

ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΦΘΑΛΙΚΩΝ ΕΣΤΕΡΩΝ ΣΕ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟ ΜΕ ID-GC/IT-MS. ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΗΣ ΑΒΕΒΑΙΟΤΗΤΑΣ ΤΗΣ ΜΕΤΡΗΣΗΣ ΜΕ GUM ΚΑΙ MONTE CARLO ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ.

Ηλίας Κακουλίδης, Χαράλαμπος Αλεξόπουλος, Αλεξάνδρα Γεωργοπούλου και Ευγενία Λαμπή

Ε' Χ.Υ. Αθηνών, Γενικό Χημείο του Κράτους, Αν. Τσόχα 16, 115 21 Αθήνα
e-mail: schema@gcsl.gr

Περίληψη

Η ταυτοποίηση και ο ποσοτικός προσδιορισμός φθαλικών εστέρων σε περιβαλλοντικά δείγματα, τρόφιμα και λοιπά βιομηχανικά προϊόντα (παιχνίδια, πλαστικές συσκευασίες,) αποκτά ολοένα μεγαλύτερη σημασία λαμβάνοντας υπόψη τα αποτελέσματα διάφορων τοξικολογικών μελετών.

Στην παρούσα εργασία περιγράφεται η επικύρωση μεθόδου ποσοτικού προσδιορισμού οκτώ (8) φθαλικών εστέρων (DMP, DEP, DiBP, DBP, BBP, DEHP, DiNP και DiDP εστέρα) σε δείγματα ελαιολάδου με τεχνική ισοτοπικής αραίωσης και οργανολογία αέριας χρωματογραφίας συζευγμένης με φασματόμετρο μάζας παγίδας ιόντων (ID-GC/IT-MS). Η γραμμικότητα της καμπύλης βαθμονόμησης, χρησιμοποιώντας πρότυπα δ/τα φθαλικών εστέρων σε υπόστρωμα ελαιολάδου για όλους τους φθαλικούς εστέρες, είναι ικανοποιητική ($r^2 \geq 0.99$). Το όριο ανίχνευσης (L.O.D) με GC/IT-MS, χρησιμοποιώντας τεχνική επιλεκτικής παρακολούθησης ιόντων (SIM) υπολογίστηκε από 0.01 and 0.06 mg/kg ανάλογα με το είδος του φθαλικού εστέρα, με εξαίρεση τους φθαλικούς εστέρες DiNP και DiDP, όπου το όριο ανίχνευσης υπολογίστηκε ως 0.5 mg/kg. Η ανάκτηση υπολογίστηκε σε δύο διαφορετικά επίπεδα συγκέντρωσης φθαλικών εστέρων και βρέθηκε εντός του διαστήματος 85-115%. Για τον υπολογισμό της αβεβαιότητας της μέτρησης δύο διαφορετικές τεχνικές χρησιμοποιήθηκαν: η κλασσική μεθοδολογία GUM (διάδοση αβεβαιοτήτων και υπολογισμός συνδυασμένης αβεβαιότητας του τελικού μεγέθους) και η τεχνική Monte Carlo (τεχνική προσομοίωσης μέσω διάδοσης των κατανομών πιθανότητας). Αν και τα αποτελέσματα των δύο τεχνικών βρίσκονται σε πλήρη συμφωνία, η μεθοδολογία GUM φαίνεται να υπερεκτιμά ελαφρά την αβεβαιότητα.

Λέξεις-κλειδιά: φθαλικοί εστέρες, επικύρωση μεθόδου, αβεβαιότητα, μεθοδολογία Monte Carlo, μεθοδολογία GUM.

Summary

The identification and the quantitative determination of various phthalate esters in the environment and in foodstuffs is of growing concern as the adverse health effects become known. Phthalates are used in consumer products to impart flexibility and durability, in toys, as well as in food packaging, cosmetics, lotions and pharmaceuticals.

After a preparation step (extraction of olive oil with a mixture of acetonitrile-THF and further purification by SPE-Alumina), the extract was analyzed by isotope dilution Gas chromatography coupled to an ion-trap mass spectrometer detector (ID-GC/IT-MS), using EI technique. The method was developed for the determination of DMP, DEP, DiBP, DBP, BBP, DEHP, DiNP and DiDP esters. Labelled phthalate esters DMP-d4,

DEP-d4, DiBP-d4, DBP-d4 and DOP-d4 were used as internal standards for the quantitation.

The determinations were performed on a Thermo Trace GC-PolarisQ IT-MS system, equipped with a DB-5MS 30m x 0.25mm x 0.25µm column.

The instrumental analytical protocol was found to yield a linear matrix-matched calibration up to 4.0 mg/kg (for DiNP, DiDP up to 16 mg/kg) with r^2 values ≥ 0.99 . The limits of detection in GC/IT-MS (SIM mode) vary between 0.01 and 0.06 mg/kg, except for DiNP and DiDP where an LOD of 0.5 mg/kg was achieved, whereas the limits of quantification range between 0.03 and 0.2 mg/kg (LOQ of 1.5 mg/kg for DiNP and DiDP). Recovery was calculated at two different levels by spiking appropriate amounts of phthalate esters and ranged between 85-115%. For the estimation of the measurement uncertainty two different approaches were used: The conventional approach (based on uncertainty propagation-calculation of combined uncertainty) and Monte Carlo simulations (based on propagating probability distributions) which is lately adopted¹. It was found that the conventional approach (GUM uncertainty Framework) overestimates the measurement uncertainty (especially in lower concentrations), in agreement with previous findings².

Keywords: phthalate esters, method validation, uncertainty, Monte Carlo approach, GUM approach.

1. Εισαγωγή

1.1. Φθαλικοί εστέρες – χρήσεις - ιδιότητες

Παράχθηκαν για πρώτη φορά κατά την δεκαετία '20 και έκτοτε παρασκευάζονται σε μεγάλη κλίμακα (ειδικά μετά τη δεκαετία του '50 και την εισαγωγή του PVC). Οι φθαλικοί εστέρες είναι δι-εστέρες ή αλκυλεστέρες του 1,2-βενζοδικαρβοξυλικού οξέος (ο-φθαλικό οξύ). Ως πλαστικοποιητές, οι φθαλικοί εστέρες μειώνουν τη θερμοκρασία υαλώδους μετάπτωσης βυνιλικών πολυμερών, τροποποιώντας σημαντικά τις ιδιότητές τους κατά την επεξεργασία και τη χρήση τους. Οι φθαλικοί εστέρες εμφανίζουν μικρή διαλυτότητα στο νερό, υψηλή διαλυτότητα σε έλαια και χαμηλή πτητικότητα. Οι πιο ευρέως χρησιμοποιούμενοι φθαλικοί εστέρες είναι ο φθαλικός δις-(2-αιθυλεξυλ)εστέρας (DEHP), ο φθαλικός δις-(ισοενυλ) εστέρας (DiNP) και ο φθαλικός δις-(ισοδεκυλ) εστέρας (DiDP) (οι DiNP και DiDP δεν είναι καθαρές ουσίες αλλά μίγματα ισομερών ουσιών με εστερική ανθρακική αλυσίδα 9 και 10 ατόμων άνθρακα αντίστοιχα). Ο φθαλικός βενζοβουτυλεστέρας (BBP) χρησιμοποιείται στην παραγωγή του διογκωμένου PVC, το οποίο χρησιμοποιείται κυρίως ως επιστρωση δαπέδων. Οι φθαλικοί εστέρες χρησιμοποιούνται συχνά σε βερνίκια νυχιών, δολώματα αλιείας, κόλλες, χρωστικές ουσίες βαφών, ως διαλύτες σε αρώματα και εντομοαπωθητικά.

Ο μοριακός τύπος, το μοριακό βάρος και οι αριθμοί CAS καταγράφονται στον Πίνακα 1. Οκτώ φθαλικοί εστέρες είναι εμπορικά σημαντικοί και αποτελούν το αντικείμενο της παρούσας εργασίας: DMP, DEP, DiBP, DBP, BBP, DEHP, DiNP και DiDP.

1.2. Τοξικότητα

Οι φθαλικοί εστέρες DEHP, DiNP και DiDP έχει αποδειχθεί ότι μπορούν να έχουν οιστρογόνο δράση. Έτσι, χορήγηση μεγάλων δόσεων DEHP σε έμβρυα ποντικών μπορούν να οδηγήσουν σε παρεμπόδιση σύνθεσης τεστοστερόνης.

Η. Κακουλίδης, Χ. Αλεξόπουλος, Α. Γεωργοπούλου, Ε. Λαμπή, Γενικό Χημείο Κράτους, Ε'Χ.Υ.Αθηνών
Προσδιορισμός φθαλικών εστέρων σε ελαιόλαδο με ID-GC/IT-MS. Εκτίμηση της αβεβαιότητας της μέτρησης με GUM και Monte Carlo μεθοδολογία.

Πίνακας 1. Φθαλικοί εστέρες

| Φθαλικός εστέρας | M.T. | Συντ/φία | M.B. | CAS- No |
|--|--|----------|-------|------------|
| φθαλικός διμεθυλεστέρας (Di-methylphthalate) | C ₁₀ H ₁₀ O ₄ | DMP | 194.2 | 131-11-3 |
| φθαλικός διαιθυλεστέρας Di-ethyl phthalate | C ₁₂ H ₁₄ O ₄ | DEP | 222.4 | 84-66-2 |
| φθαλικός διβουτυλεστέρας Di-butylphthalate | C ₁₆ H ₂₂ O ₄ | DBP | 278.4 | 84-74-2 |
| φθαλικός δι-ισοβουτυλεστέρας Di-(2-methylpropyl)phthalate (di- <i>i</i> -butylphthalate) | C ₁₆ H ₂₂ O ₄ | DiBP | 278.4 | 84-69-5 |
| φθαλικός βενζυλ-βουτυλεστέρας Benzylbutylphthalate | C ₁₉ H ₂₀ O ₄ | BBP | 312.4 | 85-68-7 |
| φθαλικός διαιθυλεξυλεστέρας Di-(2-ethylhexyl)phthalate | C ₂₄ H ₃₈ O ₄ | DEHP | 390.6 | 117-81-7 |
| φθαλικός διοκτυλεστέρας Di-octylphthalate | C ₂₄ H ₃₈ O ₄ | DOP | 390.6 | 117-84-0 |
| φθαλικός διισονουλεστέρας Di- <i>i</i> -nonylphthalate | C ₂₆ H ₄₂ O ₄ | DiNP | 418.6 | 28553-12-0 |
| φθαλικός δισοδεκυλεστέρας Di- <i>i</i> -decylphthalate | C ₂₈ H ₄₆ O ₄ | DiDP | 446.7 | 26761-40-0 |

Οι φθαλικοί εστέρες έχουν κατηγορηθεί ότι μπορούν να λειτουργήσουν ως ενδοκρινικοί διαταράκτες (endocrine disruptors) και ιδιαίτερα οι πλαστικοποιητές DEHP, DiNP και DiDP, οι οποίοι βρίσκονται σε πλήθος προϊόντων καθημερινής χρήσης από PVC. Πρόσφατα, ολοκληρώθηκαν νέα πειράματα για την τοξικότητα των φθαλικών εστέρων και μελέτες για τις περιβαλλοντικές επιπτώσεις από τη χρήση τους έχουν ανακοινωθεί..

2. Μεθοδολογία

2.1. Αναλυτικές τεχνικές

Η χρήση οργανολογίας GC-FID, αν και αποτελούσε το σύνηθες εργαλείο για το διαχωρισμό και τον ποσοτικό προσδιορισμό των φθαλικών εστέρων, απαιτεί μια επίπονη διαδικασία απομόνωσής τους από το υπόστρωμα, γεγονός που οδήγησε τους επιστήμονες στην υιοθέτηση πιο εκλεκτικών ανιχνευτών. Έτσι, στα σύγχρονα αναλυτικά εργαστήρια, οργανολογίες που συνδυάζουν χρωματογράφους με φασματόμετρα μάζας, κυρίως τριπλού τετραπόλου και παγίδας ιόντων αποτελούν τα κυριότερα και ισχυρότερα αναλυτικά εργαλεία στα χέρια των επιστημόνων.

Στην παρούσα εργασία αναπτύχθηκε μέθοδος ποσοτικού προσδιορισμού φθαλικών εστέρων σε ελαιόλαδο με ισοτοπική αραίωση (Isotope Dilution, I.D.) σε σύστημα αέριας χρωματογραφίας συζευγμένης με φασματόμετρο μάζας παγίδας ιόντων Thermo Trace GC-PolarisQ IT-MS με χρήση τεχνικής ιονισμού πρόσκρουσης ηλεκτρονίων (Electron Impact, EI) και επιλεκτικής παρακολούθησης ιόντων (SIM) για την ανίχνευση και τον ποσοτικό προσδιορισμό των φθαλικών εστέρων (Ieraptritis et al.).

Οι φθαλικοί εστέρες και τα επισημασμένα δευτεριωμένα ανάλογα που χρησιμοποιήθηκαν για την επικύρωση της μεθόδου προσδιορισμού φθαλικών σε ελαιόλαδο ήταν οι Η. Κακουλίδης, Χ. Αλεξόπουλος, Α. Γεωργοπούλου, Ε. Λαμπή, Γενικό Χημείο Κράτους, Ε' Χ. Υ. Αθηνών Προσδιορισμός φθαλικών εστέρων σε ελαιόλαδο με ID-GC/IT-MS. Εκτίμηση της αβεβαιότητας της μέτρησης με GUM και Monte Carlo μεθοδολογία.

παρακάτω: DMP (DMP-d₄), DEP (DEP-d₄), DBP (DBP-d₄), DiBP (DiBP-d₄), BBP (DOP-d₄), DEHP (DOP-d₄), DiNP (DOP-d₄) και DiDP (DOP-d₄) (σε παρένθεση το επισημασμένο ανάλογο φθαλικού εστέρα που χρησιμοποιείται για κάθε φθαλικό εστέρα).

Το σύστημα αέριας χρωματογραφίας είναι εφοδιασμένο με μια στήλη DB-5MS, 30m x 0.25mm x 0.25μm και οι εγχύσεις (1μL) έλαβαν χώρα σε θερμοκρασία εισαγωγέα 250°C. Το θερμοκρασιακό πρόγραμμα του φούρνου ήταν ως εξής: 80°C (1 min), 20°C/min 260°C, 260°C (10 min), 20°C/min 280°C, 280°C (10 min).

Κατεργασία: Σε κατάλληλο γυάλινο φιαλίδιο ζυγίζεται ποσότητα 5 g ελαιολάδου, η οποία εμβολιάζεται με 50 μL προτύπου δ/τος επισημασμένων φθαλικών εστέρων. Το μίγμα αναδεύεται και εκχυλίζεται με 4 mL ακετονιτριλίου και 200 μL τετραϋδροφουρανίου εις διπλούν. Τα εκχυλίσματα παραμένουν υπό ψύξη για τουλάχιστον 12 h. Η οργανική στιβάδα συλλέγεται σε νέο γυάλινο φιαλίδιο και εξατμίζεται ήπια μέχρι ξηρού με διαβίβαση αερίου N₂. Λαμβάνει χώρα ανασύσταση με 2 mL ακετονιτριλίου, καθαρισμός με στήλη SPE-Alumina και το έκλουσμα τοποθετείται στο δειγματολήπτη της διάταξης GC-ITMS για ανάλυση.

Για την κατασκευή της καμπύλης βαθμονόμησης για κάθε φθαλικό εστέρα, πραγματοποιήθηκε μια σειρά εγχύσεων σε 6 επίπεδα συγκεντρώσεων (Πίνακας 2, 0,05 – 4,00 mg/kg, για BBP, DiNP, DiDP χρησιμοποιήθηκαν πιο πυκνά διαλύματα).

2.2. εκτιμήσεις αβεβαιότητων

2.2.1. μεθοδολογία GUM

Η μεθοδολογία GUM περιλαμβάνει τα εξής στάδια:

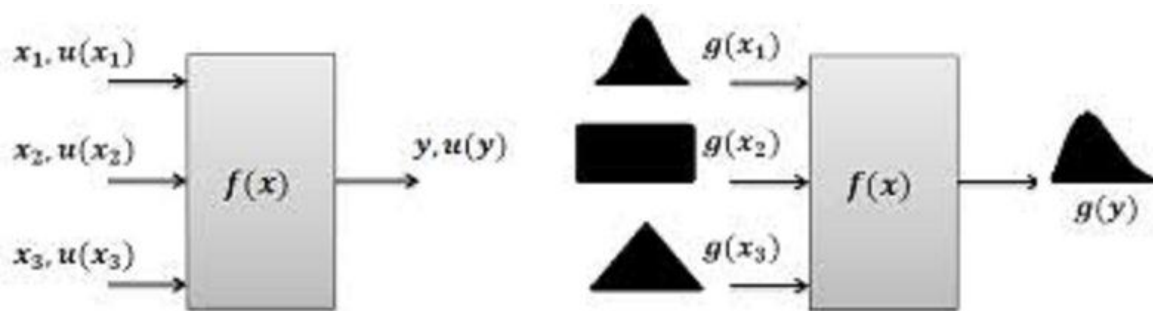
1. Καθορισμός σχέσης μέτρησης.
2. Ταυτοποίηση των συνιστωσών των πηγών αβεβαιότητας.
3. Ποσοτικοποίηση της αβεβαιότητας κάθε πηγής (υπολογισμός τυπικής αβεβαιότητας).
4. Υπολογισμός της συνδυασμένης τυπικής αβεβαιότητας (διάδοση αβεβαιότητων). Συνδυάζονται όλες οι επιμέρους συνιστώσες της αβεβαιότητας και προκύπτει η διευρυμένη τυπική αβεβαιότητα (Σχήμα 1 (A)).

2.2.2. μεθοδολογία Monte Carlo

Η μεθοδολογία Monte Carlo βασίζεται σε μια κατηγορία υπολογιστικών αλγορίθμων που στηρίζονται σε επαναλαμβανόμενες τυχαίες δειγματοληψίες για τον υπολογισμό των αποτελεσμάτων τους.

Ο υπολογισμός της αβεβαιότητας με τη χρήση προσομοίωσης Monte Carlo γίνεται με την τυχαία δειγματοληψία μεγάλου αριθμού τιμών (>10⁶) των παραμέτρων που υπεισέρχονται στο στοχαστικό μοντέλο προσδιορισμού και την εφαρμογή τους στη σχέση υπολογισμού του εξερχόμενου μεγέθους. Από αυτό το μεγάλο αριθμό αποτελεσμάτων που θα προκύψουν μπορεί να υπολογιστεί αριθμητικά η μέση τιμή, η τυπική απόκλιση και η συνάρτηση κατανομής πιθανότητας (Probability Density Function, PDF).

Στον οδηγό της Eurachem/CITAC CG4 GUM (έκδοση 3^η, 2012) δίνονται κατάλληλες οδηγίες για τη διάδοση των κατανομών πιθανότητας που αποδίδονται στις διάφορες εισερχόμενες μεταβλητές, μέσω αριθμητικής προσομοίωσης (μέθοδος Monte Carlo), ώστε να προσδιοριστεί μια κατανομή πιθανότητας για το μετρούμενο μέγεθος (Σχήμα 1 (B)).



(Α) Προσέγγιση GUM: Διάδοση αβεβαιοτήτων (Β) Προσομοίωση Monte Carlo: Διάδοση κατανομών πιθανότητας
 Σχήμα 1. Μεθοδολογίες εκτίμησης αβεβαιότητας της μέτρησης

2.2.3. Διαφορές μεθοδολογιών GUM & Monte Carlo (GUM vs MC approach)

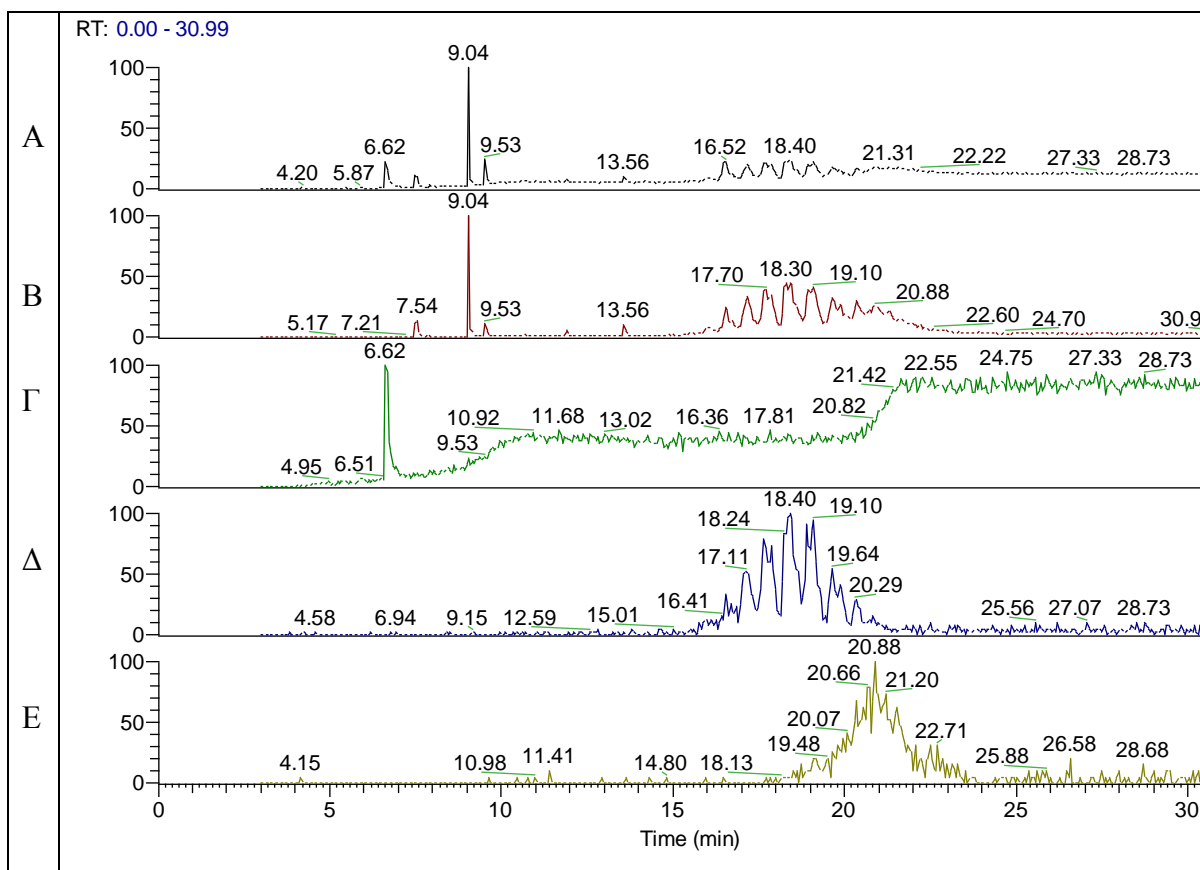
Κατά την εφαρμογή της μεθοδολογίας Monte Carlo πραγματοποιείται συνδυασμός κατανομών πιθανότητας μέσω αριθμητικής προσομοίωσης σε αντίθεση με την μέθοδο GUM όπου πραγματοποιείται συνδυασμός αβεβαιοτήτων. Στο Σχήμα 1 απεικονίζεται ο τρόπος υπολογισμού της αβεβαιότητας της μέτρησης (συνάρτηση τριών ανεξάρτητων εισερχόμενων μεταβλητών) εφαρμόζοντας: (Α) GUM και (Β) Monte Carlo μεθοδολογία.

Προϋποθέσεις για την εφαρμογή της μεθοδολογίας GUM είναι η γραμμικότητα του μοντέλου μέτρησης και η ισχύς του θεωρήματος του κεντρικού ορίου, ενώ η χρήση της μεθοδολογίας Monte Carlo δεν υπόκειται στους παραπάνω περιορισμούς.

Για την εφαρμογή της μεθοδολογίας GUM αφού εκτιμηθεί η τυπική αβεβαιότητα $u(y)$ του μεγέθους y , γίνεται η παραδοχή ότι το μέγεθος y ακολουθεί κανονική κατανομή σε αντίθεση με τη μεθοδολογία Monte Carlo όπου προσδιορίζεται απευθείας η κατανομή του εξερχόμενου μεγέθους χωρίς κάποια παραδοχή.

3. Αποτελέσματα - Αξιολόγηση

Στον πίνακα που ακολουθεί συνοψίζονται τα χρωματογραφήματα χρησιμοποιώντας για την ανίχνευση/ποσοτικοποίηση την τεχνική της επιλεκτικής παρακολούθησης ιόντων (SIM). Παρατηρείται ότι το DiNP και DiDP δεν αντιστοιχούν σε μία μόνο κορυφή αλλά δεδομένου ότι πρόκειται για μίγματα ισομερών φθαλικών εστέρων με ανθρακικές αλυσίδες 9 και 10 ατόμων άνθρακα αντίστοιχα, εκλούνται από τη στήλη ως συστάδα κορυφών (Σχήμα 2 (Δ) & (Ε)).



Σχήμα 2. Χρωματογράφημα GC/IT-MS, ανιχνεύοντας (Α): συνολικό ρεύμα ιόντων (Total Ion Current), τεχνική επιλεκτικής παρακολούθησης ιόντων (SIM) (Β) $m/z=149$ (, (Γ) $m/z=163$, (Δ) $m/z=293$ και (Ε) $m/z=307$.

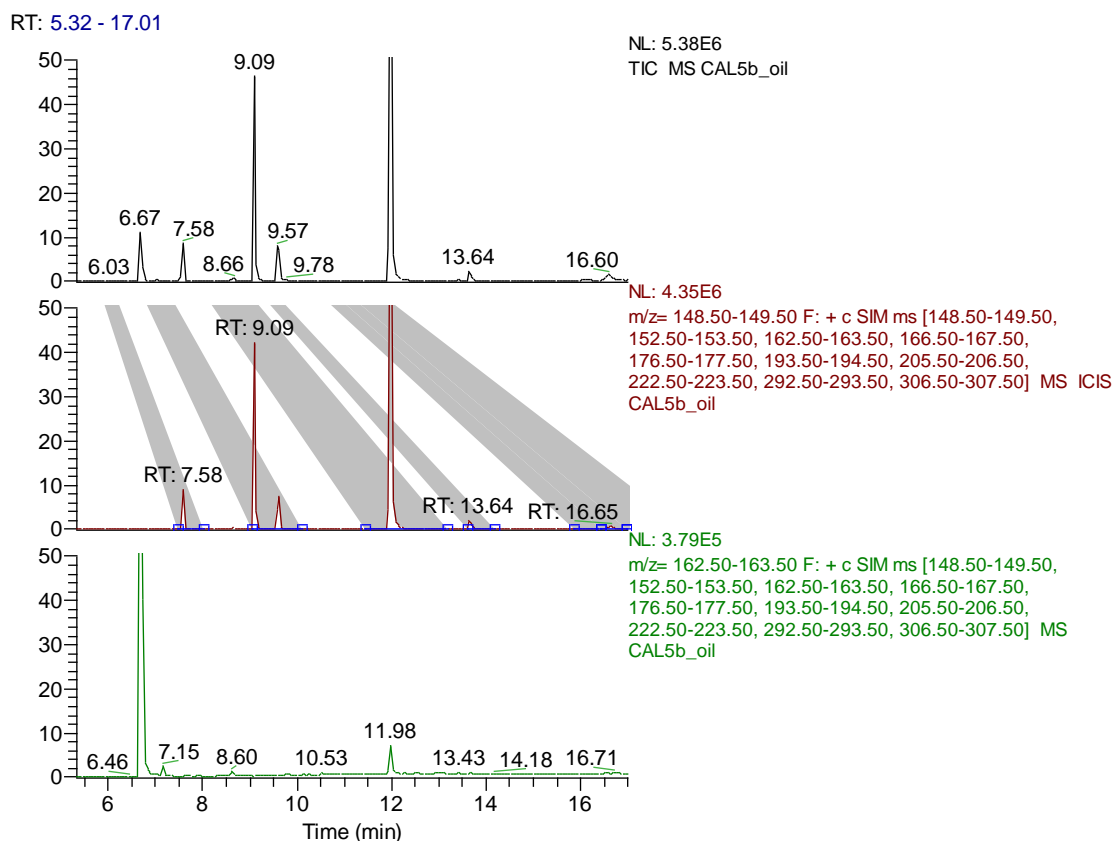
Για την κατασκευή της καμπύλης βαθμονόμησης, ως τετμημένη (ψ -άξονας) χρησιμοποιείται ο λόγος του εμβαδού του σήματος του φθαλικού εστέρα δια του εμβαδού του σήματος του αντίστοιχου επισημασμένου φθαλικού εστέρα.

Πίνακας 2: χρόνοι κατακράτησης, m/z ποσοτικοποίησης, δ/τ α καμπύλης βαθμονόμησης.

| | Συγκέντρωση ($\mu\text{g}/\text{kg}$) | | | | | | | | |
|-------------|---|------|------|------|------|-------|-------|-------|--|
| | DMP | DEP | DiBP | DBP | DEHP | BBP | DiNP | DiDP | |
| CAL 1 | 50 | 50 | 50 | 50 | 50 | 400 | | | |
| CAL 2 | 100 | 100 | 100 | 100 | 100 | 800 | 800 | 800 | |
| CAL 3 | 500 | 500 | 500 | 500 | 500 | 4000 | 4000 | 4000 | |
| CAL 4 | 1000 | 1000 | 1000 | 1000 | 1000 | 8000 | 8000 | 8000 | |
| CAL 5 | 2000 | 2000 | 2000 | 2000 | 2000 | 12000 | 12000 | 12000 | |
| CAL 6 | 4000 | 4000 | 4000 | 4000 | 4000 | 16000 | 16000 | 16000 | |
| t_R (min) | 6.7 | 7.6 | 9.6 | 9.1 | 1360 | 12.0 | 16-21 | 19-24 | |
| m/z | 163 | 149 | 149 | 149 | 149 | 149 | 293 | 307 | |
| m/z I.D. | 167 | 153 | 153 | 153 | 153 | 153 | 153 | 153 | |

Η. Κακουλίδης, Χ. Αλεξόπουλος, Α. Γεωργοπούλου, Ε. Λαμπή, Γενικό Χημείο Κράτους, Ε' Χ.Υ. Αθηνών
Προσδιορισμός φθαλικών εστέρων σε ελαιόλαδο με ID-GC/IT-MS. Εκτίμηση της αβεβαιότητας της
μέτρησης με GUM και Monte Carlo μεθοδολογία.

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

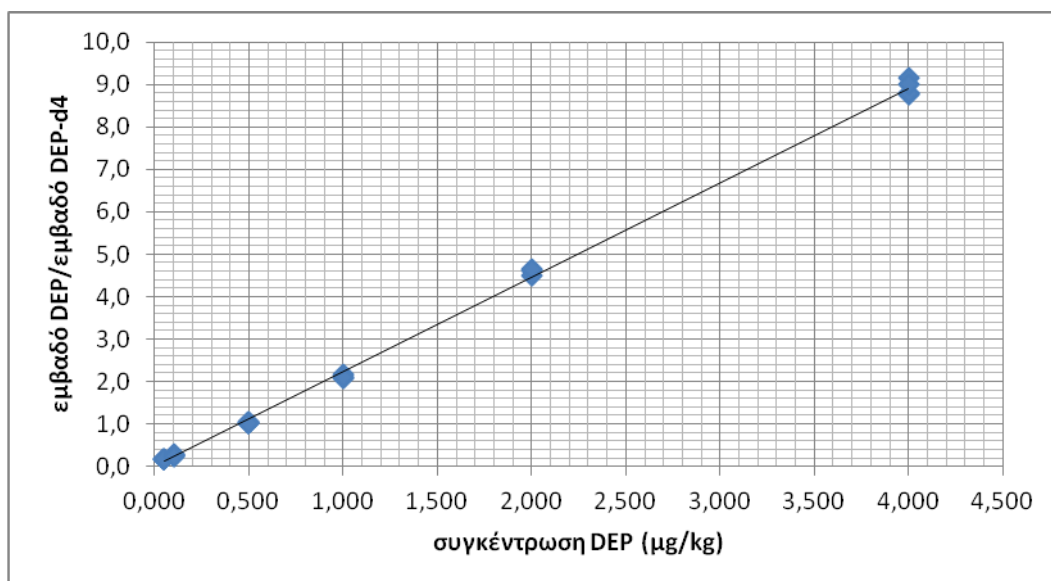


Σχήμα 3: Προσδιορισμός φθαλικών εστέρων σε ελαιόλαδο. (Α) TIC, (Β) επιλεκτική παρακολούθηση ιόντος $m/z=149$: DEP, DBP, DiBP, BBP, DEHP, (C) επιλεκτική παρακολούθηση ιόντος $m/z=167$: DMP

Πίνακας 3. Προσδιορισμός γραμμικής περιοχής και ορίου ανίχνευσης μεθόδου προσδιορισμού φθαλικών εστέρων σε ελαιόλαδο

| | LOD (mg/kg) | Γραμμική Περιοχή (mg/kg) |
|------|-------------|--------------------------|
| DMP | 0.01 | 0.03 - 4.0 |
| DEP | 0.03 | 0.09 - 4.0 |
| DiBP | 0.02 | 0.06 - 4.0 |
| DBP | 0.05 | 0.15 - 4.0 |
| BBP | 0.02 | 0.06 - 16.0 |
| DEHP | 0.07 | 0.21 - 4.0 |
| DiNP | 0.5 | 1.5 - 16.0 |
| DiDP | 0.5 | 1.5 - 16.0 |

Προσδιορίστηκαν τα όρια ανίχνευσης και ποσοτικού προσδιορισμού της μεθόδου για κάθε φθαλικό εστέρα και τα αποτελέσματα καταγράφονται στον Πίνακα 3.



Σχήμα 4. Καμπύλη βαθμονόμησης εμβολιασμένων δειγμάτων ελαιολάδου με DEP (matrix matched).

Για τον υπολογισμό της συνδυασμένης τυπικής αβεβαιότητας της μέτρησης (σύμφωνα με τη τεχνική GUM: διάδοση αβεβαιοτήτων), ελήφθησαν υπόψη παράγοντες όπως ο βαθμός καθαρότητας των πρότυπων ουσιών, η ανάκτηση και η επαναληψιμότητα της μεθόδου σε διαφορετικά επίπεδα συγκεντρώσεων του αναλύτη, αβεβαιότητες που προκύπτουν από τη χρήση του ζυγού, του ογκομετρικού εξοπλισμού και αβεβαιότητα από τη χρήση καμπύλης βαθμονόμησης.

Υπολογίστηκε η διευρυμένη τυπική αβεβαιότητα σε πέντε διαφορετικά επίπεδα συκέντρωσης αναλύτη (για κάθε φθαλικό εστέρα), λαμβάνοντας υπόψη ότι για επίπεδο εμπιστοσύνης 95%, ο συντελεστής κάλυψης είναι $k=2$.

Από τα αποτελέσματα υπολογισμού της συνδυασμένης τυπικής αβεβαιότητας της μέτρησης με τη μεθοδολογία GUM, προκύπτει ότι η συνεισφορά της αβεβαιότητας από την καμπύλη βαθμονόμησης παίζει καθοριστικό ρόλο σε όλους τους φθαλικούς εστέρες.

Οι υπολογισμοί της αβεβαιότητας με προσομοίωση Monte Carlo πραγματοποιήθηκαν σε φύλλο εργασίας Excel χρησιμοποιώντας τουλάχιστον 10^4 αριθμό δοκιμών. Οι παράγοντες που επιδρούν στην αβεβαιότητα και οι συναρτήσεις της κατανομής πιθανοτήτων τους παρουσιάζονται στον Πίνακα 4. Η συνάρτηση κατανομής της μετρούμενης (εξερχόμενης) ποσότητας φαίνεται να προσομοιάζει σε μια κανονική κατανομή (Πίνακας 4).

Πίνακας 4. Monte Carlo προσομοίωση- Παράγοντες που επιδρούν στην αβεβαιότητα και συναρτήσεις κατανομής-Πυρηνοδιάγραμμα πυκνότητας μετρούμενου μεγέθους (DMP 4 ppm).

| | | |
|---------------------|--------------------|---|
| Εμβασό/Συγκέντρωση | Κανονική κατανομή | <p>Πυρηνοδιάγραμμα πυκνότητας Kernel</p> <p>συγκέντρωση DMP (mg/kg)</p> |
| μάζα | Ορθογώνια κατανομή | |
| Όγκος | Τριγωνική κατανομή | |
| Όγκος (θερμοκρασία) | Ορθογώνια κατανομή | |
| Βαθμός καθαρότητας | Ορθογώνια κατανομή | |

4. Συμπεράσματα – προτάσεις

Αναπτύχθηκε και επικυρώθηκε μια μέθοδος για τον προσδιορισμό φθαλικών εστέρων σε ελαιόλαδα με την τεχνική ισοτοπικής αραίωσης (I.D) και οργανολογία GC/IT-MS.

Ο υπολογισμός της αβεβαιότητας της μέτρησης πραγματοποιήθηκε με δύο διαφορετικές τεχνικές: (1) με τη μεθοδολογία GUM, που βασίζεται στην αρχή της διάδοσης της αβεβαιότητας και στο θεώρημα του κεντρικού ορίου (υιοθέτηση/αποδοχή κανονικής κατανομής) και (2) με τη μεθοδολογία Monte Carlo, η οποία βασίζεται στην αρχή συνδυασμού των συναρτήσεων κατανομής (Σχήμα 1), χρησιμοποιώντας για την προσομοίωση τυχαία δειγματοληψία μεγάλου αριθμού τιμών. Κατά τη μεθοδολογία Monte Carlo, η αβεβαιότητα της μέτρησης υπολογίζεται από την πυκνότητα πιθανότητας του μετρούμενου (εξερχόμενου) μεγέθους σε αντίθεση με την προσέγγιση GUM, όπου υπολογίζεται ντετερμινιστικά.

Από τη σύγκριση των αποτελεσμάτων των δύο μεθοδολογιών, φαίνεται ότι αυτά δε διαφέρουν σημαντικά, ειδικά στις μεγαλύτερες συγκεντρώσεις των φθαλικών εστέρων. Γενικά η μεθοδολογία GUM, όπου η πηγή αβεβαιότητας με τη μεγαλύτερη συνεισφορά είναι η καμπύλη βαθμονόμησης, φαίνεται να υπερεκτιμά την αβεβαιότητα κυρίως σε χαμηλές συγκεντρώσεις αναλύτη, γεγονός που έρχεται σε συμφωνία με προηγούμενες παρατηρήσεις.

5. Βιβλιογραφία

Al Sosiak, M., Thorsten Hebben, ‘*A Preliminary Survey of Pharmaceuticals and Endocrine Disrupting Compounds in Treated Municipal Wastewaters and Receiving Rivers of Alberta*’, Water Quality Specialist Environmental Management Southern Region, Environmental Monitoring and Evaluation Branch, Alberta Environment, 2005.

Azpurua, M., Tremola, C., Plaetz, E, ‘*Comparison of the GUM and Monte Carlo methods for the uncertainty estimation in electromagnetic comparability testing*’, Progress In Electromagnetics Research B, Vol. 34, 125-144, 2011.

Cao, Xu-Liang, ‘*Phthalate Esters in Foods: Sources, Occurrence, and Analytical Methods*’, Institute of Food Technologists R _ Vol. 9, 2010—Comprehensive Reviews in Food science and food safety, 2010.

Chena, Hung-Chia, Wua, Pei-Chen, Huangb, Jing-Ye, Lin-An Chena, ‘*Uncertainty analysis for measurement of measurand*’, Measurement, Volume 43, Issue 9, Pages 1250–1254, November 2010.

Dugoa, G., Fotia, V., Lo Turcoa, V., Maisanob, R., Potortia, A.G., Salvoa, A., Di Bellaa G., ‘*Phthalate, adipate and sebacate residues by HRGC-MS in olive oils from Sicily and Molise (Italy)*’, Food Control, Volume 22, Issue 6, Pages 982–988, 2011.

Earls, A.O., Axford, I.P., Braybrook, J.H., ‘*Gas chromatography–mass spectrometry determination of the migration of phthalate plasticisers from polyvinyl chloride toys and childcare articles*’, Journal of Chromatography A, 983 237–246, 2003.

Eurachem/CITAC Guide CG4 ‘*Quantifying Uncertainty in analytical measurement*’, 2012, Third Edition, QUAM:2012.P1, Appendix E, 2012.

Η. Κακουλίδης, Χ. Αλεξόπουλος, Α. Γεωργοπούλου, Ε. Λαμπή. Γενικό Χημείο Κράτους, Ε΄Χ.Υ.Αθηνών
Προσδιορισμός φθαλικών εστέρων σε ελαιόλαδο με ID-GC/IT-MS. Εκτίμηση της αβεβαιότητας της
μέτρησης με GUM και Monte Carlo μεθοδολογία.

Fankhauser-Noti, Anja, Grob, Koni, 'Blank problems in trace analysis of diethylhexyl and dibutyl phthalate: Investigation of the sources, tips and tricks', *Analytica Chimica Acta*, Volume 582, Issue 2, , Pages 353-360, 2007.

Holadova, Katerina, Prokupkova, Gabriela, Hajslova, Jana, Poustka, Jan, 'Headspace solid-phase microextraction of phthalic acid esters from vegetable oil employing solvent based matrix modification', *Analytica Chimica Acta* 582, 24–33, 2007.

Ierapetritis, I., Lioupis, A., Lampi, E., 'Determination of Phthalates into Vegetable Oils by Isotopic Dilution Gas Chromatography Mass Spectrometry', *Food Analytical Methods*, December 2013.

Montuoria, P., Joverb, E., Morgantina, M., Bayonab, J. M. & Triassia, M., 'Assessing human exposure to phthalic acid and phthalate esters from mineral water stored in polyethylene terephthalate and glass bottles', *Food Additives & Contaminants: Part A*, Volume 25, Issue 4, 2008.

Savchuk, S. A., Nuzhnyi, V. P. and Kolesov, G. M., 'Factors affecting the accuracy of the determination of diethyl phthalate in vodka, ethanol, and samples of illegal alcoholic products', *Journal of Analytical Chemistry*, Volume 61, Number 12, 1198-1203, 2006.

Schechter, A., Lorber, M., Guo, Y., Qian Wu, Q., Yun, Se Hun, Kannan, K., Hommel, M., Mran, N., Hynan, L., Dunlei Cheng, D., Colacino, J.A. and Birnbaum, L.S., 'Phthalate Concentrations and Dietary Exposure from Food Purchased in New York State', *Environmental Health Perspectives*, volume 121, number 4, 473, April 2013.

Theodorou, D., Meligotsidou, L., Karavoltos, S., Burnetas, A., Dassenakis, M., Scoullou, M., 'Comparison of ISO-GUM and Monte Carlo methods for the evaluation of measurement uncertainty: Application to direct cadmium measurement in water by GFAAS', *Talanta*, 83, 1568-1574, 2011.

Tomar, Rajpal S, Budroe, John D., Cendak, Rose, 'Evidence on the carcinogenicity of DiNP', Office of Environmental Health Hazard Assessment (OEHHA) of the California Environmental Protection Agency, October 2013.

JCGM 100: 2008, 'GUM 1995 with minor corrections; Evaluation of measurement data-GUM', JCGM/WG 1, 2008.

JCGM 101: 2008, 'Evaluation of measurement data-GUM-propagation of distributions using Monte Carlo', JCGM/1st edition, 2008.

JCGM 102: 2011, 'Evaluation of measurement data-supplement 2 to the GUM-extension to any number of output quantities', JCGM/WG 1, 2011.