

## KOMMISJONSFORORDNING (EU) nr. 278/2012

2017/EØS/51/06

av 28. mars 2012

**om endring av forordning (EF) nr. 152/2009 med hensyn til bestemmelse av innholdet av dioksiner og polyklorerte bifenyler(\*)**

EUROPAKOMMISJONEN HAR —

under henvisning til traktaten om Den europeiske unions virkemåte,

under henvisning til europaparlaments- og rådsforordning (EF) nr. 882/2004 av 29. april 2004 om offentlig kontroll for å sikre at fôrvarer- og næringsmiddelregelverket samt bestemmelsene om dyrs helse og velferd overholdes<sup>(1)</sup>, særlig artikkel 11 nr. 4, og

ut fra følgende betraktninger:

- 1) I europaparlaments- og rådsdirektiv 2002/32/EF av 7. mai 2002 om uønskede stoffer i fôrvarer<sup>(2)</sup> fastsettes grenseverdier for innholdet av dioksiner, furaner og polyklorerte bifenyler (PCB) i fôrvarer og tiltaksgrenser som utløser undersøkelser som medlemsstatene skal gjennomføre for å påvise kildene til disse stoffene.
- 2) Kommisjonsforordning (EF) nr. 152/2009 av 27. januar 2009 om fastsettelse av metoder for prøvetaking og analyse i forbindelse med offentlig kontroll av fôrvarer<sup>(3)</sup> inneholder metoder for bestemmelse av innholdet av polyklorerte dibenzo-p-dioksiner (PCDD), polyklorerte dibenzofuraner (PCDF) og dioksinlignende polyklorerte bifenyler (PCB) i fôrvarer.
- 3) En analyse med screeningmetode med allment anerkjent validering og høy kapasitet kan brukes til å identifisere prøver med et betydelig innhold av PCDD/PCDF og dioksinlignende PCB (fortrinnsvis en metode som gjør det mulig å skille ut prøver som overskrider tiltaksgrensene, og som sikrer at prøver som overskrider grenseverdiene, velges ut). Innholdet av PCDD/PCDF og dioksinlignende PCB i disse prøvene må deretter bestemmes ved hjelp av en bekreftende analysemetode. Det bør derfor fastsettes hensiktsmessige krav til screeningmetoden som sikrer at andelen prøver som er falskt negative i forhold til grenseverdiene, ligger under 5 %, og strenge krav til den bekreftende analysemetoden. Med en bekreftende analysemetode vil også lave bakgrunnsverdier kunne bestemmes. Dette er

viktig for oppfølging av utviklingstrekk over tid, eksponeringsvurdering og ny vurdering av grenseverdier og tiltaksgrenser.

- 4) Ettersom grenseverdiene for dioksiner og dioksinlignende PCB er blitt endret og ikke-dioksinlignende PCB er blitt omfattet av direktiv 2002/32/EF, og ettersom kriteriene for screening-metoder må ajourføres, er det nødvendig å endre reglene for bestemmelse av dioksiner og PCB i fôrvarer, som fastsatt i del B i vedlegg V til forordning (EF) nr. 152/2009. Av klarhets- og forståelighetshensyn bør del B i vedlegg V erstattes.
- 5) Det er svært viktig at analyseresultatene rapporteres og tolkes på en ensartet måte for å sikre harmonisert gjennomføring i hele Den europeiske union.
- 6) Vedlegg V til forordning (EF) nr. 152/2009 bør derfor endres.
- 7) Tiltakene fastsatt i denne forordning er i samsvar med uttalelse fra Den faste komité for næringsmiddelkjeden og dyrehelsen, og verken Europaparlamentet eller Rådet har motsatt seg dem —

VEDTATT DENNE FORORDNING:

*Artikkel 1*

Del B i vedlegg V til forordning (EF) nr. 152/2009 endres i samsvar med vedlegget til denne forordning.

*Artikkel 2*

Denne forordning trer i kraft den 20. dag etter at den er kunngjort i *Den europeiske unions tidende*.

Den får anvendelse fra den dagen den trer i kraft.

Denne forordning er bindende i alle deler og kommer direkte til anvendelse i alle medlemsstater.

Utferdiget i Brussel, 28. mars 2012

*For Kommisjonen*

José Manuel BARROSO

*President*

(\*) Denne unionsrettsakten, kunngjort i EUT L 91 av 29.3.2012, s. 8, er omhandlet i EØS-komiteens beslutning nr. 53/2013 av 3. mai 2013 om endring av EØS-avtalens vedlegg I (Veterinære og plantasemitære forhold), se EØS-tillegget til *Den europeiske unions tidende* nr. 61 av 31.10.2013, s. 4.

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

<sup>(2)</sup> EFT L 140 av 30.5.2002, s. 10.

<sup>(3)</sup> EUT L 54 av 26.2.2009, s. 1.

## VEDLEGG

I vedlegg V til forordning (EF) nr. 152/2009 skal del B «BESTEMMELSE AV INNHOLDET AV DIOKSINER (PCDD/PCDF) OG DIOKSINLIGNENDE PCB» lyde:

«B. BESTEMMELSE AV INNHOLDET AV DIOKSINER (PCDD/PCDF) OG PCB

## KAPITTEL I

*Prøvetakingsmetoder og tolking av analyseresultater*1. **Formål og virkeområde**

Prøver beregnet på offentlig kontroll av innholdet av polyklorert dibenzo-p-dioksin (PCDD), polyklorert dibenzofuran (PCDF), dioksinlignende polyklorerte bifenyler (PCB)(\*) og ikke-dioksinlignende PCB i fôrvarer skal tas i samsvar med bestemmelsene i vedlegg I. De kvantitative kravene i forbindelse med kontroll av stoffer eller produkter som er jevnt fordelt i fôvarene, som fastsatt i punkt 5.A i vedlegg I, får anvendelse. Samleprøvene som da oppnås, skal anses som representative for partiene eller delpartiene de er tatt fra. På grunnlag av innholdet som blir funnet i laboratorieprøvene, skal det fastslås om grenseverdiene fastsatt i direktiv 2002/32/EF er overholdt.

(\*) Tabell over WHO's toksisitetsekivalensfaktorer (TEF) for dioksiner, furaner og dioksinlignende PCB: WHO-TEF til vurdering av helserisiko for mennesker, basert på konklusjonene fra ekspertmøtet i Verdens helseorganisasjon (WHO) – International Programme on Chemical Safety (IPCS) i Genève i juni 2005 (Martin van den Berg et al., The 2005 World Health Organisation Re-evaluation of Human and Mammalian Toxic Equivalency Factors for Dioxins and Dioxin-like Compounds. Toxicological Sciences 93(2), 223–241 (2006)).

Forbindelse	TEF-verdi	Forbindelse	TEF-verdi
<b>Dibenzo-p-dioksiner (PCDD) og dibenzo-p-furaner (PCDF)</b>		<b>Dioksinlignende PCB: Non-orto PCB + mono-orto PCB</b>	
2,3,7,8-TCDD	1		
1,2,3,7,8-PeCDD	1	<i>Non-orto PCB</i>	
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0,1	PCB 77	0,0001
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0,1	PCB 81	0,0003
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0,1	PCB 126	0,1
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0,01	PCB 169	0,03
OCDD	0,0003		
		<i>Mono-orto PCB</i>	
2,3,7,8-TCDF	0,1	PCB 105	0,00003
1,2,3,7,8-PeCDF	0,03	PCB 114	0,00003
2,3,4,7,8-PeCDF	0,3	PCB 118	0,00003
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0,1	PCB 123	0,00003
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0,1	PCB 156	0,00003
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0,1	PCB 157	0,00003
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0,1	PCB 167	0,00003
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0,01	PCB 189	0,00003
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0,01		
OCDF	0,0003		

Forkortelser som er brukt: T = tetra, Pe = penta, Hx = hekso, Hp = hepta, O = okta, CDD = klordibenzodioksin, CDF = klordibenzofuran, CB = klorbifenyl.

I denne del av vedlegg V gjelder definisjonene fastsatt i vedlegg I til kommisjonsvedtak 2002/657/EF av 14. august 2002 om gjennomføring av rådsdirektiv 96/23/EF med hensyn til analysemetoders yteevne og tolking av resultater (\*\*).

(\*\*) EUT L 221 av 17.8.2002, s. 8.

## 2. Partiets eller delpartiets samsvar med spesifikasjonene

### 2.1 Ikke-dioksinlignende PCB

Partiet samsvarer med spesifikasjonene dersom analyseresultatet ikke overskrider grenseverdien for ikke-dioksinlignende PCB fastsatt i direktiv 2002/32/EF, idet det tas hensyn til måleusikkerheten.

Partiet er ikke i samsvar med spesifikasjonene dersom analyseresultatet for øvre konsentrasjon (\*\*\*) som er bekreftet ved to analyser (\*\*\*\*), overskrider grenseverdien fastsatt i direktiv 2002/32/EF, idet det tas hensyn til måleusikkerheten.

Det skal tas hensyn til måleusikkerheten på én av følgende måter:

- ved å beregne utvidet usikkerhet ved hjelp av en dekningsfaktor på 2, noe som gir et konfidensintervall på ca. 95 %. Et parti eller delparti oppfyller ikke kravene dersom den målte verdien minus U overskrider grenseverdien.
- ved å fastslå beslutningsgrensen ( $CC\alpha$ ) i samsvar med nr. 3.1.2.5 i vedlegg I til vedtak 2002/657/EF. Et parti eller delparti oppfyller ikke kravene dersom den målte verdien er lik eller over  $CC\alpha$ .

Disse tolkningsreglene skal gjelde for analyseresultater fra prøver som tas for offentlig kontroll. Ved analyse for klageadgangs- eller referanseformål gjelder nasjonale regler.

(\*\*\*) Begrepet «øvre konsentrasjon» innebærer at bidraget fra hver forbindelse som ikke er mengdebestemt, settes lik grensen for mengdebestemmelse. Begrepet «nedre konsentrasjon» innebærer at bidraget fra hver forbindelse som ikke er mengdebestemt, settes lik null. Begrepet «mellomkonsentrasjon» innebærer at bidraget fra hver forbindelse som ikke er mengdebestemt, settes lik halvparten av grensen for mengdebestemmelse.

(\*\*\*\*) Prøvene må analyseres to ganger for å utelukke muligheten for intern krysskontaminering eller utilsiktet forveksling av prøver. Den første analysen, idet det tas hensyn til måleusikkerheten, skal bekrefte at kravene er oppfylt. Dersom analysen utføres i forbindelse med en forurensningshendelse, kan bekreftelse ved en analyse nummer to sløyfes dersom prøvene som er tatt til analyse, kan knyttes til forurensningen ved hjelp av sporbarhet.

### 2.2 Med hensyn til dioksiner (PCDD/F) og dioksinlignende PCB

Partiet er i samsvar med spesifikasjonene dersom resultatet av en enkelt analyse

- utført ved hjelp av en screeningmetode der andelen falskt negative prøver er under 5 %, angir at innholdet ikke overskrider grenseverdien for henholdsvis PCDD/PCDF og summen av PCDD/PCDF og dioksinlignende PCB fastsatt i direktiv 2002/32/EF,
- utført ved hjelp av en bekreftelsesmetode ikke overskrider grenseverdien for henholdsvis PCDD/PCDF og summen av PCDD/PCDF og dioksinlignende PCB som fastsatt i direktiv 2002/32/EF, idet det tas hensyn til måleusikkerheten.

For screeningprøver skal det fastsettes en terskelverdi som danner grunnlaget for beslutningen om hvorvidt de ulike aktuelle nivåene som er fastsatt for enten PCDD/PCDF eller for summen av PCDD/PCDF og dioksinlignende PCB, er overholdt.

Partiet er ikke i samsvar med spesifikasjonene dersom analyseresultatet for øvre konsentrasjon (\*\*\*\*\*) oppnådd ved en bekreftelsesmetode og bekreftet ved to analyser, overskrider grenseverdien fastsatt i direktiv 2002/32/EF, idet det tas hensyn til måleusikkerheten (\*\*\*\*\*).

Det skal tas hensyn til måleusikkerheten på én av følgende måter:

- Ved å beregne utvidet usikkerhet ved hjelp av en dekningsfaktor på 2, noe som gir et konfidensintervall på ca. 95 %. Et parti eller delparti oppfyller ikke kravene dersom den målte verdien minus U overskrider grenseverdien. Dersom PCDD/PCDF og dioksinlignende PCB bestemmes hver for seg, skal summen av beregnet utvidet usikkerhet for de atskilte analyseresultatene for PCDD/PCDF og dioksinlignende PCB brukes som summen av PCDD/PCDF og dioksinlignende PCB.
- Ved å fastslå beslutningsgrensen ( $CC\alpha$ ) i samsvar med nr. 3.1.2.5 i vedlegg I til vedtak 2002/657/EF. Et parti eller delparti oppfyller ikke kravene dersom den målte verdien er lik eller over  $CC\alpha$ .

Disse tolkningsreglene skal gjelde for analyseresultater fra prøver som tas for offentlig kontroll. Ved analyse for klageadgangs- eller referanseformål gjelder nasjonale regler.

(\*\*\*\*\*) Begrepet «øvre konsentrasjon» innebærer at bidraget til toksisitetsekvivalenten (TEQ) fra hver forbindelse som ikke er mengdebestemt, settes lik verdien for grensen for mengdebestemmelse. Begrepet «nedre konsentrasjon» innebærer at bidraget til TEQ fra hver forbindelse som ikke er mengdebestemt, settes lik null. Begrepet «mellomkonsentrasjon» innebærer at bidraget til TEQ fra hver forbindelse som ikke er mengdebestemt, settes lik halvparten av verdien for grensen for mengdebestemmelse.

(\*\*\*\*\*) Prøvene må analyseres to ganger for å utelukke muligheten for intern krysskontaminering eller utilsiktet forveksling av prøver. Den første analysen, idet det tas hensyn til måleusikkerheten, skal bekrefte at kravene er oppfylt. Dersom analysen utføres i forbindelse med en forurensningshendelse, kan bekreftelse ved en analyse nummer to sløyfes dersom prøvene som er tatt til analyse, kan knyttes til forurensningen ved hjelp av sporbarhet.

### 3. Resultater som overskrider tiltaksgrensene fastsatt i vedlegg II til direktiv 2002/32/EF

Tiltaksgrenser er et verktøy som gjør det mulig å velge ut prøver i tilfeller der det er nødvendig å identifisere en forurensningskilde, og å treffe tiltak for å redusere eller fjerne den. Hensiktsmessige terskelverdier for utvelging av prøvene skal fastsettes ved hjelp av screeningmetoder. Arbeidet med å identifisere en forurensningskilde og redusere eller fjerne den skal innledes bare dersom overskridelse av tiltaksgrensene er bekreftet gjennom to analyser der en bekreftelsesmetode er benyttet, idet det er tatt hensyn til måleusikkerheten (\*\*\*\*\*).

(\*\*\*\*\*) Samme forklaring og krav til to analyse for kontroll av tiltaksgrenser som i fotnote(\*\*\*\*\*) for grenseverdier. Begrepet «øvre konsentrasjon» innebærer at bidraget til toksisitetsekvivalenten (TEQ) fra hver forbindelse som ikke er mengdebestemt, settes lik verdien for grensen for mengdebestemmelse. Begrepet «nedre konsentrasjon» innebærer at bidraget til TEQ fra hver forbindelse som ikke er mengdebestemt, settes lik null. Begrepet «mellomkonsentrasjon» innebærer at bidraget til TEQ fra hver forbindelse som ikke er mengdebestemt, settes lik halvparten av verdien for grensen for mengdebestemmelse.

## KAPITTEL II

### *Tillaging av prøver og krav til analysemetoder for offentlig kontroll av innholdet av dioksiner (PCDD/PCDF) og dioksinlignende PCB i fôrvarer*

#### 1. Bruksområde

Kravene fastsatt i dette vedlegg får anvendelse når fôrvarer analyseres med henblikk på offentlig kontroll av innholdet av 2,3,7,8-substituerte polyklorerte dibenzo-p-dioksiner (PCDD), polyklorerte dibenzofuraner (PCDF) og dioksinlignende polyklorerte bifenylar (dioksinlignende PCB), og for andre forskriftsmessige formål.

Overvåking av innholdet av PCDD/PCDF og dioksinlignende PCB i fôrvarer kan ha to ulike formål:

- Utvelging av prøver der innholdet av PCDD/PCDF og dioksinlignende PCB overskrider grenseverdiene eller tiltaksgrensene. Denne framgangsmåten kan omfatte en screeningmetode som gir kostnadseffektiv og høy prøvekapasitet, noe som dermed øker mulighetene til å oppdage nye hendelser med høy eksponering og helsefare for forbrukerne. Screeningmetoder kan omfatte bioanalytiske metoder og GC/MS-metoder. Bruken av disse metodene bør ta sikte på å unngå falskt negative resultater. Innholdet av PCDD/PCDF og summen av PCDD/PCDF og dioksinlignende PCB i prøver med et betydelig innhold skal bestemmes/bekreftes med en bekreftelsesmetode.
- Bestemmelse av innholdet av PCDD/PCDF og dioksinlignende PCB i fôrvarerprøver med lave bakgrunnsverdier. Dette er viktig for å kunne følge utviklingen over tid og eksponeringsvurderinger av befolkningen og for å kunne opprette en database for eventuell ny vurdering av tiltaksgrensene og grenseverdiene. Dette målet nås gjennom bekreftelsesmetoder som gjør det mulig å identifisere og kvantifisere PCDD/PCDF og dioksinlignende PCB på det aktuelle nivået på en entydig måte. Disse metodene kan brukes for bekreftelse av resultater oppnådd gjennom screeningmetoder og for bestemmelse av lave bakgrunnsverdier i fôrvarerovervåkingen. De er også viktige for å etablere forbindelsesmønstre for å påvise kilden til en eventuell forurensning. For tiden brukes gasskromatografi/massespektrometri med høy oppløsning (HRGC/HRMS) i disse metodene.

#### 2. Klassifisering av metoder etter kvantifiseringsgrad (\*\*\*\*\*)

(\*\*\*\*\*) Tilpasset til PCDD/PCDF og dioksinlignende forbindelser på grunnlag av «Guidelines for the validation of screening methods for residues of veterinary medicines», EU-referanselaboratorier (EURL) for restmengder av veterinærpreparater og forurensende stoffer i næringsmidler av animalsk opprinnelse i Fougères, Berlin og Bilthoven, 20.1.2010, [http://ec.europa.eu/food/food/chemicalsafety/residues/lab\\_analysis\\_en.htm](http://ec.europa.eu/food/food/chemicalsafety/residues/lab_analysis_en.htm)

- 2.1 Kvalitative metoder gir bare et ja/nei-svar på forekomsten av aktuelle analytter og ingen opplysninger om den eventuelle analyttens konsentrasjon. Kvalitative metoder kan eventuelt gi semikvantitative resultater, men de brukes bare som et ja/nei-svar for å påvise forekomster over eller under et visst nivå, som påvisningsgrense, grense for mengdebestemmelse eller terskelverdi.

For kontroll av grenseverdier og tiltaksgrenser for PCDD/PCDF og dioksinlignende PCB i fôrvarer kan man bruke screeningmetoder der analyseresultatet sammenlignes med en terskelverdi, og som gir et ja/nei-svar på om det aktuelle nivået eventuelt er overskredet.

- 2.2 *Semikvantitative metoder* gir en omtrentlig indikasjon på konsentrasjonen i den eventuelle analytten, mens det numeriske resultatet ikke oppfyller kravene til kvantitative metoder. De kan brukes til å framskaffe opplysninger om analyttens konsentrasjonsområde, for å bestemme hvilket kalibreringsområde som skal brukes for den etterfølgende bekreftende prøven og til å utføre kvalitetskontroller. For eksempel skal følgende metoder betraktes som semikvantitative metoder:

- a) Metoder basert på bruken av biologiske prinsipper som cellebaserte prøver, reseptoranalyser eller immunologiske analyser, heretter kalt bioanalytiske metoder, som kan påvise de aktuelle analyttene, herunder en kalibreringskurve, gi et ja/nei-svar på om det aktuelle nivået eventuelt er overskredet og gjøre det mulig å rapportere resultatet i form av bioanalytiske ekvivalenter (BEQ), som gir en indikasjon på prøvens TEQ-verdi.
- b) Fysikalsk-kjemisk forsøk (f.eks. gasskromatografi med massespektrometri / massespektrometri (GC-MS/MS) eller gasskromatografi / massespektrometri med lav oppløsning (GC/LRMS)), der metodens målte presisjonsnivå ikke oppfyller kravene til kvantitative analyser.

- 2.3 *Kvantitative metoder* oppfyller de samme krav til nøyaktighet, måleområde og presisjon som bekreftelsesmetoder. Når kvantifisering er påkrevd, skal disse metodene valideres som bekreftelsesmetoder.

### 3. **Bakgrunn**

Ved beregning av konsentrasjoner av toksisitetsekvivalenter (TEQ) skal konsentrasjonene av de enkelte stoffene i en gitt prøve multipliseres med sine respektive toksisitetsekvivalensfaktorer (TEF), som fastsatt av Verdens helseorganisasjon og oppført i tillegget til dette vedlegg, og deretter summeres for å gi den samlede konsentrasjonen av dioksinlignende forbindelser uttrykt i TEQ.

I henhold til denne del B av vedlegg V skal den aksepterte spesifikke grensen for mengdebestemmelse av en enkeltforbindelse være konsentrasjonen av en analytt i et ekstrakt av en prøve som gir et instrumentutslag for de to forskjellige ionene som skal overvåkes, med et signal/støy-forhold på 3:1 for det minst følsomme signalet, og som oppfyller de grunnleggende kravene, f.eks. i standard prEN 16215 (Dyrefôr – Bestemmelse av dioksiner og dioksinlignende PCB ved GC/HRMS) og av indikator-PCB ved GC/HRMS) og/eller i EPA-metode 1613 revisjon B.

Bioanalytiske screeningmetoder gir ikke resultater på forbindelsesnivå, men gir bare en indikasjon(\*\*\*\*\*) på TEQ-nivået, uttrykt i bioanalytiske ekvivalenter (BEQ), der det tas hensyn til det faktum at ikke alle forbindelser i et prøveekstrakt som gir respons i analysen, oppfyller alle kravene i TEQ-prinsippet.

Screening- og bekreftelsesmetoder skal brukes til kontroll av en viss matriks bare dersom metodene er følsomme nok til å påvise forekomster på det aktuelle nivået (tiltaksgrense eller grenseverdi) på en pålitelig måte.

(\*\*\*\*\*) Bioanalytiske metoder er ikke spesielt utformet for forbindelsene i TEF-systemet. I prøveekstraktet kan det også finnes andre strukturelt beslektede AhR-aktive forbindelser som kan bidra til samlet respons. Bioanalytiske resultater kan derfor ikke være et estimat, men snarere en indikasjon på TEQ-nivået i prøven.

### 4. **Krav til kvalitetssikring**

- 4.1 Det skal treffes tiltak for å unngå krysskontaminering på alle trinn i prøvetakings- og analyseprosessen.
- 4.2 Prøvene skal oppbevares og transporteres i beholdere laget av glass, aluminium, polypropylen eller polyetylen som egner seg for oppbevaring uten at innholdet av PCDD/PCDF og dioksinlignende PCB i prøvene påvirkes. Spor av papirstøv skal fjernes fra prøvebeholderen.

- 4.3 Oppbevaring og transport skal foregå på en slik måte at fôrvareprøven bevares i uendret stand.
- 4.4 Om nødvendig skal hver laboratorieprøve finnes og blandes grundig etter en metode som sikrer fullstendig homogenisering (f.eks. så finmalt at prøven kan passere en sikt med 1 mm maskevidde). Prøvene skal tørkes før de males dersom vanninnholdet er for høyt.
- 4.5 Det er viktig å kontrollere om reagenser, glassbeholdere og utstyr eventuelt kan påvirke de TEQ- eller BEQ-baserte resultatene.
- 4.6 Det skal utføres en blindprøve ved at hele analysemetoden følges og bare prøven utelates.
- 4.7 For bioanalytiske metoder skal det kontrolleres at alle glassvarer og løsemidler som brukes i analysene, ikke inneholder forbindelser som kan interferere med påvisningen av målforbindelser i måleområdet. Glassvarer skal skylles med løsemidler eller varmes opp til en temperatur som er tilstrekkelig høy til å fjerne spor av PCDD/PCDF, dioksinlignende forbindelser og interfererende forbindelser fra overflatene.
- 4.8 Prøven som ekstraheres, må være stor nok til å oppfylle kravene om et tilstrekkelig lavt måleområde som omfatter de aktuelle konsentrasjonene.
- 4.9 De enkelte framgangsmåtene for tillaging av prøver som brukes for de aktuelle produktene, skal følge internasjonalt anerkjente retningslinjer.

## 5. **Krav til laboratorier**

- 5.1 I samsvar med bestemmelsene i forordning (EF) nr. 882/2004 skal laboratoriene være akkreditert av et godkjent organ som oppfyller kravene i ISO Guide 58, for å sikre at de anvender metoder for kvalitetssikring av sine analyser. Laboratoriene skal være akkreditert i henhold til standarden EN ISO/IEC 17025.
- 5.2 Laboratoriets kompetanse skal dokumenteres ved løpende deltaking i undersøkelser som foretas ved flere laboratorier, for å bestemme PCDD/PCDF og dioksinlignende PCB i relevante fôrmatrikser og konsentrasjonsområder.
- 5.3 Laboratorier som bruker screeningmetoder for rutinekontroll av prøver, skal ha et tett samarbeid med laboratorier som bruker bekreftelsesmetoden, både for kvalitetskontroll og for å bekrefte analyseresultatet for mistenkte prøver.

## 6. **Grunnleggende krav til analysemetoder for dioksiner (PCDD/PCDF) og dioksinlignende PCB**

### 6.1 *Lavt måleområde og lave grenser for mengdebestemmelse*

Noen PCDD-/PCDF-forbindelser er ekstremt giftige, og de påviselige mengdene skal derfor ligge i øvre femtogram-område ( $10^{-15}$ g). For de fleste PCB-forbindelser er det tilstrekkelig med en grense for mengdebestemmelse i nanogram-området ( $10^{-9}$ g). Ved måling av de giftigere dioksinlignende PCB-forbindelsene (særlig non-orto-substituerte forbindelser) må imidlertid den laveste delen av måleområdet nå de lave pikogram-nivåene ( $10^{-12}$ g). For alle andre PCB-forbindelser er det tilstrekkelig med en grense for mengdebestemmelse i nanogram-området ( $10^{-9}$ g).

### 6.2 *Høy selektivitet (spesifisitet)*

- 6.2.1 Det må kunne skilles mellom PCDD/PCDF og dioksinlignende PCB og en rekke andre potensielt interfererende forbindelser som ekstraheres samtidig, og som forekommer i konsentrasjoner som kan være flere ganger høyere enn de relevante analyttenes. For GC/MS-metoder skal det kunne skilles mellom ulike forbindelser, f.eks. mellom giftige (som de sytten 2,3,7,8-substituerte PCDD og PCDF og de tolv dioksinlignende PCB) og andre forbindelser.
- 6.2.2 Bioanalytiske metoder skal kunne påvise målforbindelser som summen av PCDD/PCDF og/eller dioksinlignende PCB. Rensing av prøven skal ha som mål å fjerne forbindelser som forårsaker falskt positive resultater eller forbindelser som svekker responsen og dermed forårsaker falskt negative resultater.

### 6.3 *Høy nøyaktighet (riktighet og presisjon, gjenfinningsgrad ved biologisk prøving)*

- 6.3.1 For GC/MS-metoder skal bestemmelsen gi et gyldig anslag over den faktiske konsentrasjonen i en prøve. Høy nøyaktighet er nødvendig for å unngå at et resultat av en analyse avvikes fordi TEQ-nivået som er bestemt, ikke er tilstrekkelig pålitelig. Nøyaktighet uttrykkes som *riktighet* (differansen mellom den målte gjennomsnittsverdien for en analytt i et sertifisert materiale og dens sertifiserte verdi, uttrykt som en prosentandel av denne verdien) og *presisjon* ( $RSD_R$ , det vil si relativt standardavvik beregnet fra resultater som er oppnådd under reproducerbarhetsforhold).

6.3.2 For bioanalytiske metoder skal gjenfinningsgraden ved biologisk prøving bestemmes. Gjenfinningsgrad ved biologisk prøving er BEQ-nivået beregnet ut fra TCDD- eller PCB 126-kalibreringskurven korrigert for blindprøven og deretter delt på TEQ-nivået bestemt av GC/HRMS. Formålet er å korrigere for faktorer som tap av PCDD/PCDF og dioksinlignende forbindelser i ekstraksjons- og rensingsfasene, forbindelser som ekstraheres samtidig, og som forsterker eller svekker responsen (agonistisk og antagonistisk virkning), kvaliteten på kurvetilpasningen eller forskjeller mellom verdiene for toksisitetsekvivalensfaktor (TEF) og relativ potens (REP). Gjenfinningsgraden ved biologisk prøving beregnes ut fra egnede referanseprøver med representative forbindelsesmønstre nær det relevante nivået.

#### 6.4 Validering i området for det aktuelle nivået og alminnelige kontrolltiltak

6.4.1 Laboratoriene skal dokumentere en metodes ytelse i området for det aktuelle nivået, f.eks. 0,5, 1 og 2 ganger det aktuelle nivået, med en akseptabel variasjonskoeffisient for gjentatte analyser under valideringen og under rutineanalyser.

6.4.2 Som interne kvalitetskontrolltiltak skal det foretas jevnlige blindkontroller og tilsetningsforsøk eller analyser av kontrollprøver (om mulig helst med sertifisert referansmateriale). Kvalitetskontrolldiagrammer for blindkontroller, tilsetningsforsøk eller analysing av kontrollprøver skal utarbeides og kontrolleres for å sikre at analyseytelsen oppfyller kravene.

#### 6.5 Grense for mengdebestemmelse

6.5.1 For bioanalytiske screeningmetoder er det ikke påkrevd å fastsette en grense for mengdebestemmelse (LOQ), men det skal dokumenteres at metoden kan skille mellom blindprøve- og terskelverdien. Når et BEQ-nivå bestemmes, skal det fastsettes et rapporteringsnivå for å håndtere prøver som viser en respons under dette nivået. Det skal vises at rapporteringsnivået er forskjellig fra metodens blindprøve med en faktor på minst tre og gir respons ved innhold under måleområdet. Det skal derfor beregnes ut fra prøver som har et innhold av målforbindelser nær det påkrevde minstenivået, og ikke ut fra et signal/støy-forhold eller en analyseblindprøve.

6.5.2 For bekreftelsesmetoder skal grensen for mengdebestemmelse være på ca. én femdel av det aktuelle nivået.

#### 6.6 Analysekriterier

For å sikre pålitelige resultater av bekreftelses- eller screeningmetoder skal følgende kriterier være oppfylt for henholdsvis TEQ- og BEQ-verdien, uavhengig av om den bestemmes som en samlet TEQ (summen av PCDD/PCDF og dioksinlignende PCB) eller separat for PCDD/PCDF og dioksinlignende PCB:

	Screening med bioanalytiske eller fysikalsk-kjemiske metoder.	Bekreftelsesmetoder
Andel falskt negative prøver(*)	< 5 %	
Riktighet		- 20 % til + 20 %
Repeterbarhet (RSD <sub>r</sub> )	< 20 %	
Intern reproducerbarhet (RSD <sub>R</sub> )	< 25 %	< 15 %

(\*) Med hensyn til grenseverdiene.

#### 6.7 Særlige krav til screeningmetoder

6.7.1 Både GC/MS-metoder og bioanalytiske metoder kan brukes til screening. Ved bruk av GC/MS-metoder får kravene fastsatt i nr. 7 anvendelse. For cellebaserte bioanalytiske metoder er det fastsatt særlige krav i nr. 8.

6.7.2 Laboratorier som bruker screeningmetoder for rutinekontroll av prøver, skal ha et tett samarbeid med laboratorier som bruker bekreftelsesmetoden.

6.7.3 Screeningmetodens ytelse skal kontrolleres ved rutineanalyser ved hjelp av analytisk kvalitetskontroll og løpende metodevalidering. Det skal foreligge et løpende program for kontroll av negative resultater.

#### 6.7.4 Kontroll av mulig hemming av cellerespons og cytotoxisitet:

Ved rutinemessig screening skal 20 % av prøveekstraktene analyseres med og uten tilsetning av den mengde 2,3,7,8-TCDD som tilsvarer det aktuelle nivået, for å kontrollere om responsen eventuelt hemmes av interfererende stoffer i prøveekstraktet. Den målte konsentrasjonen i prøven med tilsetning skal sammenlignes med summen av konsentrasjonen i ekstraktet uten tilsetning og tilsetningskonsentrasjonen. Dersom den målte konsentrasjonen er mer enn 25 % lavere enn den beregnede konsentrasjonen (summen), tyder dette på at signalet kan være hemmet. Den aktuelle prøven skal da gjennomgå en bekreftende GC/HRMS-analyse. Resultatene skal kontrolleres ved hjelp av kvalitetskontrolldiagrammer.

#### 6.7.5 Kvalitetskontroll av negative prøver:

Om lag 2–10 % av de negative prøvene skal bekreftes med GC/HRMS, avhengig av prøvematriks og laboratoriets erfaringsnivå.

#### 6.7.6 Bestemmelse av andelen falskt negative prøver på grunnlag av kvalitetskontrolldata:

Etter screening av prøver med innhold over eller under grenseverdiene eller tiltaksgrensene skal andelen falskt negative prøver bestemmes. Den faktiske andelen falskt negative prøver skal være under 5 %. Når det ved kvalitetskontroll av falskt negative prøver foreligger minst 20 bekreftede resultater per matriks/matriksgruppe, skal disse opplysningene danne grunnlaget for å trekke konklusjoner om andelen falskt negative prøver. Resultater fra prøver analysert ved ringprøving eller under forurensningshendelser og som dekker et konsentrasjonsområde opptil f.eks. to ganger grenseverdien, kan også tas med i de minst 20 resultatene som skal legges til grunn for vurderingen av andelen falskt negative prøver. Prøvene skal omfatte de vanligste forbindelsesmønstrene og komme fra ulike kilder.

Selv om formålet med screeningprøver fortrinnsvis er å oppdage prøver som overskrider tiltaksgrensen, er det grenseverdien som er kriteriet for å bestemme andelen falskt negative prøver, idet det tas hensyn til bekreftelsesmetodens måleusikkerhet.

#### 6.7.7 Prøver fra screeningundersøkelser som mistenkes å være positive, skal alltid kontrolleres ved hjelp av en bekreftende analysemetode (GC/HRMS). Disse prøveresultatene kan også anvendes for å vurdere andelen falskt positive prøver. For screeningmetoder er andelen falskt positive prøver den andelen av resultatene som en bekreftende GC/HRMS-analyse bekrefter som negative, selv om prøven i en tidligere screening er erklært som mistenkt positiv. En vurdering av hvor godt screeningmetoden fungerer, skal imidlertid baseres på en sammenligning av falskt positive prøver og det samlede antall prøver som er undersøkt. Andelen skal være tilstrekkelig lav til at det lønner seg å bruke en screeningmetode.

#### 6.7.8 Bioanalytiske metoder skal, i hvert fall under valideringsforhold, gi en gyldig indikasjon på TEQ-nivået, beregnet og uttrykt i BEQ.

Også for bioanalytiske metoder som gjennomføres under repeterbarhetsforhold, vil intern  $RSD_r$  normalt være mindre enn  $RSD_R$  (reproduserbarhet).

### 7. Særlige krav til GC/MS-metoder i forbindelse med screening eller bekreftelse

#### 7.1 Alminnelige krav

Differansen mellom øvre og nedre konsentrasjon av forbindelsene bør ikke overskride 20 % for forvarer med en dioksinforurensning på ca. 1 ng WHO-TEQ/kg produkt med 12 % vanninnhold (basert på summen av PCDD/PCDF og dioksinlignende PCB). Ved lavere forurensningsnivåer, f.eks. 0,5 ng WHO-TEQ/kg produkt, kan det være en differanse på 25–40 % mellom øvre og nedre konsentrasjon.

#### 7.2 Kontroll av gjenfinning

##### 7.2.1 For å validere analysemetoden må det tilsettes $^{13}\text{C}$ -merkede 2,3,7,8-klorsubstituerte interne PCDD/PCDF-standarder og $^{13}\text{C}$ -merkede interne dioksinlignende PCB-standarder helt i begynnelsen av analysemetoden, f.eks. før ekstraksjon. Det skal tilsettes minst én forbindelse for hver av de tetra- til okta-klorerte homologe gruppene av PCDD/PCDF og minst én forbindelse for hver av de homologe gruppene for dioksinlignende PCB (og eventuelt minst én forbindelse for hver valgte massespektrometriske ioneregistreringsfunksjon, som brukes til kontroll av PCDD/PCDF-er og dioksinlignende PCB). Når det gjelder bekreftelsesmetoder, skal alle de sytten $^{13}\text{C}$ -merkede 2,3,7,8-substituerte interne PCDD/PCDF-standardene og alle de tolv $^{13}\text{C}$ -merkede interne dioksinlignende PCB-standardene brukes.



- 7.2.2 Ved hjelp av relevante kalibreringsløsninger skal dessuten relative responsfaktorer bestemmes for de forbindelser som ikke tilsettes en <sup>13</sup>C-merket analog.
- 7.2.3 For fôr av vegetabilsk eller animalsk opprinnelse som inneholder mindre enn 10 % fett, skal interne standarder tilsettes før ekstraksjon. For fôr av animalsk opprinnelse som inneholder mer enn 10 % fett, kan de interne standardene tilsettes enten før eller etter fettekstraksjonen. Det skal foretas en hensiktsmessig validering av ekstraksjonseffektiviteten avhengig av i hvilken fase de interne standardene ble tilsatt, og om resultatene angis på grunnlag av produkt eller fett.
- 7.2.4 Før GC/MS-analyse skal det tilsettes én eller to gjenfinningsstandarder (surrogatstandarder).
- 7.2.5 Gjenfinningen skal kontrolleres. For bekreftelsesmetoder skal gjenfinningen av de enkelte interne standardene ligge i området 60–120 %. For enkeltforbindelser, særlig visse hepta- og okta-klorerte dibenzo-p-dioksiner og dibenzofuraner, kan lavere eller høyere gjenfinninger godtas, forutsatt at deres bidrag til TEQ-verdien ikke overskrider 10 % av den samlede TEQ-verdien (basert på summen av PCDD/PCDF og dioksinlignende PCB). Ved bruk av GC/MS-screeningmetoder skal gjenfinningen ligge i området 30–140 %.
- 7.3. *Fjerning av forstyrrende stoffer*
- Separasjon av PCDD/PCDF fra interfererende klorerte forbindelser som ikke-dioksinlignende PCB og klorerte difenyletere skal gjennomføres ved hjelp av egnede kromatografiteknikker (fortrinnsvis med florisil-, aluminiumoksid- og/eller karbonkolonne).
  - Gasskromatografisk separasjon av isomerer skal være < 25 % fra topp til topp mellom 1,2,3,4,7,8-HxCDF og 1,2,3,6,7,8-HxCDF.
- 7.4 *Kalibrering med standardkurve*
- Området for kalibreringskurven skal dekke de relevante aktuelle nivåene.

## 8. Særlige krav til bioanalytiske metoder

Bioanalytiske metoder er metoder basert på bruken av biologiske prinsipper som cellebaserte prøver, reseptoranalyser eller immunologiske analyser. Her i nr. 8 fastsettes allmenne krav til bioanalytiske metoder.

Gjennom en sammenligning av beregnet BEQ-nivå og terskelverdien (se 8.3) klassifiserer en screeningmetode i prinsippet en prøve som enten negativ eller mistenkt positiv. Prøver under terskelverdien erklæres som negative, og prøver som er lik eller over terskelverdien er mistenkt positive og må analyseres med en bekreftelsesmetode. I praksis kan et BEQ-nivå som tilsvarer 2/3 av grenseverdien, fungere som den mest hensiktsmessige terskelverdien for å sikre at andelen falskt negative prøver er på under 5 % og at andelen falskt positive prøver er akseptabel. Med egne grenseverdier for PCDD/PCDF og for summen av PCDD/PCDF og dioksinlignende PCB kreves hensiktsmessige terskelverdier for biologiske prøver av PCDD/PCDF for å kunne kontrollere prøvens samsvar uten fraksjonering. For kontroll av prøver som overskrider tiltaksgrensene, kan en passende prosentandel av det aktuelle nivået være en egnet terskelverdi.

Når det gjelder visse bioanalytiske metoder, kan det dessuten fastsettes et veiledende nivå uttrykt i BEQ for prøver i måleområdet som overskrider rapporteringsgrensen (se 8.1.1 og 8.1.6)

### 8.1 *Vurdering av analyseresponsen*

#### 8.1.1 *Alminnelige krav*

- Når konsentrasjonene beregnes ut fra en TCDD-kalibreringskurve, vil de laveste og høyeste konsentrasjonene i kurven vise stor variasjon (høy variasjonskoeffisient). Måleområdet er området der variasjonskoeffisienten er lavere enn 15 %. Den laveste konsentrasjonen i måleområdet (rapporteringsgrensen) skal ligge over metodens blindprøver med minst en faktor på 3. Den høyeste konsentrasjonen i måleområdet er vanligvis representert med en EC70-verdi (70 % av høyeste effektive konsentrasjon), men lavere dersom variasjonskoeffisienten er høyere enn 15 % i dette området. Måleområdet skal fastsettes under valideringen. Terskelverdiene (se nr. 8.3) skal ligge godt innenfor måleområdet.
- Standardløsninger og prøveekstrakter skal prøves med minst to analyser. Ved bruk av en dobbeltanalyse skal en standardløsning eller et kontrollekstrakt som er analysert i 4–6 brønner fordelt over platen, gi en respons eller en konsentrasjon (bare mulig i måleområdet) med en variasjonskoeffisient < 15 %

#### 8.1.2 *Kalibrering*

##### 8.1.2.1 *Kalibrering med standardkurve*

- Innholdet i prøver kan beregnes ved å sammenligne analyseresponsen med en kalibreringskurve for TCDD (eller PCB 126 eller en standardblanding av PCDD / PCDF / dioksinlignende PCB) for å beregne BEQ-nivået i ekstraktet og deretter i prøven.

- Kalibreringskurvene skal inneholde 8–12 konsentrasjoner (minst en dobbelanalyse) med nok konsentrasjoner i den nedre delen av kurven (måleområdet). Det skal legges særlig vekt på kvaliteten på kurvetilpasningen i måleområdet. Når tilpasningsgraden ved ikke-lineær regresjon skal bedømmes, har R<sup>2</sup>-verdien liten eller ingen betydning. En bedre tilpasning oppnås ved å redusere differansen mellom beregnede og observerte nivåer i kurvens måleområde, f.eks. ved å redusere residualkvadratsummen til et minimum.
- Beregnet innhold i prøveekstraktet korrigeres deretter for BEQ-nivået som er beregnet for en matriks- eller løsemiddelblindprøve (for å ta hensyn til urenheter fra løsemidler og kjemiske stoffer som er bruk), og for gjenfinningsgraden (beregnet ut fra BEQ-nivået i egnede referanseprøver med forbindelsesmønstre som ligger nær det aktuelle nivået). Når man korrigerer for gjenfinning, skal gjenfinningsgraden alltid være innenfor påkrevd område (se nr. 8.1.4). Referanseprøver som brukes for å korrigere for gjenfinning, må oppfylle kravene angitt i nr. 8.2.

#### 8.1.2.2 Kalibrering med referanseprøver

En kalibreringskurve framstilt av minst fire referanseprøver (se nr. 8.24: en matriksblindprøve og tre referanseprøver på 0,5, 1 og 2 ganger det aktuelle nivået) nær det aktuelle nivået kan eventuelt brukes, noe som fjerner behovet for å korrigere for blindprøve og gjenfinning. I slike tilfeller kan analyseresponen som tilsvare 2/3 av grenseverdien (se nr. 8.3), beregnes direkte fra disse prøvene og brukes som terskelverdi. For kontroll av prøver som overskrider tiltaksgrensene, vil en egnet prosentandel av disse tiltaksgrensene være en egnet terskelverdi.

#### 8.1.3 Separat bestemmelse av PCDD/PCDF og dioksinlignende PCB

Ekstraktene kan deles opp i fraksjoner som inneholder PCDD/PCDF og dioksinlignende PCB, slik at TEQ-nivået for PCDD/PCDF og dioksinlignende PCB kan angis hver for seg (i BEQ). Det skal fortrinnsvis brukes en kalibreringskurve for PBC 126-standard til å vurdere resultatene for fraksjonen som inneholder dioksinlignende PCB.

#### 8.1.4 Gjenfinningsgrad ved biologisk prøving

«Gjenfinningsgrad ved biologisk prøving» skal beregnes ut fra egnede referanseprøver med representative forbindelsesmønstre nær det aktuelle nivået, og uttrykkes i prosentandel av BEQ-nivået sammenlignet med TEQ-nivået. Avhengig av analysetype og hvilke TEF-verdier (\*\*\*\*\*) som er brukt, kan forskjellene mellom TEF- og REP-faktorene for dioksinlignende PCB forårsake lav gjenfinningsgrad for dioksinlignende PCB sammenlignet med PCDD/PCDF. Dersom det gjennomføres en separat bestemmelse av PCDD/PCDF og dioksinlignende PCB, skal gjenfinningsgraden ved biologisk prøving derfor være 25–60 % for dioksinlignende PCB og 50–130 % for PCDD/PCDF (området gjelder for TCDD-kalibreringskurven). Ettersom bidraget fra dioksinlignende PCB til summen av PCDD/PCDF og dioksinlignende PCB kan variere mellom ulike matrikser og prøver, avspeiler gjenfinningsgraden ved biologisk prøving for summen av PCDD/PCDF og dioksinlignende PCB disse områdene, og skal være på mellom 30 og 130 %. Dersom TEF-verdiene for PCDD/PCDF og dioksinlignende PCB i EU-regelverket endres vesentlig, må disse områdene revideres.

(\*\*\*\*\*) Gjeldende krav er basert på TEF-verdiene offentliggjort i M. Van den Berg et al., *Toxicol Sci* 93 (2), 223–241 (2006).

#### 8.1.5 Kontroll av gjenfinning etter rensing

Tapet av forbindelser under rensing skal kontrolleres under validering. En blindprøve tilsatt en blanding av ulike forbindelser skal gjennomgå rensing (minst  $n = 3$ ), og gjenfinning og variabilitet kontrolleres ved en GC/HRMS-analyse. Gjenfinningen skal være innenfor 60–120 %, særlig for forbindelser som bidrar med mer enn 10 % til TEQ-nivået i de ulike blandingene.

#### 8.1.6 Rapporteringsgrense

Ved rapportering av BEQ-nivåer skal det fastsettes en rapporteringsgrense ut fra relevante matriksprøver med typiske forbindelsesmønstre, men ikke ut fra standardenes kalibreringskurve, ettersom presisjonen er lav i den nedre delen av kurven. Det skal tas hensyn til virkningene av ekstraksjon og rensing. Rapporteringsgrensen skal ligge over metodens blindprøver med minst en faktor på 3.

### 8.2 Bruk av referanseprøver

8.2.1 Referanseprøven skal representere prøvematriks, forbindelsesmønstre og konsentrasjonsområder for PCDD/PCDF og dioksinlignende PCB nær det aktuelle nivået.

8.2.2 En matriksblindprøve, eller dersom dette ikke er mulig, en metodeblindprøve, og en referanseprøve av det aktuelle nivået skal inngå i hver analyseserie. Prøvene må ekstraheres og analyseres samtidig under identiske forhold. For at det skal være sikkert at analysen er egnet, skal referanseprøven ha en klart tydeligere respons enn blindprøven. Disse prøvene kan brukes til å korrigere for blindprøver og gjenfinning.

8.2.3 Referanseprøver som er valgt ut for å korrigere for gjenfinning, skal være representative for alle analyseprøver, slik at forbindelsesmønstre ikke kan føre til at innholdet undervurderes.

8.2.4 Det kan tas med ekstra referanseprøver med en konsentrasjon på f.eks. 0,5 og 2 ganger det aktuelle nivået for å påvise analysens effektivitet innenfor det området som er relevant for kontrollen av det aktuelle nivået. Til sammen kan disse prøvene brukes til å beregne BEQ-nivået i analyseprøvene (se nr. 8.1.2.2)

### 8.3 Bestemmelse av terskelverdier

Forholdet mellom bioanalytiske resultater i BEQ og GC/HRMS-resultater i TEQ skal fastsettes, f.eks. gjennom matrikstilpassede kalibreringseksperimenter som omfatter referanseprøver tilsatt 0, 0,5, 1 og 2 ganger grenseverdien, med seks repetisjoner på hvert nivå ( $n = 24$ ). Korreksjonsfaktorer (blindprøver og gjenfinning) kan beregnes ut fra dette forholdet, men dette skal kontrolleres i samsvar med nr. 8.2.2.

Det skal fastsettes terskelverdier for å kunne avgjøre om en prøve overholder grenseverdiene, eller ved behov for kontroll av tiltaksgrensene, enten for de aktuelle nivåene som er fastsatt for PCDD/PCDF og dioksinlignende PCB hver for seg, eller for summen av PCDD/PCDF og dioksinlignende PCB. De representeres av den *nedre* grensen for fordeling av bioanalytiske resultater (korrigert for blindprøver og gjenfinning), som tilsvarer beslutningsgrensen for GC/HRMS basert på et konfidensintervall på 95 %, noe som innebærer at andelen falskt negative prøver er mindre enn 5 %, og at  $RSD_R$  er mindre enn 25 %. Beslutningsgrensen for GC/HRMS er grenseverdien, idet det tas hensyn til måleusikkerheten.

Terskelverdien (i BEQ) kan beregnes på en av måtene som er beskrevet i nr. 8.3.1, 8.3.2 og 8.3.3 (se figur 1):

8.3.1 Ved bruk av det *nedre* båndet i prediksjonsintervallet på 95 % ved GC/HRMS-beslutningsgrense:

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

der

$\text{BEQ}_{DL}$  BEQ-verdien tilsvarer beslutningsgrensen for GC/HRMS, som er lik grenseverdien idet det tas hensyn til måleusikkerheten

$s_{y,x}$  standard restavvik

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

$m$  antall kalibreringspunkter (indeks  $j$ )

$n$  antall prøver per konsentrasjon (repetisjoner)

$x_i$  prøvekonsentrasjon for kalibreringspunkt  $i$  analysert med GC/HRMS (i TEQ)

$\bar{x}$  gjennomsnitt av konsentrasjonene (i TEQ) for alle kalibreringsprøvene

$$Q_{xx} = \sum_{j=1}^m (x_j - \bar{x})^2 \text{ Kvadratsumparameter } i = \text{indeks for kalibreringspunkt } i$$

8.3.2 Beregnet ut fra de bioanalytiske resultatene (korrigert for blindprøve og gjenfinning) av flere analyser av prøver ( $n \geq 6$ ) forurenset med et innhold som tilsvarer beslutningsgrensen for GC/HRMS, som er den *nedre* grensen for fordeling av data ved tilsvarende gjennomsnittsverdi for BEQ, og med formelen:

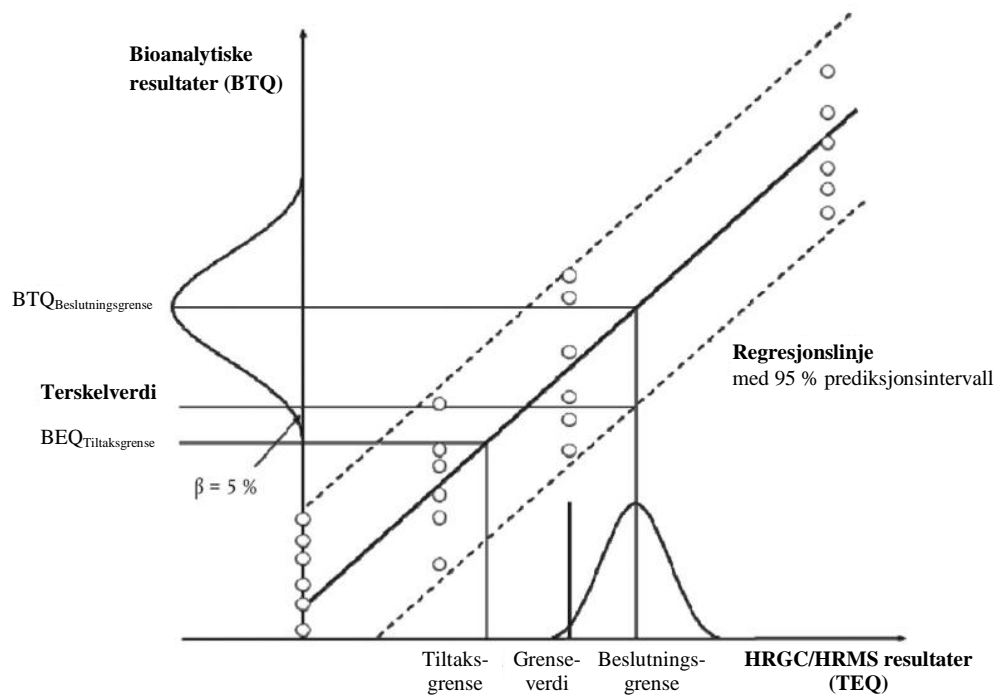
$$\text{Terskelverdi} = \text{BEQ}_{DL} - 1,64 \times SD_R$$

der

$SD_R$  standardavvik for resultat fra biologiske prøver med  $\text{BEQ}_{DL}$ , målt under interne reproduserbarhetsforhold.

8.3.3 Beregnet som gjennomsnittsverdien av de bioanalytiske resultatene (i BEQ, korrigert for blindprøver og gjenfinning) fra flere analyser av prøver ( $n \geq 6$ ) forurenset med et innhold som tilsvarer 2/3 av det aktuelle nivået, basert på den observasjon at dette vil ligge omtrent på den terskelverdien som er bestemt i henhold til nr. 8.3.1 eller 8.3.2.

Figur 1



Beregning av terskelverdier basert på et konfidensintervall på 95 %, noe som innebærer at andelen falskt negative prøver er mindre enn 5 % og at  $RSD_R$  er mindre enn 25 %: 1. fra det nedre båndet i prediksjonsintervallet på 95 % ved GC/HRMS-beslutningsgrensen, 2. fra flere analyser av prøver ( $n \geq 6$ ) som er forurenset ved HRGC/HRMS-beslutningsgrensen som den nedre grensen for fordeling av data (representert i figuren med en klokkeformet kurve) ved tilsvarende gjennomsnittsverdi for BEQ.

#### 8.3.4. Begrensninger for terskelverdier:

BEQ-baserte terskelverdier beregnet ut fra  $RSD_R$  som ble bestemt under valideringen ved hjelp av et begrenset antall prøver med ulike matris-/forbindelsesmønstre, kan være høyere enn de TEQ-baserte aktuelle nivåene, ettersom det oppnås høyere presisjon enn det som er mulig å oppnå i rutineanalyser, når et ukjent spektrum av mulige forbindelsesmønstre må kontrolleres. I slike tilfeller skal terskelverdiene beregnes på grunnlag av en  $RSD_R$  lik 25 % eller helst 2/3 av det aktuelle nivået.

#### 8.4 Ytelseegenskaper

- 8.4.1 Gjentatte analyser av de bioanalytiske metodene skal gjennomføres for å framskaffe opplysninger om standardavviket innenfor en analyseserie og mellom analyseserier. Repeterbarheten skal være under 20 % og intern reproducerbarhet skal være under 25 %. Dette skal baseres på beregnet innhold uttrykt i BEQ, etter korrigering for blindprøve og gjenfinning.
- 8.4.2 Som en del av valideringsprosessen skal analysen vise at metoden kan skille mellom en blindprøve og en prøve med et innhold som tilsvarer terskelverdien, slik at prøver som ligger over den aktuelle terskelverdien kan påvises (se nr. 8.1.2).
- 8.4.3 Målforbindelser, mulig interferens og høyeste tolererte blindprøvenivåer skal fastsettes.
- 8.4.4 Standardavviket skal ikke overskride 15 % for en respons eller en konsentrasjon beregnet på grunnlag av responsen (bare mulig i måleområdet) ved tredobbel bestemmelse av et prøveekstrakt.
- 8.4.5 De ukorrigerede resultatene av referanseprøven(e), uttrykt i BEQ (blindprøve og det aktuelle nivået), skal brukes ved vurdering av den bioanalytiske metodens ytelse i et konstant tidsrom.
- 8.4.6 Kvalitetskontrolldiagrammer for metodens blindprøver og for hver type referanseprøve skal utarbeides og kontrolleres for å sikre at analyseytelsen oppfyller kravene, særlig for metodens blindprøver med hensyn til den nødvendige minstedifferansen til nedre del av måleområdet og for referanseprøvene med hensyn til intern reproducerbarhet. Metodens blindprøver skal kontrolleres grundig for å unngå falskt negative resultater når de trekkes fra.

- 8.4.7 Resultatene fra GC/HRMS-analysene av mistenkte prøver og av 2–10 % av negative prøver (minst 20 prøver per matriske) skal samles inn og brukes til å vurdere screeningmetodens ytelse og forholdet mellom BEQ og TEQ. Disse opplysningene kan brukes ved ny vurdering av terskelverdiene som får anvendelse på rutineprøver for de validerte matrisene.
- 8.4.8 At en metode har god ytelse, kan også dokumenteres ved deltagelse i ringprøving. Resultatene fra prøver analysert ved ringprøving som dekker et konsentrasjonsområde på opptil f.eks. to ganger grenseverdien, kan også tas med i vurderingen av andelen falskt negative prøver dersom et laboratorium kan dokumentere god ytelse. Prøvene skal omfatte de vanligste forbindelsesmønstrene og komme fra ulike kilder.
- 8.4.9 I forbindelse med hendelser kan terskelverdiene vurderes på nytt for å gjenspeile de særskilte matriske- og forbindelsesmønstrene i den aktuelle hendelsen.

## 9. Rapportering av resultater

### 9.1 Bekreftelsesmetoder

- 9.1.1 I den grad den benyttede analysemetoden gjør det mulig, skal analyseresultatene omfatte verdiene for de enkelte PCDD/PCDF- og dioksinlignende PCB-forbindelsene og rapporteres som nedre og øvre konsentrasjoner og mellomkonsentrasjoner, slik at resultatrapporten omfatter flest mulig opplysninger, og slik at resultatene kan tolkes i henhold til bestemte krav.
- 9.1.2 I rapporten skal det også angis hvilken metode som er brukt ved ekstraksjon av PCDD/PCDF, dioksinlignende PCB og lipider.
- 9.1.3 Gjenfinningsgraden for de enkelte interne standardene skal angis dersom den ligger utenfor området angitt i nr. 7.2.5, dersom grenseverdien er overskredet og i andre tilfeller på anmodning.
- 9.1.4 Ettersom det skal tas hensyn til måleusikkerheten når det avgjøres om en prøve oppfyller kravene, skal denne parameteren angis. Analyseresultatet skal derfor rapporteres som  $x \pm U$ , der  $x$  er analyseresultatet og  $U$  er den utvidede måleusikkerheten, ved bruk av en dekningsfaktor på 2, som gir et konfidensintervall på ca. 95 %. Dersom PCDD/PCDF og dioksinlignende PCB bestemmes hver for seg, skal summen av den beregnede utvidede usikkerheten for de separate analyseresultatene for PCDD/PCDF og dioksinlignende PCB brukes for summen av PCDD/PCDF og dioksinlignende PCB.
- 9.1.5 Dersom det tas hensyn til måleusikkerheten ved å bruke  $CC\alpha$  (som beskrevet i nr. 2.2), skal denne parameteren rapporteres.
- 9.1.6 Resultatene skal angis i samme enheter og med minst samme antall signifikante sifre som grenseverdiene fastsatt i direktiv 2002/32/EF.

### 9.2 Bioanalytiske screeningmetoder

- 9.2.1 Resultatet av screeningen skal angis som enten «negativ» eller «mistenkt positiv» («mistenkt»).
- 9.2.2 I tillegg kan resultatet for PCDD/PCDF og/eller dioksinlignende PCB uttrykt i bioanalytiske ekvivalenter (BEQ, ikke TEQ) angis.
- 9.2.3 Dersom måleusikkerheten for det beregnede BEQ-nivået angis, f.eks. som standardavvik, skal det være basert på en trippel prøveanalyse, herunder ekstraksjon, rensing og bestemmelse av analyseresponsen.
- 9.2.4 Prøver med en respons under rapporteringsgrensen skal angis som «under rapporteringsgrensen».
- 9.2.5 For hver type prøvematriks skal rapporten inneholde opplysninger om det aktuelle nivået vurderingen er bygget på.
- 9.2.6 Rapporten skal inneholde opplysninger om hvilken analyse som er brukt, de grunnleggende analyseprinsippene og kalibreringstypen.
- 9.2.7 I rapporten skal det også angis hvilken metode som er brukt ved ekstraksjon av PCDD/PCDF, dioksinlignende PCB og lipider.

## KAPITTEL III

### *Tillaging av prøver og krav til analysemetoder for offentlig kontroll av innholdet av ikke-dioksinlignende PCB (PCB 28, 52, 101, 138, 153, 180)*

#### 1. Påvisningsmetoder som kan anvendes

Gasskromatografi i kombinasjon med elektroninnfangingsdetektor (GC/ECD), GC/LRMS, GC/MS-MS, GC/HRMS eller andre lignende metoder.

## 2. Identifikasjon og bekreftelse av aktuelle analytter

2.1 Relativ retensjonstid i forbindelse med interne standarder eller referansestandarder (godkjent avvik på +/- 0,25 %).

2.2 Gasskromatografisk separasjon av alle seks indikator-PCB (PCB 28, PCB 52, PCB 101, PCB 138, PCB 153 og PCB 180) fra interfererende stoffer, særlig PCB som elueres samtidig, særlig når innholdet i prøvene ligger innenfor de lovfestede grenseverdiene og det skal bekreftes at prøven ikke oppfyller kravene.

*Merknad:* Forbindelser som ofte elueres samtidig, er f.eks. PCB 28/31, PCB 52/69 og PCB 138/163/164. Når det gjelder GC/MS, skal det tas hensyn til eventuell interferens fra fragmenter av høyklorerte forbindelser.

### 2.3 Krav til GC/MS-metoder

Kontroll av minst

- a) to særskilte ioner for HRMS,
- b) to særskilte ioner med  $m/z > 200$  eller tre særskilte ioner med  $m/z > 100$  for LRMS,
- c) ett morion og to datterioner for MS-MS.

Høyeste tillatte toleranse for isotopforhold for utvalgte massefragmenter:

Relativt avvik i isotopforhold for utvalgte massefragmenter fra teoretisk isotopforhold eller kalibreringsstandard for målionet (det hyppigst forekommende av de målte ioner) og bekreftelsesion(er):

Bekreftelsesionets relative intensitet sammenlignet med målionets	GC-EI-MS (relativt avvik)	GC-CI-MS, GC-MS <sup>a</sup> (relativt avvik)
> 50 %	± 10 %	± 20 %
> 20 % til 50 %	± 15 %	± 25 %
> 10 % til 20 %	± 20 %	± 30 %
≤ 10 %	± 50 % (*)	± 50 % (*)

(\*) Ettersom det finnes et tilstrekkelig antall massefragmenter med relativ intensitet større enn 10 %, bør man ikke anvende bekreftelsesioner med en relativ intensitet som er mindre enn 10 % sammenlignet med målionets.

### 2.4 Krav til GC/ECD-metoder

Resultater som overskrider toleransegrensen, skal bekreftes med to GC-kolonner med stasjonære faser med ulik polaritet.

## 3. Dokumentasjon av metodens ytelse

Metodens ytelse skal valideres innenfor det aktuelle nivået (0,5 til 2 ganger det aktuelle nivået) med en godkjent variasjonskoeffisient for gjentatte analyser (se krav til intermediær presisjon i nr. 8).

## 4. Grense for mengdebestemmelse

Blindprøvens verdier skal ikke være høyere enn 30 % av det forurensningsnivået som tilsvarer grenseverdien (\*\*\*\*\*).

(\*\*\*\*\*): Det anbefales på det sterkeste at bidraget fra reagensblindprøven er så lite som mulig sammenlignet med innholdet av forurensning i en prøve. Det er laboratoriets ansvar å kontrollere hvordan innholdet i blindprøvene varierer, særlig når blindprøveinnholdet trekkes fra.

## 5. Kvalitetskontroll

Regelmessige blindprøvekontroller, analysering av prøver med tilsetning, kvalitetskontrollprøver, deltaking i undersøkelser av relevante matrikser som foretas ved flere laboratorier.

## 6. **Kontroll av gjenfinning**

- 6.1 Bruk av egnede interne standarder med fysikalsk-kjemiske egenskaper som kan sammenlignes med de relevante analyttenes.
- 6.2 Tilsetning av interne standarder:  
Tilsetning til produkter (før ekstraksjon og rensingsprosess).
- 6.3 Krav til metoder som bruker alle seks isotopmerkede indikator-PCB-forbindelser:
- resultatene skal korrigeres for gjenfinning av interne standarder,
  - gjenfinning av isotopmerkede interne standarder skal være på mellom 50 og 120 %,
  - lavere eller høyere gjenfinning for enkeltforbindelser med et bidrag til summen av de seks indikator-PCB på under 10 %, kan godtas.
- 6.4 Krav til metoder som ikke bruker alle seks isotopmerkede interne standarder eller andre interne standarder:
- kontroll av gjenfinning av interne standarder for hver prøve,
  - gjenfinning av interne standarder skal være på mellom 60 og 20 %,
  - resultatene skal korrigeres for gjenfinning av interne standarder.
- 6.5 Gjenfinningen av umerkede forbindelser skal kontrolleres ved hjelp av prøver med tilsetning eller kvalitetskontrollprøver med konsentrasjoner i området for det aktuelle nivået. Gjenfinningen for disse forbindelsene skal anses som akseptabel dersom den er i området 70–120 %.

## 7. **Krav til laboratorier**

I samsvar med bestemmelsene i forordning (EF) nr. 882/2004 skal laboratoriene være akkreditert av et godkjent organ som oppfyller kravene i ISO Guide 58, for å sikre at de anvender metoder for kvalitetssikring av sine analyser. Laboratoriene skal være akkreditert i henhold til standarden EN ISO/IEC 17025.

## 8. **Ytelseegenskaper: kriterier for summen av de seks PCB-indikatorene på det aktuelle nivået**

Riktighet	– 30 til + 30 %
Intermediær presisjon (RSD %)	≤ 20 %
Differanse mellom øvre og nedre konsentrasjon (beregnet)	≤ 20 %

## 9. **Rapportering av resultater**

- 9.1 I den grad den benyttede analysemetoden gjør det mulig, skal analyseresultatene omfatte innholdet av de enkelte PCB-forbindelsene og rapporteres som nedre og øvre konsentrasjoner og mellomkonsentrasjoner, slik at resultatrapporten inneholder flest mulig opplysninger, og slik at resultatene kan tolkes i henhold til bestemte krav.
- 9.2 I rapporten skal det også angis hvilken metode som er brukt ved ekstraksjon av PCB og lipider.
- 9.3 Gjenfinningsgraden for de enkelte interne standardene skal angis dersom den ligger utenfor området angitt i nr. 6, dersom grenseverdien er overskredet, og i andre tilfeller på anmodning.
- 9.4 Ettersom det skal tas hensyn til måleusikkerheten når det avgjøres om en prøve oppfyller kravene, skal denne parameteren angis. Analyseresultatet skal derfor rapporteres som  $x \pm U$ , der  $x$  er analyseresultatet og  $U$  er den utvidede måleusikkerheten, ved bruk av en dekningsfaktor på 2, som gir et konfidensintervall på ca. 95 %.
- 9.5 Dersom det tas hensyn til måleusikkerheten ved å bruke  $CC\alpha$  (som beskrevet i kapittel I nr. 2.1), skal denne parameteren rapporteres.
- 9.6 Resultatene skal angis i samme enheter og med minst samme antall signifikante sifre som grenseverdiene fastsatt i direktiv 2002/32/EF.»