

Validering av Foss Kjeltec 8400

Jarle Wang-Andersen





Nofima er et næringsrettet forskningsinstitutt som driver forskning og utvikling for akvakulturnæringen, fiskerinæringen og matindustrien.

Nofima har om lag 370 ansatte.

Hovedkontoret er i Tromsø, og forskningsvirksomheten foregår på fem ulike steder: Ås, Stavanger, Bergen, Sunndalsøra og Tromsø

Hovedkontor Tromsø:

Muninbakken 9–13
Postboks 6122 Langnes
NO-9291 Tromsø

Ås:

Osloveien 1
Postboks 210
NO-1433 ÅS

Stavanger:

Måltidets hus, Richard Johnsenegate 4
Postboks 8034
NO-4068 Stavanger

Bergen:

Kjerreidviken 16
Postboks 1425 Oasen
NO-5844 Bergen

Sundalsøra:

Sjølsengvegen 22
NO-6600 Sunndalsøra

Alta:

Kunnskapsparken, Markedsgata 3
NO-9510 Alta

Felles kontaktinformasjon:

Tlf: 02140

E-post: post@nofima.no

Internett: www.nofima.no

Foretaksnr.:

NO 989 278 835 MVA



Creative commons gjelder når ikke annet er oppgitt

Rapport

<i>Tittel:</i> Validering av Foss Kjelttec 8400	ISBN 978-82-8296-558-3 (pdf) ISSN 1890-579X
<i>Title:</i> Validation of Foss Kjelttec 8400	<i>Rapportnr.:</i> 20/2018
<i>Forfatter(e)/Prosjektleder:</i> Jarle Wang-Andersen	<i>Tilgjengelighet:</i> Åpen
<i>Avdeling:</i> BioLab	<i>Dato:</i> 18.september 2018
<i>Oppdragsgiver:</i> Nofima AS - Bergen	<i>Ant. sider og vedlegg:</i> 18
<i>Stikkord:</i> Validering, Kjelttec, Kjeldahl, proteinanalysator	<i>Oppdragsgivers ref.:</i> 11277
<i>Sammendrag/anbefalinger:</i> Det ble utført en validering av det nye instrumentet Foss Kjelttec 8400 for analyse av nitrogen/råprotein som brukes til metodene A01 Kjeldahl Råprotein og A20 Vannløselig råprotein. Dette er en ny modell med samme måleprinsipp, og erstatter det forrige instrumentet av Foss Kjelttec 8400. Instrumentet er vurdert og godkjent med gyldighetsdato f.o.m. 30.08.18.	
<i>English summary/recommendation:</i> A validation was performed of the new instrument Foss Kjelttec 8400 for the analysis of nitrogen/crude protein used for the methods A01 Kjeldahl Crude protein and A20 Water-soluble Crude Protein. This is a new model with the same measuring principle, and replaces the previous instrument Foss Kjelttec 2400. The instrument is reviewed and approved with effective date as of 30.08.18.	

Innhold

1	Grad av verifisering	1
2	Valideringsplan	2
2.1	Riktighet og linearitet	2
2.1.1	Kontrollregning	2
2.1.2	Recovery- og linearitetstest med ammoniumsulfat	2
2.1.3	Reanalyse av tidligere ringtestprøver	2
2.1.4	Analyse av kalibreringsforbindelse og referansemateriale	2
2.1.5	Analyse av kontrollprøve (KP)	3
2.2	Repeterbarhet	3
3	Konklusjon	4
4	Tabeller og figurer	5

1 Grad av verifisering

Den nødvendige valideringen for installering av et nytt instrument oppgis i Tabell 1. Dette er hentet fra NMKL-prosedyre NR.4 (2009) som angår "Validering av kjemiske analysemetoder".

Tabell 1 Utdrag fra omfang av verifisering fra NMKL-Prosedyre NR.4 (2009).

	Grad av ekstern validering	Anbefalt intern validering
2	Metoden er eksternt validert i en kollaborativ metodeavprøving, men det anvendes en ny matrise eller et nytt instrument.	Verifisering av riktighet og presisjon og eventuelt av kvantifiseringsgrense.

De aktuelle metodene for A01 og A20 blir benyttet til akkreditert analyser av Kjeldahl råprotein, og dette metodeprinsippet har vært eksternt validert i ringtester, se metodereferansen, ISO 5983-2. Det er nå installert et nytt instrument, Foss Kjeltec 8400. Dette instrumentet erstatter et tilsvarende instrument fra samme leverandør, og som skal brukes på den samme prøvematriksen. Det er bare analyseenheten for automatisk destillasjon og titrering som er ny, det blir derfor ikke utført validering av selve oppsluttingstrinnet i metoden, selv om dette inngår ved analyse av ringtestprøver, kontrollprøver og referansemateriale.

Ut i fra Tabell 1 har det blitt vurdert nødvendig å utføre intern verifisering av riktighet, presisjon og kvantifiseringsgrense. En ekstern validering vil bli utført ved å reanalysere prøver fra tidligere ringtester. I tillegg beskriver NMKL-prosedyre nr. 4 (2009) at måleområde og linearitet også er relevante parametere som skal kontrolleres.

2 Valideringsplan

Tabellene det henvises til finnes i kapittel 4. Valideringsplanen er vist i Tabell 2.

2.1 Riktighet og linearitet

2.1.1 Kontrollregning

Resultater fra utskrift ble kontrollregnet i regneark. Se Tabell 3. Instrumentet bruker atomvekt 14,007 som også er gitt i ISO 5983-2. Instrumentet er satt opp slik at ml som brukes til å titrere blank allerede er trukket fra titreringsvolumet som er oppgitt. Utskrift av batchen og kontrollregningen viser samme resultat for tilfeldig valgte prøver.

2.1.2 Recovery- og linearitetstest med ammoniumsulfat

Riktigheten og lineariteten for destillasjon og titreringsenheten ble testet ved å analysere ammoniumsulfat, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, direkte ved ulike innveieringer. I følge ISO 5983-2 skal recovery være $\geq 99,5\%$ og $\leq 101,0\%$ ved innveieringer i området 0,10 til 0,15 g ammoniumsulfat. Recovery ble testet med innveieringer som dekker hele måleområdet for titrert volum, totalt 34 recovery-tester. Beregningene tar hensyn til renheten på ammoniumsulfat, beregnet til 99,75 % ut fra spesifikasjon gitt som $\geq 99,5\%$, se Figur 2. Alle analyser er utført i tørket og avkjølt forbindelse. Alle 30 innveieringer i området 0,05 til 0,3 g var innenfor spesifisert spredning gitt i standarden (et resultat marginalt utenfor ved 101,17 %). Ved innveieing $> 0,05$ g, var noen enkeltresultat utenfor spesifikasjon med en mindre margin, men dette tilsvarer råprotein i området 3-20 % med tilhørende måleusikkerhet på $\pm 10\%$. Se Tabell 4.

Lineariteten ble vurdert med ulike innveieringer som gir titreringsvolum tilsvarende metodens akkrediterte måleområde. Det ble utført to parallelle innveieringer ved hvert nivå. Lineariteten ble plottet som innveid mengde ammoniumsulfat mot titreringsvolum. R-kvadrert verdi var 0,999. Se Figur 1.

2.1.3 Reanalyse av tidligere ringtestprøver

For å teste riktigheten for hele analysen, dvs. det som også omfatter oppslutning av en prøve, ble 4 tidligere ringtestprøver reanalysert med $n = 2$. Samtlige av gjennomsnittsverdiene for ringtestene var innenfor godkjent område med EN-verdier fra +0,192 til -0,6, se Tabell 5. Det var ikke beskrevet i valideringsplanen, men også to av våre kontrollprøver ble analysert hos Eurofins Lidköping i tidsrommet 17.08-21.08 og 22.08-24.08 2018, se Figur 5 og Figur 6. Eurofins Lidköping er akkreditert for denne analysen. Verdiene var henholdsvis 66,3 og 66,4 % protein. Resultatene er helt i overensstemmelse med våre analyser av KP på det nye instrumentet, se punkt 2.1.5.

2.1.4 Analyse av kalibreringsforbindelse og referansemateriale

Nitrogeninnholdet i EDTA (sertifisert til kalibrering) og Corn flour (referansemateriale fra Leco) ble analysert, se Figur 3 og Figur 4. EDTA med deklart verdi (N x 6,25) lik 59,75 \pm 0,25 % ble analysert 10 ganger og ga en snittverdi lik 59,68 %. 2 av verdiene til EDTA var utenfor deklart verdi (sertifikat), uten at årsaken var kjent. 8 av verdiene var innenfor deklart verdi. Corn flour med deklart verdi i det nedre måleområdet (N x 6,25) lik 12,06 \pm 0,19 % ble analysert 14 ganger og ga en snittverdi lik 11,48 %. Se Tabell .

2.1.5 Analyse av kontrollprøve (KP)

26 enkeltmålinger ble analysert i tidsrommet 29.-30. august 2018 og plottet i validert regneark for beregning av midtlinje og alarm/aksjonsgrenser. Gjennomsnitt ble 69,30 % protein som er 0,30 % - enheter høyere enn tidligere midtlinje, men resultatet er samtidig godt innenfor alarmområdet. For å undersøke om det var signifikant forskjell mellom de to verdiene ble det beregnet en t-verdi. Siden målingene for den nye Kjeltec er gjort i et meget begrenset tidsrom, er også standardavviket vesentlig lavere enn det vi kan forvente fra reelle kjøringene over tid med flere involverte. Derfor ble det samme historiske standardavviket benyttet for både den gamle gjennomsnittsverdien og den nye. Det er spredningen til de plottede verdiene, dvs. snitt av A og B, som ligger til grunn for dette standardavviket, og antall (n), ikke de individuelle målingene. T-verdien ble beregnet til 2,37, se Tabell 7. Ved 99 % konfidensintervall er tabellverdien for t ved 39 frihetsgrader (n_1+n_2-2) tilnærmet lik 2,7. Dette betyr at det ikke er signifikante forskjeller mellom de to gjennomsnittsverdiene for KP analysert med de to instrumentene ved dette konfidensintervallet.

2.2 Repeterbarhet

Den absolutte forskjellen mellom to uavhengige analyseresultat som er utført av samme analytiker med samme metode på identisk prøvemateriale innenfor et kort tidsrom vil i ikke flere enn 5 % av tilfellene være utenfor repeterbarhetsgrensen (r). Repeterbarheten ble beregnet ut fra repeterte analyser av kontrollprøven (KP). Totalt 21 parallelle målinger av KP ble analysert i tidsrommet 29.-30. august, se tabell 8 beregning av repeterbarhet, KP. Repeterbarhetsgrensen ble beregnet til 0,72. Forventet repeterbarhetsgrense slik den er gitt i referansemetoden (ISO 5983-2) er beregnet slik:

$$r = 0,433 + 0,0085 w_p$$

der w_p er snitt av proteininnholdet.

Beregnet for vår KP med w_p lik 66,3 % gir ISO-beregningen $r = 1,00$. Det vil si at den repeterbarheten vi har erfart ved analyse av KP er tilfredsstillende sammenlignet med det referansemetoden har oppgitt.

3 Konklusjon

Basert på denne valideringen er instrumentet gyldig f.o.m. 30.08.2018. Analysene av rene forbindelser og referansemateriale med kjent N-innhold, ringtester og sammenligning med ekstern akkreditert analyse demonstrerte riktigheten av vår metode med det nye instrumentet i hele det akkrediterte måleområdet. Resultatene er gjennomgående tilfredsstillende, med unntak av analyse av Corn flour referansemateriale som er systematisk litt lav mht. deklart verdi. Årsaken er ukjent. Corn flour er uansett i nedre måleområde med større utvidet måleusikkerhet enn øvre måleområde. Vi vurderer det systematiske avviket som akseptabelt, blant annet på bakgrunn av at lave innveieringer av ammoniumsulfat viser forventet gjenvinning ved tilsvarende titreringsvolum. Beregningen av presisjon innenfor tidsrommet til denne valideringen er god. Oppsummert gir Foss Kjeltec 8400 tilfredsstillende resultat både når det gjelder riktighet og presisjon ut fra det som er oppgitt i ISO-referansemetoden, det som er spesifisert fra leverandør, og det vi erfaringsmessig hadde forventet. Metodens totale måleusikkerhet vurderes ikke å ha forandret seg vesentlig basert på denne valideringen, og opprettholdes som før.

4 Tabeller og figurer

Tabell 1	Utdrag fra omfang av verifisering fra NMKL-Prosedyre NR.4 (2009).....	1
Tabell 2	Valideringsplan nytt instrument: TEC 60063881 med prøveveksler 60 posisjoner, august 2018.....	6
Tabell 3	Kontrollregning av resultat, Kjelttec 8400.....	8
Tabell 4	Beregning av recovery med Ammoniumsulfat, Kjelttec 8400.....	9
Tabell 5	Reanalyse av ringtestprøver.....	11
Tabell 6	Analyser av EDTA og Maismel , Foss Kjelttec 8400.....	14
Tabell 7	Sammenligning av gjennomsnitt for kontrollprøve, ny og gammel Kjelttec.....	15
Tabell 8	Beregning av repeterbarhet, KP.....	16
Figur 1	Vurdering av linearitet ved aktuelle titreringsvolum i måleområdet.....	10
Figur 2	Spesifikasjon på renhet til ammoniumsulfat.....	10
Figur 3	Referanseverdier for EDTA.....	12
Figur 4	Referanseverdier for Corn Flour.....	13
Figur 5	Resultat, KP fra eksternt laboratorium.....	17
Figur 6	Resultat, KP fra eksternt laboratorium.....	18

Tabell 2 Valideringsplan nytt instrument: TEC 60063881 med prøveveksler 60 posisjoner, august 2018.

Instrumentet erstatter Foss Kjeltex 8400. Ny modell av 8400 med samme måleprinsipp.				
Analysemetode		A01 Råprotein		
Metodeansvarlig		JWA		
Metodereferanse		ISO 5983-2		
Prøvetype (matrise)		Fôr, fôringredienser og fisk		
Akkreditert måleområde		3,0-90,0 % protein (0,48-14,4 % nitrogen)		
Grad av ekstern validering		Metoden er eksternt validert i en kollaborativ metodeavprøving		
Valideringsomfang		Verifisering av riktighet og presisjon til ny enhet for automatisert destillasjon og titrering (Kjeltex 8400).		
	Valideringspunkt	Aktivitet og krav	Utføres av	Tidsplan
1	Riktighet	<p>Test av gjenvinning (recovery) ved analyse av ammoniumsulfat Ammoniumsulfat tørkes ved 102 +/- 2 grader C, avkjøling før bruk.</p> <p>20 innveieringer à ca 150 mg</p> <p>Krav: 99,5 – 101,0 % gjenvinning (krav i metodereferanse)</p> <p>Analyse av ringtestprøver:</p> <p>17-01384-1, Fish feed 18-00916-1, Fish meal 18-00918-1, Fish Flesh 18-00917-1, Fish Feed</p> <p>Krav: Godkjent EN-verdi ved plotting i kontrollkort for ringtest</p> <p>Normalt område: Analyse av EDTA kalibreringstandard med deklart verdi (N x 6,25) lik 59,75 +/- 0,25 %. n=10, bruker ferdig tørket «Leco-standard»</p> <p>Krav: Tilfredsstillende sertifisert verdi</p> <p>Løvt område: Analyse av maismel CRM, 12,06 +/- 0,19 % protein (1,93 % N), n=10 Tørkes ved 85 °C i 2 timer før analyse Krav: tilfredsstillende sertifisert verdi, og/eller godkjent som «ringtestprøve».</p>	JSJ	Uke 35

2	Linearitet	<p>Analyse av ammoniumsulfat ved ulike innveinger</p> <p>Metoden utføres normalt ved å tilpasse innveiningen til forventet proteininnhold. I denne sammenhengen vil vi få bekreftet at relevante variasjoner i innveid nitrogen/proteinmengde likevel gir riktig resultat.</p> <p>Måleområde: 10 – 300 mg ammoniumsulfat:</p> <p>Parallele innveinger (mg): 10 25 50 100 (150 –utført ved test av riktighet) 200 250 300</p> <p>Anbefalt mengde ammoniumsulfat 150 mg gir ca 12 mL titreringsvolum. Byretten er 35 mL.</p> <p>Krav: samme som for riktighet</p>	JSJ	Uke 35
3	Presisjon	<p>Analyser av ammoniumsulfat ved samme innveingsnivå (ca. 150 mg) (utført ved test av riktighet).</p> <p>Krav: Forventer 1% RSD (spesifikasjon til instrument).</p> <p>Analyse av kontrollprøve, n=20</p> <p>Krav: Godkjente resultat etter vanlige regler for kontrollprøve</p>	JSJ	Uke 35
4	Valideringsrapport	Sammenfatte resultatene i valideringsrapport.	JWA	Uke 35
5	Varsle NA	Varsle Norsk Akkreditering når validering er utført. Deretter kan instrumentet tas i bruk til akkrediterte analyser.	JWA/BB	Uke 35-37

Tabell 3 Kontrollregning av resultat, Kjeltec 8400.

Kontrollregning, Foss Kjeltec 8400			
Dato:		28.08.2018	
Atomvekt, N		14,007	NB! Tidligere ble 14,01 brukt
Normalitet (N) titrersyren, HCl		0,2002	
ml forbrukt HCl til titrering av blindprøve		0,05125	NB! Denne er allerede trukket fra
proteinfaktor, f		6,25	
Prøvenummer	Prøvemengde, g	Titring, ml	% Protein
17-1384-01, Tube 1	0,6684	15,3026	40,125
17-1384-01, Tube 2	0,7955	18,1567	40,002
18-918-01, Tube 7	2,065	22,2291	18,866

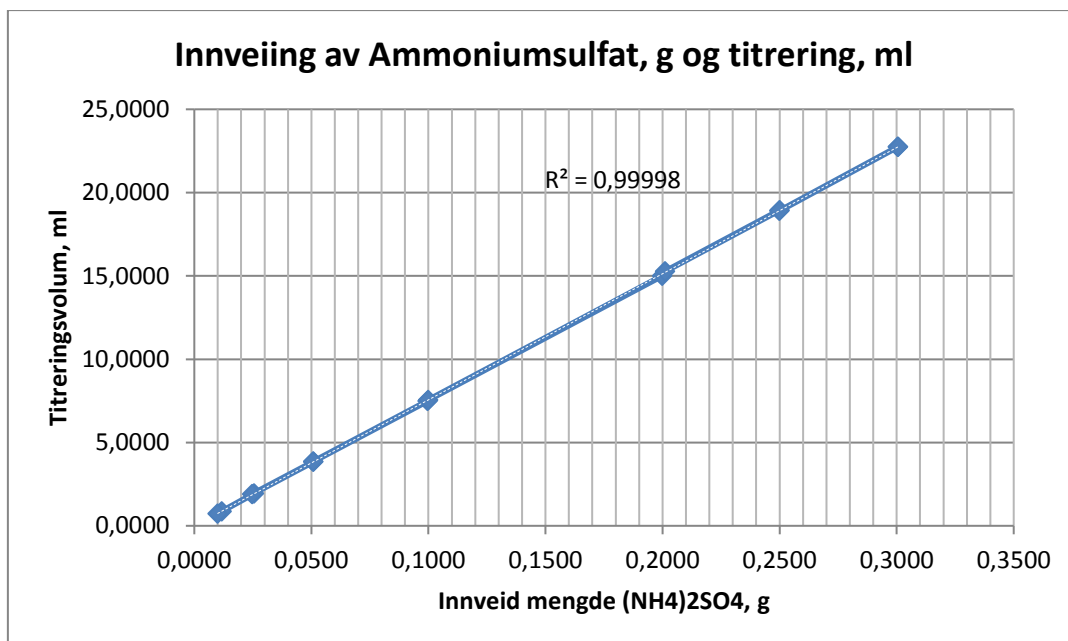
Batch 29.08.2018 08:38:35

Batch name: RINGTESTER, MAISMEL va Normality: 0,20020
 BatchId: 20180828141536 Created by: Admin
 Program: Nofima Modified by: Admin

Tube:	Name:	Amount:	Result(ml):	Calc. Result:	Result type:	Factor/ Th.N:	Warning/ Error
1	17-1384-01	0,6684	15,3026	40,125	% Protein	6,250	0
2	17-1384-01	0,7955	18,1567	40,002	% Protein	6,250	1
3	18-916-01	0,5036	18,8223	65,505	% Protein	6,250	0
4	18-916-01	0,5065	18,9501	65,572	% Protein	6,250	0
5	18-917-01	0,8549	20,6964	42,430	% Protein	6,250	0
6	18-917-01	0,7791	19,0778	42,916	% Protein	6,250	1
7	18-918-01	2,0650	22,2291	18,867	% Protein	6,250	1
8	18-918-01	2,0191	21,5831	18,735	% Protein	6,250	1
9	Maismel	0,4952	3,2941	11,659	% Protein	6,250	1
10	Maismel	0,5036	3,5226	12,259	% Protein	6,250	3
11	Maismel	0,5127	3,0780	10,522	% Protein	6,250	0
12	Maismel	0,5067	3,5348	12,227	% Protein	6,250	0
13	Maismel	0,5104	3,4120	11,716	% Protein	6,250	0
14	Maismel	0,5673	3,8173	11,793	% Protein	6,250	0
15	Maismel	0,5458	3,7240	11,958	% Protein	6,250	0
16	Maismel	0,5715	3,3261	10,200	% Protein	6,250	0
17	Maismel	0,5556	3,7657	11,879	% Protein	6,250	0
18	Maismel	0,6109	4,1759	11,980	% Protein	6,250	0

Tabell 4 Beregning av recovery med Ammoniumsulfat, Kjeltec 8400.

Beregning av recovery, Foss Kjeltec 8400					
		Normalitet	Mw	Renhet	% Nitrogen
Ammoniumsulfat (NH ₄ x2)SO ₄			132,14	0,9975	21,1472416
Nitrogen			14,007		
Titresyren (HCl)		0,2002			
<i>Blank inngår ikke i beregningen; lik 0 for tomme rør.</i>					
Prøvemengde, g	Titring, ml	Dato	Tube		% Recovery
0,0117	0,8698	30.08.2018	1		98,60
0,0100	0,7347	"	2		97,44
0,0255	1,9358	"	3		100,69
0,0248	1,9014	"	4		101,69
0,0509	3,8369	"	5		99,98
0,0509	3,8541	"	6		100,43
0,0996	7,5016	"	7		99,89
0,1000	7,5581	"	8		100,24
0,1999	15,0128	"	9		99,61
0,2011	15,2731	"	10		100,73
0,2500	18,9452	"	11		100,51
0,2499	18,9083	"	12		100,35
0,3005	22,7498	"	13		100,41
0,3006	22,7548	"	14		100,40
0,1492	11,2670	29.08.2018	1		100,16
0,1494	11,3235	"	2		100,53
0,1488	11,2425	"	3		100,21
0,1484	11,3202	"	4		101,17
0,1509	11,3751	"	5		99,98
0,1512	11,4291	"	6		100,26
0,1520	11,4733	"	7		100,11
0,1529	11,5716	"	8		100,38
0,1543	11,6723	"	9		100,33
0,1553	11,7386	"	10		100,25
0,1523	11,4218	"	11		99,47
0,1596	12,0800	"	12		100,39
0,1536	11,6084	"	13		100,24
0,1614	12,2225	"	14		100,44
0,1557	11,7976	"	15		100,50
0,1615	12,2225	"	16		100,38
0,1507	11,4291	"	17		100,59
0,1550	11,7460	"	18		100,51
0,1510	11,4439	"	19		100,52
0,1560	11,8786	"	20		100,99



Figur 1 Vurdering av linearitet ved aktuelle titreringsvolum i måleområdet.

AM0715017 520

Lot:

(NH₄)₂SO₄
M = 132.14 g/mol

Specification

Assay (alkalimetric) ≥	99.5	%
Insoluble matter ≤	0.001	%
pH-value (5 %; water, 25 °C)	5.0 - 6.0	
Chloride (Cl) ≤	0.0003	%
Nitrate (NO ₃) ≤	0.001	%
Phosphate (PO ₄) ≤	0.0005	%
Heavy metals (as Pb) ≤	0.0005	%
Al (Aluminium) ≤	0.000075	%
As (Arsenic) ≤	0.00002	%
Ca (Calcium) ≤	0.001	%
Cd (Cadmium) ≤	0.0001	%
Cr (Chromium) (*) ≤	0.000075	%
Cu (Copper) ≤	0.0002	%
Fe (Iron) ≤	0.0002	%
Mg (Magnesium) ≤	0.0005	%
Pb (Lead) ≤	0.0002	%
Zn (Zinc) ≤	0.0001	%
Residue on ignition (as sulphate) ≤	0.005	%
Loss on drying (105 °C) ≤	0.1	%

* specified acc. to EMEA/CHMP/SWP/4446/2000. Other residues of metal catalysts or metal reagents acc. to this guideline are not likely to be present.
Corresponds to ACS, ISO, Reag. Ph Eur

Figur 2 Spesifikasjon på renhet til ammoniumsulfat.

Tabell 5 Reanalyse av ringtestprøver.

Kontrollkort for ringtester, A 01 Råprotein

Mal-versjon 3.0
Endringsprotokoll nederst på siden.

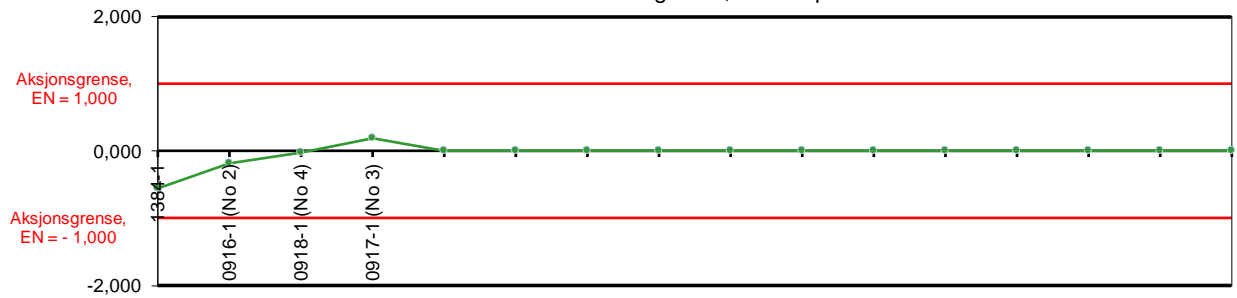
Måleområde: Skriv inn høyeste verdi for **nedre** måleområde, se tabell i BioLab KH 02.4. Dersom det kun er ett måleområde, la feltet være tomt.

Målesikkerhet % +/- U (2s): Skriv inn utvidet målesikkerhet for **høyt** måleområde, se tabell i BioLab KH 02.4.
 Skriv inn utvidet målesikkerhet for **lavt** måleområde, se tabell i BioLab KH 02.4
 Skriv inn samme verdi i begge felt dersom det kun er ett måleområde

Ringtestarranger	M-lab	M-lab	M-lab	M-lab														
Prøve nr	1384-1	0916-1 (No 2)	0918-1 (No 4)	0917-1 (No 3)														
Prøve type	Fish feed	Fish meal	Fish Flesh	Fish Feed														
Dato	28.8.18	28.8.18	28.8.18	28.8.18														
Utført av	JSJ	JSJ	JSJ	JSJ														
Parallell A	40,125	65,505	18,867	42,43														
Parallell B	40,002	65,572	18,735	42,916														
Vårt resultat	40,06	65,54	18,80	42,67														
u _{Nofima}	0,40	0,66	0,94	0,43														
Middelverdi	40,55	65,79	18,84	42,50														
Antall deltakere	32	34	13	31														
u _{SLP}	1,03	1,19	0,49	0,81														
E _n -verdi *	-0,553	-0,183	-0,021	0,192														
Trend vurdering	26.6 BB	10.7 BB	10.7 BB	10.7 BB														
Anmerkninger																		
Kvalitetskoordinator	26.6 BB	10.7 BB	10.7 BB	10.7 BB														
Metodeansvarlig	01.07 JWA																	

$$E_n - \text{verdi} = \frac{\text{Nofima} - \bar{X}}{\sqrt{\left(2 \cdot u_{\text{Nofima}}\right)^2 + \left(\frac{2 \cdot u_{\text{SLP}}}{\sqrt{n}}\right)^2}} \quad \text{Der } n = \text{Antall deltakere}$$

Kontrollkort for ringtester, A 01 Råprotein



LECO Reference Material

LECO Corporation; Saint Joseph, Michigan USA

Description: EDTA

Part No: 502-092/502-092-250

Lot No: 1061

Tatt i bok etter 080214



Reference Material Producer
Certificate # 3285.02

LECO

LECO Reference Materials are traceable to national or international Certified Reference Materials whenever possible. When these Certified Reference Materials do not exist or are inadequate for calibration purposes, other appropriate materials are used. The accuracy of the reported results for LECO Reference Materials is greatly influenced by the accuracy of the primary reference materials used. The intended use of this reference material is for calibration purposes.

Category	Reference Value	+/-
% Carbon	41.09	0.23
% Hydrogen	5.51	0.05
% Nitrogen	9.56	0.04

- +/- indicates two times the standard deviation (2s).
- Refer to the reverse side of certificate for additional information regarding calculations.

Homogeneity:

Homogeneity of this material was confirmed through analysis of a random selection of bottled material and was found to be highly homogeneous.

Material:

LECO 502-092/502-092-250 Lot: 1061 is the pure compound Ethylenediaminetetraacetic Acid with the empirical formula $C_{10}H_{16}N_4O_8$.

This reference material may be analyzed on a variety of macro and micro analytical instrumentation. A minimum sample mass of 1 mg is recommended for analysis. Refer to instrument manufacturer recommendations for nominal sample mass.

Traceability: The following Certified Reference Materials and Reference Materials were used to validate the analytical data:

ARM I CRM IARM HS100078, EDTA @ 41.0% Carbon, 5.54% Hydrogen and 9.56% Nitrogen (LECO 502-812)

NIST SRM 141d Acetanilide @ 71.089% Carbon, 6.711% Hydrogen and 10.353% Nitrogen

NIST SRM 148 Nicotinic Acid @ 58.54% Carbon, 4.09% Hydrogen and 11.38% Nitrogen

LECO 502-211 Lot: 1034 Glycine @ 31.99% Carbon, 6.69% Hydrogen, and 18.65% Nitrogen

LECO 502-642 Lot: 1014 Phenylalanine @ 65.42% Carbon, 6.71% Hydrogen, and 8.43% Nitrogen

Preparation:

This Reference Material is sample is suitable for use directly from the bottle without additional preparation.

Analysis:

LECO instrumentation was used to characterize this material. This material was analyzed by high temperature combustion using resistance furnaces utilizing LECO infrared (IR) and thermal conductivity (TC) technology.

Category	Method/Detection	n
% Carbon	Combustion/IR	60
% Hydrogen	Combustion/IR	40
% Nitrogen	Combustion/TC	60

Expiration:

ISO Guide 31 States that the certificate should contain an expiration date for all materials where instability has been demonstrated or considered possible, after which the certified value is no longer guaranteed by the certifying body. This reference material is valid within the stated deviation until **June 2nd, 2020** provided the RM is stored in its original bottle at room temperature. This reference material is nullified if it is contaminated or otherwise altered.

Certificate Number: 502-092/502-092-250-1061.1

Page 1 of 2

Reference Material

Figur 3 Referanseverdier for EDTA.

Corn Flour Calibration Material

LECO Corporation; Saint Joseph, Michigan USA

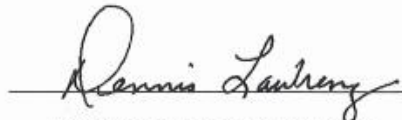
Part No: 501-563-150

Lot No: 1012

LECO Calibration Materials are traceable to national or international standard reference materials whenever possible. When these reference materials do not exist or are inadequate for calibration purposes, other appropriate materials are used. The accuracy of the reported results for LECO Calibration Materials is greatly influenced by the accuracy of the primary reference materials used.

Category	Value*	+/-
% Nitrogen	1.93	0.03

Date: May 17, 2010



Approved by: Dennis Lawrenz
Technical Services Laboratory Director

- +/- indicates two times the standard deviation (2s).
- * Results are reported on a dry basis. Please refer to the reverse side of this certificate for complete drying instructions and additional information regarding this material.
- No warranties of description, merchantability, or fitness for a particular purpose or any other express or implied warranties arise out of LECO's sale of this product. Remedies for any claimed defect in this product will be limited to replacement of the product or refund of the purchase price. In no event shall LECO be liable for incidental or consequential damages.

LECO

Certificate of Analysis

Figur 4 Referanseverdi for Corn Flour.

Tabell 6 Analyser av EDTA og Maismel, Foss Kjeltec 8400.

Analyser av EDTA og Maismel , Foss Kjeltec 8400					
	Dato:		28.-30.08.2018		
	Atomvekt, N		14,007		
	Normalitet (N) titrersyren, HCl		0,2002		
	ml forbrukt HCl til titrering av blindprøve		0,05125		
	proteinfaktor, f		6,25		Diff. fra deklart verdi
Tube	Prøvemerkning	Prøvemengde, g	Titring, ml	% Protein	
1	EDTA	0,5307	17,9627	59,321	0,429
2	EDTA	0,5013	17,1202	59,855	-0,105
3	EDTA	0,5068	17,3142	59,876	-0,126
4	EDTA	0,5217	17,7981	59,792	-0,042
5	EDTA	0,5145	17,5353	59,733	0,017
6	EDTA	0,5201	17,7957	59,968	-0,218
7	EDTA	0,5256	17,9062	59,709	0,041
8	EDTA	0,516	17,6163	59,835	-0,085
9	EDTA	0,5309	18,1813	60,021	-0,271
10	EDTA	0,5209	17,4469	58,702	1,048
	SNITT			59,681	
9	Maismel	0,4952	3,2941	11,659	0,404
10	Maismel	0,5036	3,5226	12,259	-0,197
12	Maismel	0,5067	3,5348	12,227	-0,164
13	Maismel	0,5104	3,412	11,716	0,346
14	Maismel	0,5673	3,8173	11,793	0,269
15	Maismel	0,5458	3,724	11,958	0,104
17	Maismel	0,5556	3,7657	11,879	0,184
18	Maismel	0,6109	4,1759	11,980	0,082
3	Maismel	0,5036	3,2425	11,285	0,778
4	Maismel	0,5205	3,3359	11,233	0,830
5	Maismel	0,5159	3,2966	11,199	0,863
6	Maismel	0,5055	3,2597	11,302	0,761
7	Maismel	0,5092	3,191	10,983	1,079
8	Maismel	0,5111	3,1689	10,867	1,196
	SNITT			11,477	

Tabell 7 Sammenligning av gjennomsnitt for kontrollprøve, ny og gammel Kjeltec.

Sammenligning av to gjennomsnitt			
Snitt Ny Kjeltec	66,30	Snitt gammel	66,00
s1	0,3867	s2	0,38670
n1	13	n2	33
Sp	0,39		
t	2,37		

t test ved bruk av "pooled" standardavvik blir benyttet ut fra formel:

$$t = \frac{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}{S_p \sqrt{1/n_1 + 1/n_2}}$$

$$S_p = \frac{(n_1 - 1)s_1^2 + (n_2 - 1)s_2^2}{n_1 + n_2 - 2}$$

Ved 99 % konfidensintervall er tabellverdien for t ved 44 frihetsgrader (n1+n2-2) tilnærmet lik 2,7.

Tabell 8 Beregning av repeterbarhet, KP.

Beregning av midtlinje og alarm/aksjonsgrenser

Versjon 1.1 15.06.2017

Side 1

Analyse: **A01 Råprotein Kjeldahl**

Dato	Resultat 1	Resultat 2	Diff.	Diff ²	Snitt	Antall, n
29.08.2018	66,491	66,346	0,14	0,0210	66,42	1
29.08.2018	66,229	66,555	-0,33	0,1063	66,39	2
29.08.2018	66,521	66,298	0,22	0,0497	66,41	3
29.08.2018	66,445	66,419	0,03	0,0007	66,43	4
29.08.2018	66,382	66,333	0,05	0,0024	66,38	5
30.08.2018	66,176	66,541	-0,36	0,1332	66,36	6
30.08.2018	66,085	66,027	0,04	0,0014	66,05	7
30.08.2018	66,038	66,232	-0,19	0,0376	66,14	8
30.08.2018	66,132	66,223	-0,09	0,0083	66,18	9
30.08.2018	66,346	66,374	-0,03	0,0008	66,36	10
30.08.2018	66,578	66,543	-0,97	0,9312	66,06	11
30.08.2018	66,575	66,264	0,31	0,0967	66,42	12
30.08.2018	66,629	66,07	0,56	0,3125	66,35	13
						14
						15
						16
						17
						18
						19
						20
						21
						22
						23
						24
						25
						26
						27
						28
						29
						30
						31
						32
						33

n=13 SUM D²= 1,702 Snitt= 66,30

Reproduserbarhet		Repeterbarhet	
Gjennomsnitt:	66,30	Sr = ROT(SUM(D ²)/2K)	0,2558
Standardavvik:	0,1423	r = 2.8 * Sr	0,7236
Alarmgrenser:	0,2013	Differanse	
Aksjonsgrenser:	0,3019	Alarmgrenser +/-:	0,7236
+3s	66,6031	Aksjonsgrenser +/-:	1,0855
+2s	66,5025		
(x) Midtlinje	66,3012		
+2s	66,1000		
+3s	65,9993		

Beregning utført (dato/sign.): 31/8-18, [Signature]

Fårnavn: W:\Avdelinger\Lab\Validerte Regneark\Beregning av midtlinje og alarmgrenser

(x) Midtlinje endres. Nytt instrument
Foss Kjeltec 8400. Gyldig som 30/8-18.
31/8-18, [Signature]. Instrumentnr.: 20181149

Analytical report: AR-18-JC-147731-01



Sample Code 706-2018-00149217

Reference	Control sample Biolab, 15.08.18
Purchase Order Code	THNG-18
Number	1
Amount	99 g
Reception temperature	room temperature
Ordered by	Mr. Arne Brodin
Submitted by	Mrs. Marianne Klinge
Sender	TNT
Reception date time	16.08.2018
Packaging	plastic container with plastic closure, other
Start/end of analyses	17.08.2018 / 21.08.2018

TEST RESULTS

LP021 Crude Protein (Nx6.25) (Kjeldahl)
Method: NMKL 6, LidProt.0A.05, Kjeldahl (titrimetry)
Subcontracted to a Eurofins laboratory accredited for this test.
Crude Protein Kjeldahl (Nx6,25) 66.3 g/100 g

Result +/- expanded measurement uncertainty (95%; k=2), sampling not included

Signature


Analytical Service Manager (Doris Zarthe)

Figur 5 Resultat, KP fra eksternt laboratorium.

Analytical report: AR-18-JC-150019-01



Sample Code 706-2018-00151946


Reference	KP 45
Client Sample Code	2018- 03763-1
Purchase Order Code	AMT-18
Number	1
Amount	58 g
Reception temperature	cooled
Ordered by	Mr. Arne Brodin
Submitted by	Mrs. Marianne Klinge
Sender	TNT
Reception date time	22.08.2018
Packaging	plastic container with plastic closure, other
Start/end of analyses	22.08.2018 / 24.08.2018

TEST RESULTS

LP021 Crude Protein (Nx6.25) (Kjeldahl)
Method: NMKL 6, LidProt.0A.05, Kjeldahl (titrimetry)
Subcontracted to a Eurofins laboratory accredited for this test.
Crude Protein Kjeldahl (Nx6,25) 66.4 g/100 g

Result +/- expanded measurement uncertainty (95%; k=2), sampling not included

Signature



Analytical Service Manager (Doris Zarthe)

Figur 6 Resultat, KP fra eksternt laboratorium.

