

DLA
Dienstleistung
Lebensmittel
Analytik GbR

Auswertungs-Bericht
Laborvergleichsuntersuchung

DLA 20/2016

DON und Zearalenon in Getreide

Dienstleistung Lebensmittel Analytik GbR
Waldemar-Bonsels-Weg 170
22926 Ahrensburg, Germany

proficiency-testing@dla-lvu.de
www.dla-lvu.de

Koordinator der LVU:
Dr. Gerhard Wichmann

Inhalt / Content

1. Einleitung.....	3
2. Durchführung.....	3
2.1 Untersuchungsmaterial.....	3
2.1.1 Homogenität.....	3
2.2 Untersuchung.....	4
2.3 Ergebnisübermittlung.....	4
3. Auswertung.....	5
3.1 Konsenswert der Teilnehmer (zugewiesener Wert).....	5
3.2 Standardabweichung.....	5
3.3 Wiederholstandardabweichung.....	5
3.4 Vergleichsstandardabweichung.....	6
3.5 Ausschluss von Ergebnissen und Ausreißer.....	6
3.6 Zielstandardabweichung (für die Eignungsbeurteilung).....	6
3.6.1 Allgemeines Modell nach Horwitz.....	6
3.6.2 Auswertung eines Versuchs zur Präzision.....	7
3.6.3 Werte aus Erkenntnissen	8
3.7 z-Score.....	8
3.8 z'-Score.....	8
3.9 Variationskoeffizient (VK).....	9
3.10 Quotient	10
3.11 Standardunsicherheit.....	10
4. Ergebnisse.....	11
4.1 Deoxynivalenol (DON) in µg/kg.....	12
4.2 Zearalenon (ZEA) in µg/kg.....	15
5. Dokumentation.....	18
5.1 Primärdaten.....	18
5.1.1 DON.....	18
5.1.2 ZEA.....	18
5.2 Homogenität.....	19
5.2.1 Homogenitätsuntersuchung vor der LVU.....	19
5.2.2 Wiederholstandardabweichung der Doppelbestimmungen der Teilnehmer.....	19
5.2.3 Gegenüberstellung der aufsteigenden Probennummern und der betreffenden Einzel-Messwerte.....	20
5.3 Analytische Methoden.....	21
5.3.1 DON.....	21
5.3.2 ZEA.....	22
6. Verzeichnis der teilnehmenden Institute.....	23
7. Verzeichnis relevanter Literatur.....	24

1. Einleitung

Die Teilnahme an Laborvergleichsuntersuchungen (LVU) ist ein unverzichtbarer Baustein für das Qualitäts-Management-System eines jeden, mit der Untersuchung von Lebensmitteln, Futtermitteln, Kosmetik und Bedarfsgegenständen befassten Labors. Die Durchführung von Laborvergleichsuntersuchungen ermöglicht den teilnehmenden Instituten die eigene analytische Kompetenz unter realen Bedingungen nachzuweisen. Gleichzeitig erhalten sie wertvolle Daten zur Validität der durchgeführten Untersuchungsmethode.

Das Ziel von DLA ist es, LVU für ausgesuchte Parameter in praxis-relevanten Konzentrationen und Matrices anzubieten.

Durchführung und Auswertung der vorliegenden Laborvergleichsuntersuchung erfolgten nach den technischen Anforderungen der DIN EN ISO/IEC 17043 (2010) und DIN ISO 13528-2009.

2. Durchführung

2.1 Untersuchungsmaterial

Bei dem Untersuchungsmaterial handelt es sich um eine Mischung von unterschiedlichen Chargen von Getreidemehl (30% Dinkel, 60% Mais, 10% Weizen). Ca. 3,5 kg des Ansatzes wurden gemahlen, gesiebt, homogenisiert, in Portionen zu ca. 50 Gramm lichtgeschützt abgepackt und auf Homogenität getestet. Die Portionen wurden chronologisch nummeriert.

2.1.1 Homogenität

Vor der LVU wurde Deoxynivalenol (DON) für die Bestimmung der Homogenität im Prüfmaterial analysiert. Die fünffach Bestimmung erfolgte nach Immunoaffinitätsaufarbeitung mittels HPLC/UV modifiziert nach ASU §64 LFGB L 15.00-9. Die Standardabweichung zwischen den Ergebnissen lag bei 8,6 %. Das Ergebnis ist vergleichbar mit den Präzisionsdaten der ASU §64 LFGB L 15.00-9 (16). Die Homogenität kann als hinreichend gesichert angesehen werden. Die Ergebnisse sind in der Dokumentation angegeben.

Die Berechnung der Wiederholstandardabweichung der Teilnehmer für Deoxynivalenol (DON) wurde ebenfalls als Homogenitätskriterium für diese LVU herangezogen. Sie ist vergleichbar mit der Wiederholstandardabweichung der ASU §64 LFGB L 15.00-9. (16). Die Wiederholstandardabweichung der Teilnehmer ist in der Dokumentation und bei den Kennzahlen (4.1 und 4.2) angegeben.

In der Dokumentation sind zudem die Portionsnummern graphisch den Messwerten der Teilnehmer für DON gegenübergestellt. Es ist keinerlei Instituts-unabhängige Tendenz in den Messergebnissen erkennbar, die Inhomogenitäten nahelegen könnte.

2.2 Untersuchung

An jedes teilnehmende Institut wurden in der 4. Woche 2016 zwei Portionen Untersuchungsmaterial verschickt. Das Untersuchungsverfahren wurde freigestellt. Die Untersuchungen waren durchzuführen bis spätestens 11. März 2016.

2.3 Ergebnisübermittlung

Die Ergebnisabgabe erfolgte einheitlich mittels, an die teilnehmenden Institute übergebenen, Übermittlungstabellen (per eMail). Zur statistischen Auswertung kamen die abschließend für die nummerierten Proben angegebenen Gehalte der Analyten. Für die Berechnung der Wiederhol- und Vergleichsstandabweichung wurden auch die Einzelwerte der Doppelbestimmungen herangezogen.

Abgefragt und dokumentiert wurden Einzelergebnisse von DON und Zearalenon, Angaben zur Wiederfindung und Stichpunkte zur durchgeführten Methode.

Von den 12 Teilnehmern haben alle Teilnehmer fristgerecht ihre Ergebnisse abgegeben.

3. Auswertung

3.1 Konsenswert der Teilnehmer (zugewiesener Wert)

Für die Auswertung wurde als zugewiesener Wert (X) der **robuste Mittelwert** der eingesandten Ergebnisse verwendet (6).

Eine Prüfung der Verteilung der eingesandten Ergebnisse ergab für DON keine Hinweise für unvorhergesehene Quellen von Variabilität, wie z.B. eine bimodale Verteilung der Ergebnisse (s. 4.1: Ergebnisse DON: Kern-Dichte Verteilung).

Für die Ergebnisse von Zearalenon wurde eine bimodale Verteilung festgestellt (siehe 4.2: Ergebnisse ZEA). Sofern eine Prüfung der Verteilung der eingesandten Ergebnisse u.a. anhand der Kern-Dichte-Schätzung (15) Hinweise für Quellen von höherer Variabilität, wie z.B. eine bimodale Verteilung der Ergebnisse, ergibt, werden Ursachen dafür gesucht. Für Zearalenon wäre eine mögliche Ursache, dass als Methoden neben dem ASU/ HPLC-Verfahren auch ELISA-Methoden eingesetzt wurden. Die ELISA-Ergebnisse lagen alle unter 10 µg/kg, die HPLC-Ergebnisse lagen im schnitt über 20 µg/kg.

Die statistische Auswertung erfolgt für alle Parameter, für die mindestens 7 Werte vorliegen.

Die tatsächlichen Messergebnisse sind anzugeben. Einzelergebnisse die außerhalb des angegebenen Messbereiches eines teilnehmenden Labors liegen (z.B. mit der Angabe > 25 mg/kg oder < 2,5 mg/kg) oder die Angabe „0“ werden für die statistische Auswertung nicht berücksichtigt. Wenn ein negatives Ergebnis beobachtet wird, muss der tatsächliche negative Wert angegeben werden (6).

3.2 Standardabweichung

Zum Vergleich mit der Zielstandardabweichung wird die robuste Standardabweichung der Ergebnisse (S^*) berechnet (6).

3.3 Wiederholstandardabweichung

Die Wiederholstandardabweichung s_r basiert auf den laborinternen Standardabweichungen der (ausreißerfreien) Einzelergebnisse der Teilnehmer, die jeweils unter Wiederholbedingungen, d.h. Analysen an derselben Probe von demselben Bearbeiter mit demselben Gerät im gleichen Labor innerhalb kurzer Zeit, ermittelt wurden. Sie charakterisiert die mittlere Streuung der Ergebnisse innerhalb der Laboratorien (6) und wird von DLA als Hinweis für die Homogenität des Untersuchungsmaterials herangezogen.

Die Berechnung der Wiederholstandardabweichung S_r erfolgt nach: (5, 6).

3.4 Vergleichsstandabweichung

Die Vergleichsstandabweichung S_R stellt eine laborübergreifende Schätzung der Standardabweichung für die Bestimmung des jeweiligen Parameters anhand der (ausreißerfreien) Einzelergebnisse der Teilnehmer dar. Sie berücksichtigt sowohl die Wiederholstandardabweichung als auch die Standardabweichung zwischen den Laboratorien. Vergleichsstandardabweichungen von LVUs können von Vergleichsstandabweichungen von RVs abweichen, da die beteiligten Laboratorien bei LVUs i.d.R. unterschiedliche interne Bedingungen und Methoden zur Bestimmung der Messwerte benutzen.

Die Berechnung der Vergleichsstandabweichung S_R erfolgt nach: (5, 6).

3.5 Ausschluss von Ergebnissen und Ausreißer

Ergebnisse können vorab von der statistischen Auswertung ausgeschlossen werden, wenn offensichtliche grobe Fehler, wie z. B. falsche Einheiten, Dezimalstellen oder Angaben für einen falschen Prüfgegenstand vorliegen (1).

Ergebnisse, die mit unterschiedlichen Verfahren erhalten wurden und zu einer erhöhten Variabilität und/oder zu einer bi- oder mehrmodalen Verteilung der Ergebnisse führen, werden separat behandelt oder, wenn dafür zu wenige Ergebnisse vorliegen, ausgeschlossen. Hierfür erfolgt die Prüfung der Ergebnisse anhand der Kern-Dichte-Schätzung (15).

Auf Ausreißer wird mittels Mandel's-h-Statistik Signifikanz-Niveau 95% geprüft (5). Ermittelte Ausreißer werden informativ genannt sofern gleichzeitig der z-Score des Teilnehmers < -2 oder > 2 ist. Aufgrund der Anwendung der robusten Statistik werden Ausreißer nicht ausgeschlossen, sofern keine anderen Gründe vorliegen.

3.6 Zielstandardabweichung (für die Eignungsbeurteilung)

Die Zielstandardabweichung des zugewiesenen Wertes (= Standardabweichung für die Eignungsbeurteilung) wird nach unten dargestellten, unterschiedlichen Verfahren bestimmt.

3.6.1 Allgemeines Modell nach Horwitz

Die relative Zielstandardabweichung in % des zugewiesenen Wertes wird i.d.R. nach folgender Gleichung (Horwitz) berechnet

$$\sigma_{(\%) } = 2^{(1-0,51\log X)}$$

hieraus wird die Zielstandardabweichung berechnet

$$\sigma = X * \sigma_{(\%) } / 100.$$

Für Analyten mit einem Gehalt unter 120 µg/kg wurde nach Auswertung diverser Mykotoxin-LVU nach 1997 für die relative Zielstandardabweichung ein konstanter Wert von 22 % vorgeschlagen (11), entsprechend

$\hat{\sigma} = 0,22 \text{ C / mr}$; mit $\hat{\sigma}$ = Zielstandardabweichung für Messwerte < 120 ppb
 C = Messwert, ausgedrückt als dimensionslose, relative Größe (1µg/kg = 1ppb = 10⁻⁹ kg/kg)
 mr = dimensionslose, relative Größe entsprechend der Einheit des Messwertes

Für die anschließenden Tabellen für Zearalenon wurde mit der Zielstandardabweichung nach Horwitz/ Thompson (11) ausgewertet.

3.6.2 Auswertung eines Versuchs zur Präzision

Aus der Vergleichsstandardabweichung σ_R und der Wiederholstandardabweichung σ_r eines Versuchs zur Präzision einer Methode (Ringversuch oder LVU) wird die Standardabweichung zwischen Laboratorien σ_L berechnet:

$$\sigma_L = \sqrt{(\sigma_R^2 - \sigma_r^2)} .$$

Aus den obigen Größen und der Anzahl der Wiederholmessungen n der laufenden Vergleichsuntersuchung wird nun die Zielstandardabweichung berechnet:

$$\sigma = \sqrt{(\sigma_L^2 + (\sigma_r^2/n))} .$$

Die in Tabelle 1 angegebenen relativen Wiederholstandardabweichungen (RSD_r) und relativen Vergleichsstandardabweichungen (RSD_R) wurden in Ringversuchen mittels der angegebenen Methoden ermittelt.

Tabelle 1: Relativen Wiederholstandardabweichungen (RSD_r) und relativen Vergleichsstandardabweichungen (RSD_R) für Deoxynivalenol und Zearalenon gemäß Auswertungen von Versuchen zur Präzision (16, 17, 20)

Parameter	Matrix	RSD _r	RSD _R	Methode / Literatur
DON	Weizenmehl	6,0 %	16,3 %	HPLC/ 16
DON	Frühstücks-cerealien	13,2 %	26,3 %	HPLC/ 16
DON	Mais	10 %	23 %	HPLC/ 16
ZEA	Mais	35,8 %	38,2 %	HPLC/ 20
ZEA	Getreide	8,7 %	12,9 %	HPLC/ 20
ZEA	Getreide	5,9 %	13,0 %	HPLC/ 20
ZEA	Getreide	5,3 %	13,0 %	HPLC/ 20
ZEA	Roggenmehl	10,1 %	19,4 %	HPLC/17
ZEA	Roggenmehl	8,9 %	19,7 %	HPLC/17

Aus den mittleren Präzisionsdaten (RSD_r= 9%; RSD_R= 25%) bei vergleichbarem DON-Gehalt/ Getreide wird eine relative Zielstandardabweichung von 23,8 % (DON) erhalten. Diese Ziel-

standardabweichungen wurden für die Auswertung der Ergebnisse herangezogen.

Zur Information werden die Zielstandardabweichungen von DON und ZEA nach Horwitz zusätzlich bei den Kennzahlen angegeben.

3.6.3 Werte aus Erkenntnissen

Die Zielstandardabweichung kann für die Eignungsbeurteilung auf einen Wert festgesetzt werden, der dem Leistungsfähigkeitsniveau entspricht, das der Koordinator für ein wünschenswertes Ziel für die teilnehmenden Laboratorien hält (6).

3.7 z-Score

Der z-Score wird herangezogen zur Beurteilung der Ergebnisse der teilnehmenden Institute. Er besagt um welches Vielfache der Zielstandardabweichung ($\hat{\sigma}$) das Ergebnis (x) des betreffenden teilnehmenden Instituts vom zugewiesenen Wert (X) abweicht (6).

Die Berechnung erfolgt nach

$$z = (x - X) / \hat{\sigma} ;$$

die Anforderungen an die Analytik gelten im Allgemeinen als erfüllt, wenn

$$-2 \leq z \leq 2 .$$

Gemäß der Norm DIN ISO 13528:2009 (6) wird empfohlen, dass ein Ergebnis, das einen z-Wert $> 3,0$ oder $< -3,0$ ergibt, als „Eingriffssignal“ zu werten ist. Gleichermaßen ist ein z-Wert $> 2,0$ oder $< -2,0$ als „Warnsignal“ zu beurteilen. Ein einzelnes „Eingriffssignal“ oder aber „Warnsignale“ bei zwei aufeinander folgenden LVU-Runden sind als Beleg dafür zu werten, dass eine Anomalie aufgetreten ist, die untersucht werden muss (z. B. anhand einer Fehler- bzw. Ursachenanalyse durch Prüfung auf Übertragungs- bzw. Berechnungsfehler, Richtigkeit und Präzision) und, falls notwendig, muss auf die Probleme durch angemessene Korrekturmaßnahmen reagiert werden (6).

DLA stellt in den z-Score-Abbildungen die Grenzen für die Warn- und Eingriffssignale als gelbe bzw. rote Linien dar.

Die jeweiligen Werte haben gemäß ISO 13528:2009 nur Gültigkeit sofern ≥ 10 Ergebnisse vorliegen (6).

3.8 z'-Score

Der z'-Score kann zur Beurteilung der Ergebnisse der teilnehmenden Institute herangezogen werden, wenn die Standardunsicherheit berücksichtigt werden muss (s. 3.8). Der z'-Score drückt das Verhältnis der Abweichung des Ergebnisses (x) des betreffenden teilnehmenden Instituts vom zugewiesenen Wert (X) zur Wurzel aus der Quadratsumme von Zielstandardabweichung ($\hat{\sigma}$) und Standardunsicherheit (Ux) aus (6).

Die Berechnung erfolgt nach

$$z' = (x - \bar{X}) / \sqrt{\hat{\sigma}^2 + u_X^2}$$

Im Folgenden haben wir den Ausdruck im Nenner $\sqrt{\hat{\sigma}^2 + u_X^2}$ als Zielstandardabweichung $\hat{\sigma}'$ definiert.

Die Anforderungen an die Analytik gelten im Allgemeinen als erfüllt, wenn

$$-2 \leq z' \leq 2 .$$

3.9 Variationskoeffizient (V_K)

Der Variationskoeffizient (V_K) der Vergleichspräzision (= relative Vergleichsstandardabweichung) errechnet sich aus der Vergleichsstandardabweichung S_R und dem Mittelwert (\bar{X} , 21):

$$V_K = \frac{S_R * 100}{\bar{X}}$$

Es ist möglich den Vergleichsvariationskoeffizienten aus einer LVU für das Messunsicherheitsbudget eines Labors heranzuziehen, wenn die interne Wiederholstandardabweichung des betreffenden Labors mit der des Ringversuchs vergleichbar ist. Dies zeigt an, dass die Methodenpräzision in diesem bestimmten Labor ähnlich der aus den Labors ist, die an dem Ringversuch teilnahmen (21).

Der V_K wird darüber ebenfalls zum Nachweis der Homogenität des Probenmaterials herangezogen. Je höher der V_K ist, umso größer ist die Streuung. Im Gegensatz zur Standardabweichung als ein Maß für die absolute Variabilität gibt die V_K die relative Variabilität innerhalb eines Datenbereichs an. Ein V_K von mehr als 50% deutet auf eine „starke Inhomogenität der statistischen Masse“ hin.

3.10 Quotient $S^x/\hat{\sigma}$

In Anlehnung an den Horrat-Wert kann die Bewertung einer Laborvergleichsuntersuchung als aussagekräftig gelten, wenn der Quotient von robuster Standardabweichung und Zielstandardabweichung nicht über 2 liegt. Ein über 2 liegender Wert bedeutet, dass die Präzision nicht zufriedenstellend ist, d.h., dass die Präzision aus analytischen Gründen zu variabel ist oder die festgestellte Variation höher ist als für die angewandte Methode geschätzt wurde. Somit ist eine Vergleichbarkeit der Messergebnisse nicht gewährleistet (11).

3.11 Standardunsicherheit

Jeder zugewiesene Wert ist mit einer Standardunsicherheit behaftet, die von der Analysenmethode, Unterschieden der eingesetzten Analysenmethoden, dem Probenmaterial und der Anzahl der Teilnehmer (P) einer LVU beeinflusst wird. Die Standardunsicherheit (u_x) wird für die vorliegende LVU wie folgt berechnet (6).

$$u_x = 1,25 * S^x / \sqrt{(p)}$$

Ist $u_x \leq 0,3 * \hat{\sigma}$ muss die Standardunsicherheit des zugewiesenen Wertes nicht berücksichtigt werden (6). Ein deutliches Überschreiten des Wertes von 0,3 ist ein Hinweis darauf, dass die Zielstandardabweichung ggf. zu gering für die Standardunsicherheit des zugewiesenen Wertes gewählt wurde.

Der Quotient $u_x/\hat{\sigma}$ ist in den Kenndaten angegeben.

4. Ergebnisse

Alle folgenden Tabellen sind anonymisiert. Den teilnehmenden Instituten wird mit dem Versand dieser Auswertung ihre individuelle Auswertenummer mitgeteilt.

In der oberen Tabelle sind die Kenndaten aufgeführt:

Kenndaten
Anzahl der Messergebnisse
Anzahl der Ausreißer
Mittelwert
Median
Robuster Mittelwert (X)
Robuste Standardabweichung (S*)
Wiederholstandardabweichung (S _r)
Vergleichsstandardabweichung (S _R)
<i>Zielkenndaten:</i>
Zielstandardabweichung $\hat{\sigma}$ oder $\hat{\sigma}$
Zielstandardabweichung zur Information
untere Grenze des Zielbereichs (X - 2 $\hat{\sigma}$)
obere Grenze des Zielbereichs (X + 2 $\hat{\sigma}$)
Variationskoeffizient (V _K) in %
Quotient S*/ $\hat{\sigma}$ oder S*/ $\hat{\sigma}$
Standardunsicherheit u _x
Quotient u _x / $\hat{\sigma}$ oder u _x / $\hat{\sigma}$
Ergebnisse im Zielbereich
Prozent im Zielbereich

In der unteren Tabelle sind die Einzelergebnisse der teilnehmenden Institute aufgeführt :

Auswertenummer	Parameter [Einheit / Unit]	Abweichung	z-Score $\hat{\sigma}$	z-Score (Info)	Hinweis
Evaluation number		Deviation			Remark

4.1 Deoxynivalenol (DON) in µg/kg

Vergleichsuntersuchung / Proficiency Test

Kenndaten	
Anzahl der Messergebnisse	11
Anzahl der Ausreißer	1
Mittelwert	362
Median	385
Robuster Mittelwert (X)	368
Robuste Standardabweichung (S^*)	163
Wiederholstandardabweichung (S_r)	55,9
Vergleichsstandardabweichung (S_R)	177
Zielkenndaten:	
Zielstandardabweichung ASU ($\hat{\sigma}$)	87,3
Zielstandardabweichung nach Horwitz (zur Information)	68,4
Untere Grenze des Zielbereichs	193
Obere Grenze des Zielbereichs	542
Variationskoeffizient (V_K) in %	48
Quotient $S^*/\hat{\sigma}$	1,9
Standardunsicherheit u_x	61,4
Quotient $u_x/\hat{\sigma}$	0,70
Ergebnisse im Zielbereich	9
Prozent im Zielbereich	82

Anmerkungen zu den Kenndaten:

Die Zielstandardabweichung wurde nach ASU berechnet.

Die Auswertungen der Ergebnisse zeigten eine akzeptable Variabilität der Ergebnisse, insbesondere da die Untersuchungen mit unterschiedlichen Methoden (HPLC, LC-MS, ELISA) durchgeführt wurden. Der Quotient $S^*/\hat{\sigma}$ lag unter 2,0. Der Quotient $u_x/\hat{\sigma}$ liegt mit 0,67 über 0,3, ist aber aufgrund der unterschiedlichen Methoden zu akzeptieren.

Die robuste Standardabweichung liegt im Bereich von etablierten Werten für die Vergleichsstandardabweichung der eingesetzten Bestimmungsmethoden. Die Vergleichbarkeit der Ergebnisse ist gegeben.

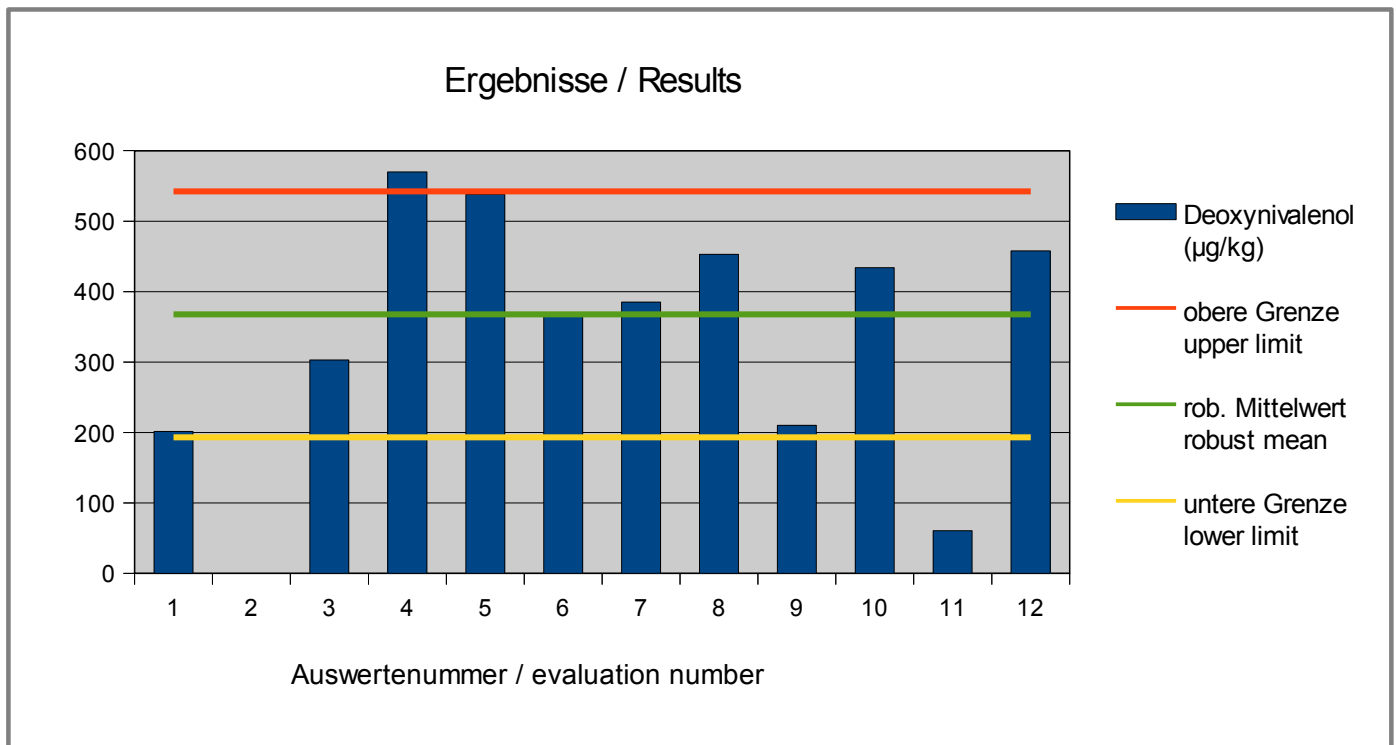


Abb. 1: Ergebnisse DON

Fig. 1: Results DON

Ergebnisse der teilnehmenden Institute:

Results of Participants:

Auswertenummer	Deoxynivalenol (µg/kg)	Abweichung [µg/kg]	z-Score $\hat{\sigma}$	z-Score (Info)	Hinweis
Evaluation number		Deviation [µg/kg]			Remark
1	202	-166	-1,8	-2,5	
2					
3	303	-64,5	-0,7	-1,0	
4	570	202	2,2	3,1	
5	538	170	1,9	2,6	
6	367	-0,500	0,0	0,0	
7	385	17,5	0,2	0,3	
8	453	85,5	0,9	1,3	
9	210	-158	-1,7	-2,4	
10	434	66,5	0,7	1,0	
11	60,3	-307	-3,3	-4,6	Ausreisser / Outlier
12	458	90,5	1,0	1,4	

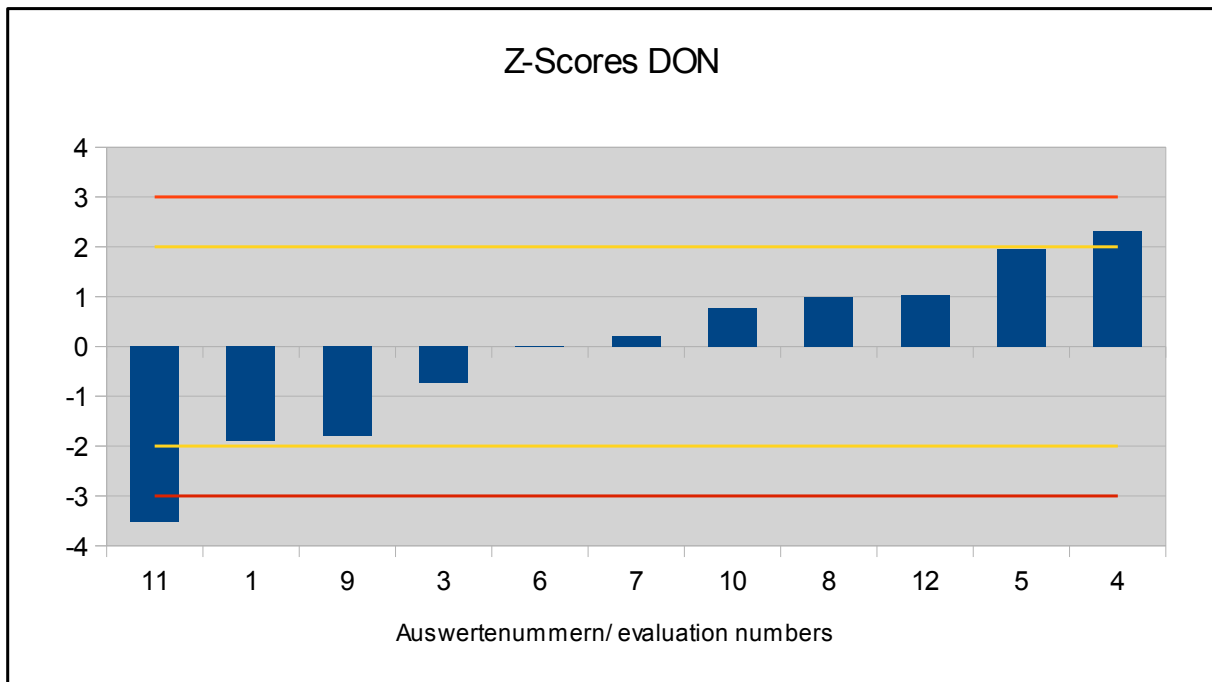


Abb. 2: Z-Scores DON

Fig. 2: Z-Scores DON

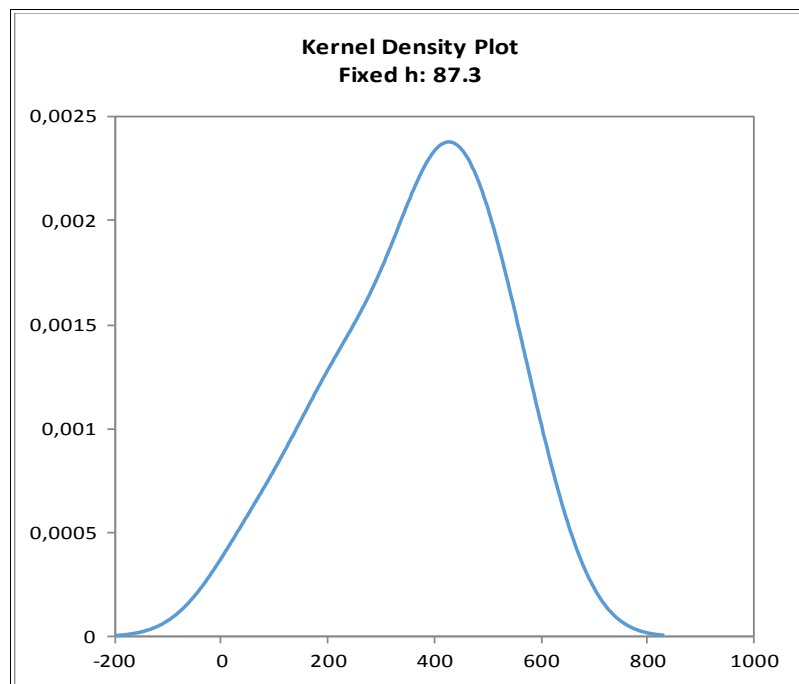


Abb. 3: Kern Dichte Plot aller DON-Ergebnisse mit $h = \text{ASU Zielstandardabweichung } (87,3 \mu\text{g/kg})$

Fig. 3: Kernel density plot of all DON results with $h = \text{ASU target standard deviation } (87.3 \mu\text{g/kg})$

4.2 Zearalenon (ZEA) in $\mu\text{g}/\text{kg}$

Kenndaten	
Anzahl der Messergebnisse	8
Anzahl der Ausreißer	1
Mittelwert	123
Median	15,5
Robuster Mittelwert (\bar{X})	16,7
Robuste Standardabweichung (S^*)	9,53
Wiederholstandardabweichung (S_r)	4,42
Vergleichsstandardabweichung (S_R)	10,4
Zielkenndaten:	
Zielstandardabweichung Horwitz/Thompson ($\hat{\sigma}$)	3,68
Zielstandardabweichung nach Horwitz (zur Information)	4,95
Untere Grenze des Zielbereichs	
Obere Grenze des Zielbereichs	
Variationskoeffizient (V_R) in %	61,9
Quotient $S^*/\hat{\sigma}$	2,6
Standardunsicherheit u_x	4,2
Quotient $u_x/\hat{\sigma}$	1,14
Ergebnisse im Zielbereich	
Prozent im Zielbereich	

Anmerkungen zu den Kenndaten:

Die Zielstandardabweichung wurde nach Horwitz/Thompson berechnet.

Die Auswertungen der Ergebnisse zeigten eine erhöhte Variabilität der Ergebnisse. Der Quotient $S^*/\hat{\sigma}$ lag deutlich über 2,0, insbesondere da nur relativ wenige Ergebnisse vorliegen und die Untersuchungen mit unterschiedlichen Methoden (HPLC, LC-MS, ELISA) durchgeführt wurden. Der Quotient $u_x/\hat{\sigma}$ liegt mit 1,14 ebenfalls deutlich über 0,3. Die Vergleichbarkeit der Ergebnisse ist daher nicht gegeben.

Für die Ergebnisse von Zearalenon wurde eine bimodale Verteilung festgestellt (siehe Abb. 5), als Ursache ist möglich, dass als Methoden neben dem ASU/ HPLC-Verfahren auch ELISA-Methoden eingesetzt wurden. Die ELISA-Ergebnisse lagen alle unter $10 \mu\text{g}/\text{kg}$, die HPLC-Ergebnisse lagen im schnitt deutlich über $20 \mu\text{g}/\text{kg}$. **Aus den Zearalenon-Werten der Getreide-Anteile errechnete sich ein Zearalenon-Gehalt für das Untersuchungsmaterial von $20,4 \mu\text{g}/\text{kg}$.**

Die robuste Standardabweichung liegt im Bereich von etablierten Werten für die Vergleichsstandardabweichung der eingesetzten Bestimmungsmethoden.

Der erhöhte Variationskoeffizient (V_K) von 62 hat seine Ursache in der kleinen Zahl an Ergebnissen und der unterschiedlichen Methoden.

Auf Grund der kleinen Zahl der Ergebnisse (< 10) und der bimodalen Verteilung wird auf eine Bewertung der Ergebnisse verzichtet.

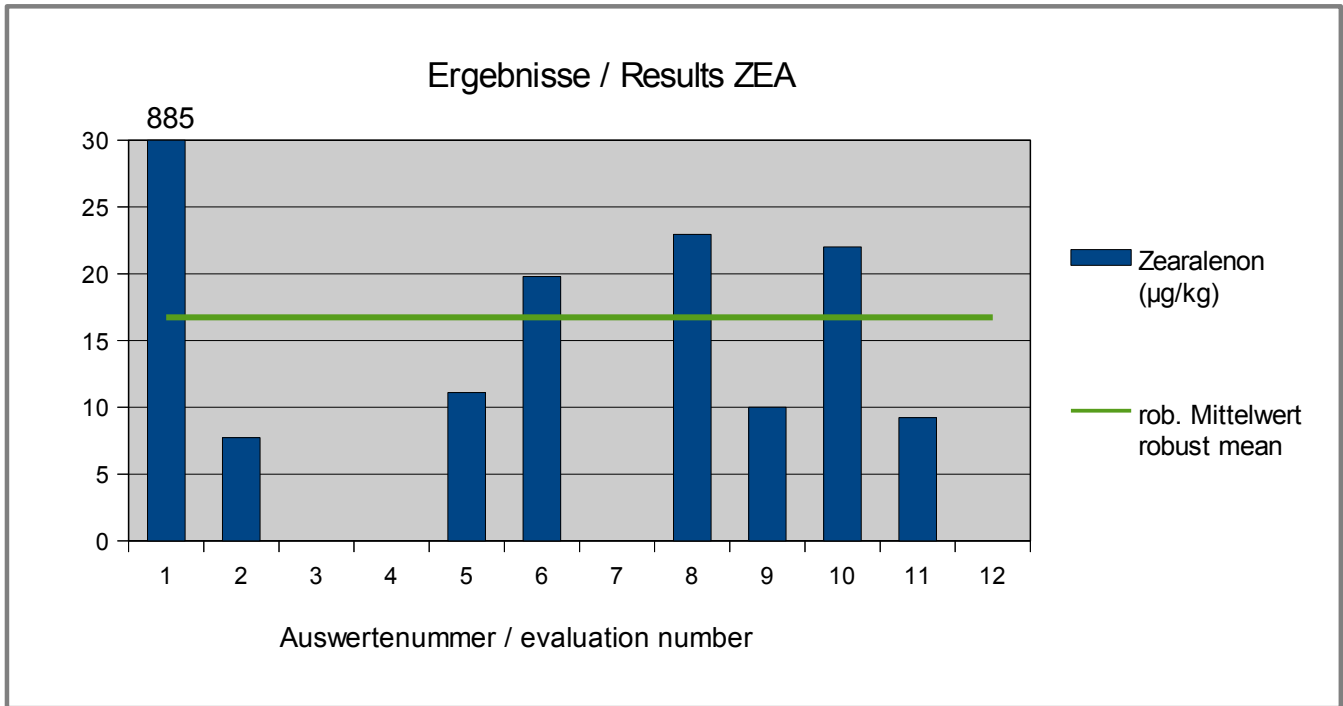


Abb. 4: Ergebnisse ZEA

Fig. 4: Results ZEA

Ergebnisse der teilnehmenden Institute:

Results of Participants:

Auswertenummer Evaluation number	Zearalenon (µg/kg)	Abweichung [µg/kg] Deviation [µg/kg]	z-Score $\hat{\sigma}$	z-Score (Info)	Hinweis Remark
1	885	868			
2	7,72*	-9,01			
3					
4					
5	11,1	-5,63			
6	19,8	3,07			
7					
8	23,0	6,22			
9	10,0	-6,73			
10	22,0	5,27			
11	9,24	-7,49			
12	< 10				

* Mittelwert durch DLA berechnet.

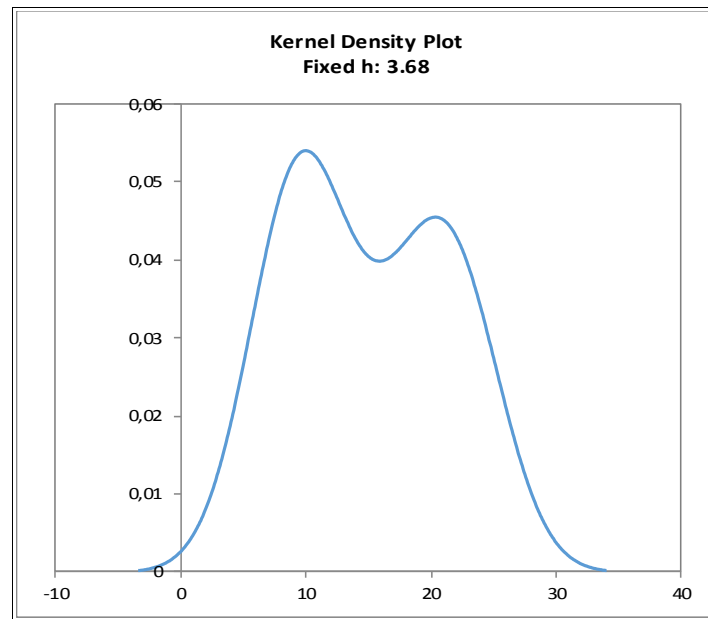


Abb. 5: Kern Dichte Plot aller ZEA-Ergebnisse mit $h =$ Horwitz/Thompson Zielstandardabweichung (3,68 $\mu\text{g}/\text{kg}$)

Fig. 5: Kernel density plot of all ZEA results with $h =$ Horwitz/Thompson target standard deviation (3,86 $\mu\text{g}/\text{kg}$)

5. Dokumentation

5.1 Primärdaten

5.1.1 DON

Teilnehmer/ participant	Ergebnis/ result	DLA-Nr Probe A/ sample A	DLA-Nr Probe B/ sample B	Ergebnis Probe A/ result sample A	Ergebnis Probe B/ result sample B	Wiederfind ungsrate/ recovery
	µg/kg			µg/kg	µg/kg	in %
1	201,5	31	49	213	190	80
2						
3	303			306	301	90
4	570	17	50	500	650	ohne
5	538	1	20	528	548	95
6	367	9	18	378	356	86
7	385	4	56	380	390	100
8	453	38	60	472	434	90
9	210	29	47	209	210	90
10	434	12	37	460	409	84
11	60,325	14	53	59,3	61,35	ohne
12	458	16	32	458	n.a.	74,45

5.1.2 ZEA

Teilnehmer/ participant	Ergebnis/ result	DLA-Nr Probe A/ sample A	DLA-Nr Probe B/ sample B	Ergebnis Probe A/ result sample A	Ergebnis Probe b/ result sample B	Wiederfind ungsrate/ recovery
	µg/kg			µg/kg	µg/kg	in %
1	884,5	31	49	950	819	80
2	7,72*	6	23	5,59	9,85	93,2
3						
4						
5	11,1	1	20	11,2	11	98
6	19,8	9	18	19	20,6	94
7						
8	22,95	38	60	19,2	26,65	104
9	10	29	47	14	10,7	90
10	22	12	37	19	26	96
11	9,235	14	53	9,6	8,87	ohne
12	< 10	16	32	< 10	n.a.	74,23

* Mittelwert durch DLA berechnet.

5.2 Homogenität**5.2.1 Homogenitätsuntersuchung vor der LVU**

Der Gehalt an Deoxynivalenol (DON) wurde als Parameter für die Homogenität in einer 5-fach Bestimmung mittels HPLC bestimmt.

Probe	DON		
1	354	µg/kg	
2	374	µg/kg	
3	415	µg/kg	
4	348	µg/kg	
5	417	µg/kg	
Mittelwert	382	µg/kg	
Standardabw.	32,9		8,6%

5.2.2 Wiederholstandardabweichung der Doppelbestimmungen der Teilnehmer

Die Wiederholstandardabweichung wurde aus den Daten wie unter 5.1 dokumentiert berechnet, siehe auch unter Kenndaten 4.1 .
Sie beträgt 55,9 µg/kg = 15,1 % von X (DON).

In der ASU L15.00-9 wurden für Getreide relative Wiederholstandardabweichungen in vergleichbarer Größenordnung bestimmt (16).

5.2.3 Gegenüberstellung der aufsteigenden Probennummern und der betreffenden Einzel-Messwerte

Aus der Gegenüberstellung der aufsteigenden Probennummern und der gemessenen DON-Konzentrationen (:10) lässt sich die Homogenität des Untersuchungsmaterials erkennen.

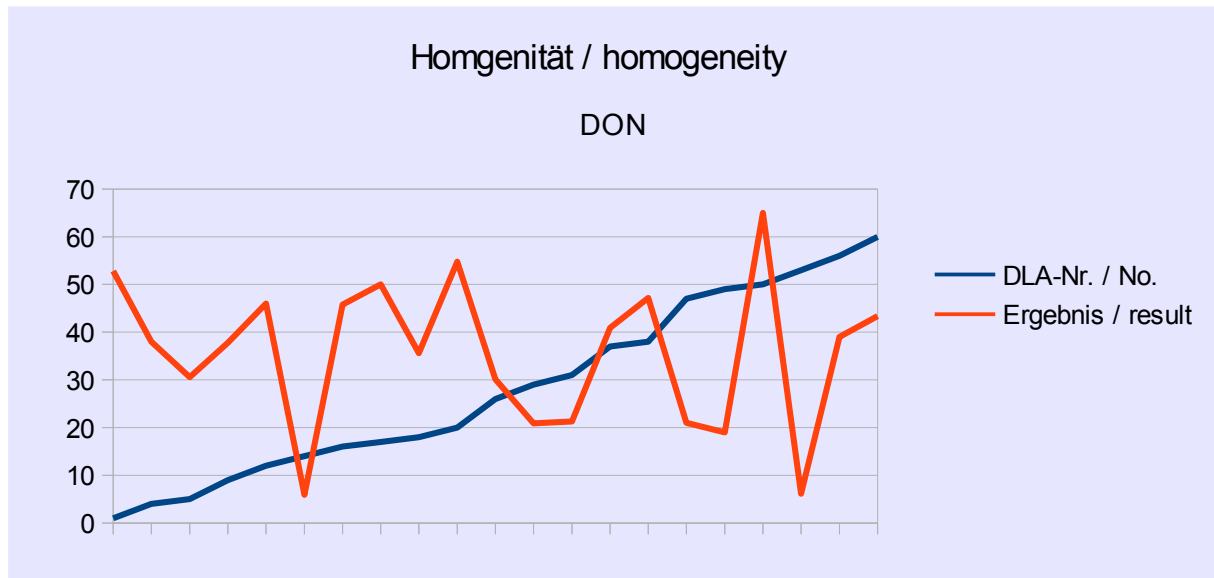


Abb. 6: Gegenüberstellung Probennummern/ DON-Ergebnisse (:10)
Fig. 6: Comparison of sample number/ DON result (:10)

5.3 Analytische Methoden

Angaben der Teilnehmer

5.3.1 DON

Teilnehmer/ participant	Methode/ method	Wiederfindung mit gleicher Matrix/ recovery with the same matrix	Akkreditie rt/accrede ded	Sonstige Hinweise/ remarks
		ja / nein	ja / nein	
1	Hausmethode, SAA L006-70	ja	ja	
2	Hausmethode	ja	nein	HPLC defekt, daher keine Angabe
3	HPLC-MS/MS	ja	ja	
4	ELSA		ja	R-Biopharm
5	LC-MS/MS	nein	nein	
6	Amtl. Sammlung §64 LFGB 0034	ja	ja	
7	Chemische Untersuchung auf Deoxynivalenol (PV 3782), Automatisierte Reinigung an IAC und Messung am LC-MS/MS	ja (mit ähnlicher Matrix Getreide)	ja	Probe wurde nur auf Deoxynivalenol untersucht
8	DIN EN 15891 (§64 LFGB L15.00-09) Extraktion mit Wasser, Aufreinigung über IAC, Detektion mittels HPLC-DAD	ja	ja	
9	ELISA der Fa. R-biopharm	ja	ja	
10		ja	ja	
11	r-biopharm Ridascreen FAST DON (ELISA)		ja	
12	Bestimmung von Deoxynivalenol mittels ELISA	ja	ja	

IAC = Immuno Affinitäts Säule

5.3.2 ZEA

Teilnehmer/ participants	Methode/ method	Wiederfindung mit gleicher Matrix/ recovery with the same matrix	Akkreditiert / accredited	Sonstige Hinweise/ remarks
		ja / nein	ja / nein	
1	ASU L15.01/02-2	ja	ja	
2	DIN 15792	ja	nein	
3				
4				
5	LC-MS/MS	nein	nein	
6	HPLC-Verfahren mit Reinigung an einer Immunoaffinitätsäule VDLUFA Methodenbuch III 16.9.2	ja	ja	
7				Probe wurde nicht auf Zearalenon untersucht
8	\$64 LFGB L15.01/02-2 Extraktion mit ACN/Wasser (75:25) Aufreinigung über IAC Detektion mittels HPLC-FLD	ja	ja	
9	ELISA der Fa. R-biopharm	ja	ja	
10		ja	nein	
11	r-biopharm Ridascreen FAST ZEA SC (ELISA)		ja	
12	Bestimmung von Zearalenon mittels ELISA	ja	ja	< Nachweisgrenze

IAC = Immuno Affinitäts Säule

6. Verzeichnis der teilnehmenden Institute in alphabetischer Reihenfolge

Teilnehmer/ participant	Ort/ town	Land/ country
		Deutschland
		Deutschland
		Deutschland
		Deutschland
		Deutschland
		Deutschland
		Deutschland
		Deutschland
		Deutschland
		Deutschland
		Deutschland
		Deutschland

[Die Adressdaten der Teilnehmer wurden für die allgemeine Veröffentlichung des Auswertebereichs nicht angegeben.]

[The address data of the participants were deleted for publication of the evaluation report.]

7. Verzeichnis relevanter Literatur

1. DIN EN ISO/IEC 17043:2010; Konformitätsbewertung - Allgemeine Anforderungen an Eignungsprüfungen / Conformity assessment - General requirements for proficiency testing
2. Verordnung / Regulation 882/2004/EU; Verordnung über amtliche Kontrollen / Regulation on official controls
3. DIN EN ISO/IEC 17025:2005; Allgemeine Anforderungen an die Kompetenz von Prüf- und Kalibrierlaboratorien / General requirements for the competence of testing and calibration laboratories
4. Richtlinie / Directive 1993/99/EU; über zusätzliche Maßnahmen im Bereich der amtlichen Lebensmittelüberwachung / on additional measures concerning the official control of foodstuffs
5. ASU §64 LFGB : Planung und statistische Auswertung von Ringversuchen zur Methodvalidierung
6. DIN ISO 13528:2009; Statistische Verfahren für Eignungsprüfungen durch Ringversuche / Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons
7. The International Harmonised Protocol for the Proficiency Testing of Analytical Laboratories ; J.AOAC Int., 76(4), 926 - 940 (1993)
8. The International Harmonised Protocol for the Proficiency Testing of Analytical Chemistry Laboratories ; Pure Appl Chem, 78, 145 - 196 (2006)
9. Evaluation of analytical methods used for regulation of food and drugs; W. Horwitz; Analytical Chemistry, 54, 67-76 (1982)
10. A Horwitz-like funktion describes precision in proficiency test; M. Thompson, P.J. Lowthian; Analyst, 120, 271-272 (1995)
11. Protocol for the design, conduct and interpretation of method performance studies; W. Horwitz; Pure & Applied Chemistry, 67, 331-343 (1995)
12. Recent trends in inter-laboratory precision at ppb and sub-ppb concentrations in relation to fitness-for-purpose criteria in proficiency testing; M. Thompson; Analyst, 125, 385-386 (2000)
13. EG-VO 401-2006 zur Festlegung der Probenahmeverfahren und Analysemethoden für die amtliche Kontrolle des Mykotoxingehalts von Lebensmitteln
14. EU-VO 519/2014 zur Änderung der Verordnung (EG) Nr. 401/2006 hinsichtlich der Probenahmeverfahren für große Partien, Gewürze und Nahrungsergänzungsmittel, der Leistungskriterien für die Bestimmung von T-2-Toxin, HT-2-Toxin und Citrinin sowie der Screening-Methoden für die Analyse (v. 16. Mai 2014)
15. AMC Kernel Density - Representing data distributions with kernel density estimates, amc technical brief, Editor M Thompson, Analytical Methods Committee, AMCTB No 4, Revised March 2006 and Excel Add-in Kernel.xla 1.0e by Royal Society of Chemistry
16. ASU §64 LFGB L 15.00-9; Bestimmung von Deoxynivalenol in Getreide, Getreideerzeugnissen und Säuglings- und Kleinkindernahrung auf Getreidebasis (Februar 2014)
17. ASU §64 LFGB L 15.01/02-2: Bestimmung von Zearalenon in Weizen und Roggen (Dezember 2006)
18. ASU §64 LFGB L 16.01-8: Bestimmung von Zearalenon in Gerstenmehl, Maismehl und Weizenmehl (Januar 2011)
19. ASU §64 LFGB L 16.02-1: Bestimmung von Zearalenon in Maisgrieß (Januar 2011)
20. ASU §64 LFGB L 48.02-3: Bestimmung von Zearalenon in Säuglings- und Kleinkindernahrung (Januar 2011)
21. EURACHEM/CITAC Leitfaden, *Ermittlung der Messunsicherheit bei analytischen Messungen* (2003); *Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement* (1999)

DLA 20/2016 - DON und Zearalenon in Getreide

Von den 12 Teilnehmern haben alle mindestens ein Ergebnis eingereicht. Die Auswertung erfolgte hinsichtlich der Parameter Deoxynivalenol (DON) und Zearalenon (ZEA). Für DON lagen von 11 teilnehmenden Instituten 9 (82%) und für ZEA lagen nur von 8 teilnehmenden Instituten Ergebnisse vor. Für die ZEA-Ergebnisse wurde eine bimodale Verteilung festgestellt. Auf Grund der geringen Teilnehmerzahl und der bimodalen Verteilung wurde auf eine Bewertung der Einzel-Ergebnisse für Zearalenon verzichtet. Alle Teilnehmer haben ihren Sitz in Deutschland.