



**Auswertungs-Bericht**

Laborvergleichsuntersuchung

**DLA ptALR1 (2020)**

**Response PT Senf:**

**5 prozessierte Proben Senfmehl (*Sinapis alba*), Tafelsenf (*u.a. Sinapis alba*), Dijon-Senf (*Brassica spp*), vegetarischer Brotaufstrich (erhitzt) und Cracker (gebacken)**

**in Kartoffelpulver-Matrix**

***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)**

<p><i>EP-Anbieter PT-Provider</i></p>	<p><b>DLA - Proficiency Tests GmbH</b> 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>
<p><i>EP-Nummer PT-Number</i></p>	<p>DLA ptALR1 (2020)</p>
<p><i>EP-Koordinator PT-Coordinator</i></p>	<p>Dr. Matthias Besler-Scharf</p>
<p><i>Status des EP-Bericht Status of PT-Report</i></p>	<p>Abschlussbericht / Final report (30. Juni 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>
<p><i>EP-Bericht Freigabe PT-Report Authorization</i></p>	<p>Dr. Matthias Besler-Scharf (Technischer Leiter / Technical Manager) - <i>gezeichnet / signed M. Besler-Scharf</i> Alexandra Scharf MSc. (QM-Beauftragte / Quality Manager) - <i>gezeichnet / signed A. Scharf</i> Datum / Date: 30. Juni 2021</p>
<p><i>Unteraufträge Subcontractors</i></p>	<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>
<p><i>Vertraulichkeit Confidentiality</i></p>	<p>Die Teilnehmerergebnisse sind im EP-Bericht in anonymisierter Form mit Auswertenummern benannt. Daten einzelner Teilnehmer werden ausschließlich nach vorheriger Zustimmung des Teilnehmers an Dritte weitergegeben. Participant result are named anonymously with evaluation numbers in the PT report. Data of individual participants will be passed on to third parties only with prior consent of the participant.</p>

## Inhalt

1. Einleitung.....	4
2. Durchführung.....	5
2.1 Untersuchungsmaterial.....	5
2.1.1 Homogenität.....	7
2.1.2 Stabilität.....	7
2.2 Probenversand und Informationen zur Untersuchung.....	8
2.3 Ergebnisübermittlung.....	8
3. Auswertung.....	9
3.1 Qualitativer Score.....	10
3.2 Wiederfindungs-Score (WFR-Score).....	10
3.2.1 Wiederfindungsraten eines Versuchs zur Präzision.....	11
3.2.2 Werte aus Erkenntnissen.....	13
3.3 z-Score (Dotierungsniveaus).....	14
3.4 z'-Score (Dotierungsniveaus).....	14
4. Ergebnisse.....	15
4.1 Vergleichsuntersuchung prozessierte Senfprodukte.....	16
4.1.1 Qualitative Scores: ELISA-Methoden.....	16
4.1.2 Qualitative Scores: PCR-Methoden.....	17
4.1.3 Quantitativ: ELISA-Methoden Wiederfindungs-Scores (WFR-Scores).....	20
4.1.4 Quantitativ: PCR-Methoden Wiederfindungs-Scores (WFR-Scores).....	21
5. Dokumentation.....	26
5.1 Angaben der Teilnehmer.....	26
5.1.1 ELISA-Methoden.....	26
5.1.2 PCR-Methoden.....	28
5.2 Homogenität.....	32
5.2.1 Mischungshomogenität vor der Abfüllung.....	32
5.3 Informationen zur Eignungsprüfung (EP).....	35
6. Verzeichnis der Teilnehmer in alphabetischer Reihenfolge.....	36
7. Verzeichnis relevanter Literatur.....	37

## 1. Einleitung

Die Teilnahme an Laborvergleichsuntersuchungen (LVU) bzw. Eignungsprüfungen (PT) ist ein unverzichtbares Element für das Qualitäts-Management-System eines jeden, mit der Untersuchung von Lebensmitteln, Futtermitteln, kosmetischen Mitteln und Bedarfsgegenständen befassten Labors. Die Durchführung von Laborvergleichsuntersuchungen ermöglicht den teilnehmenden Laboren die eigene analytische Kompetenz unter realen Bedingungen nachzuweisen. Gleichzeitig erhalten sie wertvolle Daten für die erforderliche Verifizierung oder Validierung der durchgeführten Untersuchungsmethode [1, 5].

Das Ziel von DLA ist es, LVU für ausgesuchte Parameter in praxisrelevanten Konzentrationen und Matrices anzubieten.

Durchführung und Auswertung der vorliegenden Laborvergleichsuntersuchung erfolgten nach den technischen Anforderungen der DIN EN ISO/IEC 17043 (2010) und DIN ISO 13528-2009 bzw. ISO 13528-2015 [2, 3].

Das vorliegende Eignungsprüfungs-Format „**Response PT - Allergene**“ bietet die Möglichkeit anhand von jeweils 5 unterschiedlich prozessierten Produkten eines Allergens in einfacher Trägermatrix sowie einer „Nullprobe“ nachzuweisen, dass mit der analytischen Bestimmungsmethode des teilnehmenden Labors die betreffenden prozessierten Allergene qualitativ erfasst werden können und quantitative Response-Faktoren für die jeweiligen prozessierten Produkte zu ermitteln.

Um eine Vergleichbarkeit der prozessierten Produkte zu gewährleisten werden die Allergen-Konzentrationen der PT-Probenreihe als Senf-Gehalt auf ein annähernd gleiches Niveau eingestellt. Die Auswertung der PT-Ergebnisse erfolgt qualitativ in Scores von 1-5 (Score 5 = alle Prozessierungen erfolgreich erfasst). Quantitative Ergebnisse werden unter Angabe der erzielten Wiederfindungsrate informativ mit einem Wiederfindungs-Score im Bericht angegeben.

## 2. Durchführung

### 2.1 Untersuchungsmaterial

Zur Untersuchung wurden sechs LVU-Proben für den qualitativen Nachweis und ggf. die quantitative Bestimmung von Senf in Senfmehl (*Sinapis alba*), Tafelsenf (u.a. mit *Sinapis alba*), Dijon-Senf (*Brassica spp*), vegetarischer Brotaufstrich (erhitzt) und Gewürz-Cracker (gebacken) in Kartoffelpulver / Maltodextrin zur Verfügung gestellt.

Die jeweiligen Rohstoffe für die Probenreihe waren handelsübliche teils prozessierte Senfprodukte bzw. von DLA hergestellte Cracker. Pro PT-Probe wurden jeweils 5-9 Produkte unterschiedlicher Herkunft verarbeitet.

Es wurden Vormischungen mit Gehalten von ca. 0,026 - 5,0 % der betreffenden allergenen Zutaten hergestellt (s. Tab. 1). Hierzu wurden die Produkte vorzerkleinert, gravimetrisch gemischt, ggf. gefriergetrocknet (Tafelsenf, Dijon-Senf, Brotaufstrich) oder gebacken (Cracker), gemahlen und homogenisiert. Anschließend wurden die Rohstoffe mit weiteren Zutaten versetzt und mittels Kugelmühle weiter zerkleinert und homogenisiert. Die Allergen-Vormischungen wurden anschließend zur Trägermatrix Kartoffelpulver / Maltodextrin (mesh < 500 µm) gegeben und homogenisiert. Ein Aliquot der Trägermatrix wurde als „Null“-Probe abgenommen.

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

Die Senf-Gehalte der PT-Probenreihe lagen im Bereich von ca. 40 bis 42 mg/kg (s. Tabelle 1).

Jeder zugewiesene Wert, hier die dotierten Allergen-Gehalte, sind mit einer Standardunsicherheit behaftet. Als Unsicherheiten wurden u.a. folgende Faktoren berücksichtigt: Proteingehalt des Dotierungsmaterials, Mischungshomogenität, Homogenität und Stabilität von Senfprotein.

Alle Unsicherheitsbeiträge wurden in Form von Standardabweichungen ausgedrückt und als Varianzen addiert. Die Wurzel aus der Summe der Gesamtvarianzen ergibt die kombinierte Unsicherheit "Uc", die mit dem Erweiterungsfaktor k=2 multipliziert die erweiterte Unsicherheit der zugewiesenen Werte " $U(X_{pt})$ " ergibt [3, 13, 16 - 17].

Tabelle 1: Zusammensetzung der DLA-Proben

PT-Probenreihe	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4	Probe 5	Probe 6
	Tafel-Senf	Dijon-Senf	Brot-aufstrich	Senf-Cracker	Senf-mehl	„Null“
Zutaten	g/100 g	g/100g	g/100g	g/100g	g/100g	g/100g
Kartoffelpulver Zutaten: Kartoffeln, E471, E304, E223, E100 Nährwertangaben pro 100 g: Protein 8,3 g, Kohlenhydrate 76 g, Fett 0,6 g, Salz 0,15 g	75	75	75	62	74	75
Maltodextrin	25	25	25	21	25	25
Allergen-Vormischungen Zutaten (Pr. 1, 2, 3 u. 5): Maltodextrin (94% - 99%), Siliciumdioxid (< 3%), prozessierte Allergenprodukte (je 0,026% - 5% Senf)	0,084	0,083	0,41	17	0,080	-
<b>Allergen-Gehalte</b>	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg
<i>Tafel-Senf (gefriergetrocknet) *</i> Zutaten: Wasser, Senfsaaten, Branntweinessig, Salz, Zucker, Gewürze und weitere Zutaten Protein i.Tr. 19,8 % ** (9 Produkte, Europa)	54,8	-	-	-	-	-
<i>Dijon-Senf (gefriergetrocknet) *</i> Zutaten: Wasser, Senfsaat, Branntweinessig, Salz und weitere Zutaten Protein i.Tr. 19,7 % ** (5 Produkte, Frankreich)	-	56,7	-	-	-	-
<i>Brot-Aufstrich (gefriergetr.) *</i> Zutaten: 14% Tafel-Senf, Pflanzenöl, Wasser, Eier, Feigen, Gemüse, Zucker, Zitronensaft, Sauerrahm, Eigelb, Leinmehl, Mandelmehl, Apfeldicksaft, Sonnenblumenkerne, Kräuter, Kurkuma, modifizierte Maisstärke, Kartoffelstärke, Rotwein, Honig, Farbstoff: Carotine und weitere Zusatzstoffe Protein i.Tr. 5,9 % *** (5 Produkte, Deutschland)	-	-	695	-	-	-
<i>Salz-Cracker*</i> (gebacken 200°C, 25 min) Zutaten: Wasser, Weizenmehl, Rapsöl, Zucker, Salz, Backpulver und 0,26 % Senf ( <i>Sinapis alba</i> ) (#) Protein 0,069 % *** (#9 Produkte, Europa, Asien)	-	-	-	176000	-	-
<i>Senfmehl (Sinapis alba) *</i> Protein 26,1 % ** (9 Produkte, Europa, Asien)	-	-	-	-	39,9	-
- als Senf	42,0	41,4	40,9	46,6	39,9	-
erweiterte kombinierte Unsicherheit (k=2) des Senf-Gehalts (= ± 12,7 %)	± 5,33	± 5,26	± 5,19	± 5,92	± 5,07	-

\*Gehalte als „Lebensmittel“ wie in Spalte „Zutaten“ angegeben gemäß gravimetrischer Mischung

\*\* Proteingehalt gemäß Laboranalyse der Rohstoffmischungen (Gesamtstickstoff nach Kjeldahl mit F=5,30 für Senfprotein)

\*\*\* Senf-Proteingehalt berechnet aus Senfgehalt gemäß Deklaration der Produkte bzw. DLA-

Herstellung

**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  $\mu\text{m}$ -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-Proben 1-5 hat eine Wahrscheinlichkeit von 98%, 75%, 81%, 95% bzw. 81% 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 [17]. Es wurden HorRat-Werte von 0,55, 0,93, 1,1, 0,68 bzw. 0,97 erhalten. Die Ergebnisse der Microtracer-Analyse sind in der Dokumentation angegeben.

### 2.1.2 Stabilität

Eine Wasseraktivität ( $a_w$ ) von  $< 0,5$  ist ein wichtiger Faktor um die Stabilität von trockenen und getrockneten Produkten während der Lagerung zu gewährleisten, optimale Bedingung für die Lagerung ist der  $a_w$ -Wert-Bereich von 0,15 – 0,3, in diesem Bereich ist die geringstmögliche Degraderationsrate 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. 0,30 – 0,32 (20 – 21°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 48. Kalenderwoche 2020 je eine Portion der Untersuchungsmaterialien 1 bis 6 verschickt. Die Untersuchungsverfahren wurden freigestellt. Die Untersuchungen waren durchzuführen bis spätestens 5. Februar 2021.

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

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

- *Die Proben 1-5 sind in zufälliger Reihenfolge nummeriert und enthalten Senfmehl (Sinapis alba), Tafelsenf (überwiegend Sinapis alba), Dijon-Senf (überwiegend Brassica spp), vegetarischen Brotaufstrich (erhitzt) und Gewürz-Cracker (gebacken).*
- *Bitte geben Sie alle quantitativen Ergebnisse als Gesamt-Senf, soweit möglich unter Angabe des zugrundeliegenden Gehalts an Gesamt-Protein in Senf an.  
Mögliche Umrechnungsfaktoren auf die prozessierten Senfprodukte werden separat in der Ergebnisabgabedatei abgefragt.*

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

## **2.3 Ergebnisübermittlung**

Die Ergebnisabgabe erfolgte einheitlich mittels an die teilnehmenden Labore übergebenen Übermittlungstabellen (per eMail).

Zur Auswertung kamen einerseits die Ergebnisse als positiv/negativ Angaben und andererseits angegebene Gehalte an allergenen Zutaten in mg/kg z.B. als allergenes Lebensmittel oder Protein.

Abgefragt und dokumentiert wurden die o.g. Ergebnisse sowie Angaben zu den Testmethoden wie Spezifitäten, Bestimmungsgrenzen, Testkit-Hersteller und Stichpunkte zur Durchführung der Methoden.

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

15 Teilnehmer haben fristgerecht Ergebnisse abgegeben. Ein Teilnehmer hat keine Ergebnisse eingereicht.

### 3. Auswertung

Verschiedene ELISA-Methoden zur quantitativen Bestimmung von Allergenen in Lebensmitteln können verschiedene Antikörper-Spezifitäten aufweisen, mit unterschiedlichem Referenzmaterial kalibriert worden sein und sich unterschiedlicher Extraktionsverfahren bedienen. Die verschiedenen ELISA-Methoden können daher zu einer unterschiedlichen Bewertung des Gehalts eines Analyten führen [25, 26, 27, 28]. Darüber hinaus können Matrix- und/oder Prozessierung die Nachweisbarkeit von Allergenen sowohl mittels ELISA- als auch mittels PCR-Verfahren stark beeinflussen.

In der vorliegenden LVU wurden von dem Allergen Senf fünf verschiedenartig prozessierte Produkte, Senfmehl (*Sinapis alba*), Tafelsenf (u.a. mit *Sinapis alba*), Dijon-Senf (*Brassica spp*), vegetarischer Brotaufstrich (erhitzt) und Salz-Cracker (gebacken) zur Verfügung gestellt, um die qualitative Nachweisbarkeit und die Response in der quantitativen Bestimmung der eingesetzten Methoden ermitteln zu können.

Die Teilnehmer-Ergebnisse werden *qualitativ* mit einem Score von 1-5 bewertet, der angibt wie viele prozessierte Produkte erfolgreich erfasst wurden.

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

### 3.1 Qualitativer Score

Die qualitative Bewertung der Ergebnisse jedes Teilnehmers erfolgt mit Scores von 1 - 5 anhand der Anzahl der Übereinstimmungen der Angaben „positiv“ oder „negativ“ mit den **Dotierungen der LVU-Probenreihe** (siehe Tab. 2). Ein Score von 5 bedeutet, dass alle prozessierten Produkte erfolgreich erfasst wurden.

Die Ergebnisse der Matrixprobe 6 („Null“-Probe) werden nicht bewertet, sofern das betreffende Teilnehmerergebnis in Übereinstimmung mit  $\geq 75\%$  positiver oder negativer Ergebnisse der Teilnehmer steht (Konsenswert) oder das Ergebnis unterhalb der Bestimmungsgrenze der eingesetzten Methode liegt.

Tabelle 2: Bewertung der Ergebnisse anhand von qualitativen Scores

Probe 1 Tafel-Senf	Probe 2 Dijon-Senf	Probe 3 Brotaufstrich	Probe 4 Salz-Cracker	Probe 5 Senfmehl	Probe 6 „Null“	Score qualitativ	Eignung qualitativ
pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	Anzahl erfasster Proben 1 - 5	
negativ	negativ	negativ	negativ	negativ	negativ	0 (0%)	nicht erfolgreich
negativ	negativ	negativ	negativ	positiv	negativ	1 (20%)	1 Produktgruppe
negativ	negativ	negativ	positiv	positiv	negativ	2 (40%)	2 Produktgruppen
negativ	negativ	positiv	positiv	positiv	negativ	3 (60%)	3 Produktgruppen
negativ	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ	4 (80%)	4 Produktgruppen
positiv	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ	5 (100%)	5 Produktgruppen

### 3.2 Wiederfindungs-Score (WFR-Score)

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

Die Wiederfindungsraten werden in Bezug auf das jeweilige zugesetzte prozessierte Allergen (Zusatzniveau) berechnet. Die Bezugswerte ergeben sich aus den unter 2.1 Untersuchungsmaterial in Tabelle 1 angegebenen Gehalten der Proben 1 bis 5. Als Akzeptanzbereich AB für die Bewertung der Teilnehmerergebnisse wird der von der AOAC vorgeschlagene Bereich von 50 - 150% für die Wiederfindungsraten von Allergen-ELISAs herangezogen [23]. Für quantitative PCR-Bestimmungen sowie LC/MS wird ebenfalls dieser Akzeptanzbereich herangezogen.

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

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

### 3.2.1 Wiederfindungsraten eines Versuchs zur Präzision

In Ringversuchen der ASU §64 Methoden wurden abhängig von Matrix bzw. Prozessierung und Konzentrationsbereich Wiederfindungsraten im Bereich von 57 – 119% für die ELISA-Methoden und 12 – 176% für die PCR-Methoden erhalten (s. Tab. 3a und 3b). Die angegebenen Zielstandardabweichungen  $\sigma_{pt}$  wurden für eine Anzahl von  $m = 2$  Wiederholmessungen berechnet.

Tabelle 3a: ELISA-Methoden – Wiederfindungsraten und Präzisionsdaten ausgewählter Auswertungen von Versuchen zur Präzision [30-31]

Parameter	Matrix	Mittelwerte [mg/kg]	Wiederfindung	rob RSD <sub>r</sub>	RSD <sub>r</sub>	RSD <sub>R</sub>	$\sigma_{pt}$	Methode / Literatur
Erdnuss	Vollmilchschokolade	173,7	87 %	–	8,8%	31%	30,4%	ELISA Herst. A ASU 00.00-69
		33,8	85 %	–	5,2%	20%	19,7%	
		5,9	59 %	–	7,8%	31%	30,5%	
Erdnuss	Vollmilchschokolade	215,7	108 %	–	5,9%	32%	31,7%	ELISA Herst. B ASU 00.00-69
		40,1	100 %	–	7,2%	14%	13,0%	
		10,1	101 %	–	7,3%	16%	15,1%	
Erdnuss	Feinherbschokolade	148,2	74 %	–	6,0%	22%	21,6%	ELISA Herst. A ASU 00.00-69
		30,9	77 %	–	13%	25%	23,2%	
		5,7	57 %	–	6,1%	33%	32,7%	
Haselnuss	Feinherbschokolade	16,3	81 %	–	4,7%	12%	11,5%	ELISA Herst. A ASU 44.00-7
		7,56	76 %	–	8,9%	15%	13,6%	
		3,73	75 %	–	13%	24%	22,2%	
		1,62	81 %	–	15%	33%	31,2%	
Haselnuss	Feinherbschokolade	21,3	106 %	–	7,1%	14%	13,1%	ELISA Herst. B ASU 44.00-7
		10,7	107 %	–	11%	19%	17,3%	
		4,69	94 %	–	11%	17%	15,1%	
		2,37	119 %	–	9,3%	17%	16,4%	

Die Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity (WGPAT) hat Ringversuche zur Validierung von zwei kommerziellen ELISA-Test-Kits zur Gluten-Bestimmung mittels monoklonalem R5 Antikörper durchgeführt [24]. Es wurden 12 Lebensmittelproben mit Gliadinegehalten im Bereich von 0 – 168 mg/kg von 20 Laboratorien untersucht. Die Wiederfindungsraten lagen zwischen 65 und 110%, die relativen Wiederholstandardabweichungen lagen bei 13 – 25% (1. Methode) bzw. 11 – 22% (2. Methode) und die relativen Vergleichsstandardabweichungen bei 23 – 47% (1. Methode) bzw. 25 – 33% (2. Methode). Laut den Autoren erfüllten beide ELISA-Test-Kits damit die Validierungskriterien für ELISA Methoden [24].

Das IRMM (Institute for Reference Materials and Measurements) hat in einem Ringversuch die Eignung fünf verschiedener ELISA-Test-Kits zur Bestimmung von Erdnuss getestet [27]. Die Mittelwerte lagen im Konzentrationsbereich von 0,3 – 16,1 mg/kg bzw. 1,2 – 20,4 mg/kg. Die jeweils niedrigsten relativen Vergleichsstandardabweichungen der fünf Test-Kits lagen für die Matrix Bitterschokolade bei 20 – 42% und für Kekse bei 23 – 61%.

Tabelle 3b: PCR-Methoden – Wiederfindungsraten und Präzisionsdaten ausgewählter Auswertungen von Versuchen zur Präzision [32–36]

Parameter	Matrix	Mittelwerte [mg/kg]	Wiederfindung	rob RSD <sub>r</sub>	RSD <sub>r</sub>	RSD <sub>R</sub>	opt	Methode / Literatur
Sesam	Reiskekse	94,6	95 %	–	22,5%	27,5%	22,4%	rt-PCR ASU 18.00-19
		15,7	79 %		26,0%	39,5%	35,0%	
		9,8	98 %		20,9%	33,5%	30,0%	
Sesam	Weizenkekse Soßenpulver	96,9	79 %	–	21,8%	33,0%	29,2%	rt-PCR ASU 18.00-19
		59,8	60 %		22,2%	43,2%	40,2%	
Sesam	Reiskekse	88,9	89 %	–	18,2%	30,5%	27,7%	rt-PCR <sup>multiplex</sup> ASU 18.00-22
		17,8	89 %		34,2%	37,8%	29,1%	
		9,8	98 %		26,2%	37,0%	32,0%	
Sesam	Weizenkekse Soßenpulver	115	93 %	–	16,7%	41,1%	39,4%	rt-PCR <sup>multiplex</sup> ASU 18.00-22
		58,5	59 %		30,8%	44,4%	38,7%	
Senf, braun / schwarz	Wurst, auto- klaviert	146,7	147 %	–	12,3%	22,0%	20,2%	rt-PCR ASU 08.00-64
		50,0	125 %		17,2%	31,6%	29,2%	
		15,8	158 %		15,4%	27,1%	24,8%	
Senf, braun / schwarz	Wurst, auto- klaviert	168,3	168 %	–	11,4%	31,6%	29,5%	rt-PCR ASU 08.00-65
		52,9	132 %		10,0%	23,1%	21,9%	
		17,6	176 %		23,1%	46,3%	43,3%	
Senf, weiß	Brühwurst (100°C, 60min)	79,9	80 %	–	13,6%	23,6%	21,6%	rt-PCR ASU 08.00-59
		37,0	93 %		15,7%	29,2%	27,0%	
		18,0	90 %		14,4%	30,6%	28,9%	
		8,0	80 %		15,4%	26,1%	23,7%	
Senf, weiß	Brühwurst (100°C, 60 min)	103,3	103 %	–	11,8%	17,1%	14,9%	rt-PCR ASU 08.00-65
		45,9	115 %	–	14,7%	21,8%	19,2%	
Senf, weiß	Wurst, autoklaviert	11,7	11,7 %	–	24,1%	34,3%	29,8%	rt-PCR ASU 08.00-65

### 3.2.2 Werte aus Erkenntnissen

Anforderungen an die Leistungsfähigkeit der Analysemethoden zur quantitativen Bestimmung von Allergenen in Lebensmitteln sind u.a. vom Ministry of Health and Welfare (MHLW) in Japan [22], von der Arbeitsgruppe 12 „Lebensmittelallergene“ des Technischen Komitees CEN/TC 275 [19-21], von einer internationalen "Food Allergen Working Group" unter der Leitung der AOAC Presidential Task Force on Food Allergens [23] und vom Codex Alimentarius Committee (CAC/GL 74-2010) [18] erarbeitet worden.

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

Tabelle 4: ELISA-Validierungskriterien

Literatur [18-24]	Wiederfindungsrate	Wiederholstandard- abweichung	Vergleichsstandard- abweichung
MHLW 2006	50 - 150%		≤ 25%
CEN 2009		≤ 20%	
AOAC 2010	50 - 150%	6,9 - 34,4% <sup>(a)</sup>	19,5 - 57,2% <sup>(a)</sup>
CAC 2010	70 - 120%	≤ 25%	≤ 35%

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

Tabelle 5: PCR-Validierungskriterien

Literatur [18]	Wiederfindungsrate	Wiederholstandard- abweichung	Vergleichsstandard- abweichung
CAC 2010	± 25% <sup>(a)</sup>	≤ 25%	≤ 35%

(a) = Trueness / Richtigkeit

Aufgrund der derzeitigen Leistungsfähigkeiten von ELISA- bzw. PCR-Methoden zur quantitativen Bestimmung von Allergenen in Lebensmitteln, die sich aus den Präzisionsdaten von Versuchen und aus den o.g. Validierungsanforderungen ableiten lassen, legen wir für die relative Zielstandardabweichung  $\sigma_{pt}$  einen Wert von 25% und für die Wiederfindungsrate entsprechend 50-150% fest.

### 3.3 z-Score (Dotierungsniveaus)

Der z-Score wird herangezogen zur Beurteilung der Ergebnisse der teilnehmenden Labore. Er besagt um welches Vielfache der Zielstandardabweichung ( $\sigma_{pt}$ ) das Ergebnis ( $x_i$ ) des betreffenden Teilnehmers vom zugewiesenen Wert ( $x_{pt}$ ), hier das Dotierungsniveau, 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

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

Die Berechnung der z-Scores zu den Wiederfindungen erfolgte mit der Zielstandardabweichung von 25% (s. 3.2.2).

### 3.4 z'-Score (Dotierungsniveaus)

Der z'-Score kann u.a. zur Beurteilung der Ergebnisse der teilnehmenden Labore herangezogen werden, wenn die Standardunsicherheit des zugewiesenen Wertes berücksichtigt werden muss. 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 ( $\sigma_{pt}$ ) 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  $\sigma_{pt}'$  definiert.

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

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

### 4. Ergebnisse

Alle folgenden Tabellen sind anonymisiert. Den teilnehmenden Laboratorien wird mit dem Versand dieser Auswertung ihre individuelle Auswertenummer mitgeteilt.

Die Auswertung erfolgte getrennt nach ELISA- (Lateral Flow) und PCR-Methoden. Die Ergebnisse wurden in den entsprechenden Kapiteln nach durchgeführten Methoden (Testkits) zusammengefasst und die Auswertenummern innerhalb der Gruppen aufsteigend sortiert.

Im Ergebnisteil werden alle quantitativen Teilnehmerergebnisse auf 3 signifikante Stellen (gültige Ziffern) formatiert dargestellt. Im Dokumentationsteil sind die Ergebnisse so angegeben wie sie von den Teilnehmern übermittelt wurden.

Um die **Vergleichbarkeit von quantitativen Ergebnissen** zu gewährleisten, werden Teilnehmerergebnisse mit unterschiedlichen Angaben (z.B. als Protein oder allergenes Lebensmittel) soweit möglich von DLA harmonisiert. In der vorliegenden LVU wurden alle ELISA-Ergebnisse als Senf oder Senfmehl angegeben, sodass keine Umrechnungen notwendig waren.

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

Auswertenummer	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4	Probe 5	Probe 6	Score qualitativ	Methode	Hinweis
	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	Anzahl erfasster Proben 1 - 5		

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

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

\* Wiederfindungsrate



### 4.1 Vergleichsuntersuchung prozessierte Senfprodukte

#### 4.1.1 Qualitative Scores: ELISA-Methoden

Auswertenummer	Probe 1 Tafel-Senf	Probe 2 Dijon-Senf	Probe 3 Brotaufstrich	Probe 4 Salz-Cracker	Probe 5 Senfmehl	Probe 6 „Null“	Score qualitativ	Methode	Hinweis
	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	Anzahl erfasster Proben 1-5		
13	positiv	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ	5 (100%)	AQ	
3	positiv	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ	5 (100%)	RS-F	
6	positiv	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ	5 (100%)	RS-F	
8	positiv	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ	5 (100%)	RS-F	
10	positiv	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ	5 (100%)	RS-F	
11	positiv	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ	5 (100%)	RS-F	
14	positiv	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ	5 (100%)	RS-F	
1	positiv	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ	5 (100%)	SP	
4	positiv	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ	5 (100%)	SP	
5	positiv	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ	5 (100%)	SP	
9	positiv	positiv	-	positiv	positiv	negativ	4 (80%)	SP	
12	positiv	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ	5 (100%)	VT	

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4	Probe 5	Probe 6
Anzahl positiv	12	12	11	12	12	0
Anzahl negativ	0	0	0	0	0	12
Prozent positiv	100	100	100	100	100	0
Prozent negativ	0	0	0	0	0	100
Konsenswert	positiv	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ
Dotierung	positiv	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ

**Methoden:**

- AQ = AgraQuant, RomerLabs
- RS-F= Ridascreen® Fast, R-Biopharm
- SP = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins
- VT = Veratox, Neogen

Anmerkung:

Für die Proben 1-5 wurden mittels ELISA-Methoden Konsenswerte von 100% positiven Ergebnissen erhalten.

4.1.2 Qualitative Scores: PCR-Methoden

4.1.2.1 Senf, allgemein

Auswertenummer	Probe 1 Tafel-Senf	Probe 2 Dijon-Senf	Probe 3 Brotaufstrich	Probe 4 Salz-Cracker	Probe 5 Senfmehl	Probe 6 „Null“	Score qualitativ	Methode	Hinweis
	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	Anzahl erfasster Proben 1-5		
5	positiv	positiv	negativ	positiv	positiv	negativ	4 (80%)	ASU	
3	positiv	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ	5 (100%)	SFA	
7	positiv	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ	5 (100%)	SFA	
8	positiv	positiv	negativ	positiv	positiv	negativ	4 (80%)	SFA	
9	positiv	positiv	-	positiv	positiv	negativ	4 (80%)	SFA	
12	positiv	positiv	-	positiv	positiv	negativ	4 (80%)	SFA	
15	positiv	positiv	-	positiv	positiv	negativ	4 (80%)	SFA	

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4	Probe 5	Probe 6
Anzahl positiv	7	7	2	7	7	0
Anzahl negativ	0	0	2	0	0	7
Prozent positiv	100	100	50	100	100	0
Prozent negativ	0	0	50	0	0	100
Konsenswert	positiv	positiv	keiner	positiv	positiv	negativ
Dotierung	positiv	positiv	positiv	positiv	positiv	negativ

Methoden:

ASU = ASU §64 Methode/method

SFA = Sure Food Allergen, R-Biopharm / Congen

Anmerkung:

Für die Proben 1, 2, 4 und 5 wurden mittels PCR-Methoden Konsenswerte von 100% positiven Ergebnissen erhalten. Für die prozessierte Probe 3 (Brotaufstrich) wurden zwei positive und zwei negative Ergebnisse erhalten, weitere 3 Teilnehmer haben keine Angaben für Probe 3 übermittelt.

4.1.2.2 Senf, gelb (*Sinapis alba*)

Auswertenummer	Probe 1 Tafel-Senf	Probe 2 Dijon-Senf	Probe 3 Brotaufstrich	Probe 4 Salz-Cracker	Probe 5 Senfmehl	Probe 6 „Null“	Score qualitativ	Methode	Hinweis
	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	Anzahl erfasster Proben 1-5		
2	positiv	negativ	negativ	positiv	positiv	negativ	3/3 (100%)	ASU	
5	negativ	negativ	negativ	positiv	positiv	negativ	2/3 (67%)	ASU	
13	positiv	negativ	negativ	positiv	positiv	negativ	3/3 (100%)	ASU	
6	positiv	positiv	-	negativ	negativ	-	1/3 (33%)	div	
10	positiv	negativ	negativ	positiv	positiv	negativ	3/3 (100%)	div	

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4	Probe 5	Probe 6
Anzahl positiv	4	1	0	4	4	0
Anzahl negativ	1	4	4	1	1	4
Prozent positiv	80	20	0	80	80	0
Prozent negativ	20	80	100	20	20	100
Konsenswert	positiv	negativ	negativ	positiv	positiv	negativ
Dotierung	positiv	negativ	-	positiv	positiv	negativ

**Methoden:**

ASU = ASU §64 Methode/method

div = keine genaue Angabe / andere Method

div = not indicated / other method

Anmerkung:

Für alle Proben wurden mittels PCR-Methoden Konsenswerte von 80 bzw. 100% positiven oder negativen Ergebnissen erhalten. Qualitativ bewertet wurden die Ergebnisse für die Proben 1, 4 und 5, für die bekannt war, dass sie gelben Senf (*Sinapis alba*) enthalten. Probe 2 (Dijon-Senf) enthält Brassica-Arten und für Probe 3 (Brotaufstrich) waren die Senfarten nicht bekannt.

4.1.2.3 Senf, braun und schwarz (*Brassica juncea / nigra*)

Auswertenummer	Probe 1 Tafel-Senf	Probe 2 Dijon-Senf	Probe 3 Brotaufstrich	Probe 4 Salz-Cracker	Probe 5 Senfmehl	Probe 6 „Null“	Score qualitativ	Methode	Hinweis
	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	pos/neg	Anzahl erfasster Proben 1-5		
2	positiv	positiv	negativ	negativ	negativ	negativ	4/4 (100%)	ASU	
5	positiv	positiv	negativ	negativ	negativ	negativ	4/4 (100%)	ASU	
13	positiv	positiv	positiv	negativ	negativ	negativ	4/4 (100%)	ASU	
6	positiv	negativ	-	positiv	positiv	-	3/4 (75%)	div	
10	positiv	positiv	positiv	negativ	negativ	negativ	4/4 (100%)	div	

	Probe 1	Probe 2	Probe 3	Probe 4	Probe 5	Probe 6
Anzahl positiv	5	4	2	1	1	0
Anzahl negativ	0	1	2	4	4	4
Prozent positiv	100	80	50	20	20	0
Prozent negativ	0	20	50	80	80	100
Konsenswert	positiv	positiv	keiner	negativ	negativ	negativ
Dotierung	positiv	positiv	-	negativ	negativ	negativ

**Methoden:**

ASU = ASU §64 Methode/method  
 div = keine genaue Angabe / andere Method  
 div = not indicated / other method

Anmerkung:

Für die Proben 1, 2, 4 und 5 wurden mittels PCR-Methoden Konsenswerte von 80% bzw. 100% positiven oder negativen Ergebnissen erhalten. Für die prozessierte Probe 3 (Brotaufstrich) wurden zwei positive und zwei negative Ergebnisse erhalten, ein weiterer Teilnehmer hat keine Angaben für Probe 3 übermittelt.

Qualitativ bewertet wurden die Ergebnisse für die Proben 1, 2, 4 und 5 für die bekannt war, dass sie Brassica-Arten enthalten (Proben 1 und 2) bzw. keine Brassica-Arten enthalten (Proben 4 und 5).

Für Probe 3 (Brotaufstrich) waren die Senfarten nicht bekannt.

4.1.3 Quantitativ: ELISA-Methoden Wiederfindungs-Scores (WFR-Scores)

Auswertenummer	Probe 1 Tafel-Senf		Probe 2 Dijon-Senf		Probe 3 Brotaufstrich		Probe 4 Salz-Cracker		Probe 5 Senfmehl		WFR-Score	Methode	Hinweis	
	Ergebnis	WFR *	Ergebnis	WFR *	Ergebnis	WFR *	Ergebnis	WFR *	Ergebnis	WFR *	WFR *			
	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]	Anzahl in AB**			
13												AQ		
3	89,8	214	101	244	64,5	158	6,44	14	49,7	125	1/5 (20%)	RS-F		
6	74,0	176	106	256	67,0	164	5,30	11	61,0	153	0/5 (0%)	RS-F		
8	75,6	180	112	271	77,7	190	4,65	10	70,3	176	0/5 (0%)	RS-F		
10	50,0	119	65,0	157	50,0	122	5,00	11	50,0	125	3/5 (60%)	RS-F		
11	49,0	117	83,4	201	50,2	123	4,90	11	44,8	112	3/5 (60%)	RS-F		
14	74,0	176	78,0	188	65,0	159	4,80	10	46,0	115	1/5 (20%)	RS-F		
1	22,5	54	18,2	44	18,0	44	6,50	14	72,7	182	1/5 (20%)	SP		
4	65,3	155	56,1	135	52,7	129	7,15	15	68,8	172	2/4 (50%)	SP		
5	17,0	40	25,0	60	24,0	59	5,90	13	97,0	243	2/4 (50%)	SP		
9												SP		
12	34,4	82	34,1	82	24,1	59	6,90	15	70,7	177	3/5 (60%)	VT		
<b>AB**</b>		<b>50-150 %</b>	<b>AB**</b>		<b>50-150 %</b>		<b>AB**</b>		<b>50-150 %</b>		<b>AB**</b>		<b>50-150 %</b>	
Anzahl in AB		4	Anzahl in AB		3		Anzahl in AB		5		Anzahl in AB		0	
Prozent in AB		40	Prozent in AB		30		Prozent in AB		50		Prozent in AB		0	
Anzahl in AB		4	Anzahl in AB		3		Anzahl in AB		5		Anzahl in AB		4	
Prozent in AB		40	Prozent in AB		30		Prozent in AB		50		Prozent in AB		40	

**Methoden:**  
 AQ = AgraQuant, RomerLabs  
 RS-F= Ridascreen® Fast, R-Biopharm  
 SP = SensiSpec ELISA Kit, Eurofins  
 VT = Veratox, Neogen

\* Wiederfindungsrate 100% Bezugsgröße: Senf, s. Seite 5

\*\* Akzeptanzbereich der AOAC für Allergen-ELISAs

Anmerkung:

Für die Proben 1, 2, 3 und 5 lagen jeweils 30% bis 50% der Wiederfindungsraten der Teilnehmerergebnisse im Bereich der AOAC-Anforderungen von 50-150%. Für Probe 4 (Cracker) lagen die Wiederfindungsraten mit 10-15% deutlich unterhalb dieses Bereichs.

4.1.4 Quantitativ: PCR-Methoden Wiederfindungs-Scores (WFR-Scores)

4.1.4.1 Senf, allgemein

Auswertenummer	Probe 1 Tafel-Senf		Probe 2 Dijon-Senf		Probe 3 Brotaufstrich		Probe 4 Salz-Cracker		Probe 5 Senfmehl		WFR-Score	Methode	Hinweis
	Ergebnis	WFR *	Ergebnis	WFR *	Ergebnis	WFR *	Ergebnis	WFR *	Ergebnis	WFR *	WFR *		
	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]	Anzahl in AB**		
5												ASU	
3												SFA	
7	8,00	19	43,5	105	1,00	2,4	78,0	167	241	604	1/5 (20%)	SFA	
8	< 1		0,43	1,0	< 1		3,83	8,2	6,54	16	0/5 (0%)	SFA	
9												SFA	
12	N/A		N/A		N/A		N/A		N/A			SFA	
15	-		-		-		-		-			SFA	
	<b>AB**</b>	<b>50-150 %</b>	<b>AB**</b>	<b>50-150 %</b>	<b>AB**</b>	<b>50-150 %</b>	<b>AB**</b>	<b>50-150 %</b>	<b>AB**</b>	<b>50-150 %</b>			
	Anzahl in AB	0	Anzahl in AB	1	Anzahl in AB	0	Anzahl in AB	0	Anzahl in AB	0			
	Prozent in AB	0	Prozent in AB	50	Prozent in AB	0	Prozent in AB	0	Prozent in AB	0			

**Methoden:**

ASU = ASU §64 Methode/method

SFA = Sure Food Allergen, R-Biopharm / Congen

\* Wiederfindungsrate 100% Bezugsgröße: Senf, s. Seite 5

\*\* Akzeptanzbereich der AOAC für Allergen-ELISAs

Anmerkung:

Zwei Teilnehmer haben mittels PCR-Methoden quantitative Ergebnisse bestimmt. Eine der Wiederfindungsraten lag innerhalb des Bereichs der AOAC-Anforderungen von 50-150%.

4.1.4.2 Senf, gelb (*Sinapis alba*)

Auswertenummer	Probe 1 Tafel-Senf		Probe 2 Dijon-Senf		Probe 3 Brotaufstrich		Probe 4 Salz-Cracker		Probe 5 Senfmehl		WFR-Score	Methode	Hinweis
	Ergebnis	WFR *	Ergebnis	WFR *	Ergebnis	WFR *	Ergebnis	WFR *	Ergebnis	WFR *	WFR *		
	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]	Anzahl in AB**		
2	<10						15	32	53	133	1/2 (50%)	ASU	
5												ASU	
13												ASU	
6												div	
10	>5		<5		<5		65	139	65	163	1/2 (50%)	div	
	<b>AB**</b>	<b>50-150 %</b>	<b>AB**</b>	<b>50-150 %</b>	<b>AB**</b>	<b>50-150 %</b>	<b>AB**</b>	<b>50-150 %</b>	<b>AB**</b>	<b>50-150 %</b>			
	Anzahl in AB	-	Anzahl in AB	-	Anzahl in AB	-	Anzahl in AB	1	Anzahl in AB	1			
	Prozent in AB	-	Prozent in AB	-	Prozent in AB	-	Prozent in AB	50	Prozent in AB	50			

**Methoden:**  
 ASU = ASU §64 Methode/method  
 div = keine genaue Angabe / andere Methode  
 div = not indicated / other method

\* Wiederfindungsrate 100% Bezugsgröße: Senf, s. Seite 5

\*\* Akzeptanzbereich der AOAC für Allergen-ELISAs

Anmerkung:

Zwei Teilnehmer haben mittels PCR-Methoden quantitative Ergebnisse bestimmt. Zwei der Wiederfindungsraten lagen innerhalb des Bereichs der AOAC-Anforderungen von 50-150%.

4.1.4.3 Senf, braun und schwarz (*Brassica juncea / nigra*)

Auswertenummer	Probe 1 Tafel-Senf		Probe 2 Dijon-Senf		Probe 3 Brotaufstrich		Probe 4 Salz-Cracker		Probe 5 Senfmehl		WFR-Score	Methode	Hinweis
	Ergebnis	WFR *	Ergebnis	WFR *	Ergebnis	WFR *	Ergebnis	WFR *	Ergebnis	WFR *			
	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]	[mg/kg]	[%]	WFR *		
2	<5		11,0	27							0/1 (0%)	ASU	
5												ASU	
13												ASU	
6												div	
10	>1		15,0	36	>1		<1		<1		0/1 (0%)	div	
	<b>AB**</b>	<b>50-150 %</b>	<b>AB**</b>	<b>50-150 %</b>	<b>AB**</b>	<b>50-150 %</b>	<b>AB**</b>	<b>50-150 %</b>	<b>AB**</b>	<b>50-150 %</b>			
	Anzahl in AB	-	Anzahl in AB	0	Anzahl in AB	-	Anzahl in AB	-	Anzahl in AB	-			
	Prozent in AB	-	Prozent in AB	0	Prozent in AB	-	Prozent in AB	-	Prozent in AB	-			

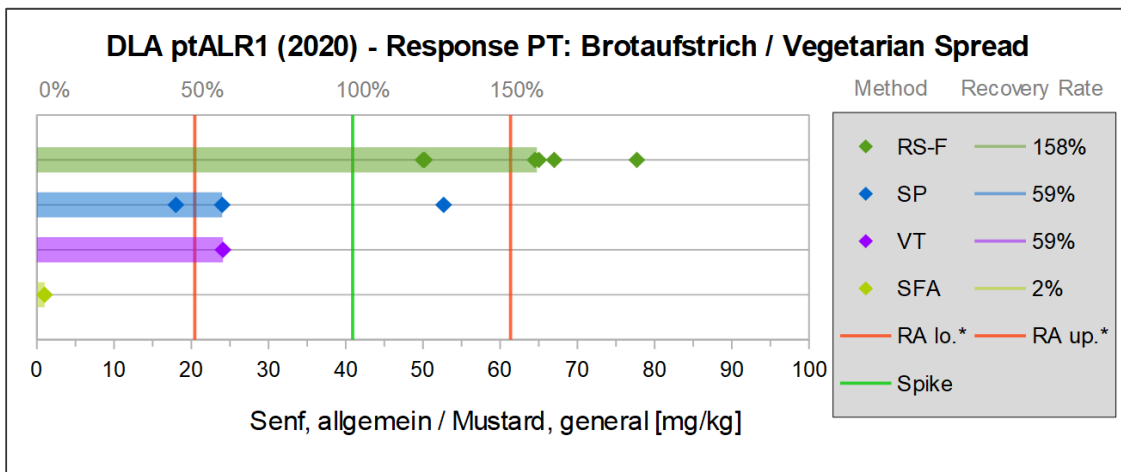
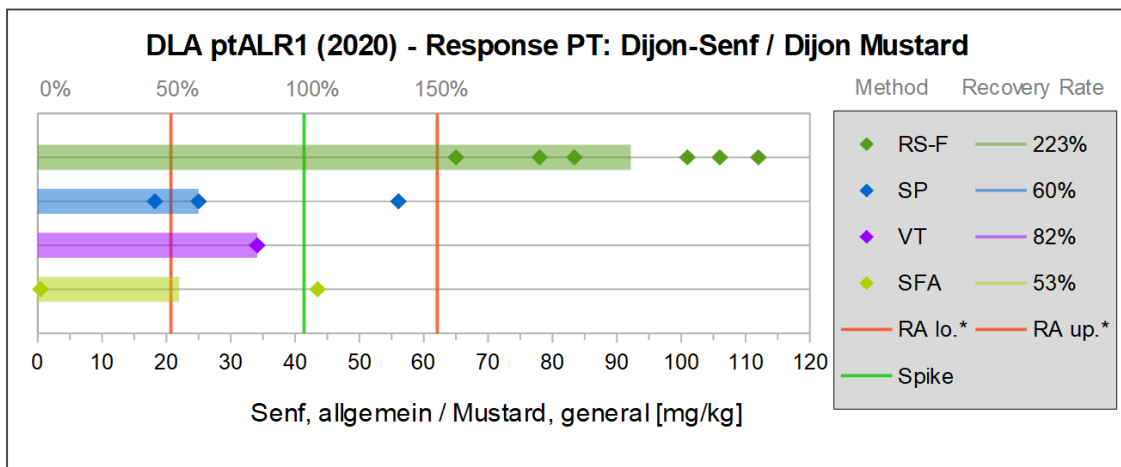
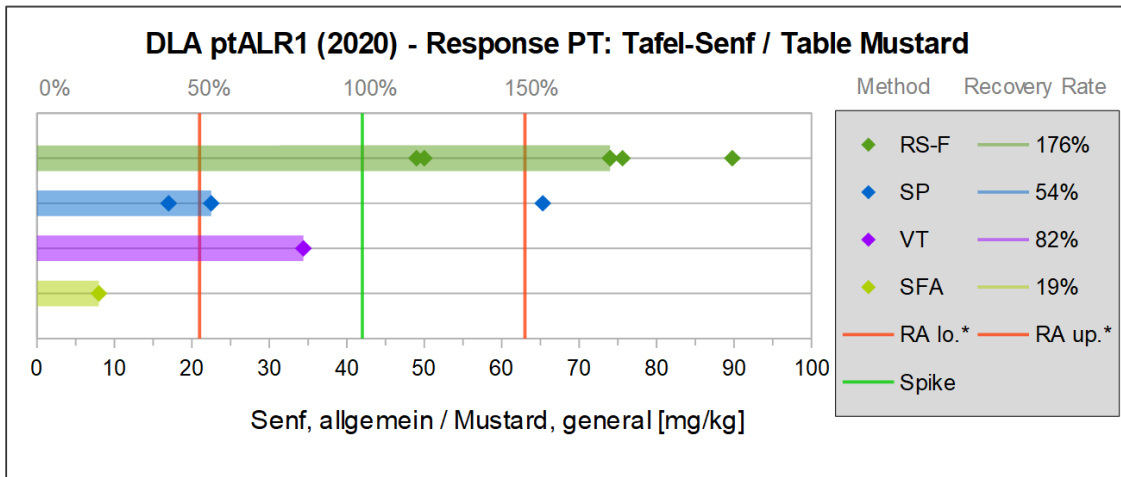
**Methoden:**  
 ASU = ASU §64 Methode/method  
 div = keine genaue Angabe / andere Methode  
 div = not indicated / other method

\* Wiederfindungsrate 100% Bezugsgröße: Senf, s. Seite 5  
 \*\* Akzeptanzbereich der AOAC für Allergen-ELISAs

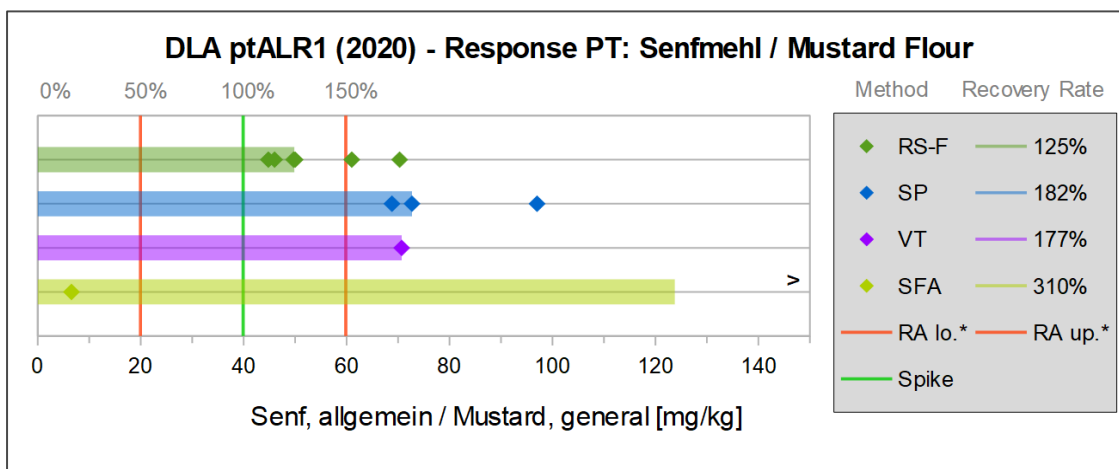
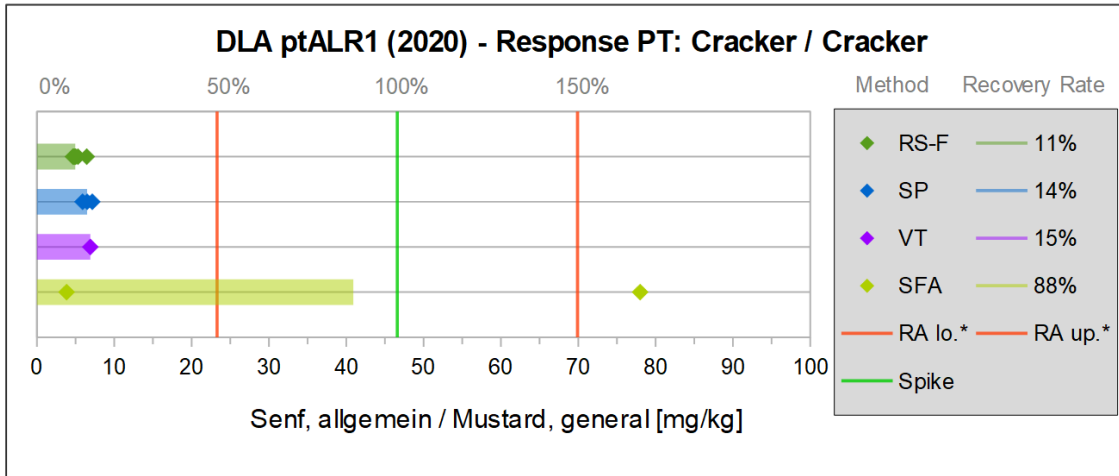
Anmerkung:

Zwei Teilnehmer haben mittels PCR-Methoden quantitative Ergebnisse bestimmt. Die Wiederfindungsraten lagen etwas unterhalb des Bereichs der AOAC-Anforderungen von 50-150%.





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



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

## 5. Dokumentation

### 5.1 Angaben der Teilnehmer

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

#### 5.1.1 ELISA-Methoden

Meth. Abk.	Auswertenummer	Datum der Analyse	Ergebnis Probe 1		Ergebnis Probe 2		Ergebnis Probe 3		Ergebnis Probe 4		Ergebnis Probe 5		Ergebnis Probe 6		NWG / LOD *	BG / LOQ *	MU*	Angabe quantitativer Ergebnis als
			qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg				
AQ	13	02.02.21	positiv		positiv		positiv		positiv		positiv		negativ		2			Senf
RS-F	3	08.12.20	-	89,78	-	100,96	-	64,51	-	6,44	-	49,71	-	< BG		0,5		Senf
RS-F	6	14.01.21	positiv	74	positiv	106	positiv	67	positiv	5,3	positiv	61	negativ	<0,5	0,11	0,5	0,5	Senf
RS-F	8	05.01.	positiv	75,6	positiv	112	positiv	77,7	positiv	4,65	positiv	70,3	negativ	< 0,5	0,1	0,5		Senf
RS-F	10	14.01.21	positiv	50	positiv	65	positiv	50	positiv	5	positiv	50	negativ	-	0,1	0,5		Senfmehl
RS-F	11	26.01.21	positiv	49	positiv	83,4	positiv	50,2	positiv	4,9	positiv	44,8	negativ	< 0,5	0,5			Senf
RS-F	14	01.12.20	positiv	74	positiv	78	positiv	65	positiv	4,8	positiv	46	negativ	<0,5	0,11	0,5		Senfmehl
SP	1	10.12.20	positiv	22,5	positiv	18,2	positiv	18	positiv	6,5	positiv	72,7	negativ	<2		2		Senf
SP	4	08.01.21	positiv	65,3	positiv	56,06	positiv	52,68	positiv	7,15	positiv	68,8	negativ	0	1	2		Senf
SP	5	29.12.20	positiv	17	positiv	25	positiv	24	positiv	5,9	positiv	97	negativ	<2	1	2		Senf
SP	9	15.01.21	positiv		positiv		-		positiv		positiv		negativ		2	1	0,3	Bitte auswählen!
VT	12	21.12.20	positiv	34,4	positiv	34,1	positiv	24,1	positiv	6,9	positiv	70,7	negativ	N/A	N/A	2,5	N/A	Senf

\* NWG Nachweisgrenze / BG Bestimmungsgrenze

\* LOD limit of detection / LOQ limit of quantitation

\* MU Messunsicherheit / MU measurement uncertainty

## Weitere Angaben zu den Methoden

Meth. Abk.	Auswertenummer	Methode	Spezifität	Gehalt Gesamt-Protein in Senf (Gemäß Methodenvorschrift)	Umrechnungsfaktoren für prozessierte Produkte (z.B.: Response gemäß Methodenvorschrift)	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Methode akkreditiert nach ISO/IEC 17025	Sonstige Hinweise
		Test-Kit + Anbieter	Antikörper	%	Umrechnung von X in Y (Faktor oder %)	z.B. Extraktionslösung / Zeit / Temperatur	ja/nein	
AQ	13	AgraQuant ELISA Mustard COKAL2148, RomerLabs					ja	Ergebnis bezieht sich auf gelbe Senfsaat; Kreuzreaktion zu schwarzem Senf 50%, zu braunem Senf 59%, zu Ackersenf 48% und zu Rapssaat 59%
RS-F	3	Ridascreen® FAST Mustard R6152, R-Biopharm	erkennen spezifisch verschiedene Senfarten (gelben, braunen, schwarzen Senf)			nach Testanleitung	ja	
RS-F	6	Ridascreen® FAST Mustard R6152, R-Biopharm					no	
RS-F	8	Ridascreen® FAST Mustard R6152, R-Biopharm				nach Herstelleranleitung	ja	
RS-F	10	Ridascreen® FAST Mustard R6152, R-Biopharm	gegen gelben, braunen, schwarzen Senf	31.27g/100g		nach Kit-Anleitung	ja	
RS-F	11	Ridascreen® FAST Mustard R6152, R-Biopharm		31.27			ja	Ergebniss auf Senfmehl bezogen
RS-F	14	Ridascreen® FAST Mustard R6152, R-Biopharm		31,27		AEP/10min/60°C	ja	
SP	1	SensiSpec ELISA Mustard, Eurofins					ja	
SP	4	SensiSpec ELISA Mustard, Eurofins						
SP	5	SensiSpec ELISA Mustard, Eurofins	erkennt Senfproteine	30-35		laut Herstellerangaben	ja	
SP	9	SensiSpec ELISA Mustard, Eurofins						
VT	12	Veratox Mustard, Neogen	unbekannt	0,26		nach Herstelleranleitung	ja/nein	

5.1.2 PCR-Methoden

Senf, allgemein

Meth. Abk.	Auswertenummer	Datum der Analyse	Ergebnis Probe 1		Ergebnis Probe 2		Ergebnis Probe 3		Ergebnis Probe 4		Ergebnis Probe 5		Ergebnis Probe 6		NWG / LOD *	BG / LOQ *	MU*	Angabe quantitativ Ergebnis als
			qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg				
																		bevorzugt als Sesam
ASU	5	06.01.21	positiv		positiv		negativ		positiv		positiv		negativ		5			Senf-DNA
SFA	3	09.12.20	positiv		positiv		positiv		positiv		positiv		negativ					Senf-DNA
SFA	7		positiv	8	positiv	43,5	positiv	1	positiv	78	positiv	241	negativ					Senf
SFA	8	08.01.	positiv	< 1	positiv	0,43	negativ	< 1	positiv	3,83	positiv	6,54	negativ	< 1	0,4	1		Senf
SFA	9	15.01.21	positiv		positiv		-		positiv		positiv		negativ		0,4			Bitte auswählen!
SFA	12	14.01.21	positiv	N/A	positiv	N/A	-	N/A	positiv	N/A	positiv	N/A	negativ	N/A	0,4	1	N/A	Senf
SFA	15	12.01.21	positiv	-	positiv	-	-	-	positiv	-	positiv	-	negativ	-	0,4			Bitte auswählen!

\* NWG Nachweisgrenze / BG Bestimmungsgrenze

\* LOD limit of detection / LOQ limit of quantitation

\* MU Messunsicherheit / MU measurement uncertainty

*Senf (Sinapis alba)*

Meth. Abk.	Auswertenummer	Datum der Analyse	Ergebnis Probe 1		Ergebnis Probe 2		Ergebnis Probe 3		Ergebnis Probe 4		Ergebnis Probe 5		Ergebnis Probe 6		NWG / LOD *	BG / LOQ *	MU*	Angabe quantitatifs Ergebnis als
			qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg				
			qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	bevorzugt als Sesam
ASU	2	21.12.20	positiv	<10	negativ		negativ		positiv	15	positiv	53	negativ		2	10	0,5	andere: Gelbsenf
ASU	5	06.01.21	negativ		negativ		negativ		positiv		positiv		negativ		20			DNA weißer Senf
ASU	13	11.01.21	positiv		negativ		negativ		positiv		positiv		negativ		5 µg			Senf-DNA
div	6	18.12.20	positiv		positiv		-		negativ		negativ		-		30			Senf
div	10		positiv	>5	negativ	<5	negativ	<5	positiv	65	positiv	65	negativ	<5	5	25		Senfmehl

\* NWG Nachweisgrenze / BG Bestimmungsgrenze

\* LOD limit of detection / LOQ limit of quantitation

\* MU Messunsicherheit / MU measurement uncertainty

*Senf (Brassica ssp.)*

Meth. Abk.	Auswertenummer	Datum der Analyse	Ergebnis Probe 1		Ergebnis Probe 2		Ergebnis Probe 3		Ergebnis Probe 4		Ergebnis Probe 5		Ergebnis Probe 6		NWG / LOD *	BG / LOQ *	MU*	Angabe quantitatifs Ergebnis als
			qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg				
			qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	qualitativ	mg/kg	mg/kg	mg/kg	mg/kg	bevorzugt als Sesam
ASU	2	21.12.20	positiv	<5	positiv	11	negativ		negativ		negativ		negativ		1	5	0,5	andere: Braunsenf/Schwarz senf
ASU	5	06.01.21	positiv		positiv		negativ		negativ		negativ		negativ		5			DNA brauner/schwarzer Senf
ASU	13	11.01.21	positiv		positiv		positiv		negativ		negativ		negativ		1 µg			Senf-DNA
div	6	18.12.20	positiv		negativ		-		positiv		positiv		-		5			Senf
div	10		positiv	>1	positiv	15	positiv	>1	negativ	<1	negativ	<1	negativ	<1	1	10		Senfmehl

\* NWG Nachweisgrenze / BG Bestimmungsgrenze

\* LOD limit of detection / LOQ limit of quantitation

\* MU Messunsicherheit / MU measurement uncertainty

Weitere Angaben zu den Methoden

Senf, allgemein

Meth. Abk.	Auswertenummer	Methode	Spezifität	Gehalt Gesamt-Protein in Senf (Gemäß Methodenvorschrift)	Umrechnungsfaktoren für prozessierte Produkte (z.B.: Response gemäß Methodenvorschrift)	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Methode akkreditiert nach ISO/IEC 17025	Sonstige Hinweise
		Test-Kit + Anbieter	Target-Sequenz / -DNA			z.B. Extraktion / Enzyme / Clean-Up / Real Time PCR / Gelelektrophorese / Cyclen	ja/nein	
ASU	5	ASU §64 Methode/method				CTAB / Proteinase K / RNase A / Promega Maxwell / Real-Time PCR / 45 Zyklen	ja	§ 64 LFGB L 08.00-65:2017-10
SFA	3	Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen	charakteristischer Sequenzabschnitt der Senf-DNA			SureFood Prep Advanced r-biopharm/ Proteinase K/ Real Time PCR/ 45 Zyklen	ja	
SFA	7	Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen				CTAB-Extraktion/ Nachreinigung über Säule (QIAquick) Real-Time PCR nach Vorschrift	ja	
SFA	8	Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen				DNA Isolierung mit SureFood PREP Advanced, Real Time PCR nach Herstelleranleitung	ja	Probe 1: ca 0,26mg/kg; Probe 2: > NWG und < BG; Probe 3: eindeutige Kurvenverläufe, nicht quantifizierbar, Befundangabe "in Spuren"; Probe 6: kein Hintergrundsignal
SFA	9	Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen						Probe 1 schwach positiv
SFA	12	Sure Food ALLERGEN, R-Biopharm / Congen				SureFood Prep Advanced Art nr S1053, Protokol 2	nein	
SFA	15	Sure Food Allergen ID, R-Biopharm / Congen					ja	

Senf (*Sinapis alba*)

Meth. Abk.	Auswertenummer	Methode	Spezifität	Gehalt Gesamt-Protein in Senf (Gemäß Methodenvorschrift)	Umrechnungsfaktoren für prozessierte Produkte (z.B.: Response gemäß Methodenvorschrift)	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Methode akkreditiert nach ISO/IEC 17025	Sonstige Hinweise
		Test-Kit + Anbieter	Target-Sequenz / -DNA			z.B. Extraktion / Enzyme / Clean-Up / Real Time PCR / Gelelektrophorese / Cyclen	ja/nein	
ASU	2	ASU §64 Methode/method	mRNA für das MADS-D-Protein von <i>Sinapis alba</i>	entfällt	entfällt	ASU L 08.00-65 (Multiplex PCR; halbquant. Screening); Quantifizierung nach ASU L08.00-59	ja	
ASU	5	ASU §64 Methode/method				CTAB / Proteinase K / RNase A / Promega Maxwell / Real-Time PCR / 45 Zyklen	ja	§ 64 LFGB L 08.00-65:2017-10
ASU	13	ASU §64 Methode/method				DNeasy mericon Food Kit (Qiagen)	ja	
div	6	in house method					ja	
div	10	Auswahl PCR-Methoden	MADS D			CTAB-Wizard	ja	

Senf (*Brassica ssp.*)

Meth. Abk.	Auswertenummer	Methode	Spezifität	Gehalt Gesamt-Protein in Senf (Gemäß Methodenvorschrift)	Umrechnungsfaktoren für prozessierte Produkte (z.B.: Response gemäß Methodenvorschrift)	Hinweise zur Methode (Extraktion und Bestimmung)	Methode akkreditiert nach ISO/IEC 17025	Sonstige Hinweise
		Test-Kit + Anbieter	Target-Sequenz / -DNA			z.B. Extraktion / Enzyme / Clean-Up / Real Time PCR / Gelelektrophorese / Cyclen	ja/nein	
ASU	2	ASU §64 Methode/method	Braun- bzw. Schwarzsenf: reverse Transkriptase aus dem Gypsy-like Retroelement 13G42-26	entfällt	entfällt	ASU L 08.00-65 (Multiplex PCR; halbquant. Screening); Quantifizierung nach ASU L08.00-64	ja	Methode erfasst nur Brausenf und Schwarzsenf
ASU	5	ASU §64 Methode/method				CTAB / Proteinase K / RNase A / Promega Maxwell / Real-Time PCR / 45 Zyklen	ja	§ 64 LFGB L 08.00-65:2017-10
ASU	13	ASU §64 Methode/method				DNeasy mericon Food Kit (Qiagen)	ja	
div	6	in house method					yes	
div	10	Auswahl PCR-Methoden	gypsy-like Retroelement 13G42-26			CTAB-Wizard	ja	



## 5.2 Homogenität

### 5.2.1 Mischungshomogenität vor der Abfüllung

#### Microtracer Homogenitätstest

##### DLA ptALR1 Probe 1

Gewicht Gesamtprobe	1,00	kg
Microtracer	FSS-rot lake	
Teilchengröße	75 – 300	µm
Gewicht pro Partikel	2,0	µg
Tracerzugabe	33,4	mg/kg

#### Analysenergebnisse:

Probe	Einwaage [g]	Partikel Anzahl	Partikel [mg/kg]
1	5,00	75	30,0
2	5,00	75	30,0
3	4,97	74	29,8
4	5,01	70	27,9
5	5,03	75	29,8
6	5,02	77	30,7
7	4,98	66	26,5
8	5,03	79	31,4

Poisson-Verteilung		
Probenanzahl	8	
Freiheitsgrad	7	
Mittelwert	73,9	Partikel
Standardabweichung	3,91	Partikel
$\chi^2$ (CHI-Quadrat)	1,45	
<b>Wahrscheinlichkeit</b>	<b>98</b>	%
Wiederfindungsrate	88	%

Normalverteilung		
Probenanzahl	8	
Mittelwert	29,5	mg/kg
Standardabweichung	1,56	mg/kg
rel. Standardabweichung	5,30	%
Horwitz Standardabweichung	9,61	%
<b>HorRat-Wert</b>	<b>0,55</b>	
Wiederfindungsrate	88	%

#### Microtracer Homogenitätstest

##### DLA ptALR1 Probe 2

Gewicht Gesamtprobe	1,00	kg
Microtracer	FSS-rot lake	
Teilchengröße	75 – 300	µm
Gewicht pro Partikel	2,0	µg
Tracerzugabe	33,6	mg/kg

#### Analysenergebnisse:

Probe	Einwaage [g]	Partikel Anzahl	Partikel [mg/kg]
1	4,98	77	30,9
2	5,01	80	31,9
3	5,00	68	27,2
4	5,01	76	30,3
5	5,02	84	33,5
6	5,03	69	27,4
7	4,99	72	28,9
8	5,01	87	34,7

Poisson-Verteilung		
Probenanzahl	8	
Freiheitsgrad	7	
Mittelwert	76,6	Partikel
Standardabweichung	6,81	Partikel
$\chi^2$ (CHI-Quadrat)	4,24	
<b>Wahrscheinlichkeit</b>	<b>75</b>	%
Wiederfindungsrate	91	%

Normalverteilung		
Probenanzahl	8	
Mittelwert	30,6	mg/kg
Standardabweichung	2,72	mg/kg
rel. Standardabweichung	8,89	%
Horwitz Standardabweichung	9,56	%
<b>HorRat-Wert</b>	<b>0,93</b>	
Wiederfindungsrate	91	%

**Microtracer Homogenitätstest**

**DLA ptALR1 Probe 3**

Gewicht Gesamtprobe	1,00	kg
Microtracer	FSS-rot lake	
Teilchengröße	75 – 300	µm
Gewicht pro Partikel	2,0	µg
Tracerzugabe	22,4	mg/kg

**Analysenergebnisse:**

Probe	Einwaage [g]	Partikel Anzahl	Partikel [mg/kg]
1	4,99	39	15,6
2	5,02	46	18,3
3	4,98	39	15,7
4	5,02	52	20,7
5	5,01	42	16,8
6	4,98	50	20,1
7	5,01	49	19,6
8	5,01	44	17,6

<b>Poisson-Verteilung</b>			
Probenanzahl	8		
Freiheitsgrad	7		
Mittelwert	45,1	Partikel	
Standardabweichung	4,91	Partikel	
$\chi^2$ (CHI-Quadrat)	3,75		
<b>Wahrscheinlichkeit</b>	<b>81</b>	%	
Wiederfindungsrate	81	%	

<b>Normalverteilung</b>			
Probenanzahl	8		
Mittelwert	18,0	mg/kg	
Standardabweichung	1,96	mg/kg	
rel. Standardabweichung	10,9	%	
Horwitz Standardabweichung	10,4	%	
<b>HorRat-Wert</b>	<b>1,1</b>		
Wiederfindungsrate	81	%	

**Microtracer Homogenitätstest**

**DLA ptALR1 Probe 4**

Gewicht Gesamtprobe	1,00	kg
Microtracer	FSS-rot lake	
Teilchengröße	75 – 300	µm
Gewicht pro Partikel	2,0	µg
Tracerzugabe	30,6	mg/kg

**Analysenergebnisse:**

Probe	Einwaage [g]	Partikel Anzahl	Partikel [mg/kg]
1	5,00	73	29,2
2	4,99	62	24,8
3	4,98	71	28,5
4	5,02	76	30,3
5	5,00	72	28,8
6	5,00	64	25,6
7	4,98	68	27,3
8	4,98	68	27,3

<b>Poisson-Verteilung</b>			
Probenanzahl	8		
Freiheitsgrad	7		
Mittelwert	69,2	Partikel	
Standardabweichung	4,59	Partikel	
$\chi^2$ (CHI-Quadrat)	2,13		
<b>Wahrscheinlichkeit</b>	<b>95</b>	%	
Wiederfindungsrate	91	%	

<b>Normalverteilung</b>			
Probenanzahl	8		
Mittelwert	27,7	mg/kg	
Standardabweichung	1,84	mg/kg	
rel. Standardabweichung	6,62	%	
Horwitz Standardabweichung	9,70	%	
<b>HorRat-Wert</b>	<b>0,68</b>		
Wiederfindungsrate	91	%	

**Microtracer Homogenitätstest**

**DLA ptALR1 Probe 5**

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

**Analysenergebnisse:**

Probe	Einwaage [g]	Partikel Anzahl	Partikel [mg/kg]
1	4,99	54	21,6
2	5,03	52	20,7
3	5,02	55	21,9
4	5,01	70	27,9
5	5,00	55	22,0
6	5,02	58	23,1
7	4,99	57	22,8
8	5,00	56	22,4

<b>Poisson-Verteilung</b>		
Probenanzahl	8	
Freiheitsgrad	7	
Mittelwert	57,1	Partikel
Standardabweichung	5,52	Partikel
$\chi^2$ (CHI-Quadrat)	3,73	
<b>Wahrscheinlichkeit</b>	<b>81</b>	%
Wiederfindungsrate	103	%

<b>Normalverteilung</b>		
Probenanzahl	8	
Mittelwert	22,8	mg/kg
Standardabweichung	2,20	mg/kg
rel. Standardabweichung	9,66	%
Horwitz Standardabweichung	10,0	%
<b>HorRat-Wert</b>	<b>0,97</b>	
Wiederfindungsrate	103	%

### 5.3 Informationen zur Eignungsprüfung (EP)

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

EP-Nummer	<b>DLA ptALR1 (2020)</b>
EP-Name	<b>Response PT Senf: Prozessierte Proben Senfmehl (<i>Sinapis alba</i>), Tafelsenf (<i>Sinapis alba</i>), Dijon-Senf (<i>Brassica spp</i>), vegetarischer Brotaufstrich (erhitzt) und Gewürz-Cracker (gebacken) in Kartoffelpulver-Matrix (Gehalte: 25 - 150 mg/kg)</b>
Probenmatrix*	<b>Proben 1-6:</b> Zutaten: Kartoffelpulver (ca. 75%), Maltodextrin (ca. 25%) sowie weitere Zusatzstoffe und Allergene Lebensmittel (nur in Proben 1-5)
Probenzahl und Probenmenge	5 unterschiedliche Proben je 20 g + 1 „Null-Probe“ 20 g
Lagerungsinformation	Proben 1-6: Raumtemperatur (Langzeit gekühlt 2 - 10 °C)
Verwendungszweck	Ausschließlich für Laboruntersuchungen (Qualitätskontrollproben)
Parameter	qualitativ + quantitativ: Senf / Senfprotein / DNA aus Senf von <b><i>Sinapis alba</i> und/oder <i>Brassica spp.</i></b> Proben 1-5: ca. 25 - 150 mg/kg (als Gesamt-Senf)
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 Analyseneinwaagen, eine repräsentative Probenmenge entsprechend guter Laborpraxis zu homogenisieren. Am besten wird jeweils die gesamte Probenmenge homogenisiert.
Ergebnisangabe	Es werden für jede Probe 1 - 6 je ein Ergebnis ermittelt. Die Einzelergebnisse sind in die Ergebnisabgabe-Datei einzutragen, bei Mehrfachbestimmungen der Mittelwert.
Einheiten	mg/kg
Anzahl von signifikanten Stellen	mindestens 2 signifikante Stellen
Ergebnisabgabe	Die Ergebnisabgabe-Datei wird per eMail übermittelt an: <b>pt@dla-lvu.de</b>
Letzter Abgabetermin	<b>Spätestens <u>05. Februar 2021</u></b>
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
		SCHWEIZ
		Deutschland
		Deutschland
		USA
		CANADA
		Deutschland
		Deutschland
		Deutschland
		Deutschland
		ITALIEN
		BRASILIEN
		GROSSBRITANNIEN
		FINLAND
		Deutschland
		Deutschland

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

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

## 7. Verzeichnis relevanter Literatur

1. DIN EN ISO/IEC 17025:2005; Allgemeine Anforderungen an die Kompetenz von Prüf- und Kalibrierlaboratorien / General requirements for the competence of testing and calibration laboratories
2. DIN EN ISO/IEC 17043:2010; Konformitätsbewertung – Allgemeine Anforderungen an Eignungsprüfungen / Conformity assessment – General requirements for proficiency testing
3. ISO 13528:2015 & DIN ISO 13528:2009; Statistische Verfahren für Eignungsprüfungen durch Ringversuche / Statistical methods for use in proficiency testing by inter-laboratory comparisons
4. ASU §64 LFGB: Planung und statistische Auswertung von Ringversuchen zur Methodenvalidierung / DIN ISO 5725 series part 1, 2 and 6 Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results
5. Verordnung / Regulation 882/2004/EU; Verordnung über über amtliche Kontrollen zur Überprüfung der Einhaltung des Lebensmittel- und Futtermittelrechts sowie der Bestimmungen über Tiergesundheit und Tierschutz / Regulation on official controls performed to ensure the verification of compliance with feed and food law, animal health and animal welfare rules
6. Evaluation of analytical methods used for regulation of food and drugs; W. Horwitz; Analytical Chemistry, 54, 67-76 (1982)
7. The International Harmonised Protocol for the Proficiency Testing of Analytical Laboratories ; J.AOAC Int., 76(4), 926 – 940 (1993)
8. A Horwitz-like funktion describes precision in proficiency test; M. Thompson, P.J. Lowthian; Analyst, 120, 271-272 (1995)
9. Protocol for the design, conduct and interpretation of method performance studies; W. Horwitz; Pure & Applied Chemistry, 67, 331-343 (1995)
10. Recent trends in inter-laboratory precision at ppb and sub-ppb concentrations in relation to fitness for purpose criteria in proficiency testing; M. Thompson; Analyst, 125, 385-386 (2000)
11. The International Harmonised Protocol for the Proficiency Testing of Analytical Chemistry Laboratories; Pure Appl Chem, 78, 145 – 196 (2006)
12. AMC Kernel Density – Representing data distributions with kernel density estimates, amc technical brief, Editor M Thompson, Analytical Methods Committee, AMCTB No 4, Revised March 2006 and Excel Add-in Kernel.xla 1.0e by Royal Society of Chemistry
13. EURACHEM/CITAC Leitfaden, Ermittlung der Messunsicherheit bei analytischen Messungen (2003); Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement (1999)
14. GMP+ Feed Certification scheme, Module: Feed Safety Assurance, chapter 5.7 Checking procedure for the process accuracy of compound feed with micro tracers in GMP+ BA2 Control of residues, Version: 1st of January 2015 GMP+ International B.V.
15. MTSE SOP No. 010.01 (2014): Quantitative measurement of mixing uniformity and carry-over in powder mixtures with the rotary detector technique, MTSE Micro Tracers Services Europe GmbH
16. Homogeneity and stability of reference materials; Linsinger et al.; Accred Qual Assur, 6, 20-25 (2001)
17. AOAC Official Methods of Analysis: Guidelines for Standard Method Performance Requirements, Appendix F, p. 2, AOAC Int (2016)
18. Codex Alimentarius Commission (2010) – Guidelines on performance criteria and validation of methods for detection, identification and quantification of specific DNA sequences and specific proteins in foods, CAC/GL 74-2010
19. DIN EN ISO 15633-1:2009; Nachweis von Lebensmittelallergenen mit immunologischen Verfahren – Teil 1: Allgemeine Betrachtungen / Foodstuffs – Detection of food allergens by immunological methods – Part 1: General considerations
20. DIN EN ISO 15634-1:2009; Nachweis von Lebensmittelallergenen mit molekularbiologischen Verfahren – Teil 1: Allgemeine Betrachtungen / Foodstuffs – Detection of food allergens by molecular biological methods – Part 1: General considerations
21. DIN EN ISO 15842:2010 Lebensmittel – Nachweis von Lebensmittelallergenen – Allgemeine Betrachtungen und Validierung von Verfahren / Foodstuffs – Detection of food allergens – General considerations and validation of methods
22. Ministry of Health and Welfare, JSM, Japan 2006
23. Working Group Food Allergens, Abbott et al., Validation Procedures for

- Quantitative Food Allergen ELISA Methods: Community Guidance and Best Practices  
JAOAC Int. 93:442-50 (2010)
24. Working Group on Prolamin Analysis and Toxicity (WGPAT): Méndez et al. Report of a collaborative trial to investigate the performance of the R5 enzyme linked immunoassay to determine gliadin in gluten-free food. Eur J Gastroenterol Hepatol. 17:1053-63 (2005)
  25. DLA Publikation: Performance of ELISA and PCR methods for the determination of allergens in food: an evaluation of six years of proficiency testing for soy (Glycine max L.) and wheat gluten (Triticum aestivum L.); Scharf et al.; J Agric Food Chem. 61(43):10261-72 (2013)
  26. EFSA (2014) Scientific Opinion on the evaluation of allergenic foods and food ingredients for labelling purposes<sup>1</sup>, EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA), European Food Safety Authority (EFSA), Parma, Italy, EFSA Journal 2014;12(11):3894
  27. IRMM, Poms et al.; Inter-laboratory validation study of five different commercial ELISA test kits for determination of peanut residues in cookie and dark chocolate; European Commission, Joint Research Centre, Belgium; GE/R/FSQ/D08/05/2004
  28. Jayasena et al. (2015) Comparison of six commercial ELISA kits for their specificity and sensitivity in detecting different major peanut allergens. J Agric Food Chem. 2015 Feb 18;63(6):1849-55
  29. ASU §64 LFGB L 06.00-56 Bestimmung von Sojaprotein in Fleisch und Fleischerzeugnissen Enzymimmunologisches Verfahren (2007) [Determination of soyprotein in meat and meat products by enzyme immunoassay]
  30. ASU §64 LFGB L 00.00-69 Bestimmung von Erdnuss-Kontaminationen in Lebensmitteln mittels ELISA im Mikrotiterplattensystem (2003) [Foodstuffs, determination of peanut contaminations in foodstuffs by ELISA in microtiterplates]
  31. ASU §64 LFGB L 44.00-7 Bestimmung von Haselnuss-Kontaminationen in Schokolade und Schokoladenwaren mittels ELISA im Mikrotiterplattensystem (2006) [Foodstuffs, determination of hazelnut contaminations in chocolate and chocolate products by ELISA in microtiterplates]
  32. ASU §64 LFGB L 18.00-19 Untersuchung von Lebensmitteln - Nachweis und Bestimmung von Sesam (Sesamum indicum) in Reis- und Weizenkeksen sowie in Soßenpulver mittels real-time PCR (2014) [Foodstuffs, detection and determination of sesame (Sesamum indicum) in rice and wheat cookies and sauce powders by PCR]
  33. ASU §64 LFGB L 18.00-22 Untersuchung von Lebensmitteln - Simultaner Nachweis und Bestimmung von Lupine, Mandel, Paranuss und Sesam in Reis- und Weizenkeksen sowie Soßenpulver mittels real-time PCR (2014) [Foodstuffs, simultaneous detection and determination of lupin, almond, brazil nut and sesame in rice and wheat cookies and sauce powders by PCR]
  34. ASU §64 LFGB L 08.00-59 Untersuchung von Lebensmitteln - Nachweis und Bestimmung von Senf (Sinapis alba) sowie Soja (Glycine max) in Brühwürsten mittels real-time PCR (2013) [Foodstuffs, detection and determination of mustard (Sinapis alba) and soya (Glycine max) in boiled sausages by real-time PCR]
  35. ASU §64 LFGB L 08.00-64 Untersuchung von Lebensmitteln - Nachweis und Bestimmung von von schwarzem Senf (Brassica nigra L.) und braunem Senf (Brassica juncea L.) in Brühwurst mittels real-time PCR (2016) [Foodstuffs, detection and determination of black mustard (Brassica nigra L.) and brown mustard (Brassica juncea L.) in boiled sausages by real-time PCR]
  36. ASU §64 LFGB L 08.00-65 Untersuchung von Lebensmitteln - Simultaner Nachweis und Bestimmung von schwarzem Senf (Brassica nigra L.), braunem Senf (Brassica juncea L.), weißem Senf (Sinapis alba), Sellerie (Apium graveolens) und Soja (Glycine max) in Brühwurst mittels real-time PCR (2017) [Foodstuffs, simultaneous detection and determination of black mustard (Brassica nigra L.), brown mustard (Brassica juncea L.), white mustard (Sinapis alba), celery (Apium graveolens) and soya (Glycine max) in boiled sausages by real-time PCR]

**DLA ptALR1 (2020) - Response PT Senf**

15 Teilnehmer haben Ergebnisse eingereicht. Es wurden 6 LVU-Proben für den qualitativen Nachweis und die quantitative Bestimmung von Senf in Senfmehl (*Sinapis alba*), Tafelsenf (u.a. mit *Sinapis alba*), Dijon-Senf (*Brassica spp*), vegetarischem Brotaufstrich (erhitzt) und Gewürz-Cracker (gebacken) in einer Trägermatrix sowie eine „Null“-Probe zur Verfügung gestellt. Die Teilnehmer-Ergebnisse wurden *qualitativ* mit einem Score von 1-5 bewertet, der angibt wie viele prozessierte Produkte erfolgreich erfasst wurden. Die quantitativen Ergebnisse wurden mit einem Wiederfindungs-Score (*WFR-Score*) bewertet, der angibt wie viele Ergebnisse im Bereich einer Wiederfindungsrate von 50 - 150% des Dotierungs-Levels liegen. Die Auswertung erfolgte getrennt nach ELISA- und PCR-Methoden. Details sind dem Auswertebereich zu entnehmen.

4 Teilnehmer hatten ihren Sitz im Europäischen Ausland (Finnland, Italien, Großbritannien, Schweiz) sowie ein Teilnehmer in Kanada und ein Teilnehmer in den USA.