Šis dokumentas yra skirtas tik informacijai, ir institucijos nėra teisiškai atsakingos už jo turinį

►**B**

KOMISIJOS DIREKTYVA 2002/70/EB

2002 m. birželio 26 d.

nustatanti dioksinų ir dioksinų tipo PCB koncentracijos pašaruose nustatymo reikalavimus

(tekstas svarbus EEE)

(OL L 209, 6.8.2002, p. 15)

iš dalies keičiama:

		Oficialusis leidinys		
		Nr.	puslapis	data
►**M1**	Komisijos direktyva 2005/7/EB 2005 m. sausio 27 d.	L 27	41	29.1.2005

▼B

KOMISIJOS DIREKTYVA 2002/70/EB

2002 m. birželio 26 d.

nustatanti dioksinų ir dioksinų tipo PCB koncentracijos pašaruose nustatymo reikalavimus

(tekstas svarbus EEE)

EUROPOS BENDRIJŲ KOMISIJA,

atsižvelgdama į Europos bendrijos steigimo sutartį,

atsižvelgdama į 1970 m. liepos 20 d. Tarybos direktyvą 70/373/EEB dėl Bendrijos mėginių paėmimo ir analizės metodų, taikomų oficialiai pašarų kontrolei, įvedimo ([1]) su paskutiniais pakeitimais, padarytais Austrijos, Suomijos ir Švedijos stojimo aktu, ypač į jos 2 straipsnį,

kadangi:

(1) 1999 m. balandžio 22 d. Tarybos direktyva 1999/29/EB dėl nepageidautinų medžiagų ir produktų gyvūnų mityboje ([2]) su paskutiniais pakeitimais, padarytais Direktyva 2001/102/EB ([3]), nustatomi didžiausi dioksinų ir furanų kai kuriose pašarinėse žaliavose ir pašaruose kiekiai.

(2) Būtina nustatyti reikalavimus, kuriuos turi atitikti analizės metodas siekiant užtikrinti, kad laboratorijose būtų naudojami lyginamieji analizės metodai.

(3) Mėginių paėmimo ir analizės metodų nuostatos buvo parengtos remiantis dabartinėmis žiniomis ir jos gali būti tikslinamos atsižvelgiant į mokslinių ir technologinių žinių pažangą.

(4) Šioje direktyvoje nustatytos nuostatos taikomos tik dioksinų ir dioksinų tipo PCB analizei įgyvendinant Direktyvą 2001/102/EB, iš dalies keičiančią Direktyvą 1999/29/EB dėl nepageidautinų medžiagų ir produktų gyvūnų mityboje.

(5) Siekiant gauti visapusiškus ir patikimus duomenis apie pašarinėse žaliavose ir pašaruose esančius dioksinų tipo PCB, turėtų būti laikomasi aktyvios pozicijos. Todėl turėtų būti nustatyti reikalavimai analizės metodams, naudotiniems nustatant dioksinų tipo PCB pašarinėse žaliavose ir pašaruose.

(6) Kad būtų galima atsirinkti mėginius du didele dioksinų koncentracija galėtų būti naudojamas atrankinis analizės metodas taikant įrodytus, plačiai įsitvirtinusius ir naudojamus patikros būdus. Šiuose mėginiuose dioksinų koncentracija turi būti nustatoma patvirtinamuoju analizės metodu. Todėl tikslinga nustatyti patvirtinamųjų analizės metodų ir atrankos metodo reikalavimus.

(7) Šioje direktyvoje numatytos priemonės atitinka Maisto grandinės ir gyvūnų sveikatos nuolatinio komiteto nuomonę,

PRIĖMĖ ŠIĄ DIREKTYVĄ:

1 straipsnis

Valstybės narės užtikrina, kad mėginių, skirtų oficialiai kontroliuoti dioksinų ir furanų koncentraciją ir nustatyti dioksinų tipo PCB koncent-

([1]) OL L 170, 1970 8 3, p. 2.
([2]) OL L 115, 1999 5 4, p. 32.
([3]) OL L 6, 2002 1 10, p. 45.

▼B

raciją pašaruose, paėmimas vykdomas laikantis I priede aprašytų metodų.

2 straipsnis

Valstybės narės užtikrina, kad mėginių, skirtų oficialiai kontroliuoti dioksinų ir furanų koncentraciją ir nustatyti dioksinų tipo PCB koncentraciją pašaruose, paruošimas ir analizės metodai atitiktų II priede aprašytus kriterijus.

3 straipsnis

Valstybės narės priima įstatymus ir kitus teisės aktus, kurie, įsigalioję ne vėliau kaip 2003 m. vasario 28 d., įgyvendina šią direktyvą. Apie tai jos nedelsdamos praneša Komisijai.

Valstybės narės, tvirtindamos šias priemones, daro jose nuorodą į šią direktyvą arba tokia nuoroda daroma jas oficialiai skelbiant. Nuorodos darymo tvarką nustato valstybės narės.

4 straipsnis

Ši direktyva įsigalioja dvidešimtą dieną po jos paskelbimo *Europos Bendrijų oficialiajame leidinyje.*

5 straipsnis

Ši direktyva skirta valstybėms narėms.

▼B

I PRIEDAS

PAŠARŲ MĖGINIŲ, SKIRTŲ DIOKSINŲ (PCDD/PCDF) IR PCB KIEKIAMS NUSTATYTI PAŠARUOSE, PAĖMIMO METODAI

▼M1

1. **Tikslas ir taikymo sritis**

Mėginiai dioksinų (PCDD/PCDF) kiekiui oficialiai kontroliuoti ir dioksinų tipo PCB ([1]) kiekiui nustatyti pašaruose imami pagal Direktyvos 76/371/EEB nuostatas. Vienodai pašaruose pasiskirsčiusioms medžiagoms arba produktams kontroliuoti turi būti taikomi kiekybiniai reikalavimai, kaip numatyta Direktyvos 76/371/EEB priedo 5.A. punkte. Laikoma, kad taip paimtas jungtinis mėginys atitinka tą partiją arba partijos dalį, iš kurios buvo paimtas. Ar jie atitinka didžiausias leistinas koncentracijas, nustatytas Europos Parlamento ir Tarybos direktyvoje 2002/32/EB ([2]), įvertinama pagal laboratoriniuose mėginiuose nustatytus kiekius.

2. **Partijos ar jos dalies atitiktis specifikacijoms**

Partija priimtina, jei vieno tyrimo analitinis rezultatas neviršija atitinkamos didžiausios leistinos koncentracijos, nustatytos Direktyvoje 2002/32/EB, atsižvelgiant į matavimo neapibrėžtį.

Partija neatitinka didžiausios leistinos koncentracijos, nustatytos Direktyvoje 2002/32/EB, jeigu analitinis rezultatas, kurį patvirtina pakartotinis tyrimas ir kuris apskaičiuotas kaip mažiausiai dviejų atskirų rezultatų vidurkis, neabejotinai viršija didžiausią leistiną koncentraciją, atsižvelgiant į matavimo neapibrėžtį.

Matavimo neapibrėžtį galima nustatyti taikant vieną iš toliau nurodytų būdų:

— išplėstosios neapibrėžties apskaičiavimą: taikant aprėpties koeficientą 2, kuris užtikrina maždaug 95 % patikimumą,

([1]) Dioksinų tipo PCB lentelė

Gimininga junginiai	TTE vertė	Gimininga junginiai	TTE vertė
Dibenzo-p-dioksinai **(„PCDD“)**		1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0,01
2,3,7,8-TCDD	1	OCDF	0,0001
1,2,3,7,8-PeCDD	1	*Dioksinų tipo PCB:* **Ne orto PCB + mono-orto PCB**	
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0,1	**Ne orto PCB**	
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0,1	PCB 77	0,0001
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0,1	PCB 81	0,0001
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0,01	PCB 126	0,1
OCDD	0,0001	PCB 169	0,01
Dibenzofuranai **(„PCDF“)**		**Mono orto PCB**	
2,3,7,8-TCDF	0,1	PCB 105	0,0001
1,2,3,7,8-PeCDF	0,05	PCB 114	0,0005
2,3,4,7,8-PeCDF	0,5	PCB 118	0,0001
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0,1	PCB 123	0,0001
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0,1	PCB 156	0,0005
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0,1	PCB 157	0,0005
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0,1	PCB 167	0,00001
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0,01	PCB 189	0,0001

Vartojami sutrumpinimai: „T“ = tetra; „Pe“ = penta; „Hx“ = hexa; „Hp“ = hepta; „O“ = octa; „CDD“ = chlorodibenzo-p-dioksinas; „CDF“ = chlorodibenzofuranas; „CB“ = chlorobifenilas.

▼M1

(2) OL L 140, 2002 5 30, p. 10.

— sprendimo ribos (CCα) nustatymą, remiantis Komisijos sprendimu 2002/657/EB (1) (priedo 3.1.2.5 punktas – medžiagų, turinčių nustatytą leistiną koncentraciją, atvejis).

Šios aiškinimo taisyklės taikomos analitiniam rezultatui, gautam iš oficialiai kontroliuojamo mėginio. Jos nedaro įtakos valstybių narių teisei taikyti Direktyvos 95/53 (2) 18 straipsnyje minimas nacionalines analizės taisykles gynybos arba arbitražo tikslais.

(1) OL L 221, 2002 8 17, p. 8.
(2) OL L 265, 1995 11 8, p. 17.

▼B

II PRIEDAS

PAŠARŲ MĖGINIŲ PARUOŠIMAS IR ANALIZĖS METODŲ, SKIRTŲ DIOKSINŲ (PCDD/PCDF) KIEKIAMS OFICIALIAI KONTROLIUOTI IR DIOKSINŲ TIPO PCB KIEKIAMS TAM TIKRUOSE PAŠARUOSE NUSTATYTI, REIKALAVIMAI

1. **Tikslas ir taikymo sritis**

Šie reikalavimai turėtų būti taikomi analizuojant pašarines žaliavas ir pašarus siekiant nustatyti dioksinus (Polichlordibenzo-p-dioksinus (PCDD) ir Polichlordibenzofuranus (PCDF)) ir dioksinų tipo polichlorbifenilus (PCB).

Dioksinų kontrolė pašaruose gali būti atliekama atrankos metodu, siekiant atrinkti mėginius, kuriuose dioksinų (PCDD/PCDF) ir PCB kiekiai būtų iki 30 %–40 % mažesni ar viršytų interesų lygį. Mėginiuose su dideliais dioksinų (PCDD/PCDF) ir PCB kiekiais jų koncentracijos turi būti nustatomos (patvirtinamos) patvirtinamuoju metodu.

Atrankos metodai taikomi dioksinams (PCDD/PCDF) ir PCB aptikti interesų lygiu. Šie metodai yra labai našūs ir taikomi didelio kiekio mėginių analizei potencialiai teigiamam rezultatui gauti. Jie specialiai sukurti, kad būtų išvengta klaidingų neigiamų rezultatų.

Patvirtinamieji metodai suteikia visą ar papildomą informaciją, leidžiančią dioksinus (PCDD/PCDF) ir PCB identifikuoti ir kiekybiškai nustatyti interesų lygiu.

2. **Pagrindimas**

Kadangi iš aplinkos paimtuose mėginiuose ir biologiniuose mėginiuose (iš jų ir pašarinėse žaliavose/pašaruose) paprastai yra kompleksiški dioksinams (PCDD/PCDF) ir PCB giminingų junginių mišiniai, siekiant palengvinti rizikos įvertinimą, sukurta sąvoka „Tarptautinis toksiškumo ekvivalentas“ (TTE). Šis TTE buvo nustatytas siekiant išreikšti 2,3,7,8-PCDD, PCDF ir kai kurių ne orto-chloro-PCB ir mono-orto-chloro-PCB, darinių mišinių, pasižyminčių dioksinams (PCDD/PCDF) būdingu aktyvumu, koncentracijas 2,3,7,8-TCDD toksiškumo ekvivalentais (TE) (žr. I priedo 1 išnašą).

Siekiant gauti dioksinams (PCDD/PCDF) ir PCB giminingų junginių suminę koncentraciją TE vienetais, atskirų medžiagų koncentracijos konkrečiame mėginyje dauginamos iš jų atitinkamų TTE ir po to sudedamos.

Sąvoka „viršutinė riba“ taikoma, kai struktūrinių analogų nustatymo ribos naudojamos vertinant kiekvieno kiekybiškai nenustatyto struktūrinio analogo indėlį į suminį TE.

Sąvoka „apatinė riba“ taikoma, kai nuliu įvertinamas kiekvieno kiekybiškai nenustatyto struktūrinio analogo indėlis į suminį TE.

Sąvoka „vidurinė riba“ taikoma naudojant pusę nustatymo ribos skaitmeninės vertės įvertinant kiekvieno kiekybiškai nenustatyto struktūrinio analogo indėlį į suminį TE.

▼M1

Tik šioje direktyvoje: priimtina specifinė atskirų giminingų junginių kiekybinė nustatymo riba - tai analitės koncentracija mėginio ekstrakte, kuri sukelia dviejų stebimų skirtingų jonų instrumentinius signalus, kai S ir T (signalo ir triukšmo) santykis yra 3:1 mažiausiam signalui, ir atitinka pagrindinius reikalavimus, kaip antai: sulaikymo trukmė, izotopų santykis pagal nustatymo metodiką, aprašytą EPA metodą 1613 B pataisytame leidime.

▼B

3. **Kokybės užtikrinimo reikalavimai, taikomi mėginiams paruošti**

Taikomos pagrindinės nuostatos dėl analizuojamų mėginių paruošimo, nustatytos 1981 m. liepos 30 d. Komisijos direktyvos 81/680/EEB, iš dalies keičiančios Direktyvas 71/250/EEB, 71/393/EEB, 72/199/EEB, 73/46/EEB, 74/203/EEB, 75/84/EEB, 76/372/EEB, 78/633/EEB, nustatančias oficialiai pašarų kontrolei taikytinus Bendrijos analizės metodus ([1]), priede.

Papildomai turi būti laikomasi šių reikalavimų:

— mėginiai turi būti laikomi ir vežami talpyklose, pagamintose iš stiklo, aliuminio, polipropileno ar polietileno. Mėginių talpyklose neturi būti

([1]) OL L 246, 1981 8 29, p. 32.

▼B

popieriaus dulkių pėdsakų. Stiklinės talpyklos plaunamos tirpikliais iš anksto patikrinus, ar juose nėra dioksinų,

— atliekama visa tuščioji analizinė procedūra be mėginio,

— ekstrakcijai paimto mėginio masė turi būti pakankama, kad atitiktų reikalavimus dėl metodo jautrio.

4. **Laboratorijoms taikomi reikalavimai**

— Laboratorijos privalo įrodyti metodo tinkamumą interesų lygiu (pvz., 0,5 ×, 1 × ir 2 × interesų lygis esant priimtinam kartotinių analizių variacijos koeficientui. Detaliau pripažinimo kriterijai išdėstyti 5 punkte.

— Patvirtinamojo metodo nustatymo riba yra maždaug 1/5 interesų lygio siekiant užtikrinti, kad variacijos koeficientai būtų tinkami interesų lygiu.

— Turi būti taikomos vidaus kokybės kontrolės priemonės – nuolat atliekamos kontrolės su tuščiaisiais mėginiais ir bandymai su žymėtais mėginiais ar kontrolinių mėginių (jei įmanoma, geriau sertifikuotos pamatinės medžiagos) analizė.

— Geriausias būdas įrodyti laboratorijos kompetenciją konkrečios analizės srityje – sėkmingas dalyvavimas laboratorijos kvalifikaciją įvertinančiuose tarplaboratoriniuose tyrimuose. Tačiau sėkmingas dalyvavimas, pavyzdžiui, dirvožemio ar nuotekų tarplaboratoriniuose tyrimuose, nebūtinai įrodo kompetenciją maisto ir pašarų, kurie yra mažiau užteršti, mėginių tyrimų srityje. Todėl būtina nuolat dalyvauti dioksinų (PCDD/PCDF) ir PCB nustatymo atitinkamose maisto ir pašaro matricose tarplaboratoriniuose tyrimuose.

— Laboratorijas turi akredituoti pripažinta įstaiga, veikianti pagal ISO Guide 58, laiduojantį, kad taikomos analizės kokybės garantijos. Laboratorijos turi būti akredituotos pagal ISO/IEC/17025:1999 standartą.

5. **Reikalavimai, taikomi dioksinų (PCDD/PCDF) ir PCB analizių procedūroms**

Pagrindiniai reikalavimai pripažintoms analizės procedūroms:

— *Didelis jautris ir žema aptikimo riba*. Dėl ypač didelio kai kurių dioksinų (PCDD/PCDF) ir PCB junginių nuodingumo jų aptikimo riba turi būti TE pikogramų (10^{-12} g) srityje. Žinoma, kad PCB kiekis yra didesnis nei dioksinų (PCDD/PCDF). Daugeliui PCB struktūrinių analogų pakanka jautrio nanogramų (10^{-9} g) srityje. Tačiau nustatant nuodingesnius PCB struktūrinius analogus (ypač ne orto-junginių) jautris turi būti kaip ir dioksinų (PCDD/PCDF) atveju.

— *Didelis atrankumas*. Reikalaujama išskirti dioksinus (PCDD/PCDF) ir PCB iš visų kitų, kartu ekstrahuotų ir galinčių trukdyti analizei junginių, kurių koncentracijos keletu eilių didesnės nei ieškomų analičių koncentracijos. Taikant dujų chromatografijos/masių spektrometrijos (DCh/MS) metodus, būtinas įvairių toksinių (pvz., septyniolikos dioksinų (PCDD/PCDF) ir PCB darinių su pakaitalais 2,3,7,8 padėtyse) ir kitų struktūrinių analogų diferencijavimas. Taikant biologinį tyrimą, turėtų būti įmanoma nustatyti sumines TE vertes atskirai dioksinams (PCDD/PCDF) ir PCB.

— *Didelis matavimo tikslumas (teisingumas, patikimumas)*. Nustatant turėtų būti teisingai ir patikimai įvertinamos tikros dioksinų (PCDD/PCDF) ir PCB koncentracijos pašarų mėginyje. Didelis tikslumas (matavimo tikslumas: matavimo rezultato artimumas tikrajai ar priskirtajai matavimo vertei) būtinas siekiant išvengti mėginio analizės rezultato atmetimo dėl nepatikimo TE įvertinimo. Tikslumas išreiškiamas teisingumu (sertifikuotosios medžiagos analitės tyrimo rezultatų vidurkio ir pripažintosios vertės skirtumas, išreikštas šios vertės procentine dalimi) ir tikslumu (tikslumas paprastai išreiškiamas standartiniu nuokrypiu, rezultatų pakartojamumu ir atitiktimi, ir parodo tyrimų rezultatų, gautų nurodytomis sąlygomis keletą kartų taikant eksperimentinę procedūrą, panašumą).

Atrankos metodais galima palyginti biologinio tyrimo ir DCh/MS metodus. Patvirtinamieji metodai yra didelės skiriamosios gebos dujų chromatografijos metodai/didelės skiriamosios gebos masių spektrometrija (DSGDCh/DSGMS). Laikomasi tokių suminės TE vertės kriterijų:

▼B

	Atrankos metodai	Patvirtinantieji metodai
Klaidingai neigiamų rezultatų santykis	< 1 %	
Teisingumas		Nuo – 20 % iki +20 %
Variacijos koeficientas	< 30 %	< 15 %

6. **Ypatingi reikalavimai, taikomi DCh/MS metodams, naudojamiems atrankai ar patvirtinimui**

— Siekiant įteisinti analizinę procedūrą, pačioje procedūros pradžioje, pvz., prieš ekstrahavimą, turi būti dedami vidiniai etalonai – ^{13}C žymėtieji 2,3,7,8-chloro-PCDD/PCDF dariniai (jei nustatomi PCB – ir ^{13}C žymėtieji PCB). Turi būti pridedama bent po vieną struktūrinį analogą iš kiekvienos nuo tetra-chloro iki okta-chloro-PCDD/PCDF darinių homologinės eilės (ir bent po vieną struktūrinį analogą iš kiekvienos PCB homologinės eilės, jei nustatomi PCB kiekiai) (arba bent vienas struktūrinis analogas kiekvienai masių spektrometriškai parinkto jono registruojamai funkcijai, naudojamai PCDD/PCDF ir PCB apžvalgai). Taikant patvirtinamuosius metodus geriau naudoti visus 17 ^{13}C žymėtuosius 2,3,7,8-chloro-PCDD/PCDF etalonus ir visus 12 ^{13}C žymėtuosius PCB etalonus (jei turi būti nustatomi PCB).

Turi būti nustatomi santykiniai reaktingumo koeficientai tiems struktūriniams analogams, kurių atitinkamuose kalibravimo tirpaluose nebuvo naudojami ^{13}C žymėtieji analogai.

— Tiriant augalinės ar gyvūninės kilmės pašarus, turinčius mažiau nei 10 % riebalų, prieš ekstrahavimą būtinai dedamas vidinis etaloninis tirpalas. Į gyvūninės kilmės pašarų mėginius, turinčius per 10 % riebalų, vidinis etaloninis tirpalas gali būti dedamas prieš arba po ekstrahavimo. Turi būti atliktas ekstrakcijos efektyvumo įvertinimas, atsižvelgiant į tai, kurioje stadijoje buvo pridėta vidinio etaloninio tirpalo, ir į tai, kaip ataskaitoje pateikti rezultatai – koncentracija produkte ar riebaluose.

— Prieš DCh/MS analizę įdedama vienas ar du etalono(-ų) pakaitalai.

— Būtina regeneravimo kontrolė. Taikant patvirtinamuosius metodus atskirų vidinių etaloninių tirpalų turėtų būti regeneruojama nuo 60 % iki 120 %. Priimtina, kad atskirų struktūrinių analogų būtų regeneruojama mažiau ar daugiau, ypač kai kurių heptachlordibenzodioksinų ir octachlordibenzodioksinų, tačiau tokiu atveju jų indėlis į suminę TE vertę neviršija 10 % šios vertės (gautos tik iš dioksinų (PCDD/PCDF)). Atrankos metodams regeneruojama turėtų būti nuo 30 % iki 140 %.

— Dioksinų (PCDD/PCDF) atskyrimas nuo trukdančių chloro junginių, pvz., PCB ir chloruotų difenileterių, turėtų būti atliekamas tinkamiausiu chromatografiniu metodu (pageidautina su florisiliu, aliuminio oksido ar (ir) anglies kolonėle).

— Turi būti pakankamas izomerų dujų chromatografinis atskyrimas (< 25 % tarp 1,2,3,4,7,8-HxCDF ir 1,2,3,6,7,8-HxCDF smailių padėčių).

— Turėtų būti nustatoma taikant AAV 1613 metodą (pataisyta B versija): nuo tetra- iki okta-chlordioksinų ir furanų skiedžiant izotopais DSGGC/DSGMS ar kitkuo, esant lygiaverčiams atlikimo kriterijams.

— Kai pašarų užteršimas dioksinais (PCDD/PCDF) siekia ar viršija didžiausią leistiną jų kiekį, skirtumas tarp viršutinės ribos ir apatinės ribos neturi viršyti 20 %. Kai pašarų užteršimas daug mažesnis nei didžiausias leistinas kiekis, skirtumas gali būti nuo 25 % iki 40 %.

7. **Atrankos metodai**

7.1. *Įvadinė dalis*

Taikant atrankos metodą, gali būti atliekami įvairūs analizės būdai: atranka ir kiekybinė analizė.

▼B

A t r a n k a

Mėginių reakcija lyginama su etaloninio mėginio reakcija esant atitinkamam interesų lygiui. Mėginiai, reagavę mažiau nei etaloniniai mėginiai, pripažįstami neigiami, o reagavę daugiau – gali būti teigiami. Reikalavimai atrankai:

— tuščiasis ir etaloninis mėginys (mėginiai) turi būti įtraukti į kiekvieną mėginių seriją ir ekstrahuojami bei tiriami tomis pačiomis sąlygomis. Etaloninio mėginio reakcija turi būti labai aiški palyginti su tuščiojo mėginio reakcija;

— siekiant parodyti, kad tyrimas tinkamai atliktas interesų lygiu, į mėginių seriją turėtų būti įtraukti papildomi etaloniniai mėginiai su perpus mažesne ir du kartus didesne koncentracija nei interesų lygis;

— tiriant kitas matricas turi būti įrodytas etaloninio mėginio (mėginių) tinkamumas – geriausia naudoti mėginius, kurių TE lygis (ištyrus DSGDCh/DSGMS) artimas etaloninio mėginio TE lygiui, arba tuščiąjį mėginį, pažymėtą iki tokio pat lygmens;

— kadangi biologiniame tyrime negali būti naudojamas vidinis etaloninis tirpalas, labai svarbus yra pakartojamumo tyrimas siekiant gauti informacijos apie standartinį nuokrypį vienoje tyrimų serijoje. Variacijos koeficientas turėtų būti mažesnis nei 30 %;

— biologiniame tyrime turi būti apibūdinti tiksliniai junginiai, galima interferencija ir didžiausi leistini tuštieji lygiai.

K i e k y b i n ë a n a l i z ë

Kiekybinei analizei reikia etalonų skiedimo serijos, dvigubo ar trigubo išvalymo ir tuščiojo mėginio bei regeneravimo kontrolės. Rezultatas gali būti išreiškiamas TE, laikant, kad junginiai, rodantys reakciją, yra TE sudedamosios dalys. Tai gali būti atlikta naudojant TCDD (ar dioksino/furano etaloninį mišinį) siekiant gauti kalibravimo kreivę TE lygiui apskaičiuoti ekstrakte, taigi ir mėginyje. Šis lygis toliau tikslinamas apskaičiavus tuščiojo mėginio TE lygį (atsižvelgiant į naudojamų tirpiklių ir chemikalų priemaišas) ir regeneruotą kiekį, apskaičiuotą iš kokybės kontrolės mėginio (kai koncentracija artima interesų ribai) TE lygio. Būtina atkreipti dėmesį, kad dalis regeneravimo nuostolių gali būti dėl matricos poveikio ar (ir) skirtumų tarp biologinio tyrimo TTE verčių ir PSO nustatytų oficialių TTE verčių.

7.2. *Reikalavimai, taikomi atrankos analizės metodams:*

— Atrankai gali būti taikomi DCh/MS analizės metodai ir biologiniai tyrimai. DCh/MS metodams taikomi reikalavimai išdėstyti 6 punkte. Specialūs reikalavimai, taikomi biologiniams tyrimams su ląstelėmis, išdėstyti 7.3 punkte, o biologiniams tyrimams naudojant gatavus medžiagų rinkinius – 7.4 punkte.

— Būtina informacija apie didelės mėginių serijos klaidingai teigiamus ir klaidingai neigiamus rezultatus (palyginti su TE verte, gauta patvirtinamuoju analizės metodu) žemiau ir virš didžiausio leistino ar priemonių taikymo lygio. Klaidingai neigiamų rezultatų turi būti mažiau kaip 1 %. Kad atrankos priemonių panaudojimas būtų naudingas, klaidingai teigiamų rezultatų procentinis kiekis taip pat turi būti nedidelis.

— Teigiami rezultatai visuomet turi būti patvirtinti patvirtinamaisiais cheminės analizės metodais (DSGDCh/DSGMS). Be to, apytikriai 2 %–10 % mėginių, kurių rezultatai neigiami ir kurių TE verčių intervalas yra platus, turi būti ištirta DSGDCh/DSGMS. Turi būti prieinama informacija apie biologinių tyrimų ir DSGDCh/DSGMS rezultatų atitikimą.

7.3. *Specifiniai reikalavimai biologiniams tyrimams su ląstelėmis:*

— Kai atliekamas biologinis tyrimas, kiekviename tyrime naudojama serija etaloninės koncentracijos TCDD ar dioksino/furano mišinio tirpalų (visos dozės ir reakcijos kreivė, kai R^2>0,95). Tačiau tiriant mažas koncentracijas turinčius mėginius, atrankai turėtų būti taikoma mažų koncentracijų kreivė.

— Siekiant periodiškai gauti biologinio tyrimo rezultatą, kokybės kontrolės plokštelėje turi būti naudojami etaloninių koncentracijų TCDD tirpalai (apie tris kartus didesnių nei nustatymo riba). Kitas būdas galėtų būti pamatinio mėginio santykinė reakcija palyginti su kalibravimo kreive, nes ląstelių reakcija priklauso nuo daugelio veiksnių.

▼B

— Kokybės kontrolės diagramos kiekvienos rūšies pamatinei medžiagai turi būti užrašomos ir tikrinamos pagal nustatytas rekomendacijas.

— Kiekybiniams skaičiavimams turi būti naudojami tokiu būdu praskiesti mėginiai, kad indukcija būtų kalibravimo kreivės tiesinėje dalyje. Mėginiai, sureagavę virš tiesinės kreivės dalies, turi būti skiedžiami ir tiriami iš naujo. Todėl rekomenduojama iš karto tirti tris ar daugiau vieno mėginio praskiestus tirpalus;

— Kiekvieno praskiesto mėginio tirpalo trijų tyrimų rezultatų procentinis standartinis nuokrypis neturi viršyti 15 %, o trijų atskirų to paties mėginio bandymų – 30 %.

— Aptikimo riba gali būti tris kartus didesnė nei tuščiojo tirpiklio ar foninės reakcijos standartinis nuokrypis. Kitas būdas yra taikyti reakciją virš fono, apskaičiuoto iš kalibravimo kreivės, gautos bandymo dieną (tuščiojo tirpiklio fonas padaugintas iš 5). Nustatymo riba gali būti 5 kartus didesnė nei tuščiojo tirpiklio ar foninės reakcijos atsako standartinis nuokrypis arba taikyti atsaką, aiškiai išsiskiriantį iš fono, apskaičiuoto iš kalibracinės kreivės, gautos bandymo dieną (tuščiojo tirpiklio fonas padaugintas iš 10).

7.4. *Specifiniai reikalavimai biologiniams tyrimams naudojant gatavus medžiagų rinkinius* ([1]):

— ruošiant ir tiriant mėginius turi būti vadovaujamasi gamintojo instrukcijomis;

— neturėtų būti naudojami rinkiniai su pasibaigusiu galiojimo laiku;

— neturėtų būti naudojamos medžiagos ar komponentai, skirti kitiems rinkiniams;

— tyrimų rinkiniai turėtų būti laikomi ir naudojami tik nurodytoje temperatūroje;

— imunologinio tyrimo aptikimo riba nustatoma kaip vidurkio ir dešimties kartotinių tuščiojo mėginio analizių standartinio nuokrypio, padauginto iš trijų, suma, padalyta iš linijinės regresijos lygties nuožulnumo vertės;

— laboratoriniams tyrimams turėtų būti naudojami pamatiniai etalonai, siekiant įsitikinti, kad etalono sukelta reakcija neviršija priimtinų ribų.

8. **Ataskaita**

Kad ataskaitoje būtų kuo daugiau informacijos, leidžiančios interpretuoti rezultatus pagal specialius reikalavimus, turėtų būti pateikiamos, kiek leidžia analizinė procedūra, atskirų dioksinų (PCDD/PCDF) ir PCB struktūrinių analogų koncentracijos, taip pat viršutinė, apatinė bei vidurinė ribos.

Ataskaitoje taip pat turi būti duomenys apie lipidų kiekį ir jų ekstrahavimui taikytą metodą.

Turi būti prieinami duomenys apie pavienių vidinių etalonų regeneravimą, jei jis viršija 6 punkte minimas ribas, tais atvejais, jei viršijama didžiausia leistina koncentracija ir kitais atvejais pagal pareikalavimą.

([1]) Iki šiol nėra jokio įrodymo apie pakankamą biologinių tyrimų naudojant gatavus komercinius rinkinius jautrį ir patikimumą, kad būtų galima šiuos metodus taikyti reikalaujamos koncentracijos dioksinų paieškai maisto ir pašarų mėginiuose.