ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΔΙΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΩΝ ΣΧΗΜΑΤΩΝ ΕΛΕΓΧΟΥ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ ΜΕ ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΕΝΟ ΑΡΙΘΜΟ ΣΥΜΜΕΤΕΧΟΝΤΩΝ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΩΝ

Παναγιώτα Γιαννικοπούλου[1], Αλεξάνδρα Γεωργοπούλου[1], Αγγελική Παναγιωτοπούλου[2], Χαράλαμπος Αλεξόπουλος[1], Ευγενία Λαμπή[3]
[1]Χημική Υπηρεσία Μετρολογίας, Γενικό Χημείο του Κράτους, Αν. Τσόχα 16, 115 21 Αθήνα
[2]Ε.Κ.Ε.Φ.Ε. Δημόκριτος, Ινστιτούτο Βιοεπιστημών & Εφαρμογών, Νεαπόλεως, 153 10, Αγ.Παρασκευή
[3]Β' Χημική Υπηρεσία Αθηνών, Γενικό Χημείο του Κράτους, Αν.Τσόχα 16, 115 21 Αθήνα
e-mail: cms@gcsl.gr

Περίληψη

Τα σχήματα διεργαστηριακών δοκιμών ελέγχου ικανότητας (ProficiencyTestingschemes, PTs) αξιολογούν την επίδοση των συμμετεχόντων εργαστηρίων με τη χρήση z-score, για τον υπολογισμό τουοποίου απαιτείται ο ορισμός της αποδιδόμενης τιμής. Στον Οδηγό της IUPAC/CITAC/2010 'για την επιλογή και χρήση διεργαστηριακών σχημάτων με περιορισμένο αριθμό συμμετεχόντων εργαστηρίων', η χρήση της συμφωνημένης τιμής των αποτελεσμάτων των συμμετεχόντων εργαστηρίων ως αποδιδόμενης τιμής δεν συνιστάται για την αξιολόγηση διεργαστηριακών σχημάτων με περιορισμένο αριθμό συμμετοχών. Στις περιπτώσεις αυτές, το προς διανομή υλικό μπορεί να είναι πιστοποιημένο υλικό αναφοράς (certified reference material (CRM), υλικό αναφοράς (RM) ή εμβολιασμένο υλικό (fortified/spiked material), οπότε ως αποδιδόμενη τιμή μπορεί να χρησιμοποιηθεί η πιστοποιημένη τιμή αναφοράς, η τιμή αναφοράς ή το επίπεδο εμβολιασμού της προς ανάλυση παραμέτρου αντίστοιχα (upon formulation/spiking).

Στην παρούσα εργασία παρουσιάζεται η αξιολόγηση διεργαστηριακών σχημάτων SCHEMA (**SC**emefor**CHE**mical**M**easurement**A**ssessment) με περιορισμένο αριθμό συμμετοχών που ικανοποιούν τις απαιτήσεις των προτύπων ISO/IEC 17043:2010 και ISO 13528:2015 για τον υπολογισμό της αποδιδόμενης τιμής. Τα προς αξιολόγηση σχήματα ήταν τα εξής:

(A) SCHEMA 62 01: βαρέα μέταλλα σε τρόφιμα, **(B1) SCHEMA63 03**: φυτοπροστατευτικές ουσίες σε τρόφιμα, (B2) **SCHEMA 80 03**: πρόσθετα (χρωστικές) σε ποτό ελεύθερο αλκοόλης και (Γ) **SCHEMA 63 02**: ακρυλαμίδιο σε τρόφιμα.

Λέξεις-Κλειδιά: διεργαστηριακό σχήμα, z-score, πιστοπ. υλικό αναφοράς, ιχνηλασιμότητα

Abstract

The analytical chemical laboratories should evaluate their performance by participating in Proficiency Testing schemes. In a Proficiency Testing schemes (PTs) with a limited number of participants, the use of the consensus value as the assigned value is not recommended for the evaluation of the participants' submitted results. In such cases, the PT provider should take care to distribute a certified reference material, a reference material or fortified/spiked material with known amount of analytes.

In our contribution, the performance evaluation in PT schemes with limited number of participants in four (4) SCHEMA PT schemes is presented. In all cases, the evaluation of

the participants' submitted results is performed in agreement with IUPAC/CITAC/2010 guide and the ISO 13528:2015.

Keywords: Proficiency testing scheme, z-score, certified reference material, traceability

1. Εισαγωγή

Τα διαπιστευμένα χημικά εργαστήρια δοκιμών και αναλύσεων προκειμένου να αξιολογούν την επίδοσή τους (ISO/IEC 17025:2005), οφείλουν να συμμετέχουν σε προγράμματα εξωτερικού ελέγχου ποιότητας (σχήματα διεργαστηριακών δοκιμών ελέγχου ικανότητας, Proficiency Testing schemes, PTs). Η αξιολόγηση αυτή βασίζεται σε Διεθνή Πρότυπα (ISO 13528:2015, εναρμονισμένο πρωτόκολλο της IUPAC:2006, κτλ) και πραγματοποιείται για κάθε συνδυασμό εργαστήριο/παράμετρο/μέθοδο συνήθως με την παράμετρο z-score, που υπολογίζεται από την εξίσωση (1):

$$z = \frac{x - \hat{X}}{\sigma_p} \qquad (1)$$

Όπου, x το αποτέλεσμα του εργαστηρίου για την συγκεκριμένη παράμετρο

$\hat{X}$ η αποδιδόμενη τιμή της παραμέτρου στη διεργαστηριακή δοκιμή

σ_p η τιμή στόχος της τυπικής απόκλισης για την αξιολόγηση της επίδοσης

Η κατηγοριοποίηση/χαρακτηρισμός των αποτελεσμάτων με τη χρήση των z-scores γίνεται ως εξής:

- $|z| \leq 2$, αποδεκτή ή ικανοποιητική επίδοση του εργαστηρίου,
- $2<|z|\leq 3$, λήψη σήματος προειδοποίησης (warning signal - σύμφωνα με το ISO 13528:2015) για το εργαστήριο.
- $|z|>3$, το εργαστήριο λαμβάνει σήμα για δράση (action signal - σύμφωνα με το ISO 13528:2015).

Για τον καθορισμό της αποδιδόμενης τιμής μπορούν να χρησιμοποιηθούν εναλλακτικά οι μέθοδοι που περιγράφονται στο εναρμονισμένο πρωτόκολλο της IUPAC και στο ISO 13528:2015. Η επιλογή της κατάλληλης μεθόδου γίνεται με βάση τα ποιοτικά και ποσοτικά χαρακτηριστικά των δειγμάτων της διεργαστηριακής δοκιμής, των χρησιμοποιηθέντων μεθόδων και των αποτελεσμάτων που υπέβαλλαν οι συμμετέχοντες.

Η αποδιδόμενη τιμή της προς ανάλυση παραμέτρου σε σχήματα διεργαστηριακών δοκιμών ελέγχου ικανότητας είναι δυνατό να καθοριστεί από:

- <u>μετρήσεις ενός εργαστηρίου αναφοράς</u>. Το εργαστήριο μπορεί να παρασκευάσει (κατόπιν οδηγιών και προδιαγραφών του διοργανωτή) το δείγμα που θα διανεμηθεί στους συμμετέχοντες, δείγμα που μπορεί να καλύπτει τις συγκεκριμένες απαιτήσεις ενός διεργαστηριακού σχήματος. Ο χαρακτηρισμός του υλικού μπορεί να γίνει από εξειδικευμένο (εγκεκριμένο για την αξιοπιστία του) εργαστήριο με χρήση μεθόδου υψηλής μετρολογικής ποιότητας (primary analytical method) σε αριθμό τυχαία επιλεγμένων δειγμάτων.

- <u>την πιστοποιημένη τιμή αναφοράς ενός CRM</u>. Στην περίπτωση που στη διεργαστηριακή δοκιμή διανέμεται πιστοποιημένο υλικό αναφοράς (Certified Reference Material, CRM), η τιμή (όπως αυτή προκύπτει από το αντίστοιχο πιστοποιητικό) του υλικού χρησιμοποιείται ως αποδιδόμενη τιμή και παρέχει μετρολογική ιχνηλασιμότητα.

Π.Γιαννικοπούλου[1], Α.Γεωργοπούλου[1], Α.Παναγιωτοπούλου[2], Χ.Αλεξόπουλος[1] & Ε.Λαμπή[3]
Χ.Υ. Μετρολογίας, Γενικό Χημείο του Κράτους, Αν.Τσόχα 16, 115 21 Αθήνα

- την τιμή αναφοράς. Το υπό εξέταση υλικό, που θα διανεμηθεί, χαρακτηρίζεται με αναλυτικές μετρήσεις συγκριτικά με ένα CRM. Απαραίτητη προϋπόθεση το υλικό να προσομοιάζει στο CRM όσον αφορά στο υπόστρωμα και στη συγκέντρωση του αναλύτη. Εξασφαλίζεται μετρολογική ιχνηλασιμότητα.
- τη γνωστή ποσότητα (known value) ή συγκέντρωση του αναλύτη που προστίθεται σε ποσότητα λευκού δείγματος (formulation) – εμβολιασμός (spiking)
- τη συμφωνημένη τιμή: (a) εξειδικευμένων εργαστηρίων ή (b) συμμετεχόντων εργαστηρίων (συχνά χρησιμοποιείται η διάμεση ή η μέση τιμή)

Σε περιπτώσεις σχημάτων διεργαστηριακών δοκιμών με μικρό αριθμό συμμετεχόντων η αποδιδόμενη τιμή για κάθε παράμετρο δεν είναι δυνατό να προσδιοριστεί από την συμφωνημένη τιμή των αποτελεσμάτων των συμμετεχόντων. Στις περιπτώσεις αυτές είναι δυνατό για τον καθορισμό της αποδιδόμενης τιμής να χρησιμοποιηθεί μία από τις άλλες παραπάνω προσεγγίσεις.

Η χρήση πιστοποιημένων υλικών αναφοράς επιτρέπει τη μετρολογική προσέγγιση ενός διεργαστηρακού σχήματος εξασφαλίζοντας,:

- την ιχνηλασιμότητα των αποτελεσμάτων του διεργαστηριακού σε μία μετρολογική αναφορά και συνεπώς τη συγκρίσιμότητά τους (comparability)
- την αξιολόγηση των αποτελεσμάτων της διεργαστηριακής δοκιμής, σαν μία ομάδα συμμετοχών, εξετάζοντας τη συμβατότητά τους με την τιμή αναφοράς (compatibility).

Στην παρούσα εργασία παρουσιάζεται η αξιολόγηση από το εργαστήριο της Χημικής Υπηρεσίας Μετρολογίας, σχημάτων διεργαστηριακών δοκιμών SCHEMA, με μικρό αριθμό συμμετεχόντων. Για τον υπολογισμό της αποδιδόμενης τιμής παραμέτρου, χρησιμοποιήθηκαν τρεις διαφορετικές προσεγγίσεις:

1. πιστοποιημένη τιμή αναφοράς υλικού που διανεμήθηκε στα πλαίσια της δοκιμής SCHEMA 62 01,

2. προσθήκη γνωστής ποσότητας του αναλύτη/εμβολιασμός, που χρησιμοποιήθηκε για την παρασκευή του υλικού (**2.1**: SCHEMA 63 03& **2.2**: SCHEMA 80 03) ,

3. χαρακτηρισμός του υλικού από εργαστήριο αναφοράς (SCHEMA 63 02).

2. Μεθοδολογία – Αξιολόγηση σχημάτων διεργαστηριακών δοκιμών SCHEMA

2.1 Πιστοποιημένη τιμή αναφοράς υλικού - SCHEMA 62 01

Στα πλαίσια της διεργαστηριακής δοκιμής SCHEMA 62 01-προσδιορισμός βαρέων μετάλλων σε τρόφιμα, διανεμήθηκε στους συμμετέχοντες το πιστοποιημένο υλικό αναφοράς INCT-TL-1, Tea Leaves, Institute of Nuclear Chemistry and Technology (Βαρσοβία, Πολωνία).

Για την αξιολόγηση της επίδοσης των συμμετεχόντων εργαστηρίων, ως αποδιδόμενη τιμή για κάθε παράμετρο χρησιμοποιήθηκε η πιστοποιημένη τιμή αναφοράς του υλικού από το πιστοποιητικό ανάλυσης του υλικού και ως τιμή στόχος για την τυπική απόκλιση της διεργαστηριακής δοκιμής χρησιμοποιήθηκε η διεργαστηριακή αναπαραγωγιμότητα όπως

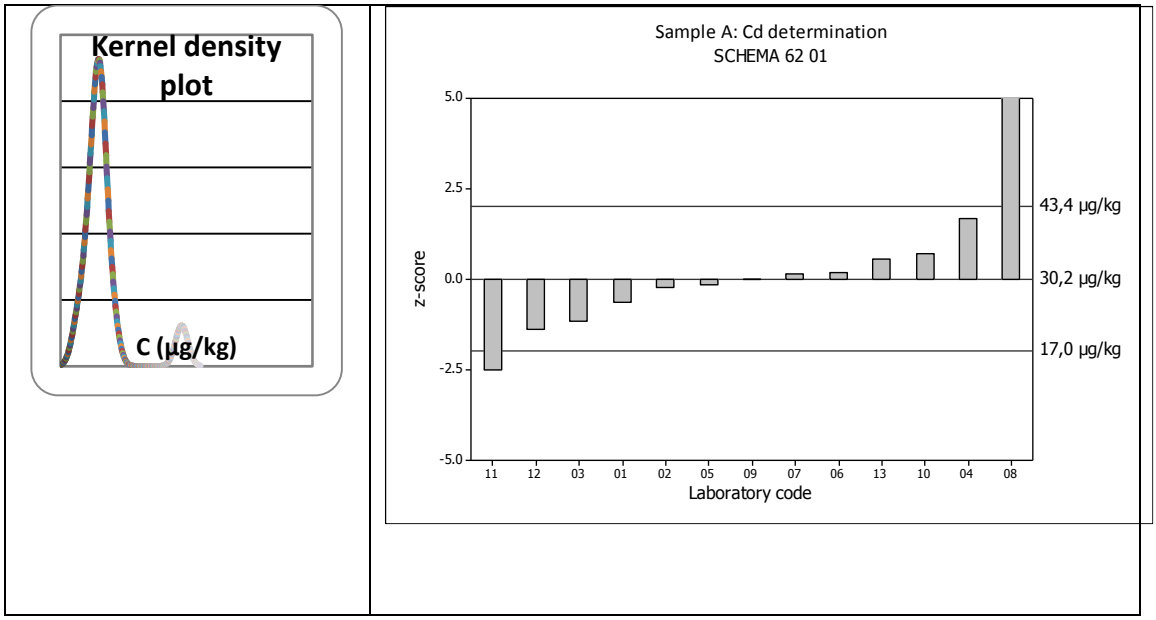
προκύπτει από την τροποποιημένη εξίσωση του Horwitz, λαμβάνοντας υπόψη το επίπεδο συγκέντρωσης κάθε αναλύτη (Πίνακας 1, Σχήμα 1).

Με τη διανομή πιστοποιημένου υλικού αναφοράς εξασφαλίζεται τόσο η συγκρισιμότητα (comparability) των αποτελεσμάτων αλλά και η ιχνηλασιμότητα αυτών (traceability).

Επιπρόσθετα, η συμβατότητα του πιστοποιημένου υλικού αναφοράς (compatibility) σε σχέση με τα αποτελέσματα των συμμετεχόντων στη δοκιμή εργαστηρίων, μπορεί να αξιολογηθεί.

Πίνακας 1. Περιγραφικά στατιστικά στοιχεία διεργαστηριακής δοκιμής SCHEMA 62 01.

	Cd	As	Ni	Cu	Cr total
Διάμεση τιμή (μg/kg)	30.3	116	5571	20210	1834
Μέση τιμή (μg/kg)	33.9	432	5381	18970	1799
Τυπική απόκκλιση (mg/kg)	19.9	635	797	5486	233
Εκτίμηση της κεντρικής τάσης A15	30.0	116	5463	20032	1807
Ανθεκτική τυπική απόκλιση $\hat{\sigma}$ (sMAD)	6.2	25.2	831.8	3994.9	265.5
Τιμή στόχος για την τυπική απόκλιση σ_p	6.6	23.3	745.4	2072.8	276
$(u)^2/(\sigma_p)^2$	0.1	0.1	0.1	0.3	0.1
Αποδιδόμενη τιμή $\hat{X}$ **(μg/kg)**	30.2	106	6120	20400	1900



Σχήμα 1. SCHEMA 62 01-προσδιορισμός Cd σε τσάι. Διάγραμμα πυκνότητας-πυρήνα (Kernel Density Plot)-αριστερά και αξιολόγηση επίδοσης συμμετεχόντων μέσω z-score –δεξιά

2.2 Προσθήκη γνωστής ποσότητας αναλύτη / εμβολιασμός

2.2.1. SCHEMA 63 03- Προσδιορισμός υπολειμμάτων φυτοπροστατευτικών ουσιών σε τρόφιμα

Στη διεργαστηριακή δοκιμή SCHEMA 63 03-προσδιορισμός υπολειμμάτων φυτοπροστατευτικών ουσιών σε τρόφιμα, διανεμήθηκε ως δείγμα χυμός πορτοκάλι από εμβολιασμό λευκού δείγματος χυμού πορτοκαλιού με γνωστή ποσότητα έντεκα φυτοφαρμάκων (in house formulated testing material). Τα επίπεδα εμβολιασμού για κάθε ουσία, επιλέχτηκαν ώστε να ικανοποιούν τις απαιτήσεις των Κανονισμών 396/2005 και 400/2014 της Επιτροπής.

Οι συμμετέχοντες κλήθηκαν να αναλύσουν δύο δείγματα χυμών: Δείγμα Α (70g) λευκό βιολογικό δείγμα χυμού πορτοκαλιού (αναλύθηκε και βρέθηκε ελεύθερος φυτοφαρμάκων) και Δείγμα Β, Δείγμα Α εμβολιασμένο με γνωστή ποσότητα φυτοφαρμάκων. Η ταυτότητα των προς προσδιορισμό φυτοφαρμάκων ήταν γνωστή για τα τρία από αυτά (atrazine, dieldrin and chlorpyrifos), ενώ για τα υπόλοιπα οκτώ (malathion, dimethoate, quinoxifen, azinphos-ethyl, trifluralin, isoproturon, chlorpyrifos-methyl, parathion-methyl), αναφέρθηκε ότι ανήκουν σε μία συγκεκριμένη λίστα-στόχο (target-list), που κοινοποιήθηκε στους συμμετέχοντες.

Για τον εμβολιασμό του υλικού, έλαβε χώρα προσθήκη γνωστής ποσότητας (ογκομετρικός προσδιορισμός - χρήση διακριβωμένων πιπετών) προτύπων διαλυμάτων φυτοφαρμάκων γνωστής καθαρότητας σε ποσότητα 800 g (διακριβωμένου ζυγού) λευκού χυμού πορτοκαλιού.

Για την αξιολόγηση της επίδοσης των συμμετεχόντων εργαστηρίων, η αποδιδόμενη τιμή (assigned value) για κάθε φυτοφάρμακο καθορίστηκε από το επίπεδο εμβολιασμού (known amounts) κάθε φυτοφαρμάκου στο υπόστρωμα, η οποία σε κάθε περίπτωση επιβεβαιώθηκε και πειραματικά.

Ως τιμή-στόχος της τυπικής απόκλισης για την αξιολόγηση της επίδοσης, σ_p , χρησιμοποιήθηκε το 25% της αποδιδόμενης τιμής, σε συμφωνία με τις διαδικασίες που εφαρμόζουν και τα Κοινοτικά Εργαστήρια αναφοράς.

2.2.1.1. Υπολογισμός ισοζυγίου αβεβαιότητας της αποδιδόμενης τιμής

Η συνδυασμένη αβεβαιότητα της αποδιδόμενης τιμής υπολογίστηκε από την εξίσωση (2), λαμβάνοντας υπόψη τις συνεισφορές στην αβεβαιότητα που προκύπτουν από την παρασκευή, ομοιογένεια και σταθερότητα του υλικού:

$$u_{assigned} = \sqrt{u_p^2 + \frac{s_h^2}{3} + \frac{s_s^2}{3}} \qquad (2)$$

Όπου: u_p^2 = αβεβαιότητα από την παρασκευή του υλικού, $\frac{s_h^2}{3}$ = αβεβαιότητα από την ομοιογένεια του υλικού και $\frac{s_s^2}{3}$ = αβεβαιότητα από την σταθερότητα του υλικού .

παρασκευή υλικού: οι κύριοι παράγοντες που συνεισφέρουν στην αβεβαιότητα της παρασκευής του υλικού προκύπτουν από την αβεβαιότητα της ζύγισης του υλικού/υποστρώματος (πιστοποιητικό ζυγού), από την αβεβαιότητα του όγκου της προστιθέμενης ποσότητας κάθε φυτοφαρμάκου (πιστοποιητικά πιπέτας) και την αβεβαιότητα της συγκέντρωσης του προτύπου διαλύματος. Η αβεβαιότητα του κάθε προτύπου διαλύματος, περιλαμβάνει τις συνεισφορές αβεβαιοτήτων από τη ζύγιση, από την

ογκομετρική φιάλη και από την καθαρότητα της πρότυπης ουσίας που χρησιμοποιήθηκε για την παρασκευή του.

<u>ομοιογένεια και σταθερότητα του υλικού:</u> για τον υπολογισμό των επιμέρους αβεβαιοτήτων αναλύθηκαν από τον ίδιο αναλυτή σειρές τριών τυχαίων δειγμάτων (η κάθε μια) σε τρία διαφορετικά χρονικά διαστήματα (Σχήμα 2). Η επεξεργασία των αποτελεσμάτων έγινε ανάλυση διακύμανσης δύο παραγόντων (two-way ANOVA).

Σχήμα 2. Αξιολόγηση της ομοιογένειας & σταθερότητας του υλικού που διανεμήθηκε στα πλαίσια της διεργαστηριακής δοκιμής SCHEMA 63 03. Το σύμβολο c αντιστοιχεί σε αποτελέσματα μετρήσεων ως προς μια παράμετρο και οι δείκτες στο σύμβολο c αντιστοιχούν σε τυχαίους αριθμούς δειγμάτων. Το σύμβολο T αντιστοιχεί σε άθροισμα (στηλών και σειρών) (π.χ. $T_{x1}=c_2+c_1+c_3$, ενώ $T_{0x}=c_2+c_4+c_7$).

2.2.1.2. Αποτελέσματα

Η αποδιδόμενη τιμή για κάθε φυτοπροστατευτική ουσία, η αβεβαιότητά της και άλλα περιγραφικά στατιστικά δεδομένα της διεργαστηριακής δοκιμής, καταγράφονται στον Πίνακα 2. Η αξιολόγηση της επίδοσης των συμμετεχόντων παρουσιάζεται στον Πίνακα 3.

Πίνακας 2: Περιγραφικά στατιστικά στοιχεία της διεργαστηριακής δοκιμής SCHEMA 63 03

	atrazine (mg/kg)	chlorpyrifos (mg/kg)	malathion (mg/kg)	Quinoxifen (mg/kg)	dimethoate (mg/kg)
Μέση τιμή (mg/kg)	0.185	0.214	1.148	0.103	0.094
Τυπική απόκλιση(mg/kg)	0.0217	0.1420	0.1049	0.0057	0.0036
Τυπική απόκλιση στόχος σ_p	0.0500	0.0500	0.2500	0.0250	0.0250
Αβεβαιότητα αποδιδόμενης τιμής (u)	0.009	0.010	0.086	0.009	0.008
$(u)^2/(\sigma_p)^2$	0.03	0.05	0.09	0.09	0.10
Αποδιδόμενη τιμή $\hat{X}$ (mg/kg)	0.200	0.200	1.000	0.100	0.100

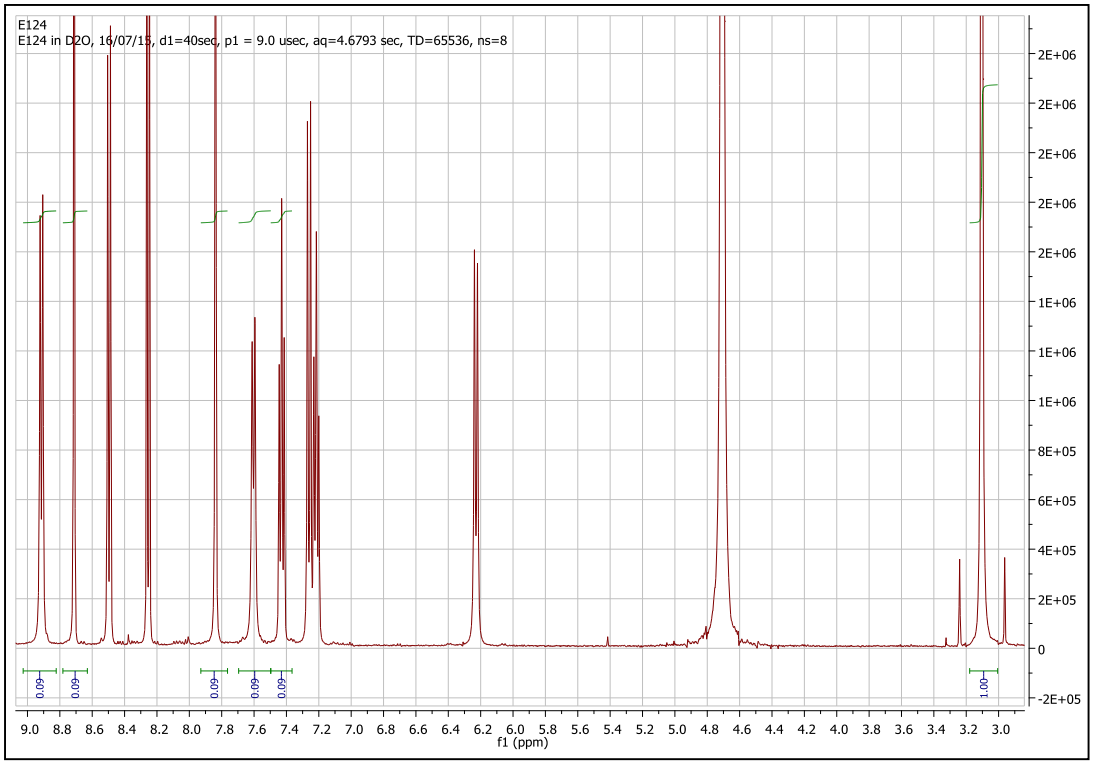
Πίνακας 3: Αποτελέσματα και z-score συμμετεχόντων

κωδικός	**Atrazine, assigned value 0.200 (mg/kg)**			**Dieldrin, assigned value 0.100 (mg/kg)**			**Chlorpyrifos, assigned value 0.200 (mg/kg)**		
εργαστηρ	Sample A(blank)	SampleB (mg/kg)	z-score	Sample A(blank)	Sample B(mg/kg)	z-score	Sample A(blank)	Sample B(mg/kg)	z-score
PEST_01	ND	0.149	-1.0	NA	NA			0.448	**5.0**
PEST_02	ND	0.198	0.0	ND	0.079	-0.8	ND	0.193	-0.1
PEST_03	ND	0.18	-0.4	ND	0.06	-1.6	ND	0.11	-1.8
PEST_04	ND	0.202	0.0	ND	0.080	-0.8	ND	0.225	0.5
PEST_05		0.195	-0.1		NA			0.093	**-2.1**
PEST_06									
PEST_07									

z-score values (|z|) > 2 are shown in bold, ND: not detected, NA: not analyzed.

2.2.2 SCHEMA 80 03-Προσδιορισμός παραμέτρων σε μη αλκοολούχα ποτά

Στη διεργαστηριακή δοκιμή SCHEMA 80 03-παράμετροι σε μη αλκοολούχα ποτά, έντεκα εργαστήρια έλαβαν μέρος και κλήθηκαν να προσδιορίσουν στο προς ανάλυση δείγμα τη συγκέντρωση συντηρητικών ουσιών (βενζοϊκό & σορβικό οξύ) και των χρωστικών Sunset Yellow FCF (E110) και Ponceau 4R (E124). Το δείγμα, που διανεμήθηκε στους συμμετέχοντες, παρασκευάστηκε με εμβολιασμό λευκού δείγματος αναψυκτικού με τις παραπάνω ουσίες. Ενώ για τον προσδιορισμό των συντηρητικών ουσιών υποβλήθηκαν ικανοποιητικά τον αριθμό αποτελέσματα από τους συμμετέχοντες, για τον προσδιορισμό των χρωστικών ουσιών, μόνο πέντε εργαστήρια υπέβαλαν τα αποτελέσματά τους. Στην περίπτωση αυτή, ως αποδιδόμενη τιμή ορίστηκε η γνωστή ποσότητα της κάθε χρωστικής που χρησιμοποιήθηκε για τον εμβολιασμό του προς ανάλυση δείγματος αναψυκτικού.



Π.Γιαννικοπούλου[1], Α.Γεωργοπούλου[1], Α.Παναγιωτοπούλου[2], Χ.Αλεξόπουλος[1] & Ε.Λαμπή[3]
Χ.Υ. Μετρολογίας, Γενικό Χημείο του Κράτους, Αν.Τσόχα 16, 115 21 Αθήνα

Σχήμα 3. Φάσμα 1D- ^{1}H-NMR για τον προσδιορισμό καθαρότητας της χρωστικής E124

Σχετικά με την παρασκευή του εμβολιασμένου υλικού, χρησιμοποιήθηκε συγκεκριμένη ποσότητα από την κάθε χρωστική, η καθαρότητα της οποίας επιβεβαιώθηκε. Με σκοπό να προσδιοριστεί με ακρίβεια η ποσότητα της κάθε χρωστικής που χρησιμοποιήθηκε για τον εμβολιασμό του δείγματος, προσδιορίστηκε η καθαρότητα της κάθε χρωστικής με την τεχνική qNMR ((quantitative Nuclear Magnetic Resonance) (εξίσωση 3) χρησιμοποιώντας ως εσωτερικό πρότυπο την διμέθυλοσουλφόνη (πιστοποιημένης καθαρότητας με ιχνηλασιμότητα στο NIST SRM 350b) (Σχήμα 3). Τα αποτελέσματα της καθαρότητας ήταν: E110= 80.72%, E124=81.78%.

$$P_t\ [\%] = \frac{n_{IC}\ x\ Int_t\ x\ MW_t\ x\ m_{IC}}{n_t\ x\ Int_{IC}\ x\ MW_{IC}\ x\ m_t}\ x\ P_{IC} \qquad (3)$$

Όπου Int: η ολοκλήρωση του σήματος στο φάσμα 1D-^{1}H-NMR, MW: το μοριακό βάρος της ουσίας, n: ο αριθμός των πρωτονίων του σήματος που ολοκληρώνεται, P: η % καθαρότητα, IC: εσωτερικό πρότυπο/βαθμονομητής μετρολογικά ιχνηλάσιμος και t:η ουσία/ένωση στόχος

Αποτελέσματα

Η αποδιδόμενη τιμή για την κάθε χρωστική, η αβεβαιότητά της και οι άλλες στατιτιστικές παράμετροι της διεργαστηριακής δοκιμής SCHEMA 80 03, παρουσιάζονται στον Πίνακα 4. Οι τιμές της αβεβαιότητας $u_{assigned}$ της αποδιδόμενης τιμής είναι μικρότερες της τιμής στόχου της τυπικής απόκλισης (x0.3) για την αξιολόγηση της επίδοσης των συμμετεχόντων εργατηρίων σ_p στην εν λόγω διεργατηριακή δοκιμή.

Η αξιολόγηση των αποτελεσμάτων των συμμετεχόντων στη διεργαστηριακή δοκιμή SCHEMA 80 03 για τον προσδιορισμό χρωστικών, παρουσιάζεται στον Πίνακα 4.

Πίνακας 4. SCHEMA 80 03-προσδιορισμός χρωστικών ουσιών. Περιγραφικά στατιστικά στοιχεία (αριστερά) και αξιολόγηση αποτελεσμάτων συμμετεχόντων (δεξιά).

	E110 (mg/l)	E124 (mg/l)
Διάμεση τιμή	19.8	9.6
Μέση τιμή	20.6	9.3
Ανθεκτική εκτίμηση του μέσου A15	19.8	9.5
Τυπική απόκλιση	6.21	1.40
Ανθεκτική τυπική απίκλιση $\hat{\sigma}$	0.15	0.89
Τυπική απόκλιση στόχος σ_p	1.99	1.11
$(u)^2/(\sigma_p)^2$	0.002	0.002
Αποδιδόμενη τιμή $\hat{x}$	19.4	9.8

Lab	E110 (mg/l) Ass. Value: 19.4		E124 (mg/l) Ass. Value: 9.8	
code	**result**	**z-score**	**result**	**z-score**
SD01				
SD02	13.1	**-3.2**	7.2	**-2.3**
SD03				
SD04				
SD05	19.9	0.3	9.6	-0.2
SD06				
SD07				
SD08	19.8	0.2	9.0	-0.7
SD09				
SD10	19.7	0.2	9.9	0.1
SD11	30.4	**5.5**	11.0	1.1

2.3 Χαρακτηρισμός υλικού: SCHEMA 63 02- προσδιορισμός ακρυλαμιδίου σε τρόφιμα

Για τη διεργαστηριακή δοκιμή SCHEMA 63 02, ως υπόστρωμα χρησιμοποιήθηκε βιολογικό αλεύρι, το οποίο εμβολιάστηκε με καθορισμένη ποσότητα προτύπου διαλύματος ακρυλαμιδίου. Οι έντεκα συμμετέχοντες κλήθηκαν να αναλύσουν δύο δείγματα, Α (λευκό) και Β (εμβολιασμένο) ως προς υπολείμματα φυτοπροστατευτικών ουσιών και ακρυλαμίδιο. Για την περίπτωση του ακρυλαμίδιου, λόγω περιορισμένων υποβληθέντων αποτελεσμάτων, ως αποδιδόμενη τιμή χρησιμοποιήθηκε η τιμή χαρακτηρισμού του δείγματος από εργαστήριο Αναφοράς.

Για το χαρακτηρισμό του δείγματος, έγινε προσδιορισμός ακρυλαμιδίου στο υλικό με χρήση πρωτεύουσας αναλυτικής μεθόδου ανάλυσης, υγρής χρωματογραφίας-διαδοχικής φασματομετρίας μάζας (LC/MS-MS) με τη χρήση ισοτοπικής αραίωσης (isotope dilution). Στην αλληλουχία για τον χαρακτηρισμό του υλικού προσδιορίστηκε και το πιστοποιημένο υλικό αναφοράς ERM-BD272 acrylamide in crispbread**,** με ID-LC-MS/MS, ώστε να εξασφαλίζεται ιχνηλασιμότητα των προσδιορισμών. Η τιμή αναφοράς για τη συγκέντρωση του ακρυλαμιδίου υπολογίστηκε 1.56 ± 0.14 μg/mg. Η τυπική απόκλιση στόχος για την αξιολόγηση του διεργαστηριακού υπολογίστηκε από την τροποποιημένη εξίσωση του Horwitz (Πίνακας 5).

Πίνακας 5. SCHEMA 63 02-προσδιορισμός ακρυλαμιδίου σε τρόφιμα. Περιγραφικά στατιστικά στοιχεία (αριστερά) και αξιολόγηση αποτελεσμάτων συμμετεχόντων (δεξιά).

	acrylamide (mg/kg)
Διάμεση τιμή (mg/kg)	1.67
Μέση τιμή (mg/kg)	1.62
Τυπική απόκλιση (mg/kg)	0.18
Τιμή στόχος για την τυπική απόκλιση σ_p	0.24
Αποδιδόμενη τιμή $\hat{X}$ (mg/kg)	1.56

	Acrylamide, assigned value: 1.56 mg/kg		
Lab code	**Sample A**	**Sample B**	**z-score**
FHM_01	ND	1.483	-0.3
FHM _02	ND	1.67	0.5
FHM _03			
FHM _04	NA	NA	
FHM _05	<RL	1.700	0.6
FHM _06	NA	NA	
FHM _07		NA	
FHM _08	NA	NA	
FHM _09	NA	NA	
FHM _10	NA	NA	
FHM _11	NA		

Αποτελέσματα

Η αποδιδόμενη τιμή συγκρίνεται με τη διάμεση και τη μέση τιμή των αποτελεσμάτων των συμμετεχόντων εργαστηρίων (Πίνακας 5). Η αξιολόγηση των αποτελεσμάτων των συμμετεχόντων, μέσω z-score, καταγράφεται στον Πίνακα 5.

3. Συμπεράσματα

Σε περιπτώσεις διεργαστηριακών σχημάτων με περιορισμένο αριθμό συμμετεχόντων η χρήση του εμβολιασμένου λευκού υλικού με συγκεκριμένη ποσότητα της υπό ανάλυση ουσίας (formulation) είναι μια αξιόπιστη και μικρού κόστους λύση. Για τον υπολογισμό της αποδιδόμενης χρησιμοποιείται η 'γνωστή τιμή' (ISO/IEC 17043).

Με την κατάλληλη επιλογή του υλικού σε διεργαστηριακά με περιορισμένο αριθμό συμμετεχόντων:

- επιτυχγάνεται η αξιολόγηση της επίδοσης των εργαστηρίων με τη χρήση υλικού που προσεγγίζει τα δείγματα ρουτίνας
- είναι δυνατή η μετρολογική προσέγγιση στο διεργαστηριακό σχήμα.

Σε διεργαστηριακές δοκιμές ελέγχου ικανότητας με περιορισμένο αριθμό συμμετεχόντων εργαστηρίων, με την κατάλληλη επιλογή του υλικού, η αξιολόγηση της επίδοσης των εργαστηρίων με τη χρήση υλικού που προσομοιάζει τα δείγματα ρουτίνας μπορεί να επιτευχθεί και επιπλέον είναι δυνατή η επίτευξη ιχνηλασιμότητας σε υψηλό μετρολογικό επίπεδο (χρήση κατάλληλου υλικού με ιχνηλασιμότητα στο S.I.).

4. Βιβλιογραφία

Belli, M. et al., *'Implementation of Proficiency Testing schemes for a limited number of participants',* Accred. Qual. Assur., 12, 391-398, 2007.

Duewer, D.L., *'A comparison of location estimators for interlaborato y data contaminated with value and uncertainty outliers',* Accred. Qual. Assur., 13,193-216, 2008*r*.

Eurachem: '*Selection, use & interpretation of Proficiency Testing schemes*', 2nd edition, 2011.

ILAC-G13:08/2007, *Guidelines for the Requirements for the Competence of Providers of Proficiency Testing Schemes.*

ISO/IEC 17043:2010, *Conformity assessment – General requirements for proficiency testing".*

ISO 13528:2015, *Statistical methods for the use of proficiency testing by interlaboratory comparisons.*

'IUPAC/CITAC *Guide-Selection and use of Proficiency testing schemes for a limited number of participants-chemical analytical laboratories-(IUPAC Technical Report)',* Pure Appl. Chem., Vol. 82, No. 5, pp. 1099-1135, 2010.

Kim, Y-H. et al., *'A review of proficiency testing scheme in Republic of Korea: in the field of water analysis',* Accred. Qual. Assur., 15, 251-254, 2010.

Kuselman, I., et al., *'Comparability &compatibility of proficiency testing results in schemes with a limited number of participants,* Accred. Qual. Assur., 12, 563-567, 2007.

Pankratov, I., et al., *'Development of a proficiency testing scheme for a limited number of participants in the field of natural water analysis',* Acced. Qual. Assur., 15, 459-466, 2010.

Thompson, M., Ellison, S.L.R., Wood, R., *'The International Harmonized Protocol for the Proficiency Testing of Analytical Chemistry Laboratories (IUPAC Technical Report)'*, Pure Appl. Chem., Vol. 78, No. 1, pp. 145–196, 2006.