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

►**B**

RICHTLINIE 2002/69/EG DER KOMMISSION

vom ►C1 30. Juli 2002 ◄

zur Festlegung der Probenahme- und Untersuchungsverfahren für die amtliche Kontrolle von Dioxinen sowie zur Bestimmung von dioxinähnlichen PCB in Lebensmitteln

(Text von Bedeutung für den EWR)

(ABl. L 209 vom 6.8.2002, S. 5)

Berichtigt durch:

►**C1** Berichtigung, ABl. L 252 vom 20.9.2002, S. 40 (2002/69/EG)

▼B

RICHTLINIE 2002/69/EG DER KOMMISSION

vom ►C1 30. Juli 2002 ◄

zur Festlegung der Probenahme- und Untersuchungsverfahren für die amtliche Kontrolle von Dioxinen sowie zur Bestimmung von dioxinähnlichen PCB in Lebensmitteln

(Text von Bedeutung für den EWR)

DIE KOMMISSION DER EUROPÄISCHEN GEMEINSCHAFTEN —

gestützt auf den Vertrag zur Gründung der Europäischen Gemeinschaft,

gestützt auf die Richtlinie 85/591/EWG des Rates vom 20. Dezember 1985 zur Einführung gemeinschaftlicher Probenahmeverfahren und Analyseverfahren für die Kontrolle von Lebensmitteln [1], ►C1 insbesondere auf Artikel 1 Absatz 4 ◄,

in Erwägung nachstehender Gründe:

(1) Mit der Verordnung (EG) Nr. 466/2001 der Kommission [2], zuletzt geändert durch die Verordnung (EG) Nr. 563/2002 [3] und geändert durch die Verordnung (EG) Nr. 2375/2001 des Rates [4], werden Höchstwerte für Dioxine und Furane in bestimmten Lebensmitteln festgelegt.

(2) Mit der Richtlinie 89/397/EWG des Rates vom 14. Juni 1989 über die amtliche Lebensmittelüberwachung [5] wurden die allgemeinen Grundsätze für die Durchführung von Lebensmittelkontrollen festgelegt. Mit der Richtlinie 93/99/EWG des Rates vom 29. Oktober 1993 über zusätzliche Maßnahmen im Bereich der amtlichen Lebensmittelüberwachung [6] wird ein System von Qualitätsstandards für Laboratorien eingeführt, die von den Mitgliedstaaten mit der amtlichen Kontrolle von Lebensmitteln betraut sind.

(3) Mit der Richtlinie 85/591/EWG wurden allgemeine Kriterien für Probenahme- und Analyseverfahren festgelegt. In bestimmten Fällen müssen jedoch spezifischere Kriterien und/oder Anforderungen an das Analyseverfahren festgelegt werden, damit sichergestellt ist, dass die Laboratorien Analyseverfahren mit vergleichbarem Leistungsniveau anwenden.

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

(5) Die Bestimmungen dieser Richtlinie gelten nur für die Probenahme und Analyse von Dioxinen und dioxinähnlichen PCB zur Durchführung der Verordnung (EG) Nr. 466/2001 und betreffen nicht das Probenahmeverfahren, den Umfang und die Häufigkeit der Proben gemäß den Anhängen III und IV der Richtlinie 96/23/EG des Rates vom 29. April 1996 über Kontrollmaßnahmen hinsichtlich bestimmter Stoffe und ihrer Rückstände in lebenden Tieren und tierischen Erzeugnissen und zur Aufhebung der Richtlinien 85/358/EWG und 86/469/EWG und der Entscheidungen 89/187/EWG und 91/664/EWG [7]. Sie betreffen nicht die in der Entscheidung 98/179/EG der Kommission vom 23. Februar 1998 mit Durchführungsvorschriften für die amtlichen Probenahmen zur Kontrolle von lebenden Tieren und tierischen Erzeugnissen auf bestimmte Stoffe und Rückstände festgelegten Zielkriterien für die Probenahme [8].

---

[1] ABl. L 372 vom 31.12.1985, S. 50.
[2] ABl. L 77 vom 16.3.2001, S. 1.
[3] ABl. L 86 vom 3.4.2002, S. 5.
[4] ABl. L 321 vom 6.12.2001, S. 1.
[5] ABl. L 186 vom 30.6.1989, S. 23.
[6] ABl. L 290 vom 24.11.1993, S. 14.
[7] ABl. L 125 vom 23.5.1996, S. 10.
[8] ABl. L 65 vom 5.3.1998, S. 31.

▼B

(6) Zur Erlangung umfassender und zuverlässiger Daten über das Vorhandensein dioxinähnlicher PCB in Lebensmitteln sollte ein aktiver Ansatz verfolgt werden. Daher sollten Anforderungen an die Analyseverfahren zur Bestimmung von dioxinähnlichen PCB in Lebensmitteln festgelegt werden.

(7) Ein Screening-Verfahren mit nachgewiesener, allgemein akzeptabler Validierung und 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, strenge Anforderungen an die Bestätigungsverfahren und Mindestanforderungen an das Screening-Verfahren festzulegen.

(8) 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 Lebensmitteln entsprechend den in Anhang I aufgeführten Verfahren durchgeführt werden.

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 Lebensmitteln 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 BESTIMMUNG DIOXINÄHNLICHER PCB IN BESTIMMTEN LEBENSMITTELN

1. **Zweck und Anwendungsbereich**

Die zur amtlichen Kontrolle der Dioxingehalte (PCDD/PCDF) sowie zur Bestimmung der Gehalte an dioxinähnlichen PCB [1] in Lebensmitteln bestimmten Proben sind entsprechend den unten beschriebenen Verfahren zu nehmen. Die mit diesem Verfahren gewonnenen Sammelproben sind als repräsentativ für die betreffenden Partien bzw. Teilpartien 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.

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

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

▼B

2. **Definitionen**

Partie: Eine unterscheidbare Menge eines in einer Sendung angelieferten Lebensmittels, das 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.

3. **Allgemeine Bestimmungen**

3.1. *Personal*

Die Probenahme wird von einer durch die Mitgliedstaaten bevollmächtigten 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 1 kg, außer wenn dies nicht praktisch ist, z. B. wenn eine einzige Packung beprobt wurde.

3.6. *Untergliederung von Sammelproben in Laborproben für Durchsetzungs-, Verteidigungs- und Schiedszwecke*

Die Laborproben für Durchsetzungs-, Handels- (Verteidigungs-) und Schiedszwecke sind von der homogenisierten Sammelprobe zu nehmen, sofern dies nicht gegen die Probenahmevorschriften der Mitgliedstaaten verstößt. Die Laborproben für Durchsetzungszwecke müssen ausreichend groß sein, dass sie zumindest eine doppelte Analyse ermöglichen.

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 gemäß den Vorschriften der Mitgliedstaaten 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

▼B

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, 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 12 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

[1] ABl. L 303 vom 6.11.1997, S. 12.

▼B

eine zweite Untersuchung erforderlich ist, wenn der Mittelwert dem Höchstgehalt entspricht.

▼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 LEBENSMITTELN

1. **Zweck und Anwendungsbereich**

Diese Anforderungen sollten gestellt werden, wenn Lebensmittel 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 Lebensmitteln 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 Lebensmitteln) im Allgemeinen komplexe Mischungen verschiedener Dioxin-Kongenere 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 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.

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

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

Zur Berechnung des „Zwischenwerts“ wird der Beitrag jedes nicht bestimmbaren 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 Lebensmittelprobe 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 (z. B. Mahlung so fein, dass die Probe durch ein Sieb mit einer Maschenweite von 1 mm ►C1 gehen kann ◄); falls die Feuchtigkeit zu hoch ist, sind die Proben vor der Mahlung zu trocknen.

▼B

— 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, 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 Laborvergleichsuntersuchungen zur Bewertung der Leistung von Laboratorien ist der beste Weg, bei spezifischen Untersuchungen Kompetenz nachzuweisen. Eine erfolgreiche Teilnahme an Laborvergleichsuntersuchungen, z. B. über Boden- oder Abwasserproben, belegt jedoch nicht zwangsläufig auch eine Kompetenz im Bereich Lebensmittel- oder Futtermittelproben, 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 Futtermittel-/Lebensmittelmatrizen 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 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-Kongeneren ist eine Messempfindlichkeit im Bereich Nanogramm (10^{-9} g) bereits ausreichend. Zur Messung der toxischeren dioxinähnlichen PCB-Kongenere (insbesondere der non-orthosubstituierten Kongenere) 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 Unterscheidung zwischen verschiedenen Kongeneren erforderlich, wie z. B. zwischen toxischen Kongeneren (z. B. 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 aufgrund der geringen Zuverlässigkeit der TEQ-Schätzung vermieden wird. Genauigkeit wird ausgedrückt als Richtigkeit (Differenz zwischen dem

▼B

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, z. B. 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 Wiederfindungsrate 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 z. B. 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.

▼B

— Bei Lebensmitteln 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 Lebensmitteln mit geringem Fettgehalt sind die gleichen Anforderungen bei einer Kontamination von etwa 1 pg WHO-TEQ/g Erzeugnis anzuwenden. Bei geringerer Kontamination, wie z. B. 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.

▼B

— 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 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 Kalibrierungskuve 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 10 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-Kongenere 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.

[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

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.