

Proficiency Tests

DLA

food
cosmetics
consumer goods
www.dla-lvu.de

Auswertungs-Bericht

Laborvergleichsuntersuchung

DLA 28/2018

Cumarin in Schokolade:

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

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

<p><i>EP-Anbieter</i> <i>PT-Provider</i></p>	<p>DLA - Dienstleistung Lebensmittel Analytik GbR Gesellschafter: Dr. Matthias Besler-Scharf und Alexandra Scharf MSc.</p> <p>Waldemar-Bonsels-Weg 170, 22926 Ahrensburg, Germany</p> <p>Tel. ++49-(0)4532-9183358 Mob. ++49(0)171-1954375 Fax. ++49(0)4102-9944976 eMail. proficiency-testing@dla-lvu.de</p>
<p><i>EP-Nummer</i> <i>PT-Number</i></p>	<p>DLA 28/2018</p>
<p><i>EP-Koordinator</i> <i>PT-Coordinator</i></p>	<p>Dr. Matthias Besler-Scharf</p>
<p><i>Status des EP-Bericht</i> <i>Status of PT-Report</i></p>	<p>Abschlussbericht / Final report (8. März 2019)</p> <p>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.</p>
<p><i>EP-Bericht Freigabe</i> <i>PT-Report Authorization</i></p>	<p>Dr. Matthias Besler-Scharf (Technischer Leiter / Technical Manager) - <i>gezeichnet / signed M. Besler-Scharf</i> Alexandra Scharf MSc. (QM-Beauftragte / Quality Manager) - <i>gezeichnet / signed A. Scharf</i> Datum / Date: 8. März 2019</p>
<p><i>Unteraufträge</i> <i>Subcontractors</i></p>	<p>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.</p>
<p><i>Vertraulichkeit</i> <i>Confidentiality</i></p>	<p>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.</p>

Inhalt

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

Nach Schmelzen der Schokolade wurde ein Aliquot mit Cumarin dotiert und unter Rühren bei 35-40°C homogenisiert. Anschließend wurde portionsweise erneut Grundmatrix in 3 weiteren Schritten zugegeben und homogenisiert bis die Gesamtmenge erreicht war.

Die Proben wurden zu Portionen von ca. 50 g in PP-Behälter abgefüllt, in metallisierte PET-Folienbeutel eingeschweißt und chronologisch nummeriert.

Die Zusammensetzung der LVU-Proben ist Tabelle 1 zu entnehmen.

Tabelle 1: Zusammensetzung der DLA-Probe

Zutaten	Gehalt
Vollmilch-Schokolade Zutaten: Zucker, Kakaomasse, Vollmilchpulver, Sahnepulver, Süßmolkenpulver, Butterreinfett, Emulgator: Lecithine (enthält Soja), natürliches Vanille-Aroma. Nährwertangaben pro 100 g: Fett 31,4 g, Kohlenhydrate 55,3 g, davon Zucker 54,3 g, Eiweiß 6,4 g, Salz 0,23 g	100 g/100 g
Cumarin Chemikalie zur Analyse	39,5 mg/kg

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

2.1.1 Homogenität

Die **Homogenität der abgefüllten nummerierten DLA-Proben** wurde anhand einer 6 fachen Bestimmung von Cumarin mittels HPLC-UV überprüft. Die Wiederholstandardabweichung liegt mit 0,49 % im unteren Bereich üblicher relativer Wiederholstandardabweichungen vergleichbarer Methoden. Die Wiederholstandardabweichung der ASU § 64 Methode für die Bestimmung von Cumarin in Zimtsternen mittels HPLC-DAD und externer Kalibrierung liegt bei 4,1 % [18]. Die Ergebnisse der Homogenitätsuntersuchung sind in der Dokumentation angegeben.

Die Berechnung der **Wiederholstandardabweichung S_r der Doppelbestimmungen der Teilnehmer** wurde ebenfalls als Homogenitätskriterium für diese LVU herangezogen. Sie liegt für Cumarin in der vorliegenden Matrix Schokolade bei 6,3% und damit etwas höher als die Präzisionsdaten der jeweiligen genormten Methoden für die Matrices Zimtsterne und Zimtpulver (z.B. ASU § 64 LFGB L 00.00-134, s. 3.6.2) (vgl. Tab. 3) [18]. Die Wiederholstandardabweichungen der Teilnehmer sind bei den statistischen Kennzahlen angegeben (4.1).

Desweiteren wurde die Homogenität anhand der **Trendlinien-Funktion der Teilnehmerergebnisse für die chronologisch abgefüllten Einzel-Proben** graphisch zur Information dargestellt (s. 5.2.2 Homogenität).

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

Bei dem Lebensmittelmatrix-Probenmaterial handelt es sich um Schokolade, die aufgrund des geringen Wassergehalts jahrelang haltbar ist. Die Lagerstabilität bzw. Haltbarkeit der Proben (mikrobieller Verderb) ist somit erfahrungsgemäß während des Untersuchungszeitraums unter den angegebenen Lagerbedingungen gewährleistet.

2.2 Probenversand und Informationen zur Untersuchung

An jeden Teilnehmer wurden in der 46. Kalenderwoche 2018 zwei Portionen des Untersuchungsmaterials verschickt. Die Untersuchungsverfahren wurden freigestellt. Die Untersuchungen waren durchzuführen bis spätestens 28. Dezember 2018.

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

Bei den beiden Mustern handelt es sich um zwei gleiche Proben von Vollmilch-Schokolade mit Zusatz des zu bestimmenden Parameters Cumarin. Die Analysenmethoden sind freigestellt.

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 statistischen Auswertung kamen die abschließend als Mittelwert der nummerierten Proben angegebenen Gehalte der Analyten. Für die Berechnung der Wiederhol- und Vergleichsstandabweichung wurden auch die Einzelwerte der Doppelbestimmungen herangezogen.

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

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

Alle 13 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]. Liegen < 12 quantitative Ergebnisse und eine große Differenz zwischen robustem Mittelwert und Median vor, ist ggf. der Median als zugewiesener Wert zu verwenden (Kriterium: Δ Median - rob. Mittelwert $> 0,3 \text{ opt}$) [3].

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

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

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

Die tatsächlichen Messergebnisse sind anzugeben. Einzelergebnisse die außerhalb des angegebenen Messbereiches eines teilnehmenden Labors liegen (z.B. mit der Angabe $> 25 \text{ mg/kg}$ oder $< 2,5 \text{ mg/kg}$) oder die Angabe „0“ werden für die statistische Auswertung nicht berücksichtigt [3].

3.2 Robuste Standardabweichung

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

3.3 Wiederholstandardabweichung

Die Wiederholstandardabweichung S_r basiert auf den laborinternen Standardabweichungen der (ausreißerfreien) Einzelergebnisse der Teilnehmer, die jeweils unter Wiederholbedingungen, d.h. Analysen an derselben Probe von demselben Bearbeiter mit demselben Gerät im gleichen Labor innerhalb kurzer Zeit, ermittelt wurden. Sie charakterisiert die mittlere Streuung der Ergebnisse innerhalb der Laboratorien [3] und wird von DLA als Hinweis für die Homogenität des Untersuchungsmaterials herangezogen.

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

Die relative Wiederholstandardabweichung in Prozent des Mittelwerts ist als Variationskoeffizient VK_r bei den statistischen Kenndaten im Ergeb-

nisteil mit angegeben, sofern die Einzelergebnisse der Teilnehmer vorliegen.

3.4 Vergleichsstandabweichung

Die Vergleichsstandabweichung S_R stellt eine laborübergreifende Schätzung der Standardabweichung für die Bestimmung des jeweiligen Parameters anhand der (ausreißerfreien) Einzelergebnisse der Teilnehmer dar. Sie berücksichtigt sowohl die Wiederholstandardabweichung als auch die Standardabweichung zwischen den Laboratorien. Vergleichsstandardabweichungen von LVUs können von Vergleichsstandardabweichungen von RVs abweichen, da die beteiligten Laboratorien bei LVUs i.d.R. unterschiedliche interne Bedingungen und Methoden zur Bestimmung der Messwerte benutzen. In der vorliegenden Auswertung bezieht sich die Angabe der Vergleichsstandardabweichung daher nicht auf eine spezifische Messmethode, sondern charakterisiert annähernd die Vergleichbarkeit der Ergebnisse der Laboratorien untereinander. Vorausgesetzt der Einfluss von Homogenität und Stabilität des Probenmaterials sind zu vernachlässigen.

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

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

3.5 Ausschluss von Ergebnissen und Ausreißer

Ergebnisse können vorab von der statistischen Auswertung ausgeschlossen werden, wenn offensichtliche grobe Fehler, wie z. B. falsche Einheiten, Dezimalstellen, zu geringe Anzahl signifikanter Stellen (gültige Ziffern) oder Angaben für einen falschen Prüfgegenstand vorliegen [2]. Auch wenn ein Ergebnis z.B. mit einem Faktor >10 deutlich vom Mittelwert abweicht und einen Einfluss auf die robuste Statistik hat, kann ein Ergebnis von der statistischen Auswertung ausgeschlossen werden [3].

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

Ergebnisse, die mit unterschiedlichen Verfahren erhalten wurden und zu einer erhöhten Variabilität und/oder zu einer bi- oder mehrmodalen Verteilung der Ergebnisse führen, werden separat behandelt oder, wenn dafür zu wenige Ergebnisse vorliegen, ausgeschlossen. Hierfür erfolgt die Prüfung der Ergebnisse anhand der Kern-Dichte-Schätzung [3, 12].

Auf Ausreißer wird mittels robuster Statistik (Algorithmus A) geprüft: Ergebnisse, die um mehr als das Dreifache der robusten Standardabweichung vom robusten Mittelwert abweichen, können danach als Ausreißer eingestuft werden [3]. Aufgrund der Anwendung der robusten Statistik werden Ausreißer i.d.R. nicht von der Auswertung ausgeschlossen, sofern keine anderen Gründe vorliegen (s.o.) [3]. Ermittelte Ausreißer werden im Ergebnisteil nur genannt, wenn sie von der statistischen Auswertung ausgeschlossen wurden.

3.6 Zielstandardabweichung (für die Eignungsbeurteilung)

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

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

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

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

Zur Bewertung der Ergebnisse wurde in der vorliegenden LVU für Cumarin die Zielstandardabweichung des allgemeinen Modells nach Horwitz (s. 3.6.1) verwendet.

Zur Information wurde zusätzlich die Zielstandardabweichung eines Versuchs zur Präzision angegeben (ASU §64 L 00.00-134, s. 3.6.2).

3.6.1 Allgemeines Modell nach Horwitz

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

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

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

Die dort gekennzeichneten resultierenden Zielstandardabweichungen σ_{pt} wurden zur Bewertung der Ergebnisse herangezogen bzw. zur Information zusätzlich bei den Kennzahlen angegeben.

Tabelle 3: Relative Wiederholstandardabweichungen (RSD_r) und relative Vergleichsstandardabweichungen (RSD_R) gemäß ausgewählter Auswertungen von Versuchen zur Präzision und die resultierende Zielstandardabweichung σ_{pt} [18]

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

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

3.6.3 Werte aus Erkenntnissen

Die Zielstandardabweichung kann für die Eignungsbeurteilung auf einen Wert festgesetzt werden, der dem Leistungsfähigkeitsniveau entspricht, das der Koordinator für ein wünschenswertes Ziel für die teilnehmenden Laboratorien hält [3].

In der vorliegenden LVU wurden die Zielstandardabweichungen gemäß 3.6.1 als geeignet angesehen.

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

3.7 z-Score

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

Die Berechnung erfolgt nach:

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

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

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

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

3.7.1 Warn- und Eingriffssignale

Gemäß der ISO 13528 für statistische Verfahren für Eignungsprüfungen wird empfohlen, dass ein Ergebnis, das einen z-Wert $> 3,0$ oder $< -3,0$ ergibt, als „Eingriffssignal“ zu werten ist [3]. Gleichermäßen ist ein z-Wert $> 2,0$ oder $< -2,0$ als „Warnsignal“ zu beurteilen. Ein einzelnes „Eingriffssignal“ oder aber „Warnsignale“ bei zwei aufeinander folgenden LVU-Runden sind als Beleg dafür zu werten, dass eine Anomalie aufgetreten ist, die untersucht werden muss. Eine Fehler- bzw. Ursachenanalyse kann durch Prüfung des Analysenablaufs inkl. Verständnis und Umsetzung der Messung durch das Personal, Einzelheiten des Messablaufs, Kalibrierung von Geräten und Zusammensetzung von Reagenzien, Übertragungs- bzw. Berechnungsfehler, Richtigkeit und Präzision sowie Einsatz von Referenzmaterial durchgeführt werden. Falls notwendig, muss auf die Probleme durch angemessene Korrekturmaßnahmen reagiert werden [3].

DLA stellt in den z-Score-Abbildungen die Grenzen für die Warn- und Eingriffssignale als gelbe bzw. rote Linien dar. Die jeweiligen Werte haben gemäß ISO 13528 nur Gültigkeit sofern ≥ 10 Ergebnisse vorliegen [3].

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

Parameter	Matrix	rob. Mittelwert	rob. SD (S*)	rel. SD (VK _{s*}) [%]	Quotient S*/σ _{pt}	DLA-Bericht
Cumarin	Backware	166 mg/kg	12,3 mg/kg	7,41%	0,95	DLA 17/2013
Cumarin	Backware	88,6 mg/kg	6,43 mg/kg	7,26%	0,89	DLA 22/2015
Cumarin	Zimtpulver	29,4 mg/kg	6,32 mg/kg	21,5%	1,45	DLA 28/2016
Cumarin	Backware	74,1 mg/kg	7,30 mg/kg	10,3%	1,18	DLA 29/2017
Cumarin	Schokolade	36,0 mg/kg	1,67 mg/kg	4,62%	0,50	DLA 28/2018

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. 3.11). 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 und Rückführbarkeit

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.

Die Rückführbarkeit des zugewiesenen Wertes wird anhand des Konsenswertes als robuster Mittelwert der Teilnehmerergebnisse gewährleistet.

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_x) 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 $U_{(X_{pt})}$
Ergebnisse im Zielbereich
Prozent im Zielbereich

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

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

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

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

4.1 Cumarin in mg/kg

Vergleichsuntersuchung / Proficiency Test

Kenndaten	
Anzahl der Messergebnisse	13
Anzahl der Ausreißer	0
Mittelwert	36,0
Median	36,1
Robuster Mittelwert (x_{pt})	36,0
Robuste Standardabweichung (S^*)	1,67
Anzahl mit 2 Wiederholmessungen	13
Wiederholstandardabweichung (S_r)	2,25
Variationskoeffizient (VK_r)	6,27%
Vergleichsstandardabweichung (S_R)	2,57
Variationskoeffizient (VK_R)	7,15%
<i>Zielkenndaten:</i>	
Zielstandardabweichung σ_{pt}	3,36
Zielstandardabweichung (zur Information)	2,90
Untere Grenze des Zielbereichs	29,3
Obere Grenze des Zielbereichs	42,8
Quotient S^*/σ_{pt}	0,50
Standardunsicherheit $U(x_{pt})$	0,578
Ergebnisse im Zielbereich	13
Prozent im Zielbereich	100%

Anmerkungen zu den Kenndaten:

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

Die Verteilung der Ergebnisse zeigte eine geringe Variabilität. Der Quotient S^*/σ_{pt} lag unter 1,0. Die robuste Standardabweichung liegt niedriger als vorangegangene 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).

Alle Ergebnisse lagen im Zielbereich.

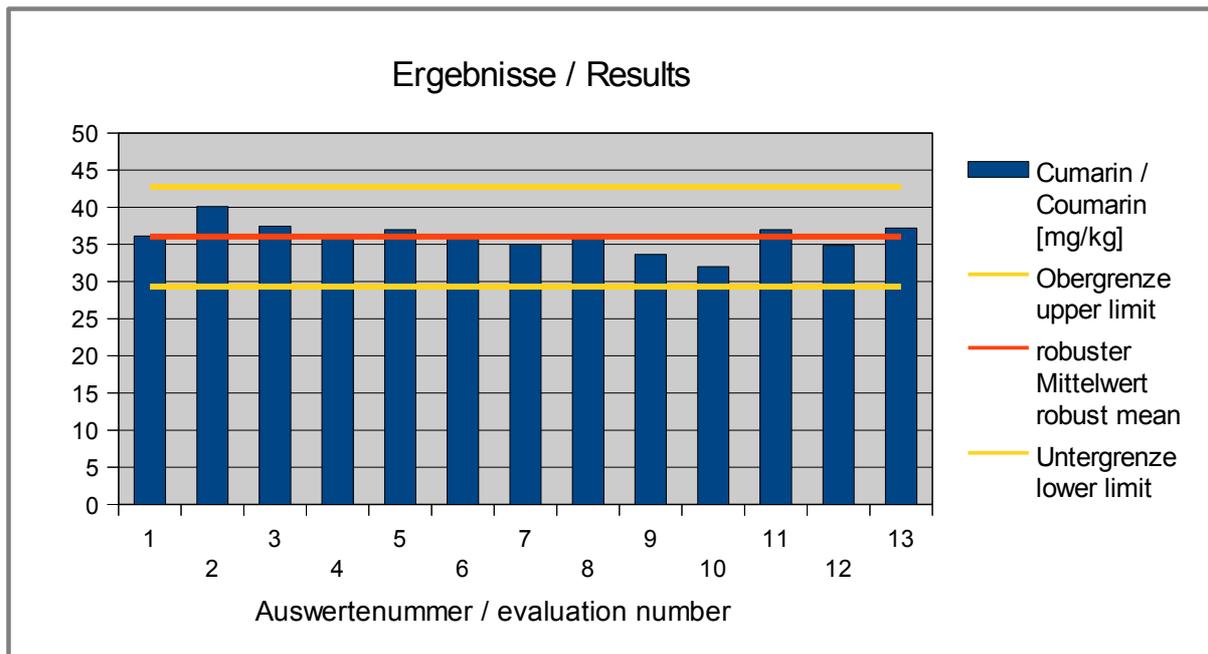


Abb. / Fig. 1: Ergebnisse Cumarin / Results Coumarin

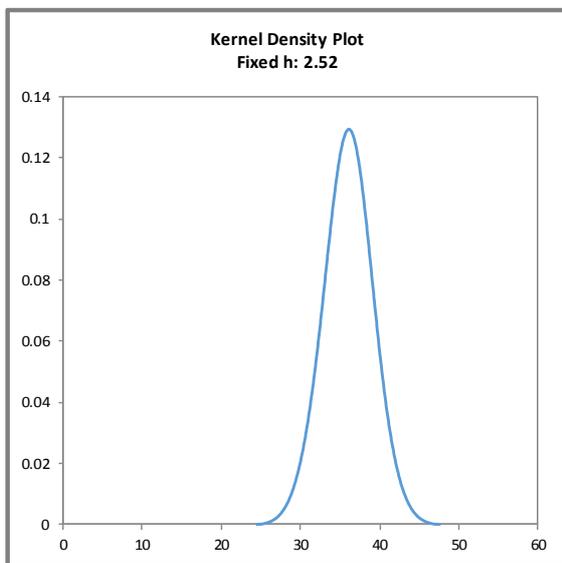


Abb. / Fig. 2:

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

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

Anmerkung:

Die Kerndichte-Schätzung zeigt eine symmetrische Verteilung der Ergebnisse.

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

Auswertenummer	Coumarin / Coumarin [mg/kg]	Abweichung [mg/kg]	z-Score (σ_{pt})	z-Score (Info)	Hinweis
Evaluation number	[mg/kg]	Deviation [mg/kg]		(Info)	Remark
1	36,1	0,07	0,02	0,03	
2	40,1	4,05	1,21	1,40	
3	37,5	1,41	0,42	0,49	
4	35,9	-0,15	-0,04	-0,05	
5	37,0	0,95	0,28	0,33	
6	36,3	0,25	0,08	0,09	
7	35,0	-1,05	-0,31	-0,36	
8	36,0	-0,05	-0,01	-0,02	
9	* 33,7	-2,40	-0,71	-0,83	
10	32,0	-4,05	-1,20	-1,39	
11	37,0	0,95	0,28	0,33	
12	34,9	-1,16	-0,34	-0,40	
13	37,2	1,15	0,34	0,40	

* Mittelwert von DLA berechnet

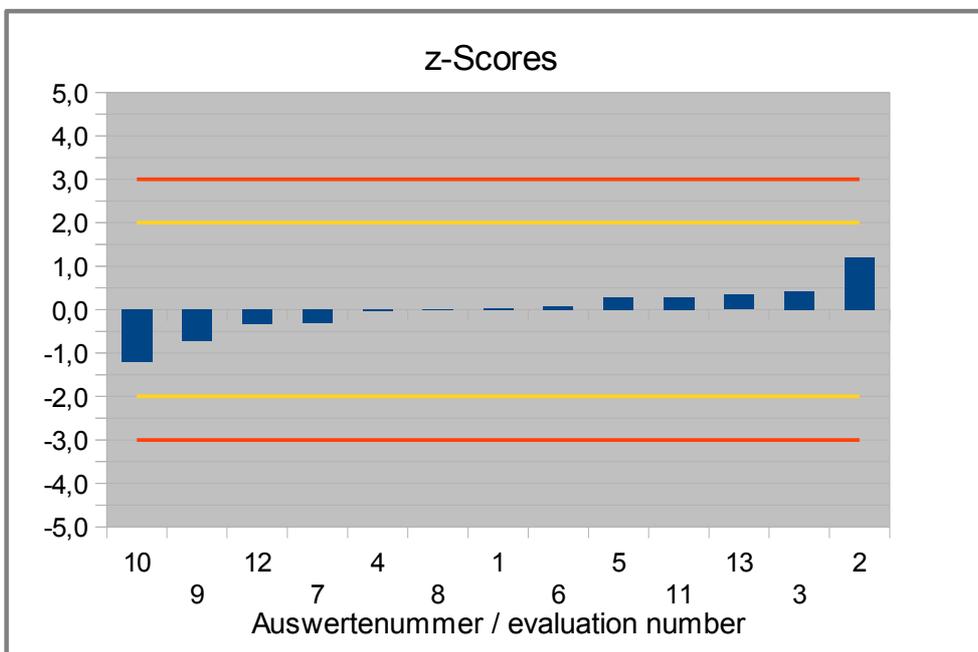


Abb. / Fig. 3: z-Scores Coumarin / Coumarin

5. Dokumentation

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

5.1 Angaben der Teilnehmer

5.1.1 Primärdaten

Parameter	Teilnehmer	Einheit	Probe I DLA Nr.	Probe II DLA Nr.	Datum der Analyse	Endergebnis	Ergebnis Probe I	Ergebnis Probe II	Bestimmungs- grenze	Angabe inkl. Wiederfind- ung	Wiederfind- ungsrate
					Tag/Monat					ja / nein	in %
Cumarin	1	mg/kg	13	45	30.11.18	36,12	36	36,25	1	nein	103,36
	2	mg/kg	5	53	13.12.	40,1	40	40,1	2	nein	96
	3	mg/kg	19	39	05.12.18	37,46	36,96	37,96	0,05	nein	
	4	mg/kg	12	46	11.12.18	35,9	35,3	36,4	2mg/kg	ja	97,15
	5	mg/kg	24	34	30.11.18	37	37	36	1		
	6	mg/kg	17	41	29.11.18	36,3	36,3	36,2	10	ja	105
	7	mg/kg	2	56	20.12.18	35	34	36	5	nein	
	8	mg/kg	22	36	03.12.18	36	30	41	0,1	nein	100
	9	mg/kg	7	51	04.12.18		33,8	33,5	1	nein	
	10	mg/kg	55	55	04.12.18	32	31	32	10	nein	80-120
	11	mg/kg	31	27	16.11.18	37	37	36	0,1	nein	
	12	mg/kg	8	50	26.11.18	34,89	34,4	35,38	5	nein	
	13	mg/kg	11	47	23/11 + 27/11	37,2	36,91	37,48	0,6	nein	101,5

5.1.2 Analytische Methoden

Parameter	Teilnehmer	Methodenangabe, wie in Prüfbericht / Norm / Literatur	Hinweise zu Probenvorbereitung und -aufarbeitung	Hinweise zur Messmethode	Kalibrierung und Referenzmaterial	Wiederfindung wurde mit gleicher Matrix bestimmt	Methode akkreditiert nach ISO/IEC 17025	Sonstige Hinweise
						ja / nein	ja / nein	
Cumarin	1	PV-0027-01 CVUA Stuttgart	-	-	Sigma-Aldrich	ja	ja	-
	2	HPLC-DAD (§64 L 00.00-134)	Extraktion			nein	nein	Methode und auch §64 L 00.00-134 für Matrix Schokolade nicht validiert
	3	ASU L00.00-134 (2010-09) modifiziert	siehe ASU-Methode	LC-MS/MS	interner Standard: D4-Cumarin-Standard	nein	ja	
	4	Extraktion mit 90% Methanol & HPLC-UV	Gefrieren bei -70°C & Homogenisation mit grindomix	N/A	Phytolab Ref Std	ja	ja für Backwaren aber nicht für diese Matrix	N/A
	5	§64 LFGB L00.00-134:2010-09		LC-MS/MS			ja	
	6	ASU 00.00-134 Sept. 2010	entsprechend ASU mit 5g Einwaage	HPLC-DAD	Cumarin mit internen Standard	ja	ja	
	7						nein	
	8	Hausmethode	Extraktion mit Diethylether	GC/MS		ja	ja	
	9	Bestimmung von Cumarin in zimthaltigen Lebensmitteln mittels LC-MS/MS (PAW 066)	Einwaage 5 g	LC-MS/MS			ja	
	10	HM-MA-M 02-060 HPLC: 2018-01 ^a		HPLC	extern, Referenzmaterial Kuchen	ja	ja	
	11	SOP M3217, LC-MS/MS					ja	
	12	Bestimmung von Aromastoffen in Lebensmittel mittels HPLC-DAD	Extraktion mit MeOH/Wasser (80/20; v/v)	Hausmethode, HPLC-DAD mit ISTD	vorhanden	nein	ja	
	13	§64 LFGB, L 00.00-134 mod, LCMSMS	Extraktion mit Methanol/Wasser	LCMSMS	Matrixkalibrierung	ja	ja	

5.2 Homogenität

5.2.1 Homogenitätsuntersuchung der abgefüllten LVU-Proben

Homogenitätsprüfung anhand der Cumarin-Bestimmung mittels HPLC-UV.

Wiederholmessungen		mg/kg
Probe	1	37,0
Probe	2	36,9
Probe	3	36,8
Probe	4	36,6
Probe	5	36,7
Probe	6	37,0

Allgemeiner Mittelwert 36,8
 Wiederholstandardabweichung 0,18 0,49%

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 zur Information darstellen:

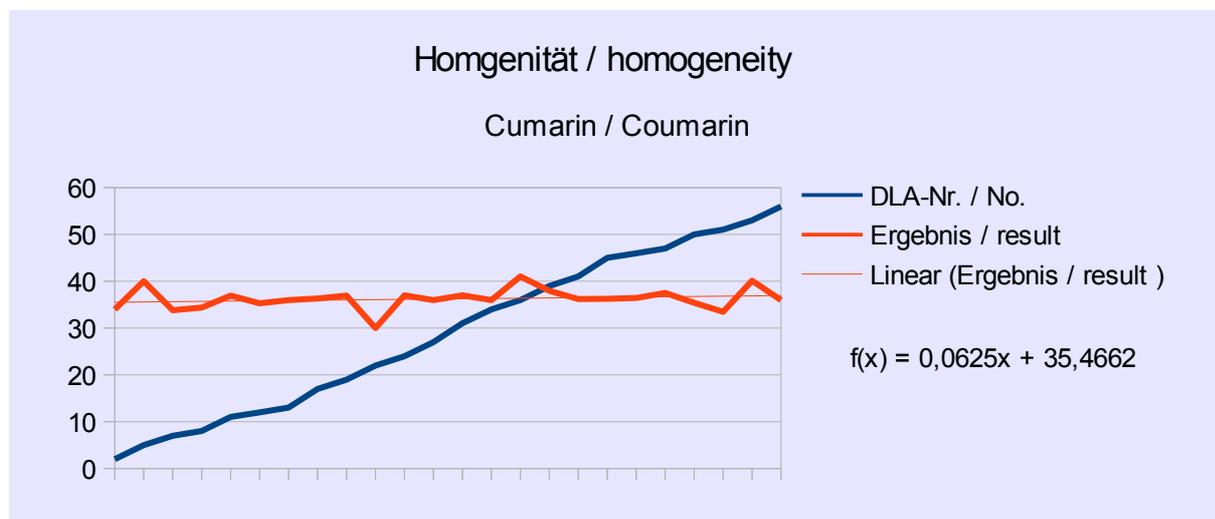


Abb./Fig. 4:
 Trendfunktion Probennummern vs. Ergebnisse
 trend line function sample number vs. results

5.3 Probenanschreiben: Informationen zur Eignungsprüfung (EP)

Vor der LVU werden dem Teilnehmern im Proben-Anschreiben folgende Informationen mitgeteilt:

EP-Nummer	DLA 28-2018
EP-Name	Cumarin in Schokolade
Probenmatrix*	<i>Proben I + II: Vollmilch-Schokolade / Kakao 30% / Zutaten: Kakaobutter, Kakaomasse, Vollmilchpulver, Sahnepulver, Süßmolkenpulver, Butterreinfett, Emulgator: Lecithine (Soja), Vanille-Aroma und zusätzlich Cumarin</i>
Probenzahl und Probenmenge	<i>2 identische Proben I+ II: je 50 g</i>
Lagerungsinformation	<i>Proben I+ II: gekühlt 2 - 10 °C</i>
Verwendungszweck	<i>Ausschließlich für Laboruntersuchungen (Qualitätskontrollproben)</i>
Parameter	<i>quantitativ: Cumarin</i>
Untersuchungsmethoden	<i>Methode ist freigestellt</i>
Hinweise zur Analyse	<i>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.</i>
Ergebnisangabe	<i>Es werden die Einzelergebnisse für Probe I und II sowie die Mittelwerte als Endergebnisse, berechnet aus der Doppelbestimmung (Probe I und II), in die Ergebnisabgabe-Datei eingetragen. Die Wiederfindung, wenn durchgeführt, ist in die Rechnung mit einzubeziehen.</i>
Einheiten	<i>mg/kg</i>
Anzahl von signifikanten Stellen	<i>Mindestens 2</i>
Weitere Angaben:	<i>Zur Information ist anzugeben:</i> <ul style="list-style-type: none"> - Datum der Analyse - DLA-Nr. der Probe I und II - Bestimmungsgrenze - Angabe inkl. Wiederfindung - Wiederfindung wurde mit gleicher Matrix bestimmt. - Methode ist akkreditiert
Ergebnisabgabe	<i>Die Ergebnisabgabe-Datei wird per eMail übermittelt an: pt@dla-lvu.de</i>
Abgabetermin	spätestens 28. Dezember 2018
Auswertebereich	<i>Der Auswertebereich wird voraussichtlich 6 Wochen nach Abgabetermin der Ergebnisse fertiggestellt und per eMail als PDF-Datei zugesandt.</i>
Koordinator und Ansprechpartner der EP	<i>Dr. Matthias Besler-Scharf</i>

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

6. Verzeichnis der Teilnehmer in alphabetischer Reihenfolge

Teilnehmer / Participant	Ort / Town	Land / Country
		Deutschland
		LUXEMBURG
		Deutschland
		Deutschland
		ÖSTERREICH
		IRLAND
		Deutschland
		Deutschland
		Deutschland

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

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

7. Verzeichnis relevanter Literatur

1. DIN EN ISO/IEC 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 inter-laboratory 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 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. 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. ASU § 64 LFGB L 00.00-134 (2010-09) Bestimmung von Cumarin in zimthaltigen Lebensmitteln mittels HPLC/DAD bzw. HPLC-MS/MS [Determination of coumarin in cinnamon containing foods by HPLC/DAD and HPLC-MS/MS]

DLA 28/2018 - Cumarin in Schokolade

Alle 13 Teilnehmer haben fristgerecht Ergebnisse eingereicht. Die Auswertung von Cumarin in Schokolade erfolgte mit der Zielstandardabweichung des allgemeinen Modells nach Horwitz. Es lagen alle Ergebnisse der Teilnehmer im Zielbereich. Details zu den einzelnen Parametern sind dem Auswertebereicht zu entnehmen.

3 Teilnehmer hatten ihren Sitz im Europäischen Ausland (Luxemburg, Österreich, Irland).