

DIN EN 14123

**DIN**

ICS 67.050

Ersatz für  
DIN EN 14123:2003-09

**Lebensmittel –  
Bestimmung von Aflatoxin B<sub>1</sub> und der Summe von Aflatoxin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>  
und G<sub>2</sub> in Haselnüssen, Erdnüssen, Pistazien, Feigen und  
Paprikapulver –  
Hochleistungsflüssigchromatographisches Verfahren mit  
Immunaффinitätssäulen-Reinigung und Nachsäulenderivatisierung;  
Deutsche Fassung EN 14123:2007**

Foodstuffs –

Determination of aflatoxin B<sub>1</sub> and the sum of aflatoxin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> and G<sub>2</sub> in hazelnuts, peanuts, pistachios, figs and paprika powder –  
High performance liquid chromatographic method with post-column derivatisation and immunoaffinity column cleanup;  
German version EN 14123:2007

Produits alimentaires –

Dosage de l'aflatoxine B<sub>1</sub> et de la somme des aflatoxines B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> et G<sub>2</sub> dans les noisettes, les cacahuètes, les pistaches, les figues et le paprika en poudre –  
Méthode par purification sur colonne d'immuno-affinité suivie d'une chromatographie liquide à haute performance avec dérivation post-colonne;  
Version allemande EN 14123:2007

Gesamtumfang 28 Seiten

Normenausschuss Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte (NAL) im DIN



## **Nationales Vorwort**

Dieses Dokument (EN 14123:2007) ist vom Technischen Komitee CEN/TC 275 „Lebensmittelanalytik — Horizontale Verfahren“ (Sekretariat: DIN, Deutschland) des Europäischen Komitees für Normung (CEN) nach eingehenden Vorarbeiten der Arbeitsgruppe 5 „Biotoxine“ erarbeitet worden.

Deutsche Experten aus dem Arbeitsausschuss „Biotoxine“ des Normenausschusses „Lebensmittel und landwirtschaftliche Produkte“ (NAL) haben maßgeblich an diesem Papier mitgewirkt.

Für die in diesem Dokument zitierten Internationalen Normen wird im Folgenden auf die entsprechenden Deutschen Normen hingewiesen:

EN ISO 3696	siehe	DIN ISO 3696
ISO 5725-2	siehe	DIN ISO 5725-2
ISO 5725-4	siehe	DIN ISO 5725-4
ISO 5725-6	siehe	DIN ISO 5725-6

## **Änderungen**

Gegenüber DIN EN 14123:2003-09 wurden folgende Änderungen vorgenommen:

- a) für Haselnusspaste wurden neue Validierungsdaten eingearbeitet;
- b) die Norm wurde redaktionell überarbeitet und damit an die derzeit gültigen Gestaltungsregeln angepasst.

## **Frühere Ausgaben**

DIN EN 14123: 2003-09

## **Nationaler Anhang NA** (informativ)

### **Literaturhinweise**

DIN ISO 3696, *Wasser für analytische Zwecke — Anforderungen und Prüfungen*

DIN ISO 5725-2, *Genauigkeit (Richtigkeit und Präzision) von Messverfahren und Messergebnissen — Teil 2: Grundlegende Methode für Ermittlung der Wiederhol- und Vergleichpräzision eines vereinheitlichten Messverfahrens*

DIN ISO 5725-4, *Genauigkeit (Richtigkeit und Präzision) von Messverfahren und Messergebnissen — Teil 4: Grundlegende Methoden für die Ermittlung der Richtigkeit eines vereinheitlichten Messverfahrens*

DIN ISO 5725-6, *Genauigkeit (Richtigkeit und Präzision) von Messverfahren und Messergebnissen — Teil 6: Anwendung von Genauigkeitswerten in der Praxis*

**Deutsche Fassung**

Lebensmittel —  
Bestimmung von Aflatoxin B<sub>1</sub> und der Summe von Aflatoxin B<sub>1</sub>,  
B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> und G<sub>2</sub> in Haselnüssen, Erdnüssen, Pistazien, Feigen und  
Paprikapulver —  
Hochleistungsflüssigchromatographisches Verfahren mit  
Immunaффinitätssäulen-Reinigung und Nachsäulenderivatisierung

Foodstuffs —  
Determination of aflatoxin B<sub>1</sub> and the sum of aflatoxin B<sub>1</sub>,  
B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> and G<sub>2</sub> in hazelnuts, peanuts, pistachios, figs and  
paprika powder —  
High performance liquid chromatographic method with post-  
column derivatisation and immunoaffinity column cleanup

Produits alimentaires —  
Dosage de l'aflatoxine B<sub>1</sub> et de la somme des aflatoxines  
B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> et G<sub>2</sub> dans les noisettes, les cacahuètes, les  
pistaches, les figues et le paprika en poudre —  
Méthode par purification sur colonne d'immuno-affinité  
suivie d'une chromatographie liquide à haute performance  
avec dérivation post-colonne

Diese Europäische Norm wurde vom CEN am 12. November 2007 angenommen.

Die CEN-Mitglieder sind gehalten, die CEN/CENELEC-Geschäftsordnung zu erfüllen, in der die Bedingungen festgelegt sind, unter denen dieser Europäischen Norm ohne jede Änderung der Status einer nationalen Norm zu geben ist. Auf dem letzten Stand befindliche Listen dieser nationalen Normen mit ihren bibliographischen Angaben sind beim Management-Zentrum des CEN oder bei jedem CEN-Mitglied auf Anfrage erhältlich.

Diese Europäische Norm besteht in drei offiziellen Fassungen (Deutsch, Englisch, Französisch). Eine Fassung in einer anderen Sprache, die von einem CEN-Mitglied in eigener Verantwortung durch Übersetzung in seine Landessprache gemacht und dem Management-Zentrum mitgeteilt worden ist, hat den gleichen Status wie die offiziellen Fassungen.

CEN-Mitglieder sind die nationalen Normungsinstitute von Belgien, Bulgarien, Dänemark, Deutschland, Estland, Finnland, Frankreich, Griechenland, Irland, Island, Italien, Lettland, Litauen, Luxemburg, Malta, den Niederlanden, Norwegen, Österreich, Polen, Portugal, Rumänien, Schweden, der Schweiz, der Slowakei, Slowenien, Spanien, der Tschechischen Republik, Ungarn, dem Vereinigten Königreich und Zypern.



EUROPÄISCHES KOMITEE FÜR NORMUNG  
EUROPEAN COMMITTEE FOR STANDARDIZATION  
COMITÉ EUROPÉEN DE NORMALISATION

Management-Zentrum: rue de Stassart, 36 B-1050 Brüssel

## Inhalt

	Seite
Vorwort .....	2
1 Anwendungsbereich .....	3
2 Normative Verweisungen .....	3
3 Kurzbeschreibung .....	3
4 Chemikalien .....	3
5 Geräte .....	7
6 Durchführung .....	8
7 Präzision .....	13
8 Untersuchungsbericht .....	16
Anhang A (informativ) Typische Chromatogramme .....	17
Anhang B (informativ) Präzisionsdaten .....	21
Literaturhinweise .....	26

## Vorwort

Dieses Dokument (EN 14123:2007) wurde vom Technischen Komitee CEN/TC 275 „Lebensmittelanalytik — Horizontale Verfahren“ erarbeitet, dessen Sekretariat vom DIN gehalten wird.

Diese Europäische Norm muss den Status einer nationalen Norm erhalten, entweder durch Veröffentlichung eines identischen Textes oder durch Anerkennung bis Juni 2008, und etwaige entgegenstehende nationale Normen müssen bis Juni 2008 zurückgezogen werden.

Entsprechend der CEN/CENELEC-Geschäftsordnung sind die nationalen Normungsinstitute der folgenden Länder gehalten, diese Europäische Norm zu übernehmen: Belgien, Bulgarien, Dänemark, Deutschland, Estland, Finnland, Frankreich, Griechenland, Irland, Island, Italien, Lettland, Litauen, Luxemburg, Malta, Niederlande, Norwegen, Österreich, Polen, Portugal, Rumänien, Schweden, Schweiz, Slowakei, Slowenien, Spanien, Tschechische Republik, Ungarn, Vereinigtes Königreich und Zypern.

Dieses Dokument ersetzt EN 14123:2003 mit folgenden Änderungen:

- a) Validierungsdaten für Haselnüsse wurden ergänzt.

**WARNUNG** — Bei der Anwendung dieser Europäischen Norm ist es möglich, dass gefährliche Substanzen, Arbeitsgänge und Geräte angewendet werden. Diese Norm erhebt nicht den Anspruch, dass alle mit ihrer Anwendung verbundenen Sicherheitsprobleme angesprochen werden. Es liegt in der Verantwortung des Anwenders dieser Norm, geeignete Vorkehrungen für den Arbeits- und Gesundheitsschutz zu treffen und vor der Anwendung festzulegen, welche einschränkenden Vorschriften gelten.

## 1 Anwendungsbereich

Diese Europäische Norm legt ein Verfahren zur Bestimmung des Gehaltes von Aflatoxin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> und G<sub>2</sub> in Haselnüssen, Erdnüssen, Feigen, Pistazien und Paprikapulver fest. Die Bestimmungsgrenze liegt bei 0,8 ng/g für jedes der Aflatoxine oder besser (der Wert stammt aus einer hausinternen Untersuchung und einem Ringversuch) je nach verwendetem Untersuchungsgerät.

## 2 Normative Verweisungen

Die folgenden zitierten Dokumente sind für die Anwendung dieses Dokuments erforderlich. Bei datierten Verweisungen gilt nur die in Bezug genommene Ausgabe. Bei undatierten Verweisungen gilt die letzte Ausgabe des in Bezug genommenen Dokuments (einschließlich aller Änderungen).

EN ISO 3696, *Wasser für analytische Zwecke — Anforderungen und Prüfungen (ISO 3696:1987)*

## 3 Kurzbeschreibung

Die Einwaage wird entweder mit dem Lösemittelgemisch Methanol/Wasser oder mit Methanol/Wasser und zusätzlich Hexan (oder Cyclohexan) extrahiert. Der Probenextrakt wird filtriert, mit phosphatgepufferter Kochsalzlösung (PBS) verdünnt und auf eine Immunoaffinitätssäule gebracht, die spezifische Antikörper gegen die Aflatoxine B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> und G<sub>2</sub> enthält. Die Aflatoxine werden von der Säule mit Methanol wieder eluiert. Die Aflatoxine werden durch Umkehrphasen-Hochleistungs-Flüssigchromatographie (RP-HPLC) mit Nachsäulenderivatisierung (NSD) mit Brom und mit Fluoreszenzdetektion bestimmt. Die NSD wird entweder mit elektrochemisch hergestelltem Brom oder mit Pyridin-hydrobromid-perbromid (PBPB) durchgeführt.

## 4 Chemikalien

### 4.1 Allgemeines

Falls nicht anders angegeben, werden nur analysenreine Chemikalien und Wasser der Qualität 3 nach EN ISO 3696 verwendet.

### 4.2 Wasser

Entsprechend der Qualität 1 nach EN ISO 3696

### 4.3 Phosphatgepufferte Kochsalzlösung (PBS), pH = 4,7

0,20 g Kaliumchlorid, 0,20 g Kaliumdihydrogenphosphat, 1,16 g Dinatriumhydrogenorthophosphat (oder 2,92 g Hydrogenphosphat · 12 H<sub>2</sub>O) und 8,00 g Natriumchlorid werden in 0,9 l Wasser gelöst. Nach dem Auflösen wird der pH-Wert mit 0,1 mol/l HCl oder 0,1 mol/l NaOH auf pH = 7,4 eingestellt. Die Lösung wird auf 1 l aufgefüllt.

Entsprechende kommerziell erhältliche phosphatgepufferte Kochsalzlösung-Tabletten dürfen verwendet werden.

### 4.4 Natriumchlorid (NaCl)

### 4.5 Pyridin-hydrobromid-perbromid, (PBPB) [CAS: 39416-48-3]

#### 4.6 Kaliumbromid (KBr)

#### 4.7 Acetonitril, für HPLC

#### 4.8 Methanol, für HPLC

#### 4.9 Methanol, p.a.

#### 4.10 Toluol

#### 4.11 Extraktionsgemisch Methanol/Wasser

8 Volumenteile Methanol (4.9) werden mit 2 Volumenteilen Wasser gemischt.

#### 4.12 n-Hexan, oder Cyclohexan, p.a.

#### 4.13 Salpetersäure, $c(\text{HNO}_3) = 4 \text{ mol/l}$

28 ml Salpetersäure (Volumenanteil 65 %) oder 26 ml Salpetersäure (Volumenanteil 70 %) werden mit Wasser auf 100 ml aufgefüllt.

#### 4.14 Immunaffinitätssäule

Die Immunaffinitätssäule (IAS) enthält Antikörper gegen die Aflatoxine B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> und G<sub>2</sub>. Die Mindestkapazität der Säule darf nicht geringer als 100 ng Aflatoxin B<sub>1</sub> sein; die Wiederfindungsrate darf nicht geringer als 80 % bei Aflatoxin B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> und G<sub>1</sub>, und nicht geringer als 60 % bei Aflatoxin G<sub>2</sub> sein, wenn eine Standardlösung, die je 5 ng eines jeden Toxins in einem Gemisch aus Methanol/Wasser (10 % Methanol) enthält, über die Immunaffinitätssäule gegeben wird. Der Methanolanteil des Lösemittelgemisches, das über die Säule gegeben wird, darf 12 % nicht überschreiten.

#### 4.15 Mobile Phase A für die HPLC, zur Verwendung mit PBPB

6 Volumenteile Wasser (4.2) werden mit 2 Volumenteilen Acetonitril (4.7) und 3 Volumenteilen Methanol (4.8) gemischt. Die Lösung wird vor Gebrauch entgast. Die mobile Phase muss frei von Partikeln sein und sollte daher vor der Verwendung filtriert werden.

#### 4.16 Mobile Phase B für die HPLC, zur Verwendung mit elektrochemisch hergestelltem Brom

6 Volumenteile Wasser (4.2) werden mit 2 Volumenteilen Acetonitril (4.7) und 3 Volumenteilen Methanol (4.8) gemischt. Je Liter mobiler Phase werden 120 mg Kaliumbromid (4.6) und 350 µl Salpetersäure (4.13) zugegeben. Die Lösung wird vor Gebrauch entgast.

#### 4.17 Reagenz für die Nachsäulenderivatisierung

50 mg PBPB (4.5) werden in 1 l Wasser gelöst. Die Lösung darf bis zu vier Tage verwendet werden, wenn sie bei Raumtemperatur im Dunkeln aufbewahrt wird.

#### 4.18 Toluol-Acetonitril-Gemisch

98 Volumenteile Toluol (4.10) werden mit 2 Volumenteilen Acetonitril (4.7) gemischt.

**4.19 Aflatoxine**, in kristalliner Form oder als Film in Ampullen oder als kommerziell erhältliche Aflatoxinlösungen.

**WARNUNG 1** — Verfahren zur Dekontamination von Laborabfällen oder Aflatoxinen sind von der „International Agency for Research on Cancer“ (IARC) entwickelt worden, siehe [1], [2].

**WARNUNG 2** — Aflatoxine sind lichtempfindlich. Das Labor, in dem die Untersuchungen durchgeführt werden, muss ausreichend vor Tageslicht geschützt sein, z. B. durch Anbringen von UV-Licht absorbierender Folie an den Fenstern in Verbindung mit Dämmerlicht (kein direktes Sonnenlicht) oder durch Vorhänge oder Jalousien in Verbindung mit künstlichem Licht (Leuchtstoffröhren können verwendet werden).

Aflatoxin enthaltende Lösungen müssen so weit wie möglich vor Licht geschützt werden (im Dunklen aufbewahren unter Verwendung von Aluminiumfolie oder Braunglas) und bei der vom Hersteller angegebenen Temperatur (z. B.  $-18\text{ °C}$ ) aufbewahrt werden.

#### 4.20 Aflatoxin-Stammlösungen

Die Aflatoxine B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> und G<sub>2</sub> werden jeweils einzeln im Toluol-Acetonitril-Gemisch (4.18) gelöst, so dass sich Lösungen mit Massenkonzentrationen von jeweils 10 µg/ml ergeben. Die Kolben werden dicht mit Aluminiumfolie umwickelt und bei unter 4 °C aufbewahrt.

Zur Bestimmung der exakten Massenkonzentration des Aflatoxins in jeder Stammlösung wird die Absorptionskurve zwischen 330 nm und 370 nm in 1-cm-Quarzküvetten gegen Toluol-Acetonitril-Gemisch (4.18) aufgenommen. Die Massenkonzentration des jeweiligen Aflatoxins in Mikrogramm je Milliliter  $\rho_i$ , wird nach Gleichung (1) berechnet:

$$\rho_i = \frac{A_{\max} \times M_i \times 100}{\varepsilon_i \times b} \quad (1)$$

Dabei ist

- $A_{\max}$  die am Maximum der Absorptionskurve ermittelte Extinktion;
- $M_i$  die relative Molmasse des jeweiligen Aflatoxins, in Gramm je Mol;
- $\varepsilon_i$  der molare Extinktionskoeffizient des jeweiligen Aflatoxins im Toluol-Acetonitril-Gemisch (4.18), in Quadratmeter je Mol;
- $b$  die Küvettenlänge, in Zentimetern.
- $M_i$  und  $\varepsilon_i$  der Aflatoxine B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> und G<sub>2</sub> sind in Tabelle 1 aufgeführt.

**Tabelle 1 — Relative Molmasse und molarer Extinktionskoeffizient der Aflatoxine B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> und G<sub>2</sub> (im Gemisch von Toluol und Acetonitril (4.18))**

Aflatoxin	$M_i$ g/mol	$\varepsilon_i$ m <sup>2</sup> /mol
B <sub>1</sub>	312	1 930
B <sub>2</sub>	314	2 040
G <sub>1</sub>	328	1 660
G <sub>2</sub>	330	1 790

#### 4.21 Gemischte Aflatoxin-Stammlösungen

Eine Stammlösung wird hergestellt, die 1 000 ng/ml Aflatoxin B<sub>1</sub> und Aflatoxin G<sub>1</sub> und je 200 ng/ml Aflatoxin B<sub>2</sub> und Aflatoxin G<sub>2</sub> im Toluol-Acetonitril-Gemisch (4.18) enthält. Hierzu werden die Stammlösungen (4.20) geeignet gemischt und verdünnt.

ANMERKUNG Eine gebrauchsfertige Standardlösung, die exakt 1 000 ng/ml Gesamt-Aflatoxine in einem Probenfläschchen enthält, darf alternativ verwendet werden.

#### 4.22 Verdünnte gemischte Aflatoxin-Stammlösungen

Eine Lösung, die 100 ng/ml Aflatoxin B<sub>1</sub> und G<sub>1</sub> und je 20 ng/ml Aflatoxin B<sub>2</sub> und G<sub>2</sub> im Toluol-Acetonitril-Gemisch (4.18) enthält, wird hergestellt, indem genau 1,0 ml der gemischten Aflatoxin-Stammlösung (4.21) in einen 10-ml-Messkolben (5.10) pipettiert wird. Dieser wird mit Toluol-Acetonitril-Gemisch (4.18) aufgefüllt und gut gemischt.

Der Kolben wird dicht mit Aluminiumfolie umwickelt und bei unter 4 °C oder in einem Gefrierschrank aufbewahrt. Vor der Verwendung darf der Kolben erst dann geöffnet werden, wenn der Inhalt Raumtemperatur erreicht hat, um einen Eintrag von Kondenswasser zu vermeiden.

#### 4.23 Gemischte Aflatoxin-Kalibrierlösungen

Jedes in Tabelle 2 festgelegte Volumen an verdünnter gemischter Aflatoxin-Stammlösung (4.22), die 100 ng/ml Aflatoxin B<sub>1</sub> und G<sub>1</sub> und je 20 ng/ml Aflatoxin B<sub>2</sub> und G<sub>2</sub> im Toluol-Acetonitril-Gemisch (4.18) enthält (siehe 4.22), wird in eine Reihe von 10-ml-Messkolben (5.10) überführt. Die Lösungen werden bei Raumtemperatur unter einem Stickstoffstrom bis gerade zur Trockne abgedampft. Der Rückstand eines jeden Kolbens wird in 4 ml Methanol aufgenommen, bis zur Marke mit Wasser aufgefüllt und erneut gemischt. Beim Mischen von Methanol und Wasser gibt es eine Volumenkontraktion, die beim Auffüllen zu berücksichtigen ist.

Tabelle 2 — Herstellung der gemischten Kalibrierlösung

Kalibrierlösung	Entnahme aus der verdünnten Stammlösung (4.22) µl	Massenkonzentration der Kalibrierlösung ng/ml			
		B <sub>1</sub>	B <sub>2</sub>	G <sub>1</sub>	G <sub>2</sub>
1	40	0,400	0,080	0,400	0,080
2	120	1,200	0,240	1,200	0,240
3	200	2,000	0,400	2,000	0,400
4	280	2,800	0,560	2,800	0,560
5	360	3,600	0,720	3,600	0,720

#### 4.24 Zusatzlösung

Eine Zusatzlösung wird hergestellt, indem 2 ml der gemischten Stammlösung (die je 1 000 ng/ml Aflatoxin B<sub>1</sub> und G<sub>1</sub> und je 200 ng/ml Aflatoxin B<sub>2</sub> und G<sub>2</sub> enthält, siehe 4.21) in einen 10-ml-Messkolben pipettiert werden. Die Lösung wird bei Raumtemperatur unter einem Stickstoffstrom bis gerade zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wird in Methanol gelöst, der Kolben mit Methanol aufgefüllt und gut geschüttelt. Die Massenkonzentration dieser Zusatzlösung beträgt 200 ng/ml Aflatoxin B<sub>1</sub> und G<sub>1</sub> und 40 ng/ml Aflatoxin B<sub>2</sub> und G<sub>2</sub>.

Der Kolben wird dicht mit Aluminiumfolie umwickelt und bei unter 4 °C aufbewahrt. Vor der Verwendung darf der Kolben erst dann geöffnet werden, wenn der Inhalt Raumtemperatur erreicht hat, um einen Eintrag von Kondenswasser zu vermeiden.

## 5 Geräte

### 5.1 Allgemeines

Vor dem Gebrauch müssen Laborgeräte aus Glas, die mit wässrigen Lösungen von Aflatoxinen in Berührung kommen, mit Säurelösung gespült werden. Dieser Schritt ist bereits im Waschprogramm vieler Laborspülmaschinen enthalten. Anderenfalls werden solche Glasgeräte mehrere Stunden (z. B. 15 h oder über Nacht) in Schwefelsäure (2 mol/l) aufbewahrt und anschließend ausreichend (z. B. dreimal) mit Wasser abgespült, um alle Säurespuren zu entfernen. Die Säurefreiheit wird mit pH-Indikatorpapier geprüft.

Diese Behandlung ist erforderlich, da die Verwendung von Glasgeräten, die nicht mit Säure behandelt wurden, Verluste an Aflatoxinen hervorrufen kann. In der Praxis ist diese Behandlung notwendig bei Rundkolben, Messkolben, Messzylindern, Fläschchen und Reagenzgläsern, die die Standard- und Messlösungen enthalten (besonders Autosamplerfläschchen) sowie bei Pasteur-Pipetten, falls sie zum Überführen von Kalibrierlösungen und Messlösungen verwendet werden.

**5.2 Übliche Laborausrüstung** und insbesondere die folgende:

**5.3 Labormühle** oder explosionsgeschütztes Homogenisiergerät<sup>1)</sup>, erforderlich für die Herstellung und Extraktion von Pasten von Haselnüssen, Erdnüssen, Pistazien und Feigen, mit geeignetem Mischbecher.

**5.4 Schüttelmaschine**, einstellbar auf vertikales oder horizontales Schütteln, erforderlich für die Untersuchung von Paprikapulver.

**5.5 Faltenfilter**, z. B. 24 cm Durchmesser, vorgefaltet.

**5.6 Erlenmeyerkolben**, mit Drehverschluss oder Glasstopfen.

**5.7 Glas-Mikrofaserfilter**, Porengröße 1,6 µm oder kleiner.

**5.8 Vorratsgefäß**, 75 ml mit Adapter für die Immunoaffinitätssäule (IAS).

**5.9 Handpumpe**, 20-ml-Spritze mit Kopplungsteil oder Gummistopfen für die IAS.

**5.10 Messkolben**, z. B. 3 ml, 5 ml, 10 ml und 20 ml, mit einer Genauigkeit von mindestens 0,5 %.

**5.11 HPLC-System**, bestehend aus:

**5.11.1 HPLC-Pumpe**, geeignet für einen Durchfluss von 1,0 ml/min.

**5.11.2 Injektionssystem**, geeignet für die Injektion des gesamten Probenschleifeninhaltes. Eine 100-µl-Probenschleife wird empfohlen.

Für den Fall, dass eine Probenschleife anderer Dimension verwendet wird als die hier empfohlene, muss sichergestellt werden, dass die Nachweisgrenze für das System  $\leq 0,2$  ng/g (Signal-Rausch-Verhältnis = 3) und dass die Bestimmungsgrenze  $\leq 0,5$  ng/g (Signal-Rausch-Verhältnis = 6) für jedes Aflatoxin beträgt, wenn die entsprechenden Standardlösungen verwendet werden.

---

1) Das nationale Normungsinstitut gibt Auskunft über einen geeigneten Hochleistungsmischer bzw. Homogenisiergerät.

**5.11.3 Umkehrphasen-Trennsäule**, z. B. C<sub>18</sub> oder ODS-2 (Länge 25 cm, innerer Durchmesser 4,6 mm und Teilchengröße 5 µm), die eine Basislinienauftrennung der Aflatoxine B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> und G<sub>2</sub> von allen anderen Signalen sicherstellt. Die maximale Überlappung der Signale muss geringer als 10 % sein. Es kann erforderlich sein, die mobile Phase für eine ausreichende Basislinienauftrennung abzuändern. Eine geeignete Vorsäule sollte verwendet werden.

**5.11.4 System zur Nachsäulenderivatisierung**, mit PBPB (nur für die mobile Phase A (4.15),

mit einer pulsfreien Pumpe, einem T-Stück ohne Totvolumen und einer Reaktionskapillare mit einer Länge von mindestens 45 cm und einem Innendurchmesser von 0,5 mm, aus Polytetrafluorethylen.

**5.11.5 System zur Derivatisierung mit elektrochemisch hergestelltem Brom**, z. B. KOBRA-Zelle<sup>®2)</sup> (nur für mobile Phase B (4.16)).

**5.11.6 Fluoreszenzdetektor** mit einer Anregungswellenlänge von  $\lambda = 360$  nm und einer Emissionswellenlänge von  $\lambda = 420$  nm oder Entsprechendes (z. B. Detektor mit einstellbarem Monochromator).

Empfohlene Einstellungen für einstellbare Detektoren sind 365 nm (Anregung) und 435 nm (Emission), Bandbreite 18 nm.

**5.12 Einweg-Membranfilter**, mit einer Porengröße von 0,45 µm.

Vor der Verwendung muss sichergestellt sein, dass es nicht zu Verlusten an Aflatoxin kommt (Prüfen der Wiederfindung).

ANMERKUNG Es besteht die Möglichkeit, dass verschiedene Filtermaterialien Aflatoxin zurückhalten.

**5.13 Pipetten**, 2 ml, 5 ml und 10 ml, mit einer Genauigkeit von mindestens 0,5 %.

**5.14 Analysenwaage**, geeignet für Wägungen bis 0,1 mg.

**5.15 Laborwaage**, geeignet für Wägungen bis 0,01 g.

**5.16 Mikroliterspritzen oder Mikroliterpipetten**, kalibriert, 10 µl bis 1 000 µl.

**5.17 Unterdruckeinheit**, wahlweise.

## 6 Durchführung

### 6.1 Probenvorbereitung

Eine geeignete Menge (z. B. 10 kg, siehe Europäische Rechtssetzung [3]) an Pistazien, Erdnüssen, Haselnüssen oder Feigen werden mit einem Hochleistungsmischer (5.3) zu einer Paste homogenisiert. Informationen über Probenmengen und Probenahme sind in [3] enthalten.

---

2) KOBRA-Zelle<sup>®</sup> ist ein Beispiel für ein geeignetes handelsübliches Produkt. Diese Angabe dient nur zur Unterrichtung der Anwender dieser Norm und bedeutet keine Anerkennung des genannten Produktes durch CEN. Gleichwertige Produkte dürfen verwendet werden, wenn sie nachweislich zu den gleichen Ergebnissen führen.

## 6.2 Konditionieren der Immunaффinitätssäulen

Die Immunaффinitätssäulen (4.14) werden vor dem Konditionieren auf Raumtemperatur gebracht. Die Immunaффinitätssäulen werden auf dem Unterdruckanschluss (5.17) angebracht, und das Vorratsgefäß (5.8) wird oben auf die Immunaффinitätssäule aufgesteckt.

Zum Konditionieren werden 10 ml PBS (4.3) auf die Säule gegeben und mit einer Geschwindigkeit von 2 ml/min bis 3 ml/min durch die Säule laufen gelassen (z. B. durch Schwerkraft). Ein kleiner Anteil, z. B. 0,5 ml an PBS muss auf der Säule bleiben, bis die Probe aufgegeben wird.

Je nach den Angaben des Herstellers werden unterschiedliche Konditionierbedingungen angewendet.

## 6.3 Extraktion

### 6.3.1 Allgemeines

Für die Extraktion von Haselnusspaste, Feigenpaste, Erdnusscreme und Pistazienpaste wird ein Hochleistungsmischer eingesetzt, weil die fetthaltigen Anteile (Haselnusspaste, Erdnusscreme und Pistazienpaste) eine Emulsion bilden müssen, damit die Fettschichten aufgebrochen werden und so eine ausreichende Extraktion ermöglicht wird. Feigenpaste muss sich außerdem homogen im Lösemittel verteilen, was im Schüttelgerät auf Grund ihrer Konsistenz nicht sichergestellt ist. Paprikapulver kann jedoch durch Schütteln extrahiert werden (vorausgesetzt, dass das Pulver fein genug bis zu einer Teilchengröße von 500 µm gemahlen ist). Dies erlaubt, mehrere Proben gleichzeitig zu handhaben, und vermeidet die Gefahr einer Kreuzkontamination.

Bevor die homogenisierte Einwaage für die Extraktion eingewogen wird, wird die Untersuchungsprobe (bei Pasten) im Probenbehälter gut gerührt, um eine homogene Probe zu erhalten.

### 6.3.2 Haselnüsse

Etwa 50 g homogenisierte Untersuchungsprobe (6.1) werden auf 0,1 g in einen Mischbecher eingewogen, mit 4 g Natriumchlorid (4.4) und 100 ml Wasser (4.2) versetzt und 1 min mit einem Hochleistungsmischer bis zur Aufschlammung gemischt (5.3). 150 ml Methanol (4.8) werden zugegeben und die Mischung 2 min im Hochleistungsmischer erneut gemischt.

Der Extrakt wird über einen Faltenfilter (5.5) in einen 100-ml-Erlenmeyerkolben filtriert. 5 ml des klaren Filtrates (entspricht 1 g Einwaage) werden in einem Becherglas mit 15 ml PBS (4.3) verdünnt. Der verdünnte Probenextrakt wird in das auf die konditionierte Immunaффinitätssäule (4.14) aufgesteckte Vorratsgefäß (5.8) gegeben. Dann wird nach 6.4 weiterverfahren.

### 6.3.3 Feigen

Etwa 50 g homogenisierte Untersuchungsprobe (6.1) werden auf 0,1 g in einen 500-ml-Erlenmeyerkolben (5.6) oder einen Mischbecher eingewogen, mit 5 g Natriumchlorid (4.4) und 300 ml Extraktionsgemisch (4.11) versetzt und 3 min mit einem Hochleistungsmischer gemischt (5.3).

Der Extrakt wird über einen Faltenfilter (5.5) filtriert. 10,0 ml des klaren Filtrates werden in ein 100-ml-Becherglas (o. Ä.) pipettiert und mit 60 ml PBS (4.3) verdünnt. Der verdünnte Probenextrakt wird in das auf die Immunaффinitätssäule (4.14) aufgesteckte Vorratsgefäß (5.8) gegeben. Dann wird nach 6.4 weiterverfahren.

Aufschlammungen oder größere Einwaagen dürfen verwendet werden, vorausgesetzt, dass die Verhältnisse (Probe zum Extraktionslösemittel wie auch Zusammensetzung der Extraktionslösemittel der Aufschlammungen) gewahrt bleiben.

#### **6.3.4 Erdnüsse**

Etwa 50 g homogenisierte Untersuchungsprobe (6.1) werden auf 0,1 g in einen 500-ml-Erlenmeyerkolben (5.6) oder Mischbecher eingewogen, mit 5 g Natriumchlorid (4.4), 200 ml Extraktionsgemisch (4.11) und 100 ml n-Hexan oder Cyclohexan (4.12) versetzt und 3 min mit dem Hochleistungsmischer gemischt (5.3).

Der Extrakt wird über einen Faltenfilter (5.5) filtriert. Falls eine Phasentrennung sichtbar wird, wird die untere Phase weiter verwendet. 10,0 ml des klaren Filtrates werden in ein 100-ml-Becherglas (o. Ä.) pipettiert und mit 60 ml PBS (4.3) verdünnt. Der verdünnte Probenextrakt wird in das auf die Immunaффinitätssäule (4.14) aufgesteckte Vorratsgefäß gegeben. Dann wird nach 6.4 weiterverfahren.

Eine Phasentrennung sollte dann nicht entstehen, wenn der Extrakt direkt nach dem Mischen filtriert wird, weil die n-Hexan-Cyclohexanschicht im Filter zurückgehalten wird. Wenn erforderlich, darf ein PhasentrennungsfILTER verwendet werden.

Größere Einwaagen dürfen verwendet werden, vorausgesetzt, dass das Verhältnis von Probe zum Extraktionslösemittel gewahrt bleibt.

#### **6.3.5 Pistazien**

Etwa 50 g homogenisierte Untersuchungsprobe (6.1) werden auf 0,1 g in einen 500-ml-Erlenmeyerkolben (5.6) oder einen Mischbecher eingewogen, mit 5 g Natriumchlorid (4.4), 200 ml Extraktionsgemisch (4.11) und 100 ml n-Hexan oder Cyclohexan (4.12) versetzt und 3 min mit dem Hochleistungsmischer gemischt (5.3).

Der Extrakt wird über einen Faltenfilter (5.5) filtriert. Falls eine Phasentrennung sichtbar wird, wird die untere Phase weiter verwendet. 10,0 ml des klaren Filtrates werden in ein 100-ml-Becherglas (o. Ä.) pipettiert und mit 60 ml PBS (4.3) verdünnt. Der verdünnte Probenextrakt wird in das auf die Immunaффinitätssäule (4.14) aufgesteckte Vorratsgefäß gegeben. Dann wird nach 6.4 weiterverfahren.

Wenn eine deutliche Trübung beim Mischen mit PBS zu beobachten ist, können alternativ 20 ml des klaren Filtrates in einem 250-ml-Becherglas (o. Ä.) mit 140 ml PBS (4.3) gemischt und über einen Papierfilter (5.7) filtriert werden. In diesem Falle wird ein 70-ml-Anteil dieses verdünnten Filtrates in das Vorratsgefäß auf der Immunaффinitätssäule (4.14) aufgegeben, und es wird nach 6.4 weiterverfahren.

Eine Phasentrennung sollte dann nicht entstehen, wenn der Extrakt direkt nach dem Mischen filtriert wird, weil die n-Hexan-Cyclohexanschicht im Filter zurückgehalten wird. Wenn erforderlich, darf ein PhasentrennungsfILTER verwendet werden.

Größere Einwaagen dürfen verwendet werden, vorausgesetzt, dass das Verhältnis von Probe zum Extraktionslösemittel gewahrt bleibt.

#### **6.3.6 Paprikapulver**

Etwa 50 g homogenisierte Untersuchungsprobe (6.1) werden auf 0,1 g in einen 500-ml-Erlenmeyerkolben (5.6) eingewogen, mit 5 g Natriumchlorid (4.4) und 300 ml Extraktionsgemisch (4.11) versetzt, 15 s bis 30 s zuerst kräftig mit der Hand und anschließend weitere 30 min mit einer Schüttelmaschine (5.4) geschüttelt. Die Bewegungsgeschwindigkeit der verschiedenen Schüttelmaschinen (z. B. Horizontalschüttler oder Überkopfschüttler) muss so eingestellt werden, dass eine maximale Durchmischung des Kolbeninhaltes erfolgt.

Der Extrakt wird über einen Faltenfilter (5.5) filtriert. 10,0 ml des klaren Filtrates werden in ein 100-ml-Becherglas (o. Ä.) pipettiert und mit 60 ml PBS (4.3) verdünnt. Der verdünnte Probenextrakt wird in das auf die Immunaффinitätssäule (4.14) aufgesteckte Vorratsgefäß gegeben. Dann wird nach 6.4 weiterverfahren.

Größere Einwaagen dürfen verwendet werden, vorausgesetzt, dass das Verhältnis von Probe zum Extraktionslösemittel gewahrt bleibt.

## 6.4 Reinigung mit Immunoaffinitätssäule

Das Filtrat wird mit einem Durchfluss von etwa 3 ml/min oder durch Schwerkraft durch die Säule laufen gelassen (etwa 1 Tropfen/s). Der Durchfluss darf dabei 5 ml/min nicht übersteigen. Die Säule wird mit etwa 20 ml Wasser (4.2), das in etwa 10-ml-Anteilen aufgegeben wird, bei einem Durchfluss von maximal 5 ml/min gewaschen und getrocknet, wobei 5 s bis 10 s ein leichter Unterdruck angelegt wird oder 10 s mit einer Spritze Luft durch die Säule gedrückt wird.

Die Aflatoxine werden in einem zweistufigen Prozess eluiert:

Bei Haselnusspaste werden 0,50 ml Methanol (4.8) auf die Säule gegeben und nur durch die Schwerkraft durchlaufen gelassen. Das Eluat wird in einem 3-ml-Messkolben (5.10) aufgefangen. Nach 1 min wird wiederum 1,0 ml Methanol auf die Säule gegeben. Um auch noch die letzten Tropfen aufzusammeln, wird Luft mit einer Spritze durch die Säule gedrückt. 1,5 ml Wasser (4.2) werden durch die Säule gegeben und in einem 3-ml-Messkolben aufgefangen. Der Messkolben wird bis zur Marke mit Wasser aufgefüllt, gut geschüttelt und erneut das Volumen auf 3 ml aufgefüllt.

Bei anderen Matrices werden 0,50 ml Methanol (4.8) auf die Säule gegeben und nur durch die Schwerkraft durchlaufen gelassen. Das Eluat wird in einem 5-ml-Messkolben (5.10) aufgefangen. Nach 1 min wird wiederum 0,75 ml Methanol (4.8) auf die Säule gegeben. Der größte Anteil des Elutionsmittels wird dadurch aufgefangen, dass Luft durch die Säule gepresst wird. Der Messkolben wird mit Wasser bis zur Marke aufgefüllt, der Inhalt gut gemischt und erneut aufgefüllt.

Die klare Lösung kann direkt zur HPLC eingesetzt werden. Wenn die Lösung nicht klar ist, wird sie vor der HPLC-Injektion durch einen Spritzenfilter (5.12) gegeben.

**ANMERKUNG** Die Arbeitsschritte zum Aufgeben der Probe auf die Immunoaffinitätssäule, das Waschen der Säule und die Elution kann je nach Säulenherstellern unterschiedlich sein. Den spezifischen Arbeitsanweisungen sollte gefolgt werden.

## 6.5 Hochleistungsflüssigchromatographie (HPLC)

Das Injizieren des gesamten Inhaltes der Probenschleife stellt die größtmögliche Präzision sicher. Es wird empfohlen (je nach Injektionssystem z. B. manuelle Injektion) eine Probenmenge zu injizieren, die ungefähr die dreifache Menge der Probenschleife beträgt und mindestens 2/3 der Probenmenge in das Ventil zu injizieren, um sicherzustellen, dass der mittlere Teil in der Injektionsschleife verbleibt.

Die Aflatoxine werden durch isokratische Umkehrphasen-HPLC (RP-HPLC) bei Raumtemperatur an einer Umkehrphasensäule (5.11.3) mit einer geeigneten mobilen Phase (4.15 oder 4.16) getrennt. Dabei wird ein Durchfluss von 1 ml/min bei Säulen mit einem inneren Durchmesser von 4,6 mm empfohlen. Der Durchfluss muss manchmal je nach Säulendimension angepasst werden. Die Aflatoxine werden in der Reihenfolge G<sub>2</sub>, G<sub>1</sub>, B<sub>2</sub> und B<sub>1</sub> innerhalb von 16 min eluiert und sollten bis zur Grundlinie getrennt sein. Falls erforderlich, wird die mobile Phase durch Zugabe von Wasser, Methanol oder Acetonitril eingestellt, um eine maximale Peaktrennung und ein optimales Chromatogramm zu erhalten. (Typische Chromatogramme sind in Anhang A angegeben.)

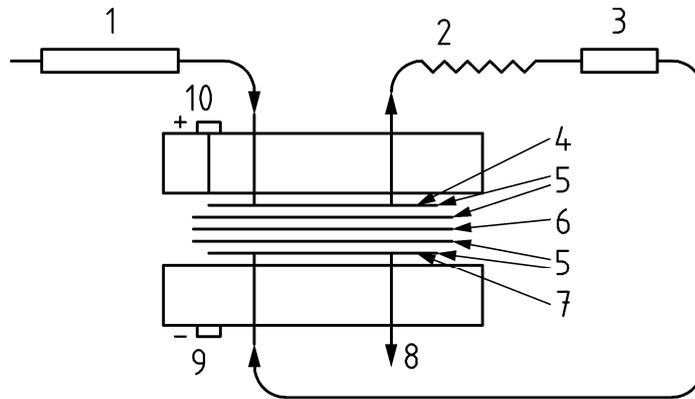
## 6.6 Nachsäulenderivatisierung

Bei der Verwendung von PBPB wird das T-Stück und die Reaktionskapillare nach 5.11.4 zusammengesteckt und die folgenden Parameter eingestellt:

- 1,00 ml/min Durchfluss für die mobile Phase (siehe auch 6.5);
- 0,30 ml/min Durchfluss für das Derivatisierungsreagenz (der Durchfluss muss manchmal je nach Durchfluss der mobilen Phase anders eingestellt und angeglichen werden).

Bei der Verwendung von elektrochemisch hergestelltem Brom (KOBRA-Zelle<sup>®</sup>) wird die Zelle entsprechend den Angaben des Herstellers eingebaut und nachfolgende Parameter eingestellt:

- 1,00 ml/min Durchfluss für die mobile Phase (siehe auch 6.5) bei Verwendung eines Polyetheretherketonschlauches (PEEK), Länge 34 cm, innerer Durchmesser 0,5 mm;
- 100 µA Stromstärke.



#### Legende

- 1 Säule
- 2 Reaktionsschleife
- 3 Detektor
- 4 Arbeitselektrode (Platin)
- 5 Abstandhalter
- 6 Membran
- 7 Zählelektrode (Edelstahl)
- 8 Abfall
- 9 schwarz
- 10 rot

Bild 1 — Kobra-Zelle

### 6.7 Kalibriergerade

Die Kalibriergeraden werden mit den gemischten Aflatoxin-Standardlösungen (4.23) erstellt. Die Lösungen decken den Bereich von 0,5 ng/g bis 4,5 ng/g für die Aflatoxine B<sub>1</sub> und G<sub>1</sub> und den Bereich von 0,1 ng/g bis 0,9 ng/g für die Aflatoxine B<sub>2</sub> und G<sub>2</sub> ab. Die Kalibriergeraden werden nach Tabelle 2 vor der Untersuchung erstellt und der Ausdruck auf Linearität geprüft.

Wenn die Aflatoxinkonzentration der Probe außerhalb der Aflatoxinkonzentration der Kalibriergeraden liegt, kann die Probenlösung geeignet verdünnt werden, sodass sie wieder innerhalb der Kalibriergeraden liegt.

### 6.8 Zusatzversuche

Zur Bestimmung der Wiederfindung müssen Zusatzversuche mit der methanolischen Zusatzlösung (4.24) durchgeführt werden. Die zugesetzte Menge muss im Bereich der Kalibriergerade liegen (vorzugsweise im mittleren Bereich der Kalibriergeraden). Von der Zusatzlösung dürfen nicht mehr als 2 ml zugegeben werden. Das Einengen der Lösung muss im Dunkeln erfolgen und sollte 30 min bis 2 h dauern.

### 6.9 Berechnung

Bei den Probenvorbereitungen, die n-Hexan oder Cyclohexan benötigen, darf das Volumen an n-Hexan oder Cyclohexan für die Berechnung nicht berücksichtigt werden. Die Zugabe an n-Hexan oder Cyclohexan ist nur nötig, um mögliche Fettschichten aufzubrechen (eingeschlossenes Aflatoxin). Aflatoxine lösen sich nicht in n-Hexan oder Cyclohexan. Eine Kalibriergerade wird mit linearer Regression erstellt, und die

Massenkonzentrationen an Aflatoxin in Nanogramm je Milliliter der injizierten Probenlösungen werden berechnet.

Der Massenanteil an Aflatoxin  $w$ , in Nanogramm je Gramm Probe, wird mit Gleichung (2) berechnet:

$$w = \frac{\rho_{\text{smp}} \times V_{\text{e}} \times V_{\text{final}}}{m_{\text{s}} \times V_{\text{IAS}}} \quad (2)$$

Dabei ist

- $\rho_{\text{smp}}$  die Massenkonzentration an Aflatoxin in der Injektionslösung, die mit der linearen Regression berechnet wurde, in Nanogramm je Milliliter;
- $V_{\text{e}}$  das Volumen des Extraktionsgemisches, in Milliliter ( $V_{\text{e}} = 250$  ml für Haselnusspaste, 200 ml für Erdnusscreme und Pistazienpaste und 300 ml für Feigenpaste und Paprikapulver);
- $V_{\text{final}}$  das nach der Elution von der IAS erhaltene Volumen, in Milliliter (hier: 3 ml für Haselnusspaste und 5 ml für Erdnusscreme, Pistazienpaste, Feigenpaste und Paprikapulver);
- $m_{\text{s}}$  die Probeneinwaage, in Gramm (hier: 50 g). (Bei der Einwaage ist der Wasseranteil zu berücksichtigen, der bei der Probenvorbereitung nach Ziffer 6.1 zur Nasshomogenisierung eingesetzt wurde).
- $V_{\text{IAS}}$  das Volumen des Probenextraktes, der auf die Immunoaffinitätssäule gegeben wird, in Milliliter (hier: 5 ml für Haselnusspaste und 10 ml für Erdnusscreme, Pistazienpaste, Feigenpaste und Paprikapulver).

## 6.10 Bestätigung von Aflatoxin B<sub>1</sub> und G<sub>1</sub>

Zur Bestätigung von Aflatoxin B<sub>1</sub> und G<sub>1</sub> wird die HPLC-Säule von der Bromierungszelle abgenommen und direkt mit dem Fluoreszenzdetektor verbunden. Die Peaks für Aflatoxin B<sub>1</sub> und G<sub>1</sub> sind deutlich kleiner (Faktor 10 oder mehr), wenn das Derivatisierungssystem entfernt wird. Der Strom darf nicht abgestellt werden, wenn die Bromierungszelle noch mit dem HPLC-Gerät verbunden ist, weil verbliebenes Brom in die Zellmembran diffundieren kann.

## 7 Präzision

### 7.1 Allgemeines

Einzelheiten über den Ringversuch zur Ermittlung der Präzisionsdaten sind im Anhang B angegeben. Die Präzisionsdaten wurden in zwei voneinander unabhängigen Ringversuchen für Haselnüsse (2004) und für Erdnüsse, Pistazien, Feigen und Paprikapulver (1998) ermittelt. Die Werte, die im Ringversuch ermittelt wurden, sind nicht unbedingt auf andere Konzentrationsbereiche der zu bestimmenden Substanz und andere Matrices anwendbar, als in Anhang B angegeben.

### 7.2 Wiederholgrenze

Die absolute Differenz zwischen zwei einzelnen Ergebnissen, die ein einzelner Bearbeiter an identischem Untersuchungsmaterial mit denselben Geräten innerhalb der kürzesten möglichen Zeitspanne erhält, wird die Wiederholgrenze  $r$  nicht häufiger als in 5 % der Fälle überschreiten.

**Die Werte für Haselnusspaste sind:**

Aflatoxin B <sub>1</sub> :	$\bar{x} = 1,4$ ng/g	$r = 0,11$ ng/g	(natürlich kontaminiert)
Gesamtaflatoxine:	$\bar{x} = 4,2$ ng/g	$r = 0,31$ ng/g	(natürlich kontaminiert)

Aflatoxin B <sub>1</sub> :	$\bar{x} = 2,3 \text{ ng/g}$	$r = 0,21 \text{ ng/g}$	(natürlich kontaminiert)
Gesamtaflatoxine:	$\bar{x} = 7,1 \text{ ng/g}$	$r = 0,69 \text{ ng/g}$	(natürlich kontaminiert)
Aflatoxin B <sub>1</sub> :	$\bar{x} = 3,8 \text{ ng/g}$	$r = 0,24 \text{ ng/g}$	(natürlich kontaminiert)
Gesamtaflatoxine:	$\bar{x} = 12,1 \text{ ng/g}$	$r = 0,80 \text{ ng/g}$	(natürlich kontaminiert)

**Die Werte für Erdnusscreme sind:**

Aflatoxin B <sub>1</sub> :	$\bar{x} = 0,9 \text{ ng/g}$	$r = 0,25 \text{ ng/g}$	(zugesetzt)
Gesamtaflatoxine:	$\bar{x} = 1,9 \text{ ng/g}$	$r = 0,73 \text{ ng/g}$	(zugesetzt)
Aflatoxin B <sub>1</sub> :	$\bar{x} = 3,6 \text{ ng/g}$	$r = 0,31 \text{ ng/g}$	(zugesetzt)
Gesamtaflatoxine:	$\bar{x} = 7,9 \text{ ng/g}$	$r = 1,88 \text{ ng/g}$	(zugesetzt)
Aflatoxin B <sub>1</sub> :	$\bar{x} = 0,8 \text{ ng/g}$	$r = 0,14 \text{ ng/g}$	(natürlich kontaminiert)
Gesamtaflatoxine:	$\bar{x} = 1,3 \text{ ng/g}$	$r = 0,22 \text{ ng/g}$	(natürlich kontaminiert)
Aflatoxin B <sub>1</sub> :	$\bar{x} = 1,5 \text{ ng/g}$	$r = 0,28 \text{ ng/g}$	(natürlich kontaminiert)
Gesamtaflatoxine:	$\bar{x} = 2,2 \text{ ng/g}$	$r = 0,45 \text{ ng/g}$	(natürlich kontaminiert)
Aflatoxin B <sub>1</sub> :	$\bar{x} = 3,4 \text{ ng/g}$	$r = 0,36 \text{ ng/g}$	(natürlich kontaminiert)
Gesamtaflatoxine:	$\bar{x} = 5,0 \text{ ng/g}$	$r = 0,64 \text{ ng/g}$	(natürlich kontaminiert)

**Die Werte für Pistazienpaste sind:**

Aflatoxin B <sub>1</sub> :	$\bar{x} = 0,9 \text{ ng/g}$	$r = 0,36 \text{ ng/g}$	(zugesetzt)
Gesamtaflatoxine:	$\bar{x} = 2,0 \text{ ng/g}$	$r = 0,67 \text{ ng/g}$	(zugesetzt)
Aflatoxin B <sub>1</sub> :	$\bar{x} = 3,3 \text{ ng/g}$	$r = 0,36 \text{ ng/g}$	(zugesetzt)
Gesamtaflatoxine:	$\bar{x} = 7,8 \text{ ng/g}$	$r = 5,10 \text{ ng/g}$	(zugesetzt)
Aflatoxin B <sub>1</sub> :	$\bar{x} = 0,7 \text{ ng/g}$	$r = 0,22 \text{ ng/g}$	(natürlich kontaminiert)
Gesamtaflatoxine:	$\bar{x} = 0,8 \text{ ng/g}$	$r = 0,28 \text{ ng/g}$	(natürlich kontaminiert)
Aflatoxin B <sub>1</sub> :	$\bar{x} = 1,5 \text{ ng/g}$	$r = 0,76 \text{ ng/g}$	(natürlich kontaminiert)
Gesamtaflatoxine:	$\bar{x} = 1,7 \text{ ng/g}$	$r = 0,87 \text{ ng/g}$	(natürlich kontaminiert)
Aflatoxin B <sub>1</sub> :	$\bar{x} = 2,9 \text{ ng/g}$	$r = 1,65 \text{ ng/g}$	(natürlich kontaminiert)
Gesamtaflatoxine:	$\bar{x} = 3,3 \text{ ng/g}$	$r = 1,85 \text{ ng/g}$	(natürlich kontaminiert)

**Die Werte für Feigenpaste sind:**

Aflatoxin B <sub>1</sub> :	$\bar{x} = 1,1 \text{ ng/g}$	$r = 0,50 \text{ ng/g}$	(zugesetzt)
Gesamtaflatoxine:	$\bar{x} = 2,2 \text{ ng/g}$	$r = 1,12 \text{ ng/g}$	(zugesetzt)
Aflatoxin B <sub>1</sub> :	$\bar{x} = 3,6 \text{ ng/g}$	$r = 1,09 \text{ ng/g}$	(zugesetzt)
Gesamtaflatoxine:	$\bar{x} = 7,8 \text{ ng/g}$	$r = 2,83 \text{ ng/g}$	(zugesetzt)
Aflatoxin B <sub>1</sub> :	$\bar{x} = 1,3 \text{ ng/g}$	$r = 0,34 \text{ ng/g}$	(natürlich kontaminiert)
Gesamtaflatoxine:	$\bar{x} = 2,8 \text{ ng/g}$	$r = 0,70 \text{ ng/g}$	(natürlich kontaminiert)
Aflatoxin B <sub>1</sub> :	$\bar{x} = 2,1 \text{ ng/g}$	$r = 0,34 \text{ ng/g}$	(natürlich kontaminiert)
Gesamtaflatoxine:	$\bar{x} = 3,8 \text{ ng/g}$	$r = 1,23 \text{ ng/g}$	(natürlich kontaminiert)
Aflatoxin B <sub>1</sub> :	$\bar{x} = 2,6 \text{ ng/g}$	$r = 1,15 \text{ ng/g}$	(natürlich kontaminiert)
Gesamtaflatoxine:	$\bar{x} = 5,2 \text{ ng/g}$	$r = 2,52 \text{ ng/g}$	(natürlich kontaminiert)

**Die Werte für Paprikapulver sind:**

Aflatoxin B <sub>1</sub> :	$\bar{x} = 0,9 \text{ ng/g}$	$r = 0,14 \text{ ng/g}$	(zugesetzt)
Gesamtaflatoxine:	$\bar{x} = 1,7 \text{ ng/g}$	$r = 0,31 \text{ ng/g}$	(zugesetzt)
Aflatoxin B <sub>1</sub> :	$\bar{x} = 3,4 \text{ ng/g}$	$r = 0,50 \text{ ng/g}$	(zugesetzt)
Gesamtaflatoxine:	$\bar{x} = 7,1 \text{ ng/g}$	$r = 2,02 \text{ ng/g}$	(zugesetzt)
Aflatoxin B <sub>1</sub> :	$\bar{x} = 0,8 \text{ ng/g}$	$r = 0,34 \text{ ng/g}$	(natürlich kontaminiert)
Gesamtaflatoxine:	$\bar{x} = 0,9 \text{ ng/g}$	$r = 0,45 \text{ ng/g}$	(natürlich kontaminiert)
Aflatoxin B <sub>1</sub> :	$\bar{x} = 1,4 \text{ ng/g}$	$r = 0,39 \text{ ng/g}$	(natürlich kontaminiert)
Gesamtaflatoxine:	$\bar{x} = 2,0 \text{ ng/g}$	$r = 0,64 \text{ ng/g}$	(natürlich kontaminiert)

Aflatoxin B <sub>1</sub> :	$\bar{x} = 3,0 \text{ ng/g}$	$r = 0,36 \text{ ng/g}$	(natürlich kontaminiert)
Gesamtaflatoxine:	$\bar{x} = 4,5 \text{ ng/g}$	$r = 0,62 \text{ ng/g}$	(natürlich kontaminiert)

### 7.3 Vergleichgrenze

Die absolute Differenz zwischen zwei einzelnen Ergebnissen, die von zwei Laboratorien für identisches Untersuchungsmaterial erhalten werden, wird die Vergleichgrenze  $R$  nicht häufiger als in 5 % der Fälle überschreiten.

#### Die Werte für Haselnusspaste sind:

Aflatoxin B <sub>1</sub> :	$\bar{x} = 1,4 \text{ ng/g}$	$R = 0,28 \text{ ng/g}$	(natürlich kontaminiert)
Gesamtaflatoxine:	$\bar{x} = 4,2 \text{ ng/g}$	$R = 0,81 \text{ ng/g}$	(natürlich kontaminiert)
Aflatoxin B <sub>1</sub> :	$\bar{x} = 2,3 \text{ ng/g}$	$R = 0,51 \text{ ng/g}$	(natürlich kontaminiert)
Gesamtaflatoxine:	$\bar{x} = 7,1 \text{ ng/g}$	$R = 1,35 \text{ ng/g}$	(natürlich kontaminiert)
Aflatoxin B <sub>1</sub> :	$\bar{x} = 3,8 \text{ ng/g}$	$R = 0,78 \text{ ng/g}$	(natürlich kontaminiert)
Gesamtaflatoxine:	$\bar{x} = 12,1 \text{ ng/g}$	$R = 2,08 \text{ ng/g}$	(natürlich kontaminiert)

#### Die Werte für Erdnusscreme sind:

Aflatoxin B <sub>1</sub> :	$\bar{x} = 0,9 \text{ ng/g}$	$R = 0,45 \text{ ng/g}$	(zugesezt)
Gesamtaflatoxine:	$\bar{x} = 1,9 \text{ ng/g}$	$R = 0,98 \text{ ng/g}$	(zugesezt)
Aflatoxin B <sub>1</sub> :	$\bar{x} = 3,6 \text{ ng/g}$	$R = 1,85 \text{ ng/g}$	(zugesezt)
Gesamtaflatoxine:	$\bar{x} = 7,9 \text{ ng/g}$	$R = 4,93 \text{ ng/g}$	(zugesezt)
Aflatoxin B <sub>1</sub> :	$\bar{x} = 0,8 \text{ ng/g}$	$R = 0,73 \text{ ng/g}$	(natürlich kontaminiert)
Gesamtaflatoxine:	$\bar{x} = 1,3 \text{ ng/g}$	$R = 1,29 \text{ ng/g}$	(natürlich kontaminiert)
Aflatoxin B <sub>1</sub> :	$\bar{x} = 1,5 \text{ ng/g}$	$R = 0,62 \text{ ng/g}$	(natürlich kontaminiert)
Gesamtaflatoxine:	$\bar{x} = 2,2 \text{ ng/g}$	$R = 0,90 \text{ ng/g}$	(natürlich kontaminiert)
Aflatoxin B <sub>1</sub> :	$\bar{x} = 3,4 \text{ ng/g}$	$R = 1,82 \text{ ng/g}$	(natürlich kontaminiert)
Gesamtaflatoxine:	$\bar{x} = 5,0 \text{ ng/g}$	$R = 2,69 \text{ ng/g}$	(natürlich kontaminiert)

#### Die Werte für Pistazienpaste sind:

Aflatoxin B <sub>1</sub> :	$\bar{x} = 0,9 \text{ ng/g}$	$R = 0,42 \text{ ng/g}$	(zugesezt)
Gesamtaflatoxine:	$\bar{x} = 2,0 \text{ ng/g}$	$R = 1,01 \text{ ng/g}$	(zugesezt)
Aflatoxin B <sub>1</sub> :	$\bar{x} = 3,3 \text{ ng/g}$	$R = 2,86 \text{ ng/g}$	(zugesezt)
Gesamtaflatoxine:	$\bar{x} = 7,8 \text{ ng/g}$	$R = 5,1 \text{ ng/g}$	(zugesezt)
Aflatoxin B <sub>1</sub> :	$\bar{x} = 0,7 \text{ ng/g}$	$R = 0,34 \text{ ng/g}$	(natürlich kontaminiert)
Gesamtaflatoxine:	$\bar{x} = 0,8 \text{ ng/g}$	$R = 0,48 \text{ ng/g}$	(natürlich kontaminiert)
Aflatoxin B <sub>1</sub> :	$\bar{x} = 1,5 \text{ ng/g}$	$R = 1,01 \text{ ng/g}$	(natürlich kontaminiert)
Gesamtaflatoxine:	$\bar{x} = 1,7 \text{ ng/g}$	$R = 1,18 \text{ ng/g}$	(natürlich kontaminiert)
Aflatoxin B <sub>1</sub> :	$\bar{x} = 2,9 \text{ ng/g}$	$R = 1,71 \text{ ng/g}$	(natürlich kontaminiert)
Gesamtaflatoxine:	$\bar{x} = 3,3 \text{ ng/g}$	$R = 2,02 \text{ ng/g}$	(natürlich kontaminiert)

#### Die Werte für Feigenpaste sind:

Aflatoxin B <sub>1</sub> :	$\bar{x} = 1,1 \text{ ng/g}$	$R = 0,59 \text{ ng/g}$	(zugesezt)
Gesamtaflatoxine:	$\bar{x} = 2,2 \text{ ng/g}$	$R = 2,04 \text{ ng/g}$	(zugesezt)
Aflatoxin B <sub>1</sub> :	$\bar{x} = 3,6 \text{ ng/g}$	$R = 1,29 \text{ ng/g}$	(zugesezt)
Gesamtaflatoxine:	$\bar{x} = 7,8 \text{ ng/g}$	$R = 3,58 \text{ ng/g}$	(zugesezt)
Aflatoxin B <sub>1</sub> :	$\bar{x} = 1,3 \text{ ng/g}$	$R = 0,84 \text{ ng/g}$	(natürlich kontaminiert)
Gesamtaflatoxine:	$\bar{x} = 2,8 \text{ ng/g}$	$R = 2,24 \text{ ng/g}$	(natürlich kontaminiert)
Aflatoxin B <sub>1</sub> :	$\bar{x} = 2,1 \text{ ng/g}$	$R = 0,87 \text{ ng/g}$	(natürlich kontaminiert)
Gesamtaflatoxine:	$\bar{x} = 3,8 \text{ ng/g}$	$R = 2,88 \text{ ng/g}$	(natürlich kontaminiert)
Aflatoxin B <sub>1</sub> :	$\bar{x} = 2,6 \text{ ng/g}$	$R = 2,04 \text{ ng/g}$	(natürlich kontaminiert)
Gesamtaflatoxine:	$\bar{x} = 5,2 \text{ ng/g}$	$R = 4,37 \text{ ng/g}$	(natürlich kontaminiert)

**Die Werte für Paprikapulver sind:**

Aflatoxin B <sub>1</sub> :	$\bar{x} = 0,9$ ng/g	$R = 0,25$ ng/g	(zugesetzt)
Gesamtaflatoxine:	$\bar{x} = 1,7$ ng/g	$R = 0,95$ ng/g	(zugesetzt)
Aflatoxin B <sub>1</sub> :	$\bar{x} = 3,4$ ng/g	$R = 0,98$ ng/g	(zugesetzt)
Gesamtaflatoxine:	$\bar{x} = 7,1$ ng/g	$R = 2,83$ ng/g	(zugesetzt)
Aflatoxin B <sub>1</sub> :	$\bar{x} = 0,8$ ng/g	$R = 0,45$ ng/g	(natürlich kontaminiert)
Gesamtaflatoxine:	$\bar{x} = 0,9$ ng/g	$R = 0,87$ ng/g	(natürlich kontaminiert)
Aflatoxin B <sub>1</sub> :	$\bar{x} = 1,4$ ng/g	$R = 0,67$ ng/g	(natürlich kontaminiert)
Gesamtaflatoxine:	$\bar{x} = 2,0$ ng/g	$R = 1,54$ ng/g	(natürlich kontaminiert)
Aflatoxin B <sub>1</sub> :	$\bar{x} = 3,0$ ng/g	$R = 0,78$ ng/g	(natürlich kontaminiert)
Gesamtaflatoxine:	$\bar{x} = 4,5$ ng/g	$R = 1,85$ ng/g	(natürlich kontaminiert)

## 8 Untersuchungsbericht

Im Untersuchungsbericht sind anzugeben:

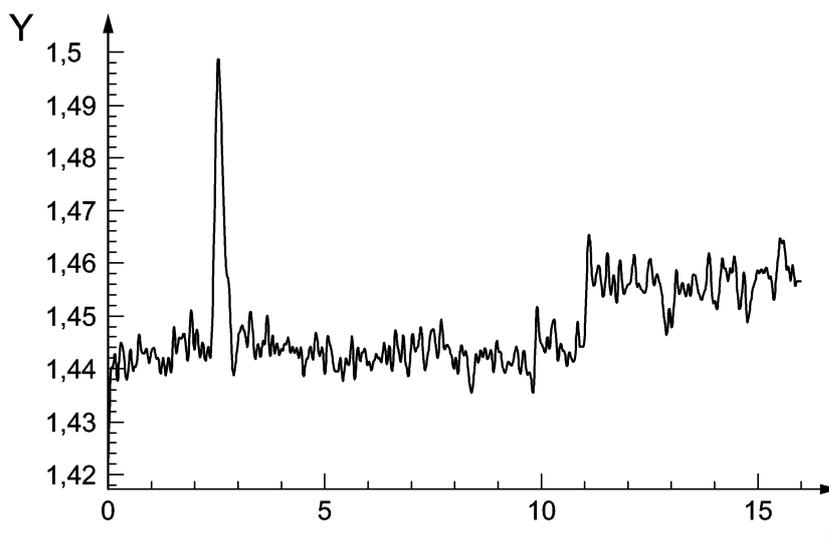
- alle notwendigen Informationen zur Identifizierung der Probe (Art, Herkunft, Bezeichnung der Probe);
- alle notwendigen Informationen zur Identifizierung der Kalibriersubstanz;
- eine Verweisung auf diese Europäische Norm;
- Datum und Art der Probenahme (wenn bekannt);
- Datum des Probeneinganges;
- Datum der Untersuchung;
- die Ergebnisse und Einheiten, in denen sie angegeben werden;
- alle Besonderheiten, die während der Untersuchung festgestellt wurden;
- alle Arbeitsschritte, die nicht in diesem Verfahren festgelegt sind, wahlweise vorgenommen wurden und das Ergebnis möglicherweise beeinflusst haben.

## Anhang A (informativ)

### Typische Chromatogramme

#### Arbeitsbedingungen für die Bilder A.1 und A.2:

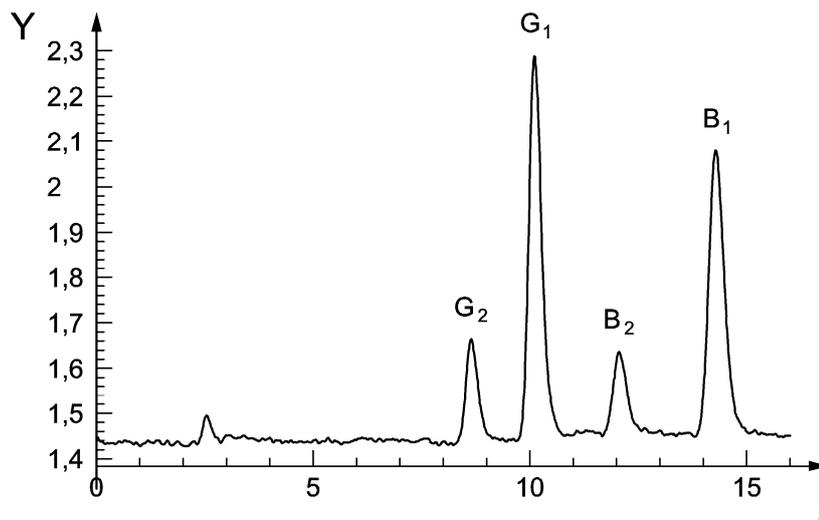
Injektionsvolumen:	100 µl
Säule:	C <sub>18</sub> (Länge 25 cm × innerer Durchmesser 4,6 mm, Teilchengröße 5 µm)
Durchfluss:	1 ml/min
Mobile Phase:	Wasser-Methanol-Acetonitril (62 + 22 + 16 [V/V/V]), enthaltend 120 mg KBr und 350 µl HNO <sub>3</sub> (c(HNO <sub>3</sub> ) = 4 mol/l) je Liter
Derivatisierung:	Elektrochemische Bromierung (KOBRA-Zelle®)
Detektion:	Fluoreszenz (Ex: 362 nm, Em: 425 nm für B <sub>1</sub> und B <sub>2</sub> und Em: 455 nm für G <sub>1</sub> und G <sub>2</sub> )



#### Legende

Y Fluoreszenz in mV

**Bild A.1 — Typisches Chromatogramm von Aflatoxinen im Blindextrakt von Haselnusspaste nach Reinigung an einer Immunaффinitätssäule (< 0,1 ng/g Gesamtaflatoxine)**



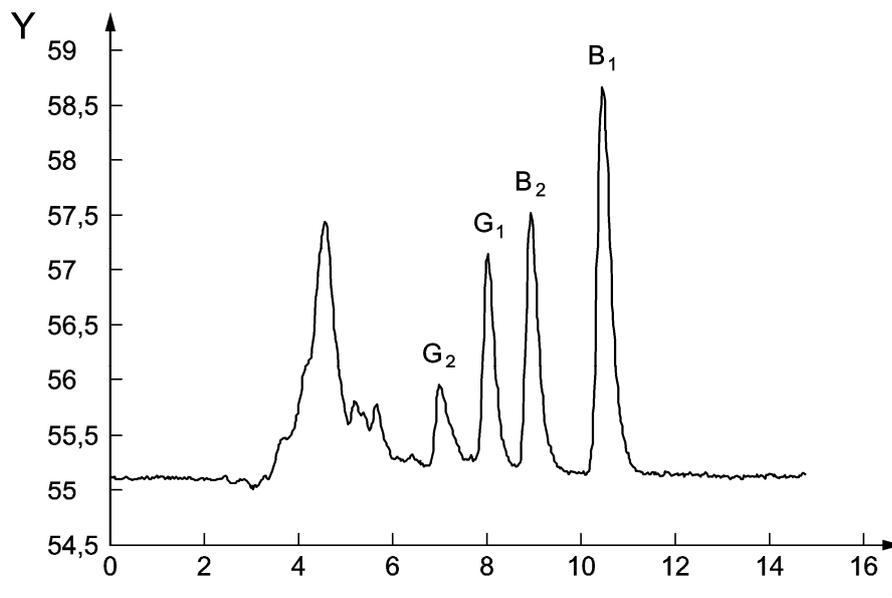
### Legende

Y Fluoreszenz in mV

**Bild A.2 — Typisches Chromatogramm von Aflatoxinen in natürlich kontaminierter Haselnusspaste nach Reinigung an einer Immunaффinitätssäule (Kontaminationslevel 12 ng/g Gesamtaflatoxine und 3,8 ng/g Aflatoxin B<sub>1</sub>)**

### Arbeitsbedingungen für die Bilder A.3 bis A.6:

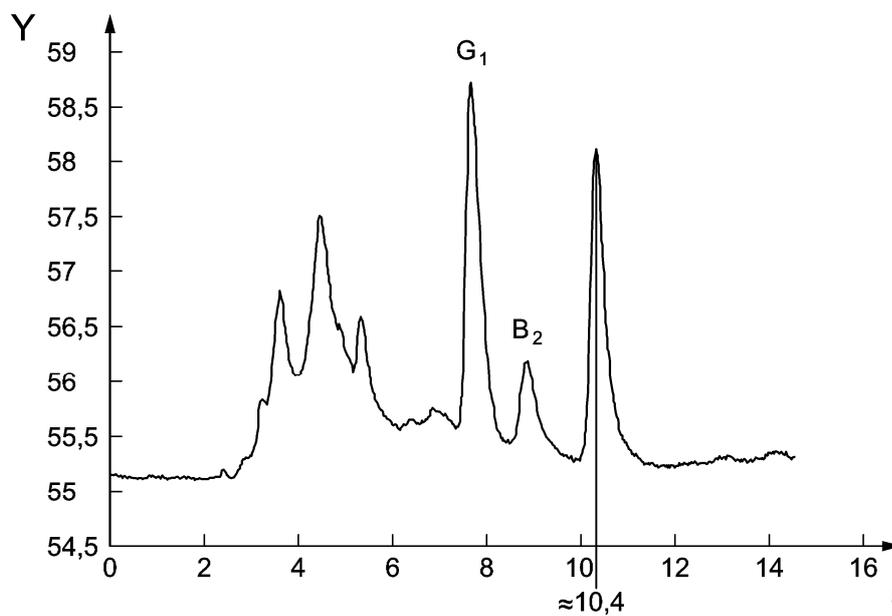
Injektionsvolumen:	200 µl
Säule:	C <sub>18</sub> (Länge 25 cm × innerer Durchmesser 4,6 mm, Teilchengröße 5 µm)
Durchfluss:	1 ml/min
Mobile Phase:	Wasser-Methanol-Acetonitril (6 + 3 + 3 [V/V/V]), enthaltend 120 mg KBr und 350 µl HNO <sub>3</sub> (c(HNO <sub>3</sub> ) = 4 mol/l) je Liter
Derivatisierung:	Elektrochemische Bromierung (KOBRA-Zelle®)
Detektion:	Fluoreszenz (Ex: 365 nm, Em: 435 nm)



**Legende**

Y Fluoreszenz in mV

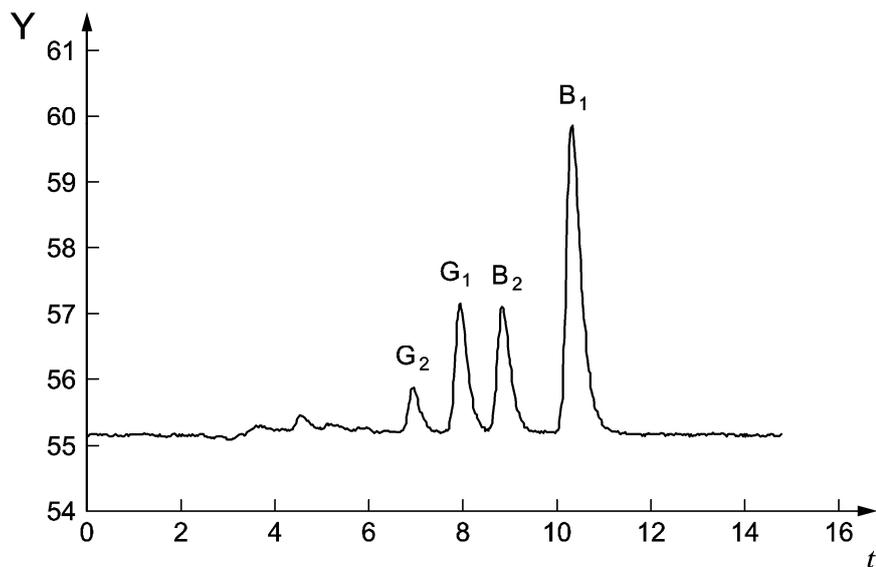
**Bild A.3 — Typisches Chromatogramm von Aflatoxinen in natürlich kontaminierter Feigenpaste nach Reinigung an einer Immunaффinitätssäule (Kontaminationslevel 1 ng/g Aflatoxin B<sub>1</sub>)**



**Legende**

Y Fluoreszenz in mV

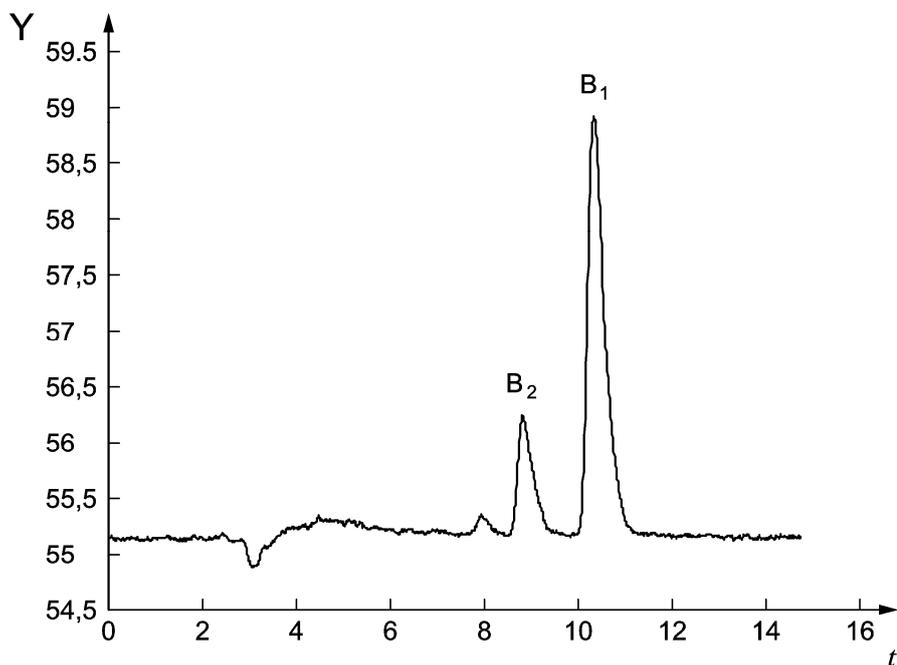
**Bild A.4 — Typisches Chromatogramm von Aflatoxinen in natürlich kontaminiertem Paprikapulver nach Reinigung an einer Immunaффinitätssäule (Kontaminationslevel 1 ng/g Aflatoxin B<sub>1</sub>)**



**Legende**

Y Fluoreszenz in mV

**Bild A.5 — Typisches Chromatogramm von Aflatoxinen in natürlich kontaminierter Erdnusscreme nach Reinigung an einer Immunoaffinitätssäule (Kontaminationslevel 1 ng/g Aflatoxin B<sub>1</sub>)**



**Legende**

Y Fluoreszenz in mV

**Bild A.6 — Typisches Chromatogramm von Aflatoxinen in natürlich kontaminierter Pistazienpaste nach Reinigung an einer Immunoaffinitätssäule (Kontaminationslevel 1 ng/g Aflatoxin B<sub>1</sub>)**

## Anhang B (informativ)

### Präzisionsdaten

Die Daten in Tabelle B.1 sind in einem Ringversuch erarbeitet worden, der vom „TÜBITAK-Ankara Test and Analysis Laboratory“ Türkei, organisiert wurde. Sowohl natürlich kontaminierte als auch mit Aflatoxinen dotierte Haselnusspaste wurde hierbei untersucht [4].

**Tabelle B.1 — Präzisionsdaten für Haselnusspaste**

Parameter	Aflatoxin B <sub>1</sub>						Gesamtaflatoxine					
	1 <sup>a</sup>	2 <sup>b</sup>	3 <sup>c</sup>	4 <sup>d</sup>	5 <sup>e</sup>	6 <sup>f</sup>	7 <sup>a</sup>	8 <sup>g</sup>	9 <sup>h</sup>	10 <sup>d</sup>	11 <sup>e</sup>	12 <sup>f</sup>
Probennummer												
Jahr des Ringversuchs	2004						2004					
Anzahl der Laboratorien	14						14					
Anzahl der nach Eliminieren der Ausreißer verbliebenen Laboratorien	14	13	13	13	13	13	14	13	13	12	13	12
Anzahl der Ausreißer	0	1	1	1	1	1	0	1	1	2	1	2
Anzahl der anerkannten Ergebnisse	28	26	26	26	26	26	28	26	26	24	26	24
Mittelwert $\bar{x}$ , ng/g	0,01	0,89	2,15	1,4	2,3	3,8	0,04	3,6	8,7	4,2	7,1	12,1
Wiederholstandardabweichung $s_r$ , ng/g	n.a. <sup>i</sup>	—	—	0,040	0,074	0,086	n.a.	—	—	0,112	0,245	0,285
Relative Wiederholstandardabweichung $RSD_r$ , %	n.a.	—	—	2,9	3,2	2,2	n.a.	—	—	2,7	3,4	2,3
Wiederholgrenze $r$ [ $r = 2,8 \times s_r$ ], ng/g	n.a.	—	—	0,11	0,21	0,24	n.a.	—	—	0,31	0,69	0,80
Vergleichstandardabweichung $s_R$ , ng/g	n.a.	—	—	0,10	0,18	0,28	n.a.	—	—	0,29	0,48	0,74
Relative Vergleichstandardabweichung $RSD_R$ , %	n.a.	—	—	7,4	7,8	7,3	n.a.	—	—	7,0	6,7	6,1
Vergleichgrenze $R$ [ $R = 2,8 \times s_R$ ], ng/g	n.a.	—	—	0,28	0,51	0,78	n.a.	—	—	0,81	1,35	2,08
Wiederfindung, %	n.a.	89	86	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	89	87	n.a.	n.a.	n.a.
a Blindprobe				d natürlich kontaminiert, niedrig				g dotiert 1, 4 ng/g				
b dotiert 1, 1 ng/g				e natürlich kontaminiert, mittel				h dotiert 2, 10 ng/g				
c dotiert 2, 2,5 ng/g				f natürlich kontaminiert, hoch				i nicht anwendbar				

Die Daten in den Tabellen B.2 bis B.5 stammen aus einem Ringversuch nach ISO 5725-2, ISO 5725-4 und ISO 5725-6, der vom „Standards Measurement and Testing Programme“ der Europäischen Gemeinschaft durchgeführt wurde. Im Ringversuch wurden sowohl natürlich kontaminierte als auch mit Aflatoxinen dotierte Proben von Erdnusscreme, Pistazienpaste, Feigenpaste und Paprikapulver im Ringversuch analysiert [5].

Tabelle B.2 — Präzisionsdaten für Erdnusscreme

Parameter	Aflatoxin B1					Gesamtaflatoxine				
	1 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>	3 <sup>b</sup>	4 <sup>b</sup>	5 <sup>b</sup>	1 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>	3 <sup>b</sup>	4 <sup>b</sup>	5 <sup>b</sup>
Probennummer										
Jahr des Ringversuchs	1998					1998				
Anzahl der Laboratorien	16					16				
Anzahl der Proben (Doppelbestimmung)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Anzahl der nach Eliminieren der Ausreißer verbliebenen Laboratorien	15	13	15	14	14	15	15	15	13	14
Anzahl der Ausreißer	1	3	1	2	2	1	1	1	3	2
Anzahl der anerkannten Ergebnisse	15	13	15	14	14	15	15	15	13	14
Mittelwert $\bar{x}$ , ng/g	0,87	3,65	0,80	1,52	3,40	1,9	7,9	1,3	2,2	5,0
Wiederholstandardabweichung $s_r$ , ng/g	0,09	0,11	0,05	0,10	0,13	0,26	0,67	0,08	0,16	0,23
Relative Wiederholstandard- abweichung $RSD_r$ , %	10	3	6	6	4	13	9	6	7	5
Wiederholgrenze $r$ ( $r = 2,8 \times s_r$ ), ng/g	0,25	0,31	0,14	0,28	0,36	0,73	1,88	0,22	0,45	0,64
Vergleichstandardabweichung $s_R$ , ng/g	0,16	0,66	0,26	0,22	0,65	0,35	1,76	0,46	0,32	0,96
Relative Vergleichstandard- abweichung $RSD_R$ , %	19	18	32	14	19	18	22	34	14	19
Vergleichgrenze $R$ ( $R = 2,8 \times s_R$ ), ng/g	0,45	1,85	0,73	0,62	1,82	0,98	4,93	1,29	0,90	2,69
Wiederfindung, %	87	91	—	—	—	81	82	—	—	—
<sup>a</sup> dotierte Probe <sup>b</sup> natürlich kontaminierte Probe										

Tabelle B.3 — Präzisionsdaten für Pistazienpaste

Parameter	Aflatoxin B <sub>1</sub>					Gesamtaflatoxine				
	1 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>	3 <sup>b</sup>	4 <sup>b</sup>	5 <sup>b</sup>	1 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>	3 <sup>b</sup>	4 <sup>b</sup>	5 <sup>b</sup>
Probennummer										
Jahr des Ringversuchs	1998					1998				
Anzahl der Laboratorien	16					16				
Anzahl der Proben (Doppelbestimmung)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Anzahl der nach Eliminieren der Ausreißer verbliebenen Laboratorien	15	12	13	15	14	14	14	13	15	14
Anzahl der Ausreißer	1	4	3	1	2	2	2	3	1	2
Anzahl der anerkannten Ergebnisse	15	12	13	15	14	14	14	13	15	14
Mittelwert $\bar{x}$ , ng/g	0,94	3,29	0,74	1,54	2,93	2,0	7,8	0,8	1,7	3,3
Wiederholstandardabweichung $s_r$ , ng/g	0,13	0,13	0,08	0,27	0,59	0,24	1,82	0,10	0,31	0,66
Relative Wiederholstandard- abweichung $RSD_r$ , %	14	4	11	18	20	12	23	12	18	20
Wiederholgrenze $r$ ( $r = 2,8 \times s_r$ ), ng/g	0,36	0,36	0,22	0,76	1,65	0,67	5,10	0,28	0,87	1,85
Vergleichstandardabweichung $s_R$ , ng/g	0,15	1,02	0,12	0,36	0,61	0,36	1,82	0,17	0,42	0,72
Relative Vergleichstandard- abweichung $RSD_R$ , %	16	31	17	23	21	18	23	21	24	22
Vergleichgrenze $R$ ( $R = 2,8 \times s_R$ ), ng/g	0,42	2,86	0,34	1,01	1,71	1,01	5,1	0,48	1,18	2,02
Wiederfindung, %	94	82	—	—	—	83	81	—	—	—
<sup>a</sup> dotierte Probe <sup>b</sup> natürlich kontaminierte Probe										

Tabelle B.4 — Präzisionsdaten für Feigenpaste

Parameter	Aflatoxin B1					Gesamtaflatoxine				
	1 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>	3 <sup>b</sup>	4 <sup>b</sup>	5 <sup>b</sup>	1 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>	3 <sup>b</sup>	4 <sup>b</sup>	5 <sup>b</sup>
Probennummer										
Jahr des Ringversuchs	1998					1998				
Anzahl der Laboratorien	16					16				
Anzahl der Proben (Doppelbestimmung)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Anzahl der nach Eliminieren der Ausreißer verbliebenen Laboratorien	15	15	16	14	16	15	15	16	16	16
Anzahl der Ausreißer	1	1	0	2	0	1	1	0	0	0
Anzahl der anerkannten Ergebnisse	15	15	16	14	16	15	15	16	16	16
Mittelwert $\bar{x}$ , ng/g	1,10	3,60	1,32	2,07	2,55	2,2	7,8	2,8	3,8	5,2
Wiederholstandardabweichung $s_r$ , ng/g	0,18	0,39	0,12	0,12	0,41	0,40	1,01	0,25	0,44	0,90
Relative Wiederhol- standardabweichung $RSD_r$ , %	17	11	10	6	16	18	13	9	12	17
Wiederholgrenze $r$ ( $r = 2,8 \times s_r$ ), ng/g	0,5	1,09	0,34	0,34	1,15	1,12	2,83	0,7	1,23	2,52
Vergleichstandardabweichung $s_R$ , ng/g	0,21	0,46	0,30	0,31	0,73	0,73	1,28	0,80	1,03	1,56
Relative Vergleichstandard- abweichung $RSD_R$ , %	19	13	23	15	29	32	17	28	29	30
Vergleichgrenze $R$ ( $R = 2,8 \times s_R$ ), ng/g	0,59	1,29	0,84	0,87	2,04	2,04	3,58	2,24	2,88	4,37
Wiederfindung, %	109	90	—	—	—	92	81	—	—	—
<sup>a</sup> dotierte Probe <sup>b</sup> natürlich kontaminierte Probe										

Tabelle B.5 — Präzisionsdaten für Paprikapulver

Parameter	Aflatoxin B1					Gesamtaflatoxine				
	1 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>	3 <sup>b</sup>	4 <sup>b</sup>	5 <sup>b</sup>	1 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>	3 <sup>b</sup>	4 <sup>b</sup>	5 <sup>b</sup>
Probennummer										
Jahr des Ringversuchs	1998					1998				
Anzahl der Laboratorien	16					16				
Anzahl der Proben (Doppelbestimmung)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Anzahl der nach Eliminieren der Ausreißer verbliebenen Laboratorien	14	15	15	15	14	13	15	16	16	14
Anzahl der Ausreißer	2	1	1	1	2	3	1	0	0	2
Anzahl der anerkannten Ergebnisse	14	15	15	15	14	13	15	16	16	14
Mittelwert $\bar{x}$ , ng/g	0,86	3,41	0,84	1,39	3,02	1,7	7,1	0,9	2,0	4,5
Wiederholstandardabweichung $s_r$ , ng/g	0,05	0,18	0,12	0,14	0,13	0,11	0,72	0,16	0,23	0,22
Relative Wiederholstandard- abweichung $RSD_r$ , %	6	5	14	10	4	6	10	17	12	5
Wiederholgrenze $r$ ( $r = 2,8 \times s_r$ ), ng/g	0,14	0,5	0,34	0,39	0,36	0,31	2,02	0,45	0,64	0,62
Vergleichstandardabweichung $s_R$ , ng/g	0,09	0,35	0,16	0,24	0,28	0,34	1,01	0,31	0,55	0,66
Relative Vergleichstand- ardabweichung $RSD_R$ , %	10	10	19	17	9	20	14	34	28	15
Vergleichgrenze $R$ ( $R = 2,8 \times s_R$ ), ng/g	0,25	0,98	0,45	0,67	0,78	0,95	2,83	0,87	1,54	1,85
Wiederfindung, %	86	85	—	—	—	71	74	—	—	—
<sup>a</sup> dotierte Probe <sup>b</sup> natürlich kontaminierte Probe										

## Literaturhinweise

ISO 5725-2:1994, *Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results — Part 2: Basic method for the determination of repeatability and reproducibility of a standard measurement method*

ISO 5725-4:1994, *Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results — Part 4: Basic methods for the determination of the trueness of a standard measurement method*

ISO 5725-6:1994, *Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results — Part 6: Use in practice of accuracy values*

- [1] Laboratory decontamination and destruction of aflatoxins B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, G<sub>1</sub> and G<sub>2</sub> in laboratory wastes. Castegnaro, M., Hunt D. C., Sansone E. B., Schuller P. L., Siriwardana M. G., Telling G. M., van Egmond H. P. und Walker E. A. IARC Scientific publication no. 37, International Agency for Research on Cancer (IARC), Lyon (France), 1980, 59 p.
- [2] Laboratory decontamination and destruction of carcinogens in laboratory wastes: some mycotoxins. Castegnaro, M., Barek, J., Fremy, J. M., Lafontaine, M., Miraglia, M., Sansone, E. B. und Telling, G. M. IARC publication no. 113, International Agency for Research on Cancer (IARC), Lyon (France), 1991, 63 p.
- [3] Commission Regulation (EC) No 401/2006 of 23 February 2006 laying down the methods of sampling and analysis for the official control of the levels of mycotoxins in foodstuffs, Official Journal L 70, 09/03/2006, 12-34
- [4] Senyuva, H. Z. und Gilbert, J.: Immunoaffinity cleanup with liquid chromatography using post-column bromination for determination of aflatoxins in hazelnut paste: Interlaboratory Study, Journal of the AOAC International 88: No 2, 2005, 526–535
- [5] Stroka, J, Anklam, E, Joerissen, U, und Gilbert, J: Immunoaffinity cleanup with liquid chromatography using post-column bromination for determination of aflatoxins in peanut butter, pistachio paste, fig paste, and paprika powder: collaborative study, Journal of the AOAC International 83, 2000, 320–340