Tämä asiakirja on ainoastaan dokumentointitarkoituksiin. Toimielimet eivät vastaa sen sisällöstä.

►**B** **KOMISSION DIREKTIIVI 2002/69/EY,**

annettu ►C1 30 päivänä heinäkuuta 2002 ◄,

näytteenotto- ja analyysimenetelmistä elintarvikkeiden dioksiinipitoisuuksien virallista tarkastusta ja dioksiinin kaltaisten PCB-yhdisteiden pitoisuuksien määrittämistä varten

(ETA:n kannalta merkityksellinen teksti)

(EYVL L 209, 6.8.2002, s. 5)

Oikaistu:

►**C1** Oikaisu, EYVL L 252, 20.9.2002, s. 40 (2002/69/EY)

▼B

KOMISSION DIREKTIIVI 2002/69/EY,

annettu ►C1 30 päivänä heinäkuuta 2002 ◄,

näytteenotto- ja analyysimenetelmistä elintarvikkeiden dioksiinipitoisuuksien virallista tarkastusta ja dioksiinin kaltaisten PCB-yhdisteiden pitoisuuksien määrittämistä varten

(ETA:n kannalta merkityksellinen teksti)

EUROOPAN YHTEISÖJEN KOMISSIO, joka

ottaa huomioon Euroopan yhteisön perustamissopimuksen,

ottaa huomioon elintarvikkeiden tarkastuksessa tarvittavien yhteisön näytteenottomenettelyjen ja analyysimenetelmien käyttöön ottamisesta 20 päivänä joulukuuta 1985 annetun neuvoston direktiivin 85/591/ETY ([1]) ►C1 ja erityisesti sen 1 ja 4 artiklan, ◄

sekä katsoo seuraavaa:

(1) Komission asetuksessa (EY) N:o 466/2001 ([2]), sellaisena kuin se on viimeksi muutettuna asetuksella (EY) N:o 563/2002 ([3]) ja muutettuna neuvoston asetuksella (EY) N:o 2375/2001 ([4]), vahvistetaan dioksiinien ja furaanien enimmäismäärät tietyissä elintarvikkeissa.

(2) Virallisesta elintarvikkeiden tarkastuksesta 14 päivänä kesäkuuta 1989 annetussa neuvoston direktiivissä 89/397/ETY ([5]) vahvistetaan elintarvikkeiden tarkastuksen yleiset periaatteet. Virallista elintarvikkeiden tarkastusta koskevista lisätoimenpiteistä 29 päivänä lokakuuta 1993 annetussa neuvoston direktiivissä 93/99/ETY ([6]) otetaan käyttöön laatustandardijärjestelmä laboratorioille, joiden tehtäväksi jäsenvaltiot ovat antaneet elintarvikkeiden virallisen tarkastuksen.

(3) Direktiivissä 85/591/ETY vahvistetaan yleiset vaatimukset näytteenottomenettelyille ja analyysimenetelmille. Joissain tapauksissa tarvitaan kuitenkin yksityiskohtaisempia kriteereitä ja vaatimuksia, jotka analyysimenetelmien olisi täytettävä, jotta laboratorioiden käyttämät analyysimenetelmät olisivat vertailukelpoisia.

(4) Näytteenotto- ja analyysimenetelmiä koskevat säännökset perustuvat nykyiseen tietämykseen, ja niitä voidaan mukauttaa tieteen ja tekniikan kehitykseen.

(5) Tässä direktiivissä vahvistetut säännökset koskevat ainoastaan dioksiinien ja dioksiinin kaltaisten PCB-yhdisteiden määrittämistä ja niihin liittyvää näytteenottoa asetuksen (EY) N:o 466/2001 panemiseksi täytäntöön. Tämä direktiivi ei vaikuta elävissä eläimissä ja niistä saatavissa tuotteissa olevien tiettyjen aineiden ja niiden jäämien osalta suoritettavista tarkastustoimenpiteistä ja direktiivien 85/358/ETY ja 86/469/ETY sekä päätösten 89/187/ETY ja 91/664/ETY kumoamisesta 29 päivänä huhtikuuta 1996 annetun neuvoston direktiivin 96/23/EY ([7]) liitteissä III ja IV säädettyjen näytteenottostrategian, -tasojen ja -taajuuden soveltamiseen. Se ei vaikuta myöskään eräiden elävistä eläimistä ja eläintuotteista seurattavien aineiden ja niiden jäämien määrittämistä varten tehtävää virallista näytteenottoa koskevista yksityiskohtaisista säännöistä 23 päivänä helmikuuta 1998 tehdyssä komission päätöksessä 98/179/EY ([8]) säädettyjen kohdentamiskriteerien soveltamiseen.

([1]) EYVL L 372, 31.12.1985, s. 50.
([2]) EYVL L 77, 16.3.2001, s. 1.
([3]) EYVL L 86, 3.4.2002, s. 5.
([4]) EYVL L 321, 6.12.2001, s. 1.
([5]) EYVL L 186, 30.6.1989, s. 23.
([6]) EYVL L 290, 24.11.1993, s. 14.
([7]) EYVL L 125, 23.5.1996, s. 10.
([8]) EYVL L 65, 5.3.1998, s. 31.

▼B

(6) Olisi aktiivisesti kerättävä kattavaa ja luotettavaa tietoa dioksiinin kaltaisten PCB-yhdisteiden esiintymisestä elintarvikkeissa. Sen vuoksi olisi vahvistettava vaatimukset analyysimenetelmille, joita on käytettävä elintarvikkeissa olevien dioksiinin kaltaisten PCB-yhdisteiden määrittämisessä.

(7) Tehokkaan seulonta-analyysimenetelmän ja koetellun, laajalti hyväksytyn validoinnin avulla voitaisiin valita näytteet, joiden dioksiinipitoisuudet ovat huomattavat. Näiden näytteiden dioksiinipitoisuudet täytyy sitten määrittää varmistavan analyysimenetelmän avulla. On siis asianmukaista vahvistaa varmistavia analyysimenetelmiä koskevat tiukat vaatimukset ja seulontamenetelmää koskevat vähimmäisvaatimukset.

(8) Tässä direktiivissä säädetyt toimenpiteet ovat elintarvikeketjua ja eläinten terveyttä käsittelevän pysyvän komitean lausunnon mukaiset,

ON ANTANUT TÄMÄN DIREKTIIVIN:

1 artikla

Jäsenvaltioiden on varmistettava, että näytteet elintarvikkeiden dioksiini- ja furaanipitoisuuksien virallista tarkastusta ja elintarvikkeissa olevien dioksiinin kaltaisten PCB-yhdisteiden pitoisuuksien määrittämistä varten otetaan liitteessä I esitettyjen menetelmien mukaisesti.

2 artikla

Jäsenvaltioiden on varmistettava, että näytteiden valmistaminen sekä elintarvikkeiden dioksiini- ja furaanipitoisuuksien virallisessa tarkastuksessa ja elintarvikkeissa olevien dioksiinin kaltaisten PCB-yhdisteiden pitoisuuksien määrittämisessä käytetty menetelmä vastaavat liitteessä II esitettyjä vaatimuksia.

3 artikla

Jäsenvaltioiden on saatettava tämän direktiivin noudattamisen edellyttämät lait, asetukset ja hallinnolliset määräykset voimaan viimeistään 28 päivänä helmikuuta 2003. Niiden on ilmoitettava tästä komissiolle viipymättä.

Näissä jäsenvaltioiden antamissa säädöksissä on viitattava tähän direktiiviin tai niihin on liitettävä tällainen viittaus, kun ne virallisesti julkaistaan. Jäsenvaltioiden on säädettävä siitä, miten viittaukset tehdään.

4 artikla

Tämä direktiivi tulee voimaan kahdentenakymmenentenä päivänä sen jälkeen, kun se on julkaistu *Euroopan yhteisöjen virallisessa lehdessä*.

5 artikla

Tämä direktiivi on osoitettu kaikille jäsenvaltioille.

▼B

LIITE I

NÄYTTEENOTTOMENETELMÄT TIETYISSÄ ELINTARVIKKEISSA OLEVIEN DIOKSIINIEN (PCDD/PCDF) ENIMMÄISPITOISUUKSIEN VIRALLISTA TARKASTUSTA JA DIOKSIININ KALTAISTEN PCB-YHDISTEIDEN MÄÄRITTÄMISTÄ VARTEN

1 Soveltamisala

Elintarvikkeiden dioksiinipitoisuuden (PCDD-/PCDF-pitoisuuden) viralliseen tarkastukseen ja dioksiinin kaltaisten PCB-yhdisteiden ([1]) pitoisuuksien määrittämiseen tarkoitetut näytteet on otettava jäljempänä esitettyjen menettelyjen mukaisesti. Tällä tavoin saatujen kokoomanäytteiden katsotaan edustavan eriä tai osaeriä, joista ne on otettu. Laboratorionäytteistä määritettyjen pitoisuuksien perusteella arvioidaan, noudattavatko tutkittavat erät tiettyjen elintarvikkeissa olevien vieraiden aineiden enimmäismäärien vahvistamisesta annetussa komission asetuksessa (EY) N:o 466/2000 vahvistettuja enimmäismääriä.

([1]) Taulukko: Ihmisille aiheutuvan riskin arvioinnissa käytettävät WHO:n toksisuusekvivalenssikertoimet (TEF), jotka perustuvat Tukholmassa 15.—18. kesäkuuta 1997 pidetyn Maailman terveysjärjestön (WHO) kokouksen päätelmiin (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).

Yhdiste	TEF-arvo
Dibentso-para-dioksiinit (PCDD:t)	
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
Dibentsofuraanit (PCDF:t)	
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
Dioksiinin kaltaiset *PCB:t: ei-orto-PCB-yhdisteet ja mono-orto-PCB-yhdisteet*	
PCB 77	0,0001
PCB 81	0,0001
PCB 126	0,1
PCB 169	0,01
Mono-orto-PCB-yhdisteet	
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

Käytetyt lyhenteet: T = tetra Pe = penta; Hx = heksa, Hp = hepta; O = okta; CDD = klooridibentso-p-dioksiini, CDF = klooridibentsofuraani, CB = klooribifenyyli.

▼B

2 **Määritelmät**

Erä: Yhdellä kertaa toimitettu tunnistettava määrä elintarviketta, josta viranomainen toteaa, että sillä on samoja ominaisuuksia, kuten alkuperä, lajike, pakkaustapa, pakkaaja, lähettäjä tai merkinnät. Kalojen ja kalastustuotteiden on lisäksi oltava samankokoisia.

Osaerä: Suuremmasta erästä näytteenottoa varten erotettu tietty osa. Jokaisen osaerän on oltava fyysisesti erillinen ja yksilöitävissä.

Osanäyte: Tutkittavan erän tai osaerän yhdestä ainoasta kohdasta otettu näyte.

Kokoomanäyte: Kaikkien tutkittavasta erästä tai osaerästä otettujen osanäytteiden muodostama kokonaisuus.

Laboratorionäyte: Laboratoriolle tarkoitettu kokoomanäytteen edustava osa tai määrä.

3 **Yleiset säännökset**

3.1 *Henkilöstö*

Näytteenottajan on oltava jäsenvaltioissa voimassa olevien määräysten mukaisesti tähän tehtävään valtuutettu pätevä henkilö.

3.2 *Materiaali, josta näyte otetaan*

Jokaisesta tutkittavasta erästä on otettava erilliset näytteet.

3.3 *Varotoimenpiteet*

Näytteenoton ja laboratorionäytteiden valmistuksen aikana on toteutettava varotoimenpiteitä, joilla vältetään kaikki mahdolliset muutokset, jotka voivat vaikuttaa dioksiinin ja dioksiinin kaltaisten PCB-yhdisteiden pitoisuuksiin, määrityksen suorittamiseen tai kokoomanäytteen edustavuuteen.

3.4 *Osanäytteet*

Osanäytteet on käytännöllisyyden mukaan otettava tutkittavan erän tai osaerän eri kohdista. Jos tästä säännöstä poiketaan, siitä on aina ilmoitettava kohdassa 3.8 säädetyssä näytteenottotodistuksessa.

3.5 *Kokoomanäytteen valmistus*

Kokoomanäyte saadaan yhdistämällä kaikki osanäytteet. Näytteen painon on oltava vähintään 1 kg, ellei tämä ole epäkäytännöllistä esimerkiksi siksi, että näyte on yksittäinen pakkaus.

3.6 *Kokoomaerän jakaminen laboratorionäytteiksi valvontatoimenpiteitä, kaupankäyntiä ja kiistojen ratkaisumenettelyitä varten*

Valvontatoimenpiteisiin, kaupankäyntiin tai kiistojen ratkaisumenettelyihin tarkoitetut laboratorionäytteet on otettava homogenoidusta kokoomanäytteestä, jos tällainen menettely on näytteenottoa koskevien kyseisen jäsenvaltion säännösten mukainen. Valvontatoimenpiteisiin tarkoitettujen laboratorionäytteiden on oltava kooltaan riittävän suuria, jotta ainakin kaksinkertainen määritys on tehtävissä.

3.7 *Kokooma- ja laboratorionäytteiden pakkaaminen ja lähettäminen*

Jokainen kokooma- ja laboratorionäyte on pakattava inertistä materiaalista valmistettuun puhtaaseen astiaan, joka suojaa näytettä riittävästi kontaminaatiolta, määritettävien aineiden imeytymiseltä astian sisäseinämiin ja mahdollisilta kuljetusvaurioilta. On myös toteutettava kaikki tarvittavat varotoimenpiteet, joilla estetään kokooma- ja laboratorionäytteiden koostumuksen muuttuminen kuljetuksen tai varastoinnin aikana.

3.8 *Kokooma- ja laboratorionäytteiden sinetöinti ja merkitseminen*

Jokainen viranomaisen käyttöön otettu näyte on sinetöitävä näytteenottopaikalla ja merkittävä jäsenvaltioissa voimassa olevien määräysten mukaisesti. Kustakin näytteenotosta on laadittava näytteenottotodistus, jonka perusteella voidaan yksiselitteisesti tunnistaa erä, josta näyte on otettu. Näytteenottotodistuksessa on ilmoitettava näytteenottopaikka ja -aika sekä kaikki lisätiedot, joista voi olla hyötyä analyysin tekijälle.

▼B

4 **Näytteenottosuunnitelmat**

Käytettävällä näytteenottomenetelmällä on varmistettava, että kokoomanäyte on edustava otos tarkastettavasta erästä.

Osanäytteiden lukumäärä

Maidon ja öljyjen osalta voidaan olettaa, että kyseiset kontaminantit ovat jakautuneet erässä homogeenisesti. Tällöin kokoomanäytteen muodostamiseen riittää kolme osanäytettä kyseistä erää kohti. Erän numero on merkittävä. Muiden tuotteiden osalta on erästä otettavien osanäytteiden vähimmäislukumäärän oltava taulukossa 1 annetun mukainen.

Kaikki osanäytteet yhdistävän kokoomanäytteen painon on oltava vähintään 1 kg (ks. kohta 3.5). Osanäytteiden on oltava samanpainoisia. Osanäytteen painon olisi oltava vähintään 100 grammaa. Osanäytteen paino riippuu erän sisältämien partikkelien koosta. Jos tästä säännöstä poiketaan, siitä on aina ilmoitettava kohdassa 3.8 säädetyssä näytteenottotodistuksessa. Neuvoston direktiivissä 96/23/EY säädettyjen näytteenottotasojen ja -taajuuksien vahvistamisesta tiettyjen aineiden ja niiden jäämien valvomiseksi tietyissä eläintuotteissa 27 päivänä lokakuuta 1997 tehdyn komission päätöksen 97/747/EY ([1]) säädösten mukaisesti kananmunanäytteen koko on vähintään 12 munaa (irtoeristä ja erillisistä pakkauksista koostuvista eristä — taulukot 1 ja 2).

TAULUKKO 1

Tutkittavasta erästä otettavien osanäytteiden vähimmäislukumäärä

Erän paino (kg)	Osanäytteiden vähimmäismäärä
< 50	3
50—500	5
> 500	10

Jos erä koostuu erillisistä pakkauksista, kokoomanäytteen muodostamiseksi tarvitaan pakkauksia vähintään taulukossa 2 osoitettu määrä.

TAULUKKO 2

Kokoomanäytteen muodostamiseksi otettavien pakkausten (osanäytteiden) lukumäärä, jos erä koostuu erillisistä pakkauksista

Pakkausten tai yksiköiden lukumäärä erässä	Näytteeksi otettavien pakkausten tai yksiköiden lukumäärä
1—25	1 pakkaus tai yksikkö
26—100	noin 5 %, vähintään 2 pakkausta tai yksikköä
> 100	noin 5 %, enintään 10 pakkausta tai yksikköä

5 **Erän tai osaerän säännöstenmukaisuus**

Tarkastuslaboratorio tekee laboratorionäytteestä valvontatoimenpiteitä varten kaksi analyysia, jos ensimmäisestä analyysista saatu tulos on arvoltaan vähemmän kuin 20 % alle tai yli enimmäismäärän, ja laskee tulosten keskiarvon. Erä hyväksytään, jos ensimmäisen analyysin tulos on arvoltaan enemmän kuin 20 % alle enimmäismäärän tai jos tarvittavan toisen analyysin jälkeen keskiarvo on asetuksessa (EY) N:o 466/2001 vahvistetun vastaavan enimmäismäärän mukainen.

([1]) EYVL L 303, 6.11.1997, s. 12.

▼B

LIITE II

NÄYTTEIDEN VALMISTUS JA VAATIMUKSET, JOTKA TIETTYJEN ELINTARVIKKEIDEN DIOKSIINIPITOISUUKSIEN VIRALLISESSA TARKASTUKSESSA JA DIOKSIININ KALTAISTEN PCB-YHDISTEIDEN MÄÄRITTÄMISESSÄ KÄYTETTYJEN ANALYYSIMENETELMIEN ON TÄYTETTÄVÄ

1 **Tavoite ja soveltamisala**

Näitä vaatimuksia on sovellettava analysoitaessa elintarvikkeita dioksiinipitoisuuksien (polykloorattujen dibentso-p-dioksiinien (PCDD:t) ja polykloorattujen dibentsofuraanien (PCDF:t)) virallista tarkastusta varten ja määritettäessä dioksiinin kaltaisia PCB-yhdisteitä.

Dioksiinien esiintymistä elintarvikkeissa voidaan valvoa strategialla, johon kuuluu seulontamenetelmä niiden näytteiden valitsemiseksi, joissa on vähemmän kuin 30—40 prosentilla mitattavan tason alittavia taikka sen ylittäviä määriä dioksiineja tai dioksiinin kaltaisia PCB-yhdisteitä. Näytteiden dioksiinipitoisuudet on määritettävä tai vahvistettava varmistavan menetelmän avulla.

Seulontamenetelmät ovat menetelmiä, joita käytetään osoittamaan dioksiinien tai dioksiinin kaltaisten PCB-yhdisteiden esiintyminen tietyllä tasolla. Menetelmien näytteenkäsittelykapasiteetti on suuri, ja niillä seulotaan suuria määriä näytteitä mahdollisesti positiivisten näytteiden havaitsemiseksi. Menetelmät on erityisesti suunniteltu välttämään väärät negatiiviset tulokset.

Varmistusmenetelmät ovat menetelmiä, joilla saadaan täydelliset tiedot tai lisätietoja, joiden avulla dioksiinit ja dioksiinin kaltaiset PCB-yhdisteet voidaan tunnistaa ja kvantifioida yksiselitteisesti tietyllä tasolla.

2 **Taustaa**

Koska ympäristöstä otetut näytteet ja biologiset näytteet (elintarvikkeista otetut näytteet mukaan luettuina) sisältävät yleensä eri dioksiiniyhdisteiden monenlaisia seoksia, riskinarvioinnin helpottamiseksi on kehitetty toksisuusekvivalenssikertoimien (Toxic Equivalency Factor, TEF) käsite. Toksisuusekvivalenssikertoimet (TEF) on kehitetty sitä varten, että niillä voidaan esittää 2,3,7,8-substituoitujen PCDD-yhdisteiden ja PCDF-yhdisteiden seoksien ja nyttemmin myös joidenkin muuhun kuin orto-asemaan substituoitujen tai toisaalta mono-orto-asemaan substituoitujen PCB-yhdisteiden — joilla on dioksiinin kaltaista aktiivisuutta — konsentraatioita 2,3,7,8-TCDD:n (2,3,7,8-tetraklooridibentso-p-dioksiinin) toksisuusekvivalentteina (TEQ) (ks. liite I, alaviite 1).

Tietyssä erässä olevien yksittäisten aineiden konsentraatiot kerrotaan kunkin aineen toksisuusekvivalenssikertoimella, ja saadut määrät lasketaan yhteen, jolloin tulokseksi saadaan dioksiinin kaltaisten yhdisteiden kokonaiskonsentraatio toksisuusekvivalentteina ilmaistuna.

Suurimmat arvot: TEQ:ta laskettaessa oletetaan kunkin määrittämättä jääneen yhdisteen arvoksi määritysrajaa vastaava arvo.

Pienimmät arvot: TEQ:ta laskettaessa oletetaan kunkin määrittämättä jääneen yhdisteen arvoksi nolla.

Väliarvot: TEQ:ta laskettaessa oletetaan kunkin määrittämättä jääneen yhdisteen arvoksi puolet määritysrajaa vastaavasta arvosta.

3 **Laadunvarmistusvaatimukset näytteenvalmistuksessa**

— On ryhdyttävä toimiin ristikontaminaation välttämiseksi kussakin näytteenoton ja analyysin vaiheessa.

— Näytteet on varastoitava ja kuljetettava lasista, alumiinista, polypropyleenistä tai polyetyleenistä valmistetuissa säiliöissä. Paperipölyjäämät on poistettava astiasta. Lasitavarat on huuhdeltava liuottimella, josta on ennalta tarkastettu dioksiinien pitoisuudet.

— Näytteitten varastointi ja kuljetus on järjestettävä niin, että elintarvikenäyte pysyy koskemattomana.

— Mikäli aiheellista, kukin laboratorionäyte hienonnetaan ja sekoitetaan perinpohjaisesti menetelmällä, jonka on osoitettu saavan aikaan täysin homogeenisen tuloksen (esim. hienonnus 1 mm:n siivilän läpäiseviksi hiukkasiksi). Liian kosteat näytteet on kuivattava ennen hienontamista.

— On suoritettava ilman näytettä tehtävä nolla-analyysi, jossa käydään läpi kaikki analyysin vaiheet.

▼B

— Uuttamisessa käytettävän näytteen painon on oltava riittävä herkkyysvaatimusten täyttämiseksi.

— Käytettävissä on useita hyväksyttäviä näytteenvalmistusmenetelmiä, joita voidaan käyttää tarkasteltavien tuotteitten yhteydessä. Menetelmät on validoitava kansainvälisesti hyväksyttyjen suuntaviivojen mukaisesti.

4 **Vaatimukset laboratorioille**

— Laboratorioiden on osoitettava menetelmän suorituskyky kyseisellä mittausalueella, esimerkiksi 0,5 ×, 1 × ja 2 × mitattava taso, jolla toistettujen mittausten hajonta on hyväksyttävä. Ks. hyväksymisvaatimuksia koskevat tiedot kohdasta 5.

— Varmistusmenetelmän määritysrajan tulisi olla noin yksi viidesosa mitattavasta tasosta, jotta varmistetaan, että vaihtelukertoimet ovat hyväksyttävät mittausalueella.

— Sisäistä laadunvalvontaa varten pitäisi mitata säännöllisesti nollanäytteitä tai näytteitä, joihin on lisätty analyyttiä, tai erityisiä kontrollinäytteitä mieluiten varmennetuilla vertailuaineilla.

— Menestyksekäs osallistuminen laboratorioiden välisiin laboratorioiden pätevyyttä arvioiviin tutkimuksiin on paras tapa osoittaa pätevyys analyysien tekemisessä. Menestyksekäs osallistuminen laboratorioiden välisiin esimerkiksi maaperä- tai viemärinäytteitä koskeviin tutkimuksiin ei kuitenkaan välttämättä osoita laboratorion pätevyyttä myös elintarvike- ja rehunäytteiden analysoinnin alalla, koska kyseisten näytteiden kontaminaatiotaso on alempi. Jatkuva osallistuminen laboratorioiden välisiin tutkimuksiin, jotka koskevat dioksiinien ja dioksiinin kaltaisten PCB-yhdisteiden määrittämistä rehu- tai elintarvikematriiseissa, on siksi välttämätöntä.

— Direktiivin 93/99/ETY säännösten mukaisesti laboratorioiden on oltava ISO-oppaan 58 mukaisesti toimivan tunnustetun laitoksen hyväksymiä, millä varmistetaan, että laboratoriot soveltavat analyyttistä laadunvarmistusta. Laboratorioiden hyväksyntä on tehtävä ISO/IEC/17025:1999-standardin mukaisesti.

5 **Vaatimukset dioksiinien ja dioksiinin kaltaisten PCB-yhdisteiden analyysille**

Analyysimenettelyjä koskevat perusvaatimukset:

— *Hyvä herkkyys ja matalat toteamisrajat*. PCDD:t ja PCDF:t ovat erittäin myrkyllisiä yhdisteitä, joten ne on pystyttävä havaitsemaan jo määrinä, joiden suuruus on pikogrammoja TEQ (pikogramma = 10^{-12} g). PCB-yhdisteiden tunnetaan esiintyvän suurempina pitoisuuksina kuin PCDD- ja PCDF-yhdisteiden. Useimpien PCB-yhdisteiden osalta herkkyydeksi riittää jo nanogrammoina (10^{-9} g) ilmaistava alue. Niitä toksisempien dioksiinin kaltaisten PCB-yhdisteiden (erityisesti ei-orto-yhdisteiden) mittauksessa herkkyyden on oltava samaa luokkaa kuin PCDD- ja PCDF-yhdisteiden kohdalla.

— *Hyvä selektiivisyys (spesifisyys)*. PCDD- ja PCDF-yhdisteet sekä dioksiinin kaltaiset PCB:t on voitava erottaa lukuisista muista uuttamisessa mukana tulevista ja mahdollisesti häiriöitä aiheuttavista yhdisteistä, joiden pitoisuudet voivat olla moninkertaisia verrattuna tarkasteltavien yhdisteiden pitoisuuksiin. Kaasukromatografia-massaspektrometriamenetelmissä (GC-MS) on pystyttävä tarvittaessa erottelemaan eri yhdisteet, kuten toksiset yhdisteet (esim. seitsemäntoista 2,3,7,8-substituoitua PCDD- ja PCDF-yhdistettä ja dioksiinin kaltaiset PCB:t) muista yhdisteistä. Biotestien pitäisi pystyä määrittämään TEQ-arvot valikoiden PCDD- ja PCDF-yhdisteiden ja dioksiinin kaltaisten PCB-yhdisteiden summana.

— *Hyvä tarkkuus (oikeellisuus ja täsmällisyys)*. Määrityksessä pitäisi pystyä antamaan pätevä arvio aineen todellisesta pitoisuudesta näytteessä. Hyvä tarkkuus (mittauksen tarkkuus: mittauksen tuloksen ja mittauksen todellisen tai annetun arvon läheisyys) on välttämätöntä, jotta voidaan välttää näytteen analyysin tuloksen hylkääminen TEQ-arvion heikon luotettavuuden perusteella. Tarkkuus ilmaistaan oikeellisuutena (varmennetusta materiaalista mitatun tutkittavan aineen määrän keskiarvon ja sen varmennetun arvon erotus prosentteina tästä arvosta) ja täsmällisyytenä (täsmällisyys lasketaan yleensä keskihajontana, jossa on mukana toistettavuus ja uusittavuus, ja se kuvaa määrätyissä koeolosuhteissa kokeita toistamalla saatujen tulosten läheisyyttä).

Seulontamenetelmiin voi kuulua biotestejä ja GC-MS-menetelmiä, varmistusmenetelmät ovat korkearesoluutioisia kaasukromatografia-massaspektrometriamenetelmiä (HRGC-/HRMS-menetelmiä). TEQ-arvon kokonaismäärän osalta on noudatettava seuraavia vaatimuksia:

▼B

	Seulontamenetelmät	Varmistusmenetelmät
Väärien negatiivisten tulosten osuus	< 1 %	
Oikeellisuus		– 20 % — + 20 %
Vaihtelukerroin	< 30 %	< 15 %

6 **Erityiset vaatimukset seulonnassa tai varmistuksessa käytettäville GC-MS-menetelmille**

— Analyysimenetelmän validoimiseksi on aivan menetelmän alussa eli esimerkiksi ennen uuttamista lisättävä ^{13}C-merkittyjä 2,3,7,8-kloorisubstituoituja sisäisiä PCDD/F-standardiaineita (ja ^{13}C-merkittyjä sisäisiä dioksiinin kaltaisten PCB-yhdisteiden standardiaineita, jos on määritettävä dioksiinin kaltaisia PCB-yhdisteitä). Vähintään yhtä näistä yhdisteistä on lisättävä kutakin tetra–oktakloorattua PCDD/F-homologiryhmää kohden (ja yhtä näistä yhdisteistä kutakin dioksiinin kaltaisten PCB-yhdisteiden homologiryhmää kohden, jos on määritettävä dioksiinin kaltaisia PCB-yhdisteitä). (Vaihtoehtoisesti voidaan lisätä vähintään yhtä näistä yhdisteistä kutakin PCDD/F:ien ja dioksiinin kaltaisten PCB-yhdisteiden valvonnassa käytettyä massaspektrillä määritettyä ionia kohden.) Ainakin varmistusmenetelmien yhteydessä on suositeltavaa käyttää kaikkia 17:ää ^{13}C-merkittyä 2,3,7,8-kloorisubstituoitua sisäistä PCDD/F-standardiainetta ja kaikkia 12:ta ^{13}C-merkittyä sisäistä dioksiinin kaltaisten PCB-yhdisteiden standardiainetta (jos on määritettävä dioksiinin kaltaisia PCB-yhdisteitä).

Suhteelliset vastetekijät on asianmukaista kalibrointiliuosta käyttäen määritettävä myös niille aineille, joiden osalta ei lisätä ^{13}C-merkittyä analogia.

— Kasviperäisten elintarvikkeiden ja alle 10 % rasvaa sisältävien eläinperäisten elintarvikkeiden kohdalla sisäiset standardiaineet on lisättävä ennen uuttamista. Yli 10 % rasvaa sisältävien eläinperäisten elintarvikkeiden kohdalla ne taas voidaan lisätä joko ennen uuttamista tai rasvauuttamisen jälkeen. Uuttamisen tehokkuus on validoitava asianmukaisesti riippuen siitä, missä vaiheessa sisäiset standardiaineet lisätään, ja siitä, ilmoitetaanko tulokset tuotteessa vai rasvassa olevan pitoisuuden perusteella.

— Ennen GC-MS-analyysia on lisättävä 1 tai 2 saantostandardiainetta.

— Saantojen valvonta on välttämätöntä. Varmistusmenetelmissä sisäisten standardien saantojen pitäisi olla 60—120 prosenttia. Pienemmät saantoarvot voidaan hyväksyä erityisesti hepta- ja oktaklooratun dibentsodioksiinien ja dibentsofuraanien osalta, kunhan niiden vaikutus TEQ-arvoon on enintään 10 % TEQ-arvon kokonaismäärästä (perustana ainoastaan PCDD/F). Seulontamenetelmissä saantojen tulisi olla 30—140 %.

— Dioksiinit olisi erotettava häiriöitä aiheuttavista klooratuista yhdisteistä, esimerkiksi PCB-yhdisteistä ja klooratuista bifenyylieettereistä, soveltuvilla kromatografiatekniikoilla (mieluiten florisil-, alumiinioksidi- ja/tai hiilikolonneilla).

— Isomeerien erotuksen kaasukromatografian avulla pitäisi olla riittävä (1,2,3,4,7,8-HxCDF:n ja 1,2,3,6,7,8-HxCDF:n välisen laakson korkeus ei saa ylittää 25 %).

— Dioksiinien määrittämiseen olisi käytettävä EPA-menetelmän 1613 versiota B (Tetra- through octa-chlorinated dioxins and furans by isotope dilution HRGC/HRMS) tai vastaavat tehokkuuskriteerit täyttävää menetelmää.

— Suurimman ja pienimmän arvon välinen ero saa olla enintään 20 % elintarvikkeilla, joiden dioksiinipitoisuus on noin 1 pg WHO-TEQ rasvagrammaa kohti (perustana vain PCDD:t ja PCDF:t). Vähärasvaisiin elintarvikkeisiin on sovellettava vastaavia vaatimuksia pitoisuuden ollessa noin 1 pg WHO-TEQ tuotteen painogrammaa kohti. Pienemmillä pitoisuuksilla — esim. 0,50 pg WHO-TEQ tuotegrammaa kohti — suurimpien ja pienimpien arvojen ero voi olla 25–40 %.

7 **Seulonta-analyysimenetelmät**

7.1 *Johdanto*

Seulontaa voidaan käyttää erilaisiin analyyseihin: puhtaaseen seulontaan tai kvantitatiiviseen analyysiin.

▼B

Seulonta

Näytteitten vastetta verrataan viitenäytteen vasteeseen kyseessä olevalla mittausalueella. Vertailunäytettä vähäisemmän vasteen antavia näytteitä pidetään negatiivisina, suuremman vasteen antaneita mahdollisina positiivisina. Vaatimukset:

— Kussakin koesarjassa on käytettävä nollanäytettä ja vertailunäytettä (-näytteitä), jotka uutetaan ja testataan samaan aikaan identtisissä oloissa. Vertailunäytteen vasteen on oltava selvästi kohonnut verrattuna nollanäytteeseen.

— Lisäksi olisi käytettävä mitattavan tason 0,5- ja 2-kertaista arvoa edustavia vertailunäytteitä, joilla osoitetaan testin toimivuus halutulla mittausalueella mitattavan tason kontrollia varten.

— Muita matriiseja testattaessa on osoitettava vertailunäytteiden sopivuus mieluiten ottamalla mukaan näytteitä, joiden TEQ-arvoksi on korkearesoluutioisella kaasukromatografia-massaspektrometrialla määritetty vertailunäytteen arvoa lähellä oleva arvo, taikka arvoltaan vastaavaksi säädettyä nollanäytettä.

— Koska sisäisiä standardiaineita ei voida käyttää biotesteissä, on erittäin tärkeää tehdä toistettavuustestejä, jotta saadaan tietoja yksittäisen koesarjan keskihajonnasta. Vaihtelukertoimen olisi oltava pienempi kuin 30 %.

— Biotestien osalta olisi määriteltävä kohdeyhdisteet, mahdolliset häiriöt sekä suurimmat hyväksyttävät nollatasot.

Kvantitatiivinen analyysi

Kvantitatiivisessa analyysissa tarvitaan standardilaimennussarja, kaksin- tai kolminkertainen puhdistus sekä mittaus-, nolla- ja saantokontrollit. Tulos voidaan ilmoittaa TEQ:na, jolloin oletetaan signaalista vastaavien yhdisteiden olevan TEQ-periaatteen mukaisia. Tämä voidaan tehdä tuottamalla TCDD:n (tai dioksiini-furaanistandardiseoksen) avulla kalibrointikuvaaja, jonka perusteella lasketaan TEQ-taso uutteessa ja sitä kautta näytteessä. Arvo korjataan nollanäytteelle lasketun TEQ-arvon (jotta otetaan huomioon epäpuhtaudet käytetyistä liuottimista ja kemikaaleista) ja saannon (lasketaan pitoisuudeltaan noin kyseessä olevaa tasoa edustavan laadunvalvontanäytteen TEQ-arvosta) perusteella. On huomattava, että osa ilmeisestä saantohäviöstä voi johtua matriisivaikutuksista ja/tai biotestien TEF-arvojen ja WHO:n virallisten TEF-arvojen eroista.

7.2 *Vaatimukset seulontaan käytettäville analyysimenetelmille*

— Seulontaan voidaan käyttää GC-MS-menetelmiä ja biotestimenetelmiä. GC-MS-menetelmien osalta vaatimuksina on käytettävä kohdassa 6 esitettyjä vaatimuksia. Solupohjaisten biotestien erityisvaatimukset esitetään kohdassa 7.3 ja testisarjapohjaisten biotestien erityisvaatimukset kohdassa 7.4.

— On ilmoitettava väärien positiivisten ja väärien negatiivisten tulosten määrä suuressa näytemäärässä enimmäismäärien tai toimintarajojen ala- ja yläpuolella varmistavalla analyysimenetelmällä määritettyyn TEQ-arvoon verrattuna. Todellisten väärien negatiivisten tulosten osuuden pitäisi olla alle 1 %. Väärien positiivisten tulosten määrän pitäisi olla niin pieni, että seulontavälineen käytöstä on hyötyä.

— Positiiviset tulokset on aina vahvistettava varmistavalla analyysimenetelmällä (HRGC/HRMS). Lisäksi laajaa TEQ-vaihtelualuetta edustavat näytteet olisi vahvistettava HRGC/HRMS:llä (noin 2—10 % negatiivisista näytteistä). Tiedot biotestin ja HRGC/HRMS:n tulosten vastaavuudesta on ilmoitettava.

7.3 *Erityisvaatimukset solupohjaisille biotesteille*

— Biotestiä suoritettaessa on kussakin testauksessa käytettävä TCDD-viitepitoisuussarjaa tai dioksiini-furaaniseosta (täysimittainen annos-vastekuvaaja, jossa $R^2 > 0,95$). Seulonnassa voidaan kuitenkin käyttää matalien pitoisuuksien näytteitten analysointiin laajennettua matalien pitoisuuksien kuvaajaa.

— Biotestin tulosten valvomiseen vakiomittaisella ajanjaksolla olisi käytettävä laadunvalvontalomakkeessa TCDD-viitepitoisuutta (noin 3 kertaa määritysraja). Vaihtoehtoisesti voidaan käyttää vertailunäytteen suhteellista vastetta verrattuna TCDD-kalibrointikäyrään, sillä solukohtainen vaste voi riippua useista eri tekijöistä.

— Kullekin vertailumateriaalille on luotava laadunvalvontakortti, joka on tarkastettava. Näin varmistetaan, että tulokset vastaavat ohjeita.

— Erityisesti kvantitatiivisissa laskelmissa on käytetyn näytelaimennuksen oltava vastekäyrän lineaarisella osuudella. Pitoisuudeltaan vastekäyrän lineaarisen osuuden ylittävät näytteet on laimennettava ja testattava

▼B

uudelleen. Onkin suositeltavaa testata kerralla vähintään kolme laimennosta.

— Prosentuaalinen keskihajonta saa olla enintään 15 % kunkin näytelaimennoksen kolminkertaisessa määrityksessä ja enintään 30 % kolmen erillisen kokeen välillä.

— Toteamisrajan arvoksi voidaan asettaa kolme kertaa nollaliuoksen tai taustavasteen keskihajonnan arvo. Vaihtoehtoisesti voidaan käyttää tausta-arvoa suurempaa vastetta (5 kertaa nollaliuoksen vaste) laskettuna kyseisen päivän kalibrointikäyrältä. Määritysrajaksi voidaan asettaa 5—6 kertaa nollaliuoksen tai tausta-arvon keskihajonta, tai sitten voidaan käyttää selvästi tausta-arvoa suurempaa vastetta (10 kertaa nollaliuoksen vaste) laskettuna kyseisen päivän kalibrointikäyrältä.

7.4 *Erityisvaatimukset testisarjapohjaisille biotesteille* ([1])

— Valmistajan ohjeita näytteen valmistamiselle ja analyyseille on noudatettava.

— Viimeisen käyttöpäivän ohittaneita testisarjoja ei pidä käyttää.

— Muitten sarjojen yhteydessä käytettäviksi tarkoitettuja tarvikkeita tai komponentteja ei pidä käyttää.

— Testisarjoja on säilytettävä annettujen säilytyslämpötilarajojen ja käytettävä annettujen käyttölämpötilarajojen puitteissa.

— Toteamisraja on immunomäärityksissä summa, joka saadaan laskemalla yhteen keskiarvo sekä 3 kertaa keskihajonta, joka on määritetty 10:llä nollanäytteen toistoanalyysillä ja jaetaan lineaarisen regressiokuvaajan kulmakertoimella.

— Laboratoriotesteissä olisi käytettävä vertailustandardeja, jotta taataan, että vastaavuus standardiin nähden on hyväksyttävissä rajoissa.

8 **Tulosten raportointi**

Mikäli analyyttinen menetelmä sallii, analyysin tuloksiin olisi sisällyttävä yksittäisten PCDD/F:ien ja PCB-yhdisteiden pitoisuudet ja tulokset olisi ilmoitettava pienimpinä, suurimpina ja väliarvoina, jotta tulosten raportointiin saataisiin mukaan mahdollisimman paljon tietoja, jolloin tuloksia pystytään tulkitsemaan erityisten vaatimusten mukaisesti.

Raporttiin tulisi sisältyä myös näytteen rasvapitoisuus sekä rasvan uuttamiseen käytetty menetelmä.

Yksittäisten sisäisten standardiaineiden saantotiedot on toimitettava, jos saantojen arvo on kohdassa 6 mainitun alueen ulkopuolella tai jos enimmäismäärä ylittyy. Muissa tapauksissa ne on toimitettava pyydettäessä.

([1]) Toistaiseksi ei ole toimitettu näyttöä markkinoilla olevista testisarjapohjaisista biotesteistä, jotka ovat riittävän herkkiä ja luotettavia, jotta niiden avulla voitaisiin seuloa elintarvike- ja rehunäytteissä olevat dioksiinipitoisuudet vaaditulla tarkkuudella.