

Proficiency Tests

DLA

food
cosmetics
consumer goods
www.dla-lvu.de

Auswertungs-Bericht

Laborvergleichsuntersuchung

DLA 38/2016

Persipan in Marzipan

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 38/2016
<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 (23. 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: 23. 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.....	6
2.2 Probenversand und Informationen zur Untersuchung.....	7
2.3 Ergebnisübermittlung.....	7
3. Auswertung.....	8
3.1 Konsenswert der Teilnehmer (zugewiesener Wert).....	8
3.2 Robuste Standardabweichung.....	9
3.3 Ausschluss von Ergebnissen und Ausreißer.....	9
Ausschluss von Ergebnissen	9
3.4 Zielstandardabweichung (für die Eignungsbeurteilung)....	10
3.4.1 Allgemeines Modell nach Horwitz.....	10
3.4.2 Auswertung eines Versuchs zur Präzision	10
3.4.3 Werte aus Erkenntnissen	13
3.5 z-Score.....	14
3.6 z'-Score.....	15
3.7 Quotient S^*/opt	15
3.8 Standardunsicherheit des zugewiesenen Werts.....	15
3.9 Graphische Darstellung der Bezugswerte.....	16
3.10 Wiederfindungsraten: Dotierung.....	16
4. Ergebnisse.....	17
4.1 Vergleichsuntersuchung Persipan.....	19
5. Dokumentation.....	22
5.1 Angaben der Teilnehmer.....	22
5.2 Homogenität.....	23
5.2.1 Mischungshomogenität vor der Abfüllung.....	23
6. Verzeichnis der Teilnehmer in alphabetischer Reihenfolge.....	24
7. Verzeichnis relevanter Literatur.....	25

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

Zur Untersuchung wurden zwei unterschiedliche LVU-Proben für den Nachweis von Persipan (Aprikosenkerne) im Bereich von bis ca. 1% in der Matrix Marzipan zur Verfügung gestellt.

Die Grundzusammensetzung, eine handelsübliche Marzipan-Rohmasse, war für beide Proben A und B gleich (s. Tabelle 1). Nach Homogenisieren der Grundmischung wurde die dotierte Probe B folgendermaßen hergestellt:

Das Dotierungsmaterial, eine handelsübliche Persipan-Rohmasse, sowie Lactose zur Bestimmung der Mischungshomogenität wurden zu einem Aliquot der Grundmatrix gegeben und die Mischung homogenisiert.

Anschließend wurde portionsweise erneut Grundmatrix in weiteren Schritten zugegeben und homogenisiert bis die Gesamtmenge erreicht war.

Die Zusammensetzung der Proben ist Tabelle 1 zu entnehmen. Der berechnete relative Gehalt des Parameters Aprikosenkerne pro Summe von Mandel- und Aprikosenkernanteil ist in Tabelle 2 angegeben.

Die Proben wurden nach dem Homogenisieren zu Portionen von ca. 25 g in metallisierte PET-Folienbeutel abgefüllt.

Tabelle 1: Zusammensetzung der DLA-Proben

Zutaten	Probe A	Probe B
Marzipan-Rohmasse Zutaten: Mandeln gemahlen (60%), Zucker, Wasser, Feuchthaltemittel: Invertase Nährwertangaben pro 100 g: Eiweiß 12 g, Kohlenhydrate 38 g, Fett 29 g	100 g/100 g	98,6 g/100 g
Persipan-Rohmasse Zutaten: Aprikosenkerne (47,5%), Zucker, Wasser, In- vertzuckersirup, Alkohol, Kartoffelstärke, Feuchthaltemittel: Invertase Nährwertangaben pro 100 g: Eiweiß 12 g, Kohlenhydrate 42 g, Fett 25 g	-	0,95 g/100 g
Lactose	-	0,45 g/100 g

Tabelle 2: Aus den Angaben der Hersteller (deklarierte Gehalte) ergibt sich folgender relativer Aprikosenkern-Gehalt* in Probe B

Parameter	Gehalt in Probe B
Aprikosenkerne	0,75 %
	*Aprikosenkerne / Summe Mandeln und Aprikosenkerne (w/w)

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 **Homogenität der abgefüllten nummerierten DLA-Proben** wurde anhand einer 5 fach Bestimmung von Lactose mittels HPLC-RI überprüft. Die Wiederholstandardabweichung liegt mit 4,4 % im oberen Bereich relativer Wiederholstandardabweichungen der amtlichen Methode [ASU §64 L 00.00-59]. Die Ergebnisse der Homogenitätsuntersuchung sind in der Dokumentation angegeben.

Die Berechnung der **Wiederholstandardabweichung S_r der Doppelbestimmungen der Teilnehmer** konnte nicht als Homogenitätskriterium für diese LVU herangezogen werden, weil jeweils nur ein Ergebnis pro Teilnehmer abgefragt wurde.

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].

2.2 Probenversand und Informationen zur Untersuchung

An jeden Teilnehmer wurden in der 44. Kalenderwoche 2016 je eine Portion der Untersuchungsmaterialien A und B verschickt. Die Untersuchungsverfahren wurden freigestellt. Die Untersuchungen waren durchzuführen bis spätestens 16. Dezember 2016.

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

Bei den beiden Mustern handelt es sich um zwei verschiedene Proben einer Marzipanrohmasse (mit Mandeln) mit einem möglichen Anteil von Persipanrohmasse (mit Aprikosenkernen) von bis zu 1%. Es kann jede geeignete Methode zur Bestimmung eingesetzt werden (z.B. ELISA und PCR). Die Auswertung erfolgt qualitativ und quantitativ. Generell empfehlen wir vor der Analyse, insbesondere bei kleinen Analyseneinwaagen, eine repräsentative Probenmenge entsprechend guter Laborpraxis zu homogenisieren.

2.3 Ergebnisübermittlung

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

Zur Auswertung kamen einerseits die Ergebnisse als positiv/negativ Angaben und andererseits angegebene relative Gehalte an Aprikosen(kernen) pro Mandel-Anteil.

Im Zuge der Auswertung wird ggf. bei einigen Teilnehmern die Art der Angabe der quantitativen Ergebnisse von DLA durch Nachfragen per eMail abgesichert.

Abgefragt und dokumentiert wurden die o.g. Ergebnisse sowie Angaben zu den Testmethoden wie Spezifitäten, Bestimmungsgrenzen, Testkit-Hersteller und Stichpunkte zur Durchführung der Methoden.

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.

Alle 10 Teilnehmer haben fristgerecht Ergebnisse abgegeben.

3. Auswertung

Verschiedene ELISA- und PCR-Methoden zur Bestimmung bestimmter Parameter wie allergene Lebensmittel, Tierarten oder wie in der vorliegenden LVU Aprikosenkerne in Lebensmitteln können verschiedene Antikörper- bzw. Ziel-DNA-Spezifitäten aufweisen, mit unterschiedlichem Referenzmaterial kalibriert worden sein und sich unterschiedlicher Extraktionsverfahren bedienen. Die verschiedenen Methoden können daher zu einer unterschiedlichen Bewertung des Gehalts eines Analyten führen [23, 24, 25, 26].

Darüber hinaus können Matrix- und/oder Prozessierung die Nachweisbarkeit sowohl mittels ELISA- als auch mittels PCR-Verfahren stark beeinflussen. Aus diesem Grund werden die Ergebnisse, wenn möglich in der Auswertung verschiedenen Bezugswerten gegenübergestellt.

Dadurch soll jedes einzelne Ergebnis im Vergleich mit dem Mittelwert aller eingesandten Ergebnisse und/oder im Vergleich mit dem Mittelwert der Ergebnisse derselben Methode bewertet werden können. Zum Vergleich mit der rechnerisch zugesetzten Menge wurde das Zusatzniveau in den graphischen Darstellungen der Ergebnisse mit angegeben.

In der vorliegenden LVU lagen leider zu wenig quantitative Ergebnisse für eine statistische Bewertung vor.

Die Ergebnisse wurden qualitativ anhand des Prozentsatzes positiver bzw. negativer Ergebnisse bewertet. Sofern $\geq 75\%$ positive oder negative Ergebnisse vorlagen, wurde für die betreffende Probe ein Konsens-Ergebnis (positiv oder negativ) festgestellt.

Für quantitative Ergebnisse der dotierten Probe wurden anhand der bekannten Zusammensetzung Wiederfindungsraten berechnet und zur Information angegeben. Hierbei erfolgte keine statistische Auswertung. Die angegebenen Wiederfindungsraten dienen ausschließlich einer Einschätzung von Matrix- und/oder Prozessierungseinflüssen.

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 mindes-

tens 7 Werte vorliegen.

Die tatsächlichen Messergebnisse sind anzugeben. Einzelergebnisse die außerhalb des angegebenen Messbereiches eines teilnehmenden Labors liegen (z.B. mit der Angabe $> 25 \text{ mg/kg}$ oder $< 2,5 \text{ mg/kg}$) 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 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].

3.4 Zielstandardabweichung (für die Eignungsbeurteilung)

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

In der vorliegenden LVU wurde die Zielstandardabweichung nach 3.4.3 Werte aus Erkenntnissen ermittelt.

3.4.1 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. $1 \text{ mg/kg} = 1 \text{ ppm} = 10^{-6} \text{ kg/kg}$)

Die Zielstandardabweichung nach Horwitz wird z.Z. in der Praxis von ELISA- und PCR-Verfahren mit Messwerten im mg/kg Bereich nur in Ausnahmefällen erreicht.

3.4.2 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 3a (ELISA) und Tabelle 3b (PCR) angegebenen relativen Wiederholstandardabweichungen (RSD_r) und relativen Vergleichsstandardabweichungen (RSD_R) wurden in Ringversuchen mittels der angegebenen Methoden ermittelt. Die resultierenden Zielstandardabweichungen σ_{pt} wurden für eine Anzahl von $m = 2$ Wiederholmessungen berechnet. Bei einer Anzahl von $m = 1$ ist die Vergleichsstandardabweichung σ_R gleich der Zielstandardabweichung σ_{pt} .

Tabelle 3a: ELISA-Methoden - Relative Wiederholstandardabweichungen (RSD_r) und relative Vergleichsstandardabweichungen (RSD_R) gemäß ausgewählter Auswertungen von Versuchen zur Präzision und die resultierende Zielstandardabweichung σ_{pt} [27-29]

Parameter	Matrix	Mittelwerte [mg/kg]	Wiederfindung	rob RSD_r	RSD_r	RSD_R	opt	Methode / Literatur
Soja	Brühwurst	0,36 - 4,07%	81 - 144%	-	6,8- 13%	14- 28%	-	ASU 06.00-56
Erdnuss	Vollmilchschokolade	173,7 33,8 5,9	87 % 85 % 59 %	- - -	8,8% 5,2% 7,8%	31% 20% 31%	30,4% 19,7% 30,5%	ELISA Herst. A ASU 00.00-69
Erdnuss	Vollmilchschokolade	215,7 40,1 10,1	108 % 100 % 101 %	- - -	5,9% 7,2% 7,3%	32% 14% 16%	31,7% 13,0% 15,1%	ELISA Herst. B ASU 00.00-69
Erdnuss	Feinherbschokolade	148,2 30,9 5,7	74 % 77 % 57 %	- - -	6,0% 13% 6,1%	22% 25% 33%	21,6% 23,2% 32,7%	ELISA Herst. A ASU 00.00-69
Haselnuss	Feinherbschokolade	16,3 7,56 3,73 1,62	81 % 76 % 75 % 81 %	- - - -	4,7% 8,9% 13% 15%	12% 15% 24% 33%	11,5% 13,6% 22,2% 31,2%	ELISA Herst. A ASU 44.00-7
Haselnuss	Feinherbschokolade	21,3 10,7 4,69 2,37	106 % 107 % 94 % 119 %	- - - -	7,1% 11% 11% 9,3%	14% 19% 17% 17%	13,1% 17,3% 15,1% 16,4%	ELISA Herst. B ASU 44.00-7

Aus den Präzisionsdaten der ASU §64 Methoden ergeben sich abhängig von Matrix bzw. Prozessierung und Konzentrationsbereich relative Zielstandardabweichungen im Bereich von 11 - 32% für die ELISA-Methoden und 15 - 43% für die PCR-Methoden (s. Tab. 3a und 3b).

Für die Bestimmung von Aprikosenkernen in Lebensmitteln liegen uns z.Zt. keine genormten Methoden vor.

Es wurden wenige **Methoden zur Bestimmung von Persipan-Anteilen (Aprikosenkerne) in Marzipan** veröffentlicht.

U.a. haben Weber und Hauser (2007) ein semi-quantitatives real-time-PCR-Verfahren zur prozentualen Bestimmung von Aprikosen-DNA bezogen auf den Gesamt-DNA-Anteil in Marzipan mit einer Nachweisgrenze von 0,1% beschrieben [35].

Mittels einer methodischen Variante der PCR, der „ligation-dependant probe amplification“ (LPA), wurde von Luber et al. (2012) eine Methode zum Nachweis von Persipan in Marzipan mit einer Nachweisgrenze von 0,1% und einer Bestimmungsgrenze von 0,5% veröffentlicht. Die relativen Wiederholstandardabweichungen lagen bei 9,7% bzw. 18,4% bei Gehalten von 0,87% bzw. 4,16% Persipan in Marzipan [36].

Bestimmungsmethoden anhand des Tocopherolmusters erlauben i.d.R. nur den Nachweis von etwa 10% Persipan in Marzipan [35].

Tabelle 3b: PCR-Methoden - Relative Wiederholstandardabweichungen (RSD_r) und relative Vergleichsstandardabweichungen (RSD_R) gemäß ausgewählter Auswertungen von Versuchen zur Präzision und die resultierende Zielstandardabweichung σ_{pt} [30-34]

Parameter	Matrix	Mittelwerte [mg/kg]	Wiederfindung	rob RSD_r	RSD_r	RSD_R	σ_{pt}	Methode / Literatur
Mandel	Reiskekse	105,2 18,0 10,5	105 % 90 % 105 %	-	19,3% 44,0% 32,0%	27,5% 49,1% 38,8%	23,9% 38,0% 31,5%	rt-PCR ASU 18.00-20
Mandel	Weizenkekse Soßenpulver	114,3 88,1	94,6 % 88,1 %	-	22,1% 43,9%	41,8% 43,1%	38,8% - %	rt-PCR ASU 18.00-20
Mandel	Reiskekse	109 21,3 12,3	109 % 107 % 121 %	-	17,6% 35,8% 32,0%	32,8% 45,0% 47,8%	30,3% 37,2% 42,1%	rt-PCR ASU 18.00-22
Mandel	Weizenkekse Soßenpulver	120,7 112	98,2 % 94,1 %	-	15,7% 36,2%	32,5% 42,8%	30,5% 34,3%	rt-PCR ASU 18.00-22
Soja	Weizenmehl Maismehl	107 145	107 % 145 %	63 % 34 %	- -	31 % 24 %	- -	rt-PCR ASU 16.01-9
Sojamehl	Brühwurst (100°C, 60 min)	114,1 64,4	114 % 161 %	-	14,7% 27,7%	22,2% 41,4%	19,6% 36,5%	rt-PCR ASU 08.00-65
Sojamehl	Wurst, autoklaviert	33,1	33,1 %	-	21,5%	30,8	26,8%	rt-PCR ASU 08.00-65
Sojamehl	Brühwurst (100°C, 60 min)	82,0 39,6 19,6 9,3	82 % 99 % 98 % 93 %	-	17,3% 22,9% 22,9% 31,1%	24,1% 31,8% 24,0% 30,2%	20,8% 27,4% 17,7% -	rt-PCR ASU 08.00-59

3.4.3 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].

Anforderungen an die Leistungsfähigkeit der Analysemethoden zur quantitativen Bestimmung von Allergenen in Lebensmitteln sind u.a. vom Ministry of Health and Welfare (MHLW) in Japan [20], von der Arbeitsgruppe 12 „Lebensmittelallergene“ des Technischen Komitees CEN/TC 275 [17-19], von einer internationalen "Food Allergen Working Group" unter der Leitung der AOAC Presidential Task Force on Food Allergens [21] und vom Codex Alimentarius Committee (CAC/GL 74-2010) [16] erarbeitet worden.

Die hier relevanten ELISA- bzw. PCR-Validierungskriterien der Gremien sind in den Tabellen 4 und 5 angegeben.

Tabelle 4: ELISA-Validierungskriterien

Literatur [16-22]	Wiederfindungsrate	Wiederholstandard- abweichung	Vergleichsstandard- abweichung
MHLW 2006	50 - 150%		$\leq 25\%$
CEN 2009		$\leq 20\%$	
AOAC 2010	50 - 150%	6,9 - 34,4% ^(a)	19,5 - 57,2% ^(a)
CAC 2010	70 - 120%	$\leq 25\%$	$\leq 35\%$

(a) = Beispiel aus hypothetischem Ringversuch im Konzentrationsbereich von 0,5 - 5 mg/kg

Tabelle 5: PCR-Validierungskriterien

Literatur [16]	Wiederfindungsrate	Wiederholstandard- abweichung	Vergleichsstandard- abweichung
CAC 2010	$\pm 25\%$ ^(a)	$\leq 25\%$	$\leq 35\%$

(a) = Trueness / Richtigkeit

Aufgrund der derzeitigen Leistungsfähigkeiten von ELISA- bzw. PCR-Methoden zur quantitativen Bestimmung von Allergenen in Lebensmitteln, die sich aus den Präzisionsdaten von Versuchen und aus den o.g. Validierungsanforderungen ableiten lassen, legen wir für die relative Zielstandardabweichung σ_{pt} einen Wert von 25% fest.

Diese Zielstandardabweichung wurde zur statistischen Bewertung der Ergebnisse mittels z-Score bzw. falls erforderlich mittels z'-Score herangezogen und auf alle unter 3.1 angegebenen Bezugswerte angewandt.

3.5 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

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

3.5.1 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].

3.6 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 3.5.1.

3.7 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].

3.8 Standardunsicherheit des zugewiesenen Werts

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.

3.9 Graphische Darstellung der Bezugswerte

Die Bezugswerte (zugewiesene Werte und Zusatzniveau) werden als farbige Linien in den Abbildungen der Ergebnisse dargestellt. Dies ermöglicht einen optischen Vergleich der Einzelergebnisse mit den verschiedenen Bezugswerten für das Zusatzniveau eines Analyten einerseits und die robusten Mittelwerte über alle Methoden bzw. über Einzelmethoden andererseits.

3.10 Wiederfindungsraten: Dotierung

Für die Ergebnisse dotierten Probe werden Wiederfindungsraten in Bezug auf die zugesetzten Anteile (Zusatzniveau) berechnet. Die Bezugswerte ergeben sich aus den unter 2.1 Untersuchungsmaterial in Tabelle 1 angegebenen Gehalten. Als Akzeptanzbereich AB für die Bewertung der Teilnehmerergebnisse wird der von der AOAC vorgeschlagene Bereich von 50 - 150% für die Wiederfindungsraten von Allergen-ELISAs herangezogen [21]. Für quantitative PCR-Bestimmungen wird ebenfalls dieser Akzeptanzbereich herangezogen.

4. Ergebnisse

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

Im Ergebnisteil werden alle quantitativen Teilnehmerergebnisse auf 3 signifikante Stellen (gültige Ziffern) formatiert dargestellt. Im Dokumentationsteil sind die Ergebnisse so angegeben wie sie von den Teilnehmern übermittelt wurden.

Qualitativ werden die Ergebnisse anhand des Prozentsatzes positiver bzw. negativer Ergebnisse bewertet. Sofern ≥ 75 % positive oder negative Ergebnisse vorlagen, wurde für die betreffende Probe ein Konsens-Ergebnis (positiv oder negativ) festgestellt. Für jeden Teilnehmer wird in Bezug auf die Konsens-Ergebnisse eine qualitative Bewertung vorgenommen. Hier wurde die Übereinstimmung mit den Konsens-Werten in Prozent angegeben.

Gegebenenfalls werden anschließend die Ergebnisse aller Methoden und von Einzelmethoden mit mindestens 7 quantitativen Ergebnissen statistisch ausgewertet.

In den Fällen, in denen eine statistische Auswertung der quantitativen Messergebnisse durchgeführt wurde, werden die Ergebnisse tabellarisch folgendermaßen aufgeführt:

Auswerte- nummer	Ergebnis	Ergebnis	z-Score $X_{pt\text{ALL}}$	z-Score $X_{pt\text{M}i}$	Methode	Hinweis
	pos/neg	[mg/kg]				

Die Kenndaten der jeweiligen Vergleichsuntersuchung werden aufgeführt, falls wenigstens 50% positive Ergebnisangaben und mindestens 5 quantitative Messergebnisse vorliegen:

Kenndaten	Alle Ergebnisse [mg/kg]	Methode i [mg/kg]
Zugewiesener Wert (X_{pt})	$X_{pt\text{ALL}}$	$X_{pt\text{METHOD } i}$
Anzahl der Messergebnisse		
Anzahl der Ausreißer		
Median		
Robuster Mittelwert (X_{pt})		
Robuste Standardabweichung (S^*)		
Zielkenndaten:		
Zielstandardabweichung σ_{pt}		
untere Grenze des Zielbereichs ($X_{pt} - 2\sigma_{pt}$)		
obere Grenze des Zielbereichs ($X_{pt} + 2\sigma_{pt}$)		
Quotient S^*/σ_{pt}		
Standardunsicherheit $U(X_{pt})$		
Quotient $U(X_{pt})/\sigma_{pt}$		
Ergebnisse im Zielbereich		
Prozent im Zielbereich		

Im Anschluss erfolgt die Darstellung der Wiederfindungsraten für die Ergebnisse der dotierten Probe. Die Anzahl der Ergebnisse im Akzeptanzbereich von 50-150% wird aufsummiert.

4.1 Vergleichsuntersuchung Persipan

Qualitative Auswertung der Ergebnisse: Proben A und B

Auswertenummer	Probe A	Probe A	Probe B	Probe B	Qualitative Bewertung	Methode	Hinweis
	pos/neg	[%]	pos/neg	[%]	Übereinstimmungen mit Konsenswerten		
1	negativ	< 0,1	positiv	0,84	2/2 (100%)	PCR	
2	negativ	<0,50	positiv	0,72	2/2 (100%)	PCR	
3	negativ	-	positiv	1,0	2/2 (100%)	PCR	
4	negativ		positiv	< 1,5	2/2 (100%)	PCR	
5	positiv	0,30	positiv	2,20	1/2 (50%)	PCR	
6	negativ	< 10	negativ	< 10	-	HPLC	
7	negativ	0	positiv	< 1	2/2 (100%)	PCR	
8	positiv		positiv		1/2 (50%)	PCR	Probe A: schwach positiv
9	negativ	-	positiv	-	2/2 (100%)	PCR	
10	negativ		negativ		-	HPLC	

	Probe A		Probe B	
Anzahl positiv	2		8	
Anzahl negativ	8		2	
Prozent positiv	20		80	
Prozent negativ	80		20	
Konsenswert	negativ		positiv	

Anmerkung:

Die Konsenswerte stehen in qualitativer Übereinstimmung mit der Dotierung von Probe B.

Für die PCR-Methoden liegen die Konsenswerte „negativ“ (Probe A) und „positiv“ (Probe B) bei 75% bzw. 100%. Es wurden zwei positive Ergebnisse mittels PCR für Probe A erhalten. Dabei wurde ein Ergebnis als „schwach positiv“ und das andere mit 0,30% angegeben. Es kann nicht ausgeschlossen werden, dass Probe A geringe Gehalte an Aprikosenkernen im Bereich der Nachweis- und Bestimmungsgrenzen der PCR-Methoden enthält. Die Ergebnisse der HPLC-Methoden wurden aufgrund der hohen Nachweis- bzw. Bestimmungsgrenzen nicht bewertet.

Quantitative Auswertung der Ergebnisse: Probe B

Anmerkung:

Eine quantitative Auswertung wurde aufgrund der geringen Anzahl von Ergebnissen nicht vorgenommen.

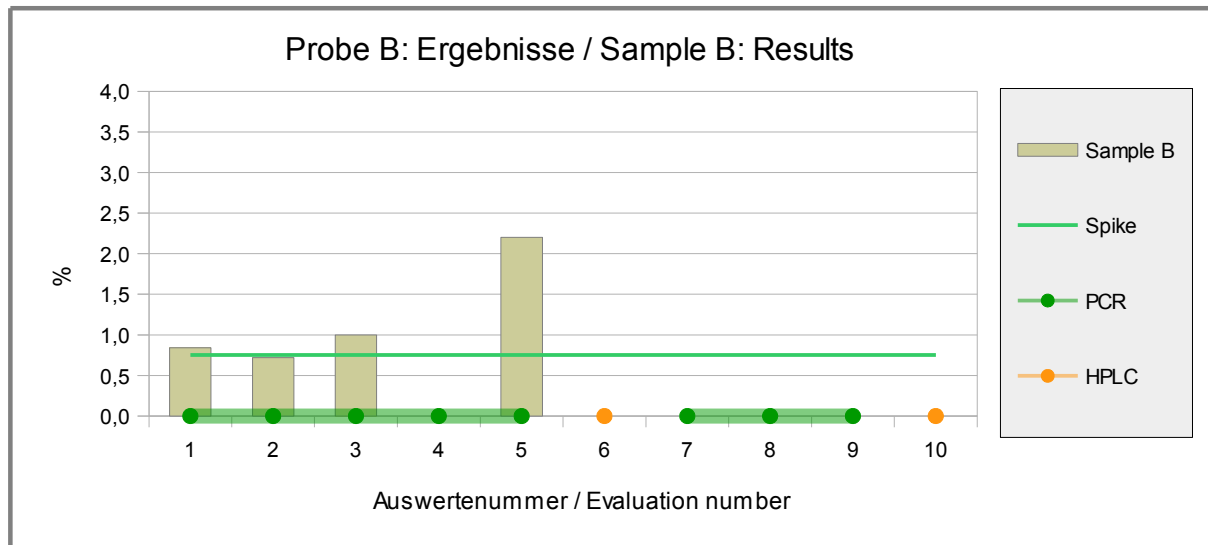


Abb./Fig. 1: Ergebnisse Persipan in Marzipan (als Prozent Aprikosenkern-DNA pro Summe Aprikosenkern-DNA und Mandel-DNA) Probe B
grüne Linie = Zusatzniveau
runde Symbole = Zuordnung der Methoden (s. Legende)

Wiederfindungsraten für Persipan (Aprikosenkerne): Probe B

Auswertenummer	Persipan	Wiederfindungsrate*	Methode	Hinweis
	[%]	[%]		
1	0,84	112	PCR	
2	0,72	96	PCR	
3	1,0	133	PCR	
4	< 1,5		PCR	
5	2,20	293	PCR	
6	< 10		HPLC	
7	< 1		PCR	
8			PCR	
9	-		PCR	
10			HPLC	

AB**	50-150 %
Anzahl im AB	3
Prozent im AB	75

* Wiederfindungsrate 100% Bezugsgröße: Persipan, s. Seite 5

** Akzeptanzbereich der AOAC für Allergen-ELISAs

Anmerkung:

3 von 4 Teilnehmern haben in Probe B für die Bestimmung des Persipan-Anteils in Marzipan mittels PCR-Methode eine Wiederfindungsrate im Bereich der AOAC-Anforderung von 50-150% erhalten. Die quantitativen Ergebnisse sind als relativer Gehalt an Aprikosen-DNA zu Gesamt-DNA aus Mandel und Aprikosenkern angegeben.

5. Dokumentation

5.1 Angaben der Teilnehmer

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

Meth. Abk.	Auswertenummer	Datum der Analyse	Ergebnis Probe A		Ergebnis Probe B		Nachweisgrenz	Bestimmungsg	Quantitatives Ergebnis als	Methode
			qualitativ	%	qualitativ	%				
		Tag/Monat							z.B. Lebensmittel / Protein	Test-Kit + Anbieter
PCR	1	01/12 und 15/12	-	< 0,1	positiv	0,84		0,10	rel. DNA-Prozent Aprikosenkerne / Mandelkerne	
PCR	2	09.12.16	negativ	<0,50	positiv	0,72	0,20	0,50	Aprikose-DNA/Mandel-DNA	-
PCR	3	22.11.	negativ	-	positiv	1,0			Aprikosenkerne	SureFast Apricot; Fa. Congen
PCR	4	13.12.16	negativ		positiv	n.q., < 1,5	0,50	1,50	Aprikosenkerne	kein kommerzieller Kit
PCR	5	21./29.11.2016	positiv	0,30 ± 0,10	positiv	2,20 ± 0,30	0,010	0,10	DNA-Aprikose	Hausverfahren
HPLC	6	21.11.16	-	< 10%	-	< 10%	-	-	Persipan	-
PCR	7	29.11.16	negativ	0	positiv	< 1	≤ 0,1		Aprikosenkern	Congen
PCR	8	17.11.16	schwach positiv		positiv				DNA-Aprikose	SureFast Apricot, Congen
PCR	9	03.11.16	negativ	-	positiv	-	-	-	DNA-Aprikose	SureFast, Congen
HPLC	10	11.11.16	negativ		negativ		-	-		§ 64 LFGB L 00.00-62
PCR	5	21./29.11.2016	positiv	99,70 ± 0,10	positiv	97,80 ± 0,30	0,010	0,10	DNA-Mandel	Hausverfahren

Meth. Abk.	Auswertenummer	Spezifität	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)		Sonstige Hinweise
			Antikörper	z.B. Extraktionslösung / Zeit / Temperatur	
PCR	1	Lipid Transfer Protein I -Gen	Mericon Food Kit (Qiagen)		Weber und Hauser (2007) Deutsche Lebensmittel-Rundschau 103 Jahrgang, Heft 9, in Kombination mit L.18.00-20:2014-08
PCR	2	-	-		Ergebnisangabe als Aprikosenanteil im Verhältnis zum Mandelanteil
PCR	3	entsprechend Test-Kit	DNA-Präp: SureFood PREP Plant kit / Real Time PCR		
PCR	4	Aprikose: Lipid Transfer-Protein I (119 bp); Mandel: nsLTP Protein-Sequenz (82 bp)	Extraktion: CTAB-Methode mit DNA-Reinigung über QIAquick-Purification System (Qiagen). Bestimmung mittels Duplex real-time PCR mit Matrixkalibrator (Marzipan/Persipan-Mischung): Aprikosen-DNA: Weber W, Hauser W (2007) Bestimmung von Aprikosenkernbestandteilen in Marzipan und Marzipanvorstufen mittels Realtime PCR. DLR 103 (9): 416-419. Mandel-DNA: Röder, M., Vieths, S. and Holzhauser, T. 2011, Analytica Chimica Acta, 2011, 685(1):74-83.		
PCR	5	nsLTP	CTAB-Extraktion, Wizard-Aufreinigung, qualitative RealTime PCR, Quantifizierung mittels ddPCR		Quantifizierung: Kopiezahl Mandel + Kopiezahl Aprikose = 100 %
HPLC	6	andere: bitte eingeben!	Verseifung gemäss SLMB 1539.1 / Extraktion Festflüssig mittels Extrelut		Quantitative Bestimmung mittels HPLC / Resultatangabe in % Persipan
PCR	7		CTAB / QIAquick PCR Purification Kit / RealTime PCR		
PCR	8	charakteristischer Sequenzabschnitt aus Aprikosen-DNA	SureFood Prep Advanced Kit/ Fa.r-biopharm/ Proteinase K/ Real Time PCR/ 35 Zyklen		Probe A: Nachweis von Spuren von Aprikosen-DNA; keine Verfälschung
PCR	9	-	F6101 SureFast® Apricot Extraktion mit S1052 SureFood® PREP Basic		Nachweisgrenze ≤ 5 DNA-Kopien
HPLC	10		HPLC, Ermittlung der Tocopherolverteilung (alpha-Tocopherol, gamma-Tocopherol)		nur qualitative Aussage - kein Nachweis geringer Persipan-Beimischungen möglich; Tocopherolverteilung für DLA-38-A: 94% alpha-Tocopherol, 5% gamma-Tocopherol, (1% beta-Tocopherol), Tocopherolverteilung für DLA-38-B: 92% alpha-Tocopherol, 7% gamma-Tocopherol, (1% beta-Tocopherol)
PCR	5	nsLTP			

5.2 Homogenität

5.2.1 Mischungshomogenität vor der Abfüllung

Homogenitätsprüfung anhand der Bestimmung von Lactose mittels HPLC-RI
(ASU §64 L 00.00-59):

Lactose

Wiederholmessungen	g/100g
1	0,52
2	0,54
3	0,50
4	0,50
5	0,55

Allgemeiner Mittelwert	0,52	
Wiederholstandardabweichung	0,023	4,37%

6. Verzeichnis der Teilnehmer in alphabetischer Reihenfolge

Teilnehmer / Participant	Ort / Town	Land / Country
		Deutschland
		Deutschland
		Deutschland
		Deutschland
		Deutschland
		Deutschland
		Deutschland
		Deutschland
		Deutschland
		SCHWEIZ

[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 Methodenvalidierung / 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 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. Codex Alimentarius Commission (2010) - Guidelines on performance criteria and validation of methods for detection, identification and quantification of specific DNA sequences and specific proteins in foods, CAC/GL 74-2010
17. DIN EN ISO 15633-1:2009; Nachweis von Lebensmittelallergenen mit immunologischen Verfahren - Teil 1: Allgemeine Betrachtungen / Foodstuffs - Detection of food allergens by immunological methods - Part 1: General considerations
18. DIN EN ISO 15634-1:2009; Nachweis von Lebensmittelallergenen mit molekularbiologischen Verfahren - Teil 1: Allgemeine Betrachtungen / Foodstuffs - Detection of food allergens by molecular biological methods - Part 1: General considerations
19. DIN EN ISO 15842:2010 Lebensmittel - Nachweis von Lebensmittelallergenen - Allgemeine Betrachtungen und Validierung von Verfahren / Foodstuffs - Detection of food allergens - General considerations and validation of

- methods
20. Ministry of Health and Welfare, JSM, Japan 2006
 21. Working Group Food Allergens, Abbott et al., Validation Procedures for Quantitative Food Allergen ELISA Methods: Community Guidance and Best Practices JAOAC Int. 93:442-50 (2010)
 22. Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity (WGPAT): Méndez et al. Report of a collaborative trial to investigate the performance of the R5 enzyme linked immunoassay to determine gliadin in gluten-free food. Eur J Gastroenterol Hepatol. 17:1053-63 (2005)
 23. DLA Publikation: Performance of ELISA and PCR methods for the determination of allergens in food: an evaluation of six years of proficiency testing for soy (Glycine max L.) and wheat gluten (Triticum aestivum L.); Scharf et al.; J Agric Food Chem. 61(43):10261-72 (2013)
 24. EFSA (2014) Scientific Opinion on the evaluation of allergenic foods and food ingredients for labelling purposes¹, EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA), European Food Safety Authority (EFSA), Parma, Italy, EFSA Journal 2014;12(11):3894
 25. IRMM, Poms et al.; Inter-laboratory validation study of five different commercial ELISA test kits for determination of peanut residues in cookie and dark chocolate; European Commission, Joint Research Centre, Belgium; GE/R/FSQ/D08/05/2004
 26. Jayasena et al. (2015) Comparison of six commercial ELISA kits for their specificity and sensitivity in detecting different major peanut allergens. J Agric Food Chem. 2015 Feb 18;63(6):1849-55
 27. ASU §64 LFGB L 06.00-56 Bestimmung von Sojaprotein in Fleisch und Fleischerzeugnissen Enzymimmunologisches Verfahren (2007)
 28. ASU §64 LFGB L 00.00-69 Bestimmung von Erdnuss-Kontaminationen in Lebensmitteln mittels ELISA im Mikrotiterplattensystem (2003)
 29. ASU §64 LFGB L 44.00-7 Bestimmung von Haselnuss-Kontaminationen in Schokolade und Schokoladenwaren mittels ELISA im Mikrotiterplattensystem (2006)
 30. ASU §64 LFGB L 16.01-9 Untersuchung von Lebensmitteln - Bestimmung von Soja (Glycine max) in Getreidemehl mittels real-time PCR (2016)
 31. ASU §64 LFGB L 18.00-20 Untersuchung von Lebensmitteln - Nachweis und Bestimmung von Mandel (Prunus dulcis) in Reis- und Weizenkeksen sowie in Soßenpulver mittels real-time PCR (2014)
 32. ASU §64 LFGB L 18.00-22 Untersuchung von Lebensmitteln - Simultaner Nachweis und Bestimmung von Lupine, Mandel, Paranuss und Sesam in Reis- und Weizenkeksen sowie Soßenpulver mittels real-time PCR (2014)
 33. ASU §64 LFGB L 08.00-59 Untersuchung von Lebensmitteln - Nachweis und Bestimmung von Senf (Sinapis alba) sowie Soja (Glycine max) in Brühwürsten mittels real-time PCR (2013)
 34. ASU §64 LFGB L 08.00-65 Untersuchung von Lebensmitteln - Simultaner Nachweis und Bestimmung von schwarzem Senf (Brassica nigra L.), braunem Senf (Brassica juncea L.), weißem Senf (Sinapis alba). Sellerie (Apium graveolens) und Soja (Glycine max) in Brühwurst mittels real-time PCR (2016)
 35. Weber & Hauser (2007) Bestimmung von Aprikosenkernbestandteilen in Marzipan und Marzipanvorstufen mittels Realtime-(Sonden)-PCR, Deutsche Lebensmittel-Rundschau 103:416-419
 36. Luber et al. (2012) Apricot DNA as an Indicator for Persipan: Detection and Quantitation in Marzipan Using Ligation-Dependent Probe Amplification. J. Agric. Food Chem. 2012, 60, 5853-5858

DLA 38/2016 - Persipan in Marzipan

Alle 10 Teilnehmer haben fristgerecht Ergebnisse eingereicht. Die Auswertung des Parameters Persipan in Marzipan erfolgte qualitativ anhand der Konsenswerte für zwei unterschiedliche Proben von Marzipanrohmasse. Für eine quantitative Bewertung lagen zuwenige Ergebnisse vor. Details zu den einzelnen Parametern sind dem Auswertebericht zu entnehmen. 1 Teilnehmer hatte seinen Sitz im Europäischen Ausland (Schweiz).