



Homogeniteit als uitgangspunt voor monsternamestrategie

monsternamestrategie en partijen diervoedergrondstoffen
in relatie tot de heterogeniteit voor controle op
mycotoxines en dioxinen

B.J.A. Berendsen en J. de Jong

Rapport 2010.014



RIKILT

WAGENINGEN UR

Projectnummer: 71.860.01

BAS-code: WOT-02-438-IV-022

Projecttitel: Juridische eisen met betrekking tot analyse- en bemonsteringsmethoden gebruikt in het opsporingsonderzoek van diervoeders en diervoedergrondstoffen

Projectleider: J. de Jong

Rapport 2010.014

december 2010

Homogeniteit als uitgangspunt voor monsternamestrategie

monsternamestrategie van partijen diervoedergrondstoffen in relatie tot de heterogeniteit voor controle op mycotoxines en dioxinen

B.J.A. Berendsen en J. de Jong

RIKILT - Instituut voor Voedselveiligheid

Wageningen University & Research centre

Akkermaalsbos 2, 6708 WB Wageningen

Postbus 230, 6700 AE Wageningen

Tel 0317 480 256

Internet www.rikilt.wur.nl

Copyright 2010, RIKILT - Instituut voor Voedselveiligheid.

Het is de opdrachtgever toegestaan dit rapport integraal openbaar te maken en ter inzage te geven aan derden. Zonder voorafgaande schriftelijke toestemming van RIKILT - Instituut voor Voedselveiligheid is het niet toegestaan:

- a) *dit door RIKILT - Instituut voor Voedselveiligheid uitgebracht rapport gedeeltelijk te publiceren of op andere wijze gedeeltelijk openbaar te maken;*
- b) *dit door RIKILT - Instituut voor Voedselveiligheid uitgebracht rapport, c.q. de naam van het rapport of RIKILT - Instituut voor Voedselveiligheid, geheel of gedeeltelijk te doen gebruiken ten behoeve van het instellen van claims, voor het voeren van gerechtelijke procedures, voor reclame of antireclame en ten behoeve van werving in meer algemene zin;*
- c) *de naam van RIKILT - Instituut voor Voedselveiligheid te gebruiken in andere zin dan als auteur van dit rapport.*

Het onderzoek beschreven in dit rapport is gefinancierd door Ministerie van Economische Zaken, Landbouw en Innovatie en is uitgevoerd in het WOT-programma Voedselveiligheid, thema Diervoeders

Verzendlijst:

- Nieuwe Voedsel en Waren Autoriteit (nVWA) Den Haag (mr. drs. R.G. Herbes, dr. R.M.C. Theelen)
- Nieuwe Voedsel en Waren Autoriteit (nVWA) Amsterdam (drs. E. Olde Heuvel, drs. G.M. van der Horst, dr. H.A. van der Schee, M.W van Brakel, dr. M.C Spanjer, J. Hooglugt)
- Ministerie van Economische Zaken, Landbouw en Innovatie, directie Voedsel, Dier en Consument (drs. E.R. Deckers)
- Ministerie van Economische Zaken, Landbouw en Innovatie, directie Kennis en Innovatie (ing. G.J. Greutink)
- Ministerie van Economische Zaken, Landbouw en Innovatie, Algemene Inspectiedienst (ir. M.L.H. Pelk, ir. H.J. Hagen-Lenselink, F.W.J.T. Arts)
- Europese Commissie, DG SANCO (ir. F. Verstraete)

Bij de totstandkoming van dit rapport is de grootst mogelijke zorgvuldigheid betracht. Tenzij vooraf schriftelijk anders overeengekomen aanvaardt RIKILT - Instituut voor Voedselveiligheid geen aansprakelijkheid voor schadeclaims die worden uitgebracht n.a.v. de inhoud van dit rapport.

Samenvatting

Voor mycotoxines in met name intacte diervoedergrondstoffen is onderzoek beschreven naar de onzekerheid van de monsternameprocedure. De kans op een zeer heterogene verdeling van mycotoxines in partijen diervoedergrondstoffen is groot. Voor dioxinen zijn geen studies bekend.

De meetonzekerheid dient conform EU richtlijnen in ogenschouw genomen te worden bij het nemen van keuringsbeslissingen. Echter, de totale onzekerheid omvat de meetonzekerheid en de monsternameonzekerheid, bestaande uit een fout in het nemen van basismonsters en in de monsterbereiding. De basismonstername is veelal de grootste bron van onzekerheid. Het is dus belangrijk om naast de meetonzekerheid ook de monsternameonzekerheid in ogenschouw te nemen bij het maken van keuringsbeslissingen.

De onzekerheid van een analyseresultaat kan uitgedrukt worden als een betrouwbaarheidsinterval. Voor homogene partijen kan hiervoor een regulier betrouwbaarheidsinterval gebruikt worden, omdat contaminanten in homogene monsters normaal verdeeld zijn. Voor heterogene partijen is een scheef betrouwbaarheidsinterval meer geschikt voor het beschrijven van het analyseresultaat inclusief onzekerheid, omdat contaminanten in heterogene monsters een scheve verdeling volgen.

De mate van homogeniteit van een partij bepaalt met name de onzekerheid in de monstername. Of een partij als homogeen of heterogeen beschouwd moet worden hangt af van de fractie gecontamineerde delen in een partij. Partijen van intacte producten (granen, zaden, noten, etc.) en laag gecontamineerde partijen zijn veelal heterogeen verdeeld. Partijen van behandelde producten en hoog gecontamineerde partijen zijn veelal relatief homogeen verdeeld. Wanneer echter sprake is van een partij behandelde producten die bestaat uit diverse subpartijen met verschillende herkomst, dan is deze partij tevens heterogeen en dient als zodanig behandeld te worden.

Het nemen van meer en grotere basismonsters leidt voor heterogene partijen tot een kleinere monsternameonzekerheid. De invloed van het aantal en de grootte van het basismonster is beperkter voor homogene partijen. Voor het minimaal aantal te nemen basismonsters, verzamelmonsters en eindmonsters zijn heldere richtlijnen opgesteld, maar dit leidt nog niet tot een eenduidige aanpak. In bijlage 1 is een concrete aanbeveling opgenomen voor het aantal te nemen basis-, verzamel- en eindmonsters op basis van richtlijn EC/152/2009. Het effect van het nemen van meer en grotere basismonsters wordt teniet gedaan als het verzamelmonster niet goed wordt gehomogeniseerd. Daarom is het van groot belang dat verzamelmonsters goed worden gehomogeniseerd, bij voorkeur door mengen én malen.

De onzekerheid van een analyseresultaat van een partij kan geschat worden op basis van theoretische formules, bepaald worden aan de hand van een theoretisch model of empirisch bepaald worden. Geen van beide theoretische benaderingen leidt tot een goede schatting van de onzekerheid van elke afzonderlijke partij. Het volledig empirisch bepalen van de onzekerheid van elke partij door analyse van alle afzonderlijke basismonsters leidt tot goede resultaten, maar betekent dat veel analyses per partij uitgevoerd moeten worden en is daarmee zeer tijdrovend en kostbaar.

Er wordt aanbevolen per partij een betrouwbaarheidsinterval te bepalen op basis van resultaten van afzonderlijke eindmonsters. Deze benadering is toepasbaar bij een minimum van drie eindmonsters per partij; conform de richtlijn geldt dit voor mogelijk niet-homogene partijen van minimaal 10 ton. Na analyse van de eindmonsters wordt een betrouwbaarheidsinterval opgesteld op basis van de spreiding in de eindmonsters ($n \geq 3$). Deze benadering is voor heterogeen verdeelde partijen beschreven in bijlage 2 waarbij wordt uitgegaan van een scheef betrouwbaarheidsinterval.

Indien sprake is van een homogeen verdeelde partij of een mogelijk niet-homogeen verdeelde partij kleiner dan 10 ton, dan worden één of twee eindmonsters genomen op basis waarvan geen goede onzekerheid berekend kan worden. In dit geval kan ervoor gekozen worden de procedure beschreven in de vorige paragraaf te volgen, inhoudende dat de monsternameprocedure wordt aangepast resulterend in minimaal drie onafhankelijke eindmonsters. Daarnaast kan een worst case benadering toegepast worden. Hiervoor wordt de gangbare procedure gevolgd en bij de monstername van elk basismonster een deel apart opgeslagen. Na analyse van de eindmonsters wordt een betrouwbaarheidsinterval opgesteld op basis van een worst case onzekerheid. Indien het gemiddelde gehalte onder de maximale limiet ligt of als het betrouwbaarheidsinterval volledig boven de maximale limiet ligt, dan kan de partij afgehandeld worden. Indien het gemiddelde boven de maximale limiet ligt én maximale limiet binnen het betrouwbaarheidsinterval valt, dan dienen de apart gearchiveerde delen van de afzonderlijke basismonsters gehomogeniseerd te worden door malen en mengen. Deze afzonderlijke basismonsters dienen geanalyseerd te worden (met een maximum van een at random selectie van 20 stuks) om het betrouwbaarheidsinterval van de specifieke partij vast te stellen. Op basis van dit betrouwbaarheidsinterval wordt de definitieve keuringsbeslissing genomen. Deze benadering is analoog aan de besliswijze die geldt voor bemonstering en opsporing van genetisch gemodificeerde organismen. Deze benadering is voor heterogeen verdeelde partijen beschreven in bijlage 2, waarbij wordt uitgegaan van een scheef betrouwbaarheidsinterval. Voor homogene partijen is deze benadering beschreven in bijlage 3, waarbij wordt uitgegaan van betrouwbaarheidsintervallen op basis van een normale verdeling.

Inhoudsopgave

Samenvatting	3
Definities.....	7
1 Inleiding	9
2 Regelgeving monstername.....	12
3 Homogeniteit.....	14
3.1 Constitutionele en distributionele heterogeniteit	14
3.2 Kwantificering van homogeniteit	15
3.3 Verdeling van contaminanten heterogene partijen	16
3.3.1 Waargenomen verdeling.....	16
3.3.2 Scheve verdelingen.....	17
3.3.3 Modelling scheve verdelingen.....	18
3.4 Verdeling contaminanten in homogene partijen.....	19
4 Meet- en monsternameonzekerheid.....	21
4.1 Onzekerheid bij keuringsbeslissingen	21
4.2 Bronnen van onzekerheid	22
5 Homogeniteit versus monsternameonzekerheid.....	25
5.1 Basisonstername heterogene partijen	25
5.1.1 Relevante parameters	25
5.1.2 Het kwantificeren van de monsternameonzekerheid.....	27
5.1.2.1 Gy's Sampling Theory	27
5.1.2.2 Modelling	28
5.1.2.3 Empirische benadering	28
5.1.2.4 Vergelijking van theoretische en empirische benadering.....	29
5.2 Basisonstername homogene partijen	30
5.2.1 Relevante parameters	30
5.2.2 Het schatten van de monsternameonzekerheid.....	31
5.2.2.1 Gy's Sampling Theory	31
5.2.2.2 Modelling	31
5.2.2.3 Empirische benadering	32
5.3 Monstersselectie.....	33
5.4 Monsterbereiding.....	33
5.4.1 Heterogene partijen	33
5.4.2 Homogene partijen	34
6 Conclusies en aanbevelingen	35
7 Referenties	37

Annex I	Aanbeveling monsternameprocedure	40
Annex II	Aanbeveling keuring heterogene partijen	41
Annex III	Aanbeveling keuring homogene partijen	44

Definities

Basismonster

Een hoeveelheid die op een bepaald punt uit de partij is genomen, ook wel ondermonster genoemd.

Basismonstername

Het nemen van de basismonsters

Behandelde producten

Producten in partijen niet bestaande uit intacte eenheden, zoals schroten, schilfers en gemalen monsters.

Monsternameonzekerheid

Fout in het analyseresultaat veroorzaakt door de monstername.

Constitutionele heterogeniteit

Heterogeniteit door verschil in fysische eigenschappen of chemische samenstelling van de deeltjes in een monster (figuur 2).

Distributionele heterogeniteit

Heterogeniteit door de niet uniforme verdeling van deeltjes in het monster (figuur 2).

Eenheid

Een enkel deeltje van een partij

Eindmonster

Een gedeelte dat representatief is voor het verzamelmonster en dat wordt verkregen door verkleining van dit monster

Heterogeniteit

De mate waarin iets heterogeen is; het niet uniform verdeeld zijn van iets binnen het grotere geheel. Het tegenovergestelde van homogeen.

Homogeniteit

De mate waarin iets homogeen is; het uniform verdeeld zijn van iets binnen het grotere geheel. Het tegenovergestelde van heterogeen.

Intacte producten

Onbehandelde producten in partijen bestaande uit intacte eenheden, zoals granen, zaden en noten.

Laboratoriummonster

Gedeelte van het eindmonster dat gebruikt wordt voor de analyse.

Maximale limiet

Wettelijke maximaal toegelaten gehalte van een contaminant in een partij.

Mediaan

Centrummaat; het midden van een verdeling. Met midden wordt het middelste getal in de verdeling bedoeld. Bij een even aantal elementen is er geen midden; de mediaan is dan het gemiddelde van de twee om het midden liggende elementen.

Meetonzekerheid

De fout in het resultaat veroorzaakt door de analytische meting.

Monstername

Combinatie van het nemen van basismonsters, bereiding van een verzamelmonster en bereiding van het eindmonster.

Monsterselectie

Wijze van selecteren van de te nemen basismonsters.

Monsterbereiding

Bereiding van een verzamelmonster uit meerdere basismonsters, gevolgd door de bereiding van een eindmonster en uiteindelijk een laboratoriummonster.

Partij

Grote hoeveelheid van een product dat een eenheid vormt.

Standaarddeviatie (s)

Spreadingsmaat van elementen in een verdeling; wortel van de variantie.

Variantie (s²)

Spreadingsmaat van elementen in een verdeling; kwadraat van de standaarddeviatie.

Indien sprake is van een steekproef wordt de variantie uitgedrukt als:

$$s^2 = \frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2$$

Hierin is s^2 de variantie, x_i het resultaat van het i -de monster en \bar{x} het gemiddelde van de i resultaten.

Variatiecoëfficiënt (VC%)

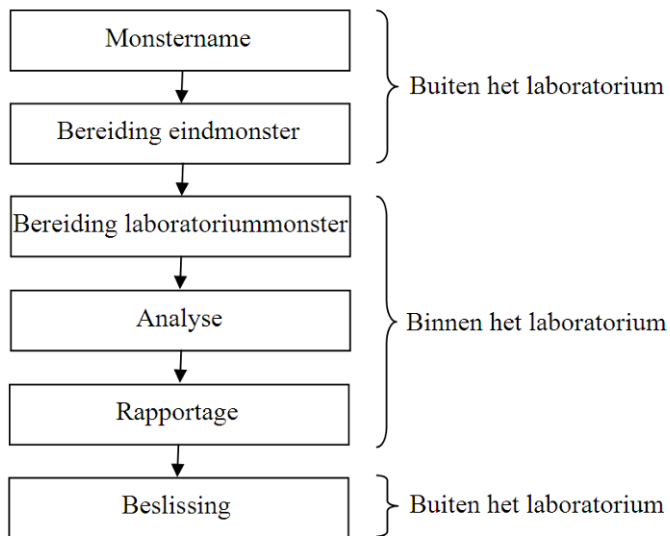
Relatieve spreadingsmaat t.o.v. gemiddelde:

$$VC\% = \frac{s}{\bar{x}}$$

Hierin is VC% de variatiecoëfficiënt, s de standaarddeviatie en \bar{x} het gemiddelde van de resultaten.

1 Inleiding

In het kader van opsporing en het nemen van beheersmaatregelen worden beslissingen genomen over partijen diervoedergrondstoffen. De procedure bestaat uit de monstername en de bereiding van een of meerdere eindmonsters. Eindmonsters worden aan het laboratorium overgedragen waar een laboratoriummonster wordt bereid en de analyse wordt uitgevoerd. Aansluitend wordt het resultaat gerapporteerd en een beslissing genomen (Figuur 1) [1].

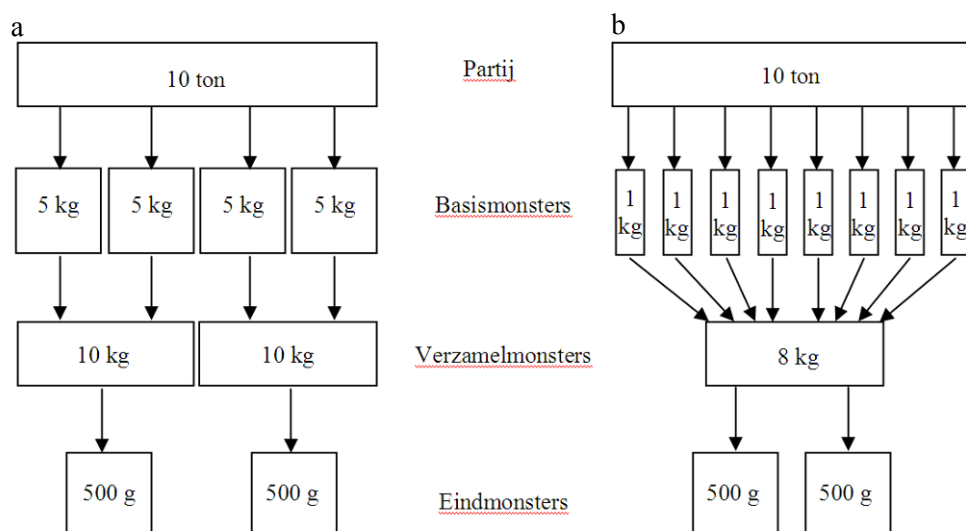


Figuur 1. Overzicht complete procedure

Het is van belang kennis te hebben over de onzekerheid van het analyseresultaat met betrekking tot de gehele partij als op basis van een analyseresultaat een beslissing genomen moet worden over een partij. Uit het schema in figuur 1 volgt dat de onzekerheid in het eindresultaat niet uitsluitend bepaald wordt door de toegepaste analytische meetmethode, maar ook door de monsternameprocedure [2]. Twee voorbeelden van monsternameprocedures zijn weergegeven in Figuur 2.

De onzekerheid van de monsternameprocedure is sterk afhankelijk van de verdeling van de contaminant in de partij (homogeniteit). Indien bekend is dat een contaminant volledig homogeen verdeeld is in een partij, dan dienen andere eisen gesteld te worden aan de monsternameprocedure dan wanneer het contaminant slechts lokaal, maar in zeer hoge concentratie in de partij aanwezig is. Alleen indien bij de monsternameprocedure rekening wordt gehouden met de verwachte homogeniteit van de partij kan op basis van een analyseresultaat een goede beslissing genomen worden over de partij.

Er zijn diverse richtlijnen opgesteld waarin eisen worden gesteld aan de monsternamestrategie betreffende ongewenste stoffen, waaronder mycotoxines en dioxinen, in diervoeder en diervoedergrondstoffen. Deze richtlijnen leiden echter niet tot een concrete, in de praktijk toepasbare analysestrategie.



Figuur 2. Voorbeeld van twee monsternameprocedures waarbij uit een partij van 10 ton (a) twee verzamelmonsters van 10 kg worden bereid, elk bestaande uit twee basismonsters van 5 kg die na malen verkleind worden tot elk één eindmonster van 500 gram en (b) één verzamelmonster van 8 kg wordt bereid van acht basismonsters van 1 kg dat na malen wordt verdeeld in twee eindmonsters van 500 gram.

Naast het hanteren van een goede monsternameprocedure is het van belang dat juiste keuringscriteria worden toegepast. Door juiste keuringscriteria te kiezen kan het risico op foutieve beslissingen gereguleerd worden. In Europese wetgeving is voor wat betreft ongewenste stoffen in diervoedergrondstoffen, inclusief dioxinen en mycotoxines, vastgelegd dat een resultaat als overschrijding beschouwd dient te worden als het resultaat, rekening houdend met de meetonzekerheid (de onzekerheid in de analyse) en na correctie van de terugvinding, boven de maximaal toelaatbare grens ligt [3; 4]. Aangezien de monsternameonzekerheid in veel gevallen de grootste bijdrage levert aan de onzekerheid in een analysesresultaat is deze richtlijn niet afdoende.

In dit rapport wordt de monsternameproblematiek toegespitst op de analyse van mycotoxines en dioxinen in diervoedergrondstoffen.

Mycotoxines zijn van nature voorkomende contaminanten die tijdens groei, oogst, opslag en transport van diervoedergrondstoffen geproduceerd kunnen worden door schimmels [5; 6]. De aanwezigheid van mycotoxines in diervoeders kan leiden tot ernstige effecten bij dier en mens en dient derhalve gereguleerd te worden. Aangezien mycotoxines gevormd worden door schimmels die zeer afhankelijk zijn van plaatselijke condities, zoals bijvoorbeeld het vochtgehalte, kunnen mycotoxines zeer inhomogeen verdeeld zijn in grote partijen. Om hier inzicht in te krijgen zijn voor mycotoxines studies uitgevoerd naar de homogeniteit in diverse grondstoffen.

Dioxinen zijn chemische contaminanten die worden gevormd bij verbrandingsprocessen zoals vuilverbranding, bosbrand en veel industriële processen. Dioxinen behoren tot de meest toxische stoffen en vormen daarmee een aanzienlijk gezondheidsrisico. Er zijn geen studies uitgevoerd betreffende de homogeniteit van dioxinen in partijen diervoedergrondstoffen.

In dit rapport wordt in hoofdstuk 2 de Europese regelgeving betreffende monstername van diervoeders uiteengezet. In hoofdstuk 3 wordt de homogeniteit gedefinieerd en in hoofdstuk 4 wordt ingegaan op de onzekerheid in het eindresultaat. In hoofdstuk 5 worden relevante parameters voor beperking van de monsternameonzekerheid geïdentificeerd en worden methodes ter bepaling van de

monsternameonzekerheid bediscussieerd. Op basis hiervan worden in hoofdstuk 6 conclusies getrokken en aanbevelingen gedaan voor vervolgonderzoek en een praktisch toepasbare strategie voor de controle van diervoedergrondstoffen op mycotoxines en dioxinen die moet leiden tot een betere interpretatie van analyseresultaten.

2 Regelgeving monstername

In verordening (EG) 152/2009 [3] is vastgelegd hoe bemonsteringsprocedures voor de officiële controle van diervoeder plaats dienen te vinden. Hierin wordt een onderscheid gemaakt tussen homogeen verdeelde partijen en partijen waarvan verwacht wordt dat ze mogelijk niet homogeen (dus heterogeen) verdeeld zijn en verpakte en niet verpakte monsters. De gestelde eisen zijn weergegeven in Tabel 1 voor onverpakte monsters en Tabel 2 voor verpakte monsters.

Tabel 1. Aantal monsters dat genomen dient te worden voor homogene en mogelijk inhomogene partijen onverpakte monsters.

	Partijgrootte (ton)	Basismonsters		Verzamelmonsters		Te analyseren eindmonsters	
		Aantal	Massa (kg)	Aantal	Massa (kg)	Aantal	Massa (kg)
Homogeen	$m \leq 2,5$	≥ 7	*	1	≥ 4	1	$\geq 0,5$
	$2,5 < m$	$\sqrt{20m}$ Max = 40	*	1	≥ 4	1	$\geq 0,5$
Mogelijk inhomogeen	$m \leq 1$	≥ 7	*	1	≥ 4	1	$\geq 0,5$
	$1 < m \leq 2,5$	≥ 7	*	2	≥ 4	≥ 2	$\geq 0,5$
	$2,5 < m \leq 10$	$\sqrt{20m}$	*	2	≥ 4	≥ 2	$\geq 0,5$
	$10 < m \leq 40$	$\sqrt{20m}$	*	3	≥ 4	≥ 3	$\geq 0,5$
	$m > 40$	$\sqrt{20m}$ Max = 40	*	4	≥ 4	≥ 4	$\geq 0,5$

m = massa van de partij uitgedrukt in ton.

* De grootte van de basismonsters is afhankelijk van het aantal basismonsters en verzamelmonsters.

Voor homogene partijen wordt uit minimaal zeven basismonsters één verzamelmonster bereid. Wanneer zeven basismonsters worden genomen en één verzamelmonster vereist is, dan dienen de basismonsters minimaal 572 gram te zijn, zodat het verzamelmonster tenminste 4 kg bedraagt. Na mengen van het verzamelmonster worden drie eindmonsters van minimaal 500 g bereid, waarvan er één aan het laboratorium wordt aangeboden ter analyse.

Voor mogelijk niet homogene partijen wordt het aantal te nemen basismonsters én het aantal te bereiden verzamelmonsters bepaald door de grootte van de partij. Indien mogelijk inhomogene partij groter is dan 1 ton, dan dient de partij in een aantal gelijke delen verdeeld te worden gelijk aan het aantal te nemen verzamelmonsters. Uit elk deel wordt vervolgens een evenredig aantal basismonsters genomen ter bereiding van de verzamelmonsters. Voor mogelijk inhomogene partijen van 50 ton dienen minimaal 32 basismonsters genomen te worden en 4 verzamelmonsters bereid te worden. De partij wordt verdeeld in vier gelijke delen. Uit elk deel worden 8 basismonsters genomen van minimaal 500 gram. De basismonsters afkomstig uit hetzelfde deel van de partij worden gecombineerd tot een verzamelmonster van minimaal 4 kg. Deze verzamelmonsters worden afzonderlijk gemengd en uit elk verzamelmonster worden drie eindmonsters van minimaal 500 g bereid, waarvan er één aan het laboratorium aangeboden wordt ter analyse. Het aantal te analyseren laboratoriummonsters is dus minimaal het aantal bereide verzamelmonsters.

Tabel 2. Aantal monsters dat genomen dient te worden voor homogene en mogelijk inhomogene partijen verpakte monsters.

	Inhoud verpakking (kg)	Partijgrootte (aantal verpakkingen)	Basismonsters		Verzamelmonsters		Aantal te analyseren eindmonsters	
			Aantal	Massa (kg)	Aantal	Massa (kg)	Aantal	Massa (kg)
Homogeen	> 1	$1 < i \leq 4$	Alle	*	1	≥ 4	1	$\geq 0,5$
	> 1	$5 < i \leq 16$	4	*	1	≥ 4	1	$\geq 0,5$
	> 1	$i > 16$	\sqrt{i} Max = 20	*	1	≥ 4	1	$\geq 0,5$
	≤ 1		4	Geheel	1	Geheel	1	$\geq 0,5$
Mogelijk inhomogeen		$1 < i \leq 4$	Alle	*	≥ 1	≥ 4	1	$\geq 0,5$
		$5 < i \leq 16$	4	*	≥ 1	≥ 4	≥ 1	$\geq 0,5$
		$17 < i \leq 200$	\sqrt{i} Max = 40	*	≥ 2	≥ 4	≥ 2	$\geq 0,5$
		$201 < i \leq 800$	\sqrt{i} Max = 40	*	≥ 3	≥ 4	≥ 3	$\geq 0,5$
		$i > 800$	\sqrt{i} Max = 40	*	≥ 4	≥ 4	≥ 4	$\geq 0,5$

i = aantal verpakkingen waaruit een partij bestaat

n = aantal verzamelmonster

* De grootte van de basismonsters is afhankelijk van het aantal basismonsters en verzamelmonsters.

Voor homogene partijen, bestaande uit vier of meer eenheden, dient uit minimaal vier verpakkingen een basismonster genomen te worden waaruit één verzamelmonster bereid wordt. Wanneer vier basismonsters worden genomen en één verzamelmonster vereist is dan dienen de basismonsters minimaal 1 kg te zijn, zodat het verzamelmonster tenminste 4 kg bedraagt.

Voor mogelijk inhomogene partijen wordt het aantal te nemen basismonsters én het aantal te bereiden verzamelmonsters bepaald door het aantal verpakkingen waaruit de partij bestaat. Indien een partij bestaat uit maximaal vier verpakkingen dan wordt uit elke verpakking een basismonster van minimaal genomen en gecombineerd tot één verzamelmonster dat minimaal 4 kg is. Na mengen worden uit het verzamelmonster drie eindmonsters genomen van minimaal 500 gram waarvan er één aan het laboratorium aangeboden wordt ter analyse.

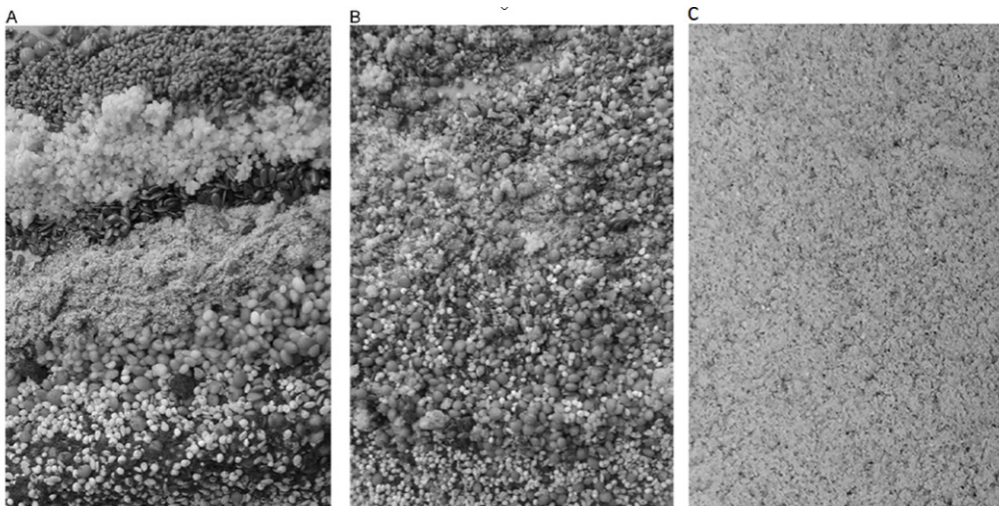
Voor mogelijk inhomogene partijen wordt het aantal te nemen basismonsters verdeeld over het aantal verzamelmonsters dat afhangt van het aantal verpakkingen waaruit de partij bestaat. Indien voor een partij bestaande uit 140 verpakkingen het minimum van 12 basismonsters wordt genomen dan dienen deze minimaal 667 gram te zijn, waarvan twee verzamelmonsters van minimaal 4 kg bereid worden. Na mengen worden uit elk verzamelmonster drie eindmonsters genomen van minimaal 500 gram waarvan er één per verzamelmonster aan het laboratorium aangeboden wordt ter analyse.

3 Homogeniteit

De homogeniteit van een partij is gedefinieerd als de mate waarin contaminanten uniform verdeeld zijn over de gehele partij. Een perfect homogeen monster is volledig uniform verdeeld over het geheel: elk subdeel van het monster bevat identieke eigenschappen. Hierbij kan gedacht worden aan chemische eigenschappen zoals bijvoorbeeld de mate van aanwezigheid van contaminanten, maar ook fysische eigenschappen zoals de structuur of de kleur van het monster.

3.1 Constitutionele en distributionele heterogeniteit

Er worden twee vormen van heterogeniteit onderscheiden: de constitutionele heterogeniteit (verschil in chemische of fysische eigenschappen van eenheden (deeltjes)) en de distributionele heterogeniteit (het gesegregeerd zijn van monsters) [7]. In Figuur 3a is een monster weergegeven met een hoge constitutionele én distributionele heterogeniteit, immers de eenheden in het monster verschillen sterk van structuur en de verschillende eenheden zijn sterk gesegregeerd. In Figuur 3b is hetzelfde monster weergegeven na mengen. Dit monster heeft dezelfde constitutionele heterogeniteit als het monster in Figuur 3a, immers de eenheden zijn nog intact, maar de segregatie en dus de distributionele heterogeniteit is lager. In Figuur 3c is hetzelfde monster na malen weergegeven. Dit monster heeft naast een lage distributionele heterogeniteit ook een lagere constitutionele heterogeniteit, immers de deeltjes zijn nu gelijkwaardig qua grootte (niet per definitie qua andere fysische of chemische eigenschappen).



Figuur 3. Monster bestaande uit tien componenten in (a) gesegregeerde vorm, (b) na mengen en (c) na malen.

De aard en de structuur van de matrix en de contaminant bepalen in grote mate of contaminanten uniform verdeeld zijn over een partij. Partijen bestaande uit intacte producten (hele eenheden), zoals granen, noten en zaden hebben per definitie een zeer hoge constitutionele heterogeniteit ten gevolge van de wisselende fysische eigenschappen van de eenheden. Indien sprake is van besmetting met een natuurlijk contaminant dat voorkomt in enkele afzonderlijke eenheden van de partij, dan is de constitutionele heterogeniteit nog hoger ten gevolge van de sterk variërende chemische samenstelling

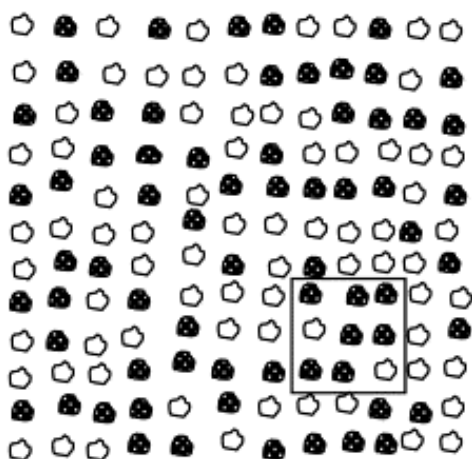
van de eenheden. Partijen bestaande uit intacte producten hebben hiermee per definitie een hoge heterogeniteit.

Indien sprake is van een partij behandelde producten, zoals meel-, schilfer- en schrootmonsters in combinatie met een chemisch contaminant, dan zal de heterogeniteit veel lager zijn [8]. Echter, sommige partijen bestaan uit subpartijen met een verschillende herkomst. Een voorbeeld hiervan is een zeeschip dat gevuld wordt met sojaschrootmonsters afkomstige van verschillende leveranciers. Deze afzonderlijke partijen kunnen zeer verschillende eigenschappen bevatten, maar zijn niet meer als zodanig herkenbaar. Ten gevolge van dergelijke logistieke processen kunnen behandelde producten ook sterk heterogeen verdeeld zijn.

3.2 Kwantificering van homogeniteit

Wanneer kan een partij als homogeen beschouwd worden? Een perfect homogene partij is volledig uniform verdeeld over het geheel: elk subdeel van het monster bevat identieke eigenschappen. Een perfect homogene partij komt in de praktijk niet voor.

Een binair mengsel (bestaande uit twee soorten eenheden), bestaande uit 50% witte en 50% zwarte eenheden is weergegeven in Figuur 4. Deze eenheden zijn volledig at random gepositioneerd, wat in theorie betekent dat het mengsel perfect homogeen is. Als dit mengsel inderdaad perfect homogeen is, betekent dit dat elk subdeel een gelijk aantal zwarte en witte eenheden moet bevatten onafhankelijk van de grootte van het subdeel. Een subdeel bestaande uit negen eenheden (Figuur 4) bevat op basis van toeval zeven zwarte en twee witte eenheden. Hieruit wordt geconcludeerd dat door toeval het bestaan van perfect homogene monsters is uitgesloten. Is homogeniteit dan een subjectieve schaal?



Figuur 4. Tweedimensionale weergave van een random binair mengsel [9].

Als eenheden volledig at random zijn verdeeld in een partij, zoals in Figuur 4, dan is de verdeling van de monstersamenstelling in een set random subdelen (basismonsters) genomen uit deze partij binomiaal [9]. De verwachte variantie volgend uit een binomiale verdeling wordt berekend door:

$$\sigma^2 = \frac{p(1-p)}{N} \quad (1)$$

Hierin is p de fractie van gecontamineerde deeltjes in de partij en N het aantal deeltjes waaruit één subdeel bestaat. Als een partij uit 5% gecontamineerde deeltjes bestaat en er worden 100 deeltjes per monster genomen dan is de te verwachten variantie gelijk aan 0,0005. Als een partij uit 50% gecontamineerde deeltjes bestaat en er worden 100 deeltjes per monster genomen dan is de te verwachten variantie gelijk aan 0,0025.

Voor elke partij kan de daadwerkelijke variantie empirisch berekend worden aan de hand van een steekproef. De variantie wordt berekend door:

$$s^2 = \frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2 \quad (2)$$

Hierin is s^2 de variantie, x_i het resultaat van het i -de monster, \bar{x} het gemiddelde van de i resultaten en n het aantal monsters waaruit de steekproef bestaat. Door middel van een F-toets kan bepaald worden of de daadwerkelijke variantie (Formule 2) statistisch verschilt van de verwachte variantie (Formule 1). Indien er geen significant verschil kan worden aangetoond, kan geconcludeerd worden dat een partij homogeen verdeeld is. De grens tussen homogeen en heterogeen hangt dus af van de fractie gecontamineerde eenheden van een partij en het aantal eenheden waaruit een basismonster bestaat. Geconcludeerd wordt dat 'homogeniteit' niet in het algemeen uitgedrukt kan worden in een onzekerheidsmaat [9].

3.3 Verdeling van contaminanten heterogene partijen

De grootste kans op hoge heterogeniteit bestaat voor diervoedergrondstoffen bestaande uit intacte eenheden (granen, noten, etc.) besmet met een natuurlijk contaminant zoals mycotoxines [1; 8]. In deze partijen zijn de contaminanten niet at random verdeeld. Naar de verdeling van mycotoxines, zoals aflatoxine, ochratoxine en fumonisin in diervoedergrondstoffen zijn diverse studies uitgevoerd. Voor de verdeling van dioxinen in diervoedergrondstoffen zijn geen studies gevonden.

3.3.1 Waargenomen verdeling

De verdeling van mycotoxines in monsters pinda [10; 11; 12; 13; 14], maïs [15; 16; 17], palmpit, katoenzaad [18] en amandel [19] is bestudeerd en gepoogd te beschrijven met een statistisch model. Een representatief voorbeeld van analyseresultaten van zes partijen pinda's waaruit tien basismonsters zijn genomen en geanalyseerd is weergegeven in Tabel 3.

Tabel 3. Analyseresultaten van aflatoxine in tien basismonsters genomen uit zes verschillende partijen pinda [20].

Partijnr.	Analyseresultaat ($\mu\text{g}/\text{kg}$)										Gemiddelde	Mediaan	VC%
1	0	0	0	0	2	4	8	14	28	43	10	3	148
2	0	0	0	0	3	13	19	41	43	69	19	8	126
3	0	6	6	8	10	50	60	62	66	130	40	30	105
4	5	12	56	66	70	92	98	132	141	164	84	81	63
5	18	50	53	72	82	108	112	127	182	191	100	95	56
6	29	37	41	71	95	117	168	174	186	197	111	106	59

Uit deze data blijkt dat de spreiding van de data sterk toeneemt met afnemend contaminantgehalte. Daarnaast blijkt dat voor laag gecontamineerde partijen het verschil tussen de gemiddelde waarde en de hoogste waarde erg groot is en dat het gemiddelde gehalte van laag gecontamineerde partijen ver boven de mediaan ligt (meer dan de helft van de geanalyseerde basismonsters heeft een gehalte onder het gemiddelde). Hieruit volgt dat de data niet normaal verdeeld zijn, maar een scheve verdeling volgen. Naar mate het contaminantgehalte afneemt, wordt de verdeling schever [11; 20; 21]. Dit komt overeen met de bevindingen dat van laag gecontamineerde partijen (pistachenoten, pinda) 0,03% van de eenheden gecontamineerd kan zijn terwijl van hoog gecontamineerde partijen 23% van de eenheden gecontamineerd kan zijn [20; 22; 23].

3.3.2 Scheve verdelingen

De verdeling van aflatoxine in verschillende partijen pinda [10; 11; 12; 21], maïs [15; 16], amandelen [19], en pistachenoten [24], ochratoxine in gedroogd fruit [24] en fumonisin in maïs [16; 17] is gemodelleerd tegen de lognormaal-, negatief binomiaal- en de compound gammaverdeling.

De lognormaalverdeling is een eenzijdige verdeling van een variabele waarvan de logaritme normaal verdeeld is: als de waarden lognormaal verdeeld zijn dan zijn de logaritmen van deze waarden normaal verdeeld.

Een bijzonderheid aan de logaritmische schaal is dat het vermenigvuldigen met een factor op de oorspronkelijke schaal overeenkomt met het optellen van de logaritme van deze factor op de logaritmische schaal. Hierdoor is de logaritmische verdeling een verdeling waarmee eenvoudig gerekend kan worden.

Een gebruikelijke uitdrukking voor een symmetrisch 95% betrouwbaarheidsinterval is $M \pm 2*s$, waarin M het gemiddelde en s de standaarddeviatie is¹. De equivalente wijze om een asymmetrisch betrouwbaarheidsinterval te berekenen is $M * k \pm 2$, waarin M het gemiddelde van de logaritmische verdeling is en k overeenkomt met de logaritme van de variatiecoëfficiënt. Een grafische weergave van de lognormaalverdeling is weergegeven in Figuur 5a.

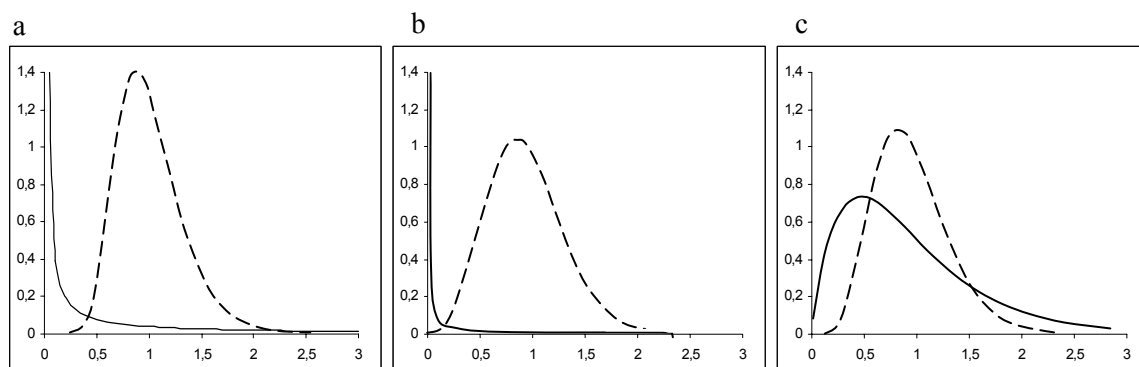
De Onzekerheid van een analyseresultaat wordt veelal uitgedrukt in een betrouwbaarheidsinterval, gekoppeld aan een percentage zekerheid. Het 95% betrouwbaarheidsinterval geeft aan wat met 95% zekerheid de ondergrens en de bovengrens van de werkelijke waarde kan zijn. Een symmetrisch betrouwbaarheidsinterval wordt beschreven met: $M \pm t \times s$, waarin M het gemiddelde analyseresultaat is, s de standaarddeviatie en t een factor die uitdrukking geeft aan de zekerheid ($t=2$ voor 95% zekerheid).

De negatief binomiaalverdeling is het gevolg van een experiment waarin meerdere eenheden uit een populatie worden getrokken. Een voorwaarde is dat elke eenheid afzonderlijk van elkaar wordt

getrokken uit de populatie. Elke eenheid kan twee uitkomsten hebben, bijvoorbeeld positief en negatief waarbij er een bepaalde kans op een positieve waarde is. De uitkomst van de formule behorende bij deze verdeling is de kans dat wanneer k eenheden worden getrokken uit de populatie er r positieve eenheden zijn getrokken.

Belangrijk is vast te stellen dat de negatief binomiaalverdeling per definitie een discrete verdeling is die in dit geval als continue verdeling wordt toegepast. Dit punt van kritiek wordt in de praktijk genegeerd. Een grafische weergave van de negatief binomiaalverdeling is weergegeven in Figuur 5b.

De compound gammaverdeling is een combinatie van meerdere afzonderlijke poissonverdelingen [11; 17]. De vorm van de verdeling wordt primair bepaald door drie parameters: α , β en λ . α is een parameter die de vorm van de verdeling bepaalt, β een parameter die de schaling bepaalt en λ een parameter die gerelateerd is aan het percentage gecontamineerde eenheden in de partij. In tegenstelling tot de lognormaal- en de binomiaalverdeling heeft de compound gamma verdeling een eindige kans op nulwaarden waarmee onderschatting van het gemiddelde gehalte wordt voorkomen. Een grafische weergave van de compound gammaverdeling is weergegeven in Figuur 5c.



Figuur 5. Voorbeeld van (a) lognormaal-, (b) negatief binomiaal- en (c) compound gammaverdeling voor een partij waarvan (gesloten lijn) één eenheid is genomen als basismonster en (onderbroken lijn) een grote hoeveelheid eenheden zijn genomen als basismonster. Het gemiddelde gehalte van de partij is genormeerd naar $x=1$.

3.3.3 Modelling scheve verdelingen

Empirisch bepaalde verdelingen van diverse partijen zijn in diverse onderzoeken vergeleken met diverse theoretische verdelingen, waaronder de lognormaal-, de binomiaal- en de compound gammaverdeling. De resultaten van deze modelleringen zijn weergegeven in Tabel 4. De kolom 'aantal partijen' geeft aan hoeveel empirisch bepaalde verdelingen zijn vergeleken met de theoretische verdeling en de mate van passendheid wordt weergegeven met -, + en ++.

Uit de resultaten is geconcludeerd dat de compound gammaverdeling een goede theoretische schatting geeft van de werkelijke verdeling van contaminanten in partijen. Echter de waarde voor de parameters α , β en λ zijn voor iedere component-matrix-combinatie [25] én op ieder concentratieniveau verschillend [12]. Hieruit volgt dat het op basis van de compound gammaverdeling zonder uitvoering van analyses niet mogelijk is een goede schatting te geven van de verdeling van een component in een partij.

Tabel 4. Overzicht van uitgevoerde vergelijkingen van empirische verdelingen met de negatief binomiaal- en compound gammaverdeling voor diverse matrices en componenten.

Matrix	Component	Aantal partijen	Negatief binomiaal	Compound Gamma	Lognormaal	Referentie
maïs	aflatoxine	18	-	++	++	[15]
maïs	fumonisin	16	onbekend	++	onbekend	[17]
pinda	aflatoxine	120	++	+	+	[21]
pinda	aflatoxine	120	++	++	-	[11]
amandelen	aflatoxine	20	++	++	+	[19]

- slechte overeenkomst tussen theoretische en empirische verdeling

+ goede overeenkomst tussen theoretische en empirische verdeling

++ zeer goede overeenkomst tussen theoretische en empirische verdeling

De getoetste modellen verschillen sterk van elkaar bij monsternamen van één eenheid, maar naarmate een grotere steekproef wordt genomen benaderen de modellen elkaar. Hieruit volgt dat wanneer een groot aantal grote basismonsters wordt genomen de keuze van het model minder relevant is. Er wordt geconcludeerd dat de compound gammaverdeling de beste theoretische schatting geeft van de verdeling van contaminant in een inhomogene partij diervoedergrondstoffen. Echter, aangezien de theoretische verdelingen elkaar benaderen wanneer voldoende basismonsters worden genomen, heeft het vanwege de wiskundige eenvoud en eenvoudige toepasbaarheid van de lognormaalverdeling de voorkeur deze verdeling te hanteren voor het bepalen van scheve betrouwbaarheidsintervallen. Met behulp van lognormale scheve betrouwbaarheidsintervallen kan op een juiste manier uitdrukking gegeven worden aan het analyseresultaat inclusief de onzekerheid van een heterogene partij diervoedergrondstoffen.

3.4 Verdeling contaminanten in homogene partijen

Een kleinere kans op heterogeniteit bestaat voor diervoedergrondstoffen bestaande uit behandelde producten, zoals pulp, schilfers en schroten [1; 8]. De verdeling van aflatoxine B1 in partijen kokosschroot, kokosschilfers, palmpitschilfers en maïsglutenvoer [26] is onderzocht. Van deze partijen zijn basismonsters van 50, 100 en 500 gram genomen, gehomogeniseerd en geanalyseerd [26]. De analyseresultaten van 14 basismonsters van twee verschillende partijen kokosschroot zijn weergegeven in Tabel 5.

Tabel 5. Analyseresultaten van aflatoxine in 14 basismonsters genomen uit twee verschillende partijen kokosschroot [26].

Partij	Analyseresultaat (µg/kg)														Gem	Mediaan	VC(%)
	5,7	6,4	6,7	6,8	6,8	6,9	7,0	7,2	7,2	7,3	7,4	7,5	7,7	8,3			
1	5,7	6,4	6,7	6,8	6,8	6,9	7,0	7,2	7,2	7,3	7,4	7,5	7,7	8,3	7,1	7,1	9
2	5,1	5,6	5,7	5,8	5,9	5,9	6,1	6,1	6,2	6,2	6,6	6,6	6,6	6,6	6,1	6,1	7

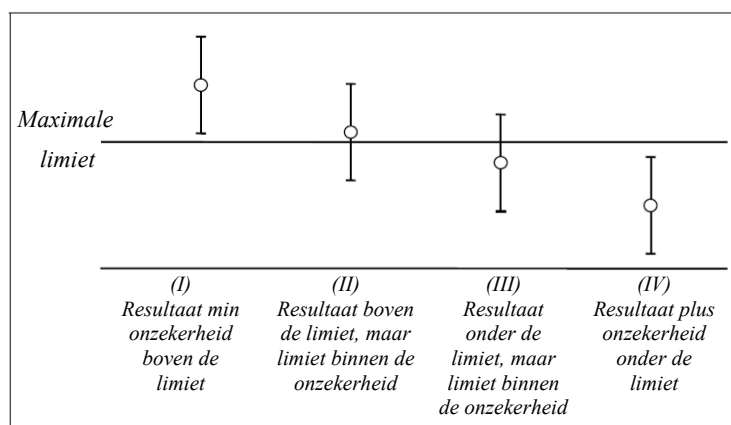
Uit een vergelijking met de gegevens gepresenteerd in Tabel 3 blijkt dat voor de behandelde monsters het gemiddelde overeenkomt met de mediaan en dat de variatiecoëfficiënt lager ligt dan voor heterogene partijen. Uit de verdere data blijkt dat er geen verband is tussen de onzekerheid van het aflatoxine B1 gehalte en de grootte van het basismonster [26] op basis waarvan geconcludeerd is dat de contaminanten in de behandelde monsters relatief normaal verdeeld zijn. Een normaal betrouwbaarheidsinterval is geschikt voor het beschrijven van een analyseresultaat inclusief onzekerheid van een homogene partij diervoedergrondstoffen.

4 Meet- en monsternameonzekerheid

Onzekerheid is een belangrijke parameter bij het nemen van keuringsbeslissingen. In dit hoofdstuk wordt de bestaande regelgeving betreffende meetonzekerheid in relatie tot de keuringsbeslissing besproken en bediscussieerd.

4.1 Onzekerheid bij keuringsbeslissingen

Een analyseresultaat wordt veelal weergegeven in de vorm van een betrouwbaarheidsinterval die uitdrukking geeft aan de onzekerheid van het resultaat. Wanneer bij keuringsbeslissingen rekening wordt gehouden met de onzekerheid van een resultaat, worden vier situaties onderscheiden [27]. Deze zijn weergegeven in Figuur 6.



Figuur 6. Grafische weergave van de vier situaties die voorkomen bij keuringsbeslissingen op basis van een maximale limiet wanneer de meetonzekerheid in acht wordt genomen.

In situatie I ligt het analyseresultaat en het volledige betrouwbaarheidsinterval boven de maximale limiet. In deze situatie zal het monster in alle gevallen als overschrijding gerapporteerd worden. In situatie II ligt het analyseresultaat boven de maximale limiet, maar het maximale limiet valt binnen het betrouwbaarheidsinterval: het resultaat, rekeninghoudend met de meetonzekerheid, is niet een eenduidige overschrijding van de maximale limiet. In situatie III ligt het analyseresultaat onder de maximale limiet, maar de maximale limiet ligt binnen het betrouwbaarheidsinterval. Ook hier is het resultaat niet eenduidig, maar aangezien het gemiddelde onder de maximale limiet ligt zal hier, onafhankelijk van de spreiding, in geen geval sprake zijn van een met zekerheid vastgestelde overschrijding. In situatie IV ligt het resultaat inclusief het gehele betrouwbaarheidsinterval onder de maximale limiet. In deze situatie zal het monster in alle gevallen worden geaccepteerd.

In Europese wetgeving is voor wat betreft ongewenste stoffen in diervoedergrondstoffen, inclusief dioxinen en mycotoxines, vastgelegd dat een resultaat als overschrijding beschouwd dient te worden als het resultaat, rekening houdend met de meetonzekerheid (alleen veroorzaakt door de analyse) en na correctie van de terugvinding, boven de maximaal toelaatbare grens ligt [3; 4; 28]. Dit komt overeen

met situatie I. Daarmee is vereist dat bij de keuringsbeslissing de meetonzekerheid in acht wordt genomen; kennis hebben van de meetonzekerheid is dus een wettelijke verplichting. In EU/178/2010 [28] staat specifiek voor pinda's, andere oliehoudende zaden, abrikozenpitten en noten die een fysieke behandeling ondergaan (NB dit geldt voor diervoedergrondstoffen !), dat de keuring uitgevoerd wordt op basis van het resultaat van een verzamelmonster of het gemiddelde van de laboratoriummonsters. Dit in tegenstelling tot pinda's, andere oliehoudende zaden, abrikozenpitten en noten bedoeld voor menselijke consumptie; hierbij wordt de keuring uitgevoerd op basis van ieder afzonderlijk laboratoriummonster.

Allereerst wordt benadrukt dat in het voorbeeld er vanuit wordt gegaan dat het betrouwbaarheidsinterval symmetrisch om het gemiddelde ligt. Dit hoeft echter niet het geval te zijn zoals beschreven in §3.3. Ten tweede is het van belang dat in de regelgeving uitsluitend de meetonzekerheid in acht wordt genomen; de monsternameonzekerheid wordt buiten beschouwing gelaten. Om inzicht te krijgen of het van belang is de monsternameonzekerheid in acht te nemen bij het maken van keuringsbeslissingen is het van belang kennis te hebben van de diverse foutenbronnen en de bijdrage van deze bronnen aan de totale onzekerheid.

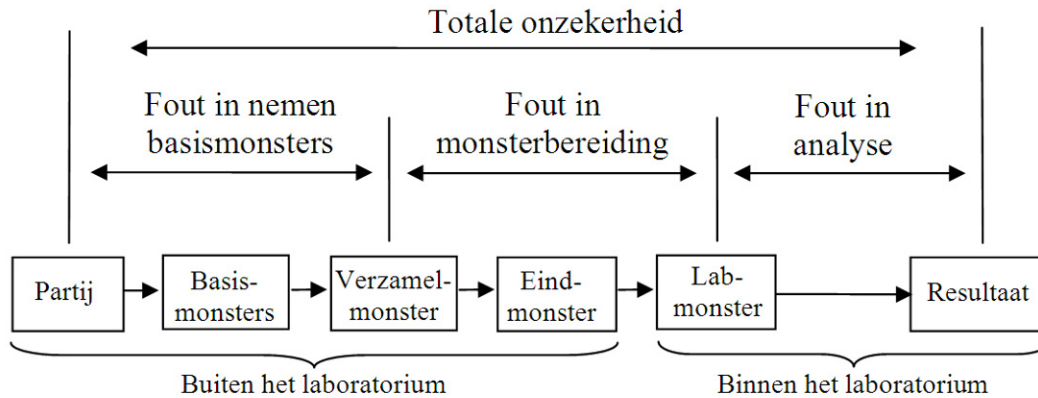
4.2 Bronnen van onzekerheid

De gangbare procedure voor de controle van diervoedergrondstoffen bestaat uit meerdere stappen (Figuur 1). Ten eerste worden één of meerdere basismonsters geselecteerd en genomen uit de partij. Deze worden gecombineerd tot één of meerdere verzamelmonsters. Vervolgens worden de verzamelmonsters gehomogeniseerd en het volume teruggebracht tot één of meerdere eindmonsters. Dit hele proces wordt in de regelgeving gedefinieerd als 'monstername' [3]. Na de monstername worden een aantal eindmonsters overgedragen aan het laboratorium waar een laboratoriummonster wordt bereid. Hierop wordt de analyse uitgevoerd. In de literatuur wordt dit volledige proces opgedeeld in drie stappen: het selecteren en nemen van basismonsters, de monsterbereiding (bereiding verzamelmonsters, mengen, malen en verkleinen tot eind- en laboratoriummonsters) en de analyse. Elk van deze stappen leidt tot een toename in de totale onzekerheid van het eindresultaat (Figuur 7) [18; 20; 22; 29; 30; 31; 32; 33; 34]. Dit is in de volgende formule weergegeven:

$$s_{tot}^2 = s_{bmn}^2 + s_{mb}^2 + s_a^2 \quad (3)$$

Hierin is s_{tot}^2 de totale variantie, s_{bmn}^2 de variantie in de basismonstername, s_{mb}^2 de variantie in de monsterbereiding en s_a^2 de variantie in de analytische methode.

Indien bekend is hoe groot de bijdrage van elke stap aan de totale onzekerheid van het analyseresultaat is, dan kan beoordeeld worden of de monsternameonzekerheid in acht moet worden genomen bij keuringsbeslissingen en welke stap geoptimaliseerd dient te worden voor verkleining van de totale onzekerheid.

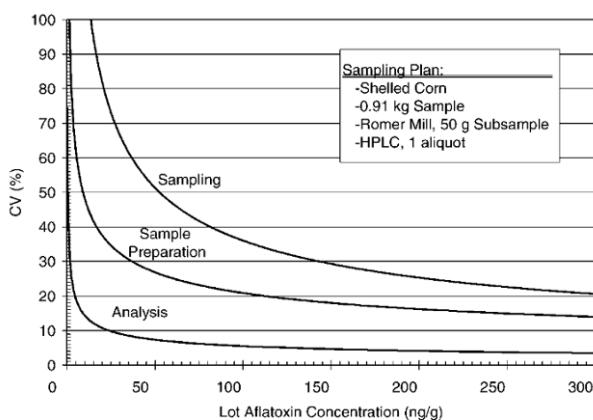


Figuur 7. Bronnen van onzekerheid in een testprocedures.

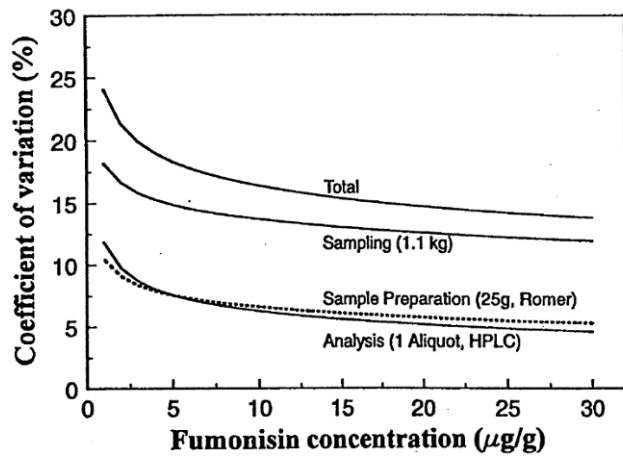
Een verband is afgeleid tussen de variatiecoëfficiënt veroorzaakt door de drie stappen en de concentratie aflatoxine voor aflatoxine [20] en fumonisin [35] in partijen maïs (Figuur 8 en 9). Hieruit wordt geconcludeerd dat voor niet homogene monsters de basismonstername de grootste bron van onzekerheid is [31; 32; 35; 36; 37]. Hieronder vallen veelal partijen van intacte producten, omdat in veel gevallen slechts enkele delen (granen, noten, zaden) van dergelijke partijen gecontamineerd zijn [38].

Voor homogene partijen is de monstername een kleinere bron van onzekerheid, maar levert wel een belangrijke bijdrage aan de totale onzekerheid [26; 39]. Hieronder vallen veelal de behandelde producten (schroten, melen, voeders).

Hieruit blijkt dat de meetonzekerheid slechts een kleine bijdrage heeft aan de totale onzekerheid en dat voor het maken van correcte keuringsbeslissingen de monsternameonzekerheid in acht moet worden genomen.



Figuur 8. Variatiecoëfficiënt van monstername (sampling), monsterbereiding (sample preparation) en meting (analysis) als functie van de aflatoxineconcentratie in een partij maïs indien een basismonster van 0.91 kg wordt genomen en een eindmonster van 50 g wordt bereid [22].



Figuur 9. Variatiecoëfficiënt van monstername (sampling), monsterbereiding (sample preparation) en meting (analysis) als functie van de fumonisinconcentratie in een partij maïs indien een basismonster van 1.1 kg wordt genomen en een eindmonster van 25 g wordt bereid [35].

5 Homogeniteit versus monsternameonzekerheid

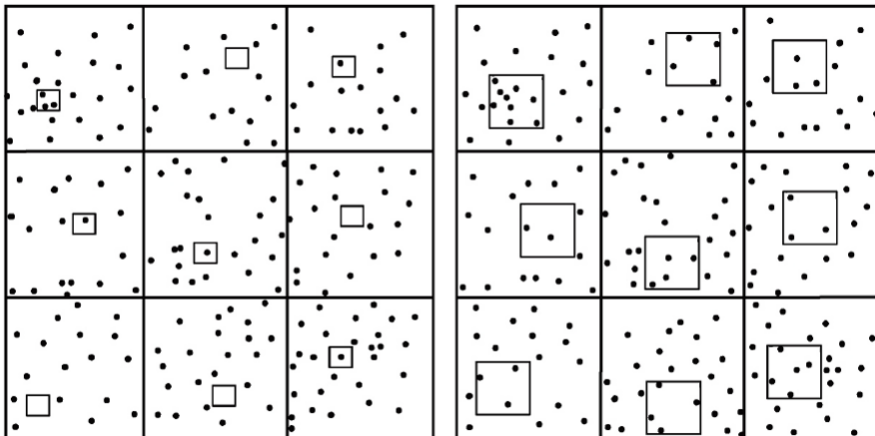
In dit hoofdstuk wordt besproken welke parameters invloed hebben op de monsternameonzekerheid en hoe de monsternameonzekerheid bepaald kan worden. In deze discussie wordt onderscheid gemaakt tussen de basismonstername, de monsteselectie en de monsterbereiding, met daarnaast een opsplitsing in heterogene en homogene partijen.

5.1 Basismonstername heterogene partijen

5.1.1 Relevante parameters

De monsternameonzekerheid voor heterogene partijen is afhankelijk van de gemiddelde concentratie van de contaminant [22; 35; 36; 37], de grootte [1; 20; 37] en het aantal [36; 37] genomen basismonsters.

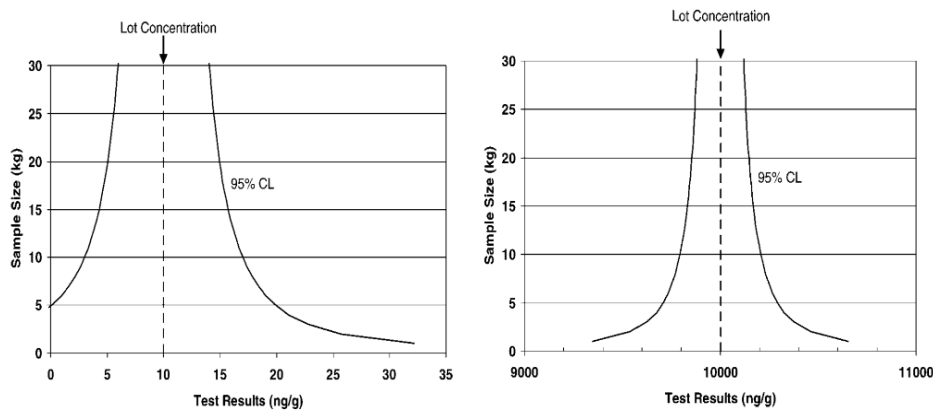
De invloed van de grootte van het basismonster voor met name laag gecontamineerde partijen is geïllustreerd in Figuur 10 [40]. Bij het nemen van een klein basismonster varieert het aantal contaminaties van 0 tot 3, in dit voorbeeld overeenkomend met een variatiecoëfficiënt van 125%. Bij het nemen van een groter basismonster varieert het aantal contaminaties van 2 tot 9, in dit voorbeeld overeenkomend met een variatiecoëfficiënt van 49%. Hieruit wordt geconcludeerd dat de onzekerheid van het contaminantgehalte in het basismonster kleiner wordt als het basismonster groter is.



Figuur 10. Het effect van de basismonstergrootte op de monsternameonzekerheid bij laag gecontamineerde partijen [40].

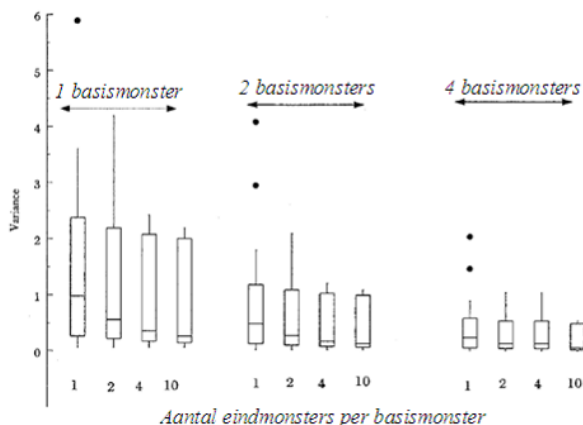
Het verband tussen de grootte van de genomen basismonsters en de onzekerheid, uitgedrukt als een 95% betrouwbaarheidsinterval (95% CL) is weergegeven in Figuur 11. Op de x-as is het gehalte contaminant in een partij weergegeven en op de y-as de grootte van het basismonster. De afstand tussen de doorgetrokken lijnen geeft de breedte van het 95% betrouwbaarheidsinterval weer. Hieruit blijkt dat de onzekerheid sterk af kan nemen bij toename van de grootte van het basismonster [22].

Deze afname is niet lineair, wat inhoudt dat vooral wanneer het basismonster klein is een afname van de onzekerheid wordt waargenomen bij vergroting van het basismonster. Indien het basismonster reeds groot is, zal een verdere vergroting van het basismonster nauwelijks effect hebben. Uit de vergelijking van Figuur 11a en b blijkt daarnaast dat het effect van vergroting van het basismonster groter is indien een partij laag gecontamineerd is. Dit is een direct gevolg van een grotere kans op heterogeniteit van laag gecontamineerde partijen (gemiddelde contaminatie van 0,03% van de deeltjes) in vergelijking met hoog gecontamineerde partijen (gemiddelde contaminatie van 23% van de deeltjes) [20; 22].



Figuur 11. Het effect van de basismonstergrootte (sample size) op de onzekerheid (95% CL) van het aflatoxineresultaat indien het aflatoxinegehalte van het monster (a) 10 µg/kg en (b) 10 mg/kg is [22].

De invloed van het aantal basismonsters dat uit een partij wordt genomen is bepaald [24; 36]. Hieruit blijkt dat de onzekerheid in de monstername sterk afneemt wanneer een groter aantal basismonsters wordt genomen (Figuur 12). De hoeveelheid genomen basismonsters is vooral van invloed bij laag gecontamineerde partijen die sterke heterogene eigenschappen bezitten. Uit Figuur 12 blijkt tevens dat een vergroting van het aantal eindmonsters per basismonster, en daarmee het aantal laboratoriummonsters en analyses, nauwelijks leidt tot een afname van de onzekerheid.



Figuur 12. Box plots van de verdeling van de 95% betrouwbaarheidsintervallen van de gemiddelde vomitoxineconcentratie (<2 µg/kg) per partij (n=5) afhankelijk van het aantal genomen basismonsters en het aantal 50g eindmonsters per basismonster. De horizontale lijn geeft de mediaan weer [36].

5.1.2 *Het kwantificeren van de monsternameonzekerheid*

De monsternameonzekerheid kan op verschillende manieren geschat/bepaald worden. Beschreven zijn het gebruik van 'Gy's sampling theory', modellering en een empirische benadering. Deze opties worden in deze paragraaf besproken.

5.1.2.1 Gy's Sampling Theory

In 'Gy's sampling theory' [1] zijn de processen binnen de monstername en de daaruit voortkomende bronnen van onzekerheden geïdentificeerd. Dit zijn (1) de constitutionele heterogeniteit, (2) de distributionele heterogeniteit, (3) de monstergroottebegrenzing die veroorzaakt wordt door de monsternameapparatuur, (4) de fout in monsterverkrijging die veroorzaakt wordt doordat niet het beoogde monster genomen wordt ten gevolge van vorm en beperkingen van de monsternameapparatuur en (5) monsterdegradatie [1]. Hieruit volgt dat monstereigenschappen, zoals deeltjesgrootte, deeltjesvorm, aantal deeltjes en de chemische samenstelling van deeltjes de monsternameonzekerheid beïnvloeden. Beredeneerd is dat voor zowel homogene als heterogene partijen alleen de constitutionele heterogeniteit een significante bijdrage levert aan de totale onzekerheid mits een goede monsteselectie wordt uitgevoerd [1]. De fout veroorzaakt door constitutionele heterogeniteit wordt de fundamentele fout genoemd.

Als basismonsters uit één eenheid bestaan én elke eenheid een gelijke kans op bemonstering heeft, dan kan de fundamentele fout uitgedrukt worden als:

$$s_f^2 = \frac{s_x^2}{x^2} \quad (4)$$

Hierin is s_f^2 de fundamentele fout ten gevolge van constitutionele heterogeniteit uitgedrukt als variantie, s_x^2 de variantie van de analyseresultaten van een grootheid van de getrokken eenheden en x de werkelijke waarde van de grootheid in de partij. Hieruit volgt dat naarmate de variatie in de fysische en chemische eigenschappen van de deeltjes in een monster toeneemt, de fundamentele fout toeneemt en dus de monsternameonzekerheid toeneemt. Formule 4 is geëxtrapoleerd naar basismonsters bestaande uit meerdere deeltjes. Als aangenomen wordt dat de massa van de partij vele malen groter is dan de massa van een basismonster, dan geldt [1; 41]:

$$s_f^2 = \frac{fg\beta c_{comp} d^3}{m_{bm}} \quad (5)$$

Hierin is s_f^2 de fundamentele fout ten gevolge van constitutionele heterogeniteit uitgedrukt als variantie en d de bovenste 95ste percentiel van de grootteverdeling van de eenheden, m_{bm} de massa van het genomen basismonster, f wordt bepaald door de vorm van de eenheden, g door de deeltjesgrootteverdeling, β door de mate waarin de contaminant vrij is van de matrix ($\beta=0$ indien alle eenheden evenveel contaminant bevatten en $\beta=1$ indien matrix en contaminant afzonderlijke eenheden vormen) en c_{comp} wordt bepaald door het gemiddelde contaminantgehalte in de partij, het maximale contaminantgehalte in één eenheid, de dichtheid van een gecontamineerde eenheid en de dichtheid van een niet gecontamineerde eenheid [42].

Hieruit blijkt dat voor de berekening van de monsternameonzekerheid diverse parameters nodig zijn die empirisch bepaald dienen te worden, omdat ze specifiek zijn voor de betreffende partij. Hieruit volgt dat elk van deze parameters een grote onzekerheid heeft, wat leidt tot een grote onzekerheid in de berekening van de variantie. Dit is een belangrijk nadeel van 'Gy's sampling theory' [43] en leidt ertoe dat deze benadering in de praktijk niet toepasbaar is.

5.1.2.2 Modelling

Voor de bepaling van mycotoxines in partijen diervoedergrondstoffen bestaande uit intacte producten is de variantie ten gevolge van monstername gemodelleerd als functie van de aflatoxineconcentratie [29; 37]. Er is een verband beschreven tussen de variantie door monstername, de grootte van het genomen basismonster en het gehalte aflatoxine in een partij maïs [22; 32], pinda's [34; 37] en hazelnoot [33], en fumonisin in een partij maïs [35]:

$$s_{bmn}^2 = \frac{c}{m_{bm}} \bar{x}^d \quad (6)$$

Hierin is s_{bmn}^2 de variantie van aflatoxine ten gevolge van de basismonstername, \bar{x} het gehalte aflatoxine in de partij uitgedrukt als $\mu\text{g}/\text{kg}$, c en d zijn constanten en m_{bm} is de grootte van de basismonsters, uitgedrukt in gewichtseenheden (kg). Uit dit verband volgt dat naarmate de basismonsters groter zijn, de variantie ten gevolge van de basismonstername afneemt. Een belangrijk nadeel van dit model is dat de parameters c en d afhankelijk zijn van de matrix én de analyt (Tabel 6). Bovendien blijkt uit verschillende studies dat waarden voor c en d sterk kunnen verschillen, ook wanneer het dezelfde analyt-matrixcombinatie betreft [34; 37]. Deze verschillen resulteren met name in een afwijkende onzekerheid bij lage gecontamineerde partijen ($< 10 \mu\text{g}/\text{kg}$). Geconcludeerd wordt dat de onzekerheid ten gevolge van de basismonstername van mogelijk heterogene partijen onvoldoende nauwkeurig gemodelleerd kan worden voor de berekening van de onzekerheid ten gevolge van de basismonstername.

Tabel 6. Waardes bepaald voor de constanten c en d voor toepassing in formule 6 voor diverse partijen diervoedergrondstoffen.

Matrix	Analyt	c	d	Concentratiebereik ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	Referentie
Maïs	aflatoxine	12,84	0,98	28,3 - 938	[32]
Maïs	fumonisin	0,0363	1,75	0,6 - 25,7	[35]
Pinda	aflatoxine	30,63	1,4214	0,4 - 6300	[34]
Pinda	aflatoxine	658,9	0,9576	23,7 - 20453	[37]
Hazelnoot	aflatoxine	42,91	1,609	0,2 - 82,2	[33]
Amandelen	aflatoxine	57,59	1,561	22,5 - 228	[44]

5.1.2.3 Empirische benadering

Voor diverse partijen bestaande uit intacte producten is de onzekerheid ten gevolge van de basismonstername empirisch bepaald, waarbij de bepaalde VC% voor het nemen, bereiden en analyseren van een enkelvoudig monster. De resultaten zijn weergegeven in Tabel 7, alsmede de spreiding ten gevolge van de monsterbereiding en de spreiding ten gevolge van de analyse.

Tabel 7. Onzekerheid van de basismonstername, de monsterbereiding en de analyse voor diverse monsternamestrategieën voor de controle op mycotoxine in diverse partijen intacte producten. De VC% gelden voor enkelvoudige monsters.

Matrix, analyt en analyseprocedure	VC% basismonstername	VC% monsterbereiding	VC% analyse	Referentie
Maïs, 0,91 kg basismonster, Romer mill 50 g eindmonster, enkelvoud, aflatoxine 20 µg/kg	75,6	15,9	8,5	[44]
Maïs, 4,54 kg basismonster, Romer mill 100 g eindmonster, duplo, aflatoxine 20 µg/kg	33,8	11,3	6,0	[44]
Maïs, 1,13 kg basismonster, Romer mill, 50 g eindmonster, enkelvoud, aflatoxine 20 µg/kg, (n=32)	77,8	20,5	1,7	[15]
Maïs, 5 kg basismonster, Romer mill 100 g eindmonster, enkelvoud, aflatoxine 20 µg/kg	59,8	34,5	5,7	[15]
Tarwe, 0,454 kg basismonster, Romer mill 25 g eindmonster, enkelvoud, deoxynivalenol 5 mg/kg	22	56	22	[25]
Pinda, 2,27 kg basismonster 100 g eindmonster, aflatoxine 100 µg/kg (n=81)	92,7	7,2	0,1	[37]
Pinda, 1,1 kg basismonster, 25 g eindmonster, enkelvoud, fumonisin 2 mg/kg (n=10)	16,6	9,1	9,7	[35]
Pinda, 21,8 kg basismonster, 1,1 kg eindmonster, duplo, aflatoxine, 20 µg/kg	55	18	16	[45]
Pistachenoten, 0,25 g basismonster, Enkelvoud, aflatoxine 0,86 µg/kg (n=8)	22,5		27,1	[43]

De empirische methode geeft een goed beeld van de monsternameonzekerheid van de geteste partij. Nadeel van de empirische methode is dat een groot aantal monsters genomen dient te worden die afzonderlijk van elkaar geanalyseerd moeten worden. De empirische benadering is daardoor erg arbeidsintensief en kostbaar [43].

5.1.2.4 Vergelijking van theoretische en empirische benadering

Op basis van de data uit §5.1.2.1 tot en met 5.1.2.3 kunnen de theoretische benadering en de empirische benadering vergeleken worden. Voor de bepaling van aflatoxine in een partij pinda's met een gemiddeld aflatoxinegehalte van 20 µg/kg en een basismonster van 21,8 kg is via Gy's methode de relatieve standaarddeviatie ten gevolge van de monstername berekend op 39% [42]. De empirische bepaling van de relatieve standaarddeviatie van de monstername komt overeen met 55% [45]. Indien de gegevens voor aflatoxine in pinda's in het relevante concentratiebereik gebruikt worden in combinatie met de modellering zoals beschreven in §5.1.2.2 dan leidt dit tot een relatieve standaarddeviatie van 50%. De drie schattingen komen voor deze voorbeeldberekening redelijk overeen.

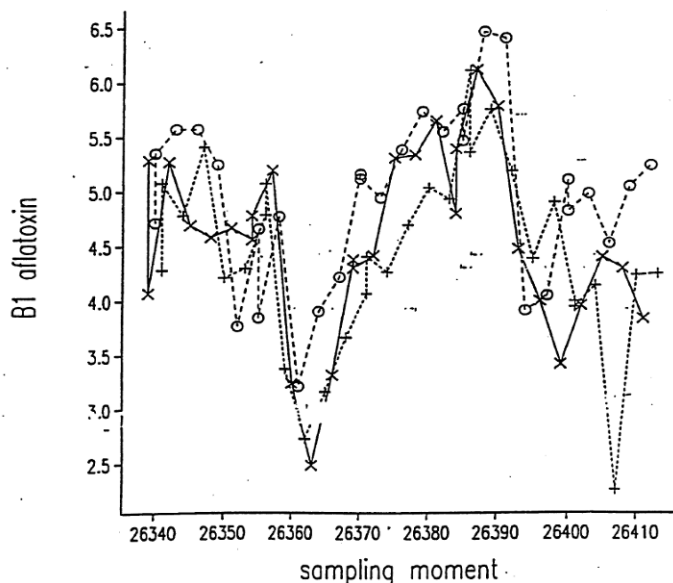
Een vergelijking tussen de theoretische methode en de empirische methode is tevens gemaakt door Lyn *et al.* [43]. Voor de bepaling van aflatoxine in een partij pistachenoten met een gemiddeld aflatoxinegehalte van 0,86 µg/kg en een basismonster van 250 gram is via Gy's methode de relatieve standaarddeviatie ten gevolge van de monstername berekend op 136,5%. De empirische bepaling van de relatieve standaarddeviatie van de monstername komt overeen met 22,5% [43]. De modellering zoals beschreven in §5.1.2.2 kan niet worden toegepast, omdat gegevens betreffende aflatoxine in pistachenoten ontbreken. De resultaten van de theoretische en empirische benadering verschillen sterk in deze voorbeeldberekening [42].

Op basis van de theoretische achtergronden en de uitgevoerde vergelijkingen wordt geconcludeerd dat de theoretische methodes lastig toepasbaar zijn in de praktijk. Een goede schattingen van de onzekerheid in de basisonstername wordt alleen verkregen door deze empirisch, voor elk monster afzonderlijk te bepalen. Dit is echter een kostbare exercitie.

5.2 Basisonstername homogene partijen

5.2.1 Relevante parameters

De invloed van de grootte en het aantal genomen basisonsters is beperkter indien een contaminant relatief homogeen verdeeld is over een partij in vergelijking met heterogene partijen [26]. In een studie waarin basisonsters van 50, 100 en 500 g zijn genomen uit partijen kokosschilfers, kokosschroot en palmpitschilfers, partijen waarvan verwacht wordt dat ze relatief homogeen verdeeld zijn, blijkt geen significante invloed van de monstergrootte op de onzekerheid te bestaan. Een voorbeeld van de analyse van 50, 100 en 500 g basisonsters van een partij kokosschilfers is weergegeven in Figuur 13. Ten eerste wordt geconstateerd dat de resultaten normaal verdeeld lijken en dat er geen basisonsters zijn genomen waarin geen aflatoxine B1 is gevonden. Dit in tegenstelling tot monsters heterogene partijen waarvan in een groot deel van de basisonsters geen aflatoxine wordt gevonden (Tabel 3) [14; 46]. Ten tweede blijkt dat de basisonstergrootte geen significante invloed heeft op de onzekerheid van de monstername. Ten derde is waarneembaar dat het gehalte aflatoxine B1 op verschillende plaatsen in het monster varieert. Dit geeft aan dat het aantal basisonsters dat genomen wordt ook voor relatief homogene van invloed is.



Figuur 13. Bepaalde gehalte aflatoxine B1 in at random genomen basisonsters van (x) 50, (o) 100 en (+) 500 g uit een partij kokosschilfers. Gereproduceerd uit [26].

5.2.2 *Het schatten van de monsternameonzekerheid*

5.2.2.1 Gy's Sampling Theory

Hoewel dit niet beschreven is, zou 'Gy's sampling theory' ook van toepassing kunnen zijn op partijen bestaande uit behandelde producten. De diameter van de eenheden, uitgedrukt als bovenste 95ste percentiel, d , staat in formule 5 als derde macht in de teller. Hieruit blijkt dat een afname van de deeltjesgrootte tot een exponentiële afname van de monsternamevariantie leidt. Behandelde producten bevatten kleinere deeltjes dan intacte producten, waardoor direct uit Gy's sampling theory volgt dat de monsternameonzekerheid voor behandelde producten kleiner is dan voor intacte producten. Uitgangspunt hierbij is dat een partij afkomstig is van één oorsprong en geen verzameling is van deelpartijen met verschillende oorsprong, omdat in dat geval sprake is van distributionele heterogeniteit met logistieke oorzaak. In de praktijk wordt Gy's sampling theory niet toegepast op behandelde monsters.

5.2.2.2 Modelling

Aangezien geconcludeerd wordt dat de grootte van het basismonster niet van invloed is op de variantie van de monstername bij homogene partijen, is het volgende model voorgesteld voor de totale onzekerheid van het analysesresultaat voor homogene partijen [26; 39]:

$$s_{tot}^2 = \frac{1}{n_{vm}} \left(\frac{s_{bm}^2}{n_{bm}} + \frac{s_a^2}{n_a} \right) \quad (7)$$

Hierin is s_{tot}^2 de totale variantie, n_{vm} het aantal verzamelmonsters, s_{bm}^2 de variantie van het contaminantgehalte van de basismonsters, n_{bm} het aantal basismonsters waaruit één verzamelmonster is bereid, s_a^2 de variantie van de analysemethode en n_a het aantal keer dat een eindmonster geanalyseerd wordt. Hieruit volgt voor de basismonsternamevariantie:

$$s_{bmn}^2 = \frac{s_{bm}^2}{n_{bm}} \quad (8)$$

Dit model geeft een verband tussen de onzekerheid door basismonstername en de variantie in analysesresultaten van basismonsters. De variantie in de analysesresultaten van basismonsters dient daardoor geschat of empirisch bepaald te worden alvorens dit model toegepast kan worden. Dit model is daardoor niet geschikt voor de a priori schatting van de basismonsternameonzekerheid.

Voor de analyse van partijen kokosschroot, kokosschilfers, palmpitschroot en maïsglutenvoer is bepaald dat de relatieve standaarddeviatie van het contaminantgehalte in de basismonsters drie tot vier keer de relatieve standaarddeviatie van de analytische methode is. Hieruit volgt dat als tien basismonsters worden gecombineerd tot één verzamelmonster, de variantie ten gevolge van de basismonstername gelijk is aan de variantie van de analytische methode [26]. Er zijn onvoldoende verschillende partijen geanalyseerd om vast te stellen dat deze benadering in het algemeen geldt.

5.2.2.3 Empirische benadering

De relatieve standaarddeviatie ten gevolge van de monstername is bepaald voor de bepaling van aflatoxine B1 in kokosschilfers, kokosschroot en palmpitschilfers [26; 39]. De resultaten zijn weergegeven in Tabel 8. In vergelijking met onderzoeksresultaten van inhomogene partijen zijn de gevonden variatiecoëfficiënten laag (Tabel 3).

Tabel 8. Onzekerheid van de monstername en de som van de monsterbereiding en de analyse, uitgaande van een enkelvoudig monster voor diverse mycotoxinetoepassingen van behandelde producten (n=25) [26; 39].

Matrix, mycotoxine en analyseprocedure	VC% monstername	VC% monsterbereiding + analyse
Kokosschilfers 10 x 100 g basisondermonster combineren 25 g labmonster, duplo, aflatoxine B1	8 - 35	2 - 10
Kokosschroot 10 x 100 g basisondermonster combineren 25 g labmonster, duplo, aflatoxine B1	13 - 38	4 - 16
Palmpitschilfers 10 x 100 g basisondermonster combineren 25 g labmonster, duplo, aflatoxine B1	5 - 40	2 - 7
Maïsglutenvoer 10 x 100 g basisondermonster combineren 25 g labmonster, duplo, aflatoxine B1	5 - 10	2 - 5

De relatieve standaarddeviatie ten gevolge van verschillende monsternameprocedures is empirisch bepaald (Tabel 9) [26; 39]. Hieruit blijkt dat een toename van het aantal verzamelmonsters én een toename van het aantal basisondermonsters per verzamelmonster zorgt voor een verlaging van de relatieve standaarddeviatie door monstername.

Tabel 9. Variatiecoëfficiënt van monstername bij verschillende monsternameprocedure [39].

Aantal verzamelmonsters	Aantal monsters waaruit verzamelmonster is samengesteld	Aantal eindmonsters per verzamelmonster	Totaal aantal genomen monsters	Totaal aantal analyses	Monstername VC%
8	10	2	80	16	4.0
4	20	2	80	8	4.5
4	10	4	40	16	5.0
4	10	2	40	8	5.5
2	20	2	40	4	6.0
2	10	2	20	4	8.0
1	20	2	20	2	9.0
1	20	1	20	1	10.5
1	10	2	10	2	11.0
1	10	1	10	1	12.5

Nadeel van de empirische methode is dat er meerdere monsters genomen dienen te worden die afzonderlijk van elkaar geanalyseerd moeten worden. De empirische benadering is daardoor arbeidsintensief en kostbaar [43].

5.3 Monsterselectie

Het onderzoeken van de wijze waarop basismonsters geselecteerd worden uit een partij is geen onderdeel van dit onderzoek. Het lijkt ons echter wel nuttig om het belang hiervan en de dilemma's die hierbij optreden te benoemen, omdat monsterselectie een belangrijk onderdeel is van de basismonstername.

Een belangrijk aspect van de monsternamestrategie is de wijze waarop basismonsters worden geselecteerd uit een partij: de monsterselectie. Een goede monsternameprocedure geeft een gelijke kans dat ieder deel van de partij bemonsterd wordt [44], omdat extra onzekerheid wordt geïntroduceerd indien procedures of gebruikte instrumenten bepaalde delen van de partij uitsluiten van monstername [47]. Voorbeelden hiervan zijn het bemonsteren van een partij in een zeeschip waarbij niet iedere zone van de partij fysiek bereikbaar is en het bemonsteren van graanmonsters met een buisvormig monsternameinstrument waarbij de kans op het selecteren van grote granen kleiner is. In deze gevallen is het geselecteerde monster niet volledig representatief voor de partij [8].

Ook indien een partij voorafgaand aan het transport of opslag gehomogeniseerd is, is het van belang dat uit elk deel van de partij een basismonster genomen kan worden, omdat er niet altijd vanuit gegaan kan worden dat de partij homogeen verdeeld blijft. Lokale omstandigheden, zoals een lokaal vochtgehalte in geïsoleerde delen van het monster kunnen leiden tot lokaal ontstaan van natuurlijke contaminanten, zoals mycotoxines [44]. Daarnaast kan opslag en transport leiden tot segregatie van eenheden op basis van grootte.

Het verkrijgen van representatieve basismonsters is voor dynamische monsters (bijvoorbeeld monster op lopende band of uitstroom van silo) goed uitvoerbaar mits de partij binnen beperkte tijd uitstroomt. Van dynamische monsters kunnen eenvoudig op reguliere tijdstippen basismonsters genomen worden [8]. Belangrijk is dat basismonsters genomen worden over de gehele doorsnede van de monsteruitstroom. Voor statische monsters (bijvoorbeeld opgeslagen in schepen of afzonderlijke zakken) is het zeer ingewikkeld om representatieve basismonsters te nemen [44]. Voor monstername en -selectie van dynamische monsters die over een grote tijdsperiode uitstromen en van statische monsters waarvan niet elk deel van de partij bereikbaar is, zijn in een SANCO-document richtlijnen besproken [48]. Dit document is toepasbaar voor mycotoxinecontrole in voedselproducten, voeder en diervoedergrondstoffen. Het toepassen van een vastgelegd monsterselectiebeleid, waarin een aantal basismonsters systematisch of random worden genomen, is zowel voor dynamische als statische monsters wenselijk.

5.4 Monsterbereiding

5.4.1 *Heterogene partijen*

De variantie ten gevolge van de monsterbereiding is afhankelijk van de mate waarin het verzamelmonster gehomogeniseerd wordt [31; 36; 37; 38; 49] en in mindere mate van de grootte van het eindmonster [20; 32] en de gemiddelde concentratie van het contaminant in het basismonster [20; 37].

Ook voor monsterbereiding is een verband beschreven tussen de variantie door monsterbereiding en het gehalte aflatoxine in een partij maïs [22; 32], pinda's [34; 37] en hazelnoot [33] en fumonisin in een partij maïs [35]:

$$s_{mb}^2 = \frac{e}{m_{em}} \bar{x}^f \quad (9)$$

Hierin is s_{mb}^2 de variantie van aflatoxine ten gevolge van bereiding van het eindmonster, \bar{x} het gehalte aflatoxine in de partij en e en f zijn constanten die afhankelijk zijn van de aard van de contaminant en de matrix en m_{em} is de grootte van het eindmonster, uitgedrukt in gewichtseenheden. Uit dit verband volgt dat naarmate het eindmonster groter is, de onzekerheid ten gevolge van de monsterbereiding afneemt. Echter, indien zonder behandeling van de gecombineerde basismonsters een hoeveelheid hele korrels uit het verzamelmonster wordt genomen ter verkrijging van het eindmonster, dan staat dit gelijk aan het nemen van een kleiner basismonster uit de partij en wordt het voordeel van het nemen van meer en grotere basismonsters teniet gedaan [22]. Een verzamelmonster dient daarom goed gehomogeniseerd te worden alvorens een eindmonster wordt genomen.

Het homogeniseren van het verzamelmonster kan plaatsvinden door mengen en/of malen van het monster. Naarmate een verzamelmonster beter wordt gemengd neemt de distributionele heterogeniteit af en naarmate een verzamelmonster fijner wordt gemalen (afhankelijk van de maalmolen) neemt de deeltjesgrootte af en daarmee de constitutionele heterogeniteit. Hiermee leiden zowel mengen al malen tot een afname van de monsterbereidingsonzekerheid [20; 22; 49; 50].

Het malen van het verzamelmonster is niet beschreven in verordening 152/2009 [3] en kan praktisch lastig zijn wanneer de omvang van het verzamelmonster groot is. Het is echter wel aan te bevelen het verzamelmonster zo klein mogelijk te malen alvorens eindmonsters te bereiden. Onderzoek is uitgevoerd naar het verschil in onzekerheid door droog malen en malen met toevoeging van water (slurry malen). Uit deze onderzoeken blijkt dat de variantie door monsterbereiding een factor 2 tot 4 lager is bij slurry malen [50; 51; 52].

Het bereiden van meerdere eindmonsters uit één verzamelmonster heeft weinig invloed op de onzekerheid [36] (Figuur 12). Dit is een logisch gevolg van het goed homogeniseren van de genomen verzamelmonsters.

5.4.2 *Homogene partijen*

Voor de analyse van aflatoxine B1 in partijen kokosschroot, kokosschilfers, palmpitschroot en maïsglutenvoer zijn drie monsterbereidingstechnieken met elkaar vergeleken: malen, mixen en onderverdelen [26; 39]. Hieruit blijkt dat voor relatief homogeen verdeelde partijen de monsterbereidingstechniek geen significant effect heeft op de onzekerheid.

6 Conclusies en aanbevelingen

Voor mycotoxines in met name intacte diervoedergrondstoffen is onderzoek beschreven naar de onzekerheid van de monsternameprocedure. Voor dioxinen zijn geen studies bekend. Er wordt aanbevolen een studie uit te voeren naar de mate van heterogeniteit van partijen diervoedergrondstoffen die van nature met dioxine gecontamineerd zijn.

Het is niet mogelijk een algemene uitspraak te doen over wanneer een partij als homogeen of heterogeen beschouwd kan worden. Dit hangt af van de fractie gecontamineerde eenheden in een partij en de grootte van de genomen basismonsters.

De kans op een zeer heterogene verdeling van mycotoxines in partijen intacte diervoedergrondstoffen is groot. Aangezien de monstername van zeer heterogene partijen een worst case scenario is, wordt geadviseerd, zolang er geen aanvullende data zijn betreffende de mate van heterogeniteit van met dioxine gecontamineerde partijen, voor de monstername van dioxine dezelfde richtlijnen te hanteren als voor mycotoxines.

In EU richtlijnen is helder omschreven dat de meetonzekerheid (de onzekerheid in de analyse) in ogenschouw genomen moet worden bij het nemen van keuringsbeslissingen. De totale meetonzekerheid omvat echter een factor afkomstig van het nemen van basismonsters, de monstervoorbereiding en de analyse. Diverse studies wijzen uit dat de monstername veelal de grootste bron van onzekerheid is. Daarom wordt aanbevolen ook de monsternameonzekerheid in ogenschouw te nemen bij het maken van keuringsbeslissingen.

De onzekerheid in de monstername is vooral afhankelijk van de mate van homogeniteit van een partij. Geconcludeerd wordt dat partijen van intacte producten en laag gecontamineerde partijen veelal heterogeen verdeeld zijn. Partijen van behandelde producten zijn veelal relatief homogeen verdeeld. Wanneer echter sprake is van een partij behandelde producten die bestaat uit diverse subpartijen met verschillende herkomst, dan is deze partij tevens heterogeen en dient als zodanig behandeld te worden. Het analyseresultaat van een heterogene partij kan het beste beschreven worden met een scheef betrouwbaarheidsinterval. Voor partijen waarvan verwacht wordt dat ze homogeen verdeeld zijn volstaat een regulier betrouwbaarheidsinterval.

Voor heterogene partijen is geconcludeerd dat het nemen van meer en grotere basismonsters leidt tot een kleinere onzekerheid. Dit geldt met name voor laag gecontamineerde partijen. Voor homogene partijen is de invloed van het aantal en de grootte van het basismonster beperkt. Er zijn heldere richtlijnen opgesteld voor het minimaal aantal te nemen basismonsters, verzamelmonsters en eindmonsters, maar dit leidt nog niet tot een eenduidige aanpak. In bijlage 1 is een concrete aanbeveling opgenomen voor het aantal te nemen basis-, verzamel- en eindmonsters. Het is van belang dat basismonsters at random geselecteerd worden en dat elk deel van een partij een gelijke kans heeft op selectie zodat de monsternameonzekerheid binnen de perken blijft. De monsterselectie is geen onderdeel van deze studie, maar er wordt aanbevolen dit aspect nader te onderzoeken.

Het is van groot belang dat verzamelmonsters goed worden gehomogeniseerd. Wanneer dit niet gebeurt wordt het effect van het nemen van meer en grotere basismonsters teniet gedaan. Er wordt geadviseerd om verzamelmonsters van met name intacte producten naast het mengen ook zo klein mogelijk te malen (bijv. 2 mm) voordat de eindmonsters worden genomen.

De onzekerheid van de monstername kan bepaald worden op basis van theoretische formules, theoretische modellering of empirisch bepaald worden. Geconcludeerd is dat geen van beide theoretische benaderingen leidt tot een goede a priori schatting van de totale onzekerheid van het analyseresultaat van elke afzonderlijke partij.

Indien meerdere verzamelmonsters worden bereid, waaruit onafhankelijke eindmonsters worden genomen die afzonderlijk worden geanalyseerd, dan kan een empirische benadering toegepast worden. In dit geval wordt aanbevolen uit de resultaten van de afzonderlijke eindmonsters een spreiding te berekenen op basis waarvan een betrouwbaarheidsinterval bepaald kan worden. De keuringsbeslissing wordt genomen op basis van dit betrouwbaarheidsinterval. Een voorbeeld staat in bijlage 2 en 3. In geval slechts één verzamelmonster wordt bereid (voor kleine partijen en homogeen verdeelde partijen), dan wordt een worst case situatie aanbevolen, uitgaande van de theoretische maximale onzekerheid van het analyseresultaat. Hiervoor dient tijdens de monsternameprocedure van elk basismonster een deel apart gearhiveerd te worden. Na analyse van het reguliere eindmonster wordt een betrouwbaarheidsinterval opgesteld op basis van een worst case benadering betreffende de monsternameonzekerheid. Indien het resultaat onder de maximale limiet valt of indien het betrouwbaarheidsinterval van het analyseresultaat volledig boven de maximale limiet ligt, dan kan de partij afgehandeld worden. Indien het resultaat boven de maximale limiet ligt én het betrouwbaarheidsinterval de maximale limiet omvat dan dienen de afzonderlijke basismonsters geanalyseerd te worden (met een maximum van een at random selectie van 20 stuks) om het betrouwbaarheidsinterval van de specifieke partij vast te stellen. Op basis van dit betrouwbaarheidsinterval wordt de definitieve keuringsbeslissing genomen. Deze benadering is analoog aan de procedure die geldt voor bemonstering en opsporing van genetisch gemodificeerde organismen [53] en is voor heterogeen verdeelde partijen beschreven in bijlage 2, waarbij uitgegaan wordt van een scheef betrouwbaarheidsinterval en voor homogene partijen in bijlage 3, waarbij wordt uitgegaan van betrouwbaarheidsintervallen op basis van een normale verdeling.

Tabel 10. Overzicht van de aanbevelingen

	Aanbeveling
1	Houd bij het maken van keuringsbeslissingen niet alleen rekening met de meetonzekerheid (onzekerheid in de analyse), maar ook met de monsternameonzekerheid.
2	Neem minimaal het aantal basis-, verzamel- en eindmonsters zoals beschreven in bijlage 1.
3	Maal verzamelmonsters additioneel aan het mengen ter verkrijging van een homogeen verzamelmonster.
4	Voer een studie uit naar de verdeling van dioxinen in diverse gecontamineerde partijen diervoedergrondstof.
5	Hanteer voor dioxine-analyse de richtlijnen en uitgangspunten die gelden voor mycotoxinen zolang geen data voorhanden zijn betreffende de verdeling van dioxinen in partijen diervoedergrondstoffen
6	Voer een onderzoek uit naar de toegepaste wijze van monsterselectie en de invloed hiervan op de monsternameonzekerheid.
7	Voor het nemen van een keuringsbeslissing in achtnemend de totale onzekerheid: bereken de totale spreiding op basis van minimaal drie onafhankelijke eindmonsters (afkomstig uit minimaal drie onafhankelijke verzamelmonsters) of pas een worst case benadering toe indien minder dan drie onafhankelijke eindmonsters genomen worden (bijlage 2 en 3).

7 Referenties

- [1]R.W. Gerlach, and J.M. Nocerino, Guidance for Obtaining Representative Laboratory Analytical Subsamples from Particulate Laboratory Samples. in: E.P. Agency, (Ed.), EPA, 2003.
- [2]M.H. Ramsey, When is sampling part of the measurement process. *Accredit. Qual. Assur.* 9 (2004) 727-728.
- [3]EG/152/2009 tot vaststelling van de bemonsterings- en analysemethoden voor de officiële controle van diervoeders, Publicatieblad van de Europese Unie L54 (2009) 1.
- [4]J.M. Eijkelkamp, H.J. Van Egmond, and J. De Jong, Toepassing van meetonzekerheid bij de officiële controle van diervoeders, Rikilt - Institute of Food Safety, 2007.
- [5]R.J. Barneveld van, Physical and chemical contaminants in grains used in livestock feeds. *Aust. J. Agric. Res.* 50 (1999) 807-823.
- [6]A. Venâncio, and R. Paterson, The Challenge of Mycotoxins. in: A. McElhatton, and R.J. Marshall, (Eds.), *Food Safety, A Practical and Case Study Approach*, Springer US, 2007.
- [7]P. Gy, Sampling of discrete materials: II. Quantitative approach--sampling of zero-dimensional objects. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems* 74 (2004) 25-38.
- [8]F. Cheli, A. Campagnoli, L. Pinotti, E. Fusi, and V. Dellorto, Sampling feed for Mycotoxins: acquiring knowledge from food. *Ital. J. Anim. Sci.* 8 (2009) 5-22.
- [9]R. Hogg, Characterization of relative homogeneity in particulate mixtures. *Int. J. Miner. Process.* 72 (2003) 477.
- [10]R. Knutti, and C. Schlatter, Distribution of aflatoxin in whole peanut kernels, sampling plans for small samples. *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und -Forschung A* 174 (1982) 122-128.
- [11]F.G. Giesbrecht, and T.B. Whitaker, Investigations of the Problems of Assessing Aflatoxin Levels in Peanuts. *Biometrics* 54 (1998) 739-753.
- [12]M. Vandeven, Statistical Approach for Risk Assessment of Aflatoxin Sampling Plan Used by Manufacturers for raw Shelled Peanuts. *J AOAC Int* 85 (2002) 925-932.
- [13]G.H. Brown, The distribution of total aflatoxin levels in composited samples of peanuts. *Food Technology in Australia* 36 (1984) 128-130.
- [14]T.B. Whitaker, and J.W. Dickens, Comparison of the Observed Distribution of Aflatoxin in Shelled Peanuts to the Negative Binomial Distribution. *J Am Oil Chemists Soc* 49 (1972) 590-593.
- [15]A.S. Johansson, T.B. Whitaker, F.G. Giesbrecht, W.M. Hagler, and J.H. Young, Testing shelled corn for aflatoxin, Part II: modelling the observed distribution of aflatoxin test results. *J. AOAC Int.* 83 (2000) 1270-1278.
- [16]M. Castells, S. Marín, V. Sanchis, and A.J. Ramos, Distribution of fumonisins and aflatoxins in corn fractions during industrial cornflake processing. *Int. J. Food Microbiol.* 123 (2008) 81-87.
- [17]T.B. Whitaker, W.M. Hagler, A.S. Johansson, F.G. Giesbrecht, and M.W. Trucksess, Distribution among Sample Test Results when Testing Shelled Corn Lots for Fumonisin. *J. AOAC Int.* 84 (2001) 770.
- [18]J. Velasco, T. Whitaker, and M. Whitten, Sampling cottonseed lots for aflatoxin contamination. *J Am Oil Chemists Soc* 52 (1975) 191-195.
- [19]T.B. Whitaker, A.B. Slate, J.M. Hurley, and F.G. Giesbrecht, Sampling Almonds for Aflatoxins, Part II: Estimating Risks Associated with Various Sampling Plan Designs. *J. AOAC Int.* 90 (2007) 778.
- [20]T.B. Whitaker, Detecting Mycotoxins in Agricultural Commodities. *Molecular Biotechnology* 23 (2003) 61.
- [21]T. Whitaker, F. Giesbrecht, and J. Wu, Suitability of Several Statistical Models to Simulate Observed Distribution of Sample Test Results in Inspections of Aflatoxin-Contaminated Peanut Lots. *J. AOAC Int.* 79 (1996) 981.

- [22]T.B. Whitaker, and A.S. Johansson, Sampling Uncertainties for the Detection of Chemical Agents in Complex Food Matrices. *J. Food Prot.* 68 (2005) 1306-1313.
- [23]T.F. Schatzki, Distribution of aflatoxin in pistachios. 7. Sequential Sampling. *J. Agric. Food Chem.* 48 (2000) 4365-4368.
- [24]R. MacArthur, S. MacDonald, P. Brereton, and A. Murray, Statistical Modelling as an aid to the design of retail sampling plans for mycotoxins in food. *Food Addit. Contam.* 23 (2006) 84-92.
- [25]T.B. Whitaker, W.M. Hagler, F.G. Giesbrecht, and A.S. Johansson, Sampling wheat for deoxynivalenol. in: J.W. De Vries, M.W. Trucksess, and L.S. Jackson, (Eds.), *Mycotoxin and food safety*, kluwer Academic/Plenum Publisher, New York, 2002, pp. 73-83.
- [26]R. Coker, M.J. Nagler, P. Defize, G. Derksen, H. Buchholz, H.A. Putzka, H. Hoogland, and A. Roos, The development of sampling plans for the determination of aflatoxin B1 in animal feedingstuffs. in: E. Commission, (Ed.), *bcr information, chemical analysis*, European Commission, 1998.
- [27]EU, Report on relationship between analytical results measurement uncertainty recovery factors and the provisions of EU food and feed legislation. (2004).
- [28]EU/178/2010, amending Regulation (EC) No 401/2006 as regards groundnuts (peanuts), other oilseeds, tree nuts, apricot kernels, liquorice and vegetable oil. *Publicatieblad van de Europese Unie* L52 (2010) 32.
- [29]T. Whitaker, J. Dickens, and R. Monroe, Variability of aflatoxin test results. *J Am Oil Chemists Soc* 51 (1974) 214-218.
- [30]T. Whitaker, and M. Whitten, Evaluation of cottonseed aflatoxin testing programs. *J Am Oil Chemists Soc* 54 (1977) 436-441.
- [31]T. Whitaker, J. Dickens, and R. Monroe, Variability associated with testing corn for aflatoxin. *J Am Oil Chemists Soc* 56 (1979) 789-794.
- [32]A.S. Johansson, T.B. Whitaker, W.M. Hagler, F.G. Giesbrecht, J.H. Young, and D.T. Bowman, Testing Shelled Corn for Aflatoxin, Part 1: Estimation of Variance Components. *J. AOAC Int.* 83 (2000) 1264.
- [33]G. Ozay, F. Seyhan, A. Yilmaz, T.B. Withaker, A.B. Slate, and F. Giesbrecht, Sampling Hazelnuts for Aflatoxin: Uncertainty Associated with Sampling, Sample Preparation, and Analysis. *J. AOAC Int.* 89 (2006) 1004.
- [34]T.B. Whitaker, J.W. Dorner, F.E. Dowell, and F.G. Giesbrecht, Variability Associated with Chemically Testing Screened Farmers Stock Peanuts For Aflatoxin. *Peanut Science* 19 (1992).
- [35]T.B. Whitaker, M.W. Trucksess, A.S. Johansson, F.G. Giesbrecht, W. Hagler, and D.T. Bowman, Variability Associated with Testing Shelled Corn for Fumonisin. *J. AOAC Int.* 81 (1998) 1162-1168.
- [36]L.P. Hart, and O. Schabenberger, Variability of Vomitoxin in Truckloads of Wheat in a Wheat Scab Epidemic Year. *Plant Dis.* 82 (1998) 625-630.
- [37]T.B. Whitaker, F.E. Dowell, W.M. Hagler, F.G. Giesbrecht, and J. Wu, Variability Associated with Sampling, Sample Preparation, and Chemical Testing for Aflatoxin in Farmers' Stock Peanuts. *J. AOAC Int.* 77 (1994) 107.
- [38]T.B. Whitaker, Standardisation of mycotoxin sampling procedures: an urgent necessity. *Food Control* 14 (2003) 233-237.
- [39]R.D. Coker, M. Nagler, p.R. Defize, B. Derksen, H. Buchholz, H.A. Putzka, H.P. Hoogland, A.H. Roos, and A. Boenke, Sampling Plans for the Determination of Aflatoxin B1 in Large Shipments of Animal Feedstuffs. *J. AOAC Int.* 83 (2000) 1252.
- [40]F.R. Pitard, *Pierre Gy's Sampling Theory and Sampling Practice: Heterogeneity, Sampling Correctness and Statistical Process Control*, CRC Press, Boca Raton, FL, 1993.
- [41]P. Gy, Part IV: 50 years of sampling theory - a personal histroy. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems* 74 (2004) 49-60.
- [42]P. Minkinen, Evaluation of the Fundamental Sampling Error in the Sampling of Particulate Solids. *Analytica Chimica Acta* 196 (1987) 237-245.
- [43]J.A. Lyn, M.H. Ramsey, A.P. Damant, and R. Wood, Empirical versus modelling approaches to the estimation of measurement uncertainty caused by primary sampling. *Analyst* 132 (2007) 1231-1237.

- [44]T.B. Whitaker, Sampling Foods for Mycotoxins. *Food Addit. Contam.* 23 (2006) 50-61.
- [45]A.D. Campbell, T.B. Whitaker, A.E. Pohland, J.W. Dickens, and D.L. Park, Sampling, sample preparation, and sampling plans for foodstuffs for mycotoxin analysis. *Pure & Appl. Chem.* 58 (1986) 305-314.
- [46]T.B. Whitaker, and F.E. Dowell, Sampling Methods to measure Aflatoxin and Grade Factors of Peanuts. in: H.E. Pattee, and H.T. Stalker, (Eds.), *Advances in peanut Science*, American Peanut Research and Education Society, Inc., Stillwater, 1995, pp. 475-499.
- [47]D.L. Park, T.B. Whitaker, F.G. Giesbrecht, and H. Njapau, Performance of Three Pneumatic Probe Samplers and Four Analytical Methods Used to Estimate Aflatoxins in Bulk Cottonseed. *J. AOAC Int.* 83 (2000) 1247.
- [48]Guidance document for the sampling of cereals for mycotoxins. European Commission, DG SANCO; <http://ec.europa.eu/food/food/chemicalsafety/contaminants/guidance-sampling-final.pdf>
- [49]J.W. Dorner, and R.J. Cole, Variability among peanut subsamples prepared for aflatoxin analysis with four mills. *J. AOAC Int.* 76 (1993) 983-987.
- [50]M.C. Spanjer, J.M. Scholten, S. Kastrup, S. Jörissen, U. Schatzki, and N. Toyofuku, Sample comminution for mycotoxin analysis: Dry milling or slurry mixing? *Food Addit. Contam.* 23 (2006) 73-83.
- [51]U. Schatzki, and N. Toyofuku, Sampling and sample preparation of pistachios. in: D. Barug, H.P. Van Egmond, R. Lopez-Garcia, W.A. OVan Osenbruggen, and A. Visconti, (Eds.), *The Mycotoxin Menace*, Wageningen Academic Publishers, Wageningen, 2004, pp. 221-235.
- [52]J. Valesco, and S.L. Morris, Use of water slurries in aflatoxin analysis. *J. Agric. Food Chem.* 24 (1976) 320-340.
- [53]EG/787/2004, on technical guidance for sampling and detection of genetically modified organisms and material produced from genetically modified organisms as or in products in the context of Regulation (EC) No 1830/2003, *Publicatieblad van de Europese Unie* L348 (2004) 18.

Annex I Aanbeveling monsternameprocedure

Deze aanbevelingen zijn gebaseerd op de minimaal vereiste aantallen en hoeveelheden zoals beschreven in EG/152/2009 en op de richtlijn aangaande de opsporing van genetisch gemodificeerde organismen en materiaal geproduceerd met genetisch gemodificeerde organismen 2004/787/EG.

Monsternameprocedure voor homogene monsters:

Partijgrootte (ton)		$m \leq 2,5$	$m > 2,5$
Nemen basisonsters	Aantal	7	$\sqrt{20m}$, max = 40*
	Minimale massa (kg)	1,0	0,9
Splitsen basisonsters	Aantal delen	2	2
Basisonster archief	Minimale massa (kg)	$\pm 0,4$	$\pm 0,4$
Basisonster voor bereiding verzamelmonster	Minimale massa (kg)	$\pm 0,6$	$\pm 0,5$
Bereiden verzamelmonsters	Aantal	1	1
	Minimale massa (kg)	4	4
Te bereiden eindmonsters	Aantal	3	3
	Minimale massa (kg)	0,5	0,5
Te analyseren eindmonsters	Aantal	1	1

m = massa van de partij uitgedrukt in ton.

*Naar boven afronden op geheel getal.

Monsternameprocedure voor heterogene of mogelijk niet homogene monsters:

Partijgrootte (ton)		$m \leq 1$	$1 < m \leq 2,5$	$2,5 < m \leq 10$	$10 < m \leq 40$	$m > 40$
Nemen basisonsters	Aantal	7	8	$\sqrt{20m}$ *	$\sqrt{20m}$ *	$\sqrt{20m}$ * max = 40
	Minimale massa (kg)	$\geq 1,0$	$\geq 1,4$	$\geq 1,4$	$\geq 1,2$	$\geq 1,0$
Splitsen basisonsters	Aantal delen	2	2	2	nvt	nvt
Basisonster archief	Minimale massa (kg)	$\pm 0,4$	$\pm 0,4$	$\pm 0,4$	-	-
Basisonster voor bereiding verzamelmonster	Minimale massa (kg)	$\pm 0,4$	$\pm 1,0$	$\pm 1,0$	$\pm 1,2$	$\pm 1,0$
Bereiden verzamelmonsters	Aantal	1	2	2	3	4
	Minimale massa (kg)	4	4	4	4	4
Te bereiden eindmonsters	Aantal	3	6	6	9	12
	Minimale massa (kg)	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Te analyseren eindmonsters	Aantal	1	2**	2**	3**	4**

m = massa van de partij uitgedrukt in ton.

*Naar boven afronden op geheel getal.

** Eén eindmonster per verzamelmonster

Annex II Aanbeveling keuring heterogene partijen

Procedure voor heterogene en mogelijk niet homogene partijen:

Indien van een partij minimaal drie onafhankelijke verzamelmonsters (en dus drie onafhankelijke eindmonsters) worden bereid, dienen deze afzonderlijk geanalyseerd te worden conform EC/152/2009. Bereken op basis van de analyseresultaten een gemiddelde M en een relatieve standaarddeviatie (VC). Aan de hand van deze parameters wordt een scheef betrouwbaarheidsinterval berekend voor de ware waarde (μ) op basis van de logaritmische verdeling:

$$M / k^2 \leq \mu \leq M \times k^2, \text{ waarbij } k = e^{VC/100}$$

Indien het gemiddelde boven de maximale limiet ligt én het betrouwbaarheidsinterval omvat de maximale limiet niet, dan is met zekerheid een overschrijding van de maximale limiet aangetoond. In alle andere gevallen is geen overschrijding met zekerheid aangetoond. (zie voorbeeld 1).

Voor kleine heterogene partijen (<10 ton) worden conform EC/152/2009 minder dan drie verzamelmonsters en dus minder dan drie onafhankelijke eindmonsters bereid. De hieruit volgende data zijn ontoereikend voor de berekening van de totale onzekerheid. In dit geval kan besloten worden om meerdere onafhankelijke verzamelmonsters te bereiden. Indien dit ongewenst/onmogelijk is wordt de volgende procedure geadviseerd.

Voor diverse heterogeen verdeelde partijen is de onzekerheid van de basismonstername bepaald (Tabel 7). Hierin is de hoogste variatiecoëfficiënt voor de basismonstername gelijk aan 92,7%. Voor de worst case benadering wordt, uitgaande van een correcte monsteselectieprocedure uitgegaan van een worst case variatiecoëfficiënt van 100%. Er vanuit gaande dat een verzamelmonster goed wordt gehomogeniseerd alvorens eindmonsters worden bereid, wordt de onzekerheid in de monsterbereiding en de analyse als verwaarloosbaar beschouwd om rekentechnische redenen.

De totale onzekerheid over een analyseresultaat kan dan berekend worden met:

$$VC_{res}^2 = \frac{VC_{bmn}^2}{n_{bm}}$$

Hierin is VC_{res} de variatiecoëfficiënt van het analyseresultaat, VC_{bmn} de variatiecoëfficiënt van de basismonstername (%) en n_{bm} het aantal basismonsters. Dit komt overeen met de volgende formule waarmee op basis van het aantal genomen basismonsters de worst case variatiecoëfficiënt van het analyseresultaat berekend kan worden:

$$VC_{res} = \frac{100}{\sqrt{n_{bm}}}$$

Aan de hand van deze onzekerheid wordt een scheef betrouwbaarheidsinterval berekend op basis van de logaritmische verdeling:

$$M / k^2 \leq \mu \leq M \times k^2, \text{ waarbij } k = e^{VC_{\text{res}}/100}$$

Hierin is M het bepaalde gemiddelde gehalte van de partij, VC_{res} de worst case variatiecoëfficiënt van het analyseresultaat uitgedrukt in procenten en μ de werkelijke waarde van de partij. Indien de gemiddelde waarde onder de maximale limiet ligt of als het betrouwbaarheidsinterval volledig boven de maximale limiet ligt, dan kan het analyseresultaat gerapporteerd worden. Indien het gemiddelde boven de maximale limiet ligt én de maximale limiet binnen het betrouwbaarheidsinterval ligt, dan worden de apart gearcheverde delen van de afzonderlijke basismonsters (maximaal een at random selectie van 20) gehomogeniseerd en uit elk basismonster een eindmonster bereid en geanalyseerd ter bepaling van de totale onzekerheid van de specifieke partij (zie voorbeeld 2 en 3).

Voorbeeld 1:

Een mogelijk heterogeen verdeelde partij bestaat uit 22 ton pinda's. Er dienen 21 basismonsters en drie verzamelmonsters bereid te worden. De partij wordt fictief opgedeeld in drie gelijke delen en uit elk deel worden 7 basismonsters van minimaal 570 g genomen. Deze worden per deel gecombineerd en gehomogeniseerd. Uit de verzamelmonsters worden 3 eindmonsters van 500 g genomen, waarvan er per verzamelmonster één wordt geanalyseerd.

Indien voor de drie eindmonsters respectievelijk gehalten worden bepaald van 15,3; 20,7 en 29,1 $\mu\text{g/kg}$, dan is het gemiddelde 21,7 en de standaarddeviatie 7,0. De relatieve standaarddeviatie is 32% en k is dan 1,38 (conform bovenstaande formule). Het betrouwbaarheidsinterval is dan:

$$13,2 \leq \mu \leq 47,5$$

Indien de maximale limiet 10 $\mu\text{g/kg}$ is, ligt dit betrouwbaarheidsinterval volledig boven de maximale limiet. De partij wordt afgekeurd.

Voorbeeld 2:

Een mogelijk heterogeen verdeelde partij bestaat uit 9 ton pistachenoten. Er dienen 14 basismonsters en twee verzamelmonsters bereid te worden. De partij wordt fictief opgedeeld in twee gelijke delen en uit elk deel worden 7 basismonsters van minimaal 1,4 kg genomen. Van elk basismonster wordt 0,4 kg onbehandeld opgeslagen en per deel van de partij wordt de rest van de basismonsters samengevoegd, zodat twee verzamelmonsters ontstaan. Deze worden gehomogeniseerd door malen en mengen. Uit beide verzamelmonsters worden 3 eindmonsters van 500 g genomen, waarvan er per verzamelmonster één wordt geanalyseerd.

De worst case variatiecoëfficiënt van het resultaat bij 14 basismonsters is 26,7%. k komt dan overeen met 1,31. Indien een gemiddeld analyseresultaat van de beide eindmonsters overeenkomt met 5,0 $\mu\text{g/kg}$ dan is het betrouwbaarheidsinterval:

$$2,9 \leq \mu \leq 8,5$$

Indien de maximale limiet 10 µg/kg is, ligt dit betrouwbaarheidsinterval volledig onder de maximale limiet. De partij kan geaccepteerd worden.

Voorbeeld 3:

Een mogelijk heterogeen verdeelde partij bestaat uit 2 ton pinda's. Hieruit worden 8 basismonsters van minimaal 1,4 kg genomen. Van elk basismonster wordt 0,4 kg onbehandeld opgeslagen en de rest van de basismonsters worden samengevoegd tot een verzamelmonster en gehomogeniseerd. Uit het verzamelmonster worden 3 eindmonsters van 500 g genomen, waarvan er één wordt geanalyseerd. De worst case variatiecoëfficiënt bij 8 basismonsters is 35,5%. k komt dan overeen met 1,42. Indien een analyseresultaat van 18,0 µg/kg zou zijn gevonden is het betrouwbaarheidsinterval:

$$8,9 \leq \mu \leq 36,5$$

Indien de maximale limiet 10 µg/kg is, wordt geconcludeerd dat het gemiddelde boven de maximale limiet ligt én dat de maximale limiet binnen het betrouwbaarheidsinterval valt: er kan geen goede conclusie worden getrokken op basis van de worst case benadering. De apart gearchiveerde delen van de afzonderlijke basismonsters worden gehomogeniseerd door malen en mengen, waarna uit ieder basismonster een eindmonster wordt bereid. Deze eindmonsters worden afzonderlijk geanalyseerd. Indien de resultaten van deze afzonderlijke analyses overeenkomen met: 0; 0; 13,4; 15,1; 20,2; 26,3; 34,9 en 36,6 dan is het gemiddelde gelijk aan 18,3, de standaarddeviatie 14,0 en de variatiecoëfficiënt 76,7%. Er zijn 8 basismonsters genomen, dus VC_{res} is gelijk aan 27,1%. k is dan 1,31 en het betrouwbaarheidsinterval:

$$10,6 \leq \mu \leq 31,5$$

De onzekerheid in de basismonsternamen is nu specifiek bepaald voor de betreffende partij. Deze blijkt lager te liggen dan de waarde waarvan uit werd gegaan in de worst case benadering. Op basis van de partijspecifieke gegevens wordt een betrouwbaarheidsinterval berekend dat volledig boven de maximale limiet ligt. De partij kan nu met 95% zekerheid afgekeurd worden.

Annex III Aanbeveling keuring homogene partijen

Procedure voor homogene partijen:

Voor homogene partijen is voorgeschreven dat één verzamelmonster bereid dient te worden. Derhalve dient ter vaststelling van een betrouwbaarheidsinterval uitgegaan te worden van een maximale theoretische waarde. Indien ervoor gekozen wordt de meetonzekerheid empirisch te bepalen, dan dient de monsternameprocedure aangepast te worden (voorbeeld 4).

Voor diverse homogene partijen is de onzekerheid van de basismonstername bepaald (Tabel 8). Hierin is de hoogste variatiecoëfficiënt voor de basismonstername gelijk aan 40%. Voor de worst case benadering wordt, uitgaande van een correcte monsteselectieprocedure uitgegaan van een worst case variatiecoëfficiënt van 50%. Er vanuit gaande dat een verzamelmonster goed wordt gehomogeniseerd alvorens eindmonsters worden bereid, wordt de onzekerheid in de monsterbereiding en de analyse als verwaarloosbaar beschouwd. De totale relatieve onzekerheid over een analyseresultaat (VC_{res}) kan dan berekend worden met:

$$VC_{res}^2 = \frac{VC_{bmn}^2}{n_{bm}}$$

Hierin is VC_{res} de variatiecoëfficiënt van het analyseresultaat, VC_{bmn} de variatiecoëfficiënt van de basismonstername (%) en n_{bm} het aantal basismonsters (%). Dit komt overeen met de volgende formule waarmee op basis van het aantal genomen basismonsters de worst case absolute standaarddeviatie van het analyseresultaat (s_{res}) berekend kan worden:

$$s_{res} = \frac{50}{\sqrt{n_{bm}}} \times M/100$$

Op basis hiervan wordt een betrouwbaarheidsinterval berekend op basis van de normale verdeling:

$$M - 2s_{res} \leq \mu \leq M + 2s_{res}$$

Hierin is M het bepaalde gemiddelde gehalte van de partij, s_{res} de worst case standaarddeviatie van het analyseresultaat en μ de werkelijke waarde van de partij. Indien het betrouwbaarheidsinterval volledig onder of boven de maximale limiet ligt, dan kan het analyseresultaat gerapporteerd worden. Indien de gemiddelde waarde boven de maximale limiet ligt én de maximale limiet binnen het betrouwbaarheidsinterval valt, dan worden de apart gearhiveerde delen van de afzonderlijke basismonsters (maximaal een at random selectie van 20) gehomogeniseerd en uit elk basismonster een eindmonster bereid en geanalyseerd ter bepaling van de totale onzekerheid van de specifieke partij (zie voorbeeld 4 t/m 6).

Voorbeeld 4:

Een homogeen verdeelde partij bestaat uit 28 ton pinda's. Er dienen 24 basismonsters en minimaal één verzamelmonster bereid te worden. Er wordt echter voor gekozen om de spreiding empirisch te bepalen, zodat splitsing van alle basismonsters voorkomen wordt terwijl toch een goede schatting van de meetonzekerheid kan plaatsvinden. De partij wordt fictief opgedeeld in drie gelijke delen en uit elk deel worden 8 basismonsters van minimaal 500 g genomen. Deze worden per deel gecombineerd en gehomogeniseerd. Uit de verzamelmonsters worden 3 eindmonsters van 500 g genomen, waarvan er per verzamelmonster één wordt geanalyseerd.

Indien voor de drie eindmonsters respectievelijk gehalten worden bepaald van 8,2; 13,6 en 11,2 µg/kg worden gevonden, dan is het gemiddelde 11,0 en de standaarddeviatie 2,7. Het betrouwbaarheidsinterval is dan:

$$5,6 \leq \mu \leq 16,4$$

Indien de maximale limiet 10 µg/kg is, omvat het betrouwbaarheidsinterval de maximale limiet. Aangezien de onzekerheid empirisch bepaald is, geldt deze voor de specifieke partij. Op basis van dit resultaat kan niet met zekerheid geconcludeerd worden dat de partij niet voldoet. De partij wordt goedgekeurd.

Voorbeeld 5:

Een homogeen verdeelde partij bestaat uit 12 ton kokosschroot afkomstig van één bron. Hieruit worden 16 basismonsters van minimaal 0,9 kg genomen. Van elk basismonster wordt 0,4 kg onbehandeld opgeslagen en de rest van de basismonsters worden samengevoegd tot een verzamelmonster en gehomogeniseerd. Uit het verzamelmonster worden 3 eindmonsters van 500 g genomen, waarvan er één wordt geanalyseerd.

Indien een analyseresultaat van 14,0 µg/kg zou zijn gevonden is de worst case standaarddeviatie bij 16 basismonsters 1,75. Het betrouwbaarheidsinterval is dan:

$$10,5 \leq \mu \leq 17,5$$

Indien de maximale limiet 10 µg/kg is, wordt geconcludeerd dat het betrouwbaarheidsinterval volledig boven de maximale limiet ligt en moet de partij afgekeurd worden.

Voorbeeld 6:

Een homogeen verdeelde partij bestaat uit 2 ton kokosschroot afkomstig van één bron. Hieruit worden 7 basismonsters van minimaal 1,0 kg genomen. Van elk basismonster wordt 0,4 kg onbehandeld opgeslagen en de rest van de basismonsters worden samengevoegd tot een verzamelmonster en gehomogeniseerd. Uit het verzamelmonster worden 3 eindmonsters van 500 g genomen, waarvan er één wordt geanalyseerd. Indien een analyseresultaat van 14,0 µg/kg zou zijn gevonden is de worst case standaarddeviatie bij 7 basismonsters 2,65. Het betrouwbaarheidsinterval is dan:

$$8,7 \leq \mu \leq 19,3$$

Indien de maximale limiet 10 µg/kg is, wordt geconcludeerd dat het gemiddelde boven de maximale limiet ligt én dat de maximale limiet binnen het betrouwbaarheidsinterval valt: er kan geen goede conclusie worden getrokken op basis van de worst case benadering. De apart gearchiveerde delen van de afzonderlijke basismonsters worden gehomogeniseerd door malen en mengen, waarna uit ieder basismonster een eindmonster wordt bereid. Deze eindmonsters worden afzonderlijk geanalyseerd. Indien de resultaten van deze afzonderlijke analyses overeenkomen met: 10,2; 11,7; 13,0; 13,9; 14,5; 15,2 en 18,3 dan is het gemiddelde gelijk aan 13,8 en de standaarddeviatie 2,60. Er zijn 7 basismonsters genomen, dus s_{res} is gelijk aan 0,98 en het betrouwbaarheidsinterval:

$$11,9 \leq \mu \leq 15,8$$

De onzekerheid in de basismonstername is nu specifiek bepaald voor de betreffende partij. Deze blijkt lager te liggen dan de waarde waarvan uit werd gegaan in de worst case benadering. Ondanks het feit dat het gemiddelde analyseresultaat lager ligt dan het initieel bepaalde analyseresultaat, wordt op basis van de partijspecifieke gegevens een betrouwbaarheidsinterval berekend dat volledig boven de maximale limiet ligt. De partij wordt afgekeurd.

