

25. Juli 2025

Laborvergleichsuntersuchung für Alternariatoxine in Paprikapulver

Das Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) führte in den Jahren 2023 und 2024 in seiner Funktion als Nationales Referenzlabor (NRL) für Mykotoxine und Pflanzentoxine in Lebens- und Futtermitteln eine Laborvergleichsuntersuchung zur Analyse der Alternariatoxine Tenuazonensäure (TEA), Alternariol (AOH), Altenuen (ALT), Tentoxin (TEN) und Alternariolmonomethylether (AME) durch. Für die Laborvergleichsuntersuchung hatten sich 18 Labore angemeldet, von denen 17 Ergebnisse eingereicht hatten. Die Laboratorien waren entweder als amtliche Laboratorien der Länder oder als Auftragslaboratorien in der Lebensmittelüberwachung tätig.

Das Ziel dieser Laborvergleichsuntersuchung war es, die Leistungsfähigkeit der teilnehmenden Labore bei der Analyse von Alternariatoxinen in Paprikapulver und in rekonstituierten Kontroll-Dünnsfilmen zu bewerten. Für jedes zu untersuchende Alternariatoxin wurden individuelle Analysenergebnisse abgegeben, worüber statistische Kenngrößen für die LVU ermittelt werden konnten.

Die zur Analyse versandte Paprikapulverprobe war – bis auf ALT – auf natürliche Weise mit den zu bestimmenden Alternariatoxinen belastet. Deshalb wurde auf eine Dotierung mit den Analyten verzichtet. Ein Kontrollstandard-Mix mit TEA, AOH, ALT, TEN und AME wurde vom NRL vorbereitet und als Kontroll-Dünnsfilm vorgehalten. Sowohl das Paprikapulver als auch die rekonstituierten Kontroll-Dünnsfilme wurden vor Versand an die teilnehmenden Labore einer Homogenitätsprüfung unterzogen.

Alle Labore verwendeten zur Detektion Flüssigchromatografie gekoppelt mit Tandem-Massenspektrometrie (HPLC-MS/MS). Die angegebenen Bestimmungsgrenzen (LOQ, limit of quantification) für TEA reichten dabei von 1 bis 500 µg TEA/kg Paprikapulver. Für die weiteren Alternariatoxine AOH, ALT, TEN und AME wurden LOQs zwischen 1 und 50 µg/kg Paprikapulver angegeben.

Aus den 17 eingereichten Ergebnissen wurde der robuste Mittelwert (Konsenswert) für jedes Alternariatoxin errechnet, der nachfolgend als assigned value bezeichnet wird. Die Leistungsfähigkeit der teilnehmenden Labore wurde

über den z- bzw. z'-score ausgedrückt und für jedes Alternariatoxin in Paprikapulver und in rekonstituiertem Kontroll-Dünnsfilm individuell angegeben.

Die in Paprikapulver bestimmten Gehalte reichten von 12,120 bis 25,175 µg TEA/kg; 21,77 bis 48,70 µg AOH/kg; 10,20 bis 25,33 µg TEN/kg und 11,57 bis 30,93 µg AME/kg. Im rekonstituierten Kontroll-Dünnsfilm wurden über alle Alternariatoxine Konzentrationen zwischen 13,13 und 47,50 ng/mL bestimmt.

Anhand der ermittelten z- bzw. z'-scores wird gefolgert, dass die teilnehmenden Labore über Analysemethoden verfügen, die zur Bestimmung von Alternariatoxinen in Paprikapulver geeignet sind.

Inhalt

1	Einleitung	5
2	Probenmaterial der Laborvergleichsuntersuchung	6
2.1	Ziel der Laborvergleichsuntersuchung	6
2.2	Vorbereitung des Probenmaterials	6
2.3	Charakterisierung der Probenmaterials	6
2.3.1	Aufarbeitung und Analyse von Paprikapulver	6
2.3.2	Analyse von TEA (dilute-and-shoot-Ansatz)	7
2.3.3	Analyse von AOH, ALT, TEN und AME (QuEChERS-Aufarbeitung)	7
2.3.4	Rücklösen der Kontroll-Dünnsfilme	7
2.4	Homogenität und mittlere Gehalte des Probenmaterials	7
2.5	Stabilität des Paprikapulvers und der Kontroll-Dünnsfilme	8
3	Organisation der Laborvergleichsuntersuchung	9
3.1	Teilnehmende Labore	9
3.2	Probenversand und Anweisungen	9
4	Datenauswertung	10
4.1	Berechnung des Konsenswerts (assigned value)	10
4.2	Zielstandardabweichung der Leistungsbeurteilung	10
4.3	Quantitative Leistungskennzahlen (z- und z'-scores)	10
4.4	Auswertung nicht-quantifizierter Ergebnisse	11
4.5	Falsch positive und falsch negative Ergebnisse	11
5	Leistungsbeurteilung	12
5.1	Bestimmungsgrenze (Limit of Quantification, LOQ)	12
5.2	Performance	12
5.3	Analytische Methoden	13
5.4	Extraktionsmethoden	14
5.5	Robuste relative Standardabweichung	14
6	Ergebniszusammenfassung	16
7	Referenzen	17
8	Tabellenverzeichnis	18
9	Anhänge	19
9.1	Anhang 1 – Teilnehmende Labore	19
9.2	Anhang 2 – Zuordnung der Proben	19
9.3	Anhang 3 – Statistische Auswertung der Homogenitätsuntersuchung von Paprikapulver	20

9.4 Anhang 4 – Statistische Auswertung der Homogenitätsuntersuchung der Kontroll-Dünnsfilme.....	21
9.5 Anhang 5 – Statistische Auswertung der Stabilitätsuntersuchung in Paprikapulver	22
9.6 Anhang 6 – Statistische Auswertung der Stabilitätsuntersuchung bei rekonstituierten Kontroll-Dünnsfilmen.....	23
9.7 Anhang 7 – Anweisungen zur Laborvergleichsuntersuchung bei Probenversand	24
9.8 Anhang 8 – LOQ für Paprikapulverproben	29
9.9 Anhang 9 – Aufarbeitungsmethoden für TEA	30
9.10 Anhang 10 – Aufarbeitungsmethoden für AOH, ALT, TEN und AME	32
9.11 Anhang 11 – Details der analytischen Methoden	34
9.12 Anhang 12 – Masse-/Ladungsübergänge für TEA.....	35
9.13 Anhang 13 – Masse-/Ladungsübergänge für AOH	36
9.14 Anhang 14 – Masse-/Ladungsübergänge für ALT.....	37
9.15 Anhang 15 – Masse-/Ladungsübergänge für TEN	38
9.16 Anhang 16 – Masse-/Ladungsübergänge für AME	39
9.17 Anhang 17 – Standardanbieter	40
9.18 Anhang 18 – Prüfung von nativen Standards und Verwendung von internen Standards	41
9.19 Anhang 19 – Kalibrierung und Einsatz des internen Standards.....	42
9.20 Anhang 20 – Ergebnisse der Untersuchung von Paprikapulverprobe	43
9.21 Anhang 21 – Ergebnisse der Untersuchung des rekonstituierten Kontroll-Dünnsfilms	44
9.22 Anhang 22 – Graphische Darstellung der z- und z'-scores	45
Impressum	46

1 Einleitung

Für die Laborvergleichsuntersuchung wurden die Mykotoxine TEA, AOH, ALT, TEN und AME untersucht.

Derzeit sind in Verordnung (EU) 2023/915^[1] keine rechtlich verbindlichen Höchstgehalte für Alternariatoxine in Lebensmitteln festgesetzt. Mit Empfehlung (EU) 2022/553^[2] wurden Richtwerte für ausgewählte Alternariatoxine festgelegt mit dem Ziel, deren Kontamination zu überwachen und Faktoren zu ermitteln, die zu hohen Werten hiervon in bestimmten Lebensmitteln führen.

Empfehlung (EU) 2022/553 führt für Paprikapulver einen Richtwert von 10.000 µg/kg TEA auf. Infolgedessen hat das nationale Lebensmittel-Monitoringprogramm gemäß §§50-52 LFGB^[3] das Monitoringprojekt *Alternariatoxine in Paprikapulver* veranlasst, um die Datenbasis für diese Analyt-Matrix-Kombination zu erweitern. Das NRL für Mykotoxine und Pflanzentoxine begleitete das nationale Lebensmittel-Monitoringprogramm durch die Vorbereitung und Ausrichtung einer Laborvergleichsuntersuchung mit dem Ziel, die Kompetenz der jeweiligen Labore (siehe 9.1) zu prüfen.

Im Untersuchungsplan laut Monitoringprogramm sind mindesteinzuhaltende Bestimmungsgrenzen (meBG) von je 500 µg/kg TEA, 20 µg/kg AOH, 20 µg/kg ALT, 10 µg/kg TEN und 10 µg/kg AME für angebotene Paprikapulver vorgesehen.

¹ Zuletzt geändert durch Art. 1 VO (EU) 2024/1808 vom 1.7.2024; <http://data.europa.eu/eli/reg/2024/1808/oj>

² In der Fassung vom 5. April 2022; <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/DE/TXT/HTML/?uri=CELEX:32022H0553&qid=1719995899142>

³ Lebensmittel-, Bedarfsgegenstände- und Futtermittelgesetzbuch, in der Fassung der Bekanntmachung vom 15. September 2021

2 Probenmaterial der Laborvergleichsuntersuchung

2.1 Ziel der Laborvergleichsuntersuchung

Im Rahmen dieser Laborvergleichsuntersuchung sollten die Alternariatoxine TEA, AOH, ALT, TEN und AME in Paprikapulver und einem rekonstituierten Kontroll-Dünnsfilm untersucht und quantifiziert werden. Dabei war es den teilnehmenden Laboren freigestellt, welche Aufarbeitungs- und Messmethoden sie verwenden.

2.2 Vorbereitung des Probenmaterials

3 kg eines kommerziell erhältlichen Paprikapulvers wurden mithilfe einer Zentrifugalmühle auf eine Partikelgröße von 250 µm gemahlen. Das Paprikapulver war auf natürliche Weise mit den Mykotoxinen TEA, AOH, TEN und AME belastet, es wurden keine Alternariatoxine hinzudotiert.

Kontrollstandard-Mixe wurden in silanisierten HPLC-Glasvials als Dünnsfilme zwischenlagert, indem geeignete Alternariatoxin-Standards von TEA, AOH, ALT, TEN und AME vereint, verdünnt und mithilfe eines Rotationsvakuumkonzentrators zur Trockene eingedampft wurden. Die so erhaltenen Paprikapulverproben und Kontroll-Dünnsfilme wurden im Tiefkühler bei -20 °C gelagert.

2.3 Charakterisierung der Probenmaterials

Das Paprikapulver wurde mithilfe eines Rhönrads-Mischers homogenisiert und in Portionen zu je 50 g luft- und lichtgeschützt in aluminiumbeschichteten Polyethylenbeuteln eingeschweißt. Alle Beutel wurden jeweils mit der Codierung „P-KM-23_503-xx“ und alle Dünnsfilme des Kontrollstandard-Mixes mit der Codierung „2023_KM_Mix_80/SL xx“ versehen, wobei „xx“ eine fortlaufende Nummerierung darstellt.

Die Proben, die an die teilnehmenden Labore verschickt wurden, sind in Kapitel 9.2 zusammengestellt. Die zur Homogenitäts- und Stabilitätsuntersuchung herangezogenen Paprikapulverproben und Kontroll-Dünnsfilme wurden zufällig ausgewählt.

2.3.1 Aufarbeitung und Analyse von Paprikapulver

Für die Untersuchung von Paprikapulver auf AOH, ALT, TEN und AME wurde eine Methode des NRL für Mykotoxine und Pflanzentoxine verwendet, die auf einer adaptierten Methode zur Bestimmung von Alternariatoxinen in Sonnenblumenkernen basiert.

Für die Aufarbeitung und Analyse wurden 2 g Paprikapulver in einem 50 mL Zentrifugenröhrchen mit 20 mL Extraktionsmittel versetzt (Acetonitril/Wasser/Essigsäure 10/9,8/0,2; v/v/v), für 30 Minuten turbular geschüttelt und der Rohextrakt anschließend für 5 Minuten bei Raumtemperatur und 3500 g zentrifugiert. Die Methode sieht eine Anreicherung mittels QuEChERS-Extraktion vor, es resultieren eine hohe Empfindlichkeit und eine niedrige Bestimmungsgrenze der Alternariatoxine bei Paprikapulvern.

Aus Empfehlung (EU) 2022/553 geht hervor, dass Paprikapulver TEA-Gehalte in der Größenordnung von über 10.000 µg/kg aufweisen können. Für derart hohe Gehalte ist

abweichend keine Probenanreicherung über QuEChERS-Aufarbeitung erforderlich, sodass für die Quantifizierung von TEA ein dilute-and-shoot-Ansatz direkt aus dem zentrifugierten Rohextrakt gewählt wurde.

2.3.2 Analyse von TEA (dilute-and-shoot-Ansatz)

100 µL des nach Zentrifugation erhaltenen Rohextrakts wurden mit 880 µL Injektionslösemittel (Acetonitril/200 mM wässriges Ammoniumacetat, 25/75; v/v) und 20 µL internem Standard-Mix (5 µg IS-TEA/mL und je 1 µg der übrigen IS-Alternariatoxine/mL) versetzt und in einem HPLC-Vial mit integriertem Filter (PTFE Filter; 0,2 µm Porengröße) durchmischt, filtriert und per HPLC-MS/MS analysiert.

2.3.3 Analyse von AOH, ALT, TEN und AME (QuEChERS-Aufarbeitung)

Zum verbleibenden, zentrifugierten Rohextrakt wurden 5 g der QuEChERS-Salzmischung gegeben (4 g MgCl₂ und 1 g NaCl) und kurz kräftig per Hand geschüttelt, um Klumpenbildung zu vermeiden. Anschließend wurde 5 Minuten turbular geschüttelt und 100 µL des internen Standard-Mixes zugegeben (5 µg IS-TEA/mL und je 1 µg der übrigen IS-Alternariatoxine/mL). Danach wurde für weitere 5 Minuten turbular geschüttelt und 5 Minuten bei 3500 g und Raumtemperatur zentrifugiert.

5 mL der organischen Phase wurden in ein 15 mL Zentrifugenröhrchen überführt und dort mit 5 mL Cyclohexan und 10 mg Natriumacetat versetzt. Es wurde 5 Minuten geschüttelt und 5 Minuten bei 3500 g und Raumtemperatur zentrifugiert. Die Hexan-Phase wurde verworfen und 1 mL der verbleibenden Lösung in ein silanisiertes Reagenzglas überführt, wo sie unter einem Stickstoffstrom und bei 50 °C bis zur Trockene eingedampft wurde. Der Rückstand wurde in 500 µL Injektionslösemittel (Acetonitril/200 mM wässriges Ammoniumacetat; 25/75; v/v) rückgelöst, 10 Minuten geschüttelt und anschließend in ein HPLC-Vial mit integriertem Filter überführt und per HPLC-MS/MS analysiert.

2.3.4 Rücklösen der Kontroll-Dünnefilme

Die als Dünnefilme vorbereiteten Kontrollstandard-Mixe wurden in 980 µL Injektionslösemittel (Acetonitril/200 mM wässriges Ammoniumacetat; 25v/75v) unter Zusatz von 20 µL des internen Standard-Mixes (5 µg IS-TEA/mL und je 1 µg der übrigen IS-Alternariatoxine/mL) rückgelöst und 30 Minuten geschüttelt.

2.4 Homogenität und mittlere Gehalte des Probenmaterials

Zur Überprüfung der Homogenität des Paprikapulvers und der Kontroll-Dünnefilme wurden jeweils 10 zufällig ausgewählte Probenabpackungen und Dünnefilme ausgewählt.

Die Paprikapulverproben wurden als Duplikate eingewogen, nach den oben genannten Methoden aufgearbeitet und in Doppelbestimmung analysiert. Die Kontroll-Dünnefilme wurden rückgelöst und ebenfalls in Doppelbestimmung analysiert (siehe Kapitel 9.3 und 9.4).

Die Mittelwerte aus den Untersuchungen zur Homogenität der Probenmaterialien sind in der Tabelle 1 zusammengefasst.

Tabelle 1: Mittlere Toxingehalte im Paprikapulver und im Dünnsfilm, ermittelt im Rahmen der Untersuchung zur Homogenität. [n.d. = nicht detektierbar]

Analyt	Gehalt in Paprikapulver [µg/kg]	Konzentration im rekonstituierten Kontroll-Dünnsfilm [ng/mL]
TEA	22.401	18,2
AOH	44,7	21,4
ALT	n.d.	20,6
TEN	18,4	18,3
AME	25,6	23,9

2.5 Stabilität des Paprikapulvers und der Kontroll-Dünnsfilme

Um die Stabilität des Paprikapulvers und der Kontroll-Dünnsfilme zu untersuchen, wurden mit Versand der Laborvergleichsuntersuchung am 05.12.2023 jeweils fünf zufällig ausgewählte Beutel des Paprikapulvers und fünf Kontroll-Dünnsfilme von -20 °C auf -80 °C umgelagert. Bei einer Lagerung bei -80 °C wird von keinem Abbau der betrachteten Mykotoxine ausgegangen.

70 Tage nach Versand der Laborvergleichsuntersuchung wurden die fünf bei -80 °C gelagerten Paprikapulverproben und jeweils drei der bei -80 °C gelagerten Kontroll-Dünnsfilme aufgetaut, aufgearbeitet bzw. rückgelöst und analysiert. Analog dazu wurden fünf Paprikapulverproben und drei Kontroll-Dünnsfilme aufgearbeitet und analysiert, die für die Dauer der Laborvergleichsuntersuchung bei -20 °C gelagert wurden.

Aus den resultierenden Ergebnissen wurden der Mittelwert und die absolute Standardabweichung berechnet, um einen auftretenden Abbau der Alternariatoxine bewerten zu können (siehe Kapitel 9.5 und 9.6).

Unter den gewählten Lagerbedingungen während der Laborvergleichsuntersuchung wurde kein signifikanter Abbau der Alternariatoxine festgestellt. Die Stabilität im Probenmaterial konnte somit nachgewiesen werden.

3 Organisation der Laborvergleichsuntersuchung

3.1 Teilnehmende Labore

Zur Teilnahme an dieser Laborvergleichsuntersuchung hatten sich 18 Labore angemeldet. 14 Labore meldeten ihre Ergebnisse innerhalb und drei Labore kurz nach Ablauf der gesetzten Frist (12.02.2024). Die drei nach Fristende eingegangenen Ergebnisse wurden bei der Auswertung berücksichtigt. Ein weiteres Labor stellte keine Ergebnisse bereit. Somit lagen zur statistischen Auswertung dieser LVU Daten von insgesamt 17 Laboren vor.

3.2 Probenversand und Anweisungen

Am 05.12.2023 wurde jedem teilnehmenden Labor sowohl eine Paprikapulver-Probe als auch ein Kontroll-Dünnschicht zugewandt, die beide jeweils zufällig ausgewählt und während des Transports mithilfe von Tiefkühlakkus gekühlt versendet wurden. Die Labore wurden darum gebeten, das Probenmaterial nach Empfang tiefgekühlt zu lagern und mit Methoden ihrer Wahl zu untersuchen. Ein Labor meldete eine verspätete Lieferung der Sendung, während einem weiteren Labor nachträglich ein zusätzlicher Kontroll-Dünnschicht zugewandt wurde.

4 Datenauswertung

4.1 Berechnung des Konsenswerts (assigned value)

Als Konsenswert (assigned value, „zugewiesener Wert“) wurde für die Auswertung dieser Laborvergleichsuntersuchung der robuste Mittelwert der teilnehmenden Labore pro Analyt und Matrix angenommen. Dieser Konsenswert wurde nach Algorithm A der ISO 13528^[4] unter Berücksichtigung des EURL Background Documents^[5] berechnet.

4.2 Zielstandardabweichung der Leistungsbeurteilung

Zur Leistungsbeurteilung wurde eine relative Zielstandardabweichung von $\pm 25\%$ festgesetzt. Dieser Wert ist unabhängig vom analysierten Mykotoxin, dessen Konzentration oder von der zugrunde gelegten Matrix. Hintergründe hierzu sind im EURL Background Document⁵ zu finden.

4.3 Quantitative Leistungskennzahlen (z- und z'-scores)

Zur Bewertung der reportierten Ergebnisse werden z- und z'-scores auf Basis des assigned values und der Standardabweichung zur LVU-Leistungsbeurteilung berechnet.

Sofern der Fehler des assigned values vernachlässigbar ist und kein Abbau der Analyte in der zu untersuchenden Matrix beobachtet wird, erfolgt die Berechnung des z-scores nach folgender Formel (1):

$$z = \frac{x - C}{\sigma_{LVU}} = \frac{x - C}{0,25 \cdot C} \quad (1)$$

z: z-score

x: vom Labor reportiertes Ergebnis

C: assigned value

σ_{LVU} : Zielstandardabweichung der LVU-Leistungsbeurteilung

z-scores sind ein Maß für die Abweichung der Messwerte eines Labors vom assigned value unter Berücksichtigung der festgesetzten relativen Zielstandardabweichung (siehe Kapitel 4.2). Dabei ergeben sich nach ISO 13528 folgende Beurteilungskriterien für z-scores entsprechend der Tabelle 2:

Tabelle 2: Beurteilungen für z-scores

$ z \leq 2$	Zufriedenstellend
$2 < z < 3$	Fragwürdig
$ z \geq 3$	Ungenügend

⁴ ISO 13528:2022-08 - Statistische Verfahren für Eignungsprüfungen durch Vergleiche zwischen Laboratorien

⁵ https://www.wur.nl/en/show/eurl-mp-background-doc_001-pt-performance-assessment-v1.1.1.htm

Im Falle, dass die Unsicherheit des assigned values vom Kriterium $u_{AV} < 0,3$ abweicht, ist der Fehler des assigned values nicht vernachlässigbar. Dies wird bei der Ermittlung des z-scores berücksichtigt und durch die Angabe eines z'-scores kenntlich gemacht. Weitere Informationen sind im EURL Background Document⁵ zu finden.

Die Berechnung eines z'-scores erfolgt nach der Formel (2):

$$z' = \frac{x - C}{\sqrt{\sigma_{LVU}^2 + u^2}} = \frac{x - C}{\sqrt{(0,25 \cdot C)^2 + \left(1,25 \cdot \frac{S_R}{\sqrt{n}}\right)^2}} \quad (2)$$

z: z-score
x: vom Labor reportiertes Ergebnis
C: assigned value
 σ_{LVU} : Zielstandardabweichung der LVU-Leistungsbeurteilung
u: Unsicherheit des assigned value
 S_R : Vergleichstandardabweichung
n: Anzahl der teilnehmenden Labore

Für TEA in Paprikapulver sowie für alle untersuchten Alternariatoxine im rekonstituierten Kontroll-Dünnsfilm wurden z-scores berechnet. Z'-scores wurden für AOH, TEN und AME in Paprikapulver bestimmt.

4.4 Auswertung nicht-quantifizierter Ergebnisse

Die übermittelten Angaben, wie beispielsweise „detektiert“ oder „nicht detektiert“, wurden bei der Auswertung exkludiert unter der Annahme, dass die teilnehmenden Labore keine quantitative Messmethode für spezifische Analyte oder die Matrix-/Analytgruppe haben.

Sofern keine Ergebnisse für Analyte oder Analytgruppen im Scope reportiert wurden, die grundsätzlich im Probenmaterial quantitativ nachweisbar waren, wurde die Performance bei der Teilnahme an der Laborvergleichsuntersuchung als unzureichend gewertet.

Für alle quantifizierbaren Analyt-Matrix-Kombinationen konnte ein Konsenswert berechnet werden ($n > 7$). Für den Fall, dass einzelne Labore Ergebnisse unterhalb des LOQ angegeben hatten, war die Berechnung eines proxy z-scores zur näherungsweisen Übereinstimmung des Werts gegenüber des assigned values möglich. Proxy z-scores sind in der Tabelle in Kapitel 9.20 durch eckige Klammern gekennzeichnet.

4.5 Falsch positive und falsch negative Ergebnisse

Falsch positive Ergebnisse werden erhalten, wenn ein Labor quantitative Ergebnisse für einen oder mehrere Analyte reportiert, die von der Mehrzahl der teilnehmenden Labore nicht detektiert wurden.

Falsch negative Ergebnisse werden erhalten, sofern ein Labor einen untersuchten Analyten nicht detektiert, für den jedoch im Rahmen der Laborvergleichsuntersuchung ein assigned value bestimmt wurde und die vom Labor angegebene Bestimmungsgrenze eine Detektion hätte ermöglichen sollen.

5 Leistungsbeurteilung

5.1 Bestimmungsgrenze (Limit of Quantification, LOQ)

Als Bestimmungsgrenze (Limit of Quantification, LOQ) wird der niedrigste Gehalt in einer Matrix bezeichnet, der zur gesicherten Quantifizierung herangezogen wird. Für TEA wurde von den teilnehmenden Laboren ein LOQ im Bereich von 1 bis 500 µg/kg Paprikapulver angegeben. Bei den Alternariatoxinen AOH, ALT, TEN und AME beliefen sich die LOQs im Bereich von 1 bis 50 µg/kg Paprikapulver. Nähere Informationen sind dem Kapitel 9.8 zu entnehmen.

5.2 Performance

Eine Zusammenfassung der statistischen Überprüfung der LVU-Ergebnisse wird in den nachfolgenden Tabellen für die Paprikapulver und die rekonstituierten Kontroll-Dünnsfilme gezeigt.

Tabelle 3 und Tabelle 4 zeigen alle relevanten statistischen Kenngrößen zusammengefasst.

Bei der Quantifizierung von Alternariatoxinen in Paprikapulver waren alle berichteten Ergebnisse zufriedenstellend mit $|z|$ -scores ≤ 2 .

Tabelle 3: Berechnung statistische Kenngrößen der LVU-Ergebnisse einer Paprikapulverprobe.

	Paprikapulver			
	TEA	AOH*	TEN*	AME*
AV (µg/kg)	17.385	33,75	17,63	20,64
u _{AV} (µg/kg)	1.239	2,70	1,72	1,70
σ _{LVU} (25 % von AV) (µg/kg)	4.346	8,44	4,41	5,16
u _{AV} > 0.3 σ _{LVU}	Nein	Ja	Ja	Ja
s _R (µg/kg)	4.086	8,64	5,31	5,28
RSD _R (%)	23,50	25,60	30,12	25,58
Anzahl der teilnehmenden Labore	17	17	17	17
< LOQ / n.d. / n.u.	0	1	2	2
Anzahl an Laboren mit quantitativen Ergebnissen	17	16	15	15
$ z \leq 2$	17	16	15	15
$2 < z < 3$	0	0	0	0
$ z \geq 3$	0	0	0	0
falsch negativ	0	0	0	0
falsch positiv	0	0	0	0
S _z -scores (%)	100	94	88	88

AV: assigned value

< LOQ / n.d. / n.u.: keine Angabe numerischer Ergebnisse

S_z-scores (%): relativer Anteil zufriedensstellender z-scores

* z'-scores aufgrund einer nicht zu vernachlässigenden Unsicherheit des assigned values berechnet ($0,3 \sigma_{LVU} < u_{AV} \leq 0,7 \sigma_{LVU}$).

Für die Untersuchung der Paprikapulver-Probe waren die reportierten Ergebnisse für TEA mit $z \leq |2|$ zu 100 % zufriedenstellend. Für die Untersuchung des Kontroll-Dünnsfilms waren die reportierten Ergebnisse für AOH und TEN mit $z \leq |2|$ zu 100 % zufriedenstellend. Für TEA in rekonstituierten Kontroll-Dünnsfilmen wurde ein Ergebnis mit $z \geq |3|$ als unzureichend bewertet, demnach waren 94 % der z-scores mit $z \leq |2|$ zufriedenstellend.

Tabelle 4 zeigt eine Zusammenfassung der LVU-Ergebnisse im Kontroll-Dünnsfilm.

Tabelle 4: Statistische Kenngrößen der LVU-Ergebnisse in rekonstituierten Kontroll-Dünnsfilmen.

	Rekonstituierte Kontroll-Dünnsfilme				
	TEA	AOH	ALT	TEN	AME
AV (ng/mL)	19,85	19,95	19,11	21,59	19,67
u_{AV} (ng/mL)	1,18	1,30	1,07	0,70	0,97
σ_{LVU} (25 % von AV) (ng/mL)	4,96	4,99	4,78	5,40	4,92
$u_{AV} > 0.3 \sigma_{LVU}$	Nein	Nein	Nein	Nein	Nein
s_R (ng/mL)	3,89	4,27	3,41	2,32	3,12
RSD_R (%)	19,6	21,4	17,8	10,7	15,9
Anzahl der teilnehmenden Labore	17	17	17	17	17
< LOQ/ n.d. / n.u.	0	0	1	0	1
Anzahl an Laboren mit quantitativen Ergebnissen	17	17	16	17	16
$ z \leq 2$	16	17	16	17	16
$2 < z < 3$	0	0	0	0	0
$ z \geq 3$	1	0	0	0	0
falsch negativ	0	0	0	0	0
falsch positiv	0	0	0	0	0
S_z -scores (%)	94	100	94	100	94

AV: assigned value

< LOQ, n.d., n.u.: keine Angabe numerischer Ergebnisse

S_z -scores (%): relativer Anteil zufriedenstellender z-scores

In den Kapiteln 9.20 und 9.21 wird eine Zusammenfassung über die Performance der einzelnen Labore gegeben.

5.3 Analytische Methoden

Die Labore waren aufgefordert, detaillierte Angaben zur gewählten Aufarbeitungs- und Messmethode sowie zu den verwendeten analytischen Standards zu übermitteln. Die zusammengefassten Datensätze sind in den Kapiteln 9.9, 9.10 und 9.11 zu finden.

Bei den verwendeten Aufarbeitungs- und Messmethoden handelte es sich um inhouse entwickelte Verfahren oder sie basierten – zum Teil mit Modifikationen – auf DIN EN 17521:2021^[6] bzw. der vom NRL für Mykotoxine und Pflanzentoxine bereitgestellten Messmethode zur Bestimmung von Alternariotoxinen in Sonnenblumenkernen. Von vielen

⁶ DIN EN 17521:2021-11 – Lebensmittel – Bestimmung von Alternariotoxinen in Tomaten, Weizen und Sonnenblumenkernen mit SPE clean-up und HPLC-MS/MS

Laboren wurde ein zusätzlicher Verdünnungsschritt eingefügt, um den Arbeitsbereich der Methoden für den sehr hohen Richtwert für TEA von 10.000 µg/kg^[2] zu erweitern.

Für die Extraktion der Paprikapulverproben wurden wässrig-organische Lösemittel verwendet, wobei die teilnehmenden Labore die Verwendung von Acetonitril und/oder Methanol sowie geringfügiger Mengen an Ameisensäure oder Essigsäure in veränderlichen Anteilen nutzten. Die anschließende Aufarbeitung der gewonnenen Paprikapulver-Rohextrakte beinhaltete in der Regel eine SPE- oder QuEChERS-Aufreinigung sowie dilute-and-shoot-Ansätze.

Zur Detektion wurden ausschließlich flüssigchromatografische Trennverfahren gekoppelt mit MS/MS-Detektion verwendet. Die dabei verwendeten Massenübergänge sind in Kapitel 9.12 bis Kapitel 9.16 gelistet.

Die Zugabe von internen Standards war bei einem Großteil der teilnehmenden Labore etabliert, um eine intrinsische Wiederfindungskorrektur bei der Quantifizierung anwenden zu können. Die internen Standards wurden direkt auf die Probeneinwaage oder zu den Messlösungen gegeben (s. Kapitel 9.19).

Die Quantifizierung erfolgte überwiegend gegen matrixfreie Kalibrierlösung. Ein Labor vollzog für die Quantifizierung eine Standardaddition auf die Messlösung.

5.4 Extraktionsmethoden

Die Extraktion der Paprikapulverprobe erfolgte laut der zur Verfügung stehenden Informationen in Kapitel 9.9 und 9.10 überwiegend mit wässrig-saurem organischem Lösemittel.

5.5 Robuste relative Standardabweichung

Die robuste relative Standardabweichung RSD_R wurde entsprechend ISO 13528^[4] berechnet. Während der Ausrichtung der Laborvergleichsuntersuchung wurde die robuste relative Standardabweichung zur Betrachtung der Vergleichsstandardabweichung zwischen den Laboren herangezogen. Die RSD_R -Werte sind in den Tabellen unter den Kapiteln 9.20 und 9.21 aufgeführt.

Für die Ergebnisse zur Paprikapulverprobe ergab sich ein RSD_R von 23,5 % für TEA, je 25,6 % für AOH und AME sowie 30,1 % für TEN. Die Zielstandardabweichung von 25 % wurde bei hohen Gehalten von TEA geringfügig unterschritten. Der assigned value von TEN lag bei 17,63 µg/kg. Dieser Gehalt liegt bei vielen teilnehmenden Laboren nahe des LOQ, sodass damit einhergehend von einem höheren Wert für RSD_R auszugehen ist.

Für den untersuchten Kontroll-Dünnsfilm wurde die Ziel-Standardabweichung von 25 % von sämtlichen RSD_R -Werten (19,6 % TEA; 21,4 % AOH; 17,9 % ALT; 10,8 % TEN und 15,9 % AME) unterschritten.

Die berechneten RSD_R -Werte für TEA und AOH waren bei der Paprikapulverprobe und dem Kontroll-Dünnsfilm in einer vergleichbaren Größenordnung. Für TEN und AME erhöhte sich der RSD_R -Wert bei der Untersuchung matrixhaltiger Probe.

6 Ergebniszusammenfassung

Anhand der vorliegenden Daten und Auswertung wird geschlussfolgert, dass die teilnehmenden Labore über geeignete Analysemethoden und Kompetenz verfügen, die zur Quantifizierung von Alternariotoxinen in Paprikapulver geeignet sind. Bei der durchgeführten Laborvergleichsuntersuchung wurden den Laboren fast ausschließlich z-scores und z'-scores im Bereich $< |2|$ je Analyt-Matrix-Kombination zugewiesen.

Die Labore erreichten bei der Untersuchung einer Paprikapulverprobe auf die Alternariotoxine TEA, AOH, TEN und AME durchweg zufriedenstellende quantitative Ergebnisse.

Bei der Untersuchung auf die jeweiligen Alternariotoxine TEA, AOH, ALT, TEN und AME in rekonstituierten Kontroll-Dünnschichten erzielten 16 von 17 Laboren für alle Parameter zufriedenstellende quantitative Ergebnisse.

Zur Untersuchung verwendeten die Labore flüssigchromatografische Trennverfahren gekoppelt mit MS/MS-Detektion. In der Praxis wurden bei der Aufarbeitung interne Standards zugegeben, um Aufarbeitungsverluste und/oder Matrixeffekte intrinsisch über Wiederfindungsfaktoren erfolgreich zu kompensieren.

Die Verwendung von internen Standards für die Quantifizierung ist verbreitet und ermöglicht laut Kapitel 9.22 eine gute Reproduzierbarkeit der Messergebnisse.

7 Referenzen

- 1 Verordnung (EU) 2023/915 der Kommission vom 25. April 2023 über Höchstgehalte für bestimmte Kontaminanten in Lebensmitteln und zur Aufhebung der Verordnung (EG) Nr. 1881/2006. Amtsblatt der Europäischen Union. 2023
- 2 Empfehlung (EU) 2022/553 der Kommission vom 5. April 2022 zur Überwachung des Vorkommens von Alternaria-Toxinen in Lebensmitteln. Amtsblatt der Europäischen Union. 2022
- 3 Lebensmittel-, Bedarfsgegenstände- und Futtermittelgesetzbuch. Bundesministerium der Justiz und für Verbraucherschutz. 2021
- 4 ISO 13528:2022-08. Statistische Verfahren für Eignungsprüfungen durch Vergleiche zwischen Laboratorien. 2022
- 5 Performance assessment in proficiency tests organised by the EURL mycotoxins & plant toxins in food and feed v1.1, 2023. EURL mycotoxins & plant toxins, Wageningen Food Safety Research, part of Wageningen University & Research. 2023
- 6 DIN EN 17521:2021-11. Lebensmittel - Bestimmung von Alternariatoxinen in Tomaten, Weizen und Sonnenblumenkernen mit SPE clean-up und HPLC-MS/MS. 2021

8 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Mittlere Toxingehalte im Paprikapulver und im Dünnsfilm, ermittelt im Rahmen der Untersuchung zur Homogenität. [n.d. = nicht detektierbar]	8
Tabelle 2: Beurteilungen für z-scores	10
Tabelle 3: Berechnung statistische Kenngrößen der LVU-Ergebnisse einer Paprikapulverprobe.	12
Tabelle 4: Statistische Kenngrößen der LVU-Ergebnisse in rekonstituierten Kontroll-Dünnsfilmen.	13

9 Anhänge

9.1 Anhang 1 – Teilnehmende Labore

Laborcode	Bundesland
AGROLAB LUFA GmbH	Schleswig-Holstein
Bundesinstitut für Risikobewertung – NRL für Mykotoxine und Pflanzentoxine	Berlin
Chemisches und Veterinäruntersuchungsamt Rheinland AöR	Nordrhein-Westfalen
Chemisches und Veterinäruntersuchungsamt Sigmaringen	Baden-Württemberg
Chemisches und Veterinäruntersuchungsamt Westfalen	Nordrhein-Westfalen
Eurofins WEJ Contaminants	Hamburg
GBA Gesellschaft für Bioanalytik mbH	Hamburg
IGV GmbH Institut für Getreideverarbeitung	Brandenburg
Institut für Hygiene und Umwelt	Hamburg
Institut Kirchhoff Berlin GmbH	Berlin
Labor Friedle GmbH	Bayern
Landesamt für Landwirtschaft, Lebensmittelsicherheit und Fischerei MV	Mecklenburg-Vorpommern
Landesamt für Verbraucherschutz Sachsen-Anhalt, FB Lebensmittelsicherheit	Sachsen-Anhalt
Landesbetrieb Hessisches Landeslabor	Hessen
Landesuntersuchungsamt Rheinland-Pfalz	Rheinland-Pfalz
Nds. Landesamt f. Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit, LAVES BS	Niedersachsen
SGS Germany GmbH	Hamburg

9.2 Anhang 2 – Zuordnung der Proben

Laborcode	Probencode Paprikagewürz	Probencode Kontroll-Dünnsfilm
LC11	P-KM-23_503-11	2023_KM_Mix_80/SL 02 2023_KM_Mix_80/SL 30*
LC12	P-KM-23_503-12	2023_KM_Mix_80/SL 03
LC13	P-KM-23_503-13	2023_KM_Mix_80/SL 05
LC14	P-KM-23_503-14	2023_KM_Mix_80/SL 06
LC15	P-KM-23_503-15	2023_KM_Mix_80/SL 07
LC16	P-KM-23_503-16	2023_KM_Mix_80/SL 08
LC17	P-KM-23_503-17	2023_KM_Mix_80/SL 09
LC18	P-KM-23_503-18	2023_KM_Mix_80/SL 10
LC19	P-KM-23_503-19	2023_KM_Mix_80/SL 11
LC20	P-KM-23_503-20	2023_KM_Mix_80/SL 12
LC21	P-KM-23_503-21	2023_KM_Mix_80/SL 13
LC22	P-KM-23_503-22	2023_KM_Mix_80/SL 14
LC23	P-KM-23_503-23	2023_KM_Mix_80/SL 15
LC25	P-KM-23_503-25	2023_KM_Mix_80/SL 17
LC26	P-KM-23_503-26	2023_KM_Mix_80/SL 18
LC27	P-KM-23_503-27	2023_KM_Mix_80/SL 19
LC28	P-KM-23_503-28	2023_KM_Mix_80/SL 20

* Labor LC11 wurde ein zweiter Kontroll-Dünnsfilm zur Verfügung gestellt, dessen Ergebnisse ausgewertet wurden.

9.3 Anhang 3 – Statistische Auswertung der Homogenitätsuntersuchung von Paprikapulver

Homogenitäts- probe	TEA [$\mu\text{g}/\text{kg}$]		AOH [$\mu\text{g}/\text{kg}$]		TEN [$\mu\text{g}/\text{kg}$]		AME [$\mu\text{g}/\text{kg}$]	
	Replik 1	Replik 2						
1	23.210	24.005	44,4	49,4	18,2	18,6	24,8	27,1
2	22.274	22.509	47,8	44,4	18,9	18,6	27,8	24,7
3	22.298	21.821	39,9	45,2	18,7	17,6	24,2	24,5
4	22.793	21.656	40,5	45,2	17,8	18,7	25,1	26,1
5	21.922	22.063	46,2	47,6	18,0	18,5	24,4	27,0
6	22.626	22.565	40,2	46,9	18,1	18,5	24,7	27,2
7	22.807	22.357	46,6	45,1	18,7	18,0	25,4	27,0
8	22.094	20.220	46,6	44,8	18,6	18,8	25,1	24,5
9	22.497	22.994	42,8	43,4	18,3	18,7	25,6	26,1
10	22.827	22.476	41,0	45,8	18,4	18,1	24,3	25,3
Mittelwert	22.401		44,7		18,4		25,6	
Cochran test								
Testniveau	95 %		95 %		95 %		95 %	
C	0,556		0,277		0,344		0,279	
Ccrit	0,602		0,602		0,602		0,602	
C < Ccrit?	Ja		Ja		Ja		Ja	
σ_{LVU}	5.600		11,2		4,60		6,39	
s_x	630		1,75		0,198		0,664	
s_w	562		2,85		0,412		1,28	
s_s	489		0		0		0	
Critical = 0,3 σ_{LVU}	1.680		3,35		1,38		1,92	
$s_s < \text{critical?}$	Ja		Ja		Ja		Ja	
$s_w < 0,5 \sigma_{\text{LVU}}$	Ja		Ja		Ja		Ja	

$\sigma_{\text{LVU}} = 0,25 \times \text{Mittelwert}$, s_x = Standardabweichung der Proben-Mittelwerte (zwischen den Proben und innerhalb der Paralleluntersuchung)

s_w = Standardabweichung innerhalb der Parallelproben

s_s = Standardabweichung zwischen den Proben

9.4 Anhang 4 – Statistische Auswertung der Homogenitätsuntersuchung der Kontroll-Dünnsfilme

Homogenitäts- probe	TEA [ng/mL]		AOH [ng/mL]		ALT [ng/mL]		TEN [ng/mL]		AME [ng/mL]	
	Replik 1	Replik 2								
1	18,2	17,4	19,2	20,9	19,8	20,7	18,5	18,7	23,2	22,7
2	18,9	17,6	19,8	21,4	20,5	21,0	18,1	18,1	23,7	23,7
3	18,0	17,7	21,7	22,1	20,5	19,9	17,0	16,9	24,3	24,5
4	17,7	16,7	22,0	21,4	20,6	21,6	18,3	19,9	23,6	24,1
5	19,0	18,0	20,3	22,3	20,5	19,8	17,4	17,9	24,2	24,5
6	18,5	18,4	20,8	21,8	21,2	20,8	18,6	18,6	24,0	25,1
7	18,8	17,2	21,4	22,1	20,3	19,9	18,4	18,7	24,3	23,2
8	16,9	19,4	20,7	22,6	20,6	19,5	17,7	18,9	23,8	24,2
9	18,7	19,6	21,1	22,5	23,2	20,7	18,4	18,3	24,4	24,5
10	18,7	18,9	21,9	22,1	20,7	20,3	19,1	17,8	24,1	22,6
Mittelwert	18,2		21,4		20,6		18,3		23,9	
Cochran test										
Testniveau	95 %		95 %		95 %		95 %		95 %	
C	0,455		0,238		0,587		0,427		0,377	
Ccrit	0,602		0,602		0,602		0,602		0,602	
C < Ccrit?	Ja									
σ_{LVU}	4,56		5,35		5,15		4,56		5,98	
s_x	0,543		0,628		0,598		0,590		0,526	
s_w	0,838		0,954		0,730		0,553		0,515	
s_s	0		0		0,300		0,442		0,380	
Critical = $0,3 \sigma_{LVU}$	1,37		1,61		1,55		1,37		1,79	
$s_s < \text{critical?}$	Ja									
$s_w < 0,5 \sigma_{LVU}$	Ja									

$\sigma_A = 0,25 \times \text{Mittelwert}$, s_x = Standardabweichung der Proben-Mittelwerte (zwischen den Proben und innerhalb der Parallel-Untersuchung)
 s_w = Standardabweichung innerhalb der Parallel-Proben, s_s = Standardabweichung zwischen den Proben

9.5 Anhang 5 – Statistische Auswertung der Stabilitätsuntersuchung in Paprikapulver

Lagertemperatur	TEA		AOH		TEN		AME	
	-80 °C	-20 °C						
Dauer (Tage)	70	70	70	70	70	70	70	70
Berechnete Gehalte [µg/kg]	21.517	21.970	41,29	39,80	18,13	17,66	22,23	21,58
	21.302	21.108	41,64	48,37	18,10	17,47	22,66	24,56
	20.729	21.429	41,20	40,56	18,28	18,56	21,53	22,59
	21.367	20.301	37,65	44,76	17,59	19,43	22,54	25,45
	21.257	20.960	_*	_*	_*	_*	_*	_*
Mittelwert [µg/kg]	21.234	21.154	40,44	43,37	18,03	18,28	22,24	23,54
n	5	5	4	4	4	4	4	4
Standardabweichung [µg/kg]	299	614	1,87	3,98	0,30	0,90	0,51	1,77
Differenz [µg/kg]	80,7		-2,93		-0,25		-1,31	
σ_{LVU}	5.309	5.288	10,1	10,8	4,5	4,6	5,6	5,9
0,3 σ_{LVU}	1.593	1.587	3,03	3,25	1,35	1,37	1,67	1,77
Differenz < 0,3 σ_{LVU}	Ja							

* Aufgrund technischer Probleme konnten für diese Analyte nur vier Stabilitätsproben ausgewertet werden.

9.6 Anhang 6 – Statistische Auswertung der Stabilitätsuntersuchung bei rekonstituierten Kontroll-Dünnsfilmen

	TEA		AOH		ALT		TEN		AME	
	-80 °C	-20 °C								
Lagertemperatur										
Dauer (Tage)	70	70	70	70	70	70	70	70	70	70
Berechnete Konzentrationen [ng/mL]	19,11	18,54	19,03	18,42	20,36	19,72	18,37	17,85	18,74	18,20
	19,78	18,32	19,37	18,74	20,89	19,64	18,87	18,30	19,38	18,50
	19,16	19,24	19,10	19,75	20,83	21,46	18,73	19,15	19,00	19,36
Mittelwert [ng/mL]	19,35	18,70	19,17	18,97	20,70	20,28	18,66	18,44	19,04	18,69
n	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
Standardabweichung [ng/mL]	0,37	0,48	0,18	0,69	0,29	1,03	0,26	0,66	0,32	0,60
Differenz [ng/mL]	0,65		0,20		0,42		0,22		0,35	
σ_{LVU}	4,84	4,67	4,79	4,74	5,17	5,07	4,66	4,61	4,76	4,67
$0,3 \sigma_{LVU}$	1,45	1,40	1,44	1,42	1,55	1,52	1,40	1,38	1,43	1,40
$ Differenz < 0,3 \sigma_{LVU}$	Ja									

9.7 Anhang 7 – Anweisungen zur Laborvergleichsuntersuchung bei Probenversand



Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) | Max-Dohm-Straße 8-10 | 10589 Berlin

vertraulich

«Anrede»
«Titel» «Vorname» «Name»
«Labor»
«Straße»
«PLZ» «Ort»
«EMail»

Bundesinstitut für
Risikobewertung (BfR)
Max-Dohm-Straße 8-10
10589 Berlin
T +49 30 18412-0
bfr@bfr.bund.de
bfr.bund.de

**BfR | Risiken erkennen –
Gesundheit schützen**

Ihre Zeichen und Nachrichten vom

Geschäftszeichen:
Bitte bei Antwort angeben
«Geschäftszeichen»

Telefondurchwahl

«Telefondurchwahl
_BFR»

Datum

«Datum»

Organisationseinheit/
Anspruchsberechtigter

«Anspruchspartner_1»
«Anspruchspartner_2»

Laborvergleichsuntersuchung 2023 – Alternariatoxine in Paprikapulver

Sehr geehrte «Anrede» «Name»

zusammen mit dem vorliegenden Schreiben erhalten Sie die zu untersuchenden Proben der Laborvergleichsuntersuchung zur Bestimmung von Alternariatoxinen in Paprikapulver. Genaue Informationen zum weiteren Vorgehen entnehmen Sie bitte dem beiliegenden Protokoll (**Anlage 1**).

Bitte bestätigen Sie uns den Erhalt der Sendung innerhalb der nächsten 5 Tage unter:

<https://akademie.bfr.berlin/524917?lang=de>

Über den Link erhalten Sie zudem die Excel-Datei (Reporting_sheet_PT_ALT_2023_LCxx.xlsx) zur Übermittlung Ihrer Ergebnisse und Methodendetails. Bitte passen Sie die Benennung entsprechend Ihres Laborcodes an: Reporting_sheet_PT_ALT_2023_«Laborcode».xlsx

Senden Sie die ausgefüllte Excel-Datei bis spätestens **12.02.2024** an folgende E-Mail-Adresse:

nrl-mykotoxine-pflanzentoxine@bfr.bund.de

Standorte

Berlin-Jungfernheide
Max-Dohm-Straße 8-10
10589 Berlin
T +49 30 18412-0
F +49 30 18412-99099

Berlin-Marienfelde
Diodersdorfer Weg 1
12277 Berlin
T +49 30 18412-0
F +49 30 18412-99099

Berlin-Alt-Marienfelde
Alt-Marienfelde 17-21
12277 Berlin
T +49 30 18412-0
F +49 30 18412-99099

Berlin-Nahmitzer-Damm
Nahmitzer Damm 12
12277 Berlin
T +49 30 18412-0
F +49 30 18412-99099



Wir möchten Sie auf die im Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) geltenden Bestimmungen zur Überlassung von Materialien im Rahmen der „Allgemeine Bedingungen für den Austausch von Materialien – Vergabe durch das BfR (MT-Bedingungen – Teil A)“ hinweisen, die Sie unter dem Link <http://www.bfr.bund.de/cm/343/mt-bedingungen-teil-a.pdf> direkt abrufen können.

Mit freundlichen Grüßen

im Auftrag

Anlagen 1

Protokoll und weitere Informationen

Anlage 1: Protokoll und weitere Informationen

1. Ihr **LABOR CODE**: «Laborcode».
2. Sie erhalten hiermit eine Paprikapulverprobe und einen Kontrollstandard-Mix als Dünnfilm:

Proben	
Paprikapulver	«Samplecode_Paprikapulver»
Kontrollstandard-Mix Alternaria-Toxine als Dünnfilm (TEA; AOH; ALT; TEN; AME)	«KontrollstandardMix»

3. Bitte bestätigen Sie uns den ordnungsgemäßen Erhalt bzw. einwandfreien Zustand der Proben unter <https://akademie.bfr.berlin/524917?lang=de>
Sollte eine Probe beschädigt sein, wird Ihnen eine neue Probe zugesandt.
4. Um die Vergleichbarkeit zu gewährleisten, bitten wir Sie, die Proben umgehend nach Ankunft bis zum Analysenbeginn dunkel und in einem Gefrierschrank (≤ -18 °C) zu lagern.
5. Die Proben sind vor Analysenbeginn auf Raumtemperatur zu bringen. Vor Entnahme einer Teilprobe ist eine intensive Durchmischung des Paprikapulvers durchzuführen, um die Homogenität zu gewährleisten.
6. Nach dem Öffnen des Kontrollstandard-Mixes (Septumkappe des Vials entfernen) geben Sie bitte exakt **1,00 mL** eines geeigneten Lösungsmittels hinzu. Zum Rücklösen kann zum Beispiel ein Gemisch aus Acetonitril und Wasser im Verhältnis 25/75 (v/v) oder ein Gemisch aus Methanol und Wasser 50/50 (v/v) verwendet werden. Nach Zugabe

des Lösungsmittels verschließen Sie das Vial und durchmischen die hergestellte Lösung gründlich (z. B. durch 10 Minuten Vortexbehandlung). Die erhaltene Lösung kann direkt für die Injektion verwendet werden.

Nach Rücklösen des Kontrollstandard-Mixes sollten die Analytkonzentrationen innerhalb des gängigen Kalibrierbereichs liegen. Sollten die Konzentrationen außerhalb Ihres Kalibrierbereichs liegen, stellen Sie geeignete Verdünnungen her. Bei Angabe der Ergebnisse berücksichtigen Sie bitte mögliche Verdünnungsschritte.

-
7. In dieser Laborvergleichsuntersuchung haben Sie freie Methodenwahl.
 8. Für den Kontrollstandard-Mix sind drei Ergebnisse durch **dreimalige Injektion** ins HPLC-System abzugeben.
 9. Für die Paprikaprobe sind **drei unabhängige Aufarbeitungen** unter Wiederholbedingungen über das vollständige Analyseverfahren durchzuführen.
-
10. In Ihrer Datei Reporting_sheet_PT_ALT_2023_«Laborcode».xlsx werden die Analysenergebnisse und die Einwaage des Paprikapulvers dokumentiert. Angaben zu den von Ihnen verwendeten Analyseparametern, zu Unregelmäßigkeiten oder Störungen während der Messungen dokumentieren Sie bitte ebenfalls in diesem Excel-Dokument.
 11. Ist das Analysenergebnis kleiner als die Bestimmungsgrenze, tragen Sie im entsprechenden Reiter „Ergebnisse“ die Angabe „<{LOQ}“ (LOQ = Wert der Bestimmungsgrenze, z. B. „< 1,00“) ein.
 12. Ist ein Gehalt nicht nachweisbar, tragen Sie in die entsprechende Spalte Resultate „<< (NG)“ (NG = Nachweisgrenze).
 13. Bitte speichern Sie nach Beendigung Ihrer Eintragungen die Excel-Datei, indem Sie „LCxx“ im Dateinamen durch Ihren Laborcode „«Laborcode»“ ersetzen. Eine derart codierte Excel Datei erleichtert die Zuordnung der Dateien und die anschließende statistische Auswertung der Resultate.

14. Bitte senden Sie die ausgefüllte Excel-Datei bis spätestens 12.02.2024
an folgende E-Mail-Adresse:
nri-mykotoxine-pflanzentoxine@bfr.bund.de

Bei Fragen kontaktieren Sie bitte direkt

Dr. Cindy Schöne

—
+49 30 18412 28512

nri-mykotoxine-pflanzentoxine@bfr.bund.de
—

9.8 Anhang 8 – LOQ für Paprikapulverproben

Laborcode	LOQ für Paprikapulver [$\mu\text{g}/\text{kg}$]					Probeneinwaage
	TEA	AOH	ALT	TEN	AME	[g]
LC11	50	10	50	50	10	1,0
LC12	500	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	2,0
LC13	20	2	5	2	2	5,0
LC14	5	1	1	1	1	2,0
LC15	60	12	12	8	8	2,0
LC16	40	4	8	4	2	2,0
LC17	50	20	20	10	n.a.	2,0
LC18	1	1	1	1	1	0,2 / 2,0 / 2,0 / 1,0 / 2,0
LC19	5	10	10	5	2	1,0
LC20	20	5	50	5	5	2,0
LC21	10	10	10	10	10	2,0
LC22	50	10	50	50	10	0,5
LC23	500	10	10	10	10	2,0
LC25	500	20	n.a.	10	10	2,0
LC26	10	2.5	2.5	5	2.5	2,0
LC27	5	2	10	10	2	1,0
LC28	100	10	10	10	10	1,0

n.a. = nicht angegeben

9.9 Anhang 9 – Aufarbeitungsmethoden für TEA

Den Teilnehmenden der Laborvergleichsuntersuchung war freigestellt, welche Aufarbeitungs- und Messmethoden sie für die Quantifizierung von TEA verwenden.

Laborcode	Haben Sie für die Untersuchung des/der oben genannten Analyten die Methode DIN EN 17521:2021 „Bestimmung von Alternariatoxinen in Tomaten, Weizen und Sonnenblumenkernen mit SPE clean-up und HPLC-MS/MS“ bzw. die identische Methode BVL L 15.01-10 verwendet?	Haben Sie die Methode des BfR „Bestimmung von Alternariatoxinen in Sonnenblumenkernen“ verwendet?	Wenn ja, nennen Sie ggf. Änderungen der Methode	Falls keine der obigen Methoden verwendet wurde, fügen Sie bitte eine kurze Methodenbeschreibung ein
LC11	nein	nein		Die Proben werden über eine SALLE (salt-assisted liquid-liquid extraction) extrahiert und ein Aliquot aus der ACN-Phase wird anschließend verdünnt.
LC12	nein	nein	Dilute and Shoot	2 g Pulver mit 30 mL Extraktionslösung (MeOH/Wasser/HAc, 85/14/1, v/v/v) 45 min geschüttelt, zentrifugiert, Aliquot feinfiltriert, davon 20 µL mit Istd-Lösung und Wasser/MeOH 80/20 auf 1 mL Volumen in Vial
LC13	nein	nein		Das gemahlene und homogenisierte Probenmaterial wird extrahiert. Der Extrakt wird verdünnt und gegebenenfalls filtriert. Die Messung erfolgt mittels LC-MS/MS im ESI+/-Modus. Die Auswertung der Analyten wird nach der Methode des internen Standards durchgeführt.
LC14	ja	nein	Doppelte Entfettung mit n-Hexan Zusätzlicher Verdünnungsschritt bei Paprikapulver (TEA; 1:15) Kalibrierlevel	
LC15	nein	nein		2g+ISTD/15//10/20//15/1//0,1/1mL; sehr ähnlich zu DIN, jedoch kein Tween bei SPE, pH-Wert-Einstellung der Probenmesslösung
LC16	nein	nein		Eine Teilmenge der zu analysierenden Probe wird mit einem Acetonitril-Methanol-Wasser (4+1+5 Verhältnis) Gemisch extrahiert. Ein Aliquot des Extrakts wird mit internem Standard versetzt und verdünnt. Die

Laborcode	Haben Sie für die Untersuchung des/der oben genannten Analyten die Methode DIN EN 17521:2021 „Bestimmung von Alternariotoxinen in Tomaten, Weizen und Sonnenblumenkernen mit SPE clean-up und HPLC-MS/MS“ bzw. die identische Methode BVL L 15.01-10 verwendet?	Haben Sie die Methode des BfR „Bestimmung von Alternariotoxinen in Sonnenblumenkernen“ verwendet?	Wenn ja, nennen Sie ggf. Änderungen der Methode	Falls keine der obigen Methoden verwendet wurde, fügen Sie bitte eine kurze Methodenbeschreibung ein
				Mykotoxine werden mit HPLC-MS/MS im MRM-Modus an einer Umkehrphase bestimmt.
LC17	ja	nein		
LC18	nein	nein		- methanolische Extraktion, Zugabe von deuterierten Standards auf die Einwaage - ein Aliquot wird eingeeengt, in Eluent aufgenommen und mittels LC-MS/MS vermessen
LC19	nein	nein		Probenvorbereitung mittels QuEChERS
LC20	nein	ja	keine Zugabe von NaAc vor dem Abdampfen Injektionslösemittel: ACN/H ₂ O + 0,1 % FA 40/60 Eluent A: H ₂ O + 0,1 % FA Eluent C: ACN + 1 % FA	
LC21	nein	ja		
LC22	nein	nein		Hausmethode LC-MS/MS Nach Zugabe von isotopenmarkierten internen Standards werden die Proben unter Anwendung eines sauren QuEChERS-Verfahrens extrahiert. Die Messung erfolgt aus den unverdünnten Acetonitril-Überständen mittels HPLC-MS/MS an einer Umkehrphasen-Säule und Detektion im ESI-Negativmodus.
LC23	nein	ja	Rohextrakt wurde nur 1:10 verdünnt	-
LC25	ja	nein	Verdünnung 1:100 für TEA	
LC26	ja	nein		
LC27	nein	nein		QuEChERS-Extraktion, nach Phasentrennung dispersive SPE und Entfettung mit n-Hexan
LC28	nein	nein		Extraktion mit Wasser:ACN (1 % Essigsäure) (1:2)

9.10 Anhang 10 – Aufarbeitungsmethoden für AOH, ALT, TEN und AME

Den Teilnehmenden der Laborvergleichsuntersuchung war freigestellt, welche Aufarbeitungs- und Messmethoden sie für AOH, ALT, TEN und AME verwenden.

Laborcode	Haben Sie für die Untersuchung des/der oben genannten Analyten die Methode DIN EN 17521:2021 „Bestimmung von Alternariatoxinen in Tomaten, Weizen und Sonnenblumenkernen mit SPE clean-up und HPLC-MS/MS“ bzw. die identische Methode BVL L 15.01-10 verwendet?	Haben Sie die Methode des BfR „Bestimmung von Alternariatoxinen in Sonnenblumenkernen“ verwendet?	Wenn ja, nennen Sie ggf. Änderungen der Methode	Falls keine der obigen Methoden verwendet wurde, fügen Sie bitte eine kurze Methodenbeschreibung ein
LC11	nein	nein		Die Proben werden über eine SALLE (salt-assisted liquid-liquid extraction) extrahiert und ein Aliquot aus der ACN-Phase wird anschließend verdünnt.
LC12	nein	nein	nicht bestimmt	
LC13	nein	nein		Das gemahlene und homogenisierte Probenmaterial wird extrahiert. Der Extrakt wird verdünnt und gegebenenfalls filtriert. Die Messung erfolgt mittels LC-MS/MS im ESI+/- Modus. Die Auswertung der Analyten wird nach der Methode des internen Standards durchgeführt.
LC14	ja	nein	Doppelte Entfettung mit n-Hexan Kalibrierlevel	
LC15	nein	nein		2 g+ISTD/15//10/20//15/1 mL; sehr ähnlich zu DIN, jedoch kein Tween bei SPE, pH-Wert-Einstellung der Probenmesslösung
LC16	nein	nein		Eine Teilmenge der zu analysierenden Probe wird mit einem Acetonitril-Methanol-Wasser (6+2+2 Verhältnis) Gemisch extrahiert. Ein Aliquot des Extrakts wird mit internem Standard versetzt und verdünnt. Die Mykotoxine werden mit HPLC-MS/MS im MRM Modus an einer Umkehrphase bestimmt.
LC17	ja	nein		
LC18	nein	nein		- methanolische Extraktion, Zugabe von deuterierten Standards auf die Einwaage - ein Aliquot wird eingeeengt, in Eluent aufgenommen und mittels LC-MS/MS vermessen
LC19	nein	nein		Probenvorbereitung mittels QuEChERS

Laborcode	Haben Sie für die Untersuchung des/der oben genannten Analyten die Methode DIN EN 17521:2021 „Bestimmung von Alternariotoxinen in Tomaten, Weizen und Sonnenblumenkernen mit SPE clean-up und HPLC-MS/MS“ bzw. die identische Methode BVL L 15.01-10 verwendet?	Haben Sie die Methode des BfR „Bestimmung von Alternariotoxinen in Sonnenblumenkernen“ verwendet?	Wenn ja, nennen Sie ggf. Änderungen der Methode	Falls keine der obigen Methoden verwendet wurde, fügen Sie bitte eine kurze Methodenbeschreibung ein
LC20	nein	ja	keine Zugabe von NaAc vor dem Abdampfen Injektionslösemittel: ACN/H ₂ O + 0,1 % FA 40/60 Eluent A: H ₂ O + 0,1 % FA Eluent B: ACN + 0,1 % FA	
LC21	nein	ja		
LC22	nein	nein		Hausmethode LC-MS/MS Nach Zugabe von isotopenmarkierten internen Standards werden die Proben unter Anwendung eines sauren QuEChERS-Verfahrens extrahiert. Die Messung erfolgt aus den unverdünnten Acetonitril-Überständen mittels HPLC-MS/MS an einer Umkehrphasen-Säule und Detektion im ESI-Negativmodus.
LC23	nein	ja	keine Änderungen	-
LC25	ja	nein		
LC26	ja	nein		
LC27	nein	nein		QuEChERS-Extraktion, nach Phasentrennung dispersive SPE und Entfettung mit n-Hexan
LC28	nein	nein		Extraktion mit Wasser:ACN (1 % Essigsäure) (1:2)

9.11 Anhang 11 – Details der analytischen Methoden

Laborcode	HPLC	MS	HPLC-Säule	Mobile Phase A	Mobile Phase B
LC11	Agilent 1290 Infinity II	Sciex 7500 und Agilent 6495	InfinityLab Poroshell 120 EC-C18: 100 x 3,0 mm; 2,7 µm von Agilent	50 mL Methanol, 950 mL Wasser, 5,781 g Ammoniumacetat, 0,2 mL Ammoniak (25 %), pH-Wert 7,8	MeOH
LC12	Agilent 1290	Sciex 6500+	Eclipse Plus C18 2,1 x 100, 1,8 µm	Wasser/MeOH 95/5 + 0,05 mmol NH ₄ -Acetat	Wasser/MeOH 5/95 + 0,05 mmol NH ₄ -Acetat
LC13	Shimadzu LC30	Sciex 6500+	C18 ec	Wasser:Methanol 85:15	Methanol
LC14	Agilent 1260 Infinity II	Sciex 6500 +	Phenomenex Gemini 5 µm NX-C18 110 A, 100 x 2 mm	5 mM Ammoniumacetat Puffer pH 8	Methanol
LC15	Shimadzu	Sciex QTrap 5500	Luna Omega Polar C18; 150 x 2,1 mm; 3 µm	H ₂ O + 5 mM Ammoniumacetatlösung, pH 8,0–8,1	MeOH
LC16	Agilent 1260 Infinity II	Sciex 5500	Waters XBridge; 75 x 3 mm ; 2,5 µm	NH ₄ HCO ₃ 1 mM in MeOH + H ₂ O (5+95)	MeOH
LC17	Waters Alliance e2695	Waters Xevo TQD	Phenomenex C18 Gemini 150 x 3 mm, 3 µm	5 mmol/L Ammoniumacetatpuffer (pH 8)	Methanol
LC18	Agilent 1290 Infinity 2	Sciex Triple Quad 6500+ Triple Quad	Agilent Zorbax Eclipse XDB 80A C18, 2,1 x 100 mm, 3,5 µm	385 mg Ammoniumacetat in 1 L millipore Wasser (pH 8–8,8)	MeOH LC-MS grade
LC19	ExcionLC	Sciex 5500Qtrap	Gemini 3µm C18 110 A, 150 x 3 mm (Fa. Phenomenex)	Wasser:MeOH (90:10) + 2 mM Ammoniumhydrogencarbonat	Methanol + 2 mM Ammoniumhydrogencarbonat
LC20	Acquity UPLC I	Xevo TQ-XS	Waters Acquity UPLC/BEH C18 2,1 x 50 mm, 1,7 µm	H ₂ O + 0,1 % FA	ACN + 0,1 % FA (ACN + 1 % FA für TEA)
LC21	Agilent 1290	Sciex 6500+	Phenomenex Gemini NX-C18, 100 x 2,1 mm; 5 µm	Ammoniumacetat (pH 9)	Methanol/2-Propanol (90/10, v/v)
LC22	Agilent 1260	AB Sciex 6500+	Zorbax Eclipse Plus C18	Ammoniumacetat in Wasser	Methanol
LC23	Shimadzu Nexera UPLC	Sciex 6500+	Gemini-NX 5 µm C18 110 A	77 mg Ammoniumacetat/L Wasser, pH 9	Methanol/Isopropanol (9:1, v/v)
LC25	Agilent Infinity 1260 II	Sciex 6500+	Gemini NX C18, 5 µm, 150 x 2,0 mm	5 mmol Ammoniumacetatpuffer, pH 8	Methanol
LC26	Agilent 1290	Agilent 6495	Fa. Waters, ACQUITY Premier BEH C18, 1,7 µm, 2,1 x 100 mm, 130 Å (1.240 bar)	Wasser + 1 mM NH ₄ -Acetat sowie 0,5 % HAC und 0,1 % FA	Methanol + 0,5 % HAC und 0,1% FA
LC27	Agilent Infinity 1290	Agilent QQQ 6495	Phenomenex Gemini NX, 100 x 3 mm, 3 µm	5 mmol Ammoniumacetat in Wasser, pH-Wert 8,0	Methanol
LC28	Agilent 1290 Infinity	Agilent 6495	Agilent Poroshell 120 SB C18; 2,7µm; 2,1 x 100 mm	Wasser, 50 mmol Ammoniumformiat und 1 % Ameisensäure	Methanol

9.12 Anhang 12 – Masse-/Ladungsübergänge für TEA

Laborcode	Polarität	TEA				IS TEA			
		Quantifier		Qualifier		Quantifier		Qualifier	
		m/z precursor	m/z product						
LC11	negativ	196,1	139,1	196,1	112,0	-	-	-	-
LC12	negativ	196	139	196	112	198	141	198	114
LC13	positiv	196	69	196	112	198	114	198	141
LC14	negativ	196,0	111,8	196	139	197,9	113,9	197,9	140,8
LC15	negativ	196,0	69,0	196,0	83,2	197,9	140,8	197,9	113,9
LC16	negativ	196	112	196	139	208	114	208	142
LC17	negativ	196	139	196	112	198	141	-	-
LC18	negativ	196	139	196	112	198,1	141,1	-	-
LC19	negativ	196	139	196	112	-	-	-	-
LC20	-	198,14	125,10	198,14	153,10	200,00	127,00	-	-
LC21	negativ	196	139	196	112	198	141	198	114
LC22	negativ	196,0	139	196,0	111,9	198,0	113,4	198,0	140,9
LC23	negativ	196,1	139,0	196,1	112,0	198,1	141,0	198,0	114,0
LC25	negativ	196,0	139,0	196,0	119,9	198,1	141,0	-	-
LC26	positiv	198,1	125,1	198,1	153,1	200,1	127,1	-	-
LC27	negativ	196,0	139,0	196,0	112,0	198,0	141,0	198,0	114,0
LC28	negativ	196	139	196	112	-	-	-	-

9.13 Anhang 13 – Masse-/Ladungsübergänge für AOH

Laborcode	Polarität	AOH				IS AOH			
		Quantifier		Qualifier		Quantifier		Qualifier	
		m/z precursor	m/z product						
LC11	negativ	257,0	147,0	257,0	215,1	-	-	-	-
LC12	negativ	257	215	257	212	-	-	-	-
LC13	positiv	257	212	257	215	271	156	271	197
LC14	negativ	256,9	212,0	256,9	214,9	260,0	215,0	260,0	217,9
LC15	negativ	257,0	147,1	257,0	159,0	260,0	217,9	260,0	215,0
LC16	negativ	257	215	257	213	260	216	260	218
LC17	negativ	257	215	257	147	260	218	-	-
LC18	negativ	257,1	215,1	257,1	212,1	260,1	218,1	-	-
LC19	negativ	257	215	257	147	271	226	271	43
LC20	-	257,03	147,04	257,03	189,03	260,03	149,98	-	-
LC21	negativ	257	216	257	147	260	216	260	150
LC22	negativ	256,9	212	256,9	146,9	259,9	215	259,9	218
LC23	negativ	257,1	215,0	257,1	147,0	260,1	150,1	260,1	150,1
LC25	negativ	257,0	214,9	257,0	146,9	260,0	218,0	-	-
LC26	negativ	257,1	215	257,1	212	260,1	216	-	-
LC27	positiv	257,0	215,0	257,0	213,0	260,0	216,0	260,0	218,0
LC28	negativ	257	213	257	215	-	-	-	-

9.14 Anhang 14 – Masse-/Ladungsübergänge für ALT

Laborcode	Polarität	ALT				IS ALT			
		Quantifier		Qualifier		Quantifier		Qualifier	
		m/z precursor	m/z product						
LC11	negativ	291,1	214,1	291,1	186,1	-	-	-	-
LC12	negativ	-	-	-	-	-	-	-	-
LC13	positiv	291	203	291	214	294	203	294	214
LC14	negativ	290,9	185,9	290,9	214,1	297,0	189,0	297,0	216,9
LC15	negativ	290,9	202,9	290,9	160,9	297,0	251,0	297,0	203,1
LC16	negativ	291	214	291	229	297	235	297	217
LC17	negativ	291	203	291	248	297	203	-	-
LC18	negativ	291,1	214,1	291,1	186,1	297,1	189,1	297,1	190,1
LC19	positiv	293	257	293	229	-	-	-	-
LC20	-	292,89	229,27	292,89	239,25	299,14	262,35	-	-
LC21	negativ	291	229	291	214	297	235	297	217
LC22	negativ	290,9	214	290,9	229,1	297,0	217	297,0	189
LC23	negativ	291,1	214,0	291,1	229,1	297,1	217,1	297,1	217,1
LC25	negativ	291,0	229,1	291,0	203,1	297,0	203,0	-	-
LC26	positiv	293,1	257	293,1	239,1	299,1	263	-	-
LC27	positiv	291,1	214,0	291,1	229,0	294,1	232,0	291,4	214,0
LC28	positiv	293	257	293	257	-	-	-	-

9.15 Anhang 15 – Masse-/Ladungsübergänge für TEN

Laborcode	Polarität	TEN				IS TEN			
		Quantifier		Qualifier		Quantifier		Qualifier	
		m/z precursor	m/z product						
LC11	negativ	413,3	141,0	413,3	271,1	-	-	-	-
LC12	negativ	413	141	413	141	-	-	-	-
LC13	negativ	415	312	415	302	418	199	418	259
LC14	negativ	413,1	140,8	413,1	271,1	416,1	141,0	416,1	274,0
LC15	negativ	413,2	271,2	413,2	214,1	416,1	141,0	416,1	274,0
LC16	negativ	413	141	413	271	416	141	416	274
LC17	negativ	413	141	413	271	416	274	-	-
LC18	negativ	413,2	141,1	413,2	271,1	-	-	-	-
LC19	negativ	413	141	413	271	-	-	-	-
LC20	-	415,05	312,52	415,05	302,22	418,20	315,17	-	-
LC21	negativ	413	141	413	271	416	141	416	274
LC22	negativ	413	141	413	271,1	416,0	141	416,0	274,1
LC23	negativ	413,2	141,1	413,2	271,1	416,2	274,2	416,2	141,1
LC25	negativ	413,2	141,0	413,2	271,1	416,2	141,0	-	-
LC26	positiv	415,2	312,2	415,2	199,2	418,2	315,2	-	-
LC27	positiv	513,3	271,3	413,3	141,3	416,3	274,2	416,3	141,2
LC28	positiv	415	58	415	312	-	-	-	-

9.16 Anhang 16 – Masse-/Ladungsübergänge für AME

Laborcode	Polarität	AME				IS AME			
		Quantifier		Qualifier		Quantifier		Qualifier	
		m/z precursor	m/z product						
LC11	negativ	271,1	256,0	271,1	227,1	-	-	-	-
LC12	negativ	271	256	271	228	-	-	-	-
LC13	positiv	271	228	271	256	286	225	286	241
LC14	negativ	270,9	227,8	270,9	255,9	274,0	231,1	274,0	258,8
LC15	negativ	271,0	256,0	271,0	227,8	274,0	231,1	274,0	258,8
LC16	negativ	271	256	271	228	274	259	274	231
LC17	negativ	271	256	271	228	374	259	-	-
LC18	negativ	271,1	256,1	271,1	228,1	-	-	-	-
LC19	negativ	271	256	271	228	286	270	286	241
LC20	-	271,03	256,05	271,03	182,99	274,12	259,05	-	-
LC21	negativ	271	256	271	228	274	259	274	231
LC22	negativ	270,9	255	270,9	228,0	273,9	259	273,9	231
LC23	negativ	271,1	256,0	271,1	228,0	274,1	259,1	274,1	231,1
LC25	negativ	271,0	256,0	271,0	227,9	274,0	259,1	-	-
LC26	negativ	271,1	256,1	271,1	228	274,1	259,1	-	-
LC27	positiv	271,0	256,0	271,0	255,0	274,0	256,0	274,0	255,0
LC28	negativ	271	256	271	255	-	-	-	-

9.17 Anhang 17 – Standardanbieter

Laborcode	TEA	AOH	ALT	TEN	AME
LC11	Cayman (Lieferant Biomol)	Sigma Aldrich (Merck)	Oskar Tropitzsch	Oskar Tropitzsch	Cayman (Lieferant Biomol)
LC12	ASCA	LGC Ehrenstorfer	LGC Ehrenstorfer	LGC Ehrenstorfer	LGC Ehrenstorfer
LC13	* HPC Standards GmbH	* HPC Standards GmbH	* HPC Standards GmbH	* HPC Standards GmbH	* HPC Standards GmbH
LC14	* Romer Labs / Biopure	* Romer Labs / Biopure	* Romer Labs / Biopure	* Romer Labs / Biopure	* Romer Labs / Biopure
LC15	ASCA GmbH	ASCA GmbH	ASCA GmbH	ASCA GmbH	ASCA GmbH
LC16	* Romer Labs	* HPC Standards	* HPC Standards	* Romer Labs	* HPC Standards
LC17	* Romer Labs / Biopure	* Romer Labs / Biopure	* Romer Labs / Biopure	* Romer Labs / Biopure	* Romer Labs / Biopure
LC18	* Romer	* Romer	* HPC Standards	* Romer	* Romer
LC19	* Romer Labs	* Romer Labs	* Romer Labs	* Romer Labs	* Romer Labs
LC20	* Romer Labs	* Romer Labs	* Romer Labs	* Romer Labs	* Romer Labs
LC21	* Romer	* Romer	* Romer	* Romer	* Romer
LC22	* HPC	* HPC	* HPC	* Romer Labs	* HPC
LC23	* Romer Labs	* Romer Labs	* Romer Labs	* Romer Labs	* Romer Labs
LC25	* Romer Labs / ASCA	* Romer Labs / ASCA	* Romer Labs / ASCA	* Romer Labs / ASCA	* Romer Labs / ASCA
LC26	* Asca	Asca	Asca	Asca	Asca
LC27	Sigma-Aldrich	Sigma-Aldrich	* HPC	Biopure	Biopure
LC28	* Biopure	* Biopure	* Biopure	* Biopure	* Biopure

*zertifizierter Standard

9.18 Anhang 18 – Prüfung von nativen Standards und Verwendung von internen Standards

Laborcode	TEA	IS TEA verwendet	AOH	IS AOH verwendet	ALT	IS ALT verwendet	TEN	IS TEN verwendet	AME	IS AME verwendet
LC11	geprüft ^[s]	nein	geprüft ^[s]	nein	geprüft ^[s]	nein	geprüft ^[s]	nein	geprüft ^[s]	Nein
LC12	geprüft ^[p]	ja	geprüft ^[p]	nein	geprüft *	nein *	geprüft ^[p]	nein	geprüft ^[p]	Nein
LC13	geprüft ^[s]	TEA- ¹³ C ₂	geprüft ^[s]	AOH- ¹³ C ₁₄	geprüft ^[s]	ALT-D ₃	geprüft ^[s]	TEN-D ₃	geprüft ^[s]	AME- ¹³ C ₁₅
LC14	geprüft ^[s]	TEA- ¹³ C ₂	geprüft ^[s]	AOH-D ₃	geprüft ^[s]	ALT-D ₆	geprüft ^[s]	TEN-D ₃	geprüft ^[s]	AME-D ₃
LC15	geprüft ^[p]	TEA- ¹³ C ₂	geprüft ^[p]	AOH-D ₃	geprüft ^[p]	ALT-D ₆	geprüft ^[p]	TEN-D ₃	geprüft ^[p]	AME-D ₃
LC16	geprüft ^[s]	TEA-D ₁₃	geprüft ^[s]	AOH-D ₃	geprüft ^[s]	ALT-D ₆	geprüft ^[s]	TEN-D ₃	geprüft ^[s]	AME-D ₃
LC17	nicht geprüft	TEA- ¹³ C ₂	nicht geprüft	AOH-D ₃	nicht geprüft	ALT-D ₆	nicht geprüft	TEN-D ₃	nicht geprüft	AME-D ₃
LC18	geprüft ^[s]	TEA- ¹³ C ₂	geprüft ^[s]	AOH-D ₃	geprüft ^[s]	ALT-D ₃	geprüft ^[s]	nein	geprüft ^[s]	AOH-D ₃
LC19	nicht geprüft	nein	nicht geprüft	AOH- ¹³ C ₁₄	nicht geprüft	nein	nicht geprüft	nein	nicht geprüft	AME- ¹³ C ₁₅
LC20	geprüft ^[s]	TEA- ¹³ C ₂	geprüft ^[s]	AOH-D ₃	geprüft ^[s]	ALT-D ₆	geprüft ^[s]	TEN-D ₃	geprüft ^[s]	AME-D ₃
LC21	nicht geprüft	TEA- ¹³ C ₂	nicht geprüft	AOH-D ₃	nicht geprüft	ALT-D ₆	nicht geprüft	TEN-D ₃	nicht geprüft	AME-D ₃
LC22	geprüft ^[s]	TEA- ¹³ C ₂	geprüft ^[s]	AOH-D ₃	geprüft ^[s]	ALT-D ₆	geprüft ^[s]	TEN-D ₃	geprüft ^[s]	AME-D ₃
LC23	geprüft ^[s]	TEA- ¹³ C ₂	geprüft ^[s]	AOH-D ₃	geprüft ^[s]	ALT-D ₆	geprüft ^[s]	TEN-D ₃	geprüft ^[s]	AME-D ₃
LC25	nicht geprüft	TEA- ¹³ C ₂	nicht geprüft	AOH-D ₃	nicht geprüft	ALT-D ₆	nicht geprüft	TEN-D ₃	nicht geprüft	AME-D ₃
LC26	nicht geprüft	TEA- ¹³ C ₂	n.a.	AOH-D ₃	n.a.	ALT-D ₆	n.a.	TEN-D ₃	n.a.	AME-D ₃
LC27	nicht geprüft	TEA- ¹³ C ₂	nicht geprüft	AOH-D ₃	nicht geprüft	ALT-D ₃	nicht geprüft	TEN-D ₃	nicht geprüft	AME-D ₃
LC28	nicht geprüft	nein	nicht geprüft	nein	nicht geprüft	nein	nicht geprüft	nein	nicht geprüft	Nein

n.a. = nicht angegeben, * = Standard vorhanden, aber keine Werte für ALT reportiert

^[p] photometrisch Prüfung mittels Extinktionskoeffizient

^[s] Prüfung durch Abgleich mit unabhängigem Standard

9.19 Anhang 19 – Kalibrierung und Einsatz des internen Standards

Laborcode	Kalibrierung			Interner Standard	
	Art	Wichtung	durch den Ursprung	TEA	AOH, ALT, TEN und AME
LC11	Kalibrierreihe in matrixfreiem LM	1/x	ja	kein interner Standard verwendet	kein interner Standard verwendet
LC12	Kalibrierreihe in matrixfreiem LM	1/x	nein	Zugabe des internen Standards zur Messlösung	kein interner Standard verwendet
LC13	Kalibrierreihe in matrixfreiem LM	1/x	nein	Zugabe des internen Standards zur Messlösung	Zugabe des internen Standards zur Messlösung
LC14	Kalibrierreihe in matrixfreiem LM	1/x	nein	Zugabe des internen Standards zur Probeneinwaage / Beim Verdünnungsschritt nach der Extraktion Zugabe ISTD	Zugabe des internen Standards zur Probeneinwaage
LC15	Kalibrierreihe in matrixfreiem LM	1/x	nein	Zugabe des internen Standards zur Probeneinwaage	
LC16	Kalibrierreihe in matrixfreiem LM	keine	nein	Zugabe des internen Standards zur Messlösung	
LC17	Kalibrierreihe in matrixfreiem LM	1/x	nein	Zugabe des internen Standards zur Probeneinwaage	
LC18	Kalibrierreihe in matrixfreiem LM	1/x	nein	Zugabe des internen Standards zur Messlösung	
LC19	Kalibrierreihe in matrixfreiem LM	1/x	nein	kein interner Standard verwendet	IS-Zugabe nach Extraktion zu einem definiertem Volumen Probenextrakt
LC20	Kalibrierreihe in matrixfreiem LM	1/x	nein	Zugabe des internen Standards zur Probeneinwaage	
LC21	Kalibrierreihe in matrixfreiem LM	1/x	nein	Zugabe des internen Standards zur Messlösung	
LC22	Kalibrierreihe in matrixfreiem LM	1/x	ja	Zugabe des internen Standards zur Probeneinwaage	
LC23	Kalibrierreihe in matrixfreiem LM	1/x	nein	Zugabe des internen Standards zur Messlösung	
LC25	Kalibrierreihe in matrixfreiem LM	1/x	nein	IS-Zugabe nach Verdünnung des Extraktes (1/100) vor SPE	Zugabe des internen Standards zur Probeneinwaage
LC26	Kalibrierreihe in matrixfreiem LM zusätzlich Kalibrierreihe in Matrix	1/x	ja	Zugabe des internen Standards zur Probeneinwaage	
LC27	Kalibrierreihe in matrixfreiem LM	-	ja	Zugabe des internen Standards zur Messlösung	
LC28	Standardaddition auf Messlösung	keine	ja	kein interner Standard verwendet	

9.20 Anhang 20 – Ergebnisse der Untersuchung von Paprikapulverprobe

Für ALT in Paprikapulver wurden keine Gehalte reportiert und ausgewertet.

[nach ISO 13528 und *Performance assessment in proficiency tests* [EURL-MP-background doc 001 \(V1.1\)](#)]

Laborcode	TEA		AOH*		ALT		TEN*		AME*	
	AV [µg/kg]	17.385	AV [µg/kg]	33,75	AV [µg/kg]	-	AV [µg/kg]	17,63	AV [µg/kg]	20,64
	s _r [µg/kg]	696	s _r [µg/kg]	1,38	s _r [µg/kg]	-	s _r [µg/kg]	0,78	s _r [µg/kg]	1,08
	s _R [µg/kg]	4.086	s _R [µg/kg]	8,64	s _R [µg/kg]	-	s _R [µg/kg]	5,31	s _R [µg/kg]	5,28
	RSD _R [%]	23,50	RSD _R [%]	25,60	RSD _R [%]	-	RSD _R [%]	30,13	RSD _R [%]	25,57
	Ergebnis [µg/kg]	z-score	Ergebnis [µg/kg]	z'-score	Ergebnis [µg/kg]	z-score	Ergebnis [µg/kg]	z'-score	Ergebnis [µg/kg]	z'-score
LC11	21.667	0,99	48,70	1,69	<LOQ	-	{25,33}	[1,63]	30,93	1,89
LC12	20.809	0,79	n.u.	-	n.u.	-	n.u.	-	n.u.	-
LC13	19.165	0,41	31,57	-0,25	<LOQ	-	19,37	0,37	11,57	-1,67
LC14	14.770	-0,60	37,58	0,43	<LOQ	-	17,32	-0,07	22,01	0,25
LC15	16.739	-0,15	35,93	0,25	<LOQ	-	13,53	-0,87	24,13	0,64
LC16	21.748	1,00	39,37	0,63	<LOQ	-	16,17	-0,31	21,73	0,20
LC17	16.680	-0,16	33,55	-0,02	<LOQ	-	19,92	0,48	n.u.	-
LC18	12.167	-1,20	21,77	-1,35	<LOQ	-	10,20	-1,57	21,57	0,17
LC19	18.500	0,26	36,90	0,36	<LOQ	-	24,97	1,55	17,80	-0,52
LC20	14.120	-0,75	37,40	0,41	<LOQ	-	24,63	1,48	25,20	0,84
LC21	18.873	0,34	32,90	-0,10	<LOQ	-	15,90	-0,37	23,30	0,49
LC22	12.120	-1,21	23,47	-1,16	<LOQ	-	<LOQ	-	15,6	-0,93
LC23	25.175	1,79	44,08	1,17	<LOQ	-	17,32	-0,07	25,55	0,90
LC25	12.729	-1,07	30,20	-0,40	<LOQ	-	12,70	-1,04	17,62	-0,56
LC26	17.206	-0,04	24,65	-1,03	<LOQ	-	12,14	-1,16	15,62	-0,92
LC27	20.500	0,72	41,10	0,83	<LOQ	-	19,13	0,32	23,47	0,52
LC28	14.242	-0,72	22,86	-1,23	<LOQ	-	15,84	-0,38	14,77	-1,08
n	17		16		16		15		15	

*Für AOH, TEN und AME wurden z'-scores aufgrund einer nicht zu vernachlässigenden Unsicherheit des assigned values berechnet ($0,3 \sigma_{LVU} < u_{AV} \leq 0,7 \sigma_{LVU}$).

AV = assigned value, s_r = Robuste Wiederholbarkeit, s_R = Robuste Vergleichspräzision, RSD_R = Relative Vergleichsstandardabweichung

n.u. = nicht untersucht, n = Anzahl der Labore mit Resultaten. Der Wert in eckigen Klammern [] gibt einen proxy z-score an.

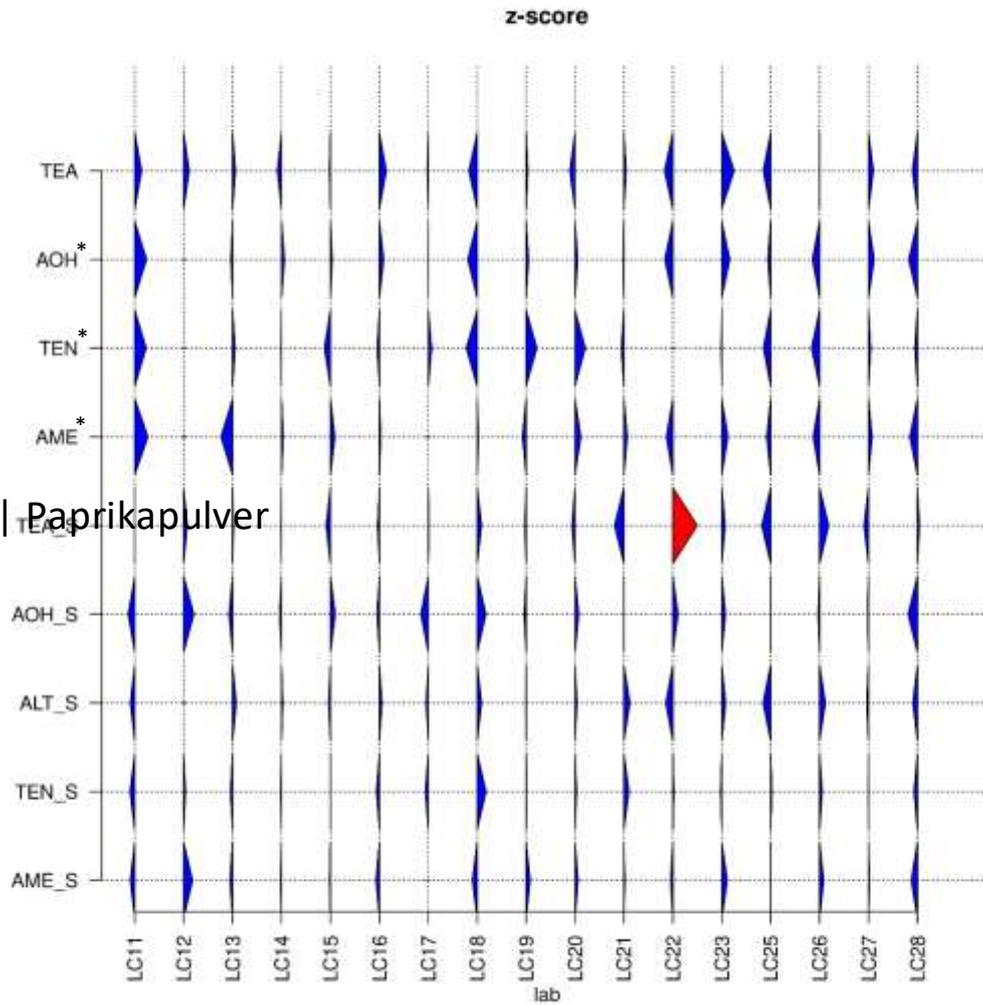
Der Wert in geschwungenen Klammern { } ist unterhalb des angegebenen LOQ und wird daher für die Berechnung der statistischen Kenngrößen AV, s_R und RSD_R nicht berücksichtigt.

9.21 Anhang 21 – Ergebnisse der Untersuchung des rekonstituierten Kontroll-Dünnsfilms

Laborcode	TEA		AOH		ALT		TEN		AME	
	AV [ng/mL]	19,85	AV [ng/mL]	19,95	AV [ng/mL]	19,11	AV [ng/mL]	21,59	AV [ng/mL]	19,67
	s _r [ng/mL]	0,34	s _r [ng/mL]	0,57	s _r [ng/mL]	0,44	s _r [ng/mL]	0,87	s _r [ng/mL]	0,64
	s _R [ng/mL]	3,89	s _R [ng/mL]	4,27	s _R [ng/mL]	3,41	s _R [ng/mL]	2,32	s _R [ng/mL]	3,12
	RSD _R [%]	19,59	RSD _R [%]	21,42	RSD _R [%]	17,85	RSD _R [%]	10,75	RSD _R [%]	15,86
	Ergebnis [ng/mL]	z-score								
LC11	19,84	0,00	15,20	-0,95	16,07	-0,64	17,89	-0,69	16,47	-0,65
LC12	22,37	0,51	27,20	1,46	n.u.	n.u.	23,02	0,26	25,95	1,28
LC13	20,60	0,15	17,37	-0,52	21,63	0,53	19,93	-0,31	17,80	-0,38
LC14	19,52	-0,07	18,53	-0,28	19,94	0,17	20,88	-0,13	18,96	-0,14
LC15	16,80	-0,62	23,37	0,69	17,80	-0,27	21,70	0,02	19,03	-0,13
LC16	18,63	-0,25	18,30	-0,33	20,90	0,37	19,40	-0,41	17,30	-0,48
LC17	20,43	0,12	14,60	-1,07	17,63	-0,31	19,33	-0,42	n.u.	n.u.
LC18	22,97	0,63	26,17	1,25	22,10	0,63	28,47	1,27	16,27	-0,69
LC19	18,97	-0,18	18,57	-0,28	18,87	-0,05	21,90	0,06	22,57	0,59
LC20	17,63	-0,45	22,67	0,55	20,53	0,30	22,83	0,23	21,87	0,45
LC21	13,13	-1,35	19,97	0,00	23,23	0,86	25,47	0,72	20,30	0,13
LC22	47,50	5,57	23,67	0,75	14,23	-1,02	22,40	0,15	18,10	-0,32
LC23	22,35	0,50	22,69	0,55	21,83	0,57	20,66	-0,17	23,64	0,81
LC25	13,50	-1,28	20,00	0,01	13,88	-1,09	22,63	0,19	19,73	0,01
LC26	26,35	1,31	18,87	-0,22	23,11	0,84	23,72	0,39	22,64	0,60
LC27	16,65	-0,65	19,25	-0,14	17,90	-0,25	21,40	-0,04	20,30	0,13
LC28	21,33	0,30	13,33	-1,33	16,00	-0,65	19,00	-0,48	15,33	-0,88
n	17		17		16		17		16	

AV = assigned value, s_r = Robuste Wiederholbarkeit, s_R = Robuste Vergleichspräzision, RSD_R = Relative Vergleichstandardabweichung, n.u. = nicht untersucht, n = Anzahl der Labore mit Resultaten

9.22 Anhang 22 – Graphische Darstellung der z- und z'-scores



* Für AOH, TEN und AME wurden z'-scores bei Paprikapulverprobe aufgrund einer nicht zu vernachlässigenden Unsicherheit des assigned values berechnet ($0,3 \sigma_{LVU} < u_{AV} \leq 0,7 \sigma_{LVU}$).

Über das BfR

Das Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) ist eine wissenschaftlich unabhängige Einrichtung im Geschäftsbereich des Bundesministeriums für Landwirtschaft, Ernährung und Heimat (BMLEH). Es berät die Bundesregierung und die Bundesländer zu Fragen der Lebensmittel-, Chemikalien- und Produktsicherheit. Das BfR betreibt eigene Forschung zu Themen, die in engem Zusammenhang mit seinen Bewertungsaufgaben stehen.

Impressum

Herausgeber:

Bundesinstitut für Risikobewertung

Max-Dohrn-Straße 8-10

10589 Berlin

T +49 30 18412-0

F +49 30 18412-99099

bfr@bfr.bund.de

bfr.bund.de

BfR-Autor/innen: Dr. Cindy Schöne, Dr. Arnold Bahlmann, Dr. Patrick Esch, Dr. Michael Weiß

Anzahl Tabellen: 4

Anzahl Abbildungen: 0

Anzahl Seiten: 46

Anstalt des öffentlichen Rechts

Vertreten durch den Präsidenten Professor Dr. Dr. Dr. h. c. Andreas Hensel

Aufsichtsbehörde: Bundesministeriums für Landwirtschaft, Ernährung und Heimat (BMLEH)

USt-IdNr: DE 165 893 448

V.i.S.d.P: Dr. Suzan Fiack



gültig für Texte, die vom BfR erstellt wurden

Bilder/Fotos/Grafiken sind ausgenommen, wenn nicht anders gekennzeichnet

BfR | Risiken erkennen –
Gesundheit schützen