cauza recuperări aparente mici pentru PCB-urile de tipul dioxinelor în comparație cu PCDD/F-urile. Prin urmare, în cazul în care se efectuează o determinare separată a PCDD/F-urilor și a PCB-urilor de tipul dioxinelor, recuperările aparente ale biotestului sunt: pentru PCB-uri de tipul dioxinelor între 25 % și 60 %, pentru PCDD/F-uri între 50 % și 130 % (intervalele se aplică pentru curba de calibrare a TCDD). Deoarece contribuția PCB-urilor de tipul dioxinelor la suma dintre PCDD/F-uri și PCB-uri de tipul dioxinelor poate varia între diferite matrice și probe, recuperările aparente ale biotestului pentru parametrul sumei reflectă aceste intervale și este între 30 % și 130 %.

8.1.5. Controlul recuperărilor pentru curățare

- Pierderea de compuși în timpul curățării se verifică în timpul validării. O probă-martor îmbogățită cu un amestec de congeneri diferiți face obiectul curățării ($n = 3$ cel puțin), iar recuperarea și variabilitatea sunt verificate prin GC/HRMS. Recuperarea se situează între 60 % și 120 %, mai ales pentru congenerii care contribuie cu mai mult de 10% la nivelul TEQ în diverse amestecuri.

8.1.6. Limita de raportare

- Atunci când se raportează nivelurile BEQ, se determină o limită de raportare pornind de la probele de matrice relevante care implică modele tipice pentru congeneri, dar nu pornind de la curba de calibrare a etaloanelor din cauza preciziei mici în intervalul inferior al curbei. Efectele extracției și ale curățării trebuie luate în considerare. Limita de raportare se fixează semnificativ (cel puțin cu un factor de trei) peste martorii procedurii.

8.2. Utilizarea probelor de referință

- Probele de referință reprezintă matricea probei, modelele pentru congeneri și intervalele de concentrație pentru PCDD/F-uri și PCB-uri de tipul dioxinelor în jurul nivelului de interes (niveluri maxime sau de acțiune).
- În fiecare serie de teste se include un martor pentru procedură sau, de preferință, un martor pentru matrice, precum și o probă de referință la nivelul de interes. Aceste probe trebuie extrase și testate în același timp și în condiții identice. Proba de referință trebuie să prezinte un răspuns clar mai mare în comparație cu proba-martor, asigurând astfel caracterul adecvat al testului. Aceste probe pot fi utilizate pentru corecțiile recuperării și ale martorului.
- Probele de referință alese pentru a efectua o corecție a recuperării sunt reprezentative pentru probele testate, în sensul că modelele pentru congeneri nu conduc la o subestimare a nivelurilor.
- Se pot include probe de referință suplimentare, de exemplu la $0,5 \times$ și $2 \times$ nivelul de interes, pentru a se demonstra performanța corespunzătoare a testului în intervalul de interes, pentru controlul nivelului de interes. Combinate, aceste probe pot fi utilizate pentru calcularea nivelurilor BEQ în probele testate (8.1.2.2).

8.3. Determinarea valorilor-limită

Se stabilește relația dintre rezultatele bioanalitice în BEQ și rezultatele GC/HRMS în TEQ [de exemplu, prin experimente de calibrare în raport cu matricea, care implică probe de referință îmbogățite la 0 , $0,5 \times$, $1 \times$ și $2 \times$ față de nivelul maxim (NM), cu 6 repetări la fiecare nivel ($n = 24$)]. Factorii de corecție (martor și recuperare) pot fi estimați pornind de la această relație, dar trebuie să fie verificați în fiecare serie de teste prin includerea martorilor pentru procedură/matrice și a probelor de recuperare (8.2).

Valorile-limită se stabilesc pentru deciziile privind conformitatea probelor cu nivelurile maxime sau pentru controlul nivelurilor de acțiune, în cazul în care prezintă interes, cu nivelurile de interes respective stabilite fie numai pentru PCDD/F-uri și PCB-uri de tipul dioxinelor, fie pentru suma dintre PCDD/F-uri și PCB-uri de tipul dioxinelor. Ele sunt reprezentate prin extremitatea *inferioară* a distribuției rezultatelor bioanalitice (corectate în funcție de martor și recuperare) corespunzând limitei de decizie aferente GC/HRMS pe baza unui nivel de încredere de 95 %, implicând o rată fals-conform de $< 5 \%$, și pe baza unei valori a $RSD_R < 25\%$. Limita de decizie aferentă GC/HRMS este nivelul maxim, ținând seama de incertitudinea de măsurare.

În practică, valoarea-limită (în BEQ) poate fi calculată prin următoarele metode (a se vedea figura 1):

⁽¹⁾ Cerințele actuale se bazează pe TEF publicate în: M. Van den Berg et al, Toxicol. Sci. 93 (2), 223-241 (2006).

8.3.1. Utilizarea spectrului *inferior* al intervalului de predicție de 95 % la limita de decizie aferentă GC/HRMS

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

unde:

BEQ_{DL} BEQ care corespunde limitei de decizie aferente GC/HRMS, fiind nivelul maxim, inclusiv incertitudinea de măsurare

$s_{y,x}$ deviație standard reziduală

$t_{\alpha, f=m-2}$ factor Student ($\alpha = 5\%$, $f = \text{grade de libertate, o singură parte}$)

m numărul total de puncte de calibrare (indice j)

n numărul de repetări la fiecare nivel

x_i concentrația probei GC/HRMS (în TEQ) a punctului de calibrare i

$\bar{x}$ medie a concentrațiilor (în TEQ) ale tuturor probelor de calibrare

$Q_{xx} = \sum_{j=1}^m (x_i - \bar{x})^2$ parametrul sumei la pătrat, $i = \text{indice pentru punctul de calibrare } i$

8.3.2. Calcul pornind de la rezultatele bioanalitice (corectate în funcție de martor și recuperare) ale analizelor multiple ale probelor ($n \geq 6$) contaminate la limita de decizie aferentă GC/HRMS, ca extremitate *inferioară* a distribuției datelor la valoarea medie a BEQ corespunzătoare:

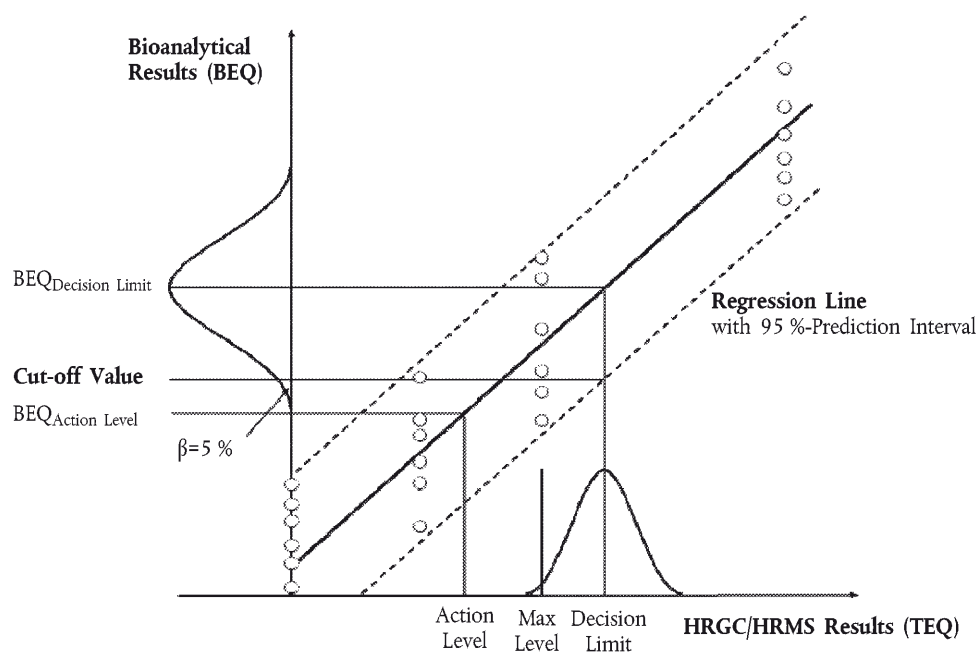
$$\text{Valoare-limită} = \text{BEQ}_{\text{DL}} - 1,64 \times \text{SD}_R$$

unde:

SD_R deviația standard a rezultatelor biotestului la BEQ_{DL} , măsurată în condiții de reproductibilitate intralaborator

8.3.3. Calcul ca valoare medie a rezultatelor bioanalitice (în BEQ, corectate în funcție de martor și recuperare) din mai multe analize ale probelor ($n \geq 6$) contaminate la $2/3$ din nivelul de interes. Aceasta se bazează pe observația că acest nivel va fi în jurul valorii-limită determinată ca la 8.3.1 sau 8.3.2.

Figura 1



Calcul al valorilor-limită, bazat pe un nivel de încredere de 95 %, implicând o rată fals-conform < 5 %, și o valoare a $RSD_R < 25 \%$: 1. pornind de la spectrul *inferior* al intervalului de predicție de 95% la limita de decizie aferentă HRGC/HRMS, 2. pornind de la analize multiple ale probelor ($n \geq 6$) contaminate la limita de decizie aferentă HRGC/HRMS, ca extremitate *inferioară* a distribuției datelor (reprezentată în figură printr-o curbă sub formă de clopot) la valoarea medie BEQ corespunzătoare.

8.3.4. Restricții ale valorilor-limită:

Valorile limită bazate pe BEQ, calculate pornind de la RSD_R obținut în cursul validării utilizând un număr limitat de probe cu modele pentru matrice/congeneri diferite pot fi mai mari decât nivelurile de interes bazate pe TEQ datorită unei precizii mai mari decât cea realizabilă în analizele de rutină atunci când trebuie controlat un spectru necunoscut de posibile modele pentru congeneri. În astfel de cazuri, valorile-limită se calculează pornind de la $RSD_R = 25 \%$ sau se preferă două treimi din nivelul de interes.

8.4. Caracteristici de performanță

- Având în vedere faptul că nu se pot utiliza standarde interne în metodele bioanalitice, testele cu privire la repetabilitate se efectuează pentru obținerea unor informații privind deviația standard în cadrul unei serii de teste și între serii de teste. Repetabilitatea trebuie să fie sub 20 %, iar reproductibilitatea intralaborator sub 25 %. Aceasta se bazează pe nivelurile calculate în BEQ după corecția în funcție de martor și recuperare.
- Ca parte din procesul de validare, testul trebuie să permită stabilirea diferenței între o probă-martor și un nivel la valoarea-limită, permițând identificarea probelor peste valoarea-limită corespunzătoare (a se vedea 8.1.2).
- Se definesc compușii țintă, interferențele potențiale și nivelurile maxime tolerabile ale martorului.
- Deviația standard în procente a răspunsului sau concentrației calculate pornind de la răspuns (posibilă numai în intervalul de lucru) a unei determinări triple a unui extract de probă nu poate fi mai mare de 15 %.
- Rezultatele necorectate ale probei (probelor) de referință exprimată (exprimate) în BEQ-uri (martor și nivelul de interes) sunt utilizate pentru evaluarea performanței metodei bioanalitice pe o perioadă de timp constantă.
- Graficele de control al calității (QC) pentru martorii procedurii și fiecare tip de probă de referință se înregistrează și se verifică pentru a se asigura că performanța analitică este în conformitate cu cerințele, în special pentru martorii procedurii cu privire la diferența minimă solicitată la extremitatea inferioară a intervalului de lucru și pentru probele de referință cu privire la reproductibilitatea intralaborator. Martorii procedurii sunt bine controlați într-un mod care să evite rezultatele false-conforme atunci când se scad.
- Rezultatele analizelor prin GC/HRMS ale probelor suspectate și a 2-10 % din probele conforme (minimum 20 de probe pentru fiecare matrice) sunt colectate și folosite pentru a evalua performanța metodei de screening și relația dintre BEQ-uri și TEQ-uri. Această bază de date ar putea fi utilizată pentru reevaluarea valorilor-limită aplicabile probelor de rutină pentru matricele validate.
- Buna performanță a metodelor poate fi, de asemenea, demonstrată prin participarea la testările interlaboratoare. Rezultatele probelor analizate în testările interlaboratoare, care acoperă un interval de concentrații care ajunge până la, de exemplu, $2 \times$ nivelul maxim, pot fi, de asemenea, incluse în evaluarea ratei fals-conform, în cazul în care un laborator este în măsură să demonstreze buna sa performanță. Probele acoperă cele mai frecvente modele pentru congeneri, reprezentând diverse surse.
- În timpul incidentelor, valorile-limită pot fi reevaluate, reflectând matricea specifică și modelele pentru congeneri doar ale acestui incident.

9. RAPORTAREA REZULTATULUI

Metode de confirmare

- În măsura în care procedura analitică utilizată permite acest lucru, rezultatele analitice includ nivelurile de congeneri individuali din grupul PCDD/F-urilor și PCB-urilor de tipul dioxinelor și sunt raportate ca estimare inferioară, estimare superioară și estimare mediană, pentru a include o cantitate maximă de informații în raportarea rezultatelor, ceea ce permite o interpretare a rezultatelor în conformitate cu cerințele specifice.
- Raportul include și metoda utilizată pentru extracția PCDD/F-urilor, PCB-urilor de tipul dioxinelor și lipidelor. Conținutul de lipide al probei se determină și se raportează pentru probe din produse alimentare cu niveluri maxime sau de acțiune exprimate pe bază de grăsimi și o concentrație de grăsimi estimată în intervalul 0-2 % (în concordanță cu legislația existentă), iar pentru alte eșantioane determinarea conținutului de lipide este opțională.

- Recuperările etaloanelor interne individuale trebuie să fie disponibile în cazul în care recuperările se situează în afara intervalului menționat la punctul 7.2, în cazul în care nivelul maxim este depășit, iar în celelalte cazuri la cerere.
- Întrucât, atunci când se decide conformitatea unei probe, se ține seama de incertitudinea de măsurare, acest parametru este, de asemenea, pus la dispoziție. Prin urmare, rezultatele analitice se raportează ca $x \pm U$, unde x este rezultatul analitic, iar U este incertitudinea de măsurare extinsă folosind un factor de acoperire 2, care conferă un nivel de încredere de aproximativ 95 %. În cazul unei determinări separate a PCDD/F-urilor și a PCB-urilor de tipul dioxinelor, suma incertitudinii extinse estimate a rezultatelor analitice separate ale PCDD/F-urilor și ale PCB-urilor de tipul dioxinelor se utilizează pentru suma PCDD/F-urilor și PCB-urilor de tipul dioxinelor.
- În cazul în care se ia în considerare incertitudinea de măsurare prin aplicarea CCa (astfel cum se descrie în anexa II punctul IV.2), acest parametru se raportează.
- Rezultatele se exprimă în aceleași unități și prin (cel puțin) același număr de cifre semnificative ca și nivelurile maxime menționate în Regulamentul (CE) nr. 1881/2006.

Metode bioanalitice de screening

- Rezultatul screeningului se exprimă ca și „conform” sau „suspectat a fi neconform” („suspectat”).
- În plus, se poate da un rezultat pentru PCDD/F-uri și/sau PCB-uri de tipul dioxinelor exprimat în echivalente bioanalitice (BEQ), nu în TEQ (a se vedea anexa III, punctul 2).
- În cazul în care se dă incertitudinea de măsurare a nivelului BEQ calculat, de exemplu, ca deviație standard, aceasta trebuie să se bazeze pe cel puțin o analiză triplă a probei (inclusiv extracția, curățarea și determinarea răspunsului la test).
- Probele cu un răspuns inferior limitei de raportare se exprimă ca fiind „sub limita de raportare”.
- Pentru fiecare tip de matrice a probei, raportul menționează nivelul de interes (nivel maxim, nivel de acțiune) pe care se bazează evaluarea.
- Raportul menționează tipul de test aplicat, principiul de bază al testului și tipul de calibrare.
- Raportul include și metoda utilizată pentru extracția PCDD/F-urilor, PCB-urilor de tipul dioxinelor și lipidelor. Conținutul de lipide al probei se determină și se raportează pentru probe din produse alimentare cu niveluri maxime sau de acțiune exprimate pe bază de grăsimi și o concentrație de grăsimi estimată în intervalul 0-2 % (în concordanță cu legislația existentă), iar pentru alte eșantioane determinarea conținutului de lipide este opțională.

Apendice la ANEXA III

OMS-TEF pentru evaluarea riscului pentru oameni pe baza concluziilor întâlnirii la nivel de experți organizată de Organizația Mondială a Sănătății (OMS) în cadrul Programului internațional pentru securitate chimică (International Programme on Chemical Safety – IPCS), în Geneva, în iunie 2005 [Martin van den Berg et al., Reevaluarea factorilor de echivalență toxică în cazul oamenilor și mamiferelor pentru dioxine și compuși asemănători dioxinelor de către Organizația Mondială a Sănătății în 2005 (*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)].

Congener	Valoare TEF	Congener	Valoare TEF
Dibenzo-p-dioxine („PCDD-uri”)		PCB-uri „de tipul dioxinelor”, PCB-uri non-orto și PCB-uri mono-orto	
2,3,7,8-TCDD	1		
1,2,3,7,8-PeCDD	1	PCB-uri non-orto	
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		
Dibenzofurani („PCDF-uri”)		PCB-uri mono-orto	
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		

Abrevieri utilizate: „T” = tetra; „Pe” = penta; „Hx” = hexa; „Hp” = hepta; „O” = octa; „CDD” = clorodibenzodioxină; „CDF” = clorodibenzofuran; „CB” = clorobifenil.

ANEXA IV

Pregătirea probelor și cerințe privind metodele analitice utilizate pentru controlul oficial al nivelurilor PCB-urilor care nu sunt de tipul dioxinelor (PCB # 28, 52, 101, 138, 153, 180) în anumite produse alimentare**1. Metode de detectare aplicabile**

Gaz-cromatografie/detectare prin captură de electroni (GC/ECD), GC/LRMS, GC/MS-MS, GC/HRMS sau metode echivalente.

2. Identificare și confirmare a analiților de interes

- Timpul de retenție relativ în raport cu etaloanele interne sau etaloanele de referință (deviație acceptabilă $\pm 0,25\%$).
- Separarea gaz-cromatografică a tuturor celor șase PCB indicatori (PCB 28, PCB 52, PCB 101, PCB 138, PCB 153 și PCB 180) de substanțele interferente, în special PCB-uri co-eluate, mai ales în cazul în care nivelurile probelor sunt în limite legale și neconformitatea trebuie să se confirme.

Notă: Congeneri despre care s-a constatat că sunt adesea co-eluanți sunt, de exemplu, PCB 28/31, PCB 52/69 și PCB 138/163/164. Pentru GC/MS este necesar să se țină seama și de interferențele posibile din partea fragmentelor de congeneri mai puternic clorurați.

- Pentru tehnicile GC/MS:

- Monitorizarea a cel puțin:

- doi ioni specifici pentru HRMS;
- doi ioni specifici de $m/z > 200$ sau trei ioni specifici de $m/z > 100$ pentru LRMS;
- 1 ion precursor și 2 ioni fiică pentru MS-MS.

- Toleranțele maxime admisibile pentru raportul valorilor izotopilor pentru fragmentele de masă selecționate:

Deviația relativă între raportul valorilor izotopilor pentru fragmentele de masă selecționate și valoarea teoretică a izotopilor sau etalonul de calibrare pentru ionul țintă (ionul monitorizat cu cea mai ridicată valoare a izotopilor) și ionul (ionii) calificativ(i):

Intensitatea relativă a ionului (ionilor) calificativ(i) în comparație cu ionul țintă	GC-EI-MS (deviație relativă)	GC-CI-MS, GC-MS ⁿ (deviație relativă)
> 50 %	$\pm 10\%$	$\pm 20\%$
> 20 %-50 %	$\pm 15\%$	$\pm 25\%$
> 10 %-20 %	$\pm 20\%$	$\pm 30\%$
$\leq 10\%$	$\pm 50\%$ (*)	$\pm 50\%$ (*)

(*) Disponibil un număr suficient de fragmente de masă cu intensitate relativă > 10 %, prin urmare nu este recomandabil să se folosească ion (ionii) calificativ(i) cu o intensitate relativă mai mică de 10 % față de ionul țintă.

- Pentru GC/ECD:

Confirmarea rezultatelor care depășesc limita de toleranță cu două coloane de GC cu fază staționară cu o polaritate diferită.

3. Demonstrarea performanței metodei

Validare în intervalul nivelului de interes (0,5 până la de 2 ori nivelul de interes), cu un coeficient de variație acceptabil pentru analiza repetată (a se vedea cerințele pentru precizia intermediară de la punctul 8).

4. Limita de cuantificare

Valorile-martor nu sunt mai mari de 30 % din nivelul contaminării care corespunde nivelului maxim ⁽¹⁾.

5. Controlul calității

Controale ale matorului, analiză a probelor îmbogățite, probe pentru controlul calității, participarea la studii inter-laboratoare pe matrice relevante, la intervale regulate.

⁽¹⁾ Este foarte recomandabil să existe o contribuție mai mică a nivelului reactivului-martor la nivelul unui contaminant dintr-o probă. Este responsabilitatea laboratorului să controleze variația nivelurilor-martor, în special în cazul în care nivelurile-martor se scad.

6. Controlul recuperărilor

- Utilizarea de standarde interne corespunzătoare, cu proprietăți fizico-chimice comparabile cu ale analiților de interes.
- Adăugarea de etaloane interne:
 - adăugare la produse (înaintea procesului de extracție și de curățare);
 - adăugare posibilă și pentru a extrage grăsimea (înainte de procesul de curățare), în cazul în care nivelul maxim este exprimat pe bază de grăsimi.
- Cerințele pentru metode care utilizează toți cei șase congeneri ai PCB-urilor indicatori marcați cu un izotop:
 - corecția rezultatelor în funcție de recuperări ale standardelor interne;
 - recuperările general acceptabile ale etaloanelor interne marcate cu un izotop sunt între 50 și 120 %;
 - recuperările inferioare sau superioare pentru congenerii individuali cu o contribuție la suma celor șase PCB-uri indicatori mai mică de 10 % sunt acceptabile.
- Cerințele pentru metode care nu utilizează toate cele șase etaloane interne marcate cu un izotop sau alte etaloane interne:
 - control al recuperării etalonului (etalanelor) intern(e) pentru fiecare probă;
 - recuperări acceptabile ale etalonului (etalanelor) intern(e) între 60 și 120 %;
 - corecția rezultatelor în funcție de recuperări ale standardelor interne.
- Recuperările congenerilor nemarcați se verifică prin probe îmbogățite sau probe pentru controlul calității cu concentrații în intervalul nivelului de interes. Recuperări acceptabile pentru acești congeneri sunt între 70 și 120 %.

7. Cerințe pentru laboratoare

În conformitate cu dispozițiile Regulamentului (CE) nr. 882/2004, laboratoarele sunt acreditate de un organism recunoscut care funcționează în conformitate cu Ghidul ISO 58, pentru a se asigura aplicarea de către acestea a procedurilor de asigurare a calității analizelor. Laboratoarele sunt acreditate conform standardului EN ISO/IEC 17025.

8. Caracteristici de performanță: Criterii pentru suma celor șase PCB-uri indicatori la nivelul de interes

Autenticitate	– 30 până la + 30 %
Precizie intermediară (RSD %)	≤ 20 %
Diferența dintre estimarea superioară și estimarea inferioară a calculului	≤ 20 %

9. Raportarea rezultatelor

- În măsura în care procedura analitică utilizată permite acest lucru, rezultatele analitice includ nivelurile de congeneri individuali din grupul PCB-urilor și sunt raportate ca estimare inferioară, estimare superioară și estimare mediană, pentru a include o cantitate maximă de informații în raportarea rezultatelor, ceea ce permite o interpretare a rezultatelor în conformitate cu cerințele specifice.
- Raportul include și metoda utilizată pentru extracția PCB-urilor și a lipidelor. Conținutul de lipide al probei se determină și se raportează pentru probe din produse alimentare cu niveluri maxime exprimate pe bază de grăsimi și o concentrație de grăsimi estimată în intervalul 0-2 % (în concordanță cu legislația existentă), iar pentru alte eșantioane determinarea conținutului de lipide este opțională.
- Recuperările etaloanelor interne individuale trebuie să fie disponibile în cazul în care recuperările se situează în afara intervalului menționat la punctul 6, în cazul în care nivelul maxim este depășit, iar în celelalte cazuri la cerere.
- Întrucât, atunci când se decide conformitatea unei probe, se ține seama de incertitudinea de măsurare, acest parametru este, de asemenea, pus la dispoziție. Prin urmare, rezultatele analitice se raportează ca $x \pm U$, unde x este rezultatul analitic, iar U este incertitudinea de măsurare extinsă folosind un factor de acoperire 2, care conferă un nivel de încredere de aproximativ 95 %.
- În cazul în care se ia în considerare incertitudinea de măsurare prin aplicarea CCa (astfel cum se descrie în anexa II, punctul IV. 1), acest parametru se raportează.
- Rezultatele se exprimă în aceleași unități și prin (cel puțin) același număr de cifre semnificative ca și nivelurile maxime menționate în Regulamentul (CE) nr. 1881/2006.