

FEDERAAL AGENTSCHAP
VOOR DE VEILIGHEID VAN DE VOEDSELKETEN

N. 2006 — 264

[C — 2006/22008]

16 JANUARI 2006. — Ministerieel besluit tot vaststelling van de criteria voor analysemethoden voor de officiële controle op de maximumgehalten aan lood, cadmium, kwik, 3-MCPD, dioxines en voor de gehalteebeeping van dioxineachtige PCB's in voedingsmiddelen

De Minister van Volksgezondheid,

Gelet op het koninklijk besluit van 22 februari 2001 houdende organisatie van de controles die worden verricht door het Federaal Agentschap voor de Veiligheid van de Voedselketen en tot wijziging van diverse wettelijke bepalingen, bekrachtigd bij de wet van 19 juli 2001, inzonderheid op artikel 3, § 5, 4e lid;

Gelet op het ministerieel besluit van 13 maart 2003 tot vaststelling van de criteria voor analysemethoden voor de officiële controle op de maximumgehalten aan dioxines en voor de gehalteebeeping van dioxineachtige PCB's in voedingsmiddelen, gewijzigd bij het ministerieel besluit van 10 maart 2005;

Gelet op de richtlijn 2001/22/EG van de Commissie van 8 maart 2001 tot vaststelling van bemonsteringswijzen en analysemethoden voor de officiële controle op de maximumgehalten aan lood, cadmium, kwik en 3-MCPD in levensmiddelen, gewijzigd bij richtlijn 2005/4/EG van de Commissie van 19 januari 2005;

Gelet op de richtlijn 2002/69/EG van de Commissie van 26 juli 2002 tot vaststelling van bemonsteringswijzen en analysemethoden voor de officiële controle op dioxinen en de gehalteebeeping van dioxineachtige PCB's in levensmiddelen, gewijzigd bij Richtlijn 2004/44 van 13 april 2004;

Gelet op de aanbeveling 2002/201/EG van de Commissie van 4 maart 2002 inzake de reductie van de aanwezigheid van dioxines, furanen en PCB's in diervoeder en levensmiddelen;

Gelet op het advies nr. 39.406/3 van de Raad van State, gegeven op 6 december 2005, met toepassing van artikel 84, § 1^{er}, eerste lid, 1^o, van de gecoördineerde wetten op de Raad van State,

Besluit :

Artikel 1. De analyses met het oog op de officiële controle op de naleving van de maximale gehalten aan lood, cadmium, kwik, 3-MCPD vastgelegd in verordening (EG) nr. 466/2001 van de Commissie van 8 maart 2001, moeten worden uitgevoerd overeenkomstig bijlage I.

Art. 2. De analyses met het oog op de officiële controle op de naleving van de maximale gehalten aan dioxines en voor de gehalteebeeping van dioxineachtige PCB's vastgelegd in verordening (EG) nr. 466/2001 van de Commissie van 8 maart 2001, moeten worden uitgevoerd overeenkomstig bijlage II.

Art. 3. Het ministerieel besluit van 13 maart 2003 tot vaststelling van de criteria voor analysemethoden voor de officiële controle op de maximumgehalten aan dioxines en voor de gehalteebeeping van dioxineachtige PCB's in voedingsmiddelen, gewijzigd bij het ministerieel besluit van 10 maart 2005, wordt opgeheven.

Art. 4. Dit besluit treedt in werking op 1 februari 2006.

Brussel, 16 januari 2006.

R. DEMOTTE

AGENCE FEDERALE
POUR LA SECURITE DE LA CHAINE ALIMENTAIRE

F. 2006 — 264

[C — 2006/22008]

16 JANVIER 2006. — Arrêté ministériel portant fixation des critères pour les méthodes d'analyse pour le contrôle officiel des teneurs maximales en plomb, cadmium, mercure, 3-MCPD, dioxines et pour le dosage des PCB de type dioxine dans les denrées alimentaires

Le Ministre de la Santé publique,

Vu l'arrêté royal du 22 février 2001 organisant les contrôles effectués par l'Agence fédérale pour la Sécurité de la Chaîne alimentaire et modifiant diverses dispositions légales, confirmé par la loi du 19 juillet 2001, notamment l'article 3, § 5, alinéa 4;

Vu l'arrêté ministériel du 13 mars 2003 portant fixation des critères pour les méthodes d'analyse pour le contrôle officiel des teneurs maximales en dioxines et le dosage des PCB de type dioxines dans les denrées alimentaires, modifié par l'arrêté ministériel du 10 mars 2005;

Vu la directive 2001/22/CE de la Commission du 8 mars 2001 portant fixation des modes de prélèvement d'échantillons et de méthodes d'analyse pour le contrôle officiel des teneurs en plomb, cadmium, mercure et 3-MCPD dans les denrées alimentaires, modifiée par la directive 2005/4/CE de la Commission du 19 janvier 2005;

Vu la directive 2002/69/CE de la Commission du 26 juillet 2002 portant fixation des modes de prélèvement d'échantillons et des méthodes d'analyse pour le contrôle officiel des dioxines et le dosage des PCB de type dioxine dans les denrées alimentaires, modifiée par la Directive 2004/44 du 13 avril 2004 ;

Vu la recommandation 2002/201/CE de la Commission du 4 mars 2002 sur la réduction de la présence de dioxines, de furanes et de PCB dans les aliments pour animaux et les denrées alimentaires;

Vu l'avis n° 39.406/3 du Conseil d'Etat, donné le 6 décembre 2005 en application de l'article 84, § 1^{er}, alinéa 1^{er}, 1^o, des lois coordonnées sur le Conseil d'Etat,

Arrête :

Article 1^{er}. Les analyses en vue du contrôle officiel des teneurs maximales de plomb, cadmium, mercure, 3-MCPD, fixées dans le règlement (CE) n° 466/2001 de la Commission du 8 mars 2001, doivent être exécutées conformément à l'annexe I.

Art. 2. Les analyses en vue du contrôle officiel des teneurs maximales de dioxines et pour le dosage des PCB de type dioxine fixées dans le règlement (CE) n° 466/2001 de la Commission du 8 mars 2001, doivent être exécutées conformément à l'annexe II.

Art. 3. L'arrêté ministériel du 13 mars 2003 portant fixation des critères pour les méthodes d'analyse pour le contrôle officiel des teneurs maximales en dioxines et pour le dosage des PCB de type dioxine dans les denrées alimentaires, modifié par l'arrêté ministériel du 10 mars 2005, est abrogé.

Art. 4. Le présent arrêté entre en vigueur le 1^{er} février 2006.

Bruxelles, le 16 janvier 2006.

R. DEMOTTE

Bijlage I

Bereiding van de monsters en algemene criteria voor de analysemethoden die worden gebruikt voor de officiële controle op de gehalten aan lood, cadmium, kwik en 3-MCPD van bepaalde voedingsmiddelen

1. Voorzorgsmaatregelen

Eerste vereiste is dat een representatief, homogeen laboratoriummonster wordt verkregen zonder dat daarbij secundaire verontreinigingen worden geïntroduceerd.

2. Monstervoorbereiding

Ongeacht de procedure moet op de volgende punten worden gelet. Bij tweekleppige weekdieren, schaaldieren en kleine vissen die doorgaans in hun geheel worden gegeten, moeten de ingewanden in het te analyseren materiaal worden meegenomen. In het algemeen geldt dat alleen het eetbare gedeelte wordt onderzocht behalve bij specifieke bepalingen.

3. Analyse

De voor de analyse van lood in wijn te gebruiken methode is vastgelegd in hoofdstuk 35 van de bijlage bij Verordening (EEG) Nr. 2676/90 van de Commissie tot vaststelling van de in de wijnsector toe te passen analysemethoden. Voor de rest worden geen analysemethoden vastgelegd, maar er moet voldaan worden aan de criteria in tabellen 1 (voor lood, cadmium en kwik) en 2 (voor 3-MCPD).

Tabel 1 : Prestatiecriteria van analysemethoden voor lood, cadmium en kwik

Parameter	Waarde/opmerking
Van toepassing op	De in Verordening (EG) nr. 466/2001 van de Commissie genoemde levensmiddelen
Aantoonbaarheidsgrens	Maximaal één tiende van de in Verordening (EG) nr. 466/2001 van de Commissie vastgelegde waarde, behalve als de voor lood vastgelegde waarde kleiner is dan 0,1 mg/kg. In dat geval maximaal één vijfde van de vastgelegde waarde.
Bepaalbaarheidsgrens	Maximaal één vijfde van de in Verordening (EG) nr. 466/2001 van de Commissie vastgelegde waarde, behalve als de voor lood vastgelegde waarde kleiner is dan 0,1 mg/kg. In dat geval maximaal twee vijfde van de vastgelegde waarde.
Precisie	HORRAT _r - of HORRAT _R -waarden kleiner dan 1,5 in het validatieonderzoek
Terugvindingspercentage	80-120 % (zoals aangegeven in het ringonderzoek)
Specificiteit	Vrij van matrixeffecten en spectrale storingen

Met :

r = herhaalbaarheid : waarde waarvoor geldt dat het absolute verschil tussen de resultaten van twee afzonderlijke bepalingen die onder herhaalbaarheidsomstandigheden zijn uitgevoerd (hetzelfde monster, dezelfde persoon, dezelfde apparatuur, hetzelfde laboratorium, en kort na elkaar) met de gekozen waarschijnlijkheid (in principe 95 %) daarbeneden ligt, zodat $r = 2,8 \times s_r$.

s_r = standaardafwijking, berekend op basis van resultaten die onder herhaalbaarheidsomstandigheden zijn verkregen.

RSD_R = relatieve standaardafwijking, berekend op basis van resultaten die onder herhaalbaarheidsomstandigheden zijn verkregen $[(s_r / \bar{x}) \times 100]$, waarbij \bar{x} het gemiddelde is van de resultaten voor alle laboratoria en alle monsters.

R = reproduceerbaarheid : waarde waarvoor geldt dat het absolute verschil tussen de resultaten van afzonderlijke bepalingen die onder reproduceerbaarheidsomstandigheden zijn uitgevoerd (identiek monstermateriaal, bepalingen met de gestandaardiseerde testmethode uitgevoerd door personen in verschillende laboratoria) met de gekozen waarschijnlijkheid (in principe 95 %) daarbeneden ligt, zodat $R = 2,8 \times s_R$.

s_R = standaardafwijking, berekend op basis van resultaten die onder reproduceerbaarheidsomstandigheden zijn verkregen.

RSD_R = relatieve standaardafwijking, berekend op basis van resultaten die onder reproduceerbaarheidsomstandigheden zijn verkregen $[(s_R / \bar{x}) \times 100]$

$HORRAT_r$ = de waargenomen RSD_r gedeeld door de met behulp van de vergelijking van Horwitz geschatte RSD_r , onder de aanname $r = 0,66R$.

$HORRAT_R$ = de waargenomen RSD_R gedeeld door de met behulp van de vergelijking van Horwitz berekende RSD_R .

Tabel 2 : Prestatiecriteria van analysemethoden voor 3-MCPD

Criterium	Aanbevolen waarde	Concentratie
Veldblanco's	Onder de aantoonbaarheidsgrens	-
Terugvindingspercentage	75-110 %	Alle
Bepaalbaarheidsgrens	Maximaal 10 g/kg op basis van de droge stof	-
Standaardafwijking van de veldblancometing	< 4 µg/kg	-
Eigen betrouwbaarheidsschattingen – standaardafwijking van herhaalde metingen bij verschillende concentraties	< 4 µg/kg < 6 µg/kg < 7 µg/kg < 8 µg/kg < 15 µg/kg	20 µg/kg 30 µg/kg 40 µg/kg 50 µg/kg 100 µg/kg

Prestatiekenmerken — onzekerheidsfunctie-aanpak

Om na te gaan of de door het laboratorium te gebruiken analysemethode geschikt is, kan evenwel ook een onzekerheidsfunctie-aanpak worden gebruikt. Het laboratorium kan een methode gebruiken die resultaten produceert binnen een maximumstandaardonzekerheid : de maximumstandaardonzekerheid kan worden berekend aan de hand van de volgende formule :

$$U_f = [(LOD/2)^2 + (\alpha C)^2]^{1/2}$$

waarbij :

U_f de maximumstandaardonzekerheid is

LOD de aantoonbaarheidsgrens van de methode is

C de betrokken concentratie is

α een numerieke factor is die afhangt van de waarde van C .

De te gebruiken waarden staan in de volgende tabel :

C (µg/kg)	α
≤ 50	0,2
51-500	0,18
501-1 000	0,15
1 001-10 000	0,12
$\geq 10 000$	0,1

en U de uitgebreide onzekerheid is, met een dekkingsfactor 2, die een betrouwbaarheidsniveau van ongeveer 95 % oplevert.

Indien een analysemethode resultaten oplevert met onzekerheidsmetingen lager dan de maximumstandaard-onzekerheid, dan is de methode even geschikt als een methode die aan de hierboven vermelde prestatiecriteria voldoet.

4. Het analyseverslag

Het analytische resultaat wordt geregistreerd al dan niet met een correctie op basis van de terugvinding. De registratiewijze en het terugvindingspercentage moeten worden vermeld. De resultaten moeten worden uitgedrukt in dezelfde eenheden als de maximumgehalten vastgesteld in verordening (EG) Nr. 466/2001 van de Commissie. Op het analyseverslag wordt enkel het gemiddelde vermeld van minimaal twee onafhankelijke bepalingen.

Waar mogelijk wordt een schatting van de juistheid van de analyses gemaakt door geschikte gecertificeerde referentiematerialen in de analyse mee te nemen.

Daarbij dient de analist nota te nemen van het « European Commission Report on the relationship between analytical results, the measurement of uncertainty, recovery factors and the provisions in EU food legislation » (1).

Het analysesresultaat wordt gerapporteerd als $x \pm U$, waarbij x het analysesresultaat en U de meetonzekerheid is.

5. Overeenstemming van de partij of subpartij met de eisen

Het controlelaboratorium voert op het laboratoriummonster voor controledoelinden minimaal twee onafhankelijke bepalingen uit en berekent het gemiddelde van de resultaten daarvan.

De partij wordt aanvaard als het gemiddelde niet hoger is dan het desbetreffende maximumgehalte als vastgelegd in verordening (EG) nr. 466/2001, met inachtneming van de uitgebreide meetonzekerheid en de correctie voor terugvinding (1).

Als het gemiddelde het betrokken maximumgehalte buiten redelijke twijfel overschrijdt, met inachtneming van de uitgebreide meetonzekerheid en de correctie voor terugvinding, wordt de partij geweigerd.

REFERENTIES

(1) European Commission Report on the relationship between analytical results, the measurement of uncertainty, recovery factors and the provisions in EU food legislation, 2004

(<http://europa.eu.int/comm/food/food/chemicalsafety/contaminants/sampling/en.htm>). »

Gezien om te worden gevoegd bij ons ministerieel besluit van 16 januari 2006 tot vaststelling van de wijze van monstervoorbereiding en criteria voor de analysemethoden voor de officiële controle de maximumgehalten aan lood, cadmium, kwik, 3-MCPD, dioxines en voor de gehaldebepaling van dioxineachtige PCB's in voedingsmiddelen.

R. DEMOTTE

Bijlage II

Monstervoorbereiding en voorschriften voor de ontledingmethoden die worden gebruikt voor de officiële controle op het gehalte aan dioxinen (PCDD'S/PCDF'S) en de gehaldebepaling van dioxineachtige PCB's in bepaalde levensmiddelen

1. Doel en toepassingsgebied

Deze voorschriften gelden voor de ontleding van levensmiddelen voor de officiële controle op het gehalte aan dioxinen (polychloordibenzo-p-dioxinen, PCDD's, en polychloordibenzofuranen, PCDF's) en de gehaldebepaling van dioxineachtige PCB's.

De aanwezigheid van dioxinen in levensmiddelen kan worden nagegaan aan de hand van een screeningmethode waarmee monsters met een gehalte aan dioxinen en dioxineachtige PCB's dat minder dan 30-40 % onder het betrokken concentratieniveau ligt of dat overschrijdt, worden uitgeselecteerd. De dioxineconcentratie in deze uitgeselecteerde monsters moet worden bepaald of bevestigd met behulp van een bevestigingsmethode voor de onduidelijke identificatie en bepaling van dioxinen en dioxineachtige PCB's op het betrokken concentratieniveau.

2. Achtergrond

Aangezien milieu monsters en biologische monsters (met inbegrip van monsters van levensmiddelen) in de regel complexe mengsels van verschillende dioxinecongeneren bevatten, is het begrip toxische equivalentiefactoren (TEF's) ontwikkeld om de risicobeoordeling te vergemakkelijken. Deze TEF's zijn vastgesteld om de concentraties van mengsels van 2,3,7,8-gesubstitueerde PCDD's en PCDF's, en later ook een aantal non-ortho- en mono-ortho-chloorgesubstitueerde PCB's die dioxineachtige activiteit bezitten, uit te drukken in toxische equivalenten (TEQ's) 2,3,7,8-TCDD.

Tabel TEF's van de WHO voor de beoordeling van de risico's voor de mens, gebaseerd op de conclusies van de bijeenkomst van de Wereldgezondheidsorganisatie in Stockholm, Zweden, 15-18 juni 1997 (Van den Berg e.a., (1998). Toxic Equivalency Factors (TEFs) for PCBs, PCDDs, PCDFs for Humans and for Wildlife. Environmental Health Perspectives, 106 (12), 775).

Congeneer	TEF	Congeneer	TEF
Dibenzo-p-dioxinen (« PCDD's »)		« Dioxineachtige » PCB's Non-ortho-PCB's + Mono-ortho-PCB's	
2,3,7,8-TCDD	1	Non-ortho-PCB's	
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	Mono-ortho-PCB's	
		PCB 105	0,0001
Dibenzofuranen (« PCDF's »)		PCB 114	0,0005

Congeneer	TEF	Congeneer	TEF
2,3,7,8-TCDF	0,1	PCB 118	0,0001
1,2,3,7,8-PeCDF	0,05	PCB 123	0,0001
2,3,4,7,8-PeCDF	0,5	PCB 156	0,0005
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0,1	PCB 157	0,0005
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0,1	PCB 167	0,00001
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0,1	PCB 189	0,0001
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0,1		
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0,01		
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0,01		
OCDF	0,0001		

Gebruikte afkortingen : « T » = tetra; « Pe » = penta; « Hx » = hexa; « Hp » = hepta; « O » = octa; « CDD » = chloordibenzodioxine; « CDF » = chloordibenzofuran; « CB » = chloorbifenyl.

De concentraties van de verschillende stoffen in een monster worden elk met de bijbehorende TEF vermenigvuldigd en vervolgens bij elkaar opgeteld ter verkrijging van de totale concentratie aan dioxineachtige verbindingen, uitgedrukt in TEQ's.

Om de bovengrens te berekenen wordt de bijdrage van elke niet-bepaalde congeneer aan de TEQ gelijkgesteld aan de bepaalbaarheidsgrens.

Om de ondergrens te berekenen wordt de bijdrage van elke niet-bepaalde congeneer aan de TEQ gelijkgesteld aan nul.

Om de middelwaarde te berekenen wordt de bijdrage van elke niet-bepaalde congeneer aan de TEQ gelijkgesteld aan de helft van de bepaalbaarheidsgrens.

Met het oog op de toepassing van dit besluit is de aanvaarde specifieke bepaalbaarheidsgrens van een afzonderlijke congeneer gelijk aan de concentratie van een analyt in een monsterextract die voor de twee te meten ionen een instrumentele respons geeft met een signaal-ruisverhouding van 3 : 1 voor het zwakste signaal waarbij voldaan wordt aan de basiseisen zoals retentietijd en isotopenverhouding overeenkomstig de bepalingmethode die wordt beschreven in EPA method 1613 revision B.

3. Kwaliteitsborgingsvoorschriften voor de monstervoorbereiding

Er moeten maatregelen worden genomen om kruiscontaminatie in elke fase van de bemonsterings- en ontledingsprocedure te voorkomen.

De monsters moeten worden bewaard en vervoerd in recipiënten van glas, aluminium, polypropyleen of polyethyleen. Sporen papierstof moeten van de monsterrecipiënt verwijderd worden. Het glaswerk moet worden gespoeld met oplosmiddelen die van tevoren op de aanwezigheid van dioxinen zijn gecontroleerd.

De levensmiddelmonsters moeten zodanig worden bewaard en vervoerd dat de integriteit ervan bewaard blijft.

Voorzover nodig wordt elk laboratoriummonster fijngemalen en zorgvuldig gemengd zodat een volledig homogeen product ontstaat (bv. zo fijn gemalen dat het een zeef met mazen van 1 mm kan passeren); als het vochtgehalte te hoog is, moeten de monsters voor het malen worden gedroogd.

Er moet een blancobepaling worden verricht door de gehele ontledingsprocedure met weglating van het monster uit te voeren.

Er moet een voldoende grote hoeveelheid monster worden geëxtraheerd om aan de eisen inzake de gevoeligheid te voldoen.

Er bestaan tal van geschikte specifieke monstervoorbereidingsprocedures die voor de betrokken producten kunnen worden gebruikt. De procedures moeten worden gevalideerd volgens internationaal aanvaarde richtsnoeren.

4. Voorschriften voor de laboratoria

De laboratoria moeten de prestaties aantonen van een methode in de buurt van het betrokken concentratieniveau, bv. 0,5 maal, 1 maal en 2 maal het betrokken concentratieniveau met een aanvaardbare variatiecoëfficiënt voor herhaalde ontleding. Zie voor de bijzonderheden met betrekking tot de acceptatiecriteria punt 5.

De bepaalbaarheidsgrens voor een bevestigingsmethode dient ongeveer een vijfde van het betrokken concentratieniveau te zijn, zodat om en nabij het betrokken concentratieniveau aanvaardbare variatiecoëfficiënten worden verkregen.

Bij wijze van interne kwaliteitsborging moeten voortdurend blancobepalingen en bepalingen op verrijkte monsters of controlemonsters (bij voorkeur gecertificeerde referentiematerialen, indien beschikbaar) worden uitgevoerd.

Het met goed gevolg deelnemen aan interlaboratoriumonderzoeken ter bepaling van de geschiktheid van laboratoria is de beste manier om de bekwaamheid tot het uitvoeren van specifieke ontledingen aan te tonen. Succesvolle deelname aan interlaboratoriumonderzoeken voor bv. bodem- of afvalwatermonsters bewijst echter nog niet noodzakelijk dat een laboratorium ook monsters van levensmiddelen en diervoeders, waarin de verontreinigingsconcentraties lager zijn, kan ontleden. Daarom is het verplicht om steeds deel te nemen aan interlaboratoriumonderzoeken voor de gehaltepaling van dioxinen en dioxineachtige PCB's in de betrokken matrices (levensmiddelen en diervoeders).

5. Voorschriften voor een ontledingsmethode voor dioxinen en dioxineachtige PCB's

Basisvoorschriften voor de acceptatie van ontledingsmethoden :

Hoge gevoeligheid en lage aantoonbaarheidsgrenzen. Voor PCDD's en PCDF's moeten de aantoonbaarheidsgrenzen in het picogram TEQ-gebied (10^{-12} g) liggen in verband met de extreme toxiciteit van sommige van deze verbindingen. Het is bekend dat PCB's in hogere concentraties voorkomen dan PCDD's en PCDF's. Voor de meeste PCB-congeneren is een gevoeligheid in het nanogramgebied (10^{-9} g) al voldoende. Voor de bepaling van de sterker toxische dioxineachtige PCB-congeneren (met name non-ortho-gesubstitueerde congeneren) moet echter dezelfde gevoeligheid worden gehaald als voor PCDD's en PCDF's.

Hoge selectiviteit (specificiteit). PCDD's, PCDF's en dioxineachtige PCB's moeten kunnen worden onderscheiden van tal van andere stoffen die ook worden geëxtraheerd en de bepaling kunnen storen, en die aanwezig zijn in concentraties die enkele orden van grootte hoger kunnen liggen dan de concentraties van de te bepalen analyten. Bij gaschromatografie-massaspectrometriemethoden (GC/MS) moet onderscheid kunnen worden gemaakt tussen de verschillende congenen, bv. tussen toxische congenen (zoals de zeventien 2,3,7,8-gesubstitueerde PCDD's en PCDF's en dioxineachtige PCB's) en andere congenen. Met behulp van bioassays kunnen de TEQ-waarden selectief als de som van PCDD's, PCDF's en dioxineachtige PCB's worden bepaald.

Grote nauwkeurigheid (juistheid en precisie). De bepaling moet een betrouwbare schatting van de werkelijke concentratie in een monster opleveren. Grote nauwkeurigheid (nauwkeurigheid van de meting : de mate van overeenstemming tussen het meetresultaat en de werkelijke of toegekende waarde van de te meten grootte) is vereist om afwijzing van een ontledingsuitkomst van een monster op grond van de geringe betrouwbaarheid van de raming van de TEQ's te voorkomen. De nauwkeurigheid wordt uitgedrukt als juistheid (verschil tussen de gemiddelde waarde die is gemeten voor een analyt in een gecertificeerd referentiemateriaal en zijn gecertificeerde waarde, uitgedrukt als percentage van deze laatste waarde) en precisie (de precisie wordt gewoonlijk berekend als standaardafwijking, inclusief herhaalbaarheid en reproduceerbaarheid, en geeft de mate van overeenstemming aan tussen de resultaten die worden verkregen door de testprocedure een aantal malen onder de voorgeschreven omstandigheden toe te passen).

Tot de screeningsmethoden behoren bioassays en GC/MS-methoden; als bevestigingsmethoden worden hogeresolutiegaschromatografie/hogeresolutiemassaspectrometriemethoden (HRGC/HRMS) gebruikt. Bij de totale TEQ-waarde moet aan de volgende criteria voldaan worden :

	Screeningmethoden	Bevestigingsmethoden
Percentage fout-negatieve uitslagen	< 1 %	
Juistheid		- 20 % tot + 20 %
VC (variatioecoëfficiënt)	< 30 %	< 15 %

6. Specifieke voorschriften voor screening- en bevestigingsmethoden (GC/MS)

Aan het begin van de ontledingsprocedure, bv. vóór de extractie, moeten ¹³C-gelabelde 2,3,7,8-

chloorgesubstitueerde interne PCDD/F-standaarden (en ¹³C-gelabelde interne dioxineachtige PCB-standaarden, indien dioxineachtige PCB's moeten worden bepaald) worden toegevoegd om de ontledingsmethode te valideren. Er moet ten minste één congener voor elk van de tetra- tot octagechlorideerde homologe groepen voor PCDD/F's (en ten minste één congener voor elk van de homologe groepen voor dioxineachtige PCB's, indien dioxineachtige PCB's moeten worden bepaald) worden toegevoegd (een andere mogelijkheid is het toevoegen van ten minste één congener

voor elke voor de bepaling van PCDD/F's en dioxineachtige PCB's gebruikte functie voor meting van massaspectrometrisch geselecteerde ionen). Er is een duidelijke voorkeur, zeker in het geval van bevestigingsmethoden, voor het gebruik van alle 17 ¹³C-gelabelde 2,3,7,8-gesubstitueerde interne PCDD/F-standaarden en alle 12 ¹³C-gelabelde interne dioxineachtige PCB-standaarden (wanneer dioxineachtige PCB's moeten worden bepaald).

De relatieve responsfactoren moeten ook worden bepaald voor congenen waarvoor geen ¹³C-gelabeld analogon is toegevoegd onder gebruikmaking van geschikte ijkoplossingen.

In geval van levensmiddelen van plantaardige oorsprong en levensmiddelen van dierlijke oorsprong die minder dan 10 % vet bevatten, moeten de interne standaarden vóór de extractie worden toegevoegd. Bij levensmiddelen van dierlijke oorsprong die meer dan 10 % vet bevatten, kunnen de interne standaarden hetzij vóór de extractie worden toegevoegd, hetzij na de vetextractie. Er moet een geschikte validatie van de extractie-efficiëntie worden uitgevoerd, afhankelijk van het stadium waarin interne standaarden worden geïntroduceerd en van de vraag of de resultaten op product- of vetbasis worden weergegeven.

Voordat de GC/MS-ontleding wordt uitgevoerd, moeten een of twee standaarden (surrogaten) worden toegevoegd.

Bepaling van de terugvinding is noodzakelijk. Voor bevestigingsmethoden moet de terugvinding van de verschillende interne standaarden tussen 60 en 120 % liggen. Lagere of hogere terugvindingspercentages voor bepaalde congenen, met name voor sommige hepta- en octagechlorideerde dibenzodioxinen en dibenzofuranen, kunnen worden geaccepteerd mits hun bijdrage tot de TEQ-waarde niet meer dan 10 % van de totale TEQ-waarde (gebaseerd op uitsluitend PCDD/F's) bedraagt. Voor screeningmethoden moet de terugvinding tussen de 30 en 140 % liggen.

De dioxinen moeten met behulp van geschikte chromatografische technieken worden gescheiden van storende chloorverbindingen zoals PCB's en gechlorideerde difenylethers (bij voorkeur met behulp van een florisil-, aluminiumoxide en/of koolstofkolom).

De gaschromatografische scheiding van de isomeren moet voldoende zijn (< 25 % piek-piek tussen 1,2,3,4,7,8-HxCDF en 1,2,3,6,7,8-HxCDF).

De bepaling dient te gebeuren volgens EPA Method 1613 revision B : Tetra- through octa-chlorinated dioxins and furans by isotope dilution HRGC/HRMS van het Amerikaans Agentschap voor de milieubescherming of een methode met gelijkwaardige prestatiecriteria.

Het verschil tussen de bovengrens en de ondergrens mag niet meer dan 20 % bedragen voor levensmiddelen met een dioxineverontreiniging van omstreeks 1 pg WHO-TEQ/g vet (gebaseerd op uitsluitend PCDD's/PCDF's). Voor levensmiddelen met een laag vetgehalte gelden dezelfde eisen voor een verontreiniging van omstreeks 1 pg WHO-TEQ/g product. Voor geringe verontreinigingen, bv. 0,50 pg WHO-TEQ/g product, mag het verschil tussen de bovengrens en de ondergrens 25 tot 40 % bedragen.

7. Screeningmethoden

7.1. Inleiding

Er kunnen verschillende benaderingen worden gevolgd voor de screeningmethode : een echte screening en een kwantitatieve benadering.

Screening

De respons van de monsters wordt vergeleken met die van een referentiemonster bij het betrokken concentratieniveau. Monsters die een kleinere respons vertonen dan het referentiemonster worden als negatief aangemerkt, monsters met een grotere respons als verdacht positief.

Eisen :

In elke testreeks moeten een blanco en een referentiemonster worden meegenomen, die op hetzelfde moment onder identieke omstandigheden worden geëxtraheerd en onderzocht. Het referentiemonster moet een duidelijk verhoogde respons te zien geven in vergelijking met een blanco.

Er moeten extra referentiemonsters met een concentratie van 0,5 maal en 2 maal het betrokken concentratieniveau worden onderzocht om aan te tonen dat de test in het voor de controle van het betrokken concentratieniveau relevante concentratiebereik voldoet.

Bij het onderzoeken van andere matrices moet nagegaan worden of de referentiemonsters geschikt zijn, bij voorkeur door monsters te onderzoeken waarvan met HRGC/HRMS is aangetoond dat zij een TEQ-waarde omstreeks dat van het referentiemonster hebben, dan wel een tot die concentratie verrijkt blancomonster.

Aangezien er bij bioassays geen interne standaarden kunnen worden gebruikt, zijn herhaalbaarheidstests van groot belang om gegevens te verkrijgen over de standaardafwijking binnen één testreeks. De variatiecoëfficiënt moet kleiner dan 30 % zijn.

Voor bioassays moeten de doelverbindingen, de mogelijke storingsen en de maximaal toelaatbare blancowaarden worden vastgesteld.

Kwantitatieve benadering

Voor de kwantitatieve benadering zijn standaardverdunningsreeksen, clean-up en bepaling in duplo of triplo, alsmede blanco- en terugvindingsbepalingen nodig. Het resultaat kan worden uitgedrukt als TEQ, waarbij wordt aangenomen dat de verbindingen die het signaal geven voldoen aan het TEQ-principe. Dit kan worden gedaan door met TCDD (of een standaardmengsel dioxinen/furanen) een ijk-kromme te maken om het TEQ-gehalte in het extract en dus in het monster te berekenen. Dit wordt vervolgens gecorrigeerd voor het TEQ-gehalte dat voor een blancomonster is berekend (om te corrigeren voor onzuiverheden afkomstig van de gebruikte oplosmiddelen en chemicaliën) en de

terugvinding (berekend uit het TEQ-gehalte in een kwaliteitscontrolemonster met een concentratie omstreeks het betrokken concentratieniveau). N.B. : het schijnbare verlies in de terugvinding kan ten dele te wijten zijn aan matrixeffecten en/of verschillen tussen de TEF-waarden in de bioassays en de officiële TEF-waarden die door de WHO zijn vastgesteld.

7.2. Voorschriften voor screeningmethoden

Voor screening kunnen GC/MS-methoden en bioassays worden gebruikt. Voor GC/MS-methoden moeten de in punt 6 beschreven voorschriften worden gebruikt. Voor bioassays op basis van cellen zijn specifieke voorschriften vastgelegd in punt 7.3 en voor bioassays op basis van kits in punt 7.4.

Er moet informatie beschikbaar zijn over het aantal fout-positieve en fout-negatieve uitslagen in een groot aantal monsters onder en boven het maximumniveau of actieniveau in vergelijking met het TEQ-gehalte dat met behulp van een bevestigingsmethode is bepaald. Het werkelijke percentage fout-negatieve uitslagen moet kleiner dan 1 % zijn. Het percentage fout-positieve monsters moet zo klein zijn dat gebruik als screeningtest zinvol is.

Positieve resultaten moeten altijd door middel van een bevestigingsmethode (HRGC/HRMS) bevestigd worden. Daarnaast moeten monsters uit een groot TEQ-bereik worden bevestigd met HRGC/HRMS (ongeveer 2-10 % van de negatieve monsters). Er moet informatie over de overeenstemming tussen de bioassay- en HRGC/HRMS-resultaten worden verstrekt.

7.3. Specifieke voorschriften voor bioassays op basis van cellen

Bij het uitvoeren van een bioassay is voor elke testrun een reeks referentieconcentraties van TCDD of een dioxine/furanenmengsel vereist (volledige dosis-responscurve met $R^2 > 0,95$). Voor screeningdoeleinden kan echter ook een gedetailleerdere curve voor het lage-concentratiebereik worden gebruikt voor het ontleiden van monsters met een laag gehalte.

Voor het resultaat van de bioassay over een constant tijdsinterval moet een TCDD-referentieconcentratie (ongeveer driemaal de bepaalbaarheids grens) op een kwaliteitscontroleformulier worden gebruikt. Een andere mogelijkheid is de relatieve respons van een referentiemonster ten opzichte van de TCDD-ijklijn, aangezien de respons van de cellen van tal van factoren kan afhangen.

Voor elk soort referentiemateriaal moeten kwaliteitscontrolekaarten worden bijgehouden en gecontroleerd om na te gaan of het resultaat in overeenstemming is met de aangegeven richtsnoeren.

Met name voor kwantitatieve berekeningen moet de inductie van de gebruikte monsterverdunning in het lineaire gebied van de ijk-kromme liggen. Monsters die boven het lineaire gebied van de ijk-kromme liggen, moeten worden verdund en opnieuw worden gemeten. Aanbevolen wordt om telkens ten minste drie verdunningen te meten.

De standaardafwijking mag voor een triplobepaling bij elke monsterverdunning niet meer zijn dan 15 % en bij drie onafhankelijke experimenten niet meer dan 30 %.

De aantoonbaarheids grens kan worden gesteld op driemaal de standaardafwijking van de oplosmiddelblanco of het achtergrondniveau. Een andere mogelijkheid is hiervoor de concentratie te nemen die in de ijk-kromme van de testdag overeenkomt met een respons die boven de achtergrond ligt (een inductie van vijfmaal de respons van de oplosmiddelblanco). De bepaalbaarheids grens kan worden gesteld op vijf- tot zesmaal de standaardafwijking van de oplosmiddelblanco of het achtergrondniveau; ook kan hiervoor de concentratie worden genomen die in de ijk-kromme van de testdag overeenkomt met een respons die boven de achtergrond ligt (een inductie van tienmaal de respons van de oplosmiddelblanco).

7.4. Specifieke voorschriften voor bioassays op basis van kits

De aanwijzingen van de fabrikant voor de monsterverbereiding en de ontledingen moeten worden opgevolgd.

Testkits waarvan de houdbaarheidsdatum is verstreken, mogen niet worden gebruikt.

Materiaal of componenten die bedoeld zijn voor andere kits mogen niet worden gebruikt.

De testkits moeten worden opgeslagen binnen het aangegeven temperatuurbereik en worden gebruikt bij de aangegeven gebruikstemperatuur.

De aantoonbaarheids grens voor een immunoassay wordt bepaald als de som van het gemiddelde en driemaal de standaardafwijking, verkregen uit 10 herhaalde blanco-ontledingen, gedeeld door de helling van de lineaire regressievergelijking.

In het laboratorium moeten proeven worden uitgevoerd op referentiestandaarden om na te gaan of de respons van de standaard in de test in een aanvaardbaar bereik ligt.

8. Rapportage van de resultaten

Voorzover de gebruikte ontledingsprocedure dit toelaat, moeten de ontledingsresultaten de concentratieniveaus van de afzonderlijke PCDD/PCDF- en PCB-congeneren bevatten en worden gerapporteerd als « ondergrens », « bovengrens » en « middelwaarde » teneinde voldoende details te verstrekken om de resultaten al naar de gestelde eisen te kunnen interpreteren.

Het verslag moet ook het vetgehalte van het monster en de voor vetextractie gehanteerde methode omvatten.

De terugvindingspercentages van de verschillende interne standaarden moeten beschikbaar worden gesteld ingeval de terugvindingspercentages buiten het in punt 6 aangegeven bereik liggen, wanneer het maximumniveau wordt overschreden en in andere gevallen op verzoek.

9. Overeenstemming van de partij of subpartij met de eisen

De partij wordt aanvaard als het analyseresultaat van één analyse het respectievelijke maximumgehalte zoals vastgesteld in Verordening (EG) nr. 466/2001 niet overschrijdt, rekening houdend met de meetonzekerheid.

De partij is niet in overeenstemming met het in verordening (EG) nr. 466/2001 vastgelegde maximumgehalte, als het door een dublobepaling bevestigde en als gemiddelde van minstens twee afzonderlijke bepalingen berekende analyseresultaat het maximumgehalte buiten redelijke twijfel overschrijdt, rekening houdend met de meetonzekerheid.

Met de meetonzekerheid kan op één van de volgende wijzen rekening worden gehouden :

— door de uitgebreide onzekerheid te berekenen met een dekkingsfactor 2, wat een betrouwbaarheidsniveau van ongeveer 95 % oplevert,

— door de beslissingsgrens (CC α) te bepalen overeenkomstig beschikking 2002/657/EG van de Commissie van 12 augustus 2002 ter uitvoering van de Richtlijn 96/23 EG van de Raad wat de prestaties van analysemethoden en de interpretatie van resultaten betreft (punt 3.1.2.5. van de bijlage – stoffen waarvoor een toelaatbaar gehalte is vastgesteld).

Gezien om te worden gevoegd bij ons ministerieel besluit 16 januari 2006 van tot vaststelling van de wijze van monstervoorbereiding en criteria voor de analysemethoden voor de officiële controle de maximumgehalten aan lood, cadmium, kwik, 3-MCPD, dioxines en voor de gehaldebepaling van dioxineachtige PCB's in voedingsmiddelen.

R. DEMOTTE

Annexe I^e

Préparation des échantillons et critères généraux auxquels doivent satisfaire les méthodes d'analyse pour le contrôle officiel des teneurs en plomb, cadmium, mercure et 3-MCPD de certaines denrées alimentaires

1. Précautions

Il s'agit essentiellement d'obtenir un échantillon de laboratoire représentatif et homogène sans y introduire de contamination secondaire.

2. Préparation

Il convient de noter les points suivants pour toutes procédures utilisées. Pour les mollusques bivalves, crustacés et petits poissons : s'ils sont normalement consommés en entier, les viscères doivent faire partie des matières à analyser.

En général, seule la fraction comestible est à tester, sauf en cas de disposition spécifique.

3. Analyse

Pour l'analyse de la présence de plomb dans le vin, le règlement (CEE) n° 2676/90 de la Commission déterminant les méthodes d'analyse communautaires applicables dans le secteur du vin fixe la méthode à utiliser au chapitre 35 de son annexe. Pour le reste, il n'est pas prescrit de méthodes spécifiques de détermination, mais les laboratoires doivent utiliser une méthode validée, répondant aux critères de performance qui figurent dans les tableaux 1 (pour le plomb, cadmium et mercure) et 2 (pour le 3-MCPD).

Tableau 1 : Critères de performance des méthodes d'analyse relatives au plomb, au cadmium et au mercure

Paramètre	Valeur/commentaire
Applicabilité	Denrées alimentaires figurant dans le règlement (CE) n° 466/2001 de la Commission
Limite de détection	Pas plus du dixième de la valeur indiquée dans la spécification du règlement (CE) n° 466/2001 de la Commission, sauf si la valeur précisée pour le plomb est inférieure à 0,1 mg/kg. Dans ce dernier cas, pas plus du cinquième de la valeur précisée.
Limite de quantification	Pas plus du cinquième de la valeur précisée dans le règlement (CE) n° 466/2001 de la Commission, sauf si la valeur précisée pour le plomb est inférieure à 0,1 mg/kg. Dans ce dernier cas, pas plus des deux cinquièmes de la valeur précisée.
Précision	Valeurs HORRAT _r ou HORRAT _R inférieures à 1,5 lors de l'essai collectif de validation
Récupération	80-120 % (comme indiqué dans l'essai collectif)
Spécificité	Pas d'interférences dues à la matrice ou spectrales

Avec :

r = répétabilité : valeur en dessous de laquelle on peut s'attendre à ce que la différence absolue entre les résultats de deux tests individuels, obtenus dans des conditions de répétabilité (c'est-à-dire même échantillon, même opérateur, même appareillage, même laboratoire et court intervalle de temps), se situe dans une limite donnée de probabilité (en principe 95 %); d'où $r = 2,8 \times s_r$.

s_r = écart-type, calculé à partir des résultats obtenus dans des conditions de répétabilité.

RSD_r = écart-type relatif, calculé à partir des résultats obtenus dans des conditions de répétabilité $[(s_r / \bar{x}) \times 100]$, où \bar{x} représente la moyenne des résultats pour tous les laboratoires et échantillons.

R = reproductibilité : valeur en dessous de laquelle on peut s'attendre à ce que la différence absolue entre les résultats de tests individuels, obtenus dans des conditions de reproductibilité (c'est-à-dire pour un produit identique, obtenu par les opérateurs dans différents laboratoires utilisant la méthode de test normalisée), se situe dans une certaine limite de probabilité (en principe 95 %); $R = 2,8 \times s_R$.

s_R = écart-type, calculé à partir des résultats obtenus dans des conditions de reproductibilité.

RSD_R = écart-type relatif, calculé à partir des résultats obtenus dans des conditions de reproductibilité

$[(s_R / \bar{x}) \times 100]$

$HORRAT_r$ = le RSD_r observé divisé par la valeur du RSD_r estimée à partir de l'équation de Horwitz en présumant que $r = 0,66R$

$HORRAT_R$ = la valeur observée du RSD_R divisée par la valeur du RSD_R calculée à partir de l'équation de Horwitz.

Tableau 2 : Critères de performance des méthodes d'analyse relatives au 3-MCPD

Critère	Valeur recommandée	Concentration
Echantillons-témoins	Inférieure à la limite de détection	-
Récupération	75 – 110 %	Toutes
Limite de quantification	Maximum 10 g/kg sur la base de la matière sèche	-
Ecart-type du signal des échantillons-témoins	< 4 µg/kg	-
Estimations de précision interne - écart type des mesures répétées à différentes concentrations	< 4 µg/kg < 6 µg/kg < 7 µg/kg < 8 µg/kg < 15 µg/kg	20 µg/kg 30 µg/kg 40 µg/kg 50 µg/kg 100 µg/kg

Critères de performance — Approche de la fonction d'incertitude

Cependant, une approche fondée sur l'incertitude peut également être utilisée pour évaluer l'adéquation de la méthode d'analyse à appliquer par le laboratoire. Le laboratoire peut appliquer une méthode qui produira des résultats comportant une incertitude standard maximale. L'incertitude standard maximale peut être calculée par la formule suivante :

$$U_f = [(LOD/2)^2 + (aC)^2]^{1/2}$$

où :

U_f est l'incertitude standard maximale

LOD est la limite de détection de la méthode

C est la concentration présentant un intérêt

a est un facteur numérique dépendant de la valeur de C.

Les valeurs à utiliser sont données dans le tableau ci-dessous :

C (g/kg)	α
≤ 50	0,2
51-500	0,18
501-1 000	0,15
1 001-10 000	0,12
≥ 10 000	0,1

U est l'incertitude élargie, utilisant un facteur d'élargissement de 2, qui donne un niveau de confiance d'environ 95 %.

Si une méthode d'analyse aboutit à des résultats présentant des mesures d'incertitude inférieures à l'incertitude standard maximale, la méthode sera aussi valable qu'une méthode satisfaisant aux critères de performance indiqués ci-dessus.

4. Rapport d'analyse

Le résultat analytique est enregistré sous forme corrigée ou non au titre de la récupération. La façon d'enregistrer et le taux de récupération doivent être rapportés. Les résultats doivent être exprimés dans les mêmes unités que les teneurs maximales figurant dans le règlement (CE) n° 466/2001. Le rapport d'analyse présente seulement la moyenne de minimum deux analyses indépendantes.

Dans la mesure du possible, l'exactitude de l'analyse est estimée en incluant, dans l'analyse, des matériaux de référence certifiés et adaptés.

L'analyste tient dûment compte du « Rapport sur la relation entre les résultats d'analyse, l'incertitude de mesure, les facteurs de récupération et les dispositions de la législation européenne relative aux denrées alimentaires » (1).

Le résultat d'analyse est consigné sous la forme $x \pm U$, où x est le résultat de l'analyse et U l'incertitude de la mesure.

5. Conformité du lot ou sous-lot aux spécifications

A des fins de contrôle, le laboratoire procède au moins à deux analyses indépendantes de l'échantillon de laboratoire et calcule la moyenne des résultats.

Le lot est accepté si cette moyenne ne dépasse pas la teneur maximale correspondante fixée dans le règlement (CE) n° 466/2001, compte tenu de l'incertitude élargie de la mesure et de la correction pour récupération (1).

Le lot est rejeté si cette moyenne dépasse sans conteste la teneur maximale correspondante, compte tenu de l'incertitude élargie de la mesure et de la correction pour récupération.

REFERENCES

(1) Rapport sur la relation entre les résultats d'analyse, l'incertitude de mesure, les facteurs de récupération et les dispositions de la législation européenne relative aux denrées alimentaires, 2004

(<http://europa.eu.int/comm/food/food/chemicalsafety/contaminants/sampling/en.htm>). »

Vu pour être annexé à notre arrêté ministériel du 16 janvier 2006 fixant le mode de préparation des échantillons et les critères pour les méthodes d'analyse pour le contrôle officiel des teneurs maximales en plomb, cadmium, mercure, 3-MCPD, dioxines et pour le dosage des PCB de type dioxine dans les denrées alimentaires.

R. DEMOTTE

Annexe II

Préparation des échantillons et prescriptions relatives aux méthodes d'analyse utilisées pour le contrôle officiel des teneurs en dioxines (PCDD/PCDF) de certaines denrées alimentaires et pour le dosage des PCB de type dioxine dans certaines denrées alimentaires

1. Objet et champs d'application

Ces prescriptions s'appliquent aux analyses de denrées alimentaires effectuées aux fins du contrôle officiel des teneurs en dioxines (dibenzo-p-dioxines polychlorées (PCDD) et dibenzofuranes polychlorés (PCDF)) et du dosage des PCB de type dioxine.

Pour surveiller la présence de dioxines dans les denrées alimentaires, il est possible de mettre en œuvre une stratégie reposant sur une méthode de dépistage, afin de sélectionner les échantillons dont la teneur en dioxines et en PCB de type dioxine est, soit inférieure au niveau considéré, sans que l'écart dépasse 30 à 40 %, soit supérieure au niveau considéré. La teneur en dioxines des échantillons présentant des teneurs significatives doit être déterminée/confirmée au moyen d'une méthode de confirmation permettant l'identification et la quantification univoque de dioxines et de PCB de type dioxine au niveau considéré.

2. Contexte

Du fait que les échantillons de l'environnement et les échantillons biologiques (y compris les échantillons de denrées alimentaires) contiennent en général des mélanges complexes de différents congénères de dioxines, le concept de facteurs d'équivalence toxique (TEF) a été créé pour faciliter l'évaluation des risques. Ces TEF ont été établis pour exprimer les concentrations de mélanges de PCDD et de PCDF substitués en 2,3,7,8 et, depuis peu, de certains PCB non-ortho et mono-ortho substitués ayant des propriétés semblables à celles des dioxines, en équivalents toxiques (TEQ) de la 2,3,7,8-TCDD.

Tableau de l'OMS TEF pour l'évaluation des risques pour les êtres humains, fondé sur les conclusions de la réunion de l'OMS tenue à Stockholm (Suède), du 15 au 18 juin 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).

Congénère	Valeur du TEF	Congénère	Valeur du TEF
Dibenzo-p-dioxines (PCDD)	PCB « de type dioxine » PCB non-ortho + PCB mono-ortho		
2,3,7,8-TCDD	1	PCB non-ortho	
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	PCB mono-ortho	
		PCB 105	0,0001
Dibenzofuranes (PCDF)	PCB 114	0,0005	
2,3,7,8-TCDF	0,1	PCB 118	0,0001
1,2,3,7,8-PeCDF	0,05	PCB 123	0,0001
2,3,4,7,8-PeCDF	0,5	PCB 156	0,0005
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0,1	PCB 157	0,0005
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0,1	PCB 167	0,00001
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0,1	PCB 189	0,0001
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0,1		
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0,01		
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0,01		
OCDF	0,0001		

Abbréviations utilisées : T = tetra; Pe = penta; Hx = hexa; Hp = hepta; O = octa; CDD = chlorodibenzodioxine; CDF = chlorodibenzofurane; CB = chlorobiphényle.

Les concentrations de chaque substance dans un échantillon donné sont multipliées par leurs TEF respectifs, puis elles sont additionnées de façon à obtenir la concentration totale en composés de type dioxine, exprimée en TEQ.

Pour le calcul de l'« estimation haute », on considère que la contribution au TEQ de chaque congénère non quantifié est égale à la limite de quantification.

Pour le calcul de l' « estimation basse », on considère que la contribution au TEQ de chaque congénère non quantifié est égale à zéro.

Pour le calcul de la « estimation intermédiaire », on considère que la contribution au TEQ de chaque congénère non quantifié est égale à la moitié de la limite de quantification.

Aux fins du présent arrêté, la limite spécifique acceptée de quantification d'un congénère est la concentration d'un analyte dans l'extrait d'un échantillon qui produit une réponse instrumentale aux deux ions différents à contrôler par un rapport S/B (signal/bruit) de 3 :1 pour le signal le moins sensible et remplit les conditions de base telles que, par exemple, temps de rétention, rapport isotopique selon la procédure de détermination décrite dans la méthode EPA 1613, révision B.

3. Prescriptions d'assurance qualité pour la préparation des échantillons

Des mesures doivent être prises en vue d'éviter toute contamination croisée à chaque étape de la procédure d'échantillonnage et d'analyse.

Les échantillons doivent être conservés et transportés dans des récipients en verre, en aluminium, en polypropylène ou en polyéthylène. Toute trace de poussière de papier doit être enlevée du contenant de l'échantillon. La verrerie doit être rincée à l'aide de solvants préalablement soumis à un contrôle de détection de dioxines.

La conservation et le transport de l'échantillon doivent être effectués d'une façon telle que l'intégrité de l'échantillon de denrée alimentaire soit préservée.

Si nécessaire, chaque échantillon de laboratoire doit être broyé finement et soigneusement mélangé, selon une méthode garantissant une homogénéisation complète (par exemple de façon à pouvoir passer au travers d'un tamis à mailles de 1 mm); les échantillons doivent être séchés avant le broyage si leur teneur en eau est trop élevée.

Un essai à blanc doit être réalisé, en effectuant l'ensemble de la procédure analytique avec pour seule différence l'absence de l'échantillon.

Le poids de l'extrait doit être suffisamment élevé, de façon à répondre aux exigences de sensibilité.

De nombreuses procédures spécifiques de préparation des échantillons peuvent être utilisées de manière satisfaisante pour les produits considérés. Les procédures doivent être validées selon des directives reconnues sur le plan international.

4. Prescriptions applicables aux laboratoires

Les laboratoires doivent démontrer la validité de la méthode dans une certaine plage autour de la limite réglementaire, par exemple à des niveaux égaux à 0,5 fois, 1 fois et 2 fois ce niveau, avec un coefficient de variation acceptable pour les analyses répétées. Pour plus de précisions sur les critères de validité, se reporter au point 5.

La limite de quantification pour une méthode de confirmation ne doit pas dépasser le cinquième du niveau considéré, pour garantir des coefficients de variation acceptables dans la plage susmentionnée.

Des essais à blanc et des expériences avec enrichissement ou des analyses sur des échantillons de contrôle (si possible, des matériaux de référence certifiés) doivent être effectués régulièrement, dans le cadre des mesures d'assurance qualité internes.

Des participations couronnées de succès à des études inter-laboratoires qui évaluent la compétence du laboratoire sont la meilleure façon de démontrer l'aptitude de ce dernier à effectuer des analyses spécifiques. Cependant, une participation réussie à une étude inter-laboratoire portant, par exemple, sur des échantillons de sols ou d'eaux usées, ne suffit pas à démontrer une compétence pour les échantillons de denrées alimentaires ou d'aliments des animaux, qui présentent des niveaux de contamination inférieurs. C'est pourquoi la participation continue à des études inter-laboratoires sur la détermination des teneurs en dioxine et en PCB de type dioxine des matrices d'aliments des animaux/de denrées alimentaires correspondantes est obligatoire.

5. Prescriptions concernant les procédures d'analyse relatives aux dioxines et aux PCB de type dioxine

Prescriptions fondamentales de validité des procédures d'analyse :

Sensibilité élevée et faibles limites de détection. En ce qui concerne les PCDD et les PCDF, les seuils de détection doivent être de l'ordre du picogramme de TEQ (10^{-12} g), étant donné la toxicité extrêmement élevée de ces composés. Il est connu que les PCB se présentent en quantités plus élevées que les PCDD ou PCDF. Pour la plupart des congénères du groupe des PCB, une sensibilité de l'ordre du nanogramme (10^{-9} g) est suffisante. Cependant, pour la mesure des congénères du groupe des PCB de type dioxine plus toxiques (en particulier les congénères non-ortho substitués), il convient d'atteindre la même sensibilité que pour les PCDD et les PCDF.

Grande sélectivité (spécificité). Il est nécessaire de distinguer les PCDD, les PCDF et les PCB de type dioxine d'une multitude d'autres composés extraits simultanément de l'échantillon, susceptibles d'interférer, et qui sont présents dans des concentrations supérieures de plusieurs ordres de grandeur à celle des analytes à doser. Pour les méthodes de chromatographie en phase gazeuse/spectrométrie de masse (CG/SM), il est nécessaire de distinguer entre plusieurs congénères, notamment entre les congénères toxiques (c'est-à-dire les dix-sept PCDD et PCDF substitués en 2,3,7,8 et les PCB de type dioxine) et les autres congénères. Les bio-essais doivent permettre de déterminer sélectivement les valeurs de TEQ, en tant que somme de PCDD, PCDF et PCB de type dioxine.

Grande exactitude (justesse et fidélité). L'essai doit fournir une estimation valide de la concentration réelle d'un échantillon. Une grande exactitude (exactitude de la mesure : degré de concordance entre le résultat de la mesure et la valeur réelle ou attribuée de la grandeur à mesurer) est nécessaire pour empêcher qu'un résultat d'analyse d'échantillon ne soit rejeté en raison du manque de fiabilité de l'estimation des TEQ. L'exactitude est une expression de la justesse (la différence entre la valeur moyenne mesurée pour un analyte dans un matériau certifié et sa valeur certifiée, exprimée en pourcentage de cette valeur) et de la fidélité (la fidélité est généralement calculée sous forme d'écart-type; elle englobe la répétabilité et la reproductibilité et indique le degré de concordance entre les résultats obtenus par application répétée du procédé expérimental dans des conditions déterminées).

Les méthodes de dépistage peuvent comprendre des bio-essais et des méthodes CG/SM, tandis que les méthodes de confirmation sont des méthodes de chromatographie en phase gazeuse à haute résolution/de spectrométrie de masse à haute résolution (CGHR/SMHR). Les critères suivants doivent être remplis pour la valeur totale en TEQ :

	méthodes de dépistage	méthodes de confirmation
taux de faux négatifs	< 1 %	
Justesse		-20 % à + 20 %
Coefficient de variation	< 30 %	< 15 %

6. Prescriptions spécifiques concernant les méthodes CG/SM utilisées à des fins de dépistage ou de confirmation

Des étalons internes de PCDD/F substitués en 2,3,7,8 marqués au ^{13}C (et des étalons internes de PCB de type dioxine marqués au ^{13}C , si des PCB de type dioxine doivent être dosés) doivent être ajoutés au tout début de la méthode d'analyse, par exemple avant la phase d'extraction, afin de valider la procédure analytique. Au moins un congénère doit être ajouté pour chacun des groupes isomères tétra à octachlorés des PCDD/F (et au moins un congénère pour chaque groupe isomère des PCB de type dioxine, si des PCB de type dioxine doivent être dosés) (une autre méthode consiste à ajouter au moins un congénère pour chaque fonction d'enregistrement d'un isomère sélectionné par spectrométrie de masse utilisée pour le contrôle des PCDD/F et des PCB de type dioxine). Il est fortement recommandé, surtout pour les méthodes de confirmation, d'utiliser l'ensemble des dix-sept étalons internes

de PCDD/F substitués en 2,3,7,8 marqués au ^{13}C ainsi que la totalité des douze étalons internes de PCB de type dioxine marqués au ^{13}C (si des PCB de type dioxine doivent être dosés).

Des facteurs de réponse relatifs doivent également être déterminés dans le cas des congénères pour lesquels aucun analogue marqué au ^{15}C n'est ajouté, en utilisant des solutions d'étalonnage appropriées.

Pour les denrées alimentaires d'origine végétale et les denrées alimentaires d'origine animale contenant moins de 10 % de graisses, il est obligatoire d'ajouter les étalons internes avant la phase d'extraction. Pour les denrées alimentaires d'origine animale contenant plus de 10 % de graisses, les étalons internes peuvent être ajoutés soit avant la phase d'extraction soit après l'extraction des graisses. Il convient de valider adéquatement l'efficacité de l'extraction, en fonction de la phase au cours de laquelle les étalons internes ont été introduits et de la façon dont les résultats sont consignés (sur base du produit ou des graisses).

Avant l'analyse CG/SM, un ou deux étalons de substitution doivent être ajoutés.

Un contrôle de récupération est nécessaire. Dans le cas des méthodes de confirmation, les taux de récupération des étalons internes doivent se situer dans une plage allant de 60 à 120 %. Pour des congénères individuels, en particulier pour certains dibenzodioxines et dibenzofuranes hepta et octachlorés, des taux de récupération inférieurs ou supérieurs sont acceptables, à condition que leur contribution à la valeur TEQ ne dépasse pas 10 % de la valeur totale TEQ (en tenant compte uniquement des PCDD/F). Dans le cas des méthodes de dépistage, les taux de récupération

doivent se situer dans une plage allant de 30 à 140 %.

Il convient de séparer les dioxines des composés chlorés interférents, tels que les PCB et les diphenyléthers chlorés, en utilisant des techniques chromatographiques appropriées (de préférence au moyen d'une colonne de florisil, d'alumine et/ou de charbon).

La séparation des isomères par chromatographie en phase gazeuse doit être suffisante (< 25 % de pic à pic entre 1,2,3,4,7,8-HxCDF et 1,2,3,6,7,8-HxCDF).

Le dosage doit être effectué conformément à la méthode EPA 1613, révision B, intitulée « Tetra- through octa-chlorinated dioxins and furans by isotope dilution HRGC/HRMS » de l'Agence pour la protection de l'environnement des Etats-Unis ou à une autre méthode présentant des critères d'efficacité équivalents.

L'écart entre l'estimation haute et l'estimation basse de la teneur de l'ensemble des congénères ne doit pas dépasser 20 % pour les denrées alimentaires dont la contamination par les dioxines est d'environ 1 pg OMS-TEQ/g de graisse (en tenant compte uniquement des PCDD/PCDF). Les mêmes prescriptions s'appliquent aux denrées alimentaires à faible teneur en graisse dont la contamination est de l'ordre de 1 pg OMS-TEQ/g de produit. Pour des niveaux de contamination inférieurs, par exemple 0,50 pg OMS-TEQ/g de produit, la différence entre le niveau supérieur et le niveau inférieur peut se situer dans une plage allant de 25 à 40 %.

7. Méthodes analytiques de dépistage

7.1. Introduction

Différentes approches analytiques peuvent être mises en œuvre pour la méthode de dépistage : une approche de dépistage pure et une approche quantitative.

Approche de dépistage

La réponse des échantillons est comparée à celle d'un échantillon de référence, au niveau considéré. Les échantillons dont la réponse est inférieure à celle de la référence sont déclarés négatifs et ceux dont la réponse est supérieure à celle de la référence sont considérés comme positifs.

Prescriptions :

Dans chaque série d'essais, un échantillon blanc et un ou des échantillons de référence doivent être extraits et testés au même moment et dans les mêmes conditions. La réponse de l'échantillon de référence doit être nettement plus élevée que celle du blanc.

Des échantillons de référence supplémentaires, d'une concentration égale à 0,5 fois et 2 fois le niveau considéré, doivent être inclus, pour démontrer l'efficacité de l'essai dans la plage pertinente pour le contrôle du niveau considéré.

Dans le cas où l'on procède à l'essai d'autres matrices, la validité du ou des échantillons de référence doit être prouvée, en utilisant de préférence des échantillons dont la valeur de TEQ, établie par CGHR/SMHR, est de l'ordre de celle de l'échantillon de référence ou, à défaut, un blanc enrichi pour atteindre ce niveau.

Etant donné qu'aucun étalon interne ne peut être utilisé dans le cadre des bio-essais, les tests de répétabilité sont d'une grande importance pour obtenir des données sur l'écart-type au sein d'une série d'essais. Le coefficient de variation doit être inférieur à 30 %.

Dans le cas des bio-essais, il convient de définir les composés cibles, les interférences potentielles, ainsi que la valeur maximale tolérée pour le blanc.

Approche quantitative

L'approche quantitative comprend obligatoirement des séries de dilution types, un processus de nettoyage et de mesurage double ou triple, ainsi que des essais à blanc et des tests de récupération. Le résultat peut être exprimé en TEQ, ce qui suppose que les composés à l'origine du signal satisfont au principe du TEQ. A cette fin, on peut utiliser la TCDD (ou un mélange type de dioxines/furanes) pour élaborer une courbe d'étalonnage, qui permet de calculer la valeur de TEQ dans l'extrait et par conséquent, dans l'échantillon. Cette quantité est ensuite corrigée de la valeur de TEQ calculée pour l'échantillon blanc (pour tenir compte des impuretés provenant des solvants ou des substances

chimiques utilisés) et pour la récupération (cette dernière quantité est calculée à partir de la valeur TEQ dans un échantillon de contrôle de la qualité dont la concentration est proche du niveau considéré). Il ne faut jamais perdre de vue qu'une partie de la perte apparente de la récupération peut être due à des effets de matrice et/ou à des écarts entre les valeurs des TEF pour les bio-essais et les valeurs officielles des TEF établies par l'OMS.

7.2. Prescriptions concernant les méthodes analytiques de dépistage

Le dépistage peut être effectué au moyen de méthodes d'analyse GC/MS et de bio-essais. Les prescriptions établies au point 6 doivent être utilisées pour les méthodes GC/MS. Des prescriptions spécifiques sont établies au point 7.3 pour les bio-essais cellulaires et au point 7.4 pour les bio-essais réalisés au moyen de kits.

Des données doivent être fournies sur le nombre de résultats faux positifs et faux négatifs d'un grand nombre d'échantillons en dessous et au-dessus du niveau maximal ou du seuil d'intervention, par comparaison avec la valeur de TEQ déterminée par une méthode analytique de confirmation. Les taux réels de faux négatifs doivent être inférieurs à 1 %. Le taux de faux échantillons positifs doit être suffisamment faible pour que l'utilisation de la méthode de dépistage reste avantageuse.

Les résultats positifs doivent toujours être confirmés par une méthode analytique de confirmation (GCHR/MSHR). En outre, des échantillons d'une large plage de TEQ doivent être confirmés par GCHR/MSHR (environ 2 à 10 % des échantillons négatifs). Des informations sur la correspondance entre les résultats des bio-essais et ceux de la GCHR/MSHR doivent être fournies.

7.3. Prescriptions spécifiques aux bio-essais cellulaires

Pour les bio-essais, une série de concentrations de référence de TCDD ou d'un mélange dioxines/furanes (courbe de réponse avec $R^2 > 0,95$ pour une dose complète) est nécessaire lors de chaque essai. Cependant, pour le dépistage, une courbe plus détaillée dans la zone des faibles teneurs peut être utilisée pour l'analyse des échantillons à faible teneur.

Pour les résultats du bio-essai dans un intervalle de temps constant, il convient d'utiliser une concentration de référence de TCDD (environ 3 fois la limite de quantification) sur un formulaire de contrôle qualité. On peut également se fonder sur la réponse relative d'un échantillon de référence comparée à une courbe d'étalonnage de TCDD, étant donné que la réponse des cellules peut dépendre d'un grand nombre de facteurs.

Il convient de réaliser et de vérifier des graphiques de contrôle qualité pour chaque type de matériau de référence, afin de garantir que le résultat est conforme aux indications fournies.

L'induction de la dilution de l'échantillon utilisée doit se situer dans la partie linéaire de la courbe de réponse, en particulier pour les calculs quantitatifs. Les échantillons qui se situent au-delà de cette partie linéaire doivent être dilués et faire l'objet d'un nouvel essai. C'est pourquoi il est conseillé de tester au moins trois dilutions à la fois.

L'écart type ne doit ni dépasser 15 % lorsqu'une triple mesure est effectuée pour chaque dilution d'échantillon, ni dépasser 30 % pour trois expériences indépendantes.

Il est possible de choisir comme limite de détection une valeur égale à trois fois l'écart type du blanc de solvant ou de la réponse de fond. Une autre méthode consiste à prendre une concentration qui correspond à une réponse supérieure à la réponse de fond sur la courbe d'étalonnage du jour (facteur d'induction 5 fois supérieur au blanc de solvant). Il est possible de choisir comme limite de quantification une valeur cinq à six fois supérieure à l'écart type du blanc de solvant ou de prendre une concentration qui correspond à une réponse supérieure à la réponse de fond sur la courbe d'étalonnage du jour (facteur d'induction 10 fois supérieur au blanc de solvant).

7.4. Prescriptions spécifiques aux bio-essais réalisés au moyen de kits

Il convient de suivre les instructions du fabricant en ce qui concerne la préparation des échantillons et les analyses.

Les kits d'essai dont la date d'expiration est dépassée ne doivent pas être utilisés.

Il convient de ne pas utiliser des matériaux ou composants prévus pour d'autres kits.

La température de conservation des kits d'essais doit se situer dans la plage de températures de conservation spécifiée et leur température de fonctionnement doit être égale à la valeur spécifiée.

La limite de détection pour les immuno-essais s'obtient en additionnant la moyenne et une valeur égale à 3 fois l'écart-type, pour une série de 10 analyses du blanc, et en divisant cette somme par la valeur de la pente dans l'équation de régression linéaire.

Il convient d'utiliser des étalons de référence pour les essais en laboratoire, afin de garantir que la réponse à l'étalon se situe dans une plage acceptable.

8. Indication des résultats

Dans la mesure où la procédure analytique le permet, les résultats doivent comprendre les teneurs en congénères individuels des PCDD/PCDF et des PCB et les estimations haute, basse et intermédiaire doivent être indiquées, afin de consigner un maximum de données, ce qui permet une interprétation des résultats en fonction de prescriptions spécifiques.

Le rapport doit également mentionner la teneur en graisses de l'échantillon ainsi que la méthode utilisée pour extraire les graisses.

Les taux de récupérations des étalons internes individuels doivent être fournis s'ils se situent en dehors de la plage mentionnée au point 6 ou s'ils dépassent le niveau maximum. Dans tous les autres cas, ils doivent être fournis sur demande.

9. Conformité du lot ou sous-lot aux spécifications

Le lot est accepté si le résultat d'une seule analyse ne dépasse pas la teneur maximale correspondante fixée dans le règlement (CE) n° 466/2001 compte tenu de l'incertitude de mesure.

Le lot est considéré non conforme à la teneur maximale fixée dans le règlement (CE) n° 466/2001, si le résultat analytique confirmé par une double analyse et calculé sous forme de moyenne d'au moins deux déterminations distinctes dépasse quasi certainement la teneur maximale compte tenu de l'incertitude de mesure.

L'incertitude de mesure peut être prise en compte de l'une des deux manières suivantes :

— en calculant l'incertitude étendue à l'aide d'un coefficient de couverture 2 qui donne un niveau de confiance d'environ 95 %,

— en établissant la limite de décision ($CC\alpha$) conformément aux dispositions de la décision 2002/657/CE de la Commission du 12 août 2002 portant modalités d'application de la directive 96/23/CE du Conseil en ce qui concerne les performances des méthodes d'analyse et l'interprétation des résultats (point 3.1.2.5 de l'annexe— cas de substances pour lesquelles une limite autorisée est fixée).

Vu pour être annexé à notre arrêté ministériel du 16 janvier 2006 fixant le mode de préparation des échantillons et les critères pour les méthodes d'analyse pour le contrôle officiel des teneurs maximales en plomb, cadmium, mercure, 3-MCPD, dioxines et pour le dosage des PCB de type dioxine dans les denrées alimentaires.