

Termini per a l'aplicació de les condicions d'inclusió: 30 d'abril de 2004.

Terminis per a l'aplicació dels principis uniformes: el 31 d'octubre de 2007, per a formulacions que continguin deltametrina com a única substància activa, o bé com una de diverses substàncies actives que inclou l'annex I del Reial decret 2163/1994 per al 31 d'octubre de 2003.

Protecció de dades: com que la deltametrina és una substància activa antiga s'aplica el règim corresponent de protecció de dades que preveu l'article 30 del Reial decret 2163/1994.

(*) La numeració dels epígrafs correspon a la codificació que fa la Directiva 2000/80/CE.

MINISTERI DE SANITAT I CONSUM

11265 REIAL DECRET 604/2003, de 23 de maig, pel qual s'estableixen els mètodes de presa de mostres i d'anàlisi per al control oficial de les dioxines i la determinació de policlorobifenils (PCB) similars a les dioxines en els productes alimentaris. («BOE» 134, de 5-6-2003.)

La Directiva 2002/69/CE de la Comissió, de 26 de juliol de 2002, per la qual es fixen els mètodes de mostreig i d'anàlisi per al control oficial de dioxines i la determinació de PCB similars a les dioxines en els productes alimentaris, estableix els mètodes de presa de mostres que s'han d'aplicar per al control oficial, per a la preparació de les mostres, el mètode d'anàlisi del contingut de dioxines i la determinació de PCB similars a les dioxines en els productes alimentaris. És a dir, s'estableixen criteris generals que han de complir la presa de mostres i els mètodes d'anàlisi, en aquesta matèria, perquè els responsables encarregats del control oficial facin mostres representatius dels productes alimentaris susceptibles de ser contaminats i perquè els laboratoris encarregats dels controls oficials utilitzin mètodes analítics de característiques comparables i, a més, adaptats a l'evolució dels coneixements científics i tècnics.

Quant als productes alimentaris implicats en la Directiva 2002/69/CE, estan recollits a l'annex del Reglament (CE) núm. 2375/2001 del Consell, de 29 de novembre de 2001, pel qual es fixa el contingut màxim de determinats contaminants en els productes alimentaris.

D'altra banda, el Reial decret 1397/1995, de 4 d'agost, pel qual s'aproven mesures addicionals sobre el control oficial de productes alimentaris, regula la qualificació tècnica i professional dels agents que intervenen en el control oficial de productes alimentaris, així com els criteris de funcionament dels laboratoris per poder fer els controls oficials.

D'altra banda, el Reial decret 1945/1983, de 22 de juny, pel qual es regulen les infraccions i sancions en matèria de defensa del consumidor i de la producció agroalimentària, estableix els procediments d'inspecció durant la presa de mostres de productes alimentaris, i especifica les mostres legals que s'han de prendre per fer el control oficial dels aliments.

El control oficial, segons recull el Reial decret 50/1993, de 15 de gener, pel qual es regula el control oficial dels productes alimentaris, inclou, entre altres operacions, la presa de mostres i l'anàlisi dels productes alimentaris. L'operació de presa de mostres exerceix un

paper primordial en la determinació del contingut de dioxines i PCB similars a les dioxines, perquè aquests contaminants es distribueixen de manera molt heterogenia en els diferents aliments que les contenen.

Per això, és important l'harmonització dels mètodes de mostreig i d'anàlisi a escala comunitària, de manera que s'aconsegueixi l'aplicació de mètodes uniformes i representatius en tots els estats membres i l'obtenció de resultats analítics similars en tot el territori comunitari.

També s'ha tingut en compte el que preveu el capítol II, apartat 1.02.11, del Codi alimentari espanyol, aprovat pel Decret 2484/1967, de 21 de setembre, en el qual es defineix aliment contaminat com qualsevol aliment que contingui toxines capaces de produir o transmetre malalties a l'home o als animals.

En definitiva, es fa necessari l'harmonització dels conceptes recollits a la Directiva 2002/69/CE esmentada, que s'incorpora a l'ordenament jurídic mitjançant aquesta disposició.

En la seva elaboració han estat escoltats els sectors afectats i les comunitats autònomes, i n'ha emès informe preceptiu la Comissió Interministerial per a l'Ordenació Alimentària.

Aquest Reial decret es dicta a l'empara del que disposa l'article 149.1.10a i 16a de la Constitució, i d'acord amb el que estableixen els articles 38 i 40.2 de la Llei 14/1986, de 25 d'abril, general de sanitat.

En virtut d'això, a proposta de la ministra de Sanitat i Consum, d'acord amb el Consell d'Estat i amb la deliberació prèvia del Consell de Ministres a la reunió del dia 23 de maig de 2003,

DISPOSO:

Article 1. *Presa de mostres per al control oficial.*

La presa de mostres per al control oficial del contingut de dioxines i policlorobifenils (PCB) similars a les dioxines en els productes alimentaris s'ha de fer d'acord amb els mètodes descrits a l'annex I d'aquest Reial decret.

Article 2. *Preparació de mostres i mètodes d'anàlisi.*

La preparació de la mostra i el mètode d'anàlisi utilitzat per al control oficial del contingut de dioxines i PCB similars a les dioxines en els productes alimentaris s'ha de fer d'acord amb els criteris descrits a l'annex II d'aquest Reial decret.

Disposició final primera. *Títol competencial.*

Aquest Reial decret es dicta a l'empara del que disposa l'article 149.1.10a i 16a de la Constitució, i d'acord amb el que estableixen els articles 38 i 40.2 de la Llei 14/1986, de 25 d'abril, general de sanitat.

Disposició final segona. *Facultats de desplegament.*

Es faculta la ministra de Sanitat i Consum per dictar, en l'àmbit de les seves competències, les disposicions necessàries per al desplegament del que estableix aquest Reial decret i, en particular, per adaptar els annexos a les modificacions introduïdes per la normativa comunitària.

Disposició final tercera. *Entrada en vigor.*

Aquest Reial decret entra en vigor l'endemà de la publicació en el «Butlletí Oficial de l'Estat».

Madrid, 23 de maig de 2003.

JUAN CARLOS R.

La ministra de Sanitat i Consum,
ANA MARÍA PASTOR JULIÁN

ANNEX I

Mètodes de presa de mostres per al control oficial dels nivells de dioxines (PCDD/PCDF) i la determinació de PCB similars a les dioxines en determinats productes alimentaris

1. Objecte i àmbit d'aplicació

Les mostres destinades al control oficial dels nivells de dioxines (PCDD/PCDF), així com a la determinació del contingut de PCB (1) similars a les dioxines en els productes alimentaris, s'han de prendre de conformitat amb els mètodes descrits a continuació. Les mostres globals obtingudes es consideren representatives dels lots o sublots dels quals s'obtinguin.

El compliment del que estableix el Reglament (CE) núm. 466/2001, pel qual es fixa el contingut màxim de determinats contaminants en els productes alimentaris, es determina en funció dels nivells trobats a les mostres de laboratori.

2. Definicions

a) Lot: quantitat de producte alimentari identificable, lliurada d'un sol cop i que presenta, a judici de l'agent responsable, característiques comunes, com ara l'origen, la varietat, el tipus d'emalatge, l'envasador, l'expedidor o l'etiquetatge.

En el cas del peix i dels productes pesquers, també ha de ser comparable la mida.

b) Sublot: part designada d'un gran lot, per aplicar-hi el mètode de presa de mostres. Cada sublot ha d'estar separat físicament i ser identificable.

c) Mostra elemental: quantitat de material pres en un únic punt del lot o sublot.

d) Mostra global: el total combinat de totes les mostres elementals preses del lot o sublot.

e) Mostra de laboratori: una part/quantitat representativa de la mostra global destinada al laboratori.

(1) Quadre FET fixat per l'OMS a l'efecte de l'avaluació del risc per a la salut humana, basat en les conclusions de la reunió de l'OMS feta a Estocolm (Suècia) del 15 al 18 de juny de 1997 [Van den Berg i altres (1998). Factors d'equivalència tòxica (FET) per als PCB, PCDD i PCDF en éssers humans i animals. Environmental Health Perspectives 106 (12), 775].

Congèneres	Valor FET	Congèneres	Valor FET
Dibenzo-p-dioxines («PCDD»)		PCB «similars a les dioxines»	PCB no-orto +
2,3,7,8-TCDD	1	PCB mono-orto	
1,2,3,7,8-PeCDD	1	PCB no-orto	
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0,1	PCB 77	0,0001
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0,1	PCB 81	0,0001
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0,1	PCB 126	0,1
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0,01	PCB 169	0,01
OCDD	0,0001		
Dibenzofurans («PCDF»)		PCB mono-orto	
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		

Abreviatures utilitzades: T = tetra; Pe = penta; Hx = hexa; Hp = hepta; O = octo
CDD = clorodibenzodioxina; CDF = clorodibenzofuran; CB = clorobifenil

3. Disposicions generals

3.1 Autoritat competent.

El Ministeri de Sanitat i Consum per al comerç extracomunitari i els òrgans competents de les comunitats autònomes per al mercat interior, sense perjudici, en aquest últim cas, de les competències del Ministeri de Defensa quan les disposicions d'aquest Reial decret afectin unitats, centres o òrgans militars.

3.2 Personal.

La presa de mostres l'ha de fer personal autoritzat a aquest efecte per les autoritats competents.

3.3 Mostreig del producte.

Qualsevol lot per analitzar ha de ser objecte d'un mostreig separat.

3.4 Precaucions.

Durant el mostreig i la preparació de les mostres de laboratori, s'han de prendre precaucions a fi d'evitar qualsevol alteració que pugui modificar el contingut en dioxines i PCB similars a les dioxines, o afectar les anàlisis o la representativitat de la mostra global.

3.5 Mostres elementals.

En la mesura que sigui possible, les mostres elementals s'han de prendre en diferents punts del lot o sublot. Qualsevol excepció a aquesta norma s'ha d'assenyalar a l'acta que preveu l'apartat 3.9.

3.6 Preparació de la mostra global.

La mostra global s'obté per barreja de totes les mostres elementals. Ha de pesar com a mínim 1 kg, llevat

que no sigui possible, per exemple, quan només s'hagi pres mostra d'un envàs.

3.7 Subdivisió de la mostra global en mostres de laboratori.

Les mostres de laboratori s'han de prendre de la mostra global homogeneïtzada, a efectes comercials, d'arbitratge o de control oficial, per a la realització de les anàlisis inicial, contradictòria i diriment, segons el que estableix el Reial decret 1945/1983, de 22 de juny, pel qual es regulen les infraccions i sancions en matèria de defensa del consumidor i de la producció agroalimentària, i altres disposicions que siguin aplicables en cada cas.

La mida de les mostres de laboratori susceptibles de servir a efectes de control oficial és suficient perquè es puguin fer com a mínim dues anàlisis.

3.8 Condicionament i tramesa de les mostres globals i de laboratori.

Cada mostra global i cada mostra de laboratori s'ha de col·locar en un recipient net, de material inert, que ofereixi protecció adequada contra qualsevol factor de contaminació, contra la pèrdua d'anàlisis per adsorció a la paret interna del contenidor i contra qualsevol dany que pugui ocasionar el transport. També s'han de prendre totes les precaucions necessàries per evitar qualsevol modificació de la composició de les mostres globals i de laboratori que pugui tenir lloc durant el transport o l'emmagatzemament.

3.9 Tancament i etiquetatge de les mostres globals i de laboratori.

Cada mostra oficial s'ha de segellar en el lloc del mostreig i s'ha d'identificar segons el que disposen el Reial decret 1945/1983 i altres disposicions que siguin aplicables en cada cas. En cada presa de mostres, s'ha d'emplenar una acta de mostreig que permeti d'identificar sense ambigüitat el lot i identificar la data i el lloc del mostreig, així com tota la informació addicional que pugui ser útil a l'analista.

4. Plans de mostreig

El mètode de mostreig utilitzat ha de garantir que la mostra global sigui representativa del lot que s'hagi de controlar.

Nombre de mostres elementals

En el cas de la llet i els olis, per als quals se suposa una distribució homogènia dels contaminants en qüestió en un lot determinat, només cal prendre tres mostres elementals per a cada lot que formi la mostra global. S'ha d'indicar el número de lot. Per als altres productes, el nombre mínim de mostres elementals que s'han de prendre del lot és el que indica el quadre 1.

El pes de la mostra global, que inclou totes les mostres elementals, ha de ser d'1 kg com a mínim, d'acord amb el que preveu l'apartat 3.6. Les mostres elementals han de ser d'un pes similar. El pes de la mostra elemental ha de ser com a mínim de 100 grams, i depèn de la mida de les partícules del lot. Qualsevol excepció a aquesta norma s'ha d'assenyalar en l'acta que preveu l'apartat 3.9. D'acord amb el que disposa la Decisió 97/747/CE de la Comissió, de 27 d'octubre de 1997, per la qual es fixen els nivells i les freqüències de mostreig, previstes al Reial decret 1749/1998, de 31 de juliol, pel qual s'estableixen les mesures de control aplicables a determinades substàncies i els seus residus en els animals vius i els seus productes, amb vista al control de deter-

minades substàncies i els seus residus en determinats productes animals (1), la mida de la mostra per als ous de gallina és de 12 ous o més (per a lots a granel i també per a paquets individuals d'acord amb el que preveuen els quadres 1 i 2).

QUADRE 1

Nombre mínim de mostres elementals que s'han de prendre del lot

Pes del lot (expressat en kg)	Nombre mínim de mostres elementals que s'han de prendre
< 50	3
50 a 500	5
> 500	10

Si el lot està format per envasos individuals, el nombre d'envasos que s'han de prendre per formar la mostra global s'indica al quadre 2.

QUADRE 2

Nombre d'envasos (mostres elementals) que s'han de prendre per formar una mostra global si el lot està format per envasos individuals

Nombre d'envasos o unitats del lot	Nombre d'envasos o unitats que s'han de prendre
1 a 25	1 envàs o unitat
26 a 100	Un 5 %, un mínim de 2 envasos o unitats
> 100	Un 5 %, com a màxim 10 envasos o unitats

5. Conformitat del lot o sublot amb l'especificació

Al laboratori de control només s'ha de fer una anàlisi de la mostra de laboratori destinada al control oficial quan el resultat obtingut d'aquesta primera anàlisi sigui un valor inferior a un 20 % del límit màxim establert al Reglament (CE) núm. 466/2001. En aquest cas, no s'ha de fer una segona anàlisi i s'accepta el lot.

Si del resultat de la primera anàlisi s'obté un valor que supera el límit màxim, en qualsevol percentatge, o està dins el 20 % per sota del límit màxim que estableix el Reglament (CE) núm. 466/2001, s'ha de fer una segona anàlisi i calcular la mitjana dels dos resultats. En aquest segon cas, el lot s'accepta si la mitjana compleix el que estableix el Reglament (CE) núm. 466/2001.

ANNEX II

Preparació de les mostres i criteris que han de complir els mètodes d'anàlisi utilitzats en el control oficial dels nivells de dioxines (PCDD/PCDF) i en la determinació de PCB similars a les dioxines en determinats productes alimentaris

1. Objecte i àmbit d'aplicació

Aquests requisits s'han d'aplicar a les anàlisis dels productes alimentaris fets a efectes del control oficial del nivell de dioxines [dibenzo-p-dioxines policlorades (PCDD) i dibenzofurans policlorats (PCDF)] i de la determinació de PCB semblants a les dioxines.

El control de la presència de dioxines en els productes alimentaris es pot fer mitjançant una estratègia que inclo-

gui un mètode de detecció selectiva, a fi de seleccionar les mostres el contingut de les quals en dioxines i PCB semblants a les dioxines sigui menys d'un 30-40 % inferior al nivell considerat o excedeixi aquest nivell. El contingut de dioxines en les mostres s'ha de determinar mitjançant un mètode de confirmació.

Els mètodes de detecció selectiva són els que s'utilitzen per detectar la presència de dioxines i PCB similars a dioxines al nivell considerat. Aquests mètodes es caracteritzen per la capacitat d'analitzar un elevat nombre de mostres en poc temps, a fi de detectar possibles positius. Estan específicament dissenyats per evitar resultats falsos negatius.

Són mètodes de confirmació els que proporcionen una informació completa o complementària que permet la identificació i quantificació inequívoca de les dioxines i els PCB similars a les dioxines al nivell considerat.

2. Context

Tenint en compte que les mostres ambientals i biològiques (incloses les mostres de productes alimentaris) contenen, en general, mesclades complexes de diferents congèneres de dioxines, s'ha desenvolupat el concepte de factors d'equivalència tòxica (FET) a fi de facilitar l'avaluació dels riscos. Aquests FET permeten expressar concentracions de mesclades PCDD i PCDF substituïts en posicions 2,3,7 i 8, i, més recentment, d'algunes formes de PCB amb clors substituïts en posicions no-orto i mono-orto que presenten una activitat similar a les dioxines en equivalents tòxics (EQT) de 2,3,7,8-TCDD, segons indica la nota 1 de l'annex I.

Les concentracions de cada substància en una mostra donada es multipliquen pels respectius FET i se sumen a continuació per obtenir la concentració total de compostos similars a dioxines expressats en EQT.

El concepte de «límit superior» exigeix la utilització del límit de quantificació per a la contribució de cada congènere no quantificat a l'EQT.

El concepte de «límit inferior» exigeix la utilització de zero per a la contribució de cada congènere no quantificat a l'EQT.

El concepte de «límit intermedi» exigeix la utilització de la meitat del límit de quantificació per calcular la contribució de cada congènere no quantificat a l'EQT.

3. Requisits de garantia de qualitat que ha de complir la preparació de les mostres

a) S'han de prendre les mesures pertinents per evitar la contaminació encreuada de cada fase del procediment de presa de mostres i d'anàlisi.

b) Les mostres han de ser emmagatzemades i transportades en recipients de vidre, alumini, polipropilè o polietilè. S'han d'eliminar del recipient que conté la mostra les restes de pols de paper. Els recipients de vidre s'han de rentar amb dissolvents sotmesos prèviament a un control de detecció de dioxines.

c) L'emmagatzemament i el transport de les mostres s'han de fer de manera que es preservi la integritat de la mostra de producte alimentari.

d) En la mesura que sigui pertinent, cada mostra de laboratori s'ha de triturar finament i s'ha de barrejar minuciosament utilitzant un procediment reconegut que garanteixi una homogeneïtzació completa (per exemple, trituració que permeti passar a través d'un tamís d'1 mm); en cas que el contingut d'humitat sigui massa elevat, les mostres s'han d'assecar abans de triturar-les.

e) Fer una anàlisi en blanc, per la qual cosa s'ha de fer tot el procediment analític i ometre únicament la mostra.

f) El pes de la mostra utilitzada per a l'extracció ha de ser suficient perquè es compleixin els requisits relatius a la sensibilitat.

g) Hi ha molts procediments específics per a la preparació de mostres que són satisfactoris i es poden utilitzar per als productes considerats. Els procediments han de ser validats d'acord amb les directrius acceptades internacionalment.

4. Requisits que han de complir els laboratoris

a) Els laboratoris han de demostrar l'eficàcia d'un mètode al nivell considerat, per exemple, 0,5, 1 i 2 vegades el nivell considerat amb un coeficient de variació acceptable per a anàlisis repetides. Pel que fa als criteris de validesa, vegeu l'apartat 5.

b) El límit de quantificació en un mètode de confirmació s'ha de situar en un interval d'aproximadament una cinquena part del nivell considerat, a fi de garantir coeficients de variació acceptables en l'interval de referència.

c) Com a mesures internes de garantia de qualitat, s'han de fer regularment controls en blanc i experiments amb mostres enriquides o anàlisis de mostres de control (preferentment, si n'hi ha, material de referència certificat).

d) La participació amb èxit en estudis entre laboratoris que avaluen la competència del laboratori és la millor manera de demostrar la seva aptitud per fer anàlisis específiques. Això no obstant, la participació amb èxit en estudis entre laboratoris quan es tracta, per exemple, de mostres de terres o d'aigües residuals no prova necessàriament la competència en l'àmbit de les mostres d'aliments o pinsos, que tenen nivells de contaminació més baixos. Per tant, la participació continuada en estudis entre laboratoris per a la detecció de dioxines i PCB similars a les dioxines a les matrius d'aliments/pinsos és obligatòria.

e) De conformitat amb el que disposa el Reial decret 1397/1995, de 4 d'agost, pel qual s'aproven mesures addicionals sobre el control oficial dels productes alimentaris, els laboratoris han d'estar acreditats per un organisme reconegut que operi de conformitat amb la Guia ISO 58, a fi de garantir que compleixen la garantia de qualitat analítica. Aquesta acreditació ha de ser conforme a la norma ISO/IEC/17025:1999.

5. Requisits per als procediments analítics aplicables a les dioxines i els PCB similars a les dioxines

Requisits bàsics d'acceptació dels procediments analítics:

a) Sensibilitat elevada i límits de detecció baixos. En el cas dels PCDD i PCDF, els límits de detecció s'han de situar en el picogram EQT (10^{-12} g), per l'extrema toxicitat d'alguns d'aquests compostos. Se sap que els PCB se solen presentar en quantitats més elevades que els PCDD i PCDF. Per a la majoria dels congèneres del grup dels PCB, és suficient una sensibilitat en l'interval de nanograms (10^{-9} g). Això no obstant, per mesurar els congèneres de PCB similars a les dioxines més tòxics (en particular, els congèneres substituïts no-orto) s'ha d'aconseguir la mateixa sensibilitat que per als PCDD i els PCDF.

b) Selectivitat elevada (especificitat). És necessari establir una distinció entre els PCDD, els PCDF i els PCB similars a les dioxines, i una multitud d'altres compostos extrets simultàniament de la mostra, capaços d'interferir, i que hi estan presents en concentracions de fins a diversos ordres de magnitud superiors a les dels analítics considerats. Pel que fa als mètodes de cromatografia de gasos/espectrometria de masses (GC/MS), és neces-

sari distingir entre diversos congèneres, en particular entre els tòxics (és a dir, els disset PCDD i PCDF substituïts en 2,3,7 i 8 i els PCB similars a les dioxines) i altres congèneres. Els bioassajos han de permetre una determinació selectiva dels valors EQT com a suma de PCDD, PCDF i PCB similars a les dioxines.

c) Exactitud elevada (veracitat i precisió). La determinació ha de proporcionar una estimació vàlida de la concentració real en una mostra. A fi d'evitar que el resultat de l'anàlisi d'una mostra sigui rebutjat a causa de l'escassa fiabilitat de l'estimació d'EQT, és necessari aconseguir un alt grau d'exactitud (exactitud del mesurament; grau de concordança entre el resultat del mesurament i el valor real o atribuït al mesurament). L'exactitud s'expressa com a veracitat (diferència entre el valor mitjà mesurat per a un anàlit en un material certificat i el seu valor certificat, expressat en percentatge de l'esmentat valor) i com a precisió (la precisió se sol calcular com a desviació típica; inclou la repetibilitat i reproduïbilitat i indica la diferència entre els resultats obtinguts aplicant diverses vegades el procediment experimental en condicions establertes).

Els mètodes de cribratge poden incloure bioassajos i mètodes GC/MS; els mètodes de confirmació són mètodes de cromatografia de gasos d'alta resolució/espectrometria de masses d'alta resolució (HRGC/HRMS). S'han de complir els criteris següents per al valor EQT total:

	Mètodes de cribratge	Mètodes de confirmació
Percentatge de falsos negatius	< 1 %	- 20 % a + 20 %
Veracitat		
CV (coeficient de variació)	< 30 %	< 15 %

6. *Requisits específics que han de complir els mètodes CG/MS utilitzats amb finalitats de cribratge o de confirmació*

a) A fi de validar el procediment analític, cal afegir patrons interns de PCDD/F marcats amb ^{13}C i amb clors substituïts en 2,3,7 i 8 (i patrons interns de PCB similars a les dioxines marcats amb ^{13}C , quan sigui necessari determinar els PCB similars a les dioxines) des de l'inici o abans de començar el mètode analític, per exemple prèviament a la fase d'extracció. S'ha d'afegir almenys un congènere per a cada grup homòleg de PCDD/F tetra a octoclorats (i almenys un congènere per a cada un dels grups homòlegs de PCB similars a les dioxines, quan sigui necessari determinar els PCB similars a les dioxines) (alternativament, s'ha d'utilitzar per al control de PCDD/F i de PCB similars a les dioxines almenys un congènere per a cada funció de registre de ions seleccionats per a l'espectrometria de masses). Es recomana utilitzar, sobretot en els mètodes de confirmació, el conjunt dels disset patrons interns de PCDD/F substituït en 2,3,7 i 8 i marcats amb ^{13}C , així com la totalitat dels dotze patrons interns de PCB similars a les dioxines marcats amb ^{13}C (en cas que sigui necessari determinar els PCB similars a les dioxines).

També s'han de determinar els factors de resposta relatiu en el cas dels congèneres per als quals no s'afegeix cap anàleg marcat amb ^{13}C , mitjançant la utilització de solucions de calibratge apropiades.

b) Per als productes alimentaris d'origen vegetal i els productes alimentaris d'origen animal amb un contingut de greix inferior al 10 %, és obligatori afegir

patrons interns abans de procedir a l'extracció. Pel que fa als productes alimentaris d'origen animal amb un contingut de greix superior al 10 %, els patrons interns es poden afegir abans de la fase d'extracció o després de l'extracció de greixos. Convé validar adequadament l'eficàcia de l'extracció, en funció de la fase en què s'introdueixin els patrons interns i si els resultats notificats es refereixen al producte o als greixos.

c) Prèviament a l'anàlisi mitjançant CG/MS, s'han d'afegir un o dos patrons de recuperació (substitut).

d) Cal fer un control de recuperació. Per als mètodes de confirmació, els percentatges de recuperació de cada patró intern s'han de situar en un interval del 60 % al 120 %. En el cas de congèneres individuals, en particular per a algunes dibenzodioxines i dibenzofurans hepta i octoclorats, es podrien acceptar percentatges de recuperació inferiors o superiors, sempre que la seva contribució al valor EQT no superi el 10 % del valor total d'EQT (tenint únicament en compte els PCDD/F). Per als mètodes de cribratge, els percentatges de recuperació s'han de situar en un interval del 30 % al 140 %.

e) És convenient separar les dioxines dels compostos clorats interferents, com ara els PCB i els èters difenilics clorats, mitjançant tècniques de cromatografia adequades (de preferència amb una columna de florasil, alumina i/o carboni).

La separació dels isòmers per cromatografia de gasos hauria de ser suficient (< 25 % de pic a pic entre 1,2,3,4,7,8-HxCDF i 1,2,3,6,7,8-HxCDF).

f) La determinació s'ha de fer d'acord amb el mètode EPA 1613, revisió B: dioxines i furans tetra a octoclorats per dilució d'isòtops amb HRGC/HRMS o un altre mètode amb criteris de realització equivalents.

g) La diferència entre el límit superior i el límit inferior de determinació no ha d'excedir el 20 % per als productes alimentaris la contaminació per dioxines dels quals sigui d'aproximadament 1 pg EQT-OMS/G greix (tenint únicament en compte els PCDD/PCDF). En el cas dels productes alimentaris amb baix contingut de greix, s'han d'aplicar els mateixos requisits per a nivells de contaminació de l'ordre d'1 pg EQT-OMS/G de producte. Per a nivells de contaminació inferiors, per exemple 0,50 pg de producte EQT-OMS/G, la diferència entre el límit superior i el límit inferior es pot situar en un interval del 25 % al 40 %.

7. *Mètodes analítics de detecció selectiva*

7.1 Introducció.

És possible aplicar diferents enfocaments analítics en un mètode de detecció selectiva: un enfocament exclusivament de cribratge i un enfocament quantitatiu.

Tècnica de cribratge

La resposta de les mostres es compara amb la d'una mostra de referència en el nivell considerat. Les mostres la resposta de les quals és inferior a la de la mostra de referència es consideren negatives, i les mostres la resposta de les quals és superior es consideren positives. Requisits:

1r En cada sèrie d'assajos s'han d'utilitzar blancs i mostres de referència, extretes i analitzades alhora i en condicions idèntiques. La resposta de la mostra de referència ha de ser clarament superior a la del blanc.

2n S'han d'incloure altres mostres de referència amb una concentració equivalent a 0,5 vegades i 2 vegades el nivell considerat, a fi de demostrar l'eficàcia de l'assaig en l'interval de referència per al control del nivell considerat.

3r Quan s'analitzin altres matrius, s'ha de demostrar la validesa de les mostres de referència, utilitzant pre-

ferentment mostres amb una concentració en EQT, establerta mitjançant un mètode HRGC/HRMS, que sigui similar a la de la mostra de referència o, si no, d'un blanc enriquit fins a concentracions del mateix ordre.

4t Com que en els bioassajos no es poden utilitzar patrons interns, les proves de repetibilitat són molt importants per obtenir dades sobre la desviació típica en una sèrie d'assajos. El coeficient de variació ha de ser inferior al 30 %.

5è En el cas dels bioassajos, s'han d'identificar clarament els compostos diana, les possibles interferències i els nivells màxims tolerables de blanc.

Enfocament quantitatiu

L'enfocament quantitatiu exigeix diverses sèries de dilucions del patró, processos de neteja i mesuraments dobles o triples, així com assajos en blanc i controls de recuperació. El resultat es pot expressar en EQT, i donar per fet que els composts responsables del senyal compleixen el principi d'EQT. Per a això, es pot utilitzar el TCDD (o una mescla de patrons de dioxines/furans), a fi de produir una corba de calibratge que permeti de calcular el nivell d'EQT en l'extracte i, per tant, en la mostra. A continuació, aquest resultat es corregeix amb el nivell d'EQT calculat per a un blanc (per tenir en compte les impureses procedents dels dissolvents o productes químics utilitzats) i per a la recuperació (calculada a partir del nivell d'EQT en una mostra de control de qualitat pròxima al límit considerat). És fonamental tenir en compte que una part de la pèrdua de recuperació aparent es pot deure a efectes matricials i/o a diferències entre els valors de FET en els bioassajos i els valors oficials de FET definits per l'OMS.

7.2 Requisits aplicables als mètodes analítics de cribratge.

1r El cribratge es pot fer utilitzant mètodes analítics GC/MS o bioassajos. Per als mètodes GC/MS s'han d'utilitzar els criteris establerts a l'apartat 6. Pel que fa als bioassajos cel·lulars i els bioassajos realitzats amb kits, els requisits específics aplicables figuren, respectivament, en els apartats 7.3 i 7.4.

2n És necessari proporcionar informació sobre el nombre de resultats falsos positius i falsos negatius obtinguts per a una àmplia sèrie de mostres per sota i per sobre del nivell màxim o llindar d'intervenció, en comparació amb el contingut en EQT determinat mitjançant un mètode analític de confirmació. Els percentatges reals de falsos negatius han de ser inferiors a l'1 %. La taxa de falses mostres positives ha de ser prou baixa perquè el mètode de cribratge sigui eficaç.

3r Els resultats positius s'han de confirmar sempre mitjançant un mètode analític de confirmació (HRGC/HRMS). A més, les mostres corresponents a una àmplia gamma d'EQT han de ser confirmades per un mètode HRGC/HRMS (aproximadament del 2 % al 10 % de les mostres negatives). S'ha de facilitar informació sobre la correspondència entre els resultats dels bioassajos i els del mètode HRGC/HRMS.

7.3 Requisits específics aplicables als bioassajos cel·lulars.

1r Quan s'efectuï un bioassaig, s'ha d'utilitzar a cada prova una sèrie de concentracions de referència de TCDD o una mescla de dioxines/furans (corba de resposta amb $R^2 > 0,95$ per a una dosi completa). Tanmateix, a efectes del cribratge, es pot utilitzar en l'anàlisi de les mostres de baixa concentració una corba detallada als nivells baixos.

2n Per als resultats del bioassaig en un interval de temps constant, convé utilitzar una concentració de refe-

rència de TCDD (aproximadament tres vegades el límit de quantificació) en una fitxa de control de qualitat. Una altra possibilitat és utilitzar la resposta relativa d'una mostra de referència comparada amb una línia de calibratge de TCDD, perquè la resposta de les cèl·lules depèn de múltiples factors.

3r Es recomana registrar i verificar els gràfics de control de qualitat (QC) per a cada tipus de material de referència, a fi de garantir que el resultat és conforme a les indicacions establertes.

4t El punt d'entrada de la dilució de la mostra utilitzada s'ha de situar a la part lineal de la corba de resposta, en particular per als càlculs quantitius. Les mostres situades per sobre de la part lineal de la corba de resposta s'han de tornar a diluir i analitzar. Per aquest motiu, s'aconsella fer l'anàlisi amb tres dilucions o més alhora.

5è La desviació típica no ha de ser superior al 15 % quan es porta a terme una determinació en triplicat per a cada dilució de la mostra, ni superior al 30 % per a tres anàlisis independents.

6è El límit de detecció es pot fixar en tres vegades la desviació típica del blanc de dissolvent o de la resposta de fons. Un altre mètode consisteix a aplicar una resposta superior a la resposta de fons (factor d'inducció 5 vegades superior al blanc de dissolvent) calculada a partir de la corba de calibratge del dia. El límit de quantificació es pot fixar en 5 a 6 vegades la desviació típica del blanc de dissolvent o de la resposta de fons o aplicar una resposta superior a la resposta de fons (factor d'inducció 10 vegades superior al blanc de dissolvent) calculada a partir de la corba de calibratge del dia.

7.4 Requisits específics aplicables als bioassajos realitzats per mitjà de kits (2).

1r S'han de respectar les instruccions del fabricant pel que fa a la preparació de les mostres i les anàlisis.

2n No s'han d'utilitzar els kits després de la data de caducitat indicada.

3r No s'han d'utilitzar materials o components previstos per a altres kits.

4t Els kits s'han de conservar i utilitzar en les condicions de temperatura de conservació i d'utilització indicades.

5è El límit de detecció acceptable per als immunoassajos es defineix com a tres vegades la desviació típica, per a una sèrie de deu anàlisis repetides del blanc, dividit pel valor del pendent de l'equació de regressió lineal.

6è Convé utilitzar patrons de referència per a les anàlisis de laboratori, a fi de garantir que la capacitat de resposta al patró se situa en un interval acceptable.

8. Notificació dels resultats

En la mesura que el procediment analític ho permeti, els resultats de l'anàlisi han d'incloure els nivells dels congèneres individuals de PCDD/F i PCB i s'ha d'indicar com a límit inferior, límit superior i límit intermedi, a fi d'incloure el màxim d'informació possible en la notificació dels resultats. Això permet interpretar els resultats en funció dels requisits específics.

L'informe també ha d'indicar el contingut en lípids de la mostra, així com el mètode utilitzat per a l'extracció.

S'han d'indicar els percentatges de recuperació de cada patró intern en cas que aquests percentatges estiguin fora de l'interval esmentat a l'apartat 6, en cas que se superi el nivell màxim, i en els altres casos quan se sol·licitin.

(2) Fins ara, els bioassajos realitzats mitjançant kits disponibles en el mercat no han demostrat prou sensibilitat i fiabilitat per poder ser utilitzats amb finalitats de detecció de la presència de dioxines en els nivells exigits per a les mostres de productes alimentaris i de pinsos.