Dieses Dokument ist lediglich eine Dokumentationsquelle, für deren Richtigkeit die Organe der Gemeinschaften keine Gewähr übernehmen

►**B**

RICHTLINIE 2002/70/EG DER KOMMISSION

vom 26. Juli 2002

zur Festlegung von Anforderungen an die Bestimmung der Gehalte an Dioxinen und dioxinähnlichen PCB in Futtermitteln

(Text von Bedeutung für den EWR)

(ABl. L 209 vom 6.8.2002, S. 15)

Geändert durch:

		Amtsblatt		
		Nr.	Seite	Datum
►**M1**	Richtlinie 2005/7/EG der Kommission vom 27. Januar 2005	L 27	41	29.1.2005

▼B

RICHTLINIE 2002/70/EG DER KOMMISSION

vom 26. Juli 2002

zur Festlegung von Anforderungen an die Bestimmung der Gehalte an Dioxinen und dioxinähnlichen PCB in Futtermitteln

(Text von Bedeutung für den EWR)

DIE KOMMISSION DER EUROPÄISCHEN GEMEINSCHAFTEN —

gestützt auf den Vertrag zur Gründung der Europäischen Gemeinschaft,

gestützt auf die Richtlinie 70/373/EWG des Rates vom 20. Juli 1970 über die Einführung gemeinschaftlicher Probenahmeverfahren und Analyseverfahren für die amtliche Untersuchung von Futtermitteln ([1]), zuletzt geändert durch die Akte über den Beitritt Österreichs, Finnlands und Schwedens, insbesondere auf Artikel 2,

in Erwägung nachstehender Gründe:

(1) Mit der Richtlinie 1999/29/EG des Rates vom 22. April 1999 über unerwünschte Stoffe und Erzeugnisse in der Tierernährung ([2]), zuletzt geändert durch die Richtlinie 2001/102/EG ([3]), wurden Höchstwerte für Dioxine und Furane in mehreren Futtermittelausgangserzeugnissen und Futtermitteln festgelegt.

(2) Es ist notwendig, Anforderungen festzulegen, denen das Analyseverfahren genügen sollte, damit die Laboratorien Analyseverfahren mit vergleichbarem Leistungsniveau anwenden.

(3) Die Bestimmungen für Probenahme und Analyseverfahren wurden nach dem heutigen Kenntnisstand festgelegt und können entsprechend dem wissenschaftlich-technischen Fortschritt angepasst werden.

(4) Die Bestimmungen dieser Richtlinie betreffen nur die Analyse von Dioxinen und dioxinähnlichen PCB zur Durchführung der Richtlinie 2001/102/EG zur Änderung der Richtlinie 1999/29/EG über unerwünschte Stoffe und Erzeugnisse in der Tierernährung.

(5) Es sollte aktiv vorgegangen werden, um umfassende und zuverlässige Daten über das Vorhandensein dioxinähnlicher PCB in Futtermittelausgangserzeugnissen und Futtermitteln zu erhalten. Daher sollten Anforderungen an die Analyseverfahren festgelegt werden, die zur Bestimmung von dioxinähnlichen PCB in Futtermittelausgangserzeugnissen und Futtermitteln verwendet werden sollen.

(6) Ein Screening-Verfahren mit nachgewiesener, weitgehend akzeptabler Validierung und mit großem Durchsatz könnte zur Auswahl der Proben mit einem signifikanten Dioxingehalt verwendet werden. Der Dioxingehalt dieser Proben muss dann durch ein Bestätigungsverfahren ermittelt werden. Daher ist es angezeigt, Anforderungen an die Bestätigungsverfahren und an das Screening-Verfahren festzulegen.

(7) Die in dieser Richtlinie vorgesehenen Maßnahmen stimmen mit der Stellungnahme des Ständigen Ausschusses für die Lebensmittelkette und Tiergesundheit überein —

HAT FOLGENDE RICHTLINIE ERLASSEN:

Artikel 1

Die Mitgliedstaaten stellen sicher, dass die Probenahme für die amtliche Kontrolle der Dioxin- und Furangehalte und die Bestimmung des Gehalts an dioxinähnlichen PCB in Futtermitteln entsprechend den in Anhang I aufgeführten Verfahren durchgeführt werden.

([1]) ABl. L 170 vom 3.8.1970, S. 2.
([2]) ABl. L 115 vom 4.5.1999, S. 32.
([3]) ABl. L 6 vom 10.1.2002, S. 45.

▼B

Artikel 2

Die Mitgliedstaaten stellen sicher, dass die Probenvorbereitung und die Untersuchungsverfahren, die zur amtlichen Kontrolle der Dioxin- und Furangehalte sowie zur Bestimmung des Gehalts an dioxinähnlichen PCB in Futtermitteln verwendet werden, die in Anhang II beschriebenen Kriterien erfüllen.

Artikel 3

Die Mitgliedstaaten setzen die erforderlichen Rechts- und Verwaltungsvorschriften in Kraft, um dieser Richtlinie bis spätestens 28. Februar 2003 nachzukommen. Sie setzen die Kommission umgehend davon in Kenntnis.

Wenn die Mitgliedstaaten derartige Vorschriften erlassen, nehmen sie in den Vorschriften selbst oder durch einen Hinweis bei der amtlichen Veröffentlichung auf die vorliegende Richtlinie Bezug. Die Mitgliedstaaten regeln die Einzelheiten dieser Bezugnahme.

Artikel 4

Diese Richtlinie tritt am zwanzigsten Tag nach ihrer Veröffentlichung im *Amtsblatt der Europäischen Gemeinschaften* in Kraft.

Artikel 5

Diese Richtlinie ist an alle Mitgliedstaaten gerichtet.

▼B

ANHANG I

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

▼M1

1. **Zweck und Anwendungsbereich**

Die zur amtlichen Kontrolle der Dioxingehalte (PCDD/PCDF) sowie zur Bestimmung der Gehalte an dioxinähnlichen PCB ([1]) in Futtermitteln vorgesehenen Proben sind entsprechend den Bestimmungen der Richtlinie 76/371/EWG zu entnehmen. Die quantitativen Anforderungen gemäß Nummer 5 Abschnitt A des Anhangs zur Richtlinie 76/371/EWG hinsichtlich der Kontrolle von Stoffen oder Erzeugnissen, die in den Futtermitteln gleichmäßig verteilt sind, sind anzuwenden. Die mit diesem Verfahren gewonnenen Sammelproben sind als repräsentativ für die betreffenden Partien oder Teilpartien anzusehen. Anhand der in den Laborproben bestimmten Gehalte wird festgestellt, ob die in der Richtlinie 2002/32/EG des Europäischen Parlaments und des Rates ([2]) festgesetzten Höchstgehalte eingehalten wurden.

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

Die Partie wird angenommen, wenn das Ergebnis einer Einzelanalyse den entsprechenden Höchstgehalt gemäß Richtlinie 2002/32/EG unter Berücksichtigung der Messungenauigkeit nicht überschreitet.

Die Partie erfüllt die Anforderungen an den Höchstgehalt gemäß Richtlinie 2002/32/EG nicht, wenn das durch doppelte Analyse bestätigte und als Mittelwert von mindestens zwei getrennten Bestimmungen berechnete Ergebnis den Höchstgehalt unter Berücksichtigung der Messungenauigkeit zweifelsfrei übersteigt.

Die Messungenauigkeit kann auf eine der beiden folgenden Arten berücksichtigt werden:

— durch Berechnung der erweiterten Ungenauigkeit bei einem Erweiterungsfaktor von 2, der zu einem Vertrauensniveau von ca. 95 % führt;

— durch Festlegung der Entscheidungsgrenze (CCα) gemäß der Entscheidung 2002/657/EG der Kommission ([3]) (im Anhang Nr. 3.1.2.5 — im Fall von Stoffen, für die ein zulässiger Grenzwert festgelegt worden ist).

([1]) Tabelle der dioxinähnlichen PCB

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**	**Mono-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	PCB 167	0,00001
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0,01	PCB 189	0,0001
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0,01		
OCDF	0,0001		

Abkürzungen: „T“ = tetra; „Pe“ = penta; „Hx“ = hexa; „Hp“ = hepta; „O“ = octa; „CDD“ = Chlordibenzo-p-dioxin; „CDF“ = Chlordibenzofuran; „CB“ = Chlorbiphenyl.

([2]) ABl. L 140 vom 30.5.2002, S. 10.
([3]) ABl. L 221 vom 17.8.2002, S. 8.

▼**M1**

Diese Auswertungsvorschriften gelten für das Analyseergebnis der zur amtlichen Kontrolle entnommenen Probe. Das Recht der Mitgliedstaaten, nationale Vorschriften für die Analyse zu Verteidigungs- oder Schiedszwecken gemäß Artikel 18 der Richtlinie 95/53/EG ([1]) anzuwenden, wird nicht davon berührt.

([1]) ABl. L 265 vom 8.11.1995, S. 17.

▼B

ANHANG II

PROBENVORBEREITUNG UND ANFORDERUNGEN AN UNTERSUCHUNGSVERFAHREN ZUR AMTLICHEN KONTROLLE DES GEHALTS AN DIOXINEN (PCDD/PCDF) UND ZUR BESTIMMUNG VON DIOXINÄHNLICHEN PCB IN BESTIMMTEN FUTTERMITTELN

1. **Zweck und Anwendungsbereich**

Diese Anforderungen sollten gestellt werden, wenn Futtermittelausgangserzeugnisse und Futtermittel zur Bestimmung des Gehalts an Dioxinen (polychlorierte Dibenzo-p-dioxine (PCDD) und polychlorierten Dibenzofuranen (PCDF)) sowie dioxinähnlichen polychlorierten Biphenylen (PCB) untersucht werden.

Bei der Überwachung auf das Vorhandensein von Dioxinen in Futtermitteln kann ein Screening-Verfahren angewandt werden, mit dessen Hilfe diejenigen Proben ausgewählt werden, deren Gehalt an Dioxinen und dioxinähnlichen PCB weniger als 30-40 % unterhalb des interessierenden Wertes oder darüber liegt. Die Dioxinkonzentration in diesen Proben mit signifikantem Gehalt muss dann durch ein 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 Lebensmitteln) im Allgemeinen komplexe Mischungen verschiedener Dioxin-Congenere 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 des Anhangs I).

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.

Das Konzept der „Obergrenze“ setzt voraus, dass der Beitrag jedes nicht quantifizierten Congeners zum TEQ mit der Bestimmungsgrenze gleichgesetzt wird.

Das Konzept der „Untergrenze“ setzt voraus, dass der Beitrag jedes nicht quantifizierten Congeners zum TEQ mit Null veranschlagt wird.

Das Konzept des „Zwischenwerts“ setzt voraus, dass der Beitrag jedes nicht quantifizierten Congeners zum TEQ mit der Hälfte der Bestimmungsgrenze gleichgesetzt wird.

▼M1

Ausschließlich für die Zwecke dieser Richtlinie gilt als akzeptierte spezifische Nachweisgrenze eines gegebenen Kongeners die Konzentration des Kongoners in einem Probenextrakt, die eine Instrumentenreaktion auf die beiden zu messenden Ionen hervorruft mit einem Signal-Rausch-Verhältnis von 3:1 für das schwächste Signal, und die die Grundanforderungen erfüllt, wie z. B. Retentionszeit und Isotopenverhältnis gemäß dem Bestimmungsverfahren nach der Beschreibung in der EPA-Methode 1613 Revision B.

▼B

3. **Anforderungen an die Qualitätssicherung bei der Probenvorbereitung**

Es gelten die allgemeinen Bestimmungen über die Vorbereitung der Proben zur Analyse gemäß dem Anhang zur Richtlinie 81/680/EWG der Kommission vom 30. Juli 1981 zur Änderung der Richtlinien 71/250/

▼B

EWG, 71/393/EWG, 72/199/EWG, 73/46/EWG, 74/203/EWG, 75/84/EWG, 76/372/EWG und 78/633/EWG zur Festlegung gemeinschaftlicher Analysemethoden für die amtliche Untersuchung von Futtermitteln ([1]).

Darüber hinaus müssen folgende Anforderungen erfüllt sein:

— 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.

— 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.

4. **Anforderungen an Laboratorien**

— Die Laboratorien führen den Nachweis der Leistungsfähigkeit eines Verfahrens im Bereich der interessierenden Konzentration, z. B. 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 Interlaborstudien zur Bewertung der Leistung von Laboratorien ist der beste Weg, bei spezifischen Untersuchungen Kompetenz nachzuweisen. Eine erfolgreiche Teilnahme an Interlaborstudien, z. B. über Boden- oder Abwasserproben, belegt jedoch nicht zwangsläufig auch eine Kompetenz im Bereich Lebensmittel- oder Futtermittelproben, die eine geringere Kontamination aufweisen. Daher ist die ständige Teilnahme an Interlaborstudien zur Ermittlung des Gehalts an Dioxin und dioxinähnlichen PCB in den entsprechenden Futtermittel-/Lebensmittelmatrizen obligatorisch.

— Gemäß den Bestimmungen der Richtlinie 93/99/EWG des Rates 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 sollten gemäß der Norm ISO/IEC/17025/1999 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-Congeneren ist eine Messempfindlichkeit im Bereich Nanogramm (10^{-9} g) bereits ausreichend. Zur Messung der toxischeren dioxinähnlichen PCB-Congenere (insbesondere der non-orthosubstituierten Congenere) muss jedoch die gleiche Messempfindlichkeit erreicht werden wie für die PCDD und PCDF.

— *Hohe Selektivität/Spezifizität*. 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

([1]) ABl. L 246 vom 29.8.1981, S. 32.

▼B

Unterscheidung zwischen verschiedenen Congeneren erforderlich, wie z. B. zwischen toxischen (z. B. die siebzehn 2,3,7,8-substituierten PCDD und PCDF sowie dioxinähnliche PCB) und anderen Congeneren. 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 und zuverlässige 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 aufgrund 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, 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-/hochauflösende 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 %
Variationskoefficient	< 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 gleich zu Beginn des Analyseverfahrens — d. h. 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 Congener addiert werden (alternativ dazu mindestens ein Congener 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 Congenere bestimmt werden, bei denen kein ^{13}C-markiertes Analogon addiert ist.

— Bei Futtermitteln pflanzlichen Ursprungs und Futtermittel tierischen Ursprungs, die weniger als 10 % Fett enthalten, ist die Addition der internen Standards vor der Extraktion obligatorisch. Bei Futtermitteln 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 zwei Wiederfindungs-(Surrogat-) Standard(s) zu addieren.

— Es ist eine Wiederfindungskontrolle erforderlich. Bei Bestätigungsverfahren sollten die Wiederfindungen der einzelnen internen Standards im Bereich von 60 bis 120 % liegen. Geringere oder höhere Wiederfindungen für einzelne Congenere, insbesondere einiger hepta- und

▼B

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 im Bereich von 30 bis 140 % liegen.

— Die Dioxine sollten von interferierenden chlorierten Verbindungen, wie z. B. PCB und chlorierten Diphenylethern, mittels geeigneter chromatografischer Verfahren getrennt werden (vorzugsweise mit Florisil-, Aluminiumoxid- und/oder Kohlenstoffsäule).

— 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 einer anderen Methode mit gleichwertigen Leistungskriterien.

— Bei Futtermitteln, deren Dioxinkontamination im Bereich des Höchstwerts oder darüber liegt, sollte die Differenz zwischen oberer und unterer Bestimmungsgrenze nicht mehr als 20 % betragen. Bei Futtermitteln mit einer wesentlich unterhalb der Höchstgrenze liegenden Kontamination kann die Differenz im Bereich von 25 bis 40 % liegen.

7. **Screening-Verfahren**

7.1. *Einführung*

Ein Screening-Verfahren kann zu unterschiedlichen analytischen Zwecken eingesetzt werden: zum reinen Screening und zur quantitativen Untersuchung.

Screening

Die Response der Proben wird mit derjenigen einer Referenzprobe mit der interessierenden Konzentration verglichen. Proben mit einer niedrigeren Response als die Referenzprobe 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, deren Konzentration das 0,5- und 2-fache der interessierenden Konzentration beträgt, 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-ups und Messungen 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 mit etwa der interessierenden Konzentration) korrigiert. Es sei hier darauf aufmerksam gemacht, dass der offensichtliche Wiederfin-

▼B

dungsverlust teilweise auf Matrixeffekte und/oder auf die 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 könnten GC/MS-Verfahren und Bioassays verwendet werden. Bei GC/MS-Verfahren sind die unter Ziffer 6 festgelegten Anforderungen heranzuziehen. Für zellbasierte Bioassays sind spezielle Anforderungen unter Ziffer 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 erforderlich, im Vergleich zum TEQ-Gehalt, 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 (ca. 2-10 % 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 $R^2 > 0{,}95$) erforderlich. 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 Bestimmungsgrenze) 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 das 3-fache der Standardabweichung der Blindlösung oder der Hintergrund-Response festgelegt werden. Eine andere Möglichkeit wäre, eine über dem Hintergrund liegende Response (Induktionsfaktor 5 x der Blindwert des Lösungsmittels) anzuwenden, die anhand der Kalibrierungskurve des Tages berechnet wird. Die Bestimmungsgrenze kann auf das 5- bis 6-fache der Standardabweichung der Blindlösung oder der Hintergrund-Response festgelegt werden, oder es kann eine deutlich über dem Hintergrund liegende Response angewandt werden (Induktionsfaktor 10 x der Blindwert des Lösungsmittels), die anhand der Kalibrierungskurve des Tages 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.

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

▼B

— 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 bei den angegebenen Lagertemperaturen aufbewahrt und bei den angegebenen Betriebstemperaturen verwendet werden.

— Die Nachweisgrenze für Immunoassays wird bestimmt als Summe aus dem Mittelwert und der 3-fachen Standardabweichung von 10 Untersuchungen des Blindwerts, dividiert durch den Richtungskoeffizienten der linearen Regressionsgleichung.

— 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-Congenere 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 Wiederfindungen der einzelnen internen Standards sind zur Verfügung zu stellen, sofern die Wiederfindungen außerhalb des in Nummer 6 genannten Bereichs liegen, sofern der Höchstwert überschritten wird und andernfalls auf Anforderung.