

Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığından:

**TÜRK GIDA KODEKSİ BELİRLİ GIDALARDA DİOKSİNLERİN, DİOKSİN
BENZERİ POLİKLORLU BİFENİLLERİN VE DİOKSİN BENZERİ OLMAYAN
POLİKLORLU BİFENİLLERİN SEVİYESİNİN RESMİ KONTROLÜ İÇİN
NUMUNE ALMA, NUMUNE HAZIRLAMA VE ANALİZ METODU KRİTERLERİ
TEBLİĞİ
(TEBLİĞ NO: 2014/Taslak)**

Amaç ve kapsam

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

Dayanak

MADDE 2 – (1) Bu Tebliğ, 29/12/2011 tarihli ve 28157 3'üncü mükerrer sayılı Resmî Gazete'de yayınlanan Türk Gıda Kodeksi Yönetmeliğine dayanılarak hazırlanmıştır.

Tanımlar

MADDE 3 – (1) Bu Tebliğ'de geçen;

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

b) Alt-sınır: Miktarı belirlenmemiş olan her bir türdeş bileşenin katkısı için sıfır değerinin kullanılmasını gerektiren durumu,

c) Bakanlık: Gıda, Tarım ve Hayvancılık Bakanlığını,

ç) Belirli gıdalar: 29.12.2011 tarihli 28157 3'üncü mükerrer sayılı Resmî Gazete'de yayınlanan TGK- Bulaşanlar Yönetmeliği eklerinden dioksinler ve PCB'ler için limit belirlenen gıdaları,

d) Birincil (İnkremental) numune: Parti veya alt partinin tek bir yerinden alınan bir miktar materyali,

e) Biyoanalitik metotlar: Hücre temelli analizler, reseptör analizleri veya immunoanalizler gibi biyolojik prensiplere dayalı metotlardır. Numune ekstraktında bulunan ve analize yanıt veren tüm bileşiklerin TEQ-prensibinin gerekliliklerine uymayabileceğinden Biyoanalitik Eşdeğerlik (BEQ) olarak ifade edilen ve TEQ düzeyinin sadece bir göstergesi olan bu metotlar türdeş bileşen miktarı hakkında sonuç vermezler. Biyoanalitik metotlar, TEF şemasında yer alan türdeş bileşenler için spesifik değildir. Toplam yanıtta dahil olacak şekilde yapısal olarak ilişkili diğer AhR-aktif bileşikler numune ekstraktında mevcut olabilir. Bu nedenle biyoanalitik sonuçlar; TEQ sonucu olmayıp, numunedeki TEQ seviyesinin bir göstergesidir.

f) Biyoanaliz görünür geri kazanımı: BEQ seviyesinin, kör için düzeltilmiş TCDD veya PCB 126 kalibrasyon eğrisinden hesaplanması ve daha sonra doğrulama metodu ile tespit edilen TEQ seviyesine bölünmesidir. Bunlar, ekstraksiyon ve ekstraktan istenmeyen bileşiklerin arındırılması (clean-up) aşamalarında meydana gelebilecek PCDD/PCDF'ler ve dioksin-benzeri bileşiklerin kaybı, analitik yanıtı artıran veya düşüren ekstrakte edilmiş istenmeyen bileşikler (agonistik ve antagonistik etkiler), kalibrasyon eğrisine uygunluk kalitesi ya da TEF ve REP değerleri arasındaki farklılıklar gibi faktörleri düzeltmeyi amaçlar. Biyoanaliz görünür geri kazanımı, maksimum limit veya müdahale seviyesi civarında temsili türdeş bileşen dağılımına sahip uygun referans numunelerden hesaplanır.

g) Bir numunedeki her bir türdeş bileşenin kabul edilen spesifik ölçüm limiti: Uluslararası kabul görmüş standartlarda [örneğin EN 16215:2012 standardında (Hayvan yemi

GC/HRMS ile indikatör PCB'lerin ve GC/HRMS ile dioksin ve dioksin benzeri PCB'lerin belirlenmesi) ve/veya EPA 1613 ve 1668 revize metotları] tarif edildiği gibi tanımlama kriterlerini karşılayan, kabul edilebilir istatistiksel kesinlikle ölçülebilen en düşük analit miktarını,

Bir türdeş bileşenin ölçüm limiti şu şekilde de tanımlanabilir:

1) Daha düşük şiddetteki ham veri sinyali için S/N (sinyal/gürültü) oranının 3:1 olacak şekilde izlenebildiği iki farklı yonda enstrümental bir yanıt üreten numune ekstraktındaki analit konsantrasyonunu;

veya

2) Teknik nedenlerden dolayı S/N hesabı güvenilir sonuçlar sağlamaz ise, numunelerin her bir serisinin kalibrasyon eğrisi üzerinde tüm noktalar için hesaplanan ortalama bağıl tepki faktörüne kabul edilebilir ($\leq 30\%$) ve tutarlı (en azından başlangıçta ve numunelerin analitik bir serisinde ölçülen) bir sapma veren kalibrasyon eğrisi üzerindeki en düşük konsantrasyon noktası; (LOQ, numune alımı ve iç standartların geri kazanımı hesaba alınarak en düşük konsantrasyon noktasından hesaplanır)

ğ) Doğrulama metotları: PCDD/F ve dioksin benzeri PCB'lerin tanımlanmasına ve maksimum limit veya gerektiğinde müdahale seviyesinde şüpheye yer bırakmayacak şekilde kantitatif olarak hesaplanmasına olanak veren gerekli her türlü bilgiyi sağlayan metotlardır. Bu metotlar gaz kromatografi/yüksek çözünürlüklü kütle spektrometresi (GC-HRMS) veya gaz kromatografisi/tandem kütle spektrometresi (GC-MS/MS) kullanırlar.

h) Laboratuvar numunesi: Laboratuvar için paçal numunenin bir miktarı/bölümü alınarak hazırlanmış, paçal numuneyi temsil eden numuneyi,

i) Müdahale seviyesi: Dioksin ve dioksin benzeri PCB'lerin yüksek seviyelerinin tespit edildiği durumlarda, bunların kaynağının tanımlanması için araştırmaların başlatıldığı seviyeyi,

i) Orta-sınır: Miktarı belirlenmemiş olan her bir türdeş bileşenin katkısı için ölçüm limitinin yarısının kullanılmasını gerektiren durumu,

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

k) Parti: Numuneyi alan kontrol görevlisi tarafından; orijin, çeşit, paketleyici veya gönderici firma, ambalaj tipi, işaretleme gibi özelliklerinin aynı olduğu belirlenen ve bir seferde teslim edilen gıdanın tanımlanabilir miktarını,

l) Şahit numune: İtirazlı durumlar için paçal numuneden ayrılan numuneyi,

m) Tarama metotları: PCDD/F ve dioksin benzeri PCB'ler açısından maksimum limit veya müdahale seviyesini geçen numunelerin seçilmesinde kullanılan metotlardır. Bu metotlar, maliyet açısından avantaj sağlayacak şekilde yüksek miktarda numune çalışılmasına imkan sağlar ve böylece tüketiciler için yüksek maruziyete ve sağlık riskine yol açabilecek yeni kazaların keşfedilmesinin şansını artırır. Tarama metotları biyoanalitik veya GC-MS metotlarına dayalı metotlardır. Eşik değerini geçen numunelerin sonuçları; maksimum limit ile uygunluğunun kontrolü için, doğrulama metodu kullanılarak orijinal numunenin tamamen yeniden analizi ile doğrulanmalıdır.

n) Üst-sınır: Miktarı belirlenmemiş olan her bir türdeş bileşenin katkısı için ölçüm limitinin kullanılmasını gerektiren durumu,

o) Yarı kantitatif metotlar: Sayısal sonucu, kantitatif metotların gerekliliklerini karşılamazken varsayılan analitin konsantrasyonuna ilişkin yaklaşık bir gösterge veren metotları, ifade eder.

(2) Bu Tebliğ'de geçen kısaltmalar;

BEQ : Biyoanalitik eşdeğerlikler,

CV : Varyasyon katsayısı

GC	: Gaz kromatografisi,
HRMS	: Yüksek çözünürlüklü kütle spektrometresi,
MS/MS	: Ardışık kütle spektrometresi
LRMS	: Düşük çözünürlüklü kütle spektrometresi,
PCB	: Poliklorlu bifeniller,
PCDD	: Poliklorlu dibenzo-p-dioksinler,
PCDF	: Poliklorlu dibenzofuranlar,
QC	: Kalite kontrol,
REP	: Bağlı etki,
TEF	: Toksik eşdeğerlik faktörü,
TEQ	: Toksik eşdeğerlikler,
TCDD	: Tetraklorodibenzodioksin
U	: Genişletilmiş ölçüm belirsizliği

olarak ifade edilir.

Numune alma

MADDE 4 – (1) Belirli gıdalarda bulunan dioksinler, furanlar, dioksin benzeri PCB'ler ve dioksin benzeri olmayan PCB'lerin seviyesinin resmi kontrolü için EK-1'deki numune alma usul ve esaslarına göre yapılır.

Numune hazırlama ve analiz metodu kriterleri

MADDE 5 – (1) Belirli gıdalarda bulunan dioksinler, furanlar, dioksin benzeri PCB'ler ve dioksin benzeri olmayan PCB'lerin seviyesinin resmi kontrolünde kullanılan analiz metotları için gereklilikler ve numune hazırlama usul ve esasları EK-2'ye uygun olur.

Avrupa Birliği mevzuatına uyum

MADDE 6 - (1) Bu Tebliğ, 2/6/2014 tarihli ve 589/2014/EU sayılı Belirli Gıdalarda Bulunan Dioksinler, Dioksin Benzeri PCB'ler ve Dioksin Benzeri Olmayan PCB'lerin Seviyelerinin Kontrolü İçin Numune Alma ve Analiz Metotları hakkında Avrupa Parlamentosu ve Konsey Tüzüğü dikkate alınarak Avrupa Birliği mevzuatına uyum çerçevesinde hazırlanmıştır.

Yürürlükten kaldırılan tebliğ

MADDE 7 – (1) 4/1/2012 tarihli ve 28163 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: 2012/5) yürürlükten kaldırılmıştır.

Geçiş hükümleri

GEÇİCİ MADDE 1 – (1) Bu Tebliğin yayımı tarihinden önce resmi kontroller için analiz yapan kurum ve kuruluşlar 01/01/2016 tarihine kadar bu Tebliğ hükümlerine uyarlar.

(2) Bu Tebliğin yayımı tarihinden önce resmi kontroller için analiz yapan kurum ve kuruluşlar bu Tebliğ hükümlerine uyum sağlayana kadar 7 inci madde ile yürürlükten kaldırılan Tebliğ hükümlerine uyarlar.

Yürürlük

MADDE 8 – (1) Bu Tebliğ yayımı tarihinde yürürlüğe girer.

Yürütme

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

EK – 1

Belirli Gıdalarda Dioksinler, Dioksin Benzeri PCB'ler ve Dioksin Benzeri Olmayan PCB'lerin Seviyesinin Resmi Kontrolü İçin Numune Alma Usul ve Esasları

(1) – Genel hükümler

- a) Numune, kontrol görevlisi tarafından alınmalıdır.
- b) İncelenecek olan her parti veya alt partiden ayrı ayrı numune alınmalıdır. Balık ve balıkçılık ürünleri için, balıkların boyutu karşılaştırılabilir olmalıdır. Bir sevkiyat içinde balıkların ağırlığı ve/veya boyutu karşılaştırılabilir değilse, sevkiyat hala bir parti olarak değerlendirilir ancak özel bir numune alma metodu uygulanmalıdır (EK-4'ten faydalanılabilir).
- c) Numune alma ve numune hazırlama aşamalarında dioksinler ve PCB'lerin (Dioksin Benzeri PCB'ler ve Dioksin Benzeri Olmayan PCB'ler) içeriğini, dolayısıyla analitik belirlemeyi veya paçal numunenin partiyi temsil edebilirliğini etkileyecek herhangi bir değişikliği önlemek için gerekli önlemler alınmalıdır.
- ç) Birincil numuneler, parti veya alt parti içinde mümkün olduğunca farklı yerlerden alınmalıdır. Bu şekilde alınamadığı durumlarda ise (ğ) bendinde belirtilen kayıtlara mutlaka işlenmelidir.
- d) Paçal numune, birincil numunelerin birleştirilmesiyle oluşturulmalıdır. Tek bir paket numune veya ürünün yüksek ticari değerinin olması gibi 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 numune içeriğini her türlü değişiklikten koruyacak gerekli tüm önlemler alınmalıdır. Numuneler, taşıma esnasında bulaşmayı, 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 kayıta numune alma tarihi, yeri ve analizi yapacak kişiye yardımcı olacak diğer bilgiler de yer almalıdır.

(2) – Numune alma planı

Uygulanan numune alma metodu, paçal numunenin kontrol edilecek parti veya alt partiyi temsil eder nitelikte olmasını sağlamalıdır.

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 bölünmez

Tablo - 2

Diğer Ürünler İçin Partinin Alt Partilere Bölünmesi

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

b) Birincil numunelerin sayısı

Birincil numunelerin birleştirilmesi ile oluşan paçal numune en az 1 kg olmalıdır (Bkz: Ek-1'in 1 inci maddesi (d) bendi). 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 ağırlıkları birbirine yakın miktarlarda olmalıdır. Bir birincil numunenin ağırlığı, en az 100 g 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 birincil numune sayısı
< 50	3
$\geq 50 - 500 \leq$	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 birim ya da paket sayısı	Alınması gereken paket veya birim sayısı
1 – 25	En az bir paket ya da birim
26 – 100	En az 2 paket ya da birim, yaklaşık %5
> 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 oldukları 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 parti, her bir balığın ağırlığı yaklaşık 1 kg'dan az olan küçük balıkları içeriyorsa, paçal numuneyi oluşturmak için birincil numune olarak bir bütün halindeki balık alınır. Paçal numunenin ağırlığı 3 kg'dan daha fazla oluyorsa; paçal numuneler balıkların en az 100 g ağırlıktaki orta kısımlarını içeren birincil numuneden oluşmalıdır. Maksimum limit, paçal numunenin tamamının homojenize edilmiş haline uygulanır.

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 parti, her bir balığın ağırlığı ortalama 1 kg'dan fazla olan büyük balıkları içeriyorsa, birincil numune balığın orta kısmını kapsar. Her bir birincil numunenin ağırlığı en az 100 g olmalıdır.

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

Yaklaşık 6 kg'dan ağır 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 g 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'nci maddesi (c) bendinde belirtilen hükümler uygulanır.

Partinin yaklaşık %80'ini 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 için EK-4'te verilen klavuzdan faydalanılabilir.

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

a) Dioksin benzeri olmayan PCB'ler için:

Dioksin benzeri olmayan PCB'ler için ölçüm belirsizliği hesaba katılarak elde edilen analitik sonuç, Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliğinde belirtilen maksimum limitleri aşmıyorsa parti kabul edilir.

Eğer iki analizle^(*) doğrulanan üst-sınır analitik sonucu, ölçüm belirsizliği hesaba katılarak makul şüphenin ötesinde maksimum limitleri aşmıyorsa parti reddedilir. Ölçüm belirsizliğini dikkate alan iki analiz sonucunun ortalaması, uygunluğun doğrulanması için kullanılır.

Ölçüm belirsizliği aşağıdaki yaklaşımlardan birisine göre hesaba katılabilir:

- Genişletilmiş belirsizlik hesaplanarak; % 95 güven aralığında kapsama faktörü olarak 2 değerinin kullanılması ile elde edilen sonuç. Ölçülen değerden U değerinin çıkarılması ile elde edilen değer; izin verilen maksimum limitten büyükse parti veya alt parti rededilir.

- Karar limiti ($CC\alpha$) hesaplanarak; ölçülen değer karar limitine eşit veya büyükse parti veya alt parti rededilir.

Yukarıdaki kurallar resmi kontroller için alınan numunelerden elde edilen analitik sonuçlar için uygulanmalıdır. Paçal numuneden ayrılan şahit numune için Gıda ve Yemin Resmi Kontrol Yönetmeliğindeki kurallar uygulanır.

b) Dioksinler (PCDD/PCDF) ve dioksin benzeri PCB'ler için:

Tek bir analiz sonucu,

- %5'in altında "hatalı-uygun" oranına sahip tarama metodu ile yapıldı ise ve sonuç, PCDD/F'lerin ve dioksin benzeri PCB'lerin toplamı ve PCDD/F'lerin Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliğinde belirtilen maksimum limitleri aşmıyorsa;

- Doğrulama metodu ile yapılmışsa ve ölçüm belirsizliği hesaba katılarak elde edilen sonuç, PCDD/F'ler ve dioksin benzeri PCB'lerin toplamı ve PCDD/F'lerin Türk Gıda Kodeksi Bulaşanlar Yönetmeliğinde belirtilen maksimum limitleri aşmıyorsa; parti kabul edilir.

Tarama metotları için, gerek PCDD/F'ler ve gerekse PCDD/F'ler ve dioksin benzeri PCB'lerin toplamı için ayrı ayrı belirlenen ilgi seviyelerine olan uygunluğa karar vermek için, bir eşik değer belirlenmelidir.

Eğer paralel analizle doğrulanan ve bir doğrulama metoduyla elde edilen üst-sınır analitik sonucu, ölçüm belirsizliği hesaba katılarak makul şüphenin ötesinde maksimum limitleri aşıyorsa parti reddedilir. Ölçüm belirsizliğini dikkate alan iki analiz(*) sonucunun ortalaması, uygunluğun doğrulanması için kullanılır.

Ölçüm belirsizliği aşağıdaki yaklaşımlardan birisine göre hesaba katılabilir:

- Genişletilmiş belirsizlik hesaplanarak; %95 güven aralığında kapsama faktörü olarak 2 değerinin kullanılması ile elde edilen sonuç. Ölçülen değerden U değerinin çıkarılması ile elde edilen değer; izin verilen maksimum limitten büyükse parti veya alt parti rededilir. PCDD/F'ler ve dioksin benzeri PCB'lerin ayrı ayrı belirlenmesi durumunda; PCDD/F'ler ve dioksin benzeri PCB'lerin ayrı analitik sonuçlarının tahmini genişletilmiş belirsizliği, PCDD/F'ler ve dioksin benzeri PCB'lerin toplamının tahmini genişletilmiş belirsizliği için kullanılır.

- Karar limiti ($CC\alpha$) hesaplanarak; ölçülen değer karar limitine eşit veya büyükse parti veya alt parti rededilir.

Yukarıdaki kurallar resmi kontroller için alınan numunelerde elde edilen analitik sonuçlar için uygulanmalıdır. Paçal numuneden ayrılan şahit numune için Gıda ve Yemin Resmi Kontrol Yönetmeliğindeki kurallar uygulanır.

(4) – Müdahale Seviyesinin Aşılması:

Müdahale seviyesi, bulaşanın kaynağını tanımlamak ve bunu azaltmak ya da elimine etmek amacıyla önlem almanın mümkün olduğu durumlarda, numunelerin seçilmesi için bir araç görevi görür.

(*)Eğer, ilişkili olduğu analit için ^{13}C işaretli iç standardın kullanıldığı doğrulama metodu ile yapılan ilk tespiti ilişkin sonuç uygun değil ise ikinci bir analiz gereklidir. İç çapraz kontaminasyon veya kaza ile numunelerin karışması ihtimalini hariç tutmak için ikinci bir analiz gereklidir. Analizin bir bulaşı kazası çerçevesinde gerçekleştiği durumda, analiz için seçilen numunelerin bulaşı kazasına ilişkin izlenebilirliği varsa ve bulunan seviye maksimum limitin önemli derecede üzerinde ise iki analiz ile doğrulama işlemi yapılmayabilir.

Bu numunelerin seçilmesi için tarama metotları uygun eşik değerlerini tanımlamalıdır. Bulaşmayı elimine etmenin, azaltmanın veya kaynağını tanımlamanın zor olduğu durumlarda, müdahale seviyesinin aşılması söz konusu olduğunda sonucun doğrulanması için ölçüm belirsizliği dikkate alınarak ikinci bir analizin doğrulama metodunu kullanarak yapılması uygun olacaktır.

EK-2

Dioksinler (PCDD/PCDF) ve Dioksin Benzeri PCB'lerin Seviyesinin Kontrolünde Kullanılan Analiz Metotları İçin Gereklilikler ve Numune Hazırlama Usul ve Esasları

(1)Uygulama alanı

Bu ekte belirtilen hükümler, 2,3,7,8 poliklorlu dibenzo-p-dioksinler ve poliklorlu dibenzofuranlar (PCDD/F'ler) ve dioksin benzeri poliklorlu bifenillerin (dioksin benzeri PCB'ler) seviyelerinin resmi kontrolü ve diğer düzenleyici amaçlar için analiz edilen gıdalara uygulanmalıdır.

Gıdalarda PCDD/F'lerin ve dioksin benzeri PCB'lerin varlığını izleme, iki farklı analitik metot ile gerçekleştirilebilir:

a) Tarama metotları: Tarama metotlarının amacı PCDD/F'lerin ve dioksin benzeri PCB'ler açısından müdahale seviyesi veya maksimum limiti aşan numuneleri seçmektir. Tarama metotları ekonomik, verimli ve yüksek numune akışını sağlayarak tüketicilere dair sağlık risklerini ve yüksek maruziyet ile yeni olayların ortaya çıkartılması olasılığını artırmalıdır. Uygulama hatalı-uygun sonuçları önlemeyi amaçlamalıdır. Bu metotlar biyoanalitik ve GC/MS metotlarını kapsar.

Maksimum veya müdahale seviyesinin olası aşılması hakkında evet/hayır kararını sağlayan tarama metotları; ürettiği analitik sonuç ile eşik değeri kıyaslar. Maksimum limite uygun olmadığından şüphe edilen numunelerde PCDD/F'ler ve PCDD/F ve dioksin benzeri PCB'lerin toplamının konsantrasyonu doğrulama metodu ile tespit edilmeli ve doğrulanmalıdır.

Buna ilave olarak, tarama metotları numunede PCDD/F'lerin ve dioksin benzeri PCB'lerin varlığına ilişkin bir gösterge olabilir. Biyoanalitik tarama metotlarının uygulanması durumunda sonuç biyoanalitik eşdeğerlik (BEQs) olarak ifade edilirken, fiziko-kimyasal GC-MS metodlarının uygulanması durumunda ise sonuçlar toksik eşdeğerlik (TEQs) olarak ifade edilir. Tarama metotlarının sayısal olarak belirtildiği sonuçlar uygunluğun veya şüpheli uygunsuzluğun gösterilmesi veya müdahale seviyelerinin aşılmasının gösterilmesinde uygundur ve devamında doğrulama metotları kullanılmak üzere seviyelerin aralığına ilişkin işaret verebilir. Ancak düşük zemin seviyelerinin belirlenmesi, maruziyet seviyelerinin zamana bağlı olarak değişiminin izlenmesi, veya müdahale seviyesi ve maksimum limitlerin yeniden değerlendirilmesi gibi durumlar için tarama metotları uygun değildir.

b) Doğrulama metotları: Numunedeki mevcut PCDD/F ve dioksin benzeri PCB'lerin kesin bir şekilde hesaplanması ve tanımlanmasını ve türdeş bileşen bazında da tam bilgiye ulaşılmasını sağlar.

Bu nedenle bu metotlar tarama metotları ile elde edilen sonuçların doğrulanması da olmak üzere maksimum limit ve müdahale seviyelerinin kontrolünü sağlar. Buna ilave olarak bu metotlar; gıda izlemede düşük zemin seviyelerinin tespiti, zamana bağlı olarak değişimlerin izlenmesi, popülasyonun maruziyet değerlendirmesi ve müdahale seviyesi ve maksimum limitlerin olası yeniden değerlendirilmesi için veri tabanının oluşturulması gibi farklı amaçlar için de kullanılabilir. Doğrulama metotları aynı zamanda muhtemel bulaş kaynağını ortaya çıkarmak üzere türdeş bileşen dağılımlarının belirlenmesi hususunda da önemlidirler. Bu metotlar GC-HRMS kullanırlar. Maksimum limit ile uygunluk ve uygunsuzluk durumunda aynı zamanda GC-MS/MS de kullanılabilir.

(2) Esas

Toksik Eşdeğerlikler Konsantrasyonunu hesaplamak için; numunedeki her bir maddenin konsantrasyonu, Tablo-6'da 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.

Tarama ve doğrulama metotları, müdahale seviyesi ya da maksimum limit miktarlarını güvenilir şekilde tespit etmek için yeterince hassas ise, belirli bir matriksin kontrolü için uygulanabilir.

(3) Kalite güvence gereklilikleri

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

b) Numuneler, numunelerdeki PCDD/F'ler ve dioksin benzeri PCB'lerin seviyeleri üzerine etki etmeyecek şekilde saklamaya uygun cam, alüminyum, polipropilen veya polietilen kaplarda muhafaza edilmeli ve taşınmalıdır. Kağıt tozlarının kalıntıları numune kabından uzaklaştırılmalıdır.

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

ç) Her bir laboratuvar numunesi mümkün olduğu kadar, tam homojenizasyonu sağlamak üzere, iyice öğütülmeli (örneğin 1 mm'lik elekten geçecek şekilde) ve iyice karıştırılmalıdır. Numuneler, rutubet içeriği çok yüksek ise, öğütülmeden önce kurutulmalıdır.

d) Kimyasallar, cam malzemeler ve ekipmanların, TEQ veya BEQ'e dayalı sonuçları etkilememesi için kontrol edilmiş olması çok önemlidir.

e) Numune hariç tutularak, tüm analitik prosedürün uygulanması ile kör analiz gerçekleştirilmelidir.

f) Biyoanalitik metotlar için, analizde kullanılan tüm cam malzeme ve çözücülerin çalışma aralığı içerisinde hedef bileşiklerin tespitinde girişim yapan bileşikler içermediğinin kontrol edilmiş olması oldukça önemlidir. Cam malzemeler, PCDD/F'ler, dioksin benzeri PCB'ler ve girişim yapan bileşiklerin kalıntılarını uzaklaştırmak için uygun sıcaklıklarda ısıtılmalı ve/veya çözücüler ile çalkalanmalıdır.

g) Ekstraksiyon için kullanılan numune miktarı, müdahale seviyesi veya maksimum limit konsantrasyonunu içeren yeterince düşük çalışma aralığındaki gereklilikleri karşılamalıdır.

ğ) Analiz edilecek ürünler için kullanılan özel numune hazırlama prosedürleri, uluslararası kabul edilen talimatlara uygun olmalıdır.

h) Balık söz konusu olduğunda, maksimum limit derisiz kas dokusuna uygulandığı için deri uzaklaştırılmalıdır. Ancak, kas dokusunun kalan tüm kısmı ve derinin iç kısmındaki yağ dokusu dikkatlice ve tamamen deriden sıyrılmalı ve 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, 17.12.2011 tarihli ve 28145 sayılı Resmi Gazetede yayımlanan Gıda ve Yemin Resmi Kontrollerine Dair Yönetmeliğinde laboratuvarlar için belirtilen hükümlere uymak zorundadır.

b) Laboratuvar yeterliliği, ilgili gıda matriksleri ve konsantrasyon aralıklarında PCDD/F'lerin ve dioksin benzeri PCB'lerin tespitine yönelik yapılan yeterlilik testleri veya laboratuvarlararası çalışmalara sürekli ve başarılı katılım ile kanıtlanmalıdır.

c) Numunelerin rutin kontrolü için tarama metotlarını uygulayan laboratuvarlar, hem kalite kontrol hem de şüpheli numunelerin analiz sonuçlarının doğrulanması için doğrulama metodu uygulayan laboratuvarlarla yakın işbirliği içinde olmalıdır.

(5) Dioksinler(PCDD/F'ler) ve dioksin benzeri PCB'ler için analitik prosedür gereklilikleri

a) Düşük çalışma aralığı ve ölçüm limitleri (LOQ)

PCDD/F'ler için, bu bileşiklerin bazılarının aşırı toksisiteleri nedeniyle tespit edilebilir miktarlar femtogram (10^{-15} g) düzeyinde olmalıdır. Çoğu PCB türdeş bileşeni için nanogram (10^{-9} g) düzeyinde ölçüm limiti yeterlidir. Ancak, daha toksik dioksin benzeri PCB türdeş bileşenlerinin (özellikle non-orto türdeş bileşenlerin) ölçümü için, çalışma aralığı pikogram (10^{-12} g) seviyelerine inmelidir.

b) Yüksek seçicilik (spesifiklik)

1) PCDD/F'ler ve dioksin benzeri PCB'leri, ilgili analitlerden birkaç kat fazla konsantrasyonlarda mevcut olan, ilgili analitlerle birlikte ekstrakte edilen ve girişim yapması muhtemel bileşiklerden ayırt etmek gereklidir. Gaz kromatografisi/kütle spektrometresi (GC/MS) metotlarında, toksik bileşikler (17 adet 2,3,7,8-PCDD/F'ler ve 12 adet dioksin benzeri PCB'ler) ve diğer türdeş bileşenlerin ayırımı gereklidir.

2) Biyoanalitik metotlar, PCDD/F'ler ve/veya dioksin benzeri PCB'lerin toplamı olarak, hedef bileşikleri tespit edebilir olmalıdır. Clean-up işlemi "hatalı-uygunsuz" sonuçlara sebep olan bileşikler ya da hatalı-uygun sonuçlara sebep olan yanıt düşürecek bileşikler uzaklaştıracak şekilde olmalıdır.

c) Yüksek doğruluk (gerçeklik ve kesinlik, biyoanaliz görünür geri kazanımı)

1) GC/MS metotları ile tespit; numunedeki gerçek konsantrasyon için geçerli bir değerlendirme sağlamalıdır. Yüksek doğruluk (Ölçüm doğruluğu: Analite ilişkin gerçek veya atfedilen değer ile ölçülen sonucun birbirine yakınlığı), hesaplanan TEQ seviyesinin zayıf güvenilirliği sebebiyle analiz sonucunun 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 farkın sertifikalanmış değere göre yüzdesi olarak ifade edilir. Kesinlik ise tekrar üretilebilirlik koşulları altında elde edilen sonuçlardan hesaplanan bağıl standart sapmadır (RSD_R).

2) Biyoanalitik metotlar için, biyoanaliz görünür geri kazanımı hesaplanmalıdır.

ç) Maksimum limit aralığında geçerli kılma ve genel kalite kontrol kriterleri

1) Laboratuvarlar, geçerli kılma işleminde ve/veya rutin analizlerde maksimum limitin 0.5, 1 ve 2 katı gibi maksimum limit aralığında tekrarlanan analizlerde kabul edilebilir bir varyasyon katsayısı sağlanacak şekilde, metodun performansını göstermelidir.

2) İç kalite kontrol ölçümleri amacıyla, düzenli kör kontrolleri ve standart eklenmiş denemeler veya tercihen sertifikalı referans materyal kullanılarak kontrol numunelerinin analizi gerçekleştirilmelidir. Kör kontroller, standart eklenmiş denemeler veya kontrol örnekleri için kalite kontrol(QC) grafikleri kayıt edilmeli ve analitik performansın gerekliliklerine uyumlu olduğundan emin olmak için kontrol edilmelidir.

d) Ölçüm limiti (LOQ)

1) Biyoanalitik tarama metotları için, ölçüm limitinin belirlenmesi zorunlu bir gereklilik değildir ancak bu metodun eşik değeri ve kör değerini birbirinden ayırt edebildiğini kanıtlaması gerekmektedir. Bir BEQ düzeyi verildiği zaman, bu seviyenin altında yanıt veren numuneleri ele almak için bir raporlama limiti belirlenmelidir. Raporlama limitinin, çalışma aralığı altında kalmak kaydıyla, "prosedür kör numunelerinden" en az 3 kat fazla olabileceği gösterilmelidir. Bu sebeple, bu limit, bir deneme köründen ya da S/N oranından değil; istenen minimum seviye civarındaki hedef bileşenleri içeren numunelerden hesaplanmalıdır.

2) Bir doğrulama metodu için; ölçüm limiti, maksimum limitin ortalama 1/5'i olmalıdır.

e) Analitik kriter

Doğrulama veya tarama metotlarından güvenilir sonuçlar elde etmek amacıyla; maksimum limit veya müdahale seviyesi aralığında, gerek toplam TEQ değeri olarak hesaplanan (PCDD/F ve dioksin benzeri PCB'lerin toplamı) ve gerekse PCDD/F ve dioksin benzeri PCB'ler olarak ayrı ayrı hesaplanan TEQ değeri ve BEQ değeri için Tablo-5'teki kriterler karşılanmalıdır.

Tablo 5

Doğrulama ya da tarama metotları için karşılanması gereken analitik kriterler

	Biyoanalitik ya da fiziko kimyasal metotlarla tarama	Doğrulama metotları
Hatalı-uygun oranı**	< %5	
Gerçeklik		%(-20) - %20
Tekrar edilebilirlik (RSD _F)	< %20	
Laboratuvar içi tekrar üretilebilirlik (RSD _R)	< %25	< %15
**Maksimum limitler açısından		

f) Tarama metotları için özel gereklilikler

Tarama için GC/MS analiz metotları ve biyoanalitik metotlar kullanılabilir. GC/MS metotları için Ek-2 Madde 6'da verilen hükümler kullanılmalıdır. Hücre temelli biyoanalitik metotlar için özel hükümler EK-2 nin 7'inci maddesinde açıklanmıştır.

1) Numunelerin rutin kontrolü için tarama metotlarını uygulayan laboratuvarlar, doğrulama metodu uygulayan laboratuvarlarla yakın ilişki içinde olmalıdır.

2) Rutin analizler sırasında, tarama metodunun performans doğrulaması, analitik kalite kontrol ve devam eden metot geçerli kılma işlemleriyle yapılmalıdır. Uygun sonuçların kontrolü için, sürekli bir program olmalıdır.

3) Hücre yanıtının olası baskılanmasının ve sitotoksitenin kontrolü: Rutin taramalarda, numune ekstraktında girişim yapan bileşikler tarafından yanıtın olası baskılanmasını kontrol etmek için numune ekstraktlarının % 20'si; maksimum limit veya müdahale seviyesine karşılık gelen miktarda 2,3,7,8-TCDD eklenerek ve eklenmeksizin ölçülmelidir. Standart eklenmiş numunenin ölçülen konsantrasyonu; standart eklenmemiş ekstrakt konsantrasyonu ve eklenen standardın konsantrasyonunun toplamı ile karşılaştırılır. Bu ölçülen konsantrasyon, hesaplanan (toplam) konsantrasyondan % 25'ten daha fazla oranda düşükse; bu potansiyel sinyal baskılanmasının göstergesidir ve ilgili numune, doğrulama analizi için gönderilmelidir. Sonuçlar, kalite kontrol grafiklerinde izlenmelidir.

4) Uygun numunelerin kalite kontrolü: Numune matrisi ve laboratuvar tecrübesine bağlı olarak, uygun numunelerin yaklaşık % 2-10'u doğrulanmalıdır.

5) Kalite kontrol verilerinden hatalı-uygun oranlarının belirlenmesi: Müdahale seviyesinin veya maksimum limitin altında ve üstünde değere sahip numunelerin taramalarından elde edilen hatalı-uygun sonuçlar oranı belirlenmelidir. Gerçek hatalı-uygun oranları %5'in altında olmalıdır.

Uygun numunelerin kalite kontrolünden matris/matris grubu başına en az 20 doğrulanmış sonuç sağlandıktan sonra, bu veri tabanından hatalı-uygun oranı belirlenmelidir. Ring denemelerinde veya konsantrasyonun maksimum limitin iki katına kadar ulaştığı bulaşan olaylarında analiz edilen numunelerden elde edilen sonuçlar da; hatalı-uygun oranının hesaplanması için minimum 20 sonuç içine dahil edilebilir. Numuneler, değişik bulaşan kaynaklarını işaret eden en sık rastlanan türdeş bileşen dağılımlarını kapsamalıdır.

Tarama testleri tercihen müdahale seviyesini aşan numuneleri tespit etmeyi amaçlasa da; hatalı-uygun oranlarını belirlemek için analitik kriter, doğrulama metodunun ölçüm belirsizliğinin hesaba katıldığı maksimum limittir.

6) Tarama metodundan elde edilen potansiyel uygunsuz sonuçlar, orijinal numunenin doğrulama metodu ile komple yeniden analizi ile doğrulanmalıdır. Bu numuneler, hatalı-uygunsuz sonuçların oranının değerlendirilmesi için de kullanılabilir. Tarama metotları için, hatalı uygunsuz sonuçların oranı, daha önce tarama esnasında uygunsuz olduğundan şüpheli olarak deklare edilen numunenin doğrulama analizi ile uygunluğu doğrulanmış sonuçlarına olan oranıdır. Bununla beraber, tarama metotlarının avantajlı olup olmadıklarının değerlendirilmesi, hatalı uygunsuz numunelerin, toplamda kontrol edilen numune sayısı ile kıyaslanmasına dayanır. Tarama metodunun avantajlı olarak değerlendirilebilmesi için bu oran yeterince düşük olmalıdır.

7) En azından geçerli kılma koşulları altında; biyoanalitik metotlar, BEQ olarak hesaplanan ve ifade edilen TEQ limitinin geçerli bir göstergesini sağlamalıdır.

8) Ayrıca tekrar edilebilirlik koşulları altında yürütülen biyoanalitik metotlar için, laboratuvar içi RSD_r, tekrar üretilebilirlik RSD_R'den genellikle daha küçük olmalıdır.

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

a) WHO-TEQ seviyeleri üst-sınır ve alt-sınır arasındaki kabul edilebilir farklılıklar

Maksimum limit aşımının doğrulanması veya müdahale seviyelerine ihtiyaç olduğu durumda üst-sınır ve alt-sınır değerleri arasındaki fark % 20'yi geçmemelidir.

b) Geri kazanımların kontrolü

1) 2,3,7,8 pozisyonlarında klor içeren ¹³C-işaretlenmiş PCDD/F iç standartları ve ¹³C-işaretlenmiş dioksin benzeri PCB iç standartları analitik metodun en başında (örnek olarak metodun geçerli kılınması için ekstraksiyon öncesi) eklenmelidir. 4'den 8'e kadar klor ihtiva eden her bir PCDD/F'ler homolog grubu ve her bir dioksin benzeri PCB homolog grubu için en az bir işaretli bileşik eklenmelidir (alternatif olarak, kütle spektrometresinde PCDD/F'ler ve dioksin benzeri PCB'lerin taranmasında kullanılan seçici iyon kaydedici fonksiyonların her biri için en az bir işaretli bileşik). Doğrulama metotları söz konusu olduğunda, 17 adet 2,3,7,8 pozisyonlarında klor içeren ¹³C-işaretlenmiş PCDD/F iç standartlarının tümü ve 12 tane ¹³C-işaretlenmiş dioksin benzeri PCB iç standartlarının tümü kullanılmalıdır.

2) ¹³C-işaretlenmiş analogu eklenmemiş her bir türdeş için de uygun kalibrasyon çözeltileri kullanılarak bağlı tepki faktörü (RRF) belirlenmelidir.

3) Bitkisel gıdalar ve %10'dan daha az yağ içeren hayvansal gıdalar için iç standartların ekstraksiyon öncesi eklenmesi zorunludur. % 10'dan daha fazla yağ içeren hayvansal gıdalar için iç standartlar yağ ekstraksiyonundan önce veya sonra eklenebilir. Ekstraksiyon etkinliğinin uygun geçerli kılınması, iç standartların eklendiği aşamaya ve sonuçların ürün veya yağ üzerinden verilmesine bağlı olarak yapılmalıdır.

4) GC/MS analizi öncesinde, 1 veya 2 geri kazanım standardı/standartları (kimyasal yapısı ekstrakte edilen bileşenlere benzeyen) eklenmelidir.

5) Geri kazanım kontrolü gereklidir. Doğrulama metotları için, her bir iç standardın geri kazanımı % 60-120 aralığında olmalıdır. Herhangi bir bileşiğin, özellikle bazı 7 ve 8 klorlu dibenzo-p-dioksinler 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 kazanımlar kabul edilebilir. GC/MS tarama metotları için, geri kazanım % 30-140 aralığında olmalıdır.

c) Girişim yapan bileşiklerin uzaklaştırılması

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

2) İzomerlerin gaz kromatografisi ile ayrımı yeterli olmalıdır (1,2,3,4,7,8-HxCDF ve 1,2,3,6,7,8-HxCDF arasındaki pikten pike ayırım %25'ten küçük olmalıdır).

ç) Standart eğri ile kalibrasyon

Kalibrasyon eğrisinin aralığı, maksimum limit veya müdahale seviyesini kapsamalıdır.

d) Doğrulama metotları için spesifik kriterler

- GC-HRMS için:

HRMS'de, çözünürlük % 10'luk vadideki parçalanmamış (bütün) kütle aralığı için tipik olarak 10000 den büyük veya eşit olmalıdır

Uluslararası kabul görmüş standartlarda tanımlanan ileri tanımlama ve doğrulama kriterlerinin yerine getirilmesi, örneğin EN 16215:2012 standardı (Hayvansal yemlerde dioksinler ve dioksin benzeri PCB ler ve indikatör PCB lerin GC/HRMS ile tespit edilmesi) ve/veya EPA metotları 1613 ve revize edilmiş 1668 de tanımlandığı şekilde yapılır.

- GC-MS/MS için:

Analiz kapsamındaki bütün işaretlenmiş ve işaretlenmemiş analitler en az 2 spesifik prekürsör (ön izleme) iyonu ile izlenmelidir ve prekürsör iyonların her biri de bir adet spesifik karşılık gelen geçiş ürün iyonu (transition product ions) ile izlenmelidir.

Tipik MS/MS şartlarına uygulanan, özellikle analitin her geçişi için çarpışma (collision) enerjisi ve çarpışma gaz basıncı, hesaplanmış veya ölçülmüş değerlere kıyasla (kalibrasyon standartlarından elde edilen ortalama değer) seçilmiş geçiş ürün iyonları için relatif iyon yoğunluklarının maksimum müsaade edilen toleransı $\pm 15\%$ dir.

İlgilenilen analitleri etkileyebilecek muhtemel girişimleri minimize etmek üzere her kuadropol (quadrupole) için çözünürlük birim kütle çözünürlüğe eşit veya daha iyi olacak şekilde ayarlanmalıdır (birim kütle çözünürlük: iki pikin bir kütle birimi ayrı olacak şekilde ayırabilmek için yeterli çözünürlük).

Uluslararası kabul görmüş standartlarda tanımlanan İleri düzeydeki kriterlerin yerine getirilmesi, örneğin standart EN 16215:2012 (hayvansal yemlerde dioksinler ve dioksin benzeri PCB ler ve indikatör PCB lerin GC/HRMS ile tespit edilmesi) ve EPA metotları 1613 ve revize edilmiş 1668 de tanımlandığı üzere (GC-HRMS in kullanılmasının zorunlu tutulması haricinde) yapılır.

(7) Biyoanalitik metotlar için spesifik gereklilikler

Biyoanalitik metotlar, hücre temelli, reseptör ya da immuno analizler gibi biyolojik prensiplere dayalı metotlardır. Bu kısım, genel olarak biyoanalitik metotlar için gereklilikleri vermektedir.

Bir tarama metodu prensip olarak numuneyi uygun ya da "uygunsuz olmasından şüphe edilen/şüpheli" olarak sınıflandırır. Bunun için, hesaplanan BEQ düzeyi eşik değeri ile karşılaştırılır (Bkz: Madde 7(c)). Eşik değerinin altındaki numuneler uygun olarak beyan edilir, eşik değerine eşit veya bu değer üzerinde numuneler şüpheli olarak beyan edilir ve bir doğrulama metodu ile analiz edilmesi gerekir. Pratikte, maksimum limitin 2/3'üne karşılık gelen bir BEQ değeri, hatalı-uygunsuz sonuçlar için kabul edilebilir bir oran olup hatalı-uygun sonuçlar için % 5'in altında bir oran sağlayan en uygun eşik değerini verebilir. PCDD/F'ler ve dioksin benzeri PCB'ler toplamı ve PCDD/F'ler için ayrı maksimum limitler olduğu durumda, fraksiyonlarına ayrılmamış numunelerin uygunluk kontrolü, PCDD/F'ler için uygun biyoanaliz eşik değerlerinin tespit edilmesini gerektirir. Müdahale seviyesini aşan numunelerin kontrolü için, müdahale seviyesinin uygun bir yüzdesi, eşik değeri olarak kullanılır.

Ayrıca, belirli biyoanalitik metotlar olması halinde; raporlama limitini aşan ve çalışma aralığındaki numuneler için BEQ olarak ifade edilen bir gösterge seviyesi verilebilir. [Bkz: Ek-2 Madde 7 (a) 1 ve Ek-2 Madde 7 (a) 6]

a) Analiz yanıtının değerlendirilmesi

1) Genel gereklilikler

- Bir TCDD kalibrasyon eğrisinden konsantrasyonlar hesaplanacağı zaman, eğrinin en alt ve en üst uçlarındaki değerler, yüksek bir varyasyon katsayısı (CV) gösterecektir. Çalışma aralığı, bu CV'nin %15'ten düşük olduğu alandır. Çalışma aralığının en alt ucu (raporlama limiti), prosedür körlerinin en az üç kat üzerinde belirlenmiş olmalıdır. Çalışma aralığının en üst ucu, genellikle EC₇₀ değeri (maksimum etkin konsantrasyonun % 70'i) ile gösterilir, ancak CV bu aralıkta % 15'ten daha yüksek ise, çalışma aralığının en üst ucu daha düşük olur. Çalışma aralığı, geçerli kılma esnasında belirlenmelidir. Eşik değerleri [Madde 7 (c)], çalışma aralığı içinde olmalıdır.

- Standart çözeltiler ve numune ekstraktları, en az iki tekrar olarak analiz edilmelidir. Tekrarlar kullanılacağı zaman, bölünmüş tabaka üzerinde 4-6 gözde test edilen bir standart çözelti ya da kontrol ekstraktı, %15'ten daha düşük CV'ye sahip bir yanıt ya da konsantrasyon (sadece çalışma aralığında) üretmelidir.

2) Kalibrasyon

i) Standart eğri ile kalibrasyon

- Ekstrakttaki ve akabinde numunedeki BEQ düzeyini hesaplamak için; analiz yanıtı TCDD kalibrasyon eğrisiyle (ya da PCB 126 ya da bir PCDD/F/dioksin benzeri PCB standart karışımı) karşılaştırılarak numunedeki seviyeler belirlenebilir.

- Kalibrasyon eğrileri, çalışma aralığının en alt ucunda yeterli konsantrasyonlar içermek kaydıyla, 8-12 konsantrasyon (en az iki tekrar) içermelidir. Çalışma aralığında, kalibrasyon eğrisine uygunluk kalitesine özellikle dikkat gösterilmelidir. R² değeri, doğrusal olmayan regresyon içinde uygunluk derecesinin tahmininde ya çok az fikir verir ya da hiç vermez. Daha iyi bir uygunluğa, eğrinin çalışma aralığında gözlenen ve hesaplanan düzeyler arasındaki farkı minimize ederek ulaşılabilir (örneğin farkların karelerinin toplamını minimize ederek).

- Numune ekstraktında belirlenen seviye, bir matris/çözelti kör numunesi için (kullanılan çözeltiler ve kimyasallardan gelen safsızlıkları hesaba katmak için) hesaplanan BEQ düzeyine ve geri kazanıma (maksimum limit veya müdahale seviyesi civarında benzer türdeş bileşen dağılımına sahip uygun referans numunelerin BEQ düzeyinden hesaplanan) göre düzeltilir. Bir geri kazanım düzeltmesi yapmak için, geri kazanım her zaman istenen aralık içinde olmalıdır [Bkz: Madde 7 (a) 4]. Geri kazanım düzeltmesi için kullanılan referans numuneler, Madde 7 (b)'de verilen gerekliliklere uymak zorundadır.

ii) Referans numuneler ile kalibrasyon

Alternatif olarak, kör ve geri kazanım düzeltmesi gerekliliğini elimine ederek; ilgilenilen seviye civarında en az 4 referans numunedeki [Bkz: Madde 7 (b): bir matris kör + maksimum limit veya müdahale seviyesinin 0.5, 1 ve 2 katı seviyesinde 3 referans numune] hazırlanan bir kalibrasyon eğrisi kullanılabilir. Bu durumda, maksimum limitin 2/3'üne karşılık gelen [Bkz: Madde 7 (c)] analiz yanıtı, direkt olarak bu numunelerden hesaplanabilir ve eşik değeri olarak kullanılabilir. Müdahale seviyesini aşan numunelerin kontrolü için, bu müdahale seviyelerinin uygun bir yüzdesi eşik değeri olarak kullanılır.

3) PCDD/F'lerin ve dioksin benzeri PCB'lerin ayrı ayrı belirlenmesi

Ekstraktlar, PCDD/F'ler ve dioksin benzeri PCB'lerin TEQ değerlerinin (BEQ olarak) ayrı ayrı gösterilmesine olanak tanıyan, PCDD/F'ler ve dioksin benzeri PCB'leri içeren fraksiyonlara ayrılabilir. Dioksin benzeri PCB'leri içeren fraksiyona ilişkin sonuçları değerlendirmek için tercihen PCB 126 standart kalibrasyon eğrisi kullanılmalıdır.

4) Biyoanaliz görünür geri kazanımı

Biyoanaliz görünür geri kazanımı, maksimum limit veya müdahale seviyesi civarında benzer türdeş bileşen dağılımına sahip uygun referans numunelerden hesaplanmalı ve TEQ düzeyi ile karşılaştırılan BEQ düzeyinin yüzdesi olarak açıklanmalıdır. Deney tipine ve kullanılan TEF'lere bağlı olarak; dioksin benzeri PCB'ler için TEF ve REP faktörleri arasındaki farklılıklar, PCDD/F'lere kıyasla dioksin benzeri PCB'ler için daha düşük geri kazanımlara sebep olabilir. Bu yüzden, PCDD/F'ler ve dioksin benzeri PCB'lerin ayrı ayrı belirlenmesi yapılacak ise; biyoanaliz görünür geri kazanımı, dioksin benzeri PCB'ler için %20-60, PCDD/F'ler için % 50-130 (Oranlar, TCDD kalibrasyon eğrisi içindir) olmalıdır. Farklı matriksler ve numunelerde, PCDD/F'lerin ve dioksin benzeri PCB'lerin toplamına dioksin benzeri PCB'lerin katkısı değişebileceğinden, toplam parametre için biyoanaliz görünür geri kazanımı, bu oranları yansıtacak şekilde % 30-130 arasında olmalıdır.

5) Clean-up aşamasında geri kazanımların kontrolü

Geçerli kılma işleminde, clean-up aşamasında bileşenlerin kaybı kontrol edilmelidir. Farklı türdeş bileşenler içeren karışım eklenmiş bir kör numunede clean-up yapılmalı (en az n=3); geri kazanım ve değişkenlik bir doğrulama metodu ile kontrol edilmelidir. Geri kazanım, çeşitli karışımlarda, özellikle TEQ düzeyine %10'dan daha fazla katkı sağlayan türdeş bileşenler için, % 60-120 arasında olmalıdır.

6) Raporlama limiti

BEQ değerleri raporlanırken, eğrinin alt aralığındaki düşük kesinlik sebebiyle, standartların kalibrasyon eğrisinden değil; tipik türdeş bileşen dağılımı içeren ilgili matriks numunelerinden bir raporlama limiti belirlenmelidir. Ekstraksiyon ve clean-up işleminin etkileri hesaba katılmalıdır. Raporlama limiti, prosedür körlerinin en az üç kat üzerinde belirlenmiş olmalıdır.

b) Referans numunelerin kullanılması

1) Referans numuneler, numune matriksi, türdeş bileşen dağılımı ve maksimum limit veya müdahale seviyesi civarında PCDD/F'ler ve dioksin benzeri PCB'ler için konsantrasyon aralıklarını temsil etmelidir.

2) Her analiz serisinde, bir prosedür körü, ya da tercihen bir matriks körü ve maksimum limit veya müdahale seviyesinde bir referans numune dahil edilmelidir. Bu numuneler, aynı koşullar altında aynı zamanda ekstrakte edilmeli ve analiz edilmelidir. Referans numune, kör numune ile karşılaştırıldığında belirgin yüksek bir yanıt göstermeli ve böylece analizin uygunluğunu temin etmelidir. Bu numuneler, kör ve geri kazanım düzeltmeleri için kullanılabilir.

3) Bir geri kazanım düzeltmesi yapmak için seçilen referans numuneler, analiz numunesini temsil etmelidir, yani türdeş bileşen dağılımı, seviyenin eksik bulunmasına sebep olmamalıdır.

4) Maksimum limit veya müdahale seviyesinin kontrolünde; ilgi aralığında analizin performansının uygunluğunu göstermek için, maksimum limit veya müdahale seviyesinin 0.5 ve 2 katı konsantrasyonuna sahip olan ekstra referans numuneler dâhil edilebilir. Bu numuneler, analiz numunelerinde BEQ düzeylerinin hesaplanması için kullanılabilir [Madde 7 (a) 2 (ii)].

c) Eşik değerlerinin belirlenmesi

BEQ olarak ifade edilen biyoanalitik sonuçlar ve TEQ olarak ifade edilen doğrulama metotları sonuçları arasında ilişki kurulmalıdır (örneğin her seviyede 6 tekrar yapılarak maksimum limitin 0, 0.5, 1 ve 2 katlarında (n=24) standart eklenmiş referans numuneleri içeren matriks etkili kalibrasyon denemeleri). Düzeltme faktörleri (kör ve geri kazanım) bu ilişkiden tahmin edilebilir ancak her analiz serisine prosedür/matriks körleri ve geri kazanım numuneleri dahil edilerek kontrol edilmelidir [7 (b)].

Eşik değerleri, müdahale seviyesinin kontrolü ya da numunenin maksimum limitlerle (eğer istenirse, ya PCDD/F'ler ve dioksin benzeri PCB'ler için ayrı ayrı ya da dioksin benzeri

PCB'ler ve PCDD/F'ler toplamı için karşılık gelen maksimum limit veya müdahale seviyesiyle) uyumuna karar vermek için belirlenmelidir. %5'in altında bir hatalı-uygun oranı gösteren ve % 25'in altında RSD_R'de, %95 güven aralığına dayalı bir doğrulama metodu karar limitine karşılık gelen biyoanalitik sonuçların (kör ve geri kazanım için düzeltilmiş) dağılımının en alt uç noktası eşik değerler olarak ifade edilir. Doğrulama metodu karar limiti, ölçüm belirsizliğinin hesaba katıldığı maksimum limittir.

Uygulamada, eşik değeri (BEQ olarak ifade edilen) aşağıdaki yaklaşımlarla (Bkz: Şekil 1) hesaplanabilir:

1) Doğrulama metodu karar limitinde % 95 tahmin aralığının en düşük bandının kullanımı:

$$\text{Eşik değeri: } BEQ_{DL} = s_{y,x} * t_{\alpha, f=m-2} \sqrt{1/n + 1/m + (x_i - \bar{x})^2 / Q_{xx}}$$

Burada:

BEQ_{DL}: Ölçüm belirsizliğinin hesaba katıldığı maksimum limit olan doğrulama metodu karar limitine karşılık gelen BEQ,

s_{y,x}: Fark standart sapması

t_{α, f=m-2}: "t" testi faktörü (α=%5, f=serbestlik derecesi, tek yönlü),

m: Kalibrasyon noktalarının toplam sayısı (j indeksi),

n: Her seviyedeki tekrarların sayısı,

x_i: Doğrulama metodu ile belirlenen kalibrasyon noktası i'ye karşılık gelen numune konsantrasyonu (TEQ olarak ifade edilen),

\bar{x} : Tüm kalibrasyon numunelerinin konsantrasyonlarının ortalaması (TEQ olarak ifade edilen),

$$Q_{xx} = \sum_{j=1}^m (x_j - \bar{x})^2 : \text{Kareler toplamı parametresi,}$$

i=Kalibrasyon noktası i için indekstir.

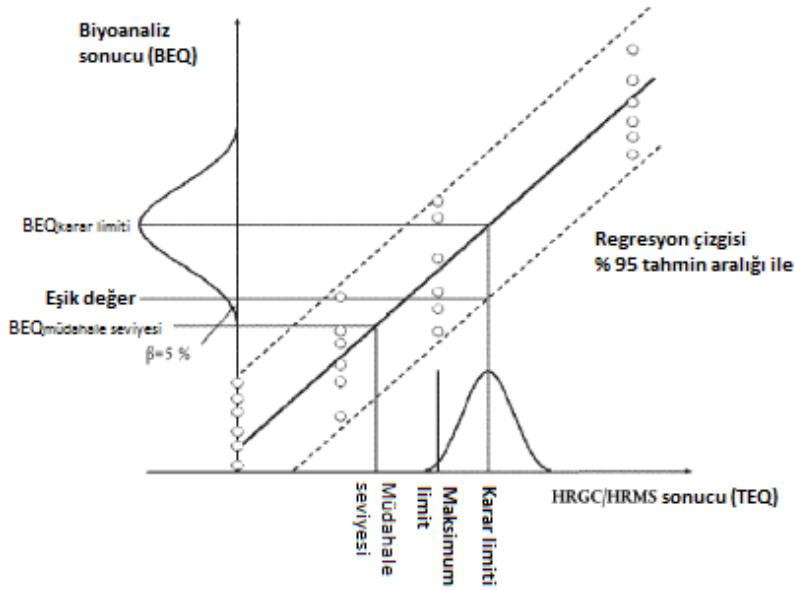
2) Ortalama BEQ değerine karşılık gelen veri dağılımının en alt uç noktası olarak; doğrulama metodu karar limiti düzeyinde bulaşan numunelerin çoklu analizlerinin (n ≥ 6) biyoanalitik sonuçlarından (kör ve geri kazanım için düzeltilmiş) hesaplama:

$$\text{Eşik değeri} = BEQ_{DL} - 1,64 \times SD_R$$

Burada:

SD_R: Laboratuvar içi tekrar üretilebilirlik koşulları altında ölçülen BEQDL'de biyoanaliz sonuçlarının standart sapmasıdır.

3) Maksimum limit veya müdahale seviyesinin 2/3'ü düzeyinde bulaşan numunelerin çoklu analizlerinin (n ≥ 6) biyoanalitik sonuçlarından (kör ve geri kazanım için düzeltilmiş, BEQ olarak ifade edilen) ortalama olarak hesaplama: Bu hesaplama gözleme dayalı olmalıdır ki, bu seviye Ek-2 Madde 7 (c) 1 ve Ek-2 Madde 7 (c) 2'de hesaplanan eşik civarında olacaktır.



Şekil 1

% 5'in altında bir hatalı-uygun oranı gösteren ve % 25'in altında RSD_R 'de, % 95 güven aralığına sahip eşik değerleri:

- Doğrulama metodu karar limitinde % 95 tahmin aralığının en düşük bandından,
- Ortalama BEQ değerine karşılık gelen veri dağılımının (şekilde çan eğrisi ile temsil edilen) en alt uç noktası olarak, doğrulama metodu karar limiti düzeyinde bulaşıya sahip numunelerin çoklu analizlerinden ($n \geq 6$) hesaplanır.

4) Eşik değerlerine kısıtlamalar

Farklı matriks/türdeş bileşen dağılımına sahip az sayıda numune kullanılarak yapılan geçerli kılmadaki RSD_R 'den hesaplanan BEQ'e dayalı eşik değerleri, rutinde muhtemel türdeş bileşen dağılımının bilinmeyen spektrumunun analizinden elde edilenden daha iyi bir kesinliğe sahip olduğundan dolayı TEQ'e dayalı maksimum limit veya müdahale seviyesinden daha yüksek olabilir. Bu durumlarda, eşik değerleri $RSD_R = \% 25$ 'ten hesaplanmalı ya da maksimum limit veya müdahale seviyesinin 2/3'ü tercih edilmelidir.

ç) Performans karakteristikleri

1) Biyoanalitik metotlarda iç standart kullanılmadığından; analiz serileri arasında ve analiz serileri içinde standart sapma hakkında bilgi edinmek amacıyla, tekrar edilebilirlik analizleri yapılmalıdır. Tekrar edilebilirlik % 20'nin ve laboratuvar içi tekrar üretilebilirlik % 25'in altında olmalıdır. Bu, kör ve geri kazanım düzeltilmesinden sonra hesaplanan BEQ olarak ifade edilen seviyelere dayandırılmalıdır.

2) Geçerli kılma işleminin bir parçası olarak, analize karşılık gelen eşik değerinin üstündeki numunelerin tanımlanmasına olanak sağlamak üzere; eşik değerindeki bir seviye ile bir kör numuneyi ayırt edebileceği gösterilmelidir. [Ek-2 Madde 7 (a) 2]

3) Hedef bileşikler, olası girişim yapan bileşikler ve maksimum tolere edilebilir kör seviyeler tanımlanmalıdır.

4) Numune ekstraktının üçlü tekerrür analizinde elde edilen yanıtların (sadece çalışma aralığında) veya yanıtlardan hesaplanan konsantrasyonların standart sapma yüzdesi % 15'in üzerinde olmamalıdır.

5) BEQ (kör ve maksimum limit veya müdahale seviyesi) olarak ifade edilen referans numune(lerin)nin düzeltilmemiş sonuçları, belirli bir zaman aralığında biyoanalitik metodun performansının değerlendirilmesi için kullanılmalıdır.

6) Her tip referans numune ve prosedür körleri için kalite kontrol (QC) grafiklerinin, analitik performansın gerekliliklerini karşıladığından emin olmak için (özellikle prosedür körleri için çalışma aralığının en düşük seviyesi ile istenilen minimum fark açısından ve referans numuneler için laboratuvar içi tekrar üretilebilirlik açısından) kayıt ve kontrol edilmelidir. Hesaplama çıkarıldığından, hatalı-uygun sonuçları önlemek için prosedür körleri çok iyi kontrol edilmelidir.

7) Uygun numunelerin % 2-10'undan elde edilen sonuçlar (her matriks için en az 20 numune) ve şüpheli numunelerin doğrulama metodlarından elde edilen sonuçlar toplanmalı; tarama metodlarının performansını ve BEQ ile TEQ arasındaki ilişkiyi hesaplamak için kullanılmalıdır. Bu veri tabanı, geçerli kılınmış matrikslerde rutin numunelere uygulanabilir eşik değerlerinin yeniden hesaplanması için kullanılabilir.

8) Başarılı metod performansı, ring deneylerine katılımı gösterilmiş de olabilir. Eğer bir laboratuvar ring deneylerinde başarı performansını gösterebilirse; maksimum limitin iki katına kadar ulaştığı bir konsantrasyonu kapsayan numunelerden elde edilen analiz sonuçları, hatalı-uygun oranının değerlendirilmesine de dahil edilebilir. Numuneler, değişik kaynakları temsil eden en sık türdeş bileşen dağılımını kapsamalıdır.

9) Vakalar esnasında, tek vakanın türdeş bileşen dağılımını ve spesifik matriksini yansıtabilecek şekilde, eşik değerleri yeniden değerlendirilebilir.

(9) – Sonucun raporlanması

a) Doğrulama metodları

1) Kullanılan analitik prosedür elverdiği ölçüde, sonuçların raporlanmasında maksimum bilgiyi içermesi ve dolayısıyla özel hükümlere göre sonuçların yorumlanabilmesine imkan sağlamak için analitik sonuçlar her bir PCDD/F, dioksin benzeri PCB türdeş bileşenlerinin seviyelerini içermeli; alt-sınır, üst-sınır ve orta-sınır olarak rapor edilmelidir.

2) Rapor, PCDD/F, dioksin benzeri PCB'ler ve yağların ekstraksiyonu için kullanılan metodu da içermelidir. Mevcut mevzuata göre % 0-2 aralığında yağ içeren gıda numunelerinin beklenen yağ konsantrasyonu raporda ifade edilmelidir; ve maksimum limit seviyesi yağ üzerinden ifade edilen gıda numunelerinde numunenin yağ miktarı hesaplanmalı ve raporlanmalıdır. Diğer numuneler için yağ miktarı belirlenmesi isteğe bağlıdır.

3) Her bir iç standardın geri kazanımı; geri kazanımlar Ek-2 Madde 6 (b)'de bahsedilen aralık dışında olduğunda, maksimum limit aşıldığında (bu durumda, iki analizin biri için geri kazanımlar) ve başka durumlarda talep edilmesi halinde belirtilmelidir.

4) Numunenin uygunluğu hakkında karar verileceği zaman ölçüm belirsizliği dikkate alınacağı için, bu parametre de belirtilmelidir. Dolayısıyla, analitik sonuçlar $x \pm U$ şeklinde raporlanmalıdır. Burada (x) analitik sonuç ve (U) ise kapsama faktörü olarak yaklaşık %95'lik güven aralığını veren "2" katsayısının kullanıldığı genişletilmiş ölçüm belirsizliğini ifade eder. PCDD/F'lerin ve dioksin benzeri PCB'lerin ayrı ayrı tespit edilmesi durumunda; PCDD/F'lerin ve dioksin benzeri PCB'lerin ayrı ayrı analitik sonuçlarından hesaplanan genişletilmiş ölçüm belirsizliği toplamı PCDD/F'lerin ve dioksin benzeri PCB'lerin toplamı için kullanılmalıdır.

5) Ölçüm belirsizliği $CC\alpha$ karar limiti uygulanarak [Ek-1 Madde 3 (b)] hesaplanırsa, bu parametre raporlanmalıdır.

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

b) Biyoanalitik tarama metotları

1) Tarama sonuçları uygun ya da uygunsuz olmasından şüphelenilen (şüpheli) olarak açıklanmalıdır.

2) İlave olarak, biyoanalitik eşdeğerlik olarak (BEQ) ifade edilen (TEQ olarak ifade edilmeyen) PCDD/F ve/veya dioksin benzeri PCB’ler için bir sonuç verilebilir. (Ek-2 Madde 2)

3) Raporlama limitinin altında bir yanıt veren numuneler, raporlama limitinden daha düşük olarak açıklanmalıdır.

4) Her bir numune matrisi için; rapor, deđerlendirmenin esas tutulduđu maksimum limit veya müdahale seviyesinden bahsetmelidir.

5) Rapor uygulanan analiz tipi, temel analiz prensibi ve kalibrasyon çeşidinden bahsetmelidir.

6) Rapor, PCDD/F’ler, dioksin benzeri PCB’ler ve yağlar için kullanılan ekstraksiyon metodunu da içermelidir. Mevcut mevzuata göre % 0-2 aralığında yağ içeren gıda numunelerinin beklenen yağ konsantrasyonu raporda ifade edilmelidir; ve maksimum limit ya da müdahale seviyesi yağ üzerinden ifade edilen gıda numunelerinde numunenin yağ miktarı hesaplanmalı ve raporlanmalıdır. Diğer numuneler için yağ miktarı belirlenmesi isteğe bağlıdır.

7) Uygunsuz olduğundan şüphelenilen numuneler için, yapılması gereken işlem her ne ise raporda yer almalıdır. Yüksek seviyelere sahip numunelerdeki PCDD/F ler ve PCDD/F ler ile dioksin benzeri PCB lerin konsantrasyonları doğrulama metodu ile tespit edilmeli ve doğrulanmalıdır.

Tablo 6

Dünya Sağlık Örgütü tarafından Haziran 2005’te, Cenevre’de düzenlenen ‘Kimyasal Güvenilirlik Uluslararası Programı (IPCS)’nda (Martin Van den Berg ve ark., ‘Dioksin ve Dioksin Benzeri Bileşiklerin İnsanlar ve Memeliler İçin Toksik Eşdeğerlik Faktörlerinin 2005 Dünya Sağlık Örgütü Yeniden Değerlendirmesi’) kabul edilen, dioksin ve dioksin benzeri bileşiklerin insanlar için tehlike değerlerini gösteren Toksik Eşdeğerlik Faktörleri (WHO-TEF, 2005) [Toxicological Sciences 93(2), 223-241 (2006)]

Türdeş bileşen	TEF deđerı	Türdeş bileşen	TEF deđerı
Dibenzo-p-dioksinler (‘PCDD’ler)		Dioksin benzeri PCB’ler: Non-orto PCB’ler ve Mono-orto PCB’ler	
2,3,7,8-TCDD	1		
1,2,3,7,8-PeCDD	1	Non-orto PCB’ler	
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0,1	PCB 77	0,0001
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0,1	PCB 81	0,0003
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0,1	PCB 126	0,1
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0,01	PCB 169	0,03
OCDD	0,0003		
Dibenzofuranlar (‘PCDF’ler)		Mono-orto PCB’ler	

2,3,7,8- TCDF	0,1	PCB 105	0,00003
1,2,3,7,8-PeCDF	0,03	PCB 114	0,00003
2,3,4,7,8-PeCDF	0,3	PCB 118	0,00003
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0,1	PCB 123	0,00003
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0,1	PCB 156	0,00003
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0,1	PCB 157	0,00003
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0,1	PCB 167	0,00003
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0,01	PCB 189	0,00003
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0,01		
OCDF	0,0003		
Kısaltmalar: T; Tetra/Dört, Pe; Penta/Beş, Hx;Hekza/Altı, Hp;Hepta/Yedi, O;Octa/Sekiz, CDD; Klorodibenzodioxin, CDF; Klorodibenzofuran, CB; Klorobifenil			

EK-3

Dioksin Benzeri Olmayan PCB'lerin (PCB 28, 52, 101, 138, 153, 180) Seviyesinin Kontrolünde Kullanılan Analiz Metotları İçin Gereklilikler ve Numune Hazırlama Usul ve Esasları

Bu ekte belirtilmiş olan gereklilikler gıdaların dioksin benzeri olmayan PCB'ler in seviyeleri yönünden resmi kontroller veya diğer düzenleyici amaçlar için analiz edilmesi amacı ile düzenlenmiştir.

(1) Uygulanabilir tespit metotları

Gaz kromatografi / Elektron Yakalayıcı Dedektör (GC/ECD), GC/LRMS, GC/MS-MS, GC/HRMS veya eşdeğer metotlar.

(2) Aranılan analitlerin tanımlanması ve doğrulanması

a) İç standartlar veya referans standartlara göre bağıl alıkonma zamanı (\pm % 0,25 kabul edilebilir sapmayla)

b) Numunelerin seviyeleri yasal limitler aralığında olduğunda veya uygunsuz olup olmadığı doğrulanacaksa, toplam altı adet indikatör PCB'lerin tamamı (PCB 28, PCB 52, PCB 101, PCB 138, PCB 153 ve PCB 180) girişim yapan bileşiklerden özellikle de birbirlerinden ayrılmadan gelen PCB'lerden gaz kromatografik ayrımı

Birbirlerinden ayrılmadan gelen türdeş bileşenler, genellikle, PCB 28/31, PCB 52/69 ve PCB 138/163/164 olarak bulunur. GC/MS için yüksek klorlu türdeş bileşenlerin fragmentlerinden gelebilecek muhtemel girişimler de göz önünde bulundurulmalıdır.

c) GC/MS teknikleri için:

1) En az izleme:

i) HRMS için 2 spesifik iyon

ii) LRMS için $m/z > 200$ ise 2 spesifik iyon ya da $m/z > 100$ ise 3 spesifik iyon

iii) MS-MS için 1 prekürsör ve 2 ürün iyonu

2) Seçilmiş kütle fragmentlerinin mevcudiyet oranları için maksimum izin verilen toleranslar:

Seçilmiş kütle fragmentlerinin mevcudiyet oranının teorik mevcudiyetten bağıl sapması veya hedef iyon (izlenen iyonlardan en çok bulunan) ve niteleyici iyon(lar) için kalibrasyon standardı:

Hedef iyon ile karşılaştırılan niteleyici iyonun(ların) bağıl	GC-EI-MS (bağıl sapma)	GC-CI-MS, GC-MS ⁿ (bağıl sapma)
---	------------------------	--

yoğunluğu		
> %50	± %10	± %20
%20 - %50	± %15	± %25
%10 - %20	± %20	± %30
≤ %10	± %50 (***)	± %50 (***)
(***) Bağlı yoğunluğu %10'dan yüksek olan kütle fragmentlerinin yeterli sayısı. Bu nedenle hedef iyon ile karşılaştırılan %10'dan daha düşük bağlı yoğunluğa sahip niteleyici iyonların kullanılması önerilmemektedir.		

ç) GC/ECD için:

Farklı polariteli sabit fazlara sahip iki GC kolonu ile tolerans değerini geçen sonuçların doğrulanması.

(3) Metot performansının gösterilmesi:

Tekrarlanan analizler için kabul edilebilir varyasyon katsayısı ile maksimum limit aralığında geçerli kılma. (Maksimum limitin 0.5 - 2 katı seviye aralıklarında) (Bkz: Ek-3 Madde 8, orta seviyede kesinlik için gereklilikler)

(4) Ölçüm Limiti

Kör değerleri, maksimum limite karşılık gelen bulaşan seviyesinin %30'undan daha fazla olmamalıdır.

Numunedeki bir bulaşanın seviyesine kimyasal kör seviyesinin katılımının olabildiğince düşük olması önerilir. Özellikle de kör seviyelerinin çıkarıldığı durumlarda, kör seviyelerindeki varyasyonun kontrolü, laboratuvarın sorumluluğundadır.

(5) Kalite Kontrol

Düzenli kör kontrolleri, standart eklenmiş numunelerin analizi, kalite kontrol numuneleri, ilgili matrislerde laboratuvarlararası çalışmalara katılım.

(6) Geri kazanımların kontrolü

a) Aranılan analitin fizikokimyasal özellikleri ile karşılaştırılabilir uygun iç standartların kullanımı

b) İç standartların eklenmesi:

1) Ürünlere ekleme (ekstraksiyon ve clean-up işleminden önce)

2) Maksimum limit yağ üzerinden ifade edilmiş ise, ekstrakte edilmiş yağa eklemek de (clean-up işleminden önce) mümkündür.

c) Altı adet izotop-işaretlenmiş indikatör PCB türdeş bileşenleri kullanan metotlar için gereklilikler:

1) İç standartların geri kazanımlarına göre sonuçların düzeltilmesi

2) Genel olarak izotop-işaretlenmiş iç standartların kabul edilebilir geri kazanımları % 50-120 arasındadır.

3) Altı adet indikatör PCB'lerin toplamına % 10'dan az katkı sağlayan her bir türdeş bileşen için daha düşük veya daha yüksek geri kazanımlar kabul edilebilir.

ç) Altı adet izotop-işaretlenmiş iç standartların hepsini kullanmayan veya başka iç standartlar kullanan metotlar için gereklilikler:

1) Her numune için iç standardın(ların) geri kazanım kontrolü

2) İç standardın(ların) % 60-120 arasında kabul edilebilir geri kazanımları

3) İç standartların geri kazanımlarına göre sonuçların düzeltilmesi

d) İşaretlenmemiş türdeş bileşenlerin geri kazanımları, maksimum limit aralığındaki konsantrasyonlara sahip kalite kontrol numuneleri ya da standart eklenmiş numunelerle kontrol edilmelidir. Bu türdeş bileşenler için kabul edilebilir geri kazanımlar %70-120 arasındadır.

(7) Laboratuvar gereklilikleri

a) Laboratuvarlar, 17.12.2011 tarih ve 28145 sayılı Resmi Gazetede yayımlanan Gıda ve Yemin Resmi Kontrollerine Dair Yönetmeliğinde laboratuvarlar için belirtilen hükümlere uymak zorundadır.

(8) Performans karakteristikleri: İlgilenilen seviyedeki altı adet indikatör PCB'ler toplamı için kriter

Gerçeklik	% (-30) – 30
Orta seviyede kesinlik (% RSD)	≤ % 20
Üst ve alt sınır hesaplama arasındaki farklılık	≤ % 20

(9) Sonuçların raporlanması

a) Kullanılan analitik prosedür elverdiği ölçüde, sonuçların raporlanmasında maksimum bilgiyi içermesi ve dolayısıyla özel hükümlere göre sonuçların yorumlanabilmesine imkan sağlamak için analitik sonuçlar her bir PCB türdeş bileşenlerinin seviyelerini içermeli; alt-sınır, üst-sınır ve orta-sınır olarak rapor edilmelidir.

b) Rapor, PCB'lerin ve yağların ekstraksiyonu için kullanılan metodu da içermelidir. Mevcut mevzuata göre % 0-2 aralığında yağ içeren gıda numunelerinin beklenen yağ konsantrasyonu raporda ifade edilmelidir; ve maksimum limitleri yağ üzerinden ifade edilen gıda numunelerinde numunenin yağ miktarı belirlenmeli ve raporlanmalıdır. Diğer numuneler için yağ miktarının belirlenmesi isteğe bağlıdır.

c) Geri kazanımların Ek-3 Madde 6'da bahsedilen aralık dışında olması durumunda, maksimum limitin aşılması durumunda ve isteğe bağlı diğer bütün durumlarda her bir iç standardın geri kazanımı belirtilmelidir.

ç) Numunenin uygunluğuna karar verirken ölçüm belirsizliği dikkate alındığı için, bu parametre de belirtilmelidir. Bu nedenle, analitik sonuçlar $x \pm U$ olarak raporlanır. Burada x analitik sonucu, U ise kapsama faktörü olarak yaklaşık %95'lik bir güven aralığını veren "2" katsayısının kullanıldığı, genişletilmiş ölçüm belirsizliğini ifade eder.

d) Eğer ölçüm belirsizliği karar limiti ($CC\alpha$) uygulayarak [Ek-1 Madde 3 (a)] hesaba katılıyorsa, bu parametre rapor edilmelidir.

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

EK-4

Farklı Boyut ve /veya Ağırlıkta Bütün Halindeki Balıklardan Numune Alma Kılavuzu

Belirli bir boyut veya ağırlık sınıfı/kategorisinin baskın olmadığı durumlarda aşağıdaki numune alma işlemi önerilir:

1) Partideki balıkların boyut ve/veya ağırlığı farkı % 50'den fazla, fakat % 100'den az olduğunda: Partiden her boyut veya ağırlık kategorisinden iki ayrı temsili numune alınır.

2) Partideki balıkların boyut ve/veya ağırlığı farkı % 100'den fazla ise: Partiden her boyut veya ağırlık kategorisinden üç ayrı temsili numune alınır.

*Laboratuvarda, partideki farklı boyut/ağırlık ve sınıf/kategorideki numunelerde, en büyük boyuttaki balıkları temsil eden numuneler önce olmak üzere, ardışık (sequential) analiz yapılır.

Bu numunenin analitik sonucu maksimum limite uygun ise, partinin tamamı uygun olarak değerlendirilir.

Bu numunenin analitik sonucu izin verilen maksimum limiti aşıyor ise, bir sonraki sıradaki daha küçük boyuttaki balıklardan numune alınarak analiz edilir ve bu analitik sonuç uygun ise en küçük boydaki balıklardan alınan numunelerde analiz yapılmasına gerek yoktur (partinin üç farklı boyut sınıfına bölüdüğü durumlarda).

Bir sonraki sıradaki, daha küçük boyuttaki balık numunesinin analitik sonucu maksimum limite uygun değilse, üç ayrı numune olması durumunda, en küçük boyutta bulunan balıklardan alınan numune analiz edilir.

*Bir veya daha fazla numunenin analitik sonuçlarına dayanarak, partinin tamamı veya kısımları kabul edilebilir veya reddedilebilir.

ÖRNEKLER

1) Partideki balıkların sınıfı/boyutu ve/veya ağırlığı farkı % 50'den fazla fakat % 100'den az olduğunda: Partiden her boyut veya ağırlık sınıfı/kategorisinden iki ayrı temsili numune alınmalıdır.

Örnek: 2 kg ile 3.5 kg ağırlık aralığında balıkları içeren 5 tonluk parti.

Yaklaşık 2-2.75 kg'lık daha küçük (göreceli parti) balıklardan bir adet toplam paçal numune /balıklar) alınmalıdır: 10 adet birincil numune (balık) alınmalıdır, her biri 100 g olan ve balığın orta kısmının (sırtından karına dilimlendiğinde) doku etinden oluşan, homojenizasyon ve analiz edilmek üzere hazırlanan yaklaşık 1 kg'lık, bir adet numune oluşmalıdır.

Yaklaşık 2.75-3.5 kg'lık daha büyük (göreceli parti) balıklardan bir adet paçal numune /balıklar) alınmalıdır: 10 adet birincil numune alınmalıdır, her biri 100 g olan ve balığın orta kısmının (sırtından karına dilimlendiğinde) kas etinden oluşan, homojenizasyon ve analiz edilmek üzere hazırlanan yaklaşık 1 kg'lık, bir adet numune oluşmalıdır.

A) Laboratuvarda ardışık analizlerin yapılması:

- Daha büyük balıklardan alınan numune ayrıca homojenize edilir ve analiz edilir. Analiz sonucunun uygunluğu durumunda, partinin tamamı uygun kabul edilir.

- Daha büyük balıklardan alınan numune ayrıca homojenize edilir ve analiz edilir. Analiz sonucunun uygun olmadığı durumda, daha küçük balıklardan alınan örnek ayrıca homojenize edilerek analiz edilir.

- Analiz sonucunun uygun olmaması durumunda partinin tamamı uygun değildir.

- Analiz sonucunun uygun olması durumunda, daha küçük balıklar (2-2.75 kg) ayrılmalıdır ve bu balıklar uygun olarak değerlendirilmelidir. Geriye kalan büyük balıklar ise (2.75-3.5 kg) uygun olmayan ürün olarak değerlendirilmelidir.

B) Her iki numunenin aynı zamandaki laboratuvar analizleri

Her iki analitik sonucun uygun olması durumunda, partinin tamamı uygun bulunmalıdır.

Her iki analitik sonuçların uygun olmadığı durumda, partinin tamamı uygun değildir olarak değerlendirilmelidir.

Daha küçük balıkların (2-2.75 kg) uygun bulunması ve daha büyük balıkların (2.75-3.5 kg) uygun olmaması durumunda, daha küçük balıklar (2-2.75 kg) seçilip ayrılarak, uygun olarak değerlendirilmelidir. Geri kalan büyük balıklar ise (2.75-3.5 kg) uygun bulunmamalıdır.

2) Partide bulunan balıklarda boyut ve/veya ağırlıkları farkının % 100'den fazla olması durumunda: Partiden her boyuttan veya ağırlık sınıfı/kategorisinden üç ayrı temsili numune alınmalıdır.

Örnek: 2 kg ile 8 kg ağırlık aralığında balıkları içeren 10 tonluk parti

Yaklaşık 2-4 kg'lık daha küçük (göreceli parti) balıklardan bir adet toplam (aggregate) numune alınmalıdır: 10 adet birincil numune alınmalıdır, her biri 100 g olan balığın orta kısmının (sırtından karına dilimlendiğinde) kas etinden oluşan, sonuçta ayrıca homojenize edilmek ve analiz edilmek üzere yaklaşık 1 kg'lık bir adet numuneden oluşmalıdır.

Yaklaşık 4-6 kg'lık orta büyüklükte (göreceli parti) balıklardan bir adet toplam numune alınmalıdır: 10 adet birincil numune alınmalıdır, her biri 100 g olan ve balığın orta kısmının (sırtından karına dilimlendiğinde) kas etinden oluşan, ayrı ayrı homojenize edilmek ve analiz edilmek üzere hazırlanan yaklaşık 1 kg'lık bir adet numuneden oluşmalıdır.

Yaklaşık 6-8 kg'lık daha büyük (göreceli parti) balıklardan bir adet toplam numune alınmalıdır: 3 adet birincil numune alınmalıdır, her biri 350 g'lık olmak üzere balığın orta kısmındaki dorsolateral (sırt-yan) kas etinin sağ tarafından alınan, sonuçta ayrıca homojenize edilmek ve analiz edilmek üzere yaklaşık 1 kg'lık bir adet numuneden oluşmalıdır.

A) Laboratuvarda ardışık analizlerin yapılması:

- Daha büyük balıklardan alınan numune (6-8 kg) ayrıca homojenize edilerek, analiz edilir. Analiz sonucunun uygunluğu durumunda, partinin tamamı uygun kabul edilir.

- Daha büyük balıklardan alınan numune (6-8 kg) ayrıca homojenize edilerek, analiz edilir. Analiz sonucunun uygun olmadığı durumda, orta boy büyüklükteki (4-6 kg) balıklara ait numuneler ayrıca homojenize edilerek analiz edilir.

- Orta boy balıklara (4-6 kg) ait analiz sonucunun uygun olması durumunda, daha büyük balıklar (6-8 kg) seçilerek ayrılmalıdır ve bu balık (6-8 kg) uygun olmayan ürün olarak değerlendirilmelidir. Geri kalan daha küçük balıklar (2-4 kg) ve orta büyüklükteki balıklar (4-6 kg) uygun olarak değerlendirilmelidir.

- Orta boy balıklara (4-6 kg) ait analiz sonucunun uygun olmaması durumunda, daha küçük balıklar (2-4 kg) homojenize edilerek analiz edilir.

- Daha küçük balıklara (2-4 kg) ait analiz sonucunun uygun olmaması durumunda, partinin tamamı uygun olmayan ürün olarak değerlendirilmelidir.

- Daha küçük balıklara (2-4 kg) ait analiz sonucunun uygun olması durumunda, küçük balıklar seçilerek ayrılır ve bu balık (2-4 kg) uygun olarak değerlendirilmelidir. Geri kalan orta boy (4-6 kg) ve daha büyük balıklar (6-8 kg) uygun olmayan olarak değerlendirilir.

B) Her üç numunenin aynı zamandaki laboratuvar analizleri

- Her üç analitik sonucun uygun olması durumunda, partinin tamamı uygun bulunmalıdır.

- Her üç analitik sonucun uygun olmadığı durumda, partinin tamamı uygun değildir olarak değerlendirilmelidir

- Daha küçük balıkların (2-4 kg) uygun bulunması ve orta boy balıkların (4-6 kg) ve daha büyük balıkların (6-8 kg) uygun olmaması durumunda, daha küçük balıklar (2-4 kg) seçilip ayrılır ve bu balıklar uygun olarak değerlendirilmelidir. Geri kalan orta boy balıklar (4-6 kg) ve daha büyük balıklar (6-8 kg) ise uygun olmayan ürün olarak değerlendirilmelidir.

- Daha küçük balıkların (2-4 kg) ve orta boy balıkların (4-6 kg) uygun olması ve daha büyük balıkların (6-8 kg) uygun olmaması durumunda, daha büyük balıklar (6-8 kg) seçilip ayrılır ve bu balık (6-8 kg) uygun olmayan ürün olarak değerlendirilmelidir. Geri kalan daha küçük balıklar (2-4 kg) ve orta boy balıklar (4-6 kg) ise uygun olarak değerlendirilmelidir.