

32002L0069

L 209/5

ÚRADNÝ VESTNÍK EURÓPSKÝCH SPOLOČENSTIEV

6.8.2002

SMERNICA KOMISIE 2002/69/ES

z 30. júla 2002,

ktorou sa ustanovujú metódy odberu vzoriek a metódy analýzy pre úradnú kontrolu dioxínov a pre stanovenie dioxínom podobných PCB-ov v potravinách

(Text s významom pre EHP)

KOMISIA EURÓPSKÝCH SPOLOČENSTIEV,

so zreteľom na Zmluvu o založení Európskeho hospodárskeho spoločenstva,

so zreteľom na smernicu Rady 85/591/EHS z 20. decembra 1985, ktorá sa týka zavedenia metód spoločenstva pre odoberanie vzoriek a analytických metód pre monitoring potravín určených pre ľudskú spotrebu, ⁽¹⁾ a najmä na jej články 1 a 4,

kedže:

- (1) Nariadenie Komisie (ES) č. 466/2001 ⁽²⁾, naposledy zmenené a doplnené nariadením (ES) č. 563/2002 ⁽³⁾ a zmenené a doplnené nariadením Rady (ES) č. 2375/2001 ⁽⁴⁾, stanovuje najvyššie prípustné koncentrácie pre obsah dioxínov a furánov v určených potravinách.
- (2) Smernica Rady 89/397/EHS z 14. júna 1989 o úradnej kontrole potravín ⁽⁵⁾ ustanovuje všeobecné zásady usku-točňovania kontroly potravín. Smernica Rady 93/99/EHS z 29. októbra 1993 o predmete doplnkových opatrení týkajúcich sa úradnej kontroly potravín ⁽⁶⁾ zavádza systém noriem kvality pre laboratória poverené členskými štátmi vykonávaním úradnej kontroly potravín.
- (3) Smernica 85/591/EHS stanovila všeobecné kritéria pre metódy odberu vzoriek a analýzy. V určitých prípadoch je však potrebné ustanoviť presnejšie kritéria a/alebo požiadavky, ktoré by mali spĺňať metódy analýzy, aby sa zabezpečilo, že laboratória používajúce metódy analýzy ich budú uskutočňovať na porovnateľnej úrovni.
- (4) Ustanovenia na odoberanie vzoriek a metódy analýzy boli ustanovené na základe vtedajšej úrovne poznatkov a môžu byť prispôbené tak, aby zohľadňovali pokrok vo vedeckej a technologickej úrovni poznatkov.
- (5) Ustanovenia stanovené v tejto smernici sa vzťahujú len na odoberanie vzoriek a analýzu dioxínov a dioxínom podobných PCB-ov pre zavedenie nariadenia (ES)

č. 466/2001 a netýkajú sa stratégie, úrovne a frekvencie odberu vzoriek, ako boli špecifikované v prílohách III a IV k smernici Rady 96/23/ES z 29. apríla 1996 o opatreniach na monitorovanie určitých látok a ich rezíduí v živých zvieratách a živočíšnych produktoch a o zrušení smerníc 85/358/EHS a 86/469/EHS a rozhodnutí 89/187/EHS a 91/664/EHS ⁽⁷⁾. Netýkajú sa cielených kritérií pre odoberanie vzoriek, ktoré boli ustanovené rozhodnutím Komisie 98/179/ES z 23. februára 1998, ktorým sa stanovujú podrobné pravidlá úradného odberu vzoriek na monitorovanie určitých látok a ich rezíduí v živých zvieratách a v živočíšnych výrobkoch ⁽⁸⁾.

- (6) Mal by sa sledovať aktívny prístup na získanie komplexných spoľahlivých údajov o prítomnosti dioxínov a dioxínom podobným PCB-ov v potravinách. Mali by sa preto stanoviť požiadavky, pokiaľ ide o metódy analýzy, ktoré sa použijú na stanovenie dioxínom podobným PCB-om v potravinách.
- (7) Mohla by sa použiť orientačná metóda analýzy s overenou široko akceptovateľnou preukaznosťou a vysokou priepustnosťou na výber vzoriek s významnou úrovňou obsahu dioxínov. Úroveň obsahu dioxínov v týchto vzorkách musí byť stanovená potvrdzujúcimi metódami analýzy. Je preto primerané stanoviť presne vymedzené požiadavky pre potvrdzujúce metódy analýzy a minimum požiadaviek na orientačnú metódu.
- (8) Opatrenia ustanovené v tejto smernici sú v súlade so stanoviskom Stáleho výboru pre potravinový reťazec a zdravie zvierat,

PRIJALA TÚTO SMERNICU:

Článok 1

Členské štáty zabezpečia, že odoberanie vzoriek pre úradnú kontrolu úrovne obsahu dioxínov a furánov a stanovenie úrovne obsahu dioxínom podobných PCB-ov v potravinách sa bude vykonávať v súlade s metódami opísanými v prílohe I.

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

Článok 2

Členské štáty zabezpečia, že príprava vzoriek a metódy ich analýzy používané pre úradnú kontrolu úrovne obsahu dioxínov a furánov a stanovenie obsahu dioxínom podobných PCB-ov v potravinách budú zodpovedať kritériám opísaným v prílohe II.

Článok 3

Členské štáty prijímú zákony, iné právne predpisy a správne opatrenia potrebné na dosiahnutie súladu s touto smernicou najneskôr do 28. februára 2003. Bezodkladne o tom informujú Komisiu.

Členské štáty uvedú priamo v prijatých ustanoveniach alebo pri ich úradnom uverejnení odkaz na túto smernicu. Podrobnosti o odkaze upravia členské štáty.

Článok 4

Táto smernica nadobúda účinnosť 20. deň po jej uverejnení v *Úradnom vestníku Európskych spoločenstiev*.

Článok 5

Táto smernica je adresovaná členským štátom.

V Bruseli 30. júla 2002

Za Komisiu

David BYRNE

člen Komisie

PRÍLOHA I

METÓDY ODBERU VZORIEK PRE ÚRADNÚ KONTROLU ÚROVNE OBSAHU DIOXÍNŮV (PCDD/PCDF) A PRE STANOVENIE DIOXÍNOM PODOBNÝCH PCB-OV V NIEKTORÝCH POTRAVINÁCH

1. Cieľ a pôsobnosť

Vzorky určené pre úradnú kontrolu úrovne obsahu dioxínov (PCDD/PCDF), ako aj stanovenie obsahu dioxínom podobných PCB-ov ⁽¹⁾ v potravinách sa odoberajú podľa nižšie uvedených metód. Súhrn takto získaných vzoriek sa považuje za reprezentatívny zo súborných dodávok alebo podsúborných dodávok, z ktorých bol odobratý. Súlad s najvyššími povolenými úrovňami obsahu stanovenými nariadením Komisie (ES) č. 466/2001, ktorá určuje najvyššie povolené úrovne obsahu niektorých kontaminujúcich látok v potravinách, sa určuje na základe úrovni obsahu stanovenými v laboratórnych vzorkách.

2. Vymedzenie pojmov

Súborná dodávka: identifikované množstvo potravy doručené naraz a úradne overené, že má spoločné charakteristiky ako je pôvod, typ, druh balenia, balíč, odosielateľ alebo značka. V prípade rýb alebo produktov z rýb je porovnateľná aj veľkosť rýb.

Podsúborná dodávka: určená časť veľkého súboru s cieľom uplatniť metódu odberu vzoriek z určených častí. Každý podsúbor musí byť fyzicky oddelený a identifikovateľný.

Prírastková vzorka: množstvo materiálu odobratého z jedného miesta súbornej dodávky alebo podsúbornej dodávky.

Súborná vzorka: kombinovaný súbor všetkých prírastkových vzoriek odobratých zo súbornej dodávky alebo podsúbornej dodávky.

Laboratórna vzorka: reprezentatívna časť/množstvo zo súbornej vzorky určená/-é pre laboratórium.

⁽¹⁾ Tabuľka hodnôt TEF WHO pre odhad rizika u ľudí na základe záverov konferencie Svetovej zdravotníckej organizácie v Štokholme, Švédsko, 15. — 18. júna 1997 (Van der Berg a kol. (1998), Faktory ekvivalentnosti toxicity (TEF) pre PCB-y, PCDD-y, PCDF-y pre ľudí a voľne žijúcu zver. *Environmental Health Perspectives*, 106(12), 775.)

Príbuzná látka	Hodnota TEF	Príbuzná látka	Hodnota TEF
Dibenzo-p-dioxíny (PCDD-y)		Dioxínom podobné PCB-y: nie-orto — PCB-y + mono-orto — PCB-y	
2,3,7,8-TCDD	1		
1,2,3,7,8-PeCDD	1	Nie-orto — PCB-y	
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0,1	PCB 77	0,0001
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0,1	PCB 81	0,0001
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0,1	PCB 126	0,1
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0,01	PCB 169	0,01
OCDD	0,0001		
Dibenzofurány (PCDF-y)		Mono-orto — PCB-y	
2,3,7,8-TCDF	0,1		
1,2,3,7,8-PeCDF	0,05	PCB 105	0,0001
2,3,4,7,8-PeCDF	0,5	PCB 114	0,0005
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0,1	PCB 118	0,0001
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0,1	PCB 123	0,0001
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0,1	PCB 156	0,0005
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0,1	PCB 157	0,0005
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0,01	PCB 167	0,00001
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0,01	PCB 189	0,0001
OCDF	0,0001		

Použité skratky: T = tetra, Pe = penta, Hx = hexa, Hp = hepta, O = okta, CDF = chlórdibenzofurán, CB = chlórbyfenyl.

3. Všeobecné ustanovenia

3.1. Personál

Odoberanie vzoriek vykonáva autorizovaná kvalifikovaná osoba, ako bližšie určia členské štáty.

3.2. Materiál k odoberaniu vzoriek

Z každej súbornej dodávky určenej na preskúmanie musia byť vzorky odoberané oddelene.

3.3. Preventívne opatrenia

Počas odberu vzoriek a prípravy laboratórnych vzoriek musia byť vykonané také preventívne opatrenia, ktoré zabránia akýmkoľvek zmenám, ktoré by mohli ovplyvniť obsah dioxínov a dioxínom podobných PCB-ov, nepriaznivo ovplyvniť analytické stanovenie alebo reprezentatívnosť súborných vzoriek.

3.4. Prírastkové vzorky

Čo sa týka praktických prírastkových vzoriek, odoberajú sa z rôznych miest súbornej alebo podsúbornej dodávky. Odchýlka od tohto postupu sa musí zaznamenať do protokolu ustanoveného v bode 3.8.

3.5. Príprava súbornej vzorky

Súborná vzorka sa vytvára zjednotením všetkých prírastkových vzoriek. Má aspoň 1 kg pokiaľ to nie je nepraktické, napríklad keď sa vzorka vytvára z jediného balenia.

3.6. Rozdelenie súbornej vzorky na laboratórne vzorky na vykonanie analýzy, ochranné a referenčné účely

Laboratórne vzorky na vykonanie analýzy, obchodné /ochranné a referenčné účely sa odoberajú z homogenizovanej súbornej vzorky s výnimkou toho, ak je to v rozpore s predpismi členských štátov o odoberaní vzoriek. Veľkosť laboratórnych vzoriek na vykonanie analýzy je dostatočná na to, aby umožnila vykonať analýzu aspoň dvojmo.

3.7. Balenie a preprava súborných a laboratórnych vzoriek

Každá súborná a laboratórna vzorka sa umiestni do čistého inertného obalu poskytujúceho primeranú ochranu pred znečistením, stratou analytov adsorpciou do vnútorných stien obalu a pred poškodením pri preprave. Je potrebné urobiť všetky preventívne opatrenia na to, aby sa zabránilo zmene zloženia súborných a laboratórnych vzoriek, ktorá by mohla vzniknúť počas prepravy alebo skladovania.

3.8. Zatahovanie a označovanie súborných a laboratórnych vzoriek

Každá úradne odobratá vzorka sa zataví na mieste odberu a označí v súlade s predpismi členských štátov. O každom odbere vzoriek sa vystaví protokol umožňujúci jednoznačne identifikovať každú súbornú dodávku s uvedením dátumu a miesta odberu vzoriek a akejkoľvek doplňkovej informácie, ktorá môže byť nápomocná analytikovi.

4. Metódy odberu vzoriek

Použitá metóda odberu vzoriek zabezpečí, že súborná vzorka je reprezentatívna pre danú súbornú dodávku určenú na kontrolu.

Počet prírastkových vzoriek

V prípade mlieka a olejov, pre ktoré sa predpokladá homogénne rozdelenie sledovaných znečisťujúcich prímiesí v rámci danej súbornej dodávky, je postačujúci odber troch prírastkových vzoriek na každú súbornú dodávku, ktoré potom vytvárajú súbornú vzorku. Je potrebné uviesť odkaz na číslo súbornej dodávky. Pre iné produkty je minimálny počet prírastkových vzoriek, ktoré sa odoberajú, uvedený v tabuľke 1.

Súborná vzorka zjednocujúca všetky prírastkové vzorky má aspoň 1 kg (pozri bod 3.5.). Prírastkové vzorky majú podobnú hmotnosť. Hmotnosť prírastkovej vzorky by mala byť aspoň 100 gramov. Hmotnosť prírastkových vzoriek závisí od veľkosti zložiek súbornej dodávky. Odchýlka od tohto postupu musí byť zaznamenaná do protokolu ustanoveného v bode 3.8. V súlade s ustanoveniami rozhodnutia Komisie 97/747/ES z 27. októbra 1997, ktorým sa určujú úrovne a frekvencia pre odoberanie vzoriek ustanovené v smernici Rady 96/23/ES pre monitorovanie niektorých látok a ich rezíduí v niektorých živočíšnych produktoch ⁽¹⁾, veľkosť vzorky slepačích vajec je aspoň 12 vajec (pre veľké súborné dodávky, ako aj pre súborné dodávky pozostávajúce z individuálnych balení, tabuľka 1 a 2).

(¹) Ú. v. ES L 303, 6.11.1997, s. 12.

TABUĽKA 1

Minimálny počet prírastkových vzoriek odoberaných zo súbornej dodávky

Hmotnosť súbornej dodávky (v kg)	Minimálny počet odoberaných prírastkových vzoriek
< 50	3
50 až 500	5
> 500	10

Ak súborná dodávka pozostáva z individuálnych balení, potom je počet balení, ktoré sa odoberú na vytvorenie súbornej vzorky, uvedený v tabuľke 2.

TABUĽKA 2

Počet balení (prírastkových vzoriek), ktoré sa odoberajú na vytvorenie súbornej vzorky v prípade, že súborná dodávka pozostáva z individuálnych balení

Počet balení alebo zložiek v súbornej dodávke	Počet odoberaných balení alebo zložiek
1 až 25	1 balenie alebo zložka
26 až 100	okolo 5 %, najmenej 2 balenia alebo zložky
> 100	okolo 5 %, najviac 10 balení alebo zložiek

5. Zhoda súbornej dodávky alebo podsúbornej dodávky s bližším určením

Kontrolné laboratórium uskutoční analýzu laboratórnej vzorky určenej na vykonanie analýzy dvojmo v prípade, že výsledok prvej analýzy je menej ako 20 % pod alebo nad najvyššou povolenou úrovňou obsahu a vypočíta priemernú hodnotu výsledku. Súborná dodávka sa považuje za prijatú, ak výsledok prvej analýzy je viac ako 20 % pod najvyššou povolenou úrovňou obsahu alebo keď bola potrebná dvojité analýza, ak priemerná hodnota výsledku vyhovuje príslušnej najvyššej povolenej úrovni obsahu stanovenej v nariadení (ES) č. 466/2001.

PRÍLOHA II

PRÍPRAVA VZORKY A POŽIADAVKY NA METÓDY ANALÝZY POUŽÍVAJ PRE ÚRADNÚ KONTROLU ÚROVNE OBSAHU DIOXÍNŮV (PCDD/PCDF) A PRE STANOVENIE DIOXÍNOM PODOBNÝCH PCB-OV V NIEKTORÝCH POTRAVINÁCH**1. Účel a oblasť uplatňovania**

Tieto požiadavky by sa mali uplatňovať, ak sú potraviny analyzované pre úradnú kontrolu úrovne obsahu dioxínov (polychlórovaných dibenzo-*p* — dioxínov (PCDD) a polychlórovaných dibenzofuránov (PCDF)) a pre stanovenie dioxínom podobných PCB-ov.

Monitorovanie prítomnosti dioxínov v potravinách sa môže uskutočňovať stratégiou zahŕňajúcou orientačnú metódu, aby sa vyčlenili také vzorky, v ktorých je úroveň obsahu dioxínov a dioxínom podobných PCB-ov menej ako 30 — 40 % pod alebo nad predmetnou úrovňou ich obsahu. Obsah dioxínov v týchto vzorkách s významnými hodnotami úrovne obsahu je potrebné stanoviť/potvrdiť potvrdzujúcou metódou.

Orientačné metódy sú metódy, ktoré sa používajú na zistenie prítomnosti dioxínov a dioxínom podobných PCB-ov v predmetných úrovniach obsahu. Tieto metódy majú kapacitu s vysokou priepustnosťou vzoriek a používajú sa na orientačné otestovanie veľkého počtu potenciálne pozitívnych vzoriek. Sú osobitne navrhnuté tak, aby zabránili chybnému negatívnemu výsledkom.

Potvrdzujúce metódy sú metódy poskytujúce úplnú alebo rozšírenú informáciu umožňujúcu identifikovať dioxíny a dioxínom podobné PCB-y a jednoznačne kvantifikovať ich prítomnosť v predmetnej úrovni obsahu.

2. Základy analýzy

Pretože environmentálne a biologické vzorky (vrátane vzoriek potravín) obsahujú vo všeobecnosti zložitú zmes rôznych dioxínom príbuzných látok, bola vyvinutá koncepcia faktorov ekvivalentnosti toxicity (TEF) na umožnenie odhadu rizika. Hodnoty TEF boli stanovené na vyjadrenie koncentrácií zmesí 2,3,7,8-substituovaných PCDD-ov a PCDF-ov a najnovšie aj niektorých nie-*orto* — a mono-*orto* — chlóróm substituovaných PCB-ov, ktoré majú dioxínom podobnú aktivitu v ekvivalentoch toxicity (TEQ) 2,3,7,8-TCDD (pozri prílohu I poznámku pod čiarou 1).

Koncentrácie jednotlivých látok v danej vzorke sa vynásobia ich príslušnými hodnotami TEF a následne sčítajú, aby dali celkovú koncentráciu dioxínom podobných zlúčenín vyjadrených ako TEQ.

Koncepcia horného odhadu vyžaduje použitie medze stanoviteľnosti príspevku každej nekvantifikovanej príbuznej látky k TEQ.

Koncepcia dolného odhadu vyžaduje použitie nulového príspevku každej nekvantifikovanej príbuznej látky k TEQ.

Koncepcia stredného odhadu vyžaduje použitie polovičnej hodnoty medze stanoviteľnosti príspevku každej nekvantifikovanej príbuznej látky k TEQ.

3. Záväzné požiadavky na zabezpečenie kvality pri príprave vzoriek

- Musia byť prijaté opatrenia, ktoré zabránia vzájomnej kontaminácii v každom stupni odberu vzoriek a procesov analýzy.
- Vzorky sa musia skladovať a prepravovať v sklených, hliníkových, polypropylénových alebo polyetylénových obaloch. Z obalov na vzorky sa musia odstrániť zvyšky prachu z papiera. Používané sklo sa oplachuje rozpúšťadlami, ktoré boli dopredu testované na prítomnosť dioxínov.
- Skladovanie a preprava vzorky sa musí uskutočňovať spôsobom, ktorý zachováva celistvosť potravinovej vzorky.
- V prípade potreby sa jemné rozomletie a dôkladné premiešanie každej laboratórnej vzorky uskutočňuje postupom, ktorý preukázateľne zabezpečí dokonalú homogenizáciu (napr. rozomietanie do stupňa schopnosti prechodu 1 mm sítom); vzorky musia byť pred rozomietaním vysušené, ak obsahujú príliš veľa vlhkosti.
- Uskutočňovanie slepej analýzy tak, že z úplného postupu analýzy sa vynechá len prídanie vzorky.

- Hmotnosť vzorky použitej na extrakciu musí byť dostatočná na splnenie požiadaviek so zreteľom na citlivosť.
- Existuje množstvo uspokojivých postupov na prípravu špecifických vzoriek, ktoré sa môžu uplatňovať na sledované produkty. Musí byť potvrdená oprávnenosť postupov v súlade s medzinárodné prijatými usmerneniami.

4. Požiadavky na laboratória

- Laboratória preukazujú schopnosť realizovať metódu v rozsahu predmetnej úrovne obsahu, napr. 0,5-, 1- a 2-násobku predmetnej úrovne obsahu s prijateľným koeficientom variácie pre opakovanú analýzu. Pre podrobnosti o prijateľných kritériách pozri bod 5.
- Medza stanoviteľnosti pre potvrdzujúcu metódu by mala byť v rozsahu približne okolo jednej pätiny predmetnej úrovne obsahu, aby bolo isté, že v rozsahu predmetnej úrovne obsahu sa získajú prijateľné hodnoty koeficientov variácie.
- Mali by sa uskutočňovať pravidelné slepé kontrolné a námatkové experimenty alebo analýzy kontrolných vzoriek (prednostne certifikovaných referenčných materiálov, ak sú dostupné) ako opatrenia na internú kontrolu kvality.
- Najlepší spôsob na potvrdenie príslušnosti laboratórií v špecifických analýzach je ich úspešná účasť v medzilaboratórnych štúdiách, ktoré ohodnocujú odbornosť laboratórií. Ale ani úspešná účasť v medzilaboratórnych štúdiách, napr. vzoriek pôdy alebo odpadových vôd, nepotvrďuje nevyhnutne príslušnosť aj v oblasti vzoriek potravín alebo krmív, v ktorých sú prítomné menšie úrovne obsahu znečisťujúcich látok. Preto je povinná trvalá účasť v medzilaboratórnych štúdiách stanovenia dioxínov a dioxínom podobných PCB-ov v príslušných krmivových/potravinových maticiach.
- V súlade s ustanoveniami smernice 93/99/EHS by mali byť laboratória akreditované uznávanou organizáciou postupujúcou v súlade s príručkou ISO 58 na zabezpečenie toho, že tieto uplatňujú zabezpečenie analytickej kvality. Laboratória by mali byť akreditované podľa normy ISO/IEC 17025:1999.

5. Požiadavky, ktorým má vyhovovať analytický postup pre dioxíny a dioxínom podobné PCB-y

Základné požiadavky pre prijateľnosť analytických postupov:

- *Vysoká citlivosť a nízke limity detekcie.* Pre PCDD-y a PCDF-y musia byť detekovateľné množstvá v rozsahu pikogramov TEQ (10^{-12} g) z dôvodu extrémnej toxicity niektorých z týchto zlúčenín. Je známe, že PCB-y sa vyskytujú vo vyšších úrovniach obsahu než PCDD-y a PCDF-y. Pre väčšinu PCB príbuzných látok je postačujúca medza dôkazu v už nanogramovom rozsahu (10^{-9} g). Pre meranie viac toxických príbuzných látok — dioxínom podobných PCB-ov (najmä nie-orto — substituovaných príbuzných látok) však musí byť dosiahnutá rovnaká medza dôkazu ako pre PCDD-y a PCDF-y.
- *Vysoká selektivita (špecifita).* Vyžaduje sa rozlíšenie pre PCDD-y, PCDF-y a dioxínom podobné PCB-y z množstva iných látok, s ktorými sú spoločne extrahované a pravdepodobne interferujúce a ktoré sú prítomné v koncentráciách aj o niekoľko poradiakov vyšších než tie, ktorých analyty sú predmetom záujmu. Pre metódy plynovej chromatografie/hmotnostnej spektroskopie (GC/MS) je potrebná diferenciácia medzi rôznymi príbuznými látkami, tak ako medzi toxickými (napr. sedemnást 2,3,7,8-substituovaných PCDD-ov, PCDF-ov a dioxínom podobných PCB-ov) a ostatnými príbuznými látkami. Biologické skúšky by mali byť schopné stanoviť hodnoty TEQ selektívne ako súčet PCDD-ov, PCDF-ov a dioxínom podobných PCB-ov.
- *Vysoká správnosť (pravdivosť a presnosť merania).* Stanovenie by malo umožniť spoľahlivý odhad skutočných koncentrácií vo vzorke. Je potrebné dosahovať vysokú správnosť (správnosť merania: blízkosť k zhode medzi výsledkom merania a meraním so skutočnou alebo určenou hodnotou z merania), aby sa predišlo odmietnutiu analytického výsledku zo vzorky na základe nízkej spoľahlivosti odhadu TEQ. Presnosť je vyjadrená pravdivosťou (rozdielom medzi priemernou hodnotou z merania analytu v certifikovanom materiáli a certifikovanou hodnotou, vyjadreným v percentách z tejto hodnoty) a presnosťou (presnosť je zvyčajne vypočítaná ako smerodajná odchýlka zahrňujúca opakovateľnosť a reprodukovateľnosť; indikuje blízkosť k zhode medzi výsledkami získanými uplatňovaním experimentálneho postupu niekoľkokrát za predpísaných podmienok).

Orientačné metódy môžu zahŕňať biologické skúšky a GC/MS metódy; potvrdzujúce metódy sú metódy vysokorozlišovacej plynovej chromatografie/vysokorozlišovacej hmotnostnej spektroskopie (HRGC/HRMS). Tieto kritéria musia byť v súlade s celkovou hodnotou TEQ:

	Orientačné metódy	Potvrdzujúce metódy
Podiel chybných negatívnych výsledkov	< 1 %	
Pravdivosť		– 20 % až + 20 %
Variačný koeficient	< 30 %	< 15 %

6. Špecifické požiadavky na metódy GC/MS, aby boli vyhovujúce na orientačné a potvrdzovacie účely

- Na úplnom začiatku alebo započatí analýzy musia byť pridané ^{13}C -označené 2,3,7,8-chlórom substituované interné štandardy PCDD/PCDF-ov (a ^{13}C -označené interné štandardy dioxínom podobných PCB-ov, ak majú byť stanovované dioxínom podobné PCB-y), napríklad pred extrakciou, aby sa potvrdila platnosť analytického postupu. Pridaná musí byť aspoň jedna z príbuzných látok pre každú z tetra- až oktachlórovaných homologických skupín pre PCDD/PCDF-y (a aspoň jedna z príbuzných látok pre každú homologickú skupinu dioxínom podobných PCB-ov, ak majú byť stanovované dioxínom podobné PCB-y); alternatívne aspoň jedna z príbuzných látok pre každý vybraný ión (v hmotnostnom spektre) s registračnou funkciou využívaný pri monitorovaní PCDD/PCDF-ov a dioxínom podobných PCB-ov. Jednoznačne sa preferuje, určite v prípade potvrdzujúcich metód, použitie všetkých 17 ^{13}C -označených 2,3,7,8-chlórom substituovaných interných štandardov PCDD/PCDF-ov a všetkých 12 ^{13}C -označených interných štandardov dioxínom podobných PCB-ov (ak majú byť stanovované dioxínom podobné PCB-y).

Faktory relatívnej medze dôkazu môžu byť stanovené tiež pre tie príbuzné látky, pre ktoré sa nepridali ^{13}C -označené analógy, a to použitím zodpovedajúcich kalibračných roztokov.

- Pridanie interných štandardov je povinné pred extrakciou pri potravinách rastlinného pôvodu a pri potravinách živočíšneho pôvodu obsahujúcich menej ako 10 % tuku. Pri potravinách živočíšneho pôvodu obsahujúcich viac ako 10 % tuku môžu byť interné štandardy pridané buď pred extrakciou, alebo po extrakcii tuku. Malo by sa uskutočniť primerané overenie efektívnosti extrakcie v závislosti na štádiu, v ktorom sa pridávajú interné štandardy a na tom, či sa výsledky uvádzajú vo vzťahu k produktu alebo tuku.
- Pred GC/MS analýzami musia byť pridané 1 alebo 2 obnovené (náhradné) štandardy.
- Potrebná je kontrola výťažnosti štandardov. Pre potvrdzujúce metódy, výťažnosti štandardov by mali byť v intervale od 60 % do 120 %. Nižšie alebo vyššie výťažnosti individuálnych príbuzných látok, najmä niektorých hepta- alebo oktachlórovaných dibenzodioxínov a dibenzofuránov, sú akceptovateľné za podmienky, že ich príspevok k hodnote TEQ nepresahuje 10 % z celkovej hodnoty TEQ (založenej len iba na PCDD/PCDF-och). Pre orientačné metódy by výťažnosť mala byť v intervale od 30 % do 140 %.
- Oddelenie dioxínov od interferujúcich chlórovaných zlúčenín ako sú PCB-y a chlórované difenylétery by malo byť uskutočnené vhodnými chromatografickými postupmi (pokiaľ možno s florisilovou, oxido-hlinitou a/alebo uhlíkovou kolónou).
- Rozdelenie izomérov pomocou plynovej chromatografie by malo byť postačujúce (< 25 % prekrytia píkov medzi 1,2,3,4,7,8-HxCDF a 1,2,3,6,7,8-HxCDF).
- Stanovenie by sa malo uskutočniť podľa metódy EPA 1613, revízia B: tetra- až po oktachlórované dioxíny a furány pomocou izotopového zriedenia HRGC/HRMS alebo inou metódou s porovnateľnými kritériami účinnosti.
- Rozdiel medzi úrovňami obsahu pri koncepcii horného odhadu a dolného odhadu by nemal prekročiť 20 % pri potravinách so znečistením dioxínmi okolo 1 pg TEQ WHO/g tuku (založenej iba na PCDD/PCDF-och). Pre potraviny s nízkym obsahom tuku sa musia uplatňovať rovnaké požiadavky na úrovne obsahu znečisťujúcich látok — okolo 1 pg TEQ WHO/g produktu. Pre nižšie úrovne obsahu znečisťujúcich látok, napríklad 0,50 pg TEQ WHO/g produktu, rozdiel medzi úrovňou obsahu pri koncepcii horného odhadu a dolného odhadu môže byť v intervale od 25 do 40 %.

7. Orientačné metódy analýzy

7.1. Úvod

Pri použití orientačnej metódy sa môžu realizovať rôzne analytické prístupy: čisto orientačný prístup a kvantitatívny prístup.

Orientačný prístup

Výsledok zo vzoriek sa porovnáva s výsledkami referenčnej vzorky s predmetnou úrovňou obsahu. Vzorky s výsledkom menším než z referenčnej vzorky sa vyhlásia za negatívne, tie s väčším výsledkom sa pokladajú za pozitívne. Požiadavky:

- Slepá a referenčná vzorka/-y musia byť zahrnuté do každej série testov, ktorá je extrahovaná a testovaná súčasne za rovnakých podmienok. Referenčná vzorka musí jasne preukázať vyšší výsledok v porovnaní so slepou.
- Môžu byť zahrnuté ďalšie referenčné vzorky s 0,5- a 2-násobkom predmetnej úrovne obsahu na dokázanie zodpovedajúceho vykonávania testu v predmetnom intervale kontroly predmetnej úrovne obsahu.
- Pri testovaní iných matríc musí byť preukázaná vhodnosť referenčnej vzorky/vzoriek, prednostne zahrnutím vzoriek vykazujúcich podľa HRGC/HRMS, že obsahujú úroveň obsahu TEQ okolo hodnoty referenčnej vzorky alebo ešte, že slepá vzorka nevykazuje túto úroveň obsahu.

- Keďže interné štandardy nemôžu byť použité pri biologických skúškach, testy opakovateľnosti sú veľmi dôležité na získanie informácie o smerodajnej odchýlke v rámci jednej série testov. Koeficient variácie by mal byť pod 30 %.
- Pri biologických testoch by pre ciele zlučiny mali byť definované možné interferencie a najvyššie tolerovateľné výsledky pre slepé úrovne obsahu.

Kvantitatívny prístup

Kvantitatívny prístup vyžaduje štandardne zriadené série, dvakrát až trikrát opakované čistenie a meranie, ako aj slepé kontroly a kontroly výťažnosti. Výsledok môže byť vyjadrený ako TEQ, vychádzajúc z predpokladu, že zlučiny zodpovedné za signál zodpovedajú TEQ princípu. Toto sa môže uskutočniť použitím TCDD (alebo dioxínovo-furánovej štandardnej zmesi) na vytvorenie kalibračnej krivky pre výpočet úrovne obsahu TEQ v extrakte a tým aj vo vzorke. Vypočítaná hodnota sa následne koriguje podľa úrovne obsahu TEQ vypočítanej pre slepú vzorku (aby sa zahrnuli nečistoty z použitých rozpúšťadiel a chemikálií) a podľa výťažnosti (vypočítaného z úrovne obsahu TEQ vo vzorke na kontrolu kvality s hodnotou okolo predmetnej úrovne obsahu). Je dôležité poznamenať, že časť strát výťažnosti môže byť spôsobená matrixovým efektom a/alebo rozdielmi medzi hodnotami TEF z biologických testov a oficiálnymi hodnotami TEF podľa WHO.

7.2. Požiadavky na metódy analýzy používané na orientačné testovanie

- Metódy GC/MS analýzy a biologické skúšky sa môžu použiť na orientačné testovanie. Pre metódy GC/MS sú požiadavky, ktoré majú byť naplnené, stanovené v bode 6. Špecifické požiadavky pre bunkové biologické skúšky sú stanovené v bode 7.3. a pre biologické skúšky pomocou súprav v bode 7.4.
- Je potrebná informácia o počte chybných pozitívnych a chybných negatívnych výsledkov z veľkého súboru vzoriek pod a nad najvyššou prípustnou úrovňou obsahu alebo účinkujúcou úrovňou obsahu v porovnaní s obsahom TEQ, aký bol stanovený potvrdzovacou metódou analýzy. Bežný podiel chybných negatívnych výsledkov by mal byť pod 1 %. Podiel chybných pozitívnych výsledkov by mal byť dostatočne nízky, aby bolo výhodné používať danú orientačnú metódu.
- Pozitívne výsledky musia byť vždy potvrdené potvrdzovacou metódou analýzy (HRGC/HRMS). Okrem toho vzorky so širokým intervalom TEQ hodnôt by mali byť potvrdené HRGC/HRMS (približne 2 % až 10 % negatívnych vzoriek). Mala by byť dostupná informácia o vzájomnom súlade medzi biologickými skúškami a výsledkami HRGC/HRMS.

7.3. Špecifické požiadavky na bunkové biologické skúšky

- Pri uskutočňovaní biologickej skúšky každý prevádzaný test vyžaduje sériu referenčných koncentrácií TCDD alebo dioxínovo-furánovej zmesi (krivka výsledkov s plnou dávkou s $R^2 > 0.95$). Ale na orientačné účely sa môže použiť krivka rozšírená o časť s oblasťou nízkych úrovní obsahu pre analýzu vzoriek s nízkou úrovňou obsahu.
- Na háрку kontroly kvality by mala byť uvedená referenčná koncentrácia TCDD (približne 3-násobok medze stanoviteľnosti) pre výstup biologickej skúšky za rovnaký časový úsek. Alternatívou môže byť relatívny výsledok referenčnej vzorky porovnaný s kalibračnou krivkou TCDD, pretože výsledok na bunkách môže závisieť od množstva faktorov.
- Grafy kontroly kvality pre každý typ referenčného materiálu by sa mali zaznamenávať a overovať, aby sa ubezpečilo, že výsledky sú v súlade s určenými usmerneniami.
- Najmä v prípade kvantitatívnych výpočtov musí počiatočná časť výsledkov na krivke, zodpovedajúca zriadeným vzorkám, dávať lineárnu závislosť. Vzorky, ktorých výsledky sú nad lineárnou časťou krivky, musia byť zriadené a znova testované. Preto sa odporúča naraz testovať aspoň tri alebo viac rôznych zriadení.
- Percento smerodajnej odchýlky by nemalo byť nad 15 % pri trojnásobnom určení pre každé zriadenie vzorky a nie nad 30 % medzi tromi nezávislými experimentmi.
- Detekčný limit môže byť nastavený ako 3-násobok smerodajnej odchýlky slepého pokusu s rozpúšťadlom alebo výsledku pozadia. Iný prístup využíva výsledok, ktorý je nad pozadím (počiatočný 5-násobný faktor oproti slepému pokusu s rozpúšťadlom), vypočítaný z dennej kalibračnej krivky. Medza stanoviteľnosti môže byť nastavená ako 5- až 6-násobok smerodajnej odchýlky slepého pokusu s rozpúšťadlom alebo výsledku pozadia alebo uplatnením výsledku, ktorý je nad pozadím (počiatočný 10-násobný faktor oproti slepému pokusu s rozpúšťadlom), vypočítaný z kalibračnej krivky z daného dňa.

7.4. Špecifické požiadavky na biologické skúšky so súpravou ⁽¹⁾

- Musia sa dodržiavať pokyny výrobcu pre prípravu vzoriek a uskutočnenie analýz.
- Testovacie súpravy by sa nemali používať po záručnej dobe.
- Materiály alebo súčasti určené na použitie v iných súpravách by sa nemali používať.
- Testovacie súpravy by sa mali uschovávať v určenom intervale skladovacích teplôt a používať pri určenej pracovnej teplote.
- Detekčný limit pre imunologické skúšky je stanovený ako 3-násobok smerodajnej odchýlky odvodennej z 10 opakovaní analýz slepej vzorky, vydelenej hodnotou smernice lineárnej regresnej závislosti.
- Pre testy v laboratóriách by sa mali používať referenčné štandardy na overenie, či citlivosť k štandardu je v rámci prijateľného intervalu.

8. **Správa o výsledku**

Pokiaľ to použité analytické postupy umožňujú, analytické výsledky by mali obsahovať úrovne obsahu jednotlivých PCDD/PCDF a PCB príbuzných látok a mali by byť uvedené podľa koncepcie dolného, horného a stredného odhadu, aby zahŕňali čo najviac informácií pri dokladovaní výsledkov a aby vďaka tomu umožňovali výklad výsledkov podľa špecifických požiadaviek.

Správa by mala tiež obsahovať informáciu o obsahu tukov vo vzorke, rovnako ako o metóde použitej na extrakciu tukov.

Údaje o výťažnosti jednotlivých interných štandardov musia byť sprístupnené v prípade, že jeho hodnoty ležia mimo intervalu uvedeného v bode 6, v prípade presiahnutia najvyššej povolenej hodnoty a na požiadanie aj v ostatných prípadoch.

⁽¹⁾ Doteraz nebola zaznamenaná informácia o komerčne dostupnej súprave na biologické skúšky, ktorá by mala dostatočnú medzu dôkazu a spoľahlivosť na použitie pre orientačné testovanie prítomnosti dioxínov vo vyžadovaných úrovniach obsahu vo vzorkách potravín a krmív.