

Proficiency Tests

DLA

food
cosmetics
consumer goods
www.dla-lvu.de

Auswertungs-Bericht

Laborvergleichsuntersuchung

DLA 23/2016

Belastetes Lebensmittel:

Ochratoxin A in Süßholz

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

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

<i>EP-Anbieter</i> <i>PT-Provider</i>	<p>DLA - Dienstleistung Lebensmittel Analytik GbR Gesellschafter: Dr. Gerhard Wichmann und Dr. Matthias Besler</p> <p>Waldemar-Bonsels-Weg 170, 22926 Ahrensburg, Germany</p> <p>Tel. ++49(0)171-1954375 Fax. ++49(0)4102-9944976 eMail. proficiency-testing@dla-lvu.de</p>
<i>EP-Nummer</i> <i>PT-Number</i>	DLA 23/2016
<i>EP-Koordinator</i> <i>PT-Coordinator</i>	Dr. Gerhard Wichmann
<i>Status des EP-Bericht</i> <i>Status of PT-Report</i>	Abschlussbericht / Final report : 26.01.17
<i>EP-Bericht Freigabe</i> <i>PT-Report Authorization</i>	<p>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: 26. Januar 2017</p>
<i>Unteraufträge</i> <i>Subcontractors</i>	<p>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.</p>

Inhalt

1. Einleitung.....	4
2. Durchführung.....	4
2.1 Untersuchungsmaterial.....	4
2.1.1 Homogenität.....	5
2.1.2 Stabilität.....	6
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.....	10
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 Ochratoxin A in µg/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 eine Mischung von unterschiedlichen Süßholzpulvern und einem Süßholzextrakt (Anteil 12%) mit einem natürlichen, bestimmbareren Gehalt an Ochratoxin A und mit einem Microtracer-Premix (Weizenmehl, Microtracer-Eisen-Partikel/FSS-rot lake) zur Homogenitätsprüfung. Die Rohstoffe wurden gesiebt, zusammen gegeben, homogenisiert und anschließend erneut gesiebt.

Ca 4 kg des Materials wurden zu ca. 50 Gramm in metallisierte PET-Folienbeutel abgepackt. Die Portionen wurden chronologisch nummeriert.

Die Nachweisbarkeit von Ochratoxin A wurde anhand von Voruntersuchungen des Materials sichergestellt.

Das Material wurde auf Homogenität überprüft.

2.1.1 Homogenität

Die **Mischungshomogenität vor der Abfüllung** wurde in 10-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 87% 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 0,7 erhalten. Die Ergebnisse der Microtracer-Analyse sind in der Dokumentation angegeben.

Die Werte der Variationskoeffizienten aus den **Wiederholstandabweichungen** (VK_r) wurden ebenfalls als Homogenitätskriterium für diese LVU herangezogen, siehe Tabelle 1. Der Variationskoeffizient VK_r ist vergleichbar mit den Präzisionsdaten der jeweiligen genormten Methoden (s. 3.6.2) (vgl. Tab. 2) [18-19]. Die Wiederholstandardabweichungen der Teilnehmer sind bei den statistischen Kennzahlen angegeben (4.1). Im Vergleich zu den vergangenen LVU's ist der Variationskoeffizient VK_r und der Quotient S^*/σ_{pt} der vorliegenden LVU in gleicher Größenordnung, siehe Tabelle 3 (3.6.3.).

	VK_r	Quotient S^*/σ_{pt}
Ochratoxin A	7,51 %	1,5

Tabelle 1: Zusammenstellung des Variationskoeffizienten VK_r und des Quotienten S^*/σ_{pt} der vorliegenden LVU.

Desweiteren wurde die Homogenität anhand der **Trendlinien-Funktion der Teilnehmerergebnisse für die chronologisch abgefüllten Einzel-Proben** charakterisiert. Die maximale Abweichung der Trendlinie vom Mittelwert lag für Ochratoxin A im Bereich von 40 % der Zielstandardabweichung σ_{pt} (s. 5.2 Homogenität) und ist als erhöht zu beurteilen. Ursache hierfür ist die relativ große Variabilität zwischen den Teilnehmern (Vergleichsstandabweichung) bei normaler Wiederholstandabweichung.

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 zeigten bei vergleichbarer Trockenmasse (a_w -Wert $< 0,5$) und Matrix eine gute Lagerstabilität bezüglich der Haltbarkeit der Probe (Verderb) und des Gehalts an Ochratoxin A. Das Proben-Material ist somit bei Raumtemperatur und trockener lichtgeschützter Lagerung stabil gegenüber mikrobiellem Verderb.

2.2 Probenversand und Informationen zur Untersuchung

An jeden Teilnehmer wurden in der 47. Kalenderwoche 2016 zwei identische Portionen des Untersuchungsmaterials verschickt. Die Untersuchungsverfahren wurden freigestellt. Die Untersuchungen waren durchzuführen bis spätestens 6. Januar 2017.

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

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 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, Informationen zur Bestimmungsgrenze, zum Datum, an der die Analyse durchgeführt wurde und allgemeine Hinweise zur Methode.

Alle 10 Teilnehmer haben fristgerecht Ergebnisse abgegeben.

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.

Wird von einem Teilnehmer zu einem Parameter zwei Ergebnisse eingereicht, die mit unterschiedlichen Methoden erhalten wurden, werden beide Ergebnisse in die Auswertung mit einbezogen. Die Teilnehmernummer wird mit dem Suffix a bzw. b erweitert. Zur Methoden-Beschreibung siehe unter Dokumentation 5.1.

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 inner-

halb 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 Vergleichsstandardabweichung

Die Vergleichsstandardabweichung 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 Vergleichsstandardabweichung 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 Dezimalstellen angegeben werden. Die Angabe von 3 Dezimalstellen 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 Analysenmethoden eingesetzt werden, geeignet ist. Die Zielstandardabweichung aus der Auswertung von Präzisionsdaten eines Versuchs leitet sich dagegen aus Ringversuchen mit vorgegebener Analysenmethode 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 wurde in der vorliegenden LVU die Zielstandardabweichung des allgemeinen Modells nach Horwitz/ Thompson (s. 3.6.1) verwendet.

Zur Information wird zusätzlich die Zielstandardabweichung eines Versuchs zur Präzision angegeben (ASU §64 Methoden: [18]), siehe 3.6.2/ Tabelle 2.

3.6.1 Allgemeines Modell nach Horwitz

Anhand der in zahlreichen LVUs für unterschiedliche Parameter und Analysenmethoden 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
$\sigma_R = 0,22c$	$c < 1,2 \times 10^{-7}$	$< 120 \mu\text{g}/\text{kg}$
$\sigma_R = 0,02c^{0,8495}$	$1,2 \times 10^{-7} \leq c \leq 0,138$	$\geq 120 \mu\text{g}/\text{kg}$
$\sigma_R = 0,01c^{0,5}$	$c > 0,138$	$> 13,8 \text{ g}/100\text{g}$

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

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 2 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 bzw. zur Information zusätzlich bei den Kennzahlen angegebenen.

Tabelle 2: Relative Wiederholstandardabweichungen (RSD_r) und relative Vergleichsstandardabweichungen (RSD_R) gemäß ausgewählter Auswertungen von Versuchen zur Präzision und die resultierende Zielstandardabweichung σ_{pt} [18-19]

Parameter	Matrix	Mittelwerte ($\mu\text{g/kg}$)	RSD_r	RSD_R	σ_{pt}	Methode / Literatur
Ochratoxin A	Sultaninen	11,39	5,6 %	14,3 %	13,7 % ¹	IAC/HPLC [18]
Ochratoxin A	Korinthen	4,51	5,7 %	28,4 %	28,1 %	IAC/HPLC [18]
Ochratoxin A	Rosinen	7,55	4,9 %	14,0 %	13,6 %	IAC/HPLC [18]
Ochratoxin A	Gerste	4,5	14 %	15 %	11,3 %	IAC/HPLC [19]
Ochratoxin A	Röstkaffee	5,5	2 %	14 %	13,9 %	IAC/HPLC [19]

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 wurden die Zielstandardabweichungen gemäß 3.6.1 als geeignet angesehen.

Tabelle 3 zeigt ausgewählte Kenndaten der Teilnehmer-Ergebnisse der vorliegenden LVU im Vergleich zu LVU Ergebnissen der Vorjahre.

Tabelle 3: Kenndaten der aktuellen LVU (blaugrau unterlegt) im Vergleich zu den vorangegangenen LVUs ab 2013 (SD = Standardabweichung, VK = Variationskoeffizient)

Parameter	Matrix (Pulver)	rob. Mittelwert (µg/kg)	rob. SD (S*) (µg/kg)	rel. SD (VK _{S*}) [%]	Quotient S*/σ _{pt}	DLA-Bericht
Ochratoxin A	Süßholz-Pulver	39,5	13,4	33,9 %	1,5	23-2016
Ochratoxin A	Gewürz	42,1	27,9	66,2 %	1,9	24-2016
Ochratoxin A	Traubensaft	11,6	4,13	35,6 %	1,6	25-2016
Ochratoxin A	Gewürz	52,7	31,9	60,5 %	2,0	19-2015
Ochratoxin A	Kaffee	7,6	2,3	30,3 %	1,3	14-2014
Ochratoxin A	Gewürz	2,35	0,83	35,3 %	0,9	16-2014
Ochratoxin A	Süßholz-Pulver	41,5	8,5	20,5 %	0,9	13-2013
Ochratoxin A	Gewürz	26,8	9,1	40,0 %	1,5	14-2013

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]. Gleichmaßen 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].

3.8 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 Einzelergebnisse der teilnehmenden Labore aufgeführt:

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

4.1 Ochratoxin A in µg/kg**Vergleichsuntersuchung / Proficiency Test**

Kenndaten	
Anzahl der Messergebnisse	9*
Anzahl der Ausreißer	0
Mittelwert	38,7
Median	40,8
Robuster Mittelwert (X_{pt})	39,5
Robuste Standardabweichung (S^*)	13,4
Anzahl mit 2 Wiederholmessungen	9
Wiederholstandardabweichung (S_r)	2,91
Variationskoeffizient (VK_r)	7,51%
Vergleichsstandardabweichung (S_R)	13,5
Variationskoeffizient (VK_R)	34,8%
<i>Zielkenndaten:</i>	
Zielstandardabweichung σ_{pt}	8,68
Zielstandardabweichung (zur Information)	5,42
Untere Grenze des Zielbereichs	22,1
Obere Grenze des Zielbereichs	56,8
Quotient S^*/σ_{pt}	1,5
Standardunsicherheit $U(X_{pt})$	5,58
Quotient $U(X_{pt})/\sigma_{pt}$	0,64
Ergebnisse im Zielbereich	8
Prozent im Zielbereich	89%

* Teilnehmer Nr. 4 wurde von der statistischen Auswertung ausgeschlossen, da das Ergebnis um einen Faktor > 500 vom rob. Mittelwert abweicht, einen deutlichen Einfluss auf die rob. Statistik hat und außerhalb der Normalverteilung liegt, siehe Fig. 2/ Kerndichteschätzung.

Anmerkungen zu den Kenndaten:

Die Zielstandardabweichung wurde nach dem Modell nach Horwitz/ Thomson berechnet. Die angegebene Zielstandardabweichung „zur Information“ wurde nach ASU §64 LFGB L30.00-5 (Sultaninen) berechnet, siehe 3.6.2 .

Die Verteilung der Ergebnisse zeigte eine normale Variabilität. Der Quotient S^*/σ_{pt} lag deutlich unter 2,0. Der Variationskoeffizient (bezüglich der robusten Standardabweichung, VK_{s^*}) liegt im Bereich von vorangegangenen LVUs (vgl. 3.6.3). Die Vergleichbarkeit der Ergebnisse ist gegeben.

Wiederhol- und Vergleichsstandardabweichung liegen im Bereich von etablierten Werten für die eingesetzten Bestimmungsmethoden (vgl. 3.6.2).

Der Quotient $U(X_{pt})/\sigma_{pt}$ ist mit 0,64 als erhöht zu beurteilen.

89 % der Ergebnisse lagen im Zielbereich.

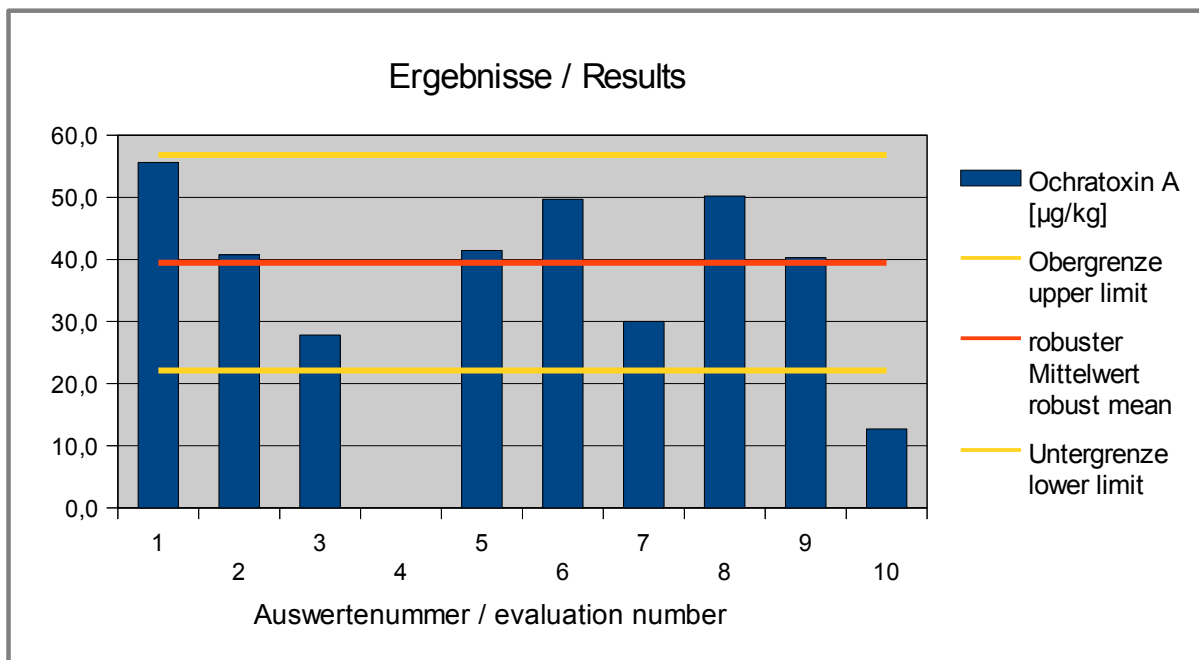


Abb. / Fig. 1: Ergebnisse Ochratoxin A / Results Ochratoxin A

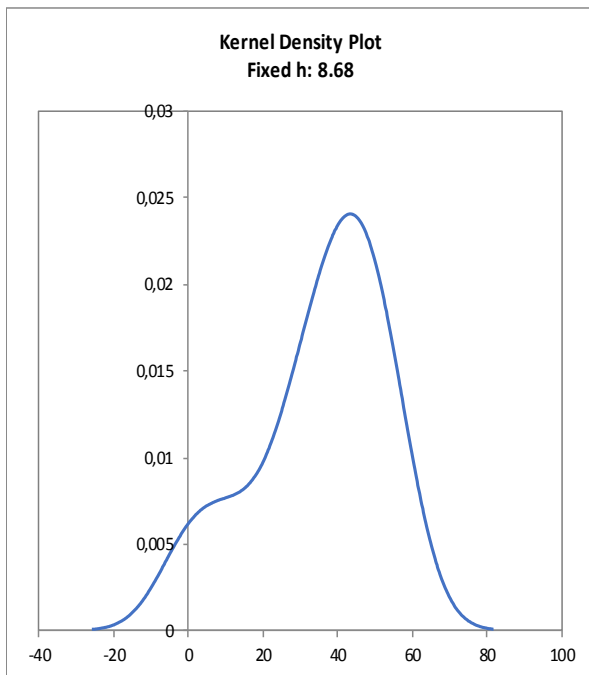


Abb. / Fig. 2:

Kerndichte-Schätzung der Ergebnisse (mit $h = \sigma_{pt}$ von $X_{pt} = 8,68 \mu\text{g/kg}$)

Kernel density plot of results (with $h = \sigma_{pt}$ of $X_{pt} = 8,68 \mu\text{g/kg}$)

Anmerkung:

Die Kerndichte-Schätzung zeigt eine Normalverteilung der Ergebnisse mit deutlicher Schulter bei $0,1 \mu\text{g/kg}$, die auf das Teilnehmerergebnis Nr. 4 zurückgeht.

Ergebnisse der Teilnehmer:
Results of Participants:

Auswertenummer Evaluation number	Ochratoxin A [µg/kg]	Abweichung [µg/kg] Deviation [µg/kg]	z-Score (σ _{pt})	z-Score (Info)	Hinweis Remark
1	55,6	16,1	1,9	3,0	
2	40,8	1,29	0,1	0,2	
3	27,8	-11,66	-1,3	-2,2	
4	0,0702*				Ergebnis ausgeschlossen/ Result excluded
5	41,4	1,96	0,2	0,4	
6	49,7	10,2	1,2	1,9	
7	30,0	-9,46	-1,1	-1,7	
8	50,2	10,7	1,2	2,0	
9	40,3	0,84	0,1	0,2	
10	12,7	-26,8	-3,1	-4,9	

* Mittelwert von DLA berechnet

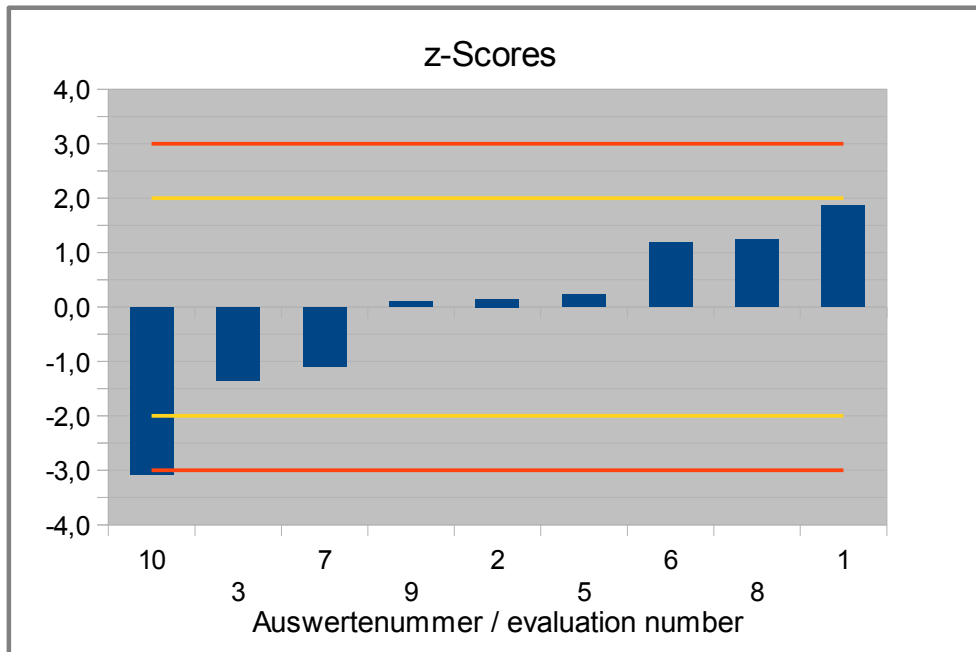


Abb. / Fig. 3: Z-Scores Ochratoxin A

5. Dokumentation

5.1 Angaben der Teilnehmer

5.1.1 Primärdaten

5.1.1.1 Ochratoxin A

Teilnehmer/ participant	Ergebnis/ result	DLA-Nr Probe A/ sample A	DLA-Nr Probe B/ sample B	Datum der Analyse/ date of the analysis	Ergebnis A/ result A	Ergebnis B/ result 2B	Bestimmungs- grenze/ Limit of determination
	µg/kg			Tag/Monat	µg/kg	µg/kg	µg/kg
1	55,6	17	60	05.12.17	54,6	56,5	3
2	40,75	37	68	21.12.17	40,49	41,02	0,3
3	27,8	44	70	21.12.16	25,7	29,9	5 µg/kg
4	0,0702*	0,0706/ Nr. 66	0,0697/ Nr 31	04.01.17	0,0019	0,0021	0,001
5	41,42	10	35	02.01.17	46,83	36,01	1
6	49,7	26	42	29.12.	48,6	50,7	0,5 µg/kg
7	30,0	63	49	04.12.16	29,6	30,4	5
8	50,2	1	76	12.12.	49,2	51,1	2
9	40,3	14	52	5./6.12	39,5	41	1
10	12,7	23	56	04.01.17	13,5	11,9	0.10 ng/mL

* Mittelwert von DLA berechnet

5.1.2 Analytische Methoden

5.1.2.1 Ochratoxin A

Teilnehmer/ participant	Wiederfindung mit gleicher Matrix/ recovery with the same matrix	Methode/ method	Methode ist akkreditiert/ method is accredited	Sonstige Hinweise/ further remark
	ja / nein		ja / nein	
1	nein	Extraktion mit 1% Natriumbicarbonat, zentrifugiert und filtriert, Reinigung mit IAC, analysiert mit HPLC und Fluoreszenzdetektor	ja	
2	nein	§64 LFGB L15.00-1, mod.	ja	
3	ja	nach Immunoaffinitätsaufarbeitung mittels HPLC/Fluoreszenz modifiziert nach ASU § 64 LFGB	ja	OTA erschien leider als Aufsetzerpeak
4	ja	Interne Methode		
5	ja	HPLC-Fluoreszenz	ja	
6	ja	ASU L 00.00-50a (EG), SOP M 1386, LC-MS/MS	ja	Wiederfindung berechnet anhand internen Standards.
7	ja	ASU §64 LFGB L15.03-1 mod.	ja	
8	ja	Ochratoxin A, (HPLC-FLD), PV 805091:	ja	n.a.
9	ja	Bestimmung von Ochratoxin A in Süßholz mit HPLC (PV3077 (2007-01))	ja	
10	nein	LC/MS/MS	ja	Reinigung mit IAC

IAC = Immunoaffinitätssäule

5.2 Homogenität

5.2.1 Mischungshomogenität vor der Abfüllung

Die Homogenität der Mischung wurde vor dem Abpacken in einer 10-fach Untersuchung (Microtracer-Analyse) überprüft.

Microtracer Homogenitätstest

DLA 33-2016

Gewicht Gesamtprobe	4,007	kg
Microtracer	FSS-rot lake	
Teilchengröße	75 – 300	µm
Gewicht pro Partikel	2,0	µg
Tracerzugabe	19,8	mg/kg

Analysenergebnisse:

Probe	Einwaage [g]	Partikel Anzahl	Partikel [mg/kg]
1	9,54	82	17,2
2	10,15	96	18,9
3	9,15	89	19,5
4	9,48	80	16,9
5	9,89	96	19,4
6	9,71	78	16,1
7	10,63	84	15,8
8	8,22	77	18,7
9	9,74	81	16,6
10	9,15	82	17,9

Poisson-Verteilung

Probenanzahl	10	
Freiheitsgrad	9	
Mittelwert	84,7	Partikel
Standardabweichung	6,56	Partikel
χ^2 (CHI-Quadrat)	4,58	
Wahrscheinlichkeit	87	%
Wiederfindungsrate	90	%

Normalverteilung

Probenanzahl	10	
Mittelwert	17,7	mg/kg
Standardabweichung	1,37	mg/kg
rel. Standardabweichung	7,8	%
Horwitz Standardabweichung	10,4	%
HorRat-Wert	0,7	
Wiederfindungsrate	90	%

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:

Name			
Zielstandardabweichung σ_{pt}	10,6		$\mu\text{g}/\text{kg}$
Probennummern	1 - 76		
Anzahl der Proben	16*		
Steigung	-0,551		
Trendlinienbereich	46,6	-	37,8 $\mu\text{g}/\text{kg}$
Abweichung Trendlinie	42,2	\pm	4,41 $\mu\text{g}/\text{kg}$
Prozent von σ_{pt}	41,8	%	

* Ohne Nr. 4 und 10.

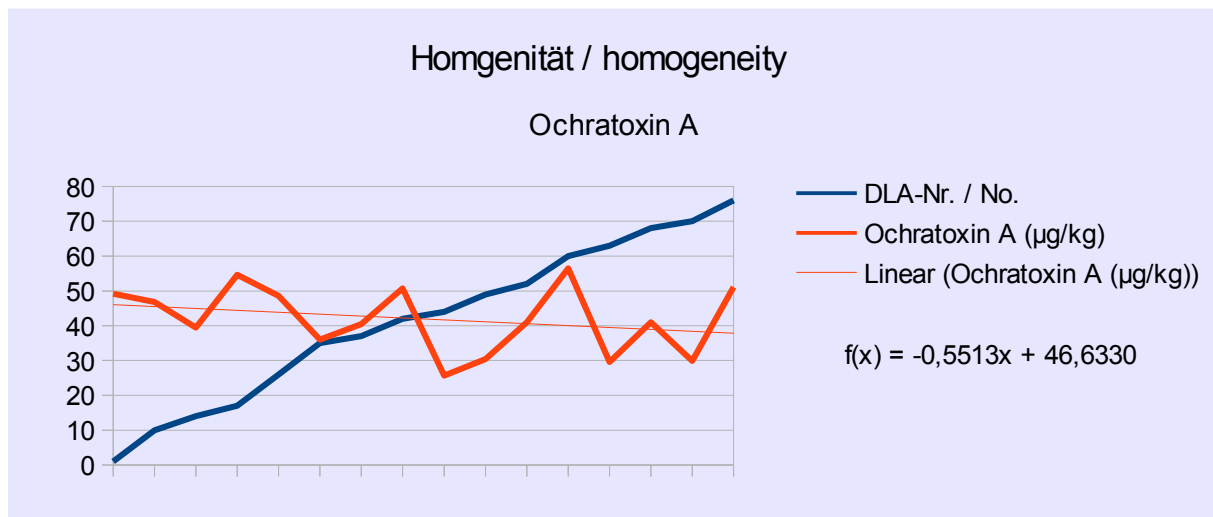


Abb./Fig. 4:

Trendfunktion Probennummern vs. Ergebnisse
trend line function sample number vs. results

6. Verzeichnis der Teilnehmer in alphabetischer Reihenfolge

Teilnehmer/ participant	Ort/ town	Land/ country
		Deutschland
		Deutschland
		USA
		Deutschland
		Deutschland
		Deutschland
		ITALIEN
		Deutschland
		IRLAND
		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 Futtermittelsrechts 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. EG-VO 401-2006 zur Festlegung der Probenahmeverfahren und Analysemethoden für die amtliche Kontrolle des Mykotoxingehalts von Lebensmitteln
17. 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)
18. ASU §64 LFGB 30.00-5: Bestimmung von Ochratoxin A in Korinthen, Rosinen, Sultaninen, gemischtem Trockenobst und getrockneten Feigen (Jan. 2011)
19. ASU §64 LFGB 15.03-1: Bestimmung von Ochratoxin A in Gerste (Jan. 2010)
20. Report on the 2007 Proficiency Test for the Determination of Ochratoxin A in Capsicum ssp (Paprika Powder), J.Stroka et al., JRC Scientific and Technical Reports, European Commission EUR 23382 EN, European Communities, 2008

DLA 23/2016 - Ochratoxin A in Süßholz

Alle 10 Teilnehmer haben fristgerecht Ergebnisse eingereicht. Einteilnehmer wurde von der statistischen Auswertung ausgeschlossen. Die Auswertung von Ochratoxin A in Süßholz-Pulver erfolgte mit der Zielstandardabweichung des allgemeinen Modells nach Horwitz/Thompson.

Es lagen für Ochratoxin A 89% der Teilnehmer im Zielbereich. Details sind dem Auswertebereicht zu entnehmen.

2 Teilnehmer hatten ihren Sitz im Europäischen Ausland (Italien, Irland), ein Teilnehmer kam aus dem außer-europäischen Ausland (USA).