

MINISTÉRIO DA SAÚDE, MINISTÉRIO DO AMBIENTE, DESENVOLVIMENTO RURAL E RECURSOS MARINHOS E MINISTÉRIO DE ECONOMIA CRESCIMENTO E COMPETITIVIDADE

Gabinete dos Ministros

Portaria n.º 24/2009 de 6 de Julho

Considerando que a contaminação natural ou a poluição do meio marinho podem provocar a concentração de determinados contaminantes tais como o mercúrio, o cádmio e o chumbo nos produtos da pesca;

Considerando que para proteger a saúde pública, torna-se necessário fixar teores máximos para o estanho inorgânico presente em produtos da pesca enlatados.

Considerando ainda que com vista a proteger a saúde pública, é necessário estabelecer níveis máximos para o benzopireno em produtos da pesca que contenham óleos, ou em caso, em que a poluição ambiental possa ter dado origem a níveis elevados de contaminação nos peixes e produtos da pesca, nomeadamente, na sequência de derrames de óleo devidos à navegação.

Com o objectivo de proteger a saúde pública, é necessário fixar teores máximos de dioxinas e PCB (Bifenilos Policlorados) sob a forma de dioxinas nos produtos da pesca.

Tendo em conta que é essencial manter os contaminantes nos produtos da pesca a níveis que sejam aceitáveis do ponto de vista toxicológico

Considerando que os produtos da pesca não devem conter microrganismos nem as suas toxinas e metabolitos em quantidades que representem um risco inaceitável para a saúde pública.

Considerando a necessidade de uma abordagem preventiva baseada na implementação de Boas Práticas de Fabrico e na aplicação de procedimentos baseados no princípio de Análise de Riscos e Controlo dos Pontos Críticos.

Ao abrigo do disposto na alínea b) do artigo 204º e do n.º 3 do artigo 259º da Constituição;

Convindo regulamentar os níveis permissíveis destes metais pesados e outros contaminantes nos produtos da pesca Sem prejuízo do disposto na portaria 6/2001, de 1 de Fevereiro;

Manda o Governo da República de Cabo Verde, pelos Ministros de Estado e da Saúde, do Ambiente, Desenvolvimento Rural e dos Recursos Marinhos e da Economia Crescimento e Competitividade, o seguinte:

Regulamento que fixa os teores máximos de certos contaminantes, os métodos de amostragem e de análise para o controlo oficial dos teores de cádmio, chumbo, mercúrio, estanho na forma inorgânica, benzopirenos, dioxinas (PCDD/PCDF) e PCB sob a forma de dioxinas presentes nos produtos da pesca.

Artigo 1º

Objecto

O presente regulamento fixa os teores máximos permissíveis de cádmio, chumbo, mercúrio, estanho na forma inorgânica, benzopirenos, dioxinas (PCDD/PCDF) e PCB nas partes comestíveis dos produtos da pesca destinados ao consumo humano, métodos de recolha e de análise para o controlo oficial.

Artigo 2º

Definições

Lote – quantidade de alimentos identificável, entregue de uma vez, que apresenta, conforme estabelecido pelo agente responsável, características comuns (tais como a origem, a variedade, o tipo de embalagem, o embalador, o expedidor ou a marcação). No caso do peixe o respectivo tamanho também tem de ser comparável

Sublote – Parte designada de um grande lote para aplicação do método de amostragem a essa parte designada. Cada sublote deve ser fisicamente separado e identificável.

Amostra elementar – Quantidade de material recolhida num só ponto do lote ou sublote.

Amostra global – totalidade de amostras elementares colhidas no lote ou sublote; as amostras globais são consideradas representativas dos lotes ou sublotos de que são retiradas;

Amostra para laboratório – uma parte/quantidade representativa da amostra global destinada ao laboratório.

Artigo 3º

Requisitos gerais

Os operadores das empresas de produtos da pesca devem assegurar que os produtos da pesca cumprem os critérios definidos na presente portaria. Para o efeito, em cada fase da produção, transformação e distribuição, os operadores devem tomar medidas, no quadro dos seus procedimentos baseados nos princípios do HACCP.

Artigo 4º

Teores permissíveis

As partes comestíveis dos produtos da pesca não devem apresentar, aquando da sua colocação no mercado, teores de metais pesados e de outros contaminantes, mais elevados do que os previstos neste regulamento.

Artigo 5º

Resultados não conformes

Sempre que os resultados dos testes baseados nos critérios definidos na presente portaria forem “não conformes”, os operadores das empresas devem tomar as medidas correctivas definidas nos respectivos procedimentos do HACCP e quaisquer outras medidas necessárias para proteger a saúde dos consumidores.

Artigo 6º

Entrada em vigor

O presente regulamento entra em vigor na data da publicação.

Gabinete dos Ministros do Estado e da Saúde, do Ambiente, Desenvolvimento Rural e Recursos Marinhos e de Economia Crescimento e Competitividade aos 29 de Junho de 2009. – Os Ministros, *Basílio Mosso Ramos - José Maria Veiga - Fátima Maria Carvalho Fialho*.

CAPITULO I

Fixa os teores máximos e os métodos de amostragem e de análise para o controlo oficial dos teores de cádmio, chumbo, mercúrio, estanho na forma inorgânica e benzopirenos

Anexo I

Métodos de amostragem

1. Âmbito

- a) A Autoridade Competente tomará todas as medidas necessárias para assegurar que as colheitas de amostras, e os métodos de análise para o controlo oficial aos produtos da pesca sejam efectuados nos termos descritos no presente Capítulo.
- b) As amostras destinadas ao controlo oficial dos teores de chumbo, cádmio, mercúrio estanho inorgânico e outros contaminantes nos produtos da pesca devem ser colhidas em conformidade com os métodos a seguir indicados. As amostras devem ser representativas do lote de onde provêm.
- c) Os operadores no âmbito do auto controlo devem garantir que os métodos de análise aos produtos da pesca e a representatividade das amostras do lote sejam efectuados nos termos descritos no presente Capítulo.

2. Disposições gerais

2.1 – Pessoal

A colheita de amostras deve ser da responsabilidade de uma pessoa autorizada e qualificada para esse efeito

2.2 - Produto a amostrar

Cada lote ou sublote a analisar deve ser objecto de uma amostragem separada

2.3 - Precauções a tomar

Durante a amostragem, são tomadas precauções para evitar qualquer alteração que possa fazer variar os teores de contaminantes ou afectar as análises ou a representatividade das amostras globais.

2.4 - Amostras elementares

Na medida do possível, as amostras elementares devem ser colhidas em diversos pontos do lote ou sublote. Qualquer inobservância deste procedimento deve ser assinalada no registo previsto no ponto 2.8 do presente anexo

2.5 - Preparação da amostra global

A amostra global é obtida através da junção das amostras elementares

2.6 - Amostras para efeitos de medidas executórias, de direito de recurso e de procedimento de arbitragem.

As amostras para efeitos de medidas executórias, de direito de recurso e de procedimento de arbitragem são obtidas a partir da amostra global homogeneizada.

2.7 - Acondicionamento e envio das amostras para laboratório

Cada amostra é colocada num recipiente limpo, de material inerte, que a proteja adequadamente de qualquer possível contaminação, de perda de analitos por adsorção na parede interna do recipiente ou qualquer dano durante o transporte. São tomadas, todas as precauções necessárias para evitar qualquer modificação da composição da amostra que possa ocorrer durante o transporte ou a armazenagem.

2.8 - Selagem e rotulagem das amostras

Cada amostra colhida para efeitos oficiais é selada no local de amostragem e identificada.

Para cada amostragem, é mantido um registo que permita identificar sem ambiguidade o lote ou sublote amostrado (é feita referência ao número de lote), indicando a data e o local de amostragem, bem como qualquer informação suplementar que possa ser útil ao analista.

3. Planos de amostragem

Os grandes lotes são subdivididos em sublotes, desde que os sublotes possam ser fisicamente separados.

Para produtos comercializados em remessas a granel, é aplicável o Quadro 1. Para outros produtos, é aplicável o Quadro 2. Dado que o peso do lote nem sempre é um múltiplo exacto do peso dos sublotes, o peso dos sublotes pode exceder o peso indicado até um máximo de 20%.

Quadro 1: Subdivisão de lotes em sublotes para produtos comercializados em remessas a granel

Peso do lote (em toneladas)	Peso ou número de sublotes
$\geq 1\,500$	500 toneladas
> 300 e $< 1\,500$	3 sublotes
≥ 100 e ≤ 300	100 toneladas
< 100	—

Quadro 2: Subdivisão de lotes em sublotes

Peso do lote (em toneladas)	Peso ou número de sublotes
≥ 15	15-30 toneladas
>15	-

A amostra global é de, no mínimo, 1Kg ou um litro (óleo) a menos que tal não seja possível, por exemplo quando se proceder à amostragem de 1 embalagem ou unidade.

O número mínimo de amostras elementares a colher do lote ou sublote é o indicado no Quadro 3.

Quadro 3: Numero mínimo de amostras elementares a colher do lote ou sublote

Peso do lote/sublote (em Kg)	Numero mínimo de amostras elementares a colher
< 50	3
≥ 50 e ≤ 500	5
> 500	10

As amostras elementares são de peso semelhante. Uma amostra elementar pesa, no mínimo, 100 gramas ou 100 mililitros, dando origem a uma amostra global de, pelo menos, cerca de 1 Kg ou um litro. Todas as alterações a este método são assinaladas no registo previsto no ponto 2.8 da presente portaria.

Caso o lote ou sublote sejam constituídos por embalagens individuais ou unidades, o número de embalagens ou unidades a colher para formar a amostra global é o que consta do Quadro 4.

Quadro 4: Número de embalagens ou unidades (amostras elementares) a colher para formar a amostra global caso o lote ou sublote consistem em embalagens individuais ou unidades

Número de embalagens ou unidades no lote ou sublote	Número de embalagens ou unidades a colher
≤ 25	no mínimo, 1 embalagem ou unidade
26 - 100	cerca de 5%, no mínimo 2 embalagens ou unidades
> 100	cerca de 5% , no máximo 10 embalagens ou unidades

Os teores máximos de estanho na forma inorgânica são aplicáveis ao conteúdo de cada lata mas, por razões de ordem prática, é necessário recorrer a uma abordagem baseada na amostragem global. Se o resultado do ensaio relativo à amostra global de latas for inferior mas próximo do teor máximo de estanho na forma inorgânica e se houver motivo para crer que determinadas latas podem ultrapassar o teor máximo, será necessário realizar novas análises.

ANEXO II

Preparação das amostras

1. Precauções e generalidades

A exigência de base é a obtenção de uma amostra para laboratório representativa e homogénea sem a introdução de qualquer contaminação secundária.

Para a preparação da amostra para laboratório, é utilizada a totalidade do material da amostra recebida no laboratório.

A observância dos teores máximos estabelecida no presente Capítulo, é fixada com base nos teores determinados nas amostras para laboratório.

2. Procedimentos específicos para a preparação das amostras

Procedimentos específicos para o chumbo, o cádmio, o mercúrio e o estanho na forma inorgânica.

O analista garante que as amostras não são contaminadas aquando da sua preparação. Sempre que possível, os aparelhos e o equipamento que entram em contacto com as amostras não contêm os metais a determinar e são fabricados de material inerte, por exemplo, plásticos como polipropileno, politetrafluoroetileno, etc.; este material deve ser limpo com ácido para evitar o risco de contaminação. As arestas cortantes podem ser de aço inoxidável de alta qualidade.

Existem muitos procedimentos específicos para a preparação das amostras que podem ser utilizados para os produtos em causa. Consideram-se satisfatórios os que se encontram descritos na norma CEN *Foodstuffs-Determination of trace elements – Performance criteria, general considerations and sample preparation* – Norma EN 13804:2002, sem prejuízo de outros poderem ser igualmente válidos.

No caso do estanho na forma inorgânico, é tomado o cuidado necessário para assegurar que todo o material é dissolvido para fins da análise, já que se sabe que ocorrem perdas, particularmente por hidrólise em espécies insolúveis de óxido hidratado de Sn(IV).

Procedimentos específicos para o benzo(a)pireno

O analista certifica-se de que as amostras não são contaminadas aquando da sua preparação. Os recipientes são enxaguados com acetona ou hexano de elevado grau de pureza antes da sua utilização, por fora a limitar ao mínimo os riscos de contaminação. Sempre que possível, os aparelhos e o equipamento que entram em contacto com as amostras são fabricados de material inerte como

alumínio, vidro, ou aço inoxidável polido. Os plásticos do tipo polipropileno ou PTFE são evitados, uma vez que o analito pode ser absorvido por estes materiais.

3. Tratamento da amostra recebida no laboratório

A amostra global completa é finamente triturada (quando pertinente) e cuidadosamente misturada, utilizando-se um método que comprovadamente garanta uma homogeneização completa. A amostra pode sofrer alterações de acordo com exigência do método analítico.

4. Amostras para efeitos de medidas executórias, de direito de recuso e de procedimento de arbitragem

As amostras para efeitos de medidas executórias, de direito de recurso e de procedimento de arbitragem são obtidas a partir da amostra global homogeneizada.

ANEXO III

Métodos de análise

1. Definições:

São aplicáveis as seguintes definições:

r = repetibilidade, valor abaixo do qual se pode esperar que a diferença absoluta entre os resultados de testes individuais obtidos em condições de repetibilidade (isto é, mesma amostra, mesmo operador, mesmos aparelhos, mesmo laboratório e intervalo curto) se situe dentro dos limites da probabilidade específica (em princípio, 95 %), sendo $r = 2,8 \times s_r$.

s_r = desvio-padrão calculado a partir dos resultados obtidos em condições de repetibilidade.

RSD_r = desvio – padrão relativo calculado a partir dos resultados obtidos em condições de repetibilidade $[(s_r \sqrt{x}) \times 100]$.

R = reprodutibilidade, valor abaixo do qual se pode esperar que a diferença absoluta entre os resultados de testes individuais obtidos em condições de reprodutibilidade (isto é, com um material idêntico obtido pelos operadores de vários laboratórios que utilizem o método de ensaio normalizado) se situe dentro de um certo limite de probabilidade (em princípio, 95%); $R = 2,8 \times s_R$.

s_R = desvio padrão calculado a partir dos resultados obtidos em condições de reprodutibilidade.

RSD_R = desvio padrão relativo calculado a partir dos resultados obtidos em condições de reprodutibilidade $[(s_R \sqrt{x}) \times 100]$.

LD = limite de detecção, teor mínimo medido a partir do qual é possível deduzir a presença do analito com uma certeza estatística razoável. O limite de detecção é numericamente igual a três vezes o desvio-padrão da média de ensaios em branco ($n > 20$)

LQ = limite de quantificação, teor mais baixo a partir do qual é possível medir o analito com uma certeza estatística razoável. Se a execução e a precisão são constantes numa gama de concentrações centrada no limite de detecção, o limite de quantificação é numericamente igual a seis ou dez vezes o desvio-padrão da média de ensaios em branco ($n > 20$)

HORRAT_r = o valor observado de RSD_r dividido pelo valor de RSD_r estimado a partir da equação de Horwitz assumindo que $r = 0,66R$.

HORRAT_r = o valor observado de RSD_r dividido pelo valor de RSD_r calculado a partir da equação de Horwitz.

u = incerteza de medição padrão.

U = corresponde à incerteza de medição expandida, utilizando um factor de cobertura de 2, que permite obter um nível de confiança de cerca de 95% ($U = 2u$).

Uf = incerteza de medição padrão máxima

2. Requisitos gerais

Os métodos de análise utilizados para o controlo oficial dos teores dos contaminantes referidos no presente diploma devem obedecer aos seguintes critérios:

- a) Exactidão;
- b) Aplicabilidade (matriz e gama de concentrações);
- c) Limite de detecção;
- d) Limite de determinação;
- e) Precisão;
- f) Repetibilidade;
- g) Reprodutibilidade;
- h) Recuperação;
- i) Selectividade;
- j) Sensibilidade;
- k) Linearidade;
- l) Incerteza das medições;
- m) Outros critérios que possam ser seleccionados consoante as necessidades.

Os valores que caracterizam a precisão referida na alínea e) do ponto anterior devem ser obtidos a partir de um ensaio colectivo conduzido de acordo com um protocolo internacionalmente reconhecido para esse tipo de ensaio (por exemplo, ISO 5725/1994 ou o Protocolo Internacional Harmonizado da IUPAC) ou, quando tenham sido estabelecidos critérios de desempenho para os métodos analíticos, ser baseados em testes de conformidade com esses critérios. Os valores respectivos da repetibilidade e da reprodutibilidade devem ser expressos numa forma reconhecida a nível internacional (por exemplo, intervalos de confiança de 95 %, como definidos na norma ISO 5725/1994 ou pela IUPAC).

Os resultados do ensaio colectivo devem ser publicados ou acessíveis sem restrições.

Os métodos de análise utilizados para o estanho total são adequados para o controlo oficial em matéria de teor de estanho na forma inorgânica.

3. Requisitos específicos

3.1 Critérios de desempenho

Se não forem prescritos métodos específicos para a determinação de contaminantes nos produtos da pesca os laboratórios podem escolher qualquer método de análise validado (quando possível, a validação, inclui um material de referência certificado) desde que esse método respeite os critérios de desempenho especificados nos quadros 5 a 7.

Quadro 5 – Critérios de desempenho para métodos de análise de chumbo, cádmio, mercúrio e estanho na forma inorgânica

Parâmetro	Valor/Comentário
Aplicabilidade	Espécies referidas no presente Capítulo
Limite de detecção (LD)	Para estanho na forma inorgânica, menos de 5mg/kg. Para outros elementos, menos de um décimo do teor máximo referido no presente Capítulo excepto se o teor máximo de chumbo for inferior a 100*g/kg. Para este ultimo, menos de um quinto do teor máximo
Limite da quantificação (LQ)	Para estanho na forma inorgânica, menos de 10mg/kg. Para outros elementos, menos de um quinto do teor máximo referido no presente Capítulo excepto se o teor máximo de chumbo for inferior a 100*g/kg. Para este ultimo, menos de dois quintos do teor máximo
Precisão	Valores HORRAT _r ou HORRAT _R inferiores a 2
Recuperação	São aplicáveis as disposições previstas no ponto 1.2
Especificidade	Sem interferências matriciais ou espectrais

Quadro 6 – Critérios de desempenho para métodos de análise do benzo(a)pireno

Parâmetro	Valor/Comentário
-----------	------------------

Aplicabilidade	Espécies referidas no presente Capítulo
Limite de detecção (LD)	Inferior a 0,3 µg/kg
Limite da quantificação (LQ)	Inferior a 0,9 µg/kg
Precisão	Valores HORRAT _r ou HORRAT _R inferiores a 2
Recuperação	50-120 %
Especificidade	Sem interferências matriciais ou espectrais, verificação de detecção positiva

Abordagem de “adequação à finalidade”

Se houver um numero limitado de análise devidamente validados. Pode ser utilizada, em alternativa, uma abordagem de “adequação à finalidade” para avaliar a adequação dos métodos de análise. Os métodos adequados ao controlo oficial têm de produzir resultados cujas incertezas de medição padrão sejam inferiores á incerteza de medição padrão máxima, calculada por meio de fórmula seguinte:

$$U_f = \sqrt{(LD/2)^2 + aC^2}$$

em que:

U_f representa a incerteza de medição padrão máxima (µg/kg);

LD representa o limite de detecção do método (µg/kg)

C corresponde á concentração em causa (µg/kg)

a é um factor numérico cuja utilização depende do valor de C; os valores a utilizar constam do Quadro 7

Quadro 7 – Valores numéricos a utilizar para a constante " α ", na fórmula indicada *supra*, em função da concentração que se revista de interesse

C ($\mu\text{g/kg}$)	α
≤ 50	0,2
51-500	0,18
501-1.000	0,15
1 001-10.000	0,12
> 10.000	0,1

ANEXO IV

Registo e interpretação dos resultados

1. Registos

1.1 Expressão de resultados

Os resultados são expressos nas mesmas unidades e com o mesmo número de algarismos significativos que os teores máximos estabelecidos no presente Capítulo.

1.2 Cálculo de recuperação

Caso o método inclua uma fase de extracção, o resultado analítico é corrigido em função da recuperação. Neste caso a taxa de recuperação tem de ser registada.

Caso o método analítico não inclua nenhuma fase de extracção (por exemplo, no caso dos metais) pode registar-se o resultado não corrigido em função da recuperação se forem apresentadas provas, de que idealmente mediante utilização de material de referência certificado adequado, se alcançou a concentração certificada tendo em conta a incerteza de medição (isto é, exactidão elevada da medição). Caso o resultado seja registado não corrigido em função da recuperação, tal é mencionado.

1.3 Incerteza de medição

O resultado analítico tem de ser registado como $x \pm U$, em que x é o resultado analítico e U é a incerteza expandida da medição, utilizando um factor de cobertura de 2 que dá um nível de confiança de aproximadamente 95% ($U=2u$).

O analista tem em conta o *Report on the relationship between analytical results, the measurement of uncertainty, recovery factors and the provisions in EU food and feed legislation* (relatório sobre a relação entre os resultados analíticos, a incerteza de medição, os factores de recuperação e as disposições da legislação da UE no domínio dos alimentos para consumo humano e animal) (1).

2. Interpretação de resultados

2.1 - Aceitação do lote / sublote

O lote ou sublote são aceites se o resultado analítico da amostra para laboratório não exceder o respectivo teor máximo estabelecido neste Capítulo tendo em conta a incerteza de medição expandida e a correcção do resultado em função de recuperação, se o método analítico utilizado tiver incluído uma fase de extracção.

2.2 - Rejeição do lote / sublote

O lote ou sublote são rejeitados se o resultado analítico da amostra para laboratório exceder, para além de qualquer dúvida razoável, o respectivo teor máximo estabelecido neste Capítulo tendo em conta a incerteza de medição expandida e a correcção do resultado em função de recuperação, se o método analítico utilizado tiver incluído uma fase de extracção.

2.3 - Aplicabilidade

As presentes disposições em matéria de interpretação são aplicáveis ao resultado analítico obtido na amostra para efeitos de medidas executórias.

ANEXO V

Teores máximos de chumbo, cádmio, mercúrio, estanho na forma inorgânica e benzopireno nos produtos da pesca

1. Chumbo (Pb)

Produto	Teores máximos (mg/Kg de peso fresco)
Parte comestível de peixe (quando o peixe se destina a ser consumido inteiro o teor máximo aplica-se ao peixe inteiro)	0,30
Crustáceos, excluindo a carne escura de caranguejo e excluindo a carne de cabeça e do tórax da lagosta e de grandes crustáceos similares (<i>Palinuridae</i>)	0,50
Moluscos bivalves	1,5
Cefalópodes sem vísceras	1,0

2. Cádmio (Cd)

Produto	Teores máximos (mg/Kg de peso fresco)
Parte comestível de peixe (quando o peixe se destina a ser consumido inteiro o teor máximo aplica-se ao peixe inteiro)	0,30
Crustáceos, excluindo a carne escura de caranguejo e excluindo a carne de cabeça e do tórax da lagosta e de grandes crustáceos similares (<i>Palinuridae</i>)	0,50
Moluscos bivalves	1,5
Cefalópodes sem vísceras	1,0

3. Mercúrio (Hg)

Produto	Teores máximos (mg/Kg de peso fresco)
Produtos da pesca e parte comestível de espécies de peixes excepto as abaixo referidas Parte comestível das seguintes espécies Tubarões – Todas as espécies Espadarte (<i>Xiphias gladius</i>)	0,50
Atuns (<i>Thunnus species</i> , <i>Euthynnus species</i> , <i>Katsuwonus pelamis</i>)	1,0
Crustáceos, excluindo a carne escura de caranguejo e excluindo a carne da cabeça e do tórax da lagosta e de grandes crustáceos similares (<i>Palinuridae</i>)	0,50

4. Estanho na forma inorgânica

Produto	Teores máximos (mg/Kg de peso fresco)
Géneros alimentícios enlatados com excepção de bebidas	200

Benzo(a) pireno

Produto	Teores máximos (µg/Kg de peso fresco)
Parte comestível com excepção de peixe fumado	2,0
Parte comestível de peixe fumado e produtos fumados da pesca com excepção de moluscos bivalves	5,0
Crustáceos excluindo a carne escura de caranguejo e excluindo a carne da cabeça e do tórax da lagosta e de grandes crustáceos similares (<i>Palinuridae</i>)	5,0
Cefalópodes com excepção dos fumados	5,0
Moluscos bivalves	10,0

CAPITULO II

Fixa os teores máximos e os métodos de amostragem e de análise para o controlo oficial de dioxinas (PCDD/PCDF) e PCB sob a forma de dioxina presentes nos produtos da pesca

ANEXO I

1. Âmbito

a) A Autoridade Competente tomará todas as medidas necessárias para assegurar que as colheitas de amostras, e os métodos de análise para o controlo oficial aos produtos da pesca sejam efectuados nos termos descritos no presente Capítulo.

b) Os operadores no âmbito do auto controlo devem garantir que os métodos de análise aos produtos da pesca e a representatividade das amostras do lote sejam efectuados nos termos descritos no presente Capítulo.

c) As amostras destinadas ao controlo oficial dos teores de dioxinas (PCDD/PCDF) e de PCB sob a forma de dioxina nos produtos da pesca devem ser colhidas em conformidade com os métodos descritos no presente Anexo. As amostras globais assim obtidas são consideradas representativas dos lotes ou sub lotes dos quais foram colhidas.

d) A observância dos teores máximos definidos no presente Capítulo é estabelecida em função dos teores determinados nas amostras de laboratório.

2. Disposições gerais

2.1 - Pessoal

A colheita de amostras deve ser da responsabilidade de uma pessoa autorizada e qualificada para esse efeito

1.1 – Material para amostragem

Cada lote ou sublote a analisar deve ser objecto de uma amostragem separada

1.2 - Precauções a adoptar

Durante a amostragem e a preparação das amostras, devem ser tomadas precauções para evitar qualquer alteração que possa afectar o teor de dioxinas e de PCB sob a forma de dioxina, afectar negativamente a determinação analítica ou tornar as amostras globais não representativas.

2.4 - Amostras elementares

Na medida do possível, as amostras elementares devem ser colhidas em diversos pontos do lote ou sublote.

Qualquer inobservância deste procedimento deve ser assinalada no registo previsto no ponto 2.7 do presente anexo.

2.5 - Preparação da amostra global

A amostra global é obtida através da junção das amostras elementares. Deve pesar, no mínimo, 1kg, a menos que tal não seja prático, por exemplo, quando a amostra tiver sido colhida de uma única embalagem.

2.6. Amostras idênticas

As amostras idênticas, destinadas à eventual tomada de medidas de execução, a acções judiciais e para efeitos de arbitragem, devem ser obtidas a partir da amostra global homogeneizada. A dimensão das amostras de laboratório para efeitos de medidas de execução deve ser de ordem a permitir, no mínimo, análises em duplicado.

2.7 - Acondicionamento e envio das amostras para laboratório

Cada amostra é colocada num recipiente limpo, de material inerte, que a proteja adequadamente de qualquer possível contaminação, de perda de analitos por adsorção na parede interna do recipiente ou qualquer dano durante o transporte. São tomadas, todas as precauções necessárias para evitar qualquer modificação da composição da amostra que possa ocorrer durante o transporte ou a armazenagem.

2.8 - Selagem e rotulagem das amostras

Cada amostra colhida para efeitos oficiais é selada no local de amostragem e identificada.

Para cada amostragem, é mantido um registo que permita identificar sem ambiguidade o lote ou sublote amostrado, indicando a data e o local de amostragem, bem como qualquer informação suplementar que possa ser útil ao analista.

3. Planos de amostragem

O método de amostragem aplicado deve garantir que a amostra global é representativa do (sub)lote a controlar.

3.1. Divisão dos lotes em sublotes

Os grandes lotes devem ser subdivididos em sublotes, desde que os sublotes possam ser fisicamente separados.

Para produtos comercializados a granel é aplicável o Quadro 1. Para outros produtos, é aplicável o Quadro 2. Dado que o peso dos lotes nem sempre é um múltiplo exacto do peso dos sublotes, o peso dos sublotes pode exceder o peso indicado até um máximo de 20 %.

Quadro 1: Subdivisão de lotes em sublotes para produtos comercializados em remessas a granel

Peso do lote (em toneladas)	Peso ou número de sublotes
≥ 1 500	500 toneladas
> 300 e < 1 500	3 sublotes
≥ 50 e < 300	100 toneladas
< 50	-

Quadro 2: Subdivisão de lotes em sublotes para outros produtos

Peso do lote (em toneladas)	Peso ou número de sublotes
≥15	15-30 toneladas
< 15	-

3.2 Número de amostras elementares

A amostra global, proveniente da junção de todas as amostras elementares, deve ser, no mínimo, de 1 kg (ver ponto 2.5 do presente anexo).

O número mínimo de amostras elementares a colher do lote ou do sublote é o indicado nos Quadros 3 e 4.

As amostras elementares devem ter um peso semelhante. Uma amostra elementar deve pesar, no mínimo, 100 gramas.

Todas as alterações a esse procedimento devem ser assinaladas no registo previsto no ponto 2.7 do presente anexo. Para lotes por grosso e para lotes constituídos por embalagens individuais; ver quadros 3 e 4.

Quadro 3: Numero mínimo de amostras elementares a colher do lote ou sublote

Peso do lote/sublote (em Kg)	Numero mínimo de amostras elementares a colher
< 50	3
50 a 500	5
> 500	10

Caso o lote seja constituído por embalagens individuais ou unidades, o número de embalagens ou unidades a colher para formar a amostra global é o que consta do Quadro 4.

Quadro 4: Número de embalagens ou unidades (amostras elementares) a colher para formar a amostra global caso o lote ou sublote consistem em embalagens individuais ou unidades

Número de embalagens ou unidades no lote ou sublote	Número de embalagens ou unidades a colher
1 a 25	No mínimo, 1 pacote ou unidade
26 a 100	cerca de 5%, no mínimo de 2 embalagens unidades
> 100	cerca de 5% , no máximo de 10 embalagens ou unidades

3.3 Disposições específicas para a amostragem de lotes contendo peixes inteiros de tamanho e peso comparáveis.

Os peixes são considerados como tendo um tamanho e peso comparáveis se a diferença em tamanho e peso não exceder cerca de 50 %.

O número de amostras elementares a colher do lote está definido no Quadro 3. A amostra global, proveniente da junção de todas as amostras elementares, deve ser, no mínimo, de 1 kg (ver ponto 2.5).

– Caso o lote a amostrar contenha peixes pequenos (cada um com peso inferior a cerca de 1 kg), o peixe inteiro é colhido como amostra elementar para efeitos de constituição da amostra global. Se a amostra global daí resultante pesar mais de 3 kg, as amostras elementares podem consistir da parte do meio dos peixes que formam a amostra global, pesando cada parte pelo menos 100 gramas. A parte inteira à qual o teor máximo é aplicável é usada para a homogeneização da amostra.

A parte do meio do peixe é aquela em que se situe o centro de gravidade, que está localizado, na maioria dos casos, na barbatana dorsal (se o peixe tiver uma barbatana dorsal) ou a meio entre a abertura branquial e o ânus.

– Caso o lote a amostrar contenha peixes maiores (cada um com peso superior a cerca de 1 kg), a amostra elementar consistirá na parte do meio do peixe. Cada amostra elementar deve pesar, no mínimo, 100 gramas.

Para peixes de tamanho intermédio (com cerca de 1-6 kg), a amostra elementar é colhida como uma porção da parte do meio do peixe, entre a espinha dorsal e a barriga.

Para peixes muito grandes (por exemplo, com peso superior a cerca de 6 kg), a amostra elementar é colhida do lado direito (perspectiva frontal) da parte do meio comestível lateral -dorsal do peixe. Caso a extracção de uma porção da parte do meio do peixe possa resultar num prejuízo económico significativo, pode considerar-se suficiente a extracção de três amostras elementares de, pelo menos, 350 gramas cada, independentemente da dimensão do lote, ou, em alternativa, podem ser colhidas porções iguais da parte comestível perto da cauda e da parte comestível perto da cabeça de um único peixe para formar a amostra elementar representativa do teor de dioxinas no peixe inteiro.

3.4 Amostragem de lotes de peixes contendo peixes inteiros de tamanho e/ou peso diferentes.

– São aplicáveis as disposições do ponto 3.3. no que respeita à constituição da amostra.

– No caso de uma classe/categoria de tamanho ou peso serem predominantes (cerca de 80 % ou mais do lote), a amostra é colhida dos peixes com o tamanho ou peso predominantes. Esta amostra deve ser considerada representativa do lote inteiro.

– Se não predominar nenhuma classe/categoria específica de tamanho ou peso, então é necessário garantir que os peixes seleccionados para a amostra são representativos da remessa.

4. Conformidade do lote ou do sublote com a especificação

O lote é aceite se o resultado analítico de uma única análise não for superior ao respectivo teor máximo de dioxinas e a soma de dioxinas e PCB sob a forma de dioxina, tal como estabelecido no presente Capítulo, tomando em consideração a incerteza de medição.

O lote não é conforme com o teor máximo estabelecido no presente Capítulo se o resultado analítico do limite máximo, confirmado pela análise em duplicado, for superior ao teor máximo, com um grau de certeza elevado, tendo em conta a incerteza de medição.

O conceito de limites máximos exige a utilização do limite de quantificação para o contributo de cada congénere não quantificado, para os equivalentes tóxicos (TEQ). O conceito de limites mínimos exige a utilização de zero para o contributo de cada congénere não quantificado, para os equivalentes tóxicos (TEQ). O conceito de limites médios exige a utilização de metade de limite de quantificação, calculando o contributo de cada congénere não quantificado, para os equivalentes tóxicos (TEQ).

A análise em duplicado é necessária para se excluir a possibilidade de contaminação cruzada interna ou de uma troca accidental de amostras. A primeira análise que tem em conta a incerteza de medição, é utilizada para verificar a conformidade.

A incerteza de medição pode ser tomada em consideração por meio da seguinte abordagem:

– calculando a incerteza expandida, utilizando um factor de expansão de 2, que permite obter um nível de confiança de cerca de 95 %. Um lote ou sublote não é conforme se o valor medido menos U for superior ao teor permitido definido. No caso de uma determinação separada das dioxinas e de PCB sob a forma de dioxina, a soma da incerteza expandida estimada dos resultados analíticos separados das dioxinas e de PCB sob a forma de dioxina tem de ser utilizada para a soma de dioxinas e de PCB sob a forma de dioxina.

As presentes regras de interpretação são aplicáveis ao resultado analítico obtido na amostra para o controlo oficial.

ANEXO II

Preparação das amostras e requisitos respeitantes aos métodos de análise utilizados no controlo oficial dos teores de dioxinas (PCDD/PCDF) e de PCB sob a forma de dioxina nos produtos da pesca

1. Âmbito de aplicação

A monitorização da presença de dioxinas nos produtos da pesca pode ser realizada mediante uma estratégia que englobe um método de pré-selecção, a fim de escolher as amostras com teores de dioxinas e de PCB sob a forma de dioxina que sejam menos de 25 % inferiores ao nível máximo ou o ultrapassem. É necessário que a concentração de dioxinas e a soma de dioxinas, assim como de PCB sob a forma de dioxina nas amostras com teores significativos seja determinada/confirmada por um método de confirmação.

Os métodos de pré-selecção são métodos utilizados para a detecção da presença de dioxinas e de PCB sob a forma de dioxina no teor requerido. Esses métodos têm a capacidade de processar um elevado número de amostras e são utilizados para seleccionar de um grande número de amostras os resultados potencialmente positivos. São concebidos especificamente para evitar a obtenção de falsos negativos.

Os métodos de confirmação são métodos que fornecem informação completa ou complementar que permite a identificação e a quantificação inequívocas ao teor requerido de dioxinas e de PCB sob a forma de dioxina.

2. Antecedentes

As concentrações de cada substância numa determinada amostra são multiplicadas pelos respectivos Factores de equivalência de toxicidade (FET), definidos pela Organização Mundial de Saúde e enumerados no apêndice do presente Capítulo, sendo subsequentemente somadas para darem a concentração total de compostos sob a forma de dioxina expressos em equivalentes tóxicos (TEQ).

Para efeitos do presente Capítulo, o limite específico aceite de quantificação de um congénere individual é a concentração de um analito no extracto de uma amostra que produza uma resposta instrumental a dois iões diferentes, a qual será controlada com um rácio sinal/ruído (SR) de 3:1 para o sinal menos sensível e o cumprimento de requisitos básicos, tais como, por exemplo, o tempo de retenção e o rácio isotópico, de acordo com o procedimento de determinação descrito no método EPA 1613, revisão B.

3. Requisitos de garantia da qualidade a cumprir na preparação da amostra

- Devem ser tomadas medidas para evitar a contaminação cruzada em cada etapa do procedimento de amostragem e de análise.
- As amostras devem ser conservadas e transportadas em contentores de vidro, alumínio, polipropileno ou polietileno. Devem ser removidos do recipiente da amostra os vestígios de poeiras de papel. O material de vidro deve ser enxaguado com solventes certificados como isentos de dioxinas ou previamente submetidos a um controlo destinado a detectar a presença de dioxinas.
- O armazenamento e o transporte das amostras têm de ser realizados de modo a manter a integridade da amostra de alimentos.
- Desde que relevante, triturar finamente e misturar completamente cada amostra de laboratório, mediante um processo relativamente ao qual se tenha demonstrado que possibilita uma homogeneização completa (por exemplo, trituração que permita passar por um crivo de 1 mm); as amostras devem ser exsicadas antes da trituração, caso o teor em humidade seja demasiado elevado.
- Efectuar uma análise em branco através da realização de todo o procedimento analítico, omitindo apenas a amostra.
- O peso da amostra utilizado para extracção deve ser suficiente para respeitar os requisitos no tocante à sensibilidade.
- Os procedimentos de preparação de amostras específicos utilizados para os produtos em causa são validados de acordo com orientações aceites internacionalmente.
- No caso de peixes, a pele tem de ser removida, dado que o teor máximo é aplicável à parte comestível sem pele. Contudo, é necessário que todos os restos da parte comestível e do tecido adiposo do lado interno da pele sejam cuidadosamente raspados e completamente separados da pele e que estes restos da parte comestível e do tecido adiposo sejam adicionados à amostra a analisar.

4. Requisitos aplicáveis aos laboratórios

- Os laboratórios devem demonstrar o desempenho de um método na gama do teor requerido (por exemplo, 0,5 vezes, 1 vez e 2 vezes o teor requerido), com um coeficiente de variação aceitável para análises repetidas. No que se refere aos critérios de aceitação, ver o ponto 5.
- O limite de quantificação de um método de confirmação deve situar-se na gama de cerca de um quinto do teor requerido.
- Os controlos regulares com ensaios em branco, com amostras enriquecidas ou análises de amostras de controlo (de preferência, se disponível, material de referência certificado) devem ser realizados como medidas internas de controlo da qualidade.

– A competência de um laboratório é comprovada pelo êxito da sua participação contínua em estudos inter laboratoriais para a determinação de dioxinas e de PCB sob a forma de dioxina nas matrizes relevantes de alimentos para animais/alimentos para o ser humano.

– Os laboratórios devem ser acreditados por um organismo reconhecido que opere em conformidade com o Guia ISO 58, a fim de assegurar que aplicam a garantia de qualidade analítica. Os laboratórios devem ser acreditados através da norma EN ISO/IEC/17025.

5. Requisitos a cumprir pelo procedimento analítico para determinação de dioxinas e de pcb Sob a forma de dioxina

Requisitos básicos de aceitação dos procedimentos analíticos:

– *Sensibilidade elevada e limites de detecção baixos.*

Para os PCDD e PCDF, as quantidades detectáveis devem situar-se na gama dos picogramas TEQ (10-12 g) devido à extrema toxicidade de alguns destes compostos. Sabe-se que os PCB ocorrem a níveis mais elevados do que os PCDD e PCDF. Para bastantes congéneres de PCB, a sensibilidade na gama dos nanogramas (10-9 g) já é suficiente. No entanto, para a medição dos congéneres de PCB sob a forma de dioxina mais tóxicos (designadamente, congéneres não-orto substituídos), deve ser conseguida a mesma sensibilidade que para os PCDD e PCDF.

– *Selectividade elevada (especificidade).*

É necessário estabelecer uma distinção entre PCDD, PCDF e PCB sob a forma de dioxina e inúmeros compostos co-extraídos e eventualmente interferentes, que estão presentes em concentrações que podem atingir várias ordens de grandeza superiores às dos analitos em causa. Relativamente aos métodos de cromatografia gasosa/espectrometria de massa (CG-EM), é necessária uma diferenciação entre vários congéneres, tal como entre congéneres tóxicos (por exemplo os 17 PCDD e PCDF substituídos nas posições 2,3,7 e 8 e os PCB sob a forma de dioxina) e outros congéneres. Os bioensaios devem ser capazes de determinar valores TEQ de forma selectiva, como a soma de PCDD, PCDF e PCB sob a forma de dioxina.

– *Exactidão elevada (rigor e precisão).*

A determinação deve fornecer uma estimativa válida da verdadeira concentração numa amostra. É necessária uma exactidão elevada (exactidão da medição: a proximidade de concordância entre o resultado de uma medição e o valor verídico da grandeza medida) por forma a evitar a rejeição do resultado da análise de uma amostra com base na reduzida fiabilidade da estimativa de TEQ. A exactidão é expressa como rigor (diferença entre o valor médio medido para um analito num material certificado e o respectivo valor certificado, expresso em percentagem deste valor) e precisão (RSDR é o desvio-padrão relativo, calculado a partir dos resultados obtidos em condições de reprodutibilidade).

Os métodos de pré-selecção podem incluir os bioensaios e os métodos CG/EM; os métodos de confirmação são métodos de cromatografia gasosa de elevada resolução/de espectrometria de massa de elevada resolução (CGER/EMER). Têm de ser cumpridos os seguintes critérios no valor TEQ total:

	Métodos de pré-selecção	Métodos de confirmação
Taxa de falsos negativos	< 1 %	-
Rigor	-	- 20 % a + 20 %
Precisão (RSD _R)	< 30 %	< 15 %

6. Requisitos específicos dos métodos CG/EM a cumprir para fins de pré-selecção ou de confirmação

– Logo no início do método analítico, por exemplo antes da extracção, deve proceder-se à adição de padrões internos de PCDD/F marcados com ^{13}C e substituídos com cloro nas posições 2,3,7 e 8 e de padrões internos de PCB sob a forma de dioxina marcados com ^{13}C , por forma a validar o procedimento analítico. Deve ser adicionado, pelo menos, um congénere para cada grupo homólogo de PCDD/F tetra a octo-clorados e, pelo menos, um congénere para cada grupo homólogo de PCB sob a forma de dioxina (alternativamente, deve ser utilizado para o controlo de PCDD/F e de PCB sob a forma de dioxina, pelo menos, um congénere para cada função de registo de iões seleccionados pela espectrometria de massa).

Verifica-se uma nítida preferência, no caso dos métodos de confirmação, pela utilização dos padrões internos dos 17 PCDD/F substituídos nas posições 2,3,7 e 8 e marcados com ^{13}C e dos padrões internos dos 12 PCB sob a forma de dioxina marcados com ^{13}C .

Também devem ser determinados factores de resposta relativos para os congéneres aos quais não se adiciona um composto análogo marcado com ^{13}C , através da utilização de soluções de calibração adequadas.

– Em relação aos produtos da pesca que contenham menos de 10 % de gorduras, a adição de padrões internos é obrigatória antes da extracção. Em relação aos géneros alimentícios de origem animal que contenham mais de 10 % de gorduras, os padrões internos podem ser adicionados antes ou após a extracção de gorduras. Deve ser efectuada uma validação adequada da eficácia da extracção, dependendo da fase em que são introduzidos os padrões internos e de os resultados serem notificados com base no produto ou na gordura.

– Antes da análise por CG/EM, devem ser adicionados 1 ou 2 padrões de recuperação (substituto).

– É necessário um controlo de recuperação. Para os métodos de confirmação, as recuperações de cada padrão interno devem situar-se na gama de 60 a 120 %. São aceitáveis recuperações inferiores ou superiores para congéneres individuais, nomeadamente para algumas dibenzodioxinas e dibenzofuranos hepta e octo-clorados, desde que a sua contribuição para o valor TEQ não exceda 10 % do valor total de TEQ (com base na soma de PCDD/F e PCB sob a forma de dioxina). Para os métodos de pré-selecção, as recuperações devem situar-se na gama de 30 a 140 %.

- Deve proceder-se à separação entre dioxinas e compostos clorados interferentes, tais como PCB não sob a forma de dioxina e éteres difenílicos clorados através de técnicas de cromatografia adequadas (de preferência, com uma coluna de florisil, alumina e/ou carbono).
- Deve ser suficiente a separação de isómeros por cromatografia gasosa (< 25 % de pico a pico entre 1,2,3,4,7,8-HxCDF e 1,2,3,6,7,8-HxCDF).
- A determinação deve ser realizada de acordo com o método EPA 1613 revisão B: Dioxinas e furanos tetra-a octo-clorados por diluição de isótopos com CGER/EMER ou outro método com critérios de desempenho equivalentes.
- A diferença entre o nível superior e o nível inferior não deve exceder 20 % no caso de géneros alimentícios com uma contaminação por dioxinas de cerca de 1 pg TEQ-OMS/g de gordura (com base na soma de PCDD/PCDF e PCB sob a forma de dioxina). No tocante a géneros alimentícios com baixo teor em gordura, têm de ser aplicados os mesmos requisitos respeitantes a níveis de contaminação de cerca de 1 pg TEQ-OMS/g de produto. Para níveis inferiores de contaminação, por exemplo, 0,50 pg TEQ-OMS/g de produto, a diferença entre o limite superior e o limite inferior pode situar-se na gama de 25-40 %.

7. Métodos de análise de pré-selecção

7.1. Introdução

No método de pré-selecção pode utilizar-se diferentes abordagens analíticas: uma abordagem puramente de pré-selecção e uma abordagem quantitativa.

Abordagem de pré-selecção

A resposta das amostras é comparada com a de uma amostra de referência no teor requerido. As amostras com uma resposta inferior à da referência são declaradas negativas, as amostras com uma resposta superior são positivas suspeitas. Requisitos:

- Em cada série de testes tem de se incluir uma amostra em branco e uma de referência, que são extraídas e testadas ao mesmo tempo e em condições idênticas. A amostra de referência deve apresentar uma resposta claramente elevada em comparação com a amostra em branco.
- Devem incluir-se outras amostras de referência com 0,5 vezes e 2 vezes o teor requerido, para demonstrar o desempenho correcto do teste na gama requerida para o controlo do teor requerido.
- Quando se testam outras matrizes, tem de se demonstrar a adequação das amostras de referência, preferencialmente incluindo amostras cuja CGER/EMER revelou conterem um teor TEQ próximo do da amostra de referência ou então uma amostra em branco enriquecida para este teor.
- Uma vez que não se pode utilizar padrões internos nos bioensaio, devem ser realizados os testes de repetibilidade para se obter informações sobre o desvio-padrão numa série de testes. O coeficiente de variação deve ser inferior a 30 %.
- Para os bioensaio, devem ser definidos os compostos-alvo, as possíveis interferências e os níveis em branco máximos toleráveis.

Abordagem quantitativa

A abordagem quantitativa exige várias séries de diluições do padrão, purificação e medições em duplicado ou triplicado, bem como controlos em branco e de recuperação. O resultado poderá ser

expresso em TEQ, partindo-se assim do princípio de que os compostos responsáveis pelo sinal correspondem ao princípio de TEQ. Para o obter, pode usar-se TCDD (ou uma mistura-padrão de dioxina/furano/ PCB sob a forma de dioxina) para produzir uma curva de calibração a fim de calcular o teor de TEQ no extracto e, consequentemente, na amostra. Posteriormente, este resultado é corrigido com o teor de TEQ calculado para uma amostra em branco (para ter em conta impurezas provenientes de solventes e produtos químicos utilizados) e para uma recuperação (calculada a partir do teor de TEQ numa amostra de controlo de qualidade próximo do teor requerido).

É essencial referir que parte da perda de recuperação aparente pode dever-se a efeitos de matriz e/ou a diferenças entre os valores de TEF nos bioensaios e os valores oficiais de TEF fixados pela OMS.

7.2. Requisitos destinados a métodos de análise utilizados para a pré-selecção

– Na pré-selecção, podem usar-se os métodos de análise e de bioensaio CG/EM. Para os métodos CG/EM, devem ser utilizados os requisitos descritos no ponto 6. Para os bioensaios com células, estão fixados os requisitos específicos no ponto 7.3 e, para os bioensaios com *kits*, no ponto 7.4 do presente anexo.

– É necessária informação sobre o número de falsos positivos e falsos negativos de um conjunto grande de amostras abaixo e acima do teor máximo ou do nível de acção, em comparação com o teor de TEQ conforme determinado por um método de análise de confirmação. As taxas efectivas de falsos negativos devem ser inferiores a 1 %. A taxa de amostras com falsos positivos deve ser suficientemente baixa para se poder recorrer vantajosamente ao instrumento de pré-selecção.

– Os resultados positivos têm sempre de ser confirmados por um método de análise de confirmação (CGER/EMER). Além disso, devem confirmar-se por CGER/EMER as amostras de uma ampla gama de TEQ (aproximadamente, 2-10 % das amostras negativas). Deve ser disponibilizada informação sobre a correspondência entre os resultados do bioensaio e os de CGER/EMER.

7.3. Requisitos específicos destinados a bioensaios com células

– Quando se procede a um bioensaio, cada teste exige uma série de concentrações de referência de TCDD ou uma mistura de dioxina/furano/PCB sob a forma de dioxina (curva de dose-resposta completa com um $R^2 > 0,95$). No entanto, para efeitos de pré-selecção, pode usar-se uma curva expandida de baixo nível para analisar as amostras de baixo nível.

– Para o resultado do bioensaio durante um período de tempo constante, deve usar-se uma concentração de referência de TCDD (cerca de três vezes o limite de quantificação) numa ficha de controlo de qualidade. Em alternativa, pode utilizar-se a resposta relativa de uma amostra de referência por comparação com a recta de calibração de TCDD, uma vez que a resposta das células pode depender de muitos factores.

– Devem registar-se e verificar-se os gráficos de controlo de qualidade (CQ) para cada tipo de material de referência, a fim de garantir que o resultado está conforme com as directrizes definidas.

– Em especial para os cálculos quantitativos, a indução da diluição da amostra utilizada deve encontrar-se dentro da porção linear da curva de resposta. As amostras que se encontrem acima da porção linear da curva de resposta devem ser diluídas e testadas de novo. Assim, recomenda-se a realização simultânea de testes com, pelo menos, três ou mais diluições.

– O desvio-padrão percentual não deve ser superior a 15 % numa determinação em triplicado para cada diluição da amostra e não superior a 30 % entre três experiências independentes.

– O limite de detecção pode ser fixado multiplicando por três o desvio-padrão da solução em branco de solvente ou da resposta de base. Outra abordagem consiste em aplicar uma resposta que seja

superior à base (factor de indução cinco vezes superior ao da solução em branco de solvente) calculada a partir da curva de calibração do dia. O limite de quantificação pode ser fixado multiplicando por cinco ou seis vezes o desvio-padrão da solução em branco de solvente ou da resposta de base ou aplicar uma resposta que seja superior à base (factor de indução 10 vezes superior ao da solução em branco de solvente) calculada a partir da curva de calibração do dia.

7.4. Requisitos específicos destinados a bioensaios com *kits*

- Deve garantir-se que os bioensaios com *kits* são suficientemente sensíveis e fidedignos para serem aplicados aos alimentos.
- Devem ser respeitadas as instruções do fabricante no que se refere à preparação da amostra e às análises.
- Os *kits* de ensaio não devem ser utilizados depois do prazo de validade.
- Não devem ser utilizados materiais ou componentes concebidos para serem usados com outros *kits*.
- Os *kits* de ensaio devem ser mantidos a uma temperatura de armazenamento dentro dos limites especificados e utilizados à temperatura de funcionamento especificada.
- O limite de detecção para os imunoenaios é determinado multiplicando por três o desvio-padrão, calculado com base em 10 repetições da análise em branco, dividindo o resultado pelo valor do declive da equação de regressão linear.
- Devem ser utilizados padrões de referência para testes de laboratório a fim de se garantir que a capacidade de resposta ao padrão se encontra numa gama aceitável.

8. Notificação do resultado

Na medida em que o procedimento analítico utilizado o permita, os resultados analíticos devem conter os níveis de PCDD/F individual e de congéneres PCB e serem indicados como limites mínimos, limites máximos e limites médios, a fim de incluir o máximo de informações possível na notificação dos resultados e, deste modo, permitir a interpretação dos resultados de acordo com requisitos específicos.

O relatório deve também incluir o teor de lípidos da amostra, bem como o método utilizado para a respectiva extracção.

As recuperações de cada padrão interno devem ser disponibilizadas no caso de as recuperações estarem fora da gama mencionada no ponto 6, no caso de o limite máximo ser excedido e noutros casos mediante pedido. Como a incerteza de medição deve ser tida em conta ao decidir sobre a conformidade de uma amostra, este parâmetro deve igualmente ser disponibilizado. O resultado analítico tem de ser registado enquanto $x \pm U$, sendo que x é o resultado analítico e U é a incerteza de medição expandida, utilizando um factor de cobertura de 2, que permite obter um nível de confiança de cerca de 95 %.

No caso de uma determinação em separado de dioxinas e de PCB sob a forma de dioxina, a soma da incerteza expandida estimada dos resultados analíticos separados de dioxinas e de PCB sob a forma de dioxina tem de ser utilizada para a soma de dioxinas e de PCB sob a forma de dioxina.

Se a incerteza de medição for tida em conta mediante a aplicação de CC α (tal como descrito no anexo I, ponto 5), este parâmetro é mencionado.

Os resultados são expressos nas mesmas unidades e com (pelo menos) o mesmo número de algarismos significativos que os níveis máximos definidos no presente Capítulo.

ANEXO III

Teores máximos de dioxinas e PCBs sob a forma de dioxinas nos produtos da pesca

1. Dioxinas e PCB¹ - bifelinos policlorados

Produto	Teores máximos	
	Somatório de dioxinas (PCDD/F-TEQOMS)	Somatório de dioxinas e de PCB sob a forma de dioxina (PCB/FTEQ-OMS)
Parte comestível do peixe e dos produtos da pesca e produtos derivados (quando o peixe se destina a ser consumido inteiro, o teor aplica-se ao peixe inteiro)	4,0 pg/g de peso fresco	8,0 pg/g de peso fresco
Crustáceos, excluindo a carne escura de caranguejo e da carne da cabeça e do tórax da lagosta e de grandes crustáceos similares (<i>Palinuridae</i>)	4,0 pg/g de peso fresco	8,0 pg/g de peso fresco
Óleos e gorduras vegetais	0,75 pg/g de gordura	1,5 pg/g de gordura

1 Dioxinas [somatório das dibenzo-para-dioxinas policloradas (PCDD) e dos dibenzofuranos policlorados (PCDF), expresso em equivalente tóxico OMS com base nos factores de equivalência tóxica da OMS (FET-OMS)], e somatório das dioxinas e dos PCB sob a forma de dioxina [somatório de PCDD, PCDF e bifenilos policlorados (PCB) expresso em equivalente tóxico OMS com base nos FET-OMS)]. FET OMS para avaliação dos riscos para o ser humano com base nas conclusões da reunião da OMS realizada em Estocolmo, Suécia, de 15 a 18 de Junho de 1997 – Van den Berg et al. (1998) «Toxic Equivalency Factors (TEFs) for PCBs, PCDDs, PCDFs for Humans and Wildlife» [Factores de equivalência tóxica (FET) para PCB, PCDD e PCDF para seres humanos e fauna selvagem]. *Environmental Health Perspectives*, 106 (12), 775.

Quadro: Factores de equivalência de toxicidade da OMS para avaliação do risco para o ser humano nas conclusões da reunião da Organização Mundial de Saúde realizada em Estocolmo), Suécia, 15 a 18 de Junho de

1997 (Van den Berg et al.,(1998). «Toxic Equivalency Factors (TEFs) for PCBs, PCDDs,PCDFs for Human and Wildlife» [Factores de equivalência de toxicidade (FET) para PCB, PCDD e PCDF para seres humanos e fauna selvagem]. *Environmental Health Perspectives*, 106(12), 775.

Compostos afins	Valor FET	Compostos afins	Valor FET
Dibenzeno-p-dioxinas policlorados (PCDD)		PCB sob a forma de dioxina:	
2,3,7,8 – TCDD	1	PCB não orto + PCB mono-orto	
1,2,3,7,8 – PeCDD	1	PCB não-orto	
1,2,3,4,7,8 – HxCDD	0,1	PCB 77	0,0001
1,2,3,7,8,9 – HxCDD	0,1	PCB 81	0,0001
1,2,3,7,8,9 – HxCDD	0,1	PCB 126	0,1
1,2,3,4,6,7,9– HpCDD	0,01	PCB 169	0,01
OCDD	0,0001		
Dibenzofuranos (PCDF)			
2,3,7,8 – TCDF		PCB mono-orto	
1,2,3,7,8 – PeCDF	0,1	PCB 105	0,0001
2,3,4,7,8 – PeCDF	0,05	PCB 114	0,0005
1,2,3,4,7,8 – HxCDF	0,5	PCB 118	0,0001
1,2,3,6,7,8 – HxCDF	0,1	PCB 123	0,0001
1,2,3,7,8,9 – HxCDF	0,1	PCB 156	0,0005
2,3,4,6,7,8 – HxCDF	0,1	PCB 157	0,0005
1,2,3,4,6,7,8 – HpCDF	0,1	PCB 167	0,00001
1,2,3,4,7,8,9 – HpCDF	0,01	PCB 189	0,0001
OCDF	0,01		
	0,001		
<i>Abreviaturas utilizadas: «T» = tetra; «Pe» = penta; «Hx» = hexa; «Hp» = hepta; «O» = octo; «CDD» = dibenzeno-p-dioxinas cloradas; «CDF» = clorodibenzofurano; «CB» = clorobifenilo.</i>			

Os Ministros, *Basílio Mosso Ramos - José Maria Veiga*
- *Fátima Maria Carvalho Fialho.*