

ΚΑΝΟΝΙΣΜΟΣ (ΕΕ) 2017/644 ΤΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ

της 5ης Απριλίου 2017

για τον καθορισμό των μεθόδων δειγματοληψίας και ανάλυσης για τον έλεγχο των επιπέδων των διοξινών, των παρόμοιων με διοξίνες PCB και των μη παρόμοιων με διοξίνες PCB σε ορισμένα τρόφιμα, και την κατάργηση του κανονισμού (ΕΕ) αριθ. 589/2014**(Κείμενο που παρουσιάζει ενδιαφέρον για τον ΕΟΧ)**

Η ΕΥΡΩΠΑΪΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ,

Έχοντας υπόψη τη Συνθήκη για τη λειτουργία της Ευρωπαϊκής Ένωσης,

Έχοντας υπόψη τον κανονισμό (ΕΚ) αριθ. 882/2004 του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου, της 29ης Απριλίου 2004, για τη διενέργεια επισήμων ελέγχων της συμμόρφωσης προς τη νομοθεσία περί ζωοτροφών και τροφίμων και προς τους κανόνες για την υγεία και την καλή διαβίωση των ζώων ⁽¹⁾, και ιδίως το άρθρο 11 παράγραφος 4,

Εκτιμώντας τα ακόλουθα:

- (1) Ο κανονισμός (ΕΚ) αριθ. 1881/2006 της Επιτροπής ⁽²⁾ καθορίζει τα μέγιστα επίπεδα για τα μη παρόμοια με διοξίνες πολυχλωριωμένα διφαινύλια (PCB), για τις διοξίνες και τα φουράνια και για το άθροισμα διοξινών, φουρανίων και παρόμοιων με διοξίνες PCB σε ορισμένα τρόφιμα.
- (2) Η σύσταση 2013/711/ΕΕ της Επιτροπής ⁽³⁾ ορίζει επίπεδα ανάληψης δράσης για να ενθαρρυνθεί μια προορατική προσέγγιση για τη μείωση της παρουσίας των πολυχλωριωμένων διβενζο-*p*-διοξινών και των πολυχλωριωμένων διβενζο-φουρανίων (PCDD/F) και των παρόμοιων με διοξίνες PCB στα τρόφιμα. Τα εν λόγω επίπεδα ανάληψης δράσης είναι ένα εργαλείο που χρησιμοποιούν οι αρμόδιες αρχές και οι υπεύθυνοι των σχετικών επιχειρήσεων για να επισημάνουν τις περιπτώσεις κατά τις οποίες ενδεικνύεται να προσδιοριστεί μια πηγή μόλυνσης και να ληφθούν αναγκαία μέτρα για τη μείωση ή την εξάλειψή της.
- (3) Ο κανονισμός (ΕΕ) αριθ. 589/2014 της Επιτροπής ⁽⁴⁾ ορίζει συγκεκριμένες διατάξεις όσον αφορά τη διαδικασία δειγματοληψίας και τις μεθόδους ανάλυσης που θα εφαρμόζονται για τον επίσημο έλεγχο των επιπέδων των διοξινών, των παρόμοιων με διοξίνες PCB και των μη παρόμοιων με διοξίνες PCB.
- (4) Οι διατάξεις που καθορίζονται στον παρόντα κανονισμό αφορούν μόνο τη δειγματοληψία και την ανάλυση των διοξινών, των παρόμοιων με διοξίνες PCB και των μη παρόμοιων με διοξίνες PCB για την εφαρμογή του κανονισμού (ΕΚ) αριθ. 1881/2006 και της σύστασης 2013/711/ΕΕ. Δεν επηρεάζουν τη στρατηγική, τα επίπεδα και τη συχνότητα της δειγματοληψίας όπως καθορίζονται στα παραρτήματα III και IV της οδηγίας 96/23/ΕΚ του Συμβουλίου ⁽⁵⁾. Δεν επηρεάζουν τα κριτήρια στοχοδότησης της δειγματοληψίας όπως καθορίζονται στην απόφαση 98/179/ΕΚ της Επιτροπής ⁽⁶⁾.
- (5) Είναι σκόπιμο να εξασφαλιστεί ότι οι υπεύθυνοι επιχειρήσεων τροφίμων οι οποίοι διενεργούν τους ελέγχους που πραγματοποιούνται στο πλαίσιο του άρθρου 4 του κανονισμού (ΕΚ) αριθ. 852/2004 του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου ⁽⁷⁾, εφαρμόζουν διαδικασίες δειγματοληψίας ισοδύναμες με τις διαδικασίες δειγματοληψίας που προβλέπονται από τον παρόντα κανονισμό, ούτως ώστε να εξασφαλίζεται ότι τα δείγματα είναι αντιπροσωπευτικά δείγματα για τη διενέργεια των ελέγχων αυτών. Επιπλέον, το εργαστήριο αναφοράς της Ευρωπαϊκής Ένωσης για τις διοξίνες και τα PCB προσκόμισε αποδεικτικά στοιχεία σύμφωνα με τα οποία τα αποτελέσματα των αναλύσεων δεν είναι, σε ορισμένες περιπτώσεις, αξιόπιστα, όταν τα κριτήρια επίδοσης, όπως προβλέπονται στον παρόντα κανονισμό, δεν εφαρμόζονται από τα εργαστήρια που διενεργούν την ανάλυση των δειγμάτων που λαμβάνονται από τους υπευθύνους επιχειρήσεων τροφίμων στο πλαίσιο του άρθρου 4 του κανονισμού (ΕΚ) αριθ. 852/2004. Συνεπώς, είναι σκόπιμο να καταστεί υποχρεωτική η εφαρμογή των κριτηρίων επίδοσης και για την ανάλυση των δειγμάτων αυτών.

⁽¹⁾ ΕΕ L 165 της 30.4.2004, σ. 1.

⁽²⁾ Κανονισμός (ΕΚ) αριθ. 1881/2006 της Επιτροπής, της 19ης Δεκεμβρίου 2006, για καθορισμό μέγιστων επιτρεπτών επιπέδων για ορισμένες ουσίες οι οποίες επιμολύνουν τα τρόφιμα (ΕΕ L 364 της 20.12.2006, σ. 5).

⁽³⁾ Σύσταση 2013/711/ΕΕ της Επιτροπής, της 3ης Δεκεμβρίου 2013, για τη μείωση της παρουσίας διοξινών, φουρανίων και PCB στις ζωοτροφές και τα τρόφιμα (ΕΕ L 323 της 4.12.2013, σ. 37).

⁽⁴⁾ Κανονισμός (ΕΕ) αριθ. 589/2014 της Επιτροπής, της 2ας Ιουνίου 2014, για καθορισμό των μεθόδων δειγματοληψίας και ανάλυσης για τον επίσημο έλεγχο των επιπέδων των διοξινών, των παρόμοιων με τις διοξίνες PCB και των μη παρόμοιων με τις διοξίνες PCB σε ορισμένα τρόφιμα και την κατάργηση του κανονισμού (ΕΕ) αριθ. 252/2012 (ΕΕ L 164 της 3.6.2014, σ. 18).

⁽⁵⁾ Οδηγία 96/23/ΕΚ του Συμβουλίου, της 29ης Απριλίου 1996, περί της λήψης μέτρων ελέγχου για ορισμένες ουσίες και τα κατάλοιπά τους σε ζώατα ζώα και στα προϊόντα τους και κατάργησης των οδηγιών 85/358/ΕΟΚ και 86/469/ΕΟΚ και των αποφάσεων 89/187/ΕΟΚ και 91/664/ΕΟΚ (ΕΕ L 125 της 23.5.1996, σ. 10).

⁽⁶⁾ Απόφαση 98/179/ΕΚ της Επιτροπής, της 23ης Φεβρουαρίου 1998, για τη θέσπιση λεπτομερών κανόνων όσον αφορά την επίσημη δειγματοληψία για τον έλεγχο της ανίχνευσης ορισμένων ουσιών και των καταλοίπων τους σε ζώατα ζώα και στα προϊόντα τους (ΕΕ L 65 της 5.3.1998, σ. 31).

⁽⁷⁾ Κανονισμός (ΕΚ) αριθ. 852/2004 του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και του Συμβουλίου, της 29ης Απριλίου 2004, για την υγιεινή των τροφίμων (ΕΕ L 139 της 30.4.2004, σ. 1).

- (6) Δεδομένου ότι δεν ισχύει πλέον για την ανάλυση διοξινών και PCB στα τρόφιμα η προσέγγιση που βασίζεται στη χρήση ορίου απόφασης για να διασφαλίζεται ότι τα αποτελέσματα των αναλύσεων βρίσκονται πάνω από το μέγιστο επίπεδο με ορισμένη πιθανότητα, όπως ορίζεται στην απόφαση 2002/657/ΕΚ της Επιτροπής⁽¹⁾, είναι σκόπιμο να διαγραφεί η εν λόγω προσέγγιση και να διατηρηθεί μόνο η προσέγγιση της διευρυμένης αβεβαιότητας, με χρήση συντελεστή κάλυψης 2, που δίνει επίπεδο εμπιστοσύνης περίπου 95 %.
- (7) Σε αντιστοιχία με τις απαιτήσεις αναφοράς για τις βιοαναλυτικές μεθόδους διαλογής, είναι σκόπιμο να προβλέπονται επίσης απαιτήσεις αναφοράς για τις φυσικοχημικές μεθόδους που χρησιμοποιούνται ειδικά για σκοπούς διαλογής.
- (8) Δεδομένου ότι οι αναλύσεις των διοξινών, των παρόμοιων με διοξίνες PCB και των μη παρόμοιων με διοξίνες PCB διενεργούνται, τις περισσότερες φορές μαζί, είναι σκόπιμο να ευθυγραμμιστούν τα κριτήρια επίδοσης για τα μη παρόμοια με τις διοξίνες PCB προς τα κριτήρια επίδοσης για τις διοξίνες και τα παρόμοια με τις διοξίνες PCB. Πρόκειται για απλούστευση, χωρίς ουσιαστικές αλλαγές στην πράξη, καθώς στην περίπτωση των μη παρόμοιων με διοξίνες PCB η σχετική ένταση των προσδιοριστικών ιόντων σε σύγκριση με τα στοχευόμενα ιόντα είναι > 50 %.
- (9) Επιπλέον, προτείνονται αρκετές άλλες ήσσονος σημασίας τροποποιήσεις των ισχυουσών διατάξεων, γεγονός που απαιτεί την κατάργηση του κανονισμού (ΕΕ) αριθ. 589/2014 και την αντικατάστασή του από νέο κανονισμό ούτως ώστε το κείμενο να παραμείνει ευανάγνωστο.
- (10) Τα μέτρα που προβλέπονται στον παρόντα κανονισμό είναι σύμφωνα με τη γνώμη της μόνιμης επιτροπής φυτών, ζώων, τροφίμων και ζωοτροφών,

ΕΞΕΔΩΣΕ ΤΟΝ ΠΑΡΟΝΤΑ ΚΑΝΟΝΙΣΜΟ:

Άρθρο 1

Για τους σκοπούς του παρόντος κανονισμού, ισχύουν οι ορισμοί και οι συντομογραφίες του παραρτήματος I.

Άρθρο 2

Η δειγματοληψία για τον επίσημο έλεγχο των επιπέδων των διοξινών, των φουρανίων, των παρόμοιων με διοξίνες PCB και των μη παρόμοιων με διοξίνες PCB στα τρόφιμα που παρατίθενται στο τμήμα 5 του παραρτήματος του κανονισμού (ΕΚ) αριθ. 1881/2006 διενεργείται σύμφωνα με τις μεθόδους που καθορίζονται στο παράρτημα II του παρόντος κανονισμού.

Άρθρο 3

Η προετοιμασία των δειγμάτων και οι αναλύσεις για τον έλεγχο των επιπέδων των διοξινών, των φουρανίων και των παρόμοιων με διοξίνες PCB στα τρόφιμα που παρατίθενται στο τμήμα 5 του παραρτήματος του κανονισμού (ΕΚ) αριθ. 1881/2006 διενεργούνται σύμφωνα με τις μεθόδους που καθορίζονται στο παράρτημα III του παρόντος κανονισμού.

Άρθρο 4

Οι αναλύσεις για τον έλεγχο των επιπέδων των μη παρόμοιων με διοξίνες PCB στα τρόφιμα που παρατίθενται στο τμήμα 5 του παραρτήματος του κανονισμού (ΕΚ) αριθ. 1881/2006 διενεργούνται σύμφωνα με τις απαιτήσεις για τις διαδικασίες ανάλυσης που καθορίζονται στο παράρτημα IV του παρόντος κανονισμού.

Άρθρο 5

Ο κανονισμός (ΕΕ) αριθ. 589/2014 καταργείται.

Οι παραπομπές στον καταργούμενο κανονισμό θεωρούνται ως παραπομπές στον παρόντα κανονισμό.

⁽¹⁾ Απόφαση 2002/657/ΕΚ της Επιτροπής, της 14ης Αυγούστου 2002, για εφαρμογή της οδηγίας 96/23/ΕΚ του Συμβουλίου σχετικά με την επίδοση των αναλυτικών μεθόδων και την ερμηνεία των αποτελεσμάτων (ΕΕ L 221 της 17.8.2002, σ. 8).

Άρθρο 6

Ο παρών κανονισμός αρχίζει να ισχύει την εικοστή ημέρα από τη δημοσίευσή του στην *Επίσημη Εφημερίδα της Ευρωπαϊκής Ένωσης*.

Ο παρών κανονισμός είναι δεσμευτικός ως προς όλα τα μέρη του και ισχύει άμεσα σε κάθε κράτος μέλος.

Βρυξέλλες, 5 Απριλίου 2017.

Για την Επιτροπή
Ο Πρόεδρος
Jean-Claude JUNCKER

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι

ΟΡΙΣΜΟΙ ΚΑΙ ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ

I. ΟΡΙΣΜΟΙ

Για τους σκοπούς του παρόντος κανονισμού ισχύουν οι ορισμοί του παραρτήματος Ι της απόφασης 2002/657/EK.

Εκτός από τους εν λόγω ορισμούς, για τους σκοπούς του παρόντος κανονισμού ισχύουν οι ακόλουθοι ορισμοί:

- 1.1. «Επίπεδο ανάληψης δράσης»: το επίπεδο μιας δεδομένης ουσίας, όπως καθορίζεται στο παράρτημα της σύστασης 2013/711/ΕΕ, το οποίο επιβάλλει τη διεξαγωγή ερευνών για τον προσδιορισμό της πηγής της εν λόγω ουσίας σε περιπτώσεις όπου ανιχνεύονται αυξημένα επίπεδα της ουσίας.
- 1.2. «Μέθοδοι διαλογής»: οι μέθοδοι που χρησιμοποιούνται για την επιλογή των δειγμάτων με επίπεδα PCDD/F και παρόμοιων με διοξίνες PCB που υπερβαίνουν τα μέγιστα επίπεδα ή τα επίπεδα ανάληψης δράσης. Επιτρέπουν την οικονομικά αποδοτική διεκπεραίωση μεγάλων αριθμών δειγμάτων, αυξάνοντας έτσι τις πιθανότητες εντοπισμού νέων περιπτώσεων υψηλής έκθεσης που μπορούν να οδηγήσουν σε κινδύνους για την υγεία των καταναλωτών. Οι μέθοδοι διαλογής βασίζονται σε βιοαναλυτικές μεθόδους ή μεθόδους GC-MS. Τα αποτελέσματα των δειγμάτων που υπερβαίνουν την τιμή αποκοπής που έχει καθοριστεί για τον έλεγχο της συμμόρφωσης με το μέγιστο επίπεδο επαληθεύονται με πλήρη εκ νέου ανάλυση από το αρχικό δείγμα με χρήση επιβεβαιωτικής μεθόδου.
- 1.3. «Επιβεβαιωτικές μέθοδοι»: μέθοδοι που παρέχουν πλήρεις ή συμπληρωματικές πληροφορίες οι οποίες επιτρέπουν τη σαφή ταυτοποίηση και ποσοτικοποίηση των PCDD/F και των παρόμοιων με διοξίνες PCB στο μέγιστο επίπεδο ή, σε περίπτωση ανάγκης, στο επίπεδο ανάληψης δράσης. Οι μέθοδοι αυτές χρησιμοποιούν αεριοχρωματογραφία/φασματομετρία μαζών υψηλής διακριτικής ικανότητας (GC-HRMS) ή αεριοχρωματογραφία/δίδυμη φασματομετρία μαζών (GC-MS/MS).
- 1.4. «Βιοαναλυτικές μέθοδοι»: μέθοδοι που βασίζονται στη χρήση βιολογικών αρχών όπως οι κυτταρικές δοκιμασίες, οι δοκιμασίες με υποδοχείς ή οι ανοσολογικές δοκιμασίες. Δεν παρέχουν αποτελέσματα στο επίπεδο ομοειδών ουσιών, αλλά αποτελούν απλώς μια ένδειξη⁽¹⁾ του επιπέδου TEQ, εκφρασμένου σε βιοαναλυτικά ισοδύναμα (BEQ), για να ληφθεί υπόψη ότι μπορεί να μην ικανοποιούν όλες οι ενώσεις που βρίσκονται σε ένα εκχύλισμα δείγματος και οι οποίες παράγουν απόκριση στη δοκιμασία όλες τις απαιτήσεις της αρχής TEQ.
- 1.5. «Φαινόμενη ανάκτηση βιολογικής δοκιμασίας»: το επίπεδο BEQ υπολογισμένο από την καμπύλη βαθμονόμησης της TCDD ή του PCB 126 με διόρθωση ως προς το τυφλό και κατόπιν διαίρεση διά του επιπέδου TEQ που καθορίζεται με την επιβεβαιωτική μέθοδο. Αποσκοπεί στη διόρθωση παραγόντων όπως η απώλεια PCDD/F και παρόμοιων με διοξίνες ενώσεων κατά τα στάδια της εκχύλισης και του καθαρισμού, οι συνεκχυλιζόμενες ενώσεις που αυξάνουν ή μειώνουν την απόκριση (αγωνιστική και ανταγωνιστική δράση), η ποιότητα της προσαρμογής της καμπύλης ή οι διαφορές μεταξύ των τιμών TEF και REP. Η φαινόμενη ανάκτηση της βιολογικής δοκιμασίας υπολογίζεται από κατάλληλα δείγματα αναφοράς με αντιπροσωπευτικά προφίλ ομοειδών ουσιών κοντά στο μέγιστο επίπεδο ή στο επίπεδο ανάληψης δράσης.
- 1.6. «Ανάλυση εις διπλούν»: η χωριστή ανάλυση των προσδιοριζόμενων ουσιών που παρουσιάζουν ενδιαφέρον με χρήση μιας δεύτερης ποσότητας του ίδιου ομογενοποιημένου δείγματος.
- 1.7. «Αποδεκτό ειδικό όριο ποσοτικού προσδιορισμού⁽²⁾ μεμονωμένης ομοειδούς ουσίας σε δείγμα»: η χαμηλότερη περιεκτικότητα της προσδιοριζόμενης ουσίας που μπορεί να μετρηθεί με ικανοποιητική στατιστική βεβαιότητα και η οποία πληροί τα κριτήρια ταυτοποίησης που περιγράφονται σε διεθνώς αναγνωρισμένα πρότυπα, για παράδειγμα στο πρότυπο EN 16215:2012 (Ζωοτροφές — Προσδιορισμός των διοξινών και των παρόμοιων με τις διοξίνες PCB με την τεχνική GC/HRMS και των δεικτών PCB με την τεχνική GC/HRMS) και/ή στις μεθόδους του Οργανισμού Προστασίας Περιβάλλοντος (EPA) 1613 και 1668 όπως αναεωρήθηκαν.

Το όριο ποσοτικού προσδιορισμού μιας μεμονωμένης ομοειδούς ουσίας είναι δυνατόν να προσδιοριστεί ως:

- a) η συγκέντρωση μιας προσδιοριζόμενης ουσίας στο εκχύλισμα δείγματος η οποία παράγει απόκριση των οργάνων σε δύο διαφορετικά ιόντα που πρόκειται να ελεγχθούν με λόγο σήματος προς θόρυβο (S/N) 3:1 για το λιγότερο εντατικό σήμα ανεπεξέργαστων δεδομένων·

⁽¹⁾ Οι βιοαναλυτικές μέθοδοι δεν είναι ειδικές για τις ομοειδείς ουσίες που περιλαμβάνονται στο σύστημα των συντελεστών τοξικής ισοδυναμίας (TEF). Άλλες ανάλογης δομής ενώσεις με δράση στους AhR (υποδοχείς αρυλικών υδρογονανθράκων) μπορεί να υπάρχουν στο εκχύλισμα δείγματος και να συμβάλλουν στη συνολική απόκριση. Επομένως, τα βιοαναλυτικά αποτελέσματα δεν μπορούν να αποτελούν εκτίμηση, αλλά μάλλον ένδειξη του επιπέδου TEQ στο δείγμα.

⁽²⁾ Εφαρμόζονται, κατά περίπτωση, οι αρχές που περιγράφονται στο «Εγγγραφο καθοδήγησης για την εκτίμηση των LOD και LOQ για μετρήσεις στον τομέα των προσμείξεων στα τρόφιμα και τις ζωοτροφές» [σύνδεσμος προς ιστοσελίδα].

ή, εάν, για τεχνικούς λόγους, ο υπολογισμός του λόγου σήματος προς θόρυβο δεν παρέχει αξιόπιστα αποτελέσματα,

β) το κατώτερο σημείο συγκέντρωσης σε μια καμπύλη βαθμονόμησης που δίνει μια αποδεκτή ($\leq 30\%$) και συνεπή (μετρημένη τουλάχιστον στην αρχή και στο τέλος μιας αναλυτικής σειράς δειγμάτων) απόκλιση από τον μέσο σχετικό συντελεστή απόκρισης, υπολογισμένη για όλα τα σημεία στην καμπύλη βαθμονόμησης σε κάθε σειρά δειγμάτων⁽¹⁾.

- 1.8. «Ανώτερο όριο»: έννοια για την οποία απαιτείται η χρήση του ορίου ποσοτικού προσδιορισμού για τη συμβολή κάθε ομοειδούς ουσίας που δεν προσδιορίζεται ποσοτικά.
- 1.9. «Κατώτερο όριο»: έννοια για την οποία απαιτείται η χρήση του μηδενός για τη συμβολή κάθε ομοειδούς ουσίας που δεν προσδιορίζεται ποσοτικά.
- 1.10. «Ενδιάμεσο όριο»: έννοια για την οποία απαιτείται η χρήση του μισού ορίου ποσοτικού προσδιορισμού για τη συμβολή κάθε ομοειδούς ουσίας που δεν προσδιορίζεται ποσοτικά.
- 1.11. «Παρτίδα»: η εκάστοτε παραδιδόμενη ταυτοποιήσιμη ποσότητα τροφίμου για την οποία έχει διαπιστωθεί από τον αρμόδιο ότι παρουσιάζει κοινά χαρακτηριστικά, όπως είναι η προέλευση, η ποικιλία, το είδος συσκευασίας, ο συσκευαστής, ο αποστολέας ή η σήμανση. Στην περίπτωση ψαριών και αλιευτικών προϊόντων, πρέπει και το μέγεθός τους να είναι συγκρίσιμο. Στην περίπτωση που το μέγεθος και/ή το βάρος των ψαριών δεν είναι συγκρίσιμο σε ένα φορτίο, το φορτίο αυτό μπορεί να θεωρηθεί παρτίδα αλλά πρέπει να εφαρμοστεί ειδική διαδικασία δειγματοληψίας.
- 1.12. «Υποπαρτίδα»: τμήμα μεγάλης παρτίδας που έχει οριστεί για την εφαρμογή της μεθόδου δειγματοληψίας στο εν λόγω καθορισμένο τμήμα. Κάθε υποπαρτίδα πρέπει να διαχωρίζεται φυσικά και να είναι ταυτοποιήσιμη.
- 1.13. «Στοιχειώδες δείγμα»: ποσότητα υλικού που λαμβάνεται από ένα μόνο σημείο της παρτίδας ή της υποπαρτίδας.
- 1.14. «Συνολικό δείγμα»: το συνδυασμένο σύνολο όλων των στοιχειωδών δειγμάτων που έχουν ληφθεί από την παρτίδα ή την υποπαρτίδα.
- 1.15. «Εργαστηριακό δείγμα»: αντιπροσωπευτικό τμήμα/ποσότητα του συνολικού δείγματος που προορίζεται για το εργαστήριο.

II. ΣΥΝΤΟΜΟΓΡΑΦΙΕΣ ΠΟΥ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΟΥΝΤΑΙ

BEQ	Βιοαναλυτικά ισοδύναμα
GC	Αεριοχρωματογραφία
HRMS	Φασματομετρία μαζών υψηλής διακριτικής ικανότητας
LRMS	Φασματομετρία μαζών χαμηλής διακριτικής ικανότητας
MS/MS	Δίδυμη φασματομετρία μαζών
PCB	Πολυχλωριωμένα διφαινύλια
Μη παρόμοια με διοξίνες PCB	PCB 28, PCB 52, PCB 101, PCB 138, PCB 153 και PCB 180
PCDD	Πολυχλωριωμένες διβενζο-παρα-διοξίνες
PCDF	Πολυχλωριωμένα διβενζοφουράνια
ΕΠ	Έλεγχος ποιότητας
REP	Σχετική ισχύς
TEF	Συντελεστής τοξικής ισοδυναμίας
TEQ	Τοξικά ισοδύναμα
TCDD	2,3,7,8-τετραχλωροδιβενζο-παρα-διοξίνη (TCDD)
U	Διευρυμένη αβεβαιότητα μέτρησης

⁽¹⁾ Το όριο ποσοτικού προσδιορισμού (LOQ) υπολογίζεται από το κατώτερο σημείο συγκέντρωσης λαμβανομένων υπόψη της ανάκτησης των εσωτερικών προτύπων και της ποσότητας του δείγματος.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ II

ΜΕΘΟΔΟΙ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑΣ ΓΙΑ ΤΟΝ ΕΠΙΣΗΜΟ ΕΛΕΓΧΟ ΤΩΝ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΤΩΝ ΔΙΟΞΙΝΩΝ (PCDD/PCDF), ΤΩΝ ΠΑΡΟΜΟΙΩΝ ΜΕ ΔΙΟΞΙΝΕΣ PCB ΚΑΙ ΤΩΝ ΜΗ ΠΑΡΟΜΟΙΩΝ ΜΕ ΔΙΟΞΙΝΕΣ PCB ΣΕ ΟΡΙΣΜΕΝΑ ΤΡΟΦΙΜΑ

I. ΠΕΔΙΟ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ

Η λήψη δειγμάτων που προορίζονται για τον επίσημο έλεγχο των επιπέδων των διοξινών (PCDD/F), των παρόμοιων με διοξίνες PCB και των μη παρόμοιων με διοξίνες PCB στα τρόφιμα γίνεται σύμφωνα με τις μεθόδους που περιγράφονται στο παρόν παράρτημα. Τα συνολικά δείγματα που λαμβάνονται με αυτόν τον τρόπο θεωρούνται αντιπροσωπευτικά των παρτίδων ή των υποπαρτίδων από τις οποίες λαμβάνονται. Η συμμόρφωση με τα μέγιστα επίπεδα που καθορίζονται στον κανονισμό (ΕΚ) αριθ. 1881/2006 προσδιορίζεται με βάση τα επίπεδα που καθορίζονται στα εργαστηριακά δείγματα.

Για να εξασφαλιστεί η συμμόρφωση με τις διατάξεις του άρθρου 4 του κανονισμού (ΕΚ) αριθ. 852/2004, όταν γίνεται δειγματοληψία για τον έλεγχο των επιπέδων των διοξινών (PCDD/F), των παρόμοιων με διοξίνες PCB και των μη παρόμοιων με τις διοξίνες PCB, ο υπεύθυνος επιχειρήσεων τροφίμων λαμβάνει τα δείγματα σύμφωνα με τις μεθόδους που περιγράφονται στο κεφάλαιο III του παρόντος παραρτήματος ή εφαρμόζει ισοδύναμη διαδικασία δειγματοληψίας που αποδεδειγμένα έχει το ίδιο επίπεδο αντιπροσωπευσης με τη διαδικασία δειγματοληψίας που περιγράφεται στο κεφάλαιο III του παρόντος παραρτήματος.

II. ΓΕΝΙΚΕΣ ΔΙΑΤΑΞΕΙΣ

1. Προσωπικό

Η επίσημη δειγματοληψία πραγματοποιείται από εξουσιοδοτημένο προσωπικό όπως ορίζεται από το κράτος μέλος.

2. Υλικό που υπόκειται σε δειγματοληψία

Κάθε παρτίδα ή υποπαρτίδα που πρόκειται να εξεταστεί αποτελεί αντικείμενο ξεχωριστής δειγματοληψίας.

3. Απαραίτητες προφυλάξεις

Κατά τη διάρκεια της δειγματοληψίας και της προετοιμασίας των δειγμάτων λαμβάνονται προφυλάξεις προκειμένου να αποφευχθεί οποιαδήποτε αλλοίωση η οποία μπορεί να τροποποιήσει την περιεκτικότητα σε διοξίνες και PCB, να επηρεάσει αρνητικά τον αναλυτικό προσδιορισμό ή να καταστήσει μη αντιπροσωπευτικά τα συνολικά δείγματα.

4. Στοιχειώδη δείγματα

Τα στοιχειώδη δείγματα συλλέγονται σε διάφορα σημεία όσον το δυνατόν πιο διεσπαρμένα σε όλη την παρτίδα ή την υποπαρτίδα. Τυχόν παρέκκλιση από τη διαδικασία αυτή καταγράφεται στο αρχείο που προβλέπεται στο σημείο II.8.

5. Προετοιμασία του συνολικού δείγματος

Το συνολικό δείγμα σχηματίζεται με τη συνένωση των στοιχειωδών δειγμάτων. Το βάρος του συνολικού δείγματος είναι τουλάχιστον 1 kg, εκτός εάν αυτό δεν είναι δυνατόν, π.χ. στην περίπτωση που έχει ληφθεί για δειγματοληψία μία μόνο συσκευασία ή στην περίπτωση που το προϊόν έχει πολύ μεγάλη εμπορική αξία.

6. Πανομοιότυπα δείγματα

Τα πανομοιότυπα δείγματα λαμβάνονται από το ομογενοποιημένο συνολικό δείγμα για λόγους επιβολής, υπεράσπισης και διατησίας, εκτός εάν η διαδικασία αυτή αντικείται στους κανόνες του κράτους μέλους σχετικά με τα δικαιώματα του υπευθύνου επιχείρησης τροφίμων. Το μέγεθος των εργαστηριακών δειγμάτων που προορίζονται για επιβολή είναι επαρκές ώστε να μπορούν να γίνουν τουλάχιστον δύο αναλύσεις.

7. Συσκευασία και διαβίβαση των δειγμάτων

Κάθε δείγμα τοποθετείται σε έναν καθαρό περιέκτη από αδρανές υλικό, ο οποίος παρέχει επαρκή προστασία από μόλυνση από απώλεια των προσδιοριζόμενων ουσιών λόγω απορρόφησης από τα εσωτερικά τοιχώματα του περιέκτη και από οποιαδήποτε φθορά μπορεί να προκύψει κατά τη διάρκεια της μεταφοράς. Λαμβάνονται όλες οι αναγκαίες προφυλάξεις για να αποτραπεί κάθε αλλοίωση της σύνθεσης του δείγματος η οποία μπορεί να επέλθει κατά τη διάρκεια της μεταφοράς ή της αποθήκευσης.

8. Σφράγιση και σήμανση των δειγμάτων

Κάθε δείγμα που λαμβάνεται για επίσημη χρήση σφραγίζεται στον τόπο της δειγματοληψίας και ταυτοποιείται σύμφωνα με τους κανόνες που ισχύουν στα κράτη μέλη.

Για κάθε δειγματοληψία τηρείται αρχείο, το οποίο επιτρέπει τη σαφή ταυτοποίηση κάθε παρτίδας και στο οποίο αναγράφονται η ημερομηνία και ο τόπος δειγματοληψίας, καθώς και κάθε άλλη συμπληρωματική πληροφορία που ενδέχεται να είναι χρήσιμη για τον αναλυτή.

III. ΣΧΕΔΙΟ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑΣ

Η μέθοδος δειγματοληψίας που εφαρμόζεται εξασφαλίζει ότι το συνολικό δείγμα είναι αντιπροσωπευτικό της (υπο)παρτίδας που πρόκειται να ελεγχθεί.

1. Διάρθρωση παρτίδων σε υποπαρτίδες

Οι μεγάλες παρτίδες διαιρούνται σε υποπαρτίδες, υπό την προϋπόθεση ότι είναι δυνατός ο φυσικός διαχωρισμός της υποπαρτίδας. Ο πίνακας 1 ισχύει για τα προϊόντα που διατίθενται στο εμπόριο χύμα σε μεγάλα φορτία (π.χ. φυτικά έλαια). Για τα άλλα προϊόντα ισχύει ο πίνακας 2. Δεδομένου ότι το βάρος της παρτίδας δεν αποτελεί πάντα ακριβές πολλαπλάσιο του βάρους των υποπαρτίδων, το βάρος των υποπαρτίδων ενδέχεται να υπερβαίνει το αναφερόμενο βάρος κατά ποσοστό έως 20 %.

Πίνακας 1

Υποδιαίρεση των παρτίδων σε υποπαρτίδες για προϊόντα που διατίθενται στο εμπόριο χύμα

Βάρος παρτίδας (σε τόνους)	Βάρος ή αριθμός υποπαρτίδων
≥ 1 500	500 τόνοι
> 300 και < 1 500	3 υποπαρτίδες
≥ 50 και ≤ 300	100 τόνοι
< 50	—

Πίνακας 2

Υποδιαίρεση παρτίδων σε υποπαρτίδες για άλλα προϊόντα

Βάρος παρτίδας (σε τόνους)	Βάρος ή αριθμός υποπαρτίδων
≥ 15	15-30 τόνοι
< 15	—

2. Αριθμός στοιχειωδών δειγμάτων

Το συνολικό δείγμα που απαρτίζεται απ' όλα τα στοιχειώδη δείγματα πρέπει να είναι τουλάχιστον 1 kg (βλέπε σημείο II.5).

Ο ελάχιστος αριθμός στοιχειωδών δειγμάτων που πρέπει να λαμβάνονται από την παρτίδα ή την υποπαρτίδα είναι αυτός που αναφέρεται στους πίνακες 3 και 4.

Στην περίπτωση χύμα υγρών προϊόντων, η παρτίδα ή η υποπαρτίδα αναμειγνύεται όσο το δυνατόν επιμελέστερα και στον βαθμό που αυτό δεν επηρεάζει την ποιότητα του προϊόντος, είτε με χειρωνακτικά είτε με μηχανικά μέσα, αμέσως πριν από τη δειγματοληψία. Στην περίπτωση αυτή, θεωρείται ότι η κατανομή των επιμολυντών σε μια δεδομένη παρτίδα ή υποπαρτίδα είναι ομοιογενής. Επομένως, για τη διαμόρφωση του συνολικού δείγματος αρκεί να ληφθούν τρία στοιχειώδη δείγματα από μία παρτίδα ή υποπαρτίδα.

Τα στοιχειώδη δείγματα έχουν παρόμοιο βάρος. Το βάρος ενός στοιχειώδους δείγματος είναι τουλάχιστον 100 γραμμάρια.

Τυχόν παρέκκλιση από τη διαδικασία αυτή πρέπει να καταγράφεται στο αρχείο που προβλέπεται στο σημείο II.8 του παρόντος παραρτήματος. Σύμφωνα με τις διατάξεις της απόφασης 97/747/ΕΚ της Επιτροπής ⁽¹⁾, το μέγεθος του συνολικού δείγματος για τα αυγά κότας είναι τουλάχιστον 12 αυγά (για χύμα παρτίδες καθώς και για παρτίδες που αποτελούνται από μεμονωμένες συσκευασίες, ισχύουν οι πίνακες 3 και 4).

Πίνακας 3

Ελάχιστος αριθμός στοιχειωδών δειγμάτων που πρέπει να λαμβάνονται από την παρτίδα ή υποπαρτίδα

Βάρος ή όγκος της παρτίδας/υποπαρτίδας (σε kg ή λίτρα)	Ελάχιστος αριθμός στοιχειωδών δειγμάτων που πρέπει να λαμβάνονται
< 50	3
50 έως 500	5
> 500	10

Εάν η παρτίδα ή υποπαρτίδα αποτελείται από μεμονωμένες συσκευασίες ή μονάδες, ο αριθμός των συσκευασιών ή μονάδων που πρέπει να λαμβάνονται για να διαμορφώσουν το συνολικό δείγμα αναφέρεται στον πίνακα 4.

Πίνακας 4

Αριθμός συσκευασιών ή μονάδων (στοιχειώδη δείγματα) που πρέπει να λαμβάνονται για να διαμορφώσουν το συνολικό δείγμα εάν η παρτίδα ή η υποπαρτίδα αποτελείται από μεμονωμένες συσκευασίες ή μονάδες

Αριθμός συσκευασιών ή μονάδων στην παρτίδα/υποπαρτίδα	Αριθμός συσκευασιών ή μονάδων που πρέπει να λαμβάνονται
1 έως 25	τουλάχιστον 1 συσκευασία ή μονάδα
26 έως 100	περίπου 5 %, τουλάχιστον 2 συσκευασίες ή μονάδες
> 100	περίπου 5 %, το μέγιστο 10 συσκευασίες ή μονάδες

3. Ειδικές διατάξεις για τη δειγματοληψία παρτίδων που περιέχουν ολόκληρα ψάρια συγκρίσιμου μεγέθους και βάρους

Τα ψάρια θεωρείται ότι έχουν συγκρίσιμο μέγεθος και βάρος στην περίπτωση που η διαφορά μεγέθους και βάρους δεν υπερβαίνει το 50 % περίπου.

Ο αριθμός των στοιχειωδών δειγμάτων που πρέπει να λαμβάνονται από την παρτίδα ορίζεται στον πίνακα 3. Το συνολικό δείγμα που απαρτίζεται απ' όλα τα στοιχειώδη δείγματα πρέπει να είναι τουλάχιστον 1 kg (βλέπε σημείο II.5).

— Όταν γίνεται δειγματοληψία σε παρτίδα που περιέχει μικρά ψάρια (ψάρια βάρους < 1 kg περίπου ανά τεμάχιο), ως στοιχειώδες δείγμα για τη διαμόρφωση του συνολικού δείγματος λαμβάνεται ολόκληρο το ψάρι. Όταν το συνολικό δείγμα που προκύπτει ζυγίζει πάνω από 3 kg, τα στοιχειώδη δείγματα μπορούν να αποτελούνται από το μεσαίο τμήμα, βάρους τουλάχιστον 100 gr έκαστο, των ψαριών που αποτελούν το συνολικό δείγμα. Για την ομογενοποίηση του δείγματος χρησιμοποιείται ολόκληρο το τμήμα για το οποίο ισχύει το μέγιστο επίπεδο.

Το μεσαίο τμήμα του ψαριού είναι εκείνο στο οποίο βρίσκεται το κέντρο βάρους. Στις περισσότερες περιπτώσεις αυτό βρίσκεται στο ραχιαίο πτερύγιο (στην περίπτωση που το ψάρι έχει ραχιαίο πτερύγιο) ή στο ήμισυ της απόστασης μεταξύ της βραγχιακής σχισμής και της κλοάκης.

— Όταν γίνεται δειγματοληψία σε παρτίδα που περιέχει μεγαλύτερα ψάρια (βάρους μεγαλύτερου του 1 kg περίπου ανά τεμάχιο), το στοιχειώδες δείγμα αποτελείται από το μεσαίο τμήμα του ψαριού. Κάθε στοιχειώδες δείγμα ζυγίζει τουλάχιστον 100 gr.

Στην περίπτωση ψαριών ενδιάμεσου μεγέθους (περίπου 1-6 kg), το στοιχειώδες δείγμα είναι τεμάχιο που λαμβάνεται από το μεσαίο τμήμα του ψαριού ανάμεσα στο ραχιαίο ψαροκόκαλο και στην κοιλιακή χώρα.

⁽¹⁾ Απόφαση 97/747/ΕΚ της Επιτροπής, της 27ης Οκτωβρίου 1997, για τον καθορισμό των επιπέδων και συχνοτήτων δειγματοληψίας που προβλέπονται στην οδηγία 96/23/ΕΚ του Συμβουλίου με σκοπό την ανίχνευση ορισμένων ουσιών και καταλοίπων που απαντώνται σε ορισμένα ζωικά προϊόντα (ΕΕ L 303 της 6.11.1997, σ. 12).

Στην περίπτωση πολύ μεγάλων ψαριών (π.χ. > περίπου 6 kg), το στοιχειώδες δείγμα λαμβάνεται από τη μυώδη σάρκα του ραχιαίου πλευρικού μυός στη δεξιά πλευρά (πρόσθια όψη) στο μεσαίο τμήμα του ψαριού. Στην περίπτωση που προκύπτει σημαντική οικονομική ζημία από τη λήψη αυτού του τεμαχίου από το μεσαίο μέρος του ψαριού, μπορεί να θεωρηθεί επαρκής η λήψη τριών στοιχειωδών δειγμάτων βάρους τουλάχιστον 350 g το καθένα, ανεξάρτητα από το μέγεθος της παρτίδας ή, εναλλακτικά, μπορεί να ληφθεί ένα ίσο τμήμα από τη μυώδη σάρκα κοντά στην ουρά και ένα από τη μυώδη σάρκα κοντά στο κεφάλι για να διαμορφωθεί στοιχειώδες δείγμα που να είναι αντιπροσωπευτικό για το επίπεδο διοξινών σε ολόκληρο το ψάρι.

4. Δειγματοληψία παρτίδων που περιέχουν ολόκληρα ψάρια διαφορετικού μεγέθους και/ή βάρους

- Όσον αφορά τη δημιουργία του δείγματος, ισχύουν οι διατάξεις του σημείου III.3.
- Όταν υπερέχει μια τάξη/κατηγορία μεγέθους ή βάρους (ποσοστό της παρτίδας περίπου 80 % ή μεγαλύτερο), το δείγμα λαμβάνεται από ψάρια με το επικρατέστερο μέγεθος ή βάρος. Το δείγμα αυτό πρέπει να θεωρείται ότι είναι αντιπροσωπευτικό όλης της παρτίδας.
- Όταν δεν υπερέχει καμία τάξη/κατηγορία μεγέθους ή βάρους, τότε πρέπει να εξασφαλιστεί ότι τα ψάρια που επελέγησαν για το δείγμα είναι αντιπροσωπευτικά για την παρτίδα. Για τέτοιες περιπτώσεις συγκεκριμένες οδηγίες παρέχονται στο «Εγγραφο καθοδήγησης για τη δειγματοληψία σε ολόκληρα ψάρια διαφορετικού μεγέθους και/ή βάρους»⁽²⁾.

5. Δειγματοληψία στο στάδιο της λιανικής πώλησης

Η δειγματοληψία τροφίμων στο στάδιο της λιανικής πώλησης γίνεται, εφόσον είναι δυνατόν, σύμφωνα με τις διατάξεις δειγματοληψίας που ορίζονται στο σημείο III.2.

Όταν αυτό δεν είναι δυνατόν, μπορεί να χρησιμοποιηθεί εναλλακτική μέθοδος δειγματοληψίας στο στάδιο της λιανικής πώλησης, υπό τον όρο ότι εξασφαλίζεται επαρκώς η αντιπροσωπευτικότητα της παρτίδας ή της υποπαρτίδας στην οποία εκτελείται η δειγματοληψία.

IV. ΣΥΜΜΟΡΦΩΣΗ ΤΗΣ ΠΑΡΤΙΔΑΣ ΜΕ ΤΙΣ ΠΡΟΔΙΑΓΡΑΦΕΣ

1. Όσον αφορά τα μη παρόμοια με διοξίνες PCB

Η παρτίδα είναι αποδεκτή αν το αποτέλεσμα της ανάλυσης για το άθροισμα των μη παρόμοιων με διοξίνες PCB δεν υπερβαίνει το αντίστοιχο μέγιστο επίπεδο που ορίζεται στον κανονισμό (ΕΚ) αριθ. 1881/2006, λαμβανομένης υπόψη της διευρυμένης αβεβαιότητας μέτρησης⁽³⁾.

Η παρτίδα δεν συμμορφώνεται με το μέγιστο επίπεδο που ορίζεται στον κανονισμό (ΕΚ) αριθ. 1881/2006, αν ο μέσος όρος δύο άνω φραγμένων αποτελεσμάτων της ανάλυσης που προκύπτουν από την ανάλυση εις διπλούν⁽⁴⁾, λαμβανομένης υπόψη της διευρυμένης αβεβαιότητας μέτρησης, υπερβαίνει το μέγιστο επίπεδο πέραν κάθε λογικής αμφιβολίας.

Η διευρυμένη αβεβαιότητα μέτρησης υπολογίζεται με χρήση ενός συντελεστή κάλυψης ίσου με 2, ο οποίος παρέχει διάστημα εμπιστοσύνης περίπου 95 %. Η παρτίδα θεωρείται μη συμμορφούμενη αν ο μέσος όρος των μετρούμενων τιμών μείον τη διευρυμένη αβεβαιότητα του μέσου όρου είναι μεγαλύτερος του καθορισμένου μέγιστου επιπέδου.

Οι προαναφερόμενοι κανόνες εφαρμόζονται για τα αποτελέσματα των αναλύσεων που προκύπτουν από το δείγμα που λαμβάνεται για επίσημο έλεγχο. Στην περίπτωση αναλύσεων για σκοπούς υπεράσπισης ή διατησίας, εφαρμόζεται η εθνική νομοθεσία.

2. Όσον αφορά τις διοξίνες (PCDD/F) και τα παρόμοια με διοξίνες PCB

Η παρτίδα γίνεται δεκτή αν το αποτέλεσμα μίας μόνο ανάλυσης

- που γίνεται με μέθοδο διαλογής με ποσοστό ψευδώς συμμορφούμενων αποτελεσμάτων χαμηλότερο από 5 % δείχνει ότι το επίπεδο δεν υπερβαίνει το αντίστοιχο μέγιστο επίπεδο των PCDD/F και το άθροισμα των PCDD/F και των παρόμοιων με διοξίνες PCB, όπως καθορίζεται στον κανονισμό (ΕΚ) αριθ. 1881/2006,

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

⁽³⁾ Εφαρμόζονται κατά περίπτωση οι αρχές που περιγράφονται στο «Εγγραφο καθοδήγησης σχετικά με την αβεβαιότητα μέτρησης για εργαστήρια που διεξάγουν ανάλυση PCDD/F και PCB με φασματομετρία μάζας αραίωσης ισοτόπων» [σύνδεσμος προς ιστοσελίδα].

⁽⁴⁾ Η ανάλυση εις διπλούν είναι απαραίτητη αν το αποτέλεσμα του πρώτου προσδιορισμού δεν είναι συμμορφούμενο. Η ανάλυση εις διπλούν είναι απαραίτητη για να αποκλειστεί η πιθανότητα εσωτερικής διασταυρούμενης μόλυνσης ή τυχαίας ανάμειξης δειγμάτων. Στην περίπτωση που η ανάλυση εκτελείται στο πλαίσιο ενός περιστατικού μόλυνσης, η επιβεβαίωση με ανάλυση εις διπλούν μπορεί να παραλειφθεί αν τα δείγματα που επιλέγονται για ανάλυση μπορούν να συνδεθούν με το περιστατικό μόλυνσης μέσω ιχνηλασιμότητας και το επίπεδο που βρέθηκε υπερβαίνει σημαντικά το μέγιστο επίπεδο.

— που γίνεται με επιβεβαιωτική μέθοδο δεν υπερβαίνει το αντίστοιχο μέγιστο επίπεδο των PCDD/F και το άθροισμα των PCDD/F και των παρόμοιων με διοξίνες PCB, όπως καθορίζεται στον κανονισμό (ΕΚ) αριθ. 1881/2006, λαμβανομένης υπόψη της διευρυμένης αβεβαιότητας μέτρησης ⁽⁵⁾.

Για δοκιμασίες διαλογής καθορίζεται μια τιμή αποκοπής για την απόφαση σχετικά με τη συμμόρφωση με τα αντίστοιχα μέγιστα επίπεδα τα οποία ορίζονται είτε για τις PCDD/F είτε για το άθροισμα των PCDD/F και των παρόμοιων με διοξίνες PCB.

Η παρτίδα δεν συμμορφώνεται με το μέγιστο επίπεδο που ορίζεται στον κανονισμό (ΕΚ) αριθ. 1881/2006, αν ο μέσος όρος δύο άνω φραγμένων αποτελεσμάτων της ανάλυσης (ανάλυση εις διπλούν ⁽⁶⁾) που προκύπτουν με χρήση επιβεβαιωτικής μεθόδου, λαμβανομένης υπόψη της διευρυμένης αβεβαιότητας μέτρησης, υπερβαίνει το μέγιστο επίπεδο πέραν κάθε λογικής αμφιβολίας.

Η διευρυμένη αβεβαιότητα μέτρησης υπολογίζεται με τη χρήση ενός συντελεστή κάλυψης ίσου με 2, ο οποίος παρέχει διάστημα εμπιστοσύνης περίπου 95 %. Η παρτίδα θεωρείται μη συμμορφούμενη αν ο μέσος όρος των μετρούμενων τιμών μείον τη διευρυμένη αβεβαιότητα του μέσου όρου είναι μεγαλύτερος του καθορισμένου μέγιστου επιπέδου.

Πρέπει να χρησιμοποιηθεί το άθροισμα των εκτιμώμενων διευρυμένων αβεβαιότητων των ξεχωριστών αναλυτικών αποτελεσμάτων των PCDD/F και των παρόμοιων με διοξίνες PCB για τις εκτιμήσεις της διευρυμένης αβεβαιότητας του αθροίσματος των PCDD/F και των παρόμοιων με διοξίνες PCB,

Οι προαναφερόμενοι κανόνες εφαρμόζονται για τα αποτελέσματα των αναλύσεων που προκύπτουν από το δείγμα που λαμβάνεται για επίσημο έλεγχο. Στην περίπτωση αναλύσεων για σκοπούς υπεράσπισης ή διαίτησας, εφαρμόζεται η εθνική νομοθεσία.

V. ΥΠΕΡΒΑΣΗ ΤΩΝ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΑΝΑΛΗΨΗΣ ΔΡΑΣΗΣ

Τα επίπεδα ανάληψης δράσης αποτελούν εργαλείο για την επιλογή δειγμάτων στις περιπτώσεις εκείνες στις οποίες είναι σκόπιμο να προσδιοριστεί μια πηγή μόλυνσης και να ληφθούν μέτρα για τη μείωση ή την εξάλειψή της. Οι μέθοδοι διαλογής ορίζουν κατάλληλες τιμές αποκοπής για την επιλογή αυτών των δειγμάτων. Όταν απαιτούνται σημαντικές προσπάθειες για τον προσδιορισμό μιας πηγής και τη μείωση ή την εξάλειψη της μόλυνσης, μπορεί να ενδείκνυται να επιβεβαιωθεί η υπέρβαση του επιπέδου ανάληψης δράσης μέσω ανάλυσης εις διπλούν δείγματος χρησιμοποιώντας επιβεβαιωτική μέθοδο και λαμβάνοντας υπόψη τη διευρυμένη αβεβαιότητα μέτρησης ⁽⁷⁾.

⁽⁵⁾ Έγγραφο καθοδήγησης σχετικά με την αβεβαιότητα μέτρησης για εργαστήρια που διενεργούν ανάλυση PCDD/F και PCB με φασματομετρία μάζας αραίωσης ισοτόπων [σύνδεσμος προς ιστοσελίδα], Έγγραφο καθοδήγησης για την εκτίμηση των LOD και LOQ για μετρήσεις στον τομέα των προσμείξεων στα τρόφιμα και τις ζωοτροφές [σύνδεσμος προς ιστοσελίδα].

⁽⁶⁾ Η ανάλυση εις διπλούν είναι απαραίτητη αν δεν είναι συμμορφούμενο το αποτέλεσμα του πρώτου προσδιορισμού που εφαρμόζει επιβεβαιωτικές μεθόδους με τη χρήση εσωτερικού προτύπου με ισοτοπική επισήμανση ¹³C για τις σχετικές προσδιοριζόμενες ουσίες. Η ανάλυση εις διπλούν είναι απαραίτητη για να αποκλειστεί η πιθανότητα εσωτερικής διασταυρούμενης μόλυνσης ή τυχαίας ανάμειξης δειγμάτων. Στην περίπτωση που η ανάλυση εκτελείται στο πλαίσιο ενός περιστατικού επιμόλυνσης, η επιβεβαίωση με ανάλυση εις διπλούν μπορεί να παραλειφθεί αν τα δείγματα που επιλέγονται για ανάλυση μπορούν να συνδεθούν με το περιστατικό μόλυνσης μέσω ιχνηλασιμότητας και το επίπεδο που βρέθηκε υπερβαίνει σημαντικά το μέγιστο επίπεδο.

⁽⁷⁾ Οι εξηγήσεις και οι απαιτήσεις για την ανάλυση εις διπλούν για τον έλεγχο των επιπέδων ανάληψης δράσης είναι ίδιες με εκείνες της υποσημείωσης 6 για τα μέγιστα επίπεδα.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΙΙΙ

ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΤΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΑΠΑΙΤΗΣΕΙΣ ΓΙΑ ΤΙΣ ΜΕΘΟΔΟΥΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΠΟΥ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΟΥΝΤΑΙ ΓΙΑ ΤΟΝ ΕΛΕΓΧΟ ΤΩΝ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΤΩΝ ΔΙΟΞΙΝΩΝ (PCDD/PCDF) ΚΑΙ ΤΩΝ ΠΑΡΟΜΟΙΩΝ ΜΕ ΔΙΟΞΙΝΕΣ PCB ΣΕ ΟΡΙΣΜΕΝΑ ΤΡΟΦΙΜΑ

1. ΠΕΔΙΟ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ

Οι απαιτήσεις που καθορίζονται στο παρόν παράρτημα εφαρμόζονται στις αναλύσεις τροφίμων για τον επίσημο έλεγχο των επιπέδων των υποκατεστημένων στις θέσεις 2,3,7,8 πολυχλωριωμένων διβενζο-p-διοξινών και των πολυχλωριωμένων διβενζοφουρανίων (PCDD/F) και των παρόμοιων με διοξίνες πολυχλωριωμένων διφαινυλίων (παρόμοια με διοξίνες PCB) και όσον αφορά την προετοιμασία των δειγμάτων και τις αναλυτικές απαιτήσεις για άλλους ρυθμιστικούς σκοπούς, καθώς και τους ελέγχους που διενεργούνται από τον υπεύθυνο της επιχείρησης τροφίμων, ώστε να εξασφαλίζεται η συμμόρφωση με τις διατάξεις του άρθρου 4 του κανονισμού (ΕΚ) αριθ. 852/2004.

Ο έλεγχος για την παρουσία PCDD/F και παρόμοιων με διοξίνες PCB στα τρόφιμα μπορεί να διεξαχθεί με δύο διαφορετικούς τύπους αναλυτικών μεθόδων:

α) Μέθοδοι διαλογής

Ο στόχος των μεθόδων διαλογής είναι η επιλογή των δειγμάτων με επίπεδα PCDD/F και παρόμοιων με διοξίνες PCB που υπερβαίνουν τα μέγιστα επίπεδα ή τα επίπεδα ανάληψης δράσης. Οι μέθοδοι διαλογής επιτρέπουν την οικονομικά αποδοτική διεκπεραίωση μεγάλων αριθμών δειγμάτων, αυξάνοντας έτσι τις πιθανότητες εντοπισμού νέων περιστατικών υψηλής έκθεσης που ενδέχεται να οδηγήσουν σε κινδύνους για την υγεία των καταναλωτών. Η εφαρμογή τους αποσκοπεί στην αποφυγή ψευδών συμμορφούμενων αποτελεσμάτων. Μπορούν να περιλαμβάνουν βιοαναλυτικές μεθόδους και μεθόδους GC/MS.

Οι μέθοδοι διαλογής συγκρίνουν το αναλυτικό αποτέλεσμα με μια τιμή αποκοπής, παρέχοντας θετική/αρνητική απόφαση για πιθανή υπέρβαση του μέγιστου επιπέδου ή του επιπέδου ανάληψης δράσης. Στα δείγματα για τα οποία υπάρχει υποψία ότι δεν συμμορφώνονται με το μέγιστο επίπεδο πρέπει να προσδιορίζεται/επιβεβαιώνεται με επιβεβαιωτική μέθοδο η συγκέντρωση των PCDD/F και το άθροισμα των PCDD/F και των παρόμοιων με διοξίνες PCB.

Επιπλέον, οι μέθοδοι διαλογής μπορούν να παρέχουν ένδειξη των επιπέδων των PCDD/F και των παρόμοιων με διοξίνες PCB που περιέχονται στο δείγμα. Σε περίπτωση εφαρμογής βιοαναλυτικών μεθόδων διαλογής, το αποτέλεσμα εκφράζεται σε βιοαναλυτικά ισοδύναμα (BEQ), ενώ σε περίπτωση εφαρμογής φυσικοχημικών μεθόδων GC-MS εκφράζεται σε τοξικά ισοδύναμα (TEQ). Τα αριθμητικά υποδεικνυόμενα αποτελέσματα των μεθόδων διαλογής είναι κατάλληλα για να δείξουν τη συμμόρφωση ή την υπόνοια μη συμμόρφωσης ή την υπέρβαση των επιπέδων ανάληψης δράσης και να παράσχουν μια ένδειξη για το φάσμα των επιπέδων σε περίπτωση παρακολούθησης με επιβεβαιωτικές μεθόδους. Δεν είναι κατάλληλα για σκοπούς όπως η εκτίμηση των επιπέδων υποβάθρου, η εκτίμηση της πρόσληψης, η παρακολούθηση της χρονικής εξέλιξης των επιπέδων ή η εκ νέου αξιολόγηση των επιπέδων ανάληψης δράσης και των μέγιστων επιπέδων.

β) Επιβεβαιωτικές μέθοδοι

Οι επιβεβαιωτικές μέθοδοι επιτρέπουν την αναμφισβήτητη ταυτοποίηση και ποσοτικοποίηση των PCDD/F και των παρόμοιων με διοξίνες PCB που υπάρχουν σε ένα δείγμα και την παροχή πλήρων στοιχείων σε βάση ομοειδών ουσιών. Ως εκ τούτου, οι εν λόγω μέθοδοι επιτρέπουν τον έλεγχο των μέγιστων επιπέδων και των επιπέδων ανάληψης δράσης, καθώς και την επιβεβαίωση των αποτελεσμάτων που λαμβάνονται από μεθόδους διαλογής. Επιπλέον, τα αποτελέσματα μπορούν να χρησιμοποιηθούν για άλλους σκοπούς, όπως ο προσδιορισμός των χαμηλών επιπέδων υποβάθρου στον έλεγχο των τροφίμων, η παρακολούθηση της χρονικής εξέλιξης, η αξιολόγηση της έκθεσης του πληθυσμού και η δημιουργία βάσης δεδομένων για πιθανή εκ νέου αξιολόγηση των επιπέδων ανάληψης δράσης και των μέγιστων επιπέδων. Αυτές οι μέθοδοι είναι επίσης σημαντικές για τον καθορισμό του προφίλ ομοειδών ουσιών με σκοπό για τον εντοπισμό της πηγής πιθανής μόλυνσης. Αυτές οι μέθοδοι χρησιμοποιούν GC-HRMS. Για την επιβεβαίωση της συμμόρφωσης ή της μη συμμόρφωσης με το μέγιστο επίπεδο, μπορεί να χρησιμοποιηθεί και GC-MS/MS.

2. ΙΣΤΟΡΙΚΟ

Για τον υπολογισμό των συγκεντρώσεων TEQ, οι συγκεντρώσεις των μεμονωμένων ουσιών σε ένα δεδομένο δείγμα πολλαπλασιάζονται με τον αντίστοιχο TEF τους, όπως καθορίζεται από τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας και αναφέρεται στο προσάρτημα του παρόντος παραρτήματος, και στη συνέχεια αθροίζονται για να εξαχθεί η συνολική συγκέντρωση των παρόμοιων με διοξίνες ενώσεων εκφρασμένη σε TEQ.

Οι μέθοδοι διαλογής και οι επιβεβαιωτικές μέθοδοι μπορούν να εφαρμοστούν μόνο για τον έλεγχο συγκεκριμένης μήτρας εάν οι μέθοδοι είναι αρκετά ευαίσθητες ώστε να ανιχνεύουν με αξιόπιστο τρόπο τα επίπεδα στο μέγιστο επίπεδο ή στο επίπεδο ανάληψης δράσης.

3. ΑΠΑΙΤΗΣΕΙΣ ΔΙΑΣΦΑΛΙΣΗΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ

- Πρέπει να λαμβάνονται μέτρα για την αποφυγή της διασταυρούμενης μόλυνσης σε κάθε στάδιο της διαδικασίας δειγματοληψίας και ανάλυσης.
- Τα δείγματα πρέπει να αποθηκεύονται και να μεταφέρονται σε κατάλληλους για αποθήκευση περιέκτες από γυαλί, αλουμίνιο, πολυπροπυλένιο ή πολυαιθυλένιο, έτσι ώστε να μην επηρεάζεται η περιεκτικότητα των δειγμάτων σε PCDD/F και σε παρόμοια με διοξίνες PCB. Πρέπει να αφαιρούνται τα ίχνη σκόνης χαρτιού από τον περιέκτη του δείγματος.
- Η αποθήκευση και η μεταφορά των δειγμάτων πρέπει να διεξάγονται κατά τρόπο ώστε να διατηρείται η ακεραιότητα του δείγματος του τροφίμου.
- Εφόσον ενδεικνύται, κάθε εργαστηριακό δείγμα αλέθεται και αναμειγνύεται ενδελεχώς με τη χρήση διαδικασίας που έχει αποδειχθεί ότι επιτυγχάνει την πλήρη ομογενοποίηση (π.χ. αλέθεται ώστε να διέρχεται από κόσκινο με διάμετρο σπών 1 mm). Τα δείγματα πρέπει να αποξηραίνονται πριν από την άλεση, αν η περιεκτικότητα σε υγρασία είναι πολύ υψηλή.
- Γενικά είναι σημαντικός ο έλεγχος των αντιδραστηρίων, των αντικειμένων από γυαλί και του εξοπλισμού που ενδέχεται να επηρεάσουν τα αποτελέσματα βάσει των TEQ ή BEQ.
- Πραγματοποιείται τυφλός προσδιορισμός με εκτέλεση ολόκληρης της αναλυτικής διαδικασίας, από την οποία παραλείπεται μόνο το δείγμα.
- Για τις βιοαναλυτικές μεθόδους, είναι πολύ σημαντικό να εξετάζεται αν όλα τα αντικείμενα από γυαλί και οι διαλύτες που χρησιμοποιούνται στην ανάλυση είναι απαλλαγμένα από ενώσεις που επηρεάζουν την ανίχνευση των ενώσεων-στόχων στο εύρος τιμών εργασίας. Τα αντικείμενα από γυαλί πλένονται με διαλύτες και/ή θερμαίνονται σε θερμοκρασίες κατάλληλες για να αφαιρεθούν από την επιφάνειά τους τα ίχνη των PCDD/F, των παρόμοιων με διοξίνες ενώσεων και των παρεμποδιζουσών ουσιών.
- Η ποσότητα του δείγματος που χρησιμοποιείται για την εκχύλιση πρέπει να είναι αρκετή ώστε να πληρούνται οι απαιτήσεις όσον αφορά ένα επαρκώς χαμηλό εύρος τιμών εργασίας συμπεριλαμβανομένων των συγκεντρώσεων μέγιστου επιπέδου ή επιπέδου ανάληψης δράσης.
- Κατά τις ειδικές διαδικασίες προετοιμασίας των δειγμάτων που χρησιμοποιούνται για τα υπό εξέταση προϊόντα τηρούνται οι διεθνώς αποδεκτές κατευθυντήριες γραμμές.
- Στην περίπτωση των ψαριών, πρέπει να αφαιρείται το δέρμα επειδή το μέγιστο επίπεδο ισχύει για τη μυώδη σάρκα χωρίς το δέρμα. Ωστόσο, είναι αναγκαίο όλα τα υπολείμματα μυώδους σάρκας και λιπώδους ιστού που βρίσκονται στην εσωτερική πλευρά του δέρματος να αφαιρούνται προσεκτικά και πλήρως από το δέρμα και να προστίθενται στο δείγμα που θα αναλυθεί.

4. ΑΠΑΙΤΗΣΕΙΣ ΓΙΑ ΤΑ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑ

- Σύμφωνα με τις διατάξεις του κανονισμού (ΕΚ) αριθ. 882/2004, η διαπίστευση των εργαστηρίων γίνεται από αναγνωρισμένο οργανισμό που λειτουργεί σύμφωνα με τον οδηγό ISO 58, ώστε να εξασφαλίζεται ότι τα εργαστήρια εφαρμόζουν μεθόδους διασφάλισης της ποιότητας της ανάλυσης. Η διαπίστευση των εργαστηρίων πραγματοποιείται σύμφωνα με το πρότυπο EN ISO/IEC 17025. Εφαρμόζονται, κατά περίπτωση, οι αρχές που περιγράφονται στις «Τεχνικές κατευθυντήριες γραμμές για την εκτίμηση της αβεβαιότητας μέτρησης και των ορίων ποσοτικού προσδιορισμού των PCDD/F και των PCB ⁽¹⁾».
- Η επάρκεια των εργαστηρίων αποδεικνύεται με συνεχή επιτυχή συμμετοχή σε διεργαστηριακές δοκιμές για τον προσδιορισμό των PCDD/F και των παρόμοιων με διοξίνες PCB σε σχετικές μήτρες τροφίμων και εύρη τιμών συγκέντρωσης.
- Τα εργαστήρια που εφαρμόζουν μεθόδους διαλογής για έλεγχο ρουτίνας των δειγμάτων συνεργάζονται στενά με τα εργαστήρια που εφαρμόζουν την επιβεβαιωτική μέθοδο, τόσο για τον έλεγχο ποιότητας όσο και για την επιβεβαίωση του αναλυτικού αποτελέσματος ύποπτων δειγμάτων.

5. ΒΑΣΙΚΕΣ ΑΠΑΙΤΗΣΕΙΣ ΠΟΥ ΠΡΕΠΕΙ ΝΑ ΤΗΡΕΙ ΜΙΑ ΑΝΑΛΥΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΓΙΑ ΤΙΣ ΔΙΟΞΙΝΕΣ (PCDD/F) ΚΑΙ ΤΑ ΠΑΡΟΜΟΙΑ ΜΕ ΔΙΟΞΙΝΕΣ PCB

5.1. Χαμηλό εύρος τιμών εργασίας και όρια ποσοτικού προσδιορισμού

- Όσον αφορά τις PCDD/F, οι ανιχνεύσιμες ποσότητες πρέπει να είναι στο ανώτερο φάσμα της κλίμακας των φεμτογραμμαρίων (10^{-13} g) εξαιτίας της εξαιρετικής τοξικότητας ορισμένων από τις ενώσεις αυτές. Για τις περισσότερες ομοειδείς ουσίες PCB, ένα όριο ποσοτικού προσδιορισμού στην κλίμακα των νανογραμμαρίων (10^{-9} g) είναι ήδη επαρκές. Ωστόσο, για τη μέτρηση των πιο τοξικών παρόμοιων με διοξίνες ομοειδών ουσιών PCB (ιδίως των μη-ορθο-υποκατεστημένων ομοειδών ουσιών), η κατώτατη τιμή του εύρους τιμών εργασίας πρέπει να φτάνει τα χαμηλά επίπεδα της κλίμακας των πικογραμμαρίων (10^{-12} g).

⁽¹⁾ Έγγραφο καθοδήγησης σχετικά με την αβεβαιότητα μέτρησης για εργαστήρια που διενεργούν ανάλυση PCDD/F και PCB με φασματομετρία μάζας αραίωσης ισotόπων [σύνδεσμος προς ιστοσελίδα], Έγγραφο καθοδήγησης για την εκτίμηση των LOD και LOQ για μετρήσεις στον τομέα των προσμειξών στα τρόφιμα και τις ζωοτροφές [σύνδεσμος προς ιστοσελίδα].

5.2. Υψηλή εκλεκτικότητα (ειδικότητα)

- Οι PCDD/F και τα παρόμοια με διοξίνες PCB πρέπει να διακρίνονται από ένα πλήθος άλλων ενώσεων που συνεκχυλίζονται και πιθανώς παρεμποδίζουν, οι οποίες είναι παρούσες σε συγκεντρώσεις έως και αρκετές τάξεις μεγέθους υψηλότερες από εκείνες των προσδιοριζόμενων ουσιών που ενδιαφέρουν. Για τις μεθόδους αεριοχρωματογραφίας/φασματομετρίας μαζών (GC-MS) είναι αναγκαία η διάκριση μεταξύ των διαφόρων ομοειδών ουσιών, όπως μεταξύ των τοξικών (π.χ. των δεκαεπτά 2,3,7,8-υποκατεστημένων PCDD/F και των δώδεκα παρόμοιων με διοξίνες PCB) και των άλλων ομοειδών ουσιών.
- Οι βιοαναλυτικές μέθοδοι μπορούν να ανιχνεύσουν τις ενώσεις-στόχους, όπως το άθροισμα των PCDD/F και/ή των παρόμοιων με διοξίνες PCB. Ο καθαρισμός των δειγμάτων αποσκοπεί στην απομάκρυνση των ενώσεων που οδηγούν σε ψευδώς μη συμμορφούμενα αποτελέσματα ή που μπορούν να μειώσουν την απόκριση οδηγώντας σε ψευδώς συμμορφούμενα αποτελέσματα.

5.3. Υψηλή ορθότητα (αληθότητα και ακρίβεια, φαινόμενη ανάκτηση βιολογικής δοκιμασίας)

- Για τις μεθόδους GC-MS ο προσδιορισμός παρέχει έγκυρη εκτίμηση της αληθούς συγκέντρωσης σε ένα δείγμα. Υψηλή ορθότητα (ορθότητα της μέτρησης: η εγγύτητα της συμφωνίας μεταξύ του αποτελέσματος της μέτρησης με την αληθή ή αποδοθείσα τιμή του μετρούμενου μεγέθους) είναι αναγκαία για να αποφευχθεί η απόρριψη του αποτελέσματος της ανάλυσης του δείγματος με βάση την κακή αξιοπιστία της εκτίμησης του επιπέδου TEQ. Η ορθότητα εκφράζεται ως αληθότητα (διαφορά μεταξύ της μέσης τιμής που μετρήθηκε για μια προσδιοριζόμενη ουσία σε ένα πιστοποιημένο υλικό και της πιστοποιημένης τιμής της, που εκφράζεται ως ποσοστό της τιμής αυτής) και ως ακρίβεια (RSD_R , σχετική τυπική απόκλιση που υπολογίζεται από τα αποτελέσματα τα οποία προκύπτουν υπό συνθήκες αναπαραγωγιμότητας).
- Για τις βιοαναλυτικές μεθόδους, προσδιορίζεται η φαινόμενη ανάκτηση βιολογικής δοκιμασίας.

5.4. Επικύρωση στο εύρος του μέγιστου επιπέδου και γενικά μέτρα ελέγχου ποιότητας

- Τα εργαστήρια αποδεικνύουν την επίδοση μιας μεθόδου στο εύρος του μέγιστου επιπέδου, π.χ. 0,5, 1 και 2 φορές το μέγιστο επίπεδο με έναν αποδεκτό συντελεστή μεταβλητότητας για επαναλαμβανόμενες αναλύσεις, κατά τη διάρκεια της διαδικασίας επικύρωσης και/ή κατά τη διάρκεια ανάλυσης ρουτίνας.
- Διενεργούνται τακτικά αναλύσεις τυφλών και εμβολιασμένων δειγμάτων ή αναλύσεις δειγμάτων ελέγχου (κατά προτίμηση, εφόσον είναι διαθέσιμο, πιστοποιημένου υλικού αναφοράς) ως μέτρα εσωτερικού ελέγχου ποιότητας. Τα διαγράμματα ελέγχου ποιότητας (ΠΕ) για τυφλά δείγματα, τα πειράματα με εμβολιασμένα δείγματα ή για ανάλυση δειγμάτων ελέγχου πρέπει καταγράφονται και να ελέγχονται ώστε να εξασφαλίζεται ότι η αναλυτική επίδοση είναι σύμφωνη με τις απαιτήσεις.

5.5. Όριο ποσοτικού προσδιορισμού

- Για μια βιοαναλυτική μέθοδο διαλογής, ο καθορισμός του LOQ δεν είναι απαραίτητη προϋπόθεση, αλλά η μέθοδος πρέπει να αποδεικνύει ότι μπορεί να κάνει διάκριση μεταξύ της τυφλής τιμής και της τιμής αποκοπής. Κατά την αναφορά του επιπέδου BEQ καθορίζεται ένα επίπεδο αναφοράς για τη διεκπεραίωση δειγμάτων που εμφανίζουν απόκριση κάτω από αυτό το επίπεδο. Το επίπεδο αναφοράς πρέπει να αποδεικνύεται ότι διαφέρει από εκείνο των τυφλών δειγμάτων τουλάχιστον κατά έναν συντελεστή ίσο με τρία, με απόκριση χαμηλότερη από το εύρος τιμών εργασίας. Επομένως, υπολογίζεται με βάση δείγματα που περιέχουν περίπου το απαιτούμενο ελάχιστο επίπεδο των ενώσεων-στόχων και όχι με βάση έναν λόγο σήματος προς θόρυβο (S/N) ή μια τυφλή δοκιμασία.
- Το όριο ποσοτικού προσδιορισμού (LOQ) για μια επιβεβαιωτική μέθοδο πρέπει να είναι περίπου το ένα πέμπτο του μέγιστου επιπέδου.

5.6. Κριτήρια ανάλυσης

- Για να προκύψουν αξιόπιστα αποτελέσματα από τις επιβεβαιωτικές μεθόδους ή τις μεθόδους διαλογής, πρέπει να ικανοποιούνται τα ακόλουθα κριτήρια στο εύρος του μέγιστου επιπέδου για την τιμή TEQ ή την τιμή BEQ, είτε ως συνολική τιμή TEQ ή συνολική τιμή BEQ (άθροισμα των PCDD/F και των παρόμοιων με διοξίνες PCB) είτε χωριστά για τις PCDD/F και τα παρόμοια με διοξίνες PCB.

	Διαλογή με βιοαναλυτικές ή φυσικοχημικές μεθόδους	Επιβεβαιωτικές μέθοδοι
Ποσοστό ψευδώς συμμορφούμενων αποτελεσμάτων (*)	< 5 %	
Αληθότητα		- 20 % έως + 20 %

	Διαλογή με βιοαναλυτικές ή φυσικοχημικές μεθόδους	Επιβεβαιωτικές μέθοδοι
Επαναληψιμότητα (RSD _r)	< 20 %	
Ενδιάμεση ακρίβεια (RSD _R)	< 25 %	< 15 %

(*) Όσον αφορά τα μέγιστα επίπεδα.

5.7. Ειδικές απαιτήσεις για μεθόδους διαλογής

- Για τη διαλογή μπορούν να χρησιμοποιηθούν τόσο οι μέθοδοι GC-MS όσο και βιοαναλυτικές μέθοδοι. Για τις μεθόδους GC/MS πρέπει να χρησιμοποιηθούν οι απαιτήσεις όπως ορίζονται στο σημείο 6. Για τις κυτταρικές βιοαναλυτικές μεθόδους καθορίζονται ειδικές απαιτήσεις στο σημείο 7.
- Τα εργαστήρια που εφαρμόζουν μεθόδους διαλογής για τον έλεγχο ρουτίνας των δειγμάτων συνεργάζονται στενά με τα εργαστήρια που εφαρμόζουν την επιβεβαιωτική μέθοδο.
- Απαιτείται επαλήθευση της επίδοσης της μεθόδου διαλογής κατά τη διάρκεια της ανάλυσης ρουτίνας, μέσω αναλυτικού ελέγχου ποιότητας και μεθόδου διαρκούς επικύρωσης. Πρέπει να υπάρχει πρόγραμμα συνεχούς ελέγχου των συμμορφούμενων αποτελεσμάτων.
- Έλεγχος για πιθανή καταστολή της κυτταρικής απόκρισης και της κυτταροτοξικότητας.

Το 20 % των εκχυλισμάτων δείγματος υποβάλλονται σε μέτρηση με διαλογή ρουτίνας τόσο χωρίς όσο και με την προσθήκη TCDD σε ποσότητα που αντιστοιχεί στο μέγιστο επίπεδο ή στο επίπεδο ανάλυσης δράσης, για να ελεγχθεί αν η απόκριση καταστέλλεται ενδεχομένως από παρεμποδίζουσες ουσίες που περιέχονται στο εκχύλισμα δείγματος. Η μετρούμενη συγκέντρωση του εμβολιασμένου δείγματος συγκρίνεται με το άθροισμα της συγκέντρωσης του μη εμβολιασμένου εκχυλίσματος με τη συγκέντρωση εμβολιασμού. Αν αυτή η μετρούμενη συγκέντρωση είναι χαμηλότερη της υπολογισμένης (άθροισμα) συγκέντρωσης κατά περισσότερο από 25 %, αυτό αποτελεί ένδειξη πιθανής καταστολής του σήματος και το αντίστοιχο δείγμα πρέπει να υποβληθεί σε ανάλυση επιβεβαίωσης. Τα αποτελέσματα παρακολουθούνται σε διαγράμματα ελέγχου ποιότητας.

- Ποιοτικός έλεγχος σε συμμορφούμενα δείγματα

Περίπου το 2 % έως 10 % των συμμορφούμενων δειγμάτων, ανάλογα με τη μήτρα δείγματος και την εργαστηριακή πείρα, επιβεβαιώνονται.

- Καθορισμός των ποσοστών των ψευδώς συμμορφούμενων αποτελεσμάτων από τα δεδομένα του ελέγχου ποιότητας.

Καθορίζεται το ποσοστό των ψευδώς συμμορφούμενων αποτελεσμάτων από τη διαλογή των δειγμάτων κάτω και άνω από το μέγιστο επίπεδο ή το επίπεδο ανάλυσης δράσης. Τα πραγματικά ποσοστά ψευδώς συμμορφούμενων αποτελεσμάτων πρέπει να είναι μικρότερα από 5 %.

Όταν από τον έλεγχο ποιότητας σε συμμορφούμενα δείγματα προκύπτουν τουλάχιστον 20 επιβεβαιωμένα αποτελέσματα ανά μήτρα/ομάδα μητρών, τα συμπεράσματα για το ποσοστό των ψευδώς συμμορφούμενων προκύπτουν από αυτήν τη βάση δεδομένων. Τα αποτελέσματα από τα δείγματα που αναλύονται με τις διεργαστηριακές δοκιμές ή κατά τα συμβάντα μόλυνσης και τα οποία καλύπτουν εύρος συγκέντρωσης έως π.χ. 2 φορές το μέγιστο επίπεδο (ME) μπορούν να περιληφθούν επίσης στον ελάχιστο αριθμό των 20 αποτελεσμάτων για την αξιολόγηση του ποσοστού των ψευδώς συμμορφούμενων αποτελεσμάτων. Τα δείγματα καλύπτουν τα συχνότερα προφίλ ομοειδών ουσιών και αντιπροσωπεύουν διάφορες πηγές.

Παρότι οι δοκιμασίες διαλογής αποσκοπούν κατά προτίμηση στην ανίχνευση δειγμάτων που υπερβαίνουν το επίπεδο ανάλυσης δράσης, το κριτήριο προσδιορισμού των ποσοστών των ψευδώς συμμορφούμενων είναι το μέγιστο επίπεδο, λαμβανομένης υπόψη της διευρυμένης αβεβαιότητας μέτρησης της επιβεβαιωτικής μεθόδου.

- Ενδεχομένως μη συμμορφούμενα αποτελέσματα από τη διαλογή πρέπει πάντα να επαληθεύονται με πλήρη εκ νέου ανάλυση του αρχικού δείγματος με επιβεβαιωτική μέθοδο. Τα εν λόγω δείγματα μπορούν επίσης να χρησιμοποιούνται για την αξιολόγηση του ποσοστού των ψευδώς μη συμμορφούμενων αποτελεσμάτων. Για τις μεθόδους διαλογής, το ποσοστό των «ψευδώς μη συμμορφούμενων αποτελεσμάτων» είναι το μέρος των αποτελεσμάτων των οποίων η συμμόρφωση επιβεβαιώνεται μέσω της ανάλυσης επιβεβαίωσης, ενώ στην προηγούμενη διαλογή είχε δηλωθεί ότι υπήρχαν υπόνοιες ότι το δείγμα ήταν μη συμμορφούμενο. Ωστόσο, η αξιολόγηση των πλεονεκτημάτων της μεθόδου διαλογής βασίζεται στη σύγκριση των ψευδώς μη συμμορφούμενων δειγμάτων με τον συνολικό αριθμό των δειγμάτων που υποβάλλονται σε έλεγχο. Αυτό το ποσοστό πρέπει να είναι αρκετά χαμηλό για να θεωρείται πλεονεκτική η χρήση της μεθόδου διαλογής.

- Τουλάχιστον υπό συνθήκες επικύρωσης, οι βιοαναλυτικές μέθοδοι παρέχουν έγκυρη ένδειξη του επιπέδου ΤΕQ, υπολογισμένου και εκφρασμένου σε ΒΕQ.
- Επίσης, για τις βιοαναλυτικές μεθόδους που εφαρμόζονται υπό συνθήκες επαναληψιμότητας, η ενδοεργαστηριακή RSD_r είναι κατά κανόνα μικρότερη από την RSD_r αναπαραγωγιμότητας.

6. ΕΙΔΙΚΕΣ ΑΠΑΙΤΗΣΕΙΣ ΓΙΑ ΜΕΘΟΔΟΥΣ GC-MS ΠΟΥ ΠΡΕΠΕΙ ΝΑ ΑΚΟΛΟΥΘΟΥΝΤΑΙ ΓΙΑ ΣΚΟΠΟΥΣ ΔΙΑΛΟΓΗΣ Ή ΕΠΙΒΕΒΑΙΩΣΗΣ

6.1. Αποδεκτές διαφορές μεταξύ επιπέδων WHO-TEQ ανώτερου και κατώτερου ορίου

- Η διαφορά μεταξύ ανώτερου και κατώτερου ορίου δεν θα πρέπει να υπερβαίνει το 20 % για την επαλήθευση της υπέρβασης του μέγιστου επιπέδου ή, σε περίπτωση ανάγκης, του επιπέδου ανάληψης δράσης.

6.2. Έλεγχος ανακτήσεων

- Η προσθήκη των εσωτερικών προτύπων PCDD/F υποκατεστημένων από χλώριο στις θέσεις 2,3,7,8 με ισοτοπική επισήμανση ¹³C και των εσωτερικών προτύπων των παρόμοιων με διοξίνες PCB με ισοτοπική επισήμανση ¹³C πρέπει να πραγματοποιηθεί πολύ νωρίς, στην αρχή της αναλυτικής μεθόδου, δηλαδή πριν από την εκχύλιση, προκειμένου να επικυρωθεί η αναλυτική διαδικασία. Πρέπει να προστεθεί τουλάχιστον μία ομοειδής ουσία για καθεμία από τις ομόλογες ομάδες των τετρα- έως οκτα-χλωριωμένων ομόλογων ομάδων PCDD/F και τουλάχιστον μία ομοειδής ουσία για καθεμία από τις ομόλογες ομάδες των παρόμοιων με διοξίνες PCB (εναλλακτικά, τουλάχιστον μία ομοειδής ουσία για κάθε φασματομετρικά επιλεγμένη λειτουργία καταγραφής ιόντων που χρησιμοποιείται για τον έλεγχο των PCDD/F και των παρόμοιων με διοξίνες PCB). Στην περίπτωση των μεθόδων επιβεβαίωσης, χρησιμοποιούνται και τα 17 εσωτερικά πρότυπα PCDD/F υποκατεστημένα στις θέσεις 2,3,7,8 με ισοτοπική επισήμανση ¹³C και τα 12 εσωτερικά πρότυπα των παρόμοιων με διοξίνες PCB με ισοτοπική επισήμανση ¹³C.
- Πρέπει επίσης να προσδιοριστούν οι σχετικοί συντελεστές απόκρισης για τις ομοειδείς ουσίες για τις οποίες δεν προστίθεται κανένα ανάλογο με ισοτοπική επισήμανση ¹³C με τη χρησιμοποίηση των κατάλληλων διαλυμάτων βαθμονόμησης.
- Για τα τρόφιμα φυτικής προέλευσης και τα τρόφιμα ζωικής προέλευσης που περιέχουν λιγότερο από 10 % λίπος, η προσθήκη των εσωτερικών προτύπων είναι υποχρεωτική πριν από την εκχύλιση. Για τα τρόφιμα ζωικής προέλευσης που περιέχουν περισσότερο από 10 % λίπος, τα εσωτερικά πρότυπα μπορούν να προστεθούν είτε πριν από την εκχύλιση είτε μετά την εκχύλιση του λίπους. Πραγματοποιείται κατάλληλη επικύρωση της απόδοσης της εκχύλισης, ανάλογα με το στάδιο στο οποίο εισάγονται τα εσωτερικά πρότυπα και με το αν τα αποτελέσματα αναφέρονται με βάση το προϊόν ή το λίπος.
- Πριν από την ανάλυση GC-MS, πρέπει να προστεθούν 1 ή 2 πρότυπο-α ανάκτησης (υποκατάστατο).
- Ο έλεγχος της ανάκτησης είναι αναγκαίος. Για τις επιβεβαιωτικές μεθόδους, οι ανακτήσεις των μεμονωμένων εσωτερικών προτύπων πρέπει να κυμαίνονται από 60 % έως 120 %. Χαμηλότερες ή υψηλότερες ανακτήσεις για μεμονωμένες ομοειδείς ουσίες, ιδίως ορισμένες επτα- και οκτα-χλωριωμένες διβενζο-p-διοξίνες και διβενζο-φουράνια, είναι αποδεκτές υπό τον όρο ότι η συμβολή τους στην τιμή ΤΕQ δεν υπερβαίνει το 10 % της συνολικής τιμής ΤΕQ (με βάση το άθροισμα των PCDD/F και των παρόμοιων με διοξίνες PCB). Για τις μεθόδους διαλογής GC-MS οι ανακτήσεις πρέπει να κυμαίνονται από 30 έως 140 %.

6.3. Απομάκρυνση παρεμποδίζουσών ουσιών

- Πραγματοποιείται διαχωρισμός των PCDD/F από τις παρεμποδίζουσες χλωριωμένες ενώσεις, όπως τα μη παρόμοια με διοξίνες PCB και οι χλωριωμένοι διφαινυλικοί αιθέρες, μέσω κατάλληλων χρωματογραφικών τεχνικών (κατά προτίμηση με στήλη florisil, αλουμίνας και/ή άνθρακα).
- Ο διαχωρισμός των ισομερών με αεριοχρωματογραφία είναι επαρκής (< 25 % κορυφή με κορυφή μεταξύ 1,2,3,4,7,8-HxCDF και 1,2,3,6,7,8-HxCDF).

6.4. Βαθμονόμηση με πρότυπη καμπύλη

- Το εύρος τιμών της καμπύλης βαθμονόμησης πρέπει να καλύπτει το σχετικό εύρος τιμών των μέγιστων επιπέδων ή των επιπέδων ανάληψης δράσης.

6.5. Ειδικά κριτήρια για τις επιβεβαιωτικές μεθόδους

- Για GC-HRMS:

Στη μέθοδο HRMS, η διακριτική ικανότητα πρέπει τυπικά να είναι ίση ή μεγαλύτερη των 10 000 για ολόκληρο το εύρος τιμών μάζας στο 10 % του ύψους των κορυφών.

Εκ πλήρωσης περαιτέρω κριτηρίων ταυτοποίησης και επιβεβαίωσης όπως περιγράφεται σε διεθνώς αναγνωρισμένα πρότυπα, για παράδειγμα στο πρότυπο EN 16215:2012 (Ζωοτροφές — Προσδιορισμός των διοξινών και των παρόμοιων με τις διοξίνες PCB με την τεχνική GC/HRMS και των δεικτών PCB με την τεχνική GC/HRMS) και/ή στις μεθόδους EPA 1613 και 1668 όπως αναθεωρήθηκαν.

— Για GC-MS/MS:

Έλεγχος τουλάχιστον 2 ειδικών μητρικών ιόντων, καθένα με ένα συγκεκριμένο αντίστοιχο θυγατρικό ιόν μετάπτωσης για όλες τις επισημασμένες και μη επισημασμένες προσδιοριζόμενες ουσίες στο πεδίο εφαρμογής της ανάλυσης.

Μέγιστη επιτρεπόμενη τιμή ανοχής των σχετικών εντάσεων ιόντων $\pm 15 \%$ για επιλεγμένα θυγατρικά ιόντα μετάπτωσης σε σύγκριση με υπολογισμένες ή μετρημένες τιμές (μέσος όρος από πρότυπα βαθμονόμησης), με την εφαρμογή ιδίων συνθηκών MS/MS, ιδίως την ενέργεια σύγκρουσης και την πίεση αερίου σύγκρουσης, για κάθε μετάπτωση μιας προσδιοριζόμενης ουσίας.

Η διακριτική ικανότητα για κάθε τετράπολο θα οριστεί ως ίση ή ανώτερη της διακριτικής ικανότητας μάζας μονάδας (διακριτική ικανότητα μάζας μονάδας: επαρκής διακριτική ικανότητα για τον διαχωρισμό δύο κορυφών που απέχουν μία μονάδα μάζας) για την ελαχιστοποίηση πιθανών παρεμβολών στις προσδιοριζόμενες ουσίες που ενδιαφέρουν.

Εκ πλήρωσης περαιτέρω κριτηρίων όπως περιγράφονται σε διεθνώς αναγνωρισμένα πρότυπα, για παράδειγμα στο πρότυπο EN 16215:2012 (Ζωοτροφές — Προσδιορισμός των διοξινών και των παρόμοιων με τις διοξίνες PCB με την τεχνική GC/HRMS και των δεικτών PCB με την τεχνική GC/HRMS) και/ή στις μεθόδους EPA 1613 και 1668 όπως αναθεωρήθηκαν, με εξαίρεση την υποχρέωση για χρήση GC-HRMS.

7. ΕΙΔΙΚΕΣ ΑΠΑΙΤΗΣΕΙΣ ΓΙΑ ΤΙΣ ΒΙΟΑΝΑΛΥΤΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΥΣ

Οι βιοαναλυτικές μέθοδοι είναι μέθοδοι που βασίζονται στη χρήση βιολογικών αρχών, όπως οι κυτταρικές δοκιμασίες, οι δοκιμασίες με υποδοχείς ή οι ανοσολογικές δοκιμασίες. Το παρόν σημείο καθορίζει τις απαιτήσεις για τις βιοαναλυτικές μεθόδους γενικά.

Κατ' αρχήν, μια μέθοδος διαλογής ταξινομεί ένα δείγμα ως συμμορφούμενο ή πιθανώς μη συμμορφούμενο. Για τον σκοπό αυτό, το υπολογιζόμενο επίπεδο BEQ συγκρίνεται με την τιμή αποκοπής (βλέπε σημείο 7.3). Τα δείγματα κάτω από την τιμή αποκοπής δηλώνονται ως συμμορφούμενα, ενώ τα δείγματα που βρίσκονται στην τιμή αποκοπής ή πάνω από αυτήν υπάρχουν υπόνοιες ότι είναι μη συμμορφούμενα, συνεπώς χρειάζονται ανάλυση με επιβεβαιωτική μέθοδο. Στην πράξη, ένα επίπεδο BEQ που αντιστοιχεί στα 2/3 του μέγιστου επιπέδου μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως τιμή αποκοπής υπό τον όρο ότι εξασφαλίζονται ποσοστό ψευδώς συμμορφούμενων αποτελεσμάτων κάτω από 5 % και αποδεκτό ποσοστό ψευδώς μη συμμορφούμενων αποτελεσμάτων. Με χωριστά μέγιστα επίπεδα για PCDD/F και για το άθροισμα των PCDD/F και των παρόμοιων με διοξίνες PCB, ο έλεγχος της συμμόρφωσης των δειγμάτων χωρίς κλασμάτωση απαιτεί κατάλληλες τιμές αποκοπής για τη βιολογική δοκιμασία για τις PCDD/F. Για τον έλεγχο των δειγμάτων που υπερβαίνουν τα επίπεδα ανάληψης δράσης, η τιμή αποκοπής μπορεί να είναι ένα κατάλληλο ποσοστό του αντίστοιχου επιπέδου ανάληψης δράσης.

Εάν ένα ενδεικτικό επίπεδο εκφράζεται σε BEQ, τα αποτελέσματα από το δείγμα πρέπει να αναφέρονται στο εύρος τιμών εργασίας και να υπερβαίνουν το όριο αναφοράς (βλέπε σημεία 7.1.1 και 7.1.6).

7.1. Αξιολόγηση της απόκρισης στη δοκιμή

7.1.1. Γενικές απαιτήσεις

— Κατά τον υπολογισμό των συγκεντρώσεων σε μια καμπύλη βαθμονόμησης TCDD, οι τιμές στο ανώτατο άκρο της καμπύλης θα δείχνουν σημαντική διαφορά [υψηλός συντελεστής μεταβλητότητας (CV)]. Το εύρος τιμών εργασίας είναι η περιοχή στην οποία αυτός ο CV είναι μικρότερος από 15 %. Το χαμηλότερο άκρο του εύρους τιμών εργασίας (όριο αναφοράς) πρέπει επίσης να είναι σημαντικά πάνω (τουλάχιστον τρεις φορές) από τα τυφλά δείγματα της διαδικασίας. Το υψηλότερο άκρο του εύρους εργασίας αντιπροσωπεύεται συνήθως από την τιμή EC₇₀ (70 % της μέγιστης αποτελεσματικής συγκέντρωσης), αλλά είναι σε χαμηλότερο επίπεδο αν ο CV είναι υψηλότερος από 15 % σε αυτό το εύρος τιμών. Το εύρος τιμών εργασίας καθορίζεται κατά την επικύρωση. Οι τιμές αποκοπής (βλέπε σημείο 7.3) πρέπει να βρίσκεται εντός του εύρους τιμών εργασίας.

— Τα πρότυπα διαλύματα και τα εκχυλίσματα δειγμάτων υποβάλλονται σε τρεις ή τουλάχιστον σε δύο δοκιμασίες. Όταν χρησιμοποιείται δοκιμή εις διπλούν, ένα πρότυπο διάλυμα ή ένα εκχύλισμα-μάρτυρας σε τέσσερα έως έξι φρεάτια κατανεμημένα σε όλη την πλάκα, πρέπει να προκαλεί απόκριση ή συγκέντρωση (δυνατό μόνο στο εύρος τιμών εργασίας) με βάση CV < 15 %.

7.1.2. Βαθμονόμηση

7.1.2.1. Βαθμονόμηση με πρότυπη καμπύλη

- Τα επίπεδα στα δείγματα μπορούν να εκτιμηθούν συγκρίνοντας την απόκριση της δοκιμής με μια καμπύλη βαθμονόμησης της TCDD (ή του PCB 126 ή ενός τυποποιημένου μείγματος PCDD/F/παρόμοιου με διοξίνες PCB) για τον υπολογισμό του επιπέδου BEQ στο εκχύλισμα και κατόπιν στο δείγμα.
- Οι καμπύλες βαθμονόμησης περιέχουν οκτώ έως 12 συγκεντρώσεις (τουλάχιστον εις διπλούν), με επαρκή αριθμό συγκεντρώσεων στο χαμηλότερο τμήμα της καμπύλης (εύρος εργασίας). Αποδίδεται ιδιαίτερη προσοχή στην ποιότητα της προσαρμογής της καμπύλης στο εύρος τιμών εργασίας. Συνεπώς, οι τιμές R² ως τέτοιες έχουν μικρή ή καμία αξία για την εκτίμηση της καταλληλότητας της προσαρμογής σε μη γραμμική παλινδρόμηση. Καλύτερη προσαρμογή επιτυγχάνεται με την ελαχιστοποίηση της διαφοράς μεταξύ των υπολογιζόμενων και των παρατηρούμενων επιπέδων στο εύρος τιμών εργασίας της καμπύλης (π.χ. με την ελαχιστοποίηση του αθροίσματος των τετραγώνων των καταλοίπων).
- Στη συνέχεια, το επίπεδο που υπολογίστηκε στο εκχύλισμα δείγματος διορθώνεται για το επίπεδο BEQ που προκύπτει από ένα τυφλό δείγμα μήτρας/διαλύτη (για να ληφθούν υπόψη οι προσμειξεις από διαλύτες και χημικά που χρησιμοποιήθηκαν) και για τη φαινόμενη ανάκτηση (που υπολογίζεται από το επίπεδο BEQ κατάλληλων δειγμάτων αναφοράς με αντιπροσωπευτικά δείγματα ομοειδών ουσιών περίπου στο μέγιστο επίπεδο ή στο επίπεδο ανάληψης δράσης). Για να γίνει μια διόρθωση ανάκτησης, η φαινόμενη ανάκτηση πρέπει να είναι πάντα εντός του απαιτούμενου εύρους τιμών (βλέπε σημείο 7.1.4.). Τα δείγματα αναφοράς που χρησιμοποιούνται για τη διόρθωση ανάκτησης πρέπει να πληρούν τις απαιτήσεις του σημείου 7.2.

7.1.2.2. Βαθμονόμηση με δείγματα αναφοράς

Εναλλακτικά, μπορεί να χρησιμοποιηθεί μια καμπύλη βαθμονόμησης προετοιμασμένη από τουλάχιστον 4 δείγματα αναφοράς (βλέπε σημείο 7.2: ένα τυφλό δείγμα μήτρας, συν τρία δείγματα αναφοράς σε 0,5 ×, 1,0 × και 2,0 × φορές το μέγιστο επίπεδο ή το επίπεδο ανάληψης δράσης, εξαιλώντας την ανάγκη για διόρθωση ως προς το τυφλό και την ανάκτηση αν οι ιδιότητες της μήτρας των δειγμάτων αναφοράς αντιστοιχούν σε αυτές των άγνωστων δειγμάτων. Στην περίπτωση αυτή η απόκριση της δοκιμής που αντιστοιχεί στα 2/3 του μέγιστου επιπέδου (βλέπε σημείο 7.3) μπορεί να υπολογιστεί άμεσα από τα δείγματα αυτά και να χρησιμοποιηθεί ως τιμή αποκοπής. Για τον έλεγχο των δειγμάτων που υπερβαίνουν τα επίπεδα ανάληψης δράσης, η τιμή αποκοπής μπορεί να είναι ένα κατάλληλο ποσοστό αυτών των επιπέδων ανάληψης δράσης.

7.1.3. Ξεχωριστός προσδιορισμός των PCDD/F και των παρόμοιων με διοξίνες PCB

Τα εκχυλίσματα μπορούν να διαχωριστούν σε κλάσματα που περιέχουν PCDD/F και παρόμοια με διοξίνες PCB, έτσι ώστε να αναφέρονται χωριστά τα επίπεδα TEQ των PCDD/F και των παρόμοιων με διοξίνες PCB (σε BEQ). Η πρότυπη καμπύλη βαθμονόμησης του PCB 126 χρησιμοποιείται κατά προτίμηση για την αξιολόγηση των αποτελεσμάτων για το κλάσμα που περιέχει τα παρόμοια με διοξίνες PCB.

7.1.4. Φαινόμενες ανακτήσεις βιολογικής δοκιμασίας

Η «φαινόμενη ανάκτηση βιολογικής δοκιμασίας» υπολογίζεται από κατάλληλα δείγματα αναφοράς με αντιπροσωπευτικά προφίλ ισομερών περίπου στο μέγιστο επίπεδο ή στο επίπεδο ανάληψης δράσης και εκφράζεται ως ποσοστό του επιπέδου BEQ σε σύγκριση με το επίπεδο TEQ. Ανάλογα με τον τύπο της δοκιμασίας και των TEF⁽¹⁾ που χρησιμοποιούνται, οι διαφορές μεταξύ των συντελεστών TEF και REP για τα παρόμοια με διοξίνες PCB μπορούν να προκαλέσουν χαμηλές φαινόμενες ανακτήσεις για τα παρόμοια με διοξίνες PCB σε σύγκριση με τις PCDD/F. Επομένως, σε περίπτωση ξεχωριστού προσδιορισμού των PCDD/F και των παρόμοιων με διοξίνες PCB, οι ανακτήσεις βιολογικής δοκιμασίας πρέπει να είναι: για τα παρόμοια με διοξίνες PCB 20 % έως 60 %, για τις PCDD/F 50 % έως 130 % (τα πεδία τιμών ισχύουν για την καμπύλη βαθμονόμησης της TCDD). Επειδή η συμβολή των παρόμοιων με διοξίνες PCB στο άθροισμα των PCDD/F και των παρόμοιων με διοξίνες PCB μπορεί να είναι διαφορετική μεταξύ διαφορετικών μητρών και δειγμάτων, οι φαινόμενες ανακτήσεις βιολογικής δοκιμασίας πρέπει να είναι από 30 % έως 130 %.

7.1.5. Έλεγχος ανακτήσεων για καθαρισμό

Κατά την επικύρωση ελέγχεται η απώλεια ενώσεων κατά τη διάρκεια του καθαρισμού. Ένα τυφλό δείγμα εμβολιασμένο με μείγμα των διαφόρων ομοειδών ουσιών υποβάλλεται σε καθαρισμό (n = 3 τουλάχιστον), και η ανάκτηση και η μεταβλητότητα ελέγχονται με μια μέθοδο επιβεβαίωσης. Η ανάκτηση είναι από 60 % έως 120 %, ιδίως για ομοειδείς ουσίες που συμβάλλουν πάνω από 10 % στο επίπεδο TEQ σε διάφορα μείγματα.

(¹) Οι τρέχουσες απαιτήσεις βασίζονται στους TEF που δημοσιεύτηκαν στο έγγραφο: M. Van den Berg et al, Toxicol Sci 93 (2), 223-241 (2006).

7.1.6. Όριο αναφοράς

Κατά την αναφορά του επιπέδου BEQ, πρέπει να καθορίζεται ένα όριο αναφοράς από σχετικά δείγματα μήτρας που περιέχουν τυπικά προφίλ ομοειδών ουσιών, αλλά όχι από την καμπύλη βαθμονόμησης των προτύπων εξαιτίας της χαμηλής ακρίβειας στο κατώτερο εύρος τιμών της καμπύλης. Οι επιδράσεις από την εκχύλιση και τον καθαρισμό πρέπει να λαμβάνονται υπόψη. Το όριο αναφοράς πρέπει να οριστεί σημαντικά (τουλάχιστον 3 φορές) πάνω από το τυφλό δείγμα της διαδικασίας.

7.2. Χρήση δειγμάτων αναφοράς

- Τα δείγματα αναφοράς αντιπροσωπεύουν τη μήτρα του δείγματος, τα προφίλ ομοειδών ουσιών και τα εύρη τιμών συγκέντρωσης για τις PCDD/F και τα παρόμοια με διοξίνες PCB περίπου στο μέγιστο επίπεδο ή στο επίπεδο ανάληψης δράσης.
- Μια τυφλή διαδικασία, ή κατά προτίμηση μια τυφλή μήτρα, και ένα δείγμα αναφοράς στο μέγιστο επίπεδο ή στο επίπεδο ανάληψης δράσης πρέπει να περιλαμβάνονται σε κάθε σειρά δοκιμών. Αυτά τα δείγματα πρέπει να υποβάλλονται σε εκχύλιση και σε δοκιμασία ταυτόχρονα υπό τις ίδιες συνθήκες. Το δείγμα αναφοράς πρέπει να παρουσιάζει σαφώς υψηλότερη απόκριση σε σύγκριση με το τυφλό δείγμα, εξασφαλίζοντας έτσι την καταλληλότητα της δοκιμής. Τα εν λόγω δείγματα μπορούν να χρησιμοποιούνται για διόρθωση ως προς το τυφλό και την ανάκτηση.
- Τα δείγματα αναφοράς που επιλέγονται για να γίνει μια διόρθωση ανάκτησης είναι αντιπροσωπευτικά για τα δείγματα της δοκιμής, δηλαδή τα προφίλ των ομοειδών ουσιών δεν οδηγούν σε υποτίμηση των επιπέδων.
- Μπορούν να συμπεριλαμβάνονται επιπλέον δείγματα αναφοράς με συγκέντρωση π.χ. 0,5 και 2 φορές το μέγιστο επίπεδο ή το επίπεδο ανάληψης δράσης, ώστε να αποδεικνύεται η κατάλληλη επίδοση της δοκιμής στο εύρος τιμών που ενδιαφέρει για τον έλεγχο του μέγιστου επιπέδου ή του επιπέδου ανάληψης δράσης. Αυτά τα δείγματα, συνδυασμένα, μπορούν να χρησιμοποιούνται για τον υπολογισμό των επιπέδων BEQ στα δείγματα δοκιμών (βλέπε σημείο 7.1.2.2).

7.3. Καθορισμός των τιμών αποκοπής

Η σχέση μεταξύ των βιοαναλυτικών αποτελεσμάτων σε BEQ και των αποτελεσμάτων από τις επιβεβαιωτικές μεθόδους σε TEQ καθορίζεται [π.χ. με πειράματα βαθμονόμησης συμβατής για τη μήτρα, περιλαμβάνοντας δείγματα αναφοράς εμβολιασμένα με 0, 0,5, 1 και 2 φορές το μέγιστο επίπεδο (ME), με 6 επαναλήψεις για κάθε επίπεδο ($n = 24$)]. Οι διορθωτικοί συντελεστές (ως προς το τυφλό και την ανάκτηση) μπορούν να εκτιμηθούν από αυτήν τη σχέση αλλά ελέγχονται σε κάθε σειρά δοκιμών συμπεριλαμβάνοντας τυφλές διαδικασίες/μήτρες και δείγματα ανάκτησης (βλέπε σημείο 7.2).

Οι τιμές αποκοπής καθορίζονται για να αποφασιστεί αν ένα δείγμα ανταποκρίνεται στα μέγιστα επίπεδα ή για τον έλεγχο των επιπέδων ανάληψης δράσης, αν εφαρμόζονται, με τα αντίστοιχα μέγιστα επίπεδα ή επίπεδα ανάληψης δράσης που έχουν οριστεί είτε μόνο για τις PCDD/F και τα παρόμοια με διοξίνες PCB, είτε για το άθροισμα των PCDD/F και των παρόμοιων με διοξίνες PCB. Αντιπροσωπεύονται από το κατώτερο άκρο της κατανομής των βιοαναλυτικών αποτελεσμάτων (διορθωμένων ως προς το τυφλό και την ανάκτηση) το οποίο αντιστοιχεί στο όριο απόφασης της επιβεβαιωτικής μεθόδου με επίπεδο εμπιστοσύνης 95 %, δηλαδή με ποσοστό ψευδώς συμμορφούμενων αποτελεσμάτων < 5 % και $RSD_R < 25$ %. Το όριο απόφασης της επιβεβαιωτικής μεθόδου είναι το μέγιστο επίπεδο, λαμβανομένης υπόψη της διευρυμένης αβεβαιότητας μέτρησης.

Στην πράξη, η τιμή αποκοπής (σε BEQ) μπορεί να υπολογιστεί με τις ακόλουθες προσεγγίσεις (βλέπε σχήμα 1):

7.3.1. Χρήση της χαμηλότερης περιοχής του διαστήματος πρόβλεψης 95 % στο όριο απόφασης της επιβεβαιωτικής μεθόδου

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

όπου:

BEQ_{DL} το BEQ που αντιστοιχεί στο όριο απόφασης της επιβεβαιωτικής μεθόδου και είναι το ME λαμβανομένης υπόψη της διευρυμένης αβεβαιότητας μέτρησης

$s_{y,x}$ υπολειπόμενη τυπική απόκλιση

$t_{\alpha, f = m - 2}$ ο συντελεστής Student ($\alpha = 5$ %, $f =$ βαθμοί ελευθερίας, μόνο μία πλευρά)

m συνολικός αριθμός σημείων βαθμονόμησης (δείκτης j)

n αριθμός επαναλήψεων σε κάθε επίπεδο

x_i συγκέντρωση δειγματος (σε TEQ) του σημείου βαθμονόμησης i όπως προσδιορίζεται από επιβεβαιωτική μέθοδο

\bar{x} μέση τιμή συγκεντρώσεων (σε TEQ) όλων των δειγμάτων βαθμονόμησης

$$Q_{xx} = \sum_{j=1}^m (x_j - \bar{x})^2 \text{ παράμετρος του αθροίσματος των τετραγώνων}$$

i = δείκτης του σημείου βαθμονόμησης i

- 7.3.2. Υπολογισμός από βιοαναλυτικά αποτελέσματα (διορθωμένα ως προς το τυφλό και την ανάκτηση) πολλαπλών ($n \geq 6$) αναλύσεων δειγμάτων επιμολυσμένων στο όριο απόφασης της επιβεβαιωτικής μεθόδου, ως το κατώτερο άκρο της κατανομής των δεδομένων στην αντίστοιχη μέση τιμή BEQ:

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

όπου:

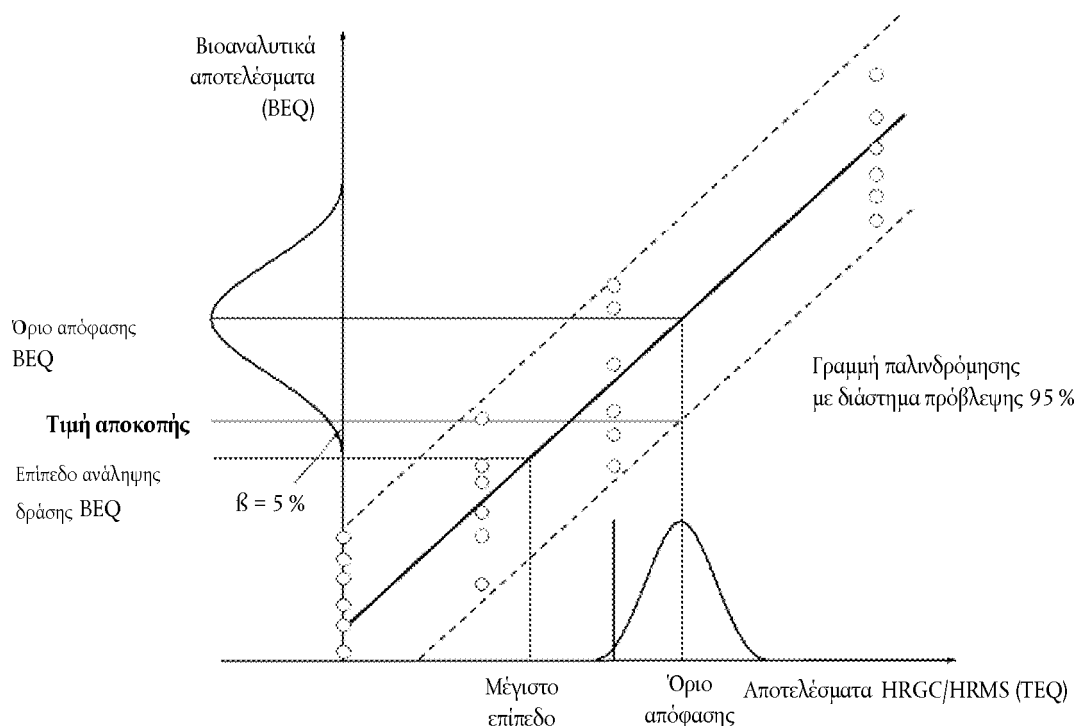
SD_R τυπική απόκλιση των αποτελεσμάτων βιολογικής δοκιμασίας στο BEQ_{DL} , μετρούμενη υπό συνθήκες ενδοεργαστηριακής αναπαραγωγιμότητας

- 7.3.3. Υπολογισμός ως μέση τιμή των βιοαναλυτικών αποτελεσμάτων (σε BEQ, που διορθώνονται ως προς το τυφλό και την ανάκτηση) πολλαπλών ($n \geq 6$) αναλύσεων δειγμάτων επιμολυσμένων στα 2/3 του μέγιστου επιπέδου ή του επιπέδου ανάληψης δράσης. Αυτή η διαδικασία βασίζεται στην παρατήρηση ότι αυτό το επίπεδο θα είναι περίπου η τιμή αποκοπής που καθορίζεται στο σημείο 7.3.1 ή 7.3.2.

Υπολογισμός των τιμών αποκοπής με βάση επίπεδο εμπιστοσύνης 95 %, δηλαδή με ποσοστό ψευδώς συμμορφούμενων < 5 % και $\text{RSD}_R < 25$ %:

1. από τη χαμηλότερη περιοχή του διαστήματος πρόβλεψης 95 % στο όριο απόφασης της επιβεβαιωτικής μεθόδου,
2. από πολλαπλές ($n \geq 6$) αναλύσεις δειγμάτων επιμολυσμένων στο όριο απόφασης της επιβεβαιωτικής μεθόδου ως του κατώτερου άκρου της κατανομής δεδομένων (που παριστάνεται στο σχήμα με κωδωνοειδή καμπύλη) στην αντίστοιχη μέση τιμή BEQ.

Εικόνα 1



7.3.4. Περιορισμοί στις τιμές αποκοπής

Οι τιμές αποκοπής βάσει των BEQ που υπολογίζονται από την RSD_R η οποία επιτυγχάνεται κατά την επικύρωση με τη χρήση περιορισμένου αριθμού δειγμάτων με διαφορετικά προφίλ μήτρας/ομοειδών ουσιών μπορεί να είναι υψηλότερες από τα μέγιστα επίπεδα ή τα επίπεδα ανάληψης δράσης βάσει των TEQ, λόγω μεγαλύτερης ακρίβειας από εκείνη που επιτυγχάνεται στις αναλύσεις ρουτίνας όταν πρέπει να ελεγχθεί ένα άγνωστο φάσμα πιθανών προφίλ ομοειδών ουσιών. Σε αυτές τις περιπτώσεις οι τιμές αποκοπής υπολογίζονται από μια $RSD_R = 25\%$ ή προτιμώνται τα δύο τρίτα του μέγιστου επιπέδου ή του επιπέδου ανάληψης δράσης.

7.4. Χαρακτηριστικά επίδοσης

- Καθώς δεν μπορούν να χρησιμοποιηθούν εσωτερικά πρότυπα σε βιοαναλυτικές μεθόδους, πραγματοποιούνται δοκιμές επαναληψιμότητας προκειμένου να αντληθούν πληροφορίες σχετικά με την τυπική απόκλιση στο πλαίσιο μιας σειράς δοκιμών και μεταξύ σειρών δοκιμών. Η επαναληψιμότητα πρέπει να είναι κάτω από 20 % και η διεργαστηριακή αναπαραγωγιμότητα κάτω από 25 %. Αυτό βασίζεται στα υπολογιζόμενα επίπεδα σε BEQ μετά τη διόρθωση ως προς το τυφλό και την ανάκτηση.
- Στο πλαίσιο της διαδικασίας επικύρωσης, πρέπει να αποδεικνύεται ότι η δοκιμή μπορεί να κάνει διάκριση μεταξύ ενός τυφλού δείγματος και ενός επιπέδου ίσου με την τιμή αποκοπής, επιτρέποντας έτσι την ταυτοποίηση των δειγμάτων που υπερβαίνουν την αντίστοιχη τιμή αποκοπής (βλέπε σημείο 7.1.2).
- Καθορίζονται οι στοχευόμενες ενώσεις, οι πιθανές παρεμποδίσεις και τα μέγιστα ανεκτά επίπεδα τυφλού.
- Η ποσοστιαία τυπική απόκλιση στην απόκριση ή τη συγκέντρωση που υπολογίζεται με βάση την απόκριση (είναι δυνατή μόνο στο εύρος τιμών εργασίας) σε έναν τριπλό προσδιορισμό ενός εκχυλίσματος δείγματος δεν πρέπει να είναι άνω του 15 %.
- Τα μη διορθωμένα αποτελέσματα των δειγμάτων αναφοράς εκφρασμένα σε BEQ (τυφλό και στο μέγιστο επίπεδο ή στο επίπεδο ανάληψης δράσης) χρησιμοποιούνται για την αξιολόγηση της επίδοσης της βιοαναλυτικής μεθόδου για μια σταθερή χρονική περίοδο.
- Τα διαγράμματα ελέγχου ποιότητας (ΕΠ) για τις τυφλές διαδικασίες και κάθε είδος δείγματος αναφοράς καταγράφονται και ελέγχονται ώστε να εξασφαλίζεται ότι η αναλυτική επίδοση είναι σύμφωνη με τις απαιτήσεις, ιδίως για τις τυφλές διαδικασίες ως προς την απαιτούμενη ελάχιστη διαφορά στο κατώτερο άκρο του εύρους τιμών εργασίας και για τα δείγματα αναφοράς ως προς την ενδοεργαστηριακή αναπαραγωγιμότητα. Οι τυφλές διαδικασίες πρέπει να ελέγχονται καλά προκειμένου να αποφεύγονται τα ψευδώς συμμορφούμενα αποτελέσματα σε περίπτωση αφαίρεσής τους.
- Τα αποτελέσματα των επιβεβαιωτικών μεθόδων των δειγμάτων για τα οποία υπάρχουν υπόνοιες ότι δεν συμμορφώνονται και 2 % έως 10 % των συμμορφούμενων δειγμάτων (τουλάχιστον 20 δείγματα ανά μήτρα) πρέπει να συλλέγονται και να χρησιμοποιούνται για την αξιολόγηση της επίδοσης της μεθόδου διαλογής και της σχέσης μεταξύ BEQ και TEQ. Αυτή η βάση δεδομένων μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την εκ νέου αξιολόγηση των τιμών αποκοπής που ισχύουν για τα δείγματα ρουτίνας για τις επικυρωμένες μήτρες.
- Η επιτυχής επίδοση μιας μεθόδου μπορεί επίσης να αποδειχθεί με τη συμμετοχή σε διεργαστηριακές δοκιμές. Τα αποτελέσματα από τα δείγματα που αναλύονται σε διεργαστηριακές δοκιμές και καλύπτουν εύρος συγκέντρωσης πάνω από, π.χ., 2 φορές το ΜΕ μπορούν να περιληφθούν επίσης στην αξιολόγηση του ποσοστού των ψευδώς συμμορφούμενων, εφόσον ένα εργαστήριο είναι σε θέση να αποδείξει επιτυχή επίδοση. Τα δείγματα καλύπτουν τα συχνότερα προφίλ ομοειδών ουσιών και αντιπροσωπεύουν διάφορες πηγές.
- Κατά τη διάρκεια των περιστατικών οι τιμές αποκοπής μπορούν να αξιολογηθούν εκ νέου, ώστε να αντιπροσωπεύουν καλύτερο τα συγκεκριμένα προφίλ μήτρας και ομοειδών ουσιών του μεμονωμένου περιστατικού.

8. ΑΝΑΦΟΡΑ ΤΟΥ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΟΣ

Επιβεβαιωτικές μέθοδοι

- Εφόσον η χρησιμοποιούμενη διαδικασία ανάλυσης το επιτρέπει, τα αποτελέσματα της ανάλυσης περιέχουν τα επίπεδα των μεμονωμένων ομοειδών ουσιών των PCDD/F και των παρόμοιων με διοξίνες PCB και οι τιμές TEQ αναφέρονται ως κατώτατο όριο, ανώτατο όριο και ενδιάμεσο όριο, προκειμένου να περιλαμβάνουν τον μέγιστο αριθμό πληροφοριών στην αναφορά των αποτελεσμάτων και να διευκολύνεται έτσι η ερμηνεία των αποτελεσμάτων σύμφωνα με τις ειδικές απαιτήσεις.
- Η αναφορά περιλαμβάνει επίσης τη μέθοδο που χρησιμοποιείται για την εκχύλιση των PCDD/F, των παρόμοιων με διοξίνες PCB και των λιπιδίων. Για μήτρες τροφίμων, η περιεκτικότητα του δείγματος σε λιπίδια προσδιορίζεται και αναφέρεται αν τα μέγιστα επίπεδα εκφράζονται με βάση το λίπος και με αναμενόμενη συγκέντρωση λίπους στο εύρος τιμών 0 – 2 % (σύμφωνα με την ισχύουσα νομοθεσία). Για άλλα δείγματα, ο καθορισμός της περιεκτικότητας σε λιπίδια είναι προαιρετικός.

- Οι ανακτήσεις των μεμονωμένων εσωτερικών προτύπων πρέπει να γνωστοποιούνται στην περίπτωση που οι ανακτήσεις αυτές είναι εκτός του εύρους τιμών που αναφέρεται στο σημείο 6.2, στην περίπτωση που υπερβαίνουν το μέγιστο επίπεδο (σε αυτήν την περίπτωση, οι ανακτήσεις για μία από τις δύο αναλύσεις εις διπλούν) και σε άλλες περιπτώσεις κατόπιν αίτησης.
- Καθώς η διευρυμένη αβεβαιότητα μέτρησης πρέπει να λαμβάνεται υπόψη όταν κρίνεται η συμμόρφωση ενός δείγματος, αυτή η παράμετρος πρέπει επίσης να γνωστοποιείται. Επομένως, τα αποτελέσματα της ανάλυσης πρέπει να αναφέρονται ως « $x \pm U$ », όπου x είναι το αποτέλεσμα της ανάλυσης και U είναι η διευρυμένη αβεβαιότητα μέτρησης, με χρήση συντελεστή κάλυψης 2 ο οποίος δίνει επίπεδο εμπιστοσύνης περίπου 95 %. Σε περίπτωση ξεχωριστού προσδιορισμού των PCDD/F και των παρόμοιων με διοξίνες PCB, το άθροισμα της εκτίμησης της διευρυμένης αβεβαιότητας των ξεχωριστών αναλυτικών αποτελεσμάτων των PCDD/F και των παρόμοιων με διοξίνες PCB πρέπει να χρησιμοποιείται για το άθροισμα των PCDD/F και των παρόμοιων με διοξίνες PCB.
- Τα αποτελέσματα εκφράζονται στις ίδιες μονάδες και με τον ίδιο αριθμό σημαντικών ψηφίων όπως στα μέγιστα επίπεδα που ορίζονται στον κανονισμό (ΕΚ) αριθ. 1881/2006.

Βιοαναλυτικές μέθοδοι διαλογής

- Το αποτέλεσμα της διαλογής εκφράζεται ως συμμορφούμενο ή πιθανώς μη συμμορφούμενο («ύποπτο»).
- Επιπλέον, μπορεί να δοθεί ένα ενδεικτικό αποτέλεσμα για τις PCDD/F και/ή τα παρόμοια με διοξίνες PCB εκφρασμένο σε BEQ (όχι TEQ) (βλέπε σημείο 1). Τα δείγματα με απόκριση κάτω από το όριο αναφοράς αναφέρονται με αυτή την ένδειξη. Τα δείγματα με απόκριση πάνω από το εύρος τιμών εργασίας αναφέρονται με την αντίστοιχη ένδειξη και το επίπεδο που αντιστοιχεί στο υψηλότερο άκρο του εύρους τιμών εργασίας πρέπει να δίνεται σε BEQ.
- Για κάθε είδος μήτρας δείγματος η αναφορά αναφέρει το μέγιστο επίπεδο ή το επίπεδο ανάληψης δράσης στο οποίο βασίζεται η αξιολόγηση.
- Η αναφορά μνημονεύει το είδος της εφαρμοζόμενης δοκιμής, τη βασική αρχή της δοκιμής και το είδος της βαθμονόμησης.
- Η αναφορά περιλαμβάνει επίσης τη μέθοδο που χρησιμοποιείται για την εκχύλιση των PCDD/F, των παρόμοιων με διοξίνες PCB και των λιπιδίων. Για τις μήτρες τροφίμων, η περιεκτικότητα του δείγματος σε λιπίδια καθορίζεται και αναφέρεται με μέγιστα επίπεδα που εκφράζονται με βάση το λίπος και την αναμενόμενη συγκέντρωση λίπους στο εύρος τιμών 0 – 2 % (σύμφωνα με την ισχύουσα νομοθεσία). Για άλλα δείγματα, ο καθορισμός της περιεκτικότητας σε λιπίδια είναι προαιρετικός.
- Στην περίπτωση δειγμάτων για τα οποία υπάρχουν υπόνοιες ότι είναι μη συμμορφούμενα, η έκθεση πρέπει να περιλαμβάνει σημείωμα σχετικά με τα μέτρα που πρέπει να ληφθούν. Στα δείγματα που παρουσιάζουν υψηλά επίπεδα ή συγκέντρωση PCDD/F και το άθροισμα των PCDD/F και των παρόμοιων με διοξίνες PCB πρέπει να προσδιορισθεί/επιβεβαιωθεί με επιβεβαιωτική μέθοδο.
- Αναφέρονται μόνον τα μη συμμορφούμενα αποτελέσματα που προκύπτουν από ανάλυση επιβεβαίωσης.

Φυσικοχημικές μέθοδοι διαλογής

- Το αποτέλεσμα της διαλογής εκφράζεται ως συμμορφούμενο ή πιθανώς μη συμμορφούμενο («ύποπτο»).
- Για κάθε είδος μήτρας δείγματος η έκθεση αναφέρει το μέγιστο επίπεδο ή το επίπεδο ανάληψης δράσης στο οποίο βασίζεται η αξιολόγηση.
- Επιπλέον, μπορούν να δοθούν επίπεδα των μεμονωμένων PCDD/F και/ή των παρόμοιων με διοξίνες ομοειδών PCB και των τιμών TEQ που αναφέρονται ως κατώτερο όριο, ανώτερο όριο και ενδιάμεσο όριο. Τα αποτελέσματα εκφράζονται στις ίδιες μονάδες και με τον ίδιο (τουλάχιστον) αριθμό σημαντικών ψηφίων όπως τα μέγιστα επίπεδα που ορίζονται στον κανονισμό (ΕΚ) αριθ. 1881/2006.
- Οι ανακτήσεις των μεμονωμένων εσωτερικών προτύπων πρέπει να γνωστοποιούνται στην περίπτωση που οι ανακτήσεις αυτές είναι εκτός του εύρους που αναφέρεται στο σημείο 6.2 και σε άλλες περιπτώσεις κατόπιν σχετικής αίτησης.
- Η έκθεση αναφέρει την εφαρμοσθείσα μέθοδο GC-MS.
- Η έκθεση περιλαμβάνει επίσης τη μέθοδο που χρησιμοποιείται για την εκχύλιση των PCDD/F, των παρόμοιων με διοξίνες PCB και των λιπιδίων. Για μήτρες τροφίμων, η περιεκτικότητα του δείγματος σε λιπίδια προσδιορίζεται και αναφέρεται αν τα μέγιστα επίπεδα εκφράζονται με βάση το λίπος και την αναμενόμενη συγκέντρωση λίπους στο εύρος τιμών 0 – 2 % (σύμφωνα με την ισχύουσα νομοθεσία). Για άλλα δείγματα, ο καθορισμός της περιεκτικότητας σε λιπίδια είναι προαιρετικός.

-
- Στην περίπτωση δειγμάτων για τα οποία υπάρχουν υπόνοιες ότι είναι μη συμμορφούμενα, η έκθεση πρέπει να περιλαμβάνει σημείωμα σχετικά με τα μέτρα που πρέπει να ληφθούν. Η συγκέντρωση των PCDD/F και το άθροισμα των PCDD/F και των παρόμοιων με διοξίνες PCB στα δείγματα με σημαντικά επίπεδα πρέπει να προσδιοριστεί/επιβεβαιωθεί με επιβεβαιωτική μέθοδο.
 - Η μη συμμόρφωση μπορεί να διαπιστωθεί μόνον ύστερα από ανάλυση επιβεβαίωσης.
-

Προσάρτημα

Οι WHO-TEF για την αξιολόγηση της επικινδυνότητας για τον άνθρωπο βασίζονται στα συμπεράσματα της συνεδρίασης εμπειρογνομόνων του διεθνούς προγράμματος για την ασφάλεια των χημικών ουσιών (IPCS) του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας (ΠΟΥ) που διεξήχθη στη Γενεύη τον Ιούνιο του 2005 ⁽¹⁾.

Ομοειδής ουσία	Τιμή TEF	Ομοειδής ουσία	Τιμή TEF
Διβενζο-<i>p</i>-διοξίνες (PCDD)		«Παρόμοια με διοξίνες» PCB	
		Μη-ορθο PCB + Μονο-ορθο PCB	
2,3,7,8-TCDD	1		
1,2,3,7,8-PeCDD	1	Μη-ορθο PCB	
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0,1	PCB 77	0,0001
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0,1	PCB 81	0,0003
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0,1	PCB 126	0,1
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0,01	PCB 169	0,03
OCDD	0,0003		
Διβενζοφουράνια («PCDF»)		Μονο-ορθο-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		
Συντομογραφίες που χρησιμοποιήθηκαν: «T» = τετρα· «Pe» = πεντα· «Hx» = έξα· «Hp» = επτα· «O» = οκτα· «CDD» = χλωροδιβενζοδιοξίνη· «CDF» = χλωροδιβενζοφουράνιο· «CB» = χλωροδιφαινύλιο.			

⁽¹⁾ Martin van den Berg et al., «The 2005 World Health Organization Re-evaluation of Human and Mammalian Toxic Equivalency Factors for Dioxins and Dioxin-like Compounds» (Αναθεώρηση του 2005 εκ μέρους της Παγκόσμιας Οργάνωσης Υγείας των συντελεστών τοξικής ισοδυναμίας στον άνθρωπο και τα θηλαστικά για τις διοξίνες και τις παρόμοιες με διοξίνες ενώσεις). *Toxicological Sciences* 93(2), 223-241 (2006).

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ IV

ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΤΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΑΠΑΙΤΗΣΕΙΣ ΓΙΑ ΤΙΣ ΜΕΘΟΔΟΥΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΠΟΥ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΟΥΝΤΑΙ ΓΙΑ ΤΟΝ ΕΛΕΓΧΟ ΤΩΝ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΤΩΝ ΜΗ ΠΑΡΟΜΟΙΩΝ ΜΕ ΔΙΟΞΙΝΕΣ PCB ΣΕ ΟΡΙΣΜΕΝΑ ΤΡΟΦΙΜΑ

Οι απαιτήσεις που καθορίζονται στο παρόν παράρτημα εφαρμόζονται στις αναλύσεις τροφίμων για τον επίσημο έλεγχο των επιπέδων των μη παρόμοιων με διοξίνες PCB και όσον αφορά την προετοιμασία των δειγμάτων και, όσον αφορά τις απαιτήσεις προετοιμασίας των δειγμάτων και ανάλυσης για άλλους κανονιστικούς σκοπούς, συμπεριλαμβανομένων των ελέγχων που διενεργούνται από τον υπεύθυνο της επιχείρησης τροφίμων για να εξασφαλιζεται η συμμόρφωση με τις διατάξεις του άρθρου 4 του κανονισμού (ΕΚ) αριθ. 852/2004.

Οι διατάξεις σχετικά με την προετοιμασία των δειγμάτων που προβλέπονται στο σημείο 3 του παραρτήματος III του παρόντος κανονισμού εφαρμόζονται επίσης για τον έλεγχο των επιπέδων των μη παρόμοιων με διοξίνες PCB στα τρόφιμα.

1. Ισχύουσες μέθοδοι ανίχνευσης

Αεριοχρωματογραφία/Ανίχνευση σύλληψης ηλεκτρονίων (GC-ECD), GC-LRMS, GC-MS/MS, GC-HRMS ή ισοδύναμες μέθοδοι.

2. Ταυτοποίηση και επιβεβαίωση των προσδιοριζόμενων ουσιών που ενδιαφέρουν

- Σχετικός χρόνος κατακράτησης σε σχέση με τα εσωτερικά πρότυπα ή πρότυπα αναφοράς (αποδεκτή απόκλιση $\pm 0,25\%$).
- Διαχωρισμός με αεριοχρωματογραφία των μη παρόμοιων με διοξίνες PCB από παρεμποδίζουσες ουσίες, κυρίως συνεκλούμενα PCB, ιδίως αν τα επίπεδα των δειγμάτων είναι στο εύρος των νόμιμων ορίων και πρέπει να επιβεβαιωθεί η μη συμμόρφωση ⁽¹⁾.
- Για τεχνικές GC-MS:
 - Έλεγχος τουλάχιστον του εξής αριθμού μοριακών ιόντων ή χαρακτηριστικών ιόντων από τη μοριακή πλειάδα:
 - δύο ειδικών ιόντων για την HRMS,
 - τριών ειδικών ιόντων για την LRMS,
 - δύο ειδικών μητρικών ιόντων, καθένα με ένα συγκεκριμένο αντίστοιχο θυγατρικό ιόν μετάπτωσης για την MS-MS.
 - Μέγιστες επιτρεπόμενες τιμές ανοχής για τις σχέσεις ισοτοπικών αναλογιών των επιλεγμένων θραυσμάτων μαζών:

Σχετική απόκλιση της σχέσης ισοτοπικών αναλογιών των επιλεγμένων θραυσμάτων μαζών από τη θεωρητική ένταση ή την πρότυπη καμπύλη βαθμονόμησης για στοχευόμενο ιόν (το πιο άφθονο ιόν που παρακολουθείται) και το/τα προσδιοριστικό/ά ιόν/τα: $\pm 15\%$.
- Για GC-ECD:

Επιβεβαίωση των αποτελεσμάτων που υπερβαίνουν το μέγιστο επίπεδο με δύο στήλες GC με στατικές φάσεις διαφορετικής πολικότητας.

3. Απόδειξη της επίδοσης της μεθόδου

Επικύρωση στο εύρος του μέγιστου επιπέδου (0,5 έως 2 φορές το μέγιστο επίπεδο) με αποδεκτό συντελεστή μεταβλητότητας για επαναλαμβανόμενες αναλύσεις (βλέπε απαιτήσεις για ενδιάμεση ακρίβεια στο σημείο 8).

4. Όριο ποσοτικού προσδιορισμού

Το άθροισμα των ορίων ποσοτικού προσδιορισμού ⁽²⁾ των μη παρόμοιων με διοξίνες PCB δεν υπερβαίνει το ένα τρίτο του μέγιστου επιπέδου ⁽³⁾.

5. Έλεγχος ποιότητας

Τακτικοί έλεγχοι τυφλού δείγματος, αναλύσεις εμβολιασμένων δειγμάτων, δείγματα ελέγχου ποιότητας, συμμετοχή σε διεργαστηριακές μελέτες για σχετικές μήτρες.

⁽¹⁾ Ομοειδείς ουσίες που διαπιστώνεται συχνά ότι είναι συνεκλούμενες είναι, π.χ., τα PCB 28/31, PCB 52/69 και PCB 138/163/164. Για τη μέθοδο GC-MS πρέπει επίσης να ληφθούν υπόψη πιθανές παρεμποδίσσεις από θραύσματα ομοειδών ουσιών ανώτερου βαθμού χλωρίωσης.

⁽²⁾ Εφαρμόζονται κατά περίπτωση οι αρχές που περιγράφονται στο «Έγγραφο καθοδήγησης για την εκτίμηση των LOD και LOQ για μετρήσεις στον τομέα των προσμειξών στα τρόφιμα και τις ζωοτροφές» [σύνδεσμος προς ιστοσελίδα].

⁽³⁾ Συνιστάται ιδιαίτερος η συμμετοχή του σήματος του τυφλού αντιδραστήριου να είναι όσο το δυνατό χαμηλότερη σε σχέση με το επίπεδο ενός επιμολυντή σε ένα δείγμα. Ο έλεγχος της μεταβλητότητας των επιπέδων τυφλού, κυρίως αν τα επίπεδα τυφλού αφαιρούνται από το αποτέλεσμα, αποτελεί αρμοδιότητα του εργαστηρίου.

6. Έλεγχος ανακτήσεων

- Χρήση κατάλληλων εσωτερικών προτύπων με φυσικοχημικές ιδιότητες συγκρίσιμες με τις αντίστοιχες των προσδιοριζόμενων ουσιών που ενδιαφέρουν.
- Προσθήκη εσωτερικών προτύπων:
 - προσθήκη στα προϊόντα (πριν από τη διαδικασία εκχύλισης και καθαρισμού),
 - επίσης δυνατότητα προσθήκης στο λίπος που έχει εκχυλιστεί (πριν από τη διαδικασία καθαρισμού), εάν το μέγιστο επίπεδο εκφράζεται με βάση το λίπος.
- Απαιτήσεις για τις μεθόδους που χρησιμοποιούν και τις έξι ομοειδείς ουσίες μη παρόμοιων με διοξίνες PCB με ιστοπική επισήμανση:
 - διόρθωση των αποτελεσμάτων για ανακτήσεις εσωτερικών προτύπων,
 - γενικώς αποδεκτές ανακτήσεις εσωτερικών προτύπων με ιστοπική επισήμανση είναι από 60 έως 120 %,
 - είναι αποδεκτές χαμηλότερες ή υψηλότερες ανακτήσεις για μεμονωμένες ομοειδείς ουσίες με συμμετοχή στο σύνολο των μη παρόμοιων με διοξίνες PCB κάτω από 10 %.
- Απαιτήσεις για τις μεθόδους που δεν χρησιμοποιούν και τα έξι εσωτερικά πρότυπα με ιστοπική επισήμανση ή χρησιμοποιούν άλλα εσωτερικά πρότυπα:
 - έλεγχος ανάκτησης εσωτερικού/-ών προτύπου/-ων για κάθε δείγμα,
 - αποδεκτές ανακτήσεις εσωτερικού/-ών προτύπου/-ων μεταξύ 60 και 120 %,
 - διόρθωση των αποτελεσμάτων για ανακτήσεις εσωτερικών προτύπων.
- Οι ανακτήσεις των ομοειδών ουσιών χωρίς ιστοπική επισήμανση ελέγχονται με εμβολιασμένα δείγματα ή δείγματα ελέγχου ποιότητας με συγκεντρώσεις στην περιοχή του μέγιστου επιπέδου. Οι αποδεκτές ανακτήσεις για τις εν λόγω ομοειδείς ουσίες είναι από 60 έως 120 %.

7. Απαιτήσεις για τα εργαστήρια

Σύμφωνα με τις διατάξεις του κανονισμού (ΕΚ) αριθ. 882/2004, η διαπίστευση των εργαστηρίων γίνεται από αναγνωρισμένο φορέα που λειτουργεί σύμφωνα με τον οδηγό ISO 58, ώστε να εξασφαλίζεται ότι τα εργαστήρια εφαρμόζουν μεθόδους διασφάλισης της ποιότητας της ανάλυσης. Η διαπίστευση των εργαστηρίων πραγματοποιείται σύμφωνα με το πρότυπο EN ISO/IEC 17025. Επιπλέον, εφαρμόζονται, κατά περίπτωση, οι αρχές που περιγράφονται στις τεχνικές κατευθυντήριες γραμμές για την εκτίμηση της αβεβαιότητας μέτρησης και των ορίων ποσοτικού προσδιορισμού των PCB (¹).

8. Χαρακτηριστικά επίδοσης: Κριτήρια για το άθροισμα των μη παρόμοιων με διοξίνες PCB στο μέγιστο επίπεδο

	Φασματομετρία μάζας με ιστοπική αραίωση (*)	Άλλες τεχνικές
Αληθότητα	- 20 έως + 20 %	- 30 έως + 30 %
Ενδιάμεση πιστότητα (RSD _R)	≤ 15 %	≤ 20 %
Διαφορά μεταξύ των υπολογισμών του ανώτερου και του κατώτερου ορίου	≤ 20 %	≤ 20 %

(*) Απαιτείται η χρήση και των έξι αναλόγων με ιστοπική επισήμανση ¹³C ως εσωτερικών προτύπων.

9. Αναφορά των αποτελεσμάτων

- Τα αποτελέσματα της ανάλυσης περιέχουν τα επίπεδα των μεμονωμένων ομοειδών ουσιών των παρόμοιων με διοξίνες PCB και το άθροισμα των μη παρόμοιων με διοξίνες PCB, αναφερόμενων ως κατώτατο όριο, ανώτατο όριο και ενδιάμεσο όριο, προκειμένου να περιλαμβάνουν το μέγιστο δυνατό σύνολο πληροφοριών στην αναφορά των αποτελεσμάτων και να διευκολύνεται έτσι η ερμηνεία τους σύμφωνα με τις ειδικές απαιτήσεις.

(¹) «Έγγραφο καθοδήγησης σχετικά με την αβεβαιότητα μέτρησης για εργαστήρια που διεξάγουν ανάλυση PCDD/F και PCB με φασματομετρία μάζας αραίωσης ισotόπων» [σύνδεσμος προς ιστοσελίδα], «Έγγραφο καθοδήγησης για την εκτίμηση των LOD και LOQ για μετρήσεις στον τομέα των προσμειξών στα τρόφιμα και τις ζωτροφές» [σύνδεσμος προς ιστοσελίδα].

- Η αναφορά περιλαμβάνει επίσης τη μέθοδο που χρησιμοποιείται για την εκχύλιση των PCB και των λιπιδίων. Για τις μήτρες τροφίμων, η περιεκτικότητα του δείγματος σε λιπίδια προσδιορίζεται και αναφέρεται αν τα μέγιστα επίπεδα εκφράζονται με βάση το λίπος και την αναμενόμενη συγκέντρωση λίπους στο εύρος τιμών 0 — 2 % (σύμφωνα με την ισχύουσα νομοθεσία). Για άλλα δείγματα, ο καθορισμός της περιεκτικότητας σε λιπίδια είναι προαιρετικός.
 - Οι ανακτήσεις των μεμονωμένων εσωτερικών προτύπων πρέπει να γνωστοποιούνται στην περίπτωση που οι ανακτήσεις αυτές είναι εκτός του εύρους που αναφέρεται στο σημείο 6, στην περίπτωση που υπερβαίνουν το μέγιστο επίπεδο και σε άλλες περιπτώσεις κατόπιν αίτησης.
 - Καθώς η διευρυμένη αβεβαιότητα μέτρησης πρέπει να λαμβάνεται υπόψη όταν κρίνεται η συμμόρφωση ενός δείγματος, αυτή η παράμετρος πρέπει επίσης να γνωστοποιείται. Τα αποτελέσματα της ανάλυσης πρέπει να αναφέρονται ως « $x \pm U$ », όπου x είναι το αποτέλεσμα της ανάλυσης και U είναι η διευρυμένη αβεβαιότητα μέτρησης, με χρήση συντελεστή κάλυψης 2 ο οποίος δίνει επίπεδο εμπιστοσύνης περίπου 95 %.
 - Τα αποτελέσματα εκφράζονται στις ίδιες μονάδες και με τον ίδιο αριθμό σημαντικών ψηφίων όπως τα μέγιστα επίπεδα που ορίζονται στον κανονισμό (ΕΚ) αριθ. 1881/2006.
-