

Proficiency Tests

DLA

food
cosmetics
consumer goods
www.dla-lvu.de

Auswertungs-Bericht

Laborvergleichsuntersuchung

DLA 28/2016

Cumarin in Zimtpulver

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

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

Koordinator der LVU:
Dr. Matthias Besler

Allgemeine Informationen zur Eignungsprüfung (EP)
General Information on the proficiency test (PT)

<i>EP-Anbieter</i> <i>PT-Provider</i>	DLA - Dienstleistung Lebensmittel Analytik GbR Gesellschafter: Dr. Gerhard Wichmann und Dr. Matthias Besler Waldemar-Bonsels-Weg 170, 22926 Ahrensburg, Germany Tel. ++49(0)171-1954375 Fax. ++49(0)4102-9944976 eMail. proficiency-testing@dla-lvu.de
<i>EP-Nummer</i> <i>PT-Number</i>	DLA 28/2016
<i>EP-Koordinator</i> <i>PT-Coordinator</i>	Dr. Matthias Besler
<i>Status des EP-Bericht</i> <i>Status of PT-Report</i>	Abschlussbericht / Final report (9. März 2017) Gültig ist die jeweils letzte Version/Korrektur des Berichts. Sie ersetzt alle vorangegangenen Versionen. Only the latest version/correction of the report is valid. It replaces all preceding versions.
<i>EP-Bericht Freigabe</i> <i>PT-Report Authorization</i>	Dr. Matthias Besler (Technischer Leiter / Technical Manager) - <i>gezeichnet / signed M. Besler</i> Dr. Gerhard Wichmann (QM-Beauftragter / Quality Manager) - <i>gezeichnet / signed G. Wichmann</i> Datum / Date: 9. März 2017
<i>Unteraufträge</i> <i>Subcontractors</i>	Die Prüfung der Gehalte, Homogenität und Stabilität von EP-Parametern wird von DLA im Unterauftrag vergeben. The analysis of the content, homogeneity and stability of PT-parameters are subcontracted by DLA.

Inhalt

1. Einleitung.....	4
2. Durchführung.....	4
2.1 Untersuchungsmaterial.....	4
2.1.1 Homogenität.....	5
2.1.2 Stabilität.....	5
2.2 Probenversand und Informationen zur Untersuchung.....	6
2.3 Ergebnisübermittlung.....	6
3. Auswertung.....	7
3.1 Konsenswert der Teilnehmer (zugewiesener Wert).....	7
3.2 Robuste Standardabweichung.....	7
3.3 Wiederholstandardabweichung.....	7
3.4 Vergleichsstandardabweichung.....	8
3.5 Ausschluss von Ergebnissen und Ausreißer.....	8
3.6 Zielstandardabweichung (für die Eignungsbeurteilung).....	9
3.6.1 Allgemeines Modell nach Horwitz.....	9
3.6.2 Auswertung eines Versuchs zur Präzision.....	10
3.6.3 Werte aus Erkenntnissen.....	11
3.7 z-Score.....	11
3.8 z'-Score.....	12
3.9 Variationskoeffizient (VKR).....	13
3.10 Quotient S^*/opt	13
3.11 Standardunsicherheit.....	13
4. Ergebnisse.....	14
4.1 Cumarin in mg/kg.....	15
5. Dokumentation.....	18
5.1 Angaben der Teilnehmer.....	18
5.1.1 Primärdaten.....	18
5.1.2 Analytische Methoden.....	19
5.2 Homogenität.....	20
5.2.1 Mischungshomogenität vor der Abfüllung.....	20
5.2.2 Trendlinienfunktion der Teilnehmerergebnisse.....	21
6. Verzeichnis der Teilnehmer in alphabetischer Reihenfolge.....	22
7. Verzeichnis relevanter Literatur.....	23

1. Einleitung

Die Teilnahme an Laborvergleichsuntersuchungen (LVU) bzw. Eignungsprüfungen (PT) ist ein unverzichtbares Element für das Qualitäts-Management-System eines jeden, mit der Untersuchung von Lebensmitteln, Futtermitteln, kosmetischen Mitteln und Bedarfsgegenständen befassten Labors. Die Durchführung von Laborvergleichsuntersuchungen ermöglicht den teilnehmenden Laboren die eigene analytische Kompetenz unter realen Bedingungen nachzuweisen. Gleichzeitig erhalten sie wertvolle Daten für die erforderliche Verifizierung oder Validierung der durchgeführten Untersuchungsmethode [1, 5].

Das Ziel von DLA ist es, LVU für ausgesuchte Parameter in praxisrelevanten 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 bzw. ISO 13528-2015 [2, 3].

2. Durchführung

2.1 Untersuchungsmaterial

Bei dem Untersuchungsmaterial handelt es sich um ein handelsübliches Zimtpulver „Ceylon-Zimt“ eines europäischen Anbieters aus einer Herstellungsladung (s. Tabelle 1).

Die Rohstoffpackungen wurden zusammen gegeben und maschinell homogenisiert. Die Homogenität der Mischung wurde mittels Microtracer-Analyse sichergestellt. Gehaltsbestimmungen von Cumarin wurden in Voruntersuchungen durchgeführt.

Anschließend wurden die Proben zu Portionen von ca. 50 g in metallisierte PET-Folienbeutel abgefüllt und chronologisch nummeriert.

Tabelle 1: Zusammensetzung der DLA-Proben

LVU-Probe Probenbezeichnung / Name
Ceylon-Zimt <u>Zutaten:</u> Zimtpulver

Hinweis: Die metrologische Rückführung von Temperatur, Masse und Volumen bei der Herstellung der LVU-Proben wird mittels DAkks-kalibrierter Referenzmaterialien gewährleistet.

2.1.1 Homogenität

Die **Mischungshomogenität vor der Abfüllung** wurde in 8-fach Bestimmung mittels **Microtracer-Analyse** untersucht. Es handelt sich um eine normierte Methode, die Bestandteil des internationalen GMP-Zertifizierungssystems für Futtermittel ist [14]. Vor der Mischung werden mit Farbstoff beschichtete Eisenpartikel in μm -Größe zur Probe gegeben und die Partikelzahl wird nach der Homogenisierung in entnommenen Aliquoten bestimmt. Die Bewertung der Mischungshomogenität erfolgt auf Grundlage der Poissonverteilung anhand des chi-Quadrat-Tests. Eine Wahrscheinlichkeit von $\geq 5\%$ ist gleichzusetzen mit einer guten homogenen Mischung und von $\geq 25\%$ mit einer exzellenten Mischung [14, 15]. Die Microtracer-Analyse der vorliegenden LVU-Probe hat eine Wahrscheinlichkeit von 32% ergeben. Die Partikel-Ergebnisse wurden zusätzlich in Konzentrationen umgerechnet, statistisch als Normalverteilung ausgewertet und mit der Standardabweichung nach Horwitz verglichen. Es wurde ein HorRat-Wert von 1,4 erhalten. Die Ergebnisse der Microtracer-Analyse sind in der Dokumentation angegeben.

Die Berechnung der **Wiederholstandardabweichung S_r der Doppelbestimmungen der Teilnehmer** wurde ebenfalls als Homogenitätskriterium für diese LVU herangezogen. Sie liegt für Cumarin bei 3,2%. Die Wiederholstandardabweichung ist somit vergleichbar mit den Präzisionsdaten der betreffenden genormten Methode (ASU L 00.00-134, s. 3.6.2) (vgl. Tab. 3) [16]. Die Wiederholstandardabweichung der Teilnehmer ist bei den statistischen Kennzahlen angegeben (4.1).

Desweiteren wurde die Homogenität anhand der **Trendlinien-Funktion der Teilnehmerergebnisse für die chronologisch abgefüllten Einzel-Proben** charakterisiert. Die maximalen Abweichungen der Trendlinie vom Mittelwert lagen für Cumarin im Bereich von 50% der Zielstandardabweichung σ_{pt} (s. 5.2 Homogenität) und sind damit als erhöht einzustufen. Als Grund hierfür kommt die ungleiche Verteilung der DLA-Probennummern vom Mittelpunkt der Trendlinie in Frage, da die Wiederholstandardabweichung der Teilnehmer niedrig ist, während gleichzeitig die Vergleichsstandardabweichung der Teilnehmer erhöht ist.

Falls die Kriterien für eine ausreichende Homogenität des Probenmaterials bezüglich eines Parameters nicht erfüllt sind, werden die Auswirkungen auf die Zielstandardabweichung geprüft und ggf. erfolgt die Bewertung der Ergebnisse der Teilnehmer mittels z'-Score unter Berücksichtigung der Standardunsicherheit des zugewiesenen Wertes (s. 3.8 und 3.11) [3].

2.1.2 Stabilität

Die Erfahrungen mit diversen DLA-Referenzmaterialien zeigen bei vergleichbarer Matrix und Wasseraktivität (a_w -Wert $< 0,5$) eine gute Lagerstabilität bezüglich der Haltbarkeit der Probe (mikrobieller Verderb) und des Gehalts an dem EP-Parameter Cumarin. Die Stabilität des Probenmaterials war somit während des Untersuchungszeitraums unter den angegebenen Lagerbedingungen gewährleistet.

2.2 Probenversand und Informationen zur Untersuchung

An jeden Teilnehmer wurden in der 45. Kalenderwoche 2016 zwei Portionen des Untersuchungsmaterials verschickt. Die Untersuchungsverfahren wurden freigestellt. Die Untersuchungen waren durchzuführen bis spätestens 23. Dezember 2016.

Mit dem Proben-Anschreiben wurden den Teilnehmern u.a. nachstehende Informationen mitgeteilt:

Bei den beiden Mustern handelt es sich um zwei gleiche Proben Ceylon-Zimtpulver mit einem natürlichen Gehalt an Cumarin. Zur Bestimmung von Cumarin kann jede geeignete Methode eingesetzt werden.

Generell empfehlen wir vor der Analyse, insbesondere bei kleinen Analyseneinwaagen, eine repräsentative Probenmenge entsprechend guter Laborpraxis zu homogenisieren.

Proben nach Ankunft bitte kühl lagern (2-10°C)!

2.3 Ergebnisübermittlung

Die Ergebnisabgabe erfolgte einheitlich mittels an die teilnehmenden Labore übergebenen Übermittlungstabellen (per eMail).

Zur statistischen Auswertung kamen die abschließend als Mittelwert der 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, Angaben zur Wiederfindung und Stichpunkte zur durchgeführten Methode.

Falls Teilnehmer mehrere Ergebnisse für denselben Parameter abgegeben haben, die mit unterschiedlichen Methoden erhalten wurden, wurden diese Ergebnisse mit derselben Auswertenummer mit einem Buchstaben als Suffix unter Angabe der jeweiligen Methode ausgewertet.

Von 21 Teilnehmern haben 20 Ergebnisse abgegeben, davon ein Teilnehmer verspätet.

3. Auswertung

3.1 Konsenswert der Teilnehmer (zugewiesener Wert)

Für die Auswertung wurde als zugewiesener Wert (X_{pt}) der robuste Mittelwert der eingesandten Ergebnisse verwendet („Konsenswert der Teilnehmer“). Die Berechnung erfolgt nach Algorithmus A gemäß Anhang C der ISO 13528 [3].

Voraussetzung ist, dass die Mehrzahl der Ergebnisse der teilnehmenden Laboratorien einer Normalverteilung unterliegen bzw. unimodal und symmetrisch verteilt sind. Hierzu erfolgt eine Prüfung der Verteilung u.a. anhand der Kern-Dichte-Schätzung [3, 12].

Falls Hinweise für Quellen von höherer Variabilität, wie z.B. eine bimodale Verteilung der Ergebnisse, vorliegen, werden Ursachen dafür gesucht. In Frage kommt häufig die Verwendung unterschiedlicher Untersuchungsmethoden. Ist dies der Fall, werden nach Möglichkeit getrennte Auswertungen mit eigenen zugewiesenen Werten (X_{pti}) vorgenommen.

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 [3].

3.2 Robuste Standardabweichung

Zum Vergleich mit der Zielstandardabweichung σ_{pt} (Standardabweichung für die Eignungsbeurteilung) wird die robuste Standardabweichung (S^*) der eingesandten Ergebnisse verwendet. Die Berechnung erfolgt nach Algorithmus A gemäß Anhang C der ISO 13528 [3].

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 [3] und wird von DLA als Hinweis für die Homogenität des Untersuchungsmaterials herangezogen.

Sofern die Einzelergebnisse der Teilnehmer vorliegen, erfolgt die Berechnung der Wiederholstandardabweichung S_r , auch als Standardabweichung innerhalb der Laboratorien S_w bezeichnet, nach: [3, 4].

Die relative Wiederholstandardabweichung in Prozent des Mittelwerts ist als Variationskoeffizient VK_r bei den statistischen Kenndaten im Ergebnisteil mit angegeben, sofern die Einzelergebnisse der Teilnehmer vorliegen.

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 Vergleichsstandardabweichungen von RVs abweichen, da die beteiligten Laboratorien bei LVUs i.d.R. unterschiedliche interne Bedingungen und Methoden zur Bestimmung der Messwerte benutzen. In der vorliegenden Auswertung bezieht sich die Angabe der Vergleichsstandardabweichung daher nicht auf eine spezifische Messmethode, sondern charakterisiert annähernd die Vergleichbarkeit der Ergebnisse der Laboratorien untereinander. Vorausgesetzt der Einfluss von Homogenität und Stabilität des Probenmaterials sind zu vernachlässigen.

Sofern die Einzelergebnisse der Teilnehmer vorliegen, erfolgt die Berechnung der Vergleichsstandabweichung S_R nach: [3, 4].

Die relative Vergleichsstandardabweichung in Prozent des Mittelwerts ist als Variationskoeffizient VK_R bei den statistischen Kenndaten im Ergebnisteil mit angegeben, sofern die Einzelergebnisse der Teilnehmer vorliegen, und die Bedeutung unter 3.9 näher erläutert.

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 [2]. Auch wenn ein Ergebnis z.B. mit einem Faktor >10 deutlich vom Mittelwert abweicht und einen Einfluss auf die robuste Statistik hat, kann ein Ergebnis von der statistischen Auswertung ausgeschlossen werden [3].

Alle Ergebnisse sollen mit mindestens 2 signifikanten Stellen (gültige Ziffern) angegeben werden. Die Angabe von 3 Stellen ist i.d.R. ausreichend.

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 [3, 12].

Auf Ausreißer wird mittels robuster Statistik geprüft: Ergebnisse, die um mehr als das Dreifache der robusten Standardabweichung vom robusten Mittelwert abweichen, werden als Ausreißer eingestuft [3]. 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].

3.6 Zielstandardabweichung (für die Eignungsbeurteilung)

Die Zielstandardabweichung des zugewiesenen Wertes σ_{pt} (= Standardabweichung für die Eignungsbeurteilung) kann nach unten dargestellten, unterschiedlichen Verfahren bestimmt werden.

Sofern ein akzeptabler Quotient S^*/σ_{pt} vorliegt, wird für die Eignungsbeurteilung bevorzugt die Zielstandardabweichung des allgemeinen Modells nach Horwitz verwendet, da diese in der Regel für Auswertungen von Laborvergleichsuntersuchungen, bei denen von den Teilnehmern unterschiedliche Analysemethoden eingesetzt werden, geeignet ist. Die Zielstandardabweichung aus der Auswertung von Präzisionsdaten eines Versuchs leitet sich dagegen aus Ringversuchen mit vorgegebener Analysemethode ab.

In Fällen, in denen beide o.g. Modelle ungeeignet sind, wird die Zielstandardabweichung anhand von Werten aus Erkenntnissen nach 3.6.3 ermittelt.

Zur Information werden, sofern verfügbar, jeweils die z-Scores beider Modelle in der Auswertung angegeben.

Zur Bewertung der Ergebnisse für Cumarin wurde die Zielstandardabweichung der Auswertung eines Versuchs zur Präzision (s. 3.6.2) verwendet (ASU §64 Methoden: L 00.00-134).

3.6.1 Allgemeines Modell nach Horwitz

Anhand der in zahlreichen LVUs für unterschiedliche Parameter und Analysemethoden erhaltenen statistischen Kenndaten hat Horwitz ein allgemeines Modell für die Schätzung der Vergleichsstandardabweichung σ_R abgeleitet [6]. Später wurde das Modell von Thompson für bestimmte Konzentrationsbereiche modifiziert [10]. Die Vergleichsstandardabweichung σ_R kann als relative Zielstandardabweichung σ_{pt} in % des zugewiesenen Wertes verwendet werden und nach untenstehenden Gleichungen berechnet werden [3]. Dabei wird für die Konzentration c der zugewiesene Wert X_{pt} eingesetzt.

Gleichungen	Konzentrationsbereiche	entspricht
$\sigma_R = 0,22c$	$c < 1,2 \times 10^{-7}$	$< 120 \mu\text{g/kg}$
$\sigma_R = 0,02c^{0,8495}$	$1,2 \times 10^{-7} \leq c \leq 0,138$	$\geq 120 \mu\text{g/kg}$
$\sigma_R = 0,01c^{0,5}$	$c > 0,138$	$> 13,8 \text{ g/100g}$

mit c = Massenanteil des Analyten (als relative Größe, z.B. $1 \text{ mg/kg} = 1 \text{ ppm} = 10^{-6} \text{ kg/kg}$)

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) kann unter Berücksichtigung der Anzahl der Wiederholmessungen m der Teilnehmer in der vorliegenden Vergleichsuntersuchung die Zielstandardabweichung σ_{pt} abgeleitet werden [3]:

$$\sigma_{pt} = \sqrt{\sigma_R^2 - \sigma_r^2 (m-1/m)}$$

Die in Tabelle 3 angegebenen relativen Wiederholstandardabweichungen (RSD_r) und relativen Vergleichsstandardabweichungen (RSD_R) wurden in Ringversuchen mittels der angegebenen Methoden ermittelt.

Die dort gekennzeichneten resultierenden Zielstandardabweichungen σ_{pt} wurden zur Bewertung der Ergebnisse herangezogen.

Tabelle 3: Relative Wiederholstandardabweichungen (RSD_r) und relative Vergleichsstandardabweichungen (RSD_R) gemäß ausgewählter Auswertungen von Versuchen zur Präzision und die resultierende Zielstandardabweichung σ_{pt} [16]

Parameter	Matrix	Mittelwerte	RSD_r	RSD_R	σ_{pt}	Methode / Literatur
Cumarin	Zimtpulver	2682,10 mg/kg	1,54%	12,8%	12,7%	HPLC-DAD externe Kalibrierung / ASU L00.00-134
Cumarin	Zimtstern	51,02 mg/kg	4,14%	8,57%	8,06%	HPLC-DAD externe Kalibrierung / ASU L00.00-134
Cumarin	Zimtpulver	2561,4 mg/kg	1,25%	2,76%	2,62%	HPLC-DAD interner Standard / ASU L00.00-134
Cumarin	Zimtsterne	45,60 mg/kg	2,12%	9,06%	8,94%	HPLC-DAD interner Standard / ASU L00.00-134
Cumarin	Zimtpulver	6,09 mg/kg	3,39%	15,0%	14,8% ¹	HPLC-MS/MS / ASU L00.00-134

¹ in der Auswertung (s. Abschnitt 4) verwendete Werte

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 [3].

In der vorliegenden LVU wurde die Zielstandardabweichung gemäß 3.6.2 als geeignet angesehen.

Tabelle 4 zeigt ausgewählte Kenndaten der Teilnehmer-Ergebnisse der vorliegenden LVU im Vergleich zu LVU Ergebnissen der Vorjahre.

3.7 z-Score

Der z-Score wird herangezogen zur Beurteilung der Ergebnisse der teilnehmenden Labore. Er besagt um welches Vielfache der Zielstandardabweichung (σ_{pt}) das Ergebnis (x_i) des betreffenden Teilnehmers vom zugewiesenen Wert (x_{pt}) abweicht [3].

Die Berechnung erfolgt nach:

$$z_i = \frac{(x_i - x_{pt})}{\sigma_{pt}}$$

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

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

Der für die Eignungsprüfung gültige z-Score wird in der Auswertung mit z-Score (σ_{pt}) bezeichnet, während der als z-Score (Info) bezeichnete Wert rein informativen Charakter hat. Die beiden z-Scores werden mit den unterschiedlichen Zielstandardabweichungen nach 3.6 berechnet.

3.7.1 Warn- und Eingriffssignale

Gemäß der ISO 13528 für statistische Verfahren für Eignungsprüfungen wird empfohlen, dass ein Ergebnis, das einen z-Wert $> 3,0$ oder $< - 3,0$ ergibt, als „Eingriffssignal“ zu werten ist [3]. Gleichermäßen 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. Eine Fehler- bzw. Ursachenanalyse kann durch Prüfung des Analysenablaufs inkl. Verständnis und Umsetzung der Messung durch das Personal, Einzelheiten des Messablaufs, Kalibrierung von Geräten und Zusammensetzung von Reagenzien, Übertragungs- bzw. Berechnungsfehler, Richtigkeit und Präzision sowie Einsatz von Referenzmaterial durchgeführt werden. Falls notwendig, muss auf die Probleme durch angemessene Korrekturmaßnahmen reagiert werden [3].

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 nur Gültigkeit sofern ≥ 10 Ergebnisse vorliegen [3].

Tabelle 4: Kenndaten der aktuellen LVU (dunkelgrau unterlegt) im Vergleich zu den vorangegangenen LVUs ab 2013 (SD = Standardabweichung, VK = Variationskoeffizient)

Parameter	Matrix (Pulver)	rob. Mittelwert	rob. SD (S*)	rel. SD (VK _{S*}) [%]	Quotient S*/σ _{pt}	DLA-Bericht
Cumarin	Backware	166 mg/kg	12,3 mg/kg	7,41%	0,95	DLA 17/2013
Cumarin	Backware	88,6 mg/kg	6,43 mg/kg	7,26%	0,89	DLA 22/2015
Cumarin	Zimtpulver	29,4 mg/kg	6,32 mg/kg	21,5%	1,45	DLA 28/2016

3.8 z'-Score

Der z'-Score kann u.a. zur Beurteilung der Ergebnisse der teilnehmenden Labore herangezogen werden, wenn die Standardunsicherheit des zugewiesenen Wertes berücksichtigt werden muss (s. 3.8). Der z'-Score drückt das Verhältnis der Abweichung des Ergebnisses (x_i) des betreffenden Teilnehmers vom zugewiesenen Wert zur Wurzel aus der Quadratsumme von Zielstandardabweichung (σ_{pt}) und Standardunsicherheit (U_(x_{pt})) aus [3].

Die Berechnung erfolgt nach:

$$z'_i = \frac{x_i - x_{pt}}{\sqrt{\sigma_{pt}^2 + u_{(x_{pt})}^2}}$$

Sofern eine Bewertung der Ergebnisse mittels z'-Score erfolgt, haben wir im Folgenden den Ausdruck im Nenner als Zielstandardabweichung σ_{pt}' definiert.

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

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

Zu Warn- und Eingriffssignalen siehe 3.7.1.

3.9 Variationskoeffizient (VK_R)

Der Variationskoeffizient (VK_R) der Vergleichspräzision (= relative Vergleichsstandardabweichung) errechnet sich aus der Vergleichsstandardabweichung S_R und dem Mittelwert [4, 13]:

$$VK_R = \frac{S_R * 100}{\bar{x}}$$

Im Gegensatz zur Standardabweichung als ein Maß für die absolute Variabilität gibt der VK_R die relative Variabilität innerhalb eines Datenbereichs an. Während ein niedriger VK_R von z.B. < 5-10% als Beleg für einen homogenen Ergebnissatz gelten kann, deutet ein VK_R von mehr als 50% auf eine „starke Inhomogenität der statistischen Masse“ hin, sodass die Eignung für bestimmte Anwendungszwecke wie die Beurteilung von Höchstwertüberschreitungen oder die Leistungsbeurteilung der teilnehmenden Laboratorien ggf. nicht mehr gegeben sein kann [3].

3.10 Quotient S^*/σ_{pt}

In Anlehnung an den HorRat-Wert kann die Bewertung einer Laborvergleichsuntersuchung als aussagekräftig gelten, wenn der Quotient von robuster Standardabweichung S^* und Zielstandardabweichung σ_{pt} 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 [3].

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 des zugewiesenen Wertes ($U(x_{pt})$) wird für die vorliegende LVU wie folgt berechnet [3]:

$$u_{(x_{pt})} = 1,25 \times \frac{s^*}{\sqrt{p}}$$

Ist $U(x_{pt}) \leq 0,3 \sigma_{pt}$ muss die Standardunsicherheit des zugewiesenen Wertes nicht berücksichtigt werden [3]. 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 $U(x_{pt})/\sigma_{pt}$ 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_{pt})
Robuste Standardabweichung (S^*)
Anzahl mit m Wiederholmessungen
Wiederholstandardabweichung (S_r)
Variationskoeffizient (VK_r) in %
Vergleichsstandardabweichung (S_R)
Variationskoeffizient (VK_R) in %
Zielkenndaten:
Zielstandardabweichung σ_{pt} oder σ_{pt}'
Zielstandardabweichung zur Information
untere Grenze des Zielbereichs ($X_{pt} - 2\sigma_{pt}$) *
obere Grenze des Zielbereichs ($X_{pt} + 2\sigma_{pt}$) *
Quotient S^*/σ_{pt} oder S^*/σ_{pt}'
Standardunsicherheit $U_{(X_{pt})}$
Quotient $U_{(X_{pt})}/\sigma_{pt}$ oder $U_{(X_{pt})}/\sigma_{pt}'$
Ergebnisse im Zielbereich
Prozent im Zielbereich

* Zielbereich berechnet mit z-Score oder z'-Score

In der unteren Tabelle sind die Ergebnisse der teilnehmenden Labore auf 3 gültige Stellen formatiert dargestellt**:

Auswertenummer	Parameter [Einheit / Unit]	Abweichung	z-Score σ_{pt}	z-Score (Info)	Hinweis
Evaluation number		Deviation			Remark

** Im Dokumentationsteil sind die Ergebnisse so angegeben wie sie von den Teilnehmern übermittelt wurden.

4.1 Cumarin in mg/kg**Vergleichsuntersuchung / Proficiency Test**

Kenndaten	
Anzahl der Messergebnisse	18*
Anzahl der Ausreißer	0
Mittelwert	30,3
Median	31,7
Robuster Mittelwert (X_{pt})	29,4
Robuste Standardabweichung (S^*)	6,32
Anzahl mit 2 Wiederholmessungen	18
Wiederholstandardabweichung (S_r)	0,963
Variationskoeffizient (VK_r)	3,18%
Vergleichsstandardabweichung (S_R)	6,88
Variationskoeffizient (VK_R)	22,7%
<i>Zielkenndaten:</i>	
Zielstandardabweichung σ_{pt}	4,37
Zielstandardabweichung (zur Information)	2,83
Untere Grenze des Zielbereichs	20,7
Obere Grenze des Zielbereichs	38,2
Quotient S^*/σ_{pt}	1,45
Standardunsicherheit $U(X_{pt})$	1,86
Quotient $U(X_{pt})/\sigma_{pt}$	0,43
Ergebnisse im Zielbereich	16
Prozent im Zielbereich	89%

* ohne Ergebnisse der Teilnehmer 2 und 7

Anmerkungen zu den Kenndaten:

Die Zielstandardabweichung wurde nach 3.6.2 Auswertung eines Versuchs zur Präzision (ASU §64 L 00.00-134) berechnet. Die Zielstandardabweichung zur Information wurde nach dem allgemeinen Modell nach Horwitz berechnet (s. 3.6.1).

Die Verteilung der Ergebnisse zeigte eine normale Variabilität. Der Quotient S^*/σ_{pt} lag unter 2,0. Die robuste Standardabweichung liegt oberhalb von vorangegangenen LVUs, die jedoch mit anderer Matrix und höheren Gehalten durchgeführt wurden (vgl. 3.6.3).

Wiederhol- und Vergleichsstandardabweichung liegen im Bereich von etablierten Werten für die eingesetzten Bestimmungsmethoden (vgl. 3.6.2). Die Vergleichbarkeit der Ergebnisse ist gegeben.

Der Quotient $U(X_{pt})/\sigma_{pt}$ liegt mit 0,43 über 0,3 und ist aufgrund der anderen Kenndaten und der Verwendung unterschiedlicher Bestimmungsmethoden akzeptabel.

89% der Ergebnisse lagen im Zielbereich.

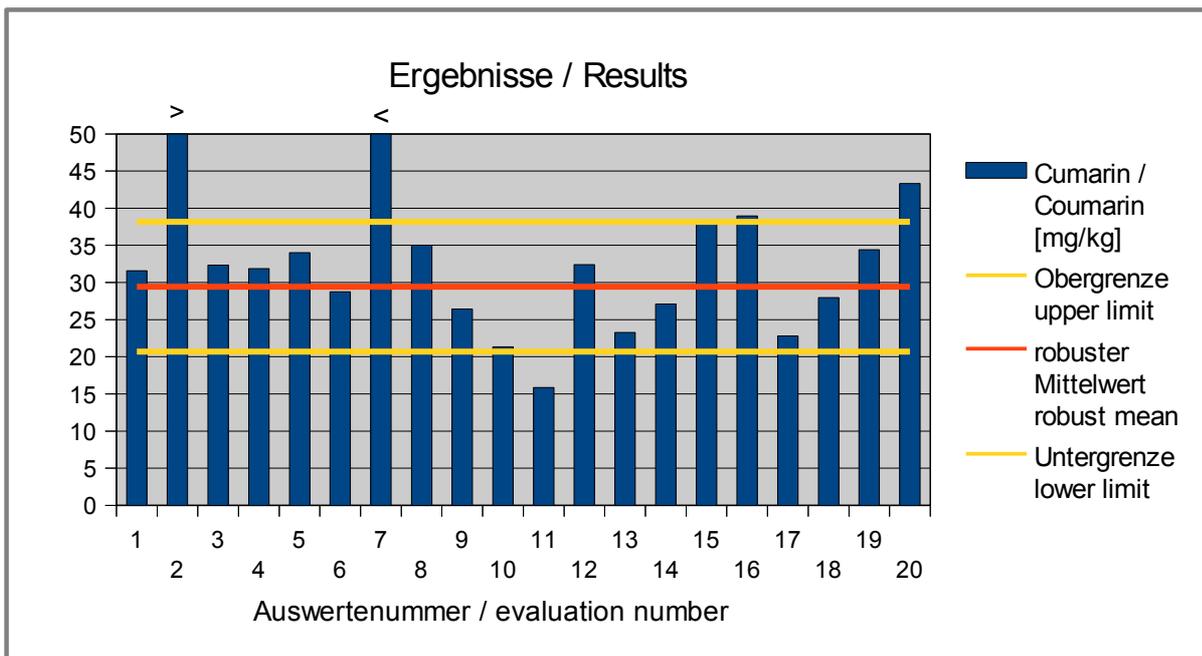


Abb. / Fig. 1: Ergebnisse Cumarin / Results Coumarin

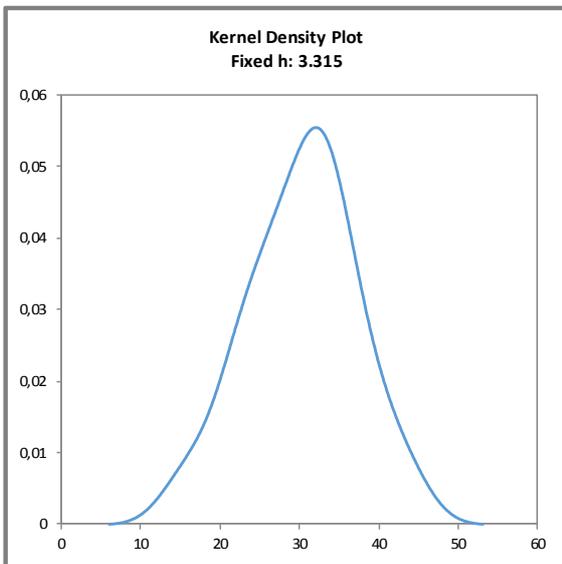


Abb. / Fig. 2:

Kerndichte-Schätzung der Ergebnisse (mit $h = 0,75 \times \sigma_{pt}$ von X_{pt})

Kernel density plot of results (with $h = 0,75 \times \sigma_{pt}$ of X_{pt})

Anmerkung:

Die Kerndichte-Schätzung zeigt eine Normalverteilung der Ergebnisse mit einer angedeuteten Schulter, die auf ein Teilnehmerergebnis unterhalb des Zielbereichs zurückgeht.

**Ergebnisse der Teilnehmer:
Results of Participants:**

Auswertenummer Evaluation number	Cumarin / Coumarin [mg/kg]	Abweichung [mg/kg] Deviation [mg/kg]	z-Score (σ _{pt})	z-Score (Info)	Hinweis Remark
1	31,6 *	2,13	0,5	0,8	
2	701				Ergebnis ausgeschlossen / Result excluded
3	32,3	2,90	0,7	1,0	
4	31,9	2,44	0,6	0,9	
5	34,0	4,57	1,0	1,6	
6	28,8	-0,684	-0,2	-0,2	
7	< BG				BG = 50 mg/kg
8	35,0	5,57	1,3	2,0	
9	26,4	-3,02	-0,7	-1,1	
10	21,3	-8,09	-1,9	-2,9	
11	15,8 *	-13,6	-3,1	-4,8	
12	32,4	2,97	0,7	1,0	
13	23,3	-6,15	-1,4	-2,2	
14	27,1	-2,33	-0,5	-0,8	
15	38,0	8,53	2,0	3,0	
16	39,0	9,52	2,2	3,4	
17	22,8	-6,63	-1,5	-2,3	
18	28,0	-1,48	-0,3	-0,5	
19	34,4	4,98	1,1	1,8	
20	43,3	13,9	3,2	4,9	

* Mittelwert von DLA berechnet, wenn Differenz Einzelproben ≤ 2 σ_{pt}

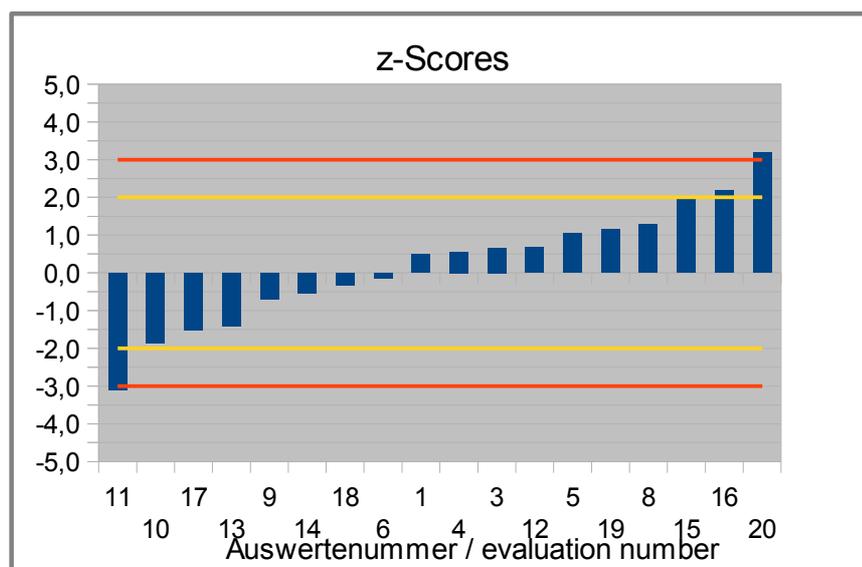


Abb. / Fig. 3: z-Scores Cumarin / Coumarin

5. Dokumentation

Hinweis: Angaben in englischer Sprache wurden von DLA nach bestem Wissen ins Deutsche übersetzt (ohne Gewähr der Richtigkeit).

5.1 Angaben der Teilnehmer

5.1.1 Primärdaten

Parameter	Teilnehmer	Einheit	Proben-Nr. 1	Proben-Nr. 2	Datum d. Analyse	Ergebnis (Mittel)	Ergebnis 1	Ergebnis 2	Bestimmungsgrenze	Inkl. WF	Wiederfindungsrate [%]
Analyte	Participant	Unit	Sample No. 1	Sample No. 2	Date of analysis	Result (Mean)	Result 1	Result 2	Limit of determination	Incl. RR	Recovery rate [%]
Cumarin / Coumarin	1	mg/kg	11	43	14.12.16	31,57	31,34	31,79	10	nein	97
	2	mg/kg	25	36	05.12.16	701,1	690,3	712	2	nein	96
	3	mg/kg	34	45	19.12.	32,33	32,38	32,28	3,17	nein	95
	4	mg/kg	49	67	13.12.16	31,87	32,24	31,5	1,67	nein	
	5	mg/kg	10	48	16.12.16	34	34	34	20	ja	64
	6	mg/kg	3	61	13.12.16	28,75	28,78	28,72	0,2	nein	-
	7	mg/kg	44	54	14.12.	< BG	< BG	< BG	50mg/kg	ja	100
	8	mg/kg	14	23	20.12.16	35	35	35	0,5	nein	nicht bestimmt
	9	mg/kg	15	69	12.12.16	26,41	26,45	26,36	2	nein	91,6
	10	mg/kg	29	55	19.12.16	21,34	21,32	21,36	0,5	nein	101
	11	mg/kg	20	63	22/12	15,85	16,04	15,65	0,02	nein	
	12	mg/kg	19	46	09.12.16	32,4	31,7	33	30 mg/kg bei 1g Einwaage	ja	106,2
	13	mg/kg	28	57	11.11.16	23,28	24,36	22,19	0,1		
	14	mg/kg	13	52	02/12	27,1	26	28,2	1	ja	0,94
	15	mg/kg	6	59	23.11.16	37,96	36,36	39,56	20	nein	
	16	mg/kg	9	21	28.11.	38,95	40,41	37,49	20 mg/kg	nein	
	17	mg/kg	12	30	28.11.16	22,8	23,4	22,2	3,5	nein	95,1
	18	mg/kg	38	53	29.11.17	27,95	27,51	28,39	1	nein	100
	19	mg/kg	2	66	17.11.16	34,41	34,38	34,4	0,6	nein	0,95
	20	mg/kg	27	50	08.12.	43,33	43,1	43,56	2	nein	100

5.1.2 Analytische Methoden

Parameter	Teilnehmer	Methodenbeschreibung	Probenvorbereitung	Hinweise zur Methode	Wiederfindung mit gleicher Matrix	Methode akkreditiert	Sonstige Hinweise
Analyte	Participant	Method description	Sample preparation	Notes to the method	Recovery with same matrix	Method accredited	Further remarks
Cumarin / Coumarin	1	HPLC, nach AA-M-224	Extraktion MeOH/H ₂ O		ja	nein	
	2	HPLC-DAD (§64 L 00.00-134)	Extraktion		ja	ja	
	3	Cumarin wird nach einer Homogenisierung der Probe und Aufschlüssen im Lösungsmittelgemisch durch Rühren bei Raumtemperatur extrahiert. Die Bestimmung von Cumarin in den Probenextrakten erfolgt nach flüssigkeitsschromatographischer Trennung (HPLC) mittels Massenspektrometrie (MS/MS). Die Quantifizierung wird nach der Internen-Standard-Methode durchgeführt.	0,5 g Probe werden mit 50 ml Methanol/Wasser-Gemisch (80/20) für 30 Minuten am Magnetrührer gerührt, filtriert, 1:50 verdünnt + Zugabe von ISTD / Dot		ja	ja	Ergebnisse sind nicht Wiederfindungskorrigiert.
	4	Bestimmung von Cumarin und Zimtbestandteilen mittels RSLC und UV/VIS-Detektion in Backwaren, Lebensmittelvorprodukten und Aromen	Extraktion aus der Matrix mit Ethanol, Carrez-Klärung,	Analyse mittels UHPLC-DAD bei 279 nm, Berechnung über Kalibriergerade mit internem Standard	nein	ja	
	5	LC-MS/MS(na)	mischen	keine	ja	nein	keine
	6	§ 64 LFGB L 00.00-134, modifiziert				ja	
	7	Bestimmung von Cumarin in Lebensmitteln, HPLC-DAD	Extraktion im Ultraschallbad mit Ethanol/Wasser/Schwefelsäure (60/40/0,025vol%), Carrezklärung		ja	ja	
	8	Cumarin	Quellen mit bidest. Wasser, Extraktion mit Acetonitril, Quantifizierung mittels GC-MS		nein	nein	
	9	ASU L00.00-134:2010-09 HPLC mit DAD	nach ASU L00:00-134	Auswertung über ISTD	ja	ja	
	10	HPLC-UV	MeOH / H ₂ O , Ultraschall, Zentrifugation, Membranfiltration		ja	ja	
	11	LCMS	Extraktion mit EtOH		ja	ja	
	12	Gemäß ASU 00.00-134, HPLC-DAD mit internen Standard	nach ASU 00.00-134		ja über Zugabe internen Standard	ja	
	13	LC-MS/MS (SOP M3217)				nein	
	14	Extraktion unter Verwendung von 90% Methanol & HPLC-UV	Homogenisation unter Verwendung eines Waring Mixer		ja	nein*	*verwendete Methode ist akkreditiert für Backwaren
	15	§64 LFGB L 00.00-134, LC-MS/MS	Extraktion mit Ethanol/Wasser (70/30) nach Zugabe von d4-Cumarin als internem Standard			ja	
	16	HPLC-DAD	Extraktion durch Rühren (1h) mit Methanol/Wasser (80/20; v/v)		nein	nein	
	17	ASU L00.00-134 modifiziert	ASU L00.00-134 statt 80% MeOH wird 80% EtOH verwendet		ja	ja	
	18	Hausmethode	70% Ethanol	HPLC/UV	ja	nein	
	19	§64 LFGB, L 00.00-134 mod, LCMSMS	Extraktion mit Methanol/Wasser		ja	ja	Erg. mit WF 34,357 und 34,519
	20	Cumarin (HPLC-UV)	Extraktion mit Methanol-Wasser-Gemisch	-	ja	ja	-

5.2 Homogenität

5.2.1 Mischungshomogenität vor der Abfüllung

Microtracer Homogenitätstest

DLA 28-2016

Gewicht Gesamtprobe	3,63	kg
Microtracer	FSS-rot lake	
Teilchengröße	75 – 300	µm
Gewicht pro Partikel	2,0	µg
Tracerzugabe	23,1	mg/kg

Analysenergebnisse:

Probe	Einwaage [g]	Partikel Anzahl	Partikel [mg/kg]
1	5,03	57	22,7
2	5,20	68	26,2
3	5,12	64	25,0
4	5,09	65	25,5
5	5,12	75	29,3
6	5,10	59	23,1
7	5,13	50	19,5
8	5,05	50	19,8

Poisson-Verteilung

Probenanzahl	8	
Freiheitsgrad	7	
Mittelwert	61,0	Partikel
Standardabweichung	8,43	Partikel
χ^2 (CHI-Quadrat)	8,17	
Wahrscheinlichkeit	32	%
Wiederfindungsrate	103	%

Normalverteilung

Probenanzahl	8	
Mittelwert	23,9	mg/kg
Standardabweichung	3,30	mg/kg
rel. Standardabweichung	13,8	%
Horwitz Standardabweichung	9,9	%
HorRat-Wert	1,4	
Wiederfindungsrate	103	%

5.2.2 Trendlinienfunktion der Teilnehmerergebnisse

Aus der Gegenüberstellung der aufsteigenden Probennummern und den Messergebnissen der Teilnehmer lässt sich die Homogenität des chronologisch abgefüllten LVU-Materials anhand der Trendlinien-Funktion charakterisieren:

Cumarin			
Zielstandardabweichung σ_{pt}	4,37		mg/kg
Probennummern	2 - 69		
Anzahl der Proben	36		
Steigung	-0,120		
Trendlinienbereich	32,5	-	28,1 mg/kg
Abweichung Trendlinie	30,3	±	2,17 mg/kg
Prozent von σ_{pt}	49,6	%	

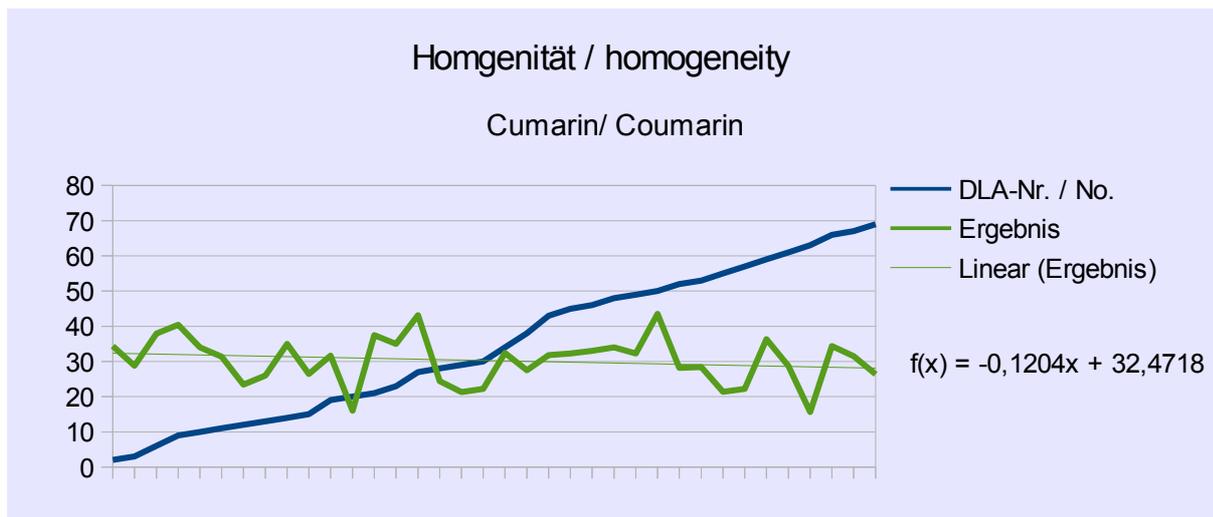


Abb./Fig. 4:
Trendfunktion Probennummern vs. Ergebnisse
trend line function sample number vs. results

6. Verzeichnis der Teilnehmer in alphabetischer Reihenfolge

Teilnehmer / Participant	Ort / Town	Land / Country
		ÖSTERREICH
		Deutschland
		SCHWEDEN
		Deutschland
		IRLAND
		KROATIEN
		Deutschland
		SCHWEIZ
		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 17025:2005; Allgemeine Anforderungen an die Kompetenz von Prüf- und Kalibrierlaboratorien / General requirements for the competence of testing and calibration laboratories
2. DIN EN ISO/IEC 17043:2010; Konformitätsbewertung - Allgemeine Anforderungen an Eignungsprüfungen / Conformity assessment - General requirements for proficiency testing
3. ISO 13528:2015 & DIN ISO 13528:2009; Statistische Verfahren für Eignungsprüfungen durch Ringversuche / Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons
4. ASU §64 LFGB: Planung und statistische Auswertung von Ringversuchen zur Methodvalidierung / DIN ISO 5725 series part 1, 2 and 6 Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results
5. Verordnung / Regulation 882/2004/EU; Verordnung über über amtliche Kontrollen zur Überprüfung der Einhaltung des Lebensmittel- und Futtermittelrechts sowie der Bestimmungen über Tiergesundheit und Tierschutz / Regulation on official controls performed to ensure the verification of compliance with feed and food law, animal health and animal welfare rules
6. Evaluation of analytical methods used for regulation of food and drugs; W. Horwitz; Analytical Chemistry, 54, 67-76 (1982)
7. The International Harmonised Protocol for the Proficiency Testing of Analytical Laboratories ; J.AOAC Int., 76(4), 926 - 940 (1993)
8. A Horwitz-like funktion describes precision in proficiency test; M. Thompson, P.J. Lowthian; Analyst, 120, 271-272 (1995)
9. Protocol for the design, conduct and interpretation of method performance studies; W. Horwitz; Pure & Applied Chemistry, 67, 331-343 (1995)
10. 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)
11. The International Harmonised Protocol for the Proficiency Testing of Analytical Chemistry Laboratories; Pure Appl Chem, 78, 145 - 196 (2006)
12. 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
13. EURACHEM/CITAC Leitfaden, Ermittlung der Messunsicherheit bei analytischen Messungen (2003); Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement (1999)
14. GMP+ Feed Certification scheme, Module: Feed Safety Assurance, chapter 5.7 Checking procedure for the process accuracy of compound feed with micro tracers in GMP+ BA2 Control of residues, Version: 1st of January 2015 GMP+ International B.V.
15. MTSE SOP No. 010.01 (2014): Quantitative measurement of mixing uniformity and carry-over in powder mixtures with the rotary detector technique, MTSE Micro Tracers Services Europe GmbH
16. ASU § 64 LFGB L 00.00-134 Bestimmung von Cumarin in zimthaltigen Lebensmitteln mittels HPLC/DAD bzw. HPLC-MS/MS [Determination of coumarin in cinnamon containing foods by HPLC/DAD and HPLC-MS/MS]

DLA 28/2016 - Cumarin in Zimtpulver

Von 21 Teilnehmern haben 20 Teilnehmer Ergebnisse eingereicht. Die Auswertung von Cumarin in Zimtpulver erfolgte mit der Zielstandardabweichung eines Versuchs zur Präzision (ASU §64 L 00.00-134). Es lagen 89% der Ergebnisse der Teilnehmer im Zielbereich. Details sind dem Auswertebereich zu entnehmen.

5 Teilnehmer hatten ihren Sitz im Europäischen Ausland (Irland, Kroatien, Österreich, Schweden, Schweiz).