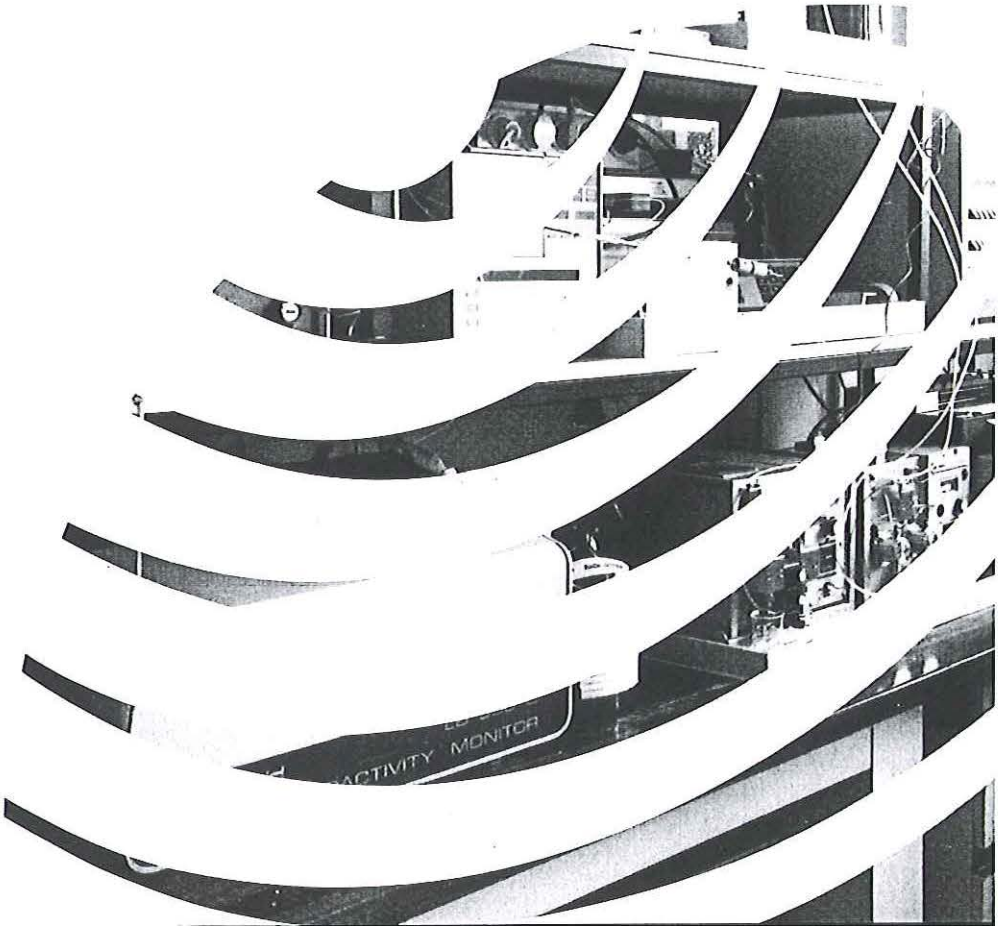
Dienst Landbouwkundig Onderzoek

Rijks-Kwaliteitsinstituut voor land- en tuinbouwprodukten

Ringtest bepaling prochloraz in champignonvoetjes met aanhangende dekaarde Tweede fase

W.A. Traag, T. Zuidema

rikilt-dlo



Rapport 96.17

Project 513.0000
Ontwerpen van (multi)residumethoden voor de opsporing en identificatie van milieucontaminanten
Projectleider: W.A. Traag

Rapport 96.17 februari 1996

Ringtest bepaling prochloraz in champignonvoetjes met aanhangende dekaarde Tweede fase

W.A. Traag, T. Zuidema

afdeling: Instrumentele Analyse

DLO-Rijks-Kwaliteitsinstituut voor land- en tuinbouwprodukten (RIKILT-DLO)
Bornsesteeg 45, 6708 PD Wageningen
Postbus 230, 6700 AE Wageningen
Telefoon 0317-475400
Telefax 0317-417717

Copyright 1996, DLO-Rijks-Kwaliteitsinstituut voor land- en tuinbouwprodukten (RIKILT-DLO)
Overname van de inhoud is toegestaan, mits met duidelijke bronvermelding.

VERZENDLIJST

INTERN:
directeur
auteur(s)
programmaleiders (2x)
in- en externe communicatie (2x)
bibliotheek (3x)

EXTERN:
Coöperatieve Nederlandse Champignonkwekersvereniging (dhr. J.A.E. Pijnenborg, ir. M. van Dongen, mw. ir. A.M.J. van den Steen)
Proefstation voor de Champignoncultuur (prof. dr. L.J.L.D. van Griensven, dr. F.P. Geels)
Schering-Aagrunol (ir. A. Schirring, ing. J. Scholtanus)
TAUW Infra Consult bv; milieulaboratorium (mw. ing. T. Postma, drs. A.S.M.J. Doveren)
Keuringsdienst van Waren Alkmaar (ir. A. de Kok, dhr. C. Vreeken)
Keuringsdienst van Waren Zutphen (dhr. S.J.M. Ottink)
Keuringsdienst van Waren Amsterdam (dr. H. van der Schee, mw. M. de Kroon)
TNO-Voeding (dhr. J.M. van der Poll, dhr. A. Kraai)
Alcontrol Milieulaboratorium (dhr. G. Franken)
Laurense Milieulaboratorium (dhr. J.Wilgers)
RIVM (dr. P. van Zoonen, dr. B. Baumann)
Dienst Landbouwkundig Onderzoek
Directie Milieu, Kwaliteit en Gezondheid (dr. W. Huiskamp)
Directie Wetenschap en Kennisoverdracht
Gemeente Maasdriel (dhr. N.J. Hooijmans)
Ingenieursbureau WK Milieuadviezen Drunen (ing. W. Kreté)
Provincie Gelderland Dienst Milieu en Water (dhr. F. Segers)

ABSTRACT

Ringtest bepaling prochloraz in champignonvoetjes met aanhangende dekaarde
Tweede fase

Collaborative study of methods of analysis for the determination of prochloraz in mushroom stems with adhering casing soil. Phase 2. (in Dutch)

Report 96.17 February 1996

W.A. Traag, T. Zuidema

State Institute for Quality Control of Agricultural Products (RIKILT-DLO)
P.O. Box 230, 6700 AE Wageningen, the Netherlands

6 tables, 6 references, 2 annexes

Methods used for residue analyses in waste products are not subject to legal regulations and directives, unlike residue analyses in foodstuffs. To obtain an accurate and reliable method for determining the residue level of the fungicide prochloraz, a collaborative study was organized among 10 laboratories operating in this field. The participants received identical samples of casing soil supplemented with varying amounts of prochloraz. The participants adjusted, when necessary, their current method as agreed upon during a workshop organised by RIKILT-DLO.
As a consequence the variation between laboratories in the second ringtest was reduced to only 20-25%.

Keywords: Collaborative study, Sporgon, prochloraz, residu, mushroom, casing soil

DANKWOORD

De auteurs bedanken dr. W.G. de Ruig voor de hulp bij de statistische interpretatie van de analyseresultaten

INHOUD

	blz
SAMENVATTING	5
1 INLEIDING	7
2 AANVULLEND ONDERZOEK	7
3 METHODE EN MATERIAAL	9
3.1 Materiaal	9
3.2 Methoden	9
4 RESULTATEN	10
5 STATISTISCHE VERWERKING	10
6 CONCLUSIES	15
7 AANBEVELINGEN	16
LITERATUUR	
Bijlage 1 Statistische verwerking monster B	
Bijlage 2 Statistische verwerking monster C	

SAMENVATTING

Door de Coöperatieve Nederlandse Champignonkwekersvereniging (CNC) werd een werkgroep geformeerd, die tot taak heeft betrouwbare methode(n) voor de bepaling van prochloraz, de werkzame stof tegen pathogene schimmels in het chemisch gewasbeschermingsmiddel Sporgon, te ontwikkelen en te vergelijken. Naast de CNC hebben het Proefstation voor de Champignoncultuur, TAUW Infra Consult, RIKILT-DLO en AgrEvo (de toelatingshouder van Sporgon) zitting in deze werkgroep.

In samenwerking met het Proefstation en RIKILT-DLO is door deze werkgroep een ringonderzoek (eerste fase) georganiseerd waarin een aantal representatieve praktijkmonsters champignonvoetjes werden onderzocht.
De door de deelnemende laboratoria gerapporteerde gehalten weken nogal sterk af (3).
Tijdens een workshop bij RIKILT-DLO zijn de gehanteerde methoden besproken waarbij een aantal van belang zijnde analytische parameters naar voren zijn gekomen. Na aanvullend onderzoek door RIKILT-DLO werd een tweede ringonderzoek georganiseerd. Aan dit onderzoek werd deelgenomen door tien laboratoria. Twee laboratoria konden binnen de gestelde termijn geen analyseresultaten leveren. De resultaten van de overige laboratoria lagen in dezelfde orde van grootte d.w.z de variatie in de resultaten tussen de verschillende laboratoria bedroeg 20-25%.
Uit de resultaten van de acht overgebleven laboratoria kan statistisch worden berekend dat het gemeten gehalte aan prochloraz in een monster met een werkelijk gehalte van 50 mg/kg, tussen 35,5 en 71 mg/kg ligt.

1 INLEIDING

In samenwerking met het Proefstation voor de Champignoncultuur heeft RIKILT-DLO een ringonderzoek naar het gehalte aan prochloraz (1,2) in een aantal monsters georganiseerd. Het doel van het onderzoek, in de eerste fase, was na te gaan welke laboratoria zowel nationaal als internationaal in staat zijn om met een juiste betrouwbaarheid het gehalte aan prochloraz in het afvalprodukt champignonvoetjes met aanhangende dekaarde, te kunnen onderzoeken.

De resultaten van het eerste onderzoek waren nogal teleurstellend (3). Van de acht deelnemende laboratoria waren er slechts drie in staat om het gehalte aan prochloraz in het aangeboden materiaal, met een voldoende juistheid en betrouwbaarheid (4), aan te tonen. De resultaten van de overige laboratoria weken een factor 10 tot 20 af van de theoretische waarde. Naar aanleiding van het uitgevoerde onderzoek is de door de laboratoria gehanteerde analytiek uitvoerig besproken tijdens een bijeenkomst op het RIKILT-DLO waarbij een aantal voorstellen tot verbetering van de diverse methoden zijn gedaan. Afgesproken werd dat er door RIKILT-DLO aanvullend onderzoek uitgevoerd zou worden en dat een tweede ringtest georganiseerd zou worden.
Voor het tweede ringonderzoek werd het te onderzoeken materiaal wederom door het Proefstation voor de Champignoncultuur bereid. De aldus bereide monsters zijn verzonden naar de deelnemende laboratoria. De monsters zijn door de deelnemende laboratoria binnen twee weken na ontvangst onderzocht, waarna de resultaten door RIKILT-DLO zijn geëvalueerd.

2 AANVULLEND ONDERZOEK

Uit eerder door RIKILT-DLO uitgevoerd onderzoek was gebleken dat het bevochtigen van gedroogd materiaal van essentieel belang is. Uit een aantal experimenten bleek dat wanneer het gedroogde materiaal in contact gebracht werd met een organisch oplosmiddel, het contact tussen de matrixdeeltjes en het extractiemiddel zeer beperkt was. Dit heeft uiteraard tot gevolg dat het extractierendement bijzonder laag is. Toevoeging van een voldoende hoeveelheid 0,2 N NH_4Cl (10 ml per 15 gram droog materiaal) gaf een duidelijk verbetering te zien.

Het aanvullend onderzoek richtte zich op twee analytische aspecten welke van groot belang zijn voor de betrouwbaarheid en efficiency van de gebruikte methoden. Het eerste aspect is de invloed van de matrix op de respons van de standaard. Veelal wordt het gemeten signaal versterkt door de aanwezige matrix, hetgeen kan resulteren in per definitie foute gehalten. Immers wanneer het gemeten signaal van de standaard in de matrix hoger is dan het gemeten signaal van dezelfde standaard, dan wordt, wanneer het gehalte in een positief monster berekend wordt ten opzichte van een standaard zonder aanwezigheid van matrix, een te hoog gehalte berekend. In fig 1 is de respons van verschillende concentraties aan prochloraz zowel met als zonder matrix uitgezet.

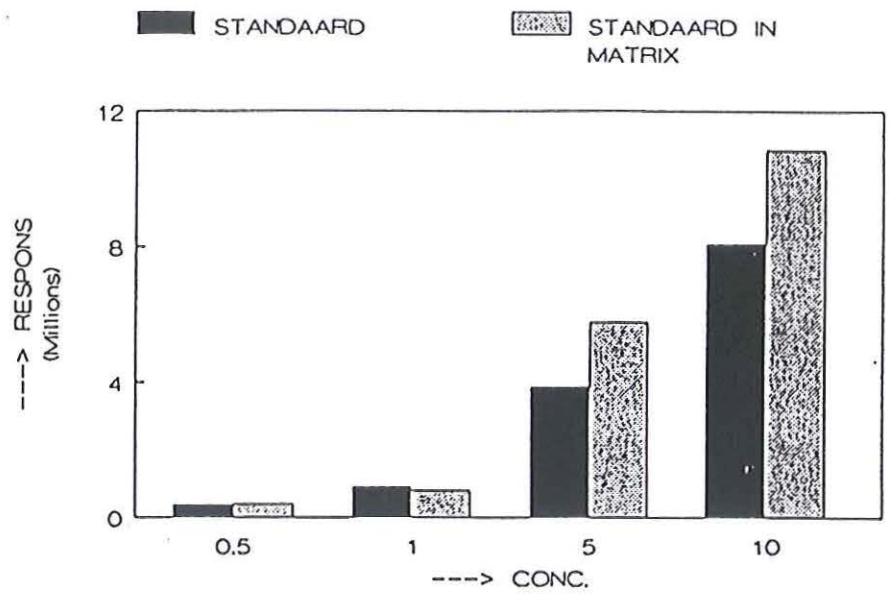


Fig 1: Invloed van de matrix op de hoogte van de massaspectrometrische respons van prochloraz.

Het blijkt dat, met name voor de hogere waarden, de respons in matrix 20 tot 30% hoger is, hetgeen kan resulteren in gehalten welke eveneens 20 tot 30% te hoog zijn.
Een ander belangrijk aspect is het gebruikte extractiemiddel en extractiemethode. Uit het eerste ringonderzoek is gebleken dat er nogal wat verschillende extractiemiddelen zijn gebruikt.
Aanvullend onderzoek is dan ook uitgevoerd om na te gaan of er verschil is tussen het extractierendement bij gebruik van verschillende organische oplosmiddelen. Het beste extractierendement werd verkregen bij gebruik van ethylacetaat als extractiemiddel of na een eerste extractie met aceton gevolgd door een vervolgextractie met een mengsel van dichloormethaan/petroleumether. In figuur 2 is de respons bij gebruik van ethylacetaat en bij gebruik van het mengsel aceton-dichloormethaan-petroleumether (1:1:1 v/v) gegeven.

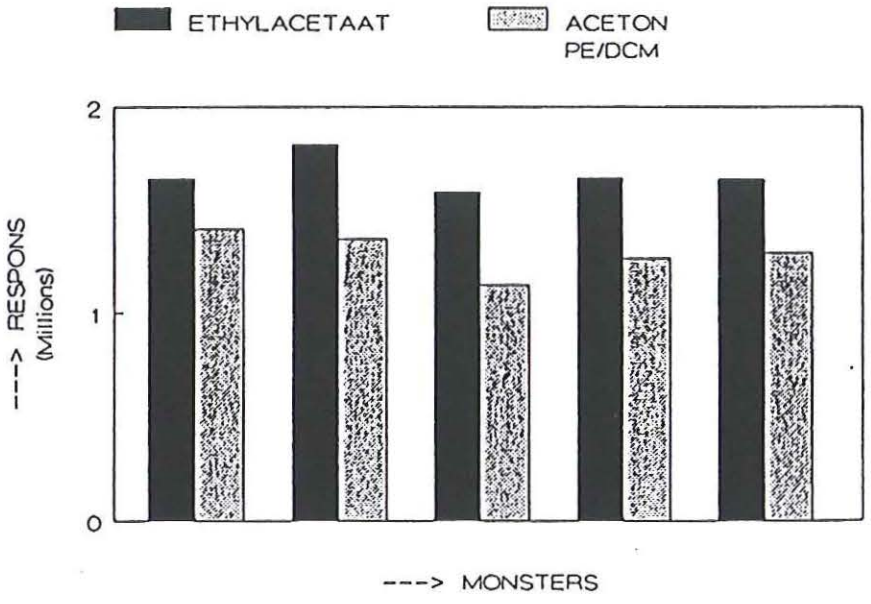


Fig 2: Invloed van het extractiemiddel op het rendement van prochloraz in dekaarde

3 MATERIAAL EN METHODEN

3.1 Materiaal

Door het Proefstation voor de Champignoncultuur zijn monsters bereid voor het ringonderzoek naar het gehalte aan prochloraz met verschillende analysemethoden. Op 42,5 kg natte dekaarde (droge stof circa 24%), overeenkomend met ongeveer 1 m^2 teeltoppervlak, is de standaarddosering Sporgon, namelijk 3,0 gram opgebracht.
Na drogen bij 50°C tot naar schatting 90% droge stof bedroeg de overblijvende hoeveelheid dekaarde circa 10,2 kg resulterend in een hoeveelheid prochloraz van (1380:10,2) **135,3 mg/kg**. Naast dit behandelde materiaal is onbehandeld champignonvoetjesmateriaal, afkomstig van handgeoogste champignons op het Proefstation voor de Champignoncultuur, eveneens gedroogd bij 50°C (code CVS).

Uit de hierboven beschreven materialen zijn de monsters voor de ringtest door RIKILT-DLO bereid.

Monster A:
Monster A bestaat uitsluitend uit onbehandeld materiaal. Het theoretische gehalte is derhalve **0** mg prochloraz per kg droog materiaal.

Monster B:
Aan 250 gram gedroogd onbehandeld materiaal (CVS) is 50 gram gedroogde behandelde dekaarde toegevoegd. Theoretisch bevat dit monster, wanneer er geen afbraak plaats vindt, **22,6** mg prochloraz per kg droog materiaal.

Monster C:
Aan 100 gram gedroogd onbehandeld materiaal (CVS) is 200 gram gedroogde behandelde dekaarde toegevoegd. Theoretisch bevat dit monster, wanneer er geen afbraak plaats vindt, **90,2** mg prochloraz per kg droog materiaal.

Van de aldus bereide monsters zijn door het RIKILT-DLO na homogeniseren submonsters gemaakt, verpakt en gecodeerd. Iedere deelnemer heeft van elk van de te onderzoeken monsters, deze submonsters ontvangen.

NB:Ten gevolge van het drogen bij 50°C gedurende maximaal 48 uur kan er een geringe afbraak van prochloraz plaats hebben.

3.2 Methoden

Door de deelnemende laboratoria zijn in principe dezelfde methoden gebruikt als bij de eerste fase (3) van de ringtest, echter nu met toevoeging van water of van 0,2 N NH_4Cl.

4 RESULTATEN

In tabel 1 zijn de resultaten van het onderzoek gegeven in mg/kg op produktbasis, zoals deze door de deelnemers werden gerapporteerd, uiteraard nadat de nummering met behulp van de vermelde code was aangepast. De resultaten van laboratoriumcode 208 werden weliswaar op tijd aangeleverd maar men gaf aan dat de bestede tijd te kort was geweest, waarna men besloot de data terug te trekken. Laboratorium code 210 kon niet op tijd data inleveren.
In tabel 2 zijn de percentages droge stof vermeld. Door laboratorium 201 en 202 is deze droge-stofbepaling niet uitgevoerd. Voor de omrekening van het gehalte van produkt naar het gehalte op droge-stofbasis (tabel 3) is dan ook het gemiddelde percentage droge stof, zoals door de overige laboratoria bepaald, gehanteerd.

Tabel 1: Gehalte aan prochloraz in mg/kg op produktbasis (2e fase)

	201	202	203	204	205	206	207	208	209
A1	<0.1	<0.1	<0.5	0.0	<2	<0.5	<0.1	*	<0.5
A2	<0.1	<0.1	<0.5	0.0	<2	<0.5	<0.1	*	<0.5
A3	<0.1	<0.1	<0.5	0.0	<2	<0.5	<0.1	*	<0.5
B1	20.8	15.0	18.9	27.1	16.2	14.8	17.4	*	17.2
B2	16.8	13.0	18.3	28.7	14.4	16.6	17.7	*	18.4
B3	18.7	15.8	20.3	28.2	15.8	15.4	17.4	*	15.9
C1	81.9	71.5	74.6	100.0	64.9	56.2	77.0	*	54.2
C2	80.3	69.3	76.6	97.1	63.5	58.2	78.0	*	49.8
C3	83.9	64.3	79.5	83.9	69.9	57.8	76.0	*	51.6

* : Resultaten teruggetrokken

Tabel 2: Droge stof gehalte (%)

	201	202	203	204	205	206	207	208	209
A1	n.b.	n.b.	95.0	95.4	n.b.	94.8	98.0	*	95.2
A2	n.b.	n.b.	95.1	95.7	n.b.	95.1	98.2	*	96.0
A3	n.b.	n.b.	95.3	95.6	n.b.	95.8	98.6	*	95.7
B1	n.b.	n.b.	95.0	95.2	97.0	94.4	98.0	*	95.5
B2	n.b.	n.b.	94.7	95.4	96.0	95.4	98.3	*	95.1
B3	n.b.	n.b.	94.9	95.3	96.0	95.0	98.0	*	94.4
C1	n.b.	n.b.	95.1	95.5	97.0	96.2	99.1	*	94.8
C2	n.b.	n.b.	95.0	95.4	96.0	96.4	98.9	*	94.7
C3	n.b.	n.b.	94.9	95.3	97.0	96.2	99.1	*	94.5

n.b.: niet bepaald
* : Resultaten teruggetrokken

Tabel 3: Gehalte aan prochloraz in mg/kg op droge stof basis (2e fase)

	201	202	203	204	205	206	207	208	209
A1	<0.1	<0.1	<0.5	<0.1	<2	<0.5	<0.1	*	<0.5
A2	<0.1	<0.1	<0.5	<0.1	<2	<0.5	<0.1	*	<0.5
A3	<0.1	<0.1	<0.5	<0.1	<2	<0.5	<0.1	*	<0.5
B1	21.7	15.7	19.9	28.5	16.7	15.7	17.8	*	18.0
B2	17.6	13.6	19.3	30.1	15.0	17.4	18.0	*	19.3
B3	19.5	16.5	21.4	29.6	16.5	16.2	17.8	*	16.8
C1	85.6	74.7	78.4	104.7	66.9	58.4	77.7	*	57.2
C2	83.9	72.4	80.6	101.8	66.1	60.4	78.9	*	52.6
C3	87.7	67.2	83.8	88.1	72.1	60.1	76.7	*	54.6

* : Resultaten teruggetrokken

5 STATISTISCHE VERWERKING

Eerst is per laboratorium het gemiddelde gehalte en de standaardafwijking berekend waarna de gehalten getoetst zijn met de Cochran toets en vervolgens met de Dixon toets (5)

De mate van spreiding in de meetresultaten van de laboratoria per niveau wordt getoetst op een 95%-betrouwbaarheidsinterval. De Cochran toets is een eenzijdige toets, die alleen de hoogste standaardafwijking in één level toetst op het al dan niet zijn van een outlier (uitbijter). Het toetscriterium wordt berekend m.b.v. de volgende formule:

$$C = \frac{w^2_{max}}{\sum_{l=1}^{p} s^2_l} \quad voor\ n=2$$

$$C = \frac{s^2_{max}}{\sum_{l=1}^{p} s^2_l} \quad voor\ n \geq 3$$

Hierin is:
C = toetscriterium
w = range (bij twee metingen)
s = standaardafwijking (bij meer dan twee metingen)
n = aantal metingen
p = aantal laboratoria

Om te bepalen of de verdachte standaardafwijking een outlier dan wel straggler (bijna uitbijter) is, wordt het toetscriterium getoetst aan de hand van kritische waarden (-5%- en 1 %-kritische waarde).

De volgende regels gelden.
C < 5% kritische waarde: item goedgekeurd
5% kritische waarde > C > 1% kritisch waarde: straggler, aangegeven met *
C < 1% kritische waarde: outlier, aangegeven met **

Wanneer de hoogste standaardafwijking geclassificeerd is als een outlier, dan kan de waarde verwijderd worden en kan de Cochran test opnieuw uitgevoerd worden op de overgebleven waarden.

Dit proces kan herhaald worden, maar het kan leiden tot overvloedig veel verwerpingen, daar niet altijd voldaan wordt aan de onderliggende aanname van een normaalverdeling.
De data moeten dan ook zorgvuldig bekeken worden om te beslissen welke outliers verworpen en

welke behouden moeten worden. Aan de andere kant, wanneer in elk level blijkt dat bij een bepaald laboratorium de spreiding te hoog is, kan dit aanleiding geven tot het in zijn geheel verwijderen van de data van dit laboratorium, omdat dan de binnen-laboratoriumvariantie te groot is.

Vervolgens wordt de Dixon test uitgevoerd. Het doel van de Dixon test is om per level de gemiddelde waarden te testen op uitbijters. De Dixon test is een tweezijdige toets, d.w.z. dat er gekeken wordt of de laagste dan wel de hoogste waarde een uitbijter is; ook hier wordt er weer getoetst op een 95%-betrouwbaarheidsinterval. Voor het uitvoeren van de Dixon test moet de data uit één level uit tabel C op rij worden gezet in toenemende orde van grootte: z(h) = 1,2, ...,H. Vervolgens moet m.b.v. de volgende formules het toetscriterium bepaald worden. Voor H = 3 tot 7 moet Q_{10} voor H = 8 tot 12 moet Q_{11} en voor H = 13 en meer moet Q_{22} bepaald worden:

Q_{10} = *de hoogste waarde van deze twee formules*: *a)* $\frac{z(2)-z(1)}{z(H)-z(1)}$ *b)* $\frac{z(H)-z(H-1)}{z(H)-z(1)}$

Q_{11} = *de hoogste waarde van deze twee formules*: *a)* $\frac{z(2)-z(1)}{z(H-1)-z(1)}$ *b)* $\frac{z(H)-z(H-1)}{z(H)-z(2)}$

Q_{22} = *de hoogste waarde van deze twee formules*: *a)* $\frac{z(3)-z(1)}{z(H-2)-z(1)}$ *b)* $\frac{z(H)-z(H-2)}{z(H)-z(3)}$

De toetscriteria worden net als bij de Cochran test getoetst aan de hand van kritische waarden 5% en 1% kritische waarden.
De volgende regels gelden:
Q < 5% kritische waarde: item goedgekeurd
5% kritische waarde > Q > 1% kritische waarde: straggler, aangeven met *
Q < 1% kritische waarde: outlier, aangeven met **

Wanneer beide toetsen zijn uitgevoerd en alle outliers en stragglers gemerkt zijn, kan er een afweging gemaakt worden welke data verwijderd en welke behouden zullen worden, hierbij rekening houdend met eventuele opmerkingen die door de laboratoria vermeld zijn.
Bij verwijdering van resultaten kunnen de testen opnieuw uitgevoerd worden.
De resultaten voor monster B zijn vermeld in bijlage 1 en voor monster C in bijlage 2.
Het gehalte gerapporteerd door laboratorium 204 werd voor monster C gekwalificeerd als een uitbijter. Ook het gehalte in monster B werd voor laboratorium 204 aan de hoge kant gerapporteerd. De statistische toets leerde dat er hier sprake is van een bijna uitbijter.

Naast bovengenoemde toetsen zijn de data ook nog op een andere manier bestudeerd. Hierbij is

uitgegaan van de vraag. Wat is de betrouwbaarheid van de meetresultaten? Er is bij de hieronder gevolgde statistische interpretatie uitgegaan van de volgende vooronderstellingen:

1 De deelnemende laboratoria zijn deskundig om de analyse goed uit te voeren. De variabiliteit binnen alle laboratoria is gelijk. Alle meetresultaten zijn even betrouwbaar.
Zowel tussen-lab- als binnen-lab-afwijkingen worden als toevallig beschouwd.

2 Het aanwezige prochloraz is homogeen verdeeld binnen de monsters.

3 De monsters zijn stabiel; er treedt geen afbraak van prochloraz op.

Een aantal statistische grootheden is berekend en vermeld in onderstaande tabel, namelijk:

S_r = herhaalheids-standaardafwijking onder herhaalbaarheidscondities (b.v. twee analyses onder gelijke omstandigheden binnen één laboratorium)

S_R = reproduceerbaarheids-standaardafwijking onder reproduceerbaarheidscondities (b.v. twee analyses onder verschillende omstandigheden door twee laboratoria)

r = herhaalbaarheidswaarde = $2{,}8 * S_r$

R = reproduceerbaarheidswaarde = $2{,}8 * S_R$

Tabel 4: Berekening van een een aantal statistische grootheden

Monster	Gemiddeld gehalte in mg/kg	S_r	R	VC_r	S_R	R	VC_R
B	19,1	1,2	3,4	6,3	4,6	12,9	24,1
C	74,6	3,9	11,0	5,2	14,6	40,5	19,4

Hieruit kunnen de volgende conclusies worden getrokken.

1) De variabiliteit tussen de laboratoria is veel groter dan die onder herhaalbaarheidscondities binnen de laboratoria: S_R is 3 tot 4 keer zo groot als S_r . Dat betekent dat twee duplowaarden binnen één laboratorium wel aardig kunnen kloppen, maar toch behoorlijk kunnen verschillen van twee, eveneens kloppende duplo's in een ander laboratorium. En er is geen reden, de ene duplo meer te vertrouwen dan de ander. De variabiliteit in duplometingen geeft dus een veel te rooskleurig beeld van de werkelijke onnauwkeurigheid.
2) De standaardafwijking, zowel S_R als S_r is voor het hoge niveau hoger dan voor het lage, en wel ongeveer evenredig aan het gehalte. Dat is ook te zien aan de variatiecoefficient die de standaardafwijking relateert aan het gehalte:

$$VC = (S/x) * 100\%$$

Dit is een verschijnsel dat, voor niet al te lage gehalten, vaak voorkomt bij resultaten van chemische analyses. In zo'n geval is het voor de statistische evaluatie handig een mathematische transformatie toe te passen, namelijk de berekening niet uit te voeren voor het gehalte, maar voor de natuurlijke logaritme (Ln) daarvan.

Als de variatiecoëfficiënt ongeveer constant is voor de gehalten, is de standaardafwijking ongeveer constant voor de Ln van de gehalten. We kunnen dan alle waarnemingsresultaten samen nemen en een nauwkeurige schatting maken van de standaardafwijking.

Toepassing van ISO 5725/1986 op de Ln-waarnemingen levert het onderstaande resultaat op.

Tabel 5: Berekening van een een aantal statistische grootheden op Ln-waarnemingen.

	ln (gemiddeld)	S_r	S_R
Laag	2,93	0,067	0,212
Hoog	4,30	0,047	0,193
Samen	---	0,057	0,2025

Met de waarde $S_R = 0,2025$ kunnen we nu uitrekenen wat de betrouwbaarheid van een meetresultaat is. Zoals we uit tabel 5 zien, is deze waarde bij benadering onafhankelijk van het gehalte (mits niet te laag; voor gehalten lager dan 20 mg/kg hebben we geen gegevens).

Stel het werkelijke gehalte is μ.
Bij analyse vinden we: γ. Hoe betrouwbaar is γ, en hoe groot is de waarschijnlijkheid dat μ groter is dan de toegestane tolerantie van 50 mg/kg. M.a.w. hoe groot is de kans dat het monster niet aan de eis voldoet en dus afgekeurd moet worden. Of, omgekeerd: hoe groot is de waarschijnlijkheid dat μ kleiner dan of gelijk is aan 50 mg/kg en het monster dus goedgekeurd moet worden.

Bij een gevonden gehalte y is er kans van 95 % dat het werkelijke gehalte μ boven γ - 1,645 σ ligt.
Dit is een formule, die geldt voor een `normale verdeling' van de meetresultaten.
We werken nu op een logaritmische schaal. Voor ons wordt dit:

$\ln(\mu) > \ln(\gamma) - 1,645 \cdot 0,2025$ ($\alpha = 0,05$)
$\ln(\mu) > \ln(\gamma) - 0,35$ of
$\mu > \gamma/e^{0,35}$
$\mu > \gamma/1,42$
$\mu > 0,71\gamma$

Dit is een éénzijdig betrouwbaarheidsinterval.

Omgekeerd geldt dezelfde berekening: bij een gevonden gehalte γ is er een kans van 95 % dat het werkelijke gehalte μ beneden $\gamma + 1,645$ ligt. Dus:

$\ln(\mu) \leq \ln(\gamma) + 1,645 \cdot 0,2025$ ($\alpha = 0,05$)
$\ln(\mu) \leq \ln(\gamma) + 0,35$ of
$\mu \leq 1,42\gamma$

Het maximaal toegestane gehalte volgens de normstelling is 50 mg/kg = μ_0.

Als het gemeten gehalte 0,71 . 50 = 35,5 mg/kg bedraagt, is er een kans van 95% dat het werkelijke gehalte μ *kleiner* is dan 50 mg/kg, m.a.w. dat het monster aan de eisen voldoet. Voor gemeten gehalten kleiner dan 35,5 mg/kg is de kans groter dan 95%, dat het monster aan de eis voldoet. Als het gemeten gehalte 1.42 . 50 = 71 mg/kg bedraagt, is er een kans van 95% dat het werkelijke gehalte μ *groter* is dan μ_0, m.a.w. dat het monster *niet* aan de eisen voldoet. Als het gevonden gehalte tussen de 35,5 en 71 mg/kg ligt, is niet met 95% zekerheid te zeggen of het monster al dan niet aan de eis voldoet.

Dit is een grote marge. Dit wordt veroorzaakt door het vrij geringe aantal waarnemingen, maar ook door de aanname dat er geen systematische afwijken zijn. De vraag is, of deze aanname terecht is. Een blik op de grafieken geeft de indruk, dat in ieder geval laboratorium 4 systematisch te hoog zit. Nemen we de uitslagen van dit laboratorium niet mee in de berekening, dan krijgen we het volgende beeld.

Tabel 6: Berekening van een een aantal statistische grootheden op Ln waarnemingen, resultaten van laboratorium 204 verworpen

	ln (gemiddeld)	S_r	S_R
Laag	2,86	0,071	0,115
Hoog	4,25	0,041	0,171
Samen	---	0,057	0,140

We zien dat S_r ongeveer gelijk is gebleven, maar dat S_R behoorlijk is gedaald. Een en ander overeenkomstig de verwachting. De berekening van de betrouwbaarheidsintervallen is nu als volgt.

$\ln(\mu) > \ln(\gamma) - 1{,}645 \cdot 0{,}140 \quad (\alpha = 0{,}05)$
$\ln(\mu) > \ln(\gamma) - 0{,}22$ of
$\mu > \gamma / e^{0{,}42}$
$\mu > \gamma / 1{,}25$
$\mu > 0{,}80\gamma$

$\ln(\mu) \leq \ln(\gamma) + 1{,}645 \cdot 0{,}140 \quad (\alpha = 0{,}05)$
$\ln(\mu) \leq \ln(\gamma) + 0{,}22$ of
$\mu \leq 1{,}25\gamma$

Als het gemeten gehalte $0{,}80\mu_0$ bedraagt, is er een kans van 95% dat het werkelijke gehalte μ *kleiner* is dan μ_0, m.a.w. dat het monster aan de eis voldoet.
Als het gemeten gehalte $1{,}25\mu_0$ bedraagt, is er een kans van 95% dat het werkelijke gehalte μ *groter* is dan μ_0, m.a.w. dat het monster *niet* aan de eis voldoet.
Als het gevonden gehalte tussen de $0{,}80\mu_0$ en $1{,}25\mu_0$ ligt, is er niet met 95% zekerheid te zeggen of het monster al dan niet aan de eis voldoet.

Het gebied rond de norm, waar we niet met zekerheid (van 95%) kunnen zeggen of het monster aan de eis voldoet, is kleiner geworden, maar nog steeds vrij groot.

6 CONCLUSIES

- Uit het aanvullende onderzoek naar de invloed van de matrix (champignonvoetjes met aanhangende dekaarde) op de respons van prochloraz blijkt dat, met name voor de hogere waarden, de repons in matrix 20 tot 30% hoger is, hetgeen kan resulteren in gehalten welke eveneens 20 tot 30% te hoog zijn.

- Het beste extractierendement werd verkregen bij gebruik van ethylacetaat als extractiemiddel of na een eerste extractie met aceton gevolgd door een vervolgextractie met een mengsel van dichloormethaan/petroleumether.

- Van de tien deelnemende laboratoria zijn acht laboratoria in staat om prochloraz met een redelijke nauwkeurigheid te meten, d.w.z de variatie bedraagt 20-25%.

- De resultaten van de acht laboratoria liggen in dit onderzoek redelijk dicht bijelkaar. Het aanpassen van de gebruikte methode door een aantal laboratoria is derhalve zinvol geweest.

- De variabiliteit tussen de laboratoria is groter dan die onder herhaalbaarheidscondities binnen de laboratoria: S_R is 3 tot 4 keer zo groot als S_r. De variabiliteit in duplometingen geeft een iets te rooskleurig beeld van de werkelijke onnauwkeurigheid.

- Wanneer aan de hand van de resultaten van de acht laboratoria een 95% betrouwbaarheidsinterval wordt berekend dan betekent dit dat het gemeten gehalte van een monster met een werkelijk gehalte van 50 mg/kg tussen 35,5 en 71 mg/kg ligt. Wanneer de resultaten van laboratorium 204 verworpen worden, dan ligt het betrouwbaarheidsinterval tussen 40 en 62,5 mg/kg.

7 AANBEVELINGEN

- Het verdient aanbeveling om te komen tot gestandaardiseerde methoden waarbij een aantal kritische stappen zoals bevochtigen van het te onderzoeken monster en het te gebruiken extractiemiddel van groot belang zijn.

- Alhoewel de resultaten van de bij deze ringtest betrokken laboratoria nu beter zijn dan bij de eerste fase, kan gesteld worden dat de analyse van prochloraz, gezien de structuur, moeilijk is.
- Voor de bewaking van de kwaliteit van de analyse is van belang dat de in dit veld opererende laboratoria een goed kwaliteitscontrolesysteem opzetten.

LITERATUUR

1. J.D. Manley, P.J.Snowdon. Method R 62, 2nd edition, FBC (1982)

2. Ministerie van WVC. Analytical methods for residues of pesticides, 5e edition 1988, part 3, p. 115

3. W.A. Traag en T. Zuidema. Ringtest bepaling prochloraz in champignonvoetjes met aanhangende dekaarde (eerste fase). RIKILT-rapport 94.27

4. H.J. van de Wiel, M.A.F.P. van Rooij, H. Janssens, Prestatiekenmerken voor meetmethoden, RIVM rappoort 219101004, 1994

5. ISO 5725 Precision of test methods-Determination of repeatablity and reproduciblity by inter-laboratory test. First edition

BIJLAGEN

BIJLAGE 1 STATISTISCHE VERWERKING MONSTER B

```
**********************************************************
*                                                        *
*                  NEN/ISO 5725 (1986)                   *
*  Interlaboratory Analysis - Uniform Level Experiment   *
*                                                        *
********************************** v. 2.09 1992-01-10 ***

     RIKILT

experiment: Ringtest prochloraz 2e fase          date: 94/10/26
sample    :                                      file: ring2.iso
```

Level: 1

Labnr	Results			Mean	St Dev	N
1	21.70	17.50	19.50	19.567	2.101	3
2	15.70	13.60	16.50	15.267	1.498	3
3	19.90	19.30	21.40	20.200	1.082	3
4	28.50	30.10	29.60	29.400	0.819	3
5	16.70	15.00	16.50	16.067	0.929	3
6	15.70	17.40	16.20	16.433	0.874	3
7	17.80	18.00	17.80	17.867	0.115	3
8	18.00	19.30	16.80	18.033	1.250	3

* : deleted value/lab

```
**********************************************************
*                                                        *
*                    NEN/ISO 5725 (1986)                 *
*   Interlaboratory Analysis - Uniform Level Experiment  *
*                                                        *
********************************** v. 2.09 1992-01-10 ***

       RIKILT

experiment: Ringtest prochloraz 2e fase          date: 94/10/26
sample    : b                                    file: ring2.iso
```

Results of repeatability / reproducibility calculations Level: 1

MEAN of the results of 8 labs: 19.104

REPEATABILITY	3.386	REPRODUCABILITY	12.875		
SD rep.	1.209	SD repr.	4.598	SD betw. labs.	4.436
CV rep.	6.330%	CV repr.	24.069%	CV betw. labs.	23.222%

Tests:	Tab. values: 5%	1%	Test value	Lab nr	Remarks
cochran	0.516	0.615	0.377	1	No outl.
dixon	0.608	0.717	0.162	2	No outl.
			0.690	4	Straggler

VERVOLG BIJLAGE 1 STATISTISCHE VERWERKING MONSTER B

```
**********************************************************
*                                                        *
*                  NEN/ISO 5725 (1986)                   *
*                                                        *
*  Interlaboratory Analysis - Uniform Level Experiment   *
*                                                        *
*                                                        *
********************************** v. 2.09 1992-01-10 ***

      RIKILT

experiment: Ringtest prochloraz 2e fase          date: 94/10/26
sample    : b                                    file: ring2.iso
```

Results of repeatability / reproducibility calculations Level: 1

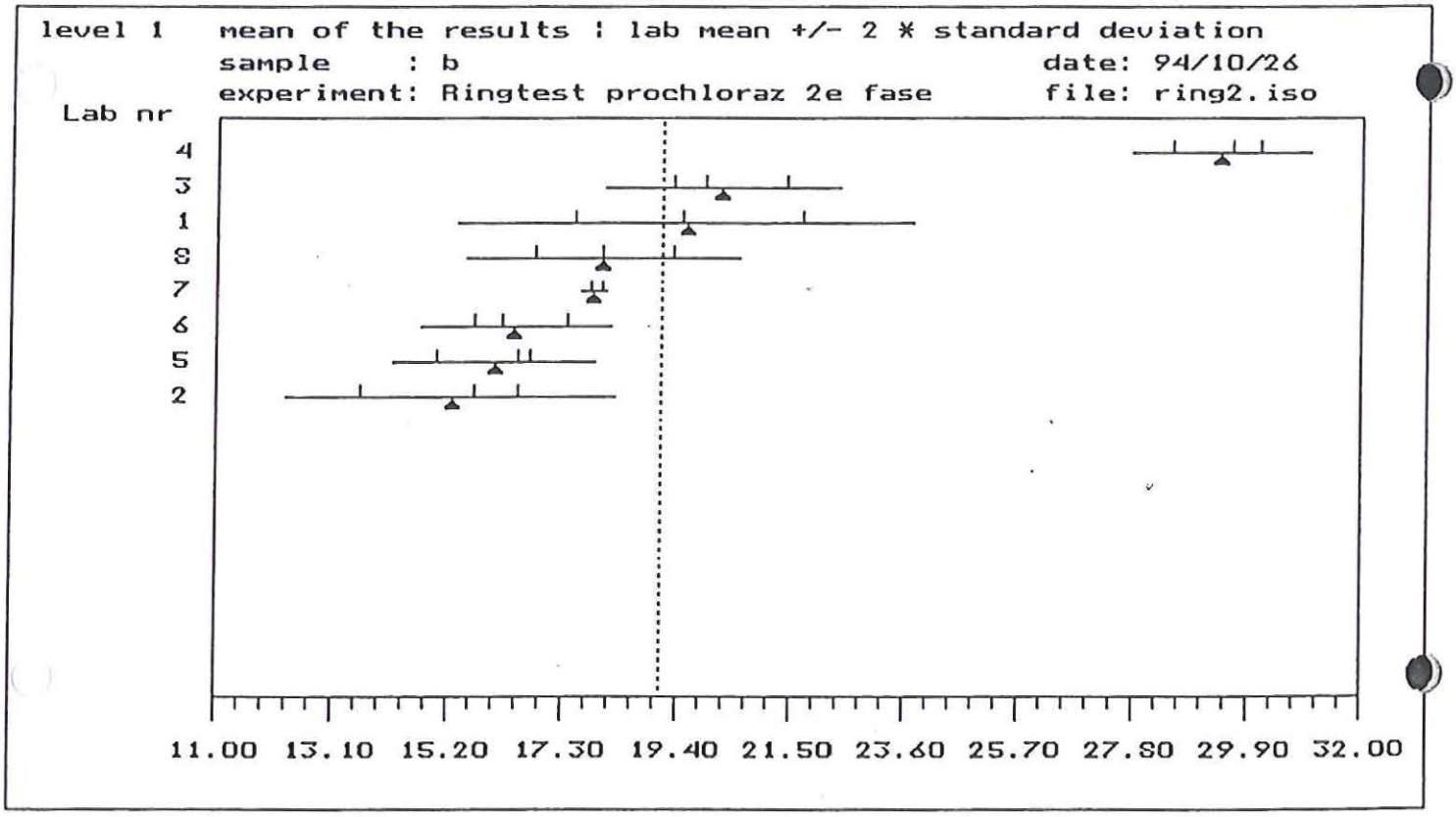
MEAN of the results of 8 labs: 19.104

REPEATABILITY	3.386	REPRODUCABILITY	12.875		
SD rep.	1.209	SD repr.	4.598	SD betw. labs.	4.436
CV rep.	6.330%	CV repr.	24.069%	CV betw. labs.	23.222%

tests:	Tab. values: 5%	1%	Test value	Lab nr	Remarks
cochran :	0.516	0.615	0.377	1	No outl.
single grubbstest:				4	Outlier

VERVOLG BIJLAGE 1 STATISTISCHE VERWERKING MONSTER B

RESULTAAT VAN HET MONSTER MET EEN THEORETISCH GEHALTE VAN 22,6 MG/KG



BIJLAGE 2 STATISTISCHE VERWERKING MONSTER C

```
**********************************************************
*                                                        *
*                    NEN/ISO 5725 (1986)                 *
*   Interlaboratory Analysis - Uniform Level Experiment  *
*                                                        *
********************************** v. 2.09 1992-01-10 ***

       RIKILT

experiment: Ringtest prochloraz 2e fase          date: 94/10/26
sample    :                                      file: ring2.iso
            C
```

Level: 2

Labnr	Results			Mean	St Dev	N
1	85.50	83.80	87.60	85.633	1.904	3
2	74.60	72.30	67.10	71.333	3.842	3
3	78.40	80.60	83.80	80.933	2.715	3
4	104.70	101.80	88.10	98.200	8.866	3
5	66.90	66.10	72.10	68.367	3.258	3
6	58.40	60.40	60.10	59.633	1.079	3
7	77.70	78.90	76.70	77.767	1.102	3
8	57.20	52.60	54.60	54.800	2.307	3

* : deleted value/lab

```
**************************************************************
*                                                            *
*                    NEN/ISO 5725 (1986)                     *
*   Interlaboratory Analysis - Uniform Level Experiment      *
*                                                            *
************************************ v. 2.09 1992-01-10 ***

       RIKILT

experiment: Ringtest prochloraz 2e fase          date: 94/10/26
sample    :                                      file: ring2.iso
            C


Results of repeatability / reproducibility calculations  Level: 2

MEAN of the results of 8 labs:  74.583

REPEATABILITY  10.965     REPRODUCABILITY  40.520
 SD rep.        3.916      SD repr.        14.471     SD betw. labs.  13.932
 CV rep.        5.250%     CV repr.        19.403%    CV betw. labs.  18.679%

Tests:     : Tab. values: 5%      1%       Test value     Lab nr      Remarks
-------------------------------------------------------------------------------
cochran    :              0.516   0.615      0.641           4       Outlier
double grubbstest:                                           4       No outl.
                  :                                          8       No outl.
-------------------------------------------------------------------------------
```

VERVOLG BIJLAGE 2 STATISTISCHE VERWERKING MONSTER C

RESULTAAT VAN HET MONSTER MET EEN THEORETISCH GEHALTE VAN 90,2 MG/KG

