Proficiency Tests
DLA
food
cosmetics
consumer goods
www.dla-lvu.de

Auswertungs-Bericht
Laborvergleichsuntersuchung

DLA 15/2018

Response PT Milch:

5 prozessierte Proben Milch, Molke, Joghurt, Quark und Sahne

in Kartoffelpulver-Matrix

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-Scharf

Nachdruck, auch auszugsweise, nur mit schriftlicher Genehmigung von DLA-Ahrensburg

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

EP-Anbieter *PT-Provider*	**DLA - Dienstleistung Lebensmittel Analytik GbR** Gesellschafter: Dr. Gerhard Wichmann und Dr. Matthias Besler-Scharf Waldemar-Bonsels-Weg 170, 22926 Ahrensburg, Germany Tel. ++49-(0)4532-9183358 Mob. ++49(0)171-1954375 Fax. ++49(0)4102-9944976 eMail. proficiency-testing@dla-lvu.de
EP-Nummer *PT-Number*	DLA 15/2018
EP-Koordinator *PT-Coordinator*	Dr. Matthias Besler-Scharf
Status des EP-Bericht *Status of PT-Report*	Abschlussbericht / Final report (16. Oktober 2018) 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.
EP-Bericht Freigabe *PT-Report Authorization*	Dr. Matthias Besler-Scharf (Technischer Leiter / Technical Manager) *- gezeichnet / signed M. Besler-Scharf* Dr. Gerhard Wichmann (QM-Beauftragter / Quality Manager) *- gezeichnet / signed G. Wichmann* Datum / Date: 16. Oktober 2018
Unteraufträge *Subcontractors*	Falls im Rahmen der Eignungsprüfung eine Prüfung der Gehalte, Homogenität und Stabilität von EP-Parametern durchgeführt wurde, hat DLA diese im Unterauftrag vergeben. In case the analysis of the content, homogeneity and stability of PT-parameters was part of the proficiency test, the determinations were subcontracted by DLA.
Vertraulichkeit *Confidentiality*	Die Teilnehmerergebnisse sind im EP-Bericht in anonymisierter Form mit Auswertenummern benannt. Daten einzelner Teilnehmer werden ausschließlich nach vorheriger Zustimmung des Teilnehmers an Dritte weitergegeben. Participant result are named anonymously with evaluation numbers in the PT report. Data of individual participants will be passed on to third parties only with prior consent of the participant.

Nachdruck, auch auszugsweise, nur mit schriftlicher Genehmigung von DLA-Ahrensburg

Inhalt

1. Einleitung....4
2. Durchführung....5
2.1 Untersuchungsmaterial....5
2.1.1 Homogenität....7
2.1.2 Stabilität....7
2.2 Probenversand und Informationen zur Untersuchung....8
2.3 Ergebnisübermittlung....8
3. Auswertung....9
3.1 Qualitativer Score....10
3.2 Wiederfindungs-Score (WFR-Score)....10
3.2.1 Wiederfindungsraten eines Versuchs zur Präzision 11
3.2.2 Werte aus Erkenntnissen 13
4. Ergebnisse....14
4.1 Vergleichsuntersuchung Milchprodukte....15
4.1.1 Qualitative Scores: ELISA-Methoden Milchprotein / Casein....15
4.1.2 Qualitative Scores: ELISA-Methoden β-Lactoglobulin....16
4.1.3 Qualitative Scores: LC/MS-Methoden....16
4.1.4 Quantitativ: ELISA-Methoden Milchprotein / Casein Wiederfindungs-Scores (WFR-Scores)....17
4.1.5 Quantitativ: ELISA-Methoden β-Lactoglobulin Wiederfindungs-Scores (WFR-Scores)....18
4.1.6 Quantitativ: LC/MS-Methoden Wiederfindungs-Scores (WFR-Scores)....19
5. Dokumentation....22
5.1 Angaben der Teilnehmer....22
5.1.1 ELISA-Methoden (Milchprotein / Casein)....22
5.1.2 ELISA-Methoden (β-Lactoglobulin)....24
5.1.3 LC/MS-Methoden....25
5.2 Homogenität....26
5.2.1 Mischungshomogenität vor der Abfüllung....26
5.3 Informationen zur Eignungsprüfung (EP)....29
6. Verzeichnis der Teilnehmer in alphabetischer Reihenfolge....30
7. Verzeichnis relevanter Literatur....31

Nachdruck, auch auszugsweise, nur mit schriftlicher Genehmigung von DLA-Ahrensburg

1. Einleitung

Die Teilnahme an Laborvergleichsuntersuchungen (LVU) bzw. Eignungsprüfungen (EP, englisch Proficiency Test - 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].

Das vorliegende Eignungsprüfungs-Format **„Response PT - Allergene"** bietet die Möglichkeit anhand von jeweils 5 unterschiedlich prozessierten Produkten eines Allergens in einfacher Trägermatrix sowie einer „Nullprobe" nachzuweisen, dass mit der analytischen Bestimmungsmethode des teilnehmenden Labors die betreffenden prozessierten Allergene qualitativ erfasst werden können und quantitative Response-Faktoren für die jeweiligen prozessierten Produkte zu ermitteln.
Um eine Vergleichbarkeit der prozessierten Produkte zu gewährleisten werden die Allergen-Konzentrationen der PT-Probenreihe als Milchprotein-Gehalt auf ein annähernd gleiches Niveau eingestellt. Der Milchprotein-Gehalt der Probe mit Molke wurde höher eingestellt. Die Auswertung der PT-Ergebnisse erfolgt qualitativ in Scores von 1-5 (Score 5 = alle Prozessierungen erfolgreich erfasst). Quantitative Ergebnisse werden unter Angabe der erzielten Wiederfindungsrate informativ mit einem Wiederfindungs-Score im Bericht angegeben.

Nachdruck, auch auszugsweise, nur mit schriftlicher Genehmigung von DLA-Ahrensburg

2. Durchführung

2.1 Untersuchungsmaterial

Zur Untersuchung wurden 6 LVU-Proben für den qualitativen Nachweis und ggf. die quantitative Bestimmung von Milchprotein (Casein, β-Lactoglobulin) in Milch, Quark, Joghurt, Sahne und Molke in einer Trägermatrix aus Kartoffelpulver/Maltodextrin zur Verfügung gestellt.

Die jeweiligen Rohstoffe für die Probenreihe waren handelsübliche Milchprodukte. Pro PT-Probe wurden jeweils 4-5 Produkte unterschiedlicher Herkunft verarbeitet. Die wasserhaltigen Produkt-Mischungen wurden vor der weiteren Verwendung bei 35-40° getrocknet.
Anschließend wurden Vormischungen mit Gehalten von ca. 2,8 - 33 % der betreffenden allergenen Zutaten hergestellt (s. Tab. 1). Hierzu wurden die Produkte ggf. vorzerkleinert, gravimetrisch mit weiteren Zutaten gemischt, mittels Kugelmühle zerkleinert und homogenisiert. Die Allergen-Vormischungen wurden anschließend zur Trägermatrix Kartoffelpulver / Maltodextrin (mesh < 500 µm) gegeben und homogenisiert. Ein Aliquot der Trägermatrix wurde als „Null"-Probe abgenommen.

Die 6 PT-Proben wurden zu Portionen von ca. 20 g in metallisierte PET-Folienbeutel abgefüllt.

Die Milchprotein-Gehalte der PT-Probenreihe lagen im Bereich von 38 bis 41 mg/kg bzw. für Molkenpulver bei 63 mg/kg (s. Tabelle 1).

Jeder zugewiesene Wert, hier die dotierten Allergen-Gehalte, sind mit einer Standardunsicherheit behaftet. Als Unsicherheiten wurden u.a. folgende Faktoren berücksichtigt: Proteingehalt des Dotierungsmaterials, Mischungshomogenität, Homogenität und Stabilität von Milchprotein.
Alle Unsicherheitsbeiträge wurden in Form von Standardabweichungen ausgedrückt und als Varianzen addiert. Die Wurzel aus der Summe der Gesamtvarianzen ergibt die kombinierte Unsicherheit "Uc", die mit dem Erweiterungsfaktor k=2 multipliziert die erweiterte Unsicherheit der zugewiesenen Werte "$U(X_{pt})$" ergibt [3, 13, 16 - 17].

Nachdruck, auch auszugsweise, nur mit schriftlicher Genehmigung von DLA-Ahrensburg

Tabelle 1: Zusammensetzung der DLA-Proben

PT-Probenreihe	**Probe 1** Milch	**Probe 2** Quark	**Probe 3** Sahne	**Probe 4** Joghurt	**Probe 5** Molke	**Probe 6** „Null"
Zutaten	**g/100 g**	**g/100g**	**g/100g**	**g/100g**	**g/100g**	**g/100g**
Kartoffelpulver Zutaten: Kartoffeln, E471, E304, E223, E100 Nährwertangaben pro 100 g: Protein 8,3 g, Kohlenhydrate 76 g, Fett 0,6 g, Salz 0,15 g	75	75	74	74	75	75
Maltodextrin	24	25	25	25	25	25
Allergen-Vormischungen Zutaten: Maltodextrin (65-80%), Titandioxid (< 25%), Siliciumdioxid (< 1,2-2%), prozessierte Allergenprodukte (je 2,8 % - 33 % Trockengewicht)	0,98	0,34	0,85	0,81	0,12	-
Allergen-Gehalte	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg
*Vollmilch, getrocknet** Protein 25,0 % ** *(5 Produkte, Deutschland)*	154	-	-	-	-	-
*Speisequark, getrocknet** Protein 43,3 % ** *(5 Produkte, Deutschland)*	-	95,4	-	-	-	-
*Schlagsahne, getrocknet** Protein 6,33 % ** *(5 Produkte, Deutschland)*	-	-	624	-	-	-
*Joghurt, getrocknet** Protein 25,0 % ** *(5 Produkte, Deutschland)*	-	-	-	154	-	-
*Molkenpulver ** Protein 15,9 % ** *(4 Produkte, Deutschland)*	-	-	-	-	398	-
- als Milchproteine	38,6	41,3	39,5	38,6	63,3	-
erweiterte kombinierte Unsicherheit (k=2) des Milchprotein-Gehalts (= ± 11 %)	± 4,25	± 4,54	± 4,35	± 4,25	± 6,96	-

*Allergen-Gehalte als „Lebensmittel" wie in Spalte „Zutaten" angegeben gemäß gravimetrischer Mischung
** Proteingehalt gemäß Laboranalyse der Rohstoffmischungen bezogen auf Trockenmasse (Gesamtstickstoff nach Kjeldahl mit F=6,38 für Milchprotein)
Hinweis: *Die metrologische Rückführung von Temperatur, Masse und Volumen bei der Herstellung der LVU-Proben wird mittels DAkkS-kalibrierter Referenzmaterialien gewährleistet.*

Nachdruck, auch auszugsweise, nur mit schriftlicher Genehmigung von DLA-Ahrensburg

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 ≥ 5% ist gleichzusetzen mit einer guten homogenen Mischung und von ≥ 25% mit einer exzellenten Mischung [14, 15]. Die Microtracer-Analyse der vorliegenden LVU-Proben 1 bis 5 hat eine Wahrscheinlichkeit von 98%, 80%, 68%, 95% bzw. 98% ergeben. Die Partikel-Ergebnisse wurden zusätzlich in Konzentrationen umgerechnet, statistisch als Normalverteilung ausgewertet und mit der Standardabweichung nach Horwitz verglichen. Für die Beurteilung sind HorRat-Werte zwischen 0,3 und 1,3 unter Wiederholbedingungen (Messungen innerhalb des Labors) zu akzeptieren [18]. Es wurden HorRat-Werte von 0,59, 0,86, 0,85, 0,61 bzw. 0,62 erhalten. Die Ergebnisse der Microtracer-Analyse sind in der Dokumentation angegeben.

2.1.2 Stabilität

Eine Wasseraktivität (a_w) von < 0,5 ist ein wichtiger Faktor um die Stabilität von trockenen und getrockneten Produkten während der Lagerung zu gewährleisten, optimale Bedingung für die Lagerung ist der a_w-Wert-Bereich von 0,15 – 0,3, in diesem Bereich ist die geringstmögliche Degradationsrate zu erwarten [16].

Die Erfahrungen mit diversen DLA-Referenzmaterialien zeigen bei vergleichbarer Matrix und Wasseraktivität (a_w-Wert < 0,5) eine gute Haltbarkeit der Probe und Lagerstabilität gegenüber mikrobiellem Verderb und bezüglich des Gehalts an den EP-Parametern.
Der a_w-Wert der EP-Proben lag bei ca. 0,23 (22°C). Die Stabilität des Probenmaterials war somit während des Untersuchungszeitraums unter den angegebenen Lagerbedingungen gewährleistet.

Nachdruck, auch auszugsweise, nur mit schriftlicher Genehmigung von DLA-Ahrensburg

2.2 Probenversand und Informationen zur Untersuchung

An jeden Teilnehmer wurden in der 17. Kalenderwoche 2018 je eine Portion der Untersuchungsmaterialien Proben 1 bis 6 verschickt. Die Untersuchungsverfahren wurden freigestellt. Die Untersuchungen waren durchzuführen bis spätestens 8. Juni 2018.

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

Es handelt sich um fünf unterschiedliche Proben mit ähnlichen Gehalten an dem unterschiedlich prozessierten allergenen Parameter Milch in einfacher Trägermatrix sowie eine „Null"-Probe (Trägermatrix).

- *Die Proben 1-5 sind in zufälliger Reihenfolge nummeriert und enthalten Milch, Molke, Joghurt, Quark oder Sahne mit bekannten Gehalten an Gesamt-Milchprotein als Grundlage für den Response-Vergleich der quantitativen Ergebnisse der Teilnehmer.*
- *Bitte geben Sie für alle quantitativen Ergebnisse an wie sie angegeben sind (z.B. als Gesamt-Milchprotein).*
  Mögliche Umrechnungsfaktoren auf die prozessierten Milchprodukte werden separat in der Ergebnisabgabedatei abgefragt.

Bitte beachten Sie die beiliegenden Informationen zur Eignungsprüfung.
(siehe Dokumentation unter Punkt 5.3 EP-Informationen)

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 Gehalte an allergenen Zutaten in mg/kg z.B. als allergenes Lebensmittel oder Protein.
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.

11 Teilnehmer haben fristgerecht Ergebnisse abgegeben.

Nachdruck, auch auszugsweise, nur mit schriftlicher Genehmigung von DLA-Ahrensburg

3. Auswertung

Verschiedene ELISA-Methoden zur quantitativen Bestimmung von Allergenen in Lebensmitteln können verschiedene Antikörper-Spezifitäten aufweisen, mit unterschiedlichem Referenzmaterial kalibriert worden sein und sich unterschiedlicher Extraktionsverfahren bedienen. Die verschiedenen ELISA-Methoden können daher zu einer unterschiedlichen Bewertung des Gehalts eines Analyten führen [26-29, 40]. Darüber hinaus können Matrix- und/oder Prozessierung die Nachweisbarkeit von Allergenen sowohl mittels ELISA- als auch mittels PCR-Verfahren stark beeinflussen.

In der vorliegenden LVU wurden von dem Allergen Milch fünf verschiedenartig prozessierte Produkte, Vollmilch, Joghurt, Quark, Schlagsahne und Molkenpulver zur Verfügung gestellt, um die qualitative Nachweisbarkeit und die Response in der quantitativen Bestimmung der eingesetzten Methoden ermitteln zu können.

Die Teilnehmer-Ergebnisse werden *qualitativ* mit einem Score von 1-5 bewertet, der angibt wie viele prozessierte Produkte erfolgreich erfasst wurden.
Die quantitativen Teilnehmer-Ergebnisse werden mit einem Wiederfindungs--Score *(WFR-Score)* bewertet, der angibt wie viele Ergebnisse im Bereich einer Wiederfindungsrate von 50 - 150% des Dotierungs-Levels liegen.

Nachdruck, auch auszugsweise, nur mit schriftlicher Genehmigung von DLA-Ahrensburg

3.1 Qualitativer Score

Die qualitative Bewertung der Ergebnisse jedes Teilnehmers erfolgt mit Scores von 1 - 5 anhand der Anzahl der Übereinstimmungen der Angaben „positiv" oder „negativ" mit den **Dotierungen der LVU-Probenreihe** (siehe Tab. 2). Ein Score von 5 bedeutet, dass alle prozessierten Produkte erfolgreich erfasst wurden.
Die Ergebnisse der Matrixprobe 6 („Null"-Probe) werden nicht bewertet, sofern das betreffende Teilnehmerergebnis in Übereinstimmung mit ≥75% positiver oder negativer Ergebnisse der Teilnehmer steht (Konsenswert) oder das Ergebnis unterhalb der Bestimmungsgrenze der eingesetzten Methode liegt.

Tabelle 2: Bewertung der Ergebnisse anhand von qualitativen Scores

Probe 1 Milch	Probe 2 Quark	Probe 3 Sahne	Probe 4 Joghurt	Probe 5 Molke	Probe 6 „Null"	Score qualitativ	Eignung qualitativ
pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	Anzahl erfasster Proben 1 - 5	
negativ	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ	0 (0%)	nicht erfolgreich
negativ	negativ	negativ	negativ	positiv	negativ	1 (20%)	1 Produktgruppe
negativ	negativ	negativ	positiv	positiv	negativ	2 (40%)	2 Produktgruppen
negativ	negativ	positiv	positiv	positiv	negativ	3 (60%)	3 Produktgruppen
negativ	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ	4 (80%)	4 Produktgruppen
positiv	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ	5 (100%)	5 Produktgruppen

3.2 Wiederfindungs-Score (WFR-Score)

Die Bewertung der quantitativen Ergebnisse jedes Teilnehmers für die **dotierten LVU-Proben** erfolgt anhand der Anzahl von Wiederfingsraten im Akzeptanzbereich anhand von Wiederfindungs-Scores *(WFR-Scores)*. Die Angabe der WFR-Scores wird als Anzahl von Ergebnissen im Akzeptanzbereich (s.u.) pro Anzahl quantitativ bestimmter Proben vorgenommen. Dahinter wird in Klammern der entsprechende Prozentsatz angegeben.

Die Wiederfindungsraten werden in Bezug auf das jeweilige zugesetzte prozessierte Allergen (Zusatzniveau) berechnet. Die Bezugswerte ergeben sich aus den unter 2.1 Untersuchungsmaterial in Tabelle 1 angegebenen Gehalten der Proben 1 bis 5. 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 sowie LC/MS wird ebenfalls dieser Akzeptanzbereich herangezogen.

Es werden nur exakte quantitative Angaben berücksichtigt. Einzelergebnisse die außerhalb des angegebenen Messbereiches liegen (z.B. mit der Angabe > 25 mg/kg oder < 2,5 mg/kg) oder die Angabe „0" werden nicht berücksichtigt.

Die angegebenen Wiederfindungsraten dienen u.a. einer Einschätzung von Prozessierungseinflüssen.

Nachdruck, auch auszugsweise, nur mit schriftlicher Genehmigung von DLA-Ahrensburg

3.2.1 Wiederfindungsraten eines Versuchs zur Präzision

In Ringversuchen der ASU §64 Methoden wurden abhängig von Matrix bzw. Prozessierung und Konzentrationsbereich Wiederfindungsraten im Bereich von 57 – 119% für die ELISA-Methoden und 11 – 145% für die PCR-Methoden erhalten (s. Tab. 3a und 3b). Die angegebenen Zielstandardabweichungen σ_{pt} wurden für eine Anzahl von m = 2 Wiederholmessungen berechnet.

Tabelle 3a: ELISA-Methoden - Wiederfindungsraten und Präzisionsdaten ausgewählter Auswertungen von Versuchen zur Präzision [33-34]

Parameter	**Matrix**	**Mittel-werte [mg/kg]**	**Wieder-findung**	**rob RSD_r**	**RSD_r**	**RSD_R**	**σpt**	**Methode / Literatur**
Erdnuss	Vollmilch-schokolade	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	Vollmilch-schokolade	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	Feinherb-schokolade	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	Feinherb-schokolade	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	Feinherb-schokolade	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

Die Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity (WGPAT) hat Ringversuche zur Validierung von zwei kommerziellen ELISA-Test-Kits zur Gluten-Bestimmung mittels monoklonalem R5 Antikörper durchgeführt [30]. Es wurden 12 Lebensmittelproben mit Gliadingehalten im Bereich von 0 - 168 mg/kg von 20 Laboratorien untersucht. Die Wiederfindungsraten lagen zwischen 65 und 110%, die relativen Wiederholstandardabweichungen lagen bei 13 - 25% (1. Methode) bzw. 11 - 22% (2. Methode) und die relativen Vergleichsstandardabweichungen bei 23 - 47% (1. Methode) bzw. 25 - 33% (2. Methode). Laut den Autoren erfüllten beide ELISA-Test-Kits damit die Validierungskriterien für ELISA Methoden [30].

Das IRMM (Institute for Reference Materials and Measurements) hat in einem Ringversuch die Eignung fünf verschiedener ELISA-Test-Kits zur Bestimmung von Erdnuss getestet [33}. Die Mittelwerte lagen im Konzentrationsbereich von 0,3 - 16,1 mg/kg bzw. 1,2 - 20,4 mg/kg. Die jeweils niedrigsten relativen Vergleichsstandardabweichungen der fünf Test-Kits lagen für die Matrix Bitterschokolade bei 20 - 42% und für Kekse bei 23 - 61%.

Nachdruck, auch auszugsweise, nur mit schriftlicher Genehmigung von DLA-Ahrensburg

Tabelle 3b: PCR-Methoden - Relative Wiederholstandardabweichungen (RSD_r) und relative Vergleichsstandabweichungen (RSD_R) gemäß ausgewählter Auswertungen von Versuchen zur Präzision und die resultierende Zielstandardabweichung σ_{pt} [35-38]

Parameter	**Matrix**	**Mittel-werte [mg/kg]**	**Wieder-findung**	**rob RSD_r**	**RSD_r**	**RSD_R**	**σ_{pt}**	**Methode / Literatur**
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
Weizen + Roggen	Brühwurst (100°C, 60 min)	96,1	120 %	-	21,3%	35,4%	32,0%	rt-PCR ASU 08.00-66
Weizen + Roggen	Wurst, autoklaviert	74,9	11,0 %	-	24,6%	32,7%	27,7%	rt-PCR ASU 08.00-66

Nachdruck, auch auszugsweise, nur mit schriftlicher Genehmigung von DLA-Ahrensburg

3.2.2 Werte aus Erkenntnissen

Anforderungen an die Leistungsfähigkeit der Analysenmethoden zur quantitativen Bestimmung von Allergenen in Lebensmitteln sind u.a. vom Ministry of Health and Welfare (MHLW) in Japan [25], von der Arbeitsgruppe 12 „Lebensmittelallergene" des Technischen Komitees CEN/TC 275 [22-24], von einer internationalen "Food Allergen Working Group" unter der Leitung der AOAC Presidential Task Force on Food Allergens [26] und vom Codex Alimentarius Commitee (CAC/GL 74-2010) [21] erarbeitet worden.

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

Tabelle 4: ELISA-Validierungskriterien

Literatur [21-26]	**Wiederfindungsrate**	**Wiederholstandard-abweichung**	**Vergleichsstandard-abweichung**
MHLW 2006	50 - 150%		≤ 25%
CEN 2009		≤ 20%	
AOAC 2010	50 - 150%	6,9 - 34,4% (a)	19,5 - 57,2% (a)
CAC 2010	70 - 120%	≤ 25%	≤ 35%

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

Tabelle 5: PCR-Validierungskriterien

Literatur [21]	**Wiederfindungsrate**	**Wiederholstandard-abweichung**	**Vergleichsstandard-abweichung**
CAC 2010	± 25% (a)	≤ 25%	≤ 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 i.d.R. eine relative Zielstandardabweichung σ_{pt} Wert von 25% und für die Wiederfindungsrate entsprechend 50-150% fest.

Nachdruck, auch auszugsweise, nur mit schriftlicher Genehmigung von DLA-Ahrensburg

4. Ergebnisse

Alle folgenden Tabellen sind anonymisiert. Den teilnehmenden Laboratorien wird mit dem Versand dieser Auswertung ihre individuelle Auswertenummer mitgeteilt.
Es erfolgte eine getrennte Auswertung von ELISA- und LC/MS-Methoden.

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.

Um die ***Vergleichbarkeit von quantitativen Ergebnissen*** zu gewährleisten, wurden Teilnehmerergebnisse mit abweichenden Angaben (z.B. als allergenes Lebensmittel) soweit möglich von DLA harmonisiert und in den Milchprotein-Gehalt bzw. β-Lactoglobulin-Gehalt umgerechnet.

ELISA-Ergebnisse, die als Casein angegeben wurden, sind gemäß Literaturangaben [39] mit einem Gehalt von 80% Casein in Milchprotein (gesamt) umgerechnet worden.
ELISA Ergebnisse, die als Magermilchpulver angegeben wurden, sind nach Herstellerangaben (Veratox, Neogen Allergen Handbuch) mit einem Gehalt von 35,1% Milchprotein (gesamt) umgerechnet worden.

β-Lactoglobulin ELISA-Ergebnisse, die als Milchprotein (gesamt) angegeben wurden, sind gemäß Literaturangaben [39] mit einem Gehalt von 10% β-Lactoglobulin umgerechnet worden.

Die qualitativen Ergebnisse und deren Bewertung werden in tabellarischer Form folgendermaßen aufgeführt:

Auswerte-nummer	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4	Probe 5	Probe 6 „Null“	Score qualitativ	Methode	Hinweis
	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	Anzahl erfasster Proben 1 - 5		

Die quantitativen Ergebnisse und deren Bewertung werden in tabellarischer Form folgendermaßen aufgeführt:

Auswerte-nummer	Probe 1		Probe 2		Probe 3		Probe 4		Probe 5		WFR-Score	Methode	Hinweis
	Ergebnis	WFR *	Ergebnis	WFR *	Ergebnis	WFR *	Ergebnis	WFR *	Ergebnis	WFR *	WFR *		
	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]	Anzahl im AB**		

* Wiederfindungsrate

Nachdruck, auch auszugsweise, nur mit schriftlicher Genehmigung von DLA-Ahrensburg

4.1 Vergleichsuntersuchung Milchprodukte

4.1.1 Qualitative Scores: ELISA-Methoden Milchprotein / Casein

Auswerte-nummer	Probe 1 Milch	Probe 2 Quark	Probe 3 Sahne	Probe 4 Joghurt	Probe 5 Molke	Probe 6 „Null“	Score qualitativ	Methode	Hinweis
	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	Anzahl erfasster Proben 1 - 5		
8	positiv	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ	5 (100%)	AQ	
1a	positiv	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ	5 (100%)	AQ	
2a	positiv	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ	5 (100%)	AQ-P	
9a	positiv	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ	5 (100%)	IL	
7a	positiv	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ	5 (100%)	MI	
3a	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ	negativ	5 (100%)	RS-F C	
4a	positiv	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ	5 (100%)	RS-F C	
5a	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ	negativ	5 (100%)	RS-F C	
5b	positiv	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ	5 (100%)	RS-F C	
6b	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ	negativ	5 (100%)	RS-F C	
11	positiv	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ	5 (100%)	RS-F C	
5c	positiv	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ	5 (100%)	RS-F M	
1c	positiv	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ	5 (100%)	VT	
2b	positiv	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ	5 (100%)	VT	
4b	positiv	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ	5 (100%)	VT	
6c	positiv	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ	5 (100%)	VT	
10	positiv	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ	5 (100%)	VT	

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4	Probe 5	Probe 6
Anzahl positiv	17	17	17	17	14	0
Anzahl negativ	0	0	0	0	3	17
Prozent positiv	100	100	100	100	82	0
Prozent negativ	0	0	0	0	18	100
Konsenswert	positiv	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ
Dotierung	positiv	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ

Methoden:

AQ = AgraQuant, RomerLabs

AQ-P = AgraQuant Plus, RomerLabs

IL = Immunolab

MI = Morinaga Institute ELISA

RS-F C= Ridascreen® Fast Casein, R-Biopharm

RS-F M= Ridascreen® Fast Milk, R-Biopharm

VT = Veratox, Neogen

Anmerkung:
Für alle Milchprodukte (Proben 1 bis 5) wurden mittels für Gesamt-Milchprotein bzw. Casein spezifischen ELISA-Methoden Konsenswerte von 100% positiven Ergebnissen erhalten. Für Molke (Probe 5) wurden mit der ELISA-Methode RS-F Casein drei negative Ergebnisse erhalten. Laut Testkit-Anleitung hat diese Methode keine Kreuzreaktivität zu β-Lactoglobulin, dem Hauptprotein der Molkenproteine.

Nachdruck, auch auszugsweise, nur mit schriftlicher Genehmigung von DLA-Ahrensburg

4.1.2 Qualitative Scores: ELISA-Methoden β-Lactoglobulin

Auswerte-nummer	Probe 1 Milch	Probe 2 Quark	Probe 3 Sahne	Probe 4 Joghurt	Probe 5 Molke	Probe 6 „Null“	Score qualitativ	Methode	Hinweis
	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	Anzahl erfasster Proben 1 - 5		
9b	-	-	-	-	positiv	negativ	1 (100%)	IL LG	
6a	positiv	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ	5 (100%)	MI LG	
7b	positiv	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ	5 (100%)	MI LG	
1b	positiv	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ	5 (100%)	RS-F LG	
3b	positiv	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ	5 (100%)	RS-F LG	

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4	Probe 5	Probe 6
Anzahl positiv	4	4	4	4	5	0
Anzahl negativ	0	0	0	0	0	5
Prozent positiv	100	100	100	100	100	0
Prozent negativ	0	0	0	0	0	100
Konsenswert	positiv	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ
Dotierung	positiv	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ

Methoden:

IL LG= Immunolab β-Lactoglobulin

MI LG= Morinaga Institute β-Lactoglobulin ELISA

RS-F LG= Ridascreen® Fast β-Lactoglobulin, R-Biopharm

Anmerkung:
Für alle Milchprodukte (Proben 1 bis 5) wurden mittels für β-Lactoglobulin spezifischen ELISA-Methoden Konsenswerte von 100% positiven Ergebnissen erhalten.

4.1.3 Qualitative Scores: LC/MS-Methoden

Auswerte-nummer	Probe 1 Milch	Probe 2 Quark	Probe 3 Sahne	Probe 4 Joghurt	Probe 5 Molke	Probe 6 „Null“	Score qualitativ	Methode	Hinweis
	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	Anzahl erfasster Proben 1 - 5		
2	positiv	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ	5/5 (100%)	LC/MS	

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4	Probe 5	Probe 6
Dotierung	positiv	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ

Methoden:

LC/MS = Flüssigchromatographie / Massenspektrometrie

Anmerkung:
Für alle Milchprodukte (Proben 1 bis 5) wurden mittels LC/MS-Methode positive Ergebnissen erhalten.

Nachdruck, auch auszugsweise, nur mit schriftlicher Genehmigung von DLA-Ahrensburg

4.1.4 Quantitativ: ELISA-Methoden Milchprotein / Casein Wiederfindungs-Scores (WFR-Scores)

Angaben als Milchprotein (gesamt)

Auswerte-nummer	Probe 1 Milch		Probe 2 Quark		Probe 3 Sahne		Probe 4 Joghurt		Probe 5 Molke		WFR-Score	Methode	Hinweis
	Ergebnis	WFR *	Ergebnis	WFR *	Ergebnis	WFR *	Ergebnis	WFR *	Ergebnis	WFR *	WFR *		
	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]	number in RA**		
8	59,9	155	39,6	**96**	30,8	**78**	31,7	**82**	7,30	12	3/5 (60%)	AQ	
1a	> 30		13,3	32	26,8	**68**	24,8	**64**	0,81	1,3	2/5 (40%)	AQ	Ergebnis umgerechnet °
2a	6,75	17	5,00	12	12,0	30	6,50	17	3,63	5,7	0/5 (0%)	AQ-P	Ergebnis umgerechnet °
9a	59,0	153	54,0	**131**	52,0	**132**	60,0	155	32,0	**51**	3/5 (60%)	IL	
7a	25,0	**65**	36,3	**88**	21,3	**54**	27,5	**71**	1,88	3,0	4/5 (80%)	MI	Ergebnis umgerechnet °
3a	30,0	**78**	45,0	**109**	25,0	**63**	35,0	**91**	<1,7		4/5 (80%)	RS-F C	Ergebnis umgerechnet °
4a	37,0	**96**	63,0	153	34,0	**86**	25,0	**65**	1,90	3,0	3/5 (60%)	RS-F C	
5a	27,6	**72**	30,6	**74**	24,3	**61**	24,8	**64**	< 3,1		4/5 (80%)	RS-F C	Ergebnis umgerechnet °
5b	23,3	**60**	34,9	**84**	22,3	**56**	21,5	**56**	1,35	2,1	4/5 (80%)	RS-F C	Ergebnis umgerechnet °
6b	63,5	165	42,1	**102**	45,0	**114**	66,4	172			2/5 (40%)	RS-F C	Ergebnis umgerechnet °
11	45,4	**118**	67,1	162	32,0	**81**	32,1	**83**	1,40	2,2	3/5 (60%)	RS-F C	
5c	35,8	**93**	47,1	**114**	35,9	**91**	28,8	**75**	212	335	4/5 (80%)	RS-F M	
2b	7,30	19	2,10	5,1	> 8,8		5,51	14	> 8,8		0/5 (0%)	VT	Ergebnis umgerechnet °
6c	5,34	14	2,81	6,8	10,7	27	5,09	13	20,7	33	0/5 (0%)	VT	Ergebnis umgerechnet °
10	23,2	**60**	11,8	28,6	29,6	**75**	22,5	**58**	102	161	3/5 (60%)	VT	

AB**	50-150 %	AB**	50-150 %	AB**	50-150 %	AB**	50-150 %	AB**	50-150 %
Anzahl in AB	8	Anzahl in AB	8	Anzahl in AB	12	Anzahl in AB	10	Anzahl in AB	1
Prozent in AB	57	Prozent in AB	53	Prozent in AB	86	Prozent in AB	67	Prozent in AB	9

*Recovery rate 100% Reference value: Milk protein, see page 6

** Acceptance range of AOAC for allergen ELISAs

° Umrechnung S.14

Methoden:

AQ = AgraQuant, RomerLabs
AQ-P = AgraQuant Plus, RomerLabs
IL = Immunolab
MI = Morinaga Institute ELISA
RS-F C= Ridascreen® Fast Casein, R-Biopharm
RS-F M= Ridascreen® Fast Milk, R-Biopharm
VT = Veratox, Neogen

Anmerkung:
Für die Milchprodukte der Proben 1 bis 4 lagen 53-86% der Wiederfindungsraten der Teilnehmerergebnisse von Gesamt-Milchprotein bzw. Casein spezifischen ELISA-Methoden im Akzeptanzbereich von 50-150%. Für das Molkenprodukt (Probe 5) lag eine Wiederfindungsrate im Akzeptanzbereich.

Nachdruck, auch auszugsweise, nur mit schriftlicher Genehmigung von DLA-Ahrensburg

4.1.5 Quantitativ: ELISA-Methoden β-Lactoglobulin Wiederfindungs-Scores (WFR-Scores)

Angaben als β-Lactoglobulin

Auswerte-nummer	Probe 1 Milch		Probe 2 Quark		Probe 3 Sahne		Probe 4 Joghurt		Probe 5 Molke		WFR-Score	Methode	Hinweis
	Ergebnis	WFR *	Ergebnis	WFR *	Ergebnis	WFR *	Ergebnis	WFR *	Ergebnis	WFR *	WFR *		
	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]	number in RA**		
9b	-	-	-	-	-	-	-	-	31,0	**98**	1/1 (100%)	IL LG	
6a	1,57	41	2,94	**71**	1,51	38	1,50	39	13,6	43	1/5 (20%)	MI LG	Ergebnis umgerechnet °
7b	2,30	**60**	2,60	**63**	2,00	**51**	1,60	41	15,0	47	3/5 (60%)	MI LG	
1b	2,27	**59**	2,55	**62**	2,26	**57**	2,23	**58**	> 4,5		4/4 (100%)	RS-F LG	
3b	1,90	49	3,50	**85**	2,10	**53**	2,00	**52**	12,0	38	3/5 (60%)	RS-F LG	
	AB**	**50-150 %**	**AB****	**50-150 %**	**AB****	**50-150 %**	**AB****	**50-150 %**	**AB****	**50-150 %**			
	Anzahl in AB	**3**	Anzahl in AB	**4**	Anzahl in AB	**3**	Anzahl in AB	**2**	Anzahl in AB	**1**			
	Prozent in AB	**75**	Prozent in AB	**100**	Prozent in AB	**75**	Prozent in AB	**50**	Prozent in AB	**25**			

*Recovery rate 100% Reference value: β-Lactoglobulin = 10% (samples 1-4) and 50% (sample 5) from total milk protein, see page 6

** Acceptance range of AOAC for allergen ELISAs

° Umrechnung S.14

Methoden:

IL LG= Immunolab β-Lactoglobulin

MI LG= Morinaga Institute β-Lactoglobulin ELISA

RS-F LG= Ridascreen® Fast β-Lactoglobulin, R-Biopharm

Anmerkung:

Für die Milchprodukte der Proben 1 bis 4 lagen 50-100% der Wiederfindungsraten der Teilnehmerergebnisse von β-Lactoglobulin spezifischen ELISA-Methoden im Akzeptanzbereich von 50-150%. Für das Molkenprodukt (Probe 5) lag eine Wiederfindungsrate im Akzeptanzbereich und die anderen 3 Wiederfindungsraten knapp unterhalb.

Nachdruck, auch auszugsweise, nur mit schriftlicher Genehmigung von DLA-Ahrensburg

4.1.6 Quantitativ: LC/MS-Methoden Wiederfindungs-Scores (WFR-Scores)

Angaben als Milchprotein (gesamt)

Auswerte-nummer	Probe 1 Milch		Probe 2 Quark		Probe 3 Sahne		Probe 4 Joghurt		Probe 5 Molke		WFR-Score	Methode	Hinweis
	Ergebnis	WFR *	Ergebnis	WFR *	Ergebnis	WFR *	Ergebnis	WFR *	Ergebnis	WFR *	WFR *		
	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]	number in RA**		
2	35,6	92	54,6	132	30,0	76	49,6	128	< BG		4/5 (80%)	LC/MS	
	AB**	50-150 %	AB**	50-150 %	AB**	50-150 %	AB**	50-150 %	AB**	50-150 %			
	Anzahl in AB	1	Anzahl in AB	1	Anzahl in AB	1	Anzahl in AB	1	Anzahl in AB	0			
	Prozent in AB	100	Prozent in AB	100	Prozent in AB	100	Prozent in AB	100	Prozent in AB	0			

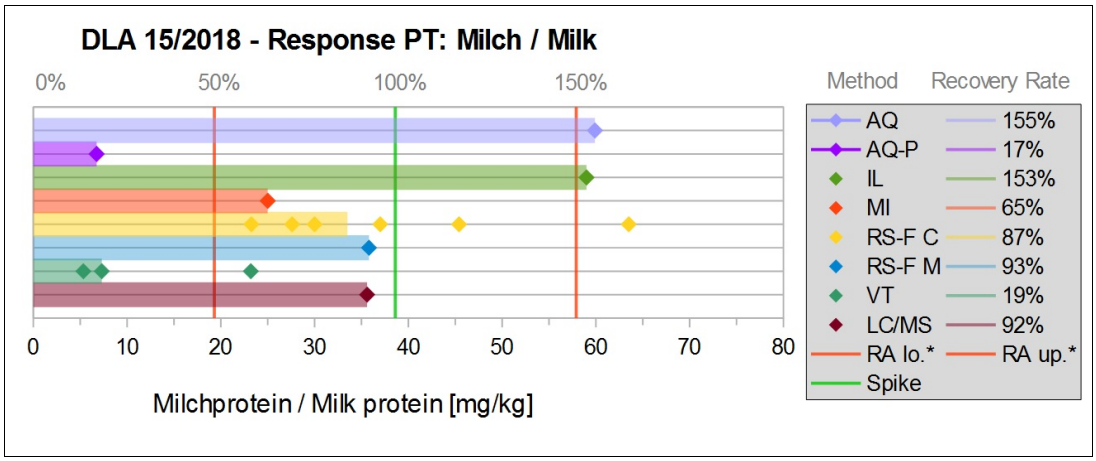
*Recovery rate 100% Reference value: Milk protein, see page 6

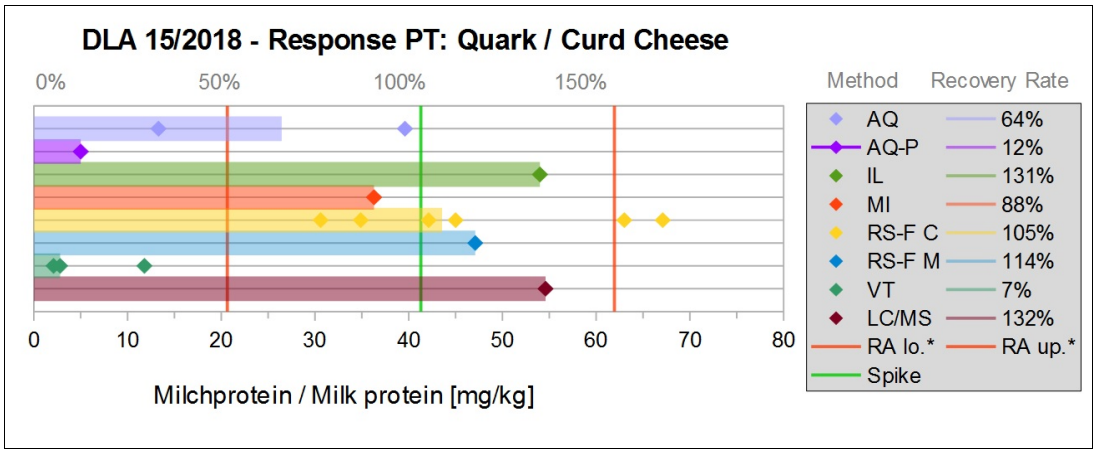
** Acceptance range of AOAC for allergen ELISAs

Methoden:
LC/MS = Flüssigchromatographie / Massenspektrometrie

Anmerkung:
Für die Milchprodukte der Proben 1 bis 4 lagen alle Wiederfindungsraten der Ergebnisse des Teilnehmers im Akzeptanzbereich von 50-150%. Für Molke (Probe 5) lag das Ergebnis unter der Bestimmungsgrenze. Nach Teilnehmerangaben ist die LC/MS-Methode spezifisch für Casein (siehe Dokumentation), das nicht zu den Molkenproteinen zählt.

Nachdruck, auch auszugsweise, nur mit schriftlicher Genehmigung von DLA-Ahrensburg





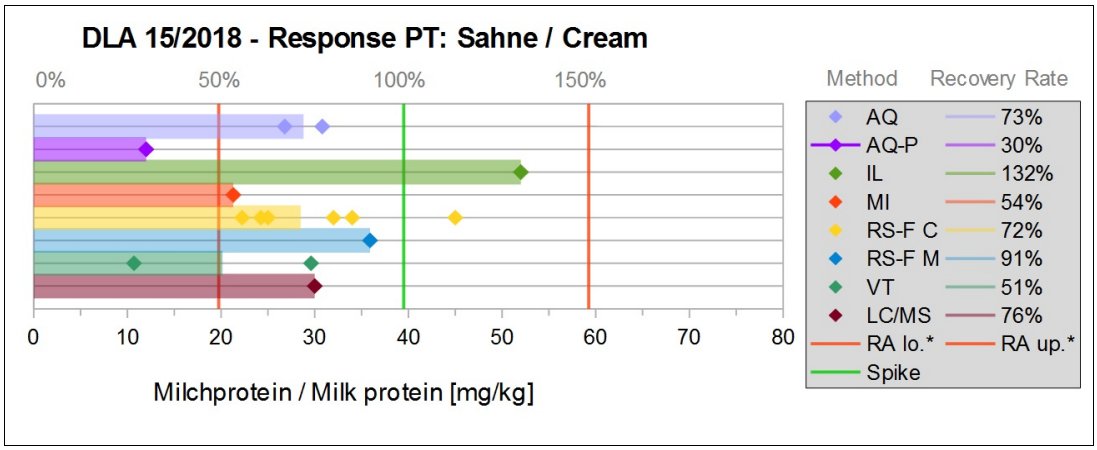
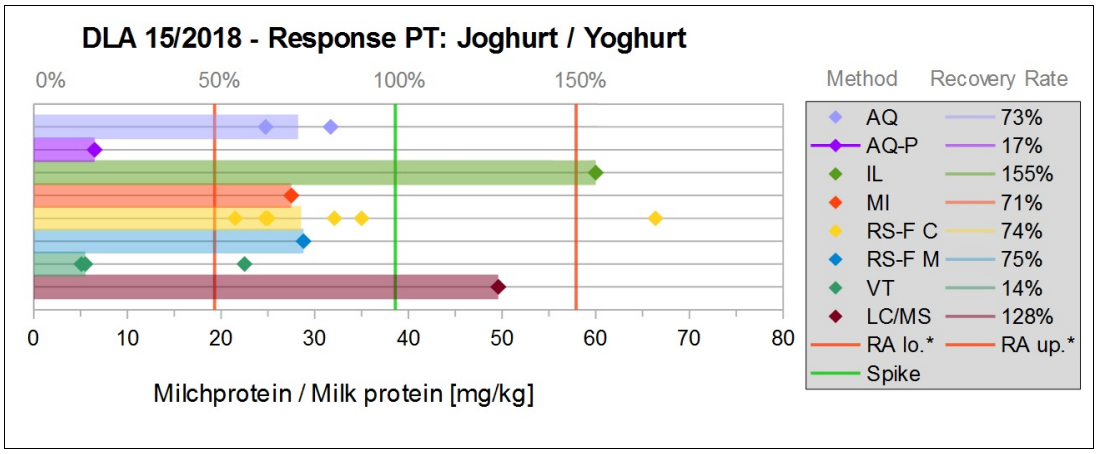


Abb./Fig. 1: Darstellung der Einzelergebnisse als Milchprotein, gesamt (Proben 1-3) getrennt nach Methoden mit Angabe der durchschnittlichen Wiederfindungsrate (Recovery Rate), untere Skala Milchprotein in mg/kg, obere Skala % Wiederfindungsrate in % mit * Akzeptanzbereich von 50% - 150% (* range of acceptance: RA lower limit bis RA upper limit)

Nachdruck, auch auszugsweise, nur mit schriftlicher Genehmigung von DLA-Ahrensburg



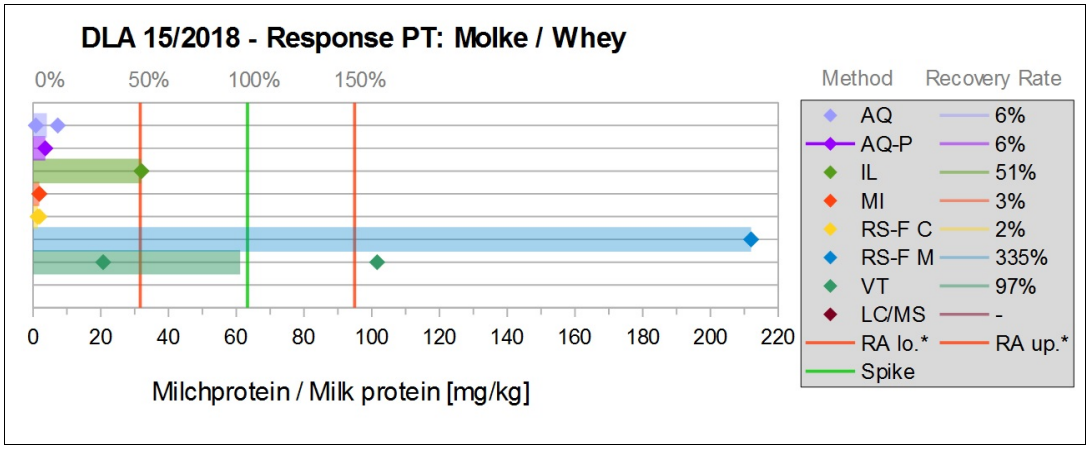


Abb./Fig. 2: Darstellung der Einzelergebnisse als Milchprotein, gesamt (Proben 4 und 5) getrennt nach Methoden mit Angabe der durchschnittlichen Wiederfindungsrate (Recovery Rate), untere Skala Milchprotein in mg/kg, obere Skala % Wiederfindungsrate in % mit * Akzeptanzbereich von 50% – 150% (* range of acceptance: RA lower limit bis RA upper limit)

Nachdruck, auch auszugsweise, nur mit schriftlicher Genehmigung von DLA-Ahrensburg

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).

5.1.1 ELISA-Methoden (Milchprotein / Casein)

Methode	Auswerte-nummer	Datum der Analyse	Ergebnis Probe 1		Ergebnis Probe 2		Ergebnis Probe 3		Ergebnis Probe 4		Ergebnis Probe 5		Ergebnis Probe 6		NWG / LOD*	BG / LOQ*	MU*	Angabe quantitatives Ergebnis als
		Tag/Monat	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	bevorzugt als Milchprotein
AQ	8	07.05.18	positiv	59,9	positiv	39,6	positiv	30,8	positiv	31,7	positiv	7,3	negativ	<LOD	0,05	0,4	0,25	Milchproteine, gesamt
AQ	1a	17.05.18	positiv	> 24	positiv	10,6	positiv	21,4	positiv	19,8	positiv	0,65	negativ	< 0.2	0,2			Casein
AQ-P	2a	22.05.18	positiv	5,4	positiv	4	positiv	9,6	positiv	5,2	positiv	2,9	negativ	< 1		1		Casein
IL	9a	05.02.18	positiv	59	positiv	54	positiv	52	positiv	60	positiv	32	negativ	0	0,05	0,4		Milchproteine, gesamt
MI C	7a		positiv	20	positiv	29	positiv	17	positiv	22	positiv	1,5	negativ	<0,25	0.25	0,25		Casein
RS-F C	3a	07.06.18	positiv	24	positiv	36	positiv	20	positiv	28	negativ	<1,36	negativ	<1,36	1,36	2,5		Casein
RS-F C	4a	07.06.	positiv	37	positiv	63	positiv	34	positiv	25	positiv	1,9	negativ		0,6	0,6		Milchproteine, gesamt
RS-F C	5a	06.06.	positiv	22,1	positiv	24,5	positiv	19,4	positiv	19,8	negativ	< 2,5	negativ	< 2,5	0,71	2,5		Casein
RS-F C	5b	06.06.	positiv	18,6	positiv	27,9	positiv	17,8	positiv	17,2	positiv	1,08	negativ	< 0,5	0,12	0,5		Casein
RS-F C	6b	18.05.18	positiv	50,8	positiv	33,7	positiv	36	positiv	53,1	negativ		negativ		2,5	2,5	0,5	Casein
RS-F C	11	27.06.18	positiv	45,4	positiv	67,1	positiv	32	positiv	32,1	positiv	1,4	negativ	<0.5	0,12	0,5		Milchproteine, gesamt
RS-F C	11	27.06.18	positiv	36,3	positiv	53,7	positiv	25,6	positiv	25,7	positiv	1,1	negativ	<0.5	0,12	0,5		Casein
RS-F M	5c	05.06.	positiv	35,8	positiv	47,1	positiv	35,9	positiv	28,8	positiv	212	negativ	< 2,5	0,7	2,5		Milchproteine, gesamt
VT	1c	07.05.18	positiv		positiv		positiv		positiv		positiv		negativ	< 2.5	2,5			Magermilchpulver
VT	2b	03.05.18	positiv	20,8	positiv	6,0	positiv	>25	positiv	15,7	positiv	> 25	negativ	< 2,5		2,5	0,4	Magermilchpulver
VT	4b	06.06.	positiv		positiv		positiv		positiv		positiv		negativ		0,9			Milchproteine, gesamt
VT	6c	11.05.18	positiv	15,2	positiv	8	positiv	30,5	positiv	14,5	positiv	59	negativ		2,5	2,5	0,36	Magermilchpulver
VT	10	11.05.18	positiv	23,2	positiv	11,8	positiv	29,6	positiv	22,5	positiv	101,6	negativ	<2.5	2,5	2,5	29,6	Milchproteine, gesamt

Nachdruck, auch auszugsweise, nur mit schriftlicher Genehmigung von DLA-Ahrensburg

Fortsetzung Angaben der Teilnehmer

Meth. Abk.	Auswerte-nummer	Methode	Spezifität	Umrechnungsfaktoren für Milchprodukte / -proteine	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Methode akkreditiert ISO/IEC 17025	Sonstige Hinweise
		Test-Kit + Anbieter	Antikörper	Umrechnung von X in Y Faktor =	z.B. Extraktionslösung / Zeit / Temperatur	ja/nein	
AQ	8	AgraQuant ELISA Milk COKAL2448, RomerLabs	Milchproteine, gesamt		wässriger Puffer/15 min/60 Grad Celsius	ja	
AQ	1a	AgraQuant Casein COKAL 1200, RomerLabs				ja	
AQ-P	2a	AgraQuant Plus Casein COKAL1248F, RomerLabs			laut Manual	nein	bei Probe 2: 4,0, wird aber automatisch gerundet, in der Verdünnung tendenziell etwas höhere Gehalte (nur als 1-fach Bestimmung)
IL	9a	Immunolab Milk ELISA					
MI C	7a	Morinaga Casein ELISA Kit II M2113	Kuhmilch Casein	Casein * 1,25 = Gesamtmilchprotein	lt. Herstellerangaben	ja	mg/kg Gesamtmilchprotein Probe 1: 25, Probe 2: 36, Probe 3: 21, Probe 4: 28, Probe 5: 1,875, Probe 6: <0,31
RS-F C	3a	R4612 RIDASCREEN FAST Casein R-Biopharm					
RS-F C	4a	Auswahl Milch-Kits:		Milchproteine gesamt=Casein/0,8	Extraktion 9.1	ja	Ridascreen Fast Casein (R4612)
RS-F C	5a	Ridascreen® FAST Casein R4612, R-Biopharm			Extraktion nach Herstellerangaben mit Extraktor 2	ja	
RS-F C	5b	Ridascreen® FAST Casein R4612, R-Biopharm			Extraktion nach Herstellerangaben mit Extraktionspuffer	ja	
RS-F C	6b	andere: bitte eingeben!		Kuhmilch enthält ca. 2,56 % Casein	gemäß Handbuch Kapitel 9.2 (1 g Einwaage + 4 ml Extraktor 2 + 16 ml A-AEP)	ja	Ridascreen® FAST Casein R4612, R-Biopharm
RS-F C	11	Ridascreen fast Casein		Annahme: Casein macht 80% der Gesamt-Milchproteine aus		ja	
RS-F C	11	Ridascreen fast Casein				ja	
RS-F M	5c	Ridascreen® FAST Milk R4652, R-Biopharm			Extraktion nach Herstellerangaben	ja	
VT	1c	Veratox Total Milk Allergen, Neogen				ja	
VT	2b	Veratox Total Milk Allergen, Neogen			laut Manual	ja	bei Probe 2: 6,0, wird aber automatisch gerundet
VT	4b	Veratox Total Milk Allergen, Neogen				ja	
VT	6c	Veratox Total Milk Allergen, Neogen	Antikörpern gegen Casein & Molkeprotein		5 g Einwaage gemäß Handbuch	ja	
VT	10	Veratox Total Milk Allergen, Neogen					

Nachdruck, auch auszugsweise, nur mit schriftlicher Genehmigung von DLA-Ahrensburg

5.1.2 ELISA-Methoden (β-Lactoglobulin)

Methode	Auswerte-nummer	Datum der Analyse	Ergebnis Probe 1		Ergebnis Probe 2		Ergebnis Probe 3		Ergebnis Probe 4		Ergebnis Probe 5		Ergebnis Probe 6		NWG / LOD*	BG / LOQ*	MU*	Angabe quantitatives Ergebnis als
		Tag/Monat	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	bevorzugt als Milchprotein
IL LG	9b		-		-		-		-		positiv	31	-					beta-Lactoglobulin
MI LG	6a	24.05.18	positiv	15,7	positiv	29,4	positiv	15,1	positiv	15	positiv	135,9	negativ		0,6	1,25	0,52	Milchproteine, gesamt
MI LG	7b		positiv	2,3	positiv	2,6	positiv	2	positiv	1,6	positiv	15	negativ	<0,031	0,031	0,031		beta-Lactoglobulin
RS-F LG	1b	09.05.18	positiv	2,27	positiv	2,55	positiv	2,26	positiv	2,23	positiv	> 4.5	negativ	< 0.167	0,167			beta-Lactoglobulin
RS-F LG	3b	07.06.18	positiv	1,9	positiv	3,5	positiv	2,1	positiv	2,0	positiv	12	negativ	<0,04	0,04	0,167		beta-Lactoglobulin

Meth. Abk.	Auswerte-nummer	Methode	Spezifität	Umrechnungsfaktoren für Milchprodukte / -proteine	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Methode akkreditiert ISO/IEC 17025	Sonstige Hinweise
		Test-Kit + Anbieter	Antikörper	Umrechnung von X in Y Faktor =	z.B. Extraktionslösung / Zeit / Temperatur	ja/nein	
IL LG	9b	Immunolab ß-Lactoglobulin ELISA					
MI LG	6a	andere: bitte eingeben!	anti-beta-lactoglobulin polyclonaler Antikörper		1 g Einwaage gemäß Handbuch	ja	MloBS Beta-lactoglobulin ELISA KitII (M2112)
MI LG	7b	Morinaga ßLac ELISA Kit II M2112	Kuhmilch ßLac	Molkenprotein * 10 = Gesamtmilchprotein	lt. Herstellerangaben	ja	mg/kg Gesamtmilchprotein Probe 1: 23, Probe 2: 26, Probe 3: 20, Probe 4: 16, Probe 5: 150 (vermutlich dotiert mit Molke), Probe 6: <0,31
RS-F LG	1b	Ridascreen® FAST β-Lactoglobulin R4912, R-Biopharm				ja	
RS-F LG	3b	RIDASCREEN® FAST β-Lactoglobulin (Art. No. R4902)					

Nachdruck, auch auszugsweise, nur mit schriftlicher Genehmigung von DLA-Ahrensburg

5.1.3 LC/MS-Methoden

Methode	Auswerte-nummer	Datum der Analyse	Ergebnis Probe 1		Ergebnis Probe 2		Ergebnis Probe 3		Ergebnis Probe 4		Ergebnis Probe 5		Ergebnis Probe 6		NWG / LOD*	BG / LOQ*	MU*	Angabe quantitatives Ergebnis als
		Tag/Monat	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	bevorzugt als Erdnuss
LC/MS	2		positiv	35,6	positiv	54,6	positiv	30,0	positiv	49,6	positiv	< BG	negativ	< BG	2	4		Milchprotein

Meth. Abk.	Auswerte-nummer	Methode	Spezifität	Umrechnungsfaktoren für Milchprodukte / -proteine	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Methode akkreditiert ISO/IEC 17025	Sonstige Hinweise
		Test-Kit + Anbieter	Antikörper	Umrechnung von X in Y Faktor =	z.B. Extraktionslösung / Zeit / Temperatur	ja/nein	
LC/MS	2	LC-MS/MS	alpha S1-casein	Anteil alpha S1-casein an Gesamtprotein: 32,4%	wässrige Proteinextraktion mit anschließendem tryptischen Verdau, Aufreinigung des Peptidextraktes, Nachweis milchspezifischer Peptidsequenzen (alpha S1-casein) mittels UHPLC-MS/MS, Hochrechnung auf Milchprotein, Quantifizierung mittels isotopenmarkierter Peptidstandards und Lösungsmittelkalibrierung	ja	

Nachdruck, auch auszugsweise, nur mit schriftlicher Genehmigung von DLA-Ahrensburg

5.2 Homogenität

5.2.1 Mischungshomogenität vor der Abfüllung

Microtracer Homogenitätstest
DLA 15-2018 Probe 1

Gewicht Gesamtprobe	1,01	kg
Microtracer	FSS-rot lake	
Teilchengröße	75 – 300	µm
Gewicht pro Partikel	2,0	µg
Tracerzugabe	22,8	mg/kg

Analysenergebnisse:

Probe	Einwaage [g]	Partikel Anzahl	Partikel [mg/kg]
2	5,02	72	28,7
3	5,05	67	26,5
4	4,97	72	29,0
5	5,01	63	25,1
6	5,00	64	25,6
7	5,05	64	25,3
8	5,03	69	27,4
10	5,01	64	25,5

Poisson-Verteilung		
Probenanzahl	8	
Freiheitsgrad	7	
Mittelwert	66,9	Partikel
Standardabweichung	3,84	Partikel
χ^2 (CHI-Quadrat)	1,55	
Wahrscheinlichkeit	**98**	%
Wiederfindungsrate	117	%

Normalverteilung		
Probenanzahl	8	
Mittelwert	26,7	mg/kg
Standardabweichung	1,53	mg/kg
rel. Standardabweichung	5,75	%
Horwitz Standardabweichung	9,76	%
HorRat-Wert	**0,59**	
Wiederfindungsrate	117	%

Microtracer Homogenitätstest
DLA 15-2018 Probe 2

Gewicht Gesamtprobe	1,01	kg
Microtracer	FSS-rot lake	
Teilchengröße	75 – 300	µm
Gewicht pro Partikel	2,0	µg
Tracerzugabe	28,3	mg/kg

Analysenergebnisse:

Probe	Einwaage [g]	Partikel Anzahl	Partikel [mg/kg]
1	5,00	84	33,6
2	5,05	73	28,9
3	5,01	86	34,3
4	5,02	82	32,7
5	5,02	86	34,3
6	5,03	92	36,6
7	5,06	76	30,0
8	5,00	75	30,0

Poisson-Verteilung		
Probenanzahl	8	
Freiheitsgrad	7	
Mittelwert	81,8	Partikel
Standardabweichung	6,68	Partikel
χ^2 (CHI-Quadrat)	3,82	
Wahrscheinlichkeit	**80**	%
Wiederfindungsrate	115	%

Normalverteilung		
Probenanzahl	8	
Mittelwert	32,5	mg/kg
Standardabweichung	2,66	mg/kg
rel. Standardabweichung	8,17	%
Horwitz Standardabweichung	9,47	%
HorRat-Wert	**0,86**	
Wiederfindungsrate	115	%

Nachdruck, auch auszugsweise, nur mit schriftlicher Genehmigung von DLA-Ahrensburg

Microtracer Homogenitätstest
DLA 15-2018 Probe 3

Gewicht Gesamtprobe	1,01	kg
Microtracer	FSS-rot lake	
Teilchengröße	75 – 300	µm
Gewicht pro Partikel	2,0	µg
Tracerzugabe	44,9	mg/kg

Analysenergebnisse:

Probe	Einwaage [g]	Partikel Anzahl	Partikel [mg/kg]
1	4,98	122	49,0
2	4,98	133	53,4
3	4,97	118	47,5
4	5,04	117	46,4
5	5,01	108	43,1
6	4,97	114	45,9
7	5,00	120	48,0
8	4,98	104	41,8

Poisson-Verteilung		
Probenanzahl	8	
Freiheitsgrad	7	
Mittelwert	117,0	Partikel
Standardabweichung	8,96	Partikel
χ^2 (CHI-Quadrat)	4,81	
Wahrscheinlichkeit	**68**	%
Wiederfindungsrate	104	%

Normalverteilung		
Probenanzahl	8	
Mittelwert	46,9	mg/kg
Standardabweichung	3,59	mg/kg
rel. Standardabweichung	7,66	%
Horwitz Standardabweichung	8,97	%
HorRat-Wert	**0,85**	
Wiederfindungsrate	104	%

Microtracer Homogenitätstest
DLA 15-2018 Probe 4

Gewicht Gesamtprobe	1,01	kg
Microtracer	FSS-rot lake	
Teilchengröße	75 – 300	µm
Gewicht pro Partikel	2,0	µg
Tracerzugabe	33,2	mg/kg

Analysenergebnisse:

Probe	Einwaage [g]	Partikel Anzahl	Partikel [mg/kg]
1	5,03	90	35,8
2	5,00	95	38,0
3	5,05	101	40,0
4	5,00	96	38,4
5	5,06	105	41,5
6	5,04	95	37,7
7	5,02	91	36,3
8	5,03	104	41,4

Poisson-Verteilung		
Probenanzahl	8	
Freiheitsgrad	7	
Mittelwert	97,1	Partikel
Standardabweichung	5,42	Partikel
χ^2 (CHI-Quadrat)	2,12	
Wahrscheinlichkeit	**95**	%
Wiederfindungsrate	116	%

Normalverteilung		
Probenanzahl	8	
Mittelwert	38,6	mg/kg
Standardabweichung	2,16	mg/kg
rel. Standardabweichung	5,59	%
Horwitz Standardabweichung	9,23	%
HorRat-Wert	**0,61**	
Wiederfindungsrate	116	%

Nachdruck, auch auszugsweise, nur mit schriftlicher Genehmigung von DLA-Ahrensburg

Microtracer Homogenitätstest
DLA 15-2018 Probe 5

Gewicht Gesamtprobe	1,00	kg
Microtracer	FSS-rot lake	
Teilchengröße	75 – 300	µm
Gewicht pro Partikel	2,0	µg
Tracerzugabe	19,7	mg/kg

Analysenergebnisse:

Probe	Einwaage [g]	Partikel Anzahl	Partikel [mg/kg]
1	5,04	62	24,6
2	5,01	55	22,0
3	5,03	52	20,7
4	4,99	54	21,6
5	4,98	51	20,5
6	5,02	52	20,7
7	5,06	53	20,9
8	4,98	53	21,3

Poisson-Verteilung		
Probenanzahl	8	
Freiheitsgrad	7	
Mittelwert	54,0	Partikel
Standardabweichung	3,35	Partikel
χ^2 (CHI-Quadrat)	1,46	
Wahrscheinlichkeit	**98**	%
Wiederfindungsrate	109	%

Normalverteilung		
Probenanzahl	8	
Mittelwert	21,5	mg/kg
Standardabweichung	1,34	mg/kg
rel. Standardabweichung	6,21	%
Horwitz Standardabweichung	10,1	%
HorRat-Wert	**0,62**	
Wiederfindungsrate	109	%

Nachdruck, auch auszugsweise, nur mit schriftlicher Genehmigung von DLA-Ahrensburg

5.3 Informationen zur Eignungsprüfung (EP)

Vor der LVU wurden den Teilnehmern im Proben-Anschreiben folgende Informationen mitgeteilt:

EP-Nummer	***DLA 15-2018***
EP-Name	***Response PT Milch: Prozessierte Proben Milch, Molke, Joghurt, Quark und Sahne in Kartoffelpulver-Matrix*** *(Gehalte: 25-150 mg/kg)*
Probenmatrix (Prozessierung)	***Proben 1-6:*** *Zutaten: Kartoffelpulver (ca. 75%), Maltodextrin (ca. 25%) sowie weitere Zusatzstoffe und Allergene Lebensmittel (luftgetrocknet, 40°C) (nur in Proben 1-5)*
Probenzahl und Probenmenge	*5 unterschiedliche Proben je 20 g* *+ 1 „ Null-Probe“ 20 g*
Lagerungsinformation	*Proben 1-6: Raumtemperatur (Langzeit gekühlt 2 - 10 °C)*
Verwendungszweck	*Ausschließlich für Laboruntersuchungen (Qualitätskontrollproben)*
Parameter	*qualitativ + quantitativ:* ***Milch / Milchprotein(e) / Rinder-DNA*** ***Milch, Molke, Joghurt, Quark*** *und* ***Sahne*** *Proben 1-5: ca. 25 - 150 mg/kg (als Gesamt-Milchprotein)*
Untersuchungsmethoden	*Methode ist freigestellt*
Hinweis zur Analyse	*Die Untersuchung der Eignungsprüfung soll entsprechend einer laborüblichen Routineanalyse vorgenommen werden.* *Generell empfehlen wir vor der Analyse, insbesondere bei kleinen Analyseneinwaagen, eine repräsentative Probenmenge entsprechend guter Laborpraxis zu homogenisieren. Am besten wird jeweils die gesamte Probenmenge homogenisiert.*
Ergebnisangabe	*Es werden für jede Probe 1 - 6 je ein Ergebnis ermittelt.* *Die Einzelergebnisse sind in die Ergebnisabgabe-Datei einzutragen, bei Mehrfachbestimmungen der Mittelwert.*
Einheiten	*mg/kg*
Anzahl von Stellen	*mindestens 2 signifikante Stellen*
Ergebnisabgabe	*Die Ergebnisabgabe-Datei wird per eMail übermittelt an:* ***pt@dla-lvu.de***
Abgabetermin	***spätestens 08. Juni 2018***
Auswertebericht	*Der Auswertebericht wird voraussichtlich 6 Wochen nach Abgabetermin der Ergebnisse fertiggestellt und per eMail als PDF-Datei zugesandt.*
Koordinator und Ansprechpartner der EP	*Dr. Matthias Besler-Scharf*

** Die Kontrolle der Mischungshomogentität wird von DLA durchgeführt. Die Prüfung der Gehalte, Homogenität und Stabilität von EP-Parametern wird von DLA im Unterauftrag vergeben.*

Nachdruck, auch auszugsweise, nur mit schriftlicher Genehmigung von DLA-Ahrensburg

6. Verzeichnis der Teilnehmer in alphabetischer Reihenfolge

Teilnehmer / Participant	Ort / Town	Land / Country
		Deutschland
		SCHWEIZ
		Deutschland
		Deutschland
		Deutschland
		ITALIEN
		Deutschland
		Deutschland
		Deutschland
		SCHOTTLAND, UK
		ÖSTERREICH

[Die Adressdaten der Teilnehmer wurden für die allgemeine Veröffentlichung des Auswerte-Berichts nicht angegeben.]

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

Nachdruck, auch auszugsweise, nur mit schriftlicher Genehmigung von DLA-Ahrensburg

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 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 Ananlytical 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. Homogeneity and stability of reference materials; Linsinger et al.; Accred Qual Assur, 6, 20-25 (2001)
17. AOAC Official Methods of Analysis: Guidelines for Standard Method Performance Requirements, Appendix F, p. 2, AOAC Int (2016)
18. EN ISO/IEC 17034:2016; Konformitätsbewertung - Allgemeine Anforderungen an die Kompetenz von Referenzmaterialherstellern / General requirements for the competence of reference material producers
19. ISO Guide 34:2000; General requirements for the competence of reference material producers
20. DAkkS 71 SD 1/4 016; Ermittlung und Angabe der Messunsicherheit nach Forderungen der DIN EN ISO/IEC 17025 (2011) [Estimation and indication of the measurement uncertainty]
21. Codex Alimentarius Commission (2010) - Guidelines on performance criteria and validation of methods for detection, identification and quantification of specific DNA sequences and specific protiens in foods, CAC/GL 74-2010

Nachdruck, auch auszugsweise, nur mit schriftlicher Genehmigung von DLA-Ahrensburg

22. 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
23. 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
24. 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
25. Ministry of Health and Welfare, JSM, Japan 2006
26. 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)
27. 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)
28. 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)
29. 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
30. 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
31. 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
32. ASU §64 LFGB L 06.00-56 Bestimmung von Sojaprotein in Fleisch und Fleischerzeugnissen Enzymimmunologisches Verfahren (2007) [Determination of soyprotein in meat and meat products by enzyme immunoassay]
33. ASU §64 LFGB L 00.00-69 Bestimmung von Erdnuss-Kontaminationen in Lebensmitteln mittels ELISA im Mikrotiterplattensystem (2003) [Foodstuffs, determination of peanut contamintions in foodstuffs by ELISA in microtiterplates]
34. ASU §64 LFGB L 44.00-7 Bestimmung von Haselnuss-Kontaminationen in Schokolade und Schokoladenwaren mittels ELISA im Mikrotiterplattensystem (2006) [Foodstuffs, determination of hazelnut contamintions in chocolate and chocolate products by ELISA in microtiterplates]
35. ASU §64 LFGB L 16.01-9 Untersuchung von Lebenmitteln - Bestimmung von Soja (Glycine max) in Getreidemehl mittels real-time PCR (2016) [Foodstuffs, determination of soya (Glycine max) in cereal flour by real-time PCR]
36. ASU §64 LFGB L 08.00-59 Untersuchung von Lebenmitteln - Nachweis und Bestimmung von Senf (Sinapis alba) sowie Soja (Glycine max) in Brühwürsten mittels real-time PCR (2013) [Foodstuffs, detection and determination of mustard (Sinapis alba) and soya (Glycine max) in boiled sausages by real-time PCR]
37. ASU §64 LFGB L 08.00-65 Untersuchung von Lebenmitteln - 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 (2017) [Foodstuffs, simultaneous detection and determination of black mustard (Brassica nigra L.), brown mustard (Brassica juncea L.), white mustard (Sinapis alba), celery (Apium graveolens) and soya (Glycine max) in boiled sausages by real-time PCR]
38. ASU §64 LFGB L 08.00-66 Untersuchung von Lebenmitteln - Nachweis und Bestimmung von Weizen (Triticum L.) und Roggen (Secale cereale) in Brühwurst

Nachdruck, auch auszugsweise, nur mit schriftlicher Genehmigung von DLA-Ahrensburg

mittels real-time PCR (2016) [Foodstuffs, detection and determination of wheat (Triticum L.) and rye (Secale cereale) in boiled sausages by real-time PCR]
39. Allergen Data Collection - Update (2002): Cow's Milk (Bos domesticus), Besler M., Eigenmann P., Schwartz R., Internet Symposium on Food Allergens 4(1): 19-106, http://www.food-allergens.de

DLA 15/2018 - Response PT: Milch

Alle 11 Teilnehmer haben Ergebnisse eingereicht. Es wurden 6 LVU-Proben für den qualitativen Nachweis und die quantitative Bestimmung von Milch, Quark, Sahne, Joghurt und Molke in einer Trägermatrix sowie eine „Null"-Probe zur Verfügung gestellt. Die Teilnehmer-Ergebnisse wurden *qualitativ* mit einem Score von 1-5 bewertet, der angibt wie viele prozessierte Produkte erfolgreich erfasst wurden. Die quantitativen Ergebnisse wurden mit einem Wiederfindungs-Score *(WFR-Score)* bewertet, der angibt wie viele Ergebnisse im Bereich einer Wiederfindungsrate von 50 - 150% des Dotierungs-Levels liegen. Die Auswertung erfolgte getrennt nach ELISA- und LC/MS-Methoden. Details sind dem Auswertebericht zu entnehmen.
4 Teilnehmer hatten ihren Sitz im Europäischen Ausland (Italien, Österreich, Schottland, Schweiz).

Nachdruck, auch auszugsweise, nur mit schriftlicher Genehmigung von DLA-Ahrensburg