

Decreto-Lei n.º 33/2004

de 7 de Fevereiro

As matérias-primas para a alimentação animal só podem ser colocadas em circulação no espaço comunitário se forem de qualidade sã, íntegra e comercializável.

Importa, pois, garantir que a presença de substâncias indesejáveis nos diversos alimentos para animais e matérias-primas para a alimentação animal ocorra abaixo de determinados limites máximos, de forma a impedir o aparecimento de efeitos indesejáveis e prejudiciais, tendo, no entanto, sempre presente que é impossível fixar tais teores em níveis inferiores aos detectáveis por meio de métodos de análise a definir a nível comunitário.

Mais importante se torna este procedimento se tivermos em conta que as dioxinas e os PCB são extremamente resistentes à degradação química e biológica, e, por conseguinte, persistem no ambiente, acumulando-se nas cadeias alimentares humana e animal e desencadeando, assim, um risco potencial de contaminação de base. A esta há a acrescentar a poluição accidental dos solos e cursos de água devida a descargas localizadas de dioxinas provenientes de actividades industriais ou devida à contaminação das matérias-primas para a alimentação animal durante a sua produção, transformação, transporte ou erros de gestão.

Os métodos de determinação são elaborados com base nos conhecimentos actuais podendo e devendo ser adaptados tendo em conta a evolução dos conhecimentos científico e tecnológico. Estes devem permitir uma abordagem activa, serem fiáveis e completos. As amostras com risco de nível significativo de dioxinas devem ser sujeitas a um método de análise de pré-selecção com validação provada e amplamente aceitável e com rendimento elevado, sendo necessário determinar depois os níveis de dioxinas nestas amostras por um método de análise de confirmação.

Torna-se, pois, necessário estabelecer os requisitos a que os métodos de análise de confirmação e de pré-selecção devem obedecer, por forma a garantir que os laboratórios utilizem métodos de análise com níveis de desempenho comparáveis, fiáveis e completos.

As disposições definidas no presente diploma referem-se exclusivamente aos requisitos para a determinação dos níveis de dioxinas e de PCB sob a forma de dioxina, regulamentados pelo Decreto-Lei n.º 235/2003, de 30 de Setembro, que revoga o Decreto-Lei n.º 442/89, de 27 de Dezembro, e a Portaria n.º 1107/89, de 27 de Dezembro.

Assim:

Nos termos da alínea *a*) do n.º 1 do artigo 198.º da Constituição, o Governo decreta o seguinte:

Artigo 1.º**Objecto**

O presente diploma transpõe para a ordem jurídica nacional a Directiva n.º 2002/70/CE, da Comissão, de 26 de Julho, que estabelece os requisitos para a determinação dos níveis de dioxinas e de PCB sob a forma de dioxina nos alimentos para animais.

Artigo 2.º**Métodos de amostragem**

A amostragem destinada ao controlo oficial dos níveis de dioxinas e furanos e a determinação dos níveis de PCB sob a forma de dioxina presentes nos alimentos para animais é efectuada de acordo com os métodos

descritos no anexo I ao presente diploma, que dele faz parte integrante.

Artigo 3.º**Preparação das amostras e métodos de análise**

A preparação das amostras e os métodos de análise utilizados no controlo oficial dos níveis de dioxinas e furanos e na determinação dos níveis de PCB sob a forma de dioxina presentes nos alimentos para animais devem respeitar os critérios descritos no anexo II ao presente diploma, que dele faz parte integrante.

Artigo 4.º**Entrada em vigor**

O presente diploma entra em vigor no dia seguinte ao da sua publicação.

Visto e aprovado em Conselho de Ministros de 17 de Dezembro de 2003. — *José Manuel Durão Barroso* — *Maria Teresa Pinto Basto Gouveia* — *Armando José Cordeiro Sevinate Pinto* — *Amílcar Augusto Contel Martins Theias*.

Promulgado em 28 de Janeiro de 2004.

Publique-se.

O Presidente da República, JORGE SAMPAIO.

Referendado em 29 de Janeiro de 2004.

O Primeiro-Ministro, *José Manuel Durão Barroso*.

ANEXO I**Métodos de amostragem destinados ao controlo oficial dos níveis de dioxinas (PCDD/PCDF) e à determinação de PCB sob a forma de dioxina em determinados alimentos para animais.**

1 — Objectivo e âmbito de aplicação. — As amostras destinadas ao controlo oficial dos níveis do teor em dioxinas (PCDD/PCDF) bem como para a determinação do teor em PCB sob a forma de dioxina⁽¹⁾ em alimentos para animais serão colhidas em conformidade com o disposto na norma portuguesa n.º 3256 (1988), homologada nos termos do *Diário da República*, 2.ª série, n.º 23, de 28 de Janeiro de 1988, que fixa as formas de recolha comunitárias de amostras para o controlo oficial dos alimentos para animais. As amostras globais assim obtidas serão consideradas representativas dos lotes ou sublotes dos quais foram colhidas. A observância dos níveis máximos estabelecidos no Decreto-Lei n.º 235/2003, de 30 de Setembro, será estabelecida em função dos níveis determinados nas amostras de laboratório.

2 — Conformidade do lote ou do sublote com a especificação. — O laboratório de controlo deve analisar em duplicado a amostra de laboratório para efeitos de medições executórias, caso o resultado obtido na primeira análise seja inferior ou superior em menos de 20% ao nível máximo, calculando a média dos resultados. O lote será aceite se o resultado da primeira análise for inferior em mais de 20% ao nível máximo ou, quando a análise em duplicado for necessária, se a média estiver conforme ao nível máximo respectivo, tal como fixado no Decreto-Lei n.º 235/2003, de 30 de Setembro.

⁽¹⁾ Factores de equivalência de toxicidade da Organização Mundial de Saúde para avaliação do risco para o ser humano nas conclusões da reunião da Organização Mundial de Saúde realizada em Estocolmo, Suécia, de 15 a 18 de Junho de 1997 (Van den Berg e outros, 1998). Factores de equivalência de toxicidade (FET) para PCB, PCDD e PCDF em seres humanos e fauna selvagem. *Environmental Health Perspectives*, 106 (12), 775.

Congéneres	Valor FET
Dibenzo-<i>p</i>-dioxinas (PCDD) não orto+PCB:	
2,3,7,8-TCDD	1
1,2,3,7,8-PeCDD	1
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0,1
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0,1
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0,1
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0,01
OCDD	0,000 1
Dibenzofuranos (PCDF):	
2,3,7,8-TCDF	0,1
1,2,3,7,8-PeCDF	0,05
2,3,4,7,8-PeCDF	0,5
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0,1
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0,1
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0,1
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0,1
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0,01
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0,01
OCDF	0,000 1
PCB (sob forma de dioxina) PCB mono-orto:	
PCB não orto:	
PCB 77	0,000 1
PCB 81	0,000 1
PCB 126	0,1
PCB 169	0,01
PCB mono-orto:	
PCB 105	0,000 1
PCB 114	0,000 5
PCB 118	0,000 1
PCB 123	0,000 1
PCB 156	0,000 5
PCB 157	0,000 5
PCB 167	0,000 01
PCB 189	0,000 1

Abreviaturas utilizadas:

T=tetra;
 Pe=penta;
 Hx=hexa;
 Hp=hepta;
 O=octo;
 CDD=dibenzo-*p*-dioxinas cloradas;
 CDF=clorodibenzofurano;
 CB=clorobifenilo.

ANEXO II

Preparação da amostra e requisitos respeitantes aos métodos de análise utilizados no controlo oficial dos níveis de dioxinas (PCDD/PCDF) e na determinação de PCB sob a forma de dioxina em determinados alimentos para animais.

1 — Objectivo e âmbito de aplicação. — Estes requisitos devem ser aplicados quando se analisam alimentos para animais e matérias-primas destinadas à alimentação animal, tendo em vista a determinação das dioxinas [dibenzo-*p*-dioxinas policloradas (PCDD) e dibenzofuranos policlorados (PCDF)] e dos bifenilos policlorados (PCB) sob a forma de dioxina.

1.1 — A monitorização da presença de dioxinas em alimentos para animais pode ser realizada mediante uma estratégia que engloba um método de pré-selecção, a fim de escolher as amostras com níveis de dioxinas e de PCB sob a forma de dioxina que sejam 30 % a 40 % inferiores ao nível requerido ou o excedam. É necessário que a concentração de dioxinas nas amostras com níveis significativos seja determinada/confirmada por um método de confirmação.

1.2 — Os métodos de pré-selecção são métodos utilizados na detecção da presença de dioxinas e de PCB sob a forma de dioxina no nível requerido. Estes métodos têm capacidade para processar um elevado número de

amostras e são utilizados para seleccionar grandes números de amostras potencialmente positivas. São concebidos especificamente para evitar a obtenção de falsos negativos.

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

2 — Antecedentes. — Uma vez que as amostras ambientais e biológicas (incluindo as amostras de alimentos para animais/matérias-primas para a alimentação animal) contêm, regra geral, misturas complexas de diferentes congéneres de dioxinas, introduziu-se o conceito de factores de equivalência de toxicidade (FET) para facilitar a avaliação dos riscos. Estes FET foram estabelecidos para exprimir concentrações de misturas de PCDD e PCDF substituídos nas posições 2, 3, 7 e 8 e, mais recentemente, alguns PCB não orto e mono-orto com substituição de cloro que possui uma actividade sob a forma de dioxina em equivalentes tóxicos (TEQ) de 2, 3, 7 e 8-TCDD (v. a nota 1 do anexo I).

2.1 — As concentrações de cada substância numa determinada amostra são multiplicadas pelo respectivo FET e, subsequentemente, somadas para darem a concentração total de compostos sob a forma de dioxina expressa em TEQ.

2.2 — O conceito de «limites máximos» exige a utilização do limite de quantificação para o contributo de cada congénere não quantificado para o TEQ.

2.3 — O conceito de «limites mínimos» exige a utilização de zero para o contributo de cada congénere não quantificado para o TEQ.

2.4 — O conceito de «limites médios» exige a utilização de metade do limite de quantificação para calcular o contributo de cada congénere não quantificado para o TEQ.

3 — Requisitos de garantia da qualidade a cumprir na preparação da amostra. — Aplicam-se as disposições gerais relativas à preparação de amostras para análise tal como estabelecidas na norma portuguesa n.º 3256 (1988), homologada nos termos do *Diário da República*, 2.ª série, n.º 23, de 28 de Janeiro de 1988, os métodos de análise comunitários para o controlo oficial dos alimentos para animais definidos na Portaria n.º 816/89, de 14 de Setembro, bem como as disposições constantes da norma portuguesa n.º 2030 (1996), com o termo de homologação n.º 183/96, de 11 de Novembro, também ela relativa aos métodos de análise dos alimentos para animais.

3.1 — Devem ainda ser cumpridos os seguintes requisitos:

3.1.1 — 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 previamente submetidos a um controlo destinado a detectar a presença de dioxinas;

3.1.2 — Efectuar uma análise em branco através da realização de todo o procedimento analítico, omitindo apenas a amostra;

3.1.3 — O peso da amostra utilizado para extracção deve ser suficiente para respeitar os requisitos no tocante à sensibilidade.

4 — Requisitos destinados aos laboratórios. — Os laboratórios deverão demonstrar o desempenho de um método na gama do nível requerido, por exemplo, 0,5x, 1x e 2x do nível requerido com um coeficiente de varia-

ção aceitável para análises repetidas. No que se refere aos critérios de aceitação, v. o n.º 5.

4.1 — O limite de quantificação de um método de confirmação deve situar-se na gama de cerca de um quinto do nível requerido, para garantir que são respeitadas coeficientes de variações aceitáveis na gama do nível requerido.

4.2 — 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 de qualidade.

4.3 — O êxito da participação em estudos interlaboratoriais que avaliam a competência do laboratório é a melhor forma de provar competência em análises específicas. No entanto, o êxito da participação em estudos interlaboratoriais relativos, por exemplo, a amostras de solo ou de águas residuais não prova necessariamente que se seja competente no domínio das amostras de alimentos para o ser humano ou de alimentos para animais que apresentam níveis de contaminação inferiores. Consequentemente, é obrigatória a participação constante em estudos interlaboratoriais respeitantes à determinação de dioxinas e de PCB sob a forma de dioxina nas matrizes relevantes de alimentos para animais/alimentos para o ser humano.

4.4 — 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 ISO/IEC/17025:1999.

5 — Requisitos para os procedimentos analíticos para determinação de dioxinas e de PCB sob a forma de dioxina:

5.1 — Requisitos básicos de aceitação dos procedimentos analíticos:

5.1.1 — Sensibilidade elevada e limites de detecção baixos. — Para os PCDD e PCDF, as quantidades detectáveis devem ser da ordem 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, uma 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 os congéneres não orto substituídos), deve ser conseguida a mesma sensibilidade que para os PCDD e PCDF.

5.1.2 — Selectividade elevada (especificidade). — É necessário estabelecer uma distinção entre PCDD, PCDF e PCB sob a forma de dioxina de inúmeros compostos co-extraídos e eventualmente interferentes, que estão presentes em concentrações que podem atingir várias ordens de grandeza superiores às dos analitos requeridos. Relativamente aos métodos de cromatografia gasosa/espectroscopia de massa (CG/EM), é necessária uma diferenciação entre vários congéneres, tal como entre isómeros 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 deviam ser capazes de determinar valores TEQ de forma selectiva como a soma de PCDD, PCDF e PCB sob a forma de dioxina.

5.1.3 — Exactidão elevada (veracidade e precisão). — A determinação devia fornecer uma estimativa válida e fiável da verdadeira concentração numa amostra. É necessária uma exactidão elevada (exactidão da medição: a aproximação da concordância entre o resul-

tado de uma medição e o valor verídico ou atribuído da medição) 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 (a precisão é normalmente calculada como um desvio padrão, incluindo a repetibilidade e a reprodutibilidade, e indica a aproximação do acordo entre os resultados obtidos através da aplicação do procedimento experimental várias vezes sob condições prescritas).

5.2 — Os métodos de pré-selecção podem comprometer os bioensaios e os métodos CG/EM; os métodos de confirmação são métodos de cromatografia gasosa de elevada resolução/espectroscopia 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 %
CV (coeficiente de variação)	< 30 %	< 15 %

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

6.1 — Deve ser efectuada logo no início do método analítico, por exemplo antes da extração, a adição de padrões internos de PCDD/F marcados com ^{13}C e substituídos com cloro nas posições 2, 3, 7 e 8 (e de padrão interno de PCB sob a forma de dioxina marcado com ^{13}C , caso seja necessário determinar PCB sob a forma de dioxina), a fim de validar o procedimento analítico. Deverá ser adicionado, pelo menos, um congénere para cada grupo homólogo de PCDD/F tetra a octoclorados (e, pelo menos, um congénere para cada grupo homólogo de PCB sob a forma de dioxina, caso seja necessário determinar PCB sob a forma de dioxina) (alternativamente deverá 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 (caso seja necessário determinar PCB sob a forma de dioxina).

6.2 — 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.

6.3 — Em relação aos alimentos para animais de origem vegetal e aos alimentos para animais de origem animal que contenham menos de 10 % de gorduras, a adição de padrões internos é obrigatória antes da extração. Em relação aos alimentos para animais de origem animal que contenham mais de 10 % de gorduras, os padrões internos podem ser adicionados antes ou após a extração de gorduras. Deve ser efectuada uma validação adequada da eficácia da extração, dependendo da fase em que são introduzidos os padrões internos e de os resultados serem notificados com base no produto ou na gordura.

6.4 — Antes da análise por CG/EM, devem ser adicionados um ou dois padrões de recuperação (substitutos).

6.5 — É necessário um controlo de recuperação. Para os métodos de confirmação, as recuperações de cada padrão interno deverão situar-se na gama de 60 % a 120 %. Seriam 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 excedesse 10 % do valor total de TEQ (com base apenas em PCDD/F). Para os métodos de pré-selecção, as recuperações deverão situar-se na gama de 30 % a 140 %.

6.6 — Devia proceder-se à separação entre dioxinas e compostos clorados interferentes, tais como PCB e éteres difenólicos clorados através de técnicas de cromatografia adequadas (de preferência com uma coluna de florissil, alumina e ou carbono).

6.7 — Devia 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).

6.8 — A determinação devia 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.

6.9 — A diferença entre o nível superior e o nível inferior não deve exceder 20 % no caso de alimentos para animais com uma contaminação por dioxinas na gama ou acima do limite máximo. No tocante aos alimentos para animais com níveis de contaminação bastante inferiores ao limite máximo, a diferença pode situar-se na gama de 25 % a 40 %.

7 — Métodos de análise de pré-selecção:

7.1 — Introdução. — Num método de pré-selecção podem utilizar-se diferentes abordagens analíticas: uma abordagem puramente de pré-selecção e uma abordagem quantitativa.

7.1.1 — Abordagem de pré-selecção. — A resposta das amostras é comparada com a de uma amostra de referência no nível requerido. As amostras com uma resposta inferior à da referência são declaradas negativas, as amostras com uma resposta superior são suspeitas de serem positivas.

7.1.2 — Requisitos:

7.1.2.1 — Em cada série de testes terão de se incluir uma amostra em branco e uma de referência, que são extraídas e testadas ao mesmo tempo e em condições idênticas;

7.1.2.2 — A amostra de referência deve apresentar uma resposta claramente elevada em comparação com a amostra em branco;

7.1.2.3 — Deviam incluir-se outras amostras de referência 0,5x e 2x o nível requerido para demonstrar o desempenho correcto do teste dentro da gama requerida para o controlo do nível requerido;

7.1.2.4 — Quando se testam outras matrizes, tem de se demonstrar a adequação das amostras de referência, preferencialmente incluindo amostras cuja CGER/EMER revelou conterem um nível TEQ próximo do da amostra de referência ou de uma amostra em branco enriquecida a este nível;

7.1.2.5 — Uma vez que não se podem utilizar padrões internos nos bioensaios, são muito importantes 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 %.

7.1.2.6 — Para os bioensaios deverão ser definidos os compostos-alvos, as possíveis interferências e os níveis em branco máximos toleráveis.

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

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 deverão ser utilizados os requisitos descritos no n.º 6. Relativamente aos bioensaios com células, os requisitos específicos estão fixados no n.º 7.3 e, relativamente aos bioensaios com kits, no n.º 7.4.

7.2.1 — É necessária informação sobre o número de falsos positivos e falsos negativos de um conjunto grande de amostras abaixo e acima do nível 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 deverão 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.

7.2.2 — Os resultados positivos têm sempre de ser confirmados por um método de análise de confirmação (CGER/EMER). Além disso, deviam confirmar-se por CGER/EMER as amostras de uma ampla gama de TEQ (aproximadamente 2 % a 10 % das amostras negativas). Deverá 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:

7.3.1 — Quando se procede a um bioensaio, cada teste exige uma série de concentrações de referência de TCDD ou de uma mistura de dioxina/furano (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;

7.3.2 — Devia usar-se uma concentração de referência de TCDD (cerca de 3x o limite de quantificação) relativa a uma ficha de controlo de qualidade para o resultado do bioensaio durante um período de tempo constante. Como alternativa, podia 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;

7.3.3 — 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;

7.3.4 — 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 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;

7.3.5 — 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;

7.3.6 — O limite de detecção pode ser fixado como 3x 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 5x superior ao da solução em branco de solvente) calculada a partir da curva de calibração do dia. O limite de quantificação pode ser fixado como 5 a 6x o desvio padrão da solução em branco de solvente ou da resposta de base ou aplicar uma resposta que seja nitidamente superior à base (factor de indução 10x 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* ⁽¹⁾:

7.4.1 — Devem ser respeitadas as instruções do fabricante no que se refere à preparação da amostra e às análises;

7.4.2 — Não devem ser utilizados os *kits* depois do prazo de validade;

7.4.3 — Não devem ser utilizados materiais ou componentes concebidos para serem usados com outros *kits*;

7.4.4 — Os *kits* devem ser mantidos dentro da gama especificada para a temperatura de armazenamento e ser usados à temperatura de utilização especificada;

7.4.5 — O limite de detecção para os imunoensaios é determinado como a soma da média e de 3x o desvio padrão, com base numa análise de replicação da solução em branco, a dividir pelo valor do declive da equação de regressão linear;

7.4.6 — Devem ser utilizados padrões de referência para testes no laboratório a fim de se garantir que a capacidade de resposta ao padrão se encontra numa gama aceitável.

8 — Notificação do resultado:

8.1 — 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.

8.2 — O relatório deverá também incluir o teor de lípidos da amostra bem como o método utilizado para a respectiva extracção.

8.3 — As recuperações de cada padrão interno devem ser disponibilizadas no caso de as recuperações estarem fora da gama mencionada no n.º 6, no caso de o limite máximo ser excedido e noutros casos mediante pedido.

⁽¹⁾ Não foram ainda apresentadas quaisquer provas de *kits* comercialmente disponíveis com base em bioensaios suficientemente sensíveis e fidedignos para serem utilizados na pré-selecção da presença de dioxinas aos níveis exigidos em amostras de géneros alimentícios e de alimentos para animais.



DIÁRIO DA REPÚBLICA

Depósito legal n.º 8814/85

ISSN 0870-9963

AVISO

Por ordem superior e para constar, comunica-se que não serão aceites quaisquer originais destinados ao *Diário da República* desde que não tragam aposta a competente ordem de publicação, assinada e autenticada com selo branco.

Os prazos para reclamação de faltas do *Diário da República* são, respectivamente, de 30 dias para o continente e de 60 dias para as Regiões Autónomas e estrangeiro, contados da data da sua publicação.

PREÇO DESTE NÚMERO (IVA INCLUÍDO 5%)

€ 0,40



Diário da República Electrónico: Endereço Internet: <http://www.dr.incm.pt>
Correio electrónico: dre@incm.pt • Linha azul: 808 200 110 • Fax: 21 394 57 50



INCM

IMPRESA NACIONAL-CASA DA MOEDA, S. A.

LIVRARIAS

- Loja do Cidadão (Aveiro) Rua de Orlando Oliveira, 41 e 47 — 3800-040 Aveiro
Forca Vouga
Telef. 23 440 58 49 Fax 23 440 58 64
- Avenida de Fernão de Magalhães, 486 — 3000-173 Coimbra
Telef. 23 985 64 00 Fax 23 985 64 16
- Rua da Escola Politécnica, 135 — 1250-100 Lisboa
Telef. 21 394 57 00 Fax 21 394 57 50 Metro — Rato
- Rua do Marquês de Sá da Bandeira, 16-A e 16-B — 1050-148 Lisboa
Telef. 21 330 17 00 Fax 21 330 17 07 Metro — S. Sebastião
- Rua de D. Francisco Manuel de Melo, 5 — 1099-002 Lisboa
Telef. 21 383 58 00 Fax 21 383 58 34
- Rua de D. Filipa de Vilhena, 12 — 1000-136 Lisboa
Telef. 21 781 07 00 Fax 21 781 07 95 Metro — Saldanha
- Rua das Portas de Santo Antão, 2-2/A — 1150-268 Lisboa
Telefs. 21 324 04 07/8 Fax 21 324 04 09 Metro — Rossio
- Loja do Cidadão (Lisboa) Rua de Abranches Ferrão, 10 — 1600-001 Lisboa
Telef. 21 723 13 70 Fax 21 723 13 71 Metro — Laranjeiras
- Avenida de Roma, 1 — 1000-260 Lisboa
Telef. 21 840 10 24 Fax 21 840 09 61
- Praça de Guilherme Gomes Fernandes, 84 — 4050-294 Porto
Telef. 22 339 58 20 Fax 22 339 58 23
- Loja do Cidadão (Porto) Avenida de Fernão Magalhães, 1862 — 4350-158 Porto
Telef. 22 557 19 27 Fax 22 557 19 29