

# PROFICIENCY TESTING SCHEMES (PTs) SCHEMA<sup>(R)</sup> ΩΣ ΕΝΑ ΠΟΛΥΛΕΙΤΟΥΡΓΙΚΟ ΕΡΓΑΛΕΙΟ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΠΙΚΥΡΩΣΗ ΜΕΘΟΔΩΝ ΚΑΙ ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΑΒΕΒΑΙΟΤΗΤΩΝ

Χ.Αλεξόπουλος, Π.Γιαννικοπούλου, Α.Γεωργοπούλου και Ε.Λαμπή

Γενικό Χημείο του Κράτους, Ε' Χημική Υπηρεσία Αθηνών

Αν.Τσόχα 16, 115 21 Αθήνα

e-mail: [schema@gcsl.gr](mailto:schema@gcsl.gr)

## Περίληψη

Η συγκρισιμότητα των αναλυτικών αποτελεσμάτων αποτελεί το σημείο κλειδί στην αναλυτική χημεία. Για την ανάπτυξη μιας αναλυτικής μεθόδου απαιτείται η εφαρμογή ενός συστήματος εσωτερικού ελέγχου ποιότητας (QC, Quality Control) και η συμμετοχή του εργαστηρίου σε σύστημα εξωτερικού ελέγχου ποιότητας/σε διεργαστηριακές δοκιμές ελέγχου ικανότητας (PTs, Proficiency Testing schemes). Τα δεδομένα από διεργαστηριακές συγκρίσεις και δοκιμές ελέγχου ικανότητας μπορούν να αποτελέσουν χρήσιμο εργαλείο για την επικύρωση μιας αναλυτικής μεθόδου.

Με τη χρήση δεδομένων από τις δοκιμές ελέγχου ικανότητας, μπορούν να υπολογιστούν οι εκτιμήσεις των κρίσιμων παραμέτρων που χαρακτηρίζουν την επαναληψιμότητα και την αναπαραγωγιμότητα της αναλυτικής μεθόδου (τυπική απόκλιση υπό συνθήκες επαναληψιμότητας  $s_r$ -within laboratories, εργαστηριακή τυπική απόκλιση  $s_L$  και τυπική απόκλιση υπό συνθήκες αναπαραγωγιμότητας  $s_R$ ).

Στην παρούσα εργασία παρουσιάζεται ανάλυση των δεδομένων σχημάτων διεργαστηριακών δοκιμών SCHEMA για την εκτίμηση: (1) της απόκλισης του εργαστηρίου και της συνολικής επίδοσής του (χρήση z-score), (2) της αβεβαιότητας της μέτρησης (χρήση ζ-score) και (3) κρίσιμων παραμέτρων για την επικύρωση της μεθόδου (επαναληψιμότητα, αναπαραγωγιμότητα).

Παρουσιάζονται τα αποτελέσματα και η επεξεργασία των δεδομένων της διεργαστηριακής δομικής SCHEMA 62 01-προσδιορισμός βαρέων μετάλλων (ολικό περιεχόμενο βαρέων μετάλλων και εκχυλίσμο περιεχόμενο Cr(VI) – σύμφωνα με ένα τροποποιημένο πρωτόκολλο που πρόσφατα έχει δημοσιευθεί) σε τρόφιμα. Στους συμμετέχοντες διανεμήθηκαν τέσσερα διαφορετικά δείγματα: (a) πιστοποιημένο υλικό αναφοράς -τσάι- για έλεγχο της ορθότητας των αποτελεσμάτων για τον προσδιορισμό ολικού περιεχομένου βαρέων μετάλλων, (b) εμπορικά διαθέσιμο δείγμα τσαγιού, (c) λυοφιλιωμένο εμβολιασμένο δείγμα πατάτας (δείγματα b και c τα οποία περιείχαν διαφορετικά ποσοστά εξασθενούς χρωμίου) και (d) λυοφιλιωμένο διάλυμα τρισθενούς & εξασθενούς χρωμίου. Οι συμμετέχοντες κλήθηκαν να υποβάλλουν διπλές ανεξάρτητες μετρήσεις, προκειμένου να υπολογιστούν εκτιμήσεις για τα μεγέθη  $s_r$  και  $s_R$ .

Τα αποτελέσματα που προκύπτουν είναι σε πλήρη συμφωνία: (1) με την τυπική απόκλιση υπό συνθήκες αναπαραγωγιμότητας όπως προκύπτει από τη τροποποιημένη εξίσωση του Horwitz και (2) με τη σχετική τυπική απόκλιση υπό συνθήκες αναπαραγωγιμότητας 15%

---

Χ. Αλεξόπουλος, Π. Γιαννικοπούλου, Α. Γεωργοπούλου, Ε. Λαμπή, ΓΧΚ, SCHEMA<sup>®</sup>

Proficiency Testing scheme (PTs)) ως ένα πολυλειτουργικό εργαλείο για την επικύρωση μεθόδων και εκτίμηση αβεβαιοτήτων.

5ο Τακτικό Εθνικό Συνέδριο Μετρολογίας, Εθνικό Ίδρυμα Ερευνών, Αθήνα, 9-10 Μαΐου 2014

που χρησιμοποιείται από το εργαστήριο αναφοράς της Ευρωπαϊκής Ένωσης για τον προσδιορισμό βαρέων μετάλλων σε τρόφιμα και ζωοτροφές (EURL-H.M).

*Λέξεις κλειδιά: Διεργαστηριακές δοκιμές, επικύρωση μεθόδου, βαρέα μέταλλα, εξασθενές χρώμιο, αβεβαιότητα μέτρησης*

## Summary

Comparability of submitted results within proficiency testing schemes became the key challenge of analytical chemistry in 2000s. In order to obtain relevant and reliable data, the analytical process/method has to be performed under a well-established Quality Assurance (QA) system with external analytical proficiency tests (external QA system) as an inherent component.

Nowadays, for the validation process of an analytical method, by the use of a Proficiency Testing scheme (PTs), the estimates of parameters that characterize the repeatability and reproducibility of the analytical method (repeatability standard deviation  $s_r$ , the between-laboratories standard deviation  $s_L$  and the reproducibility standard deviation  $s_R$ ) have to be conducted.

In our contribution, the use of SCHEMA®-G.C.S.L. (Scheme for CHEmical Measurement Assessment) PTs data for estimating: (1) the overall performance of laboratories in the determination of heavy metals in foodstuffs, (2) the bias for a single laboratory and (3) an evaluation of measurement uncertainty, are well described. The use of PTs data for a single laboratory for checking its uncertainty estimate, (assessment of the uncertainty estimates performed using the zeta score  $\zeta$ ) is also reported.

We focused on the submitted data concerning the Proficiency Testing scheme SCHEMA 62 01-determination of heavy metals (total content and extractable amount of Cr(VI) according to a protocol from the recent publication) in foodstuffs, where: (a) a Certified Reference Material has been distributed to participants in order to check the trueness of their results (z-scores), (b) a dried-potato sample, (c) a tea-leaves sample [sample b & c containing different amounts of hexavalent chromium] & (d) a lyophilized solution of trivalent and hexavalent chromium have been distributed. Participants were requested to provide double separate measurements in order to evaluate repeatability standard deviation  $s_r$  and the reproducibility standard deviation  $s_R$ .

As organizers of the SCHEMA PTs, we would like to give the opportunity to our participants, by using their submitted results and the final report, to: (1) extract/isolate the maximum information and (2) to check/estimate the uncertainty of their measurements.

*Keywords: Proficiency Testing schemes, validation method, heavy metals, hexavalent chromium Cr(VI), measurement uncertainty.*

## 1. Εισαγωγή

### 1.1 SCHEMA®: Διοργανωτής σχημάτων διεργαστηριακών δοκιμών (PTs)

Η Ε'Χ.Υ. Αθηνών/SCHEMA(Scheme for CHEmical Measurement Assessment)/Γ.Χ.Κ. έχει διαπιστευτεί (κατά ΕΛΟΤ EN ISO/IEC 17043:2011) από το Ε.ΣΥ.Δ ως διοργανωτής Χ. Αλεξόπουλος, Π. Γιαννικοπούλου, Α. Γεωργοπούλου, Ε. Λαμπή, ΓΧΚ, SCHEMA® Proficiency Testing scheme (PTs)) ως ένα πολυλειτουργικό εργαλείο για την επικύρωση μεθόδων και εκτίμηση αβεβαιοτήτων.

5ο Τακτικό Εθνικό Συνέδριο Μετρολογίας, Εθνικό Ίδρυμα Ερευνών, Αθήνα, 9-10 Μαΐου 2014

σχημάτων διεργαστηριακών δοκιμών σε πληθώρα υποστρωμάτων όπως: τρόφιμα, βιομηχανικά, περιβαλλοντικά δείγματα, κτλ (Alexopoulos et al. 2012).

### 1.2 Χρήσιμα εργαλεία-κρίσιμες παράμετροι από συμμετοχή σε PTs

Η συμμετοχή των αναλυτικών εργαστηρίων σε σχήματα διεργαστηριακών δοκιμών αποτελεί ρόλο κλειδί στην αξιολόγηση της ικανότητάς τους. Η συμμετοχή σε ένα σχήμα διεργαστηριακής δοκιμής δε χρησιμοποιείται μόνο ως μια στιγμιαία επιβεβαίωση της ικανότητας του εργαστηρίου αλλά ως διαρκής έλεγχος της επίδοσης και της συγκρισιμότητας των αποτελεσμάτων του εργαστηρίου.

Έχουν αναπτυχθεί μεθοδολογίες τόσο υπολογιστικές (χρήση συνδυασμένων z-scores) όσο και διαγραμματικές (γραφικές παραστάσεις J-chart, 'zone'-chart) που επιτρέπουν στα συμμετέχοντα εργαστήρια την παρακολούθηση της επίδοσής τους σε βάθος χρόνου και ανίχνευση συστηματικών αποκλίσεων/ εμφάνιση τάσεων, κτλ (Thompson, 2007).

Η συμμετοχή σε σχήματα διεργαστηριακών δοκιμών παίζει καθοριστικό ρόλο στην επικύρωση μεθόδων, καθώς το διανεμημένο υλικό μπορεί να χρησιμοποιηθεί για εκτίμηση της επαναληψιμότητας και αναπαραγωγιμότητας της μεθόδου. Στην τελική έκθεση, οι διοργανωτές παραθέτουν χρήσιμα στοιχεία και πληροφορίες για τις μεθόδους που χρησιμοποιήθηκαν από του άλλους συμμετέχοντες και για τις κρίσιμες παραμέτρους που επηρεάζουν το τελικό αποτέλεσμα (εντοπισμός κρίσιμων παραμέτρων για βελτίωση επίδοσης εργαστηρίου) (Alexopoulos et al 2013).

### 1.3 Εκτίμηση/υπολογισμός αβεβαιότητας

Κάποιες μεθοδολογίες που μπορούν να χρησιμοποιηθούν από τα αναλυτικά εργαστήρια για την εκτίμηση/υπολογισμό της αβεβαιότητας της μέτρησης καταγράφονται παρακάτω:

- (1) Μεθοδολογία GUM-Eurachem (αφού καθοριστεί η σχέση ποσοτικού προσδιορισμού, προσδιοριστούν και υπολογιστούν οι επιμέρους αβεβαιότητες, η συνδυασμένη αβεβαιότητα προκύπτει από το συνδυασμό των επιμέρους συνιστωσών αβεβαιότητας-διάδοση αβεβαιότητας) (GUM, 2008).
- (2) Μεθοδολογία Monte-Carlo (πραγματοποιείται συνδυασμός κατανομών πιθανότητας μέσω αριθμητικής προσομοίωσης) (Ellison, 2012)
- (3) Μεθοδολογία Nordtest [η απόκλιση μιας μέτρησης από την αληθή τιμή μπορεί να οφείλεται σε διάφορα συστηματικά (ποσοτικοποίηση μέσω: ανάλυσης πιστοποιημένων υλικών αναφοράς, πειραμάτων ανάκτησης, σχημάτων διεργαστηριακών δοκιμών ελέγχου ικανότητας) ή/και τυχαία σφάλματα (προσδιορισμός από πειράματα επαναληψιμότητας, ενδοεργαστηριακής αναπαραγωγιμότητας) που εμφανίζονται] (Nordtest TR, 2003).

Κατά τη μεθοδολογία Nordtest, που υιοθετήθηκε από τη EuroLab (EuroLab TR, 2007), η εκτίμηση της συνολικής αβεβαιότητας είναι ο συνδυασμός της αβεβαιότητας των τυχαίων σφαλμάτων (ενδοεργαστηριακή αναπαραγωγιμότητα) και της αβεβαιότητας των συστηματικών σφαλμάτων:

$$u_c = \sqrt{u_{RL}^2 + u(bias)^2} \quad \begin{aligned} u(R_L) &= \text{αβεβαιότητα ενδοεργαστηριακής} \\ &\text{αναπαραγωγιμότητας} \\ u(bias) &= \text{αβεβαιότητα συστηματικών σφαλμάτων} \end{aligned} \quad (1)$$

$$u(\text{bias}) = \sqrt{PAT_{\text{bias}}^2 + u(C)_{\text{ref}}^2} \quad PAT_{\text{bias}}^2 = \frac{\sum(\text{bias})^2}{n} \quad \begin{array}{l} \text{τετραγωνική ρίζα του} \\ \text{αθροίσματος τετραγώνων των} \\ \text{σφαλμάτων} \end{array} \quad (2)$$

$$u(C)_{\text{ref}}^2 \quad \text{αβεβαιότητα αποδιδόμενης τιμής}$$

Συνεπώς, δεδομένα από συμμετοχές σε σχήματα διεργαστηριακών δοκιμών ελέγχου ικανότητας (Proficiency Testing) εκτός από εργαλείο του εξωτερικού ελέγχου ποιότητας, μπορούν να συμβάλουν υπό προϋποθέσεις στην εκτίμηση της αβεβαιότητας.

## 2. Διεργαστηριακή Δοκιμή SCHEMA 62 01-προσδιορισμός βαρέων μετάλλων σε τρόφιμα

### 2.1 Δείγματα

Στη διεργαστηριακή δοκιμή SCHEMA 62 01 - προσδιορισμός βαρέων μετάλλων σε τρόφιμα, συμμετείχαν 13 εργαστήρια, ανάμεσα στα οποία αρκετά εθνικά εργαστήρια αναφοράς (National Reference Laboratories, NRLs) των κρατών μελών της Ε.Ε. Κάθε συμμετέχον εργαστήριο έλαβε στα πλαίσια της εν λόγω δοκιμής τέσσερα (4) δείγματα:

1. (Δείγμα Α): πλαστικό φιαλίδιο που περιείχε κονιοποιημένο υλικό από φυσικώς επιμολυσμένα φύλλα τσαγιού (πιστοποιημένο υλικό αναφοράς Tea Leaves INCT-TL-1, Institute of Nuclear Chemistry and Technology, Warszawa, Poland),
2. (Δείγμα Β): τέσσερα αεροστεγώς σφραγισμένα φακελάκια τσαγιού
3. (Δείγμα Γ): πλαστικό φιαλίδιο που περιείχε λυοφυλιωμένο δείγμα πουρέ πατάτας και
4. (Δείγμα Δ): γυάλινο φιαλίδιο με λυοφυλιωμένο δείγμα εμβολιασμένου μεταλλικού νερού.

### 2.2 Παρασκευή Δειγμάτων-Ομοιογένεια

Τα δείγματα παρασκευάστηκαν στις εγκαταστάσεις της Ε΄Χ.Υ. Αθηνών. Το Δείγμα Γ παρασκευάστηκε με εμβολιασμό γνωστής ποσότητας Cr(III) και Cr(VI) σε λευκό δείγμα πουρέ πατάτας. Μετά τον εμβολιασμό και την ομογενοποίηση του δείγματος, ο πουρές πατάτας λυοφυλιώθηκε, ώστε να εξασφαλιστεί η σταθερότητα του δείγματος. Ο προσδιορισμός του ολικού Cr είχε ως αποτέλεσμα 90-100% ανάκτηση και στην περίπτωση της εκχυλιζόμενης ποσότητας Cr(VI) παρατηρήθηκε 85-105% ανάκτηση. Ο έλεγχος μετατροπής Cr(III) σε Cr(VI) κατά την εκχύλιση αξιολογήθηκε με την ανάπτυξη πρωτοκόλλου εκχύλισης με/χωρίς την παρουσία ιόντων  $Mg^{2+}$ . Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι δεν εμφανίζονται διαφορές στις εκχυλιζόμενες κάθε φορά ποσότητες Cr(VI), συνεπώς δεν λαμβάνει χώρα μετατροπή Cr(III) σε Cr(VI) κατά την εφαρμογή του πρωτοκόλλου εκχύλισης (Novotnik et al.2013, Scancar et al.2014). Για το Δείγμα Δ, γνωστές ποσότητες Cr(III) and Cr(VI) διαλύθηκαν σε ρυθμιστικό δ/μα φωσφορικών και το τελικό δ/μα λυοφυλιώθηκε.

Ο έλεγχος της ομοιογένειας των δειγμάτων των δειγμάτων που διανεμήθηκαν στους συμμετέχοντες πραγματοποιήθηκε από την Ε΄Χ.Υ. Αθηνών, σύμφωνα με ISO 13528:2005. Η ομοιογένεια των δειγμάτων επιβεβαιώθηκε και κατά το εναρμονισμένο πρωτόκολλο της IUPAC.

---

Χ. Αλεξόπουλος, Π. Γιαννικοπούλου, Α. Γεωργοπούλου, Ε. Λαμπή, ΓΧΚ, SCHEMA® Proficiency Testing scheme (PTs)) ως ένα πολυλειτουργικό εργαλείο για την επικύρωση μεθόδων και εκτίμηση αβεβαιοτήτων.

### **2.3 Στόχοι διοργάνωσης διεργαστηριακής δοκιμής-οφέλη συμμετοχής-κρίσιμοι παράμετροι**

- (1) Έλεγχος ορθότητας καμπύλης βαθμονόμησης προσδιορισμού ολικού χρωμίου,
- (2) έλεγχος ορθότητας προσδιορισμού βαρέων μετάλλων σε τρόφιμα,
- (3) αξιολόγηση (έλεγχος εκτίμησης) αβεβαιότητας της μέτρησης (βαρέα μέταλλα σε τρόφιμα),
- (4) υπολογισμός παραμέτρων για την επικύρωση μεθόδου εκχύλισης εξασθενούς χρωμίου (επαναληψιμότητα, αναπαραγωγιμότητα)

### **2.4 Προσδιορισμοί βαρέων μετάλλων-Σκοπός-Πρωτόκολλο εκχύλισης Cr(VI)**

#### **2.4.1 Προσδιορισμοί βαρέων μετάλλων στα δείγματα Α-Δ.**

Οι συμμετέχοντες κλήθηκαν να υποβάλλουν τα αποτελέσματά τους για:

Δείγμα Α: τον προσδιορισμό ολικού περιεχομένου Cd, Pb, Ni, Cu, Cr και As επί ξηρού δείγματος, σε μονάδες  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , καθένα συνοδευόμενο από την εκτεταμένη τυπική αβεβαιότητά του σε επίπεδο εμπιστοσύνης 95% ( $k=2$ ).

Δείγμα Β: τον προσδιορισμό του ολικού περιεχομένου ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) Ni, Cu, Cr στο ληφθέν δείγμα και για τον προσδιορισμό (εις διπλούν) της εκχυλιζόμενης ποσότητας Cr (VI) σύμφωνα με το πρωτόκολλο εκχύλισης που αναπτύχθηκε,

Δείγμα Γ: τον προσδιορισμό του ολικού περιεχομένου Cr( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) στο ληφθέν δείγμα και για τον προσδιορισμό (εις διπλούν) της εκχυλιζόμενης ποσότητας Cr (VI) σύμφωνα με το πρωτόκολλο και

Δείγμα Δ: τον προσδιορισμό ολικού Cr και Cr(VI) ( $\mu\text{g}/\text{L}$ ) μετά την ανασύσταση του δείγματος με 15mL δις-απιονισμένου νερού (σημείωση: συγκέντρωση ολικού Cr εντός περιοχής συγκεντρώσεων 150-1500  $\mu\text{g}/\text{L}$ ).

#### **2.4.2 Σκοπός**

Το πρωτόκολλο που αναπτύχθηκε είχε ως σκοπό τον προσδιορισμό της ποσότητας του ολικού χρωμίου και ποσότητας Cr(VI) που μπορεί να εκχυλιστεί, χρησιμοποιώντας ως οργανολογίες: ατομική απορρόφηση με τεχνική φούρνου γραφίτη (GF-AAS) ή επαγωγικά συζευγμένο πλάσμα με ανιχνευτή φασματόμετρο μάζας (ICP-MS).

Ακολουθώντας το πρωτόκολλο εκχύλισης που προτείνεται (τροποποιημένο πρωτόκολλο πρόσφατα δημοσιευμένων άρθρων: Kovacs et al. 2007, Mandiwana et al. 2011, Abbasi et al. 2012, Figueiredo et al. 2007, Soares et al.2010) είναι δυνατός ο προσδιορισμός της εκχυλιζόμενης ποσότητας Cr (VI) χρησιμοποιώντας την ίδια πειραματική οργανολογία για την περίπτωση προσδιορισμού του ολικού χρωμίου.

#### **2.4.3 Πρωτόκολλο εκχύλισης εξασθενούς χρωμίου Cr(VI) από τρόφιμα**

Το πρωτόκολλο εκχύλισης περιλαμβάνει περιληπτικά τα παρακάτω στάδια: εκχύλιση ποσότητας δείγματος υλικού (m) χρησιμοποιώντας δ/ματα NaOH-NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> υπό συνεχή ανάδευση, φυγοκέντρωση, οξίνιση του υπερκείμενου διαλύματος και προσδιορισμός

---

Χ. Αλεξόπουλος, Π. Γιαννικοπούλου, Α. Γεωργοπούλου, Ε. Λαμπή, ΓΧΚ, SCHEMA<sup>®</sup>

Proficiency Testing scheme (PTs)) ως ένα πολυλειτουργικό εργαλείο για την επικύρωση μεθόδων και εκτίμηση αβεβαιοτήτων.

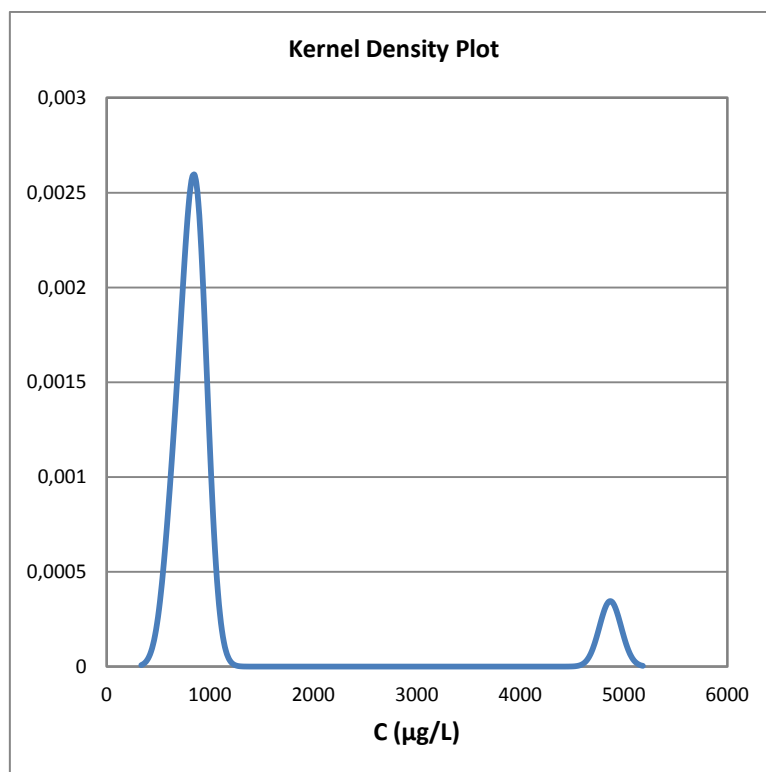
5ο Τακτικό Εθνικό Συνέδριο Μετρολογίας, Εθνικό Ίδρυμα Ερευνών, Αθήνα, 9-10 Μαΐου 2014

χρωμίου σε αυτό. Για τον προσδιορισμό της εκχυλιζόμενης ποσότητας Cr(VI) (Δείγμα Β και Γ), δύο ανεξάρτητες μετρήσεις ζητήθηκαν από τους συμμετέχοντες για κάθε υλικό.

### 3. Αποτελέσματα της Διεργαστηριακής Δοκιμής SCHEMA 62 01.

#### 3.1 Έλεγχος ορθότητας καμπύλης βαθμονόμησης

Ο έλεγχος της ορθότητας της καμπύλης βαθμονόμησης για τον προσδιορισμό του ολικού περιεχομένου του χρωμίου μπορεί να επιτευχθεί με την αξιολόγηση των αποτελεσμάτων των συμμετεχόντων όσον αφορά στο δείγμα Δ (δ/μα Cr(III) & Cr(VI)) (Σχήμα 1).



Σχήμα 1. SCHEMA 62 01: Πυρηνοδιάγραμμα πυκνότητας Kernel-προσδιορισμός ολικού χρωμίου στο δείγμα Δ.

Όπως φαίνεται και στο Σχήμα 1, τα αποτελέσματα των συμμετεχόντων για τον προσδιορισμό του ολικού χρωμίου στο δείγμα Δ, κρίνονται ικανοποιητικά. Μόνο ένα εργαστήριο αξιολογήθηκε με μη ικανοποιητική επίδοση.

#### 3.2 Αξιολόγηση της επίδοσης των συμμετεχόντων στον προσδιορισμό βαρέων μετάλλων σε τρόφιμα

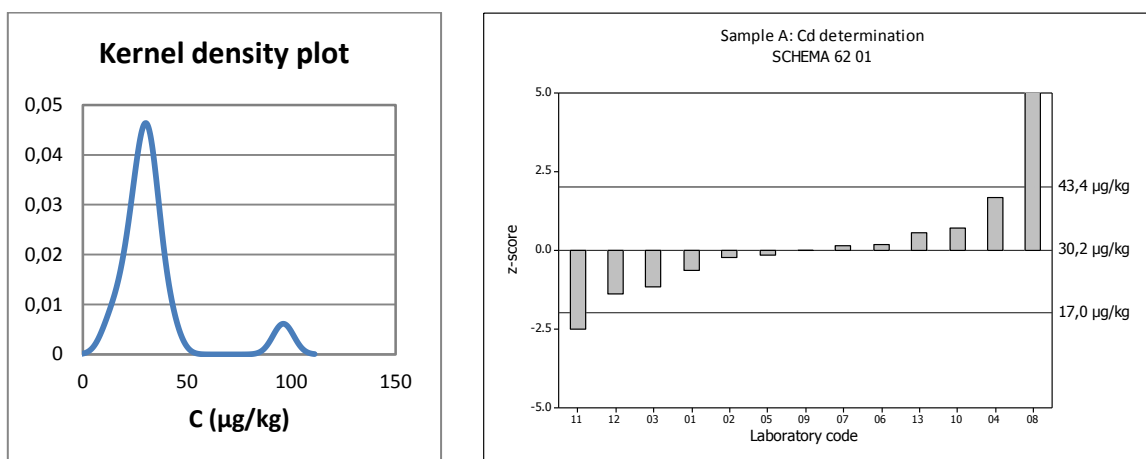
Η αξιολόγηση έλαβε χώρα μέσω z-score, που υπολογίστηκε για κάθε μέταλλο ως εξής:

$$z = \frac{x - \hat{X}}{\sigma_p}$$

όπου:  $x$  το αποτέλεσμα του συμμετέχοντα,  $\hat{X}$  η αποδιδόμενη τιμή - τιμή αναφοράς και  $\sigma_p$  η τιμή στόχος της τυπικής απόκλισης για την αξιολόγηση της επίδοσης

Για τα δείγματα Β, Γ και Δ ως αποδιδόμενη τιμή χρησιμοποιήθηκε η διάμεση τιμή των αποτελεσμάτων των συμμετεχόντων ενώ για το δείγμα Α ως τιμή αναφοράς χρησιμοποιήθηκε η πιστοποιημένη τιμή αναφοράς για κάθε μέταλλο, όπως προκύπτει από το πιστοποιητικό του υλικού αναφοράς. Αποτελέσματα με  $|z| \leq 2$  χαρακτηρίζονται ως αποδεκτά/ικανοποιητικά. Τα αποτελέσματα των εργαστηρίων που συμμετείχαν στον προσδιορισμό βαρέων μετάλλων σε τρόφιμα, κρίνονται ως πολύ ικανοποιητικά.

Για τον έλεγχο εμφάνισης τάσης στα αποτελέσματα των συμμετεχόντων, σχεδιάστηκαν σε 3D διάγραμμα (Σχήμα 3) οι αξιολογήσεις των αποτελεσμάτων των συμμετεχόντων στον προσδιορισμό του ολικού Cr στα δείγματα Α, Β & Γ. Στο Σχήμα 3 παρατηρούνται κορυφές (υπερεκτίμηση αποτελεσμάτων) και κοιλάδες (υποεκτίμηση) που συνάδουν με εμφάνιση τάσης, περιορισμένης όμως κλίμακας.



Σχήμα 2. SCHEMA 62 01: Δείγμα Α-προσδιορισμός καδμίου, πυρηνοδιάγραμμα πυκνότητας Kernel (αριστερά), διάγραμμα z-scores αποτελεσμάτων συμμετεχόντων (δεξιά).

### 3.3 Αξιολόγηση της εκτίμησης της αβεβαιότητας της μέτρησης

Η εκτίμηση της αβεβαιότητας της μέτρησης αξιολογήθηκε στο δείγμα Α με τη χρήση zeta-score ( $\zeta$ ):

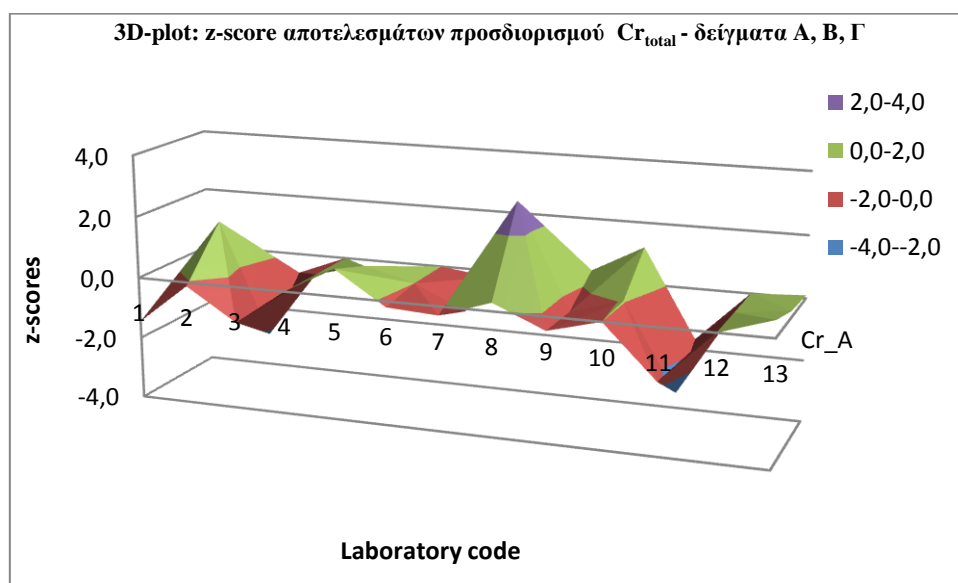
$$\zeta = \frac{x_a - \hat{X}}{\sqrt{u_x^2 + u_a^2}}$$

όπου:  $x_a$  η μέτρηση του συμμετέχοντος εργαστηρίου,  $u_a$  η τυπική αβεβαιότητα της μέτρησης  $x_a$  του συμμετέχοντος εργαστηρίου,  $\hat{X}$  η πιστοποιημένη τιμή αναφοράς και  $u_x$  η τυπική αβεβαιότητα της πιστοποιημένης τιμής αναφοράς  $\hat{X}$ .

Το zeta-score αποτελεί: (1) ένα εργαλείο ελέγχου για το αν το υποβληθέν αποτέλεσμα του εργαστηρίου είναι σε συμφωνία με την πιστοποιημένη τιμή αναφοράς του υλικού που διανεμήθηκε, λαμβάνοντας υπόψη τις αντίστοιχες αβεβαιότητες και (2) μια παράμετρο αξιολόγησης της υποβληθείσας αβεβαιότητας της μέτρησης (έλεγχος για το αν η υποβληθείσα αβεβαιότητα είναι υπερ- ή υπο-εκτιμημένη).

Αν και στα αποτελέσματα των συμμετεχόντων για τον προσδιορισμό των βαρέων μετάλλων υπάρχει μια γενική συμφωνία (ικανοποιητικές επιδόσεις  $|z\text{-score}| < 2$ ) (Σχήμα 2 & Πίνακας 1), στην περίπτωση της αξιολόγησης της αβεβαιότητας φαίνεται ότι ορισμένα εργαστήρια υποεκτιμούν την αβεβαιότητα της μέτρησης ( $|z\text{-score}| > 2$ ) (Πίνακας 1).

Χ. Αλεξόπουλος, Π. Γιαννικοπούλου, Α. Γεωργοπούλου, Ε. Λαμπή, ΓΧΚ, SCHEMA<sup>®</sup> Proficiency Testing scheme (PTs)) ως ένα πολυλειτουργικό εργαλείο για την επικύρωση μεθόδων και εκτίμηση αβεβαιοτήτων.



Σχήμα 3. 3D-διάγραμμα: z-score αποτελεσμάτων προσδιορισμού Cr<sub>total</sub> στα δείγματα A, B και Γ.

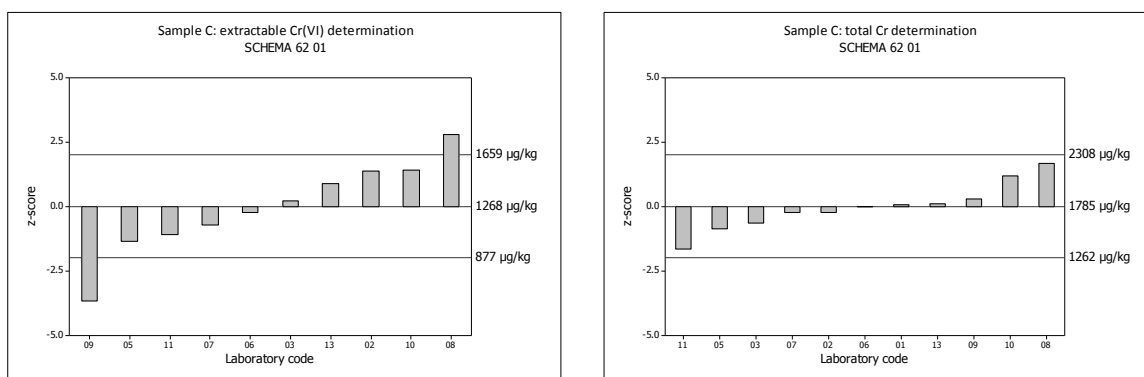
Πίνακας 1. SCHEMA 62 01: Δείγμα A: Αξιολόγηση αποτελεσμάτων & αβεβαιοτήτων που τα συνοδεύουν μέσω z- και zeta-score αντίστοιχα για τους προσδιορισμούς Cd & Cr<sub>total</sub>

Lab code	Cd (assigned value: 30,2 µg/kg)			total Cr (assigned value: 1900 µg/kg)		
	µg/kg	z-score	zeta-score	µg/kg	z-score	zeta-score
FHM 01	26,1	-0,6	-2,1	1500	-1,4	<b>-3,6</b>
FHM 02	28,7	-0,2	-0,7	1864,5	-0,1	-0,3
FHM 03	22,4	-1,2	<b>-3,4</b>	1577,3	-1,2	<b>-2,4</b>
FHM 04	41,4	1,7	<b>2,4</b>			
FHM 05	29,3	-0,1	-0,3	2142,2	0,9	1,6
FHM 06	31,5	0,2	0,5	1847,3	-0,2	-0,4
FHM 07	31,2	0,2	0,2	1819,8	-0,3	-0,4
FHM 08	96,1	<b>9,9</b>	<b>28,9</b>	1974,3	0,3	0,7
FHM 09	30,3	0,0	0,0	1777,4	-0,4	-0,7
FHM 10	35	0,7	<b>2,4</b>			
FHM 11	13,5	<b>-2,5</b>	<b>-5,9</b>	1439	-1,7	<b>-2,6</b>
FHM 12	21,1	-1,4	<b>-2,6</b>			
FHM 13	34	0,6	1,3	2051	0,5	1,0

### 3.4 Υπολογισμός παραμέτρων για επικύρωση μεθόδου εκχύλισης Cr(VI)

Για τα δείγματα B και Γ, οι συμμετέχοντες κλήθηκαν να υποβάλλουν διπλές ανεξάρτητες μεταξύ τους μετρήσεις για τον προσδιορισμό του εξασθενούς χρωμίου από τρόφιμα, ακολουθώντας το προτεινόμενο πρωτόκολλο.





Σχήμα 4. SCHEMA 62 01: Δείγμα Γ: γραφική παράσταση z-scores αποτελεσμάτων προσδιορισμού εκχυλιζόμενης ποσότητας Cr (VI) (αριστερά) και Cr<sub>total</sub> (δεξιά).

Τα αποτελέσματα που υποβλήθηκαν από τα συμμετέχοντα εργαστήρια βρίσκονται σε πλήρη συμφωνία μεταξύ τους (Σχήμα 4). Αναλύθηκαν με τεχνική ανάλυσης διακύμανσης κατά ένα παράγοντα (one way AN.O.VA) και χρήσιμες πληροφορίες για κρίσιμες στατιστικές παραμέτρους της μεθόδου μπορούν να αντληθούν: μέση τιμή κάθε ομάδας, μεγάλη μέση τιμή, ενδοδειγματική και διαδειγματική διακύμανση και κρίσιμες παράμετροι μπορούν να υπολογιστούν: η διακύμανση/τυπική απόκλιση υπό συνθήκες επαναληψιμότητας ( $s_r^2/s_r$ ) και η διακύμανση/τυπική απόκλιση υπό συνθήκες αναπαραγωγιμότητας ( $s_R^2/s_R$ ).

Πρόσφατα έχουν περιγραφεί στη βιβλιογραφία μεθοδολογίες (McClure et al. 2008, 2012) για την εκτίμηση της αβεβαιότητας που συνοδεύει παραμέτρους, όπως η τυπική απόκλιση υπό συνθήκες επαναληψιμότητας, η ενδοεργαστηριακή αναπαραγωγιμότητα και η τυπική απόκλιση υπό συνθήκες αναπαραγωγιμότητας, οι οποίες μπορούν να υπολογιστούν με τεχνική ανάλυσης διακύμανσης (AN.O.VA). Τα αποτελέσματα καταγράφονται στον Πίνακα 2.

Πίνακας 2. Πίνακας κρίσιμων παραμέτρων μεθόδου προσδιορισμού Cr(VI).

sample	mean (mg/kg)	$s_r$	$s_R$	$U_{sR}$	Horwitz	15% mean
B	0,52	0,036	0,071	0,016	0,091	0,078
C	1,28	0,051	0,217	0,057	0,20	0,192

Τα αποτελέσματα που προκύπτουν για την τυπική απόκλιση υπό συνθήκες αναπαραγωγιμότητας  $s_R$  της μεθόδου προσδιορισμού εξασθενούς χρωμίου που μπορεί να εκχυλιστεί από τρόφιμα, είναι σε πλήρη συμφωνία με τη τυπική απόκλιση όπως προκύπτει από την τροποποιημένη εξίσωση του Horwitz (Πίνακας 2) ή από την αναπαραγωγιμότητα ( $s_R=15\% \times \text{mean}$ ) που χρησιμοποιεί για την αξιολόγηση των διεργασιολογικών του σχημάτων, το εργαστήριο αναφοράς της Ευρωπαϊκής Ένωσης για τον προσδιορισμό βαρέων μετάλλων σε τρόφιμα και ζωοτροφές (EU.R.L-H.M).

#### 4. Συμπεράσματα

Με τη χρήση δεδομένων από τις δοκιμές ελέγχου ικανότητας, μπορούν να υπολογιστούν οι εκτιμήσεις των κρίσιμων παραμέτρων που χαρακτηρίζουν την ορθότητα, την επαναληψιμότητα και την αναπαραγωγιμότητα της αναλυτικής μεθόδου, ενώ χρήσιμα συμπεράσματα μπορούν να εξαχθούν και για την εκτίμηση και υπολογισμό της

αβεβαιότητας της μέτρησης. Τα σχήματα διεργαστηριακών δοκιμών ελέγχου ικανότητας (PTs) αποτελούν μια περιοδική, αντικειμενική και ανεξάρτητη αξιολόγηση των επιδόσεων των εργαστηρίων δοκιμών αλλά και ένα σημαντικό εργαλείο για τη επικύρωση μεθόδων.

## 5. Βιβλιογραφία

Abbasi, Sh., Bahiraei, A., ‘Ultra trace quantification of Cr(VI) in food and water samples by highly sensitive catalytic AdSV with rubanic acid’, *Food Chem.*, 133, 1075–1080, 2012.

Alexopoulos, Ch., Georgopoulou, A., Kakoulidis, H., & Lampi, E., ‘SCHEMA-Proficiency Testing schemes’, *Chemica Chronica*, Issue 6, 79, 13-19, 2012.

Alexopoulos, Ch., Giannikopoulou, P., Georgopoulou, A., Lampi, E., ‘Method validation and uncertainty estimates from Proficiency Testing scheme (PTs) data’, 8<sup>th</sup> International Conference on Instrumental Methods of Analysis, 2013, Thessaloniki.

Ellison, S.L.R. & Williams, A. (Eds). Eurachem/CITAC guide: ‘Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement’, 3<sup>rd</sup> edition, 2012.

EUROLAB Technical Report 1/2007, ‘Measurement uncertainty revised: Alternative approaches to uncertainty evaluation’. EUROLAB. Available from <http://eurolab.org>.

Figueiredo, E., Soares, M.E., Baptista, P., Marisa Castro, M., Bastos, M.L., ‘Validation of an Electrothermal Atomization AAS Method for Quantification of Total Cr and Cr(VI) in Wild Mushrooms and Underlying Soils’, *J. Agric. Food Chem.*, 55 (17), pp 7192–7198, 2007.

‘GUM: Guide To The Expression Of Uncertainty In Measurements’. ISO, Geneva (1993). (ISBN 92-67-10188-9) (Reprinted 1995: Reissued as ISO Guide 98-3 (2008), also available from <http://www.bipm.org> as JCGM 100:2008).

Kovács, R., Béni, A., Karosi, R., Sógor, Cs., Posta, J., ‘Investigation of chromium content in foodstuffs and nutrition supplements by GFAAS and determination of changing Cr(III) to Cr(VI) during baking and toasting bread’, *Food Chemistry*, 105, 1209–1213, 2007.

McClure, F.D., Lee, J.K., ‘Uncertainties of Method Performance Statistics based on a balanced completely Randomized Model Interlaboratory Study’, *J. AOAC. Int.*, 91, 3, 660-670, 2008.

McClure, F.D., Lee, J.K., ‘Variances and uncertainties of the sample laboratory-to-laboratory variance and standard deviation associated with an interlaboratory study’, *J. AOAC. Int.*, 95, 1, 244-251, 2012.

Mandiwana Khakhathi L., Panichev, N., Panicheva, S., ‘Determination of Cr(VI) in green, black and herbal teas’, *Food Chem.*, **129**, 1839-1843, 2011.

NORDTEST, ‘Technical Report 537: Handbook for calculation of measurements uncertainty in environmental laboratories’, NORDTEST 2003 ([www.nordtest.org](http://www.nordtest.org)).

Novotnik, Br., Zuliani, T., Scancar, J., Milacic, R., ‘Chromate in food samples: an artefact of wrongly applied analytical methodology?’, *J. Anal. At. Spectrom.*, 28, 558-566, 2013.

Soares, M.E., Vieira, E., Bastos, M.L., ‘Chromium Speciation Analysis in Bread Samples’, *J. Agric. Food Chem.*, 58 (2), pp 1366–1370, 2010.

Ščančar, J., Milačič, R., ‘A critical overview of Cr speciation analysis based on HPLC and spectrometric techniques’, *J. Anal. At. Spectrom.*, 29, 427-443, 2014.

Thompson, M., ‘Proficiency testing: assessing z-scores in the longer term’, AMC Technical Brief, AMCTB 16, Royal Society of Chemistry, 2007.

---

Χ. Αλεξόπουλος, Π. Γιαννικοπούλου, Α. Γεωργοπούλου, Ε. Λαμπή, ΓΧΚ, SCHEMA<sup>®</sup>

Proficiency Testing scheme (PTs)) ως ένα πολυλειτουργικό εργαλείο για την επικύρωση μεθόδων και εκτίμηση αβεβαιοτήτων.

5ο Τακτικό Εθνικό Συνέδριο Μετρολογίας, Εθνικό Ίδρυμα Ερευνών, Αθήνα, 9-10 Μαΐου 2014