



Auswertungs-Bericht

Laborvergleichsuntersuchung

DLA ptAU05 (2021)

Stevioside

in Getränkepulver

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 ptAU05 (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 (25. November 2021)</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: 25. November 2021</p>
<i>Unteraufträge</i> <i>Subcontractors</i>	<p>Im Rahmen dieser Eignungsprüfung wurden nachstehende Leistungen im Unterauftrag vergeben: Keine As part of the present proficiency test the following services were subcontracted: none</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.....	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 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 Summe Steviolglycoside (als Steviol-Äquivalente) in mg/kg.....	16
4.2 Steviosid (als Steviol-Äquivalente) in mg/kg.....	19
4.3 Rebaudiosid A (als Steviol-Äquivalente) in mg/kg.....	21
4.3.1 Rebaudiosid A: Auswertung ohne höhere Werte (in mg/kg).....	22
4.3.2 Rebaudiosid A: höhere Werte zur Information (in mg/kg).....	25
4.4 z-Scores der Teilnehmer: Übersichtstabelle.....	26
5. Dokumentation.....	27
5.1 Angaben der Teilnehmer.....	27
5.1.1 Primärdaten.....	27
5.1.2 Analytische Methoden.....	29
5.2 Homogenität.....	31
5.2.1 Mischungshomogenität vor der Abfüllung.....	31
5.2.2 Trendlinienfunktion der Teilnehmerergebnisse.....	31
5.3 Probenanschriften: Informationen zur Eignungsprüfung (EP).....	32
6. Verzeichnis der Teilnehmer in alphabetischer Reihenfolge.....	33
7. Verzeichnis relevanter Literatur.....	34

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 ein Getränkepulver mit pflanzlichem Protein mit einem Zusatz von Steviosiden. Die Mischung besteht aus den handelsüblichen Zutaten für Nahrungsergänzungsmittel für Sportler.

Die Rohstoffe wurden gesiebt, zusammen gegeben und homogenisiert.

Anschließend wurden die Proben zu Portionen von ca. 25 g in metallisierte PET-Folienbeutel abgefüllt und chronologisch nummeriert.

Die Zusammensetzung (Verzeichnis der Zutaten) und die auf Basis der Herstellerangaben berechneten Gehalte an Steviosiden sind in Tabelle 1 bzw. 2 angegeben.

Tabelle 1: Zusammensetzung der DLA-Proben

Getränkepulver mit pflanzlichem Protein
<u>Zutaten:</u> Sojaproteinisolat, Maltodextrin, Acai-Pulver, Steviolglycoside (E960)

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

Tabelle 2: Aus den Angaben der Hersteller (deklarierte Gehalte) berechneter Gehalt des Parameters (Umrechnung in Steviol-Äquivalente nicht angegeben)

Parameter	Gehalt pro kg
Steviolglycoside	1370 mg

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-Analyse der vorliegenden LVU-Probe hat eine Wahrscheinlichkeit von 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 [16, 17]. Es wurde ein HorRat-Wert von 0,64 für die vorliegende LVU-Probe 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 Steviosid bei 9,70%, für Rebaudiosid A bei 4,23% und für Steviolglycoside gesamt bei 3,88%. Die Wiederholstandardabweichungen sind somit vergleichbar mit den Präzisionsdaten der jeweiligen genormten Methoden (z.B. ASU §64 L 43.00-2, s. 3.6.2) (vgl. Tab. 3) [20]. Die Wiederholstandardabweichungen der Teilnehmer sind bei den statistischen Kennzahlen angegeben (4.1 bis 4.3).

Desweiteren wurde die Homogenität anhand der **Trendlinien-Funktion der Teilnehmerergebnisse für die chronologisch abgefüllten Einzel-Proben** graphisch zur Information charakterisiert (s. 5.2.1).

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 Degraderate 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 den EP-Parametern.

Der a_w -Wert der EP-Proben lag bei ca. 0,34 (21,3°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 wurden in der 24. Kalenderwoche 2021 je zwei Portionen des Untersuchungsmaterials verschickt. Die Untersuchungsverfahren wurden freigestellt. Die Untersuchungen waren durchzuführen bis spätestens 13. August 2021.

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

*Es handelt sich um **zwei identische Proben I und II** mit den zu bestimmenden Parametern Steviosid und Rebaudiosid A und Summe aller Steviolglycoside in der Matrix Getränkpulver mit pflanzlichem Protein. Alle Gehalte sind als **Steviol-Äquivalente** anzugeben. Die Analysenmethode ist 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 10 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 Ergeb-

nisteil 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 die Parameter Rebaudiosid A und Steviolglycoside gesamt wurde jeweils die Zielstandardabweichung der Auswertung eines Versuchs zur Präzision (s. 3.6.2) verwendet (ASU §64 Methoden: L 43.00-2). Der Parameter Steviosid konnte aufgrund der geringen Anzahl von Ergebnisse und deren Heterogenität nicht bewertet werden.

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 angegebenen.

Tabelle 3: Relative Wiederholstandardabweichungen (RSD_r) und relative Vergleichsstandardabweichungen (RSD_R) gemäß ausgewählter Auswertungen von Versuchen zur Präzision und die resultierende Zielstandardabweichung σ_{pt} [20]

Parameter	Matrix	Mittelwerte (mg/kg)	RSD_r	RSD_R	σ_{pt}	Methode / Literatur
Steviosid	koffeinhaltiges Getränk	7,84	3,26%	28,3%	28,2%*	ASU §64 L 43.00-2 [20]
Rebaudiosid A	koffeinhaltiges Getränk A	85,1	1,25%	11,9%	11,9%*	ASU §64 L 43.00-2 [20]
Rebaudiosid A	koffeinhaltiges Getränk B	75,6	2,77%	14,2%	14,1%	ASU §64 L 43.00-2 [20]

Die mit „*“ gekennzeichneten Zielstandardabweichungen wurden in den Auswertungen angegeben.

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 3.6.2 als geeignet angesehen.

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

Tabelle 4: Kenndaten der aktuellen LVU (dunkelgrau unterlegt) im Vergleich zu der vorangegangenen LVU von 2015 (SD = Standardabweichung, VK = Variationskoeffizient)

Parameter	Matrix (Pulver)	rob. Mittelwert	rob. SD (S*)	rel. SD (VK _{s*}) [%]	Quotient S*/σ _{pt}	DLA-Bericht
Steviosid	Getränkpulver	269	93,0	34,6	2,3*	DLA 28/2015
Steviosid	Getränkpulver	70,9	-	-	-	DLA ptAU05 (2021)
Rebaudiosid A	Getränkpulver	180	160	88,9	2,3*	DLA 28/2015
Rebaudiosid A	Getränkpulver	359	61,0	17,0	1,4	DLA ptAU05 (2021)
Steviolglycoside gesamt	Getränkpulver	413	-	-	-	DLA 28/2015
Steviolglycoside gesamt	Getränkpulver	443	122	27,5	1,0	DLA ptAU05 (2021)

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

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

3.8 z'-Score

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

Nach EU-VO 231/2012 setzt sich der Lebensmittelzusatzstoff E 960 (Steviolglycoside) zu mindestens 95% aus den nachstehend aufgelisteten Stoffen zusammen:

Trivialname	Formel	Konversionsfaktor
Steviol	$C_{20}H_{30}O_3$	1,00
Steviolbiosid	$C_{32}H_{50}O_{13}$	0,50
Rubusosid	$C_{32}H_{50}O_{13}$	0,50
Dulcosid A	$C_{38}H_{60}O_{17}$	0,40
Steviosid	$C_{38}H_{60}O_{18}$	0,40
Rebaudiosid A	$C_{44}H_{70}O_{23}$	0,33
Rebaudiosid B	$C_{38}H_{60}O_{18}$	0,40
Rebaudiosid C	$C_{44}H_{70}O_{22}$	0,34
Rebaudiosid D	$C_{50}H_{80}O_{28}$	0,29
Rebaudiosid E	$C_{44}H_{70}O_{23}$	0,33
Rebaudiosid F	$C_{43}H_{68}O_{22}$	0,34
Rebaudiosid M	$C_{56}H_{90}O_{33}$	0,25

In der vorliegenden Eignungsprüfung waren die Ergebnisse der Parameter Steviosid, Rebaudiosid A und der Summe der Steviolglycoside als Steviol-Äquivalente anzugeben. Die entsprechenden Konversionsfaktoren sind in der EU-VO 231/2012 bzw. ASU §64 Methode L 43.00-2 aufgeführt.

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 Summe Steviolglycoside (als Steviol-Äquivalente) in mg/kg**Vergleichsuntersuchung / Proficiency Test**

Kenndaten	
Anzahl der Messergebnisse	9
Anzahl der Ausreißer	–
Mittelwert	530
Median	443
Robuster Mittelwert (X_{pt})	443
Robuste Standardabweichung (S^*)	122
Anzahl mit 2 Wiederholmessungen	9
Wiederholstandardabweichung (S_r)	20,5
Variationskoeffizient (VK_r)	3,88%
Vergleichsstandardabweichung (S_R)	339
Variationskoeffizient (VK_R)	64,0%
<i>Zielkenndaten:</i>	
Zielstandardabweichung σ_{pt}	125
Zielstandardabweichung (zur Information)	28,3
Untere Grenze des Zielbereichs	193
Obere Grenze des Zielbereichs	693
Quotient S^*/σ_{pt}	1,0
Standardunsicherheit $U(X_{pt})$	50,8
Quotient $U(X_{pt})/\sigma_{pt}$	0,41
Ergebnisse im Zielbereich	8
Prozent im Zielbereich	89%

Anmerkungen zu den Kenndaten:

Die Zielstandardabweichung wurde nach 3.6.2 Auswertung eines Versuchs zur Präzision (ASU §64 L 43.00-2) berechnet. Zusätzlich wurde zur Information die Zielstandardabweichung berechnet nach dem allgemeinen Modell nach Horwitz angegeben (s. 3.6.1).

Die Verteilung der Ergebnisse zeigte eine geringe Variabilität. Der Quotient S^*/σ_{pt} lag bei 1,0. Die robuste Standardabweichung liegt im Bereich von vorangegangenen LVUs (vgl. 3.6.3). Die Vergleichbarkeit der Ergebnisse ist gegeben.

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

89% der Ergebnisse lagen im Zielbereich.

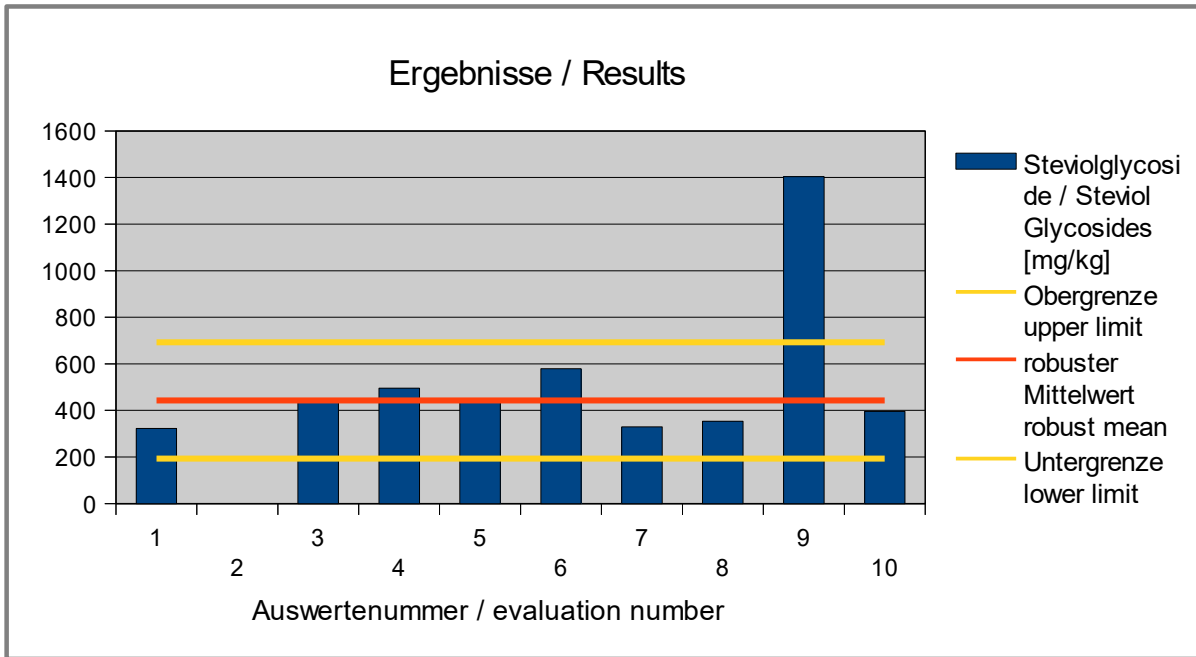


Abb. / Fig. 1: Ergebnisse Steviolglycoside / Results Steviol Glycosides

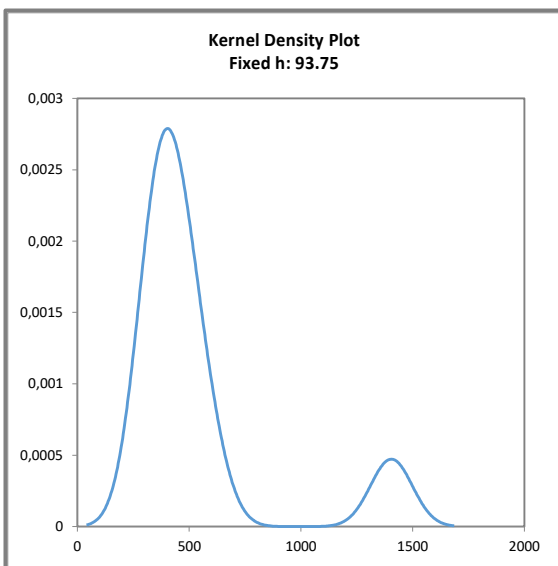


Abb. / Fig. 2:

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

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

Anmerkung:

Die Kerndichte-Schätzung zeigt annähernd eine symmetrische Verteilung mit einem Nebenpeak bei ca. 1400 mg/kg, der auf ein Teilnehmerergebnis außerhalb des Zielbereichs zurückgeht.

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

Auswertenummer	Steviolglycoside / Steviol Glycosides [mg/kg]	Abweichung [mg/kg]	z-Score (σ _{pt})	z-Score (Info)	Hinweis
Evaluation number		Deviation [mg/kg]			Remark
1	322	-121	-1,0	-4,3	
2					
3	444	1,0	0,01	0,03	
4	495	51,9	0,42	1,8	
5	443	0,0	0,00	0,00	
6	579	136	1,1	4,8	
7	330 *	-114	-0,91	-4,0	
8	353	-90,0	-0,72	-3,2	
9	1405 *	961	7,7	34	nicht als Steviol-Äquivalent angegeben?
10	396	-47,0	-0,38	-1,7	

* Mittelwert von DLA berechnet, wenn Differenz Einzelproben ≤ 2 σ_{pt}

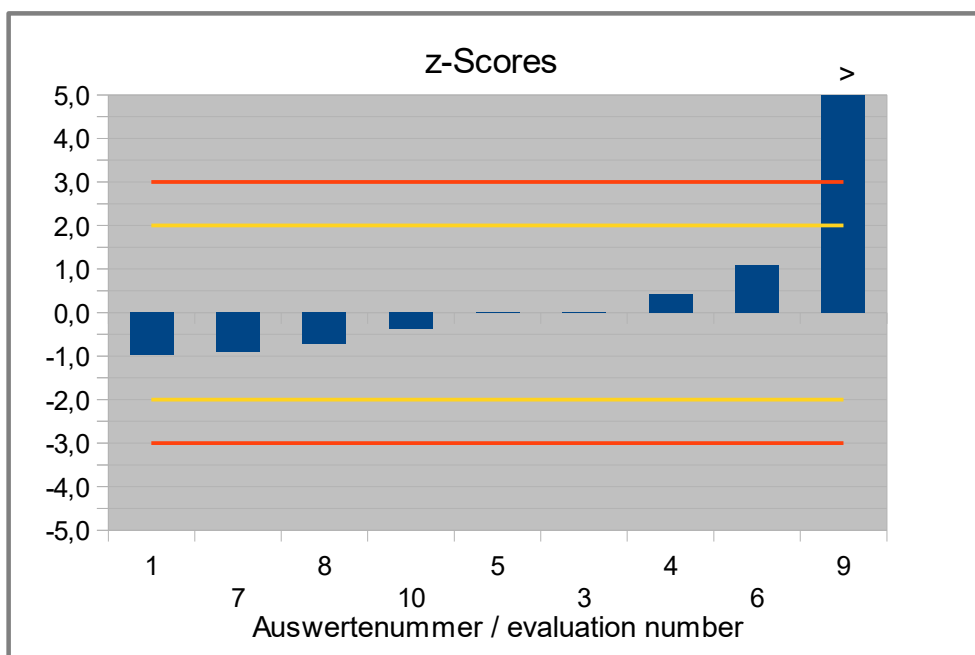


Abb. / Fig. 3: z-Scores Steviolglycoside / Steviol Glycosides

4.2 Steviosid (als Steviol-Äquivalente) in mg/kg**Vergleichsuntersuchung / Proficiency Test**

Kenndaten	
Anzahl der Messergebnisse	5
Anzahl der Ausreißer	-
Mittelwert	70,9
Median	46,1
Robuster Mittelwert (X_{pt})	70,9
Robuste Standardabweichung (S^*)	54,7
Anzahl mit 2 Wiederholmessungen	5
Wiederholstandardabweichung (S_r)	6,88
Variationskoeffizient (VK_r)	9,70%
Vergleichsstandardabweichung (S_R)	48,5
Variationskoeffizient (VK_R)	68,4%

Anmerkung:

Die o.g. Kenndaten haben rein informativen Charakter. Aufgrund der geringen Anzahl von Ergebnissen und der heterogenen Verteilung in 3 niedrigere Werte (Mittelwert 37 mg/kg) und 2 höhere Werte (Mittelwert 122 mg/kg) wurde keine statistische Auswertung vorgenommen. Möglicherweise sind die höheren Ergebnisse von den Teilnehmern 2 und 10 nicht mit dem Konversionsfaktor von 0,40 in Steviol-Äquivalente umgerechnet worden.

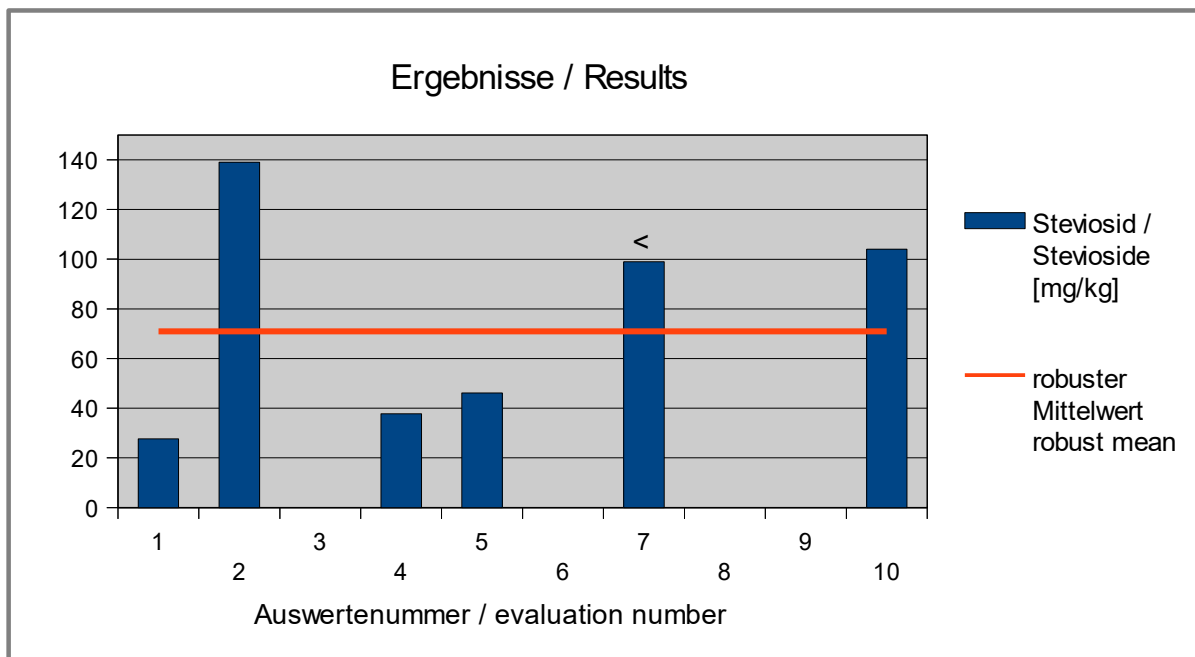


Abb. / Fig. 4: Ergebnisse Steviosid / Results Stevioside

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

Auswertenummer Evaluation number	Steviosid / Stevioside [mg/kg]	Abweichung [mg/kg] Deviation [mg/kg]	z-Score (σ_{pt})	z-Score (Info)	Hinweis Remark
1	27,6				
2	139				nicht als Steviol-Äquivalent angegeben?
3					
4	37,8				
5	46,1				
6					
7	<99				
8	<BG				
9					Einzelwerte: 161 mg/kg und 38 mg/kg
10	104				nicht als Steviol-Äquivalent angegeben?

* Mittelwert von DLA berechnet, wenn Differenz Einzelproben $\leq 2 \sigma_{pt}$

4.3 Rebaudiosid A (als Steviol-Äquivalente) in mg/kg

Vergleichsuntersuchung / Proficiency Test

Kenndaten	
Anzahl der Messergebnisse	8
Anzahl der Ausreißer	-
Mittelwert	665
Median	408
Robuster Mittelwert (X_{pt})	665
Robuste Standardabweichung (S^*)	484
Anzahl mit 2 Wiederholmessungen	8
Wiederholstandardabweichung (S_r)	26,8
Variationskoeffizient (VK_r)	4,04%
Vergleichsstandardabweichung (S_R)	427
Variationskoeffizient (VK_R)	64,2%

Anmerkung:

Die o.g. Kenndaten haben rein informativen Charakter. Aufgrund der geringen Anzahl von Ergebnissen und der heterogenen Verteilung in 5 niedrigere Werte (Mittelwert 359 mg/kg) und 3 höhere Werte (Mittelwert 1175 mg/kg) wurde keine gemeinsame statistische Auswertung vorgenommen.

Möglicherweise sind die höheren Ergebnisse von den Teilnehmern 2, 9 und 10 nicht mit dem Konversionsfaktor von 0,33 in Steviol-Äquivalente umgerechnet worden.

Für die niedrigeren Werte wird im folgenden Abschnitt eine separate Auswertung vorgenommen.

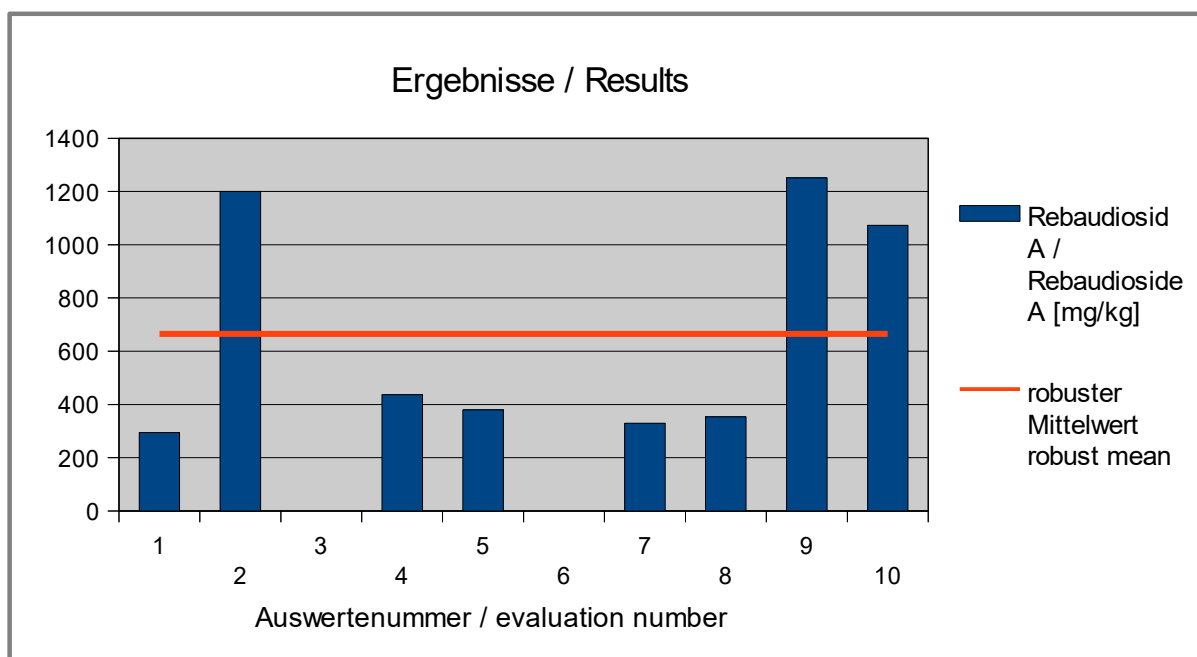


Abb. / Fig. 5: Ergebnisse Rebaudiosid **A** / Results Rebaudioside A

4.3.1 Rebaudiosid A: Auswertung ohne höhere Werte (in mg/kg)**Vergleichsuntersuchung / Proficiency Test**

Kenndaten	
Anzahl der Messergebnisse	5 [°]
Anzahl der Ausreißer	0
Mittelwert	359
Median	353
Robuster Mittelwert (x_{pt})	359
Robuste Standardabweichung (S^*)	61,0
Anzahl mit 2 Wiederholmessungen	5
Wiederholstandardabweichung (S_r)	15,2
Variationskoeffizient (VK_r)	4,23%
Vergleichsstandardabweichung (S_R)	54,9
Variationskoeffizient (VK_R)	15,3%
<i>Zielkenndaten:</i>	
Zielstandardabweichung σ_{pt}	42,6
Zielstandardabweichung (zur Information)	23,7
Untere Grenze des Zielbereichs	274
Obere Grenze des Zielbereichs	444
Quotient S^*/σ_{pt}	1,4
Standardunsicherheit $U(x_{pt})$	34,1
Quotient $U(x_{pt})/\sigma_{pt}$	0,80
Ergebnisse im Zielbereich	5
Prozent im Zielbereich	100%

[°] ohne Teilnehmerergebnisse 2, 9 und 10

Anmerkungen zu den Kenndaten:

Die Zielstandardabweichung wurde nach 3.6.2 Auswertung eines Versuchs zur Präzision (ASU §64 L 43.00-2) berechnet. Zusätzlich wurde zur Information die Zielstandardabweichung berechnet und nach dem Modell nach Horwitz angegeben (s. 3.6.1).

Die Verteilung der Ergebnisse zeigte eine normale Variabilität. Der Quotient S^*/σ_{pt} lag unter 2,0. Die Vergleichbarkeit der Ergebnisse ist gegeben.

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

100% der Ergebnisse lagen im Zielbereich.

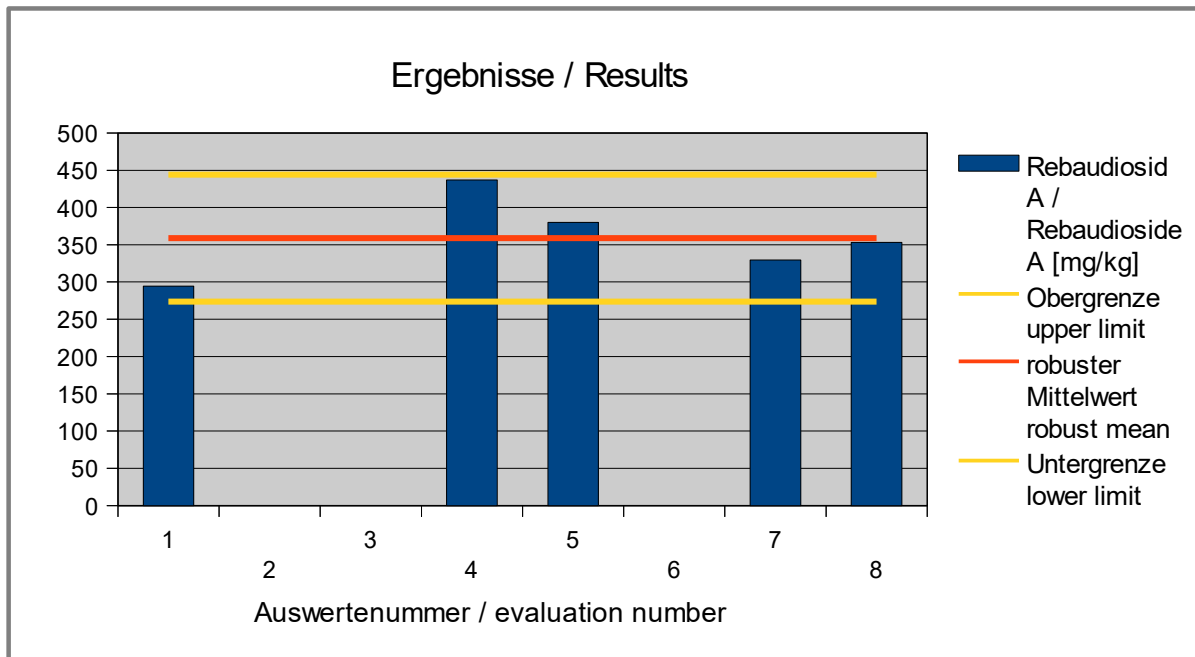


Abb. / Fig. 6: Ergebnisse Rebaudiosid A / Results Rebaudioside A

Ergebnisse der Teilnehmer:
Results of Participants:

Auswertenummer	Rebaudiosid A / Rebaudioside A [mg/kg]	Abweichung [mg/kg]	z-Score	z-Score	Hinweis
Evaluation number		Deviation [mg/kg]	(σ_{pt})	(Info)	Remark
1	295	-64,3	-1,5	-2,7	
2					
3					
4	437	78,1	1,8	3,3	
5	380	21,2	0,50	0,90	
6					
7	330 *	-29,3	-0,69	-1,2	
8	353	-5,8	-0,14	-0,24	

* Mittelwert von DLA berechnet, wenn Differenz Einzelproben $\leq 2 \sigma_{pt}$

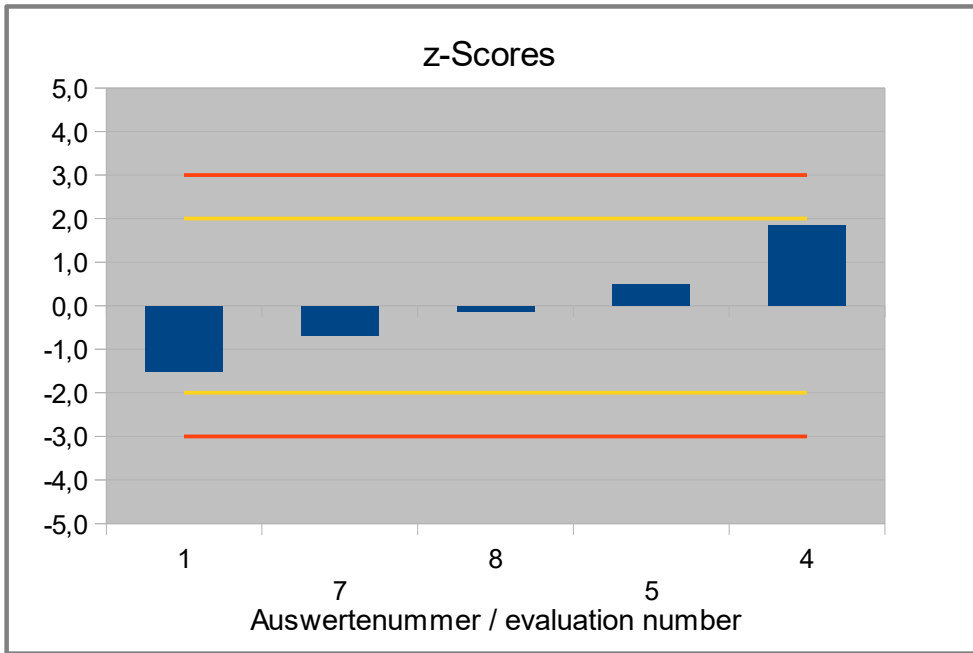


Abb. / Fig. 7: z-Scores Rebaudiosid A / Rebaudioside A

4.3.2 Rebaudiosid A: höhere Werte zur Information (in mg/kg)**Vergleichsuntersuchung / Proficiency Test**

Kenndaten	
Anzahl der Messergebnisse	3
Anzahl der Ausreißer	0
Mittelwert	1175
Median	1200
Robuster Mittelwert (X_{pt})	1175
Robuste Standardabweichung (S^*)	104
Anzahl mit 2 Wiederholmessungen	3
Wiederholstandardabweichung (S_r)	39,2
Variationskoeffizient (VK_r)	3,34%
Vergleichsstandardabweichung (S_R)	95,6
Variationskoeffizient (VK_R)	8,15%

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

Auswertenummer	Rebaudiosid A / Rebaudioside A [mg/kg]	Abweichung [mg/kg]	z-Score	z-Score	Hinweis
Evaluation number		Deviation [mg/kg]	(σ_{pt})	(Info)	Remark
1					
2	1200	25,2			nicht als Steviol- Äquivalent angegeben?
3					
4					
5					
6					
7					
8					
9	1252 *	76,7			nicht als Steviol- Äquivalent angegeben?
10	1073	-102			nicht als Steviol- Äquivalent angegeben?

* Mittelwert von DLA berechnet

4.4 z-Scores der Teilnehmer: Übersichtstabelle

Auswertenummer	Steviosid	Rebaudiosid A	Summe Steviolglycoside
1		-1,5	-1,0
2			
3			0,01
4		1,8	0,42
5		0,50	0,00
6			1,1
7		-0,69	-0,91
8		-0,14	-0,72
9			7,7
10			-0,38

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	Proben-Nr. I	Proben-Nr. II	Datum d. Analyse	Ergebnis (Mittel)	Ergebnis I	Ergebnis II	Bestimmungsgrenze	Inkl. WF	Wiederfindungsrate [%]
Steviosid / Stevioside	1	mg/kg	12	50	17.06.21	27,6	28,6	26,6	1	nein	96
	2	mg/kg	22	40	22.06.21	139	129	149	100	nein	109
	3	mg/kg									
	4	mg/kg	3	59	30.06.21	37,77	38,76	36,77	20	ja	72,13
	5	mg/kg	20	42		46,1	46,6	45,7	10	nein	-
	6	mg/kg	56	6							
	7	mg/kg	21	41	21.06.21		<99	<99	99	nein	
	8	mg/kg	17	45	21.08.21		< BG	< BG	4	nein	96
	9	mg/kg	4	58	04.08.21		161	38	35	nein	
	10	mg/kg	7	55	11.08.21	104	108	100	19	nein	

Parameter	Teilnehmer	Einheit	Proben-Nr. I	Proben-Nr. II	Datum d. Analyse	Ergebnis (Mittel)	Ergebnis I	Ergebnis II	Bestimmungsgrenze	Inkl. WF	Wiederfindungsrate [%]
Rebaudiosid A / Rebaudioside A	1	mg/kg	12	50	17.06.21	294,5	294,5	294,5	1	nein	104
	2	mg/kg	22	40	22.06.21	1200	1220	1170	100	nein	113
	3	mg/kg									
	4	mg/kg	3	59	30.06.21	436,93	458,4	415,46	20	ja	72,13
	5	mg/kg	20	42		380	385	376	10	nein	-
	6	mg/kg									
	7	mg/kg	21	41	21.06.21		320	339		nein	
	8	mg/kg	17	45	21.08.21	353	355	351	6	nein	99
	9	mg/kg	4	58	04.08.21		1223	1280	50	nein	
	10	mg/kg	7	55	11.08.21	1073	1043	1102	23	nein	

Parameter	Teilnehmer	Einheit	Proben-Nr. I	Proben-Nr. II	Datum d. Analyse	Ergebnis (Mittel)	Ergebnis I	Ergebnis II	Bestimmungsgrenze	Inkl. WF	Wiederfindungsrate [%]
Steviolglycoside / Steviol Glycosides	1	mg/kg	12	50	17.06.21	322	323	321	1	nein	
	2	mg/kg									
	3	mg/kg	2	60	12.07.21	444	460	427	10	nein	
	4	mg/kg	3	59	30.06.21	494,98	517,85	472,1	20	ja	72,13
	5	mg/kg	20	42		443	448	439	10	nein	-
	6	mg/kg			24.06.21	579	572	585	8	nein	
	7	mg/kg	21	41	21.06.21		320	339		nein	
	8	mg/kg	17	45	21.08.21	353	355	351		nein	
	9	mg/kg	4	58	04.08.21		1434	1375		nein	
	10	mg/kg	7	55	11.08.21	396	387	404			

5.1.2 Analytische Methoden

Parameter	Teilnehmer	Methodenbeschreibung	Probenvorbereitung	Messmethode	Kalibrierung und Referenzmaterial	Wiederfindung mit gleicher Matrix	Methode akkreditiert	Sonstige Hinweise	
Steviosid / Stevioside	1	P4-02-01-12-7501	Extraktion ACN/wasser 30:70; Zentrifugieren; Mikrofiltration; Verdünnen;	HPLC-Orbitrap-MS	externe Kalibrierung	nein	ja		
	2	Hausmethode					ja		
	3								
	4	Hausmethode	SPE	HPLC DAD		ja	ja		
	5	HPLC/ ASU L 43.00-2; 06/2018							
	6								
	7	LC/UV/DAD					nein		
	8	§ 64 LFGB ASU L 43.00-2, modifiziert				RM DLA 25/2013	ja	ja	
	9	Hausmethode		HPLC				ja	
	10	ASU L43.00-2	5g/50 ml + Carrez			Kalibrierung mit		nein	

Parameter	Teilnehmer	Methodenbeschreibung	Probenvorbereitung	Messmethode	Kalibrierung und Referenzmaterial	Wiederfindung mit gleicher Matrix	Methode akkreditiert	Sonstige Hinweise	
Rebaudiosid A / Rebaudioside A	1	P4-02-01-12-7501	Extraktion ACN/wasser 30:70; Zentrifugieren; Mikrofiltration; Verdünnen;	HPLC-Orbitrap-MS	externe Kalibrierung	nein	ja		
	2	Hausmethode					ja		
	3								
	4	Hausmethode	SPE	HPLC DAD		ja	ja		
	5	HPLC/ ASU L 43.00-2; 06/2018							
	6								
	7	LC/UV/DAD					nein		
	8	§ 64 LFGB ASU L 43.00-2, modifiziert				RM DLA 25/2013	ja	ja	
	9	Hausmethode		HPLC				ja	
	10					RebA, Referenzmaterial: Magnesiumtabletten, Gummibärchen			

Parameter	Teilnehmer	Methodenbeschreibung	Probenvorbereitung	Messmethode	Kalibrierung und Referenzmaterial	Wiederfindung mit gleicher Matrix	Methode akkreditiert	Sonstige Hinweise
Steviolglycoside / Steviol Glycosides	1	P4-02-01-12-7501	Extraktion ACN/wasser 30:70; Zentrifugieren; Mikrofiltration; Verdünnen;	HPLC-Orbitrap-MS	externe Kalibrierung	nein	ja	rechnerisch ermittelt
	2							
	3	Hausverfahren	Aufreinigung mittels SPE	HPLC-DAD	externe Kalibrierung		ja	
	4	Hausmethode	SPE	HPLC DAD		ja	ja	
	5	HPLC/ ASU L 43.00-2; 06/2018						Rebaudiosid C nachgewiesen (Probe 1 17,2 mg/kg; Probe 2 16,9 mg/kg (als Äquivalent))
	6	interne Methode, LC-MS/MS	Extraktion mit Wasser/Salzsäure, anschließende Hydrolyse	LC-MS/MS	Isosteviol, CAS 27975-19-5		ja	
	7	LC/UV/DAD					nein	
	8	§ 64 LFGB ASU L 43.00-2, modifiziert					ja	
	9	Hausmethode		HPLC			ja	
	10							

5.2 Homogenität

5.2.1 Mischungshomogenität vor der Abfüllung

Microtracer Homogenitätstest

DLA ptAU05 (2021)

Gewicht Gesamtprobe	1,62	kg
Microtracer	FSS-rot lake	
Teilchengröße	75 – 300	µm
Gewicht pro Partikel	2,0	µg
Tracerzugabe	24,2	mg/kg

Analysenergebnisse:

Probe	Einwaage [g]	Partikel Anzahl	Partikel [mg/kg]
1	4,99	59	23,6
2	4,97	61	24,5
3	4,99	57	22,8
4	4,99	66	26,5
5	5,05	65	25,7
6	5,00	57	22,8
7	4,97	55	22,1
8	4,95	58	23,4

Poisson-Verteilung

Probenanzahl	8	
Freiheitsgrad	7	
Mittelwert	59,7	Partikel
Standardabweichung	3,78	Partikel
χ ² (CHI-Quadrat)	1,67	
Wahrscheinlichkeit	98	%
Wiederfindungsrate	99	%

Normalverteilung

Probenanzahl	8	
Mittelwert	24,0	mg/kg
Standardabweichung	1,51	mg/kg
rel. Standardabweichung	6,32	%
Horwitz Standardabweichung	9,92	%
HorRat-Wert	0,64	
Wiederfindungsrate	99	%

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:

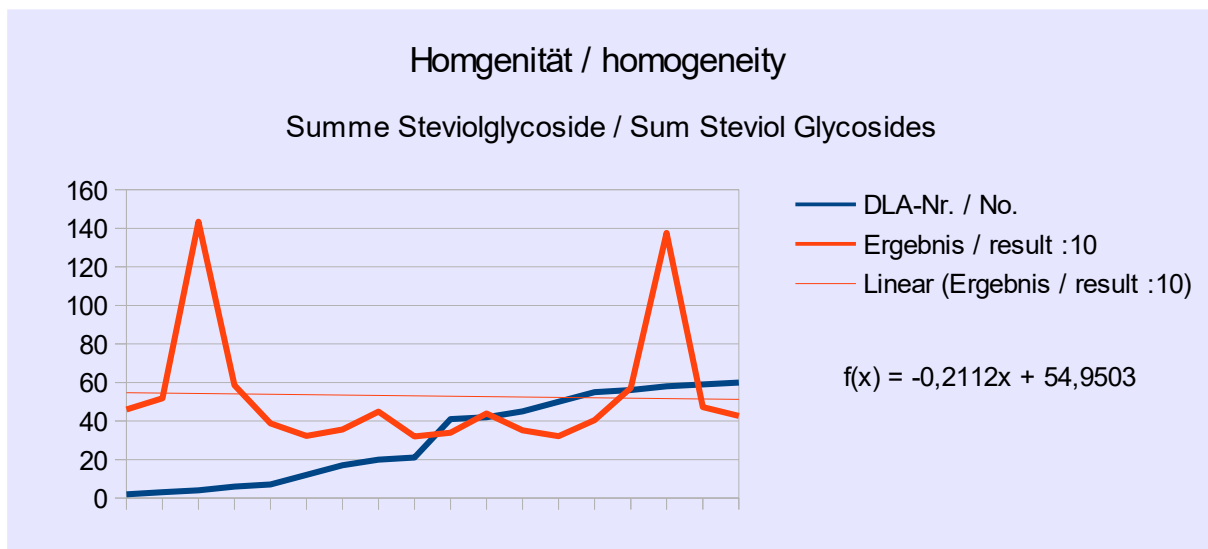


Abb./Fig. 8:

Trendfunktion Probennummern vs. Ergebnisse (1/10 dargestellt)
 trend line function sample number vs. results (1/10 shown)

5.3 Probenanschreiben: Informationen zur Eignungsprüfung (EP)

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

EP-Nummer	DLA ptAU05 - 2021
EP-Name	Stevioside in Getränkpulver
Probenmatrix*	Proben I + II: Getränkpulver mit pflanzlichem Protein / Zutaten: Sojaproteinisolat, Maltodextrin, Acai-Pulver, Steviolglycoside (E960)
Probenzahl und Probenmenge	2 identische Proben I + II: je 25 g
Lagerungsinformation	Proben I + II: Raumtemperatur
Verwendungszweck	Ausschließlich für Laboruntersuchungen (Qualitätskontrollproben)
Parameter	quantitativ: Steviosid und Rebaudiosid A und Summe aller Steviolglycoside (als Steviol-Äquivalente)
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 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. Alle Gehalte sind als Steviol-Äquivalente anzugeben.
Einheiten	mg/kg
Anzahl von signifikanten Stellen	Mindestens 2
Weitere Angaben:	Zur Information ist anzugeben: <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	Die Ergebnisabgabe-Datei wird per eMail übermittelt an: pt@dla-lvu.de
Letzter Abgabetermin	Spätestens 13. August 2021.
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 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
		Deutschland
		Deutschland
		Deutschland
		FRANKREICH
		BELGIEN
		Deutschland
		Deutschland
		Deutschland
		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 17025:2005/2017; 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. DAKKS 71 SD 1/4 016; Ermittlung und Angabe der Messunsicherheit nach Forderungen der DIN EN ISO/IEC 17025 2011)
13. EN ISO/IEC 17034:2016; Konformitätsbewertung - Allgemeine Anforderungen an die Kompetenz von Referenzmaterialherstellern / General requirements for the competence of reference material producers
14. ISO Guide 34:2000; General requirements for the competence of reference material producers
15. EURACHEM/CITAC Leitfaden, Ermittlung der Messunsicherheit bei analytischen Messungen (2003); Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement (1999)
16. 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.
17. 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
18. Homogeneity and stability of reference materials; Linsinger et al.; Accred Qual Assur, 6, 20-25 (2001)
19. AOAC Official Methods of Analysis: Guidelines for Standard Method Performance Requirements, Appendix F, p. 2, AOAC Int (2016)
20. ASU §64 LFGB L 43.00-2: Bestimmung von Steviol-Glycosiden in Süßwaren, Schokolade, koffeinhaltigen Brausen und Lebensmitteln für eine besondere Ernährungsform; HPLC-Verfahren (2018) [Determination of steviol glycosides in confectionery, chocolate, caffeinated drinks and foods for a special form of nutrition; HPLC method]
21. FAO JECFA Monographs 10, Compendium of food additive specifications, Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, 73rd Meeting 2010
22. EU-VO 1131/2011 amending Annex II to Regulation (EC) No 1333/2008 of the European Parliament and of the Council with regard to steviol glycosides (11 November 2011)
23. EU-VO 231/2012 of laying down specifications for food additives listed in Annexes II and III to Regulation (EC) No 1333/2008 of the European Parliament and of the Council Text with EEA relevance (9 March 2012)

DLA ptAU05 (2021) - Stevioside

Alle 10 Teilnehmer haben fristgerecht Ergebnisse eingereicht. Die Auswertung von Steviosid, Rebaudiosid A und Steviolglycoside gesamt in Getränkpulver mit pflanzlichem Protein erfolgte mit der Zielstandardabweichung eines Versuchs zur Präzision. Es lagen für Steviolglycoside 89% der Ergebnisse der Teilnehmer im Zielbereich. Details zu den einzelnen Parametern sind dem Auswertebereicht zu entnehmen.

2 Teilnehmer hatten ihren Sitz im Europäischen Ausland (Frankreich und Belgien).