Το έγγραφο αυτό συνιστά βοήθημα τεκμηρίωσης και δεν δεσμεύει τα κοινοτικά όργανα

►**B**

ΟΔΗΓΙΑ 2002/69/ΕΚ ΤΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ

►**C1** **30ής Ιουλίου 2002** ◄

για καθορισμό των μεθόδων δειγματοληψίας και των μεθόδων ανάλυσης για τον επίσημο έλεγχο των διοξινών και τον προσδιορισμό των παρόμοιων με τις διοξίνες PCB στα τρόφιμα

(Κείμενο που παρουσιάζει ενδιαφέρον για τον ΕΟΧ)

(ΕΕ L 209 της 6.8.2002, σ. 5)

Διορθώνεται από:

►**C1** Διορθωτικό ΕΕ L 252 της 20.9.2002, σ. 40 (2002/69/ΕΚ)

▼B

ΟΔΗΓΙΑ 2002/69/ΕΚ ΤΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ

της ►C1 30ής Ιουλίου 2002 ◄

για καθορισμό των μεθόδων δειγματοληψίας και των μεθόδων ανάλυσης για τον επίσημο έλεγχο των διοξινών και τον προσδιορισμό των παρόμοιων με τις διοξίνες PCB στα τρόφιμα

(Κείμενο που παρουσιάζει ενδιαφέρον για τον ΕΟΧ)

Η ΕΠΙΤΡΟΠΗ ΤΩΝ ΕΥΡΩΠΑΪΚΩΝ ΚΟΙΝΟΤΗΤΩΝ,

Έχοντας υπόψη:

τη συνθήκη για την ίδρυση της Ευρωπαϊκής Κοινότητας,

την οδηγία 85/591/ΕΟΚ του Συμβουλίου, της 20ής Δεκεμβρίου 1985, για την καθιέρωση κοινοτικών τρόπων δειγματοληψίας και μεθόδων ανάλυσης για τον έλεγχο των τροφίμων[1] ►C1 , και ιδίως τα άρθρα 1 και 4, ◄

Εκτιμώντας τα ακόλουθα:

(1) Ο κανονισμός (ΕΚ) αριθ. 466/2001 της Επιτροπής[2] όπως τροποποιήθηκε τελευταία από τον κανονισμό (ΕΚ) αριθ. 563/2002[3], όπως τροποποιήθηκε από τον κανονισμό (ΕΚ) αριθ. 2375/2001 του Συμβουλίου[4] καθορίζει τις μέγιστες τιμές ανοχής για τις διοξίνες και τα φουράνια σε ορισμένα τρόφιμα.

(2) Η οδηγία 89/397/ΕΟΚ του Συμβουλίου, της 14ης Ιουνίου 1989, σχετικά με τον επίσημο έλεγχο των τροφίμων[5] θεσπίζει τις γενικές αρχές που διέπουν τη διενέργεια του επίσημου ελέγχου των τροφίμων. Η οδηγία 93/99/ΕΟΚ του Συμβουλίου, της 29ης Οκτωβρίου 1993, σχετικά με τα πρόσθετα μέτρα που αφορούν τον επίσημο έλεγχο των τροφίμων[6] θεσπίζει ένα σύστημα προτύπων ποιότητας για τα εργαστήρια στα οποία ανατίθεται από τα κράτη μέλη ο επίσημος έλεγχος των τροφίμων.

(3) Η οδηγία 85/591/ΕΟΚ έχει καθορίσει τα γενικά κριτήρια για τις μεθόδους δειγματοληψίας και ανάλυσης. Ωστόσο, σε ορισμένες περιπτώσεις, είναι αναγκαίο να θεσπιστούν ειδικότερα κριτήρια ή/και απαιτήσεις τις οποίες πρέπει να τηρεί η μέθοδος ανάλυσης προκειμένου να εξασφαλιστεί ότι τα εργαστήρια χρησιμοποιούν μεθόδους ανάλυσης με συγκρίσιμα επίπεδα απόδοσης.

(4) Οι διατάξεις για τη δειγματοληψία και τις μεθόδους ανάλυσης εκπονήθηκαν με βάση τις τρέχουσες γνώσεις και μπορούν να αναπροσαρμόζονται ώστε να λαμβάνουν υπόψη τις νεότερες επιστημονικές και τεχνολογικές γνώσεις.

(5) Οι διατάξεις που καθορίζονται στην παρούσα οδηγία αφορούν μόνο τη δειγματοληψία και την ανάλυση των διοξινών και των παρόμοιων με διοξίνες PCB για την εφαρμογή του κανονισμού (ΕΚ) αριθ. 466/2001 και δεν επηρεάζουν τη στρατηγική δειγματοληψίας, τα επίπεδα και τη συχνότητα δειγματοληψίας όπως καθορίζονται στα παραρτήματα III και IV της οδηγίας 96/23/ΕΚ του Συμβουλίου, της 29ης Απριλίου 1996 περί της λήψης μέτρων ελέγχου για ορισμένες ουσίες και τα κατάλοιπά τους σε ζώντα ζώα και στα προϊόντα τους και κατάργησης των οδηγιών 85/358/ΕΟΚ και 86/469/ΕΟΚ και των αποφάσεων

---

(1) ΕΕ L 372 της 31.12.1985, σ. 50.
(2) ΕΕ L 77 της 16.3.2001, σ. 1.
(3) ΕΕ L 86 της 3.4.2002, σ. 5.
(4) ΕΕ L 321 της 6.12.2001, σ. 1.
(5) ΕΕ L 186 της 30.6.1989, σ. 23.
(6) ΕΕ L 290 της 24.11.1993, σ. 14.

▼B

89/187/ΕΟΚ και 91/664/ΕΟΚ [1]. Δεν επηρεάζουν τα κριτήρια στοχοθέτησης όπως καθορίζονται στην 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 ζώντα ζώα και στα προϊόντα τους [2].

(6) Πρέπει να επιδιωχθεί μια ενεργός προσέγγιση για την απόκτηση ολοκληρωμένων αξιόπιστων στοιχείων σχετικά με την παρουσία παρόμοιων με τις διοξίνες PCB στα τρόφιμα. Πρέπει, συνεπώς, να καθοριστούν οι απαιτήσεις όσον αφορά τις μεθόδους ανάλυσης που θα χρησιμοποιηθούν για τον προσδιορισμό των παρόμοιων με τις διοξίνες PCB στα τρόφιμα.

(7) Μια μέθοδος ανάλυσης διαλογής (screening) με αποδεδειγμένη, ευρέως αποδεκτή επικύρωση και υψηλή απόδοση μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την επιλογή των δειγμάτων με σημαντικά επίπεδα διοξινών. Τα επίπεδα διοξινών στα δείγματα αυτά πρέπει να προσδιοριστούν στη συνέχεια με μια επιβεβαιωτική μέθοδο ανάλυσης. Συνεπώς, είναι σκόπιμο να θεσπιστούν αυστηρές απαιτήσεις για τις επιβεβαιωτικές μεθόδους ανάλυσης και ελάχιστες απαιτήσεις για τη μέθοδο διαλογής (screening).

(8) Τα μέτρα που προβλέπονται στην παρούσα οδηγία είναι σύμφωνα με τη γνώμη της μόνιμης επιτροπής για την τροφική αλυσίδα και την υγεία των ζώων,

ΕΞΕΔΩΣΕ ΤΗΝ ΠΑΡΟΥΣΑ ΟΔΗΓΙΑ:

Άρθρο 1

Τα κράτη μέλη εξασφαλίζουν ότι η δειγματοληψία για τον επίσημο έλεγχο των επιπέδων των διοξινών και των φουρανίων και τον προσδιορισμό των επιπέδων των παρόμοιων με τις διοξίνες PCB πραγματοποιείται σύμφωνα με τις μεθόδους που περιγράφονται στο παράρτημα I.

Άρθρο 2

Τα κράτη μέλη εξασφαλίζουν ότι η προετοιμασία του δείγματος και οι μέθοδοι ανάλυσης που χρησιμοποιούνται για τον επίσημο έλεγχο των επιπέδων των διοξινών και των φουρανίων και τον προσδιορισμό των επιπέδων των παρόμοιων με τις διοξίνες PCB στα τρόφιμα είναι σύμφωνα με τα κριτήρια που περιγράφονται στο παράρτημα II.

Άρθρο 3

Τα κράτη μέλη θέτουν σε ισχύ τις αναγκαίες νομοθετικές, κανονιστικές και διοικητικές διατάξεις για να συμμορφωθούν με την παρούσα οδηγία το αργότερο έως τις 28 Φεβρουαρίου 2003. Ενημερώνουν αμέσως την Επιτροπή σχετικά.

Όταν τα κράτη μέλη θεσπίζουν τις εν λόγω διατάξεις, οι τελευταίες αυτές περιέχουν παραπομπή στην παρούσα οδηγία ή συνοδεύονται από παρόμοια παραπομπή κατά την επίσημη δημοσίευσή τους. Ο τρόπος της παραπομπής καθορίζεται από τα κράτη μέλη.

Άρθρο 4

Η παρούσα οδηγία αρχίζει να ισχύει την εικοστή ημέρα από τη δημοσίευσή της στην *Επίσημη Εφημερίδα των Ευρωπαϊκών Κοινοτήτων*.

[1] ΕΕ L 125 της 23.5.1996, σ. 10.
[2] ΕΕ L 65 της 5.3.1998, σ. 31.

▼B

Άρθρο 5

Η παρούσα οδηγία απευθύνεται στα κράτη μέλη.

▼B

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι

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

1. **Αντικείμενο και πεδίο εφαρμογής**

Τα δείγματα που προορίζονται για τον επίσημο έλεγχο των επιπέδων περιεκτικότητας των τροφίμων σε διοξίνες (PCDD/PCDF), καθώς και για τον προσδιορισμό της περιεκτικότητας των τροφίμων σε παρόμοια με τις διοξίνες PCBs [1] λαμβάνονται σύμφωνα με τις μεθόδους που περιγράφονται κατωτέρω. Τα συνολικά δείγματα που αποκτήθηκαν με τον τρόπο αυτό θεωρούνται ως αντιπροσωπευτικά των παρτίδων ή υποπαρτίδων από τις οποίες λαμβάνονται. Η συμμόρφωση με τα ανώτατα επίπεδα που καθορίζονται στον κανονισμό (ΕΚ) αριθ. 466/2001 για τον καθορισμό μέγιστων τιμών

[1] Πίνακας TEF της ΠΟΥ για την αξιολόγηση του κινδύνου για τον άνθρωπο με βάση τα συμπεράσματα της συνεδρίασης της Παγκόσμιας Οργάνωσης Υγείας στη Στοκχόλμη της Σουηδίας, 15-18 Ιουνίου 1997 [(Van den Berg et al., 1998) Toxic Equivalency Factors (TEFs) for PCBs, PCDDs, PCDFs for Humans and for Wildlife. Environmental Health Perspectives, 106(12), 775].

Ουσία	Τιμή TEF
Διβενζο-παρα-διοξίνες («PCDD»)	
2,3,7,8-TCDD	1
1,2,3,7,8-PeCDD	1
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0,1
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0,1
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0,1
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0,01
OCDD	0,0001
Διβενζοφουράνια («PCDF»)	
2,3,7,8-TCDF	0,1
1,2,3,7,8-PeCDF	0,05
2,3,4,7,8-PeCDF	0,5
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0,1
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0,1
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0,1
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0,1
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0,01
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0,01
OCDF	0,0001
«Παρόμοια με τις διοξίνες» **PCB Μη-ορθο PCB + Μονο-ορθο PCB**	
Μη-ορθο PCB	
PCB 77	0,0001
PCB 81	0,0001
PCB 126	0,1
PCB 169	0,01
Μονο-ορθο PCB	
PCB 105	0,0001
PCB 114	0,0005
PCB 118	0,0001
PCB 123	0,0001
PCB 156	0,0005
PCB 157	0,0005
PCB 167	0,00001
PCB 189	0,0001

Συντομογραφίες που χρησιμοποιήθηκαν: Τ = τετρα· Pe = πεντα· Hx = εξα· Hp = επτα· Ο = οκτα· CDD = χλωροδιβενζο-διοξίνη· CDF = χλωροδιβενζοφουράνιο· CB = χλωροδιφαινύλιο.

▼B

ανοχής για ορισμένες προσμείξεις στα τρόφιμα καθορίζεται με βάση τα επίπεδα που προσδιορίζονται στα εργαστηριακά δείγματα.

2. **Ορισμοί**

Παρτίδα: η ταυτοποιήσιμη ποσότητα τροφίμου, που παραδίδεται άπαξ και για την οποία έχει διευκρινιστεί 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 των ψαριών και των αλιευτικών προϊόντων πρέπει και το μέγεθός τους να είναι συγκρίσιμο.

Υποπαρτίδα: τμήμα μεγάλης παρτίδας που έχει οριστεί για την εφαρμογή της μεθόδου δειγματοληψίας στο εν λόγω ορισθέν τμήμα. Κάθε υποπαρτίδα πρέπει να διαχωρίζεται φυσικά και να είναι ταυτοποίησιμη.

Στοιχειώδες δείγμα: ποσότητα υλικού που λαμβάνεται από ένα μόνο σημείο της παρτίδας ή της υποπαρτίδας.

Συνολικό δείγμα: το συνδυασμένο σύνολο όλων των στοιχειωδών δειγμάτων που έχουν ληφθεί από την παρτίδα ή την υποπαρτίδα.

Εργαστηριακό δείγμα: αντιπροσωπευτικό τμήμα/ποσότητα συνολικού δείγματος που προορίζεται για το εργαστήριο.

3. **Γενικές διατάξεις**

3.1. *Προσωπικό*

Η δειγματοληψία πρέπει να πραγματοποιείται από επιφορτισμένο για το σκοπό αυτό ειδικευμένο άτομο, σύμφωνα με τις ισχύουσες στο κράτος μέλος διατάξεις.

3.2. *Προϊόν από το οποίο λαμβάνονται δείγματα*

Κάθε προς ανάλυση παρτίδα αποτελεί αντικείμενο ξεχωριστής δειγματοληψίας.

3.3. *Μέτρα προφύλαξης που πρέπει να λαμβάνονται*

Κατά τη διάρκεια της δειγματοληψίας και της προετοιμασίας των δειγμάτων εργαστηρίου, πρέπει να λαμβάνονται προφυλάξεις, προκειμένου να αποφεύγεται οιαδήποτε αλλοίωση, η οποία μπορεί να τροποποιήσει την περιεκτικότητα των διοξινών και των παρόμοιων με διοξίνες PCB, να επηρεάσει αρνητικά τις αναλύσεις ή την αντιπροσωπευτικότητα των συνολικών δειγμάτων.

3.4. *Στοιχειώδη δείγματα*

Κατά το μέτρο του πρακτικού, τα στοιχειώδη δείγματα πρέπει να λαμβάνονται από διαφορετικά σημεία της παρτίδας ή της υποπαρτίδας. Κάθε παρέκκλιση από τη διαδικασία αυτή πρέπει να καταγράφεται στα πρακτικά που προβλέπονται στο σημείο 3.8.

3.5. *Παρασκευή του συνολικού δείγματος*

Το συνολικό δείγμα λαμβάνεται με τη συνένωση όλων των στοιχειωδών δειγμάτων. Πρέπει να είναι τουλάχιστον 1 kg, εκτός εάν δεν είναι δυνατόν, π.χ. στην περίπτωση που έχει ληφθεί για δειγματοληψία μία μόνο συσκευασία.

3.6. *Υποδιαίρεση του συνολικού δείγματος σε εργαστηριακά δείγματα για σκοπούς ελέγχου, δικαιώματος άσκησης προσφυγής και αναφοράς*

Τα εργαστηριακά δείγματα που προορίζονται για την εφαρμογή μέτρων εκτέλεσης, για το εμπόριο ή για λόγους διαιτησίας λαμβάνονται από το ομογενοποιημένο συνολικό δείγμα, υπό τον όρο ότι η διαδικασία αυτή είναι σύμφωνη προς τις ισχύουσες νόμιμες διατάξεις στο κράτος μέλος. Το μέγεθος των εργαστηριακών δειγμάτων που προορίζονται για την εφαρμογή μέτρων εκτέλεσης πρέπει να είναι αρκετό ώστε να μπορεί να γίνει τουλάχιστον διπλή ανάλυση.

3.7. *Συσκευασία και αποστολή των συνολικών δειγμάτων και των εργαστηριακών δειγμάτων*

Κάθε συνολικό και εργαστηριακό δείγμα τίθεται σε καθαρό περιέκτη, από αδρανή ύλη, ο οποίος παρέχει την κατάλληλη

▼B

προστασία του δείγματος από οποιοδήποτε παράγοντα μόλυνσης, από απώλεια των αναλυτέων ουσιών λόγω απορρόφησης από τα εσωτερικά τοιχώματα του περιέκτη και από οποιαδήποτε βλάβη είναι δυνατόν να προκύψει κατά τη διάρκεια της μεταφοράς. Πρέπει να λαμβάνονται όλες οι αναγκαίες προφυλάξεις για να αποτραπεί κάθε αλλοίωση της σύνθεσης του συνολικού δείγματος και του εργαστηριακού δείγματος, η οποία μπορεί να επέλθει κατά τη διάρκεια της μεταφοράς ή της αποθήκευσης.

3.8. *Σφράγιση και σήμανση των συνολικών και των εργαστηριακών δειγμάτων*

Κάθε επίσημο δείγμα σφραγίζεται στον τόπο της δειγματοληψίας και αναγνωρίζεται σύμφωνα με τις ισχύουσες διατάξεις των κρατών μελών. Για κάθε δειγματοληψία, πρέπει να συντάσσονται πρακτικά δειγματοληψίας, τα οποία καθιστούν δυνατή την αναγνώριση, χωρίς αμφισβήτηση, της παρτίδας από την οποία έχει ληφθεί το δείγμα, και πρέπει να αναγράφεται η ημερομηνία και ο τόπος δειγματοληψίας, καθώς και κάθε άλλη συμπληρωματική πληροφορία, η οποία μπορεί να αποβεί χρήσιμη για τον παρασκευαστή.

4. **Σχέδια δειγματοληψίας**

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

Αριθμός των στοιχειωδών δειγμάτων

Στην περίπτωση του γάλακτος και των ελαίων, για τα οποία μπορεί να θεωρηθεί δεδομένη μια ομογενής κατανομή των εν λόγω προσμείξεων σε μια δεδομένη παρτίδα, είναι αρκετό να ληφθούν τρία στοιχειώδη δείγματα ανά μερίδα που αποτελούν το συνολικό δείγμα. Πρέπει να δίνονται τα στοιχεία αναφοράς στον αριθμό μερίδας. Για τα άλλα προϊόντα, ο ελάχιστος αριθμός στοιχειωδών δειγμάτων που θα ληφθούν από την παρτίδα πρέπει να είναι αυτός που αναφέρεται στον πίνακα 1.

Το συνολικό δείγμα που συγκεντρώνει όλα τα στοιχειώδη δείγματα πρέπει να είναι τουλάχιστον 1 kg (βλέπε σημείο 3.5). Τα στοιχειώδη δείγματα πρέπει να έχουν παρόμοιο βάρος. Το βάρος ενός στοιχειώδους δείγματος πρέπει να είναι τουλάχιστον 100 γραμμάρια. Το βάρος του στοιχειώδους δείγματος εξαρτάται από το μέγεθος των σωματιδίων στην παρτίδα. Κάθε παρέκκλιση από τη διαδικασία αυτή πρέπει να καταγράφεται στα πρακτικά που προβλέπονται στο σημείο 3.8. Σύμφωνα με τις διατάξεις της απόφασης 97/747/ΕΚ της Επιτροπής, της 27ης Οκτωβρίου 1997, για τον καθορισμό των επιπέδων και των 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 [1], το μέγεθος του δείγματος για τα αυγά κότας είναι τουλάχιστον δώδεκα αυγά (για χύδην παρτίδες, καθώς και για παρτίδες που αποτελούνται από μεμονωμένες συσκευασίες, πίνακες 1 και 2).

ΠΙΝΑΚΑΣ 1

Ελάχιστος αριθμός στοιχειωδών δειγμάτων που πρέπει να λαμβάνονται από κάθε παρτίδα

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

Εάν η παρτίδα αποτελείται από μεμονωμένες συσκευασίες, τότε ο αριθμός των συσκευασιών που πρέπει να ληφθούν για να αποτελέσουν το συνολικό δείγμα δίνεται στον πίνακα 2.

[1] ΕΕ L 303 της 6.11.1997, σ. 12.

▼B

ΠΙΝΑΚΑΣ 2

Αριθμός συσκευασιών (στοιχειώδη δείγματα) που πρέπει να λαμβάνονται για να αποτελέσουν το συνολικό δείγμα, εάν η παρτίδα αποτελείται από μεμονωμένες συσκευασίες

Αριθμός συσκευασιών ή μονάδων ανά παρτίδα	Αριθμός συσκευασιών ή μονάδων που πρέπει να ληφθούν
1 έως 25	Μία συσκευασία ή μονάδα
26 έως 100	Περίπου 5 %, τουλάχιστον δύο συσκευασίες ή μονάδες
> 100	Περίπου 5 %, κατ' ανώτατο όριο δέκα συσκευασίες ή μονάδες

5. **Συμβατότητα της παρτίδας ή της υποπαρτίδας με τις προδιαγραφές**

Το εργαστήριο ελέγχου αναλύει το εργαστηριακό δείγμα που προορίζεται για την εφαρμογή μέτρων εκτέλεσης σε δύο αναλύσεις, στην περίπτωση που το λαμβανόμενο αποτέλεσμα της πρώτης ανάλυσης είναι λιγότερο από 20 % κάτω από το μέγιστο επίπεδο ή πάνω από το μέγιστο επίπεδο και υπολογίζει τη μέση τιμή των αποτελεσμάτων. Η παρτίδα γίνεται δεκτή, εάν το αποτέλεσμα της πρώτης ανάλυσης είναι περισσότερο από 20 % κάτω από το μέγιστο επίπεδο ή, όταν είναι αναγκαίες δύο αναλύσεις, εάν η μέση τιμή συμμορφώνεται με το αντίστοιχο μέγιστο επίπεδο, όπως ορίζεται στον κανονισμό (ΕΚ) αριθ. 466/2001.

▼B

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ II

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

1. **Στόχος και πεδίο εφαρμογής**

Οι απαιτήσεις αυτές πρέπει να εφαρμόζονται όταν αναλύονται τρόφιμα για τον επίσημο έλεγχο των επιπέδων των διοξινών [πολυχλωριωμένες διβενζο-παρα-διοξίνες (PCDD) και πολυχλωριωμένα διβενζοφουράνια (PCDF)] και τον προσδιορισμό των παρόμοιων με τις διοξίνες PCBs.

Ο έλεγχος για την παρουσία διοξινών στα τρόφιμα μπορεί να διεξαχθεί με μια στρατηγική που θα περιλαμβάνει μια μέθοδο διαλογής (screening) προκειμένου να επιλεγούν εκείνα τα δείγματα με επίπεδα διοξινών και παρόμοιων με τις διοξίνες PCB που είναι λιγότερο από 30-40 % κάτω από το επίπεδο που ενδιαφέρει ή υπερβαίνει το επίπεδο που ενδιαφέρει. Η συγκέντρωση διοξινών στα δείγματα εκείνα με σημαντικά επίπεδα πρέπει να προσδιοριστεί/επιβεβαιωθεί με μια επιβεβαιωτική μέθοδο.

Οι μέθοδοι διαλογής (screening) είναι μέθοδοι που χρησιμοποιούνται για την ανίχνευση της παρουσίας διοξινών και παρόμοιων με διοξίνες PCB στο επίπεδο ενδιαφέροντος. Οι μέθοδοι αυτές έχουν την ικανότητα επεξεργασίας μεγάλων ποσοτήτων και χρησιμοποιούνται για τη διύλιση μεγάλου αριθμού δειγμάτων για πιθανά θετικά. Έχουν σχεδιαστεί ειδικά για την αποφυγή ψευδώς αρνητικών.

Οι μέθοδοι επιβεβαίωσης είναι μέθοδοι που παρέχουν πλήρεις ή συμπληρωματικές πληροφορίες που δίνουν τη δυνατότητα οι διοξίνες και τα παρόμοια με διοξίνες PCB να προσδιοριστούν και να προσδιοριστούν ποσοτικά σαφώς στο επίπεδο που ενδιαφέρει.

2. **Ιστορικό**

Επειδή τα περιβαλλοντικά και βιολογικά δείγματα (συμπεριλαμβανομένων των δειγμάτων τροφίμων) γενικά περιέχουν σύνθετα μείγματα διαφόρων ομοειδών ουσιών της ομάδας των διοξινών, αναπτύχθηκε η έννοια των συντελεστών τοξικής ισοδυναμίας (TEF) ώστε να διευκολυνθεί η αξιολόγηση του κινδύνου. Αυτοί οι TEF δημιουργήθηκαν για να εκφράσουν τις συγκεντρώσεις των μειγμάτων των 2,3,7,8-υποκατεστημένων PCDD και PCDF, και πρόσφατα, ορισμένων μη-ορθο και μονο-ορθο υποκατεστημένων από χλώριο PCB (non-ortho and mono-ortho chlorine substituted PCBs) με δραστικότητα παρόμοια με αυτή των διοξινών σε τοξικά ισοδύναμα (TEQ) 2,3,7,8-TCDD (βλέπε υποσημείωση 1 του παραρτήματος I).

Οι συγκεντρώσεις των μεμονωμένων ουσιών σε κάποιο δεδομένο δείγμα πολλαπλασιάζονται με τον αντίστοιχο TEF τους και στη συνέχεια αθροίζονται για να εξαχθεί η συνολική συγκέντρωση των παρόμοιων με τις διοξίνες ενώσεων εκφρασμένη σε TEQ.

Η έννοια του «ανώτατου ορίου συγκέντρωσης» απαιτεί τη χρησιμοποίηση του ορίου του ποσοτικού προσδιορισμού για τη συμβολή κάθε μη ποσοτικά προσδιορισμένης ομοειδούς ουσίας στο TEQ.

Η έννοια του «κατώτατου ορίου συγκέντρωσης» απαιτεί τη χρησιμοποίηση του μηδέν για τη συμβολή κάθε μη ποσοτικά προσδιορισμένης ομοειδούς ουσίας στο TEQ.

Η έννοια του «μέσου ορίου συγκέντρωσης» απαιτεί τη χρησιμοποίηση του μισού του ορίου του ποσοτικού προσδιορισμού για τον υπολογισμό της συμβολής κάθε μη ποσοτικά προσδιορισμένης ομοειδούς ουσίας στο TEQ.

3. **Οι απαιτήσεις διασφάλισης ποιότητας που πρέπει να τηρούνται για την προετοιμασία του δείγματος**

— 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 δοχεία από γυαλί, αλουμίνιο, πολυπροπυλένιο ή πολυαιθυλένιο.

▼B

Πρέπει να αφαιρούνται τα ίχνη σκόνης χαρτιού από τον περιέκτη του δείγματος. Τα γυάλινα σκεύη πρέπει να ξεπλένονται με διαλύτες που έχουν προηγουμένως ελεγχθεί για την παρουσία διοξινών.

— Η αποθήκευση και η μεταφορά των δειγμάτων πρέπει να διεξάγεται κατά τρόπο ώστε να διατηρείται η ακεραιότητα του δείγματος του τροφίμου.

— Εφόσον ενδείκνυται, κάθε εργαστηριακό δείγμα να αλέθεται και να αναμειγνύεται ενδελεχώς χρησιμοποιώντας μια διαδικασία που έχει αποδειχθεί ότι επιτυγχάνει την πλήρη ομογενοποίηση (π.χ. το έδαφος να διαπερνά ένα κόσκινο 1 mm)· τα δείγματα πρέπει να ξηρανθούν πριν από την άλεση, αν η περιεκτικότητα σε υγρασία είναι πολύ υψηλή.

— Εκτέλεση ανάλυσης τυφλού με την πραγματοποίηση του συνόλου της αναλυτικής διαδικασίας παραλείποντας μόνο το δείγμα.

— Το βάρος του δείγματος που χρησιμοποιείται για την εκχύλιση πρέπει να είναι αρκετό για να πληροί τις απαιτήσεις όσον αφορά την ευαισθησία.

— Υπάρχουν πολλές ικανοποιητικές ειδικές διαδικασίες προετοιμασίας δείγματος, που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τα υπό εξέταση προϊόντα. Οι διαδικασίες πρέπει να επικυρώνονται σύμφωνα με τις διεθνώς αποδεκτές κατευθυντήριες γραμμές.

4. **Απαιτήσεις για τα εργαστήρια**

— Τα εργαστήρια αποδεικνύουν την απόδοση μιας μεθόδου στο εύρος της ανοχής, π.χ. 0,5, 1 και 2 φορές το επίπεδο ενδιαφέροντος με έναν αποδεκτό συντελεστή διακύμανσης για επαναλαμβανόμενες αναλύσεις. Για τα λεπτομερή στοιχεία των κριτηρίων αποδοχής βλέπε σημείο 5.

— Το όριο του ποσοτικού προσδιορισμού για μια μέθοδο επιβεβαίωσης πρέπει να είναι στο εύρος του ενός πέμπτου περίπου του επιπέδου ενδιαφέροντος, ώστε να διασφαλίζεται ότι οι αποδεκτοί συντελεστές μεταβλητότητας πληρούνται στο εύρος του επιπέδου ενδιαφέροντος.

— Οι τακτικές τυφλές δοκιμές και πειράματα εμπλουτισμού των δειγμάτων ή η ανάλυση των δειγμάτων ελέγχου (κατά προτίμηση, εφόσον είναι διαθέσιμο, πιστοποιημένου υλικό αναφοράς) πρέπει να εκτελούνται ως μέτρα εσωτερικής διασφάλισης της ποιότητας.

— Η επιτυχής συμμετοχή σε διεργαστηριακές μελέτες που αξιολογούν την επάρκεια των εργαστηρίων είναι ο καλύτερος τρόπος απόδειξης της ικανότητας για ειδικές αναλύσεις. Ωστόσο, η επιτυχής συμμετοχή σε διεργαστηριακές μελέτες όσον αφορά π.χ. δείγματα εδάφους ή αποχετεύσεων δεν αποδεικνύει κατ' ανάγκη την ικανότητα και στον τομέα των δειγμάτων των τροφίμων ή των ζωοτροφών που παρουσιάζουν χαμηλότερα επίπεδα μόλυνσης. Συνεπώς, η συνεχής συμμετοχή σε διεργαστηριακές μελέτες για τον προσδιορισμό των διοξινών και των παρόμοιων με τις διοξίνες PCB στις αντίστοιχες μήτρες ζωοτροφών/τροφίμων είναι υποχρεωτική.

— Σύμφωνα με τις διατάξεις της οδηγίας 93/99/ΕΟΚ, τη διαπίστευση στα εργαστήρια πρέπει να χορηγήσει κάποιος αναγνωρισμένος οργανισμός σύμφωνα με τον οδηγό ISO 58, ώστε να εξασφαλίζεται ότι τα εργαστήρια εφαρμόζουν μεθόδους διασφάλισης της ποιότητας. Η διαπίστευση των εργαστηρίων πρέπει να πραγματοποιηθεί σύμφωνα με το πρότυπο ISO/IEC/17025:1999.

5. **Απαιτήσεις που πρέπει να τηρεί μια αναλυτική διαδικασία για τις διοξίνες και τα παρόμοια με διοξίνες PCB**

Βασικές απαιτήσεις για την αποδοχή των διαδικασιών ανάλυσης:

— *Υψηλή ευαισθησία και χαμηλά όρια ανίχνευσης*. Όσον αφορά τα PCDD και τα PCDF, οι ανιχνεύσιμες ποσότητες πρέπει να είναι της τάξης των πικογραμμαρίων TEQ (10^{-12}g) εξαιτίας της εξαιρετικής τοξικότητας ορισμένων από τις ενώσεις αυτές. Γνωρίζουμε ότι τα PCB εμφανίζονται σε υψηλότερα επίπεδα από ό,τι τα PCDD και τα PCDF. Για τα περισσότερα ομοειδή PCB, η ευαισθησία στο φάσμα των νανογραμμαρίων (10^{-9} g) είναι ήδη επαρκής. Ωστόσο, για τη μέτρηση των πιο τοξικών παρόμοιων με τις διοξίνες ομοειδών PCB (ιδίως των μη-ορθο υποκατεστημένων ομοειδών) (non-ortho substituted congeners) πρέπει να επιτυγχάνεται η ίδια ευαισθησία όπως και για τα PCDD και τα PCDF.

— *Υψηλή εκλεκτικότητα (ειδικότητα)*. Τα PCDD, τα PCDF και τα παρόμοια με τις διοξίνες PCB πρέπει να διακρίνονται από τις άλλες ενώσεις, που εξάγονται επίσης και πιθανώς παρεμποδίζουν

▼B

τις ενώσεις που είναι παρούσες σε συγκεντρώσεις έως και ορισμένες τάξεις μεγέθους υψηλότερες από εκείνες των αναλυτέων ουσιών που ενδιαφέρουν. Για τις μεθόδους αέριας χρωματογραφίας/φασματομετρίας μάζας (GC/MS) είναι αναγκαία μια διαφοροποίηση μεταξύ των διαφόρων ομοειδών, όπως μεταξύ των τοξικών (π.χ. των δεκαεπτά 2,3,7,8-υποκατεστημένων PCDD και PCDF και των παρόμοιων με τις διοξίνες PCB) και των άλλων ομοειδών. Οι βιολογικές δοκιμασίες πρέπει να είναι σε θέση να προσδιορίζουν τις τιμές TEQ επιλεκτικά ως το άθροισμα των PCDD, των PCDF και των παρόμοιων με τις διοξίνες PCB.

— *Υψηλή ορθότητα (αληθότητα και ακρίβεια)*. Ο προσδιορισμός πρέπει να παρέχει μια έγκυρη εκτίμηση της αληθούς συγκέντρωσης σε ένα δείγμα. Η υψηλή ορθότητα (ορθότητα της μέτρησης: η εγγύτητα της συμφωνίας μεταξύ του αποτελέσματος της μέτρησης και της αληθούς ή αποδοθείσας τιμής του μετρητέου) είναι αναγκαία για να αποφευχθεί η απόρριψη του αποτελέσματος της ανάλυσης του δείγματος με βάση την κακή αξιοπιστία της εκτίμησης του TEQ. Η ορθότητα εκφράζεται ως αληθότητα (διαφορά μεταξύ της μέσης τιμής που μετρήθηκε για μια αναλυτέα ουσία σε ένα πιστοποιημένο υλικό και της πιστοποιημένης τιμή της, ως ποσοστό της τιμής αυτής) και ακρίβεια (η ακρίβεια συνήθως υπολογίζεται ως τυπική απόκλιση, συμπεριλαμβανομένων της επαναληψιμότητας και αναπαραγωγιμότητας, και προσδιορίζει την εγγύτητα της συμφωνίας μεταξύ των αποτελεσμάτων που ελήφθησαν με την εφαρμογή της πειραματικής διαδικασίας αρκετές φορές υπό προκαθορισμένες συνθήκες).

Οι μέθοδοι μαζικής εξέτασης μπορούν να περιλαμβάνουν βιολογικές δοκιμασίες και μεθόδους GC/MS· οι μέθοδοι επιβεβαίωσης είναι μέθοδοι υψηλής ανάλυσης αέριας χρωματογραφίας/φασματομετρίας μάζας υψηλής ανάλυσης (HRGC/HRMS). Τα ακόλουθα κριτήρια πρέπει να τηρούνται στη συνολική τιμή TEQ:

	Μέθοδοι διαλογής (screening)	Μέθοδοι επιβεβαίωσης
Ποσοστό ψευδώς αρνητικών	< 1 %	
Αληθότητα		– 20 έως + 20 %
CV	< 30 %	< 15 %

6. **Ειδικές απαιτήσεις για μεθόδους GC/MS που πρέπει να τηρούνται για την εξέταση διαλογής (screening) ή για λόγους επιβεβαίωσης**

— Η προσθήκη εσωτερικών προτύπων PCDD/F υποκατεστημένων με χλώριο στις θέσεις 2,3,7,8 με ισοτοπική επισήμανση ^{13}C (και των εσωτερικών προτύπων των παρόμοιων με τις διοξίνες PCBs με ισοτοπική επισήμανση ^{13}C, αν πρόκειται να προσδιοριστούν παρόμοια με τις διοξίνες PCBs) πρέπει να πραγματοποιηθεί πολύ νωρίς στην αρχή ή κατά την έναρξη της μεθόδου ανάλυσης, δηλαδή πριν από την εκχύλιση προκειμένου να επικυρωθεί η αναλυτική διαδικασία. Τουλάχιστον μια ομοειδής ουσία για καθεμία από τις ομόλογες ομάδες PCDD/F των τετρα- έως οκταχλωριωμένων ομόλογων ομάδων (και τουλάχιστον μια ομοειδής ουσία και για καθεμία από τις ομόλογες ομάδες των παρόμοιων με τις διοξίνες PCB, αν πρόκειται να προσδιοριστούν παρόμοια με διοξίνες PCB) πρέπει να προστεθεί [εναλλακτικά, τουλάχιστον μια ομοειδής ουσία για κάθε ομάδα ιόντων για φασματοσκοπία μάζας καταγραφής επιλεγμένων ιόντων (mass spectrometric selected ion recording function) που χρησιμοποιείται για την παρακολούθηση των PCDD/F και των παρόμοιων με διοξίνες PCBs]. Υπάρχει σαφής προτίμηση, ιδίως στην περίπτωση των μεθόδων επιβεβαίωσης, στη χρησιμοποίηση και των δεκαεπτά εσωτερικών προτύπων PCDD/F υποκατεστημένων με χλώριο στις θέσεις 2,3,7,8 με ισοτοπική επισήμανση ^{13}C και του συνόλου των δώδεκα εσωτερικών προτύπων των παρόμοιων με τις διοξίνες PCB με ισοτοπική επισήμανση ^{13}C (αν πρόκειται να προσδιοριστούν παρόμοια με διοξίνες PCB).

Πρέπει επίσης να προσδιοριστούν οι σχετικοί συντελεστές απόκρισης για εκείνες τις ουσίες για τις οποίες δεν προστίθεται κανένα ανάλογο με ισοτοπική επισήμανση ^{13}C με τη χρησιμοποίηση των κατάλληλων διαλυμάτων βαθμονόμησης.

▼B

— 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 λίπους. Πρέπει να πραγματοποιηθεί κατάλληλη επικύρωση της αποτελεσματικότητας της εκχύλισης, ανάλογα με το στάδιο στο οποίο εισάγονται εσωτερικά πρότυπα και ανάλογα με το αν τα αποτελέσματα αναφέρονται με βάση το προϊόν ή το λίπος.

— Πριν από την ανάλυση GC/MS, πρέπει να προστεθούν ένα ή δύο πρότυπο(-α) ανάκτησης (υποκατάσταστο).

— Ο έλεγχος ανάκτησης είναι αναγκαίος. Για τις μεθόδους επιβεβαίωσης, οι ανακτήσεις των μεμονωμένων εσωτερικών προτύπων πρέπει να κυμαίνονται στο εύρος του 60 έως 120 %. Χαμηλότερες ή υψηλότερες ανακτήσεις για μεμονωμένες ομοειδείς ουσίες, ιδίως ορισμένων επτα- και οκτα-χλωριωμένων διβενζοδιοξινών και διβενζοφουρανίων, είναι αποδεκτές υπό τον όρο ότι η συμβολή τους στην τιμή TEQ δεν υπερβαίνει το 10 % της συνολικής τιμής TEQ (βασισμένη μόνο σε PCDD/F). Για τις μεθόδους διαλογής (screening), οι ανακτήσεις πρέπει να κυμαίνονται στο εύρος του 30 έως 140 %.

— Πρέπει να πραγματοποιείται διαχωρισμός των διοξινών από τις παρεμβαλλόμενες χλωριωμένες ενώσεις, όπως τα PCB και οι χλωριωμένοι διφαινυλικοί αιθέρες με τις κατάλληλες χρωματογραφικές τεχνικές (κατά προτίμηση με στήλη florisil, αλουμίνας ή/και άνθρακα).

— Ο διαχωρισμός των ισομερών με αέρια χρωματογραφία πρέπει να είναι επαρκής (< 25 % από κορυφή σε κορυφή μεταξύ 1,2,3,4,7,8-HxCDF και 1,2,3,6,7,8-HxCDF).

— Ο προσδιορισμός πρέπει να πραγματοποιηθεί σύμφωνα με τη μέθοδο της EPA 1613 αναθεώρηση B: «Tetra- through octa-chlorinated dioxins and furans by isotope dilution HRGC/HRMS» ή κάποια άλλη με ισοδύναμα κριτήρια απόδοσης.

— Η διαφορά μεταξύ του ανώτατου επιπέδου και του κατώτατου επιπέδου συγκέντρωσης δεν πρέπει να υπερβαίνει το 20 % για τα τρόφιμα με μόλυνση διοξίνης περίπου 1 pg WHO-TEQ/g λίπους (βασισμένη μόνο σε PCDD/PCDF). Για τα τρόφιμα με χαμηλή περιεκτικότητα σε λιπαρά πρέπει να ισχύουν οι ίδιες απαιτήσεις για τα επίπεδα μόλυνσης, περίπου 1 pg WHO-TEQ/g προϊόντος. Για χαμηλότερα επίπεδα μόλυνσης, π.χ. 0,50 pg WHO-TEQ/g προϊόντος, η διαφορά μεταξύ ανώτατου ορίου συγκέντρωσης και κατώτερου ορίου συγκέντρωσης μπορεί να βρίσκεται στο εύρος του 25 έως 40 %.

7. **Μέθοδοι ανάλυσης διαλογής (screening)**

7.1. *Εισαγωγή*

Μπορούν να διεξαχθούν διάφορες αναλυτικές προσεγγίσεις με τη χρησιμοποίηση μιας μεθόδου διαλογής (screening): μια καθαρή προσέγγιση διαλογής (screening) και μια ποσοτική προσέγγιση.

Προσέγγιση διαλογής

Η απόκριση των δειγμάτων συγκρίνεται με αυτή ενός δείγματος αναφοράς στο επίπεδο ενδιαφέροντος. Τα δείγματα με απόκριση μικρότερη από την αναφορά θεωρούνται αρνητικά, ενώ εκείνα με υψηλότερη απόκριση ύποπτα για θετικά. Οι απαιτήσεις:

— Σε κάθε σειρά δοκιμών πρέπει να συμπεριληφθεί ένα τυφλό δείγμα και ένα δείγμα αναφοράς, που εκχυλίζονται και δοκιμάζονται ταυτόχρονα υπό τις ίδιες συνθήκες. Το δείγμα αναφοράς πρέπει να παρουσιάζει μια σαφώς υψηλότερη απόκριση σε σύγκριση με το τυφλό.

— Πρέπει να συμπεριληφθούν πρόσθετα δείγματα αναφοράς 0,5 και 2 φορές το επίπεδο ενδιαφέροντος ώστε να καταδειχτεί η ορθή απόδοση της δοκιμασίας στο εύρος του ενδιαφέροντος για τον έλεγχο του επιπέδου που ενδιαφέρει.

— Κατά τη δοκιμή άλλων υποστρωμάτων, πρέπει να καταδειχτεί η καταλληλότητα των δειγμάτων αναφοράς, κατά προτίμηση με τη συμπερίληψη δειγμάτων που φαίνεται από τις HPGC/HPMS να περιέχουν ένα επίπεδο TEQ παρόμοιο με αυτό του δείγματος αναφοράς ή αλλιώς ενός τυφλού εμπλουτισμένου στο επίπεδο αυτό.

▼B

— Καθώς δεν μπορούν να χρησιμοποιηθούν εσωτερικά πρότυπα σε βιολογικές δοκιμασίες, οι δοκιμές επαναληψιμότητας είναι πολύ σημαντικές προκειμένου να αποκτηθούν πληροφορίες σχετικά με την τυπική απόκλιση στα πλαίσια μια σειράς δοκιμών. Ο συντελεστής διακύμανσης πρέπει να είναι κάτω από 30 %.

— Για τις βιολογικές δοκιμασίες πρέπει να οριστούν οι ενώσεις-στόχοι, οι πιθανές παρεμποδίσεις και τα μέγιστα ανεκτά επίπεδα τυφλού.

Ποσοτική προσέγγιση

Η ποσοτική προσέγγιση απαιτεί πρότυπη σειρά αραίωσης, διπλό ή τριπλό καθάρισμα και μέτρηση, καθώς και ελέγχους τυφλού και ανάκτησης. Το αποτέλεσμα μπορεί να εκφράζεται σε TEQ, υποθέτοντας ότι οι ενώσεις που είναι υπεύθυνες για το σήμα αντιστοιχούν στην αρχή των TEQ. Αυτό μπορεί να πραγματοποιηθεί με τη χρησιμοποίηση TCDD (ή ένα τυποποιημένο μείγμα διοξίνης/φουρανίου) για τη δημιουργία μιας καμπύλης βαθμονόμησης για τον υπολογισμό του επιπέδου TEQ στο εκχύλισμα και συνεπώς στο δείγμα. Αυτό στη συνέχεια διορθώνεται για το επίπεδο TEQ που υπολογίζεται για ένα τυφλό δείγμα (για να λαμβάνονται υπόψη ακαθαρσίες από διαλύτες και χημικά που χρησιμοποιήθηκαν), και για την ανάκτηση (που υπολογίζεται από το επίπεδο TEQ σε δείγμα ελέγχου ποιότητας γύρω από το επίπεδο ενδιαφέροντος). Είναι αναγκαίο να σημειωθεί ότι τμήμα της εμφανούς απώλειας ανάκτησης μπορεί να οφείλεται σε επιδράσεις υποστρώματος ή/και σε διαφορές μεταξύ των τιμών TEF στις βιολογικές δοκιμασίες και των επίσημων τιμών TEF που όρισε η ΠΟΥ.

7.2. *Απαιτήσεις για τις μεθόδους ανάλυσης που χρησιμοποιούνται για διαλογή (screening)*

— Οι μέθοδοι ανάλυσης GC/MS και οι βιολογικές δοκιμασίες μπορούν να χρησιμοποιηθούν για διαλογή (screening). Για τις μεθόδους GC/MS οι απαιτήσεις όπως ορίζονται στο σημείο 6 πρέπει να χρησιμοποιηθούν. Για τις βιολογικές δοκιμασίες με βάση κύτταρα (cell based bioassays) ορίζονται ειδικές απαιτήσεις στο σημείο 7.3 και για τις βιολογικές δοκιμασίες με βάση συσκευασίες (kit-based bioassays) στο σημείο 7.4.

— Στοιχεία για τον αριθμό των ψευδώς θετικών και ψευδώς αρνητικών αποτελεσμάτων ενός μεγάλου συνόλου δειγμάτων κάτω και πάνω από το μέγιστο επίπεδο ή το επίπεδο δράσης είναι αναγκαία σε σύγκριση με την περιεκτικότητα σε TEQ όπως προσδιορίζεται με μια επιβεβαιωτική μέθοδο ανάλυσης. Τα πραγματικά ψευδώς αρνητικά ποσοστά πρέπει να είναι κάτω από 1 %. Το ποσοστό των ψευδώς θετικών δειγμάτων πρέπει να είναι αρκετά χαμηλό ώστε η χρήση του μέσου της διαλογής (screening) να καταστεί χρήσιμη.

— Τα θετικά αποτελέσματα πρέπει πάντα να επιβεβαιώνονται με επιβεβαιωτική μέθοδο ανάλυσης (HRGC/HRMS). Επιπλέον, τα δείγματα από ένα ευρύ φάσμα TEQ πρέπει να επιβεβαιώνονται με μεθόδους HRGC/HRMS (περίπου 2 έως 10 % των αρνητικών δειγμάτων). Οι πληροφορίες σχετικά με την ανταπόκριση μεταξύ βιολογικής δοκιμασίας και αποτελεσμάτων HRGC/HRMS πρέπει να καθίστανται διαθέσιμες.

7.3. *Ειδικές απαιτήσεις για βιολογικές δοκιμασίες με βάση κύτταρα*

— Κατά την εκτέλεση μιας βιολογικής δοκιμασίας, κάθε δοκιμασία απαιτεί μια σειρά συγκέντρωσης αναφοράς του TCDD ή του μείγματος διοξίνης/φουρανίου (πλήρης καμπύλη δόσης-απόκρισης με $R^2 > 0,95$). Ωστόσο, για διαλογή (screening) μπορεί να χρησιμοποιηθεί μια εκτεταμένη καμπύλη χαμηλού επιπέδου για την ανάλυση δειγμάτων χαμηλού επιπέδου.

— Μια συγκέντρωση αναφοράς TCDD (περίπου 3 φορές το όριο ποσοτικού προσδιορισμού) σε ένα δελτίο ποιοτικού ελέγχου πρέπει να χρησιμοποιηθεί για το αποτέλεσμα της βιολογικής δοκιμασίας για μια σταθερή περίοδο. Μια εναλλακτική λύση θα ήταν η σχετική απόκριση ενός δείγματος αναφοράς σε σύγκριση με τη γραμμή βαθμονόμησης TCDD, καθώς η απόκριση των κυττάρων μπορεί να εξαρτάται από πολλούς παράγοντες.

— Πρέπει να καταγράφονται και να ελέγχονται διαγράμματα ποιοτικού ελέγχου (ΠΕ) για κάθε είδος υλικού αναφοράς ώστε να διασφαλιστεί ότι το αποτέλεσμα είναι σύμφωνο με τις δηλωμένες κατευθυντήριες γραμμές.

— Ιδιαίτερα για τους ποσοτικούς υπολογισμούς, η επαγωγή της αραίωσης δείγματος που χρησιμοποιήθηκε πρέπει να είναι εντός

▼B

του γραμμικού τμήματος της καμπύλης απόκρισης. Δείγματα πάνω από το γραμμικό τμήμα της καμπύλης απόκρισης πρέπει να αραιώνονται και να δοκιμάζονται εκ νέου. Συνεπώς, συνιστάται να δοκιμάζονται τουλάχιστον τρεις ή περισσότερες αραιώσεις ταυτόχρονα.

— Η ποσοστιαία τυπική απόκλιση δεν πρέπει να είναι άνω του 15 % σε ένα τριπλό προσδιορισμό για κάθε αραίωση δείγματος και όχι άνω του 30 % μεταξύ τριών ανεξάρτητων πειραμάτων.

— Το όριο της ανίχνευσης μπορεί να καθοριστεί έως 3 φορές την τυπική απόκλιση του τυφλού του διαλύτη ή της απόκρισης υποβάθρου. Μια άλλη προσέγγιση είναι η εφαρμογή μιας απόκρισης που είναι άνω του υποβάθρου (συντελεστής επαγωγής 5 φορές το τυφλό του διαλύτη) που υπολογίζεται από την καμπύλη βαθμονόμησης της ημέρας. Το όριο ποσοτικού προσδιορισμού μπορεί να καθοριστεί ως 5 έως 6 φορές την τυπική απόκλιση του τυφλού του διαλύτη ή την απόκριση υποβάθρου ή η εφαρμογή μιας απόκρισης που είναι σαφώς πάνω από το υπόβαθρο (συντελεστής επαγωγής 10 φορές το τυφλό του διαλύτη) που υπολογίζεται από την καμπύλη βαθμονόμησης της ημέρας.

7.4. *Ειδικές απαιτήσεις για βιολογικές δοκιμασίες με βάση συσκευασίες* [1]

— Πρέπει να τηρούνται οι οδηγίες του κατασκευαστή για την παρασκευή δείγματος και τις αναλύσεις.

— Οι συσκευασίες δοκιμών (test kits) δεν πρέπει να χρησιμοποιούνται μετά την ημερομηνία λήξης τους.

— Δεν πρέπει να χρησιμοποιούνται υλικά ή συστατικά που προβλέπονται για τη χρησιμοποίηση με άλλες συσκευασίες.

— Οι συσκευασίες δοκιμών πρέπει να διατηρούνται στα πλαίσια του καθορισμένου φάσματος της θερμοκρασίας αποθήκευσης και να χρησιμοποιούνται στην καθορισμένη θερμοκρασία λειτουργίας.

— Το όριο ανίχνευσης για τις ανοσολογικές δοκιμασίες προκύπτει από την άθροιση της μέσης τιμής και μιας τιμής ίσης κατά 3 φορές την τυπική απόκλιση, με βάση δέκα επαναληπτικές αναλύσεις του τυφλού, διαιρούμενης με την τιμή της κλίσης της γραμμικής εξίσωσης παλινδρόμησης.

— Για τις δοκιμές στο εργαστήριο πρέπει να χρησιμοποιούνται πρότυπα αναφοράς ώστε να εξασφαλιστεί ότι η απόκριση στο πρότυπο κυμαίνεται εντός ενός αποδεκτού εύρους.

8. **Αναφορά του αποτελέσματος**

Εφόσον η χρησιμοποιούμενη διαδικασία ανάλυσης το καθιστά δυνατό, τα αποτελέσματα της ανάλυσης πρέπει να περιέχουν τα επίπεδα των επιμέρους PCDD/F και ομοειδών PCB και να υποβάλλονται ως κατώτατο όριο συγκέντρωσης, ανώτατο όριο συγκέντρωσης και μέσο όριο συγκέντρωσης προκειμένου να περιλαμβάνουν ένα μέγιστο σύνολο πληροφοριών κατά την υποβολή της έκθεσης των αποτελεσμάτων και να διευκολύνουν έτσι την ερμηνεία των αποτελεσμάτων σύμφωνα με τις ειδικές απαιτήσεις.

Η έκθεση πρέπει επίσης να περιλαμβάνει την περιεκτικότητα λιπιδίων του δείγματος, καθώς και τη μέθοδο που χρησιμοποιήθηκε για την εκχύλιση λιπιδίων.

Οι ανακτήσεις των μεμονωμένων εσωτερικών προτύπων πρέπει να καθίστανται διαθέσιμες στην περίπτωση που οι ανακτήσεις είναι εκτός του εύρους που αναφέρεται στο σημείο 6, στην περίπτωση που υπερβαίνεται το μέγιστο επίπεδο και σε άλλες περιπτώσεις κατόπιν σχετικής αίτησης.

[1] Δεν έχουν υποβληθεί ακόμα στοιχεία εμπορικά διαθέσιμων βιολογικών δοκιμασιών με βάση συσκευασίες που να διαθέτουν επαρκή ευαισθησία και αξιοπιστία ώστε να χρησιμοποιηθούν για μαζικό έλεγχο για την ύπαρξη διοξινών στα απαιτούμενα επίπεδα σε δείγματα τροφίμων ή ζωοτροφών.