

32002L0069

L 209/5

EUROOPA ÜHENDUSTE TEATAJA

6.8.2002

KOMISJONI DIREKTIIV 2002/69/EÜ,
30. juuli 2002,
millega sätestatakse proovivõtu- ja analüüsimeetodid dioksiinide sisalduse ametlikuks kontrolliks ja
dioksiinitaoliste PCBde sisalduse kindlaksmääramiseks toiduainetes
(EMPs kohaldatav tekst)

EUROOPA ÜHENDUSTE KOMISJON,

võttes arvesse Euroopa Ühenduse asutamislepingut,

võttes arvesse nõukogu 20. detsembri 1985. aasta direktiivi 85/591/EMÜ toiduainete kontrolliks vajalike ühenduse proovivõtu- ja analüüsimeetodite kehtestamise kohta, ⁽¹⁾ eriti selle artikleid 1 ja 4,

ning arvestades järgmist:

- (1) Komisjoni määrusega (EÜ) nr 466/2001, ⁽²⁾ viimati muudetud määrusega (EÜ) nr 563/2002, ⁽³⁾ ja muudetud nõukogu määrusega (EÜ) nr 2375/2001, ⁽⁴⁾ kehtestatakse dioksiinide ja furaanide piirnormid teatavates toiduainetes.
- (2) Nõukogu 14. juuni 1989. aasta direktiiviga 89/397/EMÜ toiduainete ametliku kontrolli kohta ⁽⁵⁾ sätestatakse toiduainete kontrolli üldpõhimõtted. Nõukogu 29. oktoobri 1993. aasta direktiiviga 93/99/EMÜ toiduainete ametlikku kontrolli käsitlevate lisameetmete kohta ⁽⁶⁾ kehtestatakse kvaliteedistandardite süsteem laborite jaoks, millele liikmesriigid on usaldanud toiduainete ametliku kontrolli.
- (3) Direktiivis 85/591/EMÜ määratakse kindlaks proovivõtu- ja analüüsimeetodite üldkriteeriumid. Teatavatel juhtudel on siiski vajalik sätestada konkreetsemad kriteeriumid ja nõuded, millele analüüsimeetodid peaksid vastama, et tagada laborite poolt kasutatavate analüüsimeetodite võrreldavus.
- (4) Proovivõttu ja analüüsimeetodeid käsitlevad sätted on koostatud praeguste teadmiste alusel ning neid võib kohandada vastavalt teaduse ja tehnika edusammudele.
- (5) Käesolevas direktiivis ettenähtud sätted käsitlevad ainult dioksiinide ja dioksiinitaoliste PCBde analüüsi ja nendega

seotud proovivõttu määruse (EÜ) nr 466/2001 rakendamiseks ega mõjuta nõukogu 29. aprilli 1996. aasta direktiivi 96/23/EÜ (millega nähakse ette teatavate elusloomades ja loomsetes toodetes esinevate ainete ja nende jääkide kontrollimise meetmed ning tunnistatakse kehtetuks direktiivid 85/358/EMÜ ja 86/469/EMÜ ning otsused 89/187/EMÜ ja 91/664/EMÜ) ⁽⁷⁾ III ja IV lisas täpsustatud proovivõtu strateegia, mahtude ja sageduse kohaldamist. Need sätted ei mõjuta ka komisjoni 23. veebruari 1998. aasta otsuses 98/179/EÜ (millega sätestatakse teatavate elusloomades ja loomsetes toodetes esinevate ainete ja nende jääkide kontrolli üksikasjalikud ametliku proovivõtu eeskirjad) ⁽⁸⁾ sätestatud proovide valiku kriteeriume.

- (6) Tuleks järgida aktiivset lähenemisviisi, et saada kõikehõlmavaid usaldusväärseid andmeid dioksiinitaoliste PCBde sisalduse kohta toiduainetes. Seetõttu tuleks sätestada toidus dioksiinitaoliste PCBde sisalduse kindlaksmääramiseks kasutatavaid analüüsimeetodeid käsitlevad nõuded.
- (7) Analüüsiks võiks kasutada tõendatud ning üldiselt tunnustatud kehtivusega ning suure tootlikkusega sõelumismeetodit, et välja valida märkimisväärse dioksiinisaldusega proovid. Nende proovide dioksiinisaldus tuleb kindlaks määrata analüüsi kinnitusmeetodi abil. Seetõttu on asjakohane kehtestada ranged nõuded analüüsi kinnitusmeetoditele ja miinimumnõuded sõelumismeetodile.
- (8) Käesoleva direktiiviga ettenähtud meetmed on kooskõlas alalise toiduahela- ja loomatervishoiukomitee arvamusega,

ON VASTU VÕTNUD KÄESOLEVA DIREKTIIVI:

Artikkel 1

Liikmesriigid tagavad, et proovid dioksiinide ja furaanide sisalduse ametlikuks kontrolliks ja dioksiinitaoliste PCBde sisalduse kindlaksmääramiseks toiduainetes võetakse vastavalt I lisas kirjeldatud meetoditele.

⁽¹⁾ EÜT L 372, 31.12.1985, lk 50.

⁽²⁾ EÜT L 77, 16.3.2001, lk 1.

⁽³⁾ EÜT L 86, 3.4.2002, lk 5.

⁽⁴⁾ EÜT L 321, 6.12.2001, lk 1.

⁽⁵⁾ EÜT L 186, 30.6.1989, lk 23.

⁽⁶⁾ EÜT L 290, 24.11.1993, lk 14.

⁽⁷⁾ EÜT L 125, 23.5.1996, lk 10.

⁽⁸⁾ EÜT L 65, 5.3.1998, lk 31.

Artikkel 2

Liikmesriigid tagavad, et proovid dioksiinide ja furaanide sisalduse ametlikuks kontrolliks ja dioksiinitaoliste PCBde sisalduse kindlaksmääramiseks toiduainetes valmistatakse ette ja analüüsimetodeid kasutatakse vastavalt II lisas kirjeldatud kriteeriumidele.

Artikkel 3

Liikmesriigid jõustavad käesoleva direktiivi järgimiseks vajalikud õigus- ja haldusnormid hiljemalt 28. veebruaril 2003. Liikmesriigid teatavad sellest viivitamata komisjonile.

Kui liikmesriigid need normid vastu võtavad, lisavad nad nendesse normidesse või nende normide ametliku avaldamise korral nende juurde viite käesolevale direktiivile. Sellise viitamise viisi näevad ette liikmesriigid.

Artikkel 4

Käesolev direktiiv jõustub 20. päeval pärast selle avaldamist *Euroopa Ühenduste Teatajas*.

Artikkel 5

Käesolev direktiiv on adresseeritud liikmesriikidele.

Brüssel, 30. juuli 2002

Komisjoni nimel

komisjoni liige

David BYRNE

I LISA

PROOVIVÕTUMEETODID DIOKSIINIDE (PCDD/PCDF) SISALDUSE AMETLIKUKS KONTROLLIKS JA DIOKSIINITAOLISTE PCBde SISALDUSE KINDLAKSMÄÄRAMISEKS TEATAVATES TOIDUAINETES**1. Eesmärk ja rakendusala**

Dioksiinide (PCDD/PCDF) sisalduse ametlikuks kontrolliks ja dioksiinitaoliste PCBde⁽¹⁾ sisalduse kindlaksmääramiseks toiduainetes ettenähtud proovid võetakse vastavalt allkirjeldatud meetoditele. Selliselt võetud koondproove käsitletakse representatiivsetena partii või osapartii puhul, kust need on võetud. Komisjoni määrusega (EÜ) nr 466/2001 (millega sätestatakse teatavate saasteainete piirnormid toiduainetes) ettenähtud piirnormide järgimine tehakse kindlaks laboriproovides määratud sisalduste alusel.

2. Mõisted

Partii: samal ajal tarnitud kindlakstehtav toidukogus, mille puhul ametnik on kindlaks määranud järgmised ühised omadused: päritolu, sort, pakkimisviis, pakkiija, saatja või märgistused. Kala ja kalastussaaduste puhul võrreldakse ka kala suurust.

Osapartii: teatav suure partii osa, mille puhul kohaldatakse proovivõtumeetodit. Iga osapartii peab olema füüsiliselt eraldatud ja kindlakstehtav.

Osaproov: partii või osapartii ühest kohast võetud materjalikogus.

Koondproov: kõikide partiist või osapartiist võetud osaproovide koguhulk.

Laboriproov: labori jaoks ettenähtud koondproovi representatiivne osa/kogus.

⁽¹⁾ Inimeste tervist ähvardava riski hindamisel kasutatavad Maailma Tervishoiuorganisatsiooni TEFid, mis põhinevad Rootsis Stockholmis 15.–18. juunil 1997 peetud Maailma Tervishoiuorganisatsiooni koosoleku otsustel (Van den Berg et al., (1998) Toxic Equivalency Factors (TEFs) for PCBs, PCDDs, PCDFs for Humans and for Wildlife. Environmental Health Perspectives, 106(12), 775).

Analoogid	TEF väärtus	Analoogid	TEF väärtus
Dibenso-p-dioksiinid (PCDDd)		Dioksiinitaolised PCBd, m- ja p- ning mono-ortoasendatud PCBd	
2,3,7,8-TCDD	1	m- ja p-asendatud PCBd	
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		
Dibensofuraanid (PCDFd)		Mono-ortoasendatud PCBd	
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		

Kasutatud lühendid: T = tetra; Pe = penta; Hx = heksta; Hp = hepta; O = okta; CDD = klorodibensodioksiin; CDF = klorodibensofuraan; CB = klorobifenüül.

3. Üldsätted

3.1. Töötajad

Proove võtab selleks liikmesriikide õigusaktide kohaselt volitatud kvalifitseeritud isik.

3.2. Materjal, millest proovid võetakse

Igast uuritavast partiist tuleb võtta eraldi proovid.

3.3. Ettevaatusabinõud

Laboriproovide võtmise ja ettevalmistamise käigus tuleb võtta ettevaatusabinõud, et vältida muutusi, mis võivad mõjutada dioksiinide ja dioksiinitaoliste PCBde sisaldust, analüüsitulemusi või koondproovide representatiivsust.

3.4. Osaproovid

Võimaluse korral võetakse osaproovid ühtlaselt kogu partii või osapartii eri kohtadest. Kõrvalekaldumine sellest reeglist tuleb märkida punktis 3.8 ettenähtud protokollis.

3.5. Koondproovi ettevalmistamine

Koondproov saadakse kõikide osaproovide segamise teel. See on vähemalt 1 kg, välja arvatud juhul, kui see ei ole praktiline, nt kui proov on võetud üksikpakendist.

3.6. Koondproovide jaotamine laboriproovideks eeskirjade täitmise tagamise, kaubanduse kaitse ja võrdlemise eesmärgil

Tingimusel, et see on kooskõlas liikmesriikide määrustega proovivõtu kohta, võetakse homogeniseeritud koondproovist laboriproovid, mis on ette nähtud eeskirjade täitmise tagamiseks, kaubanduse kaitseks ja võrdlemiseks. Laboriproovid eeskirjade täitmise tagamiseks peavad olema piisavalt suured, et võimaldada vähemalt kahekordset analüüsi.

3.7. Koond- ja laboriproovide pakkimine ja vedu

Iga koond- ja laboriproov asetatakse puhtasse, inertsest materjalist nõusse, mis kaitseb piisavalt saastumise eest, analüütide kao eest nõu siseseina imendumise tõttu ning kahjustuste eest veol. Veo või ladustamise ajal tekkida võiva koond- ja laboriproovide koostise muutuse vältimiseks võetakse kõik vajalikud ettevaatusabinõud.

3.8. Koond- ja laboriproovide pitseerimine ja märgistamine

Iga ametlikuks kasutamiseks võetud proov pitseeritakse proovivõtukohas ja märgistatakse vastavalt liikmesriikide määrustele. Iga proovivõtu kohta tuleb täita protokoll, mis võimaldab iga partiid üheselt kindlaks teha ja kuhu märgitakse proovivõtu aeg ja koht ning muu lisateave, mis võib määrajale abiks olla.

4. Proovivõtuplaanid

Kohaldatav proovivõtumeetod peab tagama, et koondproov on kontrollitava partii suhtes representatiivne.

Osaproovide arv

Piima ja õlide puhul, kui saab eeldada asjaomaste saasteainete ühtlast jaotumist antud partiis, piisab partii kohta kolmest osaproovist, mis moodustavad koondproovi. Märgitakse partii number. Muude toodete puhul on partiist võetavate osaproovide miinimumarv esitatud tabelis 1.

Kõiki osaproove ühendav koondproov on vähemalt 1 kg (vt punkt 3.5). Osaproovide mass peab olema ühesugune. Osaproovi mass peab olema vähemalt 100 grammi. Osaproovi mass sõltub partiis olevate osakeste suurusel. Kõrvalekaldumine sellest reeglist tuleb märkida punktis 3.8 ettenähtud protokollis. Vastavalt komisjoni 27. oktoobri 1997. aasta otsuse 97/747/EÜ sätetele, millega määratakse kindlaks nõukogu direktiiviga 96/23/EÜ ettenähtud proovivõtu mahud ja sagedused teatavates loomsetes toodetes esinevate teatavate ainete ja ainejääkide seireks, ⁽¹⁾ on kanamunade puhul proovi suurus vähemalt 12 muna (lahtised ja üksikpakenditest koosnevad partiid — tabelid 1 ja 2).

⁽¹⁾ EÜT L 303, 6.11.97, lk 12.

TABEL 1

Partiist võetavate osaproovide miinimumarv

Partii mass (kg)	Võetavate osaproovide miinimumarv
< 50	3
50—500	5
> 500	10

Kui partii koosneb üksikpakenditest, on koondproovi saamiseks võetavate pakendite arv esitatud tabelis 2.

TABEL 2

Koondproovi saamiseks võetavate pakendite (osaproovide) arv, kui partii koosneb üksikpakenditest

Pakendite või ühikute arv partiis	Võetavate pakendite või ühikute arv
1—25	1 pakend või ühik
26—100	Ligikaudu 5 %, vähemalt kaks pakendit või ühikut
> 100	Ligikaudu 5 %, maksimaalselt kümme pakendit või ühikut

5. **Partii või osapartii vastavus spetsifikatsioonile**

Kontroll-labor teeb laboriproovist eeskirjade täitmise tagamiseks kaks analüüsi, kui esimese analüüsi tulemus on vähem kui 20 % piirnormist madalam või kõrgem, ja arvutab tulemuste keskmise. Partii kiidetakse heaks, kui esimese analüüsi tulemus on rohkem kui 20 % piirnormist madalam või kui vajaliku teise analüüsi tulemuse keskmine väärtus vastab määruses (EÜ) nr 466/2001 sätestatud vastavale piirnormile.

II LISA

PROOVIDE ETTEVALMISTAMINE JA NÕUDED ANALÜÜSIMEETODITELE, MIDA KASUTATAKSE DIOKSIINIDE (PCDD/PCDF) SISALDUSE AMETLIKUKS KONTROLLIKS JA DIOKSIINITAOLISTE PCBde SISALDUSE KINDLAKSMÄÄRAMISEKS TEATAVATES TOIDUAINETES**1. Eesmärk ja rakendusala**

Neid nõudeid tuleks kohaldada toiduainete analüüsimisel dioksiinide (polüklooritud dibenso-*p*-dioksiinid (PCDD) ja polüklooritud dibensofuraanide (PCDF)) sisalduse ametlikuks kontrolliks ja dioksiinitaoliste PCBde sisalduse kindlaksmääramiseks.

Toiduainete dioksiinisaldust saab seirata strateegia abil, mis hõlmab sõelumismeetodit nende proovide valimiseks, milles on vähem kui 30–40 % vaatlustasemest vähem või rohkem dioksiine ja dioksiinitaolisi PCBsid. Nende proovide dioksiinisaldus tuleb kindlaks määrata/kinnitada kinnitusmeetodi abil.

Sõelumismeetodeid kasutatakse dioksiinide ja dioksiinitaoliste PCBde sisalduse tuvastamiseks vaatlustasemel. Need meetodid on suure tootlikkusega ja neid kasutatakse suure arvu proovide kontrollimiseks positiivsete tulemuste suhtes. Need meetodid on konkreetselt kavandatud väärte negatiivsete tulemuste vältimiseks.

Kinnitusmeetodite abil saadakse täielikku või täiendavat teavet, mis võimaldab dioksiine ja dioksiinitaolisi PCBsid vaatlustasemel ühemõtteliselt kindlaks teha ja kvantifitseerida.

2. Taust

Et keskkonna- ja bioloogilised proovid (sealhulgas toiduainete proovid) sisaldavad üldiselt erinevate dioksiini analoogide keerukaid segusid, on riski hindamise lihtsustamiseks välja töötatud toksilisuse ekvivalentfaktori (TEF) mõiste. TEFid on kehtestatud selleks, et väljendada 2,3,7,8-TCDDde toksilisuse ekvivalentides segude kontsentratsioone (TEQ), mis sisaldavad 2,3,7,8-asendatud PCDD ja PCDF ning viimasel ajal teatavaid *m*- ja *p*-ning mono-ortoklooritud PCB ühendeid, millel on dioksiiniga samaväärne aktiivsus (vt I lisa 1. joonealune märkus).

Üksikute ainete kontsentratsioonid antud proovis korrutatakse nende vastavate TEFidega ja liidetakse seejärel kokku, et saada TEQdes väljendatud dioksiinitaoliste ühendite üldkontsentratsioon.

“Ülemtõkke” põhimõtte kohaselt vastab TEQ arvutamisel iga kvantifitseerimata analoogi väärtus kvantifitseerimispiiri väärtusele.

“Alamtõkke” põhimõtte kohaselt vastab TEQ arvutamisel iga kvantifitseerimata analoogi väärtus nullile.

“Vaheväärtuse” põhimõtte kohaselt vastab TEQ arvutamisel iga kvantifitseerimata analoogi väärtus poolele kvantifitseerimispiiri väärtusele.

3. Kvaliteedi tagamise nõuded proovi ettevalmistamisel

- Tuleb võtta meetmeid, et igas proovivõtu- ja analüüsimenetluse etapis vältida ristsaastumist.
- Proove tuleb ladustada ja transportida klaas-, alumiinium-, polüpropüleen- või polüetüleenmahutites. Paberitolmu jäägid tuleb mahutist eemaldada. Klaasnõusid tuleb loputada dioksiinisisalduse suhtes eelnevalt kontrollitud lahustitega.
- Proovide ladustamine ja transport tuleb korraldada nii, et säiliks toiduaineproovi terviklikkus.
- Vajaduse korral jahvatatakse iga laboriproov peeneks ja segatakse hoolikalt, kasutades meetodit, mis tagab täieliku homogeniseerumise (nt peenestatakse nii, et proov läbib 1-mm avadega sõela); proovid tuleb enne jahvatamist kuivatada, kui niiskusesisaldus on liiga suur.
- Tehakse pimekatse, mille puhul läbitakse kõik analüüsi etapid ilma proovita.

- Ekstraheerimisel kasutatava proovi mass peab olema küllaldane, et vastata tundlikkusnõuetele.
- Asjaomaste toodete puhul on mitmeid nõuetekohaseid proovide ettevalmistuse erimenetlusi, mida võib kasutada. Menetlused tuleb valideerida vastavalt rahvusvaheliselt tunnustatud juhendile.

4. Nõuded laboritele

- Korduvate analüüside puhul nõuetekohase variatsioonikordaja saavutamise abil peavad laborid näitama suutlikkust meetodi rakendamisel vaatlustaseme piirkonnas, nt 0,5-, 1- ja 2-kordsele vaatlustaseme väärtusele vastavatel juhtudel. Nõuetekohasuse näitajaid käsitlevad üksikasjad on esitatud punktis 5.
- Kinnitusmeetodi kvantifitseerimispiir peab olema ligikaudu 1/5 vaatlustasemest, et tagada nõuetekohased variatsioonikordajad vaatlustaseme piirkonnas.
- Sisemiste kvaliteedikontrollimeetmetena tuleb rakendada regulaarseid pimekatseid ja kontroll-rikastusproove või kontrollproovide analüüsi (eelistatud on sertifitseeritud etalonained).
- Edukas osalemine laboritevahelistes laborite pädevust hindavates katsetes on parim viis tõestada oma pädevust erianalüüside tegemisel. Edukas osalemine nt mulla- või reoveeproove käsitlevates laboritevahelistes katsetes ei pruugi siiski tingimata tõestada labori pädevust ka toiduaine- või söödaproovide valdkonnas, sest kõnealuste proovide saastetase on madalam. Seetõttu on kohustuslik pidev osalemine laboritevahelistes katsetes, mille eesmärk on dioksiinide ja dioksiinitaaliste PCBde sisalduse kindlaksmääramine vastavates sööda või toiduainete põhiainetes.
- Vastavalt direktiivi 93/99/EMÜ sätetele peaksid laborid olema ISO juhendi 58 kohaselt töötava tunnustatud asutuse poolt akrediteeritud tagamaks, et nad kohaldavad analüütilise kvaliteedi garantiid. Laborid tuleks akrediteerida ISO/IEC/17025:1999-standardi kohaselt.

5. Dioksiinide ja dioksiinitaaliste PCBde analüüsimenetlusele esitatavad nõuded

Analüüsimenetlustele esitatavad põhinõuded:

- *Suur tundlikkus ja madalad avastamiskiirid.* PCDDde ja PCDFide puhul peavad tuvastatavad kogused olema toksilisuse piktogramm-ekvivalentkontsentratsioonide (10^{-12} g) nimetatud ühendite äärmiselt suure toksilisuse tõttu. Teatakse, et PCBd esinevad suuremates kontsentratsioonides kui PCDDd ja PCDFid. Enamiku PCB analoogide puhul piisab tundlikkusest nanogrammide (10^{-9} g) diapsoonis. Toksilisemate dioksiinitaaliste PCB-analoogide (eriti *m*- ja *p*-asendatud analoogide) määramisel tuleb saavutada sama tundlikkus nagu PCDDde ja PCDFide puhul.
- *Suur selektiivsus (spetsiifilisus).* PCDDsid, PCDFe ja dioksiinitaalisi PCBsid peab saama eristada paljudest teistest võimalikest kaasa ekstraheerunud segavatest ühenditest, mille sisaldused võivad analüüsivate ühendite sisaldusega võrreldes olla mitmekordsed. Gaaskromatograafia/mass-spektromeetria (GC/MS) meetoditega peab olema võimalik vajaduse korral eristada eri analooge, nagu toksilisi analooge (nt seitsmeteist 2,3,7,8-asendatud PCDDd ja PCDFi ning dioksiinitaalset PCBd) teistest analoogidest. Biotestidega peab olema võimalik kindlaks määrata TEQ-väärtusi valikuliselt PCDDde, PCDFide ja dioksiinitaaliste PCBde summana.
- *Suur mõõtetäpsus (tõesus ja täpsusaste).* Määramine peab andma pädeva hinnangu aine tegeliku sisalduse kohta proovis. Suur mõõtetäpsus (mõõtetäpsus: mõõtmise tulemuse ja mõõtmise tegeliku või omistatud väärtuse lähedus) on vajalik, et vältida proovi analüüsi tulemuse tagasilükkamist TEQ-hinnangu nõrga usaldusväärsuse tõttu. Mõõtetäpsust väljendatakse tõesusena (sertifitseeritud materjalist analüüdi puhul mõõdetud keskmise väärtuse ja tema sertifitseeritud väärtuse erinevus protsentides sellest väärtusest) ja täpsusastmena (täpsusaste arvutatakse tavaliselt standardhälvena, mis hõlmab korratavust ja reprodutseeritavust ning näitab ettenähtud tingimustes katsemenetlusi korrates saadud tulemuste lähedust).

Sõelumismeetodid võivad hõlmata bioteste ja GC/MS-meetodeid; kinnitusmeetodid on kõrglahutusgaaskromatograafia/kõrglahutusmass-spektromeetria (HRGC/HRMS) meetodid. TEQ-üldväärtuse osas tuleb järgida järgmisi kriteeriume:

	Sõelumismeetodid	Kinnitusmeetodid
Valenegatiivne määr	< 1 %	
Tõesus		— 20 % kuni + 20 %
CV	< 30 %	< 15 %

6. Sõelumiseks või kinnituseks kasutatavatele GC/MS-meetoditele esitatavad erinõuded

- Analüüsimenetluse valideerimiseks tuleb menetluse alguses ehk nt enne ekstraheerimist lisada ^{13}C -märgitud 2,3,7,8-kloorasendatud PCDD/Fide sisestandardeid (ja ^{13}C -märgitud dioksiinitaoliste PCBde sisestandardeid, kui tuleb määrata dioksiinitaolisi PCBsid). Tuleb lisada vähemalt üht analoogi iga tetra- kuni oktaklooritud PCDD/F-homoloogilise rühma kohta (ja vähemalt üht analoogi iga dioksiinitaoliste PCBde homoloogilise rühma kohta, kui tuleb määrata dioksiinitaolisi PCBsid). (Teise võimalusena võib lisada vähemalt üht analoogi iga PCDD/F ja dioksiinitaoliste PCBde seires kasutatud mass-spektromeetriliselt selekteeritava ja ioonina registreeritava funktsionaalrühma kohta). Vähemalt kinnitusmeetodite puhul eelistatakse kasutada kõiki 17 ^{13}C -märgitud 2,3,7,8-asendatud PCDD/Fi sisestandardeid ja kõiki 12 ^{13}C -märgitud dioksiinitaolise PCB sisestandardeid (kui tuleb määrata dioksiinitaolisi PCBsid).

Suhtelised kalibreerimistegurid tuleb asjakohaseid kalibreerimislahuseid kasutades määrata ka neile analoogidele, mille puhul ei lisata ^{13}C -märgitud analoogi.

- Taimsete ja alla 10 % rasva sisaldavate loomsete toiduainete puhul tuleb sisestandardid lisada enne ekstraheerimist. Üle 10 % rasva sisaldavate loomsete toiduainete puhul võib sisestandardid lisada kas enne ekstraheerimist või pärast rasva ekstraheerimist. Ekstraheerimise tõhusus tuleb asjakohaselt valideerida olenevalt sellest, millises etapis sisestandardid lisatakse ja kas tulemused esitatakse tootes või rasvas oleva sisaldusena.
- Enne GC/MS-analüüsi tuleb lisada 1 või 2 surrogaatsaagist.
- Vajalik on saagise kontroll. Kinnitusmeetodite puhul peavad üksikute sisestandardite saagised olema 60—120 % piires. Üksikute analoogide, eriti mõnede hepta- ja oktaklooritud dibensodioksiinide ja dibensofuraanide puhul on madalamad või kõrgemad saagised vastuvõetavad üksnes tingimusel, et nende mõju TEQ-väärtusele ei ületa 10 % TEQ-üldväärtusest (ainult PCDD/F alusel). Sõelumismeetodite puhul peavad saagised olema 30—140 % piires.
- Dioksiinide eraldamine sellistest segavatest klooritud ühenditest nagu PCBd ja klooritud difenüüleetrid peab toimuma sobiva kromatograafiatehnika abil (eelistatavalt florisil-, alumiiniumoksiid- ja/või süsinikkolonn).
- Isomeeride gaasikromatograafiline lahutatavus peab olema küllaldane (1,2,3,4,7,8-HxCDF ja 1,2,3,6,7,8-HxCDF piikidest võib kokku langeda < 25 %).
- Määramiseks tuleb kasutada EPA-meetodi 1613 versiooni B (Tetra- through octa-chlorinated dioxins and furans by isotope dilution HRGC/HRMS) või samaväärsetele toimivuskriteeriumidele vastavat meetodit.
- Ülem- ja alamtõkke vahe ei tohi ületada 20 % toiduainete puhul, mille rasva dioksiinisaldus on ligikaudu 1 pg WHO-TEQ/g (ainult PCDD/PCDF alusel). Samu saastatuse piirnorme tuleb kohaldada väikese rasvasisaldusega toiduainete puhul, mille dioksiinisaldus on ligikaudu 1 pg WHO-TEQ/g. Madalamate saastetasemete puhul (nt 0,50 pg WHO-TEQ/g tootes) võib ülem- ja alamtõkke vahe olla 25—40 % piires.

7. Sõelanalüüsimetodid

7.1. Sissejuhatus

Sõelumismeetodit võib kasutada erinevate analüüside puhul: puhtaks sõelumiseks või kvantitatiivseks analüüsiks.

Sõelumine

Proovide puhul saadud tulemust võrreldakse vaatlustasemele vastava standardproovi puhul saadud tulemusega. Kui teatava prooviga saadud tulemus vastab standardprooviga võrreldes väiksemale sisaldusele, loetakse see proov negatiivseks, suuremale sisaldusele vastava tulemuse puhul oletatakse, et proov on positiivne. Nõuded:

- Iga katseseeria puhul tuleb kasutada nii fooni- kui standardproovi(e), mis ekstraheeritakse ja testitakse samal ajal samadel tingimustel. Standardproov peab fooniprooviga võrreldes andma selgelt suuremale sisaldusele vastava tulemuse.
- Lisaks tuleb kasutada vaatlustaseme 0,5- ja 2-kordsele väärtusele vastavaid standardproove, et vaatlustaseme kontrolliks näidata testi nõuetekohast toimivust vaatluspiirkonnas.
- Teisi põhiaineid testides tuleb näidata standardproovi(de) sobivust, võttes eelistatavalt juurde proove, mille TEQ-väärtuseks on HRGC/HRMS abil määratud standardproovi väärtusele lähedane väärtus, või väärtuselt vastavaks reguleeritud fooniproovi.

- Et biotestide puhul ei saa kasutada sisestandardeid, on eriti oluline teha korratavuskatseid, et saada andmeid ühe katseseeria standardhälbest. Variatsioonikordaja peab olema alla 30 %.
- Biotestide puhul tuleb määratleda sihtühendid, võimalikud segavad mõjurid ja maksimaalsed vastuvõetavad foonitasemed.

Kvantitatiivne analüüs

Kvantitatiivne analüüs eeldab standardlahjenduste rida, kahe- või kolmekordset puhastamist ja mõõtmist ning pimekatseid ja saagisekontrolli. Tulemust võib väljendada TEQna, eeldades, et signaali andvad ühendid vastavad TEQ-põhimõttele. Seda saab teha, kasutades TCDDd (või dioksiini/furaani standardsegu) kalibreerimisgraafiku saamiseks, mille põhjal arvutatakse TEQ-tase ekstraktis ja selle kaudu proovis. Seda väärtust korrigeeritakse fooniproovi jaoks arvutatud TEQ-väärtuse (et võtta arvesse kasutatud lahustite ja kemikaalide lisandeid) ja saagise (arvutatakse sisalduse poolest ligikaudu kõnealust taset esindava kvaliteedikontrolliproovi TEQ-väärtusest) alusel. On oluline märkida, et osa ilmsest saagisekaost võib tuleneda põhiline mõjust ja/või biotestide TEF-väärtuste ja WHO ametlike TEF-väärtuste erinevusest.

7.2. Nõuded sõelanalüüsimetoditele

- Sõelamiseks võib kasutada GC/MS-meetodeid ja bioteste. GC/MS-meetodite puhul kasutatakse punktis 6 sätestatud nõudeid. Raku biotestide erinõuded sätestatakse punktis 7.3 ja komplekteeritud vormis biotestide erinõuded punktis 7.4.
- Vajalikud on andmed suure hulga proovide valepositiivsete ja valenegatiivsete tulemuste arvu kohta all- ja ülevalpool piirnormi või häiretaset, võrreldes analüüsi kinnitusmeetodi abil kindlaksmääratud TEQ-väärtusega. Tegelike valenegatiivsete tulemuste määr peab olema alla 1 %. Valepositiivsete proovide määr peab olema küllalt madal, et sõelumisest kasu oleks.
- Positiivsed tulemused tuleb alati kinnitada analüüsi kinnitusmeetodi (HRGC/HRMS) abil. Lisaks tuleks HRGC/HRMS abil kinnitada laiale TEQ-ulatusele vastavad proovid (ligikaudu 2—10 % negatiivsetest proovidest). Teatavaks tuleb teha andmed biotesti ja HRGC/HRMS tulemuste vastavuse kohta.

7.3. Raku biotestide erinõuded

- Biotesti tehes on iga testi puhul vajalik TCDD või dioksiini/furaani segu standardkontsentratsioonide rida (täielik dooside-vastuste kõver, mille puhul $R^2 > 0,95$). Madalate sisaldustega proovide analüüsimise puhul võib sõelumisel siiski kasutada madalale sisaldustele vastavat laiendatud kõverat.
- Biotesti tulemuste kontrolliks konstantsel ajavahemikul tuleb kvaliteedikontrolli kaardil kasutada TCDD standardkontsentratsiooni (ligikaudu kolmekordne kvantifikatsioonipiir). Alternatiiviks võib olla standardprooviga TCDD kalibreerimisjoone suhtes saadud tulemus, sest rakkude reaktsioon võib sõltuda paljudest teguritest.
- Tuleb koostada iga tüüpi etalonainete kvaliteedikontrolli kaardid ja neid kontrollida, et teha kindlaks, kas tulemused vastavad antud suunistele.
- Eelkõige kvantitatiivsete arvutuste puhul tuleb kasutada proovilahjendusi reageerimiskõvera lineaarse osa piires. Reageerimiskõvera lineaarset osa ületavad proovid tuleb lahjendada ja uuesti testida. Seetõttu soovitatakse testida ühekorraga vähemalt kolme või enamalt lahjendust.
- Standardhälve ei tohi ületada 15 % proovi ühe lahjenduse kolmekordsel määramisel ega 30 % kolme iseseisva katse puhul.
- Avastamisperiks võib seada lahusti fooninäidu või taustareaktsiooni kolmekordse standardhälbe. Võib kasutada ka taustaväärtusest tugevamat reaktsiooni (induktsioonifaktoriks on lahusti fooninäidu viiekordne tase), mis on arvutatud päeva kalibreerimisgraafikult. Kvantifikatsiooniperiks võib seada lahustiga tehtud pimekatse või taustareaktsiooni 5- kuni 6-kordse standardhälbe või kohaldada taustast tugevamat reaktsiooni (induktsioonifaktoriks on lahusti fooninäidu kümnekordne tase), mis on arvutatud päeva kalibreerimisgraafikult.

7.4. Komplekteeritud vormis biotestide erinõuded ⁽¹⁾

- Tuleb järgida valmistaja juhtnööre proovide ettevalmistamise ja analüüside kohta.
- Pärast kasutusaja lõppemist ei tohi testikomplekte kasutada.
- Teiste komplektidega kasutamiseks ettenähtud materjale või komponente ei tohi kasutada.
- Testikomplekte tuleb säilitada kindlaksmääratud temperatuuril ja kasutada kindlaksmääratud kasutustemperatuuril.
- Immunoanalüüsi avastamispiir on pimekatse 10 kordusanalüüsi kolmekordne standardhälve, mis on jagatud lineaarse regressiooni võrrandi tõusu väärtusega.
- Laboritestides tuleb kasutada tugietalone tagamaks, et standardile vastavus on vastuvõetavates piirides.

8. Aruandlus tulemuste kohta

Kui kasutatud analüüsimenetlus võimaldab, peavad analüüsitulemused hõlmama üksikute PCDD/F- ja PCB-analoogide sisaldust ja olema esitatud alam- ja ülemtõkke või vaheväärtuse põhimõttel, et tulemuste aruanne sisaldaks võimalikult palju andmeid ja võimaldaks tulemuste tõlgendamist erinõuete kohaselt.

Aruanne peab hõlmama ka proovide lipiididesisaldust ja lipiidide ekstraheerimiseks kasutatud meetodit.

Üksikute sisestandardite saagised tuleb esitada juhul, kui need jäävad punktis 6 nimetatud ulatusest väljapoole ja kui piirnorm on ületatud. Muudel juhtudel esitatakse need taotluse korral.

⁽¹⁾ Seni ei ole esitatud tõendeid müügil olevate komplekteeritud vormis biotestide kohta, mis on küllaldaselt tundlikud ja usaldusväärsed kasutamiseks söelumisel, et teha nõutava täpsusega kindlaks toiduaine- ja söödaproovide dioksiinisisaldused.