TGK BELİRLİ GIDALARDA DİOKSİNLERİN VE DİOKSİN BENZERİ POLİKLORLU BİFENİLLERİN SEVİYESİNİN RESMİ KONTROLÜ İÇİN NUMUNE ALMA, NUMUNE HAZIRLAMA VE ANALİZ METODU KRİTERLERİ TEBLİĞİ (TEBLİĞ NO: 2012/5)

4 Ocak 2012 ÇARŞAMBA **Resmî Gazete** Sayı : 28163

Amaç

MADDE 1 – (1) Bu Tebliğin amacı; belirli gıdalarda bulunan dioksinler (PCDD ve PCDF) ve dioksin benzeri poliklorlu bifenillerin (PCB) seviyesinin resmi kontrolü için gıdalardan numune alma, numune hazırlama ve analiz metodu kriterlerini düzenlemektir.

Kapsam

MADDE 2 – (1) Bu Tebliğ, belirli gıdalarda bulunan dioksinler (PCDD ve PCDF) ve dioksin benzeri PCB'lerin seviyesinin resmi kontrolü için numune alma metodunu ve resmi kontrollerde kullanılan analiz metotları için numune hazırlanmasını ve kriterlerini kapsar.

Dayanak

MADDE 3 – (1) Bu Tebliğ, 29/12/2011 tarihli ve 28157 3 üncü mükerrer sayılı Resmî Gazete'de yayımlanan Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliğine dayanılarak, 1883/2006/EC sayılı Belirli Gıdalarda Bulunan Dioksinlerin ve Dioksin Benzeri PCB'lerin Seviyelerinin Resmi Kontrolü için Numune Alma ve Analiz Metotlarını belirleyen Avrupa Birliği Komisyon Tüzüğüne paralel olarak hazırlanmıştır.

Tanımlar

MADDE 4 – (1) Bu Tebliğ'de geçen;

a) Alt parti: Numune alma metodunu uygulamak amacıyla büyük bir partiden fiziksel olarak ayrılmış ve tanımlanmış kısmı,

b) Bakanlık: Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığını,

c) Birincil numune (İnkremental numune): Parti veya alt partinin tek bir yerinden alınan materyal miktarını,

ç) Laboratuvar numunesi: Paçal numuneyi temsil eden ve laboratuvar için hazırlanmış numuneyi,

d) Paçal numune: Parti veya alt partiden alınan birincil numunelerin tamamının birleştirilmesi ile elde edilen numuneyi,

e) Parti: Numuneyi alan kontrol görevlisi tarafından; orijin, çeşit, ambalajlayıcı, sevkiyatçı, ambalaj tipi, işaretleme gibi özelliklerinin aynı olduğu belirlenen ve bir seferde teslim edilen gıdanın tanımlanabilir miktarını,

f) Şahit numune: Paçal numuneden itirazlı durumlar için ayrılan numuneyi,

ifade eder.

Numune alma

MADDE 5 – (1) Belirli gıdalarda bulunan dioksinler ve dioksin benzeri PCB'lerin seviyesinin resmi kontrolü için numune alma usul ve esasları EK-1'de yer almaktadır.

Numune hazırlama ve analiz metodu kriterleri

MADDE 6 – (1) Belirli gıdalarda bulunan dioksinler ve dioksin benzeri PCB'lerin seviyesinin resmi kontrolü için analiz metodu kriterleri ve numune hazırlama usul ve esasları EK-2'de yer almaktadır.

Yürürlükten kaldırılan tebliğ

MADDE 7 – (1) 9/5/2010 tarihli ve 27576 sayılı Resmî Gazete'de yayımlanan Türk Gıda Kodeksi Belirli Gıdalarda Dioksinlerin ve Dioksin Benzeri Poliklorlu Bifenillerin Seviyesinin Resmi Kontrolü İçin Numune Alma, Numune Hazırlama ve Analiz Metodu Kriterleri Tebliği (Tebliğ No: 2010/18) yürürlükten kaldırılmıştır.

Yürürlük

MADDE 7 – (1) Bu Tebliğ yayımı tarihinde yürürlüğe girer.

Yürütme

MADDE 9 – (1) Bu Tebliğ hükümlerini Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanı yürütür.

EK – 1
Numune Alma Usul ve Esasları

(1) – Genel hükümler

a) Numune, kontrol görevlisi tarafından alınmalıdır.

b) İncelenecek olan her parti veya alt partiden ayrı ayrınumune alınmalıdır. Balık ve balıkçılık ürünleri için, balığın boyutu karşılaştırılabilir olmalıdır. Bir yükleme içinde balığın ağırlığı ve/veya boyutu karşılaştırılabilir değilse, yükleme hala bir parti olarak göz önünde tutulabilir ancak, özel bir numune alma metodu uygulanmalıdır.

c) Numune alma ve numune hazırlama aşamalarında dioksinler ve dioksin benzeri PCB'lerin içeriğini, dolayısıyla analitik hesaplamayı veya paçal numunenin partiyi temsil edebilirliğini etkileyecek herhangi bir değişikliği önlemek için gerekli önlemler alınmalıdır.

ç) Birincil numune, parti veya alt parti içinde mümkün olduğunca farklı yerlerden alınmalıdır. Bu şekilde alınamadığı durumlarda ise mutlaka (ğ) bendinde belirtilen kayıtlara işlenmelidir.

d) Paçal numune, birincil numunelerin birleştirilmesiyle oluşmalıdır. Uygulamada mümkün olmayan durumlar haricinde, paçal numune en az 1 kg olmalıdır.

e) Her bir alt parti fiziksel olarak ayrılabilir ve tanımlanabilir olmalıdır.

f) Paçal numunenin, alındığı parti veya alt partiyi temsil ettiğinden emin olunmalıdır.

g) Numunelerin taşınması ve depolanması sırasında numunenin içeriğini değişimden koruyacak gerekli tüm önlemler alınmalıdır. Numuneler, taşıma esnasında kontaminasyonu, numune kabının iç duvarına yapışması ile analit kaybını ve numunenin zarar görmesini önleyecek nitelikteki temiz ve numune ile etkileşmeyecek olan kaplara konmalıdır.

ğ) Resmi kontroller için alınan her numune alındığı yerde mühürlenmelidir. Her numune için, temsil ettiği partiyi açıkça tanımlayacak şekilde kayıt tutulmalıdır. Bu kayıtta numune alma tarihi, yeri ve analizi yapacak kişiye yardımcı olacak diğer bilgiler de yer almalıdır.

h) Şahit numune, homojen paçal numuneden alınmalı ve İl/İlçe Müdürlüğü tarafından uygun koşullarda muhafaza edilmelidir. Şahit numune, en az iki analize izin verecek yeterli miktarda olmalıdır.

(2) – Numune alma planları

Uygulanan numune alma metodu, paçal numunenin kontrol edilecek parti veya alt partiyi temsil ettiğini sağlayacak nitelikte olmalıdır.

a) Partinin alt partilere bölünmesi

Alt partinin fiziksel olarak ayrılabilmesi şartıyla, büyük partiler alt partilere bölünmelidir. Bitkisel yağlar gibi büyük dökme partilerde satışa sunulan ürünler için Tablo-1 uygulanmalıdır. Diğer ürünler için Tablo-2 uygulanmalıdır. Parti ağırlığının her zaman alt parti ağırlıklarının tam katı olamayacağı dikkate alındığında; alt parti ağırlığı, tablolarda verilen alt parti ağırlığını en fazla % 20 oranında geçebilir.

Tablo - 1
Dökme Partilerde Satışa Sunulan Ürünler İçin Partinin Alt Partilere Bölünmesi

Parti ağırlığı (ton)	Alt parti sayısı ya da ağırlığı
≥ 1500	500 ton
> 300 ve < 1500	3 alt parti
≥ 50 ve ≤ 300	100 ton
< 50	Alt partilere bölü mez

Tablo - 2
Diğer Ürünler İçin Partinin Alt Partilere Bölünmesi

Parti ağırlığı (ton)	Alt parti sayısı ya da ağırlığı
≥ 15	15-30 ton
< 15	Alt parti ere bölünmez

b) Birincil numunelerin sayısı

Birincil numunelerin birleştirilmesi ile oluşan paçal numune en az 1 kg olmalıdır. Parti veya alt partiden alınması gereken minimum birincil numune sayısı, Tablo-3 ve Tablo-4'e uygun olmalıdır.

Dökme sıvı ürünler için, parti veya alt parti numune almadan hemen önce mümkün olduğunca uzun süre ve ürün kalitesini etkilemeyecek şekilde elle veya mekanik olarak iyice karıştırılmalıdır. Bu durumda, verilen parti veya alt parti içinde bulaşanların homojen bir dağılım gösterdiği varsayılır. Bu nedenle, paçal numuneyi oluşturmak için parti veya alt partiden üç adet birincil numune alınması yeterlidir.

Birincil numunelerin ağırlığı eşit miktarda olmalıdır. Bir birincil numunenin ağırlığı, en az 100 gr olmalıdır.

Bu metottan farklı uygulamalar, EK-1'in 1 inci maddesi (ğ) bendinde belirtildiği şekilde kayıt edilmelidir. Tablo-3 ve Tablo-4'te verilen tekli paketler ve dökme partiler için alınması gereken birincil numune miktarından farklı olarak, tavuk yumurtası için paçal numune miktarı en az 12 yumurta olmalıdır.

Tablo - 3

Parti veya Alt Partiden Alınması Gereken Minimum Birincil Numune Sayısı

Parti/Alt partinin ağırlığı ya da hacmi (kg ya da L)	Alınması gereken minimum
< 50	3
≥50 – 500≤	5
> 500	10

Parti veya alt partinin tekli paketler ya da birimlerden oluştuğu durumda, paçal numuneyi oluşturmak için alınması gereken paket veya birimlerin sayısı Tablo-4'te verilmiştir.

Tablo - 4
Parti veya Alt Parti Tekli Paketler ya da Birimlerden Oluşuyorsa, Paçal Numuneyi Oluşturmak İçin Alınması Gereken Paket veya Birimlerin (Birincil numuneler) Sayısı

Parti/Alt parti içindeki birimlerin ya da paketlerin	Alınması gereken paket veya
1 – 25	En az bir paket ya da birim
26 – 10	En az 2 paket ya da birim, yaklaşık %
> 100	Maksimum 10 paket ya da birim, yaklaşık % 5

c) Karşılaştırılabilir boyut ve ağırlıkta bütün halindeki balıklar içeren partilerden numune alınması için özel hükümler

Balıklar, boyut ve ağırlık açısından % 50 den fazla oranda farklılık göstermediği zaman, karşılaştırılabilir boyut ve ağırlıkta olarak kabul edilir.

Partiden alınması gereken birincil numune sayısı Tablo-3'te tanımlanmıştır. Birincil numunelerin birleştirilmesi ile oluşan paçal numune en az 1 kg olmalıdır.

Numune alınacak partinin, her bir balığın ağırlığı ortalama 1 kg dan küçük olan küçük balıklar içermesi durumunda, paçal numuneyi oluşturmak için birincil numune olarak bütün halindeki balık alınır. Paçal numunenin ağırlığı 3 kgdan daha fazla oluyorsa; paçal numuneler balıkların en az 100 gram ağırlıktaki orta kısımlarını içeren birincil numuneden oluşmalıdır. Paçal numunenin tamamı homojenizasyon için kullanılır.

Balığın orta kısmı ağırlık merkezinin olduğu yerdir. Bu kısım çoğu durumda balık eğer bir sırt yüzgecine sahip ise sırt yüzgecinin olduğu yerde veya solungaç açıklığı ve anüs arasındaki orta noktadadır.

Numune alınacak partinin her bir balığın ağırlığı ortalama 1 kg dan fazla olan büyük balıkları içermesi durumunda, birincil numune balığın orta kısmını kapsar. Her bir birincil numune ağırlığı en az 100 gram olmalıdır.

Ortalama 1-6 kg arasındaki orta büyüklükteki balıklar için, birincil numune balığın orta kısmından omurgadan karın kısmına doğru dilim şeklinde alınır.

Ortalama 6 kg dan büyük olan çok büyük balıklar için, birincil numune önden görünüşte balığın orta kısmındaki dorsolateral (sırt-yan) kas etinin sağ tarafından alınmalıdır. Balığın orta kısmından böyle bir parçanın alınması durumunda önemli ölçüde ekonomik zarar söz konusu oluyor ise, partinin büyüklüğünden bağımsız olarak her biri en az 350 gram olacak şekilde üç tane birincil numune alınması yeterli olarak değerlendirilebilir veya alternatif olarak tüm balıktaki dioksin seviyesini temsil eden birincil numuneyi oluşturmak için balığın kuyruk kısmına yakın kaslı eti ve baş kısmına yakın kaslı etinden eşit bir bölüm alınabilir.

ç) Farklı boyut ve/veya ağırlıkta bütün halindeki balıkları içeren balık partilerinden numune alma

Numune alma ile ilgili olarak EK-1'in 2 inci maddesi (c) bendinde belirtilen hükümler geçerlidir.

Partinin yaklaşık %80'ni veya daha fazlasını içeren bir büyüklük ya da ağırlık sınıfı baskın ise, numune baskın büyüklük ya da ağırlığa sahip balıklardan alınmalıdır. Alınan bu numunenin bütün partiyi temsil ettiği kabul edilir.

Belirgin bir büyüklük veya ağırlık hâkim değil ise, numune için seçilen balıkların partiyi temsil ettiğinden emin olunmalıdır. Farklı boyut ve/veya ağırlıktaki bütün halindeki balıkları içeren balık partilerinden numune alma usul ve esasları Bakanlıkça belirlenir.

d) Perakende aşamasında numune alma

Perakende aşamasında numune alma, mümkün olduğunca EK-1'in 2 inci maddesi (b) bendinde belirtilen numune alma hükümlerine uygun yapılmalıdır.

Yukarıda sözü edilen numune alma hükümlerini uygulamak mümkün olmaz ise, paçal numunenin, numunenin alındığı partiyi ya da alt partiyi yeterince temsil etmesi şartıyla, perakende aşamasında alternatif bir numune alma metodu uygulanabilir.

(3) – Parti veya alt partinin spesifikasyonlara uygunluğunun değerlendirilmesi

Tek bir analizin analitik sonucu, dioksinler ve dioksin benzeri PCB'lerin toplamı ve dioksinlerin maksimum seviyesi, belirtilen maksimum limitleri aşmadığı durumda parti kabul edilir.

Eğer paralel analizle doğrulanan üst sınır analitik sonucu, makul şüphenin ötesinde maksimum limitleri aşıyorsa parti reddedilir.

EK-2
Numune Hazırlama ve Analiz Metodu Kriterleri

(1) – Uygulama alanı

Bu ekte belirtilen hükümler dioksinler ve dioksin benzeri PCB'lerin seviyelerinin resmi kontrolü için analiz edilen gıdalara uygulanmalıdır.

Gıdalarda dioksinlerin varlığını izleme, maksimum limitin üstünde veya maksimum limitin % 25 altından daha az dioksinler ve dioksin benzeri PCB seviyelerine sahip numuneleri seçmeyi hedefleyen tarama metodunu kapsayan yöntemlerle gerçekleştirilebilir. Önemli düzeyde şüpheli seviyelere sahip bu numunelerdeki dioksinlerin konsantrasyonu ile dioksinler ve dioksin benzeri PCB'lerin toplamının konsantrasyonu doğrulama metodu ile belirlenmelidir/doğrulanmalıdır.

Tarama metotları, dioksinler ve dioksin benzeri PCB'lerin ilgilenilen seviyede varlıklarının tespit edilmesi için kullanılır. Bu metotlar, çok sayıda numune çalışma kapasitesine sahip olmalıdır ve çok sayıda numuneden muhtemel pozitifleri seçmek için kullanılır. Bu metotlar, hatalı negatiflerden kaçınmak için özel olarak tasarlanmalıdır.

Doğrulama metotları, ilgilenilen seviyede dioksinler ve dioksin benzeri PCB'lerin net bir biçimde tanımlanması ve hesaplanması için tam veya tamamlayıcı bilgi sağlayan metotlardır.

(2) – Esas

Numunedeki her bir maddenin konsantrasyonu, bu ekin ilavesinde listelenen ve Dünya Sağlık Örgütü tarafından saptanan, o maddeye karşılık gelen Toksik Eşdeğerlik Faktörü (TEF) ile çarpılmalı ve daha sonra Toksik Eşdeğerlikler (TEQs) şeklinde ifade edilen dioksin benzeri bileşiklerin toplam konsantrasyonunu bulmak için toplanmalıdır.

Bu Tebliğde, her bir bileşiğin kabul edilir spesifik ölçüm limiti; EPA metodu 1613 revizyon B'de belirtilen tayin prosedürüne göre alıkonma zamanı, izotop oranı gibi temel hükümleri yerine getirmesi koşuluyla, iki farklı iyonda düşük duyarlılıktaki sinyal için 3:1 oranında S/N (sinyal/gürültü) enstrümantal yanıtı veren, numune ekstraktındaki analit konsantrasyonudur.

(3) – Numune hazırlanmasında uyulacak kalite güvence gereklilikleri

a) Numune alma ve analiz prosedürünün her bir basamağında çapraz bulaşmayı önleyecek tedbirler alınmalıdır.

b) Numuneler, cam, alüminyum, polipropilen veya polietilen kaplarda muhafaza edilmeli ve taşınmalıdır. Kağıt tozlarının kalıntıları numune kabından uzaklaştırılmalıdır. Cam malzemeler, dioksinleri içermediğine dair önceden kontrol edilmiş veya belgelenmiş çözücüler ile çalkalanmalıdır.

c) Numuneler, bütünlüğü korunarak özellikleri değişmeyecek şekilde muhafaza edilmeli ve taşınmalıdır.

ç) Mümkün olduğu kadar, her bir laboratuvar numunesi tam homojenizasyonu sağlayacak bir yöntem kullanılarak, örneğin 1 mm elekten geçecek şekilde iyice öğütülmeli ve iyice karıştırılmalıdır. Numuneler, rutubet içeriği çok yüksek ise, öğütmeden önce kurutulmalıdır.

d) Numune hariç tutularak tüm analitik prosedürün uygulaması ile kör analiz gerçekleştirilmelidir.

e) Ekstraksiyon için kullanılan numune ağırlığı, yöntemin hassasiyet gerekliliklerini karşılamak için yeterli olmalıdır.

f) Analiz edilecek ürünler için kullanılan spesifik numune hazırlama prosedürleri, uluslararası kabul edilen talimatlara göre geçerli kılınmalıdır.

g) Balık söz konusu olduğunda, maksimum limit derisiz kas etine uygulandığı için deri uzaklaştırılmalıdır. Ancak, kas etinin geri kalan tüm kısmı ve derinin iç kısmındaki yağ dokusu dikkatlice ve tamamen deriden

sıyrılmalı ve bu kas etinin kalan kısmı ile yağ dokusu analiz edilecek numuneye eklenmelidir. Küçük balıklar söz konusu olduğunda ve tüketim şekli göz önüne alındığında, maksimum limit bütüne uygulanacağı için deri uzaklaştırılmadan numune hazırlanır.

(4) – Laboratuvar gereklilikleri

a) Laboratuvarlar, metodun verimini, tekrarlanan analizlerde kabul edilebilir bir varyasyon katsayısı sağlanacak şekilde, ilgilenilen seviyenin 0.5, 1 ve 2 katı gibi seviye aralıklarında göstermelidir. Kabul edilebilirlik kriterlerinin detayları EK-2'nin 5 inci maddesinde verilmiştir.

b) Doğrulama metodunun ölçüm limiti ilgilenilen seviyenin yaklaşık beşte biri aralığında olmalıdır.

c) İç kalite kontrol ölçümleri amacıyla, düzenli kör kontrolleri ve spiking denemeler veya tercihen sertifikalı referans materyal kullanılarak kontrol numunelerinin analizi gerçekleştirilmelidir.

ç) Laboratuvar yeterliliği, ilgili gıda matrikslerinde dioksinlerin ve dioksin benzeri PCB'lerin tespitine yönelik yapılan laboratuvarlar arası çalışmalara sürekli ve başarılı katılım ile kanıtlanmalıdır.

d) Laboratuvarlar, 11/06/2010 tarihli ve 5996 sayılı Veteriner Hizmetleri, Bitki Sağlığı, Gıda ve Yem Kanunu'nda belirtilen hükümlere uymak zorundadır.

(5) – Dioksinler ve dioksin benzeri PCB'ler için analitik prosedür gereklilikleri

Analitik prosedürlerin kabulü için temel gereklilikler:

a) Yüksek hassasiyet ve düşük tespit limitleri. PCDD'ler ve PCDF'ler için, bu bileşiklerin bazılarının aşırı toksisiteleri nedeniyle tespit edilebilir miktarlar pikogram TEQ (10^{-12}g) düzeyinde olmalıdır. PCB'lerin, PCDD'ler ve PCDF'lerden daha yüksek düzeylerde bulunduğu bilinmektedir. Çoğu PCB bileşeni için nanogram (10^{-9}g) aralığındaki hassasiyet yeterlidir. Ancak, daha toksik dioksin benzeri PCB bileşenlerinin, özellikle non-ortho PCB bileşenlerin ölçümü için PCDD'ler ve PCDF'lere uygulanan hassasiyetin aynısı uygulanmalıdır.

b) Yüksek seçicilik (spesifiklik). PCDD'ler, PCDF'ler ve dioksin benzeri PCB'leri, konsantrasyonu aranılan analitlerden birkaç kat fazla olan, aranılan analitlerle birlikte ekstrakte olan ve muhtemel girişim yapan bileşiklerden ayırt etmek gereklidir. Gaz kromatografisi/kütle spektrometresi (GC/MS) metotlarında, Tablo 5'de yer alan toksik bileşikler (17 adet 2,3,7,8-PCDD ve -PCDF'ler ve dioksin benzeri PCB'ler) ve diğer aynı türden bileşiklerin ayırımı gereklidir. Biyotestler, PCDD'ler, PCDF'ler ve dioksin benzeri PCB'lerin toplamı şeklinde TEQ değerlerini seçici olarak belirleyebilmelidir.

c) Yüksek doğruluk (gerçeklik ve kesinlik). Tespit, numunedeki gerçek konsantrasyonun geçerli bir tahmini olmalıdır. Yüksek doğruluk (ölçüm doğruluğu: analite ilişkin gerçek veya atfedilen değer ile ölçülen sonuç arasındaki uyumun yakınlığı), TEQ'nun tahmininde zayıf güvenilirlik üzerine dayalı analiz sonucunda numunenin reddinden kaçınmak için gereklidir. Doğruluk; gerçeklik ve kesinlik olarak ifade edilir. Gerçeklik; sertifikalı materyal içindeki analit için ölçülen ortalama değer ve onun sertifikalanmış değeri arasındaki farktır ve bu değerin yüzdesi olarak ifade edilir. Kesinlik; tekrar üretilebilirlik koşulları altında elde edilen sonuçlardan hesaplanan relatif standart sapmadır (RSD_R).

Tarama metotları, biyotestleri ve GC/MS metotlarını içerir; doğrulama metotları, yüksek çözünürlüklü gaz kromatografisi/yüksek çözünürlüklü kütle spektrometresi (HRGC/HRMS) metotlarıdır. Toplam TEQ değeri verilirken aşağıdaki kriterler uygulanmalıdır.

	Tarama metotları	Doğrulama metotları
Yanlış negatif oran	< % 1	
Gerçeklik		% -20 – % 20
Kesinlik (RSD_R)	< % 30	< % 15

(6) – Tarama veya doğrulama amaçlarına uygun GC/MS metotları için spesifik gereklilikler

a) 2,3,7,8 pozisyonlarında klor içeren ^{13}C-işaretlenmiş PCDD/F internal standartları ve ^{13}C-işaretlenmiş dioksin benzeri PCB internal standartları analitik metodun en başında, örneğin analitik prosedür validasyonu için ekstraksiyon öncesi eklenmelidir. 4'den 8'e kadar klor ihtiva eden her bir PCDD/F grubu ve her bir dioksin benzeri PCB grubu için en az bir işaretli bileşik eklenmelidir (alternatif olarak, kütle spektrometresinde PCDD/F ve dioksin benzeri PCB'lerin taranmasında kullanılan seçici iyon kaydedici fonksiyonların her biri için en az bir işaretli bileşik). Doğrulama metotları söz konusu olduğunda kesinlikle 17 tane 2,3,7,8 pozisyonlarında klor içeren ^{13}C-işaretlenmiş PCDD/F internal standartlarının tümünün ve 12 tane ^{13}C-işaretlenmiş dioksin benzeri PCB internal standartlarının tümünün kullanılması gereklidir. ^{13}C-işaretlenmiş analoğu eklenmemiş her bir bileşik için de uygun kalibrasyon çözeltileri kullanılarak relatif tepki faktörü (RRF) belirlenmelidir.

b) Bitki kaynaklı gıdalar ve %10'dan daha az yağ içeren hayvansal kaynaklı gıdalar için internal standartların ekstraksiyon öncesi eklenmesi zorunludur. %10'dan daha fazla yağ içeren hayvansal kaynaklı gıdalar için internal standartlar yağ ekstraksiyonundan önce veya sonra eklenebilir. Ekstraksiyon etkinliğinin uygun validasyonu, internal standartların eklendiği aşamaya ve sonuçların ürün veya yağ üzerinden verilmesine bağlı olarak yapılmalıdır.

c) GC/MS analizi öncesinde, 1 veya 2 geri alma standardı/standartları eklenmelidir.

ç) Geri alma kontrolü gereklidir. Doğrulama metotları için, her bir internal standardın geri alması % 60-120 aralığında olmalıdır. Herhangi bir bileşiğin, özellikle bazı 7 ve 8 klorlu dibenzodioksinler ve dibenzofuranların, toplam TEQ değerine katkısı, toplam TEQ değerinin (PCDD/F ve dioksin benzeri PCB'lerin toplamı) %10'unu geçmemesi durumunda, daha düşük veya daha yüksek geri almalar kabul edilebilir. Tarama metotları için geri alma %30-140 aralığında olmalıdır.

d) Dioksin benzeri olmayan PCB'ler ve klorlanmış difenil eterler gibi girişim yapan klorlanmış bileşiklerden dioksinlerin ayrımı uygun kromatografik tekniklerle tercihen florisil, alümina ve/veya karbon kolonu ile gerçekleştirilmelidir.

e) İzomerlerin gaz kromatografisi ile ayırımı yeterli olmalıdır (1,2,3,4,7,8-HxCDF ve 1,2,3,6,7,8-HxCDF arasındaki pikten pike ayrım %25'den küçük olmalıdır).

f) Tespit, EPA 1613 revizyon B: 4 den 8 e kadar klor ihtiva eden dioksinler ve furanların HRGC/HRMS izotop dilüsyon tekniği ile veya eşdeğer performans kriterlerine sahip başka bir teknik ile yapılmalıdır.

g)Yaklaşık 1 pg WHO-TEQ/g yağ (PCDD/PCDF ve dioksin benzeri PCB'lerin toplamı üzerinden) dioksin bulaşısıolan gıdalar için üstsınır düzeyi ile altsınır düzeyi arasındaki fark, %20'yi geçmemelidir. Düşük yağ içerikli gıdalarda, yaklaşık 1 pg WHO-TEQ/g ürün bulaşı düzeyleri için aynı hükümler uygulanmalıdır. Düşük bulaşı düzeyleri için (0.5 pg WHO-TEQ/g ürün gibi) üstsınır ile altsınır düzeyi arasındaki fark %25 – 40 aralığında olabilir.

(7) – Tarama analiz metotları

a) Giriş

Tarama metodu kullanılarak farklı analitik yaklaşımlar gerçekleştirilebilir; bu yaklaşımlar yalnızca tarama yaklaşımı ve nicel yaklaşımlardır.

1) Tarama yaklaşımı

Numunelerin tepkisi, ilgilenilen seviyedeki referans numune ile karşılaştırılır. Referanstan daha az tepki veren numuneler negatif olarak beyan edilir, daha yüksek tepki veren numuneler şüpheli pozitiflerdir. Gereklilikler şöyledir;

1. Her bir test serisinde, aynı zaman ve koşullar altında ekstrakte edilen ve test edilen kör ve referans numune(ler) bulunmalıdır. Referans numune, kör ile karşılaştırıldığında belirgin bir şekilde yüksek tepki göstermelidir.

2. İlgilenilen seviyenin kontrolünde, ilgi aralığındaki testin performansının uygunluğunu göstermek için, ilgilenilen seviyenin 0.5 ve 2 katı konsantrasyona sahip ekstra referans numuneler dâhil edilmelidir.

3. Diğer matriksler test edileceği zaman, referans numunenin/numunelerinin uygunluğu, tercihen referans numune seviyesinde TEQ değerine sahip olduğu HRGC/HRMS ile belirlenmiş numuneler veya bu seviyede referans madde ilave edilmiş kör dâhil edilerek ispatlanmalıdır.

4. Biyotestlerde internal standartlar kullanılamadığından, bir test serisi içinde standart sapma ile ilgili bilgi elde etmek için tekrarlanabilirlik testleri gerçekleştirilmelidir. Varyasyon katsayısı %30'un altında olmalıdır.

5. Biyotestler için, hedef bileşikler, olası girişimler ve maksimum tolere edilebilir kör düzeyleri tanımlanmalıdır.

2) Nicel yaklaşım

Nicel yaklaşım, kör ve geri alma kontrollerine ek olarak standart dilüsyon serilerine, ikili veya üçlü saflaştırma ve ölçüme ihtiyaç duyar. Sonuç, sinyali veren bileşiklerin TEQ prensibine karşılık gelen bileşikler olduğu varsayılarak TEQ olarak ifade edilebilir. Bu, ekstraktaki ve dolayısıyla numunedeki TEQ seviyesinin hesaplanmasında kalibrasyon eğrisini oluşturmak için TCDD veya dioksin/furan/dioksin benzeri PCB standart karışımı kullanılarak gerçekleştirilebilir. Sonuç, daha sonra kör numune için hesaplanan TEQ seviyesine (kullanılan çözücüler ve kimyasallardan gelen kirliliği hesaba katmak için) ve geri almaya (ilgilenilen seviye civarındaki kalite kontrol örneğinin TEQ seviyesinden hesaplanan) göre düzeltilir. Geri alma kaybının, biyotestlerdeki TEF değerleri ve WHO tarafından belirlenen ve Tablo 5' de yer alan resmi TEF değerleri arasındaki farklara ve/veya matriks etkilerinden kaynaklanabileceğine dikkat etmek gereklidir.

b) Tarama için kullanılan analiz metotları hükümleri

1) Tarama için GC/MS analiz metotları ve biyotestler kullanılabilir. GC/MS metotları için Madde 6 da verilen hükümler kullanılmalıdır. Hücre temelli biyotestler için özel hükümler EK-2 nin 7 inci maddesi (c) bendinde, kit-temelli biyotestler için özel hükümler EK-2 nin 7 inci maddesi (ç) bendinde açıklanmıştır.

2) Analizin doğrulama metodu ile belirlenen TEQ değeri ile karşılaştırılarak, maksimum limit veya müdahale seviyesi üstünde ve altındaki çok sayıdaki numune serisinin hatalı-pozitif ve hatalı-negatif sonuçlarının sayısı hakkında bilgi gereklidir. Gerçek hatalı-negatif oranı %1'in altında olmalıdır. Hatalı-pozitif numunelerin oranı, tarama yönteminin kullanımının avantajlı olması için yeteri kadar düşük olmalıdır.

3) Pozitif sonuçlar her zaman analizin doğrulama metodu ile (HRGC/HRMS) doğrulanmalıdır. Ayrıca, geniş TEQ aralığındaki numuneler HRGC/HRMS ile doğrulanmalıdır (negatif numunelerin yaklaşık %2 - 10'u). Biyotestler ve HRGC/HRMS sonuçları arasındaki uygunluk kontrolü yapılmalıdır.

c) Hücre temelli biyotestler için özel hükümler

1) Biyotestler gerçekleştirildiğinde, her bir test uygulaması, TCDD'nin veya dioksin/furan/dioksin benzeri PCB karışımlarının referans konsantrasyonlarının serisine gereksinim duyar (R^2 > 0.95 değerine sahip doz-tepki eğrisinin tümü). Ancak, tarama amaçları için düşük seviyedeki numunelerin analizinde genişletilmiş düşük seviye eğrisi kullanılabilir.

2) Kalite kontrol dökümanındaki TCDD referans konsantrasyonu (ölçüm limitinin yaklaşık 3 katı), belli bir zaman aralığında biyotestlerin sonucu için kullanılmalıdır. Hücrelerin tepkisi birçok faktöre bağlı olabildiği için, buna alternatif olarak, referans numunenin relatif tepkisi TCDD kalibrasyon eğrisiyle karşılaştırılabilir.

3) Her bir çeşit referans materyali için kalite kontrol kartları oluşturulmalı ve sonucun belirlenen klavuza uygunluğu kontrol edilmelidir.

4) Özellikle kantitatif hesaplamalar için, kullanılan numune dilüsyonunun konsantrasyonu tepki eğrisinin doğrusal kısmının içinde olması gerekir. Tepki eğrisinin doğrusal kısmının üstündeki numuneler seyreltilmeli ve tekrar test edilmelidir. Bu durumda, bir defada en az 3 veya daha fazla dilüsyon test edilmelidir.

5) Standart sapma yüzdesi her bir numune dilüsyonu için üçlü tayinde %15'i geçmemeli ve üç bağımsız deney arasında %30'un üstünde olmamalıdır.

6) Tespit limiti, çözücü körünün veya gürültü seviyesinin standart sapmasının 3 katı olarak belirlenebilir. Diğer bir yaklaşım, o günün kalibrasyon eğrisinden hesaplanan en alt seviyenin (indüksiyon faktörü çözücü körünün 5 katı) üstündeki tepkiyi uygulamaktır. Ölçüm limiti, gürültünün veya çözücü körünün standart sapmasının 5-6 katı olarak belirlenebilir. Diğer bir yaklaşım, o günün kalibrasyon eğrisinden hesaplanan en alt seviyenin (indüksiyon faktörü çözücü körünün 10 katı) üstündeki tepkiyi uygulamaktır.

ç) Kit temelli biyotestler için özel hükümler

1) Kit temelli biyotestler, gıda numunelerine uygulamak için yeterli duyarlılığa ve güvenilirliğe sahip olmalıdır.

2) Numune hazırlama ve analizler için kit kullanım talimatları takip edilmelidir.

3) Test kitleri son kullanma tarihinden sonra kullanılmamalıdır.

4) Diğer kitler ile kullanmak için tasarlanmış materyaller veya bileşenler kullanılmamalıdır.

5) Test kitleri belirtilen depolama sıcaklığı aralığında saklanmalı ve belirtilen uygulama sıcaklığında kullanılmalıdır.

6) İmmunolojik temelli testler için tespit limiti, körün 10 tekrarlı analizine dayanan standart sapmanın 3 katının doğrusal regresyon eşitliğinin eğim değerine bölünmesiyle belirlenir.

7) Standarda kabul edilebilir aralıkta tepki verdiğinden emin olmak için, laboratuvardaki testlerde referans standartlar kullanılmalıdır.

(8) – Sonucun raporlanması

Kullanılan analitik prosedür elverdiği ölçüde, analitik sonuçlar her bir PCDD/F ve dioksin benzeri PCB bileşiklerinin seviyelerini içermelidir ve sonuçların raporlanmasında maksimum bilgiyi içermesi ve böylece özel hükümlere göre sonuçların yorumunu etkinleştirmek için altsınır, üstsınır veya orta sınır olarak rapor edilmelidir.

Rapor, numunenin yağ miktarını da içerdiği gibi yağ ekstraksiyonu için kullanılan metodu da içermelidir.

Her bir iç standardın geri almaları; geri almalar Madde 6'da bahsedilen aralık dışında olduğunda, maksimum limit aşıldığında ve diğer durumlarda talep edilmesi halinde belirtilmelidir.

Numunenin uygunluğu hakkında karar verileceği zaman ölçüm belirsizliği göz önünde bulunduruluyorsa, bu parametre de belirtilmelidir. Dolayısıyla, analitik sonuçlar x +/– U şeklinde raporlanmalıdır. Burada (x) analitik sonuç ve (U) ise koveraj faktörü olarak yaklaşık % 95'lik güven aralığını veren "2" katsayısının kullanıldığı genişletilmiş ölçüm belirsizliğini ifade eder. Dioksinlerin ve dioksin benzeri PCB'lerin ayrı ayrı tespit edilmesi durumunda; toplam ölçüm belirsizliği için bu bileşiklerin ayrı ayrıanalitik sonuçlarından hesaplanan toplama ait genişletilmiş ölçüm belirsizliği kullanılmalıdır.

Sonuçlar, Türk Gıda Kodeksi – Bulaşanlar Yönetmeliği'nde belirtilen maksimum limitlerin birimi ile aynı birimlerde ve aynı ondalık basamağında ifade edilmelidir.

Tablo 5
Dünya Sağlık Örgütü tarafından saptanan, PCB'ler, PCDD'ler ve PCDF'lerin insanlar için tehlike değerlerini gösteren Toksik Eşdeğer Faktörleri (WHO-TEF, 1998)

Benzer ya da aynı türden /Çeşitlerden biri	TEF değeri	Benzer ya da aynı türden /Çeşitlerden biri	TEF değeri
Dibenzo-p-dioksinler (PCDD'ler)		**Dioksin benzeri PCB'ler: Non-orto PCB'ler + Mono-orto PCB'ler**	
2,3,7,8-TCDD	1	Non-orto PCB'ler	

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	Mono-orto PCB'ler	
OCDD	0,0001	PCB 105	0,0001
Dibenzofuranlar (PCDF'ler)		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		
Kısaltmalar: T; Tetra/Dört, Pe; Penta/Beş, Hx;Hekza/Altı, Hp;Hepta/Yedi, O;Octa/Sekiz, CDD; Klorodibenzodioksin, CDF; Klorodibenzofuran, CB; Klorobifenil			