

BUNDESGESETZBLATT

FÜR DIE REPUBLIK ÖSTERREICH

Jahrgang 2003

Ausgegeben am 12. September 2003

Teil II

422. Verordnung: Kontaminanten-Analysenverordnung

[CELEX-Nr.: 31985L0591, 31998L0053, 32001L0022, 32002L0026, 32002L0027 und 32002L0069]

422. Verordnung der Bundesministerin für Gesundheit und Frauen zur Festlegung von Probenahmeverfahren und Analysemethoden für die amtliche Kontrolle bestimmter Waren auf Einhaltung der Höchstgehalte für Kontaminanten (Kontaminanten-Analysenverordnung)

Auf Grund der §§ 10 Abs. 1 und 42 Abs. 4 des Lebensmittelgesetzes 1975, BGBl. Nr. 86, zuletzt geändert durch das Bundesgesetz BGBl. I Nr. 69/2003, wird verordnet:

§ 1. Für die amtliche Kontrolle auf Einhaltung der **Aflatoxinhöchstgehalte** von Waren gemäß §§ 2 und 3 LMG 1975 hat die Probenahme entsprechend **Anhang I**, die Probenvorbereitung entsprechend **Anhang II** dieser Verordnung zu erfolgen. Die angewandten Analyseverfahren haben den Kriterien des Anhangs II zu entsprechen.

§ 2. Für die amtliche Kontrolle auf Einhaltung der Höchstgehalte für **Blei, Cadmium, Quecksilber und 3-Monochlorpropan-1,2-diol** in Waren gemäß §§ 2 und 3 LMG 1975 hat die Probenahme entsprechend **Anhang III**, die Probenvorbereitung entsprechend **Anhang IV** dieser Verordnung zu erfolgen. Die angewandten Analyseverfahren haben den Kriterien des Anhangs IV zu entsprechen.

§ 3. Für die amtliche Kontrolle der **Ochratoxin-A-Gehalte** in Waren gemäß §§ 2 und 3 LMG 1975 hat die Probenahme entsprechend **Anhang V**, die Probenvorbereitung entsprechend **Anhang VI** dieser Verordnung zu erfolgen. Die angewandten Analyseverfahren haben den Kriterien des Anhangs VI zu entsprechen.

§ 4. Für die amtliche Kontrolle der **Dioxin- und Furangehalte und die Bestimmung des Gehalts an dioxinähnlichen PCB** in Waren gemäß §§ 2 und 3 LMG 1975 hat die Probenahme entsprechend **Anhang VII**, die Probenvorbereitung entsprechend **Anhang VIII** dieser Verordnung zu erfolgen. Die angewandten Analyseverfahren haben den Kriterien des Anhangs VIII zu entsprechen.

§ 5. Die in den Anhängen genannten Begriffsbestimmungen gelten nur im Rahmen dieser Verordnung.

§ 6. Durch diese Verordnung wird die Verordnung zur Festlegung von Probenahmeverfahren und Analysemethoden für die amtliche Kontrolle bestimmter Waren auf Einhaltung der Höchstgehalte für Kontaminanten (Kontaminanten-Analysenverordnung), BGBl. II Nr. 216/2002, aufgehoben.

§ 7. Durch diese Verordnung werden folgende Richtlinien der Europäischen Gemeinschaften in österreichisches Recht umgesetzt:

- Richtlinie 85/591/EWG des Rates vom 20. Dezember 1985 zur Einführung gemeinschaftlicher Probenahmeverfahren und Analysemethoden für die Kontrolle von Lebensmitteln, ABl. Nr. L 372 vom 31. Dezember 1985,
- Richtlinie 98/53/EG der Kommission vom 16. Juli 1998 zur Festlegung von Probenahmeverfahren und Analysemethoden für die amtliche Kontrolle bestimmter Lebensmittel auf Einhaltung der Höchstgehalte für Kontaminanten, ABl. Nr. L 201 vom 17. Juli 1998,
- Richtlinie 2001/22/EG der Kommission vom 8. März 2001 zur Festlegung von Probenahmeverfahren und Analysemethoden für die amtliche Kontrolle auf Einhaltung der Höchstgehalte für Blei, Cadmium, Quecksilber und 3-MCPD in Lebensmitteln, ABl. Nr. L 77 vom 16. März 2001,

- Richtlinie 2002/26/EG der Kommission vom 13. März 2002 zur Festlegung der Probenahmeverfahren und Analysemethoden für die amtliche Kontrolle der Ochratoxin-A-Gehalte in Lebensmitteln, ABl. Nr. L 75 vom 16. März 2002,
- Richtlinie 2002/27/EG der Kommission vom 13. März 2002 zur Änderung der Richtlinie 98/53/EG zur Festlegung von Probenahmeverfahren und Analysemethoden für die amtliche Kontrolle bestimmter Lebensmittel auf Einhaltung der Höchstgehalte für Kontaminanten, ABl. Nr. L 75 vom 16. März 2002,
- Richtlinie 2002/69/EG der Kommission vom 30. Juli 2002 zur Festlegung der Probenahme- und Untersuchungsverfahren für die amtliche Kontrolle von Dioxinen sowie zur Bestimmung von dioxinähnlichen PCB in Lebensmitteln, ABl. Nr. L 209 vom 6. August 2002.

Rauch-Kallat**Anhang I****PROBENAHMEVERFAHREN FÜR DIE AMTLICHE KONTROLLE DES AFLATOXINGEHALTS BESTIMMTER WAREN****1. Zweck und Anwendungsbereich**

Diese Arbeitsvorschrift beschreibt das Verfahren für die Entnahme von Proben für die amtliche Bestimmung des Aflatoxingehalts von Waren gemäß §§ 2 und 3 LMG 1975. Die mit diesem Verfahren gewonnenen Sammelproben sind als repräsentativ für die betreffenden Partien anzusehen. Die bei der Analyse der Laborproben festgestellten Befunde geben Aufschluss darüber, ob die in der Verordnung (EG) Nr. 466/2001 festgesetzten Höchstgehalte eingehalten wurden.

2. Begriffsbestimmungen

Partie: Eine unterscheidbare Menge einer in einer Sendung angelieferten Ware, die gemäß der amtlichen Prüfung gemeinsame Merkmale wie Ursprung, Sorte, Art der Verpackung, Verpacker, Absender und Kennzeichnung aufweist;

Teilpartie: bestimmter Teil einer großen Partie, der dem Probenahmeverfahren zu unterziehen ist; jede Teilpartie muss physisch getrennt und identifizierbar sein;

Einzelprobe: an einer Stelle der Partie entnommene Menge;

Sammelprobe: Summe der einer Partie entnommenen Einzelproben;

Laborprobe: eine für das Labor bestimmte Probe (= Teilprobe).

3. Allgemeine Bestimmungen**3.1. Personal**

Die Probenahme wird von einer befugten Person vorgenommen.

3.2. Material, dem Proben zu entnehmen sind

Jede zu kontrollierende Partie ist einzeln zu beproben. Große Partien werden nach den in Nummer 5 dieses Anhangs genannten Vorschriften in Teilpartien aufgeteilt, die einzeln zu beproben sind.

3.3. Vorsichtsmaßregeln

Bei der Probenahme und der Zusammenstellung der Laborproben sind Vorsichtsmaßregeln zu treffen, um zu verhindern, dass sich der Aflatoxingehalt verändert, die Analysen verfälscht werden oder die Repräsentativität der Sammelproben beeinträchtigt wird.

3.4. Einzelproben

Sie sind möglichst an verschiedenen, über die ganze Partie oder Teilpartie verteilten Stellen zu entnehmen. Um zu gewährleisten, dass ausreichend Probenmaterial für die amtliche Probe und Gegenprobe vorhanden ist, ist die Anzahl der Einzelproben zu verdoppeln. Abweichungen von dieser Regel sind in dem Protokoll gemäß Nummer 3.8 zu vermerken.

3.5. Herstellung der Sammelprobe und der Laborproben (Teilproben)

Die Sammelprobe wird durch Vereinigen und Vermischen der Einzelproben hergestellt. Nach dem Vermischen wird die Sammelprobe nach den besonderen Bestimmungen der Nummer 5 des Anhangs in gleiche Teilproben aufgeteilt.

Das Vermischen ist notwendig, damit sichergestellt ist, dass jede Teilprobe Anteile der gesamten Partie oder Teilpartie enthält.

- 3.6. Unterteilung der Sammelprobe in Laborproben für die amtliche Untersuchung und Gegenuntersuchung
Die Laborproben für die amtliche Untersuchung und Gegenuntersuchung werden der gut gemischten Sammelprobe entnommen.
- 3.7. Verpackung und Versand der Laborproben
Jede Laborprobe wird in ein sauberes, inertes Behältnis verbracht, das angemessenen Schutz gegen Verschmutzung und Beschädigung beim Transport bietet. Alle notwendigen Vorkehrungen sind zu treffen, um zu verhindern, dass sich die Zusammensetzung der Laborprobe während des Transports oder der Lagerung ändert.
- 3.8. Verschließen und Kennzeichnen der Proben
Jede amtliche Probe wird am Ort der Entnahme vorschriftsgemäß versiegelt und gekennzeichnet. Über jede Probenahme ist ein Protokoll zu führen, aus dem die Identität der bemusterten Partie eindeutig hervorgeht, wobei Datum und Ort der Probenahme sowie sämtliche zusätzlichen Informationen, die für den Analytiker von Nutzen sein können, zu vermerken sind.

4. Erläuternde Bestimmungen

- 4.1. Verschiedene Arten von Partien
Die Waren können als Schüttgut, in Containern oder in Einzelverpackungen (Säcken, Beuteln, Einzelhandelspackungen usw.) gehandelt werden. Das Probenahmeverfahren ist für jede Art der Aufmachung der Erzeugnisse anwendbar.
Unbeschadet der besonderen Vorschriften gemäß Nummer 5 dieses Anhangs kann zur Beprobung von Partien in Einzelverpackungen (Säcken, Beuteln, Einzelhandelspackungen usw.) folgende Formel verwendet werden:

$$\text{Auswahlsatz} : \frac{\text{Gewicht der Partie} \times \text{Gewicht der Einzelprobe}}{\text{Gewicht der Sammelprobe} \times \text{Gewicht einer Einzelverpackung}}$$

- Gewicht: in kg auszudrücken.
Auswahlsatz: jeder ...-te Sack oder Beutel, aus dem eine Einzelprobe gezogen werden muss (Dezimalzahlen sind auf die nächste ganze Zahl zu runden).

- 4.2. Gewicht der Einzelprobe
Das Gewicht der Einzelprobe beträgt rund 300 g, soweit in Nummer 5 dieses Anhangs nicht anders definiert und mit Ausnahme von Gewürzen, bei denen das Gewicht der Einzelprobe bei zirka 100 g liegt. Bei Partien in Einzelhandelspackungen hängt das Gewicht der Einzelprobe vom Gewicht der Einzelhandelspackung ab.
- 4.3. Anzahl der Einzelproben für Partien < 15 Tonnen
Die Anzahl der zu entnehmenden Einzelproben ist proportional zur Partiegröße und beträgt mindestens 10, höchstens aber 100, soweit in Nummer 5 dieses Anhangs nicht anders definiert. Die in folgender Tabelle angegebenen Zahlen können zur Bestimmung der Zahl der zu entnehmenden Einzelproben verwendet werden:

Tabelle 1: Anzahl der Einzelproben in Abhängigkeit vom Partiegewicht

Partiegewicht (Tonnen)	Anzahl Einzelproben
$\leq 0,1$	10
$> 0,1 - \leq 0,2$	15
$> 0,2 - \leq 0,5$	20
$> 0,5 - \leq 1,0$	30
$> 1,0 - \leq 2,0$	40
$> 2,0 - \leq 5,0$	60
$> 5,0 - \leq 10,0$	80
$> 10,0 - \leq 15,0$	100

5. Spezifische Bestimmungen

- 5.1. Allgemeine Übersicht über das Probenahmeverfahren für Erdnüsse, Schalenfrüchte, Trockenfrüchte, Gewürze und Getreide

Tabelle 2: Einteilung der Partien in Teilpartien in Abhängigkeit vom Erzeugnis und von der Größe der Partie

Erzeugnis	Partiegewicht (Tonnen)	Gewicht bzw. Anzahl Teilpartien	Zahl Einzelproben	Sammelprobe Gewicht/kg
Getrocknete Feigen und andere Trockenfrüchte	≥ 15	15 bis 30 Tonnen	100	30
	< 15	–	10–100 *)	≤ 30
Erdnüsse, Pistazien und andere Schalenfrüchte	≥ 500	100 Tonnen	100	30
	$> 125 \text{ und } < 500$	5 Teilpartien	100	30
	$\geq 15 \text{ und } \leq 125$	25 Tonnen	100	30
	< 15	–	10–100 *)	≤ 30
Getreide	$\geq 1\,500$	500 Tonnen	100	30
	$> 300 \text{ und } < 1\,500$	3 Teilpartien	100	30
	$\geq 50 \text{ und } \leq 300$	100 Tonnen	100	30
	< 50	–	10–100 *)	1–10
Gewürze	≥ 15	25 Tonnen	100	10
	< 15	–	10–100 *)	1–10

*) Abhängig vom Partiegewicht – vgl. Nr. 4.3 oder 5.3 dieses Anhangs.

5.2. Erdnüsse, Pistazien und Paranüsse

Getrocknete Feigen

Getreide (Partien ≥ 50 Tonnen)

Gewürze

5.2.1. Probenahmeverfahren

- Unter der Bedingung, dass die Teilpartien physisch getrennt werden können, muss jede Partie gemäß der Tabelle 2 unter Nummer 5.1 in Teilpartien aufgeteilt werden. Da die Partiegröße nicht immer ein exaktes Vielfaches der Größe der Teilpartien ist, darf die Größe der Teilpartien die genannte Größe um höchstens 20% überschreiten.
- Jede Teilpartie ist getrennt zu beproben.
- Zahl der Einzelproben: 100. Für Partien < 15 Tonnen hängt die Anzahl der zu entnehmenden Einzelproben vom Partiegewicht ab und beträgt mindestens 10 und höchstens 100 (vgl. Nr. 4.3 dieses Anhangs).
- Sammelprobengewicht = 30 kg, ausreichend durchmischt, vor dem Mahlen in drei gleich große Teilproben von je 10 kg aufzuteilen. (Die Teilung in drei Teilproben ist nicht notwendig im Fall von Erdnüssen, Schalenfrüchten und getrockneten Früchten, die einer weiteren Sortierung oder anderen physikalischen Verfahren unterzogen werden, und bei einer vorhandenen Laborausstattung, mit der eine 30-kg-Probe homogenisierbar ist. Liegt das Sammelgewicht < 10 kg, ist diese nicht in drei Teilproben zu unterteilen. Bei Gewürzen wiegt die Sammelprobe nicht mehr als 10 kg und muss nicht in Teilproben unterteilt werden.
- Laborprobe: Teilprobe von 10 kg (zur gründlichen Homogenisierung ist jede Teilprobe gemäß den Bestimmungen des Anhangs II einzeln fein zu vermahlen und gründlich zu durchmischen).
- Ist es nicht möglich, das vorstehend beschriebene Probenahmeverfahren anzuwenden, da sich aus einer Beschädigung der Partie wirtschaftliche Folgen (in Zusammenhang mit der Art der Verpackung, der Transportweise usw.) ergeben würden, so kann ein alternatives Probenahmeverfahren angewendet werden, vorausgesetzt dieses ist so repräsentativ wie möglich und wird umfassend beschrieben und dokumentiert.

5.2.2. Akzeptanz einer Partie oder Teilpartie

- Für Erdnüsse, Schalenfrüchte und getrocknete Früchte, die einer Sortierung oder einem anderen physikalischen Verfahren unterzogen werden, und Gewürze:
 - Akzeptanz, wenn die Sammelprobe oder der Durchschnitt der Teilproben den Höchstgehalt nicht überschreitet;
 - Zurückweisung, wenn die Sammelprobe oder der Durchschnitt der Teilproben den Höchstgehalt überschreitet.
- Für Erdnüsse, Schalenfrüchte, getrocknete Früchte und für Getreide, die für den direkten Verzehr oder zur Verwendung als Lebensmittelzutat bestimmt sind:

- Akzeptanz, wenn keiner der Teilprobenbefunde den Höchstgehalt überschreitet;
 - Zurückweisung, wenn der Höchstgehalt von einem oder mehreren Teilprobenbefunden überschritten wird.
 - Im Fall einer Sammelprobe < 10 kg:
 - Akzeptanz, wenn die Probe den Höchstgehalt nicht überschreitet;
 - Zurückweisung, wenn die Probe den Höchstgehalt überschreitet.
- 5.3. Schalenfrüchte mit Ausnahme von Erdnüssen, Pistazien und Paranüssen
Getrocknete Früchte mit Ausnahme von Feigen
Getreide (Partien < 50 Tonnen)

5.3.1. Probenahmeverfahren

Für diese Produkte kann das in Nummer 5.2.1 vorgesehene Probenahmeverfahren angewandt werden. Angesichts der vergleichsweise seltenen Kontamination dieser Produkte und/oder der neueren Verpackungsarten, in denen die Produkte gehandelt werden, können aber auch einfachere Probenahmeverfahren angewendet werden.

Für Getreidepartien < 50 Tonnen kann ein Probenahmeverfahren angewendet werden, das – abhängig vom Gewicht der Partien – aus 10 bis 100 Einzelproben von jeweils 100 Gramm besteht, deren Sammelprobe zwischen 1 und 10 kg ergeben sollte. Die nachstehende Tabelle zeigt die Zahl der zu entnehmenden Einzelproben.

Tabelle 3: Anzahl der Einzelproben in Abhängigkeit vom Gewicht der Getreidepartie

Partiegewicht (Tonnen)	Anzahl der Einzelproben
≤ 1	10
$> 1 - \leq 3$	20
$> 3 - \leq 10$	40
$> 10 - \leq 20$	60
$> 20 - \leq 50$	100

- 5.3.2. Akzeptanz einer Partie oder Teilpartie
Siehe Nummer 5.2.2.

5.4. Milch

5.4.1. Probenahmeverfahren

Probenahme mit Hilfe des Verfahrens gemäß der Entscheidung 91/180/EWG der Kommission vom 14. Februar 1991 zur Festlegung bestimmter Analyse- und Testverfahren für Rohmilch und wärmebehandelte Milch ¹⁾:

- Zahl der Einzelproben: mindestens 5;
- Größe der Sammelprobe: mindestens 0,5 kg oder Liter.

5.4.2. Akzeptanz einer Partie oder Teilpartie

- Akzeptanz, wenn die Probe den Höchstgehalt nicht überschreitet;
- Zurückweisung, wenn die Probe den Höchstgehalt überschreitet.

5.5. Abgeleitete Erzeugnisse und zusammengesetzte Lebensmittel

5.5.1. Milchprodukte

5.5.1.1. Probenahmeverfahren

Probenahme mit Hilfe des Verfahrens gemäß der Verordnung über Kondensmilch- und Milchpulverarten, BGBI. II Nr. 129/1997.

Zahl der Einzelproben: mindestens 5.

Für andere Milchprodukte ist ein gleichwertiges Probenahmeverfahren zu verwenden.

5.5.1.2. Akzeptanz einer Partie oder Teilpartie

- Akzeptanz, wenn die Probe den Höchstgehalt nicht überschreitet;
- Zurückweisung, wenn die Probe den Höchstgehalt überschreitet.

¹⁾ ABl. Nr. L 93 vom 13. 4. 1991, S 1.

- 5.5.2. Andere abgeleitete Erzeugnisse mit sehr kleiner Teilchengröße, zB Mehl, Feigenpaste, Erdnussbutter (homogene Aflatoxinverteilung)
- 5.5.2.1. Probenahmeverfahren
- Zahl der Einzelproben: 100. Bei Partien von < 50 Tonnen liegt die Anzahl der Einzelproben abhängig von der Größe der Partien zwischen 10 und 100 (siehe Tabelle 3 unter Nummer 5.3.1 dieses Anhangs).
 - Das Gewicht der Einzelprobe liegt bei rund 100 Gramm. Im Fall von Partien in Einzelhandelspackungen hängt das Gewicht der Einzelprobe vom Gewicht der Einzelhandelspackung ab.
 - Sammelprobengewicht = 1 bis 10 kg, ausreichend durchmischt.
- 5.5.2.2. Anzahl der zu entnehmenden Proben
- Die Anzahl der Proben hängt vom Partiegewicht ab. Große Partien sind nach den in Tabelle 2 unter Nummer 5.1 für Getreide genannten Vorschriften in Teilpartien aufzuteilen.
 - Jede Teilpartie ist einzeln zu bemustern.
- 5.5.2.3. Akzeptanz einer Partie oder Teilpartie
- Akzeptanz, wenn die Probe den Höchstgehalt nicht überschreitet;
 - Zurückweisung, wenn die Probe den Höchstgehalt überschreitet.
- 5.6. Andere abgeleitete Erzeugnisse mit verhältnismäßig großer Teilchengröße (heterogene Aflatoxinverteilung)
- Probenahme und Akzeptanz nach den unter den Nummern 5.2 und 5.3 dieses Anhangs für landwirtschaftliche Rohstoffe festgelegten Bestimmungen.
6. **Probenahme auf der Einzelhandelsstufe**
- Probenahmen von Lebensmitteln auf der Einzelhandelsstufe sollten, soweit möglich, gemäß den vorstehenden Bestimmungen erfolgen. Wo dies nicht möglich ist, können andere wirksame Probenahmeverfahren angewandt werden, sofern dabei für die beprobten Partien eine ausreichende Repräsentativität gewährleistet werden kann. Dies ist im Protokoll gemäß Nummer 3.8 zu vermerken.

Anhang II

PROBEBEREITUNG UND KRITERIEN FÜR DIE ANALYSEVERFAHREN ZUR AMTLICHEN KONTROLLE DER AFLATOXINGEHALTE IN BESTIMMTEN WAREN

1. **Einleitung**
- 1.1. **Vorsichtsmaßnahmen**
- Während des Verfahrens sollte Tageslichteinstrahlung soweit wie möglich vermieden werden, da Aflatoxin unter Einfluss von ultravioletttem Licht langsam zerfällt. Da die Verteilung von Aflatoxin nicht homogen ist, sollten die Proben besonders sorgfältig vorbereitet und homogenisiert werden.
- Alles dem Labor zugesandte Material ist für die Vorbereitung des Versuchsmaterials zu verwenden.
- 1.2. **Berechnung des Verhältnisses Schale/Kern bei ganzen Nüssen**
- Die mit der Verordnung (EG) Nr. 466/2001 festgesetzten Aflatoxinhöchstgehalte beziehen sich auf den essbaren Teil.
- Die Aflatoxinwerte im essbaren Teil können folgendermaßen bestimmt werden:
- Die ganze Nuss „in der Schale“ wird geschält und der Aflatoxinwert des essbaren Teils bestimmt;
 - die ganze Nuss „in der Schale“ wird für die Probeprobereitung verwendet. Für das Probenahme- und Analyseverfahren muss das Gewicht des Nusskerns in der Gesamtprobe daher geschätzt werden. Das Gewicht des Nusskerns in der Gesamtprobe wird nach Festlegung eines geeigneten Faktors für das Verhältnis Kern/Schale bei ganzen Nüssen geschätzt. Mit Hilfe dieses Verhältnisses wird der Anteil Kern an der Gesamtprobe festgestellt, die für das Probeprobereitungs- und Analyseverfahren verwendet wird. Rund 100 ganze Nüsse werden willkürlich von der Partie getrennt oder aus jeder Einzelprobe entnommen. Das Verhältnis kann für jede La-

borprobe ermittelt werden, indem man die ganzen Nüsse wiegt, diese schält und die Schalen und Kerne einzeln wiegt. Das Verhältnis Kern/Schale kann vom Laboratorium anhand einer Reihe von Proben ermittelt und so bei nachfolgenden Analysen zugrunde gelegt werden. Verstößt eine Laborprobe jedoch gegen einen Höchstgehalt, so ist das Verhältnis für diese Probe unter Zugrundelegung der getrennt entnommenen rund 100 Nüsse zu ermitteln.

2. **Behandlung der im Laboratorium erhaltenen Probe**

Alle Laborproben sind fein zu zermahlen und sorgfältig zu vermischen unter Verwendung eines Verfahrens, mit dem nachweislich eine vollständige Homogenisierung erreicht werden kann.

3. **Untergliederung von Proben für die amtliche Untersuchung und Gegenuntersuchung**

Die Proben für die amtliche Untersuchung und Gegenuntersuchung sind der gut gemischten Sammelprobe zu entnehmen.

4. **Vom Laboratorium anzuwendendes Analyseverfahren und Kontrollanforderungen**

4.1. Definitionen

Nachstehend eine Reihe der gebräuchlichsten Definitionen, die das Laboratorium verwenden sollte:

Die gebräuchlichsten Präzisionsparameter sind die Wiederholbarkeit und die Reproduzierbarkeit.

r = Wiederholbarkeit: derjenige Wert, unterhalb dessen man die absolute Differenz zwischen zwei einzelnen Prüfergebnissen, die man mit demselben Verfahren an identischem Prüfmaterial und unter denselben Bedingungen (dieselbe Probe, derselbe Bearbeiter, dasselbe Gerät, dasselbe Labor, kurze Zeitspanne) erhalten hat, mit einer vorgegebenen Wahrscheinlichkeit (im Regelfall 95%) erwarten darf, so dass $r = 2,8 \times s_r$.

s_r = Standardabweichung, berechnet aus unter Wiederholbarkeitsbedingungen ermittelten Ergebnissen.

RSD_r = Relative Standardabweichung, berechnet aus unter Wiederholbarkeitsbedingungen ermittelten Ergebnissen $[(s_r/x) \times 100]$ wobei x den Durchschnitt der Ergebnisse aller Proben darstellt.

R = Reproduzierbarkeit: derjenige Wert, unterhalb dessen man die absolute Differenz zwischen zwei einzelnen Prüfergebnissen, die man unter Reproduzierbarkeitsbedingungen (dh. an identischem Material von Bearbeitern in verschiedenen Laboratorien unter Verwendung des genormten Testverfahrens) erhalten hat, mit einer vorgegebenen Wahrscheinlichkeit (im Regelfall 95%) erwarten darf; $R = 2,8 \times s_R$.

s_R = Standardabweichung, berechnet aus unter Reproduzierbarkeitsbedingungen ermittelten Ergebnissen.

RSD_R = Relative Standardabweichung, berechnet aus unter Reproduzierbarkeitsbedingungen $[(s_R/x) \times 100]$ ermittelten Ergebnissen.

4.2. Allgemeine Anforderungen

Die für Kontrollzwecke eingesetzten Analyseverfahren müssen soweit wie möglich mit folgenden Bestimmungen übereinstimmen.

4.2.1. Die Analysenmethoden müssen in Bezug auf die nachstehenden Kriterien getestet werden:

- i) Spezifität;
- ii) Genauigkeit;
- iii) Präzision; Wiederholbarkeit der Streuungsmaße innerhalb eines Labors und Vergleichbarkeit der Streuungsmaße in und zwischen den Labors;
- iv) Nachweisgrenze;
- v) Empfindlichkeit;
- vi) Ausführbarkeit und Anwendbarkeit;
- vii) andere Kriterien, die nach Bedarf ausgewählt werden können.

4.2.2. Die in Nummer 4.2.1. Ziffer iii) genannten Präzisionswerte lassen sich durch ein „collaborative trial“ gewinnen, das nach dem international anerkannten Protokoll über „collaborative trial“ durchgeführt worden ist (zB Internationale Normenorganisation: „Präzision von Prüfverfahren“) (ISO 5725/1981). Die Wiederholbarkeits- und Vergleichbarkeitswerte werden auf eine international anerkannte Weise, zB als die 95%igen „confidence intervals“ (ISO-Norm 5725/1981 spricht von 95% probability level = 95%iges Wahrscheinlichkeitsniveau) ausgedrückt, wie sie in der ISO-Norm 5725/1981 definiert sind. Die Ergebnisse des „collaborative trial“ sind zu veröffentlichen oder jedermann zugänglich zu machen.

4.3. Spezifische Anforderungen

Sofern auf Gemeinschaftsebene keine spezifischen Verfahren für die Bestimmung von Aflatoxingehalten vorgeschrieben sind, können Laboratorien ein beliebiges Verfahren auswählen, wenn es die folgenden Kriterien erfüllt:

Kriterium	Konzentrationsbereich	Empfohlener Wert	Zulässiger Höchstwert
Blindversuche	Alle	Vernachlässigbar	
Wiederfindungsrate – Aflatoxin M1	0,01–0,05 µg/kg > 0,05 µg/kg	60 bis 120% 70 bis 110%	
Wiederfindungsrate – Aflatoxine B ₁ , B ₂ , G ₁ , G ₂	< 1,0 µg/kg 1–10 µg/kg > 10 µg/kg	50 bis 120% 70 bis 110% 80 bis 110%	
Präzision RSD _R	Alle	Gemäß der Horwitz-Gleichung	2 × der nach der Horwitz-Gleichung erzielte Wert

Der Präzisionswert der RSD_R wird berechnet durch Multiplikation des Präzisionswerts der RSD_R mit 0,66 bei der jeweiligen Konzentration.

Anmerkungen:

- Die Werte gelten sowohl für B₁ als auch für die Summe von B₁+B₂+G₁+G₂.
- Muss die Summe der einzelnen Aflatoxine B₁+B₂+G₁+G₂ eingesetzt werden, so muss die Reaktion der einzelnen Stoffe im Analysesystem entweder bekannt oder äquivalent sein.
- Die Nachweisgrenzen der verwendeten Analyseverfahren werden nicht angegeben, da die Präzisionswerte für die jeweils betrachteten Konzentrationen angegeben werden.
- Die Präzisionswerte werden gemäß der Horwitz-Gleichung berechnet, dh.:

$$RSD_R = 2^{(1-0,5 \log C)}$$

dabei ist:

- RSD_R die relative Standardabweichung berechnet aus Ergebnissen unter Reproduzierbarkeitsbedingungen [(S_R/x) × 100]
- C das Konzentrationsverhältnis (dh. 1 = 100 g/100 g, 0,001 = 1 000 mg/kg).

Dies ist eine verallgemeinerte Präzisionsgleichung, die sich für die meisten Routineanalysemethoden als unabhängig von Analyt und Matrix und lediglich von der Konzentration abhängig erwiesen hat.

4.4. Berechnung der Wiederfindungsrate

Das Analyseergebnis kann entweder um die Wiederfindungsrate berichtigt oder unberichtigt angegeben werden. Die Art der Angabe und die Wiederfindungsrate sind mitzuteilen.

4.5. Laborqualitätsnormen

Laboratorien müssen den Bestimmungen der Richtlinie 93/99/EWG entsprechen.

Anhang III

VERFAHREN ZUR PROBENAHME FÜR DIE AMTLICHE KONTROLLE DES GEHALTS AN BLEI, CADMIUM, QUECKSILBER UND 3-MCPD IN BESTIMMTEN WAREN

1. GEGENSTAND UND ANWENDUNGSBEREICH

Probenahmen für die amtliche Kontrolle der Gehalte an Blei, Cadmium, Quecksilber und 3-MCPD in Waren gemäß §§ 2 und 3 LMG 1975 erfolgen gemäß den nachfolgend beschriebenen Verfahren. Die mit diesem Verfahren gewonnenen Sammelproben sind als repräsentativ für die betreffenden Partien oder Teilpartien anzusehen. Die Einhaltung der Höchstgehalte gemäß

der Verordnung (EG) Nr. 466/2001 wird auf der Grundlage der für die Laborproben bestimmten Werte festgestellt.

2. DEFINITIONEN

- Partie: Eine unterscheidbare Menge einer in einer Sendung angelieferten Ware, die gemäß der amtlichen Prüfung gemeinsame Merkmale wie Ursprung, Sorte, Art der Verpackung, Verpacker, Absender oder Kennzeichnung aufweist; Fische müssen außerdem in der Größe vergleichbar sein;
- Teilpartie: bestimmter Teil einer großen Partie, der dem Probenahmeverfahren zu unterziehen ist; jede Teilpartie muss physisch getrennt und identifizierbar sein;
- Einzelprobe: an einer einzigen Stelle der Partie entnommene Menge;
- Sammelprobe: die ungeteilte Gesamtheit der einer Partie oder Teilpartie entnommenen Einzelproben;
- Laborprobe: eine für die Laboruntersuchung bestimmte Probe.

3. ALLGEMEINE VORSCHRIFTEN

3.1. Personal

Die Probenahme wird von einer befugten Person vorgenommen.

3.2. Material, dem Proben zu entnehmen sind

Jede zu kontrollierende Partie ist einzeln zu beproben.

3.3. Vorsichtsmaßnahmen

Bei der Probenahme und der Vorbereitung der Laborproben sind Vorsichtsmaßnahmen zu treffen, um Veränderungen zu vermeiden, die sich auf den Gehalt an Blei, Cadmium, Quecksilber und 3-MCPD auswirken, die analytische Bestimmung stören oder die Repräsentativität der Sammelproben beeinträchtigen könnten.

3.4. Einzelproben

Einzelproben sind möglichst an verschiedenen, über die ganze Partie oder Teilpartie verteilten Stellen zu entnehmen. Abweichungen von diesem Verfahren sind in dem Protokoll gemäß Nummer 3.8 zu vermerken.

3.5. Herstellung der Sammelprobe

Die Sammelprobe wird durch Vereinigen aller Einzelproben hergestellt. Sie soll mindestens 2 kg wiegen, es sei denn, dass diese Bedingung nicht erfüllt werden kann, weil beispielsweise eine Einzelpackung entnommen wurde.

3.6. Unterteilung der Sammelprobe in Laborproben für die amtliche Untersuchung und Gegenuntersuchung

Die Laborproben für die amtliche Untersuchung und Gegenuntersuchung werden der gut gemischten Sammelprobe entnommen. Die Menge der Laborprobe für die amtliche Untersuchung soll zumindest für eine zweifache Untersuchung ausreichen.

3.7. Verpackung und Versand der Sammel- und Laborproben

Jede Sammel- bzw. Laborprobe wird in ein sauberes, inertes Behältnis verbracht, das angemessenen Schutz vor Verschmutzung, gegen Verlust der nachzuweisenden Stoffe durch Resorption durch die Innenwand des Behältnisses und gegen Beschädigung beim Transport bietet. Alle notwendigen Vorkehrungen sind zu treffen, um zu verhindern, dass sich die Zusammensetzung der Sammel- bzw. Laborprobe während des Transports oder der Lagerung ändert.

3.8. Versiegelung und Kennzeichnung der Sammel- und Laborproben

Jede amtliche Probe wird am Ort der Entnahme vorschriftsgemäß versiegelt und gekennzeichnet. Über jede Probenahme ist ein Protokoll zu führen, aus dem die Identität der beprobten Partie eindeutig hervorgeht, wobei Datum und Ort der Probenahme sowie sämtliche zusätzlichen Informationen, die für den Analytiker von Nutzen sein können, zu vermerken sind.

4. VERLAUF DER PROBENAHEME

Die Probenahme hat im Idealfall an dem Punkt zu erfolgen, an dem die Ware in die Lebensmittelkette eintritt und eine einzelne Partie unterscheidbar wird. Durch das Probenahmeverfahren ist sicherzustellen, dass die Sammelprobe für die zu kontrollierende Partie repräsentativ ist.

4.1. Zahl der Einzelproben

Bei flüssigen Erzeugnissen, bei denen angenommen werden kann, dass der betreffende Kontaminant homogen in einer Partie verteilt ist, genügt es, pro Partie, die die Sammelprobe bildet, je

eine Einzelprobe zu entnehmen. Die Nummer der Partie ist anzugeben. Flüssige Erzeugnisse, die hydrolysiertes Pflanzenprotein (HVP) enthalten, sowie Sojasoße sind gut zu schütteln oder auf eine andere geeignete Weise zu homogenisieren, bevor die Einzelprobe entnommen wird.

Bei sonstigen Erzeugnissen hat sich die Mindestanzahl der einer Partie zu entnehmenden Einzelproben nach den Angaben in Tabelle 1 zu richten. Die Einzelproben sollten ein etwa gleiches Gewicht aufweisen. Abweichungen von diesem Verfahren sind in dem Protokoll gemäß Nummer 3.8 zu vermerken.

Tabelle 1: Mindestanzahl der einer Partie zu entnehmenden Einzelproben

Gewicht der Partie (in kg)	Mindestanzahl der zu entnehmenden Einzelproben
< 50	3
50 bis 500	5
> 500	10

Besteht die Partie aus Einzelpackungen, so ist die Anzahl der Packungen, aus denen eine Sammelprobe zusammengestellt wird, in Tabelle 2 angegeben.

Tabelle 2: Anzahl der Packungen (Einzelproben), aus denen eine Sammelprobe zusammengestellt wird, wenn die Partie aus Einzelpackungen besteht

Anzahl der Packungen oder Einheiten in der Partie	Zahl der zu entnehmenden Packungen oder Einheiten
1 bis 25	1 Packung oder Einheit
26 bis 100	Rund 5%, wenigstens 2 Packungen oder Einheiten
> 100	Rund 5%, höchstens 10 Packungen oder Einheiten

5. ÜBEREINSTIMMUNG DER PARTIE BZW. TEILPARTIE MIT DEN HÖCHSTGEHALTEN
- Das Kontrolllabor unterzieht die für die amtliche Untersuchung entnommene Laborprobe mindestens zwei unabhängigen Untersuchungen und berechnet den Mittelwert der Ergebnisse. Die Partie wird akzeptiert, wenn der Mittelwert dem jeweiligen in der Verordnung (EG) Nr. 466/2001 festgelegten Höchstgehalt nicht überschreitet. Die Partie wird abgelehnt, wenn der Mittelwert den jeweiligen Höchstgehalt übersteigt.

Anhang IV

PROBENVORBEREITUNG UND ANALYSENMETHODEN FÜR DIE AMTLICHE KONTROLLE VON WAREN AUF EINHALTUNG DES GEHALTS AN BLEI, CADMIUM, QUECKSILBER UND 3-MCPD

- EINFÜHRUNG
Wichtigstes Ziel ist es, eine repräsentative und homogene Laborprobe ohne Sekundärkontamination zu gewinnen.
- SPEZIFISCHE VERFAHREN ZUR VORBEREITUNG DER UNTERSUCHUNG AUF BLEI, CADMIUM UND QUECKSILBER
Es gibt viele zufriedenstellende spezifische Probenvorbereitungsverfahren, die bei den betreffenden Erzeugnissen eingesetzt werden können. In dem Entwurf einer CEN-Norm „Lebensmittel – Bestimmung von Spurenelementen – Leistungskriterien und allgemeine Überlegungen“ sind Verfahren aufgeführt, die sich als zufriedenstellend erwiesen haben ⁽⁸⁾; andere Verfahren können jedoch ebenfalls gültig sein.
Folgendes ist bei allen verwendeten Verfahren zu beachten:
 - Muscheln, Krustentiere und kleine Fische: Soweit diese ganz gegessen werden, müssen die Eingeweide in dem zu untersuchenden Material enthalten sein;
 - Gemüse: Nur der essbare Anteil ist zu kontrollieren, wobei die Vorschriften der Verordnung (EG) Nr. 466/2001 zu beachten sind.

3. ANALYSENMETHODEN, DIE DAS LABOR ANZUWENDEN HAT, UND VORSCHRIFTEN FÜR DIE LABORUNTERSUCHUNG

3.1. Definitionen

Nachstehend eine Reihe der gebräuchlichsten Definitionen, die das Labor verwenden sollte:

- r = Wiederholbarkeit: der Wert, unterhalb dessen man die absolute Differenz zwischen zwei einzelnen Prüfergebnissen, die unter Wiederholbarkeitsbedingungen (dh. dieselbe Probe, derselbe Prüfer, dasselbe Gerät, dasselbe Labor, kurze Zeitspanne) erzielt werden, mit einer vorgegebenen Wahrscheinlichkeit (im Regelfall 95%) erwarten darf, so dass $r = 2,8 \times s_r$;
- s_r = Standardabweichung, berechnet aus unter Wiederholbarkeitsbedingungen ermittelten Ergebnissen;
- RSD_r = relative Standardabweichung, berechnet aus unter Wiederholbarkeitsbedingungen ermittelten Ergebnissen $[(s_r / \bar{x}) \times 100]$, wobei $\bar{x}$ den Durchschnitt der Ergebnisse aller Proben darstellt;
- R = Reproduzierbarkeit: der Wert, unterhalb dessen man die absolute Differenz zwischen einzelnen Prüfergebnissen, die unter Reproduzierbarkeitsbedingungen (dh. an identischem Material von Prüfern in verschiedenen Labors nach dem standardisierten Testverfahren) erzielt werden, mit einer vorgegebenen Wahrscheinlichkeit (in der Regel 95%) erwarten darf;
 $R = 2,8 \times s_R$;
- s_R = Standardabweichung, berechnet aus unter Reproduzierbarkeitsbedingungen ermittelten Ergebnissen;
- RSD_R = relative Standardabweichung, berechnet aus unter Reproduzierbarkeitsbedingungen $[(s_R / \bar{x}) \times 100]$ ermittelten Ergebnissen;
- $HORRAT_r$ = die ermittelte RSD_r geteilt durch den RSD_r -Wert, geschätzt nach der Horwitz-Gleichung unter Verwendung der Annahme $r = 0,66R$;
- $HORRAT_R$ = der ermittelte RSD_R -Wert geteilt durch den RSD_R -Wert, berechnet nach der Horwitz-Gleichung ^(b).

3.2. Allgemeine Vorschriften

Die für Kontrollzwecke eingesetzten Analysenmethoden müssen soweit wie möglich mit nachstehenden Bestimmungen übereinstimmen.

3.2.1. Die Analysenmethoden müssen in Bezug auf die nachstehenden Kriterien getestet werden:

- i) Spezifität;
- ii) Genauigkeit;
- iii) Präzision; Wiederholbarkeit der Streuungsmaße innerhalb eines Labors und Vergleichbarkeit der Streuungsmaße in und zwischen den Labors;
- iv) Nachweisgrenze;
- v) Empfindlichkeit;
- vi) Ausführbarkeit und Anwendbarkeit;
- vii) andere Kriterien, die nach Bedarf ausgewählt werden können.

3.2.2. Die in Nummer 3.2.1. Ziffer iii) genannten Präzisionswerte lassen sich durch ein „collaborative trial“ gewinnen, das nach dem international anerkannten Protokoll über „collaborative trial“ durchgeführt worden ist (zB Internationale Normenorganisation, „Präzision von Prüfverfahren“) (ISO 5725/1981). Die Wiederholbarkeits- und Vergleichbarkeitswerte werden auf eine international anerkannte Weise, zB als die 95%igen „confidence intervals“ (ISO-Norm 5725/1981 spricht von 95% probability level = 95%iges Wahrscheinlichkeitsniveau) ausgedrückt, wie sie in der ISO-Norm 5725/1981 definiert sind. Die Ergebnisse des „collaborative trial“ sind zu veröffentlichen oder jedermann zugänglich zu machen.

Zur Kontrolle des Bleigehalts in Wein ist in der Verordnung (EWG) Nr. 2676/90 der Kommission ¹⁾ zur Festlegung gemeinsamer Analysemethoden für den Weinsektor in Kapitel 35 des dazugehörigen Anhangs die anzuwendende Methode festgelegt.

3.3. Spezifische Anforderungen

¹⁾ ABl. Nr. L 272 vom 3. 10. 1990, S. 1.

3.3.1. Blei, Cadmium- und Quecksilberanalysen

Spezifische Methoden für die Bestimmung der Blei-, Cadmium- oder Quecksilbergehalte sind nicht vorgeschrieben. Die Labors wenden eine validierte Methode an, die die in Tabelle 3 angegebenen Leistungskriterien erfüllt. Soweit möglich, sollte das Testmaterial des Ringversuchs zur Validierung zertifiziertes Referenzmaterial einschließen.

Tabelle 3: Leistungskriterien für Analysenmethoden für Blei, Cadmium und Quecksilber

Parameter	Wert/Kommentar
Anwendungsbereich	Waren gemäß der Verordnung (EG) Nr. 466/2001
Nachweisgrenze	Nicht mehr als ein Zehntel des Höchstgehalts gemäß der Verordnung (EG) Nr. 466/2001, es sei denn, der Höchstgehalt für Blei liegt unter 0,1 mg/kg. In diesem Fall nicht mehr als ein Fünftel des Höchstgehalts
Bestimmungsgrenze	Nicht mehr als ein Fünftel des Höchstgehalts gemäß der Verordnung (EG) Nr. 466/2001, es sei denn, der Höchstgehalt für Blei liegt unter 0,1 mg/kg. In diesem Fall nicht mehr als zwei Fünftel des Höchstgehalts
Präzision	HORRAT _r - oder HORRAT _R -Werte von weniger als 1,5 gemäß Ringversuch
Wiederfindungsrate	80–120% (gemäß Ringversuch)
Spezifizität	Frei von Matrix- oder spektralen Interferenzen

3.3.2. 3-MCPD-Analyse

Spezifische Methoden für die Bestimmung des Gehalts von 3-MCPD sind nicht vorgeschrieben. Die Labors wenden eine validierte Methode an, die die in Tabelle 4 angegebenen Leistungskriterien erfüllt. Soweit möglich, sollte das Testmaterial des Ringversuchs zur Validierung zertifiziertes Referenzmaterial einschließen. Eine spezifische Methode wurde im Ringversuch validiert und entspricht den Anforderungen in Tabelle 4 (°).

Tabelle 4: Leistungskriterien für Analysenmethoden für 3-MCPD

Kriterium	Empfohlener Wert	Konzentration
Blindwert	Unter der Nachweisgrenze	–
Wiederfindungsrate	75–110%	Alle
Bestimmungsgrenze	10 (oder weniger) µg/kg in trockenem Zustand	–
Standardabweichung des Blindwerts	Weniger als 4 µg/kg	–
Interne Präzisionsabschätzungen –	< 4 µg/kg	20 µg/kg
Standardabweichung der Wiederholungsmessungen bei unterschiedlichen Konzentrationen	< 6 µg/kg	30 µg/kg
	< 7 µg/kg	40 µg/kg
	< 8 µg/kg	50 µg/kg
	< 15 µg/kg	100 µg/kg

3.4. **Abschätzung der Richtigkeit der Untersuchung und Berechnung der Wiederfindungsrate**

Wenn möglich, wird eine Abschätzung der Richtigkeit der Analysen vorgenommen, indem geeignete zertifizierte Referenzmaterialien in den Kontrollvorgang einbezogen werden.

Ferner sind die „Harmonisierten Richtlinien für die Anwendung der Wiederfindungsraten zur Berichtigung analytischer Messungen“ (°), die unter Federführung der IUPAC/ISO/AOAC erarbeitet wurden, zu berücksichtigen.

Das Analyseergebnis ist korrigiert oder unkorrigiert anzugeben. Die Art der Angabe und die Wiederfindungsrate sind mitzuteilen.

3.5. **Laborqualitätsnormen**

Laboratorien müssen den Bestimmungen der Richtlinie 93/99/EWG entsprechen.

3.6. Angaben der Ergebnisse

Die Ergebnisse sind in denselben Einheiten anzugeben wie die in der Verordnung (EG) Nr. 466/2001 festgelegten Höchstgehalte.

QUELLEN

- (^a) Entwurf der Norm prEN 13804 „Lebensmittel – Bestimmung von Spurenelementen – Leistungskriterien und allgemeine Überlegungen“, CEN, Rue de Stassart 36, B1050 Brüssel.
- (^b) W Horwitz, „Evaluation of Analytical Methods for Regulation of Foods and Drugs“, Anal. Chem., 1982, Nr. 54, 67A – 76A.
- (^c) Method of Analysis to determine 3-Monochloropropane-1,2-Diol in Food and Food Ingredients using Mass Spectrometric Detection“, wurde CEN TC 275 und AOAC International vorgelegt (auch erhältlich als „Report of the Scientific Cooperation task 3.2.6: Provision of validated methods to support the Scientific Committee on Food's recommendations regarding 3-MCPD in hydrolysed protein and other foods“).
- (^d) ISO/AOAC/IUPAC „Harmonised Guidelines for the Use of Recovery Information in Analytical Measurement“, Herausgeber Michael Thompson, Steven L. R. Ellison, Ales Fajgelj, Paul Willetts und Roger Wood, Pure Appl. Chem., 1999, Nr. 71, 337 – 348.

Anhang V**PROBENAHMEVERFAHREN FÜR DIE AMTLICHE KONTROLLE DER
OCHRATOXIN-A-GEHALTE IN BESTIMMTEN WAREN****1. Zweck und Anwendungsbereich**

Nachstehend wird das Probenahmeverfahren für die amtliche Bestimmung der Ochratoxin-A-Gehalte in Waren gemäß §§ 2 und 3 LMG 1975 beschrieben. Die mit diesem Verfahren gewonnenen Sammelproben sind als repräsentativ für die betreffenden Partien anzusehen. Anhand der bei den Laborproben bestimmten Gehalte wird festgestellt, ob die in der Verordnung (EG) Nr. 466/2001 festgesetzten Grenzwerte eingehalten wurden.

2. Definitionen

- Partie: eine unterscheidbare Menge einer in einer Sendung angelieferten Ware, die gemäß der amtlichen Prüfung gemeinsame Merkmale wie Ursprung, Sorte, Art der Verpackung, Verpacker, Absender oder Kennzeichnung aufweist;
- Teilpartie: bestimmter Teil einer Partie, der dem Probenahmeverfahren zu unterziehen ist; jede Teilpartie muss physisch getrennt und identifizierbar sein;
- Einzelprobe: an einer einzigen Stelle der Partie entnommene Menge;
- Sammelprobe: die ungeteilte Gesamtheit der einer Partie oder Teilpartie entnommenen Einzelproben.

3. Allgemeine Bestimmungen**3.1. Personal**

Die Probenahme wird von einer befugten Person vorgenommen.

3.2. Material, dem Proben zu entnehmen sind

Jede zu kontrollierende Partie ist einzeln zu beproben. Große Partien werden nach den im Anhang genannten Vorschriften in Teilpartien aufgeteilt, die einzeln zu beproben sind.

3.3. Vorsichtsmaßnahmen

Bei der Probenahme und der Vorbereitung der Proben sind Vorsichtsmaßnahmen zu treffen, um Veränderungen zu verhindern, die sich auf den Ochratoxin-A-Gehalt auswirken, die analytische Bestimmung stören oder die Repräsentativität der Sammelproben beeinträchtigen könnten.

3.4. Einzelproben

Einzelproben sind möglichst an verschiedenen, über die ganze Partie oder Teilpartie verteilten Stellen zu entnehmen. Um zu gewährleisten, dass ausreichend Probenmaterial für die amtliche Probe und Gegenprobe vorhanden ist, ist die Anzahl der Einzelproben zu verdoppeln. Abweichungen von dieser Regel sind im Protokoll zu vermerken.

3.5. Herstellung der Sammelprobe

Die Sammelprobe wird durch Vereinigen und Vermischen der Einzelproben hergestellt.

- 3.6. Unterteilung der Sammelprobe in Laborproben für die amtliche Untersuchung und Gegenuntersuchung

Die Laborproben für die amtliche Untersuchung und Gegenuntersuchung werden der gut gemischten Sammelprobe entnommen.

- 3.7. Verpackung und Versand der Proben

Jede Sammel- bzw. Laborprobe wird in ein sauberes, inertes Behältnis verbracht, das angemessenen Schutz gegen Kontamination und Beschädigung beim Transport bietet. Alle notwendigen Vorkehrungen sind zu treffen, um zu verhindern, dass sich die Zusammensetzung der Sammel- bzw. Laborprobe während des Transports oder der Lagerung ändert.

- 3.8. Versiegelung und Kennzeichnung der Proben

Jede amtliche Probe wird am Ort der Entnahme versiegelt und vorschriftsmäßig gekennzeichnet. Über jede Probenahme ist ein Protokoll zu führen, aus dem die Identität der Partie eindeutig hervorgeht, wobei Datum und Ort der Probenahme sowie alle zusätzlichen Informationen, die für den Analytiker von Nutzen sein können, zu vermerken sind.

4. **Besondere Bestimmungen**

- 4.1. Verschiedene Arten von Partien

Die Waren können als Schüttgut, in Behältern oder in Einzelverpackungen (Säcken, Beuteln, Einzelhandelspackungen usw.) gehandelt werden. Das Probenahmeverfahren ist für jede Art der Aufmachung der Erzeugnisse anwendbar.

Unbeschadet der besonderen Bestimmungen gemäß den Nummern 4.3, 4.4 und 4.5 dieses Anhangs kann zur Beprobung von Partien < 50 Tonnen in Einzelverpackungen (Säcken, Beuteln, Einzelhandelspackungen usw.) folgende Formel verwendet werden:

$$\text{Häufigkeit der Probenahme } n = \frac{\text{Gewicht der Partie} \times \text{Gewicht der Einzelprobe}}{\text{Gewicht der Sammelprobe} \times \text{Gewicht der Einzelverpackung}}$$

– Gewicht: in kg

– Häufigkeit der Probenahme: jeder n-te Sack oder Beutel, aus dem eine Einzelprobe gezogen werden muss (Dezimalzahlen sind auf die nächste ganze Zahl zu runden).

- 4.2. Gewicht der Einzelprobe

Das Gewicht der Einzelprobe beträgt etwa 100 g, soweit im Anhang nicht anders definiert. Bei Partien in Einzelhandelspackungen hängt das Gewicht der Einzelprobe vom Gewicht der Einzelhandelspackung ab.

- 4.3. Allgemeine Übersicht über das Probenahmeverfahren für Getreide und Getreideerzeugnisse und getrocknete Weintrauben

Tabelle 1: Einteilung der Partien in Teilpartien je nach Erzeugnis und Gewicht der Partie

Erzeugnis	Partiegewicht (Tonnen)	Gewicht oder Zahl der Teilpartien	Zahl der Einzelproben je Teilpartie	Gewicht der Sammelprobe je Teilpartie (kg)
Getreide und Getreideerzeugnisse	≥ 1 500	500 Tonnen	100	10
	> 300 und < 1 500	3 Teilpartien	100	10
	≥ 50 und ≤ 300	100 Tonnen	100	10
	< 50	–	10–100 ¹⁾	1–10
Getrocknete Weintrauben (Korinthen, Rosinen und Sultaninen)	≥ 15	15–30 Tonnen	100	10
	< 15	–	10–100 ²⁾	1–10

¹⁾ Abhängig vom Partiegewicht – vgl. Tabelle 2 dieses Anhangs.

²⁾ Abhängig vom Partiegewicht – vgl. Tabelle 3 dieses Anhangs.

- 4.4. Probenahmeverfahren für Getreide und Getreideerzeugnisse (Partien ≥ 50 Tonnen) und getrocknete Weintrauben (Partien ≥ 15 Tonnen)

– Unter der Bedingung, dass die Teilpartien physisch getrennt werden können, muss jede Partie gemäß Tabelle 1 in Teilpartien aufgeteilt werden. Da das Gewicht der Partie nicht immer ein exaktes Vielfaches des Gewichts der Teilpartien ist, darf das Gewicht der Teilpartien das genannte Gewicht um höchstens 20% überschreiten.

- Jede Teilpartie ist getrennt zu beproben.
- Zahl der Einzelproben: 100. Bei Getreidepartien von weniger als 50 Tonnen und Partien von getrockneten Weintrauben unter 15 Tonnen siehe Nummer 4.5. Gewicht der Sammelprobe = 10 kg.
- Ist es nicht möglich, das vorstehend beschriebene Probenahmeverfahren anzuwenden, da sich aus einer Beschädigung von Teilen der Partie unverhältnismäßig große wirtschaftliche Nachteile ergeben würden (wegen der Verpackungsart, der Transportweise usw.), so kann ein alternatives Probenahmeverfahren angewendet werden, vorausgesetzt dieses ist so repräsentativ wie möglich und wird umfassend beschrieben und dokumentiert.

4.5. Probenahmeverfahren für Getreide und Getreideerzeugnisse (Partien < 50 Tonnen) und für getrocknete Weintrauben (Partien < 15 Tonnen)

Für Getreidepartien unter 50 Tonnen und für Partien von getrockneten Weintrauben unter 15 Tonnen muss ein Probenahmeverfahren angewendet werden, das – je nach Partiegewicht – aus 10 bis 100 Einzelproben besteht, die eine Sammelprobe von 1 bis 10 kg ergeben.

Die nachstehende Tabelle zeigt die Zahl der zu entnehmenden Einzelproben:

Tabelle 2: Zahl der Einzelproben in Abhängigkeit vom Gewicht der Getreidepartie

Partiegewicht (Tonnen)	Zahl der Einzelproben
≤ 1	10
$>1 - \leq 3$	20
$>3 - \leq 10$	40
$> 10 - \leq 20$	60
$> 20 - \leq 50$	100

Tabelle 3: Zahl der Einzelproben in Abhängigkeit vom Gewicht der Partie getrockneter Weintrauben

Partiegewicht (Tonnen)	Zahl der Einzelproben
$\leq 0,1$	10
$> 0,1 - \leq 0,2$	15
$> 0,2 - \leq 0,5$	20
$> 0,5 - \leq 1,0$	30
$> 1,0 - \leq 2,0$	40
$> 2,0 - \leq 5,0$	60
$> 5,0 - \leq 10,0$	80
$> 10,0 - \leq 15,0$	100

4.6. Probenahme auf der Einzelhandelsstufe

Die Probenahme von Waren auf der Einzelhandelsstufe sollte, wenn möglich, gemäß den oben genannten Probenahmebestimmungen erfolgen. Ist dies nicht möglich, können andere wirksame Probenahmeverfahren auf der Einzelhandelsstufe angewendet werden, sofern sie ausreichende Repräsentativität für die betreffende Partie gewährleisten.

5. **Annahme einer Partie oder Teilpartie**

- Annahme, wenn die Sammelprobe den Grenzwert einhält.
- Ablehnung, wenn die Sammelprobe den Grenzwert überschreitet.

Anhang VI

PROBENVORBEREITUNG UND KRITERIEN FÜR DIE ANALYSEVERFAHREN ZUR AMTLICHEN KONTROLLE DER OCHRATOXIN-A-GEHALTE IN BESTIMMTEN WAREN

1. **Vorsichtsmaßnahmen**

Da die Verteilung von Ochratoxin A nicht homogen ist, sollten die Proben besonders sorgfältig vorbereitet und homogenisiert werden.

Alles dem Labor zugesandte Material ist für die Vorbereitung des Untersuchungsmaterials zu verwenden.

2. Behandlung der im Labor eingegangenen Probe

Die gesamte Sammelprobe ist nach einem Verfahren, das nachweislich eine vollständige Homogenisierung gewährleistet, fein zu zermahlen und sorgfältig zu vermischen.

3. Unterteilung von Proben für die amtliche Untersuchung und Gegenuntersuchung

Die Proben für die amtliche Untersuchung und Gegenuntersuchung sind der gut gemischten Sammelprobe zu entnehmen.

4. Vom Labor anzuwendendes Analyseverfahren und Kontrollanforderungen**4.1. Definitionen**

Nachstehend eine Reihe der gebräuchlichsten Definitionen, die das Labor verwenden sollte:

Die gebräuchlichsten Präzisionsparameter sind die Wiederholbarkeit und die Reproduzierbarkeit.

r = Wiederholbarkeit: der Wert, unterhalb dessen man die absolute Differenz zwischen zwei einzelnen Prüfergebnissen, die unter Wiederholbarkeitsbedingungen (dh. dieselbe Probe, derselbe Prüfer, dasselbe Gerät, dasselbe Labor, kurze Zeitspanne) erzielt werden, mit einer vorgegebenen Wahrscheinlichkeit (im Regelfall 95%) erwarten darf, so dass $r = 2,8 \times s_r$

s_r = Standardabweichung, berechnet aus unter Wiederholbarkeitsbedingungen ermittelten Ergebnissen

RSD_r = relative Standardabweichung, berechnet aus unter Wiederholbarkeitsbedingungen ermittelten Ergebnissen $[(s_r/\bar{x}) \times 100]$ wobei $\bar{x}$ den Durchschnitt der Ergebnisse aller Proben darstellt

R = Reproduzierbarkeit: der Wert, unterhalb dessen man die absolute Differenz zwischen einzelnen Prüfergebnissen, die unter Reproduzierbarkeitsbedingungen (dh. an identischem Material von Prüfern in verschiedenen Labors nach dem standardisierten Testverfahren) erzielt werden, mit einer vorgegebenen Wahrscheinlichkeit (in der Regel 95%) erwarten darf, $R = 2,8 \times s_R$

s_R = Standardabweichung, berechnet aus unter Reproduzierbarkeitsbedingungen ermittelten Ergebnissen

RSD_R = relative Standardabweichung, berechnet aus unter Reproduzierbarkeitsbedingungen ermittelten Ergebnissen $[(s_R/\bar{x}) \times 100]$.

4.2. Allgemeine Anforderungen

Die für Kontrollzwecke eingesetzten Analyseverfahren müssen mit folgenden Bestimmungen übereinstimmen.

4.2.1. Die Analysenmethoden müssen in Bezug auf die nachstehenden Kriterien getestet werden:

- i) Spezifität;
- ii) Genauigkeit;
- iii) Präzision; Wiederholbarkeit der Streuungsmaße innerhalb eines Labors und Vergleichbarkeit der Streuungsmaße in und zwischen den Labors;
- iv) Nachweisgrenze;
- v) Empfindlichkeit;
- vi) Ausführbarkeit und Anwendbarkeit;
- vii) andere Kriterien, die nach Bedarf ausgewählt werden können.

4.2.2. Die in Nummer 4.2.1 Ziffer iii) genannten Präzisionswerte lassen sich durch ein „collaborative trial“ gewinnen, das nach dem international anerkannten Protokoll über „collaborative trial“ durchgeführt worden ist (zB Internationale Normenorganisation, „Präzision von Prüfverfahren“) (ISO 5725/1981). Die Wiederholbarkeits- und Vergleichbarkeitswerte werden auf eine international anerkannte Weise, zB als die 95%igen „confidence intervals“ (ISO-Norm 5725/1981) spricht von 95% probability level = 95%iges Wahrscheinlichkeitsniveau) ausgedrückt, wie sie in der ISO-Norm 5725/1981 definiert sind. Die Ergebnisse des „collaborative trial“ sind zu veröffentlichen oder jedermann zugänglich zu machen.**4.3. Spezifische Anforderungen**

Sofern keine spezifischen Verfahren für die Bestimmung von Ochratoxin-A-Gehalten in Waren vorgeschrieben sind, können Labors ein beliebiges Verfahren auswählen, wenn es die folgenden Kriterien erfüllt:

Leistungsmerkmale für die Bestimmung von Ochratoxin A

Konzentration µg/kg	Ochratoxin A		
	RSD _r (%)	RSD _R (%)	Wiederfindungsrate (%)
< 1	≤ 40	≤ 60	50–120
1–10	≤ 20	≤ 30	70–110

- Die Nachweisgrenzen der verwendeten Verfahren werden nicht angegeben, da die Präzisionswerte bei den betreffenden Konzentrationen angegeben sind.
- Die Präzisionswerte werden gemäß der Horwitz-Gleichung berechnet:

$$RSD_R = 2^{(1-0,5 \log C)}$$

dabei ist:

- RSD_R die relative Standardabweichung, berechnet aus unter Reproduzierbarkeitsbedingungen ermittelten Ergebnissen $[(s_R/\bar{x}) \times 100]$,
- C das Konzentrationsverhältnis (dh. 1 = 100 g/100 g, 0,001 = 1 000 mg/kg).

Dies ist eine verallgemeinerte Präzisionsgleichung, die sich für die meisten Routineanalysemethoden als unabhängig von Analyt und Matrix und lediglich von der Konzentration abhängig erwiesen hat.

4.4. Berücksichtigung der Wiederfindungsrate

Das Analyseergebnis kann entweder um die Wiederfindungsrate berichtigt oder unberichtigt angegeben werden. Die Art der Angabe und die Wiederfindungsrate sind mitzuteilen.

4.5. Laborqualitätsnormen

Laboratorien müssen den Bestimmungen der Richtlinie 93/99/EWG über zusätzliche Maßnahmen im Bereich der amtlichen Lebensmittelüberwachung entsprechen.

Anhang VII

PROBENAHMEVERFAHREN FÜR DIE AMTLICHE KONTROLLE DER DIOXINGEHALTE (PCDD/PCDF) SOWIE ZUR BESTIMMUNG DIOXINÄHNLICHER PCB IN BESTIMMTEN WAREN

1. Zweck und Anwendungsbereich

Die zur amtlichen Kontrolle der Dioxingehalte (PCDD/PCDF) sowie zur Bestimmung der Gehalte an dioxinähnlichen PCB ¹⁾ in Waren gemäß §§ 2 und 3 LMG 1975 bestimmten Proben sind entsprechend den unten beschriebenen Verfahren zu nehmen. Die mit diesem Verfahren gewonnenen Sammelproben sind als repräsentativ für die betreffenden Parteien bzw. Teilparteien anzusehen. Anhand der bei den Laborproben bestimmten Gehalte wird festgestellt, ob die in der Verordnung (EG) Nr. 466/2001 zur Festsetzung der Höchstgehalte für bestimmte Kontaminanten in Lebensmitteln festgelegten Grenzwerte eingehalten wurden.

2. Definitionen

- Partie: Eine unterscheidbare Menge einer in einer Sendung angelieferten Ware, die gemäß der amtlichen Prüfung gemeinsame Merkmale, wie Ursprung, Sorte, Art der Verpackung, Verpacker, Absender oder Kennzeichnung aufweist. Bei Fischen und Fischereierzeugnissen muss auch die Größe der Fische vergleichbar sein.
- Teilpartie: Bestimmter Teil einer großen Partie, der dem Probenahmeverfahren zu unterziehen ist. Jede Teilpartie muss physisch getrennt und identifizierbar sein.
- Einzelprobe: An einer einzigen Stelle der Partie bzw. Teilpartie entnommene Menge.
- Sammelprobe: Summe der einer Partie oder Teilpartie entnommenen Einzelproben.
- Laborprobe: Für das Labor bestimmte(r) repräsentative(r) Teil/Menge der Sammelprobe.

¹⁾ Tabelle: TEF der WHO zur Risikobewertung beim Menschen, auf der Grundlage der Schlussfolgerungen der Sitzung der Weltgesundheitsorganisation in Stockholm, 15–18. Juni 1997 [Van den Berg et al., (1998) Toxic Equivalency Factors (TEFs) for PCBs, PCDDs, PCDFs for Humans and for Wildlife. Environmental Health Perspectives, 106(12), 775].

Kongener	TEF-Wert	Kongener	TEF-Wert
Dibenzo-p-dioxine („PCDD“)		Dioxinähnliche PCB Non-ortho PCB + Mono-ortho PCB	
2,3,7,8-TCDD	1	Non-ortho PCB	
1,2,3,7,8-PeCDD	1	PCB 77	0,0001
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0,1	PCB 81	0,0001
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0,1	PCB 126	0,1
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0,1	PCB 169	0,01
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0,01		
OCDD	0,0001		
Dibenzofurane („PCDF“)		Mono-ortho PCB	
2,3,7,8-TCDF	0,1	PCB 105	0,0001
1,2,3,7,8-PeCDF	0,05	PCB 114	0,0005
2,3,4,7,8-PeCDF	0,5	PCB 118	0,0001
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0,1	PCB 123	0,0001
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0,1	PCB 156	0,0005
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0,1	PCB 157	0,0005
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0,1		
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0,01	PCB 167	0,00001
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0,01	PCB 189	0,0001
OCDF	0,0001		

Abkürzungen: „T“ = tetra; „Pe“ = penta; „Hx“ = hexa; „Hp“ = hepta; „O“ = octa; „CDD“ = Chlordibenzodioxin; „CDF“ = Chlorodibenzofuran; „CB“ = Chlorbiphenyl.

3. Allgemeine Bestimmungen

3.1. Personal

Die Probenahme wird von einer befugten qualifizierten Person vorgenommen.

3.2. Material, dem Proben zu entnehmen sind

Jede zu kontrollierende Partie ist einzeln zu beproben.

3.3. Vorsichtsmaßnahmen

Bei der Probenahme und der Vorbereitung der Laborproben sind Vorsichtsmaßnahmen zu treffen, um Veränderungen zu verhindern, die sich auf den Gehalt an Dioxinen und dioxinähnlichen PCB auswirken, die analytische Bestimmung beeinträchtigen oder die Repräsentativität der Sammelproben zunichte machen könnten.

3.4. Einzelproben

Einzelproben sind – soweit praktisch machbar – an verschiedenen, über die gesamte Partie oder Teilpartie verteilten Stellen zu entnehmen. Abweichungen von dieser Regel sind in dem unter Punkt 3.8 genannten Protokoll zu vermerken.

3.5. Vorbereitung der Sammelprobe

Die Sammelprobe wird durch Vereinigung der Einzelproben hergestellt. Sie besteht aus mindestens 2 kg, außer wenn dies nicht praktisch ist, zB wenn eine einzige Packung beprobt wurde.

3.6. Unterteilung der Sammelprobe in Laborproben für die amtliche Untersuchung und Gegenuntersuchung

Die Laborproben für die amtliche Untersuchung und Gegenuntersuchung werden der gut gemischten Sammelprobe entnommen. Die Menge der Laborprobe für die amtliche Untersuchung soll zumindest für eine zweifache Untersuchung ausreichen.

3.7. Verpackung und Versand von Sammel- und Laborproben

Jede Sammel- und Laborprobe ist in ein sauberes, inertes Behältnis zu verbringen, das angemessenen Schutz gegen Kontamination, Verlust von Analyten durch Adsorption an der inneren Wand des Behältnisses sowie gegen Beschädigung beim Transport bietet. Es sind alle notwendigen Vorkehrungen zu treffen, um zu verhindern, dass sich die Zusammensetzung der Laborprobe während des Transports oder der Lagerung ändert.

3.8. Versiegelung und Kennzeichnung der Laborproben

Jede amtliche Probe wird am Ort der Entnahme versiegelt und vorschriftsgemäß gekennzeichnet. Über jede Probenahme ist ein Protokoll zu führen, aus dem die Identität der Partie eindeutig hervorgeht, wobei Datum und Ort der Probenahme sowie alle zusätzlichen Informationen, die für den Analytiker von Nutzen sein können, zu vermerken sind.

4. **Probenahmepläne**

Mit dem verwendeten Probenahmeverfahren ist sicherzustellen, dass die Sammelprobe für die zu kontrollierende Partie repräsentativ ist.

Anzahl der Einzelproben

Bei Milch und Ölen, für die eine homogene Verteilung der fraglichen Kontaminanten in einer Partie angenommen werden kann, sind drei Einzelproben je Partie, die die Sammelprobe ergeben, ausreichend. Die Partienummer ist dabei anzugeben. Für andere Erzeugnisse ist die der Partie zu entnehmende Mindestanzahl an Einzelproben in Tabelle 1 aufgeführt.

Die Sammelprobe für die amtliche Probe und Gegenprobe, in der alle Einzelproben zusammengefasst sind, muss mindestens 1 kg wiegen (siehe Punkt 3.5). Das Gewicht der Einzelproben muss gleich sein. Die Einzelproben sollten mindestens 100 g wiegen. Das Gewicht der Einzelproben hängt von der Größe der Teilchen in der Partie ab; Abweichungen von dieser Regel sind in dem unter Punkt 3.8 genannten Protokoll festzuhalten. Entsprechend den Bestimmungen der Entscheidung 97/747/EG der Kommission vom 27. Oktober 1997 über Umfang und Häufigkeit der in der Richtlinie 96/23/EG des Rates vorgesehenen Probenahmen zum Zweck der Untersuchung in Bezug auf bestimmte Stoffe und ihre Rückstände in bestimmten tierischen Erzeugnissen ¹⁾ beträgt der Probenumfang bei Hühnereiern mindestens zwölf Eier (bei loser Ware ebenso wie bei Partien aus einzelnen Verpackungen, Tabellen 1 und 2).

Tabelle 1

Mindestanzahl der Einzelproben, die der Partie zu entnehmen sind

Gewicht der Partie (kg)	Mindestanzahl der zu entnehmenden Einzelproben
< 50	3
50 bis 500	5
> 500	10

Besteht die Partie aus einzelnen Packungen, ist die Anzahl der aus der Sammelprobe zu entnehmenden Packungen gemäß Tabelle 2 zu wählen.

Tabelle 2

Anzahl der Packungen (Einzelproben), die die Sammelprobe bilden, sofern die Partie aus einzelnen Packungen besteht

Anzahl der Packungen oder Einheiten in der Partie	Anzahl der zu entnehmenden Packungen oder Einheiten
1 bis 25	1 Packung oder Einheit
26 bis 100	Etwa 5%, mindestens 2 Packungen oder Einheiten
> 100	Etwa 5%, höchstens 10 Packungen oder Einheiten

5. **Übereinstimmung der Partie bzw. Teilpartie mit den Höchstgehalten**

Das Kontrolllabor unterzieht die für die amtliche Untersuchung entnommene Laborprobe einer zweiten Untersuchung, sofern das Ergebnis der ersten weniger als 20% unter dem Höchstgehalt oder darüber liegt, und berechnet den Mittelwert der Ergebnisse. Die Partie wird akzeptiert, sofern das Ergebnis der ersten Untersuchung mehr als 20% vom jeweiligen in der Verordnung (EG) Nr. 466/2001 festgelegten Höchstgehalt liegt oder, falls eine zweite Untersuchung erforderlich ist, wenn der Mittelwert dem Höchstgehalt entspricht.

¹⁾ ABl. Nr. L 303 vom 6. 11. 1997, S 12.

Anhang VIII**PROBENVORBEREITUNG UND ANFORDERUNGEN AN UNTERSUCHUNGS-
VERFAHREN ZUR AMTLICHEN KONTROLLE DES GEHALTS AN DIOXINEN
(PCDD/PCDF) UND ZUR BESTIMMUNG VON DIOXINÄHNLICHEN PCB IN
BESTIMMTEN WAREN****1. Zweck und Anwendungsbereich**

Diese Anforderungen sollten gestellt werden, wenn Waren gemäß §§ 2 und 3 LMG 1975 zur amtlichen Kontrolle des Gehalts an Dioxinen (polychlorierte Dibenzo-p-dioxine (PCDD) und polychlorierte Dibenzofurane (PCDF) sowie zur Bestimmung der dioxinähnlichen PCB untersucht werden.

Bei der Überwachung auf das Vorhandensein von Dioxinen in Waren kann ein Screening-Verfahren angewandt werden, mit dessen Hilfe diejenigen Proben mit einem Gehalt an Dioxinen und dioxinähnlichen PCB, der weniger als 30–40% unterhalb des interessierenden Wertes oder darüber liegt, ausgewählt werden. Die Konzentration an Dioxinen in den Proben mit signifikantem Gehalt muss dann durch Bestätigungsverfahren ermittelt/bestätigt werden.

Screening-Verfahren sind Verfahren, die zum Nachweis des Vorhandenseins von Dioxinen und dioxinähnlichen PCB in der interessierenden Konzentration verwendet werden. Diese Verfahren ermöglichen einen hohen Probendurchsatz und werden eingesetzt, um eine große Anzahl von Proben auf mögliche positive Ergebnisse zu sichten. Sie sind speziell dafür ausgelegt, falsch negative Ergebnisse zu vermeiden.

Bestätigungsverfahren sind Verfahren, die vollständige oder ergänzende Daten liefern, damit Dioxine und dioxinähnliche PCB in der interessierenden Konzentration eindeutig identifiziert werden können.

2. Hintergrund

Da Umweltproben und biologische Proben (einschließlich Proben von Waren) im Allgemeinen komplexe Mischungen verschiedener Dioxin-Kongenerere enthalten, wurde zur Erleichterung der Risikobewertung das Konzept der Toxizitätsäquivalenzfaktoren (TEF) entwickelt. Durch diese TEF werden Konzentrationen aus Gemischen aus 2,3,7,8-substituierten PCDD und PCDF ausgedrückt, und in jüngerer Zeit einige non-ortho- und mono-orthochlorsubstituierte PCB mit dioxinähnlicher Aktivität in Toxizitätsäquivalenten (TEQ) von 2,3,7,8-TCDD (siehe Fußnote 1 in Anhang VII).

Die Konzentrationen der einzelnen Substanzen in einer bestimmten Probe werden mit ihren jeweiligen TEF multipliziert und addiert, woraus sich anschließend die Gesamtkonzentration an dioxinähnlichen Verbindungen, ausgedrückt in TEQ, ergibt.

Zur Berechnung der „Obergrenze“ wird der Beitrag jedes nicht bestimmbar Kongeners zum TEQ der Bestimmungsgrenze gleichgesetzt.

Zur Berechnung der „Untergrenze“ wird der Beitrag jedes nicht bestimmbar Kongeners zum TEQ gleich Null gesetzt.

Zur Berechnung des „Zwischenwerts“ wird der Beitrag jedes nicht bestimmbar Kongeners zum TEQ der Hälfte der Bestimmungsgrenze gleichgesetzt.

3. Anforderungen an die Qualitätssicherung bei der Probenvorbereitung

- In jeder Stufe des Probenahme- und Analyseverfahrens sind Maßnahmen zu treffen, um eine Kreuzkontamination zu vermeiden.
- Die Proben sind in Glas-, Aluminium-, Polypropylen- oder Polyethylen-Behältern zu lagern und zu transportieren. Spuren von Papierstaub sind vom Probenbehälter zu entfernen. Die Gläser sind mit Lösungsmitteln auszuspülen, die zuvor auf Vorhandensein von Dioxinen überprüft wurden.
- Die Lagerung und der Transport der Proben hat so zu erfolgen, dass die Einheit der Warenprobe erhalten bleibt.
- Sofern zutreffend, sind die einzelnen Laborproben mit Hilfe eines Verfahrens fein zu mahlen und gründlich zu mischen, mit dem nachweislich eine vollständige Homogenisierung erreicht wird (zB Mahlung so fein, dass die Probe durch ein Sieb mit einer Maschenweite von 1 mm gehen kann); falls die Feuchtigkeit zu hoch ist, sind die Proben vor der Mahlung zu trocknen.
- Es ist eine Blinduntersuchung durchzuführen, indem das gesamte Untersuchungsverfahren durchgeführt und nur die Probe dabei weggelassen wird.

- Das Gewicht der für die Extraktion verwendeten Probe muss ausreichend groß sein, dass die Anforderungen an die Messempfindlichkeit erfüllt werden.
- Es gibt viele zufriedenstellende spezifische Probenvorbereitungsverfahren, die für die zu untersuchenden Erzeugnisse verwendet werden können. Die Verfahren sind gemäß international anerkannten Leitlinien zu validieren.

4. Anforderungen an Laboratorien

- Die Laboratorien führen den Nachweis der Leistungsfähigkeit eines Verfahrens im Bereich der interessierenden Konzentration, zB 0,5 x, 1 x und 2 x die interessierende Konzentration mit einem akzeptablen Abweichungskoeffizienten für wiederholte Untersuchung. Näheres zu den Akzeptanzkriterien siehe Ziffer 5.
- Die Bestimmungsgrenze sollte beim Bestätigungsverfahren im Bereich von etwa einem Fünftel der interessierenden Konzentration liegen, damit sichergestellt ist, dass im Bereich der interessierenden Konzentration akzeptable Abweichungskoeffizienten eingehalten werden.
- Als interne Qualitätssicherungsmaßnahmen sollten ständige Blindkontrollen und Experimente mit aufgestockten Proben oder Untersuchungen von Kontrollproben (sofern erhältlich, vorzugsweise zertifiziertes Referenzmaterial) durchgeführt werden.
- Die erfolgreiche Teilnahme an Laborvergleichsuntersuchungen zur Bewertung der Leistung von Laboratorien ist der beste Weg, bei spezifischen Untersuchungen Kompetenz nachzuweisen. Eine erfolgreiche Teilnahme an Laborvergleichsuntersuchungen, zB über Boden- oder Abwasserproben, belegt jedoch nicht zwangsläufig auch eine Kompetenz im Bereich der Proben von Waren gemäß §§ 2 und 3 LMG 1975, die zu einem geringeren Grad kontaminiert sind. Daher ist die ständige Teilnahme an Laborvergleichsuntersuchungen zur Ermittlung des Gehalts an Dioxinen und dioxinähnlichen PCB in den entsprechenden Waren obligatorisch.
- Gemäß den Bestimmungen der Richtlinie 93/99/EWG sollten die Laboratorien von einer anerkannten Stelle akkreditiert sein, die nach ISO Guide 58 arbeitet, damit sichergestellt ist, dass sie bei der Untersuchung Qualitätssicherungsverfahren anwenden. Die Laboratorien müssen gemäß Akkreditierungsgesetz-AKKG akkreditiert sein.

5. Anforderungen an Verfahren zur Untersuchung auf Dioxine und dioxinähnliche PCB

Grundsätzliche Anforderungen zur Annahme von Untersuchungsverfahren:

- Große Messempfindlichkeit und niedrige Nachweisgrenze. Bei PCDD und PCDF müssen die nachweisbaren Mengen wegen der extrem hohen Toxizität einiger dieser Verbindungen im Bereich Pikogramm TEQ (10^{-12} g) liegen. Der Gehalt an PCB ist bekanntlich höher als derjenige an PCDD und PCDF. Bei den meisten PCB-Kongeneren ist eine Messempfindlichkeit im Bereich Nanogramm (10^{-9} g) bereits ausreichend. Zur Messung der toxischeren dioxinähnlichen PCB-Kongeneren (insbesondere der non-orthosubstituierten Kongeneren) muss jedoch die gleiche Messempfindlichkeit erreicht werden wie für die PCDD und PCDF.
- Hohe Selektivität/Spezifität. PCDD, PCDF und dioxinähnliche PCB müssen von einer Vielzahl anderer, gemeinsam extrahierter und möglicherweise interferierender Verbindungen unterschieden werden, die in Konzentrationen von bis zu mehreren Größenordnungen höher als diejenigen der zu prüfenden Analyten vorhanden sind. Bei Gaschromatografie-Massenspektrometrie-(GC/MS-)Verfahren ist eine Unterscheidung zwischen verschiedenen Kongeneren erforderlich, wie zB zwischen toxischen Kongeneren (zB die siebzehn 2,3,7,8-substituierten PCDD und PCDF sowie dioxinähnliche PCB) und anderen Kongeneren. Bioassays sollten eine selektive Bestimmung der TEQ-Werte als Summe aus PCDD, PCDF und dioxinähnlichen PCB ermöglichen.
- Hohe Genauigkeit (Richtigkeit und Präzision). Die Bestimmung sollte eine valide Schätzung der tatsächlichen Konzentration in einer Probe erbringen. Hohe Genauigkeit (Messgenauigkeit: der Grad der Übereinstimmung zwischen dem Ergebnis einer Messung und dem echten oder zugeordneten Wert der Messgrenze) ist notwendig, damit die Zurückweisung des Ergebnisses einer Probenuntersuchung auf Grund der geringen Zuverlässigkeit der TEQ-Schätzung vermieden wird. Genauigkeit wird ausgedrückt als Richtigkeit (Differenz zwischen dem gemessenen Mittelwert eines Analyten in einem zertifizierten Material und seinem zertifizierten Wert, ausgedrückt als Prozentsatz dieses Wertes) und Präzision (Präzision wird gewöhnlich errechnet als Standardabweichung einschließlich Wiederholbarkeit und Reproduzierbarkeit, sie gibt den Grad der Übereinstimmung zwischen den Ergebnissen an, die durch die wiederholte Durchführung des Testverfahrens unter vorgeschriebenen Bedingungen erzielt werden).

Screening-Verfahren können Bioassays und GC/MS-Verfahren umfassen; Bestätigungsverfahren sind hochauflösende Gaschromatografie-Massenspektrometrie-Verfahren (HRGC/HRMS). Die folgenden Kriterien müssen vom Gesamt-TEQ-Wert erfüllt werden:

	Screening-Verfahren	Bestätigungsverfahren
Falsch negativer Anteil	< 1%	
Richtigkeit		–20% bis + 20%
Variationskoeffizient	< 30%	< 15%

6. Spezielle Anforderungen an GC/MS-Verfahren, wenn sie zu Screening- oder Bestätigungszwecken eingesetzt werden

- Die Addition von ^{13}C -markierten 2,3,7,8-chlorsubstituierten internen PCDD/F-Standards (und ^{13}C -markierten internen dioxinähnlichen PCB-Standards, sofern dioxinähnliche PCB zu bestimmen sind) ist ganz zu Anfang des Untersuchungsverfahrens, zB vor der Extraktion, durchzuführen, damit das Analyseverfahren validiert werden kann. Bei jeder der tetra- bis octa-chlorierten homologen Gruppen von PCDD/F (und bei jeder der homologen Gruppen von dioxinähnlichen PCB, sofern dioxinähnliche PCB zu bestimmen sind) muss mindestens ein Kongener addiert werden (alternativ dazu mindestens ein Kongener je massenspektrometrisch ausgewählter Ionenaufzeichnungsfunktion zur Überwachung von PCDD/F und dioxinähnlichen PCB). Im Fall der Bestätigungsverfahren ist die Verwendung aller 17 ^{13}C -markierten 2,3,7,8-substituierten internen PCDD/F-Standards und aller 12 ^{13}C -markierten internen dioxinähnlichen PCB-Standards eindeutig vorzuziehen (sofern dioxinähnliche PCB zu bestimmen sind).

Die relativen Responsefaktoren sollten mittels geeigneter Kalibrierlösungen auch für diejenigen Kongenere bestimmt werden, bei denen kein ^{13}C -markiertes Analogon addiert ist.

- Bei Lebensmitteln pflanzlichen Ursprungs und Lebensmitteln tierischen Ursprungs, die weniger als 10% Fett enthalten, ist die Addition der internen Standards vor der Extraktion obligatorisch. Bei Lebensmitteln tierischen Ursprungs, die mehr als 10% Fett enthalten, können die internen Standards entweder vor der Extraktion oder nach der Fettextraktion addiert werden. Die Extraktionseffizienz sollte auf geeignete Weise validiert werden, je nachdem, auf welcher Stufe interne Standards eingeführt und ob die Ergebnisse auf Produkt oder Fettbasis angegeben werden.
- Vor der GC/MS-Analyse ist/sind 1 oder 2 Wiederfindungs-(Surrogat-)Standard(s) zu addieren.
- Es ist eine Kontrolle der Wiederfindungsrate erforderlich. Bei Bestätigungsverfahren sollten die Wiederfindungsraten der einzelnen internen Standards im Bereich zwischen 60 und 120% liegen. Geringere oder höhere Wiederfindungsraten für einzelne Kongenere, insbesondere einiger hepta- und octachlorierte Dibenzodioxine und Dibenzofurane, können unter der Bedingung akzeptiert werden, dass ihr Beitrag zum TEQ-Wert 10% des gesamten TEQ-Wertes (nur für PCDD/F) nicht übersteigt. Bei Screening-Verfahren sollten die Wiederfindungen zwischen 30 und 140% liegen.
- Die Dioxine sollten von interferierenden chlorierten Verbindungen, wie zB PCB und chlorierten Diphenylethern, mittels geeigneter chromatografischer Verfahren getrennt werden (vorzugsweise mit Florisil-, Aluminiumoxid- und/oder Aktivkohlesäule).
- Die gaschromatografische Trennung von Isomeren sollte ausreichen (< 25% von Peak zu Peak zwischen 1,2,3,4,7,8-HxCDF und 1,2,3,6,7,8-HxCDF).
- Die Bestimmung sollte nach der EPA-Methode 1613 Revision B erfolgen: „Tetra-through octa-chlorinated dioxins and furans by isotope dilution HRGC/HRMS“ oder nach einer anderen Methode mit gleichwertigen Leistungskriterien.
- Bei Waren mit einer Dioxinkontamination von etwa 1 pg WHO-TEQ/g Fett sollte die Differenz zwischen oberer und unterer Grenze nicht mehr als 20% (nur für PCDD/PCDF) betragen. Bei Waren mit geringem Fettgehalt sind die gleichen Anforderungen bei einer Kontamination von etwa 1 pg WHO-TEQ/g Erzeugnis anzuwenden. Bei geringerer Kontamination, wie zB 0,50 pg WHO-TEQ/g Erzeugnis, kann die Differenz zwischen Obergrenze und Untergrenze im Bereich zwischen 25 und 40% liegen.

7. Screening-Verfahren

7.1. Einführung

Bei der Untersuchung gibt es verschiedene Vorgehensweisen mit einem Screening-Verfahren: das reine Screening und eine quantitative Untersuchung.

Screening

Die Response der Proben wird mit derjenigen einer Referenzprobe an der interessierenden Konzentration verglichen. Proben mit einer unter dem Referenzwert liegenden Response werden als negativ erklärt, diejenigen mit einer höheren Response als positiv vermutet. Anforderungen:

- Bei jeder Testreihe ist eine Blind- und eine Referenzprobe einzubeziehen, die zur gleichen Zeit und zu den gleichen Bedingungen extrahiert und untersucht werden. Die Referenzprobe muss im Vergleich zu einer Blindprobe eine deutlich erhöhte Response aufweisen.
- Zusätzliche Referenzproben von 0,5 x und 2 x die interessierende Konzentration sollten einbezogen werden, damit die ordnungsgemäße Durchführung des Tests in dem für die Kontrolle der interessierenden Konzentration relevanten Bereich nachgewiesen werden kann.
- Bei der Untersuchung anderer Matrizen ist die Eignung der Referenzproben nachzuweisen, vorzugsweise durch die Aufnahme von Proben, bei denen sich durch HRGC/HRMS ein TEQ-Gehalt vergleichbar mit dem der Referenzprobe ergeben hat, oder andernfalls von einer Blindprobe, die bis zu dieser Höhe aufgestockt wurde.
- Da in Bioassays keine internen Standards verwendet werden können, sind Wiederholbarkeitstests zur Erlangung von Informationen über die Standardabweichung innerhalb einer Testreihe sehr wichtig. Der Abweichungskoeffizient sollte unter 30% liegen.
- Bei Bioassays sollten Zielverbindungen, mögliche Interferenzen und die zulässigen Höchstwerte definiert werden.

Quantitative Untersuchung

Zur quantitativen Untersuchung sind Standardverdünnungsreihen, doppelte oder dreifache Clean up und Bestimmung sowie Blind- und Wiederfindungskontrollen erforderlich. Das Ergebnis kann in TEQ ausgedrückt werden, wobei davon ausgegangen wird, dass die für das Signal verantwortlichen Verbindungen dem TEQ-Prinzip entsprechen. Dies kann durch die Verwendung von TCDD (oder eine Dioxin-/Furanstandardmischung) durchgeführt werden, was eine Kalibrierungskurve ergibt, mit der der TEQ-Wert im Extrakt und somit in der Probe errechnet werden kann. Diese wird anschließend um den für eine Blindprobe (zur Berücksichtigung von Verunreinigungen durch Lösungsmittel und Chemikalien) errechneten TEQ-Wert und eine Wiederfindung (errechnet aus dem TEQ-Wert in einer Qualitätskontrollprobe von etwa der interessierenden Konzentration) korrigiert. Es sei hier darauf aufmerksam gemacht, dass der offensichtliche Wiederfindungsverlust teilweise auf Matrixeffekte und/oder Unterschiede zwischen den TEF-Werten in den Bioassays und den amtlichen TEF-Werten der WHO zurückzuführen sein kann.

7.2. Anforderungen an zum Screening verwendete Untersuchungsverfahren

- Zum Screening können GC/MS-Verfahren und Bioassays verwendet werden. Bei GC/MS-Verfahren sind die unter Punkt 6 festgelegten Anforderungen heranzuziehen. Für zellbasierte Bioassays sind spezielle Anforderungen unter Punkt 7.3 und für kit-basierte Bioassays unter Punkt 7.4 festgelegt.
- Es sind Informationen über die Anzahl falsch positiver und falsch negativer Ergebnisse eines großen Probensatzes unterhalb und oberhalb der Höchstwerte oder der Auslösewerte im Vergleich zum TEQ-Gehalt erforderlich, der durch ein Bestätigungsverfahren bestimmt wurde. Der tatsächliche Anteil der falsch negativen Ergebnisse sollte unter 1% betragen. Der Anteil der falsch positiven Proben sollte so gering sein, dass ein Screening von Vorteil ist.
- Positive Ergebnisse sind immer durch ein Bestätigungsverfahren zu bestätigen. Außerdem sollten die Proben aus einem großen TEQ-Bereich durch HRGC/HRMS (zirka 2 bis 10% der negativen Proben) bestätigt werden. Informationen über Übereinstimmungen von Bioassays mit HRGC/HRMS-Ergebnissen sollten zur Verfügung gestellt werden.

7.3. Spezielle Anforderungen an zellbasierte Bioassays

- Für jeden Testlauf in einem Bioassay ist eine Referenzkonzentrationsreihe von TCDD oder einem Dioxin-Furan-Gemisch (vollständige Dosis-Response-Kurve mit $R^2 > 0,95$) erforder-

lich. Zu Screening-Zwecken könnte eine erweiterte Kurve im Niedrigkonzentrationsbereich zur Untersuchung von Proben im Niedriggehaltbereich verwendet werden.

- Für das Ergebnis des Bioassays über einen konstanten Zeitraum hinweg sollte eine TCDD-Referenzkonzentration (etwa 3 x die Quantifizierungsgrenze) auf einem Qualitätskontrollblatt verwendet werden. Eine Alternative dazu wäre die relative Response einer Referenzprobe im Vergleich zur TCDD-Kalibrierungslinie, da die Response der Zellen von vielen Faktoren abhängen kann.
- Für jeden Typ Referenzmaterial sollten Qualitätskontroll-Charts aufgezeichnet und geprüft werden, damit sichergestellt ist, dass das Ergebnis mit den Leitlinien übereinstimmt.
- Insbesondere bei quantitativen Berechnungen muss die Induktion der Probenverdünnung innerhalb des linearen Teils der Response-Kurve liegen. Über dem linearen Teil der Response-Kurve liegende Proben sind zu verdünnen und neu zu testen. Daher wird empfohlen, immer mindestens drei oder mehr Lösungen zur gleichen Zeit zu testen.
- Die Standardabweichung sollte bei einer dreifachen Bestimmung einer Probenlösung nicht mehr als 15% betragen und zwischen drei unabhängigen Versuchen nicht mehr als 30%.
- Die Nachweisgrenze kann auf 3 x die Standardabweichung der Blindlösung oder der Hintergrund-Response festgelegt werden. Eine andere Möglichkeit wäre, auf die Gleichung der Kalibrierungskurve eine über dem Hintergrund liegende Response anzuwenden (Induktionsfaktor 5 x der Blindwert des Lösungsmittels), der anhand der Kalibrierungskurve des Tages berechnet wird. Die Quantifizierungsgrenze kann auf 5 bis 6 x die Standardabweichung der Blindlösung oder der Hintergrundresponse festgelegt werden, oder es kann eine Response über dem Hintergrund (Induktionsfaktor 10 x der Blindwert) angewandt werden, der anhand der Kalibrierungskurve des Tags berechnet wird.

7.4. Spezielle Anforderungen an Kit-basierte Bioassays ¹⁾

- Bei der Vorbereitung und Untersuchung der Proben sind die Anweisungen des Herstellers zu beachten.
- Testkits, deren Haltbarkeitsdatum abgelaufen ist, sollten nicht mehr verwendet werden.
- Es sollten keine Materialien oder Bestandteile verwendet werden, die zur Verwendung mit anderen Kits bestimmt sind.
- Die Testkits sollten zu den angegebenen Lagertemperaturen aufbewahrt und zu den angegebenen Betriebstemperaturen verwendet werden.
- Die Nachweisgrenze wird – basierend auf zehn Wiederholungen von Blinduntersuchungen (Blank) – als die dreifache Standardabweichung festgelegt, die durch den Anstieg der linearen Regressionsgleichung zu dividieren ist.
- Für die Labortests sollten Referenzstandards verwendet werden, damit sichergestellt ist, dass die Response des Standards im Test innerhalb eines akzeptablen Bereichs liegt.

8. Bericht über die Ergebnisse

Sofern das Untersuchungsverfahren dies zulässt, sollten die Untersuchungsergebnisse die Werte der einzelnen PCDD/F und PCB-Kongeneren enthalten und als Obergrenze und Untergrenze vorgelegt werden, damit möglichst viele Informationen in den Untersuchungsberichten enthalten sind und die Ergebnisse somit entsprechend den speziellen Anforderungen interpretiert werden können.

In dem Bericht sollte auch der Lipidgehalt der Probe sowie das zur Lipidextraktion verwendete Verfahren genannt werden.

Die Wiederfindungsraten der einzelnen internen Standards sind zur Verfügung zu stellen, sofern die Wiederfindungsraten außerhalb des unter Punkt 6 genannten Bereichs liegen und sofern diese den Höchstwert überschreiten, andernfalls auf Nachfrage.

¹⁾ Bislang wurde nicht nachgewiesen, dass im Handel erhältliche Kit-basierte Bioassays für das Screening von Warenproben auf das Vorhandensein von Dioxinen im fraglichen Bereich ausreichend empfindlich und zuverlässig sind.