

KOMMISJONSFORORDNING (EU) nr. 589/2014**2018/EØS/11/16****av 2. juni 2014****om fastsettelse av prøvetakings- og analysemetoder for kontroll av innholdet av dioksiner, dioksinlignende PCB og ikke-dioksinlignende PCB i visse næringsmidler, og om oppheving av forordning (EU) nr. 252/2012(*)**

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 føvare- og næringsmiddelregelverket samt bestemmelsene om dyrs helse og velferd overholdes⁽¹⁾, særlig artikkel 11 nr. 4, og

ut fra følgende betraktninger:

- 1) Ved kommisjonsforordning (EF) nr. 1881/2006⁽²⁾ fastsettes grenseverdier for ikke-dioksinlignende PCB, dioksiner og furaner samt for summen av dioksiner, furaner og dioksinlignende PCB i visse næringsmidler.
- 2) Ved kommisjonsrekommendasjon 2013/711/EU⁽³⁾ fastsettes tiltaksgrenser for å fremme en forebyggende metode for å redusere forekomsten av polyklorerte dibenzoparadioksinforbindelser, polyklorerte dibenzofuranforbindelser (PCDD/PCDF) og dioksinlignende PCB i næringsmidler. Disse tiltaksgrensene er et verktøy som gjør det mulig for vedkommende myndigheter og driftsansvarlige å bestemme om det er relevant å identifisere en forurensningskilde, og å treffe tiltak for å redusere eller fjerne den.
- 3) Ved kommisjonsforordning (EU) nr. 252/2012 av 21. mars 2012⁽⁴⁾ fastsettes særlige bestemmelser om prøvetakings- og analysemetoder som skal brukes ved offentlig kontroll.
- 4) Bestemmelsene fastsatt i denne forordning gjelder bare prøvetaking og analyse av dioksiner, dioksinlignende PCB og ikke-dioksinlignende PCB for gjennomføring av forordning (EF) nr. 1881/2006 og rekommendasjon 2013/711/EU. De berører ikke prøvetakingsstrategien og prøvetakingens omfang og hyppighet fastsatt i vedlegg III og IV til rådsdirektiv 96/23/EF⁽⁵⁾. De berører ikke kriteriene for målretting av prøvetakingen fastsatt i kommisjonsvedtak 98/179/EF⁽⁶⁾.
- 5) 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 bekreftelsesmetoder med tilstrekkelig følsomhet vil også lave bakgrunnsverdier kunne bestemmes. Dette er viktig for oppfølging av utviklingstrekk over tid, eksponeringsvurdering og for revurdering av grenseverdier og tiltaksgrenser.
- 6) Når det gjelder prøvetaking av svært store fisker, bør det fastsettes nærmere bestemmelser om prøvetakingen for å sikre en harmonisert metode i hele Unionen.

(*) Denne unionsrettsakten, kunngjort i EUT L 164 av 3.6.2014, s. 18, er omhandlet i EØS-komiteens beslutning nr. 11/2015 av 25. februar 2015 om endring av EØS-avtalens vedlegg II (Tekniske forskrifter, standarder, prøving og sertifisering), se EØS-tillegget til *Den europeiske unions tidende* nr. 21 av 7.4.2016, s. 16.

(1) EUT L 165 av 30.4.2004, s. 1.

(2) Kommisjonsforordning (EF) nr. 1881/2006 av 19. desember 2006 om fastsettelse av grenseverdier for visse forurensende stoffer i næringsmidler (EUT L 364 av 20.12.2006, s. 5).

(3) Kommisjonsrekommendasjon 2013/711/EU av 3. desember 2013 om reduksjon av forekomsten av dioksiner, furaner og PCB i fôr og næringsmidler (EUT L 323 av 4.12.2013, s. 37).

(4) Kommisjonsforordning (EU) nr. 252/2012 av 21. mars 2012 om fastsettelse av prøvetakings- og analysemetoder for offentlig kontroll av innholdet av dioksiner, dioksinlignende PCB og ikke-dioksinlignende PCB i visse næringsmidler og om oppheving av forordning (EF) nr. 1883/2006 (EUT L 84 av 23.3.2012, s. 1).

(5) Rådsdirektiv 96/23/EF av 29. april 1996 om kontrolltiltak som skal iverksettes med hensyn til visse stoffer og deres restmengder i levende dyr og animalske produkter, og om oppheving av direktiv 85/358/EØF og 86/469/EØF samt vedtak 89/187/EØF og 91/664/EØF (EFT L 125 av 23.5.1996, s. 10).

(6) Kommisjonsvedtak 98/179/EF av 23. februar 1998 om fastsettelse av nærmere regler for offisiell prøvetaking for overvåking av visse stoffer og deres restmengder i levende dyr og animalske produkter (EFT L 65 av 5.3.1998, s. 31).

- 7) For fisker av samme art og fra samme område kan innholdet av dioksiner, dioksinlignende PCB og ikke-dioksinlignende PCB variere avhengig av fiskens størrelse og/eller alder. Dessuten er innholdet av dioksiner, dioksinlignende PCB og ikke-dioksinlignende PCB ikke alltid det samme i alle deler av fisken. Det bør derfor fastsettes nærmere bestemmelser om prøvetaking og tillaging av prøver for å sikre en harmonisert metode i hele Unionen.
- 8) Det er viktig at analyseresultatene rapporteres og tolkes på en ensartet måte for å sikre ensartet håndheving i hele Unionen.
- 9) I tillegg til gasskromatografi/massespektrometri med høy oppløsning (GC-HRMS) har tekniske framskritt og teknisk utvikling vist at også gasskromatografi/tandemmassespektrometri (GC-MS/MS) kan brukes som en bekreftelsesmetode for å kontrollere at grenseverdiene overholdes. Forordning (EU) nr. 252/2012 bør derfor erstattes med en ny forordning der det fastsettes at anvendelsen av gasskromatografi/tandemmassespektrometri (GC-MS/MS) er en hensiktsmessig bekreftelsesmetode for å kontrollere at grenseverdien overholdes.
- 10) Tiltakene fastsatt i denne forordning er i samsvar med uttalelse fra Den faste komité for næringsmiddelkjeden og dyrehelsen —

VEDTATT DENNE FORORDNING:

Artikkel 1

I denne forordning får definisjonene og forkortelsene angitt i vedlegg I anvendelse.

Artikkel 2

Prøvetaking beregnet på offentlig kontroll av innholdet av dioksiner, furaner, dioksinlignende PCB og ikke-dioksinlignende PCB i næringsmidler oppført i avsnitt 5 i vedlegget til forordning (EF) nr. 1881/2006 skal gjennomføres i samsvar med metodene angitt i vedlegg II til denne forordning.

Artikkel 3

Tillaging av prøver samt analyser beregnet på kontroll av innholdet av dioksiner, furaner og dioksinlignende PCB i næringsmidler oppført i avsnitt 5 i vedlegget til forordning (EF) nr. 1881/2006 skal gjennomføres i samsvar med metodene angitt i vedlegg III til denne forordning.

Artikkel 4

Analyser beregnet på kontroll av innholdet av ikke-dioksinlignende PCB i næringsmidler oppført i avsnitt 5 i vedlegget til forordning (EF) nr. 1881/2006 skal gjennomføres i samsvar med kravene til analysemetoder angitt i vedlegg IV til denne forordning.

Artikkel 5

Forordning (EU) nr. 252/2012 oppheves.

Henvisninger til den opphevede forordningen skal forstås som henvisninger til denne forordning.

Artikkel 6

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

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

Utfærdiget i Brussel, 2. juni 2014.

For Kommisjonen
José Manuel BARROSO
President

VEDLEGG I

DEFINISJONER OG FORKORTELSER

I. DEFINISJONER

I denne forordning 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 ytelse og tolking av resultater⁽¹⁾.

I tillegg til disse definisjonene menes med:

- 1.1. «tiltaksgrense» den mengden av et gitt stoff, som fastsatt i vedlegget til rekommandasjon 2013/711/EU, som fører til undersøkelser for å avdekke kilden til nevnte stoff i de tilfeller der det er påvist økt mengde av stoffet,
- 1.2. «screeningmetoder» metoder for utvelgning av de prøver der innholdet av PCDD/PCDF og dioksinlignende PCB overskrider grenseverdiene eller tiltaksgrensene. De skal sikre en kostnadseffektiv og høy analysekapasitet, noe som vil øke muligheten til å oppdage nye hendelser som innebærer høy eksponering og helsefare for forbrukerne. Screeningmetodene skal være basert på bioanalytiske metoder eller GC-MS-metoder. Prøveresultater som er oppnådd i forbindelse med kontroll av om grenseverdien overholdes, og som overskrider terskelverdien, skal kontrolleres ved å analysere den opprinnelige prøven på nytt med en bekreftelsesmetode.
- 1.3. «bekreftelsesmetoder» metoder som gir fullstendige eller utfyllende opplysninger slik at PCDD/PCDF og dioksinlignende PCB på en entydig måte kan identifiseres og mengdebestemmes ved grenseverdien eller om nødvendig ved tiltaksgrensen. I disse metodene anvendes gasskromatografi/massespektrometri med høy oppløsning (GC-HRMS) eller gasskromatografi/tandemmassespektrometri (GC-MS/MS).
- 1.4. «bioanalytiske metoder» metoder basert på bruken av biologiske prinsipper som cellebaserte prøver, reseptoranalyser eller immunologiske analyser. De gir ikke resultater på forbindelsesnivå, men bare en indikasjon⁽²⁾ 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,
- 1.5. «gjenfinningsgrad ved biologisk prøving» BEQ-nivået beregnet ut fra TCDD- eller PCB 126-kalibreringskurven korrigert for blindprøven og deretter delt på TEQ-nivået bestemt av bekreftelsesmetoden. 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 (agonistiske og antagonistiske virkninger), kvaliteten på kurvetilpasningen eller forskjeller mellom TEF- og REP-verdiene. Gjenfinningsgraden ved biologisk prøving beregnes ut fra egnede referanseprøver med representative forbindelsesmønstre nær grenseverdien eller tiltaksgrensen.
- 1.6. «semikvantitative metoder» metoder som gir en omtrentlig indikasjon på konsentrasjonen i den eventuelle analytten, mens det numeriske resultatet ikke oppfyller kravene til kvantitative metoder,
- 1.7. «akseptert spesifikk grense for mengdebestemmelse av en enkeltforbindelse i en prøve» det laveste innholdet av en analytt som kan måles med rimelig statistisk sikkerhet, som oppfyller identifikasjonskriteriene som er beskrevet i internasjonalt anerkjente standarder, for eksempel i standard EN 16215:2012 (Dyrefôr – Bestemmelse av dioksiner og dioksinlignende PCB ved GC/HRMS og av indikator-PCB ved GC/HRMS) og/eller i EPA-metode 1613 og 1668 som revidert.

Grensen for mengdebestemmelse av en enkeltforbindelse kan identifiseres som

- a) konsentrasjonen av en analytt i det ekstraktet av en prøve som for de to forskjellige ionene som skal overvåkes, gir et instrumentsutslag med et signal/støy-forhold på 3:1 for det minst følsomme rådatasignalet eller, dersom beregningen av signal/støy av tekniske årsaker ikke gir pålitelige resultater,
- b) punktet for laveste konsentrasjon i en kalibreringskurve som gir et akseptabelt ($\leq 30\%$) og konsekvent (målt minst i starten og på slutten av en analyseprøveserie) avvik fra den gjennomsnittlige responsfaktoren beregnet for alle punkter i kalibreringskurven i hver prøveserie⁽³⁾,

⁽¹⁾ Kommisjonsvedtak 2002/657/EF av 14. august 2002 om gjennomføring av rådsdirektiv 96/23/EF med hensyn til analysemetoders ytelse og tolking av resultater (EFT L 221 av 17.8.2002, s. 8).

⁽²⁾ Bioanalytiske metoder er ikke særlig utformet for forbindelsene i TEF-systemet. I prøveekstraktet kan det også finnes andre strukturelt beslektede AhR-aktive forbindelser som kan bidra til den samlede responsen. Bioanalytiske resultater kan derfor ikke være et estimat, men snarere en indikasjon på TEQ-nivået i prøven.

⁽³⁾ Grensen for mengdebestemmelse (LOQ) beregnes fra det laveste konsentrasjonspunktet, idet det tas hensyn til gjenfinning av interne standarder og prøvemengde.

- 1.8. «øvre konsentrasjon» det begrep som innebærer anvendelse av grenseverdien for mengdebestemmelse for bidraget fra hver forbindelse som ikke er mengdebestemt,
- 1.9. «nedre konsentrasjon» det begrep som innebærer at bidraget fra hver forbindelse som ikke er mengdebestemt, settes lik null,
- 1.10. «mellomkonsentrasjon» det begrep som innebærer at bidraget fra hver forbindelse som ikke er mengdebestemt, settes lik halvparten av grensen for mengdebestemmelse,
- 1.11. «parti» en identifiserbar mengde av et næringsmiddel, levert under ett, der det ved offentlig kontroll er fastslått felles kjennetegn som f.eks. opprinnelse, art, emballasjetype, emballeringsbedrift, avsender eller merking. Når det gjelder fisk og fiskerivarer, skal dessuten størrelsen på fiskene være tilnærmet lik. Dersom fiskenes størrelse og/eller vekt ikke er tilnærmet lik i en sending, kan sendingen fortsatt regnes som ett parti, men det må benyttes en særlig prøvetakingsmetode,
- 1.12. «delparti» del av et stort parti som er valgt ut med sikte på bruk av prøvetakingsmetoden. Hvert delparti skal være fysisk atskilt og identifiserbart,
- 1.13. «enkeltprøve» en materialmengde som er tatt fra ett enkelt sted i partiet eller delpartiet,
- 1.14. «samleprøve» summen av enkeltprøvene fra et parti eller delparti,
- 1.15. «laboratorieprøve» representativ del eller mengde av samleprøven bestemt for laboratoriet.

II. FORKORTELSER

BEQ	Bioanalytiske ekvivalenter
GC	Gasskromatografi
HRMS	Høyopløselig massespektrometri
LRMS	Lavopløselig massespektrometri
MS/MS	Massespektrometri
PCB	Polyklorete bifenyler
PCDD	Polyklorete dibenzo-p-dioksiner
PCDF	Polyklorete dibenzofuraner
QC	Kvalitetskontroll
REP	Relativ potensfaktor
TEF	Toksisk ekvivalensfaktor
TEQ	Toksisitetsekvivalenter
TCDD	Tetraklordibenzodioksin
U	Utvidet måleusikkerhet

VEDLEGG II

**PRØVETAKINGSMETODER FOR OFFENTLIG KONTROLL AV INNHOLDET AV DIOKSINER (PCDD/PCDF),
DIOKSINLIGNENDE PCB OG IKKE-DIOKSINLIGNENDE PCB I VISSE NÆRINGSMIDLER**

I. VIRKEOMRÅDE

Prøver beregnet på offentlig kontroll av innholdet av dioksiner (PCDD/PCDF), dioksinlignende PCB og ikke-dioksinlignende PCB, heretter kalt dioksiner og PCB, i næringsmidler skal tas i samsvar med metodene fastsatt i dette vedlegg. Samleprøvene som da oppnås, skal anses som representative for partiene eller delpartiene de er tatt fra. På grunnlag av innholdet som påvises i laboratorieprøvene, skal det fastslås om grenseverdiene fastsatt i forordning (EF) nr. 1881/2006 om fastsettelse av grenseverdier for visse forurensende stoffer i næringsmidler, er overholdt.

II. ALMINNELIGE BESTEMMELSER

1. Personale

Prøvetakingen skal utføres av en person som er utpekt for dette formål av medlemsstaten.

2. Materiale til prøvetaking

Prøvetakingen skal foretas atskilt for hvert parti eller delparti som skal undersøkes.

3. Forholdsregler

Under prøvetakingen og tillagingen av prøvene skal det tas forholdsregler for å unngå endringer som kan påvirke innholdet av dioksiner og PCB, ha negativ innvirkning på den analytiske bestemmelsen eller gjøre at samleprøvene ikke er representative.

4. Enkeltprøver

Enkeltprøver skal så langt det er mulig tas fra ulike steder i partiet eller delpartiet. Avvik fra denne framgangsmåten skal registreres i rapporten omhandlet i nr. II.8 i dette vedlegg.

5. Tillaging av samleprøven

Samleprøven skal oppnås ved å samle alle enkeltprøvene. Den skal veie minst 1 kg, med mindre dette ikke er praktisk mulig, f.eks. ved prøvetaking av en enkeltpakning eller dersom produktet har svært høy kommersiell verdi.

6. Parallellprøver

Parallellprøvene som tas for håndhevings-, klageadgangs- eller referanseformål, skal tas fra den homogeniserte samleprøven, med mindre en slik framgangsmåte er i strid med medlemsstatenes bestemmelser om rettighetene til den driftsansvarlige for næringsmidelforetaket. Laboratorieprøvene for håndhevingsformål skal være så store at de rekkes til minst en dobbeltanalyse.

7. Emballering og transport av prøver

Hver prøve skal plasseres i en ren beholder av inert materiale som gir tilstrekkelig vern mot forurensning, tap av analytter ved adsorpsjon til innersiden av beholderen og mot skader under transport. Alle nødvendige forholdsregler skal tas for å unngå endringer av prøvens sammensetning som kan oppstå under transport eller lagring.

8. Forsegling og merking av prøver

Hver prøve som er tatt til offentlig bruk, skal forsegles på prøvetakingsstedet og identifiseres i samsvar med gjeldende regler i medlemsstaten.

For hver prøvetaking skal det utarbeides en rapport, slik at hvert parti entydig kan identifiseres, med angivelse av dato og sted for prøvetakingen og ytterligere opplysninger som kan være til hjelp for den som foretar analysen.

III. PRØVETAKINGSPLAN

Den anvendte prøvetakingsmetoden skal sikre at samleprøven er representativ for (del)partiet som skal kontrolleres.

1. **Inndeling av partier i delpartier**

Store partier skal inndeles i delpartier, forutsatt at delpartiet fysisk kan utskilles. For produkter som omsettes i store bulksendinger (f.eks. vegetabiliske oljer), får tabell 1 anvendelse. For andre produkter får tabell 2 anvendelse. Ettersom vekten på et parti ikke alltid vil være et eksakt multiplum av vekten av delpartiene, kan vekten av delpartiene overskride den angitte vekten med høyst 20 %.

Tabell 1

Inndeling av partier i delpartier for produkter som omsettes i bulksendinger

Partiets vekt (tonn)	Delpartiens vekt eller antall
≥ 1500	500 tonn
> 300 og < 1500	3 delpartier
≥ 50 og ≤ 300	100 tonn
< 50	—

Tabell 2

Inndeling av partier i delpartier for andre produkter

Partiets vekt (tonn)	Delpartiens vekt eller antall
≥ 15	15–30 tonn
< 15	—

2. **Antall enkeltprøver**

En samleprøve som er en samling av alle enkeltprøvene, skal veie minst 1 kg (se nr. II.5 i dette vedlegg).

Det minste antallet enkeltprøver som skal tas fra partiet eller delpartiet, skal være som angitt i tabell 3 og 4.

For flytende produkter i bulk skal partiet eller delpartiet blandes så grundig som mulig uten at det påvirker kvaliteten på produktet, enten manuelt eller mekanisk, rett før prøvetaking. I så fall kan det antas at de forurensende stoffene er jevnt fordelt i et gitt parti eller delparti. Det er derfor tilstrekkelig å ta tre enkeltprøver fra et parti eller delparti som skal utgjøre samleprøven.

Enkeltprøvene skal ha tilnærmet samme vekt. Enkeltprøvens vekt skal være minst 100 gram.

Avvik fra denne framgangsmåten må registreres i rapporten omhandlet i nr. II.8 i dette vedlegg. I samsvar med bestemmelsene i vedtak 97/747/EF om fastsettelse av omfang og hyppighet av prøvetakingen omhandlet i direktiv 96/23/EF med sikte på overvåking av visse stoffer og deres restmengder i levende dyr og animalske produkter skal størrelsen på samleprøven for hønseegg være minst tolv egg (både for bulkpartier og for partier som består av enkeltpakninger, tabell 3 og 4 får anvendelse).

Tabell 3

Minste antall enkeltprøver som skal tas fra partiet eller delpartiet

Partiets/delpartiets vekt eller volum (i kilo eller liter)	Minste antall enkeltprøver som skal tas
< 50	3
50 til 500	5
> 500	10

Dersom partiet eller delpartiet består av enkeltpakninger eller enkeltenheter, er antallet pakninger eller enheter som skal utgjøre en samleprøve angitt i tabell 4.

Tabell 4

Antall pakninger eller enheter (enkeltprøver) som skal utgjøre samleprøven dersom partiet eller delpartiet består av enkeltpakninger eller enkeltenheter

Antall pakninger eller enheter i partiet/delpartiet	Antall pakninger eller enheter som skal tas
1 til 25	minst 1 pakning eller enhet
26 til 100	ca. 5 %, minst 2 pakninger eller enheter
> 100	ca. 5 %, høyst 10 pakninger eller enheter

3. Særlige bestemmelser om prøvetaking av partier som inneholder hele fisker av tilnærmet lik størrelse og vekt

Fisker anses for å ha tilnærmet lik størrelse og vekt dersom forskjellen i størrelse og vekt ikke er mer enn ca. 50 %.

Antallet enkeltprøver som skal tas fra partiet, er angitt i tabell 3. Samleprøven som er en samling av alle enkeltprøvene, skal veie minst 1 kg (se nr. II.5).

- Dersom partiet som det skal tas prøver fra, inneholder små fisker (der hver fisk veier mindre enn ca. 1 kg), skal hele fisken utgjøre en enkeltprøve som skal inngå i samleprøven. Dersom samleprøven da veier mer enn 3 kg, kan enkeltprøvene bestå av midtpartiet av fiskene som utgjør samleprøven, og da skal enkeltprøvene veie minst 100 gram hver. Hele partiet som grenseverdien gjelder for, brukes til homogenisering av prøven.

Fiskens midtparti er der tyngdepunktet er. I de fleste tilfeller vil dette være ved ryggfinnen (for fisker med ryggfinne) eller midt mellom gjelleåpningen og gattåpningen.

- Dersom partiet som det skal tas prøver fra, inneholder store fisker (der hver fisk veier mer enn ca. 1 kg), skal enkeltprøvene bestå av fiskens midtparti. Hver enkeltprøve skal veie minst 100 gram.

For middels store fisker (ca. 1–6 kg) skal enkeltprøven være et stykke av fisken som tas som et tverrsnitt fra ryggbeinet til buken i fiskens midtparti.

For ekstra store fisker (dvs. større enn ca. 6 kg) skal enkeltprøven tas fra kjøttet i ryggmuskelen på høyre side (sett forfra) i fiskens midtparti. Dersom uttak av et slikt stykke av fiskens midtparti innebærer et betydelig økonomisk tap, kan det anses som tilstrekkelig å ta tre enkeltprøver à minst 350 gram, uavhengig av partiets størrelse, eller eventuelt en like stor del muskelkjøtt nær haledelen og muskelkjøtt nær hodedelen fra en og samme fisk, som så utgjør den enkeltprøven som er representativ for dioksininnholdet i hele fisken.

4. Prøvetaking av fiskepartier som inneholder hele fisker med ulik størrelse og/eller vekt

- Bestemmelsene i nr. III.3 om prøvenes sammensetning får anvendelse.
- Dersom en viss størrelse eller vektklasse/vektkategori dominerer (ca. 80 % eller mer av partiet), skal prøven tas fra fisker med dominerende størrelse eller vekt. Denne prøven skal anses som representativ for hele partiet.
- Dersom ingen bestemt størrelse eller vektklasse/vektkategori dominerer, skal det sikres at fiskene som velges til prøven, er representative for partiet. Nærmere retningslinjer for slike tilfeller finnes i «Guidance on sampling of whole fishes of different size and/or weight»⁽¹⁾.

5. Prøvetaking i detaljstleddet

Prøvetaking av næringsmidler i detaljstleddet skal om mulig skje i samsvar med bestemmelsene om prøvetaking fastsatt i nr. III.2 i dette vedlegg.

⁽¹⁾ http://ec.europa.eu/food/food/chemicalsafety/contaminants/dioxins_en.htm

Dersom dette ikke er mulig, kan en annen metode for prøvetaking i detaljstleddet følges, forutsatt at den sikrer en tilstrekkelig representativ prøvetaking av partiet eller delpartiet.

IV. PARTIETS ELLER DELPARTIETS SAMSVAR MED SPESIFIKASJONENE

1. Ikke-dioksinlignende PCB

Partiet godkjennes dersom resultatet av en analyse ikke overskrider grenseverdien for ikke-dioksinlignende PCB som fastsatt i forordning (EF) nr. 1881/2006, idet det tas hensyn til måleusikkerheten.

Partiet er ikke i samsvar med grenseverdien fastsatt i forordning (EF) nr. 1881/2006 dersom det er hevet over enhver rimelig tvil at den øvre konsentrasjonen som analyseresultatet viser, bekreftet ved en analyse nummer to^(*), overskrider grenseverdien, idet det tas hensyn til måleusikkerheten. Gjennomsnittet av de to bestemmelsene skal bekrefte at kravene er oppfylt, idet det tas hensyn til måleusikkerheten.

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

- Ved å beregne utvidet usikkerhet ved hjelp av en dekningsfaktor på 2, som gir et konfidensnivå på ca. 95 %. Et parti eller delparti oppfyller ikke kravene dersom den målte verdien, minus U, overskrider den fastsatte tillatte grensen.
- Ved å fastsette bestemmelsesgrensen ($CC\alpha$) i samsvar med bestemmelsene i kommisjonsvedtak 2002/657/EF (nr. 3.1.2.5 i vedlegg I til vedtaket — for stoffer som det er fastsatt en tillatt grense for). Et parti eller delparti oppfyller ikke kravene dersom den målte verdien er lik eller høyere enn $CC\alpha$.

Ovennevnte tolkningsregler gjelder for de analyseresultater av prøver som tas for offentlig kontroll. Ved analyse for klageadgangs- eller referanseformål gjelder nasjonale regler.

2. Dioksiner (PCDD/PCDF) og dioksinlignende PCB

Partiet godkjennes 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 forordning (EF) nr. 1881/2006,
- utført ved en bekreftelsesmetode, ikke overskrider grenseverdiene for henholdsvis PCDD/PCDF og summen av PCDD/PCDF og dioksinlignende PCB fastsatt i forordning (EF) nr. 1881/2006, idet det tas hensyn til måleusikkerheten.

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

Partiet er ikke i samsvar med grenseverdien fastsatt i forordning (EF) nr. 1881/2006 dersom det er hevet over enhver rimelig tvil at den øvre konsentrasjonen som analyseresultatet viser, oppnådd ved bruk av en bekreftelsesmetode og bekreftet ved en ny analyse^(**), overskrider grenseverdien, idet det tas hensyn til måleusikkerheten. Gjennomsnittet av de to bestemmelsene skal bekrefte at kravene er oppfylt, idet det tas hensyn til måleusikkerheten.

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

- Ved å beregne utvidet usikkerhet ved hjelp av en dekningsfaktor på 2, som gir et konfidensnivå på ca. 95 %. Et parti eller delparti oppfyller ikke kravene dersom den målte verdien, minus U, overskrider den fastsatte tillatte grensen. 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 som beregnet utvidet usikkerhet for summen av PCDD/PCDF og dioksinlignende PCB.
- Ved å fastsette bestemmelsesgrensen ($CC\alpha$) i samsvar med bestemmelsene i kommisjonsvedtak 2002/657/EF (nr. 3.1.2.5 i vedlegg I til nevnte vedtak — for stoffer som det er fastsatt en tillatt grense for) er et parti eller delparti ikke i samsvar med kravene dersom den målte verdien er lik eller høyere enn $CC\alpha$.

Ovennevnte tolkningsregler gjelder for de analyseresultater av prøver som tas for offentlig kontroll. Ved analyse for klageadgangs- eller referanseformål gjelder nasjonale regler.

(*) En dobbeltanalyse er nødvendig dersom resultatet av den første bestemmelsen med bekreftelsesmetoder ved bruk av ¹³C-merket intern standard for de aktuelle analyttene, ikke oppfyller kravene. Prøvene må analyseres to ganger for å utelukke muligheten for intern krysskontaminering eller utilsiktet forveksling av prøver. Dersom analysen utføres i forbindelse med en forurensningshendelse, kan bekreftelse ved en analyse nummer to sløyfes dersom prøvene som er tatt ut til analyse, kan knyttes til forurensningen ved hjelp av sporbarhet, og det konstaterte innholdet er betydelig over grenseverdien.

(**) Samme forklaring og krav om til to analyser for kontroll av tiltaksgrenser som for grenseverdier i fotnote(*)

V. OVERSKRIDELSE AV TILTAKSGRENSER

Tiltaksgrenser er et verktøy for utvelging av prøver der det er relevant å identifisere en forurensningskilde og treffe tiltak for å redusere eller fjerne den. Med screeningmetoder fastsettes hensiktsmessige terskelverdier for utvelging av disse prøvene. Dersom betydelig arbeid er nødvendig for å identifisere en forurensningskilde og redusere eller fjerne den, kan det være hensiktsmessig å bekrefte overskridelse av tiltaksgrensen gjennom en dobbeltanalyse ved bruk av en bekreftelsesmetode, idet det tas hensyn til måleusikkerheten(**).

VEDLEGG III

TILLAGING AV PRØVER OG KRAV TIL ANALYSEMETODER FOR KONTROLL AV INNHOLDET AV DIOKSINER (PCDD/PCDF) OG DIOKSINLIGNENDE PCB I VISSE NÆRINGSMIDLER**1. BRUKSOMRÅDE**

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

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

a) Screeningmetoder

Målet med screeningmetoder er å velge de prøver der innholdet av PCDD/PCDF og dioksinlignende PCB overskrider grenseverdiene eller tiltaksgrensene. Screeningmetodene bør åpne mulighet for en kostnadseffektiv og høy analysekapasitet, noe som vil øke muligheten til å oppdage nye hendelser som innebærer høy eksponering og helsefare for forbrukerne. Bruken av disse metodene bør ta sikte på å unngå falskt negative resultater. Screeningmetoder kan omfatte bioanalytiske metoder og GC/MS-metoder.

Med screeningmetoder sammenlignes analyseresultatet med en terskelverdi, noe som gir et ja/nei-svar på om grenseverdien eller tiltaksgrensen er overskredet. Konsentrasjonen av PCDD/PCDF og summen av PCDD/PCDF og dioksinlignende PCB i prøver som mistenkes for ikke å overholde grenseverdien, må bestemmes/bekreftes ved hjelp av en bekreftelsesmetode.

I tillegg kan screeningmetoder gi en indikasjon på innholdet av PCDD/PCDF og dioksinlignende PCB i prøven. Ved bruk av bioanalytiske screeningmetoder uttrykkes resultatet som bioanalytiske ekvivalenter (BEQ), mens det ved bruk av fysikalsk-kjemiske GC-MS-metoder uttrykkes som toksisitetsekvivalenter (TEQ). Resultatene, i form av tallverdier, som oppnås ved bruk av screeningmetoder, er egnet til å påvise overholdelse eller mistenkt manglende overholdelse eller overskridelse av tiltaksgrensene, og gir en indikasjon på de aktuelle verdiene dersom prøvene må følges opp med bekreftelsesmetoder. De er ikke egnet i tilfeller der formålet er å vurdere bakgrunnsnivåer, beregne inntak, følge utviklingen over tid eller til ny vurdering av tiltaks- og grenseverdier.

b) Bekreftelsesmetoder

Bekreftelsesmetoder gjør det mulig entydig å identifisere og mengdebestemme PCDD/PCDF og dioksinlignende PCB i en prøve, og å gi fullstendige opplysninger om forbindelser. Disse metodene gjør det derfor mulig å kontrollere grenseverdiene og tiltaksgrensene, herunder bekrefte resultatene av screeningmetodene. Resultatene kan dessuten anvendes for andre formål, som å bestemme lave bakgrunnsnivåer i forbindelse med næringsmiddelovervåking, følge utviklingstrekk over tid, vurdere befolkningens eksponering og til å bygge opp en database for mulig revurdering av tiltaksgrenser og grenseverdier. De er også viktige for å etablere forbindelsesmønstre for å påvise kilden til en eventuell forurensning. Slike metoder omfatter anvendelse av GC-HRMS. GC-MS/MS kan også brukes til å bekrefte om grenseverdien er overholdt eller ikke.

2. 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.

Screening- og bekreftelsesmetoder skal bare brukes til kontroll av en bestemt matriser dersom metodene er tilstrekkelig følsomme til å påvise nivåer ved tiltaksgrensen eller grenseverdien på en pålitelig måte.

3. KRAV TIL KVALITETSSIKRING

- Det skal treffes tiltak for å unngå krysskontaminering i alle trinn av prøvetakings- og analysemetoden.
- Prøvene skal oppbevares og transporteres i beholdere 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.

- Oppbevaring og transport av prøven skal foregå på en slik måte at næringsmiddelprøven bevares i uendret stand.
- 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.
- Det er viktig at reagenser, glassvarer og utstyr kontrolleres med tanke på mulig påvirkning av de TEQ- eller BEQ-baserte resultatene.
- Det skal utføres en blindanalyse ved at hele analysemetoden gjennomføres, men uten prøven.
- For bioanalytiske metoder er det svært viktig 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 og/eller varmes opp til de temperaturer som kreves for å fjerne spor av PCDD/PCDF, dioksinlignende forbindelser og interfererende forbindelser fra overflatene.
- Prøven som ekstraheres, må være stor nok til å oppfylle kravene om et tilstrekkelig lavt måleområde, herunder grenseverdi- eller tiltaksgrensekonsentrasjonene.
- De enkelte framgangsmåtene for tillaging av prøver som brukes for de aktuelle produktene, må være i samsvar med internasjonalt anerkjente retningslinjer.
- Når det gjelder fisker, skal skinnet fjernes, ettersom grenseverdien gjelder muskelkjøtt uten skinn. Alle rester av muskelkjøtt og fettvev på innsiden av skinnet skal imidlertid nøye og fullstendig skrapes av og legges til prøven som skal analyseres.

4. KRAV TIL LABORATORIER

- I samsvar med bestemmelsene i europaparlaments- og rådsforordning (EF) nr. 882/2004⁽¹⁾ 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.
- Laboratoriets kompetanse skal dokumenteres ved løpende deltagelse med vellykket resultat i undersøkelser foretatt ved flere laboratorier for bestemmelse av PCDD/PCDF og dioksinlignende PCB i relevante prøvematerialer av næringsmidler og konsentrasjonsområder.
- 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.

5. GRUNNLEGGENDE KRAV TIL ANALYSEMETODER FOR DIOKSINER (PCDD/PCDF) OG DIOKSINLIGNENDE PCB

5.1. Lavt måleområde og lave grenser for mengdebestemmelse

- Noen PCDD/PCDF-forbindelser er ekstremt giftige, og de påviselige mengdene skal derfor ligge i øvre femtoqram-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 pikogramnivåene (10^{-12} g).

5.2. Høy selektivitet (spesifisitet)

- 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 metoder med gasskromatografi/massespektrometri (GC/MS) skal det kunne skilles mellom ulike forbindelser, f.eks. mellom giftige (som de sytten 2,3,7,8-substituerte PCDD/PCDF og de tolv dioksinlignende PCB) og andre forbindelser.
- 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.

⁽¹⁾ Europaparlaments- og rådsforordning (EF) nr. 882/2004 av 29. april 2004 om offentlig kontroll for å sikre at føde- og næringsmiddelregelverket samt bestemmelsene om dyrs helse og velferd overholdes (EUT L 165 av 30.4.2004, s. 1).

5.3. Høy nøyaktighet (riktighet og presisjon, gjenfinningsgrad ved biologisk prøving)

- For GC/MS-metoder skal bestemmelsen gi et gyldig anslag over den faktiske konsentrasjonen i en prøve. Høy nøyaktighet (nøyaktighet i måling: graden av samsvar mellom måleresultatet og målingens riktige eller tildelte verdi) er nødvendig for å unngå at et resultat av en analyse avvises fordi det fastsatte TEQ-nivået 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 reproduserbarhetsforhold).
- Ved bioanalytiske metoder skal gjenfinningsgraden ved biologisk prøving bestemmes.

5.4. Validering i grenseverdiområdet og alminnelige kvalitetskontrolltiltak

- Laboratoriene skal dokumentere en metodes ytelse innenfor grenseverdiområdet, f.eks. 0,5, 1 og 2 ganger grenseverdien med en akseptabel variasjonskoeffisient for gjentatte analyser under validering og/eller rutineanalyser.
- Som interne kvalitetskontrolltiltak skal det foretas jevnlig blindkontroller og tilsetningsforsøk eller analyser av kontrollprøver (om mulig helst med sertifisert referansemateriale). Kvalitetskontrolldiagrammer for blindkontroller, tilsetningsforsøk eller analysering av kontrollprøver skal utarbeides og kontrolleres for å sikre at analyseytelsen oppfyller kravene.

5.5. Grense for mengdebestemmelse

- For en bioanalytisk screeningmetode 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 dokumenteres at rapporteringsnivået er forskjellig fra metodens blindprøver med en faktor på minst tre med en respons 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 blindprøve.
- Grensen for mengdebestemmelse (LOQ) for en bekreftelsesmetode skal være på ca. én femdel av grenseverdien.

5.6. Analysekriterier

- For å sikre pålitelige resultater fra bekreftelses- eller screeningmetoder skal følgende kriterier være oppfylt for henholdsvis TEQ- og BEQ-verdien, uavhengig om den bestemmes som 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_r)	< 20 %	
Intern reproduserbarhet (RSD_R)	< 25 %	< 15 %

(*) Med hensyn til grenseverdiene.

5.7. Særlige krav til screeningmetoder

- Både GC/MS-metoder og bioanalytiske metoder kan brukes til screening. Ved bruk av GC/MS-metoder skal kravene fastsatt i nr. 6 i dette vedlegg anvendes. For cellebaserte bioanalytiske metoder er det fastsatt særlige krav i nr. 7 i dette vedlegg.
- Laboratorier som bruker screeningmetoder til rutinekontroll av prøver, skal ha et tett samarbeid med laboratorier som bruker bekreftelsesmetoden.

- Screeningmetodens ytelse skal kontrolleres i forbindelse med rutineanalyser ved hjelp av analysekvalitetskontroll og løpende metodevalidering. Det skal foreligge et løpende program for kontroll av negative resultater.

- 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 grenseverdien eller tiltaksgrensen, for å kontrollere om responsen kan være hemmet 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, og den aktuelle prøven skal da gjennomgå en bekreftende analyse. Resultatene skal kontrolleres ved hjelp av kvalitetskontrolldiagrammer.

- Kvalitetskontroll av negative prøver.

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

- Bestemmelse av andel falskt negative prøver på grunnlag av kvalitetskontrolldata.

Andelen falskt negative resultater fra screening av prøver som ligger under og over grenseverdien eller tiltaksgrensen, skal bestemmes. Den faktiske andelen falskt negative prøver skal være under 5 %.

Når det foreligger minst 20 bekreftede resultater per matriks/matriksgruppe fra kvalitetskontrollen av negative prøver, skal disse opplysningene danne grunnlaget for å trekke konklusjoner om andelen falskt negative prøver. Resultater av prøver analysert ved ringprøving eller under forurensningshendelser som dekker et konsentrasjonsområde på 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 dekke de vanligste forbindelsesmønstrene og representere 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.

- Eventuelle positive resultater fra screening skal alltid kontrolleres gjennom en fullstendig, ny analyse av den opprinnelige prøven med en bekreftelsesmetode. Disse prøveresultatene kan også brukes til å vurdere andelen falskt positive prøver. For screeningmetoder er andelen falskt positive prøver den andelen av resultatene som bekreftes som negative ved hjelp av en bekreftende analyse, 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.

- Bioanalytiske metoder skal, i alle fall under valideringsforhold, gi en godkjent angivelse av TEQ-nivået, beregnet og uttrykt i BEQ.

- Også for bioanalytiske metoder som gjennomføres under repeterbarhetsforhold, vil den interne repeterbarheten (RSD_I) normalt være mindre enn reproduserbarheten (RSD_R).

6. SÆRLIGE KRAV TIL GC/MS-METODER I FORBINDELSE MED SCREENING ELLER BEKREFTELSE

6.1. Akseptable forskjeller mellom WHO-TEQ-nivåer når det gjelder øvre og nedre konsentrasjoner

- Forskjellen mellom øvre konsentrasjon og nedre konsentrasjon skal ikke overskride 20 % for å bekrefte overskridelsen av grenseverdien eller eventuelt tiltaksgrenser.

6.2. Kontroll av gjenfinning

- For å validere analysemetoden må det tilsettes ^{13}C -merkede 2,3,7,8-klorsubstituerte interne PCDD/PCDF-standarder og ^{13}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 og dioksinlignende PCB). Ved bekreftelsesmetoder skal alle sytten ^{13}C -merkede 2,3,7,8-substituerte interne PCDD/PCDF-standarder og alle tolv ^{13}C -merkede interne dioksinlignende PCB-standarder brukes.

- Ved hjelp av relevante kalibreringsløsninger skal dessuten relative responsfaktorer bestemmes for de forbindelser som det ikke tilsettes en ¹³C-merket analog for.
- For næringsmidler av vegetabilsk og animalsk opprinnelse som inneholder mindre enn 10 % fett, skal interne standarder tilsettes før ekstraksjon. For næringsmidler 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 av om resultatene er produkt- eller fettbaserte.
- Før GC/MS-analysen skal det tilsettes én eller to gjenfinningsstandarder (surrogatstandarder).
- Gjenfinningen må kontrolleres. For bekreftelsesmetoder skal gjenfinningen av de enkelte interne standardene ligge i området 60–120 %. For enkeltforbindelser, særlig visse hepta- og oktaklorerte dibenzo-p-dioksiner og dibenzofuraner, kan lavere eller høyere gjenfinning aksepteres, 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 %.

6.3. Fjerning av interfererende 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 tilstrekkelig (< 25 % fra topp til topp mellom 1,2,3,4,7,8-HxCDF og 1,2,3,6,7,8-HxCDF).

6.4. Kalibrering med standardkurve

- Området for kalibreringskurven skal dekke de relevante grenseverdi- eller tiltaksgrenseområdene.

6.5. Særlige krav til bekreftelsesmetoder

- GC-HRMS:

Ved HRMS skal oppløsningen normalt være høyere enn eller lik 10 000 for hele masseområdet ved 10 % av topphøydene.

Ytterligere kriterier for identifisering og bekreftelse beskrevet i internasjonalt anerkjente standarder, for eksempel i standarden EN 16215:2012 (Dyrefôr – Bestemmelse av dioksiner og dioksinlignende PCB ved GC/HRMS og av indikator-PCB ved GC/HRMS) og/eller i EPA-metode 1613 og 1668 som revidert, skal oppfylles.

- GC-MS/MS:

Kontroll av minst to bestemte morioner, hver med ett bestemt tilsvarende datterion fra overgangen, for alle merkede og umerkede analytter innenfor analysens virkeområde.

Høyeste tillatte toleranse for relativ ioneintensitet på ± 15 % for utvalgte datterioner fra overgangen sammenlignet med beregnede eller målte verdier (gjennomsnittet av kalibreringsstandarder) ved identiske MS/MS-forhold, særlig kollisjonsenergi og kollisjonsgasstrykk, for hver overgang av en analytt.

Oppløsningen for hver kvadrupol skal minst være lik eller bedre enn enhetsmasseoppløsningen (enhetsmasseoppløsning: tilstrekkelig oppløsning til å skille to topper i en masseenheter) for å gjøre mulig interferens med de relevante analyttene så liten som mulig.

Ytterligere kriterier beskrevet i internasjonalt anerkjente standarder, for eksempel i standarden EN 16215:2012 (Dyrefôr – Bestemmelse av dioksiner og dioksinlignende PCB ved GC/HRMS og av indikator-PCB ved GC/HRMS) og/eller i EPA-metode 1613 og 1668 som revidert, skal oppfylles, unntatt plikten til å bruke GC-HRMS.

7. SÆRLIGE KRAV TIL BIOANALYTISKE METODER

Bioanalytiske metoder er metoder basert på bruk av biologiske prinsipper som cellebaserte analyser, reseptoranalyser eller immunologiske analyser. Her i nr. 7 fastsettes allmenne krav til bioanalytiske metoder.

I en screeningmetode klassifiseres i prinsippet en prøve som negativ eller mistenkt positiv. I denne forbindelse sammenlignes det beregnede BEQ-nivået med terskelverdien (se nr. 7.3). Prøver under terskelverdien erklæres som negative, og prøver som er lik eller over terskelverdien som mistenkt positive og må analyseres med en bekreftelsesmetode. I praksis kan et BEQ-nivå som tilsvarer 2/3 av grenseverdien, fungere som terskelverdi, forutsatt at andelen falskt negative prøver er på under 5 %, og at andelen falskt positive prøver er akseptabel. Med særskilte grenseverdier for PCDD/PCDF og for summen av PCDD/PCDF og dioksinlignende PCB kreves det hensiktsmessige terskelverdier for biologiske prøver av PCDD/PCDF for å kunne kontrollere om prøvene oppfyller kravene uten fraksjonering. For kontroll av prøver som overskrider tiltaksgrensene, kan en egnet prosentandel av den respektive tiltaksgrensen fungere som 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 nr. 7.1.1 og 7.1.6)

7.1. Vurdering av analyseresponsen

7.1.1. Alminnelige krav

- Ved beregning av konsentrasjonene ut fra en TCDD-kalibreringskurve vil verdiene i nedre og øvre del av kurven vise stor variasjon (høy variasjonskoeffisient). Måleområdet er området der variasjonskoeffisienten er lavere enn 15 %. Den nedre delen av måleområdet (rapporteringsgrensen) må settes betydelig høyere enn metodens blindprøve (med en faktor på minst tre). Den øvre delen av måleområdet er normalt representert ved en EC₇₀-verdi (70 % av høyeste effektive konsentrasjon), men er lavere dersom variasjonskoeffisienten er høyere enn 15 % i dette området. Måleområdet skal fastsettes under valideringen. Terskelverdier (7.3) skal ligge godt innenfor måleområdet.
- Standardløsninger og prøveekstrakter skal analyseres minst to ganger. 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) basert på en variasjonskoeffisient på < 15 %

7.1.2. Kalibrering

7.1.2.1. Kalibrering med standardkurve

- Innholdet i prøver kan beregnes ved å sammenligne analyseresponsen med en TCDD-kalibreringskurve (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 dobbeltanalyse) 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 R²-verdien liten eller ingen betydning. En bedre kurvetilpasning oppnås ved å redusere forskjellen mellom beregnede og observerte konsentrasjoner innenfor kurvens måleområde til et minimum (f.eks. ved å redusere residualsummen)
- 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 kjemikalier som er brukt), og for gjenfinningsgraden (beregnet ut fra BEQ-nivået i egnede referanseprøver med representative forbindelsesmønstre nær grenseverdien eller tiltaksgrensen). Når man korrigerer for gjenfinning, skal gjenfinningsgraden alltid være innenfor påkrevd område (se nr. 7.1.4). Referanseprøver som brukes for å korrigere gjenfinningen, må oppfylle kravene angitt i nr. 7.2.

7.1.2.2. Kalibrering med referanseprøver

En kalibreringskurve framstilt av minst fire referanseprøver (se nr. 7.2): matriksblindprøve og tre referanseprøver på 0,5, 1 og 2 ganger grenseverdien eller tiltaksgrensen kan brukes, noe som fjerner behovet for å korrigere for blindprøve og gjenfinning. I slike tilfeller kan analyseresponsen som tilsvarer 2/3 av grenseverdien (se 7.3), 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.

7.1.3. Separat bestemmelse av PCDD/PCDF og dioksinlignende PCB

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

7.1.4. *Gjenfinningsgrad ved biologisk prøving*

«Gjenfinningsgrad ved biologisk prøving» skal beregnes ut fra egnede referanseprøver med representative forbindelsesmønstre nær grenseverdien eller tiltaksgrensen, og uttrykkes som en prosentandel av BEQ-nivået sammenlignet med TEQ-nivået. Avhengig av analysetype og hvilke TEF-verdier⁽¹⁾ 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 utføres en separat bestemmelse av PCDD/PCDF og dioksinlignende PCB, skal gjenfinningsgraden ved biologisk prøving derfor være 20–60 % for dioksinlignende PCB og 50–130 % for PCDD/PCDF (områdene gjelder for TCDD-kalibreringskurven). Bidraget fra dioksinlignende PCB til summen av PCDD/PCDF og dioksinlignende PCB kan variere mellom ulike matrikser og prøver. Disse variasjonene gjenspeiles i gjenfinningsgraden ved biologisk prøving, som skal ligge innenfor 30–130 % av summen av PCDD/PCDF og dioksinlignende PCB.

7.1.5. *Kontroll av gjenfinning etter rensing*

Tap 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 skal kontrolleres med en bekreftelsesmetode. Gjenfinningen skal være i området 60–120 %, særlig for forbindelser som bidrar med mer enn 10 % til TEQ-nivået i de ulike blandingene.

7.1.6. *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 betydelig over metodens blindprøver (minst med en faktor på tre).

7.2. **Bruk av referanseprøver**

- Referanseprøvene skal representere prøvematriks, forbindelsesmønstre og konsentrasjonsområder for PCDD/PCDF og dioksinlignende PCB nær grenseverdien eller tiltaksgrensen.
- En metodeblindprøve, eller helst en matriksblindprøve, og en referanseprøve ved grenseverdien eller tiltaksgrensen skal inngå i hver analyseserie. Disse prøvene må ekstraheres og analyseres samtidig under identiske forhold. For å sikre at analysen er egnet, skal referanseprøven vise en klart høyere respons enn blindprøven. Disse prøvene kan brukes til å korrigere for blindprøver og gjenfinning.
- Referanseprøver som er valgt ut for å korrigere for gjenfinning, skal være representative for alle analyseprøver, slik at forbindelsesmønstre ikke skal føre til at nivåene undervurderes.
- Det kan tas brukes ekstra referanseprøver med en konsentrasjon på f.eks. 0,5 og 2 ganger grenseverdien eller tiltaksgrensen for å påvise analysens ytelse innenfor det området som er relevant for kontrollen av grenseverdien eller tiltaksgrensen. Til sammen kan disse prøvene brukes til å beregne BEQ-nivåene i analyseprøvene (7.1.2.2).

7.3. **Bestemmelse av terskelverdier**

Forholdet mellom bioanalytiske resultater i BEQ og resultater fra bekreftelsesmetoden i TEQ skal fastsettes (f.eks. gjennom matrikstilpassede kalibreringsforsøk med 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 hver analyseserie, ved at metode- eller matriksblindprøver og prøver for gjenfinning inngår (7.2).

Det skal fastsettes terskelverdier for å kunne avgjøre om en prøve overholder grenseverdiene eller, dersom det er relevant, for å kontrollere tiltaksgrensene ut fra gjeldende grenseverdier eller tiltaksgrenser som er fastsatt for enten PCDD/PCDF og dioksinlignende PCB hver for seg, eller for summen av PCDD/PCDF og dioksinlignende PCB. De representeres av det *nedre* endepunktet i fordelingen av bioanalytiske resultater (korrigert for blindprøve og gjenfinning), som tilsvarer beslutningsgrensen for bekreftelsesmetoden basert på et konfidensnivå på 95 %, noe som innebærer en andel falskt negative prøver på < 5 % og en RSD_R på < 25 %. Beslutningsgrensen for bekreftelsesmetoden er grenseverdien, idet det tas hensyn til måleusikkerheten.

⁽¹⁾ Gjeldende krav bygger på TEF i M. Van den Berg et al., *Toxicol Sci* 93 (2), 223–241 (2006).

I praksis kan terskelverdien (i BEQ) beregnes på følgende måte (se figur 1):

7.3.1. Bruk av det *nedre* båndet i prediksjonsintervallet på 95 % ved beslutningsgrensen for bekreftelsesmetoden

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

der

BEQ_{DL} BEQ som tilsvarer beslutningsgrensen for bekreftelsesmetoden, som er 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 samlet antall kalibreringspunkter (indeks j)

n antall prøver per konsentrasjon (repetisjoner)

x_i Prøvekonsentrasjon (i TEQ) for kalibreringspunktet i fastsatt med en bekreftelsesmetode

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

$$Q_{xx} = \sum_{j=1}^m (x_j - \bar{x})^2 \text{ kvadratsumparameter}$$

i = indeks for kalibreringspunkt i

7.3.2. Beregning ut fra bioanalytiske resultater (korrigert for blindprøve og gjenfinning) av flere analyser av prøver ($n \geq 6$) forurenset ved bekreftelsesmetodens beslutningsgrense, som *nedre* endepunkt for fordeling av data ved tilsvarende gjennomsnittsverdi for BEQ:

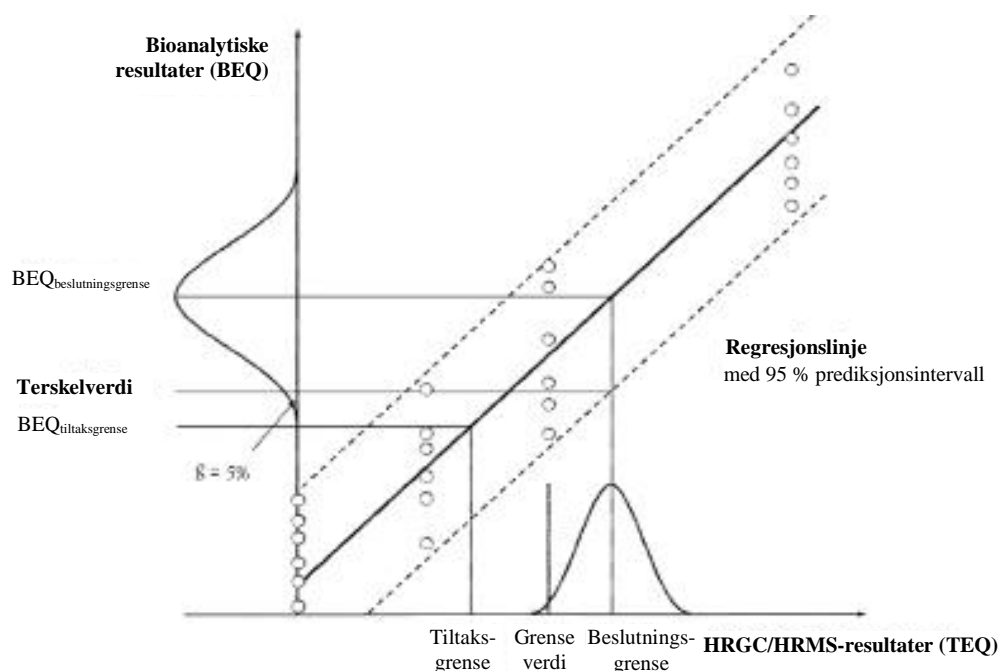
$$\text{Terskelverdi} = \text{BEQ}_{\text{DL}} - 1,64 \times \text{SD}_R$$

der

SD_R standardavvik for resultat fra biologisk prøving ved BEQ_{DL} , målt ved interne reproduserbarhetsforhold.

7.3.3. Beregning som gjennomsnittsverdi av bioanalytiske resultater (i BEQ, korrigert for blindprøve og gjenfinning) av flere analyser av prøver ($n \geq 6$) forurenset ved 2/3 av grenseverdien eller tiltaksgrensen. Dette er basert på den observasjon at dette nivået vil ligge nær terskelverdien som er bestemt i henhold til 7.3.1 eller 7.3.2.

Figur 1



Beregning av terskelverdier basert på et konfidensnivå på 95 %, noe som innebærer en andel falskt negative prøver på < 5 % og en RSD_R på < 25 %:

1. Fra det *nedre* båndet i prediksjonsintervallet på 95 % ved beslutningsgrensen for bekreftelsesmetoden.
2. Fra flere analyser av prøver ($n \geq 6$) som er forurenset ved beslutningsgrensen for bekreftelsesmetoden, som *nedre* endepunkt for fordeling av data (representert ved en klokkeformet kurve i figuren) ved tilsvarende gjennomsnittsverdi for BEQ.

7.3.4. 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 matriks-/forbindelsesmønstre, kan være høyere enn de TEQ-baserte grenseverdiene eller tiltaksgrensene, 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 terskelverdier beregnes ut fra en RSD_R på 25 % eller helst 2/3 av grenseverdien eller tiltaksgrensen.

7.4. Ytelseegenskaper

- Ettersom det ikke kan brukes interne standarder i bioanalytiske metoder, skal disse metodenes repeterbarhet analyseres for å innhente opplysninger om standardavviket innenfor og mellom de enkelte analyseseriene. 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.
- 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 identifiseres (se 7.1.2). 2).
- Målforbindelser, mulig interferens og høyeste tolererte blindprøvenivåer skal fastsettes.
- Standardavviket i responsen eller konsentrasjonen beregnet ut fra responsen (bare mulig i målområdet) ved en tredobbel bestemmelse av et prøveekstrakt skal ikke overskride 15 %.
- De ukorrigerede resultatene av referanseprøvene, uttrykt i BEQ (blindprøve og ved grenseverdien eller tiltaksgrensen), skal brukes ved vurdering av den bioanalytiske metodens ytelse i et konstant tidsrom.
- 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 må kontrolleres grundig for å unngå falskt negative resultater når de trekkes fra.
- Resultatene av bekreftelsesmetodene av mistenkte prøver og 2–10 % av de negative prøvene (minst 20 prøver per matriks) 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 matriksene.
- At en metode har god ytelse, kan også dokumenteres ved deltaking i ringprøving. Resultater av 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 dekke de vanligste forbindelsesmønstrene og representere ulike kilder.
- I forbindelse med hendelser kan terskelverdiene vurderes på nytt for å gjenspeile de særskilte matriks- og forbindelsesmønstrene i den aktuelle hendelsen.

8. RAPPORTERING AV RESULTATER

Bekreftelsesmetoder

- I den grad den benyttede analysemetoden gjør det mulig, skal analyseresultatene omfatte innholdet av de enkelte PCDD/PCDF- og dioksinlignende PCB-forbindelsene og rapporteres som nedre og øvre konsentrasjoner og mellomkonsentrasjoner, slik at resultatrapporten inneholder flest mulig opplysninger, og slik at resultatene tolkes i henhold til bestemte krav.

- I rapporten skal det også angis hvilken metode som er brukt ved ekstraksjon av PCDD/PCDF, dioksinlignende PCB og lipider. Prøvens lipidinnhold skal bestemmes og rapporteres for næringsmiddelprøver med grenseverdier uttrykt på grunnlag av fettmengde og forventet fettkonsentrasjon i størrelsesordenen 0–2 % (i samsvar med gjeldende lovgivning), for andre prøver er det valgfritt å bestemme lipidinnholdet.
- Gjenfinningsprosenten for de enkelte interne standardene skal angis dersom den ligger utenfor området angitt i nr. 6.2, dersom grenseverdien er overskredet (i så fall skal gjenfinningen for én av de to dobbeltanalysene angis), og i andre tilfeller på anmodning.
- 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 konfidensnivå på ca. 95 %. Dersom PCDD/PCDF og dioksinlignende PCB bestemmes hver for seg, brukes summen av den beregnede utvidede måleusikkerheten for de separate analyseresultatene for PCDD/PCDF og dioksinlignende PCB for summen av PCDD/PCDF og dioksinlignende PCB.
- Dersom det tas hensyn til måleusikkerheten ved å bruke $CC\alpha$ (som beskrevet i nr. IV.2 i vedlegg II), skal denne parameteren rapporteres.
- Resultatene skal angis i samme enheter og med (minst) samme antall signifikante sifre som grenseverdiene fastsatt i forordning (EF) nr. 1881/2006.

Bioanalytiske screeningmetoder

- Resultatet av screeningen skal angis som enten negativt eller mistenkt positivt (mistenkt).
- I tillegg kan resultatet for PCDD/PCDF og/eller dioksinlignende PCB uttrykt i bioanalytiske ekvivalenter (BEQ, ikke TEQ) angis (se nr. 1 i vedlegg III). Prøver med en respons under rapporteringsgrensen skal angis som under rapporteringsgrensen.
- For hver type prøvematriks skal rapporten inneholde opplysninger om grenseverdien eller tiltaksgrensen vurderingen er bygget på.
- Rapporten skal inneholde opplysninger om hvilken analyse som er anvendt, de grunnleggende analyseprinsippene og kalibreringstypen.
- I rapporten skal det også angis hvilken metode som er brukt ved ekstraksjon av PCDD/PCDF, dioksinlignende PCB og lipider. Prøvens lipidinnhold skal bestemmes og rapporteres for næringsmiddelprøver med grenseverdier uttrykt på grunnlag av fettmengde og forventet fettkonsentrasjon i størrelsesordenen 0–2 % (i samsvar med gjeldende lovgivning), for andre prøver er det valgfritt å bestemme lipidinnholdet.
- Ved prøver som mistenkes for å være positive, må rapporten inneholde en merknad om tiltak som skal treffes. Konsentrasjonen av PCDD/PCDF og summen av PCDD/PCDF og dioksinlignende PCB i prøver med forhøyet innhold skal bestemmes/bekreftes med en bekreftelsesmetode.

Tillegg til VEDLEGG III

WHO-TEF-verdier for vurdering av risikoen for mennesker på grunnlag av konklusjonene fra Verdens helseorganisasjons ekspertmøte i Genève i juni 2005 om et internasjonalt program for kjemikaliesikkerhet (IPCS) (Martin van den Berg et al., *The 2005 World Health Organization Re-evaluation of Human and Mammalian Toxic Equivalency Factors for Dioxins and Dioxin-like Compounds*. Toxicological Sciences 93(2), 223–241 (2006)).

Forbindelse	TEF-verdi	Forbindelse	TEF-verdi
Dibenzo-p-dioksiner (PCDD)		«Dioksinlignende» PCB Non-orto PCB + mono-orto PCB	
2,3,7,8-TCDD	1	Non-orto PCB	
1,2,3,7,8-PeCDD	1		
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0,1	PCB 77	0,0001
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0,1	PCB 81	0,0003
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0,1	PCB 126	0,1
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0,01	PCB 169	0,03
OCDD	0,0003		
Dibenzofuraner (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		

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

VEDLEGG IV

TILLAGING AV PRØVER OG KRAV TIL ANALYSEMETODER FOR KONTROLL AV INNHOLDET AV IKKE-DIOKSINLIGNENDE PCB (PCB 28, 52, 101, 138, 153, 180) I VISSE NÆRINGSMIDLER

Kravene i dette vedlegg får anvendelse når næringsmidler analyseres med henblikk på offentlig kontroll av innholdet av ikke-dioksinlignende polyklorete bifenyler (ikke-dioksinlignende PCB) og for andre forskriftsmessige formål.

1. Påvisningsmetoder som kan anvendes

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

2. Identifikasjon og bekreftelse av relevante analytter

— Relativ retensjonstid med hensyn til interne standarder eller referansestandarder (akseptabelt avvik på $\pm 0,25$ %).

— 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.

(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 høyklorete forbindelser.)

— For GC/MS-metoder:

— Kontroll av minst

— to særskilte ioner for HRMS,

— to særskilte ioner med $m/z > 200$ eller tre særskilte ioner med $m/z > 100$ for LRMS,

— 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 ⁿ (relativt avvik)
> 50 %	± 10 %	± 20 %
> 20 % to 50 %	± 15 %	± 25 %
> 10 % til 20 %	± 20 %	± 30 %
≤ 10 %	± 50 % (*)	± 50 % ¹

(*) Ettersom det finnes et tilstrekkelig antall massefragmenter med relativ intensitet > 10 %, bør man ikke anvende bekreftelsesioner med en relativ intensitet < 10 % i forhold til målionet.

— GC-ECD:

Bekreftelse av resultater som overskrider toleransegrensen med to GC-kolonner med stasjonære faser med ulik polaritet.

3. Dokumentasjon av metodens ytelse:

Validering innenfor grenseverdiområdet (0,5 til 2 ganger grenseverdien) med en godkjent variasjonskoeffisient for gjentatte analyser (se krav til intermediær presisjon i nr. 8).

4. Grense for mengdebestemmelse:

Blindprøveverdiene skal ikke være høyere enn 30 % av det forurensingsnivået som tilsvarer grenseverdien⁽¹⁾.

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:

- Bruk av egnede interne standarder med fysikalsk-kjemiske egenskaper som kan sammenlignes med de relevante analyttene.
- Tilsetning av interne standarder:
 - Tilsetning til produkter (før ekstraksjon og rensingsprosess).
 - Tilsetning til ekstrahert fett mulig (før rensing), dersom grenseverdien er uttrykt på grunnlag av fettmengden.
- Krav til metoder der alle seks isotopmerkede indikator-PCB-forbindelser brukes:
 - Resultatene skal korrigeres for gjenfinning av interne standarder.
 - Allment akseptabel gjenfinningsprosent for isotopmerkede interne standarder er på mellom 50 og 120 %.
 - Lavere eller høyere gjenfinning for enkelte forbindelser med et bidrag til summen av de seks indikator-PCB på under 10 % kan godtas.
- Krav til metoder som ikke bruker alle seks isotopmerkede interne standarder eller andre interne standarder:
 - Kontroll av gjenfinning av interne standarder for hver prøve.
 - Akseptabel gjenfinning av interne standarder mellom 60 og 120 %.
 - Resultatene skal korrigeres for gjenfinning av interne standarder.
- Gjenfinningen av umerkede forbindelser skal kontrolleres ved hjelp av prøver med tilsetning eller kvalitetskontrollprøver med konsentrasjoner i grenseverdiområdet. Akseptabel gjenfinning for disse forbindelsene er mellom 70 og 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 kvalitetssikrer sine analyser. Laboratoriene skal være akkreditert i henhold til standarden EN ISO/IEC 17025.

8. Ytelsesegenskaper: Kriterier for summen av de seks PCB-indikatorene ved grenseverdien

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

9. Rapportering av resultater

- I den grad den anvendte 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.
- I rapporten skal det også angis hvilken metode som er brukt ved ekstraksjon av PCB og lipider. Prøvens lipidinnhold skal bestemmes og rapporteres for næringsmiddelprøver med grenseverdier uttrykt på grunnlag av fettmengde og forventet fettkonsentrasjon i størrelsesordenen 0–2 % (i samsvar med gjeldende lovgivning), for andre prøver er det valgfritt å bestemme lipidinnholdet.

⁽¹⁾ 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.

- Gjenfinningsprosenten 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.
 - 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 det tas hensyn til måleusikkerheten ved å bruke $CC\alpha$ (som beskrevet i nr. IV.1 i vedlegg II), skal denne parameteren rapporteres.
 - Resultatene skal angis i samme enheter og med (minst) samme antall signifikante sifre som grenseverdiene fastsatt i forordning (EF) nr. 1881/2006.
-