



Auswertungs-Bericht

Laborvergleichsuntersuchung

DLA ptTX01 (2021)

Cumarin

in Zimtpulver

(Ceylon- und Cassia-Zimtpulver)

DLA - Proficiency Tests GmbH

Hauptstr. 80

23845 Oering/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)

<i>EP-Anbieter</i> <i>PT-Provider</i>	<p>DLA - Proficiency Tests GmbH Hauptstr. 80, 23845 Oering, Germany</p> <p>Geschäftsführer/CEO: Dr. Matthias Besler-Scharf Stellv. Leitung/Deputy Lead: Alexandra Scharf MSc.</p> <p>Tel. ++49-(0)4532-9183358 Mob. ++49(0)171-1954375 Fax. ++49(0)4102-9944976 eMail. proficiency-testing@dla-lvu.de</p>
<i>EP-Nummer</i> <i>PT-Number</i>	DLA ptTX01 (2021)
<i>EP-Koordinator</i> <i>PT-Coordinator</i>	Dr. Matthias Besler-Scharf
<i>Status des EP-Bericht</i> <i>Status of PT-Report</i>	<p>Abschlussbericht / Final report (28. Februar 2022)</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>
<i>EP-Bericht Freigabe</i> <i>PT-Report Authorization</i>	<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: 28. Februar 2022</p>
<i>Unteraufträge</i> <i>Subcontractors</i>	<p>Im Rahmen dieser Eignungsprüfung wurden nachstehende Leistungen im Unterauftrag vergeben: Homogenitätsprüfung der EP-Parameter, Proteinbestimmung As part of the present proficiency test the following services were subcontracted: Homogeneity tests of PT-parameter(s), protein determination</p>
<i>Vertraulichkeit</i> <i>Confidentiality</i>	<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.....	6
2.2 Probenversand und Informationen zur Untersuchung.....	6
2.3 Ergebnisübermittlung.....	6
3. Auswertung.....	7
3.1 Konsenswert der Teilnehmer (zugewiesener Wert).....	7
3.2 Robuste Standardabweichung.....	7
3.3 Wiederholstandardabweichung.....	7
3.4 Vergleichsstandardabweichung.....	8
3.5 Ausschluss von Ergebnissen und Ausreißern.....	8
3.6 Zielstandardabweichung (für die Eignungsbeurteilung).....	9
3.6.1 Allgemeines Modell nach Horwitz.....	9
3.6.2 Auswertung eines Versuchs zur Präzision.....	10
3.6.3 Werte aus Erkenntnissen	10
3.7 z-Score.....	11
3.7.1 Warn- und Eingriffssignale.....	12
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 (Probe A: Ceylon-Zimtpulver).....	15
4.2 Cumarin in mg/kg (Probe B: Cassia-Zimtpulver).....	18
4.3 z-Scores der Teilnehmer: Übersichtstabelle.....	21
5. Dokumentation.....	22
5.1 Angaben der Teilnehmer.....	22
5.1.1 Primärdaten.....	22
5.1.2 Analytische Methoden.....	23
5.2 Homogenität.....	24
5.2.1 Mischungshomogenität vor der Abfüllung.....	24
5.3 Probenanschreiben: Informationen zur Eignungsprüfung (EP).....	25
6. Verzeichnis der Teilnehmer in alphabetischer Reihenfolge.....	26
7. Verzeichnis relevanter Literatur.....	27

1. Einleitung

Die Teilnahme an Laborvergleichsuntersuchungen (LVU) bzw. Eignungsprüfungen (EP) 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 zwei handelsübliche Zimtpulver (Ceylon- und Cassia-Zimtpulver) von Europäischen Anbietern aus je einer Herstellungscharge.

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

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

Die Zusammensetzung der LVU-Proben ist in Tabelle 1 angegeben.

Tabelle 1: Zusammensetzung der DLA-Proben

Zimtpulver	
Probe A	<u>Zutat:</u> Ceylon-Zimt, gemahlen
Probe B	<u>Zutat:</u> Cassia-Zimt, gemahlen

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

2.1.1 Homogenität

Die **Mischungshomogenität vor der Abfüllung** wurde in 8-fach Bestimmung mittels **Microtracer-Analyse** untersucht. Es handelt sich um eine normierte Methode, die Bestandteil des internationalen GMP-Zertifizierungssystems für Futtermittel ist [14]. Vor der Mischung werden mit Farbstoff beschichtete Eisenpartikel in μm -Größe zur Probe gegeben und die Partikelzahl wird nach der Homogenisierung in entnommenen Aliquoten bestimmt. Die Bewertung der Mischungshomogenität erfolgt auf Grundlage der Poissonverteilung anhand des chi-Quadrat-Tests. Eine Wahrscheinlichkeit von $\geq 5\%$ ist gleichzusetzen mit einer guten homogenen Mischung und von $\geq 25\%$ mit einer exzellenten Mischung [14, 15]. Die Microtracer-Analysen der vorliegenden LVU-Proben haben Wahrscheinlichkeiten von 94% (Probe A) bzw. 82% (Probe B) 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 [16, 17]. Es wurden HorRat-Werte von 0,75 (Probe A) bzw. 0,92 (Probe B) für die vorliegenden LVU-Proben erhalten. Die Ergebnisse der Microtracer-Analyse sind in der Dokumentation angegeben.

Die Berechnung der **Wiederholstandardabweichung S_r der Doppelbestimmungen der Teilnehmer** wurde ebenfalls als Homogenitätskriterium für diese LVU herangezogen. Sie liegt für Cumarin in Probe A bei 3,60% und für Cumarin in Probe B bei 3,85%. Die Wiederholstandardabweichungen sind somit vergleichbar mit den Präzisionsdaten der jeweiligen genormten Methoden (z.B. ASU §64 L00.00-134, s. 3.6.2) (vgl. Tab. 3) [18]. Die Wiederholstandardabweichungen der Teilnehmer sind bei den statistischen Kennzahlen angegeben (4.1 und 4.2).

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

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-Materialien zeigen bei vergleichbarer Matrix und Wasseraktivität (a_w -Wert $< 0,5$) eine gute Haltbarkeit der EP-Proben und Lagerstabilität gegenüber mikrobiellem Verderb und bezüglich des Gehalts an dem EP-Parameter Cumarin.

Der a_w -Wert der EP-Proben lag bei ca. $0,30$ ($15,2^\circ\text{C}$). Die Stabilität des Probenmaterials war somit während des Untersuchungszeitraums unter den angegebenen Lagerbedingungen gewährleistet.

2.2 Probenversand und Informationen zur Untersuchung

An jeden Teilnehmer wurde in der 45. Kalenderwoche 2021 je eine Portion der Untersuchungsmaterialien Probe A und B verschickt. Die Untersuchungsverfahren wurden freigestellt. Die Untersuchungen waren durchzuführen bis spätestens 07. Januar 2022.

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

*Bei den beiden Mustern handelt es sich um zwei unterschiedliche Proben mit dem Parameter Cumarin in den Matrices **Ceylon-Zimtpulver (Probe A)** und **Cassia-Zimtpulver (Probe B)**. Die Analysenmethode ist freigestellt.*

Hinweis: Bitte bei Ankunft kühl lagern ($2-10^\circ\text{C}$)

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 18 Teilnehmer haben mindestens ein Ergebnis 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 $> 0,3 \sigma_{pt}$) [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 Durchführung der Bewertung wird in der Regel ab 7 Ergebnissen durchgeführt, in begründeten Fällen ist eine Bewertung auch ab 5 Ergebnissen zulässig.

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

3.2 Robuste Standardabweichung

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

3.3 Wiederholstandardabweichung

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

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

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

3.4 Vergleichsstandardabweichung

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

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

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

3.5 Ausschluss von Ergebnissen und Ausreißern

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 für Cumarin in Probe A (Ceylon-Zimtpulver) und Probe B (Cassia-Zimtpulver) wurde die Zielstandardabweichung der Auswertung eines Versuchs zur Präzision (s. 3.6.2) verwendet (ASU §64 Methoden: L00.00-134).

Zusätzlich wurde für Cumarin in Probe A die Standardunsicherheit berücksichtigt und die Ergebnisse mittels z'-Score bewertet (s. 3.8).

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

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

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

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

^{1A} / ^{1B} in der Auswertung (s. Abschnitt 4) verwendete Werte: 1A für Ceylon-Zimt (Probe A niedriger Gehalt) und 1B für Cassia-Zimt (Probe B hoher Gehalt)

3.6.3 Werte aus Erkenntnissen

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

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

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

Tabelle 3: 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%	1,5	DLA 28/2016
Cumarin	Backware	74,1 mg/kg	7,30 mg/kg	10,3%	1,2	DLA 29/2017
Cumarin	Schokolade	36,0 mg/kg	1,67 mg/kg	4,62%	0,50	DLA 28/2018
Cumarin	Zimtpulver	24,0 mg/kg	3,93 mg/kg	16,4%	1,3	DLA 29/2019
Cumarin	Backware	74,4 mg/kg	8,28 mg/kg	11,1%	1,3	DLA ptTX01/2020
Cumarin	Ceylon-Zimtpulver	27,7 mg/kg	7,53 mg/kg	27,2%	1,6°	DLA ptTX01 (2021)
	Cassia-Zimtpulver	1369 mg/kg	166 mg/kg	12,1%	0,95	

° mit Zielstandardabweichung σ_{pt}

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

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

3.8 z'-Score

Der z'-Score kann u.a. zur Beurteilung der Ergebnisse der teilnehmenden Labore herangezogen werden, wenn die Standardunsicherheit des zugewiesenen Wertes berücksichtigt werden muss (s. 3.11). 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]:

$$VK_R = \frac{S_R * 100}{X}$$

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, der Anzahl der Teilnehmer (P) einer LVU und anderen Faktoren 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}) ≤ 0,3 σ_{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_r) in %
Vergleichsstandardabweichung (S_R)
Variationskoeffizient (VK_R) in %
<i>Zielkenndaten:</i>
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 (Probe A: Ceylon-Zimtpulver)**Vergleichsuntersuchung / Proficiency Test**

Kenndaten	
Anzahl der Messergebnisse	17
Anzahl der Ausreißer	0
Mittelwert	27,8
Median	28,0
Robuster Mittelwert (X_{pt})	27,7
Robuste Standardabweichung (S^*)	7,53
Anzahl mit 2 Wiederholmessungen	17
Wiederholstandardabweichung (S_x)	1,00
Variationskoeffizient (VK_x)	3,60%
Vergleichsstandardabweichung (S_R)	6,97
Variationskoeffizient (VK_R)	25,1%
Zielkenndaten:	
Zielstandardabweichung σ_{pt}'	4,69
Zielstandardabweichung (zur Information)	2,69
Untere Grenze des Zielbereichs	18,3
Obere Grenze des Zielbereichs	37,1
Quotient S^*/σ_{pt}'	1,6
Standardunsicherheit $U(X_{pt})$	2,28
Ergebnisse im Zielbereich	14
Prozent im Zielbereich	82%

Anmerkungen zu den Kenndaten:

Die Zielstandardabweichung wurde nach 3.6.2 Auswertung eines Versuchs zur Präzision (ASU §64 L00.00-134) berechnet. Zusätzlich wurde zur Information die Zielstandardabweichung berechnet nach dem Modell nach Horwitz angegeben (s. 3.6.1).

Verteilung der Ergebnisse zeigte eine leicht erhöhte Variabilität. Daher wurde unter Berücksichtigung der Standardunsicherheit mittels z' -Score ausgewertet. Der Quotient S^*/σ_{pt}' lag dann bei $< 2,0$. Die robuste Standardabweichung liegt im oberen Bereich von vorangegangenen LVUs (vgl. 3.6.3). Die Wiederholstandardabweichung liegt im Bereich von etablierten Werten für die eingesetzten Bestimmungsmethoden (vgl. 3.6.2).

82% der Ergebnisse lagen im Zielbereich.

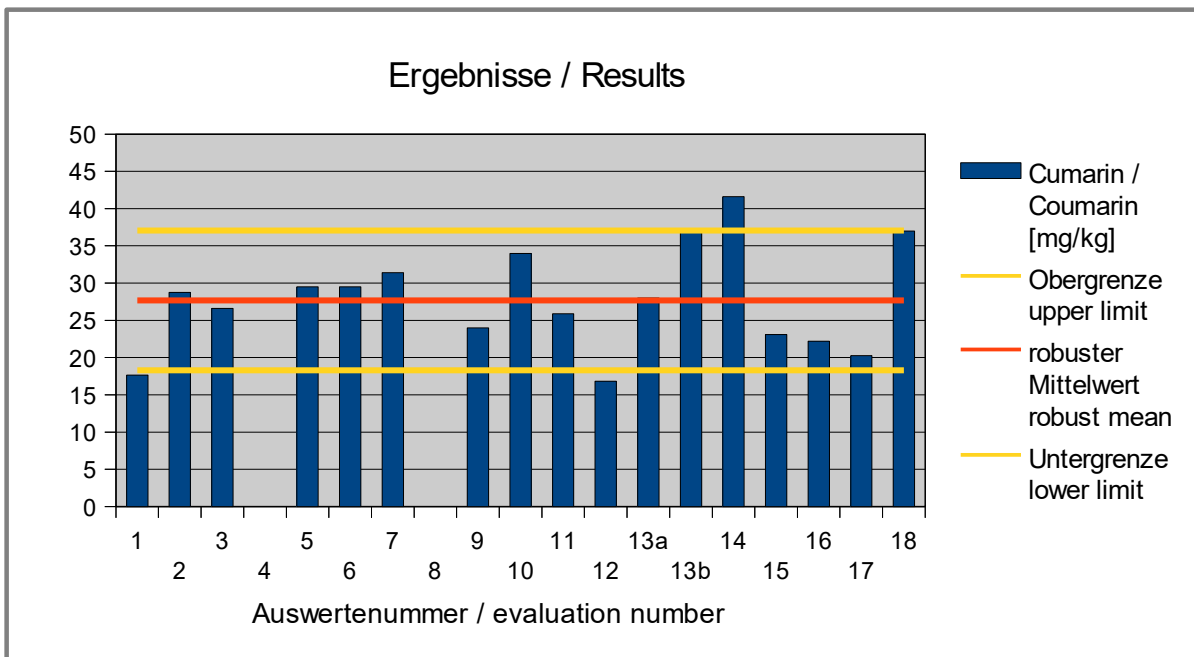


Abb. / Fig. 1: Ergebnisse Coumarin (Probe A) / Results Coumarin (Sample A)

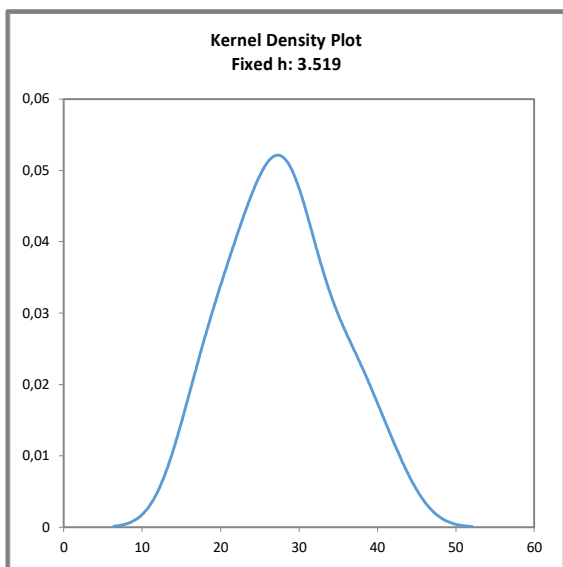


Abb. / Fig. 2:

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 annähernd eine symmetrische Verteilung der Ergebnisse mit einer leichten Schulter bei etwa > 35 mg/kg.

Ergebnisse der Teilnehmer:
Results of Participants:

Auswertenummer	Coumarin / Coumarin [mg/kg]	Abweichung [mg/kg]	z'-Score (σ _{pt})	z-Score (Info)	Hinweis
Evaluation number		Deviation [mg/kg]			Remark
1	17,7	-10,0	-2,1	-3,7	
2	28,8	1,07	0,23	0,40	
3	26,6	-1,10	-0,23	-0,41	
4					
5	29,5	1,81	0,39	0,67	
6	29,5	1,81	0,39	0,67	
7	31,4	3,71	0,79	1,4	
8					
9	24,0 *	-3,69	-0,79	-1,4	
10	34,0	6,30	1,3	2,3	
11	25,9	-1,79	-0,38	-0,66	
12	16,8	-10,9	-2,3	-4,0	
13a	28,0	0,31	0,07	0,12	
13b	37,0	9,31	2,0	3,5	
14	41,6	13,9	3,0	5,2	
15	23,1	-4,59	-0,98	-1,7	
16	22,2	-5,49	-1,2	-2,0	
17	20,3	-7,41	-1,6	-2,8	
18	37,0	9,31	2,0	3,5	

* Mittelwert von DLA berechnet

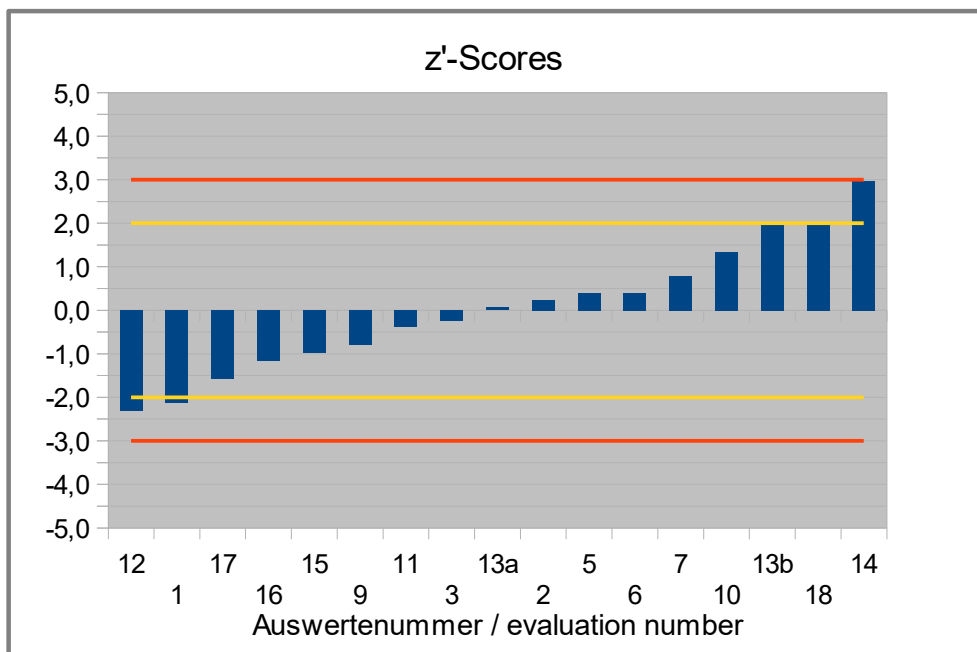


Abb. / Fig. 3: z'-Scores Coumarin (Probe A) / Coumarin (Sample A)

4.2 Cumarin in mg/kg (Probe B: Cassia-Zimtpulver)**Vergleichsuntersuchung / Proficiency Test**

Kenndaten	
Anzahl der Messergebnisse	19
Anzahl der Ausreißer	0
Mittelwert	1362
Median	1433
Robuster Mittelwert (\bar{x}_{pt})	1369
Robuste Standardabweichung (S^*)	166
Anzahl mit 2 Wiederholmessungen	19
Wiederholstandardabweichung (S_r)	52,4
Variationskoeffizient (VK_r)	3,85%
Vergleichsstandardabweichung (S_R)	175
Variationskoeffizient (VK_R)	12,9%
<i>Zielkenndaten:</i>	
Zielstandardabweichung σ_{pt}	175
Zielstandardabweichung (zur Information)	73,9
Untere Grenze des Zielbereichs	1020
Obere Grenze des Zielbereichs	1719
Quotient S^*/σ_{pt}	0,95
Standardunsicherheit $U(\bar{x}_{pt})$	47,6
Ergebnisse im Zielbereich	18
Prozent im Zielbereich	95%

Anmerkungen zu den Kenndaten:

Die Zielstandardabweichung wurde nach 3.6.2 Auswertung eines Versuchs zur Präzision (ASU §64 L00.00-134) berechnet. Zusätzlich wurde zur Information die Zielstandardabweichung berechnet nach dem Modell nach Horwitz angegeben (s. 3.6.1).

Die Verteilung der Ergebnisse zeigte eine geringe Variabilität. Der Quotient S^*/σ_{pt} lag unter 1,0. Die robuste Standardabweichung liegt im Bereich vorangegangener LVUs (vgl. 3.6.3). Wiederhol- und Vergleichsstandardabweichung liegen im Bereich von etablierten Werten für die eingesetzten Bestimmungsmethoden (vgl. 3.6.2).

Die Vergleichbarkeit der Ergebnisse ist gegeben.

95% der Ergebnisse lagen im Zielbereich.

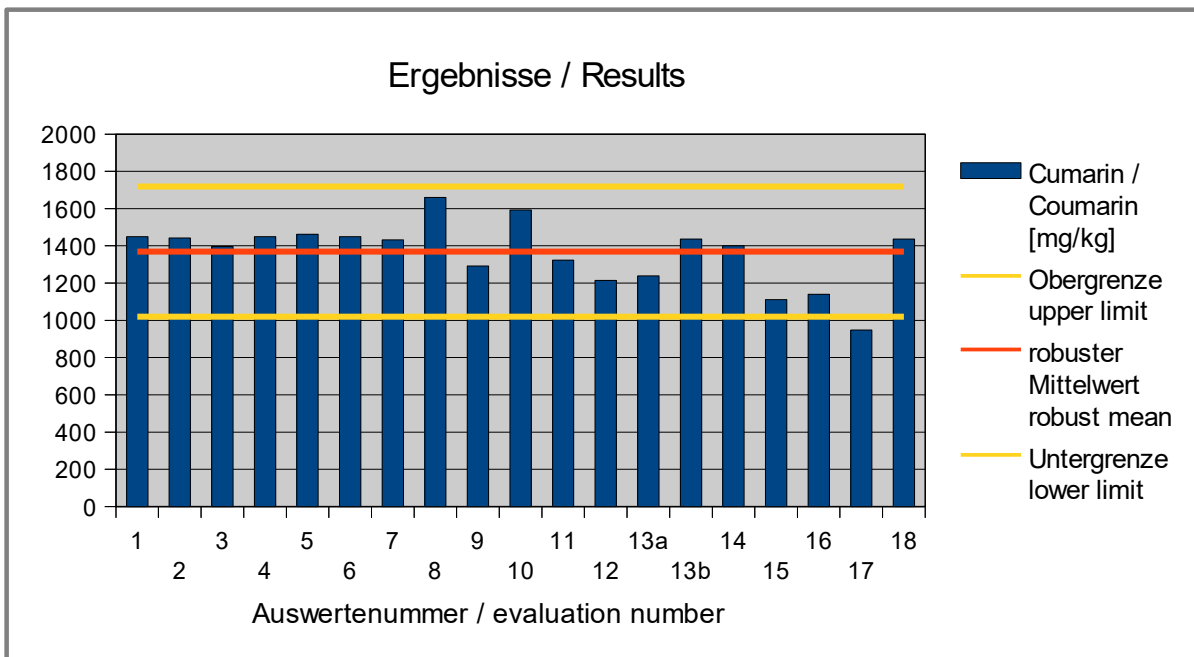


Abb. / Fig. 4: Ergebnisse Coumarin (Probe B) / Results Coumarin (Sample B)

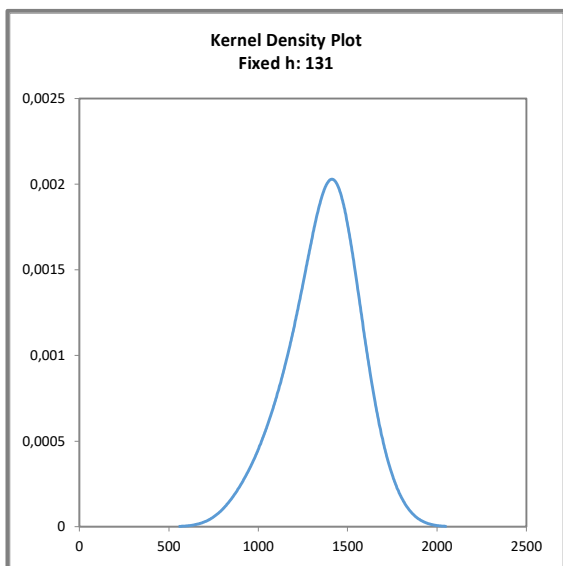


Abb. / Fig. 5:

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 annähernd eine symmetrische Verteilung der Ergebnisse.

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

Auswertenummer Evaluation number	Coumarin / Coumarin [mg/kg]	Abweichung [mg/kg] Deviation [mg/kg]	z-Score (σ_{pt})	z-Score (Info)	Hinweis Remark
1	1449	79,7	0,46	1,1	
2	1442	72,7	0,42	0,98	
3	1397	27,7	0,16	0,37	
4	1449	79,7	0,46	1,1	
5	1462	92,7	0,53	1,3	
6	1450	80,7	0,46	1,1	
7	1433	63,3	0,36	0,86	
8	1660	290,7	1,7	3,9	
9	1292 *	-77,3	-0,44	-1,0	
10	1592	223,1	1,3	3,0	
11	1324	-45,3	-0,26	-0,61	
12	1214	-155,3	-0,89	-2,1	
13a	1239	-130,3	-0,75	-1,8	
13b	1437	67,7	0,39	0,92	
14	1401	31,9	0,18	0,43	
15	1111	-258,3	-1,5	-3,5	
16	1140	-229,3	-1,3	-3,1	
17	948	-421,3	-2,4	-5,7	
18	1437	67,7	0,39	0,92	

* Mittelwert von DLA berechnet

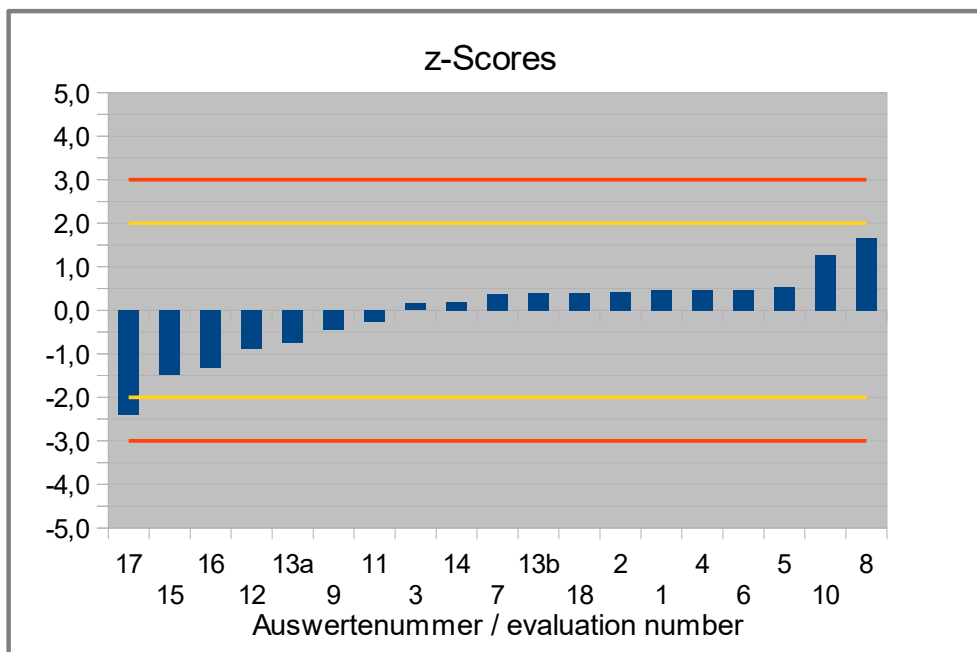


Abb. / Fig. 6: z-Scores Coumarin (Probe B) / Coumarin (Sample B)

4.3 z-Scores der Teilnehmer: Übersichtstabelle

Auswertenummer	Cumarin (Probe A: Ceylon-Zimt)	Cumarin (Probe B: Cassia-Zimt)
	z'-Score	z-Score
1	-2,1	0,46
2	0,23	0,42
3	-0,23	0,16
4		0,46
5	0,39	0,53
6	0,39	0,46
7	0,79	0,36
8		1,7
9	-0,79	-0,44
10	1,3	1,3
11	-0,38	-0,26
12	-2,3	-0,89
13a	0,07	-0,75
13b	2,0	0,39
14	3,0	0,18
15	-0,98	-1,5
16	-1,2	-1,3
17	-1,6	-2,4
18	2,0	0,39

Bewertung des z-Scores / valuation of z-score (DIN ISO 13528:2009-01):

- 2 ≤ z-score ≤ 2 erfolgreich / successful (in green)
- 2 > z-score > 2 „Warnsignal“ / warning signal (in yellow)
- 3 > z-score > 3 „Eingriffssignal“ / action signal (in red)

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	Datum der Analyse	Abschließendes Ergebnis (Mittelwert)	Ergebnis I	Ergebnis II	Abschließendes Ergebnis (Mittelwert)	Ergebnis I	Ergebnis II	NWG / LOD *	BG / LOQ *	MU*	Angabe inkl. Wiederfindung	Wiederfindungsrate
			Tag/Monat	Probe A	Probe A	Probe A	Probe B	Probe B	Probe B				ja / nein	in %
Cumarin / Coumarin	1	mg/kg	15.11.2021	17,66	17,76	17,56	1449	1458	1439	2,5	6,3	10%	nein	98,7
	2	mg/kg	12.11.2021	28,76	28,84	28,68	1442	1441	1442	-	10	Probe A: 5,4 Probe B: 151	nein	-
	3	mg/kg	17.11.2021 - 25.11.2021	26,59	26,60	26,57	1397	1391,7	1402,3	0,2	0,6		nein	99,8
	4	mg/kg	02.12.2021	<BG	<BG	<BG	1449	1442	1456	1	7		nein	entfällt
	5	mg/kg	14.12.	29,50	29,10	29,80	1462	1458	1465	0,03	0,05	16	nein	
	6	mg/kg	06.12.2021	29,50	31,00	28,00	1450	1400	1500	0,05	0,1	16%	nein	
	7	mg/kg	21. Dez	31,4	31,43	31,37	1432,6	1434,5	1430,6		1	11%	nein	
	8	mg/kg	22.11.2021				1660	1660	1659	0,08	0,42	5,14	nein	
	9	mg/kg	07. Dez	24	24	24	1289	1290	1288	10	25	0,188	nein	
	9		14. Dez	24	24	24	1295	1270	1320	10	25	0,188	nein	
	10	mg/kg	03.01.2022	33,99	33,46	34,51	1592,48	1592,42	1592,54	0,06	0,2	-	nein	-
	11	mg/kg	22.12.2021	25,90	26,80	25,01	1.324	1374,12	1273,91	0,3	0,5	3%	nein	98
	12	mg/kg	15.12.2021	16,81	17,02	16,60	1214,05	1225,36	1202,74	0,1 (µg/ml) Probe A: 2,5 Probe B: 10	0,3 (µg/ml) Probe A: 7,5 Probe B: 30	Probe A: 1,47 Probe B: 67,81	nein	
	13a	mg/kg	03. Jan	28	26	29	1239	1227	1251	3	10	-	ja	98
	13b	mg/kg	04. Jan	37	36	38	1437	1492	1382					
	14	mg/kg	16.12.2021	41,6	41,9	41,2	1401,2	1399,9	1402,6	0,1	10	0,06 (Faktor)	ja	94,8
	15	mg/kg	04.01.22	23,1	23,6	22,6	1111	1107	1115	1	3	5,00%	ja	90
	16	mg/kg	17.12.2021	22,20	21,70	22,80	1140	1260	1020		0,5		nein	
17	mg/kg	01.06.2022	20,28	20,03	20,52	948	952	943,9	2		12%			
18	mg/kg	04. Jan	37	36	38	1437	1492	1382						

* NWG Nachweisgrenze / BG Bestimmungsgrenze

* LOD limit of detection / LOQ limit of quantitation

* MU Messunsicherheit / MU measurement uncertainty

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 / Coumarin	1	modifizierte Normmethode in Anlehnung an amtliche Methode L 00.00-134	Extraktion mit Methanol/Wasser (80/20 v/v)	HPLC-UV	Kalibrierung mit Cumarin, Referenzmaterial zimthaltige Backware	ja	ja	Gegenüber der Normmethode wurden folgende Abweichungen vorgenommen: - andere HPLC-Säule - anderer Fließmittel-Gradient - Verdünnung von Probenlösungen für Lösemittelzusammensetzung wie Fließmittel; NWG und BG beziehen sich auf eine Einwaage von 5 g; bei Probe A wurden 5 g, bei Probe B 0,5 g eingewogen
	2	HPLC-DAD, ASU L 00.00-134 2010/09 modifiziert	-	-	externe Kalibrierung, Zimtpulver	nein	ja / nein	-
	3	§ 64 LFGB L 00.00-134 mod. LCMSMS	Extraktion mit Methanol/Wasser	LCMSMS	Matrixkalibrierung	nein	ja / nein	
	4	HPLC-DAD (§64 L 00.00-134)	Extraktion			ja	ja	
	5	§64 LFGB ASU L53.03.02-1		LC-MS/MS	Quantifizierung über Cumarin-d4	nein	ja	
	6	SOP M3217, LC-MS/MS					ja	
	7	Hausmethode	Extraktion mit MeOH/Wasser	HPLC-UV/VIS	externe Kalibrierung mit Cumarin-Referenzmaterial	nein	ja	
	8	ASU § 64 LFGB L 00.00.-134	Extraktion mit Methanol/Wasser, Carrez-Klärung	HPLC-DAD	Interner Standard 4-Hydroxy-2-Methylacetophenon		ja	
	9	HPLC - FC(2008)109(2)pp462-469			Cumarin, CAS: 91-64-5, ≥99%		nein	
	9	HPLC - FC(2008)109(2)pp462-469			Coumarin, CAS: 91-64-5, ≥99%		nein	
	10	Cumarin, (UHPLC-MSD)	keine	MS	Cumarin d4	-	ja	keine
	11	Bestimmung von Cumarin in LM mittels LC/MS/MS		LC/MS/MS	Lösungsmittel/Tee	ja	ja	
	12	P 20024 02x Bestimmung von Vanillearomen und Cumarin in Lebensmitteln	Homogenisierung, Extraktion mit Puffer, Carrez-Klärung, Filtration	HPLC-DAD unter Verwendung einer RP-Säure (Nova-Pak – C18) 60/4 µm)	Lösungsmittelkalibrierung mittels Cumarin-Standardsubstanz		ja	Angabe NWG und BG in sowohl µg/ml und mg/kg; unterschiedlich aufgrund der unterschiedlichen Extraktionsvolumina: Probe A 1g / 25 mL, Probe B 1 g / 100 ml
	13a	GC-FID	ASE-Extraktion mit Dichlormethan		Interner Standard	ja	nein	
	13b		In Methanol extrahiert	HPLC Methode	Vanillin und Cumarin			zwei verschiedene Methoden verwendet
	14	SOP PALC 0121	Extraktion mit	HPLC-UV	Sigma Aldrich	ja	ja	
	15	Cumarinbestimmung in Lebensmittelproben	Extraktion mit Methanol	HPLC-UV	dotierte Probe	nein	ja	
	16						nein	
17								
18		In Methanol extrahiert	HPLC Methode	Vanillin und Cumarin			zwei verschiedene Methoden verwendet	

5.2 Homogenität

5.2.1 Mischungshomogenität vor der Abfüllung

Microtracer Homogenitätstest

DLA ptTX01 Probe A

Gewicht Gesamtprobe	3,00	kg
Microtracer	FSS-rot lake	
Teilchengröße	75 – 300	µm
Gewicht pro Partikel	2,0	µg
Tracerzugabe	28,4	mg/kg

Analysenergebnisse:

Probe	Einwaage [g]	Partikel Anzahl	Partikel [mg/kg]
1	4,98	58	23,3
2	4,97	65	26,2
3	5,03	70	27,8
4	5,01	59	23,6
5	5,01	58	23,2
6	5,04	63	25,0
7	5,01	68	27,1
8	5,03	60	23,9

Poisson-Verteilung

Probenanzahl	8	
Freiheitsgrad	7	
Mittelwert	62,6	Partikel
Standardabweichung	4,61	Partikel
χ^2 (CHI-Quadrat)	2,37	
Wahrscheinlichkeit	94	%
Wiederfindungsrate	88	%

Normalverteilung

Probenanzahl	8	
Mittelwert	25,0	mg/kg
Standardabweichung	1,84	mg/kg
rel. Standardabweichung	7,4	%
Horwitz Standardabweichung	9,9	%
HorRat-Wert	0,75	
Wiederfindungsrate	88	%

Microtracer Homogenitätstest

DLA ptTX01 Probe B

Gewicht Gesamtprobe	3,00	kg
Microtracer	FSS-rot lake	
Teilchengröße	75 – 300	µm
Gewicht pro Partikel	2,0	µg
Tracerzugabe	31,1	mg/kg

Analysenergebnisse:

Probe	Einwaage [g]	Partikel Anzahl	Partikel [mg/kg]
1	4,98	73	29,3
2	5,00	55	22,0
3	5,04	61	24,2
4	4,96	58	23,4
5	5,03	69	27,4
6	4,95	62	25,1
7	5,05	63	25,0
8	4,95	62	25,1

Poisson-Verteilung

Probenanzahl	8	
Freiheitsgrad	7	
Mittelwert	62,9	Partikel
Standardabweichung	5,71	Partikel
χ^2 (CHI-Quadrat)	3,63	
Wahrscheinlichkeit	82	%
Wiederfindungsrate	81	%

Normalverteilung

Probenanzahl	8	
Mittelwert	25,2	mg/kg
Standardabweichung	2,29	mg/kg
rel. Standardabweichung	9,1	%
Horwitz Standardabweichung	9,8	%
HorRat-Wert	0,92	
Wiederfindungsrate	81	%

5.3 Probenanschreiben: Informationen zur Eignungsprüfung (EP)

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

EP-Nummer	DLA ptTX01 - 2021
EP-Name	Cumarin in Zimtpulver (Cassia- und Ceylon-Zimt) 2 unterschiedliche Proben
Probenmatrix*	Probe A: Ceylon-Zimtpulver Probe B: Cassia-Zimtpulver
Probenzahl und Probenmenge	2 unterschiedliche Proben A + B: je 50 g
Lagerungsinformation	Proben A + B: bei Ankunft gekühlt 2 - 10 °C lagern (trocken und dunkel)
Verwendungszweck	Ausschließlich für Laboruntersuchungen (Qualitätskontrollproben)
Parameter	quantitativ: Cumarin in Ceylon-Zimt <50 mg/kg und in Cassia-Zimt >500 mg/kg
Untersuchungsmethoden	Methode ist freigestellt
Hinweise zur Analyse	Die Untersuchung der Eignungsprüfung soll entsprechend einer laborüblichen Routineanalyse vorgenommen werden. Generell empfehlen wir vor der Analyse, insbesondere bei kleinen Analyseeinwaagen, eine repräsentative Probenmenge entsprechend guter Laborpraxis zu homogenisieren.
Ergebnisangabe	Es werden jeweils die Einzelergebnisse für Probe A und Probe B sowie die Mittelwerte als Endergebnisse, berechnet aus den Doppelbestimmungen für Probe A und B, in die Ergebnisabgabe-Datei eingetragen. Die Wiederfindung, wenn durchgeführt, ist in die Rechnung mit einzubeziehen.
Einheiten	mg/kg
Anzahl von signifikanten Stellen	Mindestens 2
Weitere Angaben:	Zur Information ist anzugeben: <ul style="list-style-type: none"> - Datum der Analyse - Ergebnisse - Bestimmungsgrenze - Angabe inkl. Wiederfindung - Wiederfindung wurde mit gleicher Matrix bestimmt. - Methode ist akkreditiert
Ergebnisabgabe	Die Ergebnisabgabe-Datei wird per eMail übermittelt an: pt@dla-lvu.de
Letzter Abgabetermin	spätestens 07. Januar 2022
Auswertebereich	Der Auswertebereich wird voraussichtlich 6 Wochen nach Abgabetermin der Ergebnisse fertiggestellt und per eMail als PDF-Datei zugesandt.

* 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
		ITALIEN
		KROATIEN
		ZYPERN
		Deutschland
		Deutschland
		Deutschland
		Deutschland
		Deutschland
		Deutschland
		Deutschland
		USA
		FRANKREICH
		Deutschland
		IRLAND
		Deutschland
		SRI LANKA
		Deutschland

[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.]

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 ptTX01 (2021) - Cumarin

Alle 18 Teilnehmer haben Ergebnisse eingereicht. Die Auswertung von Cumarin in Ceylon- und Cassia-Zimtpulver erfolgte mit der Zielstandardabweichung der Auswertung eines Versuchs zur Präzision. Es lagen 82% bzw. 95% der Ergebnisse der Teilnehmer im Zielbereich. Details zu den einzelnen Parametern sind dem Auswertebereich zu entnehmen.

5 Teilnehmer hatten ihren Sitz im Europäischen Ausland (Frankreich, Irland, Italien, Kroatien, Zypern) und jeweils 1 Teilnehmer in Sri Lanka und in den USA.