**Dit document vormt slechts een documentatiehulpmiddel en verschijnt buiten de verantwoordelijkheid van de instellingen**

►**B**

# RICHTLIJN 2002/70/EG VAN DE COMMISSIE

**van 26 juli 2002**

**tot vaststelling van voorschriften voor de gehaltebepaling van dioxinen en dioxineachtige PCB's in diervoeders**

**(Voor de EER relevante tekst)**

(PB L 209 van 6.8.2002, blz. 15)

Gewijzigd bij:

| | | Publicatieblad | | |
|---|---|---|---|---|
| | | nr. | blz. | datum |
| ►**M1** | Richtlijn 2005/7/EG van de Commissie van 27 januari 2005 | L 27 | 41 | 29.1.2005 |

▼B

# RICHTLIJN 2002/70/EG VAN DE COMMISSIE

**van 26 juli 2002**

**tot vaststelling van voorschriften voor de gehaltebepaling van dioxinen en dioxineachtige PCB's in diervoeders**

**(Voor de EER relevante tekst)**

DE COMMISSIE VAN DE EUROPESE GEMEENSCHAPPEN,

Gelet op het Verdrag tot oprichting van de Europese Gemeenschap,

Gelet op Richtlijn 70/373/EEG van de Raad van 20 juli 1970 betreffende de invoering van de gemeenschappelijke bemonsterings- en analysemethoden voor de officiële controle van veevoeders ([1]), laatstelijk gewijzigd bij de Akte van Toetreding van Oostenrijk, Finland en Zweden, en met name op artikel 2,

Overwegende hetgeen volgt:

(1) Bij Richtlijn 1999/29/EG van de Raad van 22 april 1999 inzake ongewenste stoffen en producten in diervoeding ([2]), laatstelijk gewijzigd bij Richtlijn 2001/102/EG ([3]), zijn maximumgehalten vastgesteld voor dioxinen en furanen in een aantal voedermiddelen en diervoeders.

(2) Er moeten voorschriften voor de analysemethoden worden vastgesteld om te garanderen dat de laboratoria analysemethoden van een vergelijkbaar niveau gebruiken.

(3) De bepalingen inzake de bemonsteringswijzen en de analysemethoden worden vastgesteld op basis van de huidige kennis en moeten kunnen worden aangepast aan de ontwikkeling van wetenschap en techniek.

(4) De bij deze richtlijn vastgestelde bepalingen gelden alleen voor de analyse van dioxinen en dioxineachtige PCB's ter uitvoering van Richtlijn 2001/102/EG tot wijziging van Richtlijn 1999/29/EG inzake ongewenste stoffen en producten in diervoeding.

(5) Er moet een actieve aanpak worden gevolgd om uitvoerige en betrouwbare gegevens over de aanwezigheid van dioxineachtige PCB's in voedermiddelen en diervoeders te verkrijgen. Daarom moeten er voorschriften worden vastgesteld voor de analysemethoden die worden gebruikt voor de gehaltebepaling van dioxineachtige PCB's in voedermiddelen en diervoeders.

(6) Met behulp van een gevalideerde en als zodanig op grote schaal aanvaarde screeningsmethode met hoge doorvoer kunnen de monsters met een hoog dioxinegehalte worden uitgeselecteerd. Het dioxinegehalte in deze monsters moet dan met behulp van een bevestigingsmethode worden bepaald. Daarom moeten er voorschriften voor de bevestigingsmethoden en voor de screeningsmethode worden vastgesteld.

(7) De in deze richtlijn vervatte maatregelen zijn in overeenstemming met het advies van het Permanent Comité voor de voedselketen en de diergezondheid,

HEEFT DE VOLGENDE RICHTLIJN VASTGESTELD:

*Artikel 1*

De lidstaten zorgen ervoor dat de bemonstering voor de officiële controle op de maximumgehalten aan dioxinen en furanen en de gehaltebepaling van dioxineachtige PCB's in diervoeders worden uitgevoerd overeenkomstig bijlage I.

([1]) PB L 170 van 3.8.1970, blz. 2.
([2]) PB L 115 van 4.5.1999, blz. 32.
([3]) PB L 6 van 10.1.2002, blz. 45.

▼B

*Artikel 2*

De lidstaten zorgen ervoor dat de monstervoorbereiding en de analysemethoden die worden gebruikt voor de officiële controle op de maximumgehalten aan dioxinen en furanen en de gehaltebepaling van dioxineachtige PCB's in diervoeders voldoen aan de in bijlage II beschreven criteria.

*Artikel 3*

De lidstaten doen de nodige wettelijke en bestuursrechtelijke bepalingen in werking treden om uiterlijk op 28 februari 2003 aan deze richtlijn te voldoen. Zij stellen de Commissie daarvan onverwijld in kennis.

Wanneer de lidstaten deze bepalingen aannemen, wordt in die bepalingen naar deze richtlijn verwezen of wordt hiernaar verwezen bij de officiële bekendmaking van de bepalingen. De regels voor deze verwijzing worden vastgesteld door de lidstaten.

*Artikel 4*

Deze richtlijn treedt in werking op de twintigste dag volgende op die van haar bekendmaking in het *Publicatieblad van de Europese Gemeenschappen*.

*Artikel 5*

Deze richtlijn is gericht tot de lidstaten.

▼B

*BIJLAGE I*

**BEMONSTERINGSMETHODEN VOOR DE OFFICIËLE CONTROLE OP HET GEHALTE AAN DIOXINEN (PCDD's/PCDF's) EN DE GEHALTEBEPALING VAN DIOXINEACHTIGE PCB's IN BEPAALDE DIERVOEDERS**

▼M1

1. **Doel en toepassingsgebied**

De monsters voor de officiële controle op het gehalte aan dioxinen (PCDD's/PCDF's) en voor de gehaltebepaling van dioxineachtige PCB's ([1]) in diervoeders worden genomen overeenkomstig de bepalingen van Richtlijn 76/371/EEG. De kwantitatieve vereisten betreffende de controle van stoffen of producten die gelijkmatig in het voeder zijn verdeeld, zoals beschreven in punt 5.A van de bijlage bij Richtlijn 76/371/EEG, zijn van toepassing. De op die manier verkregen verzamelmonsters worden representatief geacht voor de partijen of subpartijen waarvan zij zijn genomen. Op basis van de gehalten die in de laboratoriummonsters worden geconstateerd, wordt bepaald of de partijen voldoen aan de maximumgehalten zoals vastgesteld bij Richtlijn 2002/32/EG van het Europees Parlement en de Raad ([2]).

2. **Overeenstemming van de partij of subpartij met de eisen**

De partij wordt aanvaard als het resultaat van één analyse het desbetreffende maximumgehalte zoals vastgelegd in Richtlijn 2002/32/EG niet overschrijdt, rekening houdend met de meetonzekerheid.

De partij is niet in overeenstemming met het in Richtlijn 2002/32/EG vastgelegde maximumgehalte als het door een duplobepaling bevestigde en als gemiddelde van minstens twee afzonderlijke bepalingen berekende analyseresultaat het maximumgehalte buiten redelijke twijfel overschrijdt, rekening houdend met de meetonzekerheid.

De meetonzekerheid wordt volgens een van de volgende methoden verdisconteerd:

— door de uitgebreide onzekerheid te berekenen met een dekkingsfactor 2, wat een betrouwbaarheidsniveau van ongeveer 95 % oplevert,

([1]) Tabel van dioxineachtige PCB's

| Congeneer | TEF | Congeneer | TEF |
|---|---|---|---|
| Dibenzo-p-dioxinen **(„PCDD's")** | | „Dioxineachtige" PCB's: **non-ortho-PCB's + mono-ortho-PCB's)** | |
| 2,3,7,8-TCDD | 1 | **Non-ortho-PCB's** | **Mono-ortho-PCB's** |
| 1,2,3,7,8-PeCDD | 1 | PCB 77 | 0,0001 |
| 1,2,3,4,7,8-HxCDD | 0,1 | PCB 81 | 0,0001 |
| 1,2,3,6,7,8-HxCDD | 0,1 | PCB 126 | 0,1 |
| 1,2,3,7,8,9-HxCDD | 0,1 | PCB 169 | 0,01 |
| 1,2,3,4,6,7,8-HpCDD | 0,01 | | |
| OCDD | 0,0001 | | |
| Dibenzofuranen **(„PCDF's")** | | **Mono-ortho-PCB's** | |
| 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 |
| 1,2,3,4,7,8,9-HpCDF | 0,01 | | |
| OCDF | 0,0001 | | |

Gebruikte afkortingen: „T" = tetra; „Pe" = penta; „Hx" = hexa; „Hp" = hepta; „O" = octa; „CDD" = chloordibenzo-p-dioxine; „CDF" = chloordibenzofuran; „CB" = chloorbifenyl.

([2]) PB L 140 van 30.5.2002, blz. 10.

▼M1

— door de beslissingsgrens (CCα) te bepalen overeenkomstig Beschikking 2002/657/EG van de Commissie ([1]) (punt 3.1.2.5 van de bijlage – stoffen waarvoor een toelaatbaar gehalte is vastgesteld).

Deze interpretatievoorschriften gelden voor het analyseresultaat van het monster voor officiële controledoeleinden. Zij doen geen afbreuk aan het recht van de lidstaten om nationale voorschriften vast te stellen voor verhaal- en arbitragedoeleinden als bedoeld in artikel 18 van Richtlijn 95/53/EG ([2]).

([1]) PB L 221 van 17.8.2002, blz. 8.
([2]) PB L 265 van 8.11.1995, blz. 17.

▼B

*BIJLAGE II*

**MONSTERVOORBEREIDING EN VOORSCHRIFTEN VOOR DE ANALYSEMETHODEN DIE WORDEN GEBRUIKT VOOR DE OFFICIËLE CONTROLE OP HET GEHALTE AAN DIOXINEN (PCDD's/PCDF's) EN DE GEHALTEBEPALING VAN DIOXINEACHTIGE PCB's IN BEPAALDE DIERVOEDERS**

1. **Doel en toepassingsgebied**

Deze voorschriften gelden voor de analyse van voedermiddelen en diervoeders ter bepaling van het gehalte aan dioxinen (polychloordibenzo-p-dioxinen (PCDD's) en polychloordibenzofuranen (PCDF's)) en dioxineachtige polychloorbifenylen (PCB's).

De aanwezigheid van dioxinen in diervoeders kan worden nagegaan aan de hand van een screeningsmethode waarmee monsters met een gehalte aan dioxinen en dioxineachtige PCB's dat minder dan 30-40 % onder het betrokken concentratieniveau ligt of dat overschrijdt, worden uitgeselecteerd. De dioxineconcentratie in deze uitgeselecteerde monsters moet worden bepaald of bevestigd met behulp van een bevestigingsmethode.

Screeningsmethoden zijn methoden die worden gebruikt om de aanwezigheid van dioxinen en dioxineachtige PCB's op het betrokken concentratieniveau vast te stellen. Met deze methoden kunnen in korte tijd veel monsters worden verwerkt en ze worden gebruikt om uit grote aantallen monsters die monsters te selecteren die mogelijk positief reageren. Zij zijn er specifiek op gericht fout-negatieve resultaten te vermijden.

Bevestigingsmethoden zijn methoden die volledige of aanvullende informatie leveren voor de ondubbelzinnige identificatie en bepaling van dioxinen en dioxineachtige PCB's op het betrokken concentratieniveau.

2. **Achtergrond**

Aangezien milieumonsters en biologische monsters (met inbegrip van monsters van voedermiddelen en diervoeders) in de regel complexe mengsels van verschillende dioxinecongeneren bevatten, is het begrip toxische-equivalentiefactoren (TEF's) ontwikkeld om de risicobeoordeling te vergemakkelijken. Deze TEF's zijn vastgesteld om de concentraties van mengsels van 2,3,7,8-gesubstitueerde PCDD's en PCDF's, en later ook een aantal non-ortho- en mono-ortho-chloorgesubstitueerde PCB's die dioxineachtige activiteit bezitten, uit te drukken in toxische equivalenten (TEQ's) 2,3,7,8-TCDD (zie voetnoot 1 van bijlage I).

De concentraties van de verschillende stoffen in een monster worden elk met de bijbehorende TEF vermenigvuldigd en vervolgens bij elkaar opgeteld ter verkrijging van de totale concentratie aan dioxineachtige verbindingen, uitgedrukt in TEQ's.

Om de bovengrens te berekenen wordt de bijdrage van elke niet-bepaalde congeneer aan de TEQ gelijkgesteld aan de bepaalbaarheidsgrens.

Om de ondergrens te berekenen wordt de bijdrage van elke niet-bepaalde congeneer aan de TEQ gelijkgesteld aan nul.

Om de middelwaarde te berekenen wordt de bijdrage van elke niet-bepaalde congeneer aan de TEQ gelijkgesteld aan de helft van de bepaalbaarheidsgrens.

▼M1

Uitsluitend met het oog op de toepassing van deze richtlijn is de aanvaarde specifieke bepaalbaarheidsgrens van een afzonderlijke congeneer gelijk aan de concentratie van een analyt in een monsterextract die voor de twee te meten ionen een instrumentele respons geeft met een signaal-ruisverhouding van 3:1 voor het zwakste signaal, waarbij voldaan wordt aan de basiseisen zoals retentietijd en isotopenverhouding overeenkomstig de bepalingsmethode die wordt beschreven in EPA method 1613 revision B.

▼B

3. **Kwaliteitsborgingsvoorschriften voor de monstervoorbereiding**

De algemene bepalingen betreffende de bereiding van monsters voor analyse van de bijlage bij Richtlijn 81/680/EEG van de Commissie van 30 juli 1981 tot wijziging van de Richtlijnen 71/250/EEG, 71/393/EEG, 72/199/EEG, 73/46/EEG, 74/203/EEG, 75/84/EEG, 76/372/EEG en 78/633/EEG houdende

▼B

vaststelling van gemeenschappelijke analysemethoden voor de officiële controle van diervoeders ([1]) zijn van toepassing.

Daarnaast moet aan de volgende voorschriften worden voldaan:

— De monsters moeten worden bewaard en vervoerd in recipiënten van glas, aluminium, polypropyleen of polyethyleen. Sporen papierstof moeten van de monsterrecipiënt verwijderd worden. Het glaswerk moet worden gespoeld met oplosmiddelen die van tevoren op de aanwezigheid van dioxinen zijn gecontroleerd.

— Er moet een blancobepaling worden verricht door de gehele analyseprocedure met weglating van het monster uit te voeren.

— Er moet een voldoende grote hoeveelheid monster worden geëxtraheerd om aan de eisen inzake de gevoeligheid te voldoen.

4. **Voorschriften voor de laboratoria**

— De laboratoria moeten de prestaties aantonen van een methode in de buurt van het betrokken concentratieniveau, bv. 0,5-maal, eenmaal en tweemaal het betrokken concentratieniveau met een aanvaardbare variatiecoëfficiënt voor herhaalde analyse. Zie voor de bijzonderheden met betrekking tot de acceptatiecriteria punt 5.

— De bepaalbaarheidsgrens voor een bevestigingsmethode dient ongeveer een vijfde van het betrokken concentratieniveau te zijn, zodat om en nabij het betrokken concentratieniveau aanvaardbare variatiecoëfficiënten worden verkregen.

— Bij wijze van interne kwaliteitsborging moeten voortdurend blancobepalingen en bepalingen op verrijkte monsters of controlemonsters (bij voorkeur gecertificeerde referentiematerialen, indien beschikbaar) worden uitgevoerd.

— Het met goed gevolg deelnemen aan interlaboratoriumonderzoeken ter bepaling van de geschiktheid van laboratoria is de beste manier om de bekwaamheid tot het uitvoeren van specifieke analyses aan te tonen. Succesvolle deelname aan interlaboratoriumonderzoeken voor bv. bodem- of afvalwatermonsters bewijst echter nog niet noodzakelijk dat een laboratorium ook monsters van levensmiddelen en diervoeders, waarin de verontreinigingsconcentraties lager zijn, kan analyseren. Daarom is het verplicht om steeds deel te nemen aan interlaboratoriumonderzoeken voor de gehaltebepaling van dioxinen en dioxineachtige PCB's in de betrokken matrices (levensmiddelen en diervoeders).

— De laboratoria moeten door een erkende instantie die werkt volgens ISO-handleiding 58 geaccrediteerd zijn om te garanderen dat zij kwaliteitsborging op hun analyses toepassen. De laboratoria moeten geaccrediteerd zijn overeenkomstig de norm ISO/IEC/17025:1999.

5. **Voorschriften voor de analysemethode voor dioxinen en dioxineachtige PCB's**

*Basisvoorschriften voor de acceptatie van analysemethoden*

— *Hoge gevoeligheid en lage aantoonbaarheidsgrenzen*. Voor PCDD's en PCDF's moeten de aantoonbaarheidsgrenzen in het picogram TEQ-gebied ($10^{-12}$ g) liggen in verband met de extreme toxiciteit van sommige van deze verbindingen. Het is bekend dat PCB's in hogere concentraties voorkomen dan PCDD's en PCDF's. Voor de meeste PCB-congeneren is een gevoeligheid in het nanogramgebied ($10^{-9}$ g) al voldoende. Voor de bepaling van de sterker toxische dioxineachtige PCB-congeneren (met name non-ortho-gesubstitueerde congeneren) moet echter dezelfde gevoeligheid worden gehaald als voor PCDD's en PCDF's.

— *Hoge selectiviteit (specificiteit)*. PCDD's, PCDF's en dioxineachtige PCB's moeten kunnen worden onderscheiden van tal van andere stoffen die ook worden geëxtraheerd en de bepaling kunnen storen en die aanwezig zijn in concentraties die enkele orden van grootte hoger kunnen liggen dan de concentraties van de te bepalen analyten. Bij gaschromatografie-massaspectrometriemethoden (GC/MS) moet onderscheid kunnen worden gemaakt tussen de verschillende congeneren, bv. tussen toxische congeneren (zoals de 17 2,3,7,8-gesubstitueerde PCDD's en PCDF's en dioxineachtige PCB's) en andere congeneren. Met behulp van bioassays kunnen de TEQ-waarden

([1]) PB L 246 van 29.8.1981, blz. 32.

▼B

selectief als de som van PCDD's, PCDF's en dioxineachtige PCB's worden bepaald.

— *Grote nauwkeurigheid (juistheid en precisie)*. De bepaling moet een valide en betrouwbare schatting van de werkelijke concentratie in een monster opleveren. Grote nauwkeurigheid (nauwkeurigheid van de meting: de mate van overeenstemming tussen het meetresultaat en de werkelijke of toegekende waarde van de te meten grootheid) is vereist om afwijzing van een analyse-uitkomst van een monster op grond van de geringe betrouwbaarheid van de raming van de TEQ's te voorkomen. De nauwkeurigheid wordt uitgedrukt als juistheid (verschil tussen de gemiddelde waarde die is gemeten voor een analyt in een gecertificeerd referentiemateriaal en zijn gecertificeerde waarde, uitgedrukt als percentage van deze laatste waarde) en precisie (de precisie wordt gewoonlijk berekend als standaardafwijking, inclusief herhaalbaarheid en reproduceerbaarheid, en geeft de mate van overeenstemming aan tussen de resultaten die worden verkregen door de testprocedure een aantal malen onder de voorgeschreven omstandigheden toe te passen).

Tot de screeningsmethoden behoren bioassays en GC/MS-methoden; als bevestigingsmethoden worden hogeresolutiegaschromatografie/hogeresolutiemassaspectrometriemethoden (HRGC/HRMS) gebruikt. Bij de totale TEQ-waarde moet aan de volgende criteria voldaan worden:

| | Screeningsmethoden | Bevestigingsmethoden |
|---|---|---|
| Percentage foutnegatieve uitslagen | < 1 % | |
| Juistheid | | – 20 % tot + 20 % |
| Variatiecoëfficiënt | < 30 % | < 15 % |

6. **Specifieke voorschriften voor screenings- en bevestigingsmethoden (GC/MS)**

— Aan het begin van de analyseprocedure, bv. vóór de extractie, moeten $^{13}$C-gelabelde 2,3,7,8-chloorgesubstitueerde interne PCDD/F-standaarden (en $^{13}$C-gelabelde interne dioxineachtige PCB-standaarden, indien dioxineachtige PCB's moeten worden bepaald) worden toegevoegd om de analysemethode te valideren. Er moet ten minste één congeneer voor elk van de tetra- tot octagechloreerde homologe groepen voor PCDD/F's (en ten minste één congeneer voor elk van de homologe groepen voor dioxineachtige PCB's, indien dioxineachtige PCB's moeten worden bepaald) worden toegevoegd (een andere mogelijkheid is het toevoegen van ten minste één congeneer voor elke voor de bepaling van PCDD/F's en dioxineachtige PCB's gebruikte functie voor meting van massaspectrometrisch geselecteerde ionen). Er is een duidelijke voorkeur, zeker in het geval van bevestigingsmethoden, voor het gebruik van alle 17 $^{13}$C-gelabelde 2,3,7,8-gesubstitueerde interne PCDD/F-standaarden en alle twaalf $^{13}$C-gelabelde interne dioxineachtige PCB-standaarden (wanneer dioxineachtige PCB's moeten worden bepaald).

De relatieve responsfactoren moeten ook worden bepaald voor congeneren waarvoor geen $^{13}$C-gelabeld analogon is toegevoegd onder gebruikmaking van geschikte ijkoplossingen.

— In geval van diervoeders van plantaardige oorsprong en diervoeders van dierlijke oorsprong die minder dan 10 % vet bevatten, moeten de interne standaarden vóór de extractie worden toegevoegd. Bij diervoeders van dierlijke oorsprong die meer dan 10 % vet bevatten, kunnen de interne standaarden hetzij vóór de extractie worden toegevoegd, hetzij na de vetextractie. Er moet een geschikte validatie van de extractie-efficiëntie worden uitgevoerd, afhankelijk van het stadium waarin interne standaarden worden geïntroduceerd en van de vraag of de resultaten op product- of vetbasis worden weergegeven.

— Voordat de GC/MS-analyse wordt uitgevoerd, moeten een of twee standaarden (surrogaten) worden toegevoegd ter bepaling van de terugvinding.

— Bepaling van de terugvinding is noodzakelijk. Voor bevestigingsmethoden moet de terugvinding van de verschillende interne standaarden tussen 60 en 120 % liggen. Lagere of hogere terugvindingspercentages voor bepaalde congeneren, met name voor sommige hepta- en octagechloreerde dibenzodioxinen en dibenzofuranen, kunnen worden

▼B

geaccepteerd mits hun bijdrage tot de TEQ-waarde niet meer dan 10 % van de totale TEQ-waarde (gebaseerd op uitsluitend PCDD/F's) bedraagt. Voor screeningsmethoden moet de terugvinding tussen de 30 en 140 % liggen.

— De dioxinen moeten met behulp van geschikte chromatografische technieken worden gescheiden van storende chloorverbindingen zoals PCB's en gechloreerde difenylethers (bij voorkeur met behulp van een florisil-, aluminiumoxide- en/of koolstofkolom).

— De gaschromatografische scheiding van de isomeren moet voldoende zijn (< 25 % piek-piek tussen 1,2,3,4,7,8-HxCDF en 1,2,3,6,7,8-HxCDF).

— De bepaling dient te gebeuren volgens EPA Method 1613 revision B: Tetra- through octa-chlorinated dioxins and furans by isotope dilution HRGC/HRMS, of een methode met gelijkwaardige prestatiecriteria.

— Het verschil tussen het hoogste en het laagste niveau mag niet meer dan 20 % bedragen voor diervoeders met een dioxineverontreiniging in de buurt van of boven het maximumniveau. Voor diervoeders waarvan het gehalte aan verontreinigingen ver boven het maximumgehalte ligt, mag het verschil tussen 25 en 40 % liggen.

7. **Screeningsmethoden**

7.1. *Inleiding*

Er kunnen verschillende benaderingen worden gevolgd voor de screeningsmethode: een echte screening en een kwantitatieve benadering.

Screening

De respons van de monsters wordt vergeleken met die van een referentiemonster bij het betrokken concentratieniveau. Monsters die een kleinere respons vertonen dan het referentiemonster worden als negatief aangemerkt, monsters met een grotere respons als verdacht positief. Eisen:

— In elke testreeks moeten een blanco en een referentiemonster worden meegenomen, die op hetzelfde moment onder identieke omstandigheden worden geëxtraheerd en onderzocht. Het referentiemonster moet een duidelijk verhoogde respons te zien geven in vergelijking met een blanco.

— Er moeten extra referentiemonsters met een concentratie van 0,5-maal en tweemaal het betrokken concentratieniveau worden onderzocht om aan te tonen dat de test in het voor de controle van het betrokken concentratieniveau relevante concentratiebereik voldoet.

— Bij het onderzoeken van andere matrices moet nagegaan worden of de referentiemonsters geschikt zijn, bij voorkeur door monsters te onderzoeken waarvan met HRGC/HRMS is aangetoond dat zij een TEQ-waarde omstreeks dat van het referentiemonster hebben, dan wel een tot die concentratie verrijkt blancomonster.

— Aangezien er bij bioassays geen interne standaarden kunnen worden gebruikt, zijn herhaalbaarheidstests van groot belang om gegevens te verkrijgen over de standaardafwijking binnen één testreeks. De variatiecoëfficiënt moet kleiner dan 30 % zijn.

— Voor bioassays moeten de doelverbindingen, de mogelijke storingen en de maximaal toelaatbare blancowaarden worden vastgesteld.

Kwantitatieve benadering

Voor de kwantitatieve benadering zijn standaardverdunningsreeksen, cleanup en bepaling in duplo of triplo, alsmede blanco- en terugvindingsbepalingen nodig. Het resultaat kan worden uitgedrukt als TEQ, waarbij wordt aangenomen dat de verbindingen die het signaal geven voldoen aan het TEQ-principe. Dit kan worden gedaan door met TCDD (of een standaardmengsel dioxinen/furanen) een ijkkromme te maken om het TEQ-gehalte in het extract en dus in het monster te berekenen. Dit wordt vervolgens gecorrigeerd voor het TEQ-gehalte dat voor een blancomonster is berekend (om te corrigeren voor onzuiverheden afkomstig van de gebruikte oplosmiddelen en chemicaliën) en de terugvinding (berekend uit het TEQ-gehalte in een kwaliteitscontrolemonster met een concentratie omstreeks het betrokken concentratieniveau). *N.B.*: Het schijnbare verlies in de terugvinding kan ten dele te wijten zijn aan matrixeffecten en/of verschillen tussen de TEF-waarden in de bioassays en de officiële TEF-waarden die door de Wereldgezondheidsorganisatie zijn vastgesteld.

▼B

7.2. *Voorschriften voor screeningsmethoden*

— Voor screening kunnen GC/MS-methoden en bioassays worden gebruikt. Voor GC/MS-methoden moeten de in punt 6 beschreven voorschriften worden gebruikt. Voor bioassays op basis van cellen zijn specifieke voorschriften vastgelegd in punt 7.3 en voor bioassays op basis van kits in punt 7.4.

— Er moet informatie beschikbaar zijn over het aantal fout-positieve en fout-negatieve uitslagen in een groot aantal monsters onder en boven het maximumniveau of actieniveau in vergelijking met het TEQ-gehalte dat met behulp van een bevestigingsmethode is bepaald. Het werkelijke percentage fout-negatieve uitslagen moet kleiner dan 1 % zijn. Het percentage fout-positieve monsters moet zo klein zijn dat gebruik als screeningstest zinvol is.

— Positieve resultaten moeten altijd door middel van een bevestigingsmethode (HRGC/HRMS) bevestigd worden. Daarnaast moeten monsters uit een groot TEQ-bereik worden bevestigd met HRGC/HRMS (ongeveer 2-10 % van de negatieve monsters). Er moet informatie over de overeenstemming tussen de bioassay- en HRGC/HRMS-resultaten worden verstrekt.

7.3. *Specifieke voorschriften voor bioassays op basis van cellen*

— Bij het uitvoeren van een bioassay is voor elke testrun een reeks referentieconcentraties van TCDD of een dioxine/furanenmengsel vereist (volledige dosis-responscurve met $R^2 > 0{,}95$). Voor screeningsdoeleinden kan echter ook een gedetailleerdere curve voor het lageconcentratiebereik worden gebruikt voor het analyseren van monsters met een laag gehalte.

— Voor het resultaat van de bioassay over een constant tijdsinterval moet een TCDD-referentieconcentratie (ongeveer driemaal de bepaalbaarheidsgrens) op een kwaliteitscontroleformulier worden gebruikt. Een andere mogelijkheid is de relatieve respons van een referentiemonster ten opzichte van de TCDD-ijklijn, aangezien de respons van de cellen van tal van factoren kan afhangen.

— Voor elk soort referentiemateriaal moeten kwaliteitscontrolekaarten worden bijgehouden en gecontroleerd om na te gaan of het resultaat in overeenstemming is met de aangegeven richtsnoeren.

— Met name voor kwantitatieve berekeningen moet de inductie van de gebruikte monsterverdunning in het lineaire gebied van de ijkkromme liggen. Monsters die boven het lineaire gebied van de ijkkromme liggen, moeten worden verdund en opnieuw worden gemeten. Aanbevolen wordt om telkens ten minste drie verdunningen te meten.

— De standaardafwijking mag voor een triplobepaling bij elke monsterverdunning niet meer zijn dan 15 % en bij drie onafhankelijke experimenten niet meer dan 30 %.

— De aantoonbaarheidsgrens kan worden gesteld op driemaal de standaardafwijking van de oplosmiddelblanco of het achtergrondniveau. Een andere mogelijkheid is hiervoor de concentratie te nemen die in de ijkkromme van de testdag overeenkomt met een respons die boven de achtergrond ligt (een inductie van vijfmaal de respons van de oplosmiddelblanco). De bepaalbaarheidsgrens kan worden gesteld op vijf- tot zesmaal de standaardafwijking van de oplosmiddelblanco of het achtergrondniveau; ook kan hiervoor de concentratie worden genomen die in de ijkkromme van de testdag overeenkomt met een respons die duidelijk boven de achtergrond ligt (een inductie van tienmaal de respons van de oplosmiddelblanco).

7.4. *Specifieke voorschriften voor bioassays op basis van kits* ([1])

— De aanwijzingen van de fabrikant voor de monstervoorbereiding en de analyses moeten worden opgevolgd.

— Testkits waarvan de houdbaarheidsdatum is verstreken, mogen niet worden gebruikt.

([1]) Er zijn nog geen gegevens bekend over in de handel verkrijgbare bioassays op basis van kits die gevoelig en betrouwbaar genoeg zijn om te worden gebruikt voor de screening op de aanwezigheid van dioxinen bij de vereiste concentrateniveaus in monsters van levensmiddelen of diervoeders

▼B

— Materiaal of componenten die bedoeld zijn voor andere kits, mogen niet worden gebruikt.

— De testkits moeten worden opgeslagen binnen het aangegeven temperatuurbereik en worden gebruikt bij de aangegeven gebruikstemperatuur.

— De aantoonbaarheidsgrens voor een immunoassay wordt bepaald als de som van het gemiddelde en driemaal de standaardafwijking, verkregen uit tien herhaalde blancoanalyses, gedeeld door de helling van de lineaire regressievergelijking.

— In het laboratorium moeten proeven worden uitgevoerd op referentiestandaarden om na te gaan of de respons van de standaard in de test in een aanvaardbaar bereik ligt.

8. **Rapportage van de resultaten**

Voorzover de gebruikte analyseprocedure dit toelaat, moeten de analyseresultaten de concentratieniveaus van de afzonderlijke PCDD/F- en PCB-congeneren bevatten en worden gerapporteerd als „ondergrens”, „bovengrens” en „middelwaarde” teneinde voldoende details te verstrekken om de resultaten al naar de gestelde eisen te kunnen interpreteren.

Het verslag moet ook het vetgehalte van het monster en de voor vetextractie gehanteerde methode omvatten.

De terugvindingspercentages van de verschillende interne standaarden moeten beschikbaar worden gesteld ingeval de terugvindingspercentage buiten het in punt 6 aangegeven bereik liggen, wanneer het maximumniveau wordt overschreden en in de overige gevallen op verzoek.