

KOMMISSIONENS FÖRORDNING (EU) 2017/644

av den 5 april 2017

om provtagnings- och analysmetoder för kontroll av halter av dioxiner, dioxinlika PCB och icke-dioxinlika PCB i vissa livsmedel och om upphävande av förordning (EU) nr 589/2014

(Text av betydelse för EES)

EUROPEISKA KOMMISSIONEN HAR ANTAGIT DENNA FÖRORDNING

med beaktande av fördraget om Europeiska unionens funktionssätt,

med beaktande av Europaparlamentets och rådets förordning (EG) nr 882/2004 av den 29 april 2004 om offentlig kontroll för att säkerställa kontrollen av efterlevnaden av foder- och livsmedelslagstiftningen samt bestämmelserna om djurhälsa och djurskydd ⁽¹⁾, särskilt artikel 11.4, och

av följande skäl:

- (1) I kommissionens förordning (EG) nr 1881/2006 ⁽²⁾ fastställs gränsvärden för icke-dioxinlika polyklorerade bifenyler (PCB), dioxiner och furaner samt för summan av dioxiner, furaner och dioxinlika PCB i vissa livsmedel.
- (2) I kommissionens rekommendation 2013/711/EU ⁽³⁾ fastställs åtgärdsgränser för att uppmuntra till en proaktiv hållning i syfte att minska förekomsten av polyklorerade dibenso-para-dioxiner och polyklorerade dibensofuraner (PCDD/F) samt dioxinlika PCB i livsmedel. Med hjälp av dessa åtgärdsgränser kan behöriga myndigheter och aktörer lyfta fram de fall där det är lämpligt att identifiera en föroreningskälla och vidta nödvändiga åtgärder för att minska eller eliminera den.
- (3) I kommissionens förordning (EU) nr 589/2014 ⁽⁴⁾ fastställs särskilda bestämmelser för de provtagningsförfaranden och analysmetoder som ska tillämpas vid den offentliga kontrollen av halter av dioxiner, dioxinlika PCB och icke-dioxinlika PCB.
- (4) Bestämmelserna i den förordningen gäller endast provtagning och analys av dioxiner, dioxinlika PCB och icke-dioxinlika PCB vid tillämpning av förordning (EG) nr 1881/2006 och rekommendation 2013/711/EU. De påverkar inte de regler för provtagning samt provtagningarnas omfattning och frekvens som anges i bilagorna III och IV till rådets direktiv 96/23/EG ⁽⁵⁾. De påverkar inte heller urvalskriterierna för provtagning i kommissionens beslut 98/179/EG ⁽⁶⁾.
- (5) Det bör säkerställas att de livsmedelsföretagare som genomför kontroller enligt artikel 4 i Europaparlamentets och rådets förordning (EG) nr 852/2004 ⁽⁷⁾ tillämpar provtagningsförfaranden som motsvarar dem som föreskrivs i den här förordningen för att säkerställa att prover som tas för dessa kontroller är representativa. Europeiska unionens referenslaboratorium för dioxiner och PCB har visat att analysresultaten i vissa fall inte är tillförlitliga när prestandakriterierna i denna förordning inte har tillämpats av de laboratorier som analyserar prover som livsmedelsföretagare tagit enligt artikel 4 i förordning (EG) nr 852/2004. Tillämpningen av prestandakriterierna bör därför också vara obligatorisk vid analys av dessa prover.

⁽¹⁾ EUT L 165, 30.4.2004, s. 1.

⁽²⁾ Kommissionens förordning (EG) nr 1881/2006 av den 19 december 2006 om fastställande av gränsvärden för vissa främmande ämnen i livsmedel (EUT L 364, 20.12.2006, s. 5).

⁽³⁾ Kommissionens rekommendation 2013/711/EU av den 3 december 2013 om minskning av dioxiner, furaner och PCB i foder och livsmedel (EUT L 323, 4.12.2013, s. 37).

⁽⁴⁾ Kommissionens förordning (EU) nr 589/2014 av den 2 juni 2014 om provtagnings- och analysmetoder för kontroll av halter av dioxiner, dioxinlika PCB och icke-dioxinlika PCB i vissa livsmedel och om upphävande av förordning (EU) nr 252/2012 (EUT L 164, 3.6.2014, s. 18).

⁽⁵⁾ Rådets direktiv 96/23/EG av den 29 april 1996 om införande av kontrollåtgärder för vissa ämnen och rests substanser av dessa i levande djur och i produkter framställda därav och om upphävande av direktiv 85/358/EEG och 86/469/EEG samt beslut 89/187/EEG och 91/664/EEG (EGT L 125, 23.5.1996, s. 10).

⁽⁶⁾ Kommissionens beslut 98/179/EG av den 23 februari 1998 om fastställande av tillämpningsföreskrifter avseende officiell provtagning för kontroll av vissa ämnen och resthalter av dessa i levande djur och animaliska produkter (EGT L 65, 5.3.1998, s. 31).

⁽⁷⁾ Europaparlamentets och rådets förordning (EG) nr 852/2004 av den 29 april 2004 om livsmedelshygien (EUT L 139, 30.4.2004, s. 1).

- (6) Eftersom förfaringssättet med en beslutsgräns för att säkerställa att ett analysresultat överstiger gränsvärdet med en viss sannolikhet, enligt kommissionens beslut 2002/657/EG ⁽¹⁾, inte längre används vid analys av dioxiner och PCB i livsmedel, bör detta förfaringssätt strykas och endast förfaringssättet med den utvidgade mätosäkerheten beräknad med en täckningsfaktor på 2, vilket ger en konfidensgrad på cirka 95 %, bör kvarstå.
- (7) I linje med rapporteringskraven för bioanalytiska screeningmetoder bör det också fastställas särskilda rapporteringskrav för de fysikalisk-kemiska metoder som används vid screening.
- (8) Eftersom dioxiner, dioxinlika PCB och icke-dioxinlika PCB i de flesta fall analyseras samtidigt bör prestandakriterierna för icke-dioxinlika PCB anpassas till prestandakriterierna för dioxiner och dioxinlika PCB. Detta är en förenkling som inte innebär några större praktiska förändringar eftersom det för icke-dioxinlika PCB gäller att konfirmeringsjonernas relativa intensitet jämfört med måljonernas är större än 50 %.
- (9) Dessutom föreslås flera andra mindre ändringar av de nuvarande bestämmelserna, vilket innebär att förordning (EU) nr 589/2014 måste upphävas och ersättas med en ny förordning för att bibehålla textens läsbarhet.
- (10) De åtgärder som föreskrivs i denna förordning är förenliga med yttrandet från ständiga kommittén för växter, djur, livsmedel och foder.

HÄRIGENOM FÖRESKRIVS FÖLJANDE.

Artikel 1

I denna förordning gäller de definitioner och förkortningar som anges i bilaga I.

Artikel 2

Provtagning för offentlig kontroll av halter av dioxiner, furaner, dioxinlika PCB och icke-dioxinlika PCB i de livsmedel som förtecknas i avsnitt 5 i bilagan till förordning (EG) nr 1881/2006 ska utföras i enlighet med metoderna i bilaga II till den här förordningen.

Artikel 3

Beredning och analys av prover för kontroll av halter av dioxiner, furaner och dioxinlika PCB i de livsmedel som förtecknas i avsnitt 5 i bilagan till förordning (EG) nr 1881/2006 ska utföras i enlighet med metoderna i bilaga III till den här förordningen.

Artikel 4

Analys för kontroll av halter av icke-dioxinlika PCB i de livsmedel som förtecknas i avsnitt 5 i bilagan till förordning (EG) nr 1881/2006 ska utföras i enlighet med kraven för analysmetoder i bilaga IV till den här förordningen.

Artikel 5

Förordning (EU) nr 589/2014 ska upphöra att gälla.

Hänvisningar till den upphävda förordningen ska anses som hänvisningar till den här förordningen.

⁽¹⁾ Kommissionens beslut 2002/657/EG av den 14 augusti 2002 om genomförande av rådets direktiv 96/23/EG avseende analysmetoder och tolkning av resultat (EGT L 221, 17.8.2002, s. 8).

Artikel 6

Denna förordning träder i kraft den tjugonde dagen efter det att den har offentliggjorts i *Europeiska unionens officiella tidning*.

Denna förordning är till alla delar bindande och direkt tillämplig i alla medlemsstater.

Utfärdad i Bryssel den 5 april 2017.

På kommissionens vägnar
Jean-Claude JUNCKER
Ordförande

BILAGA I

DEFINITIONER OCH FÖRKORTNINGAR

I. DEFINITIONER

I denna förordning ska definitionerna i bilaga I till beslut 2002/657/EG gälla.

Dessutom gäller följande definitioner:

- 1.1 *åtgärdsgräns*: den halt av ett visst ämne, enligt bilagan till rekommendation 2013/711/EU, som leder till att undersökningar för att identifiera källan till ämnet inleds när det påvisas förhöjda halter av ämnet.
- 1.2 *screeningmetoder*: metoder för att påvisa prover med halter av PCDD/F och dioxinlika PCB som överskrider gränsvärdena eller åtgärdsgränserna. De ska ge en kostnadseffektiv och hög analyskapacitet och därigenom öka möjligheterna att upptäcka nya incidenter med hög exponering som kan medföra hälsorisker för konsumenterna. Screeningmetoder ska baseras på bioanalytiska metoder eller GC-MS-metoder. Provresultat som överskrider den fastställda brytpunkten vid kontroll av överensstämmelsen med gränsvärdet ska kontrolleras genom en fullständig ny analys av det ursprungliga provet med en konfirmeringsmetod.
- 1.3 *konfirmeringsmetoder*: metoder för att få fram fullständig eller kompletterande information som möjliggör en entydig identifiering och kvantifiering av PCDD/F och dioxinlika PCB vid gränsvärdet, eller vid behov vid åtgärdsgränsen. Sådana metoder bygger på gaskromatografi i kombination med högupplösande masspektrometri (GC-HRMS) eller gaskromatografi i kombination med tandem-masspektrometri (GC-MS/MS).
- 1.4 *bioanalytiska metoder*: metoder som bygger på biologiska principer såsom cellbaserade metoder, receptorbaserade metoder eller immunologiska metoder. Dessa metoder ger inte resultat på kongennivå utan endast en indikation⁽¹⁾ på TEQ-värdet, uttryckt som bioanalytiska ekvivalenter (BEQ), på grund av att det i ett provextrakt även kan finnas föreningar som ger en respons i analysen men som inte uppfyller TEQ-principens alla krav.
- 1.5 *skenbart utbyte för bioassay*: det BEQ-värde som beräknas utifrån kalibreringskurvan för TCDD eller PCB 126, korrigeras för blank och delas därefter med det TEQ-värde som fastställts med konfirmeringsmetoden. Syftet är att korrigera för faktorer som till exempel förlusten av PCDD/F och dioxinlika föreningar under extraktions- och upprepningsstegen, föreningar som extraherats samtidigt och ökar eller minskar resultatet (agonistiska och antagonistiska effekter), kvaliteten på kurvpassningen eller skillnader mellan TEF-värden och REP-värden. Det skenbara utbytet för bioassay beräknas utifrån lämpliga referensprover med representativa kongenmönster kring gränsvärdet eller åtgärdsgränsen.
- 1.6 *analys av dubbelprover*: en separat analys av de givna analyterna med användning av en andra alikvot från samma homogeniserade prov.
- 1.7 *den accepterade särskilda kvantifieringsgränsen⁽²⁾ för en enskild kongen i ett prov*: den lägsta analythalten som med rimlig statistisk säkerhet kan mätas och som uppfyller de identifieringskriterier som beskrivs i internationellt erkända standarder, t.ex. standarden EN 16215:2012 (*Djurfoder – Bestämning av dioxiner och dioxinlika PCB:er med GC/HRMS och av indikator-PCB:er med GC/HRMS*) och/eller i EPA-metoderna 1613 och 1668, med senare revideringar.

Kvantifieringsgränsen för en enskild kongen kan identifieras

- a) som den koncentration av en analyt i ett provextrakt som ger en instrumentrespons för de två skilda joner som ska övervakas, med ett S/N-förhållande (signal-brusförhållande) på 3:1 för den mindre känsliga rådatasignalen,

⁽¹⁾ Bioanalytiska metoder är inte specifika för de kongener som ingår i TEF-systemet. Även andra strukturellt besläktade föreningar som aktiverar Ah-receptorn kan förekomma i provextraktet och därigenom bidra till den totala responsen. Bioanalytiska resultat kan därför inte vara en uppskattning av, utan snarare en indikation på TEQ-värdet i provet

⁽²⁾ Bioanalytiska metoder är inte specifika för de kongener som ingår i TEF-systemet. Även andra strukturellt besläktade föreningar som aktiverar Ah-receptorn kan förekomma i provextraktet och därigenom bidra till den totala responsen. Bioanalytiska resultat kan därför inte vara en uppskattning av, utan snarare en indikation på TEQ-värdet i provet.

eller, om beräkningen av signal-brusförhållandet på grund av tekniska skäl inte ger tillförlitliga resultat,

b) som den lägsta koncentrationen på en kalibreringskurva som ger en godtagbar (≤ 30 %) och konsekvent (uppmätt åtminstone i början och slutet av en provserie) avvikelse till den genomsnittliga relativa responsfaktorn som beräknats för alla punkter på kalibreringskurvan för varje provserie⁽¹⁾.

- 1.8 *övre koncentration*: det begrepp som kräver användning av kvantifieringsgränsen för bidraget från varje icke-kvantifierad kongen.
- 1.9 *lägre koncentration*: det begrepp som kräver användning av noll för bidraget från varje icke-kvantifierad kongen.
- 1.10 *mellanvärde*: det begrepp som kräver användning av halva kvantifieringsgränsen vid beräkning av bidraget från varje icke-kvantifierad kongen.
- 1.11 *parti*: en identifierbar mängd livsmedel från en och samma leverans som vid offentlig kontroll uppvisar samma egenskaper, exempelvis i fråga om ursprung, sort, emballeringsmetod, förpackare, avsändare eller märkning. När det gäller fisk och fiskeriprodukter, ska även fiskarnas storlek vara jämförbar. Om fiskarnas storlek och/eller vikt inte är jämförbara inom en sändning får sändningen visserligen betraktas som ett och samma parti, men ett särskilt provtagningsförfarande måste tillämpas.
- 1.12 *delparti*: en viss del som ingår i ett större parti och på vilken provtagningsmetoden ska tillämpas. Varje delparti ska hållas fysiskt åtskilt och vara identifierbart.
- 1.13 *delprov*: en viss mängd material som tagits från ett och samma ställe i partiet eller delpartiet.
- 1.14 *samlingsprov*: sammanläggningen av alla delprover som tagits ur partiet eller delpartiet.
- 1.15 *laboratorieprov*: en representativ del/mängd av det samlingsprov som är avsett för laboratoriet.

II. FÖRKORTNINGAR

BEQ	Bioanalytiska ekvivalenter
GC	Gaskromatografi
HRMS	Högupplösande masspektrometri
LRMS	Lågupplösande masspektrometri
MS/MS	Tandem-masspektrometri
PCB	Polyklorerad bifenyl
Icke-dioxinlika PCB	PCB 28, PCB 52, PCB 101, PCB 138, PCB 153 och PCB 180
PCDD	Polyklorerade dibenso-p-dioxiner
PCDF	Polyklorerade dibensofuraner
QC	Kvalitetskontroll
REP	Relativ potensfaktor
TEF	Toxicitetsekvivalensfaktor
TEQ	Toxicitetsekvivalent
TCDD	2,3,7,8-Tetraklordibenso-p-dioxin
U	Utvidgad mätosäkerhet

⁽¹⁾ LOQ beräknas från den lägsta koncentrationen punkten med hänsyn till återvinning av interna standarder och prov intag.

BILAGA II

PROVTAGNINGSMETODER FÖR OFFENTLIG KONTROLL AV HALTER AV DIOXINER (PCDD/F), DIOXINLIKA PCB OCH ICKE-DIOXINLIKA PCB I VISSA LIVSMEDEL

I. TILLÄMPNINGSOMRÅDE

Provtagning för offentlig kontroll av halter av dioxiner (nedan kallade PCDD/F), dioxinlika PCB och icke-dioxinlika PCB i livsmedel ska utföras enligt metoderna i denna bilaga. De samlingsprover som man då erhåller ska betraktas som representativa för de partier eller delpartier från vilka de tas. De halter som bestäms i laboratorieproverna ska ligga till grund för bedömningen av om proverna överensstämmer med gränsvärdena enligt förordning (EG) nr 1881/2006.

För att säkerställa överensstämmelse med bestämmelserna i artikel 4 i förordning (EG) nr 852/2004 ska livsmedelsföretagare vid kontroll av halterna av PCDD/F, dioxinlika PCB och icke-dioxinlika PCB ta prover enligt de metoder som beskrivs i kapitel III i denna bilaga eller använda ett likvärdigt provtagningsförfarande som har visats ha samma representationsnivå som det provtagningsförfarande som beskrivs i kapitel III i denna bilaga.

II. ALLMÄNNA BESTÄMMELSER

1. Personal

Officiell provtagning ska utföras av en behörig person som utsetts för detta av medlemsstaten.

2. Provtagningsmaterial

Varje parti eller delparti som ska analyseras ska provtas separat.

3. Försiktighetsåtgärder

Under provtagningen och provberedningen ska åtgärder vidtas för att undvika förändringar som kan påverka halten av PCDD/F och PCB samt negativt påverka den analytiska bestämningen eller samlingsprovernas representativitet.

4. Delprover

Så långt det är möjligt ska delprover tas från olika ställen i partiet eller delpartiet. Avvikelser från detta förfarande ska noteras i det protokoll som avses i punkt II.8.

5. Beredning av samlingsprov

Samplingsprovet erhålls genom att delproverna blandas. Samplingsprovet ska väga minst 1 kg, utom när detta är praktiskt omöjligt, t.ex. när endast en förpackning har provtagits eller när produkten har ett mycket högt kommersiellt värde.

6. Replikatprover

Replikatprover för offentlig tillsyn, överklagande och referensändamål ska tas från det homogeniserade samlingsprovet, såvida detta inte strider mot en medlemsstats bestämmelser om livsmedelsföretagarens rättigheter. Laboratorieproverna för tillsynsåtgärder ska vara så stora att de räcker till åtminstone analys av dubbelprover.

7. Emballering och transport av prover

Varje prov ska placeras i en ren behållare av inaktivt material som ger tillräckligt skydd mot föroreningar, förlust av analyter genom adsorption till behållarens innervägg och skador under transporten. Alla nödvändiga åtgärder ska vidtas för att undvika att provets sammansättning förändras under transport eller lagring.

8. Försegling och märkning av prover

Varje prov som tas för offentlig kontroll ska förseglas på provtagningsstället och identifieras i enlighet med medlemsstaternas regler.

För varje provtagning ska ett protokoll upprättas som gör det möjligt att entydigt identifiera varje parti. I protokollet ska datum och provtagningsplats anges samt eventuell ytterligare information som kan vara till hjälp för den som utför analysen.

III. PROVTAGNINGSPLAN

Genom den provtagningsmetod som tillämpas ska det säkerställas att samlingsprovet är representativt för det parti eller delparti som ska kontrolleras.

1. Uppdelning i delpartier

Stora partier ska delas upp i delpartier förutsatt att delpartierna kan avskiljas fysiskt från varandra. För produkter som säljs som stora bulksändningar (t.ex. vegetabiliska oljor) ska tabell 1 tillämpas. För övriga produkter ska tabell 2 tillämpas. Eftersom partiets vikt inte alltid är en exakt multipel av delpartiernas vikt får delpartiets vikt överskrida den angivna vikten med högst 20 %.

Tabell 1

Uppdelning i delpartier för produkter som säljs som bulksändningar

Partiets vikt (i ton)	Delpartiernas vikt eller antal
≥ 1 500	500 ton
> 300 och < 1 500	3 delpartier
≥ 50 och ≤ 300	100 ton
< 50	—

Tabell 2

Uppdelning i delpartier för övriga produkter

Partiets vikt (i ton)	Delpartiernas vikt eller antal
≥ 15	15–30 ton
< 15	—

2. Antal delprover

Samlingsprovet som är en blandning av alla delprover ska väga minst 1 kg (se punkt II.5).

Det minsta antalet delprover som ska tas från partiet eller delpartiet anges i tabellerna 3 och 4.

När det gäller bulkprodukter i flytande form ska partiet eller delpartiet omedelbart före provtagningen blandas så noggrant som möjligt manuellt eller maskinellt, förutsatt att produktens kvalitet inte påverkas. Eventuella främmande ämnen antas då vara jämnt fördelade inom ett givet parti eller delparti. Tre delprover från ett parti eller delparti räcker därför för att bilda ett samlingsprov.

Delproverna ska ha i stort sett samma vikt. Ett delprov ska väga minst 100 g.

Avvikelse från detta förfarande ska noteras i det protokoll som avses i punkt II.8 i denna bilaga. I enlighet med kommissionens beslut 97/747/EG ⁽¹⁾ ska storleken på samlingsprovet för hönsägg vara minst 12 ägg (både för bulkpartier och för partier som består av enskilda förpackningar ska tabellerna 3 och 4 tillämpas).

Tabell 3

Minsta antal delprover som ska tas från ett parti eller delparti

Partiets/delpartiets vikt eller volym (i kg eller liter)	Minsta antal delprover som ska tas
< 50	3
50 till 500	5
> 500	10

Om partiet eller delpartiet består av enskilda förpackningar eller enheter anges i tabell 4 det antal förpackningar eller enheter som ska tas för att bilda ett samlingsprov.

Tabell 4

Antal förpackningar eller enheter (delprover) som ska tas för att bilda ett samlingsprov om partiet eller delpartiet består av enskilda förpackningar eller enheter

Antal förpackningar eller enheter i partiet/delpartiet	Antal förpackningar eller enheter som ska tas
1 till 25	minst 1 förpackning eller enhet
26 till 100	ca 5 %, minst 2 förpackningar eller enheter
> 100	ca 5 %, högst 10 förpackningar eller enheter

3. Särskilda bestämmelser för provtagning av partier som innehåller hela fiskar av jämförbar storlek och vikt

Fiskar ska anses ha jämförbar storlek och vikt om skillnaden i storlek och vikt inte överskrider ca 50 %.

Det antal delprover som ska tas från partiet anges i tabell 3. Samlingsprovet som är en blandning av alla delprover ska väga minst 1 kg (se punkt II.5).

— Om provtagningspartiet innehåller små fiskar (där varje enskild fisk väger under ca 1 kg), ska hela fisken utgöra ett delprov som bildar samlingsprovet. Om det samlingsprov som då fås fram väger mer än 3 kg, kan delproverna bestå av mittpartiet, som vart och ett ska väga minst 100 g, av de fiskar som bildar samlingsprovet. Hela den del på vilken gränsvärdet är tillämpligt ska användas vid homogenisering av provet.

Fiskens mittparti är där dess tyngdpunkt ligger, i de flesta fall vid ryggfenan (om fisken har en ryggfena) eller mitt emellan gälöppningen och anus.

— Om provtagningspartiet innehåller större fiskar (där varje enskild fisk väger över ca 1 kg), ska delprovet bestå av fiskens mittparti. Varje delprov ska väga minst 100 g.

För fiskar av medelstorlek (ca 1–6 kg) ska delprovet bestå av ett stycke av fiskens mittparti som tas som ett tvärsnitt från ryggbenet till buken.

⁽¹⁾ Kommissionens beslut 97/747/EG av den 27 oktober 1997 om fastställande av omfattning och frekvens av provtagningar som föreskrivs i rådets direktiv 96/23/EG för kontroll av vissa ämnen och restsubstanser av dessa i vissa animaliska produkter (EGT L 303, 6.11.1997, s. 12).

För mycket stora fiskar (t.ex. över ca 6 kg) ska delprovet tas av dorsolateralt muskelkött på högra sidan (framifrån sett) i fiskens mittparti. Om uttagning av ett sådant stycke ur fiskens mittparti skulle medföra betydande ekonomisk skada kan det betraktas som tillräckligt att ta tre delprover på minst 350 g var oberoende av partiets storlek, eller också kan en lika stor del av muskelköttet nära fiskens stjärtparti och muskelköttet nära dess huvudparti betraktas som ett delprov som är representativt för dioxinhalten i hela fisken.

4. Provtagning av fiskpartier som innehåller hela fiskar av olika storlek och/eller vikt

- Bestämmelserna i punkt III.3 om provernas sammansättning ska tillämpas.
- Om en viss storleks- eller viktkategori överväger (ca 80 % eller mer av partiet) ska provet tas från fiskar som har den storlek eller vikt som överväger. Detta prov ska betraktas som representativt för hela partiet.
- Om ingen särskild storleks- eller viktkategori överväger, ska det säkerställas att de fiskar som väljs ut för provet är representativa för partiet. Särskilda anvisningar för sådana fall finns i *Guidance on sampling of whole fishes of different size and/or weight* ⁽²⁾.

5. Provtagning i detaljhandelsledet

Provtagning av livsmedel i detaljhandelsledet ska om möjligt göras enligt bestämmelserna för provtagning i punkt III.2.

Om detta inte är möjligt får en alternativ provtagningsmetod användas i detaljhandelsledet, förutsatt att den garanterar att det provtagna partiet eller delpartiet är tillräckligt representativt.

IV. PARTIETS ÖVERENSSTÄMMELSE MED SPECIFIKATIONEN

1. Icke-dioxinlika PCB

Partiet är överensstämmande om analysresultatet för summan av icke-dioxinlika PCB inte överskrider respektive gränsvärde enligt förordning (EG) nr 1881/2006 med beaktande av den utvidgade mätosäkerheten ⁽³⁾.

Partiet är icke-överensstämmande med gränsvärdet enligt förordning (EG) nr 1881/2006 om det är ställt utom rimligt tvivel att medelvärdet av två analysresultat avseende den övre koncentrationen fastställda genom analys av dubbelprover ⁽⁴⁾ överskrider gränsvärdet med beaktande av den utvidgade mätosäkerheten.

Den utvidgade mätosäkerheten beräknas med en täckningsfaktor på 2 som ger en konfidensnivå på ca 95 %. Ett parti är icke-överensstämmande om medelvärdet av de uppmätta värdena minus den utvidgade mätosäkerheten för medelvärdet är högre än det fastställda gränsvärdet.

De bestämmelser som nämns i denna punkt ska tillämpas på de analysresultat som erhålls vid provtagning för offentlig kontroll. När det gäller analys för överklagande eller referensändamål gäller nationella regler.

2. Dioxiner (PCDD/F) och dioxinlika PCB

Partiet är överensstämmande i följande fall:

- En enda analys med en screeningmetod för vilken andelen prover som felaktigt bedömts överensstämma med gränsvärdet är lägre än 5 % ger ett resultat som visar att halten inte överskrider respektive gränsvärde för PCDD/F och för summan av PCDD/F och dioxinlika PCB enligt förordning (EG) nr 1881/2006.

⁽²⁾ https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/safety/docs/cs_contaminants_catalogue_dioxins_guidance-sampling_exemples-dec2006_en.pdf

⁽³⁾ Principerna i vägledningen *Guidance Document on Measurement Uncertainty for Laboratories performing PCDD/F and PCB Analysis using Isotope Dilution Mass Spectrometry* [länk till webbplats] ska följas i tillämpliga fall.

⁽⁴⁾ Det är nödvändigt att analysera dubbelprover om resultatet från den första bestämningen är icke-överensstämmande. Analys av dubbelprover behövs för att utesluta möjligheten av intern korskontamination eller oavsiktlig hopblandning av prover. När analysen utförs till följd av en föroreningsincident behöver resultatet inte konfirmeras genom analys av dubbelprover om de prover som valts ut för analys kan spåras till föroreningsincidenten och den uppmätta halten är betydligt över gränsvärdet.

— En enda analys med en konfirmeringsmetod ger ett resultat som inte överskrider respektive gränsvärde för PCDD/F och för summan av PCDD/F och dioxinlika PCB enligt förordning (EG) nr 1881/2006, med beaktande av den utvidgade mätosäkerheten ⁽⁵⁾.

För screeninganalyser ska en brytpunkt fastställas vad gäller bedömningen av överensstämmelse med respektive gränsvärde för PCDD/F och för summan av PCDD/F och dioxinlika PCB.

Partiet är icke-överensstämmande med gränsvärdet enligt förordning (EG) nr 1881/2006 om det är ställt utom rimligt tvivel att medelvärdet av två analysresultat avseende den övre koncentrationen fastställda genom analys av dubbelprover ⁽⁶⁾ med en konfirmeringsmetod överskrider gränsvärdet med beaktande av den utvidgade mätosäkerheten.

Den utvidgade mätosäkerheten beräknas med en täckningsfaktor på 2 som ger en konfidensgrad på ca 95 %. Ett parti är icke-överensstämmande om medelvärdet av de uppmätta värdena minus den utvidgade mätosäkerheten för medelvärdet är högre än det fastställda gränsvärdet.

Summan av den skattade utvidgade mätosäkerheten för de enskilda analysresultaten för PCDD/F och dioxinlika PCB ska användas när man anger den skattade utvidgade mätosäkerheten för summan av PCDD/F och dioxinlika PCB.

De bestämmelser som nämns i denna punkt ska tillämpas på de analysresultat som erhålls vid provtagning för offentlig kontroll. När det gäller analys för överklagande eller referensändamål gäller nationella regler.

V. ÖVERSKRIDANDE AV ÅTGÄRDSGRÄNSER

Åtgärdsgränserna fungerar som ett redskap för provurval i de fall där det är lämpligt att identifiera en föroreningskälla och att vidta åtgärder för att minska eller eliminera den. Screeningmetoderna ska fastställa lämpliga brytpunkter för urvalet av dessa prover. Om det behövs betydande insatser för att identifiera en föroreningskälla och minska eller eliminera föroreningen kan det vara lämpligt att bekräfta om åtgärdsgränsen överskridits genom att analysera dubbelprover med en konfirmeringsmetod, med beaktande av den utvidgade mätosäkerheten ⁽⁷⁾.

⁽⁵⁾ *Guidance Document on Measurement Uncertainty for Laboratories performing PCDD/F and PCB Analysis using Isotope Dilution Mass Spectrometry* [länk till webbplats] och *Guidance Document on the Estimation of LOD and LOQ for Measurements in the Field of Contaminants in Feed and Food* [länk till webbplats].

⁽⁶⁾ Analys av dubbelprover behövs om resultatet från den första bestämningen genom konfirmeringsmetoder med ¹³C-märkt intern standard för de relevanta analyterna inte är överensstämmande. Analys av dubbelprover behövs för att utesluta möjligheten av intern korskontamination eller oavsiktlig hopblandning av prover. När analysen utförs till följd av en föroreningsincident behöver resultatet inte konfirmeras genom analys av dubbelprover om de prover som valts ut för analys kan spåras till föroreningsincidenten och den uppmätta halten är betydligt över gränsvärdet.

⁽⁷⁾ Samma förklaring och krav avseende analys av dubbelprover gäller för kontroll av åtgärdsgränser som för gränsvärden i fotnot 6.

BILAGA III

PROVBEREDNING OCH KRAV FÖR ANALYSMETODER FÖR KONTROLL AV HALTER AV DIOXINER (PCDD/F) OCH DIOXINLIKA PCB I VISSA LIVSMEDEL

1. TILLÄMPNINGSSOMRÅDE

Kraven i denna bilaga ska tillämpas när livsmedel analyseras för offentlig kontroll av halterna av 2,3,7,8-substituerade polyklorerade dibenso-p-dioxiner och polyklorerade dibensofuraner (PCDD/F) samt av dioxinlika polyklorerade bifenylter (nedan kallade *dioxinlika PCB*) och när det gäller provberedning och analyskrav för andra lagstadgade ändamål, inbegripet livsmedelsföretagarens kontroller för att säkerställa överensstämmelse med bestämmelserna i artikel 4 i förordning (EG) nr 852/2004.

Övervakningen av förekomsten av PCDD/F och dioxinlika PCB i livsmedel kan utföras med två olika typer av analysmetoder:

a) *Screeningmetoder*

Syftet med screeningmetoder är att påvisa prover med halter av PCDD/F och dioxinlika PCB som överskrider gränsvärdena eller åtgärdsgränserna. Screeningmetoder ska säkerställa en kostnadseffektiv och hög analyskapacitet och därigenom öka möjligheterna att upptäcka nya incidenter med hög exponering som kan medföra hälsorisker för konsumenterna. När dessa metoder används ska man sträva efter att undvika resultat som felaktigt bedömts vara överensstämmande. De kan bland annat bestå av bioanalytiska metoder och GC-MS-metoder.

Screeningmetoder jämför analysresultatet med en brytpunkt och ger ett ja/nej-svar för bedömning av om gränsvärdet eller åtgärdsgränsen eventuellt har överskridits. Koncentrationen av PCDD/F och summan av PCDD/F och dioxinlika PCB i prover som misstänks vara icke-överensstämmande med gränsvärdet måste bestämmas eller bekräftas med en konfirmeringsmetod.

Screeningmetoder kan dessutom ge en indikation på de halter av de PCDD/F och dioxinlika PCB som förekommer i provet. Om bioanalytiska screeningmetoder används ska resultatet uttryckas som bioanalytiska ekvivalenter (BEQ), medan om fysikalisk-kemiska GC-MS-metoder används ska resultatet uttryckas som toxicitetskvivalenter (TEQ). Screeningmetodens resultat i form av numeriska värden är lämpliga för att visa att proverna är överensstämmande eller misstänkt icke-överensstämmande eller att åtgärdsgränserna överskridits, och för att ge en indikation på koncentrationsintervallet om proverna behöver följas upp med konfirmeringsmetoder. Däremot är de inte lämpliga för utvärdering av bakgrundshalter, uppskattning av intag, uppföljning av tidstrender avseende halter eller omprövning av åtgärdsgränser och gränsvärden.

b) *Konfirmeringsmetoder*

Konfirmeringsmetoder möjliggör en entydig identifiering och kvantifiering av de PCDD/F och dioxinlika PCB som förekommer i ett prov och ger fullständig information om kongenerna. Dessa metoder möjliggör därför kontroll av gränsvärden och åtgärdsgränser, inklusive konfirmering av de resultat som erhållits med screeningmetoder. Dessutom kan resultaten användas för andra ändamål, t.ex. bestämning av låga bakgrundshalter vid livsmedelskontroll, uppföljning av tidstrender, bedömning av befolkningens exponering samt för att bygga upp en databas för eventuell omprövning av åtgärdsgränser och gränsvärden. De är också viktiga för att fastställa kongenmönster så att källan till en eventuell förorening kan identifieras. Sådana metoder bygger på GC-HRMS. För att bekräfta överensstämmelse eller icke-överensstämmelse med gränsvärdet kan även GC-MS/MS användas.

2. BAKGRUND

För att beräkna den totala koncentrationen av dioxinlika föreningar i ett prov, den så kallade toxicitetskvivalenten (TEQ), ska varje enskilt ämnes koncentration i ett givet prov multipliceras med respektive ämnes toxicitetskvivalensfaktor (TEF) och därefter adderas. TEF-värdena har fastställts av WHO och förtecknas i tillägget till denna bilaga.

Screeningmetoder och konfirmeringsmetoder får endast användas för kontroll av en viss matris om metoderna har tillräckligt hög känslighet för att på ett tillförlitligt sätt påvisa halter vid gränsvärdet eller åtgärdsgränsen.

3. KRAV FÖR KVALITETSSÄKRING

- Åtgärder ska vidtas för att undvika korskontaminering under alla moment vid provtagning och analys.
- Proverna ska lagras och transporteras i behållare av glas, aluminium, polypropen eller polyeten som är lämpade för lagring och inte påverkar de halter av PCDD/F och dioxinlika PCB som finns i proverna. Spår av pappersdamm ska avlägsnas från provbehållaren.
- Proverna ska lagras och transporteras på ett sådant sätt att livsmedelsprovet bibehålls i oförändrat tillstånd.
- Varje laboratorieprov ska vid behov finnas och blandas omsorgsfullt enligt en metod som garanterar fullständig homogenisering (t.ex. så att de passerar en 1 mm sikt). Om vattenhalten är för hög ska proverna torkas innan de mals.
- Det är viktigt att kontrollera reagenser, glasvaror och utrustning för om de eventuellt kan påverka de TEQ- eller BEQ-baserade resultaten.
- En analys av ett blankprov ska göras genom att man utför hela analysen men utelämnar provet.
- För bioanalytiska metoder är det mycket viktigt att alla glasvaror och lösningsmedel som används analyseras för att garantera att de är fria från ämnen som kan störa påvisandet av målföreningar i mätområdet. Glasvaror ska sköljas med lösningsmedel eller/och upphettas till de temperaturer som krävs för att avlägsna spår av PCDD/F, dioxinlika föreningar och störande föreningar från dess yta.
- Det prov som extraheras ska vara tillräckligt stort för att uppfylla kraven vad gäller ett tillräckligt lågt mätområde som inkluderar gränsvärden eller åtgärdsgränser.
- De särskilda provberedningsförfaranden som används för de givna produkterna ska följa internationellt accepterade riktlinjer.
- När det gäller fisk ska skinnet avlägsnas eftersom gränsvärdet avser muskelkött utan skinn. Allt muskelkött och all fettvävnad som finns kvar på insidan av skinnet måste dock noggrant och fullständigt skrapas loss från skinnet och tas med i det prov som ska analyseras.

4. KRAV FÖR LABORATORIER

- I enlighet med förordning (EG) nr 882/2004 ska laboratorierna ackrediteras av ett godkänt ackrediteringsorgan som verkar enligt ISO Guide 58 för att säkerställa att de tillämpar ett system för kvalitetssäkring av analysverksamheten. Laboratorierna ska ackrediteras enligt standarden EN ISO/IEC 17025. Principerna i de tekniska vägledningarna om uppskattning av mätosäkerhet och kvantifieringsgränser vid analys av PCDD/F och PCB ska följas i tillämpliga fall ⁽¹⁾.
- Laborariekompetensen ska bevisas genom fortlöpande medverkan i provningsjämförelser för bestämning av halten av PCDD/F och dioxinlika PCB i relevanta livsmedelsmatriser och koncentrationsintervall.
- Laboratorier som använder screeningmetoder vid rutinkontroll av prover ska ha ett nära samarbete med laboratorier som använder konfirmeringsmetoden, både för kvalitetskontroll och för att konfirmera analysresultatet för misstänkta prover.

5. GRUNDLÄGGANDE KRAV FÖR ANALYSMETODER FÖR DIOXINER (PCDD/F) OCH DIOXINLIKA PCB

5.1 Lågt mätområde och låga kvantifieringsgränser

- Eftersom vissa typer av PCDD/F är extremt toxiska ska detektionsgränsen för dessa föreningar vara i storleksordningen femtogram (10^{-15} g). För de flesta PCB-kongener räcker det att kvantifieringsgränsen är i storleksordningen nanogram (10^{-9} g). Vid mätning av mer toxiska dioxinlika PCB-kongener (särskilt kongener som inte är substituerade på orto-position, s.k. non-orto kongener) ska dock de lägsta halterna i mätområdet vara i storleksordningen pikogram (10^{-13} g).

⁽¹⁾ Guidance Document on Measurement Uncertainty for Laboratories performing PCDD/F and PCB Analysis using Isotope Dilution Mass Spectrometry [[länk till webbplats](#)] och Guidance Document on the Estimation of LOD and LOQ for Measurements in the Field of Contaminants in Feed and Food [[länk till webbplats](#)].

5.2 Hög selektivitet (specificitet)

- PCDD/F och dioxinlika PCB ska kunna skiljas från en stor mängd andra föreningar som extraheras samtidigt och som förekommer i koncentrationer flerfaldigt högre än hos den givna analyten och som kan störa analysen. Metoder som bygger på gaskromatografi i kombination med masspektrometri (GC-MS) måste kunna särskilja mellan olika kongener, exempelvis mellan toxiska kongener (t.ex. de sjutton 2,3,7,8-substituerade PCDD/F och de tolv dioxinlika PCB) och andra kongener.
- Bioanalytiska metoder ska kunna påvisa målföreningar och ange dem som summan av PCDD/F och/eller dioxinlika PCB. Upprening av prov ska syfta till att avlägsna föreningar som orsakar resultat som felaktigt bedömts vara icke-överensstämmande eller föreningar som kan minska responsen, vilket orsakar resultat som felaktigt bedömts vara överensstämmande.

5.3 Hög noggrannhet (riktighet och precision, skenbart utbyte för bioassay)

- Bestämning med GC-MS-metoder ska ge en giltig uppskattning av den sanna koncentrationen i ett prov. En hög noggrannhet (med mätningens noggrannhet avses hur väl mätresultatet överensstämmer med provets sanna eller angivna halt) krävs för att resultatet av en provanalys inte ska avvisas på grund av att det fastställda TEQ-värdet har för dålig tillförlitlighet. Noggrannheten uttrycks som riktighet (skillnaden mellan det medelvärde som har uppmätts för en analyt i ett certifierat material och dess certifierade värde, uttryckt som ett procenttal av detta värde) och precision (RSD_R , dvs. den relativa standardavvikelsen beräknad utifrån de resultat som erhållits under reproducerbara förhållanden).
- För bioanalytiska metoder ska det skenbara utbytet för bioassay bestämmas.

5.4 Validering i intervallet för gränsvärdet och allmänna åtgärder för kvalitetskontroll

- Laboratorierna ska visa en metods prestanda i intervallet för gränsvärdet, t.ex. 0,5 gång, 1 gång och 2 gånger gränsvärdet med en godtagbar variationskoefficient för upprepade analyser, under valideringsförloppet och/eller rutinanalyser.
- Laboratorierna ska regelbundet analysera blankprover och spikade prover eller kontrollprover (helst certifierat referensmaterial om sådant finns) som en åtgärd för intern kvalitetskontroll. Kontrollkort för analyser av blankprover, spikade prover eller kontrollprover ska framställas och kontrolleras för att säkerställa att den analytiska prestandan uppfyller kraven.

5.5 Kvantifieringsgräns

- För en bioanalytisk screeningmetod är det inte ett absolut krav att kvantifieringsgränsen fastställs, men metoden ska bevisligen kunna särskilja mellan blankprovet och brytpunkten. När ett BEQ-värde anges ska en rapporteringsnivå fastställas för att hantera prover som ger en respons under denna nivå. Rapporteringsnivån ska bevisligen vara skild från metodens blankprover med åtminstone en faktor på tre och ge respons vid halter under mätområdet. Den ska därför beräknas utifrån prover med halter av målföreningarna kring de miniminivåer som krävs och inte utifrån ett S/N-förhållande (signal-brusförhållande) eller ett blankprov.
- Kvantifieringsgränsen för en konfirmeringsmetod ska motsvara ungefär en femtedel av gränsvärdet.

5.6 Analyskriterier

- För att resultaten från konfirmerings- eller screeningmetoder ska vara tillförlitliga ska följande kriterier vara uppfyllda i intervallet för gränsvärdet för TEQ-värdet respektive BEQ-värdet, vilka kan bestämmas antingen för summan av PCDD/F och dioxinlika PCB (dvs. totalt TEQ eller totalt BEQ) eller separat för PCDD/F och för dioxinlika PCB.

	Screening med bioanalytiska eller fysikalisk-kemiska metoder	Konfirmeringsmetoder
Andelen prover som felaktigt bedömts vara överensstämmande (*)	< 5 %	
Riktighet		- 20 % till +20 %

	Screening med bioanalytiska eller fysikalisk-kemiska metoder	Konfirmeringsmetoder
Repetierbarhet (RSD _r)	< 20 %	
Intermediärt precisionsmått (RSD _R)	< 25 %	< 15 %

(*) Med avseende på gränsvärdena.

5.7 Särskilda krav för screeningmetoder

- Både GC-MS och bioanalytiska metoder får användas för screening. För GC-MS-metoder ska kraven i punkt 6 tillämpas. För cellbaserade bioanalytiska metoder anges särskilda krav i punkt 7.
- Laboratorier som använder screeningmetoder vid rutinkontroll av prover ska ha ett nära samarbete med laboratorier som använder konfirmeringsmetoden.
- Screeningmetodens prestanda ska kontrolleras vid rutinanalyser genom kvalitetskontroll av analysverksamheten och löpande metodvalidering. Det ska finnas ett fortlöpande program för att kontrollera överensstämmande resultat.
- Kontroll av en eventuell hämning av cellens respons och cytotoxicitet.

Vid rutinmässig screening ska 20 % av provextrakten analyseras med och utan tillsats av TCDD i en halt som motsvarar gränsvärdet eller åtgärdsgränsen för att kontrollera om responsen eventuellt hämmas av störande ämnen som finns i provextraktet. Den uppmätta koncentrationen i det spikade provet ska jämföras med summan av koncentrationen i det ej spikade provet och den tillsatta koncentrationen. Om den uppmätta koncentrationen är mer än 25 % lägre än den beräknade koncentrationen (summan) tyder detta på att signalen eventuellt hämmas och det berörda provet ska genomgå konfirmeringsanalys. Resultaten ska övervakas med kontrollkort.

- Kvalitetskontroll av överensstämmande prover.

Ungefär 2–10 % av de överensstämmande proverna ska bekräftas, beroende på provmatrisen och laboratoriets erfarenhetsnivå.

- Kvalitetskontrolluppgifter som grund för bestämning av andelen prover som felaktigt bedömts överensstämma.

Efter screening av prover vars halter ligger under eller över gränsvärdena eller åtgärdsgränserna ska man bestämma andelen prover som felaktigt bedömts överensstämma. Den faktiska andelen prov som felaktigt bedömts överensstämma ska vara lägre än 5 %.

När man vid kvalitetskontrollen av överensstämmande prover har tillgång till minst 20 bekräftade resultat per matris eller matrisgrupp ska dessa uppgifter användas som grund för att dra slutsatser om andelen prover som felaktigt bedömts överensstämma. Resultaten från prover som analyserats i provningsjämförelser eller vid föroreningsincidenter och som täcker koncentrationsintervall upp till exempelvis två gånger gränsvärdet kan också tas med i de minst 20 resultat som ska ingå i utvärderingen. Proverna ska täcka de vanligaste kongenmönstren och komma från olika källor.

Även om det främsta syftet med screeningmetoder är att påvisa prover som överskrider åtgärdsgränsen, är gränsvärdet kriteriet för att fastställa andelen som felaktigt bedömts vara överensstämmande, med beaktande av den utvidgade mätosäkerheten för konfirmeringsmetoden.

- Screeningresultat som eventuellt är icke-överensstämmande ska alltid kontrolleras genom en fullständig ny analys av det ursprungliga provet med en konfirmeringsmetod. Dessa prover kan också användas för att utvärdera andelen prover som felaktigt bedömts vara icke-överensstämmande. För screeningmetoder motsvaras andelen prover som felaktigt bedömts vara icke-överensstämmande av den fraktion prover som med hjälp av konfirmeringsanalyser konstaterats överensstämma, även om dessa prover hade konstaterats vara misstänkt icke-överensstämmande vid tidigare screening. Utvärderingen av hur väl screeningmetoden fungerar ska göras på grundval av jämförelsen mellan antalet prover som felaktigt bedömts vara icke-överensstämmande och det totala antalet prover som kontrollerats. Detta värde ska vara så lågt att det lönar sig att använda en screeningmetod.

- Bioanalytiska metoder ska, åtminstone under valideringsbetingelser, ge en godtagbar indikation på TEQ-värdet, beräknat och uttryckt som BEQ.
- Även för bioanalytiska metoder som används under repeterbarhetsbetingelser bör normalt sett den interna repeterbarheten (RSD_p) vara lägre än reproducerbarheten (RSD_R).

6. SÄRSKILDA KRAV FÖR GC-MS-METODER FÖR SCREENING ELLER KONFIRMERING

6.1 Godtagbara skillnader mellan WHO-TEQ-värdena avseende den övre och den lägre koncentrationen

- Det får inte skilja mer än 20 % mellan den övre och den lägre koncentrationen vid konfirmering av att gränsvärdena, eller vid behov åtgärdsgränser, överskridits.

6.2 Kontroll av utbytet

- För validering av analysmetoden ska ^{13}C -märkta 2,3,7,8-klorsubstituerade interna PCDD/F-standarder och ^{13}C -märkta interna dioxinlika PCB-standarder tillsättas alldeles i början av analysen, t.ex. före extraktionen. Minst en kongen för varje tetra- till oktaklorerad homolog grupp av PCDD/F och minst en kongen för varje homolog grupp av dioxinlika PCB ska tillsättas (alternativt tillsätts minst en kongen för varje masspektrometrisk SIR-funktion [*selected ion recording*] som används för att övervaka PCDD/F och dioxinlika PCB). För konfirmeringsmetoder ska alla de sjutton ^{13}C -märkta 2,3,7,8-substituerade interna PCDD/F-standarderna och alla de tolv ^{13}C -märkta interna dioxinlika PCB-standarderna användas.
- Med hjälp av lämpliga kalibreringslösningar ska de relativa responsfaktorerna också bestämmas för de kongener till vilka ingen ^{13}C -märkt analog tillsätts.
- För livsmedel av vegetabiliskt eller animaliskt ursprung som innehåller mindre än 10 % fett ska interna standarder tillsättas före extraktionen. För livsmedel av animaliskt ursprung som innehåller mer än 10 % fett kan interna standarder tillsättas antingen före eller efter fettextraktionen. Extraktionens effektivitet ska valideras på lämpligt sätt, beroende på när de interna standarderna tillsätts och om resultaten anges per gram produkt eller per gram fett.
- Innan en GC-MS-analys utförs ska en eller två utbytesstandarder (surrogat) tillsättas.
- En kontroll av utbytet är nödvändig. För konfirmeringsmetoder ska utbytet av de enskilda interna standarderna ligga i intervallet 60–120 %. Lägre eller högre utbytesgrad för enskilda kongener – särskilt för vissa hepta- och oktaklorerade dibenso-p-dioxiner och dibensofuraner – kan godtas under förutsättning att deras bidrag till TEQ-värdet inte överstiger 10 % av det totala TEQ-värdet (baserat på summan av PCDD/F och dioxinlika PCB). För GC-MS-screeningmetoder ska utbytet ligga i intervallet 30–140 %.

6.3 Avlägsnande av störande ämnen

- PCDD/F ska separeras från störande klorföreningar, såsom icke-dioxinlika PCB och klorerade difenyletrar, med hjälp av lämpliga kromatografiska tekniker (lämpligtvis med en florisil-, aluminiumoxid- och/eller kolkolonn).
- Gaskromatografisk separation av isomerer är tillräcklig (mindre än 25 % mellan två toppar för 1,2,3,4,7,8-HxCDF och 1,2,3,6,7,8-HxCDF).

6.4 Kalibrering med standardkurva

- Kalibreringskurvan ska omfatta det relevanta intervallet för gränsvärdena eller åtgärdsgränserna.

6.5 Särskilda kriterier för konfirmeringsmetoder

- För GC-HRMS:

Vid HRMS ska upplösningen vara större än eller lika med 10 000 i hela massområdet vid 10 % valley.

De ska uppfylla ytterligare kriterier för identifiering och konfirmering som beskrivs i internationellt erkända standarder, t.ex. standarden EN 16215:2012 (*Djurfoder – Bestämning av dioxiner och dioxinlika PCB:er med GC/HRMS och av indikator-PCB:er med GC/HRMS*) och/eller i EPA-metoderna 1613 och 1668, med senare revideringar.

— För GC-MS/MS:

Övervakning av minst två specifika moderjoner, var och en med en specifik motsvarande dotterjon från transitionen, för alla märkta och omärkta analyter som omfattas av analysens tillämpningsområde.

Högsta tillåtna tolerans för relativ jonintensitet på ± 15 % för utvalda dotterjoner från transitionen i jämförelse med beräknade eller uppmätta värden (medelvärde från kalibreringsstandarder) vid identiska MS/MS-betingelser, i synnerhet kollisionens energi och kollisionstryck, för varje transition av en analyt.

Upplösningen för varje kvadropol ska minst motsvara upplösningen för en massenhet (dvs. tillräcklig upplösning för att separera två toppar som skiljer sig åt med en massenhet) i syfte att minimera risken för att eventuella interferenser stör de givna analyterna.

De ska uppfylla ytterligare kriterier som beskrivs i internationellt erkända standarder, t.ex. standarden EN 16215:2012 (*Djurfoder – Bestämning av dioxiner och dioxinlika PCB:er med GC/HRMS och av indikator-PCB:er med GC/HRMS*) och/eller i EPA-metoderna 1613 och 1668, med senare revideringar, utom kravet på att använda GC-HRMS.

7. SÄRSKILDA KRAV FÖR BIOANALYTISKA METODER

Bioanalytiska metoder bygger på biologiska principer såsom cellbaserade metoder, receptorbaserade metoder eller immunologiska metoder. I denna punkt fastställs krav för bioanalytiska metoder i allmänhet.

Med en screeningmetod klassificeras enkelt uttryckt ett prov antingen som överensstämmande eller som misstänkt icke-överensstämmande genom en jämförelse mellan det beräknade BEQ-värdet och brytpunkten (se punkt 7.3). Prover under brytpunkten är överensstämmande, medan prover som är lika med eller över brytpunkten är misstänkt icke-överensstämmande och kräver analys med en konfirmeringsmetod. I praktiken kan ett BEQ-värde som motsvarar 2/3 av gränsvärdet användas som brytpunkt, förutsatt att det kan säkerställas att andelen prover som felaktigt bedömts vara överensstämmande är lägre än 5 % och att andelen prover som felaktigt bedömts vara icke-överensstämmande är godtagbar. Om man använder separata gränsvärden för PCDD/F och för summan av PCDD/F och dioxinlika PCB krävs lämpliga brytpunkter för bioassay av PCDD/F för att utan fraktionering kunna kontrollera provernas överensstämmelse. För kontroll av prover som överskrider åtgärdsgränserna skulle en lämplig procentandel av respektive åtgärdsgräns lämpa sig som brytpunkt.

Om ett vägledande värde uttrycks i BEQ ska provresultaten ges i mätområdet och överstiga rapporteringsgränsen (se punkt 7.1.1 och 7.1.6).

7.1 Utvärdering av försöksrespons

7.1.1 Allmänna krav

— När man beräknar koncentrationer utifrån en kalibreringskurva för TCDD kommer de högsta koncentrationerna i kurvan att ha en hög variation (hög variationskoefficient). Mätområdet är det område där variationskoefficienten är mindre än 15 %. Den lägsta koncentrationen i mätområdet (rapporteringsgränsen) ska ligga betydligt över metodens blankvärde (med åtminstone en faktor på tre). Den högsta koncentrationen i mätområdet motsvaras vanligtvis av EC_{70} -värdet (70 % av den maximalt effektiva koncentrationen), men den är lägre om variationskoefficienten överstiger 15 % i detta område. Mätområdet ska fastställas under valideringen. Brytpunkterna (se punkt 7.3) ska ligga inom mätområdet.

— Standardlösningar och provextrakt ska analyseras som trippelprover eller åtminstone som dubbelprover. När dubbelprover analyseras ska en standardlösning eller ett kontrollextrakt som provas i 4–6 brunnar (fördelade över plattan) ge en respons eller en koncentration (endast möjligt i mätområdet) som har en variationskoefficient mindre än 15 %.

7.1.2 Kalibrering

7.1.2.1 Kalibrering med standardkurva

- Provhalter kan skattas genom att försöksresponsen jämförs med en kalibreringskurva för TCDD (eller PCB 126 eller en standardblandning med PCDD/F och dioxinlika PCB) utifrån vilken BEQ-värdet kan beräknas i extraktet och därefter i provet.
- Kalibreringskurvor ska bestå av 8–12 koncentrationer (åtminstone som dubbelprover) och ha tillräckligt med koncentrationer i den nedre delen av kurvan (mätområdet). Särskild uppmärksamhet ska ägnas kvaliteten på kurvpassningen i mätområdet. När man ska bedöma anpassningsgraden vid icke-linjär regression är R^2 -värdet i sig inte viktigt. Man uppnår en bättre kurvpassning genom att minimera skillnaden mellan beräknade och observerade koncentrationer inom kurvans mätområde (t.ex. genom att minimera residualkvadratsumman).
- Den skattade halten i provextraktet korrigeras därefter för BEQ-värdet hos ett blankprov för matrisen eller lösningsmedlet (för att beakta föroreningar från lösningsmedel och andra kemikalier som använts) och för det skenbara utbytet (som beräknats utifrån BEQ-värdet för lämpliga referensprover med representativa kongenmönster kring gränsvärdet eller åtgärdsgränsen). När man korrigerar för ett utbyte ska det skenbara utbytet alltid ligga inom det intervall som krävs (se punkt 7.1.4). Referensprover som används för att korrigera utbytet ska uppfylla kraven i punkt 7.2.

7.1.2.2 Kalibrering med referensprover

Om egenskaperna hos referensprovernas matris överensstämmer med dem hos de okända provernas matris kan man också använda en kalibreringskurva som genererats från minst fyra referensprover (se punkt 7.2: ett blankprov för matrisen och tre referensprover på 0,5 gång, 1 gång och 2 gånger gränsvärdet eller åtgärdsgränsen), varigenom man inte behöver korrigera för blank och utbyte. I detta fall kan den försöksrespons som motsvarar 2/3 av gränsvärdet (se punkt 7.3) beräknas direkt från dessa prover och användas som brytpunkt. För kontroll av prover som överskrider åtgärdsgränserna skulle en lämplig procentandel av dessa åtgärdsgränser lämpa sig som brytpunkt.

7.1.3 Separat bestämning av PCDD/F och dioxinlika PCB

Extrakt kan delas upp i fraktioner som innehåller dels PCDD/F, dels dioxinlika PCB, vilket gör att man kan ange separata TEQ-värden för PCDD/F och för dioxinlika PCB (uttryckta som BEQ). Företrädesvis ska man använda en kalibreringskurva för PCB 126-standard för att utvärdera resultaten för den fraktion som innehåller dioxinlika PCB.

7.1.4 Skenbart utbyte för bioassay

Det skenbara utbytet för bioassay ska beräknas utifrån lämpliga referensprover med representativa kongenmönster kring gränsvärdet eller åtgärdsgränsen och uttryckas som en procentandel av BEQ-värdet i jämförelse med TEQ-värdet. Beroende på vilken typ av analysmetod och vilka TEF-värden⁽¹⁾ som används kan skillnaderna mellan TEF- och REP-faktorerna för dioxinlika PCB ge upphov till låga skenbara utbyten för dioxinlika PCB i jämförelse med för PCDD/F. Om en separat bestämning av PCDD/F och dioxinlika PCB utförs ska därför de skenbara utbytena för bioassay ligga i intervallet 20–60 % för dioxinlika PCB och i intervallet 50–130 % för PCDD/F (intervallen gäller för kalibreringskurvan för TCDD). Bidraget från dioxinlika PCB till summan av PCDD/F och dioxinlika PCB kan variera mellan olika matriser och prover. Dessa variationer återspeglas i de skenbara utbytena för bioassay, vilka ska ligga i intervallet 30–130 % för summan av PCDD/F och dioxinlika PCB.

7.1.5 Kontroll av utbytet efter upprening

Förlusten av föreningar under uppreningen ska kontrolleras under valideringen. Ett blankprov som spikats med en blandning av olika kongener ska genomgå upprening (minst $n = 3$) och därefter ska utbyte och variabilitet kontrolleras med en konfirmeringsmetod. Utbytet ska ligga i intervallet 60–120 %, särskilt för kongener som i olika blandningar bidrar med mer än 10 % till TEQ-värdet.

⁽¹⁾ Nuvarande krav är grundade på de TEF-värden som offentliggjorts i Martin Van den Berg m.fl., *Toxicological Sciences*, 2006, 93(2), s.;223–241.

7.1.6 Rapporteringsgräns

Vid rapportering av BEQ-värden ska en rapporteringsgräns bestämmas utifrån relevanta matrisprover som omfattar typiska kongenmönster. Däremot ska inte kalibreringskurvan för standarder användas eftersom precisionen är låg för den nedre delen av kurvan. Även effekter från extraktion och upprening ska beaktas. Rapporteringsgränsen ska ligga betydligt över metodens blankvärde (med åtminstone en faktor på tre).

7.2 Användning av referensprover

- Referensproverna ska representera provmatriser, kongenmönster och koncentrationsintervaller för PCDD/F och dioxinlika PCB kring gränsvärdet eller åtgärdsgränsen.
- Ett blankprov för metoden, eller helst ett blankprov för matrisen, och ett referensprov vid gränsvärdet eller åtgärdsgränsen ska ingå i varje försöksserie. Dessa prover ska extraheras och analyseras samtidigt under identiska betingelser. Referensprovet ska ha en klart högre respons än blankprovet eftersom detta säkerställer metodens lämplighet. Dessa prover kan användas för att korrigera för blank och utbyte.
- De referensprover som valts ut för att korrigera för utbyte ska vara representativa för alla proverna, vilket innebär att kongenmönstret inte ska resultera i att halterna underskattas.
- För kontroll av gränsvärdet eller åtgärdsgränsen kan ytterligare referensprover på exempelvis 0,5 gång och 2 gånger gränsvärdet eller åtgärdsgränsen tas med i syfte att visa analysens prestanda inom det givna intervallet. Dessa prover kan kombineras för att beräkna BEQ-värdet i proverna (se punkt 7.1.2.2).

7.3 Bestämning av brytpunkter

Förhållandet mellan bioanalytiska resultat angivna som BEQ och resultat från konfirmeringsmetoder angivna som TEQ ska fastställas (t.ex. genom matrisanpassade kalibreringsexperiment som omfattar referensprover spikade med 0 gång, 0,5 gång, 1 gång och 2 gånger gränsvärdet och 6 prover per halt (totalt $n = 24$). Korrektionsfaktorer (blank och utbyte) kan beräknas utifrån detta förhållande, men de ska kontrolleras i varje försöksserie genom att blankprover för metoden eller matrisen och prover för utbytet inkluderas (se punkt 7.2).

Brytpunkter ska fastställas för bedömning av om prover överensstämmer med gränsvärdena, eller vid behov för kontroll av åtgärdsgränserna, med respektive gränsvärden eller åtgärdsgränser som fastställts för antingen PCDD/F och dioxinlika PCB var för sig, eller för summan av PCDD/F och dioxinlika PCB. De representeras av den *nedre* gränsen för fördelningen av de bioanalytiska resultaten (korrigerade för blank och utbyte) som motsvarar beslutsgränsen för konfirmeringsmetoden med en konfidensgrad på 95 %, vilket innebär att andelen prover som felaktigt bedömts vara överensstämmande är mindre än 5 % och RSD_R är mindre än 25 %. Beslutsgränsen för konfirmeringsmetoden motsvaras av gränsvärdet, med beaktande av den utvidgade mätosäkerheten.

I praktiken kan brytpunkten (uttryckt som BEQ) beräknas på följande sätt (se figur 1):

7.3.1 Med användning av det nedre konfidensbandet i det 95-procentiga prediktionsintervallet för beslutsgränsen för konfirmeringsmetoden och med formeln

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

där

BEQ_{DL} BEQ motsvarande beslutsgränsen för konfirmeringsmetoden, vilket är gränsvärdet med beaktande av den utvidgade mätosäkerheten

$s_{y,x}$ residualstandardavvikelse

$t_{\alpha, f = m - 2}$ students t-faktor ($\alpha = 5 \%$, $f =$ frihetsgrader, ensidiga)

m totalt antal kalibreringspunkter (index j)

n antal prover per koncentration (repetitioner)

x_i provkoncentration för kalibreringspunkt i analyserad med en konfirmeringsmetod (uttryckt som TEQ)

\bar{x} medelvärdet av koncentrationerna för alla kalibreringsprov (uttryckt som TEQ)

$$Q_{xx} = \sum_{i=1}^m (x_i - \bar{x})^2 \text{ parametern kvadratsumma}$$

i = index för kalibreringspunkt i .

7.3.2 Beräknat utifrån de bioanalytiska resultaten (korrigerade för blank och utbyte) från flera analyser av prover ($n \geq 6$) som förorenats med en halt som motsvarar beslutsgränsen för konfirmeringsmetoden, vilken är den *nedre* gränsen för fördelningen vid motsvarande medelvärde för BEQ, och med formeln

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

där

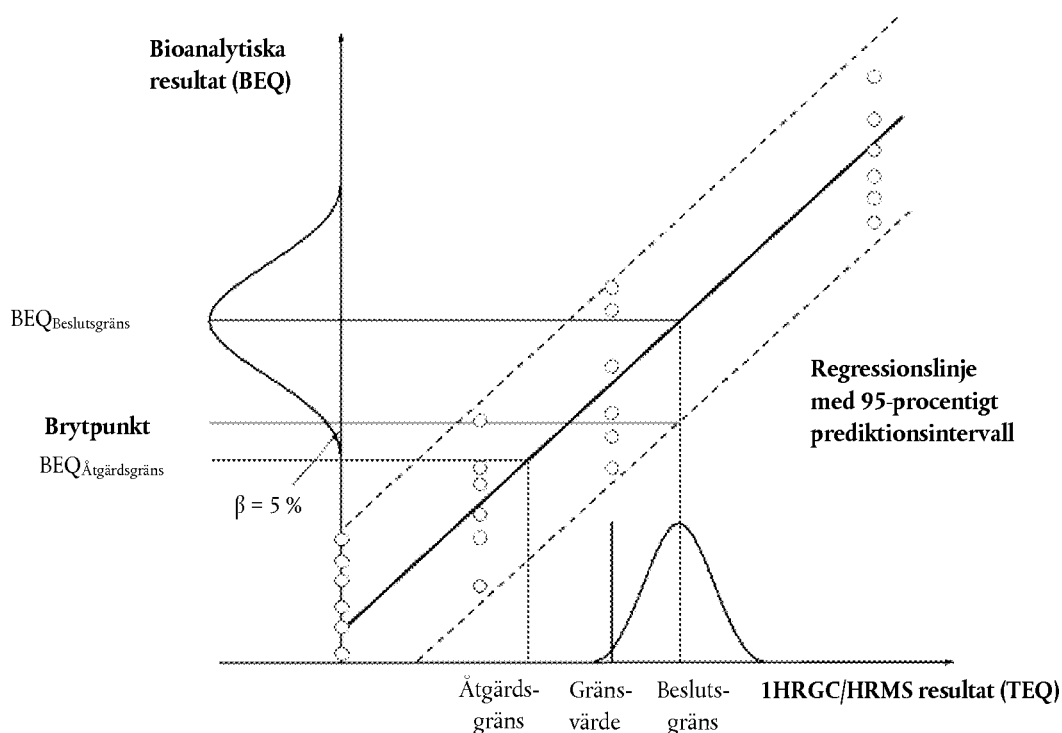
SD_R standardavvikelse för resultat från bioassay vid BEQ_{DL} , mätt under reproducerbara betingelser inom laboratoriet.

7.3.3 Beräknat som medelvärdet av de bioanalytiska resultaten (uttryckta som BEQ, korrigerade för blank och utbyte) utifrån flera analyser av prover ($n \geq 6$) som förorenats med en halt som motsvarar 2/3 av gränsvärdet eller åtgärdsgränsen. Detta grundas på att denna halt kommer att ligga kring den brytpunkt som fastställs enligt punkt 7.3.1 eller 7.3.2.

Tillvägagångssätt för beräkning av brytpunkter som bygger på en 95-procentig konfidensgrad vilket innebär att andelen prover som felaktigt bedömts vara överensstämmande är mindre än 5 % och RSD_R är mindre än 25 %.

1. Utifrån det *nedre* konfidensbandet i det 95-procentiga prediktionsintervallet för beslutsgränsen för konfirmeringsmetoden.
2. Utifrån flera analyser av prover ($n \geq 6$) som förorenats med en halt som motsvarar beslutsgränsen för konfirmeringsmetoden, vilket är den *nedre* gränsen för fördelningen (en klockformad kurva i figuren) vid motsvarande medelvärde för BEQ.

Figur 1



7.3.4 Begränsningar för brytpunkter

De BEQ-baserade brytpunkter som beräknats utifrån den RSD_R som fastställts under valideringen med hjälp av ett begränsat antal prover med olika matriser eller kongenmönster kan vara högre än de gränsvärden eller åtgärdsgränser som baserats på TEQ-värden, eftersom en bättre precision kan uppnås vid validering än vid rutinanalyser då ett okänt spektrum av möjliga kongenmönster måste kontrolleras. I sådana fall ska brytpunkterna helst beräknas utifrån en RSD_R som motsvarar 25 % eller 2/3 av gränsvärdet eller åtgärdsgränsen.

7.4 Prestanda

- Eftersom inga interna standarder kan användas i bioanalytiska metoder ska försök som kontrollerar repeterbarheten utföras i syfte att bedöma standardavvikelsen inom en försöksserie och mellan försöksserier. Repeterbarheten ska vara under 20 % och reproducerbarheten inom laboratoriet under 25 %. Detta ska grundas på de beräknade halterna (uttryckta som BEQ) efter korrigering för blank och utbyte.
- Under valideringsförfarandet ska det visas att metoden kan skilja mellan ett blankprov och ett prov med en halt som motsvarar brytpunkten, så att prover som ligger över den relevanta brytpunkten kan identifieras (se punkt 7.1.2).
- Målföreningar, möjliga interferenser och högsta godtagbara värden för blankprover ska definieras.
- Vid analys av ett provextrakt ($n = 3$) ska standardavvikelsen inte överstiga 15 % för en respons eller en koncentration som beräknats utifrån responsen (endast möjligt i mätområdet).
- De okorrigerade resultaten från referensproverna, uttryckta som BEQ (blank och vid gränsvärdet eller åtgärdsgränsen), ska användas vid utvärderingen av den bioanalytiska metodens prestanda under en konstant tidsperiod.
- Kontrollkort för metodens blankprover och för varje typ av referensprov ska framställas och kontrolleras för att säkerställa att den analytiska prestandan uppfyller kraven, särskilt för metodens blankprover när det gäller kravet på minsta skillnad till de lägsta koncentrationerna i mätområdet och för referensprover när det gäller reproducerbarheten inom laboratoriet. Metodens blankprover ska kontrolleras väl så att man när blankprovet dras av från provresultatet inte erhåller resultat som felaktigt bedöms vara överensstämmande.
- Resultaten från analyserna med konfirmeringsmetoderna av misstänkta prover och av 2–10 % av de överensstämmande proverna (minst 20 prover per matris) ska samlas in och användas för att utvärdera screeningmetodens prestanda och förhållandet mellan BEQ- och TEQ-värdena. Dessa uppgifter kan användas för omprövning av de brytpunkter som tillämpas på rutinprover för validerade matriser.
- Att en metod har en bra prestanda kan också visas genom deltagande i provningsjämförelser. Om ett laboratorium kan visa en bra prestanda kan också resultaten från prover som analyserats i provningsjämförelser och som täcker koncentrationsintervallet upp till exempelvis två gånger gränsvärdet tas med i utvärderingen av andelen prover som felaktigt bedömts vara överensstämmande. Proverna ska täcka de vanligaste kongenmönstren och komma från olika källor.
- Vid incidenter kan brytpunkterna omprövas för att återspegla den specifika matrisen och kongenmönstret för denna enda incident.

8. RAPPORTERING AV RESULTAT

Konfirmeringsmetoder

- Analysresultaten ska innehålla halterna av de enskilda PCDD/F- och dioxinlika PCB-kongenerna och TEQ-värdena angivna som lägre koncentrationer, övre koncentrationer och mellanvärden. Rapporteringen av resultat ska på så sätt ge maximalt med information och därigenom göra det möjligt att tolka resultaten utifrån särskilda krav.
- Rapporten ska även ange den metod som använts för extraktionen av PCDD/F, dioxinlika PCB och lipider. Lipidhalten i provet ska bestämmas och rapporteras för livsmedelsmatriser där gränsvärden anges per gram fett och där den förväntade fettkoncentrationen ligger i intervallet 0–2 % (i överensstämmelse med befintlig lagstiftning). Det är frivilligt att bestämma lipidhalten för övriga prover.

- Utbytena för de enskilda interna standarderna ska redovisas om de ligger utanför det intervall som anges i punkt 6.2 när gränsvärdet överskrids (i så fall ska utbytena för ett av de två dubbelproverna anges). I övriga fall ska de redovisas på begäran.
- Eftersom den utvidgade mätosäkerheten ska beaktas vid bedömning av om ett prov är överensstämmande ska också denna parameter anges. Analysresultatet ska rapporteras som $x \pm U$, där x är analysresultatet och U den utvidgade mätosäkerheten beräknad med en täckningsfaktor på 2, vilket ger en konfidensgrad på cirka 95 %. Om det har gjorts en separat bestämning av PCDD/F och av dioxinlika PCB ska summan av den skattade utvidgade mätosäkerheten för de enskilda analysresultaten användas när man anger den skattade utvidgade mätosäkerheten för summan av PCDD/F och dioxinlika PCB.
- Resultaten ska anges i samma enheter och med samma antal signifikanta siffror som används för att ange gränsvärden i förordning (EG) nr 1881/2006.

Bioanalytiska screeningmetoder

- Resultatet från screeningen ska anges som överensstämmande eller som misstänkt icke-överensstämmande.
- Dessutom kan ett vägledande resultat för PCDD/F och/eller dioxinlika PCB, uttryckt som BEQ (inte som TEQ), anges (se punkt 1). Prover vars respons ligger under rapporteringsgränsen ska anges som "under rapporteringsgränsen". Prover vars respons ligger över mätområdet ska rapporteras som överskridande mätområdet och den halt som motsvarar den högsta koncentrationen i mätområdet ska anges som BEQ.
- För varje typ av provmatris ska rapporten innehålla uppgifter om det gränsvärde eller den åtgärdsgräns som utvärderingen baseras på.
- Rapporten ska innehålla uppgifter om typ av försök som har gjorts, den grundläggande principen för försöket och typ av kalibrering.
- Rapporten ska även ange den metod som använts för extraktionen av PCDD/F, dioxinlika PCB och lipider. Lipidhalten i provet ska bestämmas och rapporteras för livsmedelsmatriser där gränsvärden anges per gram fett och där den förväntade fettkoncentrationen ligger i intervallet 0–2 % (i överensstämmelse med befintlig lagstiftning). Det är frivilligt att bestämma lipidhalten för övriga prover.
- För prover som misstänks vara icke-överensstämmande ska rapporten innehålla information om de åtgärder som ska vidtas. Koncentrationen av PCDD/F och summan av PCDD/F och dioxinlika PCB i proverna med förhöjda halter ska bestämmas/bekräftas med en konfirmeringsmetod.
- Icke-överensstämmande resultat ska endast rapporteras från konfirmeringsanalys.

Fysikalisk-kemiska screeningmetoder

- Resultaten från screeningen ska anges som överensstämmande eller som misstänkt icke-överensstämmande.
- För varje typ av provmatris ska rapporten innehålla uppgifter om det gränsvärde eller den åtgärdsgräns som utvärderingen baseras på.
- Halter för enskilda PCDD/F- och/eller dioxinlika PCB-kongener samt TEQ-värden kan dessutom anges angivna som lägre koncentrationer, övre koncentrationer och mellanvärden. Resultaten ska anges i samma enheter och med (minst) samma antal signifikanta siffror som används för att ange gränsvärden i förordning (EG) nr 1881/2006.
- Utbytena för de enskilda interna standarderna ska redovisas om de ligger utanför det intervall som anges i punkt 6.2. I övriga fall ska de redovisas på begäran.
- Rapporten ska ange den GC-MS-metod som använts.
- Rapporten ska även ange den metod som använts för extraktionen av PCDD/F, dioxinlika PCB och lipider. Lipidhalten i provet ska bestämmas och rapporteras för livsmedelsmatriser där gränsvärden anges per gram fett och där den förväntade fettkoncentrationen ligger i intervallet 0–2 % (i överensstämmelse med befintlig lagstiftning). Det är frivilligt att bestämma lipidhalten för övriga prover.

- För prover som misstänks vara icke-överensstämmande ska rapporten innehålla information om de åtgärder som ska vidtas. Koncentrationen av PCDD/F och summan av PCDD/F och dioxinlika PCB i proverna med förhöjda halter ska bestämmas/bekräftas med en konfirmeringsmetod.
 - Bedömningen av om ett prov är icke-överensstämmande kan endast göras efter konfirmeringsanalys.
-

Tillägg

Världshälsoorganisationens toxicitetsekvivalensfaktorer (WHO-TEF) för bedömningen av risker för människor på grundval av slutsatserna från WHO:s expertmöte inom det internationella programmet för kemikaliesäkerhet (IPCS) i Genève i juni 2005 ⁽¹⁾.

Kongen	TEF-värde	Kongen	TEF-värde
Dibenso-p-dioxiner (PCDD)		Dioxinlika PCB:	
		non-orto PCB + mono-orto PCB	
2,3,7,8-TCDD	1		
1,2,3,7,8-PeCDD	1	Non-orto PCB	
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0,1	PCB 77	0,0001
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0,1	PCB 81	0,0003
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0,1	PCB 126	0,1
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0,01	PCB 169	0,03
OCDD	0,0003		
Dibensofuraner (PCDF)		Mono-orto PCB	
2,3,7,8-TCDF	0,1	PCB 105	0,00003
1,2,3,7,8-PeCDF	0,03	PCB 114	0,00003
2,3,4,7,8-PeCDF	0,3	PCB 118	0,00003
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0,1	PCB 123	0,00003
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0,1	PCB 156	0,00003
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0,1	PCB 157	0,00003
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0,1	PCB 167	0,00003
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0,01	PCB 189	0,00003
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0,01		
OCDF	0,0003		
Förkortningar: "T" = tetra, "Pe" = penta, "Hx" = hexa, "Hp" = hepta, "O" = okta, "CDD" = klordibensodioxin, "CDF" = klordibensofuran, "CB" = klorbifenyl.			

⁽¹⁾ 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*, 2006, 93(2), s. 223–241.

BILAGA IV

PROVBEREDNING OCH KRAV FÖR ANALYSMETODER FÖR KONTROLL AV HALTER AV ICKE-DIOXINLIKA PCB
I VISSA LIVSMEDEL

Kraven i denna bilaga ska tillämpas när livsmedel analyseras för offentlig kontroll av halterna av icke-dioxinlika PCB och när det gäller provberedning och analyskrav för andra lagstadgade ändamål, inbegripet livsmedelsföretagarens kontroller för att säkerställa överensstämmelse med bestämmelserna i artikel 4 i förordning (EG) nr 852/2004.

Bestämmelserna om provberedning i punkt 3 i bilaga III till den här förordningen ska också tillämpas vid kontroll av halterna av icke-dioxinlika PCB i livsmedel.

1. Detektionsmetoder som ska användas

Gaskromatografi i kombination med elektroninfångningsdetektion (GC-ECD), GC-LRMS, GC-MS/MS, GC-HRMS eller likvärdiga metoder.

2. Identifiering och konfirmering av givna analyter

- Relativ retentionstid i förhållande till interna standarder eller referensstandarder (godtagbar avvikelse $\pm 0,25$ %).
- Gaskromatografisk separation av icke-dioxinlika PCB från störande ämnen, särskilt andra PCB som elueras samtidigt, i synnerhet om provhalterna ligger i intervallet för lagstadgade gränsvärden och det ska konfirmeras att proverna är icke-överensstämmande ⁽¹⁾.
- För GC-MS-metoder:
 - Övervakning av minst följande antal molekylljoner eller joner karakteristiska för molekyllklostret:
 - Två specifika joner för HRMS.
 - Tre specifika joner för LRMS.
 - Två specifika moderjoner, var och en med en specifik motsvarande dotterjon från transitionen, för MS-MS.
 - Högsta tillåtna toleranser för kvoten för förekomsten av utvalda massfragment:

Relativ avvikelse mellan kvoten för förekomsten av utvalda massfragment från den teoretiska förekomsten eller kalibreringsstandardens för måljon (den vanligast förekommande jonen som övervakas) och konfirmeringsjon(er): ± 15 %.
- För GC-ECD:

Resultat som överskrider gränsvärdet ska konfirmeras med hjälp av två GC-kolonner som har stationära faser med olika polaritet.

3. Bevis för metodens prestanda

Validering i intervallet för gränsvärdet (0,5–2 gånger gränsvärdet) med en godtagbar variationskoefficient för upprepade analyser (se krav för intermediärt precisionsmått i punkt 8).

4. Kvantifieringsgräns

Summan av kvantifieringsgränserna ⁽²⁾ för icke-dioxinlika PCB får inte vara högre än $1/3$ av gränsvärdet ⁽³⁾.

5. Kvalitetskontroll

Laboratorierna ska regelbundet kontrollera blankprover, analysera spikade prover och prover för kvalitetskontroll samt medverka i provningsjämförelser med relevanta matriser.

⁽¹⁾ Kongener som ofta elueras samtidigt är t.ex. PCB 28/31, PCB 52/69 och PCB 138/163/164. När det gäller GC-MS ska även eventuella interferenser från fragment av mer högklorerade kongener beaktas.

⁽²⁾ Principerna i vägledningen *Guidance Document on the Estimation of LOD and LOQ for Measurements in the Field of Contaminants in Feed and Food* [länk till webbplats] ska följas i tillämpliga fall.

⁽³⁾ Reagensblankprovet bör lämna ett så litet bidrag som möjligt till halten av en förorening i ett prov. Det är laboratoriets skyldighet att kontrollera hur halterna i blankproverna varierar, i synnerhet om blankproverna dras av från proverna.

6. Kontroll av utbytet

- Lämpliga interna standarder med fysikalisk-kemiska egenskaper som är jämförbara med de givna analyternas ska användas.
- Tillsats av intern standard:
 - Ska tillsättas produkter före extraktion och upprening.
 - Kan även tillsättas extraherat fett före upprening, när gränsvärdet anges per gram fett.
- Krav för metoder som använder alla sex isotopmärkta icke-dioxinlika PCB-kongener:
 - Resultaten ska korrigeras för de interna standardernas utbyten.
 - Allmänt godtagbara utbyten för isotopmärkta interna standarder ligger i intervallet 60–120 %.
 - Ett lägre eller högre utbyte för enskilda kongener vars bidrag till summan av icke-dioxinlika PCB är mindre än 10 % är godtagbart.
- Krav för metoder som inte använder alla sex isotopmärkta interna standarder eller använder andra interna standarder:
 - Utbyten för interna standarder ska kontrolleras för varje prov.
 - Godtagbara utbyten för interna standarder ligger i intervallet 60–120 %.
 - Resultaten ska korrigeras för de interna standardernas utbyten.
- Utbytet för omärkta kongener ska kontrolleras genom spikade prover eller prover för kvalitetskontroll med koncentrationer i intervallet för gränsvärdet. Godtagbara utbyten för dessa kongener ligger i intervallet 60–120 %.

7. Krav för laboratorier

I enlighet med förordning (EG) nr 882/2004 ska laboratorier ackrediteras av ett godkänt ackrediteringsorgan som verkar enligt ISO Guide 58 för att säkerställa att de tillämpar ett system för kvalitetssäkring av analysverksamheten. Laboratorier ska ackrediteras enligt standarden EN ISO/IEC 17025. Principerna i vägledningen *Technical Guidelines for the estimation of measurement uncertainty and limits of quantification for PCB analysis* ska dessutom följas i tillämpliga fall ⁽¹⁾.

8. Prestanda: Kriterier för summan av icke-dioxinlika PCB vid gränsvärdet

	Masspektrometri med isotoputspädning (*)	Andra metoder
Riktighet	– 20 % till + 20 %	– 30 % till + 30 %
Intermediärt precisionsmått (RSD _R)	≤ 15 %	≤ 20 %
Skillnaden mellan beräkningen av övre och lägre koncentration	≤ 20 %	≤ 20 %

(*) Alla sex ¹³C-märkta analogerna ska användas som interna standarder.

9. Rapportering av resultat

- Analysresultaten ska innehålla halterna av de enskilda icke-dioxinlika PCB-kongenerna och summan av icke-dioxinlika PCB angivna som lägre koncentrationer, övre koncentrationer och mellanvärden. Rapporteringen av resultaten ska på så sätt ge maximalt med information och därigenom göra det möjligt att tolka resultaten utifrån särskilda krav.

⁽¹⁾ *Guidance Document on Measurement Uncertainty for Laboratories performing PCDD/F and PCB Analysis using Isotope Dilution Mass Spectrometry* [länk till webbplats] och *Guidance Document on the Estimation of LOD and LOQ for Measurements in the Field of Contaminants in Feed and Food* [länk till webbplats].

- Rapporten ska även ange den metod som använts för extraktion av PCB och lipider. Lipidhalten i provet ska bestämmas och rapporteras för livsmedelsmatriser där gränsvärden anges per gram fett och där den förväntade fettkoncentrationen ligger i intervallet 0–2 % (i överensstämmelse med befintlig lagstiftning). Det är frivilligt att bestämma lipidhalten för övriga prover.
 - Utbytena för de enskilda interna standarderna ska redovisas om de ligger utanför det intervall som anges i punkt 6 när gränsvärden överskrids. I övriga fall ska de redovisas på begäran.
 - Eftersom den utvidgade mätosäkerheten ska beaktas vid bedömning av om ett prov är överensstämmande ska också denna parameter anges. Analysresultatet ska rapporteras som $x \pm U$, där x är analysresultatet och U den utvidgade mätosäkerheten beräknad med en täckningsfaktor på 2, vilket ger en konfidensgrad på cirka 95 %.
 - Resultaten ska anges i samma enheter och med samma antal signifikanta siffror som används för att ange gränsvärden i förordning (EG) nr 1881/2006.
-