



5329

ΕΦΗΜΕΡΙΣ ΤΗΣ ΚΥΒΕΡΝΗΣΕΩΣ

ΤΗΣ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑΣ

ΤΕΥΧΟΣ ΔΕΥΤΕΡΟ

Αρ. Φύλλου **378**

31 Μαρτίου 2003

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΑΠΟΦΑΣΕΙΣ

Εναρμόνιση της Εθνικής Νομοθεσίας προς την Οδηγία 2002/69/Ε.Κ. της Επιτροπής των Ευρωπαϊκών Κοινοτήτων (ΕΕ L 209/6.8.2002) «για καθορισμό των μεθόδων δειγματοληψίας και των μεθόδων ανάλυσης για τον επίσημο έλεγχο των διοξινών και τον προσδιορισμό των παρόμοιων με τις διοξίνες PCBs στα τρόφιμα»..... 2

Αριθ. 518/2002

(2)

Εναρμόνιση της Εθνικής Νομοθεσίας προς την Οδηγία 2002/69/Ε.Κ. της Επιτροπής των Ευρωπαϊκών Κοινοτήτων (ΕΕ L 209/6.8.2002) «για καθορισμό των μεθόδων δειγματοληψίας και των μεθόδων ανάλυσης για τον επίσημο έλεγχο των διοξινών και τον προσδιορισμό των παρόμοιων με τις διοξίνες PCBs στα τρόφιμα».

**Ο ΥΠΟΥΡΓΟΣ
ΟΙΚΟΝΟΜΙΑΣ ΚΑΙ ΟΙΚΟΝΟΜΙΚΩΝ**

Έχοντας υπόψη:

1. Το έγγραφο της Διεύθυνσης Περιβάλλοντος του Γενικού Χημείου του Κράτους αριθ. 5304/18.12.2002.
2. Τις διατάξεις του άρθρου 1 (παρ. 1, 2 και 3) του Ν. 1338/1983 «Εφαρμογή του Κοινοτικού Δικαίου» (Φ.Ε.Κ. 34/Α/1983) όπως τροποποιήθηκε από το άρθρο 6 του Ν. 1440/1984 «Συμμετοχή της Ελλάδος στο Κεφάλαιο, στα αποθεματικά και στις προβλέψεις της Ευρωπαϊκής Τράπεζας Επενδύσεων, στο Κεφάλαιο της Ευρωπαϊκής Κοινότητας Ανθρακος και Χάλυβος και του Οργανισμού Εφοδιασμού ΕΥΡΑΤΟΜ» (Φ.Ε.Κ. 70/Α/1984) καθώς και το άρθρο 65 του Ν. 1892/1990 (Φ.Ε.Κ. 101/Α/1990).

3. Το εδάφιο δ της παρ. 8 του άρθρου 6 του Νόμου 4328/1929 (Φ.Ε.Κ. 272/Α/1929) «Περί συστάσεως Γενικού Χημείου του Κράτους», όπως αντικαταστάθηκε από την παράγραφο 6 του άρθρου 11 του Νόμου 2343/95, (Φ.Ε.Κ. 211/Α/11.10.1995).

4. Το άρθρο 4 του Διατάγματος της 31ης Οκτωβρίου 1929 «Περί κανονισμού της λειτουργίας και των εργασιών του Ανωτάτου Χημικού Συμβουλίου» (Φ.Ε.Κ. 391/Α/1929).

5. Το άρθρο 1 του Νόμου 115/1975 «Περί τροποποίησης διατάξεων πινών του Ν. 4328/1929» (Φ.Ε.Κ. 172/Α/1975).

6. Τα Π.Δ. 284/1988 και 543/1989 «Οργανισμός του Υπουργείου Οικονομικών» (Φ.Ε.Κ. 128 και 165/Α/1988 και 229/Α/1989).

7. Την απόφαση 1078204/927/0006 Α/6.8.1992 «Περιορισμός Συλλογικών Οργάνων του Υπουργείου Οικονομικών» των Υπουργών Προεδρίας και Οικονομικών» (Φ.Ε.Κ. 517/Β/1992).

8. Την 1100383/1330/Α0006/31.10.2001 Κοινή απόφαση του Πρωθυπουργού και του Υπουργού Οικονομικών «Καθορισμός αρμοδιοτήτων των Υφυπουργών Οικονομικών» (Φ.Ε.Κ. 1485/Β/2001).

9. Τις διατάξεις του άρθρου 29Α του Ν. 1558/1985 (Φ.Ε.Κ. 137/Α/1985) όπως το άρθρο αυτό προστέθηκε με το άρθρο 27 του Ν. 2081/1992 (Φ.Ε.Κ. 154/Α/1992) και αντικαταστάθηκε από το άρθρο 1 παρ. 2α του Ν. 2469/1997 (38Α) και το γεγονός ότι από την παρούσα απόφαση δεν προκαλείται δαπάνη σε βάρος του Κρατικού Προϋπολογισμού, αποφασίζουμε:

Εγκρίνουμε την απόφαση αριθ. 518/2002 του Ανωτάτου Χημικού Συμβουλίου η οποία ελήφθη κατά τη συνεδρίαση της 23.1.2003 και η οποία έχει ως εξής:

ΓΕΝΙΚΟ ΧΗΜΕΙΟ ΤΟΥ ΚΡΑΤΟΥΣ ΑΝΩΤΑΤΟ ΧΗΜΙΚΟ ΣΥΜΒΟΥΛΙΟ

Εγκρίνουμε την εναρμόνιση της Εθνικής Νομοθεσίας προς την Οδηγία 2002/69/Ε.Κ. της Επιτροπής των Ευρωπαϊκών Κοινοτήτων (ΕΕ L 209/6.8.2002) «για καθορισμό των μεθόδων δειγματοληψίας και των μεθόδων ανάλυσης, για τον επίσημο έλεγχο των διοξινών και τον προσδιορισμό των παρόμοιων με τις διοξίνες PCBs στα τρόφιμα», ως εξής:

Άρθρο 1

Η δειγματοληψία για τον επίσημο έλεγχο των επιπέδων συγκέντρωσης των διοξινών, των φουρανίων και των παρόμοιων με τις διοξίνες PCBs καθώς και ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης αυτών στα τρόφιμα πραγματοποιείται σύμφωνα με τις μεθόδους που περιγράφονται στο παράρτημα Ι.

Άρθρο 2

Η προετοιμασία του δείγματος και οι μέθοδοι ανάλυσης που χρησιμοποιούνται για τον επίσημο έλεγχο των επιπέδων των διοξινών, των φουρανίων και των παρόμοιων με τις διοξίνες PCBs στα τρόφιμα είναι σύμφωνα με τα κριτήρια που περιγράφονται στο παράρτημα ΙΙ.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι

ΜΕΘΟΔΟΙ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑΣ ΓΙΑ ΤΟΝ ΕΠΙΣΗΜΟ ΕΛΕΓΧΟ ΤΩΝ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΤΩΝ ΔΙΟΞΙΝΩΝ (PCDD/PCDF) ΚΑΙ ΤΟΝ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ ΤΩΝ ΠΑΡΟΜΟΙΩΝ ΜΕ ΤΙΣ ΔΙΟΞΙΝΕΣ PCBs ΣΕ ΟΡΙΣΜΕΝΑ ΤΡΟΦΙΜΑ

1. Αντικείμενο και πεδίο εφαρμογής

Τα δείγματα που προορίζονται για τον επίσημο έλεγχο

των επιπέδων περιεκτικότητας των τροφίμων σε διοξίνες (PCDD/PCDF), καθώς και για τον προσδιορισμό της περιεκτικότητας των τροφίμων σε παρόμοια με τις διοξίνες PCBs⁽¹⁾ λαμβάνονται σύμφωνα με τις μεθόδους που περιγράφονται κατωτέρω. Τα συνολικά δείγματα που αποκτήθηκαν με τον τρόπο αυτό θεωρούνται ως αντιπροσωπευτικά των παρτίδων ή υποπαρτίδων από τις οποίες λαμβάνονται. Η συμμόρφωση με τα ανώτατα επίπεδα που καθορίζονται στον Κανονισμό (ΕΚ) αριθ. 466/2001 (ΕΕ L 77/16.3.2001) «για τον καθορισμό μέγιστων τιμών ανοχής για ορισμένες προσμίξεις στα τρόφιμα», καθορίζεται με βάση τα επίπεδα που προσδιορίζονται στα εργαστηριακά δείγματα.

2. Ορισμοί

Παρτίδα: Αναγνωρίσιμη ποσότητα τροφίμου, που παραδίδεται σε μία αποστολή και για την οποία διαπιστώνεται από τις αρμόδιες ελεγκτικές αρχές ότι παρουσιάζει κοινά χαρακτηριστικά, όπως είναι η προέλευση, η ποικιλία, το είδος συσκευασίας, ο συσκευαστής, ο αποστολέας ή η σήμανση. Στην περίπτωση των ψαριών και των αλιευτικών προϊόντων πρέπει και το μέγεθος τους να είναι συγκρίσιμο.

Υποπαρτίδα: Καθορισμένο τμήμα μεγάλης παρτίδας που έχει οριστεί, για την εφαρμογή της μεθόδου δειγματοληψίας στο εν λόγω ορισθέν τμήμα. Κάθε υποπαρτίδα πρέπει να διαχωρίζεται φυσικά και να μπορεί να ταυτοποιηθεί.

Στοιχειώδες δείγμα: Ποσότητα υλικού που λαμβάνεται από ένα μόνο σημείο της παρτίδας ή της υποπαρτίδας.

Συνολικό δείγμα: το συνδιασμένο σύνολο όλων των στοιχειωδών δειγμάτων που έχουν ληφθεί από την παρτίδα ή την υποπαρτίδα.

Εργαστηριακό δείγμα: αντιπροσωπευτικό τμήμα/ποσότητα του συνολικού δείγματος που προορίζεται για ανάλυση στο εργαστήριο.

(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].

| Ομοειδείς ουσίες Διβενζο-παρα-διοξίνες (=PCDD=) | Τιμή TEF | Ομοειδείς ουσίες «Παρόμοια με τις διοξίνες» PCB Μη-ορθο PCB + Μονο-ορθο PCB | Τιμή TEF |
|--|----------|--|----------|
| 2,3,7,8-TCDD | 1 | Μη-ορθο PCB | |
| 1,2,3,7,8-PeCDD | 1 | | |
| 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 | | PCB 126 | 0,1 |
| | | 1,2,3,4,6,7,8-HpCDD | 0,01 |
| | | PCB 169 | 0,01 |
| OCDD | 0,0001 | | |
| Διβενζοφουράνα (=PCDF=) | | Μονο-ορθο PCB | |
| 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 |

| | | | |
|--------------------|--------|---------|---------|
| 1,2,3,4,6,7,8HrCDF | 0,01 | PCB 167 | 0,00001 |
| 1,2,3,4,7,8,9HrCDF | 0,01 | PCB 189 | 0,0001 |
| OCDF | 0,0001 | | |

Συντομογραφίες που χρησιμοποιήθηκαν : T = τετρα , Pe = πεντα, Hx = εξα, Hr = επτά, O = οκτα,
CDD = χλωροδιβενζοδιοξίνη, CDF = χλωροδιβενζοφουράνιο, CB = χλωροδιφαινύλιο.

3. Γενικές διατάξεις

3.1. Προσωπικό

Η δειγματοληψία πρέπει να πραγματοποιείται από επιφορτισμένα για το σκοπό αυτό κατάλληλα ειδικευμένα άτομα, σύμφωνα με τις ισχύουσες διατάξεις.

3.2. Προϊόν από το οποίο λαμβάνονται δείγματα

Κάθε παρτίδα, η οποία πρόκειται να εξεταστεί, αποτελεί αντικείμενο ξεχωριστής δειγματοληψίας.

3.3. Μέτρα προφύλαξης που πρέπει να λαμβάνονται

Κατά τη διάρκεια της δειγματοληψίας και της προετοιμασίας των δειγμάτων εργαστηρίου, πρέπει να λαμβάνονται προφυλάξεις, προκειμένου να αποφεύγεται οποιαδήποτε αλλοίωση, η οποία μπορεί να μεταβάλλει την περιεκτικότητα των διοξινών και των παρόμοιων με διοξίνες PCBs, να επηρεάσει αρνητικά τον αναλυτικό προσδιορισμό αυτών ή την αντιπροσωπευτικότητα του συνολικού δείγματος.

3.4. Στοιχειώδη δείγματα

Κατά το μέτρο του πρακτικού, τα στοιχειώδη δείγματα πρέπει να λαμβάνονται από διαφορετικά σημεία της παρτίδας ή της υποπαρτίδας. Κάθε παρέκκλιση από τη διαδικασία αυτή πρέπει να καταγράφεται στα πρακτικά όπως προβλέπεται στο σημείο 3.8.

3.5. Παρασκευή του συνολικού δείγματος

Το συνολικό δείγμα λαμβάνεται με τη συνένωση όλων των στοιχειωδών δειγμάτων. Το βάρος του πρέπει να είναι τουλάχιστον 1 kg, εκτός εάν δεν είναι δυνατόν, π.χ. στην περίπτωση που έχει ληφθεί για δειγματοληψία μία μόνο συσκευασία.

3.6. Υποδιαίρεση του συνολικού δείγματος σε εργαστηριακά δείγματα για σκοπούς ελέγχου, δικαιώματος άσκησης προσφυγής ή διαιτησίας.

Τα όμοια εργαστηριακά δείγματα που προορίζονται για σκοπούς ελέγχου, άσκησης προσφυγής ή λόγους διαιτησίας, λαμβάνονται από το ομογενοποιημένο συνολικό δείγμα, παρουσία εκπροσώπων των Αρμοδίων Αρχών οι οποίες είναι επιφορτισμένες με τον επίσημο έλεγχο τροφίμων.

Τα όμοια εργαστηριακά δείγματα συσκευάζονται, σφραγίζονται, σημαίνονται και αποθηκεύονται όπως προβλέπεται στα σημεία 3.7 και 3.8 του παρόντος παραρτήματος. Συντάσσεται σχετικό πρακτικό το οποίο υπογράφεται από τα άτομα που παρίστανται στη λήψη των ομοίων εργαστηριακών δειγμάτων. Κατά τα λοιπά τα δείγματα για άσκηση προσφυγής ή διαιτησίας εξετάζονται σύμφωνα με τις ισχύουσες διατάξεις.

3.7. Συσκευασία και αποστολή των συνολικών και των εργαστηριακών δειγμάτων

Κάθε συνολικό και εργαστηριακό δείγμα τίθεται σε καθαρό περιέκτη, από αδρανές υλικό, ο οποίος παρέχει την κατάλληλη προστασία του δείγματος από οποιοδήποτε παράγοντα επιμόλυνσης, από πιθανή απώλεια των ουσιών που πρόκειται να προσδιοριστούν λόγω απορρόφησης από τα εσωτερικά τοιχώματα του περιέκτη και από

οποιαδήποτε βλάβη είναι δυνατόν να προκύψει κατά τη διάρκεια της μεταφοράς. Πρέπει να λαμβάνονται όλες οι αναγκαίες προφυλάξεις για να αποτραπεί κάθε αλλοίωση της σύνθεσης του συνολικού και του εργαστηριακού δείγματος, η οποία μπορεί να επέλθει κατά τη διάρκεια της μεταφοράς ή της αποθήκευσης.

3.8. Σφράγιση και επισήμανση των συνολικών και των εργαστηριακών δειγμάτων

Κάθε επίσημο δείγμα σφραγίζεται στον τόπο της δειγματοληψίας και αναγνωρίζεται σύμφωνα με τις ισχύουσες διατάξεις. Για κάθε δειγματοληψία, πρέπει να συντάσσονται πρακτικά δειγματοληψίας, τα οποία καθιστούν δυνατή την αναγνώριση, χωρίς αμφισβήτηση, της παρτίδας από την οποία έχει ληφθεί το δείγμα, και πρέπει να αναγράφεται η ημερομηνία και ο τόπος δειγματοληψίας, καθώς και κάθε άλλη συμπληρωματική πληροφορία, η οποία μπορεί να αποβεί χρήσιμη για τον αναλυτή.

4. Σχέδια δειγματοληψίας

Η μέθοδος δειγματοληψίας που εφαρμόζεται πρέπει να εξασφαλίζει ότι το συνολικό δείγμα είναι αντιπροσωπευτικό της παρτίδας που πρόκειται να ελεγχθεί.

Αριθμός των στοιχειωδών δειγμάτων

Στην περίπτωση του γάλακτος και των ελαίων, για τα οποία μπορεί να θεωρηθεί δεδομένη μια ομογενής κατανομή των εν λόγω προσμειξών σε μια δεδομένη παρτίδα, είναι αρκετό να ληφθούν τρία στοιχειώδη δείγματα ανά παρτίδα για την δημιουργία του συνολικού δείγματος. Πρέπει να γίνεται αναφορά στον αριθμό της παρτίδας. Για τα άλλα προϊόντα, ο ελάχιστος αριθμός στοιχειωδών δειγμάτων που πρέπει να ληφθούν από την παρτίδα πρέπει να είναι αυτός που αναφέρεται στον πίνακα 1.

Το συνολικό δείγμα που συγκεντρώνει όλα τα στοιχειώδη δείγματα πρέπει να είναι τουλάχιστον 1 kg (βλέπε σημείο 3.5). Τα στοιχειώδη δείγματα πρέπει να έχουν παρόμοιο βάρος. Το βάρος ενός στοιχειώδους δείγματος πρέπει να είναι τουλάχιστον 100 γραμμάρια. Το βάρος του στοιχειώδους δείγματος εξαρτάται από το μέγεθος των σωματιδίων στην παρτίδα. Κάθε παρέκκλιση από τη διαδικασία αυτή πρέπει να καταγράφεται στα πρακτικά που προβλέπονται στο σημείο 3.8. Σύμφωνα με τις διατάξεις της Απόφασης 97/747/ΕΚ της Επιτροπής, της 27ης Οκτωβρίου 1997, για τον καθορισμό των επιπέδων και των συχνοτήτων δειγματοληψίας όπως προβλέπονται στην Οδηγία 96/23/ΕΚ του Συμβουλίου (ΕΕ L 303/6.11.1997) με σκοπό την ανίχνευση ορισμένων ουσιών και κατάλοιπων που απαντώνται σε ορισμένα ζωικά προϊόντα, το μέγεθος του δείγματος για τα αυγά κότας είναι τουλάχιστον δώδεκα αυγά (για παρτίδες όπου το προϊόν διατίθεται χύμα, καθώς και για παρτίδες που αποτελούνται από μεμονωμένες συσκευασίες, πίνακες 1 και 2).

ΠΙΝΑΚΑΣ 1

Ελάχιστος αριθμός στοιχειωδών δειγμάτων που πρέπει να λαμβάνονται από κάθε παρτίδα

| Βάρος της παρτίδας (σε kg) | Ελάχιστος αριθμός στοιχειωδών δειγμάτων που πρέπει να λαμβάνονται |
|----------------------------|---|
| < 50 | 3 |
| 50 έως 500 | 5 |
| > 500 | 10 |

Εάν η παρτίδα αποτελείται από μεμονωμένες συσκευασίες, τότε ο αριθμός των συσκευασιών που πρέπει να ληφθούν για να αποτελέσουν το συνολικό δείγμα δίνεται στον πίνακα 2.

ΠΙΝΑΚΑΣ 2

Αριθμός συσκευασιών (στοιχειώδη δείγματα) που πρέπει να λαμβάνονται για να αποτελέσουν το συνολικό δείγμα, εάν η παρτίδα αποτελείται από μεμονωμένες συσκευασίες

| Αριθμός συσκευασιών ή μονάδων ανά παρτίδα | Αριθμός συσκευασιών ή μονάδων που πρέπει να ληφθούν |
|---|--|
| 1 έως 25 | Μία συσκευασία ή μονάδα |
| 26 έως 100 | Περίπου 5%, τουλάχιστον δύο συσκευασίες ή μονάδες |
| > 100 | Περίπου 5%, κατ' ανώτατο όριο δέκα συσκευασίες ή μονάδες |

5. Συμβατότητα της παρτίδας ή της υποπαρτίδας με τις προδιαγραφές

Το εργαστήριο ελέγχου που αναλύει το εργαστηριακό δείγμα που προορίζεται για την εφαρμογή μέτρων εκτέλεσης, πρέπει να επαναλάβει την ανάλυση, 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 να 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, εάν η μέση τιμή συμμορφώνεται με το αντίστοιχο μέγιστο επίπεδο, όπως ορίζεται στον κανονισμό (ΕΚ) αριθ. 466/2001.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΙΙ

ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΤΟΥ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ ΚΑΙ ΑΠΑΙΤΗΣΕΙΣ ΓΙΑ ΤΙΣ ΜΕΘΟΔΟΥΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΠΟΥ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΟΥΝΤΑΙ ΚΑΤΑ ΤΟΝ ΕΠΙΣΗΜΟ ΕΛΕΓΧΟ ΤΩΝ ΕΠΙΠΕΔΩΝ ΤΩΝ ΔΙΟΞΙΝΩΝ (PCDD/PCDF) ΚΑΙ ΤΟΝ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ ΤΩΝ ΠΑΡΟΜΟΙΩΝ ΜΕ ΤΙΣ ΔΙΟΞΙΝΕΣ PCBs ΣΕ ΟΡΙΣΜΕΝΑ, ΤΡΟΦΙΜΑ

1. Στόχος και πεδίο εφαρμογής

Οι απαιτήσεις αυτές πρέπει να εφαρμόζονται όταν αναλύονται τρόφιμα για τον επίσημο έλεγχο των επιπέδων των διοξινών [πολυχλωριωμένες διβενζο-παρα-διοξίνες (PCDD) και πολυχλωριωμένα διβενζοφουράνια (PCDF)] και τον προσδιορισμό των παρόμοιων με τις διοξίνες PCBs.

Ο έλεγχος για την παρουσία διοξινών στα τρόφιμα μπορεί να διεξαχθεί με μια στρατηγική που θα περιλαμβάνει μια αναλυτική μέθοδο διαλογής (screening) προκειμένου να επιλεγούν εκείνα τα δείγματα με επίπεδα διοξινών και παρόμοιων με τις διοξίνες PCBs που είναι λιγότερο από 30-40% κάτω από το επίπεδο που ενδιαφέρει ή υπερβαίνει το επίπεδο που ενδιαφέρει. Η συγκέντρωση διοξινών στα δείγματα εκείνα με σημαντικά επίπεδα πρέπει να προσδιοριστεί / επιβεβαιωθεί με μια επιβεβαιωτική μέθοδο.

Οι αναλυτικές μέθοδοι διαλογής (screening) είναι μέθοδοι που χρησιμοποιούνται για την ανίχνευση της παρουσίας διοξινών και παρόμοιων με διοξίνες PCBs στο επίπεδο ενδιαφέροντος. Οι μέθοδοι αυτές έχουν την ικανότητα

επεξεργασίας μεγάλων ποσοτήτων δείγματος και χρησιμοποιούνται για τη εξέταση μεγάλου αριθμού δειγμάτων για την ανεύρεση των δειγμάτων με πιθανώς θετικό αποτέλεσμα. Έχουν σχεδιαστεί ειδικά για την αποφυγή ψευδώς αρνητικών αποτελεσμάτων.

Οι μέθοδοι επιβεβαίωσης είναι μέθοδοι που παρέχουν πλήρεις ή συμπληρωματικές πληροφορίες που δίνουν τη δυνατότητα, οι διοξίνες και τα παρόμοια με διοξίνες PCBs να ταυτοποιούνται και να προσδιορίζονται ποσοτικά με σαφήνεια στο επίπεδο που ενδιαφέρει.

2. Ιστορικό

Επειδή τα περιβαλλοντικά και βιολογικά δείγματα (συμπεριλαμβανομένων των δειγμάτων τροφίμων) γενικά περιέχουν σύνθετα μείγματα διαφόρων ομοειδών ουσιών της ομάδας των διοξινών, αναπτύχθηκε η έννοια των συντελεστών τοξικής ισοδυναμίας (TEFs) ώστε να διευκολυνθεί η αξιολόγηση του κινδύνου. Οι συντελεστές TEFs δημιουργήθηκαν για να εκφράσουν τις συγκεντρώσεις των μειγμάτων των 2,3,7,8-υποκατεστημένων PCDDs και PCDFs, και πρόσφατα, ορισμένων μη-ortho και mono-ortho υποκατεστημένων από χλώριο PCBs (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 Ι).

Οι συγκεντρώσεις των επί μέρους ουσιών σε κάποιο δεδομένο δείγμα πολλαπλασιάζονται με τον αντίστοιχο συντελεστή TEF και στη συνέχεια αθροίζονται για να υπολογιστεί η ολική συγκέντρωση των παρόμοιων με τις διοξίνες ενώσεων, εκφρασμένη σε TEQs.

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. Απαιτήσεις διασφάλισης ποιότητας που πρέπει να τηρούνται για την προετοιμασία του δείγματος

- Πρέπει να λαμβάνονται μέτρα για την αποφυγή της διασταυρούμενης επιμόλυνσης (cross-contamination) σε κάθε στάδιο της διαδικασίας δειγματοληψίας και ανάλυσης.

- 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 γυαλίνα σκεύη πρέπει να ξεπλένονται με διαλύτες που έχουν προηγουμένως ελεγχθεί για την παρουσία διοξινών.

- Η αποθήκευση και η μεταφορά των δειγμάτων πρέπει να διεξάγεται κατά τρόπο ώστε να διατηρείται η ακεραιότητα του δείγματος του τροφίμου.

- Εφόσον ενδεικνύται, κάθε εργαστηριακό δείγμα πρέπει να αλέθεται και να αναμειγνύεται ενδελεχώς χρησιμοποιώντας μια διαδικασία που έχει αποδειχθεί ότι επιτυγχάνει την πλήρη ομογενοποίηση (π.χ. να διαπερνά ένα κόσκινο μεγέθους οπών 1 mm) και τα δείγματα πρέπει να ξηραίνονται πριν από την άλεση, αν η περιεκτικότητα σε υγρασία είναι πολύ υψηλή.

• Πρέπει να εκτελείται ανάλυση τυφλού δείγματος 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.

• Υπάρχουν πολλές ικανοποιητικές ειδικές διαδικασίες προετοιμασίας δείγματος, που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τα υπό εξέταση προϊόντα. Οι διαδικασίες πρέπει να επικυρώνονται σύμφωνα με τις διεθνώς αποδεκτές κατευθυντήριες γραμμές.

4. Απαιτήσεις για τα εργαστήρια

• Τα εργαστήρια πρέπει να αποδεικνύουν την απόδοση μιας μεθόδου στο εύρος των επιπέδων συγκέντρωσης που ενδιαφέρει π.χ. 0,5x, 1x και 2x φορές το επίπεδο ενδιαφέροντος με έναν αποδεκτό συντελεστή διακύμανσης 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 ενδιαφέροντος, ώστε να διασφαλίζεται ότι οι αποδεκτοί συντελεστές μεταβλητότητας πληρούνται στο εύρος του επιπέδου ενδιαφέροντος.

• Οι τακτικές δοκιμές τυφλού δείγματος και τα πειράματα εμβολιασμού με γνωστή ποσότητα, 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 διεργαστηριακά προγράμματα που αξιολογούν την επάρκεια των εργαστηρίων είναι ο καλύτερος τρόπος απόδειξης της ικανότητας για ειδικές αναλύσεις. Ωστόσο, η επιτυχής συμμετοχή σε διεργαστηριακά προγράμματα, όσον αφορά π.χ. δείγματα εδάφους ή αποχετεύσεων δεν αποδεικνύει κατ' ανάγκη την ικανότητα και στον τομέα των δειγμάτων των τροφίμων ή των ζωοτροφών που παρουσιάζουν χαμηλότερα επίπεδα μόλυνσης. Συνεπώς, η συνεχής συμμετοχή σε διεργαστηριακά προγράμματα για τον προσδιορισμό των διοξινών και των παρόμοιων με τις διοξίνες PCBs σε υλικά αντίστοιχα με τις ζωοτροφές / τρόφιμα είναι υποχρεωτική.

• Σύμφωνα με τις διατάξεις της Οδηγίας 93/99/ΕΟΚ, τα εργαστήρια πρέπει να διαπιστεύονται από αναγνωρισμένους οργανισμούς σύμφωνα με τον Οδηγό ISO 58 ώστε να εξασφαλίζεται ότι τα εργαστήρια εφαρμόζουν μεθόδους διασφάλισης της ποιότητας. Η διαπίστευση των εργαστηρίων πρέπει να πραγματοποιείται σύμφωνα με το πρότυπο ISO /IEC/17025:1999.

5. Απαιτήσεις που πρέπει να τηρεί μια αναλυτική διαδικασία για τις διοξίνες και τα παρόμοια με διοξίνες PCBs

Βασικές απαιτήσεις για την αποδοχή των διαδικασιών ανάλυσης :

• Υψηλή ευαισθησία και χαμηλά όρια ανίχνευσης. Όσον αφορά τα PCDDs και τα PCDFs, το όριο ανίχνευσης πρέπει να είναι της τάξης των πικογραμμαρίων TEQ (10^{-12} g) εξαιτίας της σημαντικής τοξικότητας ορισμένων από τις ενώσεις αυτές. Γνωρίζουμε ότι τα PCBs εμφανίζονται σε υψηλότερα επίπεδα από ότι τα PCDDs και τα PCDFs. Για τις περισσότερες ομοειδείς ουσίες PCBs, η ευαισθησία στο φάσμα των νανογραμμαρίων (10^{-9} g) είναι ήδη επαρκής. Ωστόσο, για τη μέτρηση των πιο τοξικών

παρόμοιων με τις διοξίνες ομοειδών ουσιών PCBs (ιδίως των μη-ορθο υποκατεστημένων ομοειδών ουσιών) (non-ortho substituted congeners) πρέπει να επιτυγχάνεται η ίδια ευαισθησία όπως και για τα PCDDs και τα PCDFs.

• Υψηλή εκλεκτικότητα (εξειδίκευση). Τα PCDDs, τα PCDFs και τα παρόμοια με τις διοξίνες PCBs πρέπει να διακρίνονται από τις άλλες ενώσεις, που εκχυλίζονται μαζί και οι οποίες πιθανώς (οι ενώσεις που παρεμποδίζουν) να παρευρίσκονται σε συγκεντρώσεις -έως και ορισμένες τάξεις μεγέθους υψηλότερες από εκείνες των προς ανάλυση ουσιών που ενδιαφέρουν. Για τις μεθόδους αέριας χρωματογραφίας / φασματομετρίας μάζας (GC/MS) είναι αναγκαία μια διαφοροποίηση μεταξύ των διαφόρων ομοειδών ουσιών, όπως μεταξύ των τοξικών (π.χ. των δεκαεπτά 2,3,7,8-υποκατεστημένων PCDD και PCDF και των παρόμοιων με τις διοξίνες PCBs) και των άλλων ομοειδών ουσιών. Οι βιολογικές δοκιμασίες πρέπει να είναι σε θέση να προσδιορίζουν τις τιμές TEQ επιλεκτικά ως το άθροισμα των PCDDs, των PCDFs και των παρόμοιων με τις διοξίνες PCBs.

• Υψηλή ακρίβεια (ορθότητα και πιστότητα). Ο προσδιορισμός πρέπει να παρέχει μια έγκυρη εκτίμηση της αληθούς συγκέντρωσης σε ένα δείγμα. Η υψηλή ακρίβεια (ακρίβεια της μέτρησης: η εγγύτητα της συμφωνίας μεταξύ του αποτελέσματος της μέτρησης και της αληθούς ή αποδοθείσας τιμής του μετρητέου) είναι αναγκαία για να αποφευχθεί η απόρριψη του αποτελέσματος της ανάλυσης του δείγματος που ελήφθη βάση μη επαρκούς αξιοπιστίας (poor reliability) για την εκτίμηση του TEQ. Η ακρίβεια εκφράζεται ως ορθότητα (διαφορά μεταξύ της μέσης τιμής που μετρήθηκε για μια αναλυτή ουσία σε ένα πιστοποιημένο υλικό και της πιστοποιημένης τιμής της, εκφρασμένη ως ποσοστό της τιμής αυτής) και πιστότητα (η πιστότητα 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 αρκετές φορές υπό προκαθορισμένες συνθήκες).

Οι αναλυτικές μέθοδοι διαλογής μπορούν να περιλαμβάνουν βιολογικές δοκιμασίες και μεθόδους GC/MS. Οι μέθοδοι επιβεβαίωσης είναι μέθοδοι υψηλής ευκρίνειας αέριας χρωματογραφίας / υψηλής ευκρίνειας φασματομετρίας μάζας (HRGC/HRMS).

Τα ακόλουθα κριτήρια πρέπει να τηρούνται στη συνολική τιμή TEQ :

| | Μέθοδοι διαλογής (screening) | Μέθοδοι επιβεβαίωσης |
|-----------------------------------|------------------------------|----------------------|
| Ποσοστό ψευδώς αρνητικών Ορθότητα | < 1 % | -20 έως + 20 % |
| CV | < 30% | < 15% |

6. Ειδικές απαιτήσεις για μεθόδους GC/MS που πρέπει να τηρούνται για την εξέταση διαλογής (screening) ή για λόγους επιβεβαίωσης.

• Η προσθήκη εσωτερικών προτύπων PCDD/F υποκατεστημένων με χλώριο στις θέσεις 2,3,7,8 με ισοτοπική επισήμανση ^{13}C (και των εσωτερικών προτύπων των παρόμοιων με τις διοξίνες PCBs με ισοτοπική επισήμανση ^{13}C , αν πρόκειται να προσδιοριστούν παρόμοια με τις διοξίνες PCBs) πρέπει να πραγματοποιηθεί πολύ νωρίς στην

αρχή ή κατά την έναρξη της μεθόδου ανάλυσης, δηλαδή πριν από την εκχύλιση προκειμένου να επικυρωθεί η αναλυτική διαδικασία. Τουλάχιστον μια ομοειδής ουσία για καθεμία από τις ομόλογες ομάδες PCDD/F των τετρα- έως οκτα-χλωριωμένων ομόλογων ομάδων (και τουλάχιστον μια ομοειδής ουσία και για καθεμία από τις ομόλογες ομάδες των παρόμοιων με τις διοξίνες PCB, αν πρόκειται να προσδιοριστούν παρόμοια με διοξίνες PCB) πρέπει να προστεθεί [εναλλακτικά, τουλάχιστον μια ομοειδής ουσία για κάθε ομάδα ιόντων για φασματοσκοπία μάζας καταγραφής επιλεγμένων ιόντων (mass spectrometric selected ion recording function) που χρησιμοποιείται για την παρακολούθηση των PCDD/F και των παρόμοιων με διοξίνες PCBs]. Υπάρχει σαφής προτίμηση, ιδίως στην περίπτωση των μεθόδων επιβεβαίωσης, στη χρησιμοποίηση και των δεκαεπτά εσωτερικών προτύπων PCDD/F υποκατεστημένων με χλώριο στις θέσεις 2,3,7,8 με ισοτοπική επισήμανση ^{13}C και του συνόλου των δώδεκα εσωτερικών προτύπων των παρόμοιων με τις διοξίνες PCB με ισοτοπική επισήμανση ^{13}C (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 πρότυπο με ισοτοπική επισήμανση ^{13}C , με τη χρησιμοποίηση των κατάλληλων διαλυμάτων βαθμο-νόμησης.

- Για τα τρόφιμα φυτικής προέλευσης και τα τρόφιμα ζωικής προέλευσης που περιέχουν λιγότερο από 10 % λίπος, η προσθήκη των εσωτερικών προτύπων είναι υποχρεωτική πριν από την εκχύλιση. Για τα τρόφιμα ζωικής προέλευσης που περιέχουν περισσότερο από 10 % λίπος, τα εσωτερικά πρότυπα μπορούν να προστεθούν είτε πριν από την εκχύλιση είτε μετά την εκχύλιση του λίπους. Πρέπει να πραγματοποιηθεί κατάλληλος έλεγχος αξιοπιστίας (επικύρωση) της αποτελεσματικότητας της εκχύλισης, ανάλογα με το στάδιο στο οποίο εισάγονται εσωτερικά πρότυπα και ανάλογα με το αν τα αποτελέσματα αναφέρονται με βάση το προϊόν ή το 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 επτά- και οκτα-χλωριωμένων διβενζοδιοξινών και διβενζοφουρανίων, είναι αποδεκτές υπό τον όρο ότι η συμβολή τους στην τιμή TEQ δεν υπερβαίνει το 10 % της συνολικής τιμής TEQ (βασισμένη μόνο σε PCDD/F). Για τις μεθόδους διαλογής (screening), οι ανακτήσεις πρέπει να κυμαίνονται στο εύρος του 30 έως 140 %.

- Πρέπει να πραγματοποιείται διαχωρισμός των διοξινών από τις παρεμβαλλόμενες χλωριωμένες ενώσεις, όπως τα PCBs και οι χλωριωμένοι διφαινυλικοί αιθέρες με τις κατάλληλες χρωματογραφικές τεχνικές (κατά προτίμηση με στήλη: florisil, αλουμίνας ή/και άνθρακα).

- Ο διαχωρισμός των ισομερών με αέρια χρωματογραφία πρέπει να είναι επαρκής (< 25 % από κορυφή σε 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 Β: «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 τα τρόφιμα με επιμόλυνση διοξίνης περίπου 1 pg WHO-TEQ/g λίπους (βασισμένη μόνο σε PCDD/PCDF). Για τα τρόφιμα με χαμηλή περιεκτικότητα σε λιπαρά πρέπει να ισχύουν οι ίδιες απαιτήσεις για τα επίπεδα επιμόλυνσης, περίπου 1 pg WHO-TEQ/g προϊόντος. Για χαμηλότερα επίπεδα επιμόλυνσης, π.χ. 0,50 pg WHO-TEQ/g προϊόντος, η διαφορά μεταξύ ανώτατου ορίου συγκέντρωσης και κατώτερου ορίου συγκέντρωσης μπορεί να βρίσκεται στο εύρος του 25 έως 40 %.

7. Μέθοδοι ανάλυσης διαλογής (screening)

7.1 Εισαγωγή

Διαφορετικές αναλυτικές προσεγγίσεις μπορούν να διεξαχθούν με τη χρησιμοποίηση μιας αναλυτικής μεθόδου διαλογής (screening): μια καθαρή προσέγγιση διαλογής (screening) και μια ποσοτική προσέγγιση.

Προσέγγιση διαλογής

Η απόκριση των δειγμάτων συγκρίνεται με αυτή ενός δείγματος αναφοράς στο επίπεδο ενδιαφέροντος. 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.

- Πρέπει να συμπεριληφθούν πρόσθετα δείγματα αναφοράς 0,5x και 2x φορές το επίπεδο ενδιαφέροντος ώστε να αποδειχτεί η ορθή απόδοση της δοκιμασίας στο εύρος του ενδιαφέροντος για τον έλεγχο του επιπέδου που ενδιαφέρει.

- Κατά τη δοκιμή άλλων υποστρωμάτων, πρέπει να αποδειχτεί η καταλληλότητα των δειγμάτων αναφοράς, κατά προτίμηση με το να συμπεριληφθούν δείγματα που φαίνεται από το HPGC/HPMS να περιέχουν ένα επίπεδο TEQ παρόμοιο με αυτό του δείγματος αναφοράς ή αλλιώς ένα τυφλό δείγμα εμβολιασμένο 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 διακύμανσης 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 τη χρήση σειράς αραιωμένων προτύπων, καθαρισμό και μέτρηση εις διπλούν ή τριπλούν, 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 προτύπου διαλύματος TCDD (ή προτύπου διαλύματος μίγματος 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 (για να ληφθούν υπόψη οι ξένες προσμίξεις που προέρχονται από

τους διαλύτες και τις χημικές ουσίες που χρησιμοποιήθηκαν), και για την ανάκτηση (που υπολογίζεται από το επίπεδο TEQ σε δείγμα ελέγχου ποιότητας κοντά στο επίπεδο ενδιαφέροντος). Είναι αναγκαίο να σημειωθεί ότι τμήμα της εμφανούς απώλειας ανάκτησης μπορεί να οφείλεται σε επίδρασης υποστρώματος ή/και σε διαφορές μεταξύ των τιμών TEF στις βιολογικές δοκιμασίες και των επίσημων τιμών TEF που όρισε ο ΠΟΥ.

7.2. Απαιτήσεις για τις μεθόδους ανάλυσης που χρησιμοποιούνται για διαλογή (screening)

- Οι μέθοδοι ανάλυσης GC/MS και οι βιολογικές δοκιμασίες μπορούν να χρησιμοποιηθούν για διαλογή (screening). Για τις μεθόδους GC/MS πρέπει να ικανοποιούνται 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) ορίζονται ειδικές απαιτήσεις 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 της διαλογής (screening) 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 σχέση μεταξύ των αποτελεσμάτων της βιολογικής δοκιμασίας και των 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 προτύπων διαλυμάτων του TCDD ή του μειγματος διοξίνης/φουρανίου (καμπύλη πλήρους δόσης-απόκρισης με $R^2 > 0,95$). Ωστόσο, για λόγους διαλογής (screening) πρέπει να χρησιμοποιηθεί μια καμπύλη χαμηλών συγκεντρώσεων, για την ανάλυση δειγμάτων χαμηλών επιπέδων συγκέντρωσης.

- Μια συγκέντρωση αναφοράς TCDD (περίπου 3x φορές το όριο ποσοτικού προσδιορισμού) σε ένα δελτίο ποιοτικού ελέγχου πρέπει να χρησιμοποιείται για τα αποτελέσματα της βιολογικής δοκιμασίας κατά τη διάρκεια μιας σταθερής περιόδου. Μια εναλλακτική λύση θα ήταν η σχετική απόκριση ενός δείγματος αναφοράς σε σύγκριση με τη καμπύλη 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 διασφαλιστεί ότι τα αποτελέσματα είναι σύμφωνα με τις δηλωμένες κατευθυντήριες γραμμές.

- Ιδιαίτερα για τους υπολογισμούς των ποσοτικών προσδιορισμών, το δείγμα που προκύπτει από την αραιώση των δειγμάτων πρέπει να είναι εντός του γραμμικού τμήματος της καμπύλης αναφοράς. Δείγματα πάνω από

το γραμμικό τμήμα της καμπύλης αναφοράς πρέπει να αραιώνονται και να προσδιορίζονται εκ νέου. Συνεπώς, συνιστάται να προσδιορίζονται τουλάχιστον τρεις ή περισσότερες αραιώσεις ταυτόχρονα.

- Η ποσοστιαία τυπική απόκλιση δεν πρέπει να είναι άνω του 15 % σε ένα τριπλό προσδιορισμό για κάθε αραιώση δείγματος και όχι άνω του 30 % μεταξύ τριών ανεξάρτητων πειραμάτων.

- Το όριο της ανίχνευσης μπορεί να καθοριστεί έως 3x φορές την τυπική απόκλιση του τυφλού του διαλύτη ή της απόκρισης υποβάθρου. Μια άλλη προσέγγιση είναι η εφαρμογή μιας απόκρισης που είναι άνω του υποβάθρου (με χρήση ενός συντελεστή 5 φορές το τυφλό του διαλύτη) που υπολογίζεται από την καμπύλη βαθμονόμησης της ημέρας. Το όριο ποσοτικού προσδιορισμού μπορεί να καθοριστεί από 5x έως 6x φορές την τυπική απόκλιση του τυφλού του διαλύτη ή την απόκριση υποβάθρου ή η εφαρμογή μιας απόκρισης που είναι σαφώς πάνω από το υπόβαθρο (με χρήση ενός συντελεστή 10 φορές το τυφλό του διαλύτη) που υπολογίζεται από την καμπύλη βαθμονόμησης της ημέρας.

7.4. Ειδικές απαιτήσεις, για βιολογικές, δοκιμασίες με βάση συσκευασίες προπαρασκευασμένων αντιδραστηρίων (test kits)⁽¹⁾.

⁽¹⁾ Δεν έχουν υποβληθεί ακόμα στοιχεία, εμπορικά βιολογικών δοκιμασιών με βάση συσκευασίες προπαρασκευασμένων αντιδραστηρίων (test-kits), που να διαθέτουν επαρκή ευαισθησία και αξιοπιστία ώστε να χρησιμοποιηθούν για διαλογή, σχετικά με την παρουσία διοξινών στα απαιτούμενα επίπεδα σε δείγματα τροφίμων ή ζωοτροφών.

- Πρέπει να τηρούνται οι οδηγίες του κατασκευαστή για την προετοιμασία δείγματος και τις αναλύσεις.

- Οι συσκευασίες προπαρασκευασμένων αντιδραστηρίων δοκιμών (test kits) δεν πρέπει να χρησιμοποιούνται μετά την ημερομηνία λήξης τους.

- Δεν πρέπει να χρησιμοποιούνται υλικά ή συστατικά που προβλέπονται για τη χρήση τους με άλλες συσκευασίες προπαρασκευασμένων αντιδραστηρίων (kits).

- Οι συσκευασίες προπαρασκευασμένων αντιδραστηρίων 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 καθορίζεται ως 3x φορές την τυπική απόκλιση με βάση δεκά (10) επαναληπτικές αναλύσεις του τυφλού διαιρούμενης με την τιμή της κλίσης της γραμμικής εξίσωσης παλινδρόμησης.

- Για τις δοκιμές στο εργαστήριο πρέπει να χρησιμοποιούνται πρότυπα διαλύματα αναφοράς ώστε να εξασφαλιστεί ότι η απόκριση του προτύπου κυμαίνεται εντός ενός αποδεκτού εύρους.

8. Έκθεση εξέτασης

Εφόσον η χρησιμοποιούμενη διαδικασία ανάλυσης το καθιστά δυνατό, τα αποτελέσματα της ανάλυσης πρέπει να περιέχουν τα επίπεδα των επιμέρους PCDD/F και ομοειδών PCBs και να καταγράφονται επίσης το κατώτατο όριο συγκέντρωσης, ανώτατο όριο συγκέντρωσης και μέσο όριο συγκέντρωσης προκειμένου να περιέχεται ένα

μέγιστο σύνολο πληροφοριών κατά την υποβολή της έκθεσης των αποτελεσμάτων ώστε να διευκολύνεται η ερμηνεία των αποτελεσμάτων σύμφωνα με τις ειδικές απαιτήσεις.

Η έκθεση εξέτασης 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 είναι εκτός του εύρους που αναφέρεται στο σημείο 6, στην περίπτωση που υπερβαίνεται το μέγιστο επίπεδο και σε άλλες περιπτώσεις κατόπιν σχετικής αίτησης.

Ο Πρόεδρος
Ν. ΧΑΤΖΗΧΡΗΣΤΙΔΗΣ

Η Γραμματέας
ΕΛ. ΠΑΛΛΑΡΗ

Τα Μέλη

Δ. ΜΑΝΤΕΛΗΣ, Ν. ΚΑΤΣΙΜΠΑΣ, Δ. ΜΠΟΣΚΟΥ, Μ. ΟΙΚΟΝΟΜΟΥ, Κ. ΑΥΓΟΥΣΤΑΚΗΣ, Β. ΤΣΟΥΚΑΛΑΣ, Ι. ΓΑΓΛΙΑΣ.

Η ισχύς της παρούσας απόφασης αρχίζει από τη δημοσίευσή της στην Εφημερίδα της Κυβερνήσεως.

Η απόφαση αυτή να δημοσιευθεί στην Εφημερίδα της Κυβερνήσεως.

Αθήνα, 14 Μαρτίου 2003

ΟΙ ΥΠΟΥΡΓΟΙ

ΟΙΚΟΝΟΜΙΑΣ ΚΑΙ
ΟΙΚΟΝΟΜΙΚΩΝ

ΥΦΥΠ. ΟΙΚΟΝΟΜΙΑΣ ΚΑΙ
ΟΙΚΟΝΟΜΙΚΩΝ

ΝΙΚ. ΧΡΙΣΤΟΔΟΥΛΑΚΗΣ

ΑΠΟΣΤΟΛΟΣ ΦΩΤΙΑΔΗΣ