

32002L0069

L 209/5

EUROPOS BENDRIJŲ OFICIALUSIS LEIDINYS

2002 8 6

KOMISIJOS DIREKTYVA 2002/69/EB**2002 m. liepos 30 d.****nustatanti ėminių ėmimo ir analizės metodus vykdant oficialią dioksinų kontrolę ir nustatant dioksinų tipo PCB koncentraciją maisto produktuose****(tekstas svarbus EEE)**

EUROPOS BENDRIJŲ KOMISIJA,

atsižvelgdama į Europos bendrijos steigimo sutartį,

atsižvelgdama į 1985 m. gruodžio 20 d. Tarybos direktyvą 85/591/EEB dėl Bendrijos bandinių ėmimo ir analizės metodų įvedimo vykdant žmonėms vartoti skirtų maisto produktų monitoringą ⁽¹⁾, ypač į jos 1 ir 4 straipsnius,

kadangi:

- (1) Komisijos reglamentas (EB) Nr. 466/2001 ⁽²⁾ su paskutiniaisiais pakeitimais, padarytais Reglamentu (EB) Nr. 563/2002 ⁽³⁾, ir pakeitimais, padarytais Tarybos reglamentu (EB) Nr. 2375/2001 ⁽⁴⁾, nustato didžiausius leistinus dioksinų ir furanų tam tikruose maisto produktuose kiekius.
- (2) 1989 m. birželio 14 d. Tarybos direktyva 89/397/EEB dėl oficialios maisto produktų kontrolės ⁽⁵⁾ nustato bendruosius maisto produktų kontrolės vykdymo principus. 1993 m. spalio 29 d. Tarybos direktyva 93/99/EEB dėl papildomų oficialios maisto produktų kontrolės priemonių ⁽⁶⁾ įdiegia kokybės standartų sistemą, skirtą laboratorijoms, kurias valstybės narės įpareigojo vykdyti oficialią maisto produktų kontrolę.
- (3) Direktyva 85/591/EEB nustatė bendruosius ėminių ėmimo ir analizės metodų kriterijus. Tačiau kartais būtina nustatyti konkretesnius kriterijus ir (arba) reikalavimus, kuriuos turėtų atitikti analizės metodas, norint užtikrinti, kad laboratorijos taikytų panašaus veiksmingumo analizės metodus.
- (4) Nuostatos dėl ėminių ėmimo ir analizės metodų yra sukurtos remiantis dabartinėmis žiniomis ir gali būti tikslinamos atsižvelgiant į mokslo ir technikos žinių raidą.
- (5) Šioje direktyvoje išdėstytos nuostatos, siekiant įgyvendinti Reglamentą (EB) Nr. 466/2001, taikomos tik dioksinų ir

dioksinų tipo PCB ėminių ėmimo ir analizės metodams ir nesusijusios su ėminių ėmimo strategija, lygmeniu ir dažniu, apibrėžtais

1996 m. balandžio 29 d. Tarybos direktyvos 96/23/EB dėl kai kurių medžiagų ir jų likučių gyvuose gyvūnuose ir gyvūninės kilmės produktuose monitoringo priemonių, panaikinančios Direktyvas 85/358/EEB ir 86/469/EEB bei Sprendimus 89/187/EEB ir 91/664/EEB ⁽⁷⁾, III ir IV prieduose. Jos nenagrinėja tikslinio ėminių ėmimo kriterijų, nustatytų 1998 m. vasario 23 d. Komisijos sprendimu 98/179/EB, nustatančiu išsamias mėginių, skirtų tam tikrų medžiagų ir jų likučių gyvuose gyvūnuose ir gyvūninės kilmės produktuose monitoringui vykdyti, oficialaus ėmimo taisykles ⁽⁸⁾.

- (6) Renkant išsamius ir patikimus duomenis apie dioksinų tipo PCB buvimą maisto produktuose, turėtų būti laikomasi aktyvios strategijos. Todėl turėtų būti nustatyti reikalavimai analizės metodams, kurie turi būti taikomi maisto produktuose nustatant dioksinų tipo PCB.
- (7) Ėminiams, turintiems didelę dioksinų koncentraciją, atrinkti galėtų būti taikomas analize pagrįstas patikros metodas, kurio tinkamumas būtų patvirtintas ir plačiai pripažintas. Reikia, kad dioksinų koncentracija šiuose ėminiuose būtų nustatyta patvirtinamuoju analizės metodu. Todėl tikslinga nustatyti griežtus reikalavimus patvirtinamiesiems analizės metodams ir minimalius reikalavimus patikros metodui.
- (8) Šioje direktyvoje numatytos priemonės atitinka Maisto grandinės ir gyvūnų sveikatos nuolatinio komiteto nuomonę,

PRIĖMĖ ŠIĄ DIREKTYVĄ:

1 straipsnis

Valstybės narės užtikrina, kad ėminiai, skirti oficialiai dioksinų bei furanų koncentracijos kontrolei ir dioksinų tipo PCB nustatyti maisto produktuose, būtų imami taikant I priede aprašytus metodus.

⁽¹⁾ OL L 372, 1985 12 31, p. 50.⁽²⁾ OL L 77, 2001 3 6, p. 1.⁽³⁾ OL L 86, 2002 4 3, p. 5.⁽⁴⁾ OL L 321, 2001 12 6, p. 1.⁽⁵⁾ OL L 186, 1989 6 30, p. 23.⁽⁶⁾ OL L 290, 1993 11 24, p. 14.⁽⁷⁾ OL L 125, 1996 5 23, p. 10.⁽⁸⁾ OL L 65, 1998 3 5, p. 31.

2 straipsnis

Valstybės narės užtikrina, kad ėminių ruošimas ir analizės metodai, taikomi vykdant oficialią dioksinų bei furanų koncentracijos kontrolę ir nustatant dioksinų tipo PCB koncentraciją maisto produktuose, atitiktų II priede aprašytus kriterijus.

3 straipsnis

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

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

4 straipsnis

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

5 straipsnis

Ši direktyva skirta valstybėms narėms.

Priimta Briuselyje, 2002 m. liepos 30 d.

Komisijos vardu

David BYRNE

Komisijos narys

I PRIEDAS

ĖMINIŲ ĖMIMO METODAI VYKDANT OFICIALIĄ DIOKSIŲ (PCDD/PCDF) KONCENTRACIJOS KONTROLĘ IR NUSTATANT DIOKSIŲ TIPO PCB KONCENTRACIJĄ TAM TIKRUOSE MAISTO PRODUKTUOSE

1. Tikslas ir taikymo sritis

Ėminiai, skirti oficialiai dioksinų (PCDD/PCDF) koncentracijos maisto produktuose kontrolei, be to, dioksinų tipo PCB ⁽¹⁾ koncentracijai nustatyti, imami pagal toliau aprašytus metodus. Taip gauti jungtiniai ėminiai laikomi reprezentatyviais siuntų arba siuntų dalių, iš kurių jie yra paimti, ėminiais. Pagal gautas laboratorinių ėminių koncentracijos vertes daroma išvada, ar jos atitinka Komisijos reglamente (EB) Nr. 466/2001 nustatytas didžiausias leistinas tam tikrų maisto produktuose esančių nepageidaujamų priemaišų koncentracijos vertes.

2. Sąvokų apibrėžimai

Siunta — tai identifikuojamas kiekis vienu metu pristatytų maisto produktų, turinčių, kaip nustato pareigūnas, bendrų savybių, pvz., vienodą kilmę, rūšį, pakuotės tipą, tą patį pakuotoją, siuntėją arba vienodus žymenis. Jei tai žuvis ar žuvininkystės produktai, žuvis yra panašaus dydžio.

Siuntos dalis — tai nustatyta siuntos dalis, kuriai turi būti taikomas ėminių ėmimo metodas. Kiekviena siuntos dalis turi būti fiziškai atskira ir identifikuojama.

Pavienis ėminys — tai medžiagos, paimtos iš siuntos arba siuntos dalies vienos vietos, kiekis.

Jungtinis ėminys — tai visų siuntos arba siuntos dalies pavienių ėminių suminis kiekis.

Laboratorinis ėminys — tai laboratorijai skirta reprezentatyvi jungtinio ėminio dalis (kiekis).

⁽¹⁾ Žmonių rizikos įvertinimo TEF verčių lentelė, PSO sudaryta pagal Pasaulinės sveikatos organizacijos 1997 m. birželio 15–18 d. Stokholme (Švedija) vykusio susitikimo išvadas (Van den Berg *et al.*, (1998) PCBs, PCDDs ir PCDFs toksiškumo ekvivalentiškumo faktoriai (TEF) žmonėms, gyvūnijai ir augalijai. Aplinkos sveikatos perspektyvos, 106(12), 775).

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

Vartojamos santrumpos: T = tetra; Pe = penta; Hx = hekso; Hp = hepta; O = okta; CDD = chlordinbenzodioksinas; CDF = chlordinbenzofuranas; CB = chlorbifenilas.

3. Bendrosios nuostatos

3.1. *Personalas*

Ėminius ima turintis leidimą tai daryti asmuo, kaip nustato valstybės narės.

3.2. *Medžiaga, iš kurios reikia imti ėminius*

Iš kiekvienos tirtinos siuntos ėminiai imami atskirai.

3.3. *Būtinės atsargumo priemonės*

Imant ir ruošiant laboratorinius ėminius, būtina laikytis atsargumo priemonių, siekiant išvengti bet kokių pokyčių, kurie vėliau galėtų pakeisti dioksinų ir dioksinų tipo PCB koncentraciją, neigiamai veiktų analizinį nustatymą arba dėl kurių jungtiniai ėminiai taptų nereprezentatyvūs.

3.4. *Pavieniai ėminiai*

Pavieniai ėminiai turėtų būti imami, kiek tai įmanoma, iš įvairių siuntos arba siuntos dalies vietų. Nukrypimai nuo šios metodikos turi būti užrašyti ataskaitoje, numatytoje 3.8 punkte.

3.5. *Jungtinio ėminio ruošimas*

Jungtinis ėminys sudaromas sujungiant visus pavienius ėminius. Jo masė turi būti bent 1 kg, išskyrus kai tai neįmanoma, pvz., kai ėminį sudaro viena pakuotė.

3.6. *Jungtinių ėminių padalijimas į laboratorinius ėminius vykdymo, gynybos ir arbitražo tikslams*

Laboratoriniai ėminiai sprendimų vykdymo priežiūros, prekybos (gynybos) ir arbitražo tikslams imami iš homogenizuoto ėminio, jei tai neprieštarauja valstybių narių ėminių ėmimo taisyklėms. Laboratorinio ėminio, skirto vykdymui, turi pakakti bent dviem lygiagrečioms analizėms.

3.7. *Jungtinių ir laboratorinių mėginių pakavimas ir vežimas*

Kiekvienas jungtinis ir laboratorinis ėminys dedamas į švnią, iš inertiškos medžiagos pagamintą talpyklą, tinkamai apsaugančią nuo užteršimo, analitės praradimo dėl adsorbcijos ant vidinių sienelių ir pakenkimo vežant. Reikia laikytis visų atsargumo priemonių, kad būtų išvengta bet kokio jungtinio ir laboratorinio ėminio sudėties pokyčio, galinčio pasitaikyti vežant arba laikant.

3.8. *Jungtinių ir laboratorinių ėminių plombavimas ir ženklimas*

Kiekvienas oficialiai kontrolei paimtas ėminys plombuojamas jo ėmimo vietoje ir ženklamas laikantis valstybių narių taisyklių. Kiekvienas ėminių ėmimas turi būti registruojamas, kad būtų galima vienareikšmiškai nustatyti siuntos tapatybę ir žinoti ėminio paėmimo datą bei vietą, ir kita informaciją, galinčią padėti analizei darančiam asmeniui.

4. Ėminių ėmimo schemas

Taikomas ėminių ėmimo metodas turi užtikrinti, kad jungtinis ėminys atitiktų kontroliuojamą siuntą.

Pavienujų ėminių skaičius

Jei tai pienas ir aliejai, apie kuriuos galima daryti prielaidą, kad aptariamose priemonėse siuntoje pasiskirsto tolygiai, iš vienos siuntos pakanka paimti tris pavienius ėminius, kurie sudaro jungtinį ėminį. Turi būti nurodomas siuntos numeris. Kitų produktų vienos siuntos pavienių ėminių mažiausias skaičius pateiktas 1 lentelėje.

Jungtinio ėminio, sujungiančio visus pavienius ėminius, masė turi būti bent 1 kg (žr. 3.5 punktą). Pavienių ėminių masė turi būti panaši. Pavienio ėminio masė turėtų būti bent 100 gramų. Pavienio ėminio masė priklauso nuo siuntos dalelių dydžio. Nukrypimai nuo šios metodikos turi būti užrašyti ataskaitoje, numatytoje 3.8 punkte pagal 1997 m. spalio 27 d. Komisijos sprendimą 97/747/EB, nustatantį ėminių ėmimo lygmenį ir dažnį, numatytus Tarybos direktyva 96/23/EB dėl kai kurių medžiagų ir jų likučių gyvūninės kilmės produktuose monitoringo ⁽¹⁾, vištų kiaušinių ėminio dydis yra bent 12 kiaušinių (nepakuotų siuntų, taip pat siuntų, sudarytų iš atskirų pakuočių, žr. 1 ir 2 lenteles).

⁽¹⁾ OL L 303, 1997 11 6, p. 12.

1 LENTELĖ

Mažiausias iš vienos siuntos imamų pavienių ėminių skaičius

Siuntos masė (kg)	Mažiausias imamų pavienių ėminių skaičius
< 50	3
50–500	5
> 500	10

Jei siuntą sudaro atskiros pakuotės, pakuočių skaičius jungtiniam ėminiui sudaryti pateiktas 2 lentelėje.

2 LENTELĖ

Pakuočių (pavienių ėminių), imamų jungtiniam ėminiui sudaryti, skaičius, jei siuntą sudaro atskiros pakuotės

Pakuočių arba vienetų skaičius siuntoje	Imamų pakuočių arba vienetų skaičius
1–25	1 pakuotė arba vienetas
26–100	apie 5 %, mažiausiai 2 pakuotės arba vienetai
> 100	apie 5 %, ne daugiau kaip 10 pakuočių arba vienetų

5. **Siuntos arba siuntos dalies atitiktis specifikacijai**

Laboratorinį ėminį, skirtą vykdymui, kontrolinė laboratorija analizuoja, darydama du lygiagrečius nustatymus, jei pirmos analizės rezultatas yra mažiau kaip 20 % mažesnis arba didesnis nei didžiausia leistina koncentracija, ir apskaičiuoja rezultatų vidurkį. Siunta priimama, jei pirmos analizės rezultatas yra daugiau kaip 20 % mažesnis nei didžiausia leistina koncentracija arba, prireikus daroma lygiagreti analizė, jei vidurkis atitinka didžiausią leistiną koncentraciją, kaip nustato Reglamentas (EB) Nr. 466/2001.

II PRIEDAS

ĖMINIŲ RUOŠIMAS IR ANALIZĖS, DAROMOS ATLIEKANT OFICIALIĄ DIOKSIŲ (PCDD/PCDF) KONCENTRACIJOS KONTROLĘ IR NUSTATANT DIOKSIŲ TIPO PCB TAM TIKRUOSE MAISTO PRODUKTUOSE, METODŲ REIKALAVIMAI**1. Tikslas ir taikymo sritis**

Šie reikalavimai turėtų būti taikomi, jei maisto produktai analizuojami vykdant oficialią dioksinų (polichlorintų dibenzo-*p*-dioksinų (PCDD) ir polichlorintų dibenzofuranų (PCDF) kontrolę ir dioksinų tipo PCB nustatymą.

Dioksinų buvimui maisto produktuose kontroliuoti galima įgyvendinti strategiją, kuri pagrįsta ėminių patikros metodu, siekiant atrinkti tuos ėminius, kuriuose dioksinų ir dioksinų tipo PCB koncentracija būtų 30–40 % mažesnė arba didesnė nei tiriamos koncentracijos vertė. Dioksinų koncentracija ėminiuose, turinčiuose didelį jų kiekį, turi būti nustatyta (patvirtinta) patvirtinamuoju metodu.

Patikros metodai — tai metodai, taikomi nustatyti tiriamos koncentracijos dioksinų ir dioksinų tipo PCB buvimą. Šių metodų ėminių analizės našumas yra didelis ir jie taikomi dideliui skaičiui ėminių atsižvelgiant į nustatant teigiamus ėminius. Jie yra specialiai skirti tam, kad būtų išvengta klaidingų ir neigiamų rezultatų.

Patvirtinamieji metodai — tai metodai, suteikiantys visą arba papildomą informaciją, padedančią vienareikšmiškai identifikuoti ir kiekybiškai nustatyti tiriamos koncentracijos dioksitus ir dioksinų tipo PCB.

2. Pagrindimas

Kadangi aplinkos ir biologiniuose ėminiuose (įskaitant maisto produktų ėminius) paprastai yra sudėtingų įvairių giminingų dioksinų mišinių, rizikos įvertinimui palengvinti buvo sukurta Toksiškumo ekvivalentiškumo faktorių (TEF) sąvoka. Šios TEF vertės yra nustatytos norint į 2,3,7,8-padėtį pakeistų PCDD bei PCDF ir visai neseniai — dioksinų tipo aktyvumą turinčių kai kurių ne į orto-padėtį ir į orto-padėtį monochlorintų PCB mišinių koncentraciją išreikšti 2,3,7,8-TCDD toksiškumo ekvivalentais (TEQ) (žr. I priedo 1 išnašą).

Atskirų cheminių medžiagų koncentracija konkrečiame ėminyje yra dauginama iš jų atitinkamo TEF ir sandaugos, po to jos sudedamos suminei dioksinų tipo junginių koncentracijai, išreikštai kaip TEQ, gauti.

Pagal „viršutinio ribinio įverčio“ koncepciją kiekvieno kiekybiškai neįvertinto giminingo junginio indėlis į TEQ yra prilyginamas kiekybinio nustatymo ribinei vertei.

Pagal „apatinio ribinio įverčio“ koncepciją kiekvieno kiekybiškai neįvertinto giminingo junginio indėlis į TEQ prilyginamas nuliui.

Pagal „vidurinio ribinio įverčio“ koncepciją kiekvieno kiekybiškai neįvertinto giminingo junginio indėlis į TEQ prilyginamas pusei kiekybinio nustatymo ribinės vertės.

3. Kokybės užtikrinimo reikalavimai ruošiant ėminius

- Turi būti imtasi priemonių išvengti teršalų pernešimo vykdant kiekvieną taikomos ėminių ėmimo ir analizės metodikos stadiją.
- Ėminiai turi būti laikomi ir vežami talpyklose iš stiklo, aliuminio, polipropileno arba polietileno. Iš ėminių talpyklos turi būti pašalinti popieriaus dulkių pėdsakai. Stiklo indai turėtų būti plaunami tirpikliais prieš tai patikrintais dėl dioksinų buvimo.
- Ėminiai turi būti laikomi ir vežami taip, kad maisto produktas išliktų vientisas.
- Jei reikia, kiekvieną laboratorinį ėminį smulkiai sumalkite ir gerai išmaišykite, taikydami tokį procesą, kuris pasirodytų tinkamas ėminiui visiškai homogenizuoti (pvz., sumalkite sijoti per 1 mm sietą); jei ėminiuose daug drėgmės, prieš malimą jie turi būti išdžiovinti.
- Darykite tuščiąją analizės bandymą, įvykdydami viską pagal analizės metodiką nededami ėminio.

- Ekstrakcijai naudojamo ėminio masės turi pakakti jautrio reikalavimams įvykdyti.
- Yra daug gana gerų konkrečių ėminių ruošimo metodikų, kurias galima taikyti nagrinėjamiems produktams. Metodikos turi būti patvirtintos lakantis tarptautinių priimtų rekomendacijų.

4. Reikalavimai laboratorijoms

- Laboratorijos parodo metodo tinkamumą tiriamų koncentracijos verčių, pvz., 0,5, 1 ir 2 kartus didesnių nei tiriamą koncentraciją, intervalui esant priimtinam pakartotinės analizės variacijos koeficientui. Apie priimtumo kriterijų detales žr. 5 punkte.
- Patvirtinamojo metodo kiekybinio apskaičiavimo ribinė vertė neturėtų būti didesnė už vieną penktąją tiriamos koncentracijos vertės, kad galima būtų užtikrinti variacijos koeficientų priimtumą tiriamos koncentracijos intervale.
- Vidinės kokybės kontrolės priemonėms įgyvendinti reguliariai turėtų būti daroma tuščiųjų ir analite sodrintų ėminių bandymai arba kontrolinių ėminių (geriau, jei įmanoma, sertifikuotos pamatinės medžiagos) analizė.
- Geriausias būdas įrodyti gebėjimą daryti konkrečias analizes — sėkmingai dalyvauti laboratorijos kvalifikaciją įvertinančiuose tarplaboratoriniuose tyrimuose. Tačiau sėkmingas dalyvavimas, pvz., dirvožemio arba nuotekų ėminių, tarplaboratoriniuose tyrimuose nebūtinai patvirtina gebėjimą analizuoti mažesnio užterštumo lygio maisto produktų arba pašarų ėminius. Todėl privaloma nuolat dalyvauti tarplaboratoriniuose tyrimuose nustatant dioksinų ir dioksinų tipo PCB koncentraciją atitinkamų pašarų (maisto produktų) matricose.
- Laikantis Direktyvos 93/99/EEB nuostatų, laboratorijas turi akredituoti patvirtinta institucija, veikianti pagal ISO Vadovą 58, siekiant užtikrinti, kad laboratorijos taikytų analizės kokybės garantiją. Laboratorijos turi būti akredituotos pagal ISO/IEB/17025:1999 standartą.

5. Reikalavimai, kuriuos turi atitikti dioksinų ir dioksinų tipo PCB analizės metodas

Pagrindiniai analizės metodų priimtumo reikalavimai:

- *Didelis jautris ir mažos aptikimo ribos.* PCDD ir PCDF aptinkamas kiekis turi būti pikogramo TEQ (10^{-12} g) eilės dėl ypatingo kai kurių iš šių junginių toksiškumo. Inoma, kad PCB koncentracija būna didesnė nei PCDD ir PCDF junginių. Didesnei daliai PCB giminingų junginių pakanka nanogramo (10^{-9} g) eilės jautrio. Tačiau nustatant labiau toksiškus dioksinų tipo PCB giminingus junginius (ypač ne į orto-padėtį pakeistus giminingus junginius), turi būti pasiektas jautris, atitinkantis PCDD ir PCDF junginių nustatymo jautrį.
- *Didelis selektyvumas (specifiškumas).* Reikia atskirti PCDD, PCDF ir dioksinų tipo PCB nuo didelio skaičiaus kitų kartu ekstrahuojamų ir galbūt analizei trukdančių junginių, kurių koncentracija gali būti keliomis eilėmis didesnė nei tiriamų analizių. Taikant dujų chromatografijos/masių spektrometrijos (GC/MS) metodus, būtina atskirti įvairius giminingus junginius, pvz., toksiškus (pvz., septyniolika į 2,3,7,8-padėtį pakeistų PCDD bei PCDF junginių ir dioksinų tipo PCB) ir kitus giminingus junginius. Biologiniais tyrimais taip pat turi būti įmanoma selektyviai nustatyti TEQ vertes, kaip PCDD, PCDF ir dioksinų tipo PCB junginių suminių kieki.
- *Didelis tikslumas (tikrumas ir preciziškumas).* Turi būti nustatytas patikimas tikrosios koncentracijos ėminyje įvertis. Didelis tikslumas (matavimo tikslumas: matavimo rezultato ir tikrosios arba priskirtosios matavimo vertės turi beveik sutapti) yra būtinas siekiant išvengti ėminio analizės rezultato atmetimo dėl menko TEQ įverčio patikimumo. Tikslumas išreiškiamas kaip tikrumas (išmatuotos vidutinės analizės koncentracijos sertifikuotoje medžiagoje vertės ir analizės koncentracijos sertifikuotos vertės skirtumas, išreikštas šios vertės procentine dalimi) ir kaip preciziškumas (preciziškumas paprastai apskaičiuojamas kaip standartinis nuokrypis, įskaitant pakartojamumą ir atkuriamumą, ir rodo kelis kartus nustatytais sąlygomis taikyto eksperimentinio metodo rezultatų panašumą).

Patikros metodais gali būti biologiniai tyrimai ir GC/MS metodai; patvirtinamieji metodai — didelės skiriamosios gebos dujų chromatografijos/didelės skiriamosios gebos masių spektrometrijos (HRGC/HRMS) metodai. Suminė TEQ vertė turi atitikti šiuos kriterijus:

	Patikros metodai	Patvirtinamieji metodai
Klaidingų neigiamų rodiklis	< 1 %	
Tikrumas		nuo -20 % iki + 20 %
VK	< 30 %	< 15 %

6. Konkrečius reikalavimai GC/MS metodams, taikomiems patikrai arba patvirtinimui

- Siekiant patvirtinti analizės metodiką, prieš pat analizės pradžią arba ją tik pradėjus, pvz., prieš ekstrahavimą, turi būti dedama į 2,3,7,8-padėtis chlorintų PCDD/F vidinių etalonų su žymėtaisiais ^{13}C atomais (ir dioksinų tipo PCB vidinių etalonų su žymėtaisiais ^{13}C atomais, jei reikia nustatyti dioksinų tipo PCB junginius). Turi būti dedama bent vieno giminingo junginio kiekvienai nuo tetra- iki oktachlorintų PCDD/F homologų grupei (ir bent vieno giminingo junginio kiekvienai dioksinų tipo PCB homologų grupei, jei reikia nustatyti dioksinų tipo PCB junginius) (kita vertus, dedama bent vieno giminingo junginio kiekvienai masių spektrometrijai, taikamai kontroliuoti PCDD/F ir dioksinų tipo PCB, pasirinkto jono registravimo funkcijai). Būtų labai gerai, ypač taikant patvirtinimo metodus, naudoti visus 17 į 2,3,7,8-padėtį pakeistų PCDD/F vidinių etalonų su žymėtaisiais ^{13}C atomais ir visus 12 dioksinų tipo PCB vidinių etalonų su žymėtaisiais ^{13}C atomais (jei reikia nustatyti dioksinų tipo PCB junginius).

Naudojant atitinkamus kalibravimo tirpalus, turėtų būti nustatyti ir giminingų junginių, kurių analogo su žymėtaisiais ^{13}C atomais nededama, santykiniai atsako faktoriai.

- Jei augalinės ir gyvūninės kilmės maisto produktai turi mažiau kaip 10 % riebalų, vidinius etalonus būtina pridėti prieš ekstrahavimą. Jei gyvūninės kilmės maisto produktai turi daugiau kaip 10 % riebalų, vidinius etalonus galima pridėti arba prieš arba po riebalų ekstrahavimo. Reikėtų atitinkamai patvirtinti ekstrahavimo efektyvumą pagal tai, kurioje stadijoje pridėjama vidinio etalono ir pagal kieno kiekį, produkto ar riebalų, registruojami rezultatai.
- Prieš GC/MS analizę turi būti pridėjama 1 arba 2 regeneravimo (pakeitimo) etalonus (-ai).
- Būtina regeneravimo kontrolė. Taikant patvirtinamuosius metodus, atskirų vidinių etalonų regeneravimo laipsnis turėtų būti 60–120 %. Priimtinos didesnės arba mažesnės atskirų giminingų junginių regeneravimo vertės, ypač kai kurių hepta- ir oktachlorintų dibenzodioksinų ir dibenzofuranų, jei jų indėlis į TEQ vertę yra ne didesnis kaip 10 % suminės TEQ vertės (gautos tik PCDD/F). Patikros metodų atveju regeneravimo laipsnis turėtų būti 30–140 %.
- Dioksinų ir trukdančių chlorintų junginių, pvz., PCB ir chlorintų difenileterių, atskyrimas turėtų būti vykdomas taikant tinkamas chromatografijos metodikas (tinkamiausia būtų florisilo, aliuminio oksido ir (arba) aktyvintų anglių kolonėlė).
- Izomerų atskyrimas, taikant dujų chromatografiją, turėtų būti pakankamas (< 25 % tarp 1,2,3,4,7,8-HxCDF ir 1,2,3,6,7,8-HxCDF smailių).
- Nustatymui turėtų būti taikoma JAV Aplinkos apsaugos agentūros EPA metodo 1613 B modifikacija „Tetra-through octa-chlorinated dioxins and furans by isotope dilution HRGC/HRMS“ arba kitas lygiavertės charakteristikas turintis metodas.
- Maisto produktų, kurių užteršimas dioksinais yra maždaug 1 pg PSO-TEQ/g riebalų, viršutinės ir apatinės ribinės koncentracijos skirtumas neturėtų viršyti 20 % (atsižvelgiant tik į PCDD/PCDF). Maisto produktams su mažu riebalų kiekiu tie patys reikalavimai turi būti taikomi, jei užteršimo koncentracija yra apie 1 pg PSO-TEQ/g produkto. Jei užteršimas mažesnis, pvz., 0,50 pg PSO-TEQ/g produkto, viršutinės ir apatinės ribinės koncentracijos skirtumas gali būti 25–40 %.

7. Analiziniai patikros metodai

7.1. Įvadas

Taikant patikros metodą, analizę galima vykdyti skirtingais būdais: tik patikrą ir kiekybinio įverčio metodą.

Patikros būdas

Ėminių atsakas lyginamas su tiriamą koncentraciją atitinkančio etaloninio ėminio atsaku. Ėminiai, kurių atsakas mažesnis už etaloninio ėminio, skelbiami neigiamais, ėminiai, kurių atsakas yra didesnis, laikomi teigiamais. Reikalavimai:

- Į kiekvieno bandymo seriją turi būti įtrauktas tuščiasis ir etaloninis (-iai) ėminys (-iai), kuris (-ie) ekstrahuojamas (-i) ir analizuojamas (-i) tuo pat metu ir tomis pačiomis sąlygomis. Etaloninio ėminio atsakas turi būti aiškiai didesnis nei tuščiojo ėminio atsakas.
- Turėtų būti įtraukti papildomi etaloniniai ėminiai, kurių koncentracija būtų 0,5 ir 2 kartus didesnė nei tiriamą koncentraciją, siekiant parodyti bandymo tinkamumą koncentracijos intervale, atitinkančiame kontroliuojamą koncentraciją.
- Turi būti parodytas etaloninio (-ių) ėminio (-ių) tinkamumas bandant kitas matricas, visų pirmą įtraukiant tuos ėminius, kurių HRGC/HRMS analizė parodė, kad jų TEQ koncentracija yra artima etaloninio ėminio koncentracijai arba, jei jo nėra, iki tokios koncentracijos analitės sodrinto tuščiojo ėminio koncentracijai.

- Kadangi darant biologinius tyrimus negalima naudoti vidinių etalonų, labai svarbūs pakartojamumo bandymai norint turėti informaciją apie tos pačios bandymų serijos standartinį nuokrypį. Variacijos koeficientas turėtų būti mažesnis kaip 30 %.
- Darant biologinius tyrimus turėtų būti apibrėžti tiksliniai junginiai, galimi trukdžiai ir didžiausios leistinos tuščiojo ėminio koncentracijos vertės.

Kiekybinis būdas

Taikant kiekybinį metodą būtina naudoti etaloninę praskiedimo seriją, dvigubas arba trigubas valymas ir matavimas, taip pat tuštieji ir regeneravimo kontroliniai bandymai. Rezultatas gali būti išreikštas kaip TEQ, tuo darant prielaidą, kad signalą duodantys junginiai atitinka TEQ principą. Tai galima padaryti naudojant TCDD (arba dioksino/furano etaloninį mišinį) kalibracinei kreivei gauti, pagal kurią apskaičiuojama TEQ koncentracija ekstrakto, taigi ir ėminyje. Vėliau daroma šios koncentracijos pataisa, atsižvelgiant į TEQ koncentraciją tuščiajame ėminyje (norint įvertinti naudotuose tirpikliuose ir cheminėse medžiagose esančias priemaišas), ir į regeneravimo laipsnį (apskaičiuotą pagal TEQ koncentraciją kokybės kontrolės ėminyje, artimą tiriamai koncentracijai). Svarbu pažymėti, kad tariamo regeneravimo nuostolio priežastimi iš dalies gali būti matricos poveikis ir TEF verčių, darant biologinius tyrimus, bei PSO nustatytų oficialiųjų TEF verčių skirtumas.

7.2. Reikalavimai patikrai taikomiems analizės metodams

- Patikrai gali būti taikomi GC/MS analizės metodai ir biologiniai tyrimai. GC/MS metodams taikomi reikalavimai, nustatyti 6 punkte. Reikalavimai ląstelių biologiniams tyrimams nustatyti 7.3 punkte, rinkinius naudojančiams biologiniams tyrimams — 7.4 punkte.
- Būtina turėti klaidingų teigiamų ir klaidingų neigiamų rezultatų skaičiaus duomenis, gautus dideliame ėminių, kurių koncentracija būtų mažesnė ir didesnė už didžiausią leistiną arba veiksmų reikalaujančią koncentracijos vertę, rinkiniui, rezultatus lyginant su TEQ koncentracija, gauta patvirtinamuoju analizės metodu. Tikroji klaidingų neigiamų ėminių dalis turėtų būti mažesnė 1 %. Klaidingai teigiamų ėminių dalis turėtų būti gana maža, kad patikros priemonės taikymas duotų naudos.
- Teigiamus rezultatus visuomet būtina patvirtinti patvirtinamuoju analizės metodu (HRGC/HRMS). Be to, plataus TEQ intervalo ėminiai turėtų būti patvirtinti HRGC/HRMS (maždaug 2–10 % neigiamų ėminių). Turėtų būti pateikiama informacija apie biologinio tyrimo ir HRGC/HRMS rezultatų atitikimą.

7.3. Konkretūs reikalavimai ląstelių biologiniams tyrimams

- Darant biologinį tyrimą, kiekvienam bandymui reikalinga etaloninių TCDD arba dioksino/furano mišinio koncentracijos verčių serija (visa koncentracijos ir atsako priklausomybės kreivė, kai $R^2 > 0,95$). Tačiau patikrai analizuojant mažos koncentracijos ėminius, galima naudoti didesnio mastelio mažų koncentracijos verčių kreivės dalį.
- Vienodos trukmės biologinio tyrimo rezultatams kokybės kontrolės lentelėje gauti turėtų būti naudojama TCDD etaloninė koncentracija (apie 3 kartus didesnė nei apskaičiavimo ribinė vertė). Be to, galima būtų naudoti etaloninio ėminio santykinį atsaką, lyginamą su TCDD kalibracine kreive, nes ląstelių atsakas gali priklausyti nuo daugelio veiksnių.
- Siekiant užtikrinti, kad rezultatas atitiktų nustatytas rekomendacijas, turi būti užrašomi ir tikrinami kiekvieno etaloninės medžiagos tipo kokybės kontrolės (KK) grafikai.
- Praskiesto ėminio indukcija turi būti tiesiojoje atsako kreivės dalyje, ypač darant kiekybinius apskaičiavimus. Ėminiai, esantys virš atsako kreivės tiesiosios dalies, turi būti praskiesti ir bandymas pakartotas. Todėl vienu metu rekomenduojama tirti bent tris praskiestus tirpalus arba daugiau.
- Kiekvieno ėminio to paties praskiedimo tris kartus kartojamo nustatymo standartinis nuokrypis neturi būti didesnis kaip 15 % ir ne didesnis kaip 30 % darant tris nepriklausomus bandymus.
- Aptikimo riba gali būti nustatyta kaip trigubas tirpiklio tuščiojo bandinio standartinis nuokrypis arba kaip koncentracija, atitinkanti fono atsaką. Kitas būdas — imti koncentraciją, atitinkančią atsaką, kuris būtų didesnis už fono atsaką, apskaičiuotą pagal tos dienos kalibracinę kreivę (indukcijos faktorius penkis kartus didesnis už tirpiklio tuščiojo bandinio). Apskaičiavimo ribinė vertė gali būti nustatyta kaip vertė, penkis šešis kartus didesnė už tirpiklio tuščiojo bandinio standartinį nuokrypį, arba kaip koncentracija, atitinkanti fono atsaką, arba kaip koncentracija, atitinkanti atsaką, kuris būtų didesnis už fono atsaką, apskaičiuotą pagal tos dienos kalibracinę kreivę (indukcijos faktorius dešimt kartų didesnis už tirpiklio tuščiojo bandinio).

7.4. *Konkretūs reikalavimai rinkinius naudojantiems biologiniams tyrimams* ⁽¹⁾

- Turi būti laikomasi gamintojo nurodytų ėminių ruošimo ir analizės instrukcijų.
- Bandymų rinkiniai neturėtų būti naudojami pasibaigus jų tinkamumo laikui.
- Neturėtų būti naudojamos medžiagos arba komponentai, skirti naudoti su kitais rinkiniais.
- Bandymų rinkiniai turėtų būti laikomi esant temperatūrai, atitinkančiai nurodytą laikymo temperatūros intervalą, ir naudojami esant nurodytai darbinei temperatūrai.
- Imunologinių bandymų aptikimo riba yra nustatoma kaip $3 \times$ standartinis nuokrypis, gautas darant 10 tuščiųjų ėminių serijos analizę, padalytas iš regresijos lygties tiesės krypties koeficiento vertės.
- Laboratorija turi naudoti palyginamuosius etalonus, kad būtų galima patikrinti, ar atsakas į etaloną atitinka priimtina intervalą.

8. **Rezultatų ataskaita**

Kiek leidžia taikyta analizės metodika, analizės rezultatuose turėtų būti atskirų PCDD/F ir PCB giminingų junginių koncentracija, kuri pateikiama kaip apatinis, viršutinis ir vidurinis ribiniai įverčiai, siekiant rezultatų ataskaitoje nurodyti kuo daugiau informacijos ir tuo būdu leisti interpretuoti rezultatus pagal konkrečius reikalavimus.

Ataskaitoje turi būti nurodytas ir ėminio lipidų kiekis bei jų ekstrahavimo metodas.

Turi būti pateikti atskirų vidinių etalonų regeneravimo duomenys, jei regeneravimo vertės yra už 6 punkte nurodyto intervalo ribų, jei viršijama didžiausia regeneravimo vertė ir paprašius visais kitais atvejais.

⁽¹⁾ Dar nėra duomenų apie galimybę įsigyti rinkinį, skirtą biologiniams bandymams, turintiems pakankamą jautrį ir patikimumą, kad juos būtų galima naudoti darant maisto produktų ir pašarų ėminių patikrą dėl reikalaujamos koncentracijos dioksinų buvimo.