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

►**B**

# RICHTLIJN 2002/69/EG VAN DE COMMISSIE

**van ►C1 30 juli 2002 ◄**

**tot vaststelling van bemonsteringswijzen en analysemethoden voor de officiële controle op dioxinen en de gehaltebepaling van dioxineachtige PCB's in levensmiddelen**

**(Voor de EER relevante tekst)**

(PB L 209 van 6.8.2002, blz. 5)

Gerectificeerd bij:

►**C1** Rectificatie PB L 252 van 20.9.2002, blz. 40 (2002/69/EG)

▼B

# RICHTLIJN 2002/69/EG VAN DE COMMISSIE

**van ►C1 30 juli 2002 ◄**

**tot vaststelling van bemonsteringswijzen en analysemethoden voor de officiële controle op dioxinen en de gehaltebepaling van dioxineachtige PCB's in levensmiddelen**

**(Voor de EER relevante tekst)**

DE COMMISSIE VAN DE EUROPESE GEMEENSCHAPPEN,

Gelet op het Verdrag tot oprichting van de Europese Gemeenschap,

Gelet op Richtlijn 85/591/EEG van de Raad van 20 december 1985 betreffende de invoering van communautaire bemonsteringswijzen en analysemethoden voor de controle van voor menselijke voeding bestemde levensmiddelen [1], ►C1 en met name op de artikelen 1 en 4, ◄

Overwegende hetgeen volgt:

(1) Bij Verordening (EG) nr. 466/2001 van de Commissie van 8 maart 2001 tot vaststelling van maximumgehalten aan bepaalde verontreinigingen in levensmiddelen [2], laatstelijk gewijzigd bij Verordening (EG) nr. 563/2002 [3], en gewijzigd bij Verordening (EG) nr. 2375/2001 van de Raad [4], zijn maximumgehalten voor dioxinen en furanen in bepaalde levensmiddelen vastgesteld.

(2) Bij Richtlijn 89/397/EEG van de Raad van 14 juni 1989 inzake de officiële controle op levensmiddelen [5] zijn de algemene beginselen voor de uitoefening van de controle op levensmiddelen vastgesteld. Bij Richtlijn 93/99/EEG van de Raad van 29 oktober 1993 betreffende aanvullende maatregelen inzake de officiële controle op levensmiddelen [6] is een regeling ingesteld betreffende kwaliteitsnormen voor laboratoria die in opdracht van de lidstaten officiële controles op levensmiddelen verrichten.

(3) Bij Richtlijn 85/591/EEG zijn algemene criteria voor bemonsteringswijzen en analysemethoden vastgesteld. In sommige gevallen moeten echter specifiekere criteria en/of voorschriften voor de analysemethode worden vastgesteld om te garanderen dat de laboratoria analysemethoden van een vergelijkbaar niveau gebruiken.

(4) 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.

(5) De bij deze richtlijn vastgestelde bepalingen gelden alleen voor de bemonstering en analyse van dioxinen en dioxineachtige PCB's ter uitvoering van Verordening (EG) nr. 466/2001 en zijn niet van invloed op de bemonsteringsstrategie en de niveaus en frequenties van bemonstering zoals vastgelegd in de bijlagen III en IV bij Richtlijn 96/23/EG van de Raad van 29 april 1996 inzake controlemaatregelen ten aanzien van bepaalde stoffen en residuen daarvan in levende dieren en in producten daarvan en tot intrekking van de Richtlijnen 85/358/EEG en 86/469/EEG en de Beschikkingen 89/187/EEG en 91/664/EEG [7]. Evenmin zijn zij van invloed op de criteria voor gerichte bemonstering zoals vastgesteld bij Beschikking 98/179/EG van de Commissie van 23 februari 1998 houdende vaststelling van uitvoeringsbepalingen met betrekking tot de officiële bemonstering in het kader

[1] PB L 372 van 31.12.1985, blz. 50.
[2] PB L 77 van 16.3.2001, blz. 1.
[3] PB L 86 van 3.4.2002, blz. 5.
[4] PB L 321 van 6.12.2001, blz. 1.
[5] PB L 186 van 30.6.1989, blz. 23.
[6] PB L 290 van 24.11.1993, blz. 14.
[7] PB L 125 van 23.5.1996, blz. 10.

▼B

van de opsporing van bepaalde stoffen en residuen daarvan in levende dieren en dierlijke producten [1].

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

(7) 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 strikte voorschriften voor de bevestigingsmethoden en minimumvoorschriften voor de screeningsmethode worden vastgesteld.

(8) 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 levensmiddelen worden uitgevoerd overeenkomstig bijlage I.

*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 levensmiddelen 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.

[1] PB L 65 van 5.3.1998, blz. 31.

▼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 LEVENSMIDDELEN**

1. **Doel en toepassingsgebied**

De monsters voor de officiële controle op het gehalte aan dioxinen (PCDD's/PCDF's) en de gehaltebepaling van dioxineachtige PCB's ([1]) in levensmiddelen worden genomen overeenkomstig de onderstaande methoden. De op die manier verkregen verzamelmonsters worden geacht representatief te zijn 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 Verordening (EG) nr. 466/2001 tot vaststelling van maximumgehalten aan bepaalde verontreinigingen in levensmiddelen.

([1]) Tabel TEF's van de WHO voor de beoordeling van de risico's voor de mens, gebaseerd op de conclusies van de bijeenkomst van de Wereldgezondheidsorganisatie in Stockholm, Zweden, 15-18 juni 1997 (Van den Berg e.a., (1998) Toxic Equivalency Factors (TEFs) for PCBs, PCDDs, PCDFs for Humans and for Wildlife. *Environmental Health Perspectives, 106(12), 775)*.

| Congeneer | TEF |
|---|---|
| *Dibenzo-p-dioxinen („PCDD's")* | |
| 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 |
| *Dibenzofuranen („PCDFs")* | |
| 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 |
| *„Dioxineachtige"* **PCB's Non-orto-PCB's + Mono-ortho-PCB's** | |
| **Non-ortho-PCB's** | |
| PCB 77 | 0,0001 |
| PCB 81 | 0,0001 |
| PCB 126 | 0,1 |
| PCB 169 | 0,01 |
| **Mono-ortho-PCB's** | |
| 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 |

Gebruikte afkortingen: T = tetra; Pe = penta; Hx = hexa; Hp = hepta; O = octa; CDD = chloordibenzodioxine; CDF = chloordibenzofuran; CB = chloorbifenyl.

▼B

2. **Definities**

Partij: identificeerbare hoeveelheid levensmiddel die in één zending is geleverd en waarbij de verantwoordelijke functionaris gemeenschappelijke kenmerken heeft geconstateerd, zoals herkomst, soort, type verpakking, verpakker, verzender of aangebrachte vermeldingen of stempels. In geval van vissen en visserijproducten dienen ook de afmetingen van de vissen vergelijkbaar te zijn.

Subpartij: deel van een grote partij dat voor bemonsteringsdoeleinden van die partij is afgescheiden. Elke subpartij moet fysiek gescheiden zijn en identificeerbaar zijn.

Basismonster: hoeveelheid materiaal die op één plaats uit de partij of de subpartij is genomen.

Verzamelmonster: de samengevoegde basismonsters die uit de partij of de subpartij zijn genomen.

Laboratoriummonster: een representatief deel of een representatieve hoeveelheid van het verzamelmonster, bestemd voor het laboratorium.

3. **Algemene bepalingen**

3.1. *Personeel*

De monsters worden genomen door een gekwalificeerde persoon die daartoe gemachtigd is overeenkomstig de in de lidstaat geldende voorschriften.

3.2. *Te bemonsteren product*

Elke partij die moet worden geanalyseerd, wordt afzonderlijk bemonsterd.

3.3. *Voorzorgsmaatregelen*

Bij de bemonstering en de bereiding van de laboratoriummonsters moet worden voorkomen dat zich veranderingen voordoen waardoor het gehalte aan dioxinen en dioxineachtige PCB's kan veranderen of de analyses of de representativiteit van het verzamelmonster kunnen worden beïnvloed.

3.4. *Basismonsters*

De basismonsters worden voorzover dit uitvoerbaar is op verschillende plaatsen uit de partij of de subpartij genomen. Als hiervan wordt afgeweken, wordt dit in het in punt 3.8 bedoelde verslag vermeld.

3.5. *Bereiding van het verzamelmonster*

Het verzamelmonster wordt verkregen door alle basismonsters bij elkaar te voegen. Het moet een gewicht van minimaal 1 kg hebben, behalve als dat niet uitvoerbaar is, bijvoorbeeld als een enkele verpakking bemonsterd is.

3.6. *Verdeling van het verzamelmonster in laboratoriummonsters voor controle-, verhaal- en arbitragedoeleinden*

De laboratoriummonsters voor controle-, verhaal- en arbitragedoeleinden worden genomen uit het gehomogeniseerde verzamelmonster, mits deze procedure met de regelgeving van de lidstaat in overeenstemming is. De grootte van de laboratoriummonsters voor controledoeleinden moet zodanig zijn dat ten minste duplo-analyses mogelijk zijn.

3.7. *Verpakking en verzending van de verzamel- en laboratoriummonsters*

Elk verzamel- en laboratoriummonster wordt in een schone recipiënt van inert materiaal geplaatst die een degelijke bescherming biedt tegen verontreiniging, verlies van analyten door adsorptie aan de binnenwand van de recipiënt en beschadiging tijdens het vervoer. Voorts wordt het nodige gedaan om verandering in de samenstelling van de verzamel- en laboratoriummonsters tijdens vervoer of opslag te voorkomen.

3.8. *Verzending en etikettering van de verzamel- en laboratoriummonsters*

Elk officieel monster wordt op de plaats van bemonstering verzegeld en geïdentificeerd volgens de in de lidstaat geldende voorschriften. Van elke bemonstering wordt een bemonsteringsverslag opgesteld aan de hand waarvan de bemonsterde partij ondubbelzinnig kan worden geïdentificeerd;

▼B

hierin worden bemonsteringsdatum en -plaats en alle andere voor de analist nuttige gegevens vermeld.

4. **Bemonstering**

Bij de gebruikte bemonsteringswijze wordt ervoor gezorgd dat het verzamelmonster representatief is voor de te controleren partij.

*Aantal basismonsters*

In geval van melk en oliën, waarbij ervan uitgegaan mag worden dat de verontreinigingen in kwestie in een partij homogeen verdeeld zijn, volstaat het om drie basismonsters per partij te nemen, die samen het verzamelmonster vormen. Het partijnummer moet worden vermeld. Voor andere producten is het minimumaantal basismonsters dat van de partij dient te worden genomen in tabel 1 aangegeven.

Het verzamelmonster (totaal van alle basismonsters) moet een gewicht van minstens 1 kg hebben (zie punt 3.5). De basismonsters moeten van vergelijkbaar gewicht zijn. Het gewicht van het basismonster moet minimaal 100 zijn. Dit gewicht hangt af van de grootte van de deeltjes in de partij. Als hiervan wordt afgeweken, wordt dit in het in punt 3.8 bedoelde verslag vermeld. Overeenkomstig Beschikking 97/747/EG van de Commissie van 27 oktober 1997 tot vaststelling van de niveaus en frequenties van de monsternemingen zoals bedoeld in Richtlijn 96/23/EG van de Raad, ten behoeve van de controle op bepaalde stoffen en residuen daarvan in bepaalde dierlijke producten [1] bedraagt de omvang van het te nemen monster voor kippeneieren ten minste twaalf eieren (zowel voor onverpakte partijen als voor partijen die uit afzonderlijke verpakkingen bestaan, tabellen 1 en 2).

Tabel 1

**Minimumaantal van de partij te nemen basismonsters**

| Gewicht van de partij (in kg) | Minimumaantal basismonsters |
|---|---|
| < 50 | 3 |
| van 50 tot 500 | 5 |
| > 500 | 10 |

Indien de partij uit afzonderlijke verpakkingen bestaat, wordt voor het verzamelmonster een aantal verpakkingen genomen overeenkomstig tabel 2.

Tabel 2

**Aantal voor de vorming van het verzamelmonster te bemonsteren verpakkingen (basismonsters) ingeval de partij uit afzonderlijke verpakkingen bestaat**

| Aantal verpakkingen of eenheden in de partij | Aantal te bemonsteren verpakkingen of eenheden |
|---|---|
| van 1 tot 25 | één verpakking of eenheid |
| van 26 tot 100 | circa 5 %, minimaal twee verpakkingen of eenheden |
| > 100 | circa 5 %, maximaal tien verpakkingen of eenheden |

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

Het controlelaboratorium voert op het laboratoriummonster voor controledoeleinden een duplobepaling uit ingeval het verkregen resultaat van de eerste analyse minder dan 20 % onder of boven het maximumgehalte ligt, en berekent het gemiddelde van de resultaten. De partij wordt aanvaard als

[1] PB L 303 van 6.11.1997, blz. 12.

▼B

de uitslag van de eerste analyse meer dan 20 % onder het maximumgehalte ligt of, ingeval een duplobepaling nodig is, als het gemiddelde niet hoger is dan het desbetreffende maximumgehalte als vastgelegd in Verordening (EG) nr. 466/2001.

▼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 LEVENSMIDDELEN**

1. **Doel en toepassingsgebied**

Deze voorschriften gelden voor de analyse van levensmiddelen voor de officiële controle op het gehalte aan dioxinen (polychloordibenzo-p-dioxinen, PCDD's, en polychloordibenzofuranen, PCDF's) en de gehaltebepaling van dioxineachtige PCB's.

De aanwezigheid van dioxinen in levensmiddelen 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 levensmiddelen) 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 noot 1).

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.

3. **Kwaliteitsborgingsvoorschriften voor de monstervoorbereiding**

— Er moeten maatregelen worden genomen om kruiscontaminatie in elke fase van de bemonsterings- en analyseprocedure te voorkomen.

— 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.

— De levensmiddelmonsters moeten zodanig worden bewaard en vervoerd dat de integriteit ervan bewaard blijft.

— Voorzover nodig wordt elk laboratoriummonster fijngemalen en zorgvuldig gemengd zodat een volledig homogeen product ontstaat (bv. zo fijn gemalen dat het een zeef met mazen van 1 mm kan passeren); als het vochtgehalte te hoog is, moeten de monsters voor het malen worden gedroogd.

▼B

— 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.

— Er bestaan tal van geschikte specifieke monstervoorbereidingsprocedures die voor de betrokken producten kunnen worden gebruikt. De procedures moeten worden gevalideerd volgens internationaal aanvaarde richtsnoeren.

4. **Voorschriften voor de laboratoria**

— De laboratoria moeten de prestaties aantonen van een methode in de buurt van het betrokken concentratieniveau, bijvoorbeeld 0,5 maal, 1 maal en 2 maal 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 bijvoorbeeld 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 overeenkomstig Richtlijn 93/99/EEG 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 een 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, bijvoorbeeld 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 selectief als de som van PCDD's, PCDF's en dioxineachtige PCB's worden bepaald.

— *Grote nauwkeurigheid (juistheid en precisie)*. De bepaling moet een 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

▼B

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/hogeresolutie massaspectrometriemethoden (HRGC/HRMS) gebruikt. Bij de totale TEQ-waarde moet aan de volgende criteria voldaan worden:

| | Screeningsmethoden | Bevestigingsmethoden |
|---|---|---|
| Percentage fout-negatieve uitslagen | < 1 % | |
| Juistheid | | – 20 % tot + 20 % |
| VC (variatiecoëfficiënt) | < 30 % | < 15 % |

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

— Aan het begin van de analyseprocedure, bijvoorbeeld 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 12 $^{13}$C-gelabelde interne dioxineachtige PCB-standaarden (wanneer dioxineachtige PCB's moeten worden bepaald).

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

— In geval van levensmiddelen van plantaardige oorsprong en levensmiddelen van dierlijke oorsprong die minder dan 10 % vet bevatten, moeten de interne standaarden vóór de extractie worden toegevoegd. Bij levensmiddelen 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 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).

▼B

— 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 de bovengrens en de ondergrens mag niet meer dan 20 % bedragen voor levensmiddelen met een dioxineverontreiniging van omstreeks 1 pg WHO-TEQ/g vet (gebaseerd op uitsluitend PCDD's/PCDF's). Voor levensmiddelen met een laag vetgehalte gelden dezelfde eisen voor een verontreiniging van omstreeks 1 pg WHO-TEQ/g product. Voor geringe verontreinigingen, bijvoorbeeld 0,50 pg WHO-TEQ/g product, mag het verschil tussen de bovengrens en de ondergrens 25 tot 40 % bedragen.

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 2 maal 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 WHO zijn vastgesteld.

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

▼B

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 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.

— 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”, „boven-

[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 concentratieniveaus in monsters van levensmiddelen of diervoeders.

▼B

grens” 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 terugvindingspercentageS buiten het in punt 6 aangegeven bereik liggen, wanneer het maximumniveau wordt overschreden en in andere gevallen op verzoek.