KOMMISSIONENS FORORDNING (EU) Nr. 278/2012

af 28. marts 2012

om ændring af forordning (EF) nr. 152/2009 for så vidt angår bestemmelse af indholdet af dioxiner og polychlorerede biphenyler

(EØS-relevant tekst)

EUROPA-KOMMISSIONEN HAR —

under henvisning til traktaten om Den Europæiske Unions funktionsmåde,

under henvisning til Europa-Parlamentets og Rådets forordning (EF) nr. 882/2004 af 29. april 2004 om offentlig kontrol med henblik på verifikation af, at foderstof- og fødevarelovgivningen samt dyresundheds- og dyrevelfærdsbestemmelserne overholdes ([1]), særlig artikel 11, stk. 4, og

ud fra følgende betragtninger:

(1) Ved Europa-Parlamentets og Rådets direktiv 2002/32/EF af 7. maj 2002 om uønskede stoffer i foderstoffer ([2]) er der fastsat grænseværdier for indholdet af dioxiner, furaner og polychlorerede biphenyler (PCB'er) i foder samt indgrebstærskler, der udløser undersøgelser, som foretages af medlemsstaterne, til identificering af kilderne til de pågældende stoffer.

(2) Ved Kommissionens forordning (EF) nr. 152/2009 af 27. januar 2009 om prøveudtagnings- og analysemetoder til offentlig kontrol af foder ([3]) er der fastsat metoder til bestemmelse af indholdet af polychlorerede dibenzo-*p*-dioxiner (PCDD'er), polychlorerede dibenzofuraner (PCDF'er) og dioxinlignende polychlorerede biphenyler (PCB'er) i foder.

(3) Der kan anvendes en screeningsanalysemetode med alment acceptabel validering og høj produktivitet til at identificere prøver med signifikant indhold af PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende PCB'er (fortrinsvis ved at der udvælges prøver, hvori indgrebstærsklerne er overskredet, og det sikres, at grænseværdierne er overskredet i de udvalgte prøver). Det er nødvendigt at bestemme stikprøvernes indhold af PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende PCB'er efter en verifikationsanalysemetode. Der bør derfor fastsættes passende krav til screeningsmetoden, så det sikres, at andelen af resultater, der er falsk overensstemmende i forhold til grænseværdierne, er på under 5 %, samt strenge krav til verifikationsanalysemetoderne. Verifikationsmetoder gør det desuden muligt at bestemme lave baggrundskoncentrationer. Dette er vigtigt for at kunne følge udviklingen i niveauer over tid, vurdere eksponeringen og revurdere grænseværdier og indgrebstærskler.

(4) Ændringen af grænseværdierne for dioxiner og dioxinlignende PCB'er samt fastsættelsen af ikke-dioxinlignende PCB'er i direktiv 2002/32/EF og behovet for at opdatere kriterierne vedrørende screeningsmetoder nødvendiggør en ændring af reglerne for bestemmelse af dioxiner og PCB'er i foder, jf. del B i bilag V til forordning (EF) nr. 152/2009. Af hensyn til klarheden og forståeligheden bør del B i bilag V ændres.

(5) Det er af stor betydning, at analyseresultater indberettes og fortolkes på en ensartet måde for at sikre ensartet håndhævelse i hele Unionen.

(6) Bilag V til forordning (EF) nr. 152/2009 bør således ændres i overensstemmelse hermed.

(7) Foranstaltningerne i denne forordning er i overensstemmelse med udtalelse fra Den Stående Komité for Fødevarekæden og Dyresundhed, og hverken Europa-Parlamentet eller Rådet har modsat sig foranstaltningerne —

VEDTAGET DENNE FORORDNING:

Artikel 1

Del B i bilag V til forordning (EF) nr. 152/2009 ændres som angivet i bilaget til nærværende forordning.

Artikel 2

Denne forordning træder i kraft på tyvendedagen efter offentliggørelsen i *Den Europæiske Unions Tidende*.

Den anvendes fra ikrafttrædelsesdatoen.

Denne forordning er bindende i alle enkeltheder og gælder umiddelbart i hver medlemsstat.

Udfærdiget i Bruxelles, den 28. marts 2012.

På Kommissionens vegne

José Manuel BARROSO

Formand

([1]) EUT L 165 af 30.4.2004, s. 1.
([2]) EFT L 140 af 30.5.2002, s. 10.
([3]) EUT L 54 af 26.2.2009, s. 1.

BILAG

I bilag V til forordning (EF) nr. 152/2009 affattes del B, »BESTEMMELSE AF INDHOLDET AF DIOXINER (PCDD/PCDF) OG DIOXINLIGNENDE PCB'er«, således:

»B. BESTEMMELSE AF INDHOLDET AF DIOXINER (PCDD'er/PCDF'er) OG PCB'er

KAPITEL I

Prøveudtagningsmetoder og fortolkning af analyseresultater

1. **Formål og anvendelsesområde**

Prøver til offentlig kontrol af indholdet af polychlorerede dibenzo-p-dioxiner (PCDD'er), polychlorerede dibenzofuraner (PCDF'er), dioxinlignende polychlorerede biphenyler (PCB'er) (*) og ikke-dioxinlignende PCB'er i foder udtages som beskrevet i bilag I. De kvantitative krav i forbindelse med kontrol af stoffer og produkter, der er homogent fordelt i foderet, jf. punkt 5.A i bilag I, skal overholdes. De derved fremkomne samleprøver betragtes som repræsentative for de partier eller delpartier, de er udtaget fra. På grundlag af det indhold, der er konstateret i laboratorieprøverne, fastslås det, om de i direktiv 2002/32/EF fastsatte grænseværdier er overholdt.

(*) Skema over TEF (= toksicitetsækvivalensfaktorer) for dioxiner, furaner og dioxinlignende PCB'er: WHO-TEF til vurdering af risikoen for mennesker baseret på konklusionerne fra Verdenssundhedsorganisationens (WHO) ekspertmøde i Genève i juni 2005 om det internationale program for sikkerhed i forbindelse med kemikalier (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)).

Kongener	TEF-værdi	Kongener	TEF-værdi
Dibenzo-p-dioxiner (»PCDD'er«) og dibenzo-p-furaner (»PCDF'er«)		**»Dioxinlignende« PCB'er: non-ortho-PCB'er + mono-ortho-PCB'er**	
2,3,7,8-TCDD	1		
1,2,3,7,8-PeCDD	1	*Non-ortho-PCB'er*	
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		
		Mono-ortho-PCB'er	
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		

Anvendte forkortelser: »T« = tetra; »Pe« = penta; »Hx« = hexa; »Hp« = hepta; »O« = octa; »CDD« = chlordibenzodioxin; »CDF« = chlordibenzofuran; »CB« = chlorbiphenyl.

Ved anvendelsen af denne del af bilag V gælder definitionerne i bilag I til Kommissionens beslutning 2002/657/EF af 14. august 2002 om gennemførelsesbestemmelser til Rådets direktiv 96/23/EF for så vidt angår analysemetoders ydeevne og fortolkning af resultater (**).

(**) EFT L 221 af 17.8.2002, s. 8.

2. **Partiets eller delpartiets overensstemmelse med kravene**

2.1. *For så vidt angår ikke-dioxinlignende PCB'er*

Partiet opfylder kravene, hvis analyseresultatet ikke overskrider den grænseværdi for ikke-dioxinlignende PCB'er, der er fastsat i direktiv 2002/32/EF, idet der tages hensyn til måleusikkerheden.

Partiet opfylder ikke kravene, hvis analyseresultatets øvre koncentration (***) — bekræftet ved endnu en analyse (****) — overskrider grænseværdien, der er fastsat i direktiv 2002/32/EF, idet der tages hensyn til måleusikkerheden.

Der tages hensyn til måleusikkerheden på en af følgende måder:

— ved at beregne den ekspanderede usikkerhed, idet der anvendes en dækningsfaktor på 2, hvilket giver et konfidensniveau på ca. 95 %. Et parti eller delparti opfylder ikke kravene (dvs. er ikke-overensstemmende), hvis den målte værdi minus U ligger over grænseværdien

— ved at fastlægge beslutningsgrænsen (CCα) i overensstemmelse med punkt 3.1.2.5 i bilag I til beslutning 2002/657/EF. Et parti eller delparti er ikke-overensstemmende, hvis den målte værdi er lig med eller højere end CCα.

Disse fortolkningsregler gælder for analyseresultater af prøver udtaget ved offentlig kontrol. For kontraprøve-analyser eller analyser til referenceformål gælder de nationale regler.

(***) »Øvre koncentration« betyder, at hver ikke-bestemt kongeners bidrag anses for at være lig med bestemmelsesgrænsen. »Nedre koncentration« betyder, at hver ikke-bestemt kongeners bidrag anses for at være nul. »Middelkoncentration« betyder, at hver ikke-bestemt kongeners bidrag anses for at være lig med halvdelen af bestemmelsesgrænsen.

(****) En sådan ekstra analyse er nødvendig for at udelukke muligheden for intern krydskontaminering eller utilsigtet sammenblanding af prøver. Den første analyse, hvor der tages hensyn til måleusikkerheden, anvendes til at verificere, om kravene er opfyldt. Hvis analysen gennemføres i forbindelse med en hændelse med forurening, kan bekræftelse ved en ekstra analyse undlades, såfremt de prøver, der er udtaget til analyse, ved hjælp af sporbarhed kan relateres til forureningshændelsen.

2.2. *For så vidt angår PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende PCB'er*

Partiet opfylder kravene, hvis analyseresultatet fra en enkelt analyse

— udført efter en screeningsmetode med en andel af falsk overensstemmende resultater på under 5 % viser, at indholdet ikke overskrider den pågældende grænseværdi for PCDD'er/PCDF'er eller for summen af PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende PCB'er, der er fastsat i direktiv 2002/32/EF

— udført efter en verifikationsmetode ikke overskrider den pågældende grænseværdi for PCDD'er/PCDF'er eller for summen af PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende PCB'er, der er fastsat i direktiv 2002/32/EF, idet der tages hensyn til måleusikkerheden.

For screeningsassays fastlægges en afskæringsværdi, som lægges til grund for beslutninger om, hvorvidt de relevante niveauer, der er fastsat for enten PCDD'er/PCDF'er eller for summen af PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende PCB'er, er overholdt i prøverne.

Partiet opfylder ikke kravene, hvis analyseresultatets øvre koncentration (*****) — tilvejebragt efter en verifikationsmetode og bekræftet ved endnu en analyse — overskrider grænseværdien, der er fastsat i direktiv 2002/32/EF, idet der tages hensyn til måleusikkerheden (******).

Der tages hensyn til måleusikkerheden på en af følgende måder:

— ved at beregne den ekspanderede usikkerhed, idet der anvendes en dækningsfaktor på 2, hvilket giver et konfidensniveau på ca. 95 %. Et parti eller delparti er ikke-overensstemmende, hvis den målte værdi minus U ligger over grænseværdien. Hvis PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende PCB'er bestemmes separat, anvendes summen af den anslåede ekspanderede usikkerhed på de separate analyseresultater vedrørende PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende PCB'er på summen af PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende PCB'er

— ved at fastlægge beslutningsgrænsen (CCα) i overensstemmelse med punkt 3.1.2.5 i bilaget til beslutning 2002/657/EF. Et parti eller delparti er ikke-overensstemmende, hvis den målte værdi er lig med eller højere end CCα.

Disse fortolkningsregler gælder for analyseresultater af prøver udtaget ved offentlig kontrol. For kontraprøveanalyser eller analyser til referenceformål gælder de nationale regler.

(*****) »Øvre koncentration« betyder, at hver ikke-bestemt kongeners bidrag til toksicitetsækvivalenten (TEQ) anses for at være lig med bestemmelsesgrænsen. »Nedre koncentration« betyder, at hver ikke-bestemt kongeners bidrag til TEQ anses for at være nul. »Middelkoncentration« betyder, at hver ikke-bestemt kongeners bidrag til TEQ anses for at være lig med halvdelen af bestemmelsesgrænsen.

(******) En sådan ekstra analyse er nødvendig for at udelukke muligheden for intern krydskontaminering eller utilsigtet sammenblanding af prøver. Den første analyse, hvor der tages hensyn til måleusikkerheden, anvendes til at verificere, om kravene er opfyldt. Hvis analysen gennemføres i forbindelse med en hændelse med forurening, kan bekræftelse ved en ekstra analyse undlades, såfremt de prøver, der er udtaget til analyse, ved hjælp af sporbarhed kan relateres til forureningshændelsen.

3. **Resultater over de indgrebstærskler, der er fastsat i bilag II til direktiv 2002/32/EF**

Indgrebstærskler er et redskab til udvælgelse af prøver i tilfælde, hvor det er nødvendigt at identificere en forureningskilde og træffe foranstaltninger, der reducerer eller fjerner den. Med screeningsmetoder fastlægges der relevante afskæringsværdier til udvælgelse af de pågældende prøver. De nødvendige foranstaltninger til at identificere en kilde og til at reducere eller fjerne forureningen træffes kun, hvis overskridelsen af indgrebstærsklerne bekræftes ved endnu en analyse under anvendelse af en verifikationsmetode og under hensyntagen til måleusikkerheden (*******).

(*******) Forklarende bemærkninger og krav vedrørende dobbeltanalyse til kontrol af indgrebstærskler: jf. fodnote (*****) (afsnit om grænseværdier).

KAPITEL II

Klargøring af prøver og krav til analysemetoder, der anvendes ved offentlig kontrol af indholdet af dioxiner (PCDD'er/PCDF'er) og dioxinlignende PCB'er i foder

1. **Anvendelsesområde**

Kravene i dette bilag anvendes, når foder analyseres med henblik på offentlig kontrol af indholdet af 2,3,7,8-substituerede polychlorerede dibenzo-*p*-dioxiner og polychlorerede dibenzofuraner (PCDD'er/PCDF'er) og dioxinlignende polychlorerede biphenyler (dioxinlignende PCB'er) og til forskriftsmæssige formål.

Indholdet af PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende PCB'er i foder kan overvåges med udgangspunkt i to forskellige målsætninger:

a) udvælgelse af stikprøver med indhold af PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende PCB'er, der overskrider grænseværdierne eller indgrebstærsklerne. Denne fremgangsmåde kan omfatte en screeningsmetode, som giver mulighed for omkostningseffektivitet og høj produktivitet med hensyn til antallet af screenede prøver, hvilket forbedrer mulighederne for at opdage nye hændelser med høj eksponering og sundhedsrisici for forbrugerne. Screeningsmetoder kan omfatte biologiske analysemetoder og GC/MS-metoder. De bør anvendes med henblik på at undgå falsk overensstemmende resultater. Koncentrationen af PCDD'er/PCDF'er og summen af PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende PCB'er i prøver med signifikante indhold skal bestemmes/bekræftes efter en verifikationsmetode

b) bestemmelse af indholdet af PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende PCB'er i foderprøver i intervallet for lave baggrundskoncentrationer. Dette er vigtigt for at kunne følge udviklingen i niveauer over tid, vurdere befolkningens eksponering og opbygge en database til brug for en eventuel revurdering af indgrebsværdier og grænseværdier. Dette mål nås ved hjælp af verifikationsmetoder, der gør det muligt at identificere og kvantificere PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende PCB'er entydigt på det relevante niveau. Disse metoder kan anvendes til at bekræfte resultater fra screeningsmetoder og til at bestemme lave baggrundsniveauer i forbindelse med overvågningen af foder. De er også vigtige redskaber til at klarlægge kongenermønstre med henblik på at identificere kilden til en eventuel forurening. De pågældende metoder omfatter i dag anvendelse af højtopløsende gaskromatografi/højtopløsende massespektrometri (HRGC/HRMS).

2. **Klassifikation af metoder efter kvantificeringsgrad** (********)

(********) Tilpasset til PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende forbindelser fra »Guidelines for the validation of screening methods for residues of veterinary medicines«, EU-referencelaboratorierne for restkoncentrationer af veterinærlægemidler og forurenende stoffer i animalske fødevarer i Fougeres, Berlin og Bilthoven, 20.1.2010 (http://ec.europa.eu/food/food/chemicalsafety/residues/lab_analysis_en.htm).

2.1. *Kvalitative metoder* giver et ja/nej-respons for forekomst af de relevante analysander, uden at koncentrationen af den formodede (putative) analysand bestemmes kvantitativt. Kvalitative metoder kan bringes til at give semikvantitative resultater, men anvendes udelukkende til at tilvejebringe et ja/nej-svar på, om et indhold ligger over eller under et bestemt niveau, f.eks. detektionsgrænsen, bestemmelsesgrænsen eller afskæringsværdier.

Ved kontrol af grænse- og indgrebsværdier for PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende PCB'er i foder kan der anvendes screeningsmetoder, der er baseret på sammenholdelse af analyseresultatet med en afskæringsværdi, og som giver et ja/nej-svar på, om det relevante niveau er overskredet.

2.2. *Semikvantitative metoder* er metoder, der giver en tilnærmet indikation af koncentrationen af den formodede analysand, uden at det numeriske resultat opfylder kravene til kvantitative metoder. Metoderne kan bruges til at tilvejebringe informationer om størrelsesordenen af analysandkoncentrationen, så det bliver muligt at fastlægge kalibreringsområdet til verifikationstesten, som skal udføres efterfølgende, samt til kvalitetskontrolformål. Bl.a. følgende metoder betragtes som semi-kvantitative metoder:

a) metoder baseret på anvendelse af biologiske principper, såsom cellebaserede assays, receptorassays eller immunassays (i det følgende benævnt »bioanalytiske metoder«), som gør det muligt at påvise de relevante analysander, indbefatter en kalibreringskurve, giver et ja/nej-svar på, om det relevante niveau er overskredet, og gør det muligt at indberette resultatet som bioanalytiske ækvivalenter (BEQ), som er en indikation af TEQ-værdien i prøven

b) fysisk-kemiske test (f.eks. gaskromatografi-massespektrometri/massespektrometri (GC-MS/MS) eller gaskromatografi/lavtopløsende massespektrometri (GC/LRMS)), hvor de målte karakteristika vedrørende metodepræcision ikke opfylder kravene til kvantitative test.

2.3. *Kvantitative metoder* opfylder de samme krav vedrørende nøjagtighed, dynamikområde og præcision som verifikationsmetoder. Når kvantificering er påkrævet, valideres kvantitative metoder som verifikationsmetoder.

3. **Baggrund**

Til beregning af koncentrationer af toksicitetsækvivalenter (TEQ) ganges koncentrationerne af de enkelte stoffer i en given prøve med deres respektive toksicitetsækvivalensfaktor (TEF), der er fastsat af Verdenssundhedsorganisationen, og som er anført i tillægget til dette bilag, og summen heraf giver den samlede koncentration af dioxinlignende forbindelser udtrykt i TEQ.

I denne del af bilag V (del B) forstås ved den accepterede specifikke bestemmelsesgrænse for en enkeltkongener koncentrationen af en analysand i prøveekstraktet, som giver et instrumentrespons for de to forskellige ioner, der skal undersøges, med et signal-støj-forhold på 3:1 for det svageste signal, og som opfylder identifikationskriterierne som beskrevet i bl.a. standard prEN 16215 (Animal feed — Determination of dioxins and dioxin-like PCBs by Gas chromatography/High resolution mass spectrometry (GC/HRMS) and of indicator PCBs by GC/HRMS) og/eller EPA-metode 1613 revision B.

Bioanalytiske screeningsmetoder vil ikke give resultater på kongenerniveau, men giver udelukkende en indikation (*********) af TEQ-niveauet, udtrykt i bioanalytiske ækvivalenter (BEQ), hvorved der tages hensyn til det forhold, at det ikke nødvendigvis er alle forbindelser i et prøveekstrakt, som giver respons i testen, der opfylder samtlige TEQ-princippets forudsætninger.

Screenings- og verifikationsmetoder kan kun anvendes til kontrol af en bestemt matrix, hvis metoderne er tilstrækkeligt følsomme til på pålidelig vis at påvise forekomst på det relevante niveau (indgrebstærskel eller grænseværdi).

(*********) Bioanalytiske metoder er ikke specifikt udformet til kongenerne i TEF-skemaet. Der kan i prøveekstraktet forekomme andre strukturelt beslægtede AhR-aktive forbindelser, som bidrager til den samlede prøvereaktion. Resultaterne af bioanalytiske metoder kan derfor ikke være et estimat, men snarere en indikation af TEQ-indholdet i prøven.

4. **Kvalitetssikringskrav**

4.1. Der træffes foranstaltninger til at undgå krydskontaminering i alle faser af prøveudtagnings- og analyseproceduren.

4.2. Prøverne opbevares og transporteres i beholdere af glas, aluminium, polypropylen eller polyethylen, som egner sig til opbevaring, uden at mængden af PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende PCB'er i prøverne påvirkes. Spor af papirstøv fjernes fra prøvebeholderen.

4.3. Opbevaring og transport af foderprøven skal foregå, så prøvens integritet bevares.

4.4. Alle laboratorieprøver findeles og blandes grundigt, hvis det er relevant, efter en metode, for hvilken det er godtgjort, at den resulterer i fuldstændig homogenisering (f.eks. så prøven kan sigtes gennem en 1 mm-sigte). Prøverne tørres før formalingen, hvis vandindholdet er for højt.

4.5. Det kontrolleres, at reagenser, glasudstyr og andet udstyr ikke påvirker TEQ- eller BEQ-baserede resultater.

4.6. Der foretages en blindprøveanalyse ved at gennemføre hele analyseproceduren, blot med udeladelse af prøven.

4.7. For så vidt angår bioanalytiske metoder kontrolleres det, at alt glasudstyr og alle opløsningsmidler, der anvendes til analyser, er fri for forbindelser, der interfererer med påvisningen af målforbindelser i måleområdet. Glasudstyr skylles med opløsningsmidler eller opvarmes til temperaturer, der er tilstrækkeligt høje til at fjerne spor af PCDD'er/PCDF'er, dioxinlignende forbindelser og interfererende forbindelser fra udstyrets overflader.

4.8. Den prøvemængde, der anvendes til ekstraktionen, skal være tilstrækkelig til, at kravene vedrørende et tilstrækkeligt lavt måleområde, som dækker de relevante koncentrationer, er opfyldt.

4.9. De specifikke procedurer for klargøring af prøver, som anvendes for de pågældende produkter, skal være i overensstemmelse med internationalt anerkendte retningslinjer.

5. **Laboratoriekrav**

5.1. I henhold til forordning (EF) nr. 882/2004 skal laboratorier være akkrediteret af et anerkendt organ, der fungerer i overensstemmelse med ISO-vejledning 58, for at sikre, at de anvender analysekvalitetssikring. Laboratorier akkrediteres ifølge EN ISO/IEC 17025-standarden.

5.2. Laboratoriets præstationer dokumenteres ved løbende, vellykket deltagelse i laboratoriesammenligninger vedrørende bestemmelse af PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende PCB'er i de relevante fodermatrixer og koncentrationsområder.

5.3. Laboratorier, der anvender screeningsmetoder til rutinemæssig kontrol af prøver, skal etablere et tæt samarbejde med laboratorier, der anvender verifikationsmetoden — både i forbindelse med kvalitetskontrol og til bekræftelse af analyseresultater for mistænkte prøver.

6. **Grundlæggende krav til procedurer for analyse af dioxiner (PCDD'er/PCDF'er) og dioxinlignende PCB'er**

6.1. *Lavt måleområde og bestemmelsesgrænser*

For PCDD'er/PCDF'er skal de påviselige mængder befinde sig i det øvre femtogram-interval (10^{-15}g) på grund af visse af disse forbindelsers ekstremt høje toksicitet. For de fleste PCB-kongenere er det tilstrækkeligt med en bestemmelsesgrænse i nanogram-intervallet (10^{-9}g). Til måling af de mere toksiske dioxinlignende PCB-kongenere (især non-ortho-substituerede kongenere) skal den nedre del af måleområdet ligge i den nedre del af pikogram-intervallet (10^{-12}g). For alle andre PCB-kongenere er det tilstrækkeligt med en bestemmelsesgrænse i nanogram-intervallet (10^{-9}g).

6.2. *Høj selektivitet (specificitet)*

6.2.1. Der skal kunne skelnes mellem PCDD'er, PCDF'er og dioxinlignende PCB'er og en lang række andre, potentielt interfererende forbindelser i prøveekstraktet, som forekommer i koncentrationer, der er op til mange gange højere end analysandernes. For GC/MS-metoders vedkommende skal der kunne skelnes mellem forskellige kongenere, f.eks. mellem toksiske kongenere (f.eks. de 17 2,3,7,8-substituerede PCDD'er/PCDF'er og 12 dioxinlignende PCB'er) og andre kongenere.

6.2.2. Bioanalytiske metoder skal kunne påvise målforbindelserne som summen af PCDD'er/PCDF'er og/eller dioxinlignende PCB'er. Ved oprensningen af prøver skal det tilstræbes at fjerne forbindelser, der giver falsk ikke-overensstemmende resultater, og forbindelser, der kan svække responset og give falsk overensstemmende resultater.

6.3. *Høj nøjagtighed (korrekthed og præcision, tilsyneladende bioassay-genfindelse)*

6.3.1. For så vidt angår GC/MS-metoder skal bestemmelsen give et pålideligt estimat over den korrekte koncentration i en prøve. Høj nøjagtighed er nødvendig for at undgå, at et resultat af en analyse afvises på grundlag af lav pålidelighed af det bestemte TEQ-niveau. Nøjagtighed udtrykkes som *korrekthed* (forskellen mellem den målte middelværdi for en analysand i et certificeret materiale og dens certificerede værdi, udtrykt i procent af den certificerede værdi) og *præcision* (RSD_R relativ standardafvigelse beregnet ud fra resultater, der er fremkommet under reproducerbarhedsbetingelser).

6.3.2. For bioanalytiske metoder bestemmes den tilsyneladende bioassay-genfindelse. Ved tilsyneladende bioassay-genfindelse forstås BEQ-niveauet beregnet ud fra TCDD- eller PCB 126-kalibreringskurven, korrigeret for blindprøven og efterfølgende divideret med det GC/HRMS-bestemte TEQ-niveau. Formålet er at korrigere for faktorer såsom tabet af PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende forbindelser i ekstraktions– og oprensningsfasen, medekstraherede forbindelser, som forstærker eller svækker responset (henholdsvis agonistisk og antagonistisk virkning), kvaliteten af kurvetilpasningen eller forskelle mellem værdierne for henholdsvis toksicitetsækvivalensfaktoren (TEF) og den relative styrke (REP). Den tilsyneladende bioassay-genfindelse beregnes ud fra passende referenceprøver med repræsentative kongenermønstre omkring det relevante niveau.

6.4. *Validering inden for det relevante interval og kvalitetskontrol generelt*

6.4.1. Laboratorierne skal dokumentere en metodes ydeevne inden for det relevante interval, f.eks. 0,5, 1 og 2 gange det relevante niveau med en acceptabel variationskoefficient for gentagne analyser, som led i valideringsproceduren og i forbindelse med rutinemæssige analyser.

6.4.2. Som interne kvalitetskontrolforanstaltninger gennemføres der regelmæssigt blindprøvekontrol og spikingforsøg eller analyse af kontrolprøver (om muligt med certificeret referencemateriale). Kvalitetskontrolkort for blindprøvekontroller, spikingforsøg eller analyser af kontrolprøver registreres og kontrolleres for at sikre, at den analytiske ydeevne er i overensstemmelse med gældende krav.

6.5. *Bestemmelsesgrænse*

6.5.1. For bioanalytiske screeningsmetoders vedkommende er fastlæggelse af bestemmelsesgrænsen (LOQ) ikke et ufravigeligt krav, men det skal godtgøres, at metoden gør det muligt at skelne blindprøveværdien fra afskæringsværdien. I forbindelse med fastlæggelsen af et BEQ-niveau fastsættes et rapporteringsniveau med henblik på håndtering af prøver, som giver et respons under dette niveau. Det skal dokumenteres, at rapporteringsniveauet adskiller sig — som minimum med en faktor tre — fra procedureblindprøver med et respons under måleområdet. Det skal derfor beregnes ud fra prøver med et indhold af målforbindelserne omkring det krævede minimumsniveau og ikke ud fra et bestemt signal-støj-forhold eller en assay-blindprøve.

6.5.2. LOQ for en verifikationsmetode skal være på ca. en femtedel af det relevante niveau.

6.6. *Analysekriterier*

For at sikre pålidelige resultater af verifikationsmetoder eller screeningsanalyser skal følgende kriterier være opfyldt for henholdsvis TEQ- eller BEQ-værdien, bestemt enten som samlet TEQ (som summen af PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende PCB'er) eller separat for henholdsvis PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende PCB'er:

	Screening efter bioanalytiske eller fysisk-kemiske metoder	Verifikationsmetoder
Falsk overensstemmende-andel (*)	< 5 %	
Korrekthed		- 20 % til + 20 %
Repeterbarhed (RSD_r)	< 20 %	
Intern reproducerbarhed (RSD_R)	< 25 %	< 15 %

(*) I forhold til grænseværdierne.

6.7. *Specifikke krav til screeningsmetoder*

6.7.1. Både GC/MS-metoder og bioanalytiske metoder kan anvendes til screening. For GC/MS-metoder skal kravene i punkt 7 være opfyldt. Der er fastsat specifikke krav til cellebaserede bioanalytiske metoder i punkt 8.

6.7.2. Laboratorier, der anvender screeningsmetoder til rutinemæssig kontrol af prøver, skal etablere et tæt samarbejde med laboratorier, der anvender verifikationsmetoden.

6.7.3. Screeningsmetodens ydeevne skal efterprøves i forbindelse med rutinemæssige analyser, ved analysekvalitetskontrol og ved løbende metodevalidering. Der opereres med et fast program for kontrol af overensstemmende resultater.

6.7.4. Kontrol af eventuel hæmning af celleresponset og cytotoxicitet

20 % af prøveekstrakterne måles i forbindelse med rutinemæssig screening med og uden 2,3,7,8-TCDD tilsat i overensstemmelse med det relevante niveau med henblik på at kontrollere, om responset måske hæmmes af interfererende stoffer i prøveekstraktet. Den målte koncentration af den spikede prøve sammenholdes med summen af koncentrationen af det ikke-spikede ekstrakt og spikingkoncentrationen. Hvis denne målte koncentration er over 25 % mindre den beregnede (sum-) koncentration, er dette en indikation af mulig signalhæmning, og den pågældende prøve underkastes en GC/HRMS-verifikationsanalyse. Resultaterne registreres i kvalitetskontrolkort.

6.7.5. Kvalitetskontrol af overensstemmende prøver

Ca. 2-10 % af de overensstemmende prøver, afhængigt af prøvematrix og laboratoriets erfaring, bekræftes ved hjælp af GC/HRMS.

6.7.6. Bestemmelse af andelen af falsk overensstemmende resultater fra kvalitetskontroldata

Andelen af falsk overensstemmende resultater fra screening af prøver, der ligger under og over grænseværdierne eller indgrebstærsklerne, bestemmes. Den faktiske andel af falsk overensstemmende resultater skal ligge under 5 %. Når der foreligger mindst 20 bekræftede resultater pr. matrix/matrixgruppe fra kvalitetskontrollen af overensstemmende prøver, drages konklusionerne vedrørende andelen af falsk overensstemmende resultater på grundlag af denne database. Resultaterne fra prøver, der er analyseret i ringtest eller i forbindelse med forureningshændelser og dækker et koncentrationsområde på op til f.eks. 2 gange grænseværdien, kan også tælles med i de mindst 20 resultater, der skal lægges til grund for evalueringen af andelen af falsk overensstemmende resultater. Prøverne skal dække de mest almindelige kongenermønstre og repræsentere forskellige kilder.

Selv om screeningsassays fortrinsvis skal have til formål at påvise prøver, for hvilke indgrebstærsklen er overskredet, er kriteriet for bestemmelse af andelen af falsk overensstemmende resultater grænseværdien, under hensyntagen til måleusikkerheden ved verifikationsmetoden.

6.7.7. Prøver fra screening, som mistænkes for at være ikke-overensstemmende, skal altid bekræftes ved hjælp af en verifikationsanalysemetode (GC/HRMS). Disse prøver kan også anvendes til at evaluere andelen af falsk ikke-overensstemmende resultater. For screeningsmetoder er andelen af falsk ikke-overensstemmende resultater andelen af resultater, for hvilke det ved hjælp af en GC/HRMS-verifikationsanalyse er bekræftet, at de opfylder kravene (dvs. er overensstemmende), efter at prøven i en tidligere screening har været mistænkt for at være ikke-overensstemmende. Vurderingen af screeningsmetodens hensigtsmæssighed baseres på sammenholdelse af antallet af falsk ikke-overensstemmende prøver med det samlede antal kontrollerede prøver. Denne andel skal være tilstrækkeligt lille til, at screening med fordel kan anvendes.

6.7.8. Bioanalytiske metoder skal, i det mindste under valideringsbetingelser, give en brugbar indikation af TEQ-niveauet, beregnet og udtrykt som BEQ.

Også for bioanalytiske metoder, der gennemføres under repeterbarhedsbetingelser, er den interne RSD_r typisk lavere end reproducerbarheden RSD_R.

7. Specifikke krav, som GC/MS-metoder skal opfylde med henblik på screening eller verifikation

7.1. *Generelle krav*

Forskellen mellem den øvre og den nedre koncentration må ikke overstige 20 % for foder med en forurening på ca. 1 ng WHO-TEQ/kg produkt, beregnet ved et vandindhold på 12 % (baseret på summen af PCDD'er/PCDD'er og dioxinlignende PCB'er). For lavere forureningsniveauer, f.eks. på 0,5 ng WHO-TEQ/kg produkt, kan der være en difference på 25-40 % mellem den øvre og den nedre koncentration.

7.2. *Genfindelseskontrol*

7.2.1. For at validere analyseproceduren tilsættes ^{13}C-mærkede 2,3,7,8-chlorsubstituerede PCDD'er/PCDF'er og ^{13}C-mærkede dioxinlignende PCB'er som intern standard helt fra begyndelsen af analysen, f.eks. inden ekstraktion. Der tilsættes mindst én kongener for hver af de tetra- til octa-chlorerede homologe grupper af PCDD'er/PCDF'er og mindst én kongener for hver af de homologe grupper af dioxinlignende PCB'er (alternativt tilsættes mindst én kongener for hver massespektrometrisk udvalgt ionregistreringsfunktion, der anvendes til overvågning af PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende PCB'er). For verifikationsmetoders vedkommende anvendes alle 17 ^{13}C-mærkede 2,3,7,8-substituerede PCDD'er/PCDF'er og alle 12 ^{13}C-mærkede dioxinlignende PCB'er som intern standard.

7.2.2. Der bestemmes også relative responsfaktorer for de kongenere, som der ikke tilsættes en ^{13}C-mærket analog for, ved hjælp af relevante kalibreringsopløsninger.

7.2.3. For vegetabilsk foder og animalsk foder, der indeholder under 10 % fedt, er det obligatorisk at tilsætte interne standarder inden ekstraktionen. For animalsk foder, der indeholder over 10 % fedt, tilsættes de interne standarder enten før eller efter fedtekstraktionen. Der foretages en hensigtsmæssig validering af ekstraktionseffektiviteten, afhængigt af det trin, hvor de interne standarder tilsættes, og af, om resultaterne er produktbaserede eller fedtbaserede.

7.2.4. Inden GC/MS-analyse tilsættes en eller to genfindelsesstandarder (surrogat).

7.2.5. Det er nødvendigt med genfindelseskontrol. Niveauet for genfindelse af de enkelte interne standarder i verifikationsmetoder skal ligge på mellem 60 og 120 %. Lavere eller højere genfindelse for enkeltkongenere, navnlig for visse hepta- og octa-chlorerede dibenzo-*p*-dioxiner og dibenzofuraner, kan accepteres, på betingelse af at deres bidrag til TEQ-værdien ikke udgør mere end 10 % af den samlede TEQ-værdi (baseret på summen af PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende PCB'er). Niveauet for genfindelse ved GC/MS-screeningsmetoder skal ligge på mellem 30 og 140 %.

7.3. *Fjernelse af interfererende stoffer*

— Der gennemføres separation af PCDD'er/PCDF'er fra interfererende chlorerede forbindelser som f.eks. ikke-dioxinlignende PCB'er og chlorerede diphenylethere ved hjælp af egnede kromatografiske metoder (helst med florisil-, alumina- og/eller carbonkolonne).

— Gaskromatografisk separation af isomerer skal være på under < 25 % målt mellem toppene for 1,2,3,4,7,8-HxCDF og 1,2,3,6,7,8-HxCDF.

7.4. *Kalibrering med standardkurve*

Kalibreringskurven skal dække de relevante niveauer.

8. **Specifikke krav til bioanalytiske metoder**

Bioanalytiske metoder er metoder baseret på anvendelse af biologiske principper, såsom cellebaserede assays, receptorassays eller immunassays. Dette punkt (punkt 8) indeholder krav til bioanalytiske metoder generelt.

Med en screeningsmetode klassificeres en prøve principielt som overensstemmende eller som mistænkt for at være ikke-overensstemmende. I det øjemed sammenholdes det beregnede BEQ-niveau med afskæringsværdien (jf. punkt 8.3). Prøver, der giver resultater under afskæringsværdien, erklæres for overensstemmende, mens prøver, der ligger på eller over afskæringsværdien, erklæres for ikke-overensstemmende og nødvendiggør analyse efter en verifikationsmetode. I praksis kan et BEQ-niveau på 2/3 af grænseværdien være den mest hensigtsmæssige afskæringsværdi, som sikrer en andel af falsk overensstemmende resultater på under 5 % og en acceptabel andel af falsk ikke-overensstemmende resultater. Med særskilte grænseværdier for henholdsvis PCDD'er/PCDF'er og for summen af PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende PCB'er er passende bioassay-afskæringsværdier for PCDD'er/PCDF'er en forudsætning for at kunne kontrollere prøvernes overensstemmelse uden fraktionering. Til kontrol af prøver, for hvilke indgrebstærsklerne er overskredet, vil en passende procentdel af de respektive relevante niveauer være en egnet afskæringsværdi.

Der kan desuden for visse bioanalytiske metoders vedkommende fastsættes et vejledende niveau udtrykt i BEQ for prøver i måleområdet, der ligger over rapporteringsgrænsen (jf. punkt 8.1.1 og 8.1.6).

8.1. *Evaluering af testresponset*

8.1.1. Generelle krav

— Ved beregning af koncentrationerne ud fra en TCDD-kalibreringskurve vil værdierne i den nederste og den øverste del af kurven vise en stor spredning (en høj variationskoefficient (CV)). Måleområdet er det område, hvor CV er på under 15 %. Den nedre del af måleområdet (rapporteringsniveauet) sættes højere — som minimum med en faktor tre — end procedureblindprøverne. Den øvre del af måleområdet er normalt repræsenteret ved EC_{70}-værdien (70 % af den højeste effektive koncentration), men er lavere, hvis CV ligger over 15 % inden for dette interval. Måleområdet fastsættes i forbindelse med validering. Afskæringsværdierne (jf. punkt 8.3) skal ligge klart inden for måleområdet.

— Standardopløsninger og prøveekstrakter testes mindst to gange. Ved dobbeltbestemmelse skal en standardopløsning eller et kontrolekstrakt, der testes i 4-6 huller fordelt over hele pladen, give et respons eller en koncentration (kun muligt i måleområdet) baseret på en CV på < 15 %.

8.1.2. Kalibrering

8.1.2.1. *Kalibrering med standardkurve*

— Indholdet i prøver anslås ved at sammenholde testresponset med en kalibreringskurve for TCDD (eller PCB 126 eller en standardblanding af PCDD/PCDF/dioxinlignende PCB) med henblik på at beregne BEQ-niveauet i ekstraktet og efterfølgende i prøven.

— Kalibreringskurver skal indbefatte 8-12 koncentrationer (som minimum dobbeltbestemmelser), idet der skal være tilstrækkeligt med koncentrationer i den nederste del af kurven (måleområdet). Der lægges særlig vægt på kvaliteten af kurvetilpasningen i måleområdet. R^2-værdien er som sådan af begrænset eller slet ingen værdi som grundlag for en goodness-of-fit-vurdering ved lineær regression. Der opnås et bedre fit ved at minimere forskellen mellem beregnede og observerede niveauer i kurvens måleområde, f.eks. ved at minimere summen af kvadrerede residualer.

— Det anslåede indhold i prøveekstraktet korrigeres efterfølgende for det BEQ-niveau, der er beregnet for en matrix/opløsningsmiddel-blindprøve (for at tage urenheder fra de anvendte opløsningsmidler og kemikalier i betragtning), og den tilsyneladende genfindelse (som beregnes ud fra BEQ-niveauet i passende referenceprøver med repræsentative kongenermønstre omkring det relevante niveau). Til korrektion for genfindelse skal den tilsyneladende genfindelse ligge inden for det krævede interval (jf. punkt 8.1.4). Referenceprøver, der anvendes til korrektion for genfindelse, skal opfylde kravene i punkt 8.2.

8.1.2.2. *Kalibrering med referenceprøver*

Alternativt kan der anvendes en kalibreringskurve fremstillet på grundlag af mindst fire referenceprøver (jf. punkt 8.2.4: 1 matrixblindprøve plus 3 referenceprøver på 0,5, 1 og 2 gange det relevante niveau) omkring det relevante niveau, hvorved behovet for at korrigere for blindprøve og genfindelse bortfalder. I dette tilfælde kan det testrespons, som svarer til 2/3 af grænseværdien (jf. punkt 8.3), beregnes direkte ud fra disse prøver og anvendes som afskæringsværdi. Til kontrol af prøver, for hvilke indgrebstærsklerne er overskredet, vil en passende procentdel af disse indgrebstærskler være en egnet afskæringsværdi.

8.1.3. Separat bestemmelse af henholdsvis PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende PCB'er

Ekstrakter kan opdeles i fraktioner indeholdende henholdsvis PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende PCB'er, således at TEQ-niveauet (i BEQ) kan angives særskilt for henholdsvis PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende PCB'er. Der anvendes fortrinsvis en PCB 126-standardkalibreringskurve til evaluering af resultaterne for den fraktion, der indeholder dioxinlignende PCB'er.

8.1.4. Tilsyneladende bioassay-genfindelse

Den tilsyneladende bioassay-genfindelse beregnes ud fra passende referenceprøver med repræsentative kongenermønstre omkring det relevante niveau og udtrykkes som procent af BEQ-niveauet i forhold til TEQ-niveauet. Forskellene mellem TEF- og REP-faktorer for dioxinlignende PCB'er kan, afhængigt af, hvilken type assay og TEF'er (**********) der anvendes, resultere i lave tilsyneladende genfindelsesprocenter for dioxinlignende PCB'er i forhold til PCDD'er/PCDF'er. Hvis PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende PCB'er bestemmes separat, er den tilsyneladende bioassay-genfindelse derfor 25-60 % for dioxinlignende PCB'er og 50-130 % for PCDD'er/PCDF'er (disse intervaller gælder for TCDD-kalibreringskurven). Eftersom dioxinlignende PCB'ers bidrag til summen af PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende PCB'er kan variere afhængigt af forskellige matrixer og prøver, afspejler den tilsyneladende bioassay-genfindelse for summen af PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende PCB'er disse intervaller og skal være på 30-130 %. Enhver indvirkning af væsentligt ændrede TEF-værdier på EU-lovgivningen for PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende PCB'er nødvendiggør en ændring af disse intervaller.

(**********) Gældende krav er baseret på TEF'erne, som er offentliggjort i: M. Van den Berg et al, Toxicol Sci 93 (2), 223-241 (2006).

8.1.5. Kontrol af genfindelse efter oprensning

Tabet af forbindelser under oprensningen kontrolleres i forbindelse med validering. En blindprøve tilsat en blanding af de forskellige kongenere underkastes oprensning (mindst n = 3), og genfindelse og variabilitet kontrolleres ved hjælp af en GC/HRMS-analyse. Genfindelsen skal være på mellem 60 og 120 %, især for kongenere, der bidrager med over 10 % af TEQ-niveauet i forskellige blandinger.

8.1.6. Rapporteringsgrænse

Ved indberetning af BEQ-niveauer fastlægges der en rapporteringsgrænse ud fra relevante matrixprøver med typiske kongenermønstre, men ikke ud fra standardernes kalibreringskurve, idet præcisionen i den nederste del af kurven er lav. Der skal tages hensyn til virkningerne af ekstraktion og oprensning. Rapporteringsgrænsen sættes væsentligt højere (som minimum med en faktor tre) end procedureblindprøverne.

8.2. *Anvendelse af referenceprøver*

8.2.1. Referenceprøver skal repræsentere prøvematrix, kongenermønstre og koncentrationsområder for PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende PCB'er omkring det relevante niveau.

8.2.2. Hver analyserække skal omfatte en matrixblindprøve eller, hvor dette ikke er muligt, en procedureblindprøve samt en referenceprøve på det relevante niveau. Disse prøver ekstraheres og analyseres samtidig under identiske betingelser. Referenceprøven skal udvise en klart kraftigere reaktion end blindprøven, så der er sikkerhed for testens egnethed. Prøverne kan anvendes til korrektion for blindprøve og genfindelse.

8.2.3. Referenceprøver, der udvælges til korrektion for genfindelse, skal være repræsentative for de klargjorte prøver, hvilket betyder, at bestemte kongenermønstre ikke må føre til, at niveauerne vurderes for lavt.

8.2.4. Der kan inkluderes ekstra referenceprøver på f.eks. 0,5 og 2 gange det relevante niveau for at vise analysemetodens ydeevne inden for det interval, der er relevant for kontrollen af det relevante niveau. Kombineret kan disse prøver anvendes til beregning af BEQ-niveauerne i de klargjorte prøver (jf. punkt 8.1.2.2).

8.3. *Fastlæggelse af afskæringsværdier*

Relationen mellem bioanalytiske resultater i BEQ og GC/HRMS-resultater i TEQ fastlægges, f.eks. ved hjælp af matrixtilpassede kalibreringsforsøg med referenceprøver tilsat 0, 0,5, 1 og 2 gange grænseværdien, med seks gentagelser på hvert niveau (n = 24). Korrektionsfaktorer (blindprøve og genfindelse) kan beregnes skønsmæssigt ud fra dette forhold, men skal efterprøves i overensstemmelse med punkt 8.2.2.

Der fastlægges afskæringsværdier for at kunne afgøre, om en prøve overholder de fastsatte grænseværdier, eller for, hvor det er relevant, at kunne kontrollere indgrebstærsklerne i forhold til de relevante niveauer, der er fastsat for enten PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende PCB'er hver for sig eller for summen af PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende PCB'er. De repræsenteres ved det *nedre* endepunkt i fordelingen af bioanalytiske resultater (korrigeret for blindprøve og genfindelse), som svarer til GC/HRMS-beslutningsgrænsen, med et konfidensniveau på 95 %, hvilket indebærer en falsk overensstemmende-andel på < 5 %, og en RSD_R på < 25 %. GC/HRMS-beslutningsgrænsen er grænseværdien, under hensyntagen til måleusikkerheden.

Afskæringsværdien (i BEQ) beregnes som beskrevet i enten punkt 8.3.1, punkt 8.3.2 eller punkt 8.3.3 (jf. figur 1):

8.3.1. Anvendelse af det *nedre* bånd i forventningsintervallet på 95 % ved GC/HRMS-beslutningsgrænsen:

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

hvor:

BEQ_{DL} er den BEQ, der svarer til GC/HRMS-beslutningsgrænsen, som er grænseværdien under hensyntagen til måleusikkerheden

$s_{y,x}$ er den residuale standardafvigelse

$t_{\alpha,f=m-2}$ er Student-faktoren (α = 5 %, f = frihedsgrader, enkeltsidet)

m er det samlede antal kalibreringspunkter (indeks j)

n er antallet af gentagelser på hvert niveau

x_i er GC/HRMS-prøvekoncentrationen (i TEQ) for kalibreringspunktet i

$\overline{x}$ er gennemsnittet af koncentrationerne (i TEQ) af samtlige kalibreringsprøver

$Q_{xx} = \sum_{j=1}^{m}(x_i - \overline{x})^2$ er kvadratsum-parameteren, i = indeks for kalibreringspunktet i.

8.3.2. Beregning ud fra bioanalytiske resultater (korrigeret for blindprøve og genfindelse) fra flere analyser af prøver (n ≥ 6) forurenet i koncentrationer ved GC/HRMS-beslutningsgrænsen som det *nedre* endepunkt i fordelingen af data ved den tilsvarende BEQ-middelværdi:

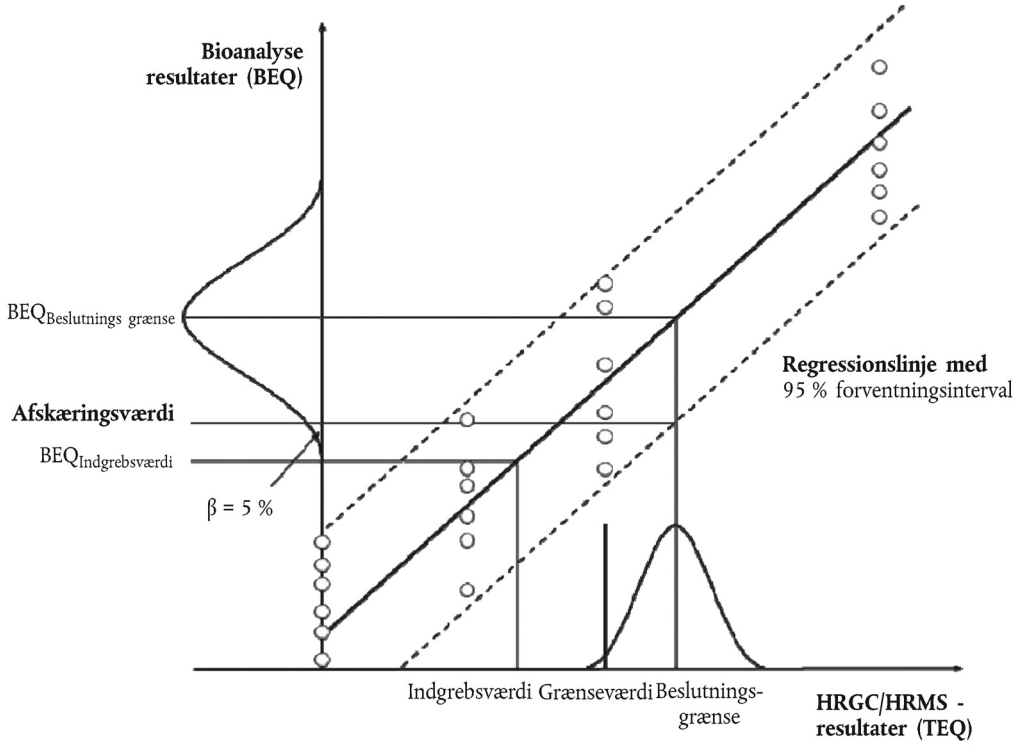
$$\text{Afskæringsværdi} = BEQ_{DL} - 1{,}64 \times SD_R$$

hvor:

SD_R er standardafvigelse for resultaterne af bioassay ved BEQ_{DL}, målt under interne reproducerbarhedsbetingelser.

8.3.3. Beregning som middelværdi af bioanalytiske resultater (i BEQ, korrigeret for blindprøve og genfindelse) fra flere analyser af prøver (n ≥ 6) forurenet i koncentrationer på 2/3 af det relevante niveau, baseret på den observation, at dette niveau ligger på omkring den afskæringsværdi, der er fastlagt i henhold til punkt 8.3.1 eller punkt 8.3.2:

Figur 1



Beregning af afskæringsværdier med et konfidensniveau på 95 %, hvilket indebærer en falsk overensstemmende-andel på < 5 %, og en RSD_R på < 25 %: 1. fra det *nedre* bånd i forventningsintervallet på 95 % ved HRGC/HRMS-beslutningsgrænsen, 2. fra flere analyser af prøver (n ≥ 6) forurenet i koncentrationer ved HRGC/HRMS-beslutningsgrænsen som det *nedre* endepunkt i fordelingen af data (i figuren repræsenteret ved en klokkelignende kurve) ved den tilsvarende BEQ-middelværdi.

8.3.4. Begrænsninger for afskæringsværdier

BEQ-baserede afskæringsværdier beregnet ud fra RSD_R, som er tilvejebragt i forbindelse med validering med et begrænset antal prøver med forskellige matrix/kongenermønstre, kan være højere end de relevante TEQ-baserede niveauer, fordi der opnås en højere præcision end den, der kan opnås i rutinemæssige analyser, når et ukendt spektrum af mulige kongenermønstre skal kontrolleres. I sådanne tilfælde beregnes afskæringsværdierne med udgangspunkt i en RSD_R på 25 % eller — om muligt — to tredjedele af det relevante niveau.

8.4. *Karakteristika for metodens ydeevne*

8.4.1. Der gennemføres repeterbarhedsanalyser for bioanalytiske metoder for at tilvejebringe oplysninger om standardafvigelsen inden for og mellem de enkelte analyserækker. Repeterbarheden skal være på under 20 %, mens den interne reproducerbarhed skal ligge på under 25 %. Til grund lægges de beregnede niveauer i BEQ efter korrektion for blindprøve og genfindelse.

8.4.2. Det dokumenteres som led i valideringsprocessen, at testen kan skelne mellem en blindprøve og et indhold på afskæringsværdien, således at det er muligt at identificere prøver over den tilsvarende afskæringsværdi (jf. punkt 8.1.2).

8.4.3. Målforbindelser, mulige interferenser og højeste tolererede værdier for blindprøver fastlægges.

8.4.4. Standardafvigelsen i responset eller i den koncentration, der beregnes ud fra responset (kun muligt i måleområdet), ved tredobbelt bestemmelse af et prøveekstrakt må ikke være på over 15 %.

8.4.5. De ukorrigerede resultater af referenceprøven/prøverne udtrykt i BEQ (blindprøve og relevant niveau) bruges til at evaluere den bioanalytiske metodes ydeevne over et konstant tidsrum.

8.4.6. Kvalitetskontrolkort for procedureblindprøver og for hver enkelt type referenceprøve registreres og kontrolleres med henblik på at sikre, at den analytiske ydeevne er i overensstemmelse med gældende krav, især for procedureblindprøverne for så vidt angår den påkrævede minimumsdifference i forhold til den nedre del af måleområdet og for referenceprøverne med hensyn til den interne reproducerbarhed. Procedureblindprøver holdes under kontrol for at undgå falsk overensstemmende resultater ved fratrækning af værdierne.

8.4.7. Resultaterne fra GC/HRMS-analyserne af mistænkte prøver samt 2-10 % af de overensstemmende prøver (mindst 20 prøver pr. matrix) indsamles og lægges til grund for en evaluering af screeningsmetodens ydeevne og relationen mellem BEQ og TEQ. Denne database kan anvendes til revurdering af de afskæringsværdier, der finder anvendelse på rutinemæssige prøver til de validerede matrixer.

8.4.8. En metodes gode ydeevne kan også dokumenteres ved deltagelse i ringtest. Resultaterne fra prøver, der er analyseret i ringtest og dækker et koncentrationsområde på op til f.eks. 2 gange grænseværdien, kan inkluderes i evalueringen af andelen af falsk overensstemmende resultater, såfremt laboratoriet kan dokumentere gode præstationer. Prøverne skal dække de mest almindelige kongenermønstre og repræsentere forskellige kilder.

8.4.9. I forbindelse med hændelser kan afskæringsværdierne revurderes på baggrund af de specifikke matrix- og kongenermønstre, der observeres under den pågældende hændelse.

9. **Indberetning af resultater**

9.1. *Verifikationsmetoder*

9.1.1. Så vidt den anvendte analyseprocedure tillader det, skal analyseresultaterne omfatte værdierne for de enkelte PCDD/PCDF- og dioxinlignende PCB-kongenere og angives som nedre koncentrationer, øvre koncentrationer og middelkoncentrationer med henblik på at sikre, at indberetningen af resultater omfatter så mange oplysninger som muligt, så resultaterne kan fortolkes i overensstemmelse med specifikke krav.

9.1.2. Rapporten skal omfatte oplysninger om den metode, der er anvendt til ekstraktion af PCDD'er/PCDF'er, dioxinlignende PCB'er og fedtstoffer.

9.1.3. Tallene for genfindelse af de enkelte interne standarder stilles til rådighed, hvis genfindelsen ligger uden for det interval, der er angivet i punkt 7.2.5, hvis grænseværdierne er overskredet, og i øvrige tilfælde efter anmodning.

9.1.4. Da der skal tages hensyn til måleusikkerheden, når det afgøres, om en prøve er overensstemmende, skal denne parameter være tilgængelig. Analyseresultaterne indberettes derfor som x +/- U, hvor x er analyseresultatet og U er den ekspanderede måleusikkerhed, idet der anvendes en dækningsfaktor på 2, hvilket giver et konfidensniveau på ca. 95 %. Hvis PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende PCB'er bestemmes separat, anvendes summen af den anslåede ekspanderede usikkerhed på de separate analyseresultater vedrørende PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende PCB'er på summen af PCDD'er/PCDF'er og dioxinlignende PCB'er

9.1.5. Hvis der tages hensyn til måleusikkerheden ved at anvende CCα (se beskrivelsen i punkt 2.2), indberettes denne parameter.

9.1.6. Resultaterne angives i samme enheder og med (mindst) samme antal betydende cifre som de grænseværdier, der er fastsat i direktiv 2002/32/EF.

9.2. *Bioanalytiske screeningsmetoder*

9.2.1. Resultatet af screeningen udtrykkes som værende »overensstemmende« eller som »mistænkt for at være ikke-overensstemmende« (»mistænkt«).

9.2.2. Derudover kan et resultat for PCDD'er/PCDF'er og/eller dioxinlignende PCB'er udtrykt i BEQ — ikke TEQ — oplyses.

9.2.3. Hvis måleusikkerheden for det beregnede BEQ-niveau oplyses, f.eks. standardafvigelsen, skal den være baseret på mindst en tredobbelt analyse af prøven, omfattende ekstraktion, oprensning og bestemmelse af testresponset.

9.2.4. Prøver, der giver et respons under rapporteringsgrænsen, udtrykkes som værende »under rapporteringsgrænsen«.

9.2.5. Rapporten skal for hver enkelt type prøvematrix give oplysninger om det relevante niveau, som vurderingen er baseret på.

9.2.6. Rapporten skal indeholde oplysninger om, hvilken type test der er anvendt, samt om det grundlæggende prøvningsprincip og den anvendte kalibreringsmåde.

9.2.7. Rapporten skal omfatte oplysninger om den metode, der er anvendt til ekstraktion af PCDD'er/PCDF'er, dioxinlignende PCB'er og fedtstoffer.

KAPITEL III

klargøring af prøver og krav til analysemetoder, der anvendes ved offentlig kontrol af indholdet af ikke-dioxinlignende PCB'er (PCB 28, 52, 101, 138, 153 og 180)

1. **Påvisningsmetoder, der kan anvendes**

Gaskromatografi/elektronindfangningsdetektion (GC/ECD), GC/LRMS, GC/MS-MS, GC/HRMS eller tilsvarende metoder.

2. **Identifikation og bekræftelse af de relevante analysander**

2.1. Relativ retentionstid i forhold til interne standarder eller referencestandarder (tilladt afvigelse: +/- 0,25 %).

2.2. Gaskromatografisk separation af alle seks indikator-PCB'er (PCB 28, PCB 52, PCB 101, PCB 138, PCB 153 og PCB 180) fra interfererende stoffer, navnlig fra co-eluerende PCB'er, især hvis niveauet i de pågældende prøver ligger i nærheden af de ved lov fastsatte grænser, og en overskridelse skal bekræftes.

Bemærk: Kongenere, der erfaringsmæssigt ofte co-eluerer, er f.eks.. PCB 28/31, PCB 52/69 og PCB 138/163/164. For så vidt angår GC/MS skal der også tages hensyn til mulige interferenser fra fragmenter af højere chlorerede kongenere.

2.3. *Krav til GC/MS-metoder*

Overvågning af mindst:

a) to specifikke ioner ved HRMS

b) to specifikke ioner med en m/z-værdi på > 200 eller tre specifikke ioner med en m/z-værdi på > 100 ved LRMS

c) 1 prækursor-ion og 2 produkt-ioner ved MS-MS.

Tilladte maksimumstolerancer for isotopforholdet for udvalgte massefragmenter:

Relativ afvigelse for isotopforholdet for udvalgte massefragmenter fra teoretisk isotopforhold eller kalibreringsstandard for målionen (den hyppigst forekommende af de målte ioner) og kvalifikatorionen/ionerne:

Kvalifikatorionens/ionernes relative intensitet i forhold til målionen	GC-EI-MS (relativ afvigelse)	GC-CI-MS, GC-MS^n (relativ afvigelse)
> 50 %	± 10 %	± 20 %
> 20 % til 50 %	± 15 %	± 25 %
> 10 % til 20 %	± 20 %	± 30 %
≤ 10 %	± 50 % (*)	± 50 % (*)

(*) Da der er et tilstrækkeligt antal massefragmenter med en relativ intensitet på > 10 % til rådighed, kan det ikke anbefales at anvende kvalifikatorioner med en relativ intensitet på under 10 % i forhold til målionen.

2.4. *Krav til GC/ECD-metoder*

Resultater, der overskrider tolerancegrænsen, bekræftes med to GC-kolonner med stationære faser med forskellig polaritet.

3. **Dokumentation for metodens ydeevne**

Metodens ydeevne valideres inden for det relevante interval (0,5 til 2 gange det relevante niveau) med en acceptabel variationskoefficient for gentagne analyser (jf. kravene til intern reproducerbarhed (intermediær præcision) i punkt 8).

4. **Bestemmelsesgrænse**

Blindprøverne må ikke repræsentere over 30 % af den forureningsgrad, som svarer til grænseværdien (**********).

(**********) Det må på det kraftigste anbefales, at bidraget fra reagensblindprøven til indholdet af et forurenende stof i en prøve er lavere. Det er laboratoriets ansvar at kontrollere variationen i blindprøveniveauet, især hvis blindprøveindholdet fratrækkes.

5. **Kvalitetskonstrol**

Regelmæssig blindprøvekontrol, analyse af spikede prøver, kvalitetskontrolprøver og deltagelse i laboratoriesammenligninger vedrørende de relevante matrixer.

6. **Genfindelseskontrol**

6.1. Der anvendes egnede interne standarder med fysisk-kemiske egenskaber, der er sammenlignelige med de relevante analysanders.

6.2. Tilsætning af interne standarder:

Tilsætning til produkter (inden ekstraktion og oprensning).

6.3. Krav til metoder, hvor alle seks isotopmærkede indikator-PCB-kongenere anvendes:

a) Resultater korrigeres for genfindelse af interne standarder.

b) Genfindelsesprocenten for isotopmærkede interne standarder skal være på mellem 50 og 120 %.

c) En lavere eller højere genfindelsesprocent er acceptabel for enkeltkongenere, der bidrager til summen af de seks indikator-PCB'er med under 10 %.

6.4. Krav til metoder, hvor ikke alle seks isotopmærkede interne standarder eller andre interne standarder anvendes:

a) Genfindelsen af de(n) interne standard(er) kontrolleres for hver enkelt prøve.

b) Genfindelsen af interne standarder skal være på mellem 60 og 120 %.

c) Resultater korrigeres for genfindelse af interne standarder.

6.5. Genfindelsen af umærkede kongenere kontrolleres ved hjælp af spikede prøver eller kvalitetskontrolprøver med koncentrationer inden for det relevante interval. Genfindelsen af disse kongenere anses for acceptabel, hvis genfindelsesprocenten er på mellem 70 og 120 %.

7. **Krav til laboratorier**

I henhold til forordning (EF) nr. 882/2004 skal laboratorier være akkrediteret af et anerkendt organ, der fungerer i overensstemmelse med ISO-vejledning 58, for at sikre at de anvender analysekvalitetssikring. Laboratorier akkrediteres ifølge EN ISO/IEC 17025-standarden.

8. **Karakteristika for metodens ydeevne: kriterier vedrørende summen af de seks indikator-PCB'er på det relevante niveau**

Korrekthed	30 % til + 30 %
Intermediær præcision (RSD%)	≤ 20 %
Forskel mellem øvre og nedre koncentration (beregnet)	≤ 20 %

9. **Indberetning af resultater**

9.1. Så vidt den anvendte analyseprocedure tillader det, skal analyseresultaterne omfatte værdierne for de enkelte PCB-kongenere og registreres som nedre koncentrationer, øvre koncentrationer og middelkoncentrationer, med henblik på at registreringen af resultater omfatter så mange oplysninger som muligt, så resultaterne kan fortolkes i overensstemmelse med specifikke krav.

9.2. Rapporten skal omfatte oplysninger om den metode, der er anvendt til ekstraktion af PCB'er og fedtstoffer.

9.3. Tallene for genfindelse af de enkelte interne standarder stilles til rådighed, hvis genfindelsen ligger uden for det interval, der er angivet i punkt 6, hvis grænseværdierne er overskredet, og i øvrige tilfælde efter anmodning.

9.4. Da der skal tages hensyn til måleusikkerheden, når det afgøres, om en prøve er overensstemmende, skal denne parameter ligeledes være tilgængelig. Analyseresultaterne indberettes derfor som x +/- U, hvor x er analyseresultatet og U er den ekspanderede måleusikkerhed, idet der anvendes en dækningsfaktor på 2, hvilket giver et konfidensniveau på ca. 95 %.

9.5. Hvis der tages hensyn til måleusikkerheden ved at anvende CCα (se beskrivelsen i kapitel I, punkt 2.1), indberettes denne parameter.

9.6. Resultaterne angives i samme enheder og med (mindst) samme antal betydende cifre som de grænseværdier, der er fastsat i direktiv 2002/32/EF.«