ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΥΛΙΚΩΝ ΑΝΑΦΟΡΑΣ ΓΙΑ ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΙΚΕΣ ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ

Χ. Αλεξόπουλος, Γ. Βαγενάς, Α. Γαβριήλ, Ε. Δρακοπούλου, Σ. Ιωσηφίδου, Η. Κακουλίδης, Γ. Καρύγιαννης, Σ. Κονδυλάτου, Β. Μάτσης, Σ. Ξύδας, Κ. Παναγιώτου, Α. Παπαγεωργίου, Α. Σακαλής, Φ. Σαμίου, Κ. Σούλτη, Μ. Σπυριδάκη, Ε. Τάσιος, Τ. Τογκαλίδου, Ι. Τσαβδαρίδης, Ι. Τσίγκος, και Ε. Ψωμιάδου
Γενικό Χημείο του Κράτους, Αν.Τσόχα 16, 115 21 ΑΘΗΝΑ
e-mail: metrology@gcsl.gr

Περίληψη Εργασίας

Κεντρική αρμοδιότητα του Εργαστηρίου Χημικής Μετρολογίας του Γενικού Χημείου του Κράτους αποτελεί ο σχεδιασμός, η παραγωγή και η διάθεση πιστοποιημένων υλικών αναφοράς για την υποστήριξη της μετρολογικής υποδομής της χώρας. Η φασματο-φωτομετρία υπεριώδους-ορατού αποτελεί ίσως την ευρύτερα χρησιμοποιούμενη τεχνική για τον προσδιορισμό αναλυτών με πλειάδα εφαρμογών. Στην παρούσα επικοινωνία παρουσιάζεται η πορεία του σχεδιασμού, της παραγωγής και του χαρακτηρισμού διαλυμάτων με πιστοποιημένες τιμές για την ένταση της απορρόφησης στην υπεριώδη και την ορατή περιοχή του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος. Ιδιαίτερη έμφαση δίνεται στο χαρακτηρισμό των ιδιοτήτων των διαλυμάτων, δηλαδή στην απόδοση της τιμής αναφοράς και στην εκτίμηση της αβεβαιότητάς της.

Λέξεις-Κλειδιά: πιστοποιημένα υλικά αναφοράς, φασματοφωτομετρικές μετρήσεις

Abstract

Among the main tasks of the Chemical Metrology Laboratory (EXHM/GCSL-EIM) is to design, produce and provide certified reference materials to support the national metrology infrastructure. UV-Vis spectrophotometry is currently among the most popular and widely applied techniques for the determination of various analytes in numerous applications. The subject of this communication is the presentation of the procedure followed to design, produce and characterise solutions with certified values for the absorption in the ultraviolet and the visible region of the electromagnetic spectrum. Special emphasis is given in the characterisation procedure of the solutions prepared, i.e. in assigning the reference value and in assessing its uncertainty.

Keywords: certified reference materials, spectrophotometric measurements

1. Εισαγωγή

Η φασματοφωτομετρία υπεριώδους/ορατού (UV-Vis) είναι μια από τις αναλυτικές μεθόδους που χρησιμοποιούνται ευρύτατα στην εργαστηριακή ρουτίνα των χημικών εργαστηρίων για τον προσδιορισμό της ποσότητας της ουσίας σε ποικίλα υποστρώματα. Οι μέθοδοι διακρίβωσης/ελέγχου επιδόσεων φασματοφωτομέτρων UV-Vis που εφαρμόζονται στη χώρα μας από διαπιστευμένα εργαστήρια διακρίβωσης στηρίζονται σχεδόν αποκλειστικά στη μέθοδο ASTM E 275 (ASTM 2009, ASTM 2013). Υπάρχουν επίσης αρκετές οδηγίες για την πραγματοποίηση διάφορων δοκιμών επίδοσης (OIML 2004, EP 2016, USP 2018). Η διαδικασία προβλέπει την εκτίμηση δύο κυρίως παραμέτρων κατά τη διακρίβωση του εξοπλισμού. Αρχικά, προσδιορίζεται η ακρίβεια και η επαναληψιμότητα του μήκους κύματος στο οποίο πραγματοποιούνται οι μετρήσεις, μέσα από την καταγραφή και την ανάλυση του φάσματος του οξειδίου του ολμίου σε διάλυμα υπερχλωρικού οξέος. Οι τιμές των μηκών κύματος στα οποία εκδηλώνονται τοπικά μέγιστες τιμές απορρόφησης έχουν προσδιοριστεί από δεκαπέντε εθνικά μετρολογικά ινστιτούτα και θεωρούνται ως τιμές αναφοράς που προσφέρουν ιχνηλασιμότητα στο διεθνές σύστημα μονάδων (Travis, 2005). Στη συνέχεια, κατά κανόνα ακολουθεί η εκτίμηση της σταθερότητας της γραμμής βάσης και η ακρίβεια και επαναληψιμότητα της απορρόφησης στο υπεριώδες και το ορατό τμήμα του φάσματος της ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας. Για το σκοπό αυτό, χρησιμοποιούνται συνήθως υγρά φίλτρα διχρωμικού καλίου και στερεά φίλτρα οξειδίων, αντίστοιχα, τα οποία χαρακτηρίζονται από πιστοποιημένες τιμές απορρόφησης σε συγκεκριμένα μήκη κύματος. Τέλος, πραγματοποιείται εκτίμηση της παράσιτης ακτινοβολίας, δηλαδή της ποσότητας της ακτινοβολίας εκείνης που φτάνει στον ανιχνευτή, αλλά δεν οφείλεται στην πηγή του οργάνου. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιούνται πυκνά διαλύματα KJ ή $NaNO_3$, τα οποία κάτω από ορισμένη τιμή του μήκους κύματος δρουν ως οπτικά φράγματα στην ακτινοβολία που οδηγείται στην κυψελίδα μέτρησης από την πηγή.

Σε προηγούμενή του επικοινωνία (Κακουλίδης & Λαμπή 2016), το Εργαστήριο Χημικής Μετρολογίας παρουσίασε μια μεθοδολογία βασισμένη στην Οδηγία cg18v4 της EURAMET για την κατάστρωση των σχετικών ισοζυγίων αβεβαιότητας με σκοπό τη διαμόρφωση ενός μαθηματικού μοντέλου που παρέχει την αβεβαιότητα των μετρήσεων απορρόφησης ως γραμμική συνάρτηση των ενδείξεων του οργάνου. Στην παρούσα εργασία, το ΕΧΗΜ/ΓΧΚ-ΕΙΜ προχωρά στην παρουσίαση των διαδικασιών για την παραγωγή πιστοποιημένων υλικών αναφοράς που πληρούν τις απαιτήσεις του προτύπου ISO 17034. Συγκεκριμένα, πρόκειται για την ανάπτυξη υγρών φίλτρων που παρέχουν πιστοποιημένες τιμές της έντασης της απορρόφησης σε τέσσερα μήκη κύματος της ορατής περιοχής του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος.

2. Μεθοδολογία

2.1 Σχεδιασμός και παραγωγή

Ο σχεδιασμός των υλικών βασίστηκε στις διαδικασίες που έχουν ακολουθηθεί στο παρελθόν για την παραγωγή εμπορικά διαθέσιμων φίλτρων UV από άλλα μετρολογικά ινστιτούτα. Συγκεκριμένα, εξετάστηκαν τα χαρακτηριστικά του φίλτρου SRM 931h του NIST και αποφασίστηκε να παραχθούν τέσσερα διαλύματα διαφορετικής συγκέντρωσης, τα οποία θα προσέφεραν πιστοποιημένες τιμές απορρόφησης σε επίπεδα 0 - 0,250 – 0,500

Χ. Αλεξόπουλος, Γ. Βαγενάς, Α. Γαβριήλ, Ε. Δρακοπούλου, Σ. Ιωσηφίδου, Η. Κακουλίδης, Γ. Καρύγιαννης, Σ. Κονδυλάτου, Β. Μάτσης, Σ. Ξύδας, Κ. Παναγιώτου, Α. Παπαγεωργίου, Α. Σακαλής, Φ. Σαμίου, Κ. Σούλτη, Μ. Σπυριδάκη, Ε. Τάσιος, Τ. Τογκαλίδου, Ι. Τσαβδαρίδης, Ι. Τσίγκος, Ε. Ψωμιάδου
Γενικό Χημείο του Κράτους

και 0,750 mAU.

Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιήθηκαν υπερχλωρικά άλατα του κοβαλτίου, του νικελίου, και του χαλκού, καθώς και υπερκαθαρό νιτρικό οξύ. Ως λευκό διάλυμα, χρησιμοποιήθηκε διάλυμα υπερχλωρικού οξέος 1 mM, το οποίο ενέχει αντίστοιχο ρόλο και στην πιστοποίηση των τιμών απορρόφησης στην περιοχή του υπεριώδους.

Συγκεκριμένες ποσότητες των αλάτων και του νιτρικού οξέος αναμείχθηκαν σε κατάλληλες αναλογίες και διαλύθηκαν στο λευκό διάλυμα, ώστε να επιτευχθούν τιμές απορρόφησης παρόμοιες και παραπλήσιες στην υψηλότερη τιμή απορρόφησης (0,750 mAU). Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν στο διακριβωμένο φασματοφωτόμετρο του EXHM (UV-Vis PE Lambda 650, αρ. σειράς: 650N7020802, αναγνωσιμότητα: 0,1 mAU – 0,1 nm, λογισμικό UV WinLab). Στο φασματοφωτόμετρο πραγματοποιήθηκε μια σειρά μετρήσεων με το υλικό αναφοράς NIST SRM 931h.

Στη συνέχεια, ακολούθησε προσεκτική αραίωση του αρχικού δείγματος με λευκό διάλυμα για τη διαδοχική παραγωγή διαλυμάτων όγκου 500 mL με τιμές απορρόφησης 0,250 και 0,500 mAU σε κάθε μήκος κύματος. Τέλος, τα διαλύματα που παράχθηκαν και το τυφλό διάλυμα συσκευάστηκαν σε σφραγιζόμενους γυάλινους περιέκτες όγκου 10 mL και κωδικοποιήθηκαν ως SPC01, SPC02 και SPC03 με τη βοήθεια κατάλληλων ετικετών, ενώ στο λευκό διάλυμα δεν επικολλήθηκε ετικέτα. Τέλος, μία μονάδα από κάθε ένα διάλυμα συσκευάστηκαν μαζί μία μονάδα λευκού διαλύματος σε πλαστική συσκευασία υπό κενό. Με τον τρόπο αυτό δημιουργήθηκαν 50 διαφορετικές συσκευασίες, κάθε μία από τις οποίες κωδικοποιήθηκε ως SCHEMA 200 01 XX, όπου XX ένας αριθμός από το 1 έως το 50. Οι συσκευασίες τοποθετήθηκαν σε ξηραντήρα και σε ψυγείο που λειτουργεί στους 4 C.

2.2 Μελέτη ομοιογένειας

Η μελέτη ομοιογένειας πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με τις απαιτήσεις του προτύπου ISO 17034. Συγκεκριμένα, επιλέχθηκαν τυχαία δέκα (10) συσκευασίες από εκείνες που παράχθηκαν, οι οποίες χαρακτηρίστηκαν προφανώς με μέτρηση των χαρακτηριστικών τους στα υπό επιλογή μήκη κύματος. Πραγματοποιήθηκαν δύο μετρήσεις σε κάθε δοκίμιο υλικών από τα δέκα διαφορετικά δείγματα που επιλέχθηκαν. Στη συνέχεια, τα αποτελέσματα των μετρήσεων υποβλήθηκαν σε ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) με σκοπό την εκτίμηση της διασποράς που οφείλεται σε διαφορές μεταξύ των δειγμάτων και εντός των δειγμάτων.

2.3 Μελέτη σταθερότητας

Η μελέτη ομοιογένειας πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με τις απαιτήσεις του προτύπου ISO 17034. Στη συνέχεια, τα αποτελέσματα των μετρήσεων υποβλήθηκαν σε ανάλυση παλινδρόμησης (Gust, 2008). Συγκεκριμένα, οι τιμές των υλικών αναφοράς που μετρήθηκαν κατά τη διάρκεια της σύγκρισης εντάχθηκαν ως παράμετροι εισαγωγής σε ένα γραμμικό μοντέλο της μορφής:

$$R = b_1 t + b_0$$

όπου *R*, η εκάστοτε μετρούμενη απόκριση του οργάνου (είτε η ένταση της απορρόφησης, είτε το μήκος κύματος). Με τον τρόπο αυτό εξετάσθηκε η περίπτωση ύπαρξης σημαντικής τάσης των μετρήσεων σε σχέση με το χρόνο. Για να είναι σημαντική η εμφάνιση τάσης, θα πρέπει:

$$b_1 > t_{(0,05,\ N-2)}\, s_{b_1}$$

όπου s_{b1} το τυπικό σφάλμα της κλίσης b_1 που προσδιορίζεται από τη διαδικασία παλινδρόμησης και *t* (0,05, N-2) η τιμή του κριτηρίου Student για επίπεδο εμπιστοσύνης 95% ενός άκρου και N-2 μετρήσεις.

2.4 Χαρακτηρισμός

Ο χαρακτηρισμός των υλικών, δηλαδή η απόδοση τιμών του μήκους κύματος και της έντασης της απορρόφησης πραγματοποιήθηκε μέσα από τη διεξαγωγή διεργαστηριακής σύγκρισης, η οποία υλοποιήθηκε σύμφωνα με τις απαιτήσεις του προτύπου ISO 17043 και τη συμμετοχή δεκαεννέα (19) εργαστηρίων.

Η διεργαστηριακή σύγκριση με τον κωδικό SCHEMA 200 01 πραγματοποιήθηκε για πρώτη φορά στην Ελλάδα. Οι διαδικασίες που ακολουθήθηκαν προβλέπονται από το σύστημα ποιότητας που εφαρμόζει η Χ.Υ. Μετρολογίας, η οποία είναι διαπιστευμένη από το ΕΣΥΔ για τη διοργάνωση διεργαστηριακών συγκρίσεων σύμφωνα με τις απαιτήσεις του διεθνούς προτύπου ISO 17043:2010. Εκτός από τα δείγματα, στους συμμετέχοντες διανεμήθηκαν διαλύματα οξειδίου του ολμίου, διχρωμικού καλίου και ιωδιούχου καλίου για να πιστοποιήσουν την κατάσταση διακρίβωσης του εμπλεκόμενου εξοπλισμού.

Σε κάθε εργαστήριο αντιστοιχήθηκε ένας μοναδικός κωδικός ώστε να εξασφαλιστεί το αδιάβλητο της διαδικασίας και η εμπιστευτικότητα των αποτελεσμάτων. Ο κωδικός αυτός και η ημερομηνία εκτέλεσης των μετρήσεων κοινοποιήθηκε σε κάθε εργαστήριο με e-mail, μαζί το πρωτόκολλο διεξαγωγής της διεργαστηριακής σύγκρισης και τα ακόλουθα έντυπα/στοιχεία τεκμηρίωσης: το έντυπο παραλαβής δείγματος, καταγραφής των αποτελεσμάτων και το τεχνικό ερωτηματολόγιο. Το πρόγραμμα εκτέλεσης της σύγκρισης υλοποιήθηκε το διάστημα 5 Νοεμβρίου – 7 Δεκεμβρίου 2017. Από τους συμμετέχοντες ζητήθηκε να προσδιορίσουν σε κάθε δείγμα το μήκος κύματος και την ένταση του μεγίστου της απορρόφησης για κάθε μία από τις τέσσερις διακριτές κορυφές που παρατηρούν στην υπεριώδη και ορατή περιοχή του φάσματος και να αναφέρουν τις μετρήσεις τους με δύο και τρία δεκαδικά ψηφία, αντίστοιχα. Αποτελέσματα υπέβαλαν 19 συμμετέχοντες.

3. Αποτελέσματα - Συμπεράσματα

Σε διάστημα ενός μήνα από την ολοκλήρωση των μετρήσεων, τα εργαστήρια που συμμετείχαν στη σύγκριση, υπέβαλαν στο ΕΧΗΜ τα αποτελέσματά τους. Πραγματοποιήθηκε έλεγχος των δεδομένων για τυχόν εκτρεπόμενες τιμές: (1) με δοκιμασία Grubbs, (2) με δοκιμασία Q του Dixon και (3) με δοκιμασία Hampel. Στη συνέχεια, εξετάστηκε κατά πόσο τα αποτελέσματα ακολουθούν την κανονική κατανομή μετά την απομάκρυνση των εκτρεπόμενων τιμών με τη δοκιμασία Kolmogorov-Smirnof, η οποία έδειξε ότι τα αποτελέσματα ακολουθούν την κανονική κατανομή. Για τον υπολογισμό της κεντρικής

τάσης των δεδομένων χρησιμοποιήθηκε η διάμεση τιμή, η οποία αποτελεί ανθεκτικό στατιστικό μέγεθος (robust statistic) και δεν απαιτεί την απομάκρυνση των εκτρεπόμενων τιμών. Η διάμεση τιμή συγκρίνεται με τη μέση τιμή του πληθυσμού των αποτελεσμάτων. Υπολογίστηκαν επίσης, η τυπική απόκλιση και η ανθεκτική τυπική απόκλιση $\hat{\sigma}$, (sMAD). Τέλος, κατασκευάστηκαν τα διαγράμματα πυκνότητας πυρήνα (kernel density) και αξιολογήθηκαν ποιοτικά.

Για τη διακρίβωση της έντασης της απορρόφησης, στο σύνολό τους τα εργαστήρια χρησιμοποίησαν όξινα διαλύματα διχρωμικού καλίου ονομαστικής συγκέντρωσης 60 mg L^{-1} για τη διακρίβωση της έντασης της απορρόφησης στο υπεριώδες σε τέσσερα μήκη κύματος (235, 257, 313 και 350 nm). Όλα τα υλικά αναφοράς που χρησιμοποιηθήκαν ιχνηλατούνται στο πιστοποιημένο υλικό αναφοράς NIST SRM 935a, στο οποίο παρέχει ιχνηλασιμότητα και το διάλυμα που παρασκεύασε το ΕΧΗΜ για την απόδοση των τιμών αναφοράς στις παρατηρούμενες αποκλίσεις. Το διάλυμα παρασκευάστηκε σύμφωνα με τις οδηγίες που αναφέρονται στο σχετικό φυλλάδιο εργασίας (NIST, 1977).

Για την εκτίμηση της ακρίβειας του μήκους κύματος του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος που καταγράφεται από το πρότυπο μεταφοράς στην περιοχή 200-700 nm, τα εργαστήρια που συμμετείχαν στη σύγκριση χρησιμοποίησαν διαλύματα Ho_2O_3 συγκέντρωσης 40 g L^{-1} σε υπερχλωρικό οξύ 2M ($HClO_4$). Στο σύνολό τους, τα υλικά αναφοράς ιχνηλατούνται στο πιστοποιημένο υλικό αναφοράς NIST SRM 2034 (NIST, 1986), στο οποίο παρέχει ιχνηλασιμότητα το διάλυμα που παρασκεύασε το ΕΧΗΜ για την απόδοση των τιμών αναφοράς στις παρατηρούμενες αποκλίσεις. Το διάλυμα παρασκευάστηκε σύμφωνα με τις οδηγίες που αναφέρονται στο σχετικό φυλλάδιο εργασίας και τη διεθνή βιβλιογραφία (Travis et al., 2005).

Στον Πίνακα 1 παρουσιάζεται τμήμα των αποτελεσμάτων της διεργαστηριακής δοκιμής SCHEMA 200 01. Παράλληλα, στο Σχήμα 1 δίνονται διαγραμματικά οι επιδόσεις των εργαστηρίων με τη μορφή z-score. Όπως φαίνεται από τον Πίνακα 1, δύο από τους συμμετέχοντες είναι εκτρεπόμενοι σύμφωνα με τα κριτήρια των Grubbs, Dixon και Hampel. Εξετάζοντας τις μετρήσεις που έλαβαν από τα πιστοποιημένα διαλύματα που τους χορηγήθηκαν, τα εργαστήρια διαπίστωσαν ότι ο εξοπλισμός τους δεν βρισκόταν στην κατάσταση διακρίβωσης, οπότε οι μετρήσεις τους εξαιρέθηκαν από τους υπολογισμούς.

Σε ό,τι αφορά στο μήκος κύματος, παρουσιάζονται δύο εκτρεπόμενες τιμές στο σύνολο των δεδομένων που αφορά στις μετρήσεις προσδιορισμού του μήκους κύματος των παρατηρούμενων φασματικών κορυφών. Οι τιμές αυτές επιβεβαιώνονται στατιστικά με τις δοκιμές των Grubbs, Dixon και Hampel και αφορούν στην ακριβή μέτρηση του μήκους κύματος της πλέον οξείας φασματικής κορυφής, η οποία εκδηλώνεται στα 302 nm και οφείλεται στην παρουσία νιτρικών ιόντων. Διαπιστώνονται ακόμη επτά (7) αμφισβητήσιμες τιμές ($2 < |z| < 3$), οι οποίες στο σύνολό τους αφορούν στον ακριβή προσδιορισμό του μήκους κύματος στο οποίο εκδηλώνεται το μέγιστο της απορρόφησης που οφείλεται σε κατιόντα χαλκού (~ 751 nm). Το γεγονός αυτό μπορεί να εξηγηθεί από το γεγονός ότι η συγκεκριμένη κορυφή είναι εξαιρετικά ευρεία, οπότε φασματοφωτόμετρα που δεν διαθέτουν την απαραίτητη διακριτική ικανότητα, δεν μπορούν να προσδιορίσουν με ακρίβεια το συγκεκριμένο μέγιστο. Αυτό όμως δεν έχει ουσιαστική επίδραση στη μέτρηση της απορρόφησης των δειγμάτων, καθώς ο ρυθμός μεταβολής της στην περιοχή αυτή είναι χαμηλός. Τα αποτελέσματα φαίνεται να ακολουθούν την

κανονική κατανομή, καθώς τα πυρηνοδιαγράμματα πυκνότητας είναι μονοκόρυφα, με την εξαίρεση μικρών πλευρικών κορυφών που οφείλονται στις εκτρεπόμενες τιμές.

Έντεκα (11) μη ικανοποιητικές ($|z| \geq 3$) και εκτρεπόμενες τιμές παρουσιάζονται στο σύνολο των δεδομένων που αφορά στις μετρήσεις προσδιορισμού της έντασης της απορρόφησης των παρατηρούμενων φασματικών κορυφών σε σύνολο 228 μετρήσεων. Οι τιμές αυτές επιβεβαιώνονται στατιστικά με τις δοκιμές των Grubbs, Dixon και Hampel. Δέκα από τις τιμές αυτές οφείλονται σε ένα εργαστήριο, ο εξοπλισμός του οποίου φαίνεται να παρουσιάζει πρόβλημα, οι μετρήσεις του όμως δεν εξαιρέθηκαν από τη σύγκριση, καθώς η χρήση ανθεκτικών στατιστικών εκτιμητών ελαχιστοποιεί τη συνεισφορά τους στην επιλογή των αποδιδόμενων τιμών.

Παρατηρούνται επίσης δεκατρείς (13) αμφισβητήσιμες τιμές ($2 < |z| < 3$), οκτώ από τις οποίες αφορούν δύο μόνο συμμετέχοντες. Τα αποτελέσματα φαίνεται να ακολουθούν την κανονική κατανομή, όπως φαίνεται και από τα πυρηνοδιαγράμματα πυκνότητας, τα οποία είναι μονοκόρυφα, με την εξαίρεση μικρών πλευρικών κορυφών που οφείλονται στις εκτρεπόμενες τιμές.

Για τον καθορισμό της τιμής αναφοράς, χρησιμοποιήθηκαν οι μέσες τιμές μετά των αποκλισμό των εκτρεπόμενων τιμών (*mean excluding outliers*) των μετρήσεων και ως αβεβαιότητες χαρακτηρισμού των υλικών χρησιμοποιήθηκε η τυπική απόκλιση του μέσου (u_x). Μέρος των αποτελεσμάτων παρουσιάζεται στον Πίνακα 1. Παράλληλα, στον ίδιο πίνακα παρατίθεται και η αβεβαιότητα των αποδιδόμενων τιμών

Πίνακας 1: Μετρήσεις των συμμετέχοντων στο υλικό SPC02

	SPC 02															
	WL_{300} (nm)	z-score	ABS_{300} (AU)	z-score	WL_{395} (nm)	z-score	ABS_{395} (AU)	z-score	WL_{512} (nm)	z-score	ABS_{512} (AU)	z-score	WL_{750} (nm)	z-score	ABS_{750} (AU)	z-score
UV01	300,70	-0,5	0,494	0,2	394,00	-0,7	0,485	-1,7	511,50	0,4	0,495	-0,3	750,60	-0,3	0,492	-1,2
UV03	301,18	0,3	0,494	0,2	395,27	0,4	0,496	0,2	510,65	-0,3	0,497	0,0	748,52	-2,1	0,498	-0,2
UV04	301,00	0,0	0,484	-1,6	394,00	-0,7	0,486	-1,5	511,00	0,0	0,492	-0,9	752,00	0,9	0,495	-0,7
UV05	300,60	-0,7	0,485	-1,4	394,20	-0,5	0,491	-0,7	510,80	-0,2	0,495	-0,3	750,10	-0,8	0,495	-0,7
UV06	300,60	-0,7	0,492	-0,1	394,80	0,0	0,495	0,0	511,50	0,4	0,496	-0,1	750,80	-0,2	0,499	0,0
UV07	300,80	-0,3	0,507	2,4	394,70	-0,1	0,502	1,2	511,00	0,0	0,499	0,3	750,50	-0,4	0,501	0,3
UV08	300,90	-0,2	0,499	1,0	395,20	0,3	0,505	1,8	512,40	1,2	0,503	1,0	753,50	2,2	0,509	1,7
UV09	301,00	0,0	0,492	-0,2	395,00	0,2	0,494	-0,1	512,00	0,9	0,497	0,0	751,00	0,0	0,498	-0,2
UV10	301,00	0,0	0,468	-4,3	394,50	-0,3	0,466	-4,9	511,00	0,0	0,475	-3,8	751,00	0,0	0,484	-2,6
UV11	301,00	0,0	0,499	1,0	395,00	0,2	0,500	0,8	512,00	0,9	0,500	0,6	751,00	0,0	0,501	0,3
UV12	300,00	-1,7	0,484	-1,6	394,00	-0,7	0,490	-0,8	511,00	0,0	0,493	-0,7	749,00	-1,7	0,494	-0,9
UV13	300,20	-1,4	0,493	0,0	393,30	-1,3	0,492	-0,5	510,60	-0,3	0,497	0,0	749,50	-1,3	0,500	0,2
UV14	302,80	3,1	0,503	1,7	396,00	1,0	0,501	1,0	512,60	1,4	0,501	0,7	752,20	1,0	0,502	0,5
UV15	301,00	0,0	0,487	-1,0	395,00	0,2	0,492	-0,5	512,00	0,9	0,495	-0,3	752,00	0,9	0,497	-0,3
UV16	300,60	-0,7	0,496	0,5	394,30	-0,4	0,496	0,2	511,40	0,3	0,498	0,2	752,00	0,9	0,501	0,3
UV17	300,50	-0,9	0,490	-0,5	394,80	0,0	0,495	0,0	512,10	1,0	0,498	0,2	750,90	-0,1	0,503	0,7
UV18	301,00	0,0	0,498	0,9	395,00	0,2	0,499	0,7	511,60	0,5	0,502	0,9	751,60	0,5	0,502	0,5
UV19	301,00	0,0	0,490	-0,5	394,00	-0,7	0,491	-0,7	511,00	0,0	0,495	-0,3	749,00	-1,7	0,497	-0,3
UV20	301,00	0,0	0,495	0,3	395,00	0,2	0,497	0,4	511,00	0,0	0,501	0,7	752,00	0,9	0,503	0,7
αποδιδόμενη τιμή (X)	301,00		0,493		394,80		0,495		511,00		0,497		751,00		0,499	
τυπική απόκλιση στόχος (σ_p)	0,577		0,0058		1,155		0,0058		1,155		0,0058		1,155		0,0058	
μέση τιμή (mean)	300,89		0,492		394,64		0,493		511,43		0,496		750,91		0,498	
διάμεση τιμή (median)	301,00		0,493		394,80		0,495		511,40		0,497		751,00		0,499	
τυπική απόκλιση (sd)	0,555		0,0085		0,625		0,0083		0,604		0,0060		1,281		0,0052	
ανθεκτική τυπική απόκλιση (sMAD)	0,267		0,0074		0,593		0,0056		0,593		0,0030		1,483		0,0040	
αβεβαιότητα (u_x)	0,061		0,0017		0,136		0,0013		0,136		0,0007		0,340		0,0009	
$(u_x/\sigma_p)^2$	0,011		0,0868		0,014		0,0501		0,014		0,0139		0,087		0,0253	

Χ. Αλεξόπουλος, Γ. Βαγενάς, Α. Γαβριήλ, Ε. Δρακοπούλου, Σ. Ιωσηφίδου, Η. Κακουλίδης, Γ. Καρύγιαννης, Σ. Κονδυλάτου, Β. Μάτσης, Σ. Ξύδας, Κ. Παναγιώτου, Α. Παπαγεωργίου, Α. Σακαλής, Φ. Σαμίου, Κ. Σούλτη, Μ. Σπυριδάκη, Ε. Τάσιος, Τ. Τογκαλίδου, Ι. Τσαβδαρίδης, Ι. Τσίγκος, Ε. Ψωμιάδου
Γενικό Χημείο του Κράτους

Τα αποτελέσματα των μετρήσεων ομοιογένειας παρουσιάζονται στον Πίνακα 2. Όπως φαίνεται, πληρούνται τα κριτήρια για την ομοιογένειά τους. Η συνιστώσα της αβεβαιότητας που οφείλεται σε πιθανή ανομοιογένεια μεταξύ των δειγμάτων (s_{bb}) δίνεται από τον τύπο:

$$s_{bb} = \sqrt{\frac{MS_{bb} - MS_{wb}}{n}}$$

Όπου MS_{bb} το μέσο τετράγωνο της διακύμανσης μεταξύ των δειγμάτων, MS_{wb} το μέσο τετράγωνο της εντός των δειγμάτων διακύμανσης και n ο αριθμός των επαναλήψεων

Ακόμη, στις περιπτώσεις που η ποσότητα στο υπόριζο είναι αρνητική, χρησιμοποιείται η ακόλουθη εξίσωση για τον υπολογισμό της αβεβαιότητας που οφείλεται σε πιθανή ανομοιογένεια:

$$u_{bb} = \sqrt{\frac{MS_{within}}{n}} \quad \sqrt[4]{\frac{2}{DF_{MS_{within}}}}$$

όπου $DF_{MSwithin}$, οι βαθμοί ελευθερίας του MS_{within}.

Πίνακας 2: Μετρήσεις ομοιογένειας στο υλικό SPC01 και ανάλυση διακύμανσης

Δείγμα	Μέτρηση 1	Μέτρηση 2	*Πλήθος*	*Άθροισμα*	*Μέσος όρος*	*Διακύμανση*
SCHEMA 200 01 15	0.7496	0.7503	2	1.500	0.750	2.45E-07
SCHEMA 200 01 47	0.7491	0.7489	2	1.498	0.749	2.00E-08
SCHEMA 200 01 27	0.7504	0.7498	2	1.500	0.750	1.80E-07
SCHEMA 200 01 24	0.7482	0.7484	2	1.497	0.748	2.00E-08
SCHEMA 200 01 49	0.7486	0.7508	2	1.499	0.750	2.42E-06
SCHEMA 200 01 31	0.749	0.7507	2	1.500	0.750	1.45E-06
SCHEMA 200 01 17	0.7482	0.7481	2	1.496	0.748	5.00E-09
SCHEMA 200 01 26	0.7508	0.7505	2	1.501	0.751	4.50E-08
SCHEMA 200 01 01	0.7489	0.7497	2	1.499	0.749	3.20E-07
SCHEMA 200 01 42	0.7494	0.7509	2	1.500	0.750	1.13E-06
ΑΝΑΛΥΣΗ ΔΙΑΚΥΜΑΝΣΗΣ						
Προέλευση διακύμανσης	*SS*	*DF*	*MS*	*F*	*τιμή-P*	*κριτήριο F*
Μεταξύ ομάδων	1.20E-05	9	1.34E-06	2.29671	0.106	3.020
Μέσα στις ομάδες	5.83E-06	10	5.83E-07			
Σύνολο	1.79E-05	19				

Παράλληλα, στον Πίνακα 3 παρουσιάζονται μέρος των αποτελεσμάτων των μετρήσεων σταθερότητας. Όπως φαίνεται, δεν παρουσιάζονται τάσεις, κατά συνέπεια η συνεισφορά πιθανής αστάθειας στην πιστοποιημένη τιμή είναι αμελητέα. Με τη βοήθεια της εξίσωσης

που ακολουθεί, μπορούμε να υπολογίσουμε την αβεβαιότητα λόγω σταθερότητας (u_{LTS}), αν θεωρήσουμε τα δύο έτη ως χρόνο ζωής των διαλυμάτων.

$$u_{LTS} = \frac{RSD}{\sqrt{(t_i - \bar{t})^2}} t$$

όπου RSD η τυπική απόκλιση όλων των μετρήσεων, t_i ο χρόνος που απομακρύνεται το δείγμα i από τη μελέτη σταθερότητας προς μέτρηση, $\bar{t}$ η μέση τιμή της διάρκειας των δοκιμών σταθερότητας και t ο επιθυμητός χρόνος χρήσης των διαλυμάτων.

Πίνακας 3. Μετρήσεις σταθερότητας στο υλικό SPC02 και γραμμική παλινδρόμηση

ti, (week)	δοκίμιο	μέτρηση 1	μέτρηση 2
0	SCHEMA 200 01 13	0.5014	0.4980
4	SCHEMA 200 01 04	0.5016	0.5007
12	SCHEMA 200 01 43	0.5001	0.4986
16	SCHEMA 200 01 22	0.4992	0.5010
24	SCHEMA 200 01 37	0.5011	0.4996
32	SCHEMA 200 01 08	0.4997	0.4983
40	SCHEMA 200 01 19	0.4981	0.5002
52	SCHEMA 200 01 44	0.5000	0.4997
	κλίση (α)	-1.61E-05	
	τυπικό σφάλμα	1.73E-05	
	t	0.931	
	tcrit	2.533	
	H = Ho (α=0)	NAI	

Έχουμε πλέον τη δυνατότητα, χρησιμοποιώντας τον ακόλουθο τύπο, να υπολογίσουμε την αβεβαιότητα της πιστοποιημένης τιμής της απορρόφησης σε κάθε μήκος κύματος:

$$u = \sqrt{u_{char} + u_{bb} + u_{LTS}}$$

Οι πιστοποιημένες τιμές των διαλυμάτων SPC01, SPC02 και SPC 03 παρουσιάζονται στον Πίνακα 4.

Χρησιμοποιώντας διαδικασίες οι οποίες είναι σύμφωνες με τις απαιτήσεις του πρότυπου ISO 17034, το Εργαστήριο Χημικής Μετρολογίας ολοκλήρωσε το σχεδιασμό, την παραγωγή και το χαρακτηρισμό υλικών αναφοράς με πιστοποιημένες τιμές για την ένταση της απορρόφησης σε συγκεκριμένα μήκη κύματος της υπεριώδους και της ορατής περιοχής του ηλεκτρομαγνητικού φάσματος. Το γεγονός αυτό δίνει τη δυνατότητα στα εργαστήρια του Γενικού Χημείου του Κράτους να διακριβώνουν εσωτερικά τον εξοπλισμό τους με υλικά τα οποία εξασφαλίζουν την ιχνηλασιμότητα των μετρήσεών τους στο διεθνές σύστημα μονάδων. Παράλληλα, επιτρέπει στο φορέα να εξυπηρετήσει αυτόνομα τις ανάγκες διακρίβωσης των φασματοφωτομέτρων του και να εξοικονομήσει πόρων, που μπορούν να διοχετευθούν σε άλλες ανάγκες.

Πίνακας 4: Πιστοποιημένα υλικά αναφοράς SPC – πιστοποιημένες τιμές και αβεβαιότητες

	SPC 01							
	Μήκος κύματος	Απορρόφηση	Μήκος κύματος	Απορρόφηση	Μήκος κύματος	Απορρόφηση	Μήκος κύματος	Απορρόφηση
	WL, nm	A, mAU	WL, nm	A, mAU	WL, nm	A, mAU	WL, nm	A, mAU
Πιστοποιημένη τιμή	300,52	0,7467	394,68	0,7478	511,10	0,7504	750,50	0,7511
Αβεβαιότητα (k=2)	0,11	0,0036	0,12	0,0038	0,12	0,0035	0,35	0,0038
	SPC 02							
Πιστοποιημένη τιμή	300,80	0,4918	394,54	0,4933	511,25	0,4967	750,51	0,4980
Αβεβαιότητα (k=2)	0,09	0,0037	0,15	0,0035	0,13	0,0031	0,33	0,0032
	SPC 03							
Πιστοποιημένη τιμή	301,05	0,2391	394,58	0,2431	511,06	0,2453	750,85	0,2471
Αβεβαιότητα (k=2)	0,11	0,0040	0,14	0,0034	0,14	0,0031	0,23	0,0031

4. Βιβλιογραφία

Κακουλίδης Η., Λαμπή Ε. (2016): Αβεβαιότητα κατά τη διακρίβωση και τη χρήση φασματοφωτομετρων UV/Vis. 6ο Τακτικό Συνέδριο Μετρολογίας, Αθήνα.

ASTM E275: "*Standard practice for describing and measuring performance of ultraviolet and visible spectrophotometers*". ASTM Standards; Vol. 03.06, ASTM: Pennsylvania, 2013.

ASTM E925: "*Standard practice for monitoring the calibration of ultraviolet-visible spectrophotometers whose spectral slit width does not exceed 2 nm*". ASTM Standards; Vol. 03.06, ASTM: Pennsylvania, 2013.

BIPM, IEC, IFCC, ILAC, ISO, IUPAC, IUPAP, OIML: "*Evaluation of Measurement Data - Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement*"., JCGM 100, BIPM: Paris

EP-European Pharmacopoeia: "2.2.25. Absorption spectrophotometry, ultraviolet and visible", ed 9.0, EDQM, 2016, Strasbourg.

EURAMET, "*Guidelines on the calibration of non-automatic weighing instruments*". V4.0, 2015, Brunswick.

Gust J.C. (*2008*): A discussion of stability and homogeneity issues in proficiency testing for calibration laboratories. 4th ILAC PTCG, Vienna.

NIST (1977): "*Certification and use of acidic potassium dichromate solutions as an ultraviolet absorbance standard – SRM 935*". 1977, USGPO: Ουάσινγκτον.

NIST (1986): *Standard reference materials: holmium oxide solution wavelength standard from 240–650nm – SRM 2034*. NBS Spec. Publ. 260-102

OIML (2004): *OIML 135-2004e Spectrophotometers for medical laboratories*. BIML: Paris

Travis J.C., Acosta J.C., Andor G., Bastie J., Blattner P., Chunninall C.J., Crosson S.C., Dewer D.L., Early E.A., Hengstberger F., Kim S-C., Liedquiest L, Manoocheri F., Mercader F. Monrad L.A.G., Nevas S., Mito A., Nilsson M., Noel M., Rodriguez A.C., Ruiz A., Schirmacher A., Smith M.V., Valencia G., van Tonder N., Zwinkels J. (2005):

Intrinsic wavelength standard absorption bands in holmium oxide solution for uv-visible molecular absorption spectrophotometry. J. Phys. Chem. Ref. Data, 34(1), 41.

USP-NF: “857 Ultraviolet Visible Spectrophotometry”, ed 9.0, USP, 2018, Rockville, USA.