

ΟΔΗΓΙΑ 2002/70/ΕΚ ΤΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ

της 26ης Ιουλίου 2002

για καθορισμό των απαιτήσεων για τον προσδιορισμό των επιπέδων των διοξινών και των παρόμοιων με τις διοξίνες PCB στις ζωοτροφές

(Κείμενο που παρουσιάζει ενδιαφέρον για τον ΕΟΧ)

Η ΕΠΙΤΡΟΠΗ ΤΩΝ ΕΥΡΩΠΑΪΚΩΝ ΚΟΙΝΟΤΗΤΩΝ,

Έχοντας υπόψη:

τη συνθήκη για την ίδρυση της Ευρωπαϊκής Κοινότητας,

την οδηγία 70/373/ΕΟΚ του Συμβουλίου, της 20ής Ιουλίου 1970, περί εισαγωγής τρόπων λήψεως δειγμάτων και μεθόδων κοινοτικής αναλύσεως για τον επίσημο έλεγχο των ζωοτροφών⁽¹⁾, όπως τροποποιήθηκε τελευταία από την πράξη προσχώρησης της Αυστρίας, της Φινλανδίας και της Σουηδίας, και ιδίως το άρθρο 2,

Εκτιμώντας τα ακόλουθα:

- (1) Η οδηγία 1999/29/ΕΚ του Συμβουλίου, της 22ας Απριλίου 1999, σχετικά με τις ανεπιθύμητες ουσίες και προϊόντα στη διατροφή των ζώων⁽²⁾, όπως τροποποιήθηκε τελευταία από την οδηγία 2001/102/ΕΚ⁽³⁾ θεσπίζει τα ανώτατα όρια για τις διοξίνες και τα φουράνια σε ορισμένες πρώτες ύλες ζωοτροφών και ζωοτροφές.
- (2) Είναι αναγκαίο να καθοριστούν οι απαιτήσεις με τις οποίες πρέπει να συμμορφωθεί η μέθοδος ανάλυσης προκειμένου να διασφαλιστεί ότι τα εργαστήρια χρησιμοποιούν μεθόδους ανάλυσης με συγκρίσιμα επίπεδα απόδοσης.
- (3) Οι διατάξεις για τη δειγματοληψία και τις μεθόδους ανάλυσης έχουν συνταχθεί με βάση τις σημερινές γνώσεις και μπορούν να αναπροσαρμόζονται ώστε να λαμβάνουν υπόψη τις νεότερες επιστημονικές και τεχνολογικές γνώσεις.
- (4) Οι διατάξεις που καθορίζονται στην παρούσα οδηγία αφορούν μόνο την ανάλυση διοξινών και παρόμοιων με διοξίνες PCB για την εφαρμογή της οδηγίας 2001/102/ΕΚ για την τροποποίηση της οδηγίας 1999/29/ΕΚ σχετικά με τις ανεπιθύμητες ουσίες και προϊόντα στη διατροφή των ζώων.
- (5) Πρέπει να επιδιωχθεί μια ενεργός προσέγγιση για την απόκτηση ολοκληρωμένων αξιόπιστων στοιχείων σχετικά με την παρουσία παρόμοιων με τις διοξίνες PCB στις πρώτες ύλες των ζωοτροφών και στις ζωοτροφές. Πρέπει, συνεπώς, να καθοριστούν οι απαιτήσεις όσον αφορά τις μεθόδους ανάλυσης που θα χρησιμοποιηθούν για τον προσδιορισμό των παρόμοιων με τις διοξίνες PCB στις πρώτες ύλες των ζωοτροφών και στις ζωοτροφές.
- (6) Μια μέθοδος ανάλυσης μαζικής εξέτασης με αποδεδειγμένη, ευρέως αποδεκτή επικύρωση και υψηλή απόδοση μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την επιλογή των δειγμάτων με σημαντικά επίπεδα διοξινών. Τα επίπεδα διοξινών στα δείγματα αυτά

πρέπει να προσδιοριστούν στη συνέχεια με μια επιβεβαιωτική μέθοδο ανάλυσης. Συνεπώς, είναι σκόπιμο να θεσπιστούν απαιτήσεις για τις επιβεβαιωτικές μεθόδους ανάλυσης και για τη μέθοδο μαζικής εξέτασης.

- (7) Τα μέτρα που προβλέπονται στην παρούσα οδηγία είναι σύμφωνα με τη γνώμη της μόνιμης επιτροπής για την τροφική αλυσίδα και την υγεία των ζώων,

ΕΞΕΛΩΣΕ ΤΗΝ ΠΑΡΟΥΣΑ ΟΔΗΓΙΑ:

Άρθρο 1

Τα κράτη μέλη εξασφαλίζουν ότι η δειγματοληψία για τον επίσημο έλεγχο των επιπέδων των διοξινών και των φουρανίων και τον προσδιορισμό των επιπέδων των παρόμοιων με τις διοξίνες PCB στις ζωοτροφές πραγματοποιείται σύμφωνα με τις μεθόδους που περιγράφονται στο παράρτημα Ι.

Άρθρο 2

Τα κράτη μέλη εξασφαλίζουν ότι η προετοιμασία του δείγματος και οι μέθοδοι ανάλυσης που χρησιμοποιούνται για τον επίσημο έλεγχο των επιπέδων των διοξινών και των φουρανίων και τον προσδιορισμό των επιπέδων των παρόμοιων με τις διοξίνες PCB στις ζωοτροφές συμμορφώνονται με τα κριτήρια που περιγράφονται στο παράρτημα ΙΙ.

Άρθρο 3

Τα κράτη μέλη θέτουν σε ισχύ τις αναγκαίες νομοθετικές, κανονιστικές και διοικητικές διατάξεις για να συμμορφωθούν με την παρούσα οδηγία το αργότερο έως τις 28 Φεβρουαρίου 2003. Ενημερώνουν αμέσως την Επιτροπή σχετικά.

Όταν τα κράτη μέλη θεσπίζουν τις εν λόγω διατάξεις, οι τελευταίες αυτές περιέχουν παραπομπή στην παρούσα οδηγία ή συνοδεύονται από παρόμοια παραπομπή κατά την επίσημη δημοσίευσή τους. Ο τρόπος της παραπομπής καθορίζεται από τα κράτη μέλη.

Άρθρο 4

Η παρούσα οδηγία αρχίζει να ισχύει την εικοστή ημέρα από τη δημοσίευσή της στην Επίσημη Εφημερίδα των Ευρωπαϊκών Κοινοτήτων.

⁽¹⁾ ΕΕ L 170 της 3.8.1970, σ. 2.

⁽²⁾ ΕΕ L 115 της 4.5.1999, σ. 32.

⁽³⁾ ΕΕ L 6 της 10.1.2002, σ. 45.

Άρθρο 5

Η παρούσα οδηγία απευθύνεται στα κράτη μέλη.

Βρυξέλλες, 26 Ιουλίου 2002.

Για την Επιτροπή
David BYRNE
Μέλος της Επιτροπής

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι

ΜΕΘΟΔΟΙ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑΣ ΓΙΑ ΤΟΝ ΕΠΙΣΗΜΟ ΕΛΕΓΧΟ ΤΩΝ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΤΩΝ ΔΙΟΞΙΝΩΝ (PCDD/PCDF) ΚΑΙ ΤΩΝ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ ΤΩΝ ΠΑΡΟΜΟΙΩΝ ΜΕ ΤΙΣ ΔΙΟΞΙΝΕΣ PCB ΣΕ ΟΡΙΣΜΕΝΕΣ ΖΩΟΤΡΟΦΕΣ

1. Αντικείμενο και πεδίο εφαρμογής

Τα δείγματα που προορίζονται για τον επίσημο έλεγχο των επιπέδων περιεκτικότητας των ζωοτροφών σε διοξίνες (PCDD/PCDF), καθώς και για τον προσδιορισμό της περιεκτικότητας των ζωοτροφών σε παρόμοια με τις διοξίνες PCB ⁽¹⁾ λαμβάνονται σύμφωνα με τις διατάξεις της οδηγίας 76/371/ΕΟΚ της Επιτροπής, της 1ης Μαρτίου 1976, περί καθορισμού κοινοτικών τρόπων δειγματοληψίας για τον επίσημο έλεγχο των ζωοτροφών ⁽²⁾. Τα συνολικά δείγματα που αποκτήθηκαν με τον τρόπο αυτό θεωρούνται ως αντιπροσωπευτικά των παρτίδων ή επιμέρους παρτίδων από τις οποίες ελήφθησαν. Η συμμόρφωση με τα ανώτατα επίπεδα που καθορίζονται στην οδηγία 1999/29/ΕΚ καθορίζεται με βάση τα επίπεδα που προσδιορίζονται στα εργαστηριακά δείγματα.

2. Συμμόρφωση της παρτίδας ή της υποπαρτίδας με τις προδιαγραφές

Το εργαστήριο ελέγχου αναλύει το εργαστηριακό δείγμα που προορίζεται για την εφαρμογή μέτρων εκτέλεσης σε δύο αναλύσεις, στην περίπτωση που το λαμβανόμενο αποτέλεσμα της πρώτης ανάλυσης είναι λιγότερο από 20 % κάτω από το μέγιστο επίπεδο ή πάνω από το μέγιστο επίπεδο, και υπολογίζει τη μέση τιμή των αποτελεσμάτων. Η παρτίδα γίνεται δεκτή εάν το αποτέλεσμα της πρώτης ανάλυσης είναι περισσότερο από 20 % κάτω από το μέγιστο επίπεδο ή, όταν είναι αναγκαίες δύο αναλύσεις, αν η μέση τιμή συμφωνεί με το αντίστοιχο ανώτατο επίπεδο όπως ορίζεται στην οδηγία 1999/29/ΕΚ.

⁽¹⁾ Πίνακας TEF της ΠΟΥ για την αξιολόγηση του κινδύνου για τον άνθρωπο με βάση τα συμπεράσματα της συνεδρίασης της Παγκόσμιας Οργάνωσης Υγείας στη Στοκχόλμη της Σουηδίας, 15-18 Ιουνίου 1997 [(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].

Ουσία	Τιμή TEF	Ουσία	Τιμή TEF
Διβενζο-παρα-διοξίνες («PCDD»)		«Παρόμοια με τις διοξίνες» PCB Μη-ορθο PCB + Μονο-ορθο PCB	
2,3,7,8-TCDD	1	Μη-ορθο 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	Μονο-ορθο PCB	
Διβενζοφουράνια («PCDF»)		PCB 105	0,0001
2,3,7,8-TCDF	0,1	PCB 114	0,0005
1,2,3,7,8-PeCDF	0,05	PCB 118	0,0001
2,3,4,7,8-PeCDF	0,5	PCB 123	0,0001
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0,1	PCB 156	0,0005
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0,1	PCB 157	0,0005
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0,1	PCB 167	0,00001
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0,1	PCB 189	0,0001
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0,01		
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0,01		
OCDF	0,0001		

Συντομογραφίες που χρησιμοποιήθηκαν: T = τετρα· Pe = πεντα· Hx = εξα· Hp = επτα· O = οκτα· CDD = χλωροδιβενζο-διοξίνη· CDF = χλωροδιβενζοφουράνιο· CB = χλωρο-διφαινύλιο.

⁽²⁾ ΕΕ L 102 της 15.4.1976, σ. 1.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ II

ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΤΟΥ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ ΚΑΙ ΑΠΑΙΤΗΣΕΙΣ ΓΙΑ ΤΙΣ ΜΕΘΟΔΟΥΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΠΟΥ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΟΥΝΤΑΙ ΚΑΤΑ ΤΟΝ ΕΠΙΣΗΜΟ ΕΛΕΓΧΟ ΤΩΝ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΤΩΝ ΔΙΟΞΙΝΩΝ (PCDD/PCDF) ΚΑΙ ΤΩΝ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ ΤΩΝ ΠΑΡΟΜΟΙΩΝ ΜΕ ΤΙΣ ΔΙΟΞΙΝΕΣ PCB ΣΕ ΟΡΙΣΜΕΝΕΣ ΖΩΟΤΡΟΦΕΣ**1. Στόχος και πεδίο εφαρμογής**

Οι απαιτήσεις αυτές πρέπει να εφαρμόζονται όταν αναλύονται πρώτες ύλες και ζωοτροφές για τον προσδιορισμό διοξινών [πολυχλωριωμένες διβενζο-παρα-διοξίνες (PCDD) και πολυχλωριωμένα διβενζοφουράνια (PCDF)] και παρόμοιων με τις διοξίνες πολυχλωριωμένων διφαινυλίων (PCB).

Ο έλεγχος για την παρουσία διοξινών στις ζωοτροφές μπορεί να διεξαχθεί με μια στρατηγική που θα περιλαμβάνει μια μέθοδο μαζικής εξέτασης προκειμένου να επιλεγούν εκείνα τα δείγματα με επίπεδα διοξινών και παρόμοιων με τις διοξίνες PCB που είναι λιγότερο από 30 έως 40 % κάτω από το επίπεδο που ενδιαφέρει ή υπερβαίνει το επίπεδο που ενδιαφέρει. Η συγκεντρώνση διοξινών στα δείγματα εκείνα με σημαντικά επίπεδα πρέπει να προσδιοριστεί/επιβεβαιωθεί με μια μέθοδο επιβεβαίωσης.

Οι μέθοδοι μαζικής εξέτασης είναι μέθοδοι που χρησιμοποιούνται για την ανίχνευση της παρουσίας διοξινών και παρόμοιων με διοξίνες PCB στο επίπεδο που ενδιαφέρει. Οι μέθοδοι αυτές έχουν την ικανότητα επεξεργασίας μεγάλων ποσοτήτων δειγμάτων και χρησιμοποιούνται για τη διύλιση μεγάλου αριθμού δειγμάτων για πιθανά θετικά. Έχουν σχεδιαστεί ειδικά για την αποφυγή ψευδώς αρνητικών.

Οι μέθοδοι επιβεβαίωσης είναι μέθοδοι που παρέχουν πλήρεις ή συμπληρωματικές πληροφορίες που δίνουν τη δυνατότητα οι διοξίνες και τα παρόμοια με διοξίνες PCB να προσδιοριστούν και να ποσοτικοποιηθούν σαφώς στο επίπεδο που ενδιαφέρει.

2. Ιστορικό

Επειδή τα περιβαλλοντικά και βιολογικά δείγματα (συμπεριλαμβανομένων των δειγμάτων πρώτων υλών/ζωοτροφών) γενικά περιέχουν σύνθετα μείγματα διαφόρων ομοειδών ουσιών της ομάδας των διοξινών, αναπτύχθηκε η έννοια των συντελεστών τοξικής ισοδυναμίας (TEF) ώστε να διευκολυνθεί η αξιολόγηση του κινδύνου. Αυτοί οι TEF δημιουργήθηκαν για να εκφράσουν τις συγκεντρώσεις των μειγμάτων των 2,3,7,8-υποκατεστημένων PCDD και PCDF και, πρόσφατα, ορισμένων μη-ορθο και μονο-ορθο υποκατεστημένων από χλώριο PCB (non-ortho and mono-ortho chlorine substituted PCBs) με δραστηριότητα παρόμοια με αυτή των διοξινών σε τοξικά ισοδύναμα (TEQ) 2,3,7,8-TCDD (βλέπε υποσημείωση 1 του παραρτήματος I).

Οι συγκεντρώσεις των μεμονωμένων ουσιών σε κάποιο δεδομένο δείγμα πολλαπλασιάζονται με τον αντίστοιχο TEF τους και στη συνέχεια αθροίζονται για να εξαχθεί η συνολική συγκέντρωση των παρόμοιων με τις διοξίνες ενώσεων εκφρασμένη σε TEQ.

Η έννοια του «ανώτατου ορίου συγκέντρωσης» απαιτεί τη χρησιμοποίηση του ορίου του ποσοτικού προσδιορισμού για τη συμβολή κάθε μη ποσοτικά προσδιορισμένης ομοειδούς ουσίας στο TEQ.

Η έννοια του «κατώτατου ορίου συγκέντρωσης» απαιτεί τη χρησιμοποίηση του μηδέν για τη συμβολή κάθε μη ποσοτικά προσδιορισμένης ομοειδούς ουσίας στο TEQ.

Η έννοια του «μέσου ορίου συγκέντρωσης» απαιτεί τη χρησιμοποίηση του μισού του ορίου του ποσοτικού προσδιορισμού για τον υπολογισμό της συμβολής κάθε μη ποσοτικά προσδιορισμένης ομοειδούς ουσίας στο TEQ.

3. Οι απαιτήσεις διασφάλισης ποιότητας που πρέπει να τηρούνται για την προετοιμασία του δείγματος

Οι γενικές διατάξεις σχετικά με την προετοιμασία των δειγμάτων για ανάλυση όπως καθορίζονται στο παράρτημα της οδηγίας 81/680/ΕΟΚ της Επιτροπής, της 30ής Ιουλίου 1981, περί τροποποίησης των οδηγιών 71/250/ΕΟΚ, 71/393/ΕΟΚ, 72/199/ΕΟΚ, 73/46/ΕΟΚ, 74/203/ΕΟΚ, 75/84/ΕΟΚ, 76/372/ΕΟΚ και 78/633/ΕΟΚ περί καθορισμού κοινοτικών μεθόδων ανάλυσης για τον επίσημο έλεγχο των ζωοτροφών⁽¹⁾ είναι εφαρμοστέες.

Επιπλέον, πρέπει να τηρούνται οι ακόλουθες απαιτήσεις:

- τα δείγματα πρέπει να αποθηκεύονται και να μεταφέρονται σε δοχεία από γυαλί, αλουμίνιο, πολυπροπυλένιο ή πολυαιθυλένιο. Πρέπει να αφαιρούνται τα ίχνη σκόνης χαρτιού από τον περιέκτη του δείγματος. Τα γυάλινα σκεύη πρέπει να ξεπλένονται με διαλύτες που έχουν προηγουμένως ελεγχθεί για την παρουσία διοξινών,
- εκτέλεση ανάλυσης τυφλού με την πραγματοποίηση του συνόλου της αναλυτικής διαδικασίας παραλείποντας μόνο το δείγμα,
- το βάρος του δείγματος που χρησιμοποιείται για την εκχύλιση πρέπει να είναι αρκετό για να πληροί τις απαιτήσεις όσον αφορά την ευαισθησία.

4. Απαιτήσεις για τα εργαστήρια

- Τα εργαστήρια αποδεικνύουν την απόδοση μιας μεθόδου στο εύρος της ανοχής, π.χ. 0,5 φορές, 1 και 2 φορές το επίπεδο που ενδιαφέρει με έναν αποδεκτό συντελεστή μεταβλητότητας για επαναλαμβανόμενες αναλύσεις. Για τα λεπτομερή στοιχεία των κριτηρίων αποδοχής βλέπε σημείο 5.
- Το όριο του ποσοτικού προσδιορισμού για μια μέθοδο επιβεβαίωσης πρέπει να είναι στο εύρος του ενός πέμπτου περίπου του επιπέδου που ενδιαφέρει, ώστε να διασφαλίζεται ότι οι αποδεκτοί συντελεστές μεταβλητότητας πληρούνται στο εύρος του επιπέδου που ενδιαφέρει.

⁽¹⁾ ΕΕ L 246 της 29.8.1981, σ. 32.

- Οι τακτικές τυφλές δοκιμές και πειράματα εμπλουτισμού των δειγμάτων ή η ανάλυση των δειγμάτων ελέγχου (κατά προτίμηση, εφόσον είναι διαθέσιμο, πιστοποιημένου υλικού αναφοράς) πρέπει να εκτελούνται ως μέτρα εσωτερικής διασφάλισης της ποιότητας.
- Η επιτυχής συμμετοχή σε διεργαστηριακές μελέτες που αξιολογούν την επάρκεια των εργαστηρίων είναι ο καλύτερος τρόπος απόδειξης της αρμοδιότητας για ειδικές αναλύσεις. Ωστόσο, η επιτυχής συμμετοχή σε διεργαστηριακές μελέτες όσον αφορά π.χ. δείγματα εδάφους ή αποχετεύσεων δεν αποδεικνύει κατ' ανάγκη την αρμοδιότητα και στον τομέα των δειγμάτων των τροφίμων ή των ζωοτροφών που παρουσιάζουν χαμηλότερα επίπεδα μόλυνσης. Συνεπώς, η συνεχής συμμετοχή σε διεργαστηριακές μελέτες για τον προσδιορισμό των διοξινών και των παρόμοιων με τις διοξίνες PCB στις αντίστοιχες μήτρες ζωοτροφών/τροφίμων είναι υποχρεωτική.
- Τη διαπίστευση στα εργαστήρια πρέπει να χορηγήσει κάποιος αναγνωρισμένος οργανισμός που λειτουργεί σύμφωνα με τον οδηγό ISO 58, ώστε να εξασφαλίζεται ότι τα εργαστήρια εφαρμόζουν μεθόδους εξασφάλισης της ποιότητας. Η διαπίστευση των εργαστηρίων πρέπει να πραγματοποιηθεί σύμφωνα με το πρότυπο ISO/IEC/17025:1999.

5. Απαιτήσεις για τις αναλυτικές διαδικασίες για τις διοξίνες και τα παρόμοια με διοξίνες PCB

Βασικές απαιτήσεις για την αποδοχή των διαδικασιών ανάλυσης

- Υψηλή ευαισθησία και χαμηλά όρια ανίχνευσης. όσον αφορά τα PCDD και τα PCDF, οι ανιχνεύσιμες ποσότητες πρέπει να είναι της τάξης των πικογραμμάρων TEQ (10^{-12} g) εξαιτίας της εξαιρετικής τοξικότητας ορισμένων από τις ενώσεις αυτές. Γνωρίζουμε ότι τα PCB εμφανίζονται σε υψηλότερα επίπεδα από ό,τι τα PCDD και τα PCDF. Για τα περισσότερα ομοειδή PCB, η ευαισθησία στο φάσμα των ναογραμμάρων (10^{-9} g) είναι ήδη επαρκής. Ωστόσο, για τη μέτρηση των πιο τοξικών παρόμοιων με διοξίνες ομοειδών PCB (ιδίως των μη-ορθο υποκατεστημένων ομοειδών) (non-ortho substituted congeners) πρέπει να επιτυγχάνεται η ίδια ευαισθησία όπως και για τα PCDD και τα PCDF.
- Υψηλή εκλεκτικότητα (ειδικότητα). τα PCDD, τα PCDF και τα παρόμοια με τις διοξίνες PCB πρέπει να διακρίνονται από τις άλλες ενώσεις, που εξαγονται επίσης και πιθανώς παρεμποδίζουν τις ενώσεις που είναι παρούσες σε συγκεντρώσεις έως και ορισμένες τάξεις μεγέθους υψηλότερες από εκείνες των αναλυτών ουσιών που ενδιαφέρουν. Για τις μεθόδους αέριας χρωματογραφίας/φασματομετρίας μάζας (GC/MS) είναι αναγκαία μια διαφοροποίηση μεταξύ των διαφόρων ομοειδών, όπως μεταξύ των τοξικών (π.χ. των δεκαεπτά 2,3,7,8-υποκατεστημένων PCDD και PCDF και των παρόμοιων με τις διοξίνες PCB) και των άλλων ομοειδών. Οι βιολογικές δοκιμασίες πρέπει να είναι σε θέση να προσδιορίζουν τις τιμές TEQ επιλεκτικά ως το άθροισμα των PCDD, των PCDF και των παρόμοιων με τις διοξίνες PCB.
- Υψηλή ορθότητα (αληθότητα και ακρίβεια). ο προσδιορισμός πρέπει να παρέχει μια έγκυρη και αξιοπιστή εκτίμηση της αληθούς συγκέντρωσης σε ένα δείγμα. Η υψηλή ορθότητα (ορθότητα της μέτρησης: η εγγύτητα της συμφωνίας μεταξύ του αποτελέσματος της μέτρησης με την αληθή ή αποδοθείσα τιμή του μετρητέου) είναι αναγκαία για να αποφευχθεί η απόρριψη του αποτελέσματος της ανάλυσης του δείγματος με βάση την κακή αξιοπιστία της εκτίμησης του TEQ. Η ορθότητα εκφράζεται ως αληθότητα (διαφορά μεταξύ της μέσης τιμής που μετρήθηκε για μια αναλυτική ουσία σε ένα πιστοποιημένο υλικό και της πιστοποιημένης τιμής της, εκφρασμένη ως ποσοστό της τιμής αυτής) και ακρίβεια (η ακρίβεια συνήθως υπολογίζεται ως τυπική απόκλιση, συμπεριλαμβανομένων της επαναληψιμότητας και αναπαραγωγιμότητας, και προσδιορίζει την εγγύτητα της συμφωνίας μεταξύ των αποτελεσμάτων που ελήφθησαν με την εφαρμογή της πειραματικής διαδικασίας ορισμένες φορές υπό προκαθορισμένες συνθήκες).

Οι μέθοδοι μαζικής εξέτασης μπορούν να περιλαμβάνουν βιολογικές δοκιμασίες και μεθόδους GC/MS· οι μέθοδοι επιβεβαίωσης είναι μέθοδοι υψηλής ανάλυσης αέριας χρωματογραφίας/φασματομετρίας μάζας υψηλής ανάλυσης (HRGC/HRMS). Τα ακόλουθα κριτήρια πρέπει να τηρούνται στη συνολική τιμή TEQ:

	Μέθοδοι μαζικής εξέτασης	Μέθοδοι επιβεβαίωσης
Ποσοστό ψευδώς αρνητικών	< 1 %	
Αληθότητα		- 20 έως + 20 %
CV (συντελεστής διακύμανσης)	< 30 %	< 15 %

6. Ειδικές απαιτήσεις για μεθόδους GC/MS που πρέπει να τηρούνται για τη μαζική εξέταση ή για λόγους επιβεβαίωσης

- Η προσθήκη εσωτερικών προτύπων PCDD/F υποκατάστασης με χλώριο στις θέσεις 2,3,7,8 με ισοτοπική επισήμανση ^{13}C (^{13}C -labelled 2,3,7,8-chlorine substituted internal PCDD/F standards) (και των εσωτερικών προτύπων των παρόμοιων με τις διοξίνες PCB με ισοτοπική επισήμανση ^{13}C - ^{13}C -labelled internal dioxin-like PCB standard-, αν πρόκειται να προσδιοριστούν παρόμοια με τις διοξίνες PCB) πρέπει να πραγματοποιηθεί πολύ νωρίς στην αρχή ή κατά την έναρξη της μεθόδου ανάλυσης, δηλαδή πριν από την εκχύλιση, προκειμένου να επικυρωθεί η διαδικασία ανάλυσης. Τουλάχιστον μια ομοειδής ουσία για καθεμία από τις ομόλογες ομάδες PCDD/F των τετρα- έως οκτα-χλωριωμένων (tetra octa-chlorinated homologous groups for PCDD/F-) (και τουλάχιστον μια ομοειδής ουσία και για καθεμία από την ομόλογη ομάδα των παρόμοιων με τις διοξίνες PCB, αν πρόκειται να προσδιοριστούν παρόμοια με διοξίνες PCB) πρέπει να προστεθεί [εναλλακτικά, τουλάχιστον μια ομοειδής ουσία για κάθε φασματομετρικά επιλεγμένη συνάρτηση καταγραφής ιόντων (mass spectrometric selected ion recording function) που χρησιμοποιείται για την παρακολούθηση των PCDD/F και των παρόμοιων με διοξίνες PCB]. Υπάρχει σαφής προτίμηση, ασφαλώς στην περίπτωση των μεθόδων επιβεβαίωσης, στη χρησιμοποίηση και των δεκαεπτά εσωτερικών προτύπων PCDD/F υποκατάστασης με χλώριο στις θέσεις 2,3,7,8 με ισοτοπική επισήμανση ^{13}C (^{13}C -labelled 2,3,7,8-substituted internal PCDD/F standards) και των δώδεκα εσωτερικών προτύπων των παρόμοιων με τις διοξίνες PCB με ισοτοπική επισήμανση ^{13}C (^{13}C -labelled internal dioxin-like PCB standard) (αν πρόκειται να προσδιοριστούν παρόμοια με διοξίνες PCB).

Πρέπει επίσης να προσδιοριστούν οι σχετικοί συντελεστές απόκρισης για εκείνες τις ομοειδείς ουσίες για τις οποίες δεν προστίθεται κανένα ανάλογο με ισοτοπική επισήμανση ^{13}C (^{13}C -labelled analogue) με τη χρησιμοποίηση των κατάλληλων λύσεων βαθμονόμησης.

- Για τις ζωοτροφές φυτικής προέλευσης και τις ζωοτροφές ζωικής προέλευσης που περιέχουν λιγότερο από 10 % λίπος, η προσθήκη των εσωτερικών προτύπων είναι υποχρεωτική πριν από την εκχύλιση. Για τις ζωοτροφές ζωικής προέλευσης που περιέχουν περισσότερο από 10 % λίπος, τα εσωτερικά πρότυπα μπορούν να προστεθούν είτε πριν από την εκχύλιση είτε μετά την εκχύλιση λίπους. Πρέπει να πραγματοποιηθεί κατάλληλη επικύρωση της απόδοσης της εκχύλισης, ανάλογα με το στάδιο στο οποίο εισάγονται εσωτερικά πρότυπα και ανάλογα με το αν τα αποτελέσματα αναφέρονται με βάση ένα προϊόν ή λίπος.
- Πριν από την ανάλυση GC/MS, πρέπει να προστεθούν ένα ή δύο πρότυπο(-α) ανάκτησης (υποκατάσταστο).
- Ο έλεγχος ανάκτησης είναι αναγκαίος. Για τις μεθόδους επιβεβαίωσης, οι ανακτήσεις των μεμονωμένων εσωτερικών προτύπων πρέπει να κυμαίνονται στο εύρος του 60 έως 120 %. Χαμηλότερες ή υψηλότερες ανακτήσεις για μεμονωμένες ομοειδείς ουσίες, ιδίως ορισμένων επτα- και οκτα-χλωριωμένων διβενζοδιοξινών και διβενζοφουρανίων (hepta- and octa-chlorinated dibenzodioxins and dibenzofurans), είναι αποδεκτές υπό τον όρο ότι η συμβολή τους στην τιμή TEQ δεν υπερβαίνει το 10 % της συνολικής τιμής TEQ (με βάση μόνο PCDD/F). Για τις μεθόδους μαζικής εξέτασης, οι ανακτήσεις πρέπει να κυμαίνονται στο εύρος του 30 έως 140 %.
- Πρέπει να πραγματοποιείται διαχωρισμός των διοξινών από τις παρεμβαλλόμενες χλωριωμένες ενώσεις, όπως τα PCB και οι χλωριωμένοι διφαινυλικοί αιθέρες με τις κατάλληλες χρωματογραφικές τεχνικές (κατά προτίμηση με στήλη florisil, αλουμίνιας ή/και άνθρακα).
- Ο διαχωρισμός των ισομερών με αέρια χρωματογραφία πρέπει να είναι επαρκής (< 25 % κορυφή με κορυφή μεταξύ 1,2,3,4,7,8-HxCDF και 1,2,3,6,7,8-HxCDF).
- Ο προσδιορισμός πρέπει να πραγματοποιηθεί σύμφωνα με τη μέθοδο της EPA 1613 αναθεώρηση B: «Tetra- through octa-chlorinated dioxins and furans by isotope dilution HRGC/HRMS» ή κάποια άλλη με ισοδύναμα κριτήρια απόδοσης.
- Η διαφορά μεταξύ του ανώτατου επιπέδου και του κατώτατου επιπέδου συγκέντρωσης δεν πρέπει να υπερβαίνει το 20 % για τις ζωοτροφές με μόλυνση διοξίνης στο εύρος του μέγιστου επιπέδου ή πάνω από αυτό. Για τις ζωοτροφές με επίπεδα μόλυνσης πολύ κάτω από το μέγιστο επίπεδο, η διαφορά μπορεί να ανέρχεται στο εύρος του 25 έως 40 %.

7. Ειδικές μέθοδοι ανάλυσης

7.1. Εισαγωγή

Μπορούν να διεξαχθούν διάφορες αναλυτικές προσεγγίσεις με τη χρησιμοποίηση μιας μεθόδου μαζικής εξέτασης: μια καθαρή προσέγγιση μαζικής εξέτασης και μια ποσοτική προσέγγιση.

Προσέγγιση μαζικής εξέτασης

Η απόκριση των δειγμάτων συγκρίνεται με αυτή ενός δείγματος αναφοράς στο επίπεδο που ενδιαφέρει. Τα δείγματα με απόκριση μικρότερη από την αναφορά θεωρούνται αρνητικά, ενώ εκείνα με υψηλότερη απόκριση ύποπτα για θετικά. Οι απαιτήσεις:

- Σε κάθε σειρά δοκιμών πρέπει να συμπεριληφθεί ένα τυφλό δείγμα και ένα δείγμα αναφοράς, που εκχυλίζονται και δοκιμάζονται ταυτόχρονα υπό τις ίδιες συνθήκες. Το δείγμα αναφοράς πρέπει να παρουσιάζει μια σαφώς υψηλότερη απόκριση σε σύγκριση με το τυφλό.
- Πρόσθετα δείγματα αναφοράς 0,5 φορές και 2 φορές το επίπεδο που ενδιαφέρει πρέπει να συμπεριληφθούν ώστε να καταδειχτεί η ορθή απόδοση της δοκιμασίας στο φάσμα που ενδιαφέρει για τον έλεγχο του επιπέδου που ενδιαφέρει.
- Κατά τη δοκιμή άλλων υποστρωμάτων, πρέπει να καταδειχτεί η καταλληλότητα του δείγματος/των δειγμάτων αναφοράς, κατά προτίμηση με τη συμπερίληψη δειγμάτων που φαίνεται από τις μεθόδους HRGC/HRMS να περιέχουν ένα επίπεδο TEQ παρόμοιο με αυτό του δείγματος αναφοράς ή αλλιώς ενός τυφλού εμπλουτισμένου στο επίπεδο αυτό.
- Καθώς δεν μπορούν να χρησιμοποιηθούν εσωτερικά πρότυπα σε βιολογικές δοκιμασίες, οι δοκιμές επαναληψιμότητας είναι πολύ σημαντικές προκειμένου να αποκτηθούν πληροφορίες σχετικά με την τυπική απόκλιση στα πλαίσια μια σειράς δοκιμών. Ο συντελεστής μεταβλητότητας πρέπει να είναι κάτω από 30 %.
- Για τις βιολογικές δοκιμασίες πρέπει να οριστούν οι ενώσεις-στόχοι, οι πιθανές παρεμποδίσεις και τα μέγιστα ανεκτά επίπεδα τυφλού.

Ποσοτική προσέγγιση

Η ποσοτική προσέγγιση απαιτεί πρότυπη σειρά διάλυσης, διπλό ή τριπλό καθάρισμα και μέτρηση, καθώς και ελέγχους τυφλού και ανάκτησης. Το αποτέλεσμα μπορεί να εκφράζεται σε TEQ, υποθέτοντας ότι οι ενώσεις που είναι υπεύθυνες για το σήμα αντιστοιχούν στην αρχή των TEQ. Αυτό μπορεί να πραγματοποιηθεί με τη χρησιμοποίηση TCDD (ή ένα τυποποιημένο μείγμα διοξίνης/φουρανίου) για τη δημιουργία μιας καμπύλης βαθμονόμησης για τον υπολογισμό του επιπέδου TEQ στο εκχύλισμα και συνεπώς στο δείγμα. Αυτό στη συνέχεια διορθώνεται για το επίπεδο TEQ που υπολογίζεται για ένα τυφλό δείγμα (ώστε να λαμβάνει υπόψη ακαθαρσίες από διαλύτες και χημικά που χρησιμοποιήθηκαν), και για την ανάκτηση (που υπολογίζεται από το επίπεδο TEQ σε δείγμα ελέγχου ποιότητας γύρω από το επίπεδο που ενδιαφέρει). Είναι αναγκαίο να σημειωθεί ότι τμήμα της εμφανούς απώλειας ανάκτησης μπορεί να οφείλεται σε επιδράσεις υποστρώματος ή/και σε διαφορές μεταξύ των τιμών TEF στις βιολογικές δοκιμασίες και των επίσημων τιμών TEF που όρισε η ΠΟΥ.

7.2. Απαιτήσεις για τις μεθόδους ανάλυσης που χρησιμοποιούνται για μαζική εξέταση

- Οι μέθοδοι ανάλυσης GC/MS και οι βιολογικές δοκιμασίες μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη μαζική εξέταση. Για τις μεθόδους GC/MS πρέπει να χρησιμοποιηθούν οι απαιτήσεις όπως ορίζονται στο σημείο 6. Για τις βιολογικές δοκιμασίες με βάση κύτταρα (cell based bioassays) ορίζονται ειδικές απαιτήσεις στο σημείο 7.3 και για τις βιολογικές δοκιμασίες με βάση συσκευασίες (kit-based bioassays) στο σημείο 7.4.

- Στοιχεία για τον αριθμό των ψευδώς θετικών και ψευδώς αρνητικών αποτελεσμάτων ενός μεγάλου συνόλου δειγμάτων κάτω και πάνω από το μέγιστο επίπεδο ή το επίπεδο δράσης είναι αναγκαία, σε σύγκριση με την περιεκτικότητα σε TEQ όπως προσδιορίζεται με μια επιβεβαιωτική μέθοδο ανάλυσης. Τα πραγματικά ψευδώς αρνητικά ποσοστά πρέπει να είναι κάτω από 1 %. Το ποσοστό των ψευδώς θετικών δειγμάτων πρέπει να είναι αρκετά χαμηλό ώστε η χρήση του μέσου μαζικής εξέτασης να καταστεί χρήσιμη.
- Τα θετικά αποτελέσματα πρέπει πάντα να επιβεβαιώνονται με επιβεβαιωτική μέθοδο ανάλυσης (HRGC/HRMS). Επιπλέον, τα δείγματα από ένα ευρύ φάσμα TEQ πρέπει να επιβεβαιώνονται με μεθόδους HRGC/HRMS (περίπου 2 έως 10 % των αρνητικών δειγμάτων). Οι πληροφορίες σχετικά με την ανταπόκριση μεταξύ βιολογικής δοκιμασίας και αποτελεσμάτων HRGC/HRMS πρέπει να καθίστανται διαθέσιμες.

7.3. Ειδικές απαιτήσεις για βιολογικές δοκιμασίες με βάση κύτταρα

- Κατά την εκτέλεση μιας βιολογικής δοκιμασίας, κάθε δοκιμασία απαιτεί μια σειρά συγκέντρωσης αναφοράς του TCDD ή του μείγματος διοξίνης/φουρανίου (καμπύλη απόκρισης πλήρους δόσης με $R^2 > 0,95$). Ωστόσο, για την ανίχνευση μπορεί να χρησιμοποιηθεί μια εκτεταμένη καμπύλη χαμηλού επιπέδου για την ανάλυση δειγμάτων χαμηλού επιπέδου.
- Μια συγκέντρωση αναφοράς TCDD (περίπου 3 φορές το όριο ποσοτικού προσδιορισμού) σε ένα δελτίο ποιοτικού ελέγχου πρέπει να χρησιμοποιηθεί για το αποτέλεσμα της βιολογικής δοκιμασίας για μια σταθερή περίοδο. Μια εναλλακτική λύση θα ήταν η σχετική απόκριση ενός δείγματος αναφοράς σε σύγκριση με τη γραμμή βαθμονόμησης TCDD, καθώς η απόκριση των κυττάρων μπορεί να εξαρτάται από πολλούς παράγοντες.
- Πρέπει να καταγράφονται και να ελέγχονται διαγράμματα ποιοτικού ελέγχου (ΠΕ) για κάθε είδος υλικού αναφοράς ώστε να διασφαλίζεται ότι το αποτέλεσμα είναι σύμφωνο με τις δηλωμένες κατευθυντήριες γραμμές.
- Ιδιαίτερα για τους ποσοτικούς υπολογισμούς, η επαγωγή της αραίωσης δείγματος που χρησιμοποιήθηκε πρέπει να είναι εντός του γραμμικού τμήματος της καμπύλης απόκρισης. Δείγματα πάνω από αυτό το γραμμικό τμήμα της καμπύλης απόκρισης πρέπει να αραιώνονται και να δοκιμάζονται εκ νέου. Συνεπώς, συνιστάται να δοκιμάζονται τουλάχιστον τρεις ή περισσότερες αραιώσεις ταυτόχρονα.
- Η ποσοστιαία τυπική απόκλιση δεν πρέπει να είναι άνω του 15 % σε ένα τριπλό προσδιορισμό για κάθε αραίωση δειγμάτων και όχι πάνω από 30 % μεταξύ τριών ανεξάρτητων πειραμάτων.
- Το όριο της ανίχνευσης μπορεί να καθοριστεί έως 3 φορές την τυπική απόκλιση του τυφλού του διαλύτη ή την απόκριση υποβάθρου σήματος. Μια άλλη προσέγγιση είναι η εφαρμογή μιας απόκρισης που είναι άνω του υποβάθρου (συντελεστής επαγωγής 5 φορές το τυφλό του διαλύτη) που υπολογίζεται από την καμπύλη βαθμονόμησης της ημέρας. Το όριο του ποσοτικού προσδιορισμού μπορεί να καθοριστεί ως 5 έως 6 φορές την τυπική απόκλιση του τυφλού του διαλύτη ή την απόκριση υποβάθρου ή η εφαρμογή μιας απόκρισης που να είναι σαφώς πάνω από το υπόβαθρο (συντελεστής επαγωγής 10 φορές το τυφλό του διαλύτη) που υπολογίζεται από την καμπύλη βαθμονόμησης της ημέρας.

7.4. Ειδικές απαιτήσεις για βιολογικές δοκιμασίες με βάση συσκευασίες⁽¹⁾

- Πρέπει να τηρούνται οι οδηγίες του κατασκευαστή για την παρασκευή δείγματος και τις αναλύσεις.
- Οι συσκευασίες δοκιμών (test kits) δεν πρέπει να χρησιμοποιούνται μετά την ημερομηνία λήξης τους.
- Δεν πρέπει να χρησιμοποιούνται υλικά ή συστατικά που προβλέπονται για τη χρησιμοποίηση με άλλες συσκευασίες.
- Οι συσκευασίες δοκιμών πρέπει να διατηρούνται στα πλαίσια του καθορισμένου φάσματος της θερμοκρασίας αποθήκευσης και να χρησιμοποιούνται στην καθορισμένη θερμοκρασία λειτουργίας.
- Το όριο ανίχνευσης για τις ανοσολογικές δοκιμασίες προκύπτει από την άθροιση της μέσης τιμής και μιας τιμής ίσης κατά 3 φορές την τυπική απόκλιση, με βάση δέκα επαναληπτικές αναλύσεις του τυφλού, διαιρούμενης με την τιμή της κλίσης της γραμμικής εξίσωσης παλινδρόμησης.
- Για τις δοκιμές στο εργαστήριο πρέπει να χρησιμοποιούνται πρότυπα αναφοράς ώστε να εξασφαλιστεί ότι η απόκριση στο πρότυπο κυμαίνεται εντός ενός αποδεκτού εύρους.

8. Αναφορά των αποτελεσμάτων

Εφόσον η χρησιμοποιούμενη διαδικασία ανάλυσης το καθιστά δυνατό, τα αποτελέσματα της ανάλυσης πρέπει να περιέχουν τα επίπεδα των επιμέρους PCDD/F και ομοειδών PCB και να υποβάλλονται ως κατώτατο όριο συγκέντρωσης, ανώτατο όριο συγκέντρωσης και μέσο όριο συγκέντρωσης προκειμένου να περιλαμβάνουν ένα μέγιστο σύνολο πληροφοριών κατά την υποβολή της έκθεσης των αποτελεσμάτων και να διευκολύνουν έτσι την ερμηνεία των αποτελεσμάτων σύμφωνα με τις ειδικές απαιτήσεις.

Η έκθεση πρέπει επίσης να περιλαμβάνει την περιεκτικότητα λιπιδίων του δείγματος καθώς και τη μέθοδο που χρησιμοποιήθηκε για την εκχύλιση λιπιδίων.

Οι ανακτήσεις των μεμονωμένων εσωτερικών προτύπων πρέπει να καθίστανται διαθέσιμες στην περίπτωση που οι ανακτήσεις είναι εκτός του εύρους που αναφέρεται στο σημείο 6, στην περίπτωση που υπερβαίνεται το μέγιστο επίπεδο και στις άλλες περιπτώσεις κατόπιν σχετικής αίτησης.

⁽¹⁾ Δεν έχουν υποβληθεί ακόμα στοιχεία εμπορικά διαθέσιμων βιολογικών δοκιμασιών με βάση συσκευασίες που να διαθέτουν επαρκή ευαισθησία και αξιοπιστία ώστε να χρησιμοποιηθούν για μαζικό έλεγχο για την ύπαρξη διοξινών στα απαιτούμενα επίπεδα σε δείγματα τροφίμων ή ζωοτροφών.