



1η ΕΚΔΟΣΗ
1936

ΕΝΤΥΠΟ ΚΛΕΙΣΤΟ, ΑΡ. ΑΔ. 899/95
ΕΝΟΣΗ ΕΛΛΗΝΩΝ ΧΗΜΙΚΩΝ
ΚΑΝΙΓΟΣ 27 - 106 82 ΑΘΗΝΑ

ISSN 0356-5526 • ΟΚΤΩΒΡΙΟΣ-ΝΟΕΜΒΡΙΟΣ 1998 • ΤΕΥΧΟΣ 10-11 • ΤΟΜΟΣ 60
CCG EAC 60 (10-11) • 257-320 • OCTOBER-NOVEMBER 1998 • ISSUE 10-11 • VOL. 60



POST
PAVE
HELLAS

ΧΗΜΙΚΑ ΧΡΟΝΙΚΑ

ΓΕΝΙΚΗ ΕΚΔΟΣΗ

ΕΙΔΙΚΟ ΑΦΙΕΡΩΜΑ

Γενικό Χημείο του Κράτους

Σπουδή Διαπίστευσης Εργαστηρίων



General Chemical State Laboratory

Accreditation Study

CHEMICA CHRONICA • General Edition

10-11 / 98

Association of Greek Chemists

Ταχύτατη

Προετοιμασία Δειγμάτων για την Χημική Ανάλυση

(12 Δείγματα σε 20 min)

ETHOS 1600

Τεχνολογία Μικροκυμάτων

- Χώνευση
- Εκχύλιση
- Συμπύκνωση
- Υδρολύση Πρωτεϊνών
- Αποτέφρωση κ.λπ.

για τη κλασική χημική
ανάλυση και την ανάλυση
με GC, GL, ICP-MS, HPLC,
ICP, AA, AA-GF κ.λπ.



Η ασφαλής επιλογή
για εφαρμογές σε

Βιβλιοθήκη
Στέφανου (1934-2012) &
Λιζεάρε Κώνστα (1936-2021)

Βιομηχανίες
Χημικών
Προϊόντων



Τρόφιμα



Φάρμακα



Ορυκτά



Πετρελαιοειδή



Έλεγχος
Περιβάλλοντος



ΒΙΟΔΥΝΑΜΙΚΗ ΑΕ

Α. Κατσώνη 28-32, 114 71 Αθήνα • Τηλ: 01/6449.421, 6448.632, 6420.105 • Fax: 01/6442.266

**ΝΕΑ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ
ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΥΠΕΡΚΑΘΑΡΟΥ
ΝΕΡΟΥ ΑΠΟ ΤΗ MILLIPORE**

Αντίστροφη ώσμωση **ROs** και τελική
κατεργασία **MilliQ-Academic**.

Επιλέξτε τον συνδυασμό που ταιριάζει
καλύτερα στις δικές σας απαιτήσεις για
οποιαδήποτε εργαστηριακή, χημική ή
βιολογική εφαρμογή.

**Ειδική Αντίσταση: 18.2 Megohm cm (25°C)
TOC < 5 ppb(UV)**

Δυνατότητες (προαιρετικά) (1)
φωτοοξειδωτικής αποικοδόμησης
οργανικού φόρτου με λυχνία υπεριωδών
ακτίνων, (2) απομάκρυνση πυρετογόνων
με φύσιγγα υπερδιήθησης και (3)
απ'ευθείας (on line) μέτρηση του **TOC**
με την ενσωματωμένη συσκευή **A-10** της
Anatel

Σύμφωνα με τις απαιτήσεις της καλής
εργαστηριακής πρακτικής (GLP) και την
ανάγκη πιστοποίησης (Validation)

**Η πιο προηγμένη τεχνολογία, σε
προσιτές τιμές**

Για περισσότερες πληροφορίες :

ΜΑΛΒΑ ΕΠΕ

Αντιπροσωπείες Προϊόντων για τη Χημεία
και τη Βιοτεχνολογία

Ηλυσίων 13, 145 64 Ν. Κηφισιά

τηλ. 8000 904 fax: 8001 424

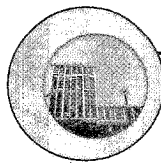
e-mail: malva@otenet.gr

MILLIPORE

ΧΗΜΙΚΑ ΧΡΟΝΙΚΑ

ΕΠΙΣΗΜΟ ΟΡΓΑΝΟ ΤΗΣ ΕΝΩΣΗΣ ΕΛΛΗΝΩΝ ΧΗΜΙΚΩΝ

Ν.Π.Δ.Δ., Κάνιγγος 27, 106 82 Αθήνα,
Τηλ.: 3821524 - 3832151 - Fax: 3833597



ΕΞΟΦΥΛΟ:

Το κτίριο του Γενικού Χημείου του Κράτους,
στην Αθήνα.

ΠΕΡΙΦΕΡΕΙΑΚΑ ΤΜΗΜΑΤΑ ΤΗΣ ΕΕΧ

- Αττικής και Κυκλάδων:
Κάνιγγος 27, 10682 Αθήνα, τηλ.: 3821524, 3829266
και Fax: 3833597
- Κεντρικής και Δυτικής Μακεδονίας:
Αριστοτέλους 6, 54623 Θεσσαλονίκη, τηλ. και Fax: 031-278443
- Πελοποννήσου και Δυτικής Ελλάδας:
Αράτου 21, 26221 Πάτρα, τηλ. και Fax: 061-224991
- Κρήτης:
Τ.Θ. 1335, 71110, τηλ. και Fax: 081-220292
- Θεσσαλίας:
Σκενδεράνη 2, 38221 Βόλος, τηλ. και Fax: 0421-37421
- Ηπείρου - Κερκύρας - Λευκάδας:
Τμήμα Χημείας Παν/μίου Ιωαννίνων, 45110 Ιωάννινα,
τηλ.: 0651-98348
- Ανατολικής Στερεάς Ελλάδας - Εύβοιας - Ευρυτανίας:
Λεβαδίτου 2, 35100 Λαμία, τηλ.: 0231-25388
- Ανατολικής Μακεδονίας και Θράκης:
Τ.Θ. 1418, 65110 Καβάλα, τηλ. και Fax: 051-831048
- Βορείου Αιγαίου:
Ηλία Βενεζή 1, 81100 Μυτιλήνη, τηλ. και Fax: 0251-28615
- Νοτίου Αιγαίου:
Αγ. Αναστασίας 128, 85100 Ρόδος, τηλ. και Fax: 0241-28638

- **Ιδιοκτήτης:** Ένωση Ελλήνων Χημικών
- **Εκδότης:** Ο Πρόεδρος της Ε.Ε.Χ. Ν. Κατσαρός - Επιτροπή Εκδόσεων Ε.Ε.Χ.
- **Αρχισυντάκτης:** Π. Παπαδόπουλος
- **Μέλη Συντακτικής Επιτροπής:** Σ. Κάκαρη, Δ. Κεσίσογλου, Γ. Κούρος, Π. Κυπριανίδου, Β. Λαμπρόπουλος, Π. Μπότσης, Α. Πέτρου, Π. Σίσκος, Ι. Σιταράς
- **Εκπρόσωπος της Δ.Ε. της Ε.Ε.Χ. στη Συντακτική Επιτροπή:** Π. Χαμακιώτης
- **Αναποκριτές:** Πανεπιστήμιο Αθηνών: Π. Σίσκος
Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης: Ε. Τσατσαρώνη
Πανεπιστήμιο Πατρών: Σ. Περλεπές
Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων: Γ. Τσαπαρλής
Πανεπιστήμιο Κρήτης: Μ. Ορφανόπουλος
- **Τιμή τεύχους:** 400 δρχ.
- **Συνδρομές:** Βιομηχανίες - Οργανισμοί: 20.000 δρχ. - Ιδιώτες: 6.000 δρχ., Φοιτητές: 2.000 δρχ. - Συνδρομή εξωτερικού: \$100
- **Επιμέλεια Ύλης:** Γιώργος Κούρος
- **Σχεδίαση - Παραγωγή:** SINGULAR PUBLICATIONS, Ασκληπιού 154, 114 71, Αθήνα, Τηλ.: (01) 6462716, Fax: (01) 6452570

Παρακαλούνται οι συγγραφείς να υποβάλλουν τα προς δημοσίευση κείμενά τους σε Microsoft Word έκδοση 6 για Windows, και το format των εικόνων, όταν υπάρχουν εικόνες στο κείμενο, να είναι PCX, BMP, ή TIFF.

Οι όποιες απόψεις φέρονται μέσα από ενυπόγραφο δημοσιευμένα κείμενα δεν αποτελούν απαραίτητες θέσεις ούτε του Εκδότη, ούτε της Συντακτικής Επιτροπής του περιοδικού. Επίσης, η Συντακτική Επιτροπή διατηρεί το δικαίωμα περικοπών ή μετατροπών των υποβαλλόμενων προς δημοσίευση κειμένων, εφόσον έτσι δεν αλλοιώνεται το νόημά τους.

ΣΗΜΕΙΩΜΑ ΤΟΥ ΕΚΔΟΤΗ

Το Υπουργείο Ανάπτυξης ανακήρυξε το 1998 ως Έτος Ποιότητας. Η ποιότητα αποτελεί σήμερα το μοχλό στήριξης της ανταγωνιστικότητας των προϊόντων μας στο περιβάλλον της διεθνοποιημένης αγοράς. Η ποιότητα, η καινοτομία και η τεχνολογία διαδραματίζουν αποφασιστικό ρόλο στην ανταγωνιστικότητα των προϊόντων. Οι έννοιες της ποιότητας και παραγωγικότητας αποκτούν συμπληρωματικό χαρακτήρα και συνδέονται άμεσα. Η ποιότητα είναι δικαίωμα και υποχρέωσή μας. Δεν αφορά μόνο στις μεγάλες επιχειρήσεις αλλά και τις μικρές. Δεν αφορά μόνο στους λίγους, αλλά σε όλους. Δεν αφορά μόνο στις ιδιωτικές επιχειρήσεις, αφορά εξ ίσου και στο κράτος ως παραγωγό υπηρεσιών προς το κοινωνικό σύνολο. Εκπαίδευση, υγεία, άμυνα, μεταφορές πρέπει να υπακούουν στην αυστηρή πολιτική της ποιότητας.

Στα πλαίσια αυτά η ΕΕΧ συμμετέχει ενεργά στο Έτος Ποιότητας πραγματοποιώντας πολιτισμικές εκδηλώσεις σε ολόκληρη την επικράτεια με βασικούς στόχους:

- την ενημέρωση, ευαισθητοποίηση, πληροφόρηση των επιχειρήσεων και των καταναλωτών για την βελτίωση της ανταγωνιστικότητας των προϊόντων μας και της ποιότητας ζωής,
- τη διαμόρφωση, ανάπτυξη και διάχυση της κουλτούρας της ποιότητας στην κοινωνία μας.

Το τεύχος αυτό αποτελεί μια συλλογή επιστημονικών εργασιών του Γενικού Χημείου του Κράτους. Η Συντακτική Επιτροπή του περιοδικού απέφυγε να υποβάλλει τις εργασίες στη συνήθη διαδικασία της κρίσης, ώστε να αποδίδεται το συνολικό πνεύμα της προσπάθειας. Η έκταση αυτών των εργασιών μας ανάγκασε να εκδώσουμε το τεύχος αυτό σε διπλάσιο αριθμό σελίδων και να καλύψει έτσι το δίμηνο Οκτωβρίου-Νοεμβρίου.

Εκτός αυτού, το τεύχος σηματοδοτεί μια νέα προσπάθεια του περιοδικού μας, που συνίσταται στη δημοσίευση ειδικών αφιερωμάτων σε θέματα που ενδιαφέρουν το χημικό κόσμο. Τέτοιου είδους αφιερώματα θα επιδιωχθεί να δημοσιευθούν κι άλλα στο μέλλον. Απευθύνεται λοιπόν, πρόσκληση και σε άλλους φορείς να παρουσιάσουν μέσα από τις σελίδες μας τις εξελίξεις του κλάδου τους υπό μορφή συνολικής έκθεσης εργασιών.

Φιλικά,
ο Εκδότης

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

	ΣΕΛΙΔΑ
ΕΠΙΚΑΙΡΟΤΗΤΑ.....	259
ΑΓΓΕΛΙΚΗ ΑΣΗΜΑΚΟΠΟΥΛΟΥ.....	260
ΕΙΡΗΝΗ ΛΑΓΟΥΔΑΚΗ - ΧΑΤΗΡΗ.....	261
ΣΤΕΛΜΑ ΣΥΝΟΥΡΗ.....	262
ΕΛΕΝΗ ΣΤΑΘΟΥΔΑΚΗ - ΠΕΤΡΟΥΛΑ ΤΑΡΑΝΤΙΛΗ.....	267
ΛΑΜΠΡΙΝΗ ΚΑΡΑΓΙΑΝΝΗ - ΧΑΡΙΤΩΜΕΝΗ ΑΝΤΩΝΟΓΛΟΥ.....	269
ΣΤΕΦΑΝΟΣ ΧΑΤΖΗΓΕΩΡΓΙΟΥ.....	272
ΕΥΓΕΝΙΑ ΠΑΝΤΙΛΙΕΡΗ.....	272
ΠΑΝΑΓΙΩΤΗΣ ΜΑΡΙΟΛΕΑΣ - ΧΡΙΣΤΙΝΑ ΣΑΚΕΛΛΑΡΙΟΥ.....	276
ΔΗΜΗΤΡΗΣ ΧΡΥΣΑΦΙΔΗΣ.....	279
ΣΠ. ΜΠΟΛΚΑΣ.....	282
ΒΑΣΙΛΕΙΟΣ ΤΖΑΜΤΖΗΣ - ΕΙΡΗΝΗ ΠΟΥΛΙΜΑ.....	287
Δ. ΤΣΙΠΗ.....	290
Ε. ΦΟΥΦΑ - Ε. ΑΠΕΡΓΗ - Σ. ΨΑΡΟΥΔΑΚΗΣ.....	292
ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ ΣΠΥΡΟΠΟΥΛΟΣ.....	299
ΙΩΑΝΝΗΣ Γ. ΓΡΗΓΟΡΙΑΔΗΣ.....	306
ΒΑΣΙΛΕΙΟΣ ΤΖΑΜΤΖΗΣ - ΕΛΕΝΗ ΚΑΡΑΓΕΩΡΓΗ.....	307
ΑΓΓΕΛΙΚΗ ΦΩΤΕΙΝΟΥ.....	309
ΕΥΓΕΝΙΑ ΛΑΜΠΗ.....	317
ΒΡΑΒΕΙΑ ΙΔΡΥΜΑΤΟΣ «Α. ΖΕΡΒΑΣ».....	318
ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΔΙΔΑΚΤΙΚΗΣ ΤΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ.....	

Εορτασμός του Αγίου Μενίγγου του Κναφέως

Φέτος ο εορτασμός του Αγίου Μενίγγου του Κναφέως, προστάτη των Ελλήνων Χημικών (δείτε σχετική δημοσίευση στο προηγούμενο τεύχος), θα γίνει την Κυριακή 22 Νοεμβρίου 1998, στον Ιερό Ναό Αγ.Θωμά (στο Γουδί, έναντι Λαϊκού Νοσοκομείου). Το πρόγραμμα του εορτασμού περιλαμβάνει την καθιερωμένη Θεία Λειτουργία (08:30-10:00), Αρτοκλασία και τέλος δεξίωση στην αίθουσα του συλλόγου ΕΛΠΙΣ (οδός Κλεαυβούλης 21, παραπλευρώς του Αγ.Θωμά) με σχετική ομιλία.

Προσφορές για τον Νίκο

Όσοι επιθυμούν να προσφέρουν τη χρηματική τους βοήθεια για τον κ.Νίκο Μαλικέντζο, του οποίου η υγεία βελτιώνεται συνεχώς μετά το σοβαρότατο ατύχημά του, μπορούν να καταθέσουν τα χρηματικά ποσά στον Λογαριασμό της Τραπεζής Πίστεως με αριθμό 101-002101-550336, επί ονόματι του πατέρα του κ.Σωτήρη Μαλικέντζου.

Μετά 40 χρόνια

40 χρόνια μετά την εισαγωγή τους στο Χημικό Τμήμα του Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης, οι σειρές 1959-1963 συναντήθηκαν στη Θεσσαλονίκη και πραγματοποίησαν στις 3 και 4 Οκτωβρίου σειρά πανηγυρικών εκδηλώσεων.

Η έναρξη των εκδηλώσεων, με την παρουσία πάνω από 60 χημικών και καθηγητών, έγινε στο ιστορικό Αμφιθέατρο του Παλαιού Χημείου του ΑΠΘ. Ιδιαίτερα συγκινητική υπήρξε η παρουσία και προσφώνηση του θαλασμού καθηγητή Γ.Τσάτσωνη. Το ίδιο βράδυ ακολούθησε μεγάλη συνέντευξη. Τέλος, την Κυριακή 4/10/98 πραγματοποιήθηκαν επισκέψεις στις εγκαταστάσεις του οινοποιείου του συναδέλφου Ι.Μπουτάρη στη Στενήμαχο Ναούσης και στους Βασιλικούς Τάφους της Βεργίνας.



Επέκταση εγκαταστάσεων της «Α.ΚΑΡΚΑΝΙΑΣ ΕΠΕ»

Η Εταιρεία βιολογικών καθαρισμών και επεξεργασίας νερού «Α.ΚΑΡΚΑΝΙΑΣ ΕΠΕ» (δείτε σχετική καταχώρηση στη σελίδα 317), που δραστηριοποιείται σε πανελλαδικό επίπεδο, ολοκλήρωσε επένδυση ύψους 300 εκ. δραχμών. Η επένδυση αυτή, που άρχισε τον Σεπτέμβριο του 1997 και ολοκληρώθηκε στις αρχές του Ιουλίου 1998, αφορούσε στην επέκταση των εγκαταστάσεων της κατά 400 τ.μ. σε διοικητικό χώρο και κατά 2000 τ.μ. σε αποθηκευτικό και παραγωγικό χώρο. Σε εξέλιξη ευρίσκεται και το πρόγραμμα απόκτησης πιστοποιητικού διασφάλισης ποιότητας ISO 9001;



καθώς και πιστοποίησης CE για 15 μηχανήματά της. Πρόσφατα, η Εταιρεία πήρε επίσης την έγκριση για υλοποίηση προγράμματος «αύλων επενδύσεων» στα πλαίσια του Προγράμματος Ενίσχυσης των ΜΜΕ, χρηματοδοτούμενο από την Ε.Ε., ύψους 62,5 εκ. δρχ.

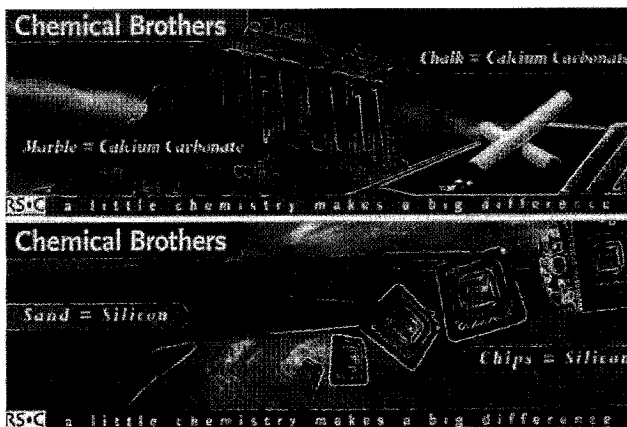
Βραβείο από την Exxon Chemicals Europe

Η Εταιρεία Exxon Chemicals Europe, μέσω του «Ευρωπαϊκού Προγράμματος Επιστήμης και Μηχανικής» (ESEP), επιδιώκει τη συνεργασία της τεχνικής της κοινότητας με τα Ευρωπαϊκά Πανεπιστήμια και τα Ευρωπαϊκά ερευνητικά ιδρύματα. Ως μέρος αυτής της προσπάθειας το ESEP προκηρύσσει κάθε δύο χρόνια ένα βραβείο για διάφορους τομείς της χημικής έρευνας. Για το 1999, το βραβείο ύψους 40000 ECU, θα δοθεί για την υποστήριξη βασικής ή εφαρμοσμένης έρευνας στο πεδίο «Oxygenates from Carbon Monoxide». Για περισσότερες πληροφορίες μπορείτε να επικοινωνήσετε με την EEX.

Η χημεία στα λεωφορεία

Τέσσερις ελκυστικές αφίσες εμφανίσθηκαν μέσα στα λεωφορεία της πόλης Κάρντιφ της Αγγλίας, κατά τη διάρκεια του Σεπτεμβρίου. Με τη χορηγία της Βασιλικής Χημικής Ένωσης και θέμα τις διαφορετικές μορφές που μπορεί να λάβει μια χημική ένωση, απετέλεσαν μέρος της ετήσιας επιστημονικής γιορτής της Βρετανικής Ένωσης.

Έτσι, σε μία από αυτές τις αφίσες, με τον τίτλο «Χημικά Αδέλφια», παρουσιάζεται η χρήση του ανθρακικού ασβεστίου ως μάρμαρα στον Παρθενώνα και ως κιμωλία του μαυροπίνακα. Σε μια άλλη, το διοξείδιο του πυριτίου ως άμμος της ερήμου και ως πρώτη ύλη των μικροεπεξεργαστών.



CAREER OPPORTUNITIES

Πρωτοπόρος εταιρεία στο χώρο των ιατρικών διαγνωστικών μηχανημάτων υψηλής τεχνολογίας, ζητά

2 Βιολόγους / Χημικούς

για τη στελέχωση του τμήματος προώθησης πωλήσεων εφαρμογών.

ΑΠΑΡΑΙΤΗΤΕΣ ΠΡΟΫΠΟΘΕΣΕΙΣ

- ❖ Σχετική εμπειρία στην εφαρμογή διαγνωστικών μεθόδων Κλινικής Χ-Βιοχημείας.
- ❖ Γνώση των Αγγλικών-Η/Υ (Windows) σε καλό επίπεδο
- ❖ Ικανότητα επικοινωνίας και θέληση για συνεχή επιμόρφωση.
- ❖ Ηλικία έως 28 ετών και δυνατότητα ταξιδιών στην επαρχία/εξωτερικό.

ΠΡΟΣΦΕΡΟΝΤΑΙ

- ❖ Ελκυστικό πακέτο αποδοχών-αμοιβής-Συνεχής επιμόρφωση.
- ❖ Εξέλιξη σε μια συνεχώς αναπτυσσόμενη εταιρεία-Άριστες συνθήκες εργασίας.

Οι ενδιαφερόμενοι παρακαλούνται να στείλουν βιογραφικό σημείωμα στο fax: 7219874 ή στη διεύθυνση Αλκιμάχου 1 & Σπ. Μερκούρη 78, 116 34 Αθήνα-Υπόψιν κας Ζ.Μαρούδα.

Το Γενικό Χημείο του Κράτους και η «διαπίστευση» των εργαστηρίων του

Α. Ασπρακοπούλου

Γενική Διευθύντρια Γ.Χ.Κ.



Από την ίδρυσή του (1929) και μετέπειτα, σε όλη την εβδομηκονταετή πορεία του, το Γ.Χ.Κ. έχει επιδείξει εκπληκτική εξελικτική δυναμική, προσαρμοστικότητα και διορατικότητα, όπως και άλλες φορές έχουμε δηλώσει.

Γνωρίζουμε ότι μία τέτοια δήλωση από την Γενική Διευθύντρια κινδυνεύει να εκληφθεί σαν συντεχνιακή έπαρση, αλλά γνωρίζουμε επίσης ότι, από τις στήλες του περιοδικού που μας φιλοξενεί και από τον κόσμο στον οποίο το περιοδικό απευθύνεται, θα αναγνωριστεί σίγουρα ένα μεγάλο ποσοστό δικαίωσης (της δήλωσης).

Αν εξετάσουμε την τελευταία εικοσαετία από την ιστορική του διαδρομή, θα δούμε ότι πράγματι το Γ.Χ.Κ. μπόρεσε να ανταποκριθεί με σχετική άνεση (αλλά με μεγάλη προσπάθεια) στις απαιτήσεις ένταξης στην Ε.Κ. με ό,τι τούτο συνεπαγόταν από το Μάιο του 1979 και εντεύθεν ήτοι:

- ❖ Εναρμόνιση της Εθνικής Νομοθεσίας προς το κοινοτικό (παράγωγο) δίκαιο, προενταξιακά.
- ❖ Ερμηνεία και εφαρμογή αυτού του δικαίου από 1-1-1981.
- ❖ Συμμετοχή στα κοινοτικά δρώμενα από την παραπάνω ημερομηνία και μέχρι σήμερα όπως η επιτυχής ανταπόκριση στις απαιτήσεις τριών ελληνικών Προεδριών (1983, 1987, 1994) και η γενικότερη ενεργή παρουσία του στον κοινοτικό χώρο.

Από το 1985 και μετά, οπότε αποφασίστηκε η «νέα προσέγγιση» για την εναρμόνιση των νομοθεσιών, διεφάνη σαφώς η τάση ανάπτυξης του τομέα της «τυποποίησης» προς όλες τις δυνατές κατευθύνσεις.

Θά' πρεπε ίσως να ομολογήσουμε ότι, με τη δυναμική για την οποία αρχικά ομιλήσαμε, οι υπηρεσίες και τα στελέχη του Γ.Χ.Κ. ξεπέρασαν το «στενό» και «γραφειοκρατικό» μήνυμα της τυποποίησης του τρόπου δουλειάς στα εργαστήρια και πέρασαν ένα βήμα παραπέρα στην «τεχνική ικανότητα» των εργαστηρίων και στην ανάγκη καθιέρωσής τους για παροχή αξιόπιστων αποτελεσμάτων κατά τις αναλύσεις.

Το αποτέλεσμα της παραπάνω πολιτικής και επιλογής είναι:

- * να είναι σήμερα τεκμηριωμένη η τεχνική ικανότητα και η αξιοπιστία των αποτελεσμάτων των εργαστηρίων μας με τη συμμετοχή μας σε διεργαστηριακές εξετάσεις ελέγχου ικανότητας, όπως π.χ. τα σχήματα FAPAS και CHEK στον τομέα των τροφίμων, το πρόγραμμα UNDCP των Ηνωμένων Εθνών στον τομέα των ναρκωτικών και το πρόγραμμα QUASIMEME σε περιβαλλοντικά θέματα. (Ενα ή περισσότερα εργαστήρια είναι τα πρώτα στη Μεσόγειο - στο είδος τους - και τα υπόλοιπα ευρίσκονται κατά μέσο όρο μεταξύ του 5% των καλύτερων ευρωπαϊκών εργαστηρίων).
- * να χρειάζεται ωστόσο η επιβεβαίωση εφαρμογής συστήματος διασφάλισης ποιότητας για ανταπόκριση σε ρητές απαιτήσεις, όπως εκείνες της οδηγίας Ε.Ο.Κ. 93/99 για τον έλεγχο των τροφίμων στην εσωτερική αγορά, ειδικότερα η επιβεβαίωση εφαρμογής του προτύπου 45001. (Θεωρητικά η εφαρμογή συστήματος διασφάλισης ποιότητας από ένα εργαστήριο είναι εκείνη που εγγυάται την επαναληψιμότητα και διάρκεια ως προς την τεχνική του ικανότητα).

Για την τελευταία παραπάνω υποχρέωση αναλήφθηκε η «επιχείρηση» που εν μέρει ανακλάται σε αυτό το τεύχος και που αναφέρεται στη χρονική φάση του τέλους του Ιουνίου 1998, επειδή σε εκείνη τη φάση πραγματοποιήσαμε έναν πρώτο εσωτερικό μαζικό απολογισμό.

Θελήσαμε να δώσουμε τα κείμενα σ' εκείνη ακριβώς τη φάση, γιατί θεωρήσαμε ότι έτσι προσφέρονταν καλλίτερα σε εκμετάλλευσή τους από άλλα εργαστήρια που ακολουθούν ή θα ακολουθήσουν τον ίδιο δρόμο και αναδείκνυαν καλλίτερα την προσπάθεια που έγινε και που πολλές φορές συνιστά «πρωτογενές» επιστημονικό έργο, έστω και αν η εφαρμογή του μπορεί να περιορίζεται από τα πλαίσια μέσα στα οποία εκπονήθηκε, δηλαδή τις συγκεκριμένες ανάγκες των συγκεκριμένων εργαστηρίων του Γ.Χ.Κ.

Οι παραπέρα διαδικασίες της πορείας προς τη διαπίστευση (κατά 45001) θα αποτελέσουν εσωτερική υπόθεση της Δημόσιας Διοίκησης (ΕΣΥΔ - Γ.Χ.Κ.), αλλά τούτο δεν θα εμποδίσει να παρέχουμε τη βοήθειά μας σε κάθε ενδιαφερόμενο που, στη βάση αυτού του δημοσιεύματος, θα θελήσει περισσότερες διευκρινίσεις ή πληροφορίες σχετικά με τα γενικότερα ή ειδικότερα κεφάλαια του τεύχους.

Σε κάθε περίπτωση πρέπει να τονίσουμε ότι οι ανάγκες διαπίστευσης για ανταπόκριση προς την Οδηγία Ε.Ο.Κ. 93/99 δεν θα είναι οι μόνες για το Γ.Χ.Κ. Ανάλογες ανάγκες θα προκύψουν από τα προγράμματα για τα «τελωνεία 2000» (για τις οποίες δεν γνωρίζουμε ακόμη το βαθμό σύμπτωσης με τις προηγούμενες) αφού το Γ.Χ.Κ. έχει, σαν δεύτερη αλλά ισοβαρή με την πρώτη (έλεγχο αγοράς) αποστολή, την υποστήριξη των τελωνειακών διαδικασιών στην ευρύτερη έννοιά της.

Κατά τα παραπάνω το Γ.Χ.Κ., θεωρούμε ότι κατατάσσεται στα εργαστήρια με πολλαπλές δραστηριότητες (multidisciplinary laboratories) και ασφαλώς θα ακολουθήσει τις διαδικασίες που αφορούν αυτά ακριβώς τα εργαστήρια και που βρίσκονται σε πλήρη εξέλιξη στο Ευρωπαϊκό επίπεδο. Σε εξέλιξη, άλλωστε, βρίσκονται και τα κείμενα προτύπων της σειράς EN 45000, γεγονός που δικαιολογεί την πολύ προσεκτική διατύπωση του κειμένου της οδηγίας Ε.Ο.Κ. 93/99, σε τρόπο που να θεωρούμε ότι ήδη στο Γ.Χ.Κ. ανταποκρινόμαστε στις απαιτήσεις της Οδηγίας.

THE GENERAL CHEMICAL STATE LABORATORY AND THE ACCREDITATION OF ITS LABORATORIES

A. Assimakopoulou, G.C.S.L. Director General,
Athens, (August 1998)

Since its foundation in 1929 the G.C.S.L. has shown an astonishing development potential, insight and adaptation capacity to current needs.

We know that such a statement on behalf of the Director General might be considered very arrogant but we think that both this journal and the people it is addressed to will find it greatly justified.

If we consider the last twenty years, since Greece joined the European Union, we realize that the G.C.S.L. managed to respond to the respective requirements relatively easily despite the considerable effort needed.

Since 1985, when the "new approach" on the harmonization of the national legislations was decided, a trend to develop standardization was already evident. Meanwhile, the G.C.S.L. officers managed to overcome the difficulties resulting from the bureaucratic procedures and proceeded to prove the technical competence of its laboratories. Attention was focused especially on the reliability of analytical results.

The results of the above policy—yet leading to two relatively different aspects—are:

- ❖ *The technical competence of our laboratories is by now proved by the regular and successful participation in interlaboratory proficiency tests in the food*

(FAPAS, CHEK), drugs (UNDCP) and environmental (QUASIMEME) sectors.
❖ The accreditation (compliance with the European Standard 45001) remains a formal requirement according to the Additional Measures Directive 93/99/EEC for the official food control in the internal market.

This last requirement led us to organize in June an extensive open review of the whole preparative work, which is partly reflected in the following presentations.

At this point we decided to make these papers public because we believe that they could be of special help to other laboratories following the same "painful" way to accreditation. A great part of the accomplished scientific work is judged inovative and therefore could prove particularly useful, despite the fact that it refers to specific needs of the G.C.S.L. laboratories. In addition we would be glad

to offer our help to anyone interested in the continuation of the work presented in this issue.

However, compliance with the directive 93/99/EEC is not the only accreditation requirement faced by the G.C.S.L. Similar requirements should be met according to the programme "Customs 2000" since the technical support of the Greek Customs is an equally important mission of our laboratories.

Consequently, in our opinion, the G.C.S.L. ranks among the "multidisciplinary laboratories" and will follow the procedures developing now on a Community level.

Furthermore, the EN 45000 series of standards are currently under revision, a fact that justifies the very careful formulation of directive 93/99/EEC in a way that allows us to believe that G.C.S.L. already conforms to the respective requirements.

Πορεία των εργαστηρίων του Γενικού Χημείου του Κράτους προς τη διαπίστευση

Ειρήνη Λαγουδάκη - Χατήρη

Προϊσταμένη της Διεύθυνσης Προσωπικού και Τεχνικής Υποστήριξης
του Γενικού Χημείου του Κράτους, Αθήνα



Ο επίσημος έλεγχος τροφίμων στην Ευρωπαϊκή Ένωση καθορίστηκε με την οδηγία 89/397/ΕΟΚ με σκοπό την προσέγγιση των νομοθεσιών των Κρατών-Μελών, ώστε να επιτευχθεί η προστασία της υγείας και των οικονομικών συμφερόντων των πολιτών.

Για να καταστεί αποτελεσματικότερος ο επίσημος έλεγχος των τροφίμων, η οδηγία όρισε μια ή περισσότερες πράξεις για τον έλεγχο μεταξύ των οποίων και «τη δειγματοληψία και ανάλυση». Η δειγματοληψία καθορίστηκε ότι δύναται να γίνεται:

- (α) στις πρώτες ύλες, τα συστατικά, τα πρόσθετα και τεχνολογικά βοηθήματα ή άλλα προϊόντα που χρησιμοποιούνται στην παρασκευή ή παραγωγή τροφίμων
- (β) στα ημικατεργασμένα προϊόντα
- (γ) στα τελικά προϊόντα
- (δ) στα υλικά και αντικείμενα που προορίζονται να έρθουν σε επαφή με τα τρόφιμα
- (ε) στα υλικά καθαρισμού και συντηρήσεων και στα εντομοκτόνα (pesticides)

Η οδηγία ορίζει επίσης, ότι οι αναλύσεις των δειγμάτων θα γίνονται από επίσημα εργαστήρια.

Στη συνέχεια, με την οδηγία 93/99/ΕΟΚ τίθενται πρόσθετα μέτρα που αφορούν στον επίσημο έλεγχο των τροφίμων στα πλαίσια της εσωτερικής αγοράς για την ομοιόμορφη εφαρμογή της οδηγίας 89/397/ΕΟΚ και την ελεύθερη και απρόσκοπτη κυκλοφορία των τροφίμων. Τα μέτρα αυτά αφορούν τα επίσημα εργαστήρια, τα οποία πρέπει να πληρούν τα γενικά κριτήρια λειτουργίας των εργαστηρίων δοκιμών που καθορίζονται στο ευρωπαϊκό πρότυπο EN 45001 από 1 Νοέμβρη 1998.

Ο ιδρυτικός Νόμος του Γ.Χ.Κ. 4328/29, όπως συμπληρώθηκε με το Ν. 2343/95, καθορίζει ότι μεταξύ των αρμοδιοτήτων του Γ.Χ.Κ. συγκαταλέγεται η χημική, φυσική, βιολογική, μικροβιολογική, τοξικολογική ή άλλη εξέταση και μελέτη των ιδιοτήτων των τροφίμων, ποτών, χημικών ουσιών και παρασκευασμάτων (επικινδύνων ή μη), βιοκτόνων, προδρόμων και ναρκωτικών ουσιών, φαρμάκων, πρώτων υλών και βιομηχανικών προϊόντων και αντικειμένων κοινής χρήσης, με σκοπό τον έλεγχο της ποιότητας, γνησιότητας και νόμιμης κυκλοφορίας αυτών.

Έτσι, το Γ.Χ.Κ. βρέθηκε αντιμέτωπο με την ανάγκη της υλοποίησης της διαπίστευσης των εργαστηρίων του, όχι μόνο για την επιβίωση του αλλά και την περαιτέρω ανάπτυξη και επίτευξη της αποστολής του.

Για τη μελέτη του όλου θέματος ορίστηκε μια Ομάδα Εργασίας από χημικούς της Υπηρεσίας μας. Το έργο της ομάδας ήταν δύσκολο και επίπονο. Η ομάδα δούλεψε σκληρά και υπέβαλε μέσα στον προγραμματισμένο χρόνο το Εγχειρίδιο Ποιότητας εργαστηρίων, σύμφωνα με τις απαιτήσεις του EN 45001.

Το Εγχειρίδιο Ποιότητας, με ευθύνη της Δ/σης Προσωπικού και Τεχν. Υποστήριξης, Τμήμα Γ', εγκρίθηκε από το Γενικό Γραμματέα του Υπ. Οικονομικών με την 3014658/7509/ 0078/23.7.97 έγκριση και τέθηκε σε εφαρμογή.

Οι υπηρεσίες που επιλέχθηκαν σε πρώτη φάση της εφαρμογής ήταν αυτές που διέθεταν τον κατάλληλο εργαστηριακό και κτιριακό εξοπλισμό, την εμπειρία και επαρκές προσωπικό.

Έτσι, ορισμένες Χημικές Υπηρεσίες της Αττικής, Θεσσαλονίκης και Πάτρας, οι οποίες πέρα από τις παραπάνω προϋποθέσεις καλύπτουν τις ανάγκες περιοχών με μεγάλο πληθυσμό και υποστηρίζουν και τις λοιπές Χημικές Υπηρεσίες που δεν διαθέτουν τον κατάλληλο εργαστηριακό εξοπλισμό, ξεκίνησαν τις διαδικασίες για τη διαπίστευση.

Οι διαδικασίες αυτές καταγράφονται λεπτομερώς στο Εγχειρίδιο Ποιότητας το οποίο αποτελείται από τρία Μέρη.

Το Μέρος Α' περιλαμβάνει τα γενικά, που αφορούν στο σύνολο των Υπηρεσιών του Γ.Χ.Κ. και διακρίνεται σε 14 Κεφάλαια, όπου καταγράφονται η οργάνωση του Γ.Χ.Κ., οι ανθρώπινοι πόροι και ο εξοπλισμός, η διαχείριση του ανθρώπινου και εργαστηριακού δυναμικού, η διαχείριση δειγμάτων, αρχείων και εκθέσεων δοκιμών, η εφαρμογή και επικύρωση των μεθόδων και τέλος ο χειρισμός ανωμαλιών και παραπόνων, καθώς και το γενικό πλαίσιο για τις εξωτερικές υπηρεσίες υποστήριξης και τις προμήθειες.

Το Μέρος Β' περιλαμβάνει Παραρτήματα που συνιστούν σχέδια εντύπων, τα οποία συμπληρώνονται από τα εργαστήρια που προετοιμάζονται για διαπίστευση και τα οποία παραπέμπουν στο Μέρος Α' ή στο Μέρος Β' του Εγχειριδίου Ποιότητας και αφορούν στις λεπτομέρειες εφαρμογής του συστήματος ποιότητας των εργαστηρίων.

Τέλος, το Μέρος Β' είναι εξειδικευμένο για κάθε Υπηρεσία και αποτελείται από ταυτάρθρομα Κεφάλαια του Μέρους Α' για τα Κεφάλαια εκείνα που η εξειδίκευση κρίνεται απαραίτητη.

Πέρα από το Εγχειρίδιο Ποιότητας συντάχθηκαν οι τυποποιημένες διαδικασίες λειτουργίας (SOPs) στις οποίες περιγράφονται λεπτομερώς καθορισμένες τεχνικές ή διοικητικές λειτουργίες των εργαστηρίων.

Ιδιαίτερη βαρύτητα δόθηκε στη συμμετοχή των εργαστηρίων του Γ.Χ.Κ. σε διεργαστηριακές εξετάσεις ελέγχου ικανότητας (proficiency testing schemes). Οι εξετάσεις αυτές συντονίζονται και διοργανώνονται από ευρωπαϊκούς ή διεθνείς φορείς (FAPAS, CHEK για τα τρόφιμα, UNDCP για τα ναρκωτικά, QUASIMEME για θέματα περιβάλλοντος).

Το άλλο επίπονο έργο, η επικύρωση των αναλυτικών μεθόδων, ήτοι ο λεπτομερειακός έλεγχος όλων των σταδίων αυτών και η στατιστική επεξεργασία των δεδομένων, απασχολεί τα εργαστήρια. Βασικό εργαλείο στην επικύρωση των μεθόδων είναι τα πρότυπα αναφοράς, καθώς και τα πιστοποιημένα υλικά αναφοράς.

Τέλος, δόθηκε ιδιαίτερη έμφαση στην εκπαίδευση του προσωπικού είτε με παρακολούθηση εξειδικευμένων συνεδρίων, σεμιναρίων, ημερίδων κ.λ.π. στη χώρα μας, είτε στο εξωτερικό στα πλαίσια της ανταλλαγής των κοινοτικών υπαλλήλων με το πρόγραμμα Karolus.

Τα παραπάνω αποτελούν μια αδρή σκιαγράφηση της πορείας για τη διαπίστευση των εργαστηρίων τροφίμων του Γ.Χ.Κ.

Συνάμα, όμως, ακολουθούνται οι ίδιες διαδικασίες και για εργαστήρια που το αντικείμενό τους είναι ο έλεγχος των λοιπών αντικειμένων του Γ.Χ.Κ. σε συνδυασμό με εφαρμογή του Κοινοτικού Προγράμματος «Τελωνεία 2000» που αφορά τη διαπίστευση των Τελωνειακών εργαστηρίων.

Παράλληλα, στα πλαίσια της ποιότητας των υπηρεσιών που προσφέρονται από τη δημόσια διοίκηση προς τον πολίτη, προωθείται ο εκσυγχρονισμός της Υπηρεσίας με τη μηχανοργάνωση on line όλων

των Υπηρεσιών του Γ.Χ.Κ. (πρόγραμμα Κλεισθένης), την ασφάλεια και υγεία στην εργασία και το εν εξελίξει πρόγραμμα «για την ποιότητα για τον πολίτη».

Τα εβδομήντα χρόνια ζωής του Γ.Χ.Κ. σηματοδοτούν μια περίοδο στην οποία επιτεύχθηκε ένα σημαντικό έργο σε όλους τους τομείς δραστηριότητας του Γ.Χ.Κ. Από 1.11.98 ανοίγει μια ακόμη καινούρια σελίδα, μια νέα πρόκληση. Ευθύνη όλων μας και ιδιαίτερα των νέων συναδέλφων είναι να αγωνισθούμε και να συνεχίσουμε το έργο του Γ.Χ.Κ. με τα νέα δεδομένα στο πλαίσιο του συστήματος της ολικής ποιότητας.

PREPARATION FOR ACCREDITATION ACCORDING TO EN 45001 AT THE GENERAL CHEMICAL STATE LABORATORY

Irene Lagoudaki - Chatiri

Head of the Division of Personnel and Administration of the General Chemical State Laboratory, Athens, GREECE

This paper gives a brief summary on the preparation for accreditation of the General Chemical State Laboratory (GCSL) according to the criteria of EN 45001. Preparation for accreditation was focused on the compilation of the Quality Manual and the Standard Operating Procedures (SOPs), the creation of registers required by the standard and the participation in relevant proficiency testing schemes. Particular attention was given on the training and retraining of staff and in staff exchanges within the framework of the European Union "KAROLUS" program. The purchase of reference materials, certified reference materials and reference standards was also considered essential for the calibration of instruments and the validation of methods.

At the time being validation of methods and the implementation of internal quality control schemes is a sector attracting the effort of the laboratories.

Accreditation of laboratories is regarded as a challenge for the continuous improvement of GCSL.

Γενικές αρχές αναλυτικού ελέγχου ποιότητας και επικύρωσης μεθόδων

Στέλλα Συνούρη

Δρ. Χημικός Γ.Χ.Κ., Αθήνα



Α. EN 45001: ΕΝΑ ΠΡΟΤΥΠΟ ΠΟΥ ΣΥΝΔΥΑΖΕΙ ΤΗΝ ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ ΚΑΙ ΤΗΝ ΑΠΟΔΕΙΞΗ ΤΗΣ ΤΕΧΝΙΚΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ

Από την Ευρωπαϊκή Ένωση, για συγκεκριμένες διαπιστεύσεις «υποχρεωτικού χαρακτήρα» (π.χ. επίσημος έλεγχος τροφίμων, χημικά εργαστήρια που υποστηρίζουν τις Τελωνειακές διαδικασίες) έχει επιλεγεί το πρότυπο EN 45001.

Η επιλογή του Ευρωπαϊκού αυτού προτύπου γίνεται γιατί παράλληλα με την απαίτηση λειτουργίας ενός συστήματος ποιότητας, στηρίζεται σε πολύ μεγάλο βαθμό στην απόδειξη της τεχνικής ικανότητας (επάρκειας) του εργαστηρίου.

Ένα ερώτημα που τίθεται συχνά είναι ποιά σημεία «συνιστούν» την τεχνική ικανότητα και ποιά το «σύστημα ποιότητας».

Έτσι, μια συνήθης απάντηση είναι ότι η τεχνική ικανότητα ενός εργαστηρίου συνίσταται κυρίως:

- ❖ στην τεχνική και επιστημονική επάρκεια του προσωπικού
- ❖ στην εργαστηριακή υποδομή, βαθμονόμηση, διακρίβωση και σωστή χρήση του εξοπλισμού

❖ στις διαδικασίες μετρήσεων και δοκιμών

❖ και τελικά στην απόδοσή του κατά τη συμμετοχή σε διεργαστηριακές δοκιμές και κυρίως σε δοκιμές ελέγχου ικανότητας (proficiency testing).

Στην πραγματικότητα, όμως, ο διαχωρισμός «τεχνικής ικανότητας» από το «σύστημα ποιότητας» είναι μηχανιστικός, γιατί αν για όλα τα παραπάνω δεν τηρείται το κατάλληλο σύστημα ποιότητας, (π.χ. τα αντίστοιχα αρχεία, οι καταγεγραμμένες διαδικασίες, η μελέτη των αποτελεσμάτων που θα επιτρέψει την κατά το δυνατόν μεγαλύτερη αξιοποίησή τους και πραγματοποίηση των «διορθωτικών ενεργειών»), ένα μεγάλο μέρος εργασίας χάνεται ή δεν αξιοποιείται. Εξ άλλου, είναι ιδιαίτερα αμφίβολο αν μπορεί ένα διαπιστευμένο εργαστήριο να εφαρμόζει μόνο «σύστημα ποιότητας» χωρίς να διαθέτει αξιολογη «τεχνική ικανότητα».

Στο σημείο αυτό θα πρέπει να τονιστεί ότι όλα τα εργαστήρια λειτουργούν με βάση κάποιο σύστημα. Το ζητούμενο, επομένως, είναι η προσαρμογή του υφιστάμενου συστήματος ποιότητας στις απαιτήσεις του EN 45001.

Ο όρος «προσαρμογή» όμως, είναι ίσως πολύ «ήπιος» για να εκφράσει τις αλλαγές που θα πρέπει να πραγματοποιηθούν.

Οι κυριότερες αλλαγές είναι :

1. Σημαντική μεταβολή της οργανωτικής δομής των εργαστηρίων με:

- Ύπαρξη «Προϊσταμένου Ποιότητας ή Υπευθύνου Ποιότητας» (Quality Manager), με σαφώς καταγεγραμμένα καθήκοντα και κύρια αρμοδιότητα την παρακολούθηση (καταγραφή, monitoring) της εφαρμογής του συστήματος ποιότητας στο εργαστήριο. Ο ρόλος του Προϊσταμένου Ποιότητας αποτελεί καινοτομία σε πολλά ευρωπαϊκά εργαστήρια.

- Σαφώς καθορισμένα καθήκοντα και πολύ μεγάλες ευθύνες στον «Τεχνικό Προϊστάμενο» του εργαστηρίου με βασική αρμοδιότητα την εφαρμογή του Συστήματος Ποιότητας.

- Σαφές οργανόγραμμα και λεπτομερώς καταγεγραμμένες αρμοδιότητες για τους αναλυτές, αλλά και όλο το υπόλοιπο προσωπικό.

2. Πλήρη τεκμηρίωση του Συστήματος Ποιότητας, που επιτυγχάνεται με την ύπαρξη του Εγχειριδίου Ποιότητας, των Τυποποιημένων Διαδικασιών Λειτουργίας, των επμέρους οδηγιών κ.λ.π.

Όλα τα παραπάνω έντυπα πρέπει να είναι κατάλληλα αρχειοθετημένα και το προσωπικό-ανάλογα με τις αρμοδιότητες που του έχουν ανατεθεί-να έχει σαφή γνώση των θεμάτων που το αφορούν.

3. Απόδειξη της τεχνικής ικανότητας του εργαστηρίου.

Στην περίπτωση αυτή δεν αρκεί η απλή δήλωση. Είναι απαραίτητη και η ύπαρξη αδιαμφισβήτητων στοιχείων για την ικανότητα του εργαστηρίου, που να την αποδεικνύουν.

Για να στεφθεί με επιτυχία η πραγματοποίηση όλων αυτών των αλλαγών είναι εντελώς απαραίτητο:

- ❖ Να γίνει κατανοητό από όλα ανεξαιρέτως τα μέλη του προσωπικού ότι αποτελούν το σημαντικότερο κομμάτι του συστήματος ποιότητας και θα πρέπει να συμμετέχουν σε αυτό και να το υποστηρίζουν.

- ❖ Να υπάρχει συνεχής ενθάρρυνση στην «κατεύθυνση της διαπίστευσης».

- ❖ Η προσαρμογή στις νέες διαδικασίες να γίνεται σταδιακά αλλά όχι αργά (συνήθως όχι πέραν των 18 μηνών).

- ❖ Να μην εγκλωβιστεί το εργαστήριο στην «τυπολατρεία», η οποία δρα ανασταλτικά, αλλά να προσανατολιστεί στο «χτίσιμο» ενός συστήματος προσαρμοσμένου κατάλληλα στις ανάγκες του.

Η προσαρμογή αυτή στις υφιστάμενες συνθήκες εκφράζεται με τον όρο "fitness-for-purpose", που αποτελεί «σύνθημα» πολλών εργαστηρίων αλλά και άλλων φορέων που εμπλέκονται στη διαπίστευση. Το σύστημα ποιότητας πρέπει να είναι σύμφωνο με τα κριτήρια αλλά ταυτόχρονα κατάλληλο και ικανό να εξυπηρετεί και να ανταποκρίνεται στις ανάγκες του συγκεκριμένου εργαστηρίου με τον οικονομικότερο δυνατό τρόπο.

Ταυτόχρονα, είναι προφανές από τα παραπάνω ότι με κανένα τρόπο δεν αρκεί η αρχική «δόμηση» ενός συστήματος, αλλά πολύ περισσότερο η «διατήρησή» του σε συνεχή βάση.

Β. ΟΙ ΣΗΜΕΡΙΝΕΣ ΤΑΞΕΙΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΠΙΚΥΡΩΣΗ ΤΩΝ ΜΕΘΟΔΩΝ

Η οδηγία 93/99/ΕΟΚ καθορίζει συνοπτικά τις ακόλουθες απαιτήσεις για τη λειτουργία των εργαστηρίων του επισήμου ελέγχου τροφίμων :

- ❖ συμμόρφωση της λειτουργίας του εργαστηρίου στα κριτήρια του Ευρωπαϊκού προτύπου EN 45001. Η συμμόρφωση αυτή είναι άμεσα συνυφασμένη με την εφαρμογή διαδικασιών διασφάλισης ποιότητας και με την τήρηση σχημάτων ελέγχου ποιότητας σε συνεχή βάση.

- ❖ Συμμετοχή σε διεργαστηριακές εξετάσεις ικανότητας, όπου είναι δυνατόν.

- ❖ Χρήση επικυρωμένων μεθόδων.

Δεν είναι τυχαίο, ότι οι ίδιες ακριβώς απαιτήσεις απεικονίζονται τόσο στις τελικές θέσεις της Επιτροπής του Codex Alimentarius

(Codex Alimentarius Commission) τον Ιούνιο του 1997, όσο και στην εισήγηση αρμόδιων επιτροπών και ομάδων εργασίας της Ευρωπαϊκής Ένωσης για τη λειτουργία των τελωνειακών εργαστηρίων.

Τα τρία αυτά «μέτρα» θεωρούνται τα βασικότερα μέσα για τη διευκόλυνση του διεθνούς εμπορίου, που επιτρέπουν την αμοιβαία αναγνώριση των αναλυτικών αποτελεσμάτων και καθιστούν τον κάθε μορφής έλεγχο πιο αποτελεσματικό.

Η πρώτη επαφή του χημικού με τα κείμενα διαφόρων Ευρωπαϊκών και διεθνών οργανισμών που ασχολούνται με την ανάπτυξη, εφαρμογή και επικύρωση των μεθόδων, είναι βέβαιο ότι θα δημιουργήσει μια αρκετά μεγάλη σύγχυση. Έτσι, σε κάθε βήμα βρίσκεται και ένας «διαφορετικός» όρος για τις μεθόδους:

- ❖ Μέθοδοι αναφοράς (reference methods) και μέθοδοι ρουτίνας ή συνηθισμένες μέθοδοι (routine methods)

- ❖ Επίσημοι μέθοδοι/Επίσημοι μέθοδοι πρώτης δράσης (official first action methods)/Επίσημοι μέθοδοι τελικής δράσης (official final action methods)

- ❖ Μέθοδοι πρότυπα (standard methods), όχι-μόνο από τον ISO ή τη CEN, αλλά και από άλλους επιστημονικούς φορείς π.χ. IDF, IUPAC, COI.

- ❖ Μέθοδοι τύπου I, II, III και IV (στον Codex Alimentarius).

- ❖ Ιχνηλάσιμοι μέθοδοι (traceable methods)

- ❖ Εσωτερικές μέθοδοι (in-house methods)

Ανεξάρτητα, όμως, από την ποικιλία αυτή των όρων, οι κατευθυντήριες οδηγίες που εκδίδονται από τους αρμόδιους φορείς και οργανισμούς παρουσιάζουν μια πολύ μεγάλη ομοιομορφία και «εναρμόνιση» για τις απαιτήσεις που πρέπει να πληρούν οι μέθοδοι και για την αναγκαιότητα επικύρωσης πριν από την εφαρμογή τους.

Έτσι, οι απαιτήσεις ή οι κατευθυντήριες οδηγίες των :

- ❖ AOAC International

- ❖ Codex Alimentarius

- ❖ Ευρωπαϊκής Ένωσης

- ❖ CEN

- ❖ ISO

παρασιάζουν μεγάλη σύγκλιση και ταυτότητα απόψεων, οι οποίες μας είναι εν πολλοίς γνωστές από την Οδηγία 85/591/ΕΟΚ.

Για τη εφαρμογή των μεθόδων, η βασική προσέγγιση που μέχρι σήμερα τηρήθηκε από τους περισσότερους οργανισμούς και φορείς, και κυρίως από τα αρμόδια Όργανα της Ευρωπαϊκής Ένωσης ήταν η «**Θέσπιση μεθόδων αναφοράς**». Έτσι, σε πολλούς Κανονισμούς της Ευρ. Ένωσης που σχετίζονται με θέματα Κοινής Αγροτικής Πολιτικής, Τελωνειακών Διαδικασιών, Φορολογίας, αλλά και «εσωτερικών» ελέγχων:

- ❖ Ορίζονται για κάθε προσδιορισμό «μέθοδοι αναφοράς». Οι μέθοδοι αναφοράς που ορίζονται είναι στην πλειονότητά τους «μέθοδοι-πρότυπα» είτε του ISO ή της CEN, είτε άλλων διεθνών οργανισμών (π.χ. κατά περίπτωση IDF, COI κ.λ.π.)

- ❖ Δίνεται (όχι πάντα) η δυνατότητα εφαρμογής εναλλακτικών μεθόδων, με την απαραίτητη προϋπόθεση ότι δίνουν **αποδεδειγμένα** ισοδύναμα αποτελέσματα με τη μέθοδο αναφοράς.

- ❖ Σε περίπτωση αμφισβήτησης αποτελεσμάτων, είναι υποχρεωτική η εφαρμογή της μεθόδου αναφοράς που ορίζεται από την κοινοτική νομοθεσία.

Η παραπάνω προσέγγιση οδηγεί τα εργαστήρια στην υποχρεωτική διαπίστευση της «μεθόδου αναφοράς». Η χρήση των εναλλακτικών μεθόδων παραμένει σε κάποιες περιπτώσεις, πλην όμως, η αναγκαιότητα εφαρμογής της μεθόδου αναφοράς στις περιπτώσεις αμφισβήτησης, αποθαρρύνει τα εργαστήρια από τη «διαπίστευση» δύο διαφορετικών μεθόδων για τον ίδιο προσδιορισμό.

Πρόσφατα, κερδίζει συνεχώς έδαφος μια νέα άποψη για τη εφαρμογή των μεθόδων, η «**Προσέγγιση των κριτηρίων**», η οποία έχει ήδη υιοθετηθεί σε ορισμένα Κοινοτικά κείμενα για συγκεκριμένους προσδιορισμούς. Με την προσέγγιση αυτή, δεν καθορίζεται συ-

γκεκριμένη μέθοδος, αλλά προδιαγράφονται τα κριτήρια που θα πρέπει να πληροί η μέθοδος προκειμένου να εφαρμοστεί. Έτσι, αφήνεται στο εργαστήριο η ελευθερία επιλογής της μεθόδου και παρέχεται η δυνατότητα πρωτοβουλίας και αυτενέργειας, τα κριτήρια όμως που τίθενται προϋποθέτουν βαθειά γνώση των στοιχείων επικύρωσης της μεθόδου. Έτσι, δεν είναι τυχαίο, ότι η νέα αυτή προσέγγιση θεωρείται από τους περισσότερους χημικούς πολύ πιο αυστηρή σε σχέση με τις απαιτήσεις για επικύρωση.

Γ. ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΤΩΝ ΜΕΘΟΔΩΝ ΣΥΜΦΩΝΑ ΜΕ ΤΟ EN 45001: ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΟ ΠΑΡΑΔΕΙΓΜΑ ΣΥΝΔΥΑΣΜΟΥ «ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ», «ΤΕΧΝΙΚΗΣ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ» ΚΑΙ ΑΠΕΙΚΟΝΙΣΗΣ ΤΟΥ ΟΡΟΥ «FITNESS-FOR-PURPOSE»

Η επικύρωση των μεθόδων εντάσσεται σε μια συνολική προσέγγιση που ακολουθείται από το εργαστήριο, ώστε:

- ❖ τα παραγόμενα αναλυτικά αποτελέσματα να έχουν επαρκή ακρίβεια για το σκοπό για τον οποίον προορίζονται. Έτσι, δεν ενδιαφέρει η «απόλυτη» ακρίβεια των αναλυτικών αποτελεσμάτων, αλλά άλλοι παράγοντες, π.χ. η τάξη μεγέθους με την οποία εκφράζεται το αποτέλεσμα, η ύπαρξη θερμοθετημένων ορίων σε σχέση με τα στοιχεία επικύρωσης της μεθόδου κ.λ.π.

- ❖ να αποδεικνύεται η επίτευξη της ακρίβειας αυτής σε διαρκή βάση με την εφαρμογή κατάλληλου σχήματος ελέγχου ποιότητας.

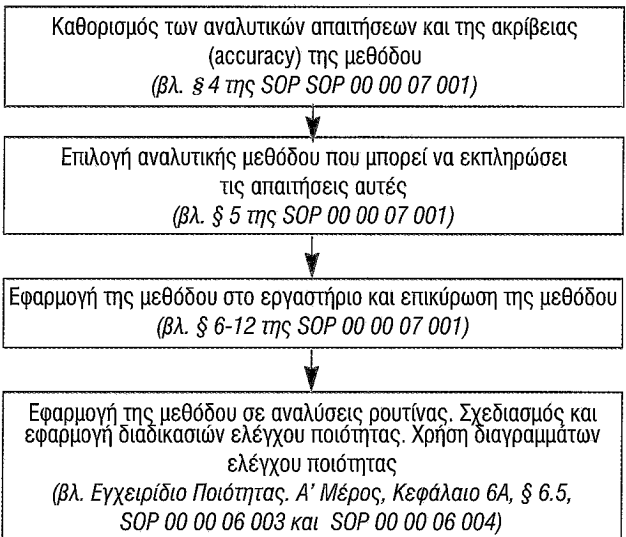
Κατά την εφαρμογή, επικύρωση και έλεγχο των μεθόδων δεν επιδιώκεται η «απόλυτη» ακρίβεια, αλλά η καταλληλότητά της για το σκοπό που προορίζεται (*fitness for purpose*).

Το ίδιο, δηλαδή, το εργαστήριο θέτει στόχους για την ακρίβεια των αποτελεσμάτων που θέλει να παράγει, επιλέγει το κατάλληλο αναλυτικό σύστημα, προβαίνει σε λεπτομερή μελέτη και επεξεργα-

σία του συστήματος, σχεδιάζει το κατάλληλο πρόγραμμα ελέγχου ποιότητας και στη συνέχεια το εφαρμόζει σε συστηματική βάση.

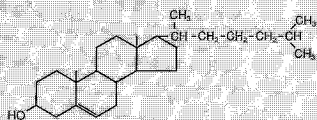
Για το σύνολο των διαδοχικών αυτών ενεργειών, με το οποίο επιδιώκεται η ταυτοποίηση και εν συνεχεία ο έλεγχος των αναλυτικών σφαλμάτων, χρησιμοποιείται στη βιβλιογραφία ο όρος «Αναλυτικός Έλεγχος Ποιότητας» (Analytical Quality Control, AQC).

Στο πλαίσιο αυτό, η επικύρωση κάθε μεθόδου αποτελεί αναπόσπαστο μέρος μιας αλληλουχίας ενεργειών η οποία είναι **άρρηκτα συνδεδεμένη** με τους στόχους που έχει καθορίσει το εργαστήριο για την ακρίβεια των αποτελεσμάτων του και περιγράφεται στο παρακάτω σχήμα:

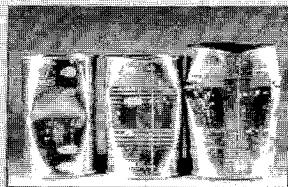


Γεώργιος Δ. Καραουζάνης
Αν. Καθηγητής Α.Π.Θ.

Α. ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΕΣ ΑΝΑΛΥΣΕΙΣ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΜΕΤΑΠΟΙΗΣΗΣ ΟΠΩΡΟΚΗΠΕΥΤΙΚΩΝ



Β. ΑΡΧΕΣ ΠΟΙΟΤΙΚΟΥ ΕΛΕΓΧΟΥ ΤΡΟΦΙΜΩΝ



Θεσσαλονίκη 1998

Ο καθηγητής του Α.Π.Θ. κ. **Γεώργιος Καραουζάνης** με το καινούργιο του βιβλίο με τίτλο **«Εργαστηριακές αναλύσεις τεχνολογίας οπωροκηπευτικών»** και **«Αρχές ποιοτικού ελέγχου τροφίμων»** έρχεται να καλύψει ένα κενό στο συνεχώς αναπτυσσόμενο χώρο της τεχνολογίας των τροφίμων στη χώρα μας.

Στο πρώτο μέρος **«Εργαστηριακές αναλύσεις τεχνολογίας οπωροκηπευτικών»** περιγράφονται λεπτομερώς οι σημαντικότερες εργαστηριακές αναλύσεις, οι οποίες πρέπει να γίνονται στα εργαστήρια των βιομηχανιών επεξεργασίας οπωροκηπευτικών.

Στο δεύτερο μέρος αναφέρονται οι βασικές αρχές του ποιοτικού ελέγχου, τον οποίο πρέπει να ασκεί ο υπεύθυνος τεχνολόγος της βιομηχανίας τροφίμων, ώστε τα προϊόντα του να είναι ποιοτικά προσαρμοσμένα στις απαιτήσεις του σύγχρονου καταναλωτή.

Το βιβλίο αυτό είναι προϊόν της πολυετούς απασχόλησης του συγγραφέα στις αναλύσεις τροφίμων, η οποία οδήγησε στην επιτυχή αντιμετώπιση σχετικών προβλημάτων με κατάλληλες τροποποιήσεις και βελτιώσεις μεθόδων και της στενής και συνεχούς συνεργασίας με τις βιομηχανίες τροφίμων. Κάθε υπεύθυνος τεχνικός στην παραγωγή τροφίμων θα βρει στο βιβλίο αυτό πολύτιμη βοήθεια.

Κεντρική διάθεση:

ART OF TEXT εκδόσεις - γραφικές τέχνες Α.Ε. • Κ. Επισκόπου 4
546 35 Θεσ/νίκη • Τηλ. & Fax: (031) 218.569, 218.546

Τεκμηρίωση της μεθόδου με τρόπο σαφή και λεπτομερή, ώστε να πληρούνται τα κριτήρια που τέθηκαν σε διαρκή βάση (βλ. SOP 00 00 07 004)

Στη συνέχεια, τα στάδια αυτά περιγράφονται με συντομία:

Καθορισμός των αναλυτικών απαιτήσεων και της ακρίβειας (accuracy) της μεθόδου

Σε κάθε μέθοδο πρέπει να καθορίζονται τα ακόλουθα:

- ❖ Τι προσδιορίζεται
- ❖ Το εύρος συγκεντρώσεων που ενδιαφέρουν
- ❖ Η απαιτούμενη ακρίβεια (accuracy) αποτελεσμάτων
- ❖ Ο τρόπος έκφρασης αποτελεσμάτων

Επιλογή αναλυτικής μεθόδου που να εκπληρώνει τις απαιτήσεις

Μεγάλο μέρος των μεθόδων που εφαρμόζονται στα εργαστήρια καθορίζεται από την εθνική ή κοινοτική νομοθεσία, εναπόκειται όμως στα εργαστήρια η βελτιστοποίηση των συνθηκών εφαρμογής (π.χ. εύρεση των βελτίστων συνθηκών λειτουργίας των οργάνων). Επιλογή μεθόδου απαιτείται όταν :

- ❖ δεν καθορίζεται μέθοδος
- ❖ καθορίζονται περισσότερες της μιας μεθόδου για το συγκεκριμένο αντικείμενο
- ❖ η καθορισμένη μέθοδος χρήζει βελτιώσεων ή και αντικαταστάσεων, είτε γιατί είναι «απνηχαιωμένη», είτε γιατί υπάρχουν σημαντικές εξελίξεις στην οργανολογία, είτε γιατί δεν έχει ικανοποιητική απόδοση στο εργαστήριο, είτε γιατί δεν παρέχει την απαιτούμενη από το εργαστήριο ακρίβεια (accuracy)

Πέραν των γενικών κριτηρίων που αναφέρονται για την επιλογή αναλυτικής μεθόδου, όπως:

- ❖ Εξειδίκευση ως προς το αντικείμενο
- ❖ Χαρακτηριστικά αξιοπιστίας επαναληψιμότητα (στο ίδιο εργαστήριο) αναπαραγωγιμότητα (σε διαφορετικά εργαστήρια)
- ❖ ακρίβεια
- ❖ όρια ανίχνευσης
- ❖ ευαισθησία
- ❖ ευκολία εκτέλεσης και εφαρμογής, κατά περίπτωση λαμβάνονται υπόψη:
- ❖ Η συχνότητα εφαρμογής της μεθόδου και ο αριθμός των δειγμάτων που αναλύονται σε κάθε περίπτωση.
- ❖ Η μέγιστη χρονική περίοδος που μεσολαβεί μεταξύ της δειγματοληψίας και της ανάλυσης σε σχέση με τη σταθερότητα του δείγματος.
- ❖ Βιβλιογραφικά στοιχεία σχετικά με την εφαρμογή της μεθόδου [π.χ. τυχόν συστηματικά σφάλματα, επαναληψιμότητα (precision), όριο ανίχνευσης, ανθεκτικότητα (robustness) και ευκολία εφαρμογής].

Επικύρωση της μεθόδου

Για την επικύρωση των μεθόδων χρησιμοποιείται στη βιβλιογραφία ο όρος «πακέτο επικύρωσης» (validation package) που περιλαμβάνει τα ακόλουθα:

- ❖ Εκτίμηση της ορθότητας (trueness) της μεθόδου
- ❖ Εκτίμηση της πιστότητας (precision) της μεθόδου
- ❖ Αξιολόγηση της καταλληλότητας της καμπύλης βαθμονόμησης
- ❖ Προσδιορισμό του ορίου ανίχνευσης ή/και του ορίου ποσοτικού προσδιορισμού.

Η εξειδίκευση (specificity), η εκλεκτικότητα (selectivity) και η ανθεκτικότητα (ruggedness) της μεθόδου αποτελούν επίσης στοιχεία που κατά περίπτωση εξετάζονται κατά την επικύρωση της μεθόδου.

Σύμφωνα με τις κατευθυντήριες οδηγίες της EAL, μέθοδοι που έχουν θεσπιστεί από την Κοινοτική ή Εθνική νομοθεσία, μέθοδοι - πρότυπα Ευρωπαϊκών ή Διεθνών Οργανισμών Τυποποίησης (CEN,

ISO, κ.λ.π.), Ευρωπαϊκών ή Διεθνών Επιστημονικών Οργανισμών (IUPAC, AOAC, COI, IDF, OIV, κ.λ.π.), καθώς και μέθοδοι που έχουν θεσπιστεί από την Εθνική νομοθεσία άλλων χωρών ή έχουν καταστεί πρότυπα Εθνικών Οργανισμών Τυποποίησης (DIN, AFNOR, BS, ASTM, κ.λ.π.)] δεν χρειάζονται πλήρη επικύρωση, εφ' όσον τα στοιχεία επικύρωσής τους είναι προσδιορισμένα και καταγεγραμμένα μετά από σχετική διεργαστηριακή εξέταση.

Στις παραπάνω περιπτώσεις απαιτείται η εκ μέρους του εργαστηρίου απόδειξη της ικανότητάς του να εκτελεί σωστά τη μέθοδο σύμφωνα με την καταγεγραμμένη πορεία και να παράγει αναλυτικά αποτελέσματα σύμφωνα με τα στοιχεία επικύρωσης που παρέχει το κείμενο της μεθόδου.

Δεν απαιτείται επομένως πλήρης επικύρωση της μεθόδου και για το λόγο αυτό αναφερόμαστε σε «επαλήθευση» της μεθόδου. Η διαδικασία της «επαλήθευσης» περιλαμβάνει οπωσδήποτε εκτίμηση της επαναληψιμότητας (precision) της μεθόδου και κατά περίπτωση εκτίμηση ή αξιολόγηση και των άλλων στοιχείων, όπως π.χ. κατασκευή και αξιολόγηση της καμπύλης βαθμονόμησης, εκτίμηση της ορθότητας (trueness).

Σχεδιασμός εσωτερικού ελέγχου ποιότητας

Οι τεχνικές, οι οποίες εφαρμόζονται στα πλαίσια του Εσωτερικού Ελέγχου Ποιότητας ενός εργαστηρίου, είναι η χρήση λευκών (blanks), εμβολιασμένων δειγμάτων (spiked samples), διπλών ή/και πολλαπλών αναλύσεων του ίδιου δείγματος (replicates), υλικών αναφοράς και πιστοποιημένων υλικών αναφοράς (RMs, CRMs), δειγμάτων ελέγχου ποιότητας (Quality Control samples/Q.C. samples). Το επίπεδο και ο τύπος του Εσωτερικού Ελέγχου Ποιότητας εξαρτάται κάθε φορά από την φύση της ανάλυσης, τη συχνότητα της εκτέλεσης της ανάλυσης, το μέγεθος της παρτίδας, το βαθμό του αυτοματισμού και την δυσκολία και αξιοπιστία της μεθόδου. Σε αναλύσεις ρουτίνας, το επίπεδο των δειγμάτων εσωτερικού ελέγχου ποιότητας πρέπει να κυμαίνεται περί το 5% του συνόλου των εξεταζομένων δειγμάτων, ενώ σε έκτακτες ή ασυνήθιστες αναλύσεις αυξάνεται σημαντικά (20-50%).

Το σχήμα εσωτερικού ελέγχου σχεδιάζεται από το εργαστήριο με σκοπό να αποτιμά σε καθημερινή βάση τα παραγόμενα αποτελέσματα. Είναι απόλυτα θεμιτό, δυο εργαστήρια να εφαρμόζουν διαφορετικό σχήμα εσωτερικού ελέγχου για την ίδια μέθοδο ανάλυσης, ανάλογα με τις εξειδικευμένες απαιτήσεις τους.

Τα διαγράμματα ελέγχου (control charts) απεικονίζουν με παραστατικό τρόπο το σχήμα εσωτερικού ελέγχου ποιότητας. Διαγράμματα αυτού του τύπου είναι τα Shewart (χ-διαγράμματα), τα R-διαγράμματα (διαγράμματα εύρους) και τα διαγράμματα CUSUM.

Εξωτερικός έλεγχος ποιότητας

Στον εξωτερικό έλεγχο ποιότητας υπάγονται οι διεργαστηριακές εξετάσεις για τον έλεγχο ικανότητας των εργαστηρίων (proficiency testing). Υπάρχει μεγάλη ποικιλία σχημάτων που πραγματοποιούν τέτοιες εξετάσεις σε διάφορα αντικείμενα.

Υπηρεσίες του Γ.Χ.Κ. έχουν συμμετάσχει σε ευρεία κλίμακα σε τέτοιες εξετάσεις κατά την τελευταία τριετία, αποκόμεσαν δε σημαντική εμπειρία από τη συμμετοχή τους αυτή.

Τεκμηρίωση (καταγραφή) των μεθόδων

Οι μέθοδοι πρέπει να περιγράφουν με σαφήνεια την αναλυτική πορεία και τις συνθήκες εφαρμογής στο συγκεκριμένο εργαστήριο, παράλληλα δε να περιλαμβάνουν τα στοιχεία επικύρωσής τους, τα στοιχεία στα οποία βασίζεται η αποτίμηση της ικανοποιητικότητας εφαρμογής της μεθόδου και το εφαρμοζόμενο σχήμα εσωτερικού ελέγχου ποιότητας. Δεν αρκεί η απλή παράθεση της φωτοτυπίας μιας μεθόδου, αλλά χρειάζεται η κατά το δυνατόν λεπτομερέστερη απεικόνιση της πραγματικής εφαρμογής, ώστε να διευκολύνονται οι αναλυτές στο έργο τους και να μην δημιουργούνται απορίες ή παρερμηνείες στην εφαρμοζόμενη μέθοδο.

Η «τεκμηρίωση» των μεθόδων είναι ο τομέας, στον οποίον κατά την αξιολόγηση από τον φορέα διαπίστευσης, εντοπίζονται οι σημα-

ντικότερες «μη συμμορφώσεις». Σημεία στα οποία πρέπει να δοθεί ιδιαίτερη προσοχή είναι:

- ❖ Τα αρχεία των μεθόδων πρέπει να είναι «έγκυρα» και «υπό έλεγχο» (in control) από τον Υπεύθυνο Ποιότητας,
- ❖ Όλα τα αντίγραφα των μεθόδων πρέπει να είναι ακριβώς τα ίδια (δηλαδή τα αντίγραφα των αναλυτών, του Υπευθύνου Ποιότητας, κ.λ.π),
- ❖ Πρέπει να διασφαλίζεται η «διαθεσιμότητα» των αρχείων των μεθόδων στους αναλυτές (ικανός αριθμός αντιγράφων ανάλογα με τον αριθμό του προσωπικού του εργαστηρίου).
- ❖ Οι μέθοδοι είναι ελεγχόμενα έγγραφα και για το λόγο αυτό επισημαίνονται κατάλληλα (ημερομηνία έκδοσης, υπεύθυνος έκδοσης, ημερομηνία τροποποίησης ή απόσυρσης). Επιπλέον, τα αντίγραφα δεν πρέπει να είναι μουτζουρωμένα ή να φέρουν χειρόγραφες διορθώσεις που αλλοιώνουν την πορεία της πειραματικής διαδικασίας.

Δ. ΠΡΟΟΠΤΙΚΕΣ ΚΑΙ ΕΠΟΜΕΝΕΣ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΕΣ ΣΤΟ Γ.Χ.Κ.

Για τις απαιτήσεις που αναφέρθηκαν προηγουμένως σχετικά με την επικύρωση των μεθόδων, έχουν συνταχθεί και τεθεί σε εφαρμογή στο Γ.Χ.Κ. οι ακόλουθες τυποποιημένες διαδικασίες λειτουργίας:

SOP 00 00 06 002	Συμμετοχή εργαστηρίου σε διεργαστηριακές εξετάσεις ελέγχου ικανότητας: Τήρηση αποτελεσμάτων
SOP 00 00 06 003	Διαχείριση, φύλαξη και χρήση πιστοποιημένων υλικών αναφοράς
SOP 00 00 06 004	Εσωτερικός Έλεγχος Ποιότητας
SOP 00 00 07 001	Επικύρωση μεθόδων
SOP 00 00 07 002	Ενιαίος τρόπος γραφής νέων μεθόδων
SOP 00 00 07 004	Γραπτή τεκμηρίωση μεθόδων

Ορισμένες από τις παραπάνω SOP (π.χ. SOP 00 00 06 004, SOP 00 00 07 001) αποτελούν ένα γενικό περίγραμμα βασικών κατευθυντηρίων οδηγιών, που μπορούν να χρησιμοποιηθούν κατάλληλα από τα εργαστήρια, προκειμένου να ικανοποιήσουν τους στόχους τους.

Όπως έχει διαμορφωθεί σήμερα η κατάσταση στο Γ.Χ.Κ. σε σχέση με το «αντικείμενο διαπίστευσης των εργαστηρίων» διακρίνονται δύο περιπτώσεις:

A. Εργαστήρια του Γ.Χ.Κ. που έχουν κοινό εργαστηριακό έργο και προχωρούν παράλληλα ή με κάποια διαφορά φάσεως στη διαπίστευση κοινών αναλύσεων (π.χ. εργαστήρια στον τομέα των αλκοολούχων ποτών ή των λιπαρών υλών ή των γαλακτοκομικών).

B. Εργαστήρια του Γ.Χ.Κ. με εξειδικευμένο αντικείμενο διαπίστευσης, δεδομένου ότι είναι τα μόνα στο Γ.Χ.Κ. που πραγματοποιούν αυτές τις αναλύσεις (π.χ. εργαστήριο Υλικών σε επαφή με τρόφιμα, εργαστήριο υπολειμμάτων γεωργικών φαρμάκων).

Έτσι, με βάση τα παραπάνω, τίθενται οι ακόλουθοι προβληματισμοί, κυρίως από τα εργαστήρια της παραγράφου A.:

(α) Υπάρχει η δυνατότητα διαμόρφωσης κοινών πρωτοκόλλων επικύρωσης για ορισμένες ομάδες μεθόδων (π.χ. ογκομετρικές, σταθμικές), ώστε να επιταχυνθεί το έργο της διαπίστευσης με τη μεγαλύτερη δυνατή εξοικονόμηση πόρων;

Η διαμόρφωση τέτοιων πρωτοκόλλων διευκολύνει τα εργαστήρια ή μπορεί να δράσει ανασταλτικά και να εγκλωβίσει την πρωτοβουλία των χημικών;

(β) Είναι αναγκαίο να εφαρμόζεται ενιαίο σχήμα εσωτερικού ελέγχου ποιότητας για τα εργαστήρια που πραγματοποιούν την ίδια μέθοδο με ανάλογο εργαστηριακό εξοπλισμό ή είναι καλύτερα κάθε εργαστήριο να διαμορφώσει το δικό του σχήμα;

(γ) Ποιος είναι ο καλύτερος, οικονομικότερος και συντομότερος τρόπος για την «τεκμηρίωση» των μεθόδων;

(δ) Πώς μπορεί να διευκολυνθεί η ταχύτερη και αποτελεσματικότερη υποστήριξη των εργαστηρίων με τα απαιτούμενα για την επικύρωση ειδή (π.χ. πιστοποιημένα υλικά αναφοράς, αναλώσιμα είδη, ειδικά εξαρτήματα);

(ε) Είναι δυνατή η αξιοποίηση της ύπαρξης εργαστηρίων που προετοιμάζονται για διαπίστευση για κοινές αναλύσεις με τη διοργάνωση ατύπων, έστω, κυκλικών δοκιμών (ring tests);

Μια γενικού τύπου απάντηση σε όλα τα παραπάνω ερωτήματα θα μπορούσε να ήταν «με τη συνεργασία». Τη στιγμή που σε ευρωπαϊκό, αλλά και σε διεθνές επίπεδο η τάση είναι «συνεργασία, εναρμόνιση και ενιαία κατά το δυνατόν εφαρμογή», η απάντηση για εργαστήρια του ίδιου φορέα, όπως το Γ.Χ.Κ. είναι μάλλον αυταπόδεικτη.

Τόσο όμως η μορφή της συνεργασίας και ο τρόπος που αυτή θα υλοποιείται, όσο και οι επιμέρους απαντήσεις στα ερωτήματα που τέθηκαν, αποτελούν θέματα κοινού προβληματισμού και συνιστούν ένα από τα βασικά σημεία στα οποία καλούμαστε να δώσουμε απάντηση σε αυτή τη διημερίδα.

GENERAL PRINCIPLES OF ANALYTICAL QUALITY CONTROL AND VALIDATION OF METHODS

Stella Synouri, Chemist Ph.D. of the General Chemical State Laboratory, Athens, GREECE

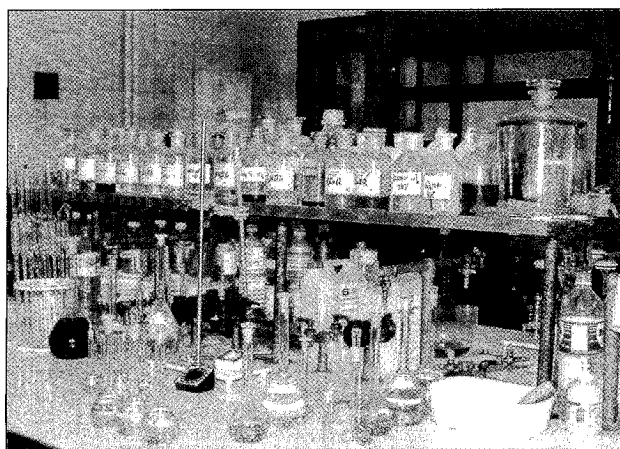
In view of ensuring reliability of results and the equivalence of controls, European Union directive 93/99 defines EN 45001 as the standard for laboratory accreditation for the official food control in all Member States. A similar directive is under way for the accreditation of Customs laboratories. The main reason for the selection of this standard is that it combines requirements for the operation of a quality system with the demonstration of technical competence.

The major changes required in a laboratory applying EN 45001 involve adjustment of its organizational structure to the EN 45001 criteria, meticulous documentation of all procedures applied in the quality system and the need to demonstrate its technical competence, e.g. by participation in suitable proficiency testing schemes.

Current tendencies on the application and validation of methods are discussed, particularly the use of the "reference methods approach" as compared to the recently established "criteria approach".

The main concept underlying the extent of validation of methods is "fitness for purpose". In this sense, validation of methods is considered as a part in a sequence of procedures including the determination of the laboratory's analytical requirements for a specific test or analysis, the selection of an appropriate method to fulfill these requirements, the application of the method in view of its validation, the evaluation of its validation characteristics, the application of the method in routine analysis and the design of a suitable quality control scheme and finally the detailed documentation of the method.

The above sequence is known as "Analytical Quality Control" and consists one of the most important sectors in laboratory accreditation.



Επικύρωση μεθόδων αναλύσεων του τομέα κρέας και προϊόντα από κρέας

Ελένη Σταθουδάκη

Χημικός Μηχανικός της Β' Χημικής Υπηρεσίας Θεσ/νίκης

Πετρούλα Ταραντίλη

Χημικός της Β' Χημικής Υπηρεσίας Θεσ/νίκης

Στο εργαστήριο της Β' Χημικής Υπηρεσίας Θεσσαλονίκης επικυρώθηκαν οι μέθοδοι προσδιορισμού **υγρασίας, τέφρας, αζώτου, χλωριούχων, ολικού λίπους, νατρίου και L(-)υδροξυπρολίνης** για το κρέας και τα προϊόντα από κρέας.

Ο προσδιορισμός των ανωτέρω παραμέτρων έχει στόχο τον ποιοτικό έλεγχο του κρέατος και των προϊόντων από κρέας, αφ' ενός σύμφωνα με τις προδιαγραφές του Κ.Τ.Π. και αφ' ετέρου σύμφωνα με το σχετικό Κανονισμό της Ε.Ε. περί χορήγησης οικονομικών ενισχύσεων κατά τις εξαγωγές σε τρίτες χώρες των προϊόντων αυτών.

Ο προσδιορισμός της υγρασίας βασίζεται στην μέθοδο ISO 1442-1973 και στον Κ.Τ.Π., Β' μέρος και γίνεται με ξήρανση του δείγματος στους $103 \pm 2^\circ\text{C}$ μέχρι σταθερού βάρους.

Για την τέφρα, κατάλληλη ποσότητα δείγματος αποτεφρώνεται στους $550 - 600^\circ\text{C}$ μετά από προσθήκη διαλύματος οξεικού μαγνησίου, όπως ορίζεται στην μέθοδο ISO 936-1978, που εφαρμόζεται.

Για την διαμόρφωση της μεθόδου των αζωτούχων χρησιμοποιήθηκαν στοιχεία από την μέθοδο ISO 937-1978 και από το εγχειρίδιο της VELD Scientifika UDK 130A.

Ο προσδιορισμός γίνεται κατά Kjeldahl και βασίζεται στην καταλυτική οξειδωση του δείγματος, στην απόσταση της εκλυόμενης αμμωνίας σε περίσσεια βορικού οξέος και στην ογκομέτρησή της με γνωστή συγκέντρωση υδροχλωρικού οξέος.

Για τα χλωριούχα εφαρμόζεται η μέθοδος Volhard που περιγράφεται στον AOAC official methods of analysis 14th Ed. (1984) 24.010 και 18.035 και βασίζεται στην ογκομέτρηση του διαλύματος των χλωριούχων με διάλυμα θειοκυανιούχου αμμωνίου μετά από προσθήκη γνωστής ποσότητας διαλύματος νιτρικού αργύρου.

Ο προσδιορισμός του συνολικού λίπους βασίζεται στην μέθοδο ISO 1443 -1973 και περιλαμβάνει την όξινη κατεργασία του δείγματος, την ξήρανση και την εκχύλιση του λίπους με κατάλληλο διαλύτη (μέθοδος Soxhlet).

Για το νάτριο χρησιμοποιήθηκαν τα βιβλιογραφικά δεδομένα από τον AOAC (1984) 18.038 και 18.039 και από το εγχειρίδιο της Perkin Elmer: Analytical methods for AAS. Το δείγμα υποβάλλεται σε υγρή πέψη και στο διαυγές διάλυμα που προκύπτει προσδιορίζεται το νάτριο με φλογοφωτομετρία.

Για τον προσδιορισμό της L(-)υδροξυπρολίνης εφαρμόζεται η μέθοδος ISO 3496-1978, που περιλαμβάνει την όξινη υδρόλυση του δείγματος και την οξειδωση της προλίνης προς ένα έγχρωμο προϊόν που μετρείται φασματοφωτομετρικά έναντι προτύπων διαλυμάτων προλίνης.

Για την επικύρωση των παραπάνω αναλυτικών μεθόδων χρησιμοποιήθηκε ένα υλικό αναφοράς με τον κωδικό T0 118 (canned meat) από τον FAPAS. Το υπόστρωμα του T0 118 προσομοιάζει με τα υποστρώματα των δειγμάτων κρέατος και προϊόντων του που αναλύονται.

Πρέπει να αναφερθεί ότι το T0 118 είχε εξετασθεί από το εργαστήριό μας στα πλαίσια της επιτυχημένης συμμετοχής του στη διεργαστηριακή εξέταση ελέγχου ικανότητας Series I : Round 18 του FAPAS, (Ιούλιος 1997), με αποτέλεσμα να διαθέτουμε τη στατιστική αποτίμηση και επεξεργασία των μέσων πειραματικών τιμών όλων των εργαστηρίων που συμμετείχαν.

Το πακέτο επικύρωσης «validation package» περιλαμβάνει:

- εκτίμηση της ορθότητας κάθε μεθόδου
- εκτίμηση της επαναληψιμότητας κάθε μεθόδου και
- αξιολόγηση της καταλληλότητας της καμπύλης αναφοράς για την L(-)υδροξυπρολίνη.

Για να είναι αποδεκτή η ορθότητα κάθε μεθόδου πρέπει να ικανοποιείται η σχέση:

$$|\bar{x} - \mu| < 2 \cdot SD$$

όπου:

\bar{x} = η μέση πειραματική τιμή των εκτελούμενων μετρήσεων μας με χρήση του T0 118

μ = η αποδεκτή μέση τιμή της υπό εξέταση παραμέτρου, για το υλικό αναφοράς T0 118

SD = η τυπική απόκλιση των μέσων όρων των μετρήσεων όλων των εργαστηρίων που συμμετείχαν στην προαναφερόμενη διεργαστηριακή εξέταση και είχαν z-score μεταξύ -2 και +2 ($-2 \leq Z \leq 2$).

Επειδή η τιμή SD δεν ήταν άμεσα διαθέσιμη υπολογίστηκε για κάθε παράμετρο από την εξίσωση

$$SD = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{N'} (x_i' - \mu)^2}{(N' - 1)}}$$

όπου:

x_i' = οι μέσες πειραματικές τιμές όλων των εργαστηρίων με $-2 \leq Z \leq 2$

N' = ο αντίστοιχος αριθμός εργαστηρίων με $-2 \leq Z \leq 2$.

Για την αποτίμηση της επαναληψιμότητας κάθε μεθόδου υπολογίζεται η τυπική απόκλιση (s) των μετρήσεων μας με χρήση του T0 118, από τη σχέση

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2}{(N - 1)}}$$

όπου:

x_i = οι πειραματικές τιμές μας

\bar{x} = η μέση πειραματική τιμή των μετρήσεων μας

N = ο αριθμός των εκτελούμενων μετρήσεων μας ($N > 6$)

Η επαναληψιμότητα (r) προσδιορίζεται από τη σχέση:

$$r = 2.8 \cdot s$$

και η σχετική τυπική απόκλιση υπό συνθήκες επαναληψιμότητας (RSD) από την εξίσωση:

$$RSD = \frac{100 \cdot s}{\bar{x}}$$

Η ευρισκόμενη τιμή RSD συγκρίνεται με την αντίστοιχη μέγιστη RSD, για την περιοχή των συγκεντρώσεων που κάθε φορά βρισκόμαστε (SOP 00 00 07 001 παρ.8.5: Επικύρωση μεθόδων).

Στον Πίνακα που ακολουθεί παρατίθενται συνοπτικά τα αποτελέσματα της επικύρωσης όσον αφορά την ορθότητα και την επαναληψιμότητα κάθε μεθόδου.

a/a	Παράμετρος	μ (%)	\bar{x} (%)	$ \bar{x} - \mu $ (%)	$2 \cdot SD$ (%)	RSD (%)	RSD μέγιστο (%)
1	Υγρασία	80.9	80.9	0	0.6	0.05	2
2	Τέφρα	3.1	3.13	0.03	0.12	1.3	2.5
3	Αζωτο	1.50	1.53	0.03	0.04	1.4	2.5
4	Χλωριούχα	1.60	1.59	0.01	0.10	0.6	2.5
5	Νάτριο	1.1	1.11	0.01	0.08	1.8	2.5
6	Ολικό λίπος	6.5	6.51	0.01	0.44	1.5	2.5
7	L-υδροξυπρολίνη	0.067	0.058	0.009	0.02	4	5

Όπως προαναφέρθηκε η επικύρωση της μεθόδου προσδιορισμού της προλίνης περιελάμβανε και την αξιολόγηση της καμπύλης αναφοράς. Για την χάραξη της καμπύλης αναφοράς χρησιμοποιήθηκαν πέντε σημεία. Η συνάρτηση της μετρούμενης απορρόφησης και των συγκεντρώσεων των προτύπων διαλυμάτων της προλίνης είναι γραμμική και ορίζεται από την εξίσωση $Y=A \cdot X+B$ όπου:

Y = η μετρούμενη απορρόφηση

$A=0.2235$

$B=0.004$ και

X = η αντίστοιχη συγκέντρωση του διαλύματος της προλίνης (μg/ml).

Ο συντελεστής συσχέτισης (r) είναι ίσος με 0.9997, η τυπική απόκλιση της κλίσης A είναι $S_A=0.0030$ και η τυπική απόκλιση της τεταγμένης επί την αρχή B είναι $S_B=0.0037$.

Εσωτερικός έλεγχος ποιότητας

Για τη συστηματική παρακολούθηση της αξιοπιστίας των παραπάνω μεθόδων, ώστε να εξασφαλίζεται η ορθότητα και η επαναληψιμότητα των πειραματικών δεδομένων μας καταστρώθηκε μια διαδικασία εσωτερικού ελέγχου ποιότητας, λαμβάνοντας υπ' όψη τα παρακάτω:

- 1) Διαθέτουμε περίσσεια από το υλικό αναφοράς **TO 118 (FAPAS) CANNED MEAT** που χρησιμοποιήθηκε για την επικύρωση των παραπάνω μεθόδων.
- 2) Η κατασκευή **διαγραμμάτων ελέγχου ποιότητας** (SOP 00 00 06 004: Εσωτερικός Έλεγχος Ποιότητας) είναι άνευ πρακτικής αξίας στην περίπτωση μας γιατί τα μεν \bar{x} -διαγράμματα αποκλείονται εξαιτίας της ευαλλοίωτης φύσης των δειγμάτων (υλικών αναφορών και αγνώστων δειγμάτων) τα δε R -διαγράμματα παρέχουν πληροφορίες μόνο για την επαναληψιμότητα της μεθόδου και όχι για την ορθότητά της (εντοπίζουν την ύπαρξη τυχαίων σφαλμάτων και όχι και συστηματικών, ενώ η κατασκευή τους είναι επίπονη και χρονοβόρα γιατί 15-20 άγνωστα δείγματα αναλύονται εις διπλούν για κάθε παράμετρο).
- 3) Ο χρόνος διενέργειας εσωτερικού ελέγχου ποιότητας για τις μεθόδους που προαναφέρθηκαν προσδιορίζεται από το ετήσιο εργαστηριακό πρόγραμμα ελέγχου δειγμάτων της Υπηρεσίας μας και από την εισροή δειγμάτων κρέατος και προϊόντων αυτού στο εργαστήριο.

Βασίζομενοι στα 1, 2 και 3, ο εσωτερικός έλεγχος της ορθότητας κάθε μεθόδου θα επιτυγχάνεται προσδιορίζοντας κάθε παράμετρο (υγρασία, τέφρα κ.λ.π.) στο δείγμα του υλικού αναφοράς που εξετάζουμε παράλληλα με τα τρέχοντα δείγματα ρουτίνας. Για να είναι αποδεκτή η τιμή που προσδιορίσαμε πρέπει να απέχει από την αντίστοιχη μέση τιμή \bar{x} της υπό εξέταση παραμέτρου $\pm 2 \cdot s$, όπου s η αντίστοιχη τυπική απόκλιση των πειραματικών τιμών μας και η οποία είναι γνωστή από τη διαδικασία επικύρωσης των μεθόδων που προηγήθηκε (SOP 00 00 6003: Διαχείριση, φύλαξη και χρήση των πιστοποιημένων υλικών αναφορών).

Για τον εσωτερικό έλεγχο της επαναληψιμότητας κάθε μεθόδου θα ακολουθείται η διαδικασία που περιγράφεται στο SOP 00 00 6004 παρ.6: Εσωτερικός Έλεγχος Ποιότητας, χρήση πολλαπλών αναλύσε-

ων του ίδιου δείγματος (replicates), δεδομένου ότι γνωρίζουμε την επαναληψιμότητα κάθε μεθόδου.

Σε επόμενο στάδιο, στόχος του εργαστηρίου είναι να επικυρωθούν μέθοδοι προσδιορισμού και άλλων παραμέτρων με σκοπό την διαπίστευση στο σύνολο των αναλύσεων του τομέα κρέας και προϊόντα από κρέας.

PROCEDURE FOR THE VALIDATION OF SEVEN METHODS FOR MEAT AND MEAT PRODUCTS

Helen Stathoudaki, Chemical Engineer of the GCSL, B' Division of Thessaloniki, GREECE

Petroula Tarandili, GCSL, B' Division of Thessaloniki, Thessaloniki, GREECE

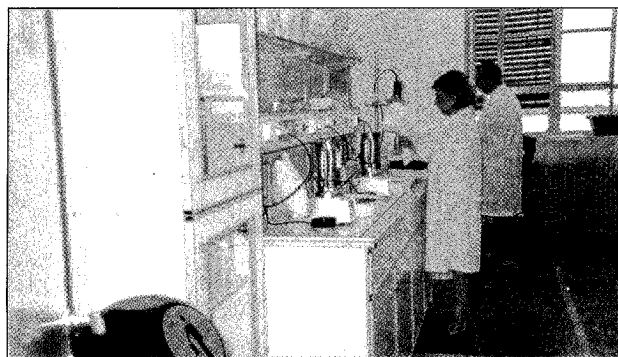
Methods for the determination of moisture, ash, nitrogen, chloride, total fat, sodium and L-hydroxyproline in meat and meat products were validated in the laboratory of GCSL, B' Division of Thessaloniki. These methods are used by the laboratory for the control of the internal market, as well as in the framework of the Common Agricultural Policy.

The methods validated are:

- Moisture: Method based on ISO 1442-1973 and on the Greek Food Law, Part B. Drying at $103 \pm 2^\circ\text{C}$ until constant weight.
- Ash: ISO 936-1978. Ashing at $550-600^\circ\text{C}$ after addition of a magnesium acetate solution.
- Nitrogen: Method based on ISO 937-1978 and on the VELP-Scientifica UDK 130A Manual. Determination according to Kjeldhal.
- Chloride: Method of AOAC, Official Methods of analysis, 14th Edition (1984) 24.010-18.035. Volumetric method according to Volhard.
- Total fat: ISO 1443-1973. Acid treatment of the samples, drying and extraction with a suitable solvent.
- Sodium: Method of AOAC, Official Methods of analysis, 14th Edition (1984), 18.038+18.039 and the relative instructions of the instrument's manual. Atomic absorption spectrophotometry.
- L-hydroxyproline: ISO 3496-1978. Spectrophotometric method

Validation of the methods was carried out by using a suitable reference material with a matrix similar to that of routine samples. The validation package for all methods included the evaluation of trueness and precision, while in the case of L-hydroxyproline, linearity and the characteristics of the calibration curve were also examined.

The design of the internal quality control scheme applied is also discussed.



Επαλήθευση μεθόδων προτύπων I.D.F.

Λαμπρινή Καραγιάννη, Χαριτωμένη Αντώνογλου, Στέφανος Χατζηγεωργίου
Γενικό Χημείο του Κράτους, Α' Χημική Υπηρεσία Πειραιώς

Σύμφωνα με το Εγχειρίδιο Ποιότητας (Μέρος Α, Κεφ. 7Α) απαιτείται η χρήση μεθόδων **επικυρωμένων** για την εκτέλεση δοκιμών στα εργαστήρια του Γ.Χ.Κ, ώστε να διασφαλίζεται η αξιοπιστία των αποτελεσμάτων.

Οι μέθοδοι όμως των παρακάτω κατηγοριών:

- μέθοδοι που έχουν θεσπιστεί από την Κοινοτική ή Εθνική νομοθεσία
- οι μέθοδοι-πρότυπα Ευρωπαϊκών ή Διεθνών Οργανισμών Τυποποίησης (CEN, ISO κ.λ.π)
- οι μέθοδοι Ευρωπαϊκών ή Διεθνών Επιστημονικών Οργανισμών (JUPAC, AOAC, IDF κ.λ.π)
- μέθοδοι που έχουν θεσπιστεί από την Εθνική νομοθεσία άλλων χωρών
- μέθοδοι που έχουν καταστεί πρότυπα Εθνικών Οργανισμών Τυποποίησης

δεν χρειάζονται πλήρη επικύρωση, εφόσον τα στοιχεία της επικύρωσής τους είναι προσδιορισμένα και καταγεγραμμένα μετά από σχετική διεργαστηριακή εξέταση.

Στις παραπάνω περιπτώσεις απαιτείται η εκ μέρους του εργαστηρίου απόδειξη της ικανότητάς του να εκτελεί σωστά τη μέθοδο σύμφωνα με την καταγεγραμμένη πορεία και να παράγει αναλυτικά αποτελέσματα σύμφωνα με τα στοιχεία επικύρωσης που παρέχει το κείμενο μεθόδου.

Δεν απαιτείται επομένως πλήρης επικύρωση της μεθόδου και γι' αυτό αναφερόμαστε σε **επαλήθευση (Verification)** της μεθόδου.

Η διαδικασία της επαλήθευσης περιλαμβάνει οπωσδήποτε εκτίμηση της **πιστότητας (precision)** της μεθόδου.

Η πιστότητα (precision) μιας σειράς μετρήσεων εκφράζει τη συμφωνία των αποτελεσμάτων μεταξύ τους, δείχνει δηλαδή πόσο κοντά είναι τα αποτελέσματα μεταξύ τους.

Υποσύνολο του όρου precision μεθόδου είναι:

Η **επαναληψιμότητα (repeatability)** της μεθόδου, δηλαδή η διασπορά των μετρήσεων υπό συνθήκες «ενδοεργαστηριακής» επαναληψιμότητας δηλαδή με ην ίδια μέθοδο, στο ίδιο δείγμα, στο ίδιο εργαστήριο, από τον ίδιο αναλυτή, με ίδιες συσκευές, την ίδια μέρα ή σε σύντομο χρονικό διάστημα.

Η **ενδοεργαστηριακή αναπαραγωγιμότητα (intralaboratory reproducibility)** της μεθόδου, δηλαδή η διασπορά των μετρήσεων υπό συνθήκες «ενδοεργαστηριακής» αναπαραγωγιμότητας, δηλαδή με την ίδια μέθοδο, στο ίδιο δείγμα, στο ίδιο εργαστήριο, από τον ίδιο ή διαφορετικούς αναλυτές, με την ίδια ή διαφορετικές συσκευές, στο ίδιο ή σε διαφορετικό χρονικό διάστημα.

Η **διεργαστηριακή αναπαραγωγιμότητα (interlaboratory reproducibility)** ή **reproducibility** της μεθόδου, δηλαδή η διασπορά των μετρήσεων υπό συνθήκες «διεργαστηριακής» αναπαραγωγιμότητας, δηλαδή με την ίδια μέθοδο, στο ίδιο δείγμα, σε διαφορετικά εργαστήρια υπό διαφορετικές συνθήκες (διαφορετικός αναλυτής, διαφορετικές συσκευές, στο ίδιο ή σε διαφορετικό χρονικό διάστημα.

ΕΠΙΛΟΓΗ ΜΕΘΟΔΩΝ

Οι μέθοδοι που επελέγησαν από το εργαστήριο μας για επαλήθευση είναι μέθοδοι αναφοράς και καθορίζονται στον πίνακα μεθόδων που πρέπει να χρησιμοποιούνται για την ανάλυση και ποιοτική αξιολόγηση του γάλακτος και των γαλακτοκομικών προϊόντων στο πλαίσιο της κοινής οργάνωσης αγοράς που καθορίζονται στον πίνακα μεθόδων του Καν.ΕΚ 1854/96, όπως τροποποιήθηκε με τον Καν. ΕΚ 745/98.

ΠΙΝΑΚΑΣ 2 Μέθοδοι αναφοράς για την ανάλυση τυριών (Καν.ΕΚ 745/98)

ΠΡΟΪΟΝ	ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΣ	ΜΕΘΟΔΟΣ ΑΝΑΦΟΡΑΣ
τυρί και τυρόπηγμα	Λιπαρά	Πρότυπο IDF 5B: 1986
	Ξηρά ουσία	Πρότυπο IDF 4A: 1982
	Ξηρά ουσία (Ricotta)	Πρότυπο IDF 581970
	Χλωριούχο νάτριο	Πρότυπο IDF 88A: 1988
	Λακτόζη	Πρότυπο IDF 79B: 1991
	Αγελαδινό γάλα	Κανονισμός ΕΚ 1081/96

ΠΙΝΑΚΑΣ 1 Επαναληψιμότητα, ενδοεργαστηριακή αναπαραγωγιμότητα και διεργαστηριακή αναπαραγωγιμότητα μεθόδου.

	Επαναληψιμότητα	Ενδοεργαστηριακή αναπαραγωγιμότητα (interlaboratory reproducibility)	Διεργαστηριακή αναπαραγωγιμότητα (intralaboratory reproducibility)
Δείγμα	ίδιο	ίδιο	ίδιο
Αναλυτής	ίδιος	Ενα τουλάχιστον διαφορετικό	Διαφορετικός
Συσκευή	ίδια		Διαφορετική
Ημερομηνία			Ίδια ή διαφορετική
Εργαστήριο	ίδιο	ίδιο	Διαφορετικό

ΕΠΑΛΗΘΕΥΣΗ ΜΕΘΟΔΩΝ ΠΡΟΤΥΠΩΝ IDF 4A & IDF 5B.

ΠΡΟΪΟΝ: ΤΥΡΙΑ
ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΣ: ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΟΛΙΚΩΝ
ΣΤΕΡΕΩΝ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ
ΜΕΘΟΔΟΣ: IDF STANDARD 4A: 1982

ΠΡΟΪΟΝ: ΤΥΡΙΑ
ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΣ: ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΟΛΙΚΟΥ ΛΙΠΟΥΣ
ΜΕΘΟΔΟΣ: IDF STANDARD 5B: 1986

ΠΟΡΕΙΑ

1. Εξετάστηκαν 10 σειρές δειγμάτων διαφόρων τυρών εις διπλούν από δύο αναλυτές.

Εκτελέστηκαν οι αναλύσεις σύμφωνα με την κατεγεγραμμένη πορεία των προτύπων μεθόδων IDF. (4A: 1982 και 5B: 1986)

Συμπληρώθηκαν για κάθε αναλυθέν δείγμα τα σχετικά έντυπα επαλήθευσης μεθόδου όπου αναγράφονται όλες οι ζυγίσεις, τα αποτελέσματα και τα στοιχεία επαναληψιμότητας - ενδοεργαστηριακής αναπαραγωγιμότητας.

ΕΛΕΓΧΟΣ των στοιχείων επαλήθευσης που αναγράφονται στη μέθοδο αναφοράς.

Τα στοιχεία του πίνακα 4 μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την δημιουργία του διαγράμματος R (εύρους) στον εσωτερικό έλεγχο ποιότητας της μεθόδου.

2. Αναλύθηκαν 3 δείγματα διαφορετικών τυριών εις διπλούν από ένα αναλυτή, τρεις φορές (σε τρεις διαφορετικές ημέρες), κάτω από συνθήκες επαναληψιμότητας ακολουθώντας τις προτύπους μεθόδους IDF.

Τα αποτελέσματα και τα στοιχεία precision παρουσιάζονται στον πίνακα 5.

Για κάθε υλικό οι υπολογισμοί έγιναν ως εξής:

Τυπική απόκλιση $s_r = \sqrt{\sum(x_1 - x_2)^2} / 2 \times 3$

Σχετική τυπική απόκλιση RSD_r = 100 X s_r / m

Επαναληψιμότητα ενδοεργαστηριακή $r = 2.8 \times s_r$

Σχετική επαναληψιμότητα ενδοεργαστηριακή: $r_{rel} = 2.8 \times RSD_r$

ΣΧΟΛΙΑ

Τα μέχρι στιγμής αποτελέσματα δείχνουν ότι το εργαστήριο εκτελεί σωστά την μέθοδο και αναπαράγει αναλυτικά αποτελέσματα σύμφωνα με τα στοιχεία της επικύρωσης που παρέχει το κείμενο των μεθόδων προτύπων 4A και 5B της IDF.

Για την πλήρη επαλήθευση των παραπάνω μεθόδων απαιτείται και ο έλεγχος της διεργαστηριακής αναπαραγωγιμότητας.

Πίνακας 3 Στοιχεία precision μεθόδων προτύπων IDF (καταγεγραμμένα στο πρότυπο)

	Repeatability	Reproducibility
	Η διαφορά δύο αποτελεσμάτων του ίδιου δείγματος από έναν αναλυτή σε σύντομο χρονικό διάστημα πρέπει να είναι μικρότερη από:	Η διαφορά δύο αποτελεσμάτων του ίδιου δείγματος μεταξύ δύο αναλυτών σε διαφορετικά εργαστήρια πρέπει να είναι μικρότερη από:
ΜΕΘΟΔΟΣ		
IDF 4A: 1982	0.10 gr λίπους / 100 gr δείγματος	0.20 gr στερεών / 100gr δείγματος
IDF 5B: 1986	0.20 gr λίπους / 100 gr δείγματος	0.30 gr στερεών / 100gr δείγματος

Πίνακας 4 Στοιχεία της επαναληψιμότητας και ενδοεργαστηριακής αναπαραγωγιμότητας των αποτελεσμάτων αναλύσεως των δειγμάτων του εργαστηρίου σύμφωνα με τις μεθόδους αναφοράς.

α/α	Δείγμα τυριού	ΜΕΘΟΔΟΣ 4A IDF			ΜΕΘΟΔΟΣ 5B IDF		
		ΑΝΑΛΥΤΗΣ	ΑΝΑΛΥΤΗΣ	$X_A - X_B$	ΑΝΑΛΥΤΗΣ	ΑΝΑΛΥΤΗΣ	$X_A - X_B$
		A	B		A	B	
		$X_1 - X_2$	$X_1 - X_2$		$X_1 - X_2$	$X_1 - X_2$	
1	φέτα	0.12	0.01	0.14	0.17	0.19	0.07
2	κασέρι	0.05	0.02	0.29	0.10	0.12	0.03
3	φέτα	0.13	0.19	0.14	0.10	0.04	0.36
4	κασέρι	0.05	0.02	0.15	0.10	0.12	0.03
5	φέτα	0.13	0.18	0.56	0.27	0.22	0.23
6	κεφαλοτύρι	0.02	0.06	0.02	0.05	0.02	0.35
7	κασέρι	0.12	0.14	0.08	0.06	0.02	0.13
8	φέτα	0.09	0.06	0.05	0.07	0.05	0.02
9	κασέρι	0.08	0.04	0.18	0.15	0.15	0.17
10	φέτα	0.05	0.05	0.10	0.02	0.09	0.03

ΠΙΝΑΚΑΣ 5 Φύλλο δεδομένων για την ενδοεργαστηριακή επαναληψιμότητα
Όνομα μεθόδου: Ποσοτικός προσδιορισμός λίπους σε τυριά I.D.F 5B : 1986

Ημέρα	x_1	x_2	x (μ. όρος των x_1, x_2)	$x_1 - x_2$	m (μέση τιμή)	s_r	RSD_r (%)	r	r_{rel} (%)	
Δείγμα 1	1	32.06	32.03	32.04	0.03	32.05	0.016	0.048	0.04	0.136
	2	32.03	32.04	32.04	0.01					
	3	32.05	32.07	32.06	0.02					
Δείγμα 2	1	29.41	29.30	29.35	0.11	29.36	0.086	0.293	0.24	0.820
	2	29.30	29.40	29.35	0.10					
	3	29.45	29.30	29.40	0.15					
Δείγμα 3	1	30.82	30.89	30.85	0.07	30.83	0.033	0.107	0.09	0.299
	2	30.86	30.83	30.84	0.03					
	3	30.80	30.83	30.81	0.03					

VERIFICATION OF STANDARD METHODS OF I.D.F

Karayanni Lambrini, Antonoglou Charitomeni and Hadjigeorgiou Stephanos,

Chemists of the General Chemical State Laboratory, A' Division of Pireas, Pireas, GREECE

Choice of method

The methods selected for validation in our laboratory are defined in the list of reference methods (for dairy products) of the regulation (EC) No 745/98.

1.-Fat content in cheese (IDF Standard 5B : 1986)

2.-Solid content in cheese (IDF Standard 4A : 1982)

The precision data of these standardized test methods have been determined and such data are included in the text of the method. The repeatability (agreement between results in the same laboratory for the same sample) and the reproducibility (agreement between different laboratories) are mentioned.

In this case the complete validation of the methods isn't required, but only the verification of them. It is requirable the evaluation of the precision.

Procedure-Results

-- 10 sample-materials were analyzed in duplicate by two operators following the methods exactly.

The differences between two single test results detected below the value of r (of the method).

These results are useful for the R control charts .

-- 3 different samples of cheese were analyzed in duplicate by the same operator three times (three different days) under repeatability conditions.

For each sample the s_r, RSD_r, r and r_{rel} were calculated.



Πορεία επικύρωσης δύο μεθόδων αναλύσεως λιπαρών υλών

Ευγενία Παντιλιέρη

Χημικός, Δ. Χημική Υπηρεσία Αθηνών, Τμήμα Α'



Α) Μέθοδος αεριοχρωματογραφικής ανάλυσης μεθυλεστέρων λιπαρών οξέων. Εφαρμόζεται η μέθοδος του καν. ΕΟΚ 2568/91 Παρ/μα ΧΑ (και του κανονισμού ΕΟΚ 72/77 για την παρασκευή των μεθυλεστέρων λιπαρών οξέων).

Η λιπαρή ύλη διαλύεται σε επτάνιο (ή εξάνιο) και τα τριγλυκερίδια μετατρέπονται σε μεθυλεστέρες μέσω μετεστεροποίησης με μεθανολικό διάλυμα υδροξειδίου του Καλίου. Οι μεθυλεστέρες παραλαμβάνονται στη φάση του επτανίου (ή εξανίου) απ' όπου λαμβάνεται δείγμα για ανάλυση με αεριοχρωματογραφία.

Η μέθοδος εφαρμόστηκε σε αεριοχρωματογράφο Carlo-Erba 5300 Mega Series με:

- Τριχοειδή στήλη από τετηγμένο διοξείδιο του πυριτίου, στατικής φάσης DB-23, εσωτερικής διαμέτρου 0,32mm, μήκους 60m, πάχους επίστρωσης υλικού 0,25μm.
- Σύστημα έκχυσης του δείγματος split 1/50 περίπου
- Πρόγραμμα θερμοκρασίας από 170°C ως 210°C
- Καταγραφέα-Ολοκληρωτή Mega Integrator (Shimatdzu chromatopack CR 3A)

Για την επικύρωση της μεθόδου χρησιμοποιήθηκαν:

- α) πιστοποιημένο υλικό αναφοράς BCR φυτικό έλαιο (CRM 162)
- β) δευτερογενές υλικό αναφοράς (ελαιόλαδο)
- γ) δευτερογενές υλικό αναφοράς (σπορέλαιο/μίγμα αραβοσιτελαίου-σογιελαίου)

Τα δευτερογενή υλικά αναφοράς δημιουργήθηκαν στο εργαστήριο βάσει του πιστοποιημένου υλικού αναφοράς BCR 162 και της τυποποιημένης διαδικασίας λειτουργίας SOP 00 00 06 003 σημείο 4.5. (SOP Διαχείριση, φύλαξη και χρήση των πιστοποιημένων υλικών αναφοράς)

ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΕΠΙΚΥΡΩΣΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

1. Πιστοποιημένο υλικό αναφοράς BCR 162

Αυτό το πιστοποιημένο υλικό αναφοράς συνοδεύεται από πιστοποιητικό όπου αναγράφονται πιστοποιημένες τιμές για 5 μεθυλεστέρες: παλμιτικού, στεατικού, ελαιϊκού, λιγνολαϊκού και λινολενικού οξέος. Το πιστοποιημένο υλικό αναφοράς φυτικού ελαίου BCR 162 εξετάστηκε 8 φορές υπό συνθήκες επαναληψιμότητας (ίδιος αναλυτής, ίδιο όργανο, ίδιες συνθήκες εργασίας). Τα αποτελέσματα καταγράφηκαν και παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα.

Έτσι όπως φαίνεται προέκυψαν στοιχεία για τη πιστότητα (όπως έχει μεταφραστεί το precision) της μεθόδου και συγκεκριμένα οι παράμετροι που καθορίζουν την επαναληψιμότητα καθώς και για την ορθότητα (trueness).

Στην έκθεση που συνοδεύει το υλικό αναφέρεται ότι για να είναι ορθή η αναλυτική διαδικασία και η μετρούμενη στο εργαστήριο μέση τιμή ενός συστατικού να είναι αποδεκτή πρέπει να κυμαίνεται ως εξής:

$$\mu - 2s_D < \bar{x} < \mu + 2s_D$$

όπου μ =πιστοποιημένη τιμή του ίδιου συστατικού και s_D =τυπική απόκλιση των μέσων όρων μετρήσεων όλων των εργαστηρίων που έλαβαν μέρος στη διαδικασία της πιστοποίησης του υλικού. Η τιμή της s_D αναφέρεται στην έκθεση.

2. Εξετάστηκαν επίσης τα δευτερογενή υλικά αναφοράς 1 (ελαιόλαδο) και 2 (σπορέλαιο μίγμα αραβοσιτελαίου-σογιελαίου) 15 φορές υπό συνθήκες επαναληψιμότητας. Τα αποτελέσματα καταγράφηκαν και από την στατιστική επεξεργασία τους προέκυψαν τα εξής:

	1	2	3	4	5	6	7	8
Όνομα μεθυλεστέρα	Συγκέντρωση % μεθυλεστέρα (στο σύνολο των μεθυλεστέρων)							
μυριστικός	0,05	0,05	0,05	0,04	0,05	0,05	0,05	0,05
παλμιτικός	10,61	10,65	10,50	10,53	10,28	10,33	10,29	10,46
παλμιτελαϊκός	0,09	0,09	0,09	0,09	0,08	0,09	0,08	0,09
δεκαεπτανικός	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,07	0,08	0,08
δεκαεπτενικός	0,04	0,04	0,04	0,05	0,04	0,05	0,05	0,04
στεατικός	2,63	2,62	2,63	2,65	2,65	2,68	2,64	2,63
ελαϊκός	23,87	23,78	23,78	23,96	23,84	24,02	23,91	23,85
λιγνολαϊκός	56,69	56,77	56,92	57,17	56,82	57,21	56,66	56,71
λινολενικός cis	4,32	4,31	4,31	4,29	4,30	4,31	4,35	4,30
λινολενικός trans	0,28	0,27	0,30	0,24	0,26	0,25	0,27	0,28
λινολενικός total	4,61	4,58	4,61	4,53	4,56	4,55	4,61	4,58
αραχιδικός	0,32	0,34	0,37	0,32	0,33	0,35	0,34	0,33
εικοσενικός	0,24	0,23	0,25	0,20	0,24	0,22	0,24	0,25
βεγενικός	0,20	0,22	0,21	0,20	0,26	0,23	0,25	0,25
λιγνοκηρικός	0,09	0,11	0,11	0,10	0,12	0,13	0,11	0,11

ΠΙΣΤΟΠΟΙΗΜΕΝΟ ΥΛΙΚΟ ΑΝΑΦΟΡΑΣ BCR 162

Όνομα μεθυλεστέρα	Συγκέντρωση % Μέση τιμή(\bar{x})	Sr	r	RSDr%	πιστοποι -ημένη τιμή (μ)	$\mu-2s_D/\mu+2s_D$	Ορθότητα % $\frac{100*(\bar{x}-\mu)}{\mu}$
μυριστικός	0,05	0,002	0,006	3,96			
παλμιτικός	10,46	0,143	0,399	1,36	10,65	10,09-11,21	-1,78
παλμιτελαϊκός	0,09	0,003	0,008	3,14			
δεκαεπτανικός	0,08	0,001	0,003	1,26			
δεκαεπτενικός	0,04	0,003	0,008	7,13			
στεατικός	2,64	0,018	0,050	0,67	2,87	2,62-3,12	-8,01
ελαϊκός	23,88	0,084	0,235	0,35	24,14	23,36-24,92	-1,08
λινελαϊκός	56,87	0,215	0,601	0,38	56,66	55,14-58,18	+0,37
λινολενικός cis	4,31	0,018	0,050	0,42			
λινολενικός trans	0,27	0,018	0,050	6,67			
λινολενικός total	4,58	0,030	0,084	0,66	4,68	4,06-5,30	-2,14
αραχιδικός	0,34	0,017	0,048	5,08			
εικοσενικός	0,24	0,015	0,043	6,51			
βεχενικός	0,23	0,023	0,066	10,38			
λιγνοκηρικός	0,11	0,011	0,030	9,87			

ΔΕΥΤΕΡΟΓΕΝΕΣ ΥΛΙΚΟ ΑΝΑΦΟΡΑΣ 1

	Συγκέντρωση % Μέση τιμή(\bar{x})	Sr	r	RSDr%
C16:0	10,90	0,146	0,409	1,34
C16:1	0,66	0,012	0,033	1,79
C17:0	0,05	0,004	0,012	8,17
C17:1	0,09	0,000	0,000	0,00
C18:0	2,52	0,012	0,033	0,46
C18:1	77,87	0,155	0,433	0,20
C18:2 cis	6,40	0,038	0,105	0,59
C18:3 cis	0,56	0,009	0,024	1,55
C20:0	0,42	0,011	0,032	2,74
C20:1	0,26	0,007	0,020	2,74
C22:0	0,14	0,006	0,017	4,22
C24:0	0,05	0,003	0,008	5,94

ΔΕΥΤΕΡΟΓΕΝΕΣ ΥΛΙΚΟ ΑΝΑΦΟΡΑΣ 2

	Συγκέντρωση % Μέση τιμή(\bar{x})	Sr	r	RSDr%
C16:0	11,26	0,314	0,878	2,78
C18:0	2,99	0,051	0,144	1,72
C18:1	23,08	0,135	0,379	0,59
C18:2 cis	56,53	0,109	0,306	0,19
C18:2 trans	0,28	0,006	0,016	2,02
C18:2 total	56,80	0,104	0,291	0,18
C18:3 cis	4,56	0,049	0,137	1,08
C18:3 trans	0,42	0,039	0,110	9,31
C18:3 total	4,98	0,077	0,216	1,56
C20:0	0,33	0,024	0,066	7,21
C20:1	0,18	0,009	0,027	5,17
C22:0	0,30	0,033	0,094	11,26
C24:0	0,13	0,011	0,030	8,18

Για την επικύρωση θα ακρούσαν και 6 μετρήσεις από κάθε υλικό, όμως τα δευτερογενή υλικά αναφοράς εξετάστηκαν 15 φορές το κάθε ένα για να κατασκευασθούν τα αντίστοιχα χ-διαγράμματα ελέγχου ποιότητας μέσου όρου (QC Charts), που κατασκευάστηκαν σύμφωνα με την τυποποιημένη διαδικασία λειτουργίας SOP 00 00 06 004(SOP: εσωτερικός έλεγχος ποιότητας σημείο 8.1.1) και χρησιμοποιούνται στον εσωτερικό έλεγχο ποιότητας. Η παραγωγή των δευ-

τερογενών υλικών αναφοράς υπαγορεύεται από την ανάγκη χρήσης τέτοιων υλικών στον καθημερινό έλεγχο ρουτίνας, όπου δεν είναι δυνατόν να χρησιμοποιούνται τα πιστοποιημένα υλικά λόγω του υψηλού τους κόστους.

Ενδεικτικά επισυνάπτουμε ένα τέτοιο \bar{x} -διάγραμμα ελέγχου ποιότητας (QC Chart) μέσου όρου για το ελαϊκό, που προέκυψε από την εξέταση του δευτερογενούς υλικού αναφοράς 1.

Τα όρια προειδοποίησης ($\bar{x} \pm 2S$) δεν πρέπει να υπερβαίνονται σε συχνότητα μεγαλύτερη του 5%, δηλαδή το πολύ 1 στα 20 δείγματα μπορεί να περνάει το όριο ανοχής όταν το σύστημα είναι υπό έλεγχο.

Τα όρια δράσης ($\bar{x} \pm 3S$) δεν πρέπει να υπερβαίνονται καθόλου. Έστω και ένα αποτέλεσμα αν βρίσκεται εκτός των ορίων δράσης, η αναλυτική διαδικασία θεωρείται εκτός ελέγχου.

Αν συντρέχει κάποιος εκ των ανωτέρω αναφερθέντων λόγων και η αναλυτική διαδικασία θεωρείται εκτός ελέγχου, προβαίνουμε σε διορθωτικές ενέργειες (βλέπε SOP 00 00 06 004 σημείο 8.1.).

4. Επικύρωση συστήματος

Δείγμα μεθυλεστέρων εξετάστηκε 6 φορές (δηλαδή 6 ενέσεις στον αεριοχρωματογράφο από το ίδιο δείγμα), τα αποτελέσματα καταγράφηκαν και εξήχθηκαν στοιχεία ως προς την επαναληψιμότητα της απόκρισης (συγκέντρωσης κάθε συστατικού) αλλά και των χρόνων κατακράτησης των κορυφών.

	Όνομα μεθυλεστέρα	Συγκέντρωση Μέση τιμή(\bar{x}) %	Sr	r	RSDr%
C14:0	μυριστικός	0,05	0,003	0,007	4,88
C16:0	παλμιτικός	10,62	0,297	0,832	2,80
C16:1	παλμιτελαϊκός	0,08	0,004	0,011	4,86
C17:0	δεκαεπτανικός	0,08	0,003	0,007	3,10
C17:1	δεκαεπτενικός	0,040	0,002	0,007	6,08
C18:0	στεατικός	2,71	0,020	0,056	0,74
C18:1	ελαϊκός	24,23	0,108	0,302	0,45
C18:2 total	λινελαϊκός	56,49	0,168	0,472	0,30
C18:3 trans	λινολενικός trans	0,25	0,017	0,048	6,71
C18:3 cis	λινολενικός cis	4,17	0,038	0,107	0,92
C20:0	αραχιδικός	0,34	0,019	0,054	5,72
C20:1	εικοσενικός	0,24	0,027	0,074	11,13
C22:0	βεχενικός	0,24	0,041	0,114	17,09
C24:0	λιγνοκηρικός	0,11	0,011	0,031	9,59

Χρόνοι κατακράτησης

	Όνομα μεθυλεστέρα	Μέση τιμή	Sr	r	RSDR%
C14:0	μυριστικός	6,917	0,085	0,238	1,23
C16:0	παλμιτικός	9,614	0,076	0,211	0,79
C16:1	παλμιτελαϊκός	10,090	0,067	0,188	0,66
C17:0	δεκαεπτανικός	11,137	0,077	0,215	0,69
C17:1	δεκαεπτενικός	11,668	0,081	0,228	0,70
C18:0	στεατικός	13,068	0,076	0,214	0,59
C18:1	ελαϊκός	13,742	0,070	0,197	0,51
C18:2	λινελαϊκός	15,033	0,068	0,190	0,45
C18:3 trans	λινολενικός trans	15,783	0,078	0,218	0,49
C18:3 cis	λινολενικός cis	16,419	0,076	0,215	0,47
C20:0	αραχιδικός	18,039	0,085	0,237	0,47
C20:1	εικοσενικός	18,911	0,087	0,244	0,46
C22:0	βεχενικός	24,284	0,067	0,187	0,28
C24:0	λιγνοκηρικός	31,706	0,071	0,198	0,22

Τα στοιχεία που προαναφέραμε εξήχθησαν το Μάιο/Ιούνιο του 1997. Επειδή αργότερα ο αεροχρωματογράφος παρουσίασε προβλήματα (η αναλυτική διαδικασία βγήκε εκτός ελέγχου), χρειάστηκε να γίνουν διορθωτικές ενέργειες και συγκεκριμένα αλλαγές στις συνθήκες λειτουργίας του (αφαίρεση make-up, υψηλότερες τιμές θερμοκρασίας στον ανιχνευτή και την είσοδο και σύνδεση με ηλ.υπολογιστή για την επεξεργασία των αποτελεσμάτων). Γι' αυτό προχωρούμε σε επανεπικύρωση της μεθόδου.

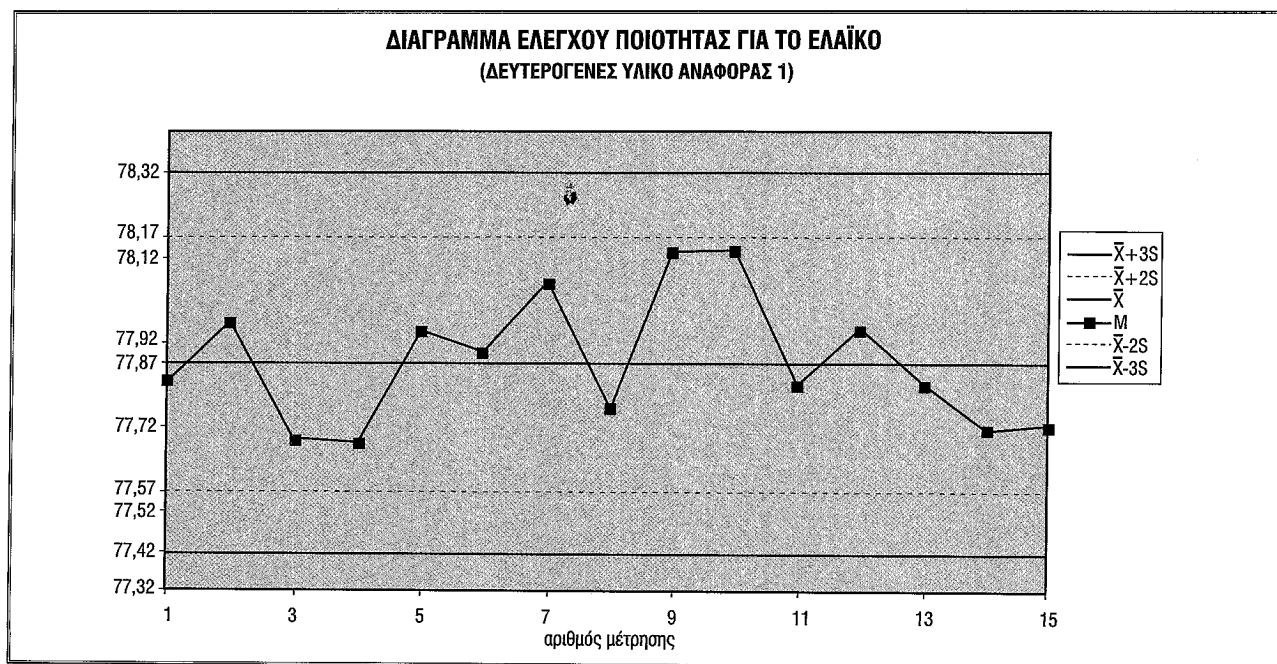
Το πιστοποιημένο υλικό αναφοράς BCR 162 εξετάστηκε πάλι επανειλημμένα (7 φορές), καταγράφηκαν τα αποτελέσματα των μετρήσεων και εξήχθησαν στοιχεία επαναληψιμότητας και ορθότητας, όπως φαίνονται στον πίνακα

Συγκρίνοντας με την προηγούμενη εξέταση του BCR φαίνονται οι ορθότητες σημαντικά βελτιωμένες (κυρίως για το στεατικό που είχαμε την μεγαλύτερη απόκλιση από την πιστοποιημένη τιμή).

Εκτός από το πιστοποιημένο υλικό αναφοράς BCR 162, εξετάζεται και το πιστοποιημένο υλικό αναφοράς BCR 163 (βόειο-χοίρειο λί-

ΠΙΣΤΟΠΟΙΗΜΕΝΟ ΥΛΙΚΟ ΑΝΑΦΟΡΑΣ BCR 162 (ΕΠΑΝΕΠΙΚΥΡΩΣΗ)

	Όνομα μεθυλεστέρα	Συγκέντρωση % Μέση τιμή(\bar{x})	Sr	r	RSDr%	Ορθότητα %
C14:0	μυριστικός	0,06	0,002	0,007	4,24	
C16:0	παλμιτικός	10,60	0,069	0,194	0,65	-0,47
C16:1	παλμιτελαϊκός	0,12	0,003	0,009	2,84	
C17:0	δεκαεπτανικός	0,08	0,001	0,003	1,41	
C17:1	δεκαεπτενικός	0,04	0,001	0,004	3,86	
C18:0	στεατικός	2,76	0,017	0,049	0,63	-3,83
C18:1	ελαϊκός	23,98	0,040	0,113	0,17	-0,66
C18:2	λινελαϊκός	56,96	0,050	0,141	0,09	+0,53
C18:3 trans	λινολενικός trans	0,24	0,005	0,013	1,89	
C18:3 cis	λινολενικός cis	4,36	0,026	0,074	0,60	
C18:3 total	λινολενικός total	4,62	0,038	0,107	0,830	-1,28
C20:0	αραχιδικός	0,32	0,008	0,022	2,43	
C20:1	εικοσενικός	0,20	0,006	0,017	3,16	
C22:0	βεχενικός	0,19	0,014	0,040	7,45	
C24:0	λιγνοκηρικός	0,09	0,010	0,028	10,50	



πος) που έχει πιστοποιημένες τιμές συγκέντρωσης (% στο σύνολο των μεθυλεστέρων) για 7 μεθυλεστέρες.

Επίσης τα δευτερογενή υλικά εξετάζονται και υπό συνθήκες ενδοεργαστηριακής αναπαραγωγιμότητας (ίδιες συνθήκες, ίδιο όργανο, διαφορετικοί αναλυτές) για εξαγωγή στοιχείων ενδοεργαστηριακής αναπαραγωγιμότητας.

B) Μέθοδος της φασματοφωτομετρικής εξέτασης λιπαρής ύλης στο υπεριώδες. Εφαρμόζεται η μέθοδος του Κανονισμού ΕΟΚ 2568/91, Παράρτημα ΙΧ.

Το υπό εξέταση έλαιο διαλύεται στον απαιτούμενο διαλύτη (ισοοκτάνιο) και μετά προσδιορίζεται η απόσβεση του διαλύματος στα καθοριζόμενα μήκη κύματος αναφορικά προς καθαρό διαλύτη (προσδιορισμός K_{270} , K_{232} , ΔK).

Το χρησιμοποιούμενο φασματοφωτόμετρο είναι Hitachi μοντέλο U-2000.

Εδώ δεν υπάρχει πιστοποιημένο υλικό αναφοράς και δεν μπορεί να υπάρξει λόγω της μεταβολής της τιμής του K_{270} , K_{232} με τη πάροδο του χρόνου.

Για την επικύρωση επιλέχθηκαν 3 δείγματα

- 1) εξαιρετικό παρθένο ελαιόλαδο
- 2) ελαιόλαδο
- 3) πυρηνέλαιο

με διαφορετικά επίπεδα τιμών K_{270} , K_{232} .

Τα ανωτέρω εξετάστηκαν 12 φορές το καθένα (6 φορές για K_{270} και 6 φορές για K_{232}) υπό συνθήκες επαναληψιμότητας και άλλες 12 (6 φορές για K_{270} και 6 φορές για K_{232} υπό συνθήκες ενδοεργαστηριακής αναπαραγωγιμότητας. Όλες οι μετρήσεις καταγράφηκαν και εξήχθησαν στοιχεία επαναληψιμότητας και ενδοεργαστηριακής αναπαραγωγιμότητας. Αυτά φαίνονται στους κάτωθι πίνακες:

ΕΞΑΙΡΕΤΙΚΟ ΠΑΡΘΕΝΟ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟ-ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΗΣ ΕΠΑΝΑΛΗΨΙΜΟΤΗΤΑΣ

	K_{270}	ΔK	K_{232}
Μέση τιμή	0,118	-0,003	1,689
Sr	0,002	0,000	0,009
r	0,005	0,000	0,024
RSDr	1,645	4,124	0,505

ΕΞΑΙΡΕΤΙΚΟ ΠΑΡΘΕΝΟ ΕΛΑΙΟΛΑΔΟ-ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΗΣ ΕΝΔΟΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗΣ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΙΜΟΤΗΤΑΣ

	K_{270}	ΔK	K_{232}
Μέση τιμή	0,118	-0,003	1,697
S_L	0,003	0,001	0,021
R_L	0,008	0,003	0,058
RSD _{RL}	2,362	36,667	1,213

Η τιμή RSD_{RL} δεν αξιολογείται δεδομένου ότι στο παρθένο ελαιόλαδο δεν εμφανίζεται μέγιστο στο φάσμα

ΕΛΑΙΟΛΑΔΟ-ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΕΠΑΝΑΛΗΨΙΜΟΤΗΤΑΣ

	K_{270}	ΔK	K_{232}
Μέση τιμή	0,422	0,035	2,542
Sr	0,005	0,001	0,019
r	0,014	0,004	0,054
RSDr	1,169	3,932	0,758

ΕΛΑΙΟΛΑΔΟ-ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΕΝΔΟΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗΣ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΙΜΟΤΗΤΑΣ

	K_{270}	ΔK	K_{232}
Μέση τιμή	0,409	0,033	2,514
S_L	0,020	0,004	0,059
R_L	0,056	0,012	0,166
RSD _{RL}	4,897	13,565	2,353

ΠΥΡΗΝΕΛΑΙΟ-ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΕΠΑΝΑΛΗΨΙΜΟΤΗΤΑΣ

	K_{270}	ΔK	K_{232}
Μέση τιμή	1,224	0,127	2,755
Sr	0,012	0,001	0,017
r	0,034	0,003	0,048
RSDr	0,983	0,919	0,624

ΠΥΡΗΝΕΛΑΙΟ-ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΕΝΔΟΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗΣ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΙΜΟΤΗΤΑΣ

	K_{270}	ΔK	K_{232}
Μέση τιμή	1,249	0,123	2,797
S_L	0,025	0,005	0,071
R_L	0,071	0,013	0,198
RSD _{RL}	2,017	3,652	2,524

Επίσης 2 δείγματα

- 1) εξαιρετικό παρθένο ελαιόλαδο
- 2) ελαιόλαδο

εξετάζονται ομοίως και για προσδιορισμό K_{270} μετά διέλευση από αλουμίνα για εξαγωγή στοιχείων επαναληψιμότητας.

Το εργαστήριό μας συμμετέχει σε κοινοτικό πρόγραμμα (SMT) για την επικύρωση μεθόδου ISO ακριβώς ίδιας με την εφαρμοζόμενη μέθοδο του καν ΕΟΚ 2568/91 Παρ/μα ΙΧ (ήδη έχουμε αποστείλει τα αποτελέσματα), οπότε τα στοιχεία που θα εξαχθούν θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν σαν στοιχεία επικύρωσης της μεθόδου.

PROCEDURE FOR THE VALIDATION OF TWO (2) METHODS FOR FATS AND OILS ANALYSIS.

1. PREPARATION OF METHYLESTERS OF FATTY ACIDS AND THEIR ANALYSIS BY GAS CHROMATOGRAPHY.

Principle of the method

The triglycerides are dissolved in heptane (or hexane) and converted to methylesters by transesterification with potassium hydroxide. Then the qualitative and quantitative composition of the mixture of fatty acid methylesters is determined by capillary gas chromatography.

Validation data

Repeatability, standard deviation, relative standard deviation and trueness were determined using certified reference materials (BCR) and secondary referencematerials that have been prepared in the laboratory.

Internal quality control monitoring is performed using control charts.

2. DETERMINATION OF ULTRAVIOLET ABSORBANCE (K_{270} , K_{232} , ΔK)

Principle of the method

The absorbance of a sample solution in 2,2,4 trimethylpentane (iso-octane) at 232 nm, 270 nm is measured with a spectrophotometer and the specific absorbance at a concentration of 1g per 100 ml (determination of K_{270} , K_{232} , ΔK) is calculated.

Validation data

Three samples with different levels of K_{270} , K_{232} were examined under repeatability and intralaboratory reproducibility conditions and the standard deviation, relative standard deviation, repeatability, intralaboratory reproducibility were determined.

Μέθοδος προσδιορισμού σορβικού και βενζοϊκού οξέος σε τρόφιμα με χαμηλά λιπαρά

Δρ. Παναγιώτης Μαριολέας, Χριστίνα Σακελλαρίου, Δρ. Δημήτρης Χρυσσαφίδης
Χημικοί Γ.Χ.Κ., Δ' Χ.Υ. Αθηνών, Τμήμα Β'.

1. ΣΚΟΠΟΣ ΚΑΙ ΠΕΔΙΟ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ

Η μέθοδος περιγράφει την διαδικασία ποσοτικού προσδιορισμού της περιεκτικότητας των συντηρητικών σορβικού (E200-203) και βενζοϊκού (E210-213) με την τεχνική της υγρής χρωματογραφίας σε τρόφιμα χαμηλής περιεκτικότητας σε λίπος. Η μέθοδος έχει ιδιαίτερη εφαρμογή στον να εντοπισμό υπερβάσεων των ορίων που καθορίζονται από την Οδηγία 95/2/95/ΕΟΚ για τα πρόσθετα. (Από τον Γερμανικό Κώδικα Τροφίμων LMBG § 35)

2. ΟΡΙΣΜΟΙ ΣΥΜΒΟΛΑ ΣΥΝΤΗΜΗΣΕΙΣ

RM = Reference Material

3. ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Τα συντηρητικά εκχυλίζονται με μίγμα ρυθμιστικού διαλύματος οξικού αμμωνίου/οξικού οξέος και μεθανόλης. Ουσίες που παρεμποδίζουν απομακρύνονται με καταβύθιση και διήθηση. Ο ποσοτικός προσδιορισμός των συντηρητικών επιτυγχάνεται με διαχωρισμό σε συσκευή Υγρής Χρωματογραφίας Υψηλής Απόδοσης εφοδιασμένης με ανιχνευτή UV με διάταξη διόδων.

Οι ουσίες (σορβικό και βενζοϊκό οξύ) ταυτοποιούνται με βάση το φάσμα τους στο υπεριώδες, σε σύγκριση με το αντίστοιχο πρότυπο.

4. ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιούνται είναι καθαρότητας Pro Analysi εκτός από τα αντιδραστήρια που χρησιμοποιούνται στην κινητή φάση της Υγρής Χρωματογραφίας και είναι καθαρότητας HPLC.

4.1. Οξικό οξύ (CH_3COOH)

4.2. Μεθανόλη (CH_3OH)

4.3. Νερό διασπασταγμένο ή καθαρισμένο σε συσκευή υπερκαθαρού ύδατος ειδικής αγωγιμότητας 0,90 mS/cm, ειδικής αντίστασης 18,2 MΩ.cm

4.4. Διάλυμα οξικού αμμωνίου ($\text{CH}_3\text{COONH}_4$) 0,01 M (σε νερό HPLC)

4.5. Ρυθμιστικό διάλυμα οξικού αμμωνίου / οξικού οξέος: 1000 μέρη όγκου του διαλύματος οξικού αμμωνίου (§ 4.4) αναμιγνύονται με 1,2 μέρη οξικού οξέος

4.6. Διαλύτης εκχύλισης:

60 μέρη όγκου διαλύματος οξικού αμμωνίου/οξικού οξέος (§ 4.5) αναμιγνύονται με 40 μέρη όγκου μεθανόλης

4.7. Κινητή φάση για την Υγρή Χρωματογραφία

50 μέρη όγκου διαλύματος οξικού αμμωνίου/οξικού οξέος (§ 4.5) αναμιγνύονται με 40 μέρη όγκου μεθανόλης (HPLC) και ρυθμίζεται το pH με την προσθήκη οξικού οξέος (περίπου 1-2 ml για 900 ml διαλύματος) και με την βοήθεια πεχαμέτρου σε 4,5 έως 4,6. Η κινητή φάση διηθείται από ειδικό φίλτρο μεμβράνης (§ 5.6) και είναι έτοιμη για την Υγρή χρωματογραφία.

4.8. Stock πρότυπο διάλυμα βενζοϊκού οξέος 500 ppm.

0,250 g βενζοϊκού οξέος ζυγισμένα με ακρίβεια 0,0001 mg διαλύονται σε ογκομετρική φιάλη των 500 ml με διαλύτη νερό/μεθανόλη 60:40 (v/v)

4.9. Stock πρότυπο διάλυμα σορβικού οξέος 500 ppm.

0,250 g σορβικού οξέος ζυγισμένα με ακρίβεια 0,0001 mg διαλύονται σε ογκομετρική φιάλη των 500 ml με διαλύτη νερό/μεθανόλη 60:40 (v/v)

4.10. Παρασκευή προτύπων διαλυμάτων εργασίας

Λαμβάνονται 2, 3, 7,5, 10 και 15 ml από το stock βενζοϊκού οξέος και αραιώνονται μέχρι τη χαραγή σε ογκομετρική φιάλη των 50 ml με διαλύτη νερό/μεθανόλη 60:40 (v/v).

Με αντίστοιχο τρόπο παρασκευάζονται τα πρότυπα διαλύματα σορβικού οξέος.

4.11. Διάλυμα Carrez I

Διάλυμα σιδηροκυανιούχου καλίου σε νερό $c(\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6])=150 \text{ g/l}$

4.12. Διάλυμα Carrez II

Διάλυμα θειικού ψευδαργύρου σε νερό $c(\text{ZnSO}_4)=300 \text{ g/l}$

5. ΣΥΣΚΕΥΕΣ ΚΑΙ ΒΟΗΘΗΤΙΚΑ ΜΕΣΑ

5.1. Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Απόδοσης HPLC μοντέλο Series 410 Bio LC Pump (κωδικός εργαστηρίου 03HPLC02), ανιχνευτής UV με διάταξη διόδων μοντέλο 235C Diode Array Detector (κωδικός εργαστηρίου 03DHPLC02)

5.2. Στήλη RP-18.Bondapak Waters, 350 mm.

5.3. Μίξερ

5.4. Συσκευή ταχείας διήθησης με κενό

5.5. Πτυχωτοί ηθμοί

5.6. Φίλτρο μεμβράνης 0,45 μm

5.7. Φίλτρα μίας χρήσεως σε 0,45 μm (Schleicher & Schuell No 463513 ή αντίστοιχα)

5.8. Σύριγγα 50 μl για υγρή χρωματογραφία.

5.9. Ογκομετρικές φιάλες των 50 και 100 ml (κατηγορίας B ή καλύτερης)

6. ΤΡΟΠΟΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

6.1. Προετοιμασία δείγματος

Υγρά δείγματα

Το δείγμα χρησιμοποιείται ως έχει. Ποσότητα 5 ml δείγματος μεταφέρονται με σφώνιο πλήρωσεως σε ογκομετρική φιάλη των 100 ml και αραιώνονται με τον διαλύτη εκχύλισης (4.6) μέχρι τη χαραγή.

Στερεά και ημίρρευστα δείγματα

Ποσότητα 5 g περίπου ομογενοποιημένου δείγματος, ζυγίζεται σε ποτήρι ζέσης των 100 ml με ακρίβεια 0,01 g. Σε περίπτωση δείγματος μαρμελάδας, το δείγμα αναμιγνύεται με νερό 1:1 κατά βάρος και ομογενοποιείται. Από το ομογενοποίημα ζυγίζεται ποσότητα περίπου 10 g. με ακρίβεια 0,01 g σε ποτήρι ζέσης των 100 ml. Προστίθεται περίπου 20 ml από το διαλύτη εκχύλισης (§ 4.6) και το μίγμα μεταφέρεται ποσοτικά σε ογκομετρική φιάλη των 100 ml. Το ποτήρι ξεπλένεται με άλλα 20 ml τα οποία μεταφέρονται στην ογκομετρική φιάλη όπου προστίθενται από 1 ml των διαλυμάτων Carrez I και II (§§ 4.11 και 4.12, ανάμιξη μετά από κάθε προσθήκη) και η φιάλη συμπληρώνεται με το διαλύτη εκχύλισης μέχρι την χαραγή. Η ογκομετρική φιάλη αναδεύεται, τοποθετείται σε λουτρό υπερήχων για 10' και το περιε-

χόμενο διηθείται από πτυχωτό ηθμό (§ 5.5). Μέρος του διηθήματος διέρχεται από φίλτρο μεμβράνης HPLC και είναι έτοιμο για την εισαγωγή στον εισαγωγέα της Υγρής Χρωματογραφίας με την σύριγγα των 50 μλ.

6.2. Συνθήκες Υγρής Χρωματογραφίας:

(βλέπε και Παράρτημα Α)

Ροή κινητής φάσης: 1 ml/min

Ανιχνευτής UV 235 nm (Channel A) (LC 410_235C)

Loop 20 μl

Σύριγγα 50 μl

Λογισμικό: Turbochrom 4

6.3. Κατασκευή καμπύλης αναφοράς

Καθένα από τα πρότυπα της § 4.9 εισάγονται στο χρωματογράφο τρεις φορές. Για κάθε πρότυπο κατασκευάζεται η ευθεία γραμμικής παλινδρόμησης για τις τιμές των εμβαδών των κορυφών και των αντιστοιχών συγκεντρώσεων, με τη χρήση του λογισμικού του συστήματος ή λογιστικού φύλλου.

7. ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΙ

Η περιεκτικότητα σε συντηρητικά του αρχικού δείγματος υπολογίζεται από τους τύπους:

$$C = \frac{A-b}{K} \times \frac{100}{m} \text{ (στερεά δείγματα)}$$

$$\text{ή } C = \frac{A-b}{K} \times \frac{100}{m} \text{ (υγρά δείγματα)}$$

όπου:

C=περιεκτικότητα σε συντηρητικό στο αρχικό δείγμα σε mg/Kg

A=εμβαδόν κορυφής συντηρητικού στο χρωματογράφημα

m=βάρος του δείγματος σε γραμμάρια (σε περίπτωση που προηγήθηκε αραιώση 1:1 το μισό της ποσότητας που ζυγίστηκε).

V=όγκος του δείγματος σε ml

b=τεταγμένη επί την αρχή της καμπύλης αναφοράς

K=κλίση της καμπύλης αναφοράς (εμβαδόν/συγκέντρωση)

8. ΕΠΙΚΥΡΩΣΗ ΜΕΘΟΔΟΥ - ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ - ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΣΗ ΚΑΙ ΕΠΙΚΥΡΩΣΗ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ

8.1. Διαδικασία επικύρωσης

Η Επικύρωση της μεθόδου προσδιορισμού βενζοϊκού και σορβικού πραγματοποιήθηκε το Μάρτιο του 1998 από το προσωπικό του Β' Τμήματος της Δ' Χημικής Υπηρεσίας Αθηνών.

ΠΟΡΕΙΑ

Κατασκευή Καμπύλης Αναφοράς

Κρίθηκε αναγκαία η κατασκευή δύο καμπυλών αναφοράς για το κάθε συντηρητικό καθώς το εύρος των συγκεντρώσεων που μετρώνται είναι πολύ μεγάλο (από 100 ppm ως 2000 ppm περίπου στο αρχικό δείγμα), ώστε να καλύπτεται με ικανοποιητική ακρίβεια από μία καμπύλη.

Έτσι η πρώτη, καμπύλη «Α»: καλύπτει συγκεντρώσεις προτύπων από 20 ως 150 ppm αναλύτη οι οποίες αντιστοιχούν σε συγκεντρώσεις από 400 ως 3000 ppm αναλύτη στο αρχικό δείγμα, αποτελείται από 5 σημεία (20-30-75-100-150 ppm), με τριπλούς προσδιορισμούς για το κάθε σημείο.

Η δεύτερη καμπύλη «Β»: καλύπτει τις χαμηλές συγκεντρώσεις προτύπων από 100 ως 600 ppm αναλύτη στο αρχικό δείγμα, αποτε-

λείται από 5 σημεία (5-10-15-20-30 ppm), με τριπλούς προσδιορισμούς για το κάθε σημείο.

Εκτίμηση της ορθότητας και της πιστότητας της μεθόδου

Καθώς δεν υπήρχαν πιστοποιημένα υλικά αναφοράς, παρασκευάστηκαν στο εργαστήριο και αναλύθηκαν 3 υλικά:

Κέτσπ με ελεγμένη απουσία συντηρητικών εμβολιάσθηκε με πρότυπα διαλύματα βενζοϊκού και σορβικού οξέος. Τελική συγκέντρωση: 523 ppm σε βενζοϊκό οξύ και 1034 ppm σε σορβικό οξύ. (ΥΛΙΚΟ 1)

Μαρμελάδα με ελεγμένη απουσία συντηρητικών εμβολιάσθηκε με πρότυπα διαλύματα βενζοϊκού και σορβικού οξέος. Τελική συγκέντρωση: 525 ppm σε βενζοϊκό οξύ και 1152 ppm σε σορβικό οξύ. (ΥΛΙΚΟ 2)

Υλικό Αναφοράς (RM FAPAS round 16/1996) «πορτοκαλάδα», η οποία περιείχε 100 ppm βενζοϊκού οξέος, εμβολιάσθηκε με πρότυπο διάλυμα σορβικού οξέος, (42 ml πορτοκαλάδας + 8 ml προτύπου διαλύματος σορβικού οξέος συγκέντρωσης 511 ppm). Τελική συγκέντρωση: 84 ppm σε βενζοϊκό οξύ και 81.76 ppm σε σορβικό οξύ. (ΥΛΙΚΟ 3)

Τα παραπάνω υλικά αναλύθηκαν από 6 φορές το καθένα. Για την κάθε ανάλυση έγιναν 3 ενέσεις στην HPLC. Με βάση τα αποτελέσματα αυτών των αναλύσεων υπολογίσθηκαν: η ενδοεργαστηριακή επαναληψιμότητα, η τυπική απόκλιση, η σχετική τυπική απόκλιση, η επαναληψιμότητα, η ορθότητα και η % ανάκτηση.

Επιπλέον τα συγκεκριμένα υλικά αναλύθηκαν εις διπλούν επί 3 συνεχόμενες ημέρες από 2 αναλυτές (δύο ενέσεις για το καθένα στην HPLC). Από τα αποτελέσματα υπολογίσθηκε η ενδοεργαστηριακή αναπαραγωγιμότητα, η τυπική απόκλιση, η σχετική τυπική απόκλιση και η επαναληψιμότητα.

Οι υπολογισμοί έγιναν σύμφωνα με το SOP 00 00 07 001.

Για τους υπολογισμούς στο ΥΛΙΚΟ 3 χρησιμοποιήθηκαν οι καμπύλες αναφοράς «Β», λόγω της χαμηλής συγκέντρωσης σε βενζοϊκό και σορβικό.

8.2. Εσωτερικός Έλεγχος ποιότητας

Ο εσωτερικός έλεγχος ποιότητας για κάθε συντηρητικό χωριστά εξασφαλίζεται με την συμπλήρωση Control Charts για κάθε περιοχή συγκεντρώσεων, σύμφωνα με το SOP 00 00 06 004 § 8.1. Στην αρχή κάθε μέρας εργασίας η γραμμή βάσης εξισορροπείται με ένεση διαλύτη (δείγμα blank). Ανά 6 εξεταζόμενα δείγματα και πάντως μία τουλάχιστον φορά σε κάθε ημέρα εργασίας, το Control Chart που αντιστοιχεί στην περιοχή συγκεντρώσεων των υπό εξέταση δειγμάτων, συμπληρώνεται με πρότυπο δείγμα γνωστής συγκέντρωσης, ή με υλικό αναφοράς που έχει υποβληθεί στη διαδικασία ανάλυσης που περιγράφεται παραπάνω.

8.3. Εξωτερικός έλεγχος ποιότητας

Το εργαστήριο έχει συμμετάσχει επιτυχώς σε διεργαστηριακές εξετάσεις ελέγχου ικανότητας του προγράμματος FAPAS για το βενζοϊκό οξύ σε χυμούς (round 16 Orangeade Νοέμβριος 1996)

8.4. Βαθμονόμηση - Επικύρωση συστήματος

ι) Γραμμικότητα

Βενζοϊκό οξύ

Συγκεντρώσεις 100-600 ppm στο δείγμα

$$y = 62592x - 1908,9 \quad R^2=0,9990$$

Συγκεντρώσεις 400-3000 ppm στο δείγμα

$$y = 61668x + 44855 \quad R^2=0,9999$$

Σορβικό οξύ

Συγκεντρώσεις 100-600 ppm στο δείγμα

$$y = 109020x + 11033 \quad R^2=0,9999$$

Συγκεντρώσεις 400-3000 ppm στο δείγμα

$$y = 105948x + 128111 \quad R^2=0,9999$$

Βενζοϊκό Οξύ		Ketchup	Μαρμελάδα	Χυμός
ΕΝΔΟΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ	Τυπική απόκλιση	7,07	6,55	1,01
ΕΠΑΝΑΛΗΨΙΜΟΤΗΤΑ	Σχετ. Τυπική Απόκλιση	1,34	1,24	1,18
	Επαναληψιμότητα	19,79	18,33	2,84
	Ορθότητα	0,57	0,95	2,64
	Ανάκτηση	100,57	100,95	102,64
ΕΝΔΟΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ	Τυπική απόκλιση	7,74	11,72	1,33
ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΙΜΟΤΗΤΑ	Σχετ. Τυπική Απόκλιση	1,52	2,32	1,55
	Αναπαραγωγιμότητα	21,67	32,82	3,73

Σορβικό Οξύ		Ketchup	Μαρμελάδα	Χυμός
ΕΝΔΟΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ	Τυπική απόκλιση	8,61	14,74	1,44
ΕΠΑΝΑΛΗΨΙΜΟΤΗΤΑ	Σχετ. Τυπική Απόκλιση	0,81	1,34	1,80
	Επαναληψιμότητα	24,10	41,27	4,03
	Ορθότητα	2,64	-4,18	-2,41
	Ανάκτηση	102,64	95,82	97,59
ΕΝΔΟΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗ	Τυπική απόκλιση	10,54	16,14	1,74
ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΙΜΟΤΗΤΑ	Σχετ. Τυπική Απόκλιση	1,03	1,50	2,20
	Αναπαραγωγιμότητα	29,50	45,19	4,88

ii) Επαναληψιμότητα απόκρισης

Βάσει των καμπυλών αναφοράς υπολογίστηκαν οι συγκεντρώσεις για πέντε επίπεδα προτύπων (τρεις ενέσεις από το καθένα) και υπολογίστηκαν οι τυπικές αποκλίσεις.

Βενζοϊκό		Σορβικό	
Συγκέντρωση	Τυπική απόκλιση	Συγκέντρωση	Τυπική απόκλιση
5,06	0,0168	5,10	0,0380
15,18	0,0566	15,32	0,0719
30,36	0,0595	30,60	0,0993
75,90	0,0357	76,65	0,2317
101,20	0,0854	102,20	0,1730
151,80	0,0573	153,30	0,1946

iii) Όριο ανίχνευσης - Όριο Ποσοτικοποίησης

Το όριο ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης προσδιορίστηκαν από την τεταγμένη επί την αρχή και την τυπική απόκλιση των αραιότερων προτύπων.

όριο ανίχνευσης $DL = b + 3,3 \times SD_1$

όριο ποσοτικοποίησης $DL = b + 10 \times SD_1$

όπου: b η τεταγμένη επί την αρχή της καμπύλης αναφοράς και SD_1 η τυπική απόκλιση του αραιότερου προτύπου

iv) Χρόνος κατακράτησης

Ο χρόνος κατακράτησης για κάθε συστατικό και η % τυπική απόκλιση

υπολογίστηκε για τα 18 πρότυπα από το λογισμικό:

Βενζοϊκό 6,01 min (SD 4,10 %)

Σορβικό 8,51 min (SD 5,00 %)

	Ketchup		Μαρμελάδα		Χυμός	
	B(*)	Σ(*)	B	Σ	B	Σ
ΟΡΙΟ	2,3	2,5	2,3	2,5	2,3	2,5
ΑΝΙΧΝΕΥΣΗΣ (**)						
ΟΡΙΟ ΠΟΣΟΤΙΚΟ-ΠΟΙΗΣΗΣ (**)	4,6	7,6	4,6	7,6	4,6	7,6

(*) B: Βενζοϊκό οξύ, Σ: Σορβικό οξύ

(**) Τα όρια έχουν υπολογιστεί ως rpp επί του δείγματος (5 g ή 5 ml)

v) Εκτίμηση απόκρισης

Από την απόκριση των 18 προτύπων διαλυμάτων και τις αντίστοιχες συγκεντρώσεις σε $\mu\text{g/ml}$ του ενέσιμου διαλύματος υπολογίστηκε η μέση απόκριση σε Area Units/συγκέντρωση σε $\mu\text{g/ml}$ ($V=20 \mu\text{l}$) για στάθμη εμπιστοσύνης 95 % ($n=18$)

Βενζοϊκό $62477 \pm 1637 \text{ Area Units}/\mu\text{g/ml}$

Σορβικό $109130 \pm 2542 \text{ Area Units}/\mu\text{g/ml}$

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Α

Όλες οι συνθήκες της υγρής χρωματογραφίας περιλαμβάνονται σε φύλλο εκτυπωμένο από το λογισμικό του συστήματος HPLC.

Τα συγκεκριμένα τρόφιμα επελέγησαν με κριτήριο τη σύστασή τους και το γεγονός ότι καλύπτουν ποικιλία συστάσεων και υφής με-ταξύ των τροφίμων με χαμηλά λιπαρά

Η μέθοδος προορίζεται για τον προσδιορισμό των συντηρητικών σε υλικά των οποίων το ανώτερο επιτρεπτό όριο βρίσκεται συνήθως στα επίπεδα μέτρησης της εργαστηριακής επαναληψιμότητας και αναπαραγωγιμότητας.

Από τους προτεινόμενους τρόπους προσδιορισμού του ορίου ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης επελέγη ο υπολογιστικός. Η προσπάθεια ολοκλήρωσης τυφλού δείγματος στην περιοχή έκλυσης των αναλυτών, δεν κρίθηκε ουσιαστική, δεδομένου ότι προϋπέθετε μεγάλη μεγέθυνση και μη αξιόπιστη ολοκλήρωση μιας τεθλασμένης γραμμής. Πάντως, σε κάθε περίπτωση το όριο ανίχνευσης είναι πολύ χαμηλότερο από ποσοστά που θα μπορούσαν να έχουν πρακτική σημασία για τις κατηγορίες δειγμάτων που εξετάζονται στο εργαστήριο.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Β

Grieger, U. :Lebensmittelchemie und Gerichtliche Chemie 36, 109-110 (1982)

DETERMINATION OF BENZOIC AND SORBIC ACID IN LOW FAT FOODSTUFF

Dr. Panagiotis Marioleas, Christina Sakellariou, Dr. Dimitris Chrysafidis, Chemists of the General Chemical State Laboratory, D' Division of Athens, Section B', Athens, GREECE.

METHOD

The sample is dissolved in a buffer solution. The mixture is clarified and 20 μ l of the filtrate are injected into an HPLC/UV detector device. External standard technique is used for quantitation.

VALIDATION

Calibration curves for two concentration levels were plotted. The validation characteristics of the method were calculated using spiked samples or reference materials.

For the repeatability of the method, samples from three categories foodstuff were used. For the intralaboratory reproducibility, two analysts treated one sample daily for three days.

Calculations of the validation data were carried out according to the respective appendix of the quality manual.

QUALITY CONTROL

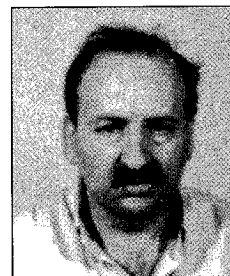
Internal quality control monitoring is performed using control charts.

External quality control is achieved by participating in relevant Professional Test Schemes.

Επικύρωση μεθόδων ανάλυσης αλκοολούχων ποτών

Σπ. Μπόλκας

Χημικός MSc. Του Γενικού Χημείου του Κράτους, Δ' Χημική Υπηρεσία Αθηνών



Το εργαστήριο αλκοολούχων ποτών & οινοπνευμάτων της Δ' Χ. Υ. Αθηνών (Τμήμα Γ) επέλεξε για να προχωρήσει στη διαπίστευση των παρακάτω μεθόδων σε πρώτη φάση:

1. Μέτρηση αλκοολικού βαθμού με αλκοολόμετρο.
2. Προσδιορισμός πτητικών συστατικών με αέρια χρωματογραφία.
3. Έλεγχος νοθείας γεωργικού οιν/τος με συνθετικό οιν/μα. Μέθοδος σπινθηριστή υγρών.

Σε αυτό το κείμενο θα αναφερθεί τι έχει γίνει για τις δύο πρώτες μεθόδους.

A. Μέτρηση αλκοολικού βαθμού με αλκοολόμετρο

* ΣΚΟΠΟΣ ΚΑΙ ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Ο αλκοολικός βαθμός των αλκοολούχων ποτών μπορεί να μετρηθεί με τη χρήση αραιομέτρων που έχουν βαθμονομηθεί ειδικά για αυτό το σκοπό, αφού ληφθεί υπόψη η θερμοκρασία της μέτρησης

Η μέθοδος περιλαμβάνεται στο σχέδιο καν. ΕΕ 5804/91 rev.7 της 1-12-97 όπως προτείνεται μετά την λήξη των διεργαστηριακών test.

ΠΟΡΕΙΑ ΠΟΥ ΑΚΟΛΟΥΘΗΘΗΚΕ:

Η προβλεπόμενη από την SOP 00 00 07 001 § 8. Δηλαδή: η επαναληψιμότητα μπορεί να υπολογισθεί με διπλή ανάλυση 3 τουλάχιστον δειγμάτων, που αντιπροσωπεύουν χαμηλή, μεσαία και υψηλή συγκέ-

ντρωση του αναλύτη στο επιδιωκόμενο εύρος μετρήσεων, εκτός αν ορίζεται διαφορετικά από συγκεκριμένη μέθοδο.

Η ενδοεργαστηριακή αναπαραγωγιμότητα μπορεί να προσδιοριστεί με εντελώς ανάλογο τρόπο, αν αντί του ενός, τα ζεύγη των προσδιορισμών πραγματοποιηθούν από δύο ή περισσότερους αναλυτές

Παρασκευάστηκαν από δείγματα γνωστού αλκοολικού βαθμού 4 δείγματα αλκοολικού βαθμού περίπου 20%, 40%, 60%, και 96% vol.

Τα δείγματα μετρήθηκαν από 5 αναλυτές από δύο φορές για τον υπολογισμό της αναπαραγωγιμότητας και δέκα φορές από ένα αναλυτή το κάθε δείγμα για την δοκιμή επαναληψιμότητας.

Τα αποτελέσματα αναγράφονται στον πίνακα 1 που ακολουθεί.

Πίνακας 1

	20% vol.	40% vol.	60% vol.	96% vol.
μέσος όρος	22,92	39,76	56,54	96,11
STD	0,08	0,05	0,05	0,07
r	0,22	0,14	0,14	0,21
RSD _r	0,34	0,13	0,09	0,08
R _L	0,04	0,26	0,26	0,37
Ορθότητα	2,790 < t _{theor} = 3,152			

Η εκτίμηση της ορθότητας έγινε με την κατά ζεύγη δοκιμασία για αριθμό δειγμάτων $N = 4$ (βαθμοί ελευθερίας $v=N-1$) και στάθμη εμπιστοσύνης 95%.

Β. Προσδιορισμός πτητικών συστατικών με αέριο χρωματογραφία

ΣΚΟΠΟΣ ΚΑΙ ΠΕΔΙΟ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ

Η μέθοδος είναι κατάλληλη για τον προσδιορισμό των 1.1-διαιθοξαιθανίου (ακετάλης), 2-μεθυλοβουτανόλης-1 (αμυλικής αλκοόλης), 3-μεθυλοβουτανόλης-1 (ισοαμυλικής αλκοόλης), μεθανόλης (μεθυλικής αλκοόλης), οξικού αιθυλεστέρα, βουτανόλης-1, βουτανόλης-2, 2-μεθυλοπροπανόλης-1 (ισοβουτανόλης), προπανόλης-1 και ακαταλεβήτης σε αλκοούχα ποτά με την χρήση αέριας χρωματογραφίας. Η μέθοδος χρησιμοποιεί εσωτερικό πρότυπο για παράδειγμα πεντανόλη-3. Οι συγκεντρώσεις εκφράζονται σε γραμμάρια ανά 100 λίτρα απολύτου αλκοόλης ενώ ο αλκοολικός βαθμός του προϊόντος πρέπει να προσδιορισθεί πριν την ανάλυση. Αλκοολούχα ποτά που αναλύονται με αυτή τη μέθοδο είναι: ούισκι, μπράντυ, ρούμι, απόσταγμα οίνου, απόσταγμα φρούτων.

ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Τα συστατικά διαχωρίζονται με χρήση κατάλληλης στήλης και προγράμματος θερμοκρασιών και με τη χρήση ανιχνευτή ιονισμού φλόγας (FID). Η συγκέντρωση κάθε συστατικού προσδιορίζεται σε σχέση με το εσωτερικό πρότυπο από παράγοντες απόκρισης (response factors), οι οποίοι παρατηρούνται κατά τη διάρκεια της βαθμονόμησης χρησιμοποιώντας τις προαναφερθείσες χρωματογραφικές συνθήκες.

Απαιτήσεις της μεθόδου:

◆ ελάχιστη διαχωριστική ικανότητα (resolution) 1.3 (εκτός των αμυλικών)

◆ ο παράγων συμμετρίας των κορυφών κάθε ουσίας στο χρωματογράφημα είναι μεταξύ 0.5 και 1.5

Η γραμμικότητα θεωρείται ικανοποιητική με ένα συντελεστή συσχέτισης (correlation coefficient) τουλάχιστον 0,99

ΠΟΡΕΙΑ ΠΟΥ ΑΚΟΛΟΥΘΗΘΗΚΕ

Το εργαστήριο συμμετείχε σε διεργαστηριακό Test με τίτλο «SMT project Workstream 2-Gas Chromatography Determination of Volatile Congeners of Spirit Drinks» όπως φαίνεται στο παράρτημα Α. Η μέθοδος που αξιολογήθηκε έχει μεταφραστεί στα Ελληνικά από το εργαστήριο μας. Οι συντονιστές του Test θεωρούν το Test επιτυχές και προτείνουν η μέθοδος να ενταχθεί στον υπό ψήφιση καν. ΕΟΚ (παράρτημα Β).

Η παραπάνω πορεία επικύρωσης προβλέπεται από την SOP 00 00 07 001 § 6.2, και τα αποτελέσματα αναγράφονται στους πίνακες 1-7.

Εδώ πρέπει να προστεθεί ότι το εργαστήριο μας συμμετείχε σε διεργαστηριακά test ελέγχου ικανότητας (FAPAS) με άριστα αποτελέσματα (Πίνακας 8) όπως προβλέπεται από την SOP 00 00 07 001 § 8.

Επιπλέον στο εργαστήριο μας έγινε δοκιμή της ενδοεργαστηριακής επαναληψιμότητας. Χρησιμοποιήθηκαν 4 δείγματα (τα με αριθμό 36,37,40,42) που είχαν χρησιμοποιηθεί στο διεργαστηριακό Test «SMT project Workstream 2-Gas Chromatography Determination of Volatile Congeners of Spirit Drinks»

Τα δείγματα μετρήθηκαν δέκα φορές το καθένα από έναν αναλυτή.

Τα αποτελέσματα αναγράφονται στους πίνακες 2-8 που ακολουθούν.

Πίνακας 2 Δείγματα 30/40 (brandy)

	ακεταλδεϋδη	Οξικός αιθυλεστέρας	μεθανόλη	προπανόλη	βουτανόλη-1	ισοβουτανόλη	βουτανόλη-2	2-μεθυλοβουτανόλη-1	3-μεθυλοβουτανόλη-1	Σύνολο Ανωτέρων αλκοολών
r(διερ/κί)	9,3	6,2	12,3	8,3	1,1	6,4	1,1	6,0	13,9	26,9
S _r	3,3	2,2	4,4	3,0	0,43	2,3	0,4	2,1	5,0	9,6
RSD _r	5,2	2,3	1,4	3,4	11,2	1,3	6,8	1,9	1,1	1,1
R _L	33,5	17,9	35,2	14,8	33,5	24,9	2,5	20,8	83,4	117,6
S _r	12	6,4	13	5,3	1,7	8,9	0,89	7,4	29,8	42
RSD _R	15,7	6,6	3,9	6,1	0,59	5,1	15,2	6,6	6,5	5,0
H _{OR}	2,2	0,8	0,6	0,8	1,2	0,7	1,2	0,8	1,0	0,9

Πίνακας 3 Δείγματα 38/42 (Kirsch)

	ακεταλδεϋδη	Οξικός αιθυλεστέρας	μεθανόλη	προπανόλη	βουτανόλη-1	ισοβουτανόλη	βουτανόλη-2	2-μεθυλοβουτανόλη-1	3-μεθυλοβουτανόλη-1	Σύνολο Ανωτέρων αλκοολών
r(διερ/κί)	5,3	40,7	74,4	68,5	0,6	4,5	6,1	4,2	6,6	85,0
S _r	1,9	15	27	24	0,2	1,6	2,2	1,5	2,4	30
RSD _r	2,6	1,4	1,2	0,7	3,6	1,4	0,9	3,1	1,0	0,7
R _L	39,9	221,9	278,3	407,2	1,5	24,9	35,5	10,7	35,4	323,4
S _r	14	79	99	150	0,55	8,9	13	3,8	13	120
RSD _R	19,4	7,6	4,4	4,1	9,8	8,0	5,1	7,9	5,2	2,7
H _{OR}	2,3	1,4	0,9	0,9	0,8	1,0	0,7	0,9	0,7	0,6

Πίνακας 4 Δείγματα 32/44 (grappa)

	ακεταλδε- ϋδη	Οξικός αιθυλε- στέρας	μεθανόλη	προπα- νόλη	βουτα- νόλη-1	ισοβουτα- νόλη	βουτα- νόλη-2	2-μεθυλο- βουτα- νόλη-1	3-μεθυλο- βουτα- νόλη-1	Σύνολο Ανωτέρων αλκοολών
r(διερ/κί)	19,1	7,2	62,5	10,0	1,2	6,9	2,5	4,7	9,6	34,9
S _r	6,8	2,6	22	3,6	0,43	2,5	0,87	1,7	3,4	13
RSD _r	5,2	2,1	1,7	2,3	5,6	1,3	3,2	1,8	1,2	1,7
R _L	62,4	22,9	169,1	18,2	2,3	27,2	8,9	18,4	58,8	105,9
S _r	22	8,2	60	6,5	0,82	9,7	3,2	6,8	21	38
RSD _R	17,1	6,8	4,6	4,1	10,8	5,2	11,5	7,2	7,3	5,0
H _{OR}	2,2	0,9	0,8	0,6	0,9	0,7	1,2	0,9	1,1	0,9

Πίνακας 5 Δείγματα 33/36 (whisky)-διαφορετικά δείγματα

	ακεταλδε- ϋδη	Οξικός αιθυλε- στέρας	μεθανόλη	προπα- νόλη	βουτα- νόλη-1	ισοβουτα- νόλη	βουτα- νόλη-2	2-μεθυλο- βουτα- νόλη-1	3-μεθυλο- βουτα- νόλη-1	Σύνολο Ανωτέρων αλκοολών
r(διερ/κί)	11,6	5,8	4,3	6,4	-	5,0	-	6,4	6,6	16,1
S _r	4,1	2,1	1,5	2,3	-	1,8	-	2,3	2,4	5,8
RSD _r	15,8	2,0	2,1	0,9	-	0,7	-	3,9	1,8	0,8
R _L	19,1	17,5	12,5	25,2	-	16,9	-	13,3	23,8	71,3
S _r	6,8	6,2	4,5	9,0	-	6,0	-	4,7	8,5	25,5
RSD _R	26,2	6,1	6,2	3,6	-	2,2	-	8,1	6,5	3,6
H _{OR}	2,7	0,8	0,7	0,5	-	0,3	-	0,9	0,8	0,6

Πίνακας 6 Δείγματα 34/37 (rum)-διαφορετικά δείγματα

	ακεταλδε- ϋδη	Οξικός αιθυλε- στέρας	μεθανόλη	προπα- νόλη	βουτα- νόλη-1	ισοβουτα- νόλη	βουτα- νόλη-2	2-μεθυλο- βουτα- νόλη-1	3-μεθυλο- βουτα- νόλη-1	Σύνολο Ανωτέρων αλκοολών
r(ενδ/κί)										
STD _r										
r(διερ/κί)	10,1	7,3	3,8	9,1	-	2,0	1,8	6,0	14,2	37,3
S _r	3,6	2,6	1,3	3,3	-	0,7	0,64	2,2	5,1	13,3
RSD _r	8,9	2,4	0,64	1,6	-	0,6	6,4	4,2	2,2	2,2
R _L	25,1	20,0	2,4	22,7	-	17,4	2,4	12,4	43,4	100,9
S _r	8,9	7,1	0,87	8,1	-	6,2	0,87	4,4	15,5	36,0
RSD _R	22,2	6,6	8,7	4,1	-	5,0	8,7	8,7	6,9	5,9
H _{OR}	2,4	0,8	0,8	0,6	-	0,6	0,8	1,0	1,0	1,0

Πίνακας 7

Resolution: 2-μεθυλο-βουτανόλη-1/ 3-μεθυλο-βουτανόλη-1 = 1,01

Resolution: βουτανόλη-1/ ακετάλη = 0,92

Πίνακας 8

Συστατικό	γραμμικότητα	Symmetry factor
Μεθανόλη	0,9999	1,419
Προπανάλη-1	0,9999	1,108
Ισοβουτανόλη	0,9999	1,080
2-μεθυλοβουτανόλη-1	0,9996	0,675
3-μεθυλοβουτανόλη-1	0,9992	1,538
Οξικός αιθυλεστέρας	0,9999	1,100
Βουτανόλη-1	-	0,655
Βουτανόλη-2	0,9999	1,071
Ακετάλη	-	1,550
Ακεταλδεϋδη	0,9991	1,352

Πίνακας 9 Διεργαστηριακά test ελέγχου ικανότητας (FAPAS)

round		Οξείκος αιθυλε-στερας	μεθανόλη	προπα-νόλη	ισοβουτα-νόλη	2-μεθυλο-βουτα-νόλη-1	3-μεθυλο-βουτα-νόλη-1
1307	z-Score		0,4	0,1	-0,3		
1308	z-Score	0,6	-0,8		0,5		
1309	z-Score			0,2		-0,6	-0,4

VALIDATION OF METHODS FOR THE ANALYSIS OF SPIRIT DRINKS

Spyros Bolkas, Chemist (Msc) of the General State Chemical Laboratory, D' Division of Athens, Athens, Greece

1. DETERMINATION OF ALCOHOLIC STRENGTH-HYDROMETRY

A. Distillation: The spirits are distilled to separate the "extractive matter". If it is not known with certainty that a spirit does not contain any extractive matter, it must be distilled

B. Hydrometry: The alcoholic strength of spirits can be measured by hydrometry

C. Validation: Repeatability, interlaboratory reproducibility, standard deviation and trueness were determined using samples of known alcoholic strength. The alcoholometers used were certified. The samples were distributed to six laboratories and the reproducibility was calculated.

2. GAS CHROMATOGRAPHY DETERMINATION OF VOLATILE CONGENERS IN SPIRIT DRINKS

A. Principle: Congeners in spirit drinks are determined into a Gas Chromatography (GC) system.

B. Linearity: Correlation coefficient of at least 0.99 for each congener

Resolution: Minimum resolution between the individual compounds is at least 1,3. The symmetry factors should be ideally between 0,5 and 1,5.

C. Validation: Our laboratory participated in an SMT project for the validation of this method. The precision of the most volatile analyte, ethanal only has HORRAT values of >2. The method has been fully validated to internationally accepted procedures and is recommended for use in EU.

Μέθοδος προσδιορισμού Βενζο(α)πυρενίου σε κρέας και κρεατοσκευάσματα

Παραδείγματα επικύρωσης μεθόδου διαμορφωμένης στο εργαστήριο (in - House)

Βασίλειος Τζαμτζής και Ειρήνη Πουλιμά

Χημικοί του Γενικού Χημείου του Κράτους, Διεύθυνση Τροφίμων

1. ΣΚΟΠΟΣ ΚΑΙ ΠΕΔΙΟ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ

Η μέθοδος περιγράφει την διαδικασία ποσοτικού προσδιορισμού της περιεκτικότητας σε Βενζο(α)πυρενίου ή (3,4-Βενζοπυρενίου), πολυκυκλικού αρωματικού υδρογονάνθρακα, σε κρεατοσκευάσματα και κρέας που έχουν υποστεί φυσικό ή χημικό καπνισμό, με την τεχνική της υγρής χρωματογραφίας μετά από κατεργασία του δείγματος.

Η μέθοδος βασίζεται σε επίσημη μέθοδο προσδιορισμού Βενζο(α)πυρενίου σε φρυγμένο καφέ, στην οποία έχουν γίνει ουσιώδεις τροποποιήσεις (In - House). Βλέπε και «Παράρτημα Α».

2. ΟΡΙΣΜΟΙ, ΣΥΜΒΟΛΑ, ΣΥΝΤΗΜΗΣΕΙΣ

B(a)P : Βενζο(α)πυρενίου = 3,4-Βενζοπυρενίου

dB(a,h)A : διΒενζο(α,h)ανθρακένιο.

3. ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Το Βενζο(α)πυρενίου εκχυλίζεται από το μη σαπωνοποιημένο μέρος του δείγματος με κυκλοεξάνιο. Από το εκχύλισμα του κυκλοεξανίου απομακρύνονται παρεμποδίζουσες ουσίες με πέρασμα από cartridge SiO₂. Ο ποσοτικός προσδιορισμός γίνεται σε συσκευή Υγρής Χρωματογραφίας Υψηλής Απόδοσης με Φθορισμομετρικό ανιχνευτή χρησιμοποιώντας το διΒενζο(α,h)ανθρακένιο ως εσωτερικό πρότυπο (το οποίο εκχυλίζεται μαζί με το Βενζο(α)πυρενίου).

4. ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

4.1. Κυκλοεξάνιο Pro Analysi.

4.2. H₂O διασπασταγμένο.

4.3. H₂O διασπασταγμένο και διηθημένο από μεμβράνη 0,45μ στη συσκευή 5.15.

4.4. Αιθυλική αλκοόλη 96 °C.

4.5. Υδροξείδιο του Καλίου 85% Pro Analysi.

4.6. Cartridge (Solid Phase Extraction) SiO₂ - 500mg - 3ml με κατάλληλο adaptor ώστε να εφαρμόζει η σύριγγα 5.5.

4.7. Ακετονιτρίλιο HPLC.

4.8. Κινητή φάση για την Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Απόδοσης.

4.8.1. Διαλύτης A: 50 μέρη όγκου H₂O (4.3) και 50 μέρη όγκου Ακετονιτρίλιο (4.7).

4.8.2. Διαλύτης B: Ακετονιτρίλιο (4.7).

4.9. Θεϊκό Νάτριο άνυδρο Pro Analysi.

4.10. Διάλυμα Βενζο(α)πυρενίου σε απόλυτη μεθανόλη, πρότυπο χρωματογραφικής καθαρότητας, 100 μg/ml (ppm), συνοδευόμενο από πιστοποιητικό καθαρότητας και συγκεντρώσεως. Φυλάσσεται σε καταψύκτη στους -18 °C.

4.11. Διάλυμα διΒενζο(α,h) ανθρακένιο σε απόλυτη μεθανόλη, πρό-

τυπο χρωματογραφικής καθαρότητας, 100µg/ml (ppm), συνοδευόμενο από πιστοποιητικό καθαρότητας και συγκεντρώσεως. Φυλάσσεται σε καταψύκτη στους -18°C.

4.12. Διάλυμα εσωτερικού προτύπου διβενζο(a,h)ανθρακένιου, 20µg/Lit. (ppb). Με μικροσύριγγα 25 ή 50µl μεταφέρονται 20µl από το διάλυμα 4.11 σε ογκομετρική φιάλη των 100 ml (κατηγορίας B ή καλύτερης) και συμπληρώνεται ο όγκος μέχρι τη χαραγή με μεθανόλη 4.15. Διατηρείται σε καταψύκτη στους -18° για 30 ημέρες.

4.13. Διάλυμα προτύπου Βενζο(a)πυρενίου, 100µg/Lit. (ppb): Με μικροσύριγγα 100 ή 250µl μεταφέρονται 100µl από το διάλυμα 4.10 σε ογκομετρική φιάλη των 100 ml (κατηγορίας B ή καλύτερης) και συμπληρώνεται ο όγκος μέχρι τη χαραγή με μεθανόλη 4.15. Διατηρείται σε καταψύκτη στους -18° για 30 ημέρες.

4.14. Διάλυμα Φαινολοφθαλεΐνης 1% σε Αιθανόλη.

4.15. Μεθανόλη απόλυτη pro analysis.

Επειδή τα αντιδραστήρια 4.10, 4.11, 4.12 και 4.13. είναι τοξικά, πρέπει κατά το χειρισμό τους να λαμβάνονται κατάλληλες προφυλάξεις.

5. ΣΥΣΚΕΥΕΣ ΚΑΙ ΒΟΗΘΗΤΙΚΑ ΜΕΣΑ

5.1. Διαχωριστικές χοάνες των 500ml (2 φιάλες ανά δείγμα).

5.2. Σφαιρικές φιάλες 250ml με εσµυρισμένο πώμα

5.3. Κωνικές φιάλες 50 ml με εσµυρισμένο πώμα

5.4. Ψυκτήρες για τις φιάλες 5.2.

5.5. Μικροσύριγγες Gas – Tight (π.χ. 25, 50, 100, 500, 1000 µl)

5.6. Πλαστική σύριγγα των 10ml

5.7. Ποτήρια ζέσεως, Ογκομετρικοί κύλινδροι, σιφώνια, πιπέττες Pasteur, Δοκιμαστικοί σωλήνες με εσµ. πώμα των 5 ή 10 ml. κλ. γυαλικά εργαστηρίου.

5.8. Φιάλη αερίου N₂ με κατάλληλο μειωτήρα πίεσεως και σωλήνα για διαβίβαση αερίου για ξήρανση.

5.9. Αναλυτικός ζυγός (4 δεκαδικών ψηφίων)

5.10. Θερμομανδύας 500 ml .

5.11. Συσκευή Υγρής Χρωματογραφίας Υψηλής Απόδοσης (HPLC) Perkin Elmer SERIES 410 BIO LC PUMP (κωδικός εργαστηρίου 03HPLC02), Ανιχνευτής Φθορισµομετρικός Perkin Elmer LS 30 (κωδικός εργαστηρίου 03DHPLC05)

5.12. Αναλυτική στήλη για την ανωτέρω συσκευή HYPERSIL GREEN PAH 5µ 150X4.6mm.

5.13. Συσκευή περιστροφική αποστάξεως υπό ελαττωμένη πίεση (Rotary Evaporator) με υδατόλουτρο.

5.14. Ομογενοποιητής ή Blender.

5.15. Συσκευή ταχείας διήθησης με ελαττωμένη πίεση

5.16. Πτυχωτοί ηθμοί μαλακοί, ταχείας διήθησεως.

5.17. Φίλτρο μεμβράνης 0,45 µm

5.18. Φίλτρα μίας χρήσεως σε 0,45 µm (Schleicher & Schuell No 463513 ή αντίστοιχα)

5.19. Σύριγγα 250 µl για υγρή χρωματογραφία.

5.20. Ογκομετρικές φιάλες των 50 και 100 ml (κατηγορίας B ή καλύτερης)

6. ΤΡΟΠΟΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

6.1. Προετοιµασία δείγµατος

Όλο το δείγμα από το δειγματοφιαλίδιο μεταφέρεται στο blender και ομογενοποιείται επαρκώς. Ζυγίζεται ποσότητα 10 g περίπου ομογενοποιημένου δείγµατος, με ακρίβεια 2 δεκαδικών, εντός της σφαιρικής φιάλης των 500ml. Προστίθενται 6,6g KOH (4.5) και 2ml H₂O, αναδεύεται μέχρι διαλυτοποίησεως του KOH. Προστίθενται 100ml αιθυλικής αλκοόλης (4.4) και 1000µl (1ml) διάλυμα εσωτερικού προτύπου (4.12) (0,02µg dB(a,h)A) με κατάλληλη μικροσύριγγα.

6.2. Σαπωνοποίηση – Εκχύλιση

Η σφαιρική φιάλη των 500ml φέρεται στον θερμομανδύα και τοποθετείται ο ψυκτήρας. Ρυθμίζεται η θερμοκρασία ώστε να επιτευχθεί ήπιος βρασμός του περιεχομένου για 1 ώρα. Απομακρύνεται η φιάλη με τον ψυκτήρα από τον θερμομανδύα και από το άνω μέρος του ψυκτήρα προσεκτικά με τη βοήθεια χωνιού προστίθενται **αργά** 200ml κυκλοεξανίου (4.1). Επανατοποθετείται η φιάλη (πάντα υπό τον ψυκτήρα) στον θερμομανδύα και το περιεχόμενο φέρεται σε βρασμό για 5 min (εκχύλιση). Απομακρύνεται η φιάλη από τον θερμομανδύα και όταν η θερμοκρασία του περιεχομένου φθάσει μέχρι 50° C περίπου, το περιεχόμενο μεταφέρεται στη διαχωριστική χοάνη των 500ml ποσοτικά με 100ml H₂O. Αφήνεται το μίγμα σε ηρεμία χωρίς ανατάραξη μέχρι να διαχωριστούν οι δύο στοιβάδες. Αποχύνεται η κάτω στοιβάδα.

Η άνω στοιβάδα του κυκλοεξανίου εκπλένεται με 100ml H₂O τόσες φορές ώστε η κάτω στοιβάδα, η οποία κάθε φορά αποχύνεται, να δίνει ουδέτερη αντίδραση ως προς δείκτη φαινολοφθαλεΐνη (περίπου 6 εκπλύσεις). Οι τρεις πρώτες εκπλύσεις γίνονται με απλή αναστροφή της χοάνης προς αποφυγή δημιουργίας γαλακτώματος.

Μετά την απομάκρυνση και της τελευταίας υδατικής στοιβάδας, η στοιβάδα του κυκλοεξανίου μεταφέρεται σε σφαιρική φιάλη των 500ml αφού πρώτα διέλθει από χωνί στο οποίο έχει τοποθετηθεί μαλακός χάρτινος ηθμός που περιέχει 15gr. περίπου άνυδρο θειικό νάτριο. Εκπλένεται ο ηθμός με το θειικό νάτριο με 50 ml κυκλοεξανίου, τα οποία συλλέγονται στην ίδια σφαιρική φιάλη.

Η φιάλη τοποθετείται στη συσκευή Rotary Evaporator για απομάκρυνση της μεγάλης ποσότητας του κυκλοεξανίου. Η θερμοκρασία απόσταξης δεν πρέπει να υπερβαίνει τους 50° C. Πριν την πλήρη απόσταξη 2 έως 1 ml, η φιάλη απομακρύνεται από τη συσκευή Rotary Evaporator και ο υπόλοιπος διαλύτης απομακρύνεται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος με ρεύμα αζώτου. Στο ξηρό υπόλειμμα προστίθενται 2ml κυκλοεξανίου.

Στο σημείο αυτό το δείγμα μπορεί να φυλαχτεί σε καταψύκτη αφού μεταφερθεί ποσοτικά με πιπέτα Pasteur σε δοκιμαστικό σωλήνα με εσµυρισμένο πώμα.

6.3. Καθαρισμός εκχυλίσµατος, απομάκρυνση παρεµποδισουσών ουσιών

Από τα Cartridge (4.6), εφαρµόζοντας πίεση με την πλαστική σύριγγα των 10 ml και το κατάλληλο adapter, εκλούνται διαδοχικά:

- 5 ml κυκλοεξανίου μέχρι την άνω επιφάνεια του SiO₂ χωρίς να εισαχθεί αέρας στο SiO₂. Ο εξερχόμενος διαλύτης απορρίπτεται.

- 2 ml του δείγµατος της κατεργασίας 6.2 , μέχρι την άνω επιφάνεια του SiO₂ χωρίς να εισαχθεί αέρας στο SiO₂. Ο εξερχόμενος διαλύτης συλλέγεται σε κωνική φιάλη των 50 ml με εσµυρισμένο πώμα.

- 7 ml κυκλοεξανίου μέχρι πλήρους παραλαβής όλου του διαλύτη του Cartridge. Ο εξερχόμενος διαλύτης συλλέγεται στην ίδια κωνική φιάλη.

Η κωνική φιάλη τοποθετείται στη συσκευή Rotary Evaporator για απομάκρυνση της μεγάλης ποσότητας του κυκλοεξανίου. 1 ml πριν την πλήρη απόσταξη, η φιάλη απομακρύνεται από τη συσκευή Rotary Evaporator και ο υπόλοιπος διαλύτης απομακρύνεται σε θερμοκρασία περιβάλλοντος με ρεύμα αζώτου.

Στο υπόλειμμα προστίθεται 1 ml ακετονιτρίλιο, αναδεύεται, διηθείται από τα φίλτρα (§ 5.18) και συλλέγεται σε δοκιμαστικό σωλήνα εσµυρισμένου πώματος. Το διάλυμα είναι έτοιμο για εισαγωγή στον εισαγωγέα της Υγρής Χρωματογραφίας με την σύριγγα των 250 µl .

6.4. Συνθήκες Υγρής Χρωματογραφίας –διαδικασία: (βλέπε και Παράρτημα Α)

Η λειτουργία της συσκευής είναι σύμφωνη με το SOP της συσκευής. Η φιάλη Α πληρούται με τον διαλύτη Α (§ 4.8.1).

Η φιάλη Β πληρούται με τον διαλύτη Β (§ 4.8.2).

Τοποθετείται στο φούρνο στηλών η αναλυτική στήλη (§ 5.12).

Loop: 100 μl

Παράμετροι αντλίας: Ροή 1ml/min, έκλυση gradient: 100% Φιάλη Α (ακετονιτρίλιο/ H₂O: 50/50) για 5min, γραμμική αύξηση εντός 25 min σε 100% Φιάλη Β (ακετονιτρίλιο), όπου παραμένει για 20min. Ισοστάθμιση STEP 0 = 10min.

Θερμοκρασία φούρνου στηλών: 25 °C

Παράμετροι ανιχνευτού: Excitation 290nm, Emission 430nm σταθερά για όλο το χρόνο της ανάλυσης.

Παράμετροι λογισμικού (Turbochrom 4): Επιλέγεται **LS_30**, γίνεται setup του sequence «BEAPYHYF», που βρίσκεται στη διεύθυνση C:\TC4\BENZAPYR\BEAPYHYF\ και περιέχει τη μέθοδο BEAPYHYF.MTH. Στο παράρτημα Α δίδονται οι παράμετροι της μεθόδου.

Παρακολουθείται η βασική γραμμή (RUN – START MONITOR) σε SCALE 0 – 20mV. Εάν είναι σταθερή τότε επιλέγεται RUN – STOP MONITOR, συμπληρώνεται το κατάλληλο row στο sequence Channel Β και γίνεται setup. Εισάγεται το δείγμα στην HPLC.

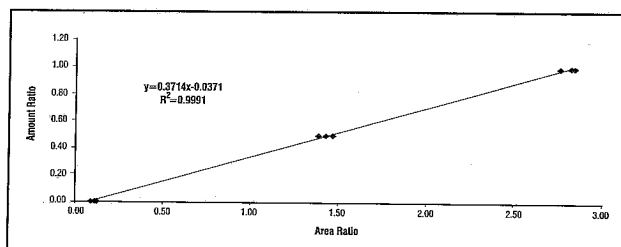
Μετά το πέρας της χρωματογραφικής ανάλυσης εκτυπώνεται το σχετικό REPORT του RST File του δείγματος .

6.5. Κατασκευή καμπύλης αναφοράς

Η μέθοδος είναι εσωτερικού προτύπου, η καμπύλη αναφοράς είναι το αποτέλεσμα της γραμμικής παλινδρόμησης μεταξύ του λόγου της ποσότητας του Β(a)P προς την ποσότητα του dB(a,h)A και του λόγου των αποκρίσεων των Β(a)P και dB(a,h)A αντίστοιχα. Αποτελείται από τρία σημεία τα οποία αντιστοιχούν σε συγκεντρώσεις Β(a)P στο δείγμα 0 μg/Kg, 1 μg/Kg και 2 μg/Kg με τριπλούς προσδιορισμούς για κάθε σημείο. Επειδή παρατηρήθηκαν κορυφές σε χρωματογράφημα με χρόνο κατακράτησης εκείνο του Β(a)P σε ανάλυση Blank Reagent, για την παρασκευή των προτύπων με τα οποία κατασκευάζεται η καμπύλη, ακολουθείται όλη η διαδικασία 6.1 έως 6.3 προσθέτοντας όλα τα αντιδραστήρια εκτός από δείγμα. Συνεπώς κατά τον υπολογισμό αφαιρείται η ποσότητα Β(a)P που δεν οφείλεται στο δείγμα. Οι ποσότητες των προτύπων που προστίθενται κατά τη διαδικασία 6.1 για την παρασκευή των προτύπων της καμπύλης αναφοράς είναι οι ακόλουθες:

σημείο καμπύλης αναφοράς (μg/Kg δείγματος)	ποσότητα Β(a)P μg (μl από το διάλυμα 4.13)	ποσότητα dB(a,h)A μg (μl από το διάλυμα 4.13)	αριθμός προτύπων που παρασκευάστηκαν
0	0 (0)	0,02 (1000)	3
1	0,01 (100)	0,02 (1000)	3
2	0,02 (200)	0,02 (1000)	3

Η καμπύλη αναφοράς είναι η κατωτέρω



7. ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΙ

Η περιεκτικότητα σε Β(a)P του αρχικού δείγματος υπολογίζεται με έναν από τους δύο κατωτέρω τρόπους:

Α' ΤΡΟΠΟΣ ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΥ

Ανοίγεται από το Excel το αρχείο με όνομα Β a Pyrene.xls . Επιλέγεται φύλλο εργασίας CBLR Curve. Από την εκτύπωση του REPORT του RST File του δείγματος και τις ζυγίσεις , τίθενται οι τιμές:

1. Εμβαδόν κορυφής Β(a)P,
2. Εμβαδόν κορυφής dB(a,h)A,
3. Ποσότητα εσωτερικού προτύπου dB(a,h)A σε μg,
4. Βάρος δείγματος σε gr.

Αντίστοιχα στις στήλες:

1. B(a) Area
2. ISTD Area
3. ISTD Amount
4. Sample Weight.

Στη στήλη **μg Β(a)P / Kg sample** εμφανίζεται η συγκέντρωση του Β(a)P στο δείγμα σε μg/Kg.

Β' ΤΡΟΠΟΣ ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΥ

Από την εξίσωση

$$C = \frac{dBA}{BS} \times \left(\frac{AreaBap \times 371,4}{AreadBA} - 37,1 \right)$$

όπου:

C = η περιεκτικότητα σε Β(a)P στο δείγμα σε μg/Kg
dBA = Η ποσότητα του εσωτερικού προτύπου στο δείγμα σε μg
BS = Το Βάρος του δείγματος σε Gr.
AreaBap = Το εμβαδόν του Β(a)P από το χρωματογράφημα.
AreadBA = Το εμβαδόν του dB(a,h)A από το χρωματογράφημα

Τα αποτελέσματα εκφράζονται με δύο δεκαδικά ψηφία.

8. ΕΠΙΚΥΡΩΣΗ ΜΕΘΟΔΟΥ, ΕΛΕΓΧΟΣ ΠΟΙΟΤΗΤΑΣ, ΒΑΘΜΟΝΟΜΗΣΗ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ

8.1. Διαδικασία επικύρωσης σύμφωνα με το SOP 00 00 07 001.

8.1.1. Όριο Ανιχνεύσεως και όριο ποσοτικού προσδιορισμού της μεθόδου.

Για την εύρεση των ανωτέρω ορίων έγινε ανάλυση εξ αρχής σε τυφλό δείγμα (blank reagent) τρεις φορές, και σε δείγμα που δίνει απόκριση μετρήσιμη της τάξης των 2,8 ppb πάλι τρεις φορές.

Εφαρμόστηκαν οι τύποι:

$$LOD = Conc_{(std)} \times \{ avR_{(b)} + 3 \times SD_{(b)} \} / avR_{(std)}$$

$$LOQ = 3 \times LOD$$

όπου

$Conc_{(std)}$ = η συγκέντρωση σε Β(a)P 2,8 ppb, που έδωσε σαφώς μετρήσιμο σήμα

$avR_{(b)}$ = ο μέσος όρος της απόκρισης που ελήφθη από το Blank Reagent.

$SD_{(b)}$ = Η τυπική απόκλιση της απόκρισης που ελήφθη από το Blank Reagent.

$avR_{(std)}$ = ο μέσος όρος της απόκρισης που ελήφθη από το δείγμα των 2,8 ppb LOD και LOQ το όριο ανιχνεύσεως και όριο ποσοτικού προσδιορισμού αντίστοιχα.

Με τον όρο απόκριση νοείται ο λόγος των area B(a)P προς area dB(a,h)A. Τα αποτελέσματα είναι:

LOD = 0,10 ppb και LOQ = 0,29 ppb

8.1.2. Επαναληψιμότητα μεθόδου

Αναλύθηκαν (με συνθήκες επαναληψιμότητας) εξ' αρχής δύο δείγματα, έξι φορές το καθένα με επίπεδα συγκεντρώσεως 0,02 και 2,79ppb αντίστοιχα. Το δείγμα με επίπεδο συγκεντρώσεως 0,02 ppb προφανώς θεωρείται τυφλό δείγμα (blank sample) διότι το ποσοστό του είναι μικρότερο από το όριο ανιχνεύσεως. Τα αποτελέσματα είναι:

	Επίπεδο συγκεντρώσεως μg/Kg δείγματος	Τυπική απόκλιση Sr	Επαναληψιμότητα r	Σχετική τυπική απόκλιση RSD _r
δείγμα 1	0,02	0,0079	0,022	34,1
δείγμα 2	2,79	0,2645	0,741	9,5

8.1.3. Εκτίμηση της ορθότητας και της πιστότητας της μεθόδου

Επειδή δεν υπήρχε πιστοποιημένο υλικό αναφοράς, ένα δείγμα το οποίο μετά από ανάλυση δεν έδωσε ανιχνεύσιμο ποσοστό B(a)P, εμβολιάστηκε με ποσότητα 2,02 μg/Kg B(a)P και στη συνέχεια αναλύθηκε μία φορά δίδοντας αποτέλεσμα 1.95 μg/Kg. Ανάκτηση 96,5%.

Επίσης ένα δείγμα εμβολιάστηκε δύο φορές με 0,38 και 1,23 μg/Kg B(a)P αντίστοιχα. Το δείγμα έδωσε αποτελέσματα 0,58 και 1,48 μg/Kg B(a)P δηλαδή διαφορά 0,90. Η διαφορά κατά τον εμβολιασμό είναι 0,85. Ανάκτηση 105,8 %.

Σωστή εκτίμηση της ορθότητας θα γίνει μετά από ανάλυση πιστοποιημένου υλικού αναφοράς σύμφωνα με το SOP 00 00 07 001.

8.1.4. Γραμμικότητα μεθόδου

Για συγκεντρώσεις B(a)P στο δείγμα από 0 έως 2 ppb ισχύει:

$$y = 0,3714X - 0,0371 \text{ με } R^2 = 0,9991$$

8.2. Εσωτερικός Έλεγχος ποιότητας

Ο εσωτερικός έλεγχος ποιότητας περιλαμβάνει την παρακάτω διαδικασία. Μετά από κάθε 10 δείγματα ετοιμάζεται ένα δείγμα (Blank Reagent) εμβολιασμένο με ποσότητα 0,028μg B(a)P (280μL από το διάλυμα 4,13) και αναλύεται σύμφωνα με τη μέθοδο εξ' αρχής. Το Αποτέλεσμα, μετά από τους υπολογισμούς της §7 (για βάρος δείγματος 10 g) πρέπει να είναι μεταξύ των τιμών 2,27 και 3,32 σύμφωνα με την επαναληψιμότητα της μεθόδου στο επίπεδο αυτό.

Η μέθοδος δεν εφαρμόζεται ως μέθοδος ρουτίνας, αλλά αναπτύχθηκε με σκοπό να καταγραφούν οι περιεκτικότητες σε B(a)P σε καπνιστό χοιρινό κρέας σε συγκεκριμένη χρονική περίοδο και για περιορισμένο αριθμό δειγμάτων (30). Αν χρησιμοποιηθεί ως μέθοδος ρουτίνας θα πρέπει ο Εσωτερικός Έλεγχος Ποιότητας να εξασφαλίζεται με την συμπλήρωση Control Charts μετά από ανάλυση πιστοποιημένου υλικού αναφοράς, σύμφωνα με το SOP 00 00 06 004 § 8.1.

8.3. Βαθμονόμηση συστήματος

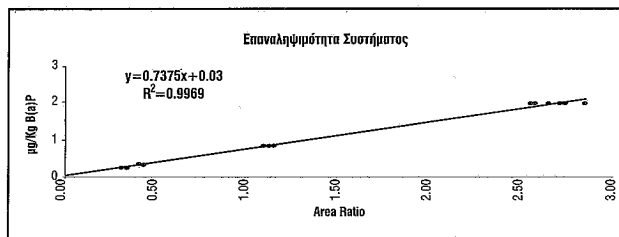
8.3.1. Γραμμικότητα συστήματος

Για συγκεντρώσεις B(a)P από 0 έως 2 ppb ισχύει:

$$y = 0,737X + 0,03 \text{ με } R^2 = 0,9969$$

8.3.2. Επαναληψιμότητα απόκρισης του συστήματος

Αναλύθηκαν μόνο κατά το στάδιο της HPLC τέσσερα επίπεδα προτύπων, 0,25 – 0,35 – 0,85 – 2,00 ppb, έξι φορές το κάθε ένα. Κατασκευάστηκε καμπύλη αναφοράς με βάση τα πρότυπα αυτά με γραμμική παλινδρόμηση μεταξύ του λόγου των αποκρίσεων των B(a)P και dB(a,h)A και της συγκεντρώσεως του B(a)P που είναι η κατωτέρω:



Βάσει της ανωτέρω καμπύλης αναφοράς και υπολογίστηκαν οι συγκεντρώσεις για κάθε μία ένεση και για κάθε επίπεδο, επίσης υπολογίστηκαν οι τυπικές αποκλίσεις τα αποτελέσματα είναι τα κατωτέρω:

	Επίπεδο συγκεντρώσεως μg/Kg δείγματος	Τυπική απόκλιση Sr	Επαναληψιμότητα r	Σχετική τυπική απόκλιση RSD _r
δείγμα 1	0,27	0,01049	0,029	4,0
δείγμα 2	0,34	0,01045	0,029	3,1
δείγμα 3	0,85	0,01790	0,050	2,1
δείγμα 4	2,00	0,08159	0,228	4,1

8.3.3. Όριο Ανιχνεύσεως και όριο ποσοτικού προσδιορισμού του συστήματος

Από τη εξίσωση της καμπύλης αναφοράς της επαναληψιμότητας του συστήματος εφαρμόστηκε ο τύπος $LOD = 3 \times S_{resid} / b$ και $LOQ = 3 \times LOD$

όπου S_{resid} = το σημείο τομής της καμπύλης με τον άξονα y και b = η κλίση της καμπύλης.

Τα αποτελέσματα είναι:

LOD = 0,12 ppb και LOQ = 0,37 ppb

8.3.4. Χρόνος κατακράτησης

Ο χρόνος κατακράτησης για κάθε συστατικό και η % τυπική απόκλιση υπολογίστηκε για τα 31 πρότυπα που αναλύθηκαν συνολικά κατά τη διαδικασία της επικύρωσης από το λογισμικό και είναι:

dB(a,h)A 30,84 min (RSD 4,07 %)

B(a)P 31,30 min (RSD 4,04 %)

8.3.5. Εκτίμηση απόκρισης

Από τον λόγο της απόκρισης του B(a)P προς την απόκριση του dB(a,h)A των 23 προτύπων διαλυμάτων με τα οποία υπολογίστηκε η επαναληψιμότητα του συστήματος και τις αντίστοιχες συγκεντρώσεις του B(a)P σε μg/Lit του ενέσιμου διαλύματος υπολογίστηκε μέσος λόγος /συγκέντρωση σε μg/Lit για όγκο ενέσεως 100 μl για

στάθμη εμπιστοσύνης 95 % (n=23) τα αποτελέσματα είναι:
λόγος {area B(a)P/area dB(a,h)A} ανά µg/Lit B(a)P = $1,42 \pm 0,22$

Στο φάκελο (ντοσιέ) της μεθόδου υπάρχει το ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Α και το ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Β.

Στο ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Α βρίσκονται όλα τα στοιχεία από τα οποία εξήχθησαν τα ανωτέρω (χρωματογραφήματα κ.λ.π.) καθώς και οι παράμετροι της μεθόδου του λογισμικού που χρησιμοποιήθηκε σε φύλλο εκτυπωμένο από το λογισμικό «Turbochrom».

Επίσης βρίσκεται σε δισκέτα το αρχείο «B a Pyrene.xls» του Excel που περιέχει όλους τους υπολογισμούς σε ομόνυμα φύλλα εργασίας.

Τέλος βρίσκονται και όλες οι μέθοδοι στις οποίες βασίστηκε η μέθοδος αυτή.

Στο ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Β βρίσκονται όλα τα στοιχεία που αφορούν τα αναλυθέντα δείγματα καπνιστού κρέατος και κρεατοσκευασμάτων.

**METHOD FOR THE DETERMINATION OF
BENZO(A)PYRENE IN MEAT AND MEAT PRODUCTS.
"IN - HOUSE" METHOD - VALIDATION**

Vassilios Tzamtzis and Irene Poulina, chemists of the General Chemical State Laboratory, Division of Food, Athens, GREECE

Scope and field of application

The method describes a procedure for the determination of benzo(a)pyrene (or 3,4 benzopyrene), an aromatic polycyclic hydrocarbon, in meat and meat

products, that have been smoked by a natural or chemical way.

This method can be considered as an "in house" method, because of the main modifications that have been carried out in the official method for the determination of benzo(a)pyrene in roasted coffee.

Principle of the method

After the homogenation and the saponification of the sample, by a KOH solution in EtOH/H₂O, the benzo(a)pyrene is extracted by cyclohexane from the unsaponifiable matter. The cyclohexane extract is passed through a SiO₂ cartridge, in order to be removed the co-extracting substances. The content of benzo(a)pyrene is determined by an HPLC analysis, by using a fluorometric detector.

This is an internal standard method and the dibenzo(a,h) anthracene is the internal standard used.

Validation data

The whole validation procedure includes both the method and the system validation.

Concerning the system validation, the following parameters have been measured :

the linearity, the repeatability, the limit of detection, the limit of quantification, as well as the estimation of the response of the system.

Concerning the method validation the parameters that have been measured are the linearity, the repeatability, the limit of detection and the limit of quantification. The trueness of the method has been estimated by measuring the recovery, as there was lack of certified reference materials.

Internal quality control

As this method has been used as a non routine method, the internal quality control was not performed by using control charts.

After the analysis of ten (10) samples, a Blank Reagent, spiked by a certain quantity of B(a)P, is analysed according to the method. The result of this analysis must have a variation between the values that the repeatability defines.



Γενική μέθοδος προσδιορισμού φυτοφαρμάκων με αεριοχρωματογραφία και εκλεκτικούς ανιχνευτές



Δ. Τσίπη

Δρ. Χημικός του Γ.Χ.Κ., Γ' Χημική Υπηρεσία Αθηνών,
Εργαστήριο Υπολειμμάτων Γεωργικών Φαρμάκων

Η μέθοδος αυτή αναπτύχθηκε στο Εργαστήριο Υπολειμμάτων Γεωργικών Φαρμάκων της Γ' Χημ. Υπηρεσίας του Γ.Χ.Κ. με σκοπό να συμπεριλάβει σε μία μέθοδο όλες τις επιμέρους αεριοχρωματογραφικές αναλύσεις.

Προήλθε από τη συγχώνευση των τελικών σταδίων 4 άλλων μεθόδων, οι οποίες βρίσκονται στο στάδιο της επικύρωσης και αφορούν προσδιορισμό οργανοφωσφορικών εντομοκτόνων και ζιζανιοκτόνων (τριαζίνες) σε δείγματα τροφίμων και νερών (Πίνακας 1).

Οι μέθοδοι αυτές περιλαμβάνουν 3 στάδια:

Οι απαιτήσεις της μεθόδου είναι οι εξής:

- ❖ Τα φυτοφάρμακα που εξετάζονται περιέχουν στο μόριό τους Ν ή Ρ και επομένως απαιτείται η χρήση ειδικών ανιχνευτών NPD ή FPD.
- ❖ Είναι πολυυπολειμματικές και επομένως απαιτούνται ιδιαίτερες συνθήκες διαχωρισμού και ευαισθησίας.
- ❖ Το εύρος της μεθόδου πρέπει να περιλαμβάνει τα αντίστοιχα των 4 άλλων μεθόδων. Αναφέρουμε ότι το νερό πρέπει να συμπυκνωθεί 2.500 φορές για να φτάσει το επίπεδο συγκέντρωσης των φυτοφαρμάκων της νέας μεθόδου.

Πίνακας 1 Μέθοδοι Προσδιορισμού Υπολειμμάτων Οργανοφωσφορικών Φυτοφαρμάκων και Τριαζινών σε Τρόφιμα/ Νερά

Προϊόντα	Νερά	Ελαιόλαδο	Προϊόντα Φυτικής Προέλευσης	Δημητριακά
Αριθμός φυτοφ/κων	18	6	6	9
MRLs ppm	0,1x10 ⁻³	0,05-2	0,05-2	0,05-2
LPLs ppm	0,05x10 ⁻³	0,02-0,2	0,05-0,2	0,05-0,2
Μέθοδος	OPT1	OP2	OP3A	OP4
Εκχύλιση	Διχλωρομεθάνιο	εξάνιο/ακετονιτρίλιο	οξείκος αιθυλεστέρας	ακετόνη
Συμπύκνωση	2.500	5	2,5	5
Τελικό συμπυκνωμ. εκχύλισμα	(1) EOPT1	(2) EOP2	(3) EOP3A	(4) EOP4

MRL: Maximum Residue Limit

LPL: Lower Practical Limit

- 1) το στάδιο της απομόνωσης των φυτοφαρμάκων
- 2) το στάδιο της συμπύκνωσης
- 3) το στάδιο του ποιοτικού και ποσοτικού προσδιορισμού των υπολειμμάτων

Στις συγκεκριμένες αυτές μεθόδους ο ποιοτικός και ποσοτικός προσδιορισμός των υπολειμμάτων που έχουν απομονωθεί στο εκχύλισμα, γίνεται με αέριο χρωματογραφία.

Το είδος και ο αριθμός των φυτοφαρμάκων που εξετάζεται σε κάθε μέθοδο εξαρτάται από τη σχετική Νομοθεσία της Ε.Ε. ή του Codex Alimentarius. Ενώ στην περίπτωση των νερών εξετάζονται τα φυτοφάρμακα που είναι πιο σταθερά σε περιβαλλοντικούς παράγοντες και αναμένεται να βρεθούν στο υδάτινο περιβάλλον.

Αντί λοιπόν για την ανάπτυξη 4 αεριοχρωματογραφικών μεθόδων οι οποίες θα περιείχαν συνολικά 39 ουσίες, μερικές εκ των οποίων θα ήταν κοινές, αναπτύχθηκε μία γενική μέθοδος προσδιορισμού 26 συνολικά διαφορετικών φυτοφαρμάκων στα εκχυλίσματα των τροφίμων και νερών, ενώ όλες οι άλλες μέθοδοι παραπέμπουν σ' αυτήν για τον τελικό αεριοχρωματογραφικό προσδιορισμό των φυτοφαρμάκων τους.

Για την ανάπτυξη της βασισθήκαμε σε ανάλογες μεθόδους της EPA και του FDA καθώς και σε οδηγίες Διεθνών Οργανισμών για τον «Αναλυτικό Ελεγχό Ποιότητας» προς τα Εργαστήρια που ασχολούνται με την ανάλυση ιχνοποσοτήτων (1,2,3). Για την τεκμηρίωσή της ακολουθήθηκαν τα βήματα του «Αναλυτικού Ελέγχου Ποιότητας» που προτείνονται στο SOP Εσωτερικού Ελέγχου SOP 07 001 του Γ.Χ.Κ.

Η απαιτούμενη ακρίβεια των αποτελεσμάτων εκφρασμένη σαν «συντελεστής διακύμανσης» πρέπει να είναι <20%.

Σημαντικό για την ποιότητα των χρωματογραφικών αποτελεσμάτων είναι το στάδιο της επιλογής των χρωματογραφικών συνθηκών. Ο διαχωρισμός των κορυφών, το σχήμα, η εκλεκτικότητα και η ευαισθησία, εξαρτώνται από την επιλογή των κατάλληλων στηλών, θερμοκρασιακού προγράμματος, ροής των αερίων.

Επίσης, για την επιβεβαίωση των αποτελεσμάτων είναι απαραίτητοι 2 διαφορετικοί ανιχνευτές και δύο στήλες διαφορετικής πολικότητας.

Για την ανάπτυξη της μεθόδου ακολουθήθηκε η εξής πορεία:

1) Παρασκευάστηκαν πρότυπα διαλύματα μεμονωμένων ουσιών από πιστοποιημένα υλικά.

2) Προσδιορίστηκαν οι χρόνοι κατακράτησης κάθε ουσίας στους δύο ανιχνευτές (NPD, FPD).

Εγινε επιλογή μιγμάτων φυτοφαρμάκων ανά ομάδες, με κριτήριο το χρόνο κατακράτησης, ώστε να μην συμπίπτουν και να μπορεί να χρησιμοποιηθεί κάθε ομάδα σε κάθε μέθοδο. Στον Πίνακα 2 φαίνεται ο συνδυασμός μιγμάτων προτύπων ουσιών ανά μέθοδο. Στο Σχήμα 1 παρουσιάζεται χαρακτηριστικό χρωματογράφημα της ομάδας mixOP2 που χρησιμοποιείται στη μέθοδο του ελαιολάδου.

Πίνακας 2 Επιλογή Προτύπων Μιγμάτων Εργασίας
Συνδυασμός: Μέθοδος- Μίγμα Προτύπων

Προϊόντα	Νερά	Ελαιόλαδο	Προϊόντα Φυτ. Προέλευσης	Δημητριακά
Μέθοδος	OPT1	OP2	OP3A	OP4
Μίγματα Προτύπων	MIXTRIAZ ULTRA MIXOP2	MIXOP2	MIXOP3	MIXOP4

Για την επικύρωση των μεθόδων προσδιορίστηκαν τα εξής:

α) Μελετήθηκε η γραμμικότητα των 26 ουσιών στους δύο ανιχνευτές και κατασκευάστηκαν 52 ευθείες γραμμικότητας. Οι Συντελεστές Γραμμικότητας κυμάνθηκαν σε αποδεκτά επίπεδα.

β) Προσδιορίστηκαν τα όρια ανίχνευσης και ποσοτικοποίησης. Ως όριο ανίχνευσης ορίστηκε η συγκέντρωση της ουσίας που παράγει χρωματογραφική κορυφή με ύψος τριπλάσιο της τυπικής απόκλισης SD του θορύβου της baseline (J.E.Knoll). Για κάθε ουσία υπολογίστηκε η επαναληψιμότητα και η αναπαραγωγιμότητα των χρόνων κατακράτησης και των εμβαδών των κορυφών.

Οι τεχνικές οι οποίες εφαρμόζονται για τον εσωτερικό έλεγχο ποιότητας είναι οι εξής:

α) Για τον έλεγχο των προσμίξεων χρησιμοποιείται η τεχνική ανάλυσης λευκού.

β) Για τον καθημερινό έλεγχο των αναλύσεων ρουτίνας χρησιμοποιούνται δείγματα ελέγχου ποιότητας που παρασκευάζονται κάθε εβδομάδα από πρότυπα με μεγάλη ακρίβεια. Οι τιμές από τις μετρήσεις των δειγμάτων ελέγχου ποιότητας τοποθετούνται σε διαγράμματα ελέγχου ποιότητας.

Για τις αναλύσεις ρουτίνας καθορίζεται η σειρά των προτύπων και των δειγμάτων στον χρωματογράφο (Σχήμα 2). Πριν από την ανάλυση των δειγμάτων υπολογίζονται οι παράγοντες βαθμονόμησης (calibration factors, τα RT και τα windows των RT).

Αν δεν ικανοποιούνται τα κριτήρια γραμμικότητας, ελέγχου ποιότητας, blanc δεν συνεχίζεται η ανάλυση των δειγμάτων.

Η μέθοδος αυτή μπορεί να εφαρμοσθεί για τον προσδιορισμό των 26 φυτοφαρμάκων (Πίνακας 3) που περιλαμβάνεται σε οποιοδήποτε εκχύλισμα τροφίμου, το οποίο δεν περιέχει παρεμποδίζουσες ουσίες για την αέρια χρωματογραφία.

Η παραπάνω μέθοδος συνδυάζει την ακρίβεια των αποτελεσμάτων

Η παραπάνω μέθοδος συνδυάζει την ακρίβεια των αποτελεσμάτων

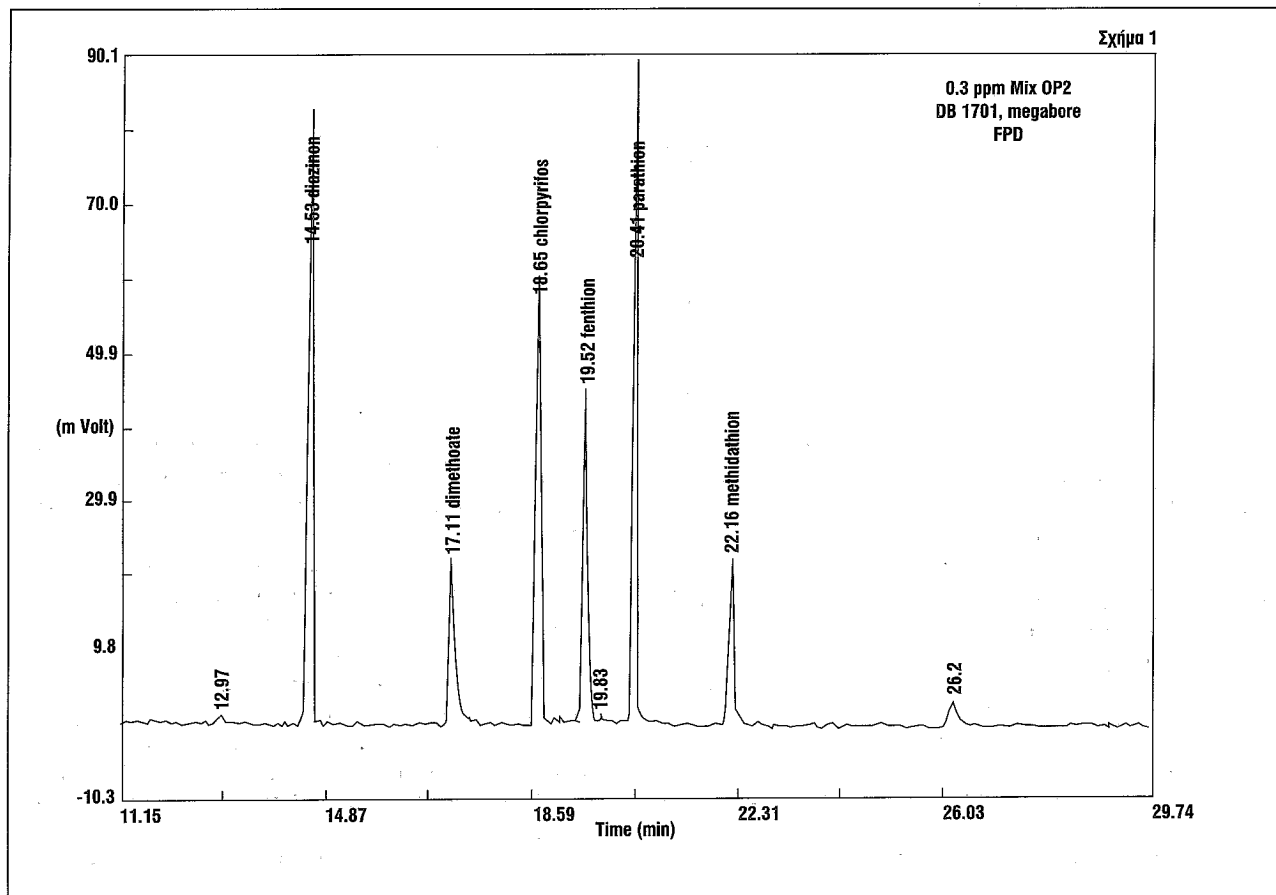
Η παραπάνω μέθοδος συνδυάζει την ακρίβεια των αποτελεσμάτων

Πίνακας 3 Οργανοφωσφορικά φυτοφάρμακα και τριαζίνες

A/A	ΟΥΣΙΑ	FPD-DB1701 RT(SD*)	NPD-CP-SIL13CB, RT(SD**)
1.	ATRAZINE		14,82 (0,006)
2.	CHLORPYRIFOS-Et	18,65 (0,03)	21,37 (0,034)
3.	CHLORPYRIFOS-Me	17,11	18,65 (0,030)
4.	DEMETON -S	14,46	13,89 (0,022)
5.	DEMETON -O	11,38	12,59
6.	DESETHYLATRAZINE		12,68 (0,016)
7.	DIAZINON	14,54 (0,02)	15,64 (0,007)
8.	DICHLORVOS	5,39	4,17 (0,008)
9.	DIMETHOATE	17,11 (0,02)	14,94 (0,045)
10.	DISULFOTON	15,52	16,01(0,005)
11.	ETHION	23,98	31,20 (0,012)
12.	ETRIMFOS	15,49	16,53 (0,025)
13.	FENITROTHION	19,77	20,67 (0,031)
14.	FENTHION	19,53 (0,03)	21,73 (0,019)
15.	MALATHION	19,43	21,23 (0,007)
16.	METHACRIFOS	9,44	8,02 (0,013)
17.	METHIDATHION	22,15 (0,03)	25,91 (0,030)
18.	METRIBUZIN		19,04 (0,003)
19.	OMETHOATE	14,47	10,90
20.	PARATHION-Et	20,40 (0,03)	21,75 (0,009)
21.	PARATHION-Me	19,07	19,10 (0,018)
22.	PIRIMIPHOS-Me	18,01	20,295 (0,030)
23.	PROMETRYN		19,55 (0,003)
24.	SIMAZINE		14,74 (0,009)
25.	TERBUTHYLAZINE		15,41 (0,005)
26.	TRIAZOPHOS	26,17	32,07

* Σε συνθήκες αναπαραγωγιμότητας (3 διαφορετικές μέρες, 6 μετρήσεις ανά μέρα)

** Σε συνθήκες επαναληψιμότητας (15 διαφορετικές μετρήσεις σε 1 μέρα)



των, η οποία προέρχεται από την εκλεκτικότητα των ειδικών ανιχνευτών και την ευαισθησία της τριχοειδούς στήλης της αέριας χρωματογραφίας, με την οικονομία χρόνου ανάλυσης και κόστους αντιδραστηρίων.

Σχήμα 2: ΠΡΟΤΕΙΝΟΜΕΝΗ ΣΕΙΡΑ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΓΙΑ GC ΑΝΑΛΥΣΗ

1. Διαλύτης (Instrument blank)
2. Δείγμα Ελέγχου Ποιότητας (ΔΕΠ)
3. Διάλυμα Βαθμονόμησης (ΚΕΣ)
4. Διάλυμα Βαθμονόμησης (ΜΕΣ)
5. Διάλυμα Βαθμονόμησης (ΑΕΣ)
6. Διαλύτης (Instrument blank)
7. Ανάκτηση
8. Δείγμα 1
9. Δείγμα 2
10.
19. Δείγμα 12

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. EPA Contract Laboratory Program, Statement of Work for Organic Analysis Multi-Media, Multi-Concentration Section III, GC Analysis of Pesticides and Arochlors.
2. FAO-WHO, Analytical Quality Control. Guidelines for Ensuring the Validity of Pesticide Residue Analysis.
3. UNITED KINGDOM ACCREDITATION SERVICE, Analytical Quality Assurance for a Trace Organics Laboratory.

DEVELOPMENT OF A GENERIC GAS CHROMATOGRAPHIC METHOD FOR THE DETERMINATION OF ORGANOPHOSPHORUS PESTICIDE RESIDUES IN VARIOUS SAMPLE EXTRACTS

Dr. Despina Tsipl, Chemist of the General Chemical State Laboratory, C' Division of Athens, Pesticide Residues Laboratory, Athens, GREECE.

A multi-residue screening system (generic) has been developed for the routine determination of organophosphorus pesticides in food and water sample extracts for regulatory purposes.

The system is based on four different extraction procedures followed by a gas chromatographic with flame-photometric and nitrogen phosphorus detection multi-residue method (GC-FPD-NPD).

Sample extracts, standards and blanks are analysed within a given analytical sequence. GC-FPD-NPD analysis begins with an initial demonstration of instrument performance and calibration of all pesticides. An instrument blank and a control sample are analysed no less than once in every 12 hours in order to monitor retention times, calibration factors and column performance.

In order to validate the GC-FPD-NPD method, the linearity, repeatability, reproducibility and detection limits were determined on two different detectors. Repeatability and reproducibility data have been obtained for the retention times and peak area values.

The method is suitable for organophosphorus pesticide residues analysis of a variety of food and water sample extracts which do not appear matrix-enhanced response effect in gas chromatography.

Προσδιορισμός αφλατοξινών B1, B2, G1 και G2 σε δείγματα Ξηρών καρπών και Ξηρών φρούτων

Ε. Φούφα, Ε. Απέργη και Σ. Ψαρουδάκης

Χημικοί της Δ/νσης Περιβάλλοντος του Γ.Χ.Κ.

1. ΣΚΟΠΟΣ ΚΑΙ ΠΕΔΙΟ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ

Η μέθοδος περιγράφει την διαδικασία ποσοτικού προσδιορισμού αφλατοξινών B1, B2, G1 και G2 σε ξηρούς καρπούς και ξηρά φρούτα. Η μέθοδος έχει ιδιαίτερη εφαρμογή στον εντοπισμό υπερβάσεων των ορίων που καθορίζονται από την Υπουργική Απόφαση 91587/92 (ΦΕΚ 642/Β/3-11-92) του Υπουργείου Γεωργίας.

2. ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Οι αφλατοξίνες εκχυλίζονται από το δείγμα με μίγμα ακετόνης/νερού, κατακρατώνται σε ανοσοβιολογική στήλη, από την οποία εκλύονται με μεθανόλη και ποσοτικοποιούνται με υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (HPLC) εφοδιασμένη με φθορισμομετρικό ανιχνευτή.

3. ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

- 3.1 Ακετόνη, Analytical Grade, (CH₃COCH₃)
- 3.2 Δισαπασταγμένο νερό,
- 3.3 Μεθανόλη HPLC, (CH₃OH)
- 3.4 Νερό HPLC,
- 3.5 Τετραϋδροφουράνιο (THF) HPLC, (C₄H₈O)
- 3.6 Μίγμα εκχύλισης : Ακετόνη/νερό 80/20 v/v,
- 3.7 Μίγμα έκλουσης (κινητή φάση HPLC): Νερό/THF 85/15 v/v,
- 3.8 Κορεσμένο διάλυμα Ιωδίου,
- 3.9 Stock πρότυπα διαλύματα αφλατοξινών B1, B2, G1, G2 100 ppm σε μεθανόλη.
- 3.10 Παρασκευή προτύπων διαλυμάτων εργασίας
Από τα stock διαλύματα των αφλατοξινών παρασκευάζονται με τις κατάλληλες αραιώσεις τα παρακάτω πρότυπα διαλύματα σε μεθανόλη/νερό, 1/1 v/v.:
 - α. 0.25 µg/L B1, B2, G1, G2
 - β. 1.25 µg/L B1, B2, G1, G2
 - γ. 2.50 µg/L B1, B2, G1, G2
- 3.11 Ανοσοβιολογικές στήλες π.χ. Rhone Poulenc Aflaprep.

4. ΣΥΣΚΕΥΕΣ ΚΑΙ ΒΟΗΘΗΤΙΚΑ ΜΕΣΑ

- 4.1 Μίξερ (Blender οικιακού τύπου),
- 4.2 Εργαστηριακός ζυγός ακρίβειας 0.01 g,
- 4.3 Ομογενοποιητής υψηλής ταχύτητας, Ultra Turax,
- 4.4 Θάλαμος Solid Phase Extraction και αντλία κενού,
- 4.5 Συσκευή Υγρής Χρωματογραφίας με φθορισμομετρικό ανιχνευτή,
- 4.6 Σύστημα Post Column Derivatisation με δυνατότητα θέρμανσης σε 75° C,
- 4.7 Στήλη: Macherey & Nagel C18,
- 4.8 Σύριγγα 100 µl για υγρή χρωματογραφία,
- 4.9 Ηθμοί 40 Whatmann
- 4.10 Ογκομετρικές φιάλες, σιφώνια και κύλινδροι

5. ΤΡΟΠΟΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

5.1 Προετοιμασία δείγματος

Ολόκληρη η ποσότητα του δείγματος περίπου 1kg μικροτεμαχίζεται στο μίξερ. Ζυγίζονται με ακρίβεια 50.0 g σε κωνική φιάλη με εσμίρισμα (των 250 mL) και προστίθενται 100 mL μίγματος ακετόνης/νερού (80/20, v/v). Το μίγμα ομογενοποιείται για 1 min στον ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας.

Σε περίπτωση αποξηραμένων φρούτων ή σταφίδων ζυγίζονται 200g δείγματος και αλέθονται μαζί με τον αντίστοιχο όγκο νερού (80 mL νερό). Από την αλεσμένη μάζα ζυγίζονται με ακρίβεια 70g (50g δείγματος + 20g νερό) και προστίθενται σταδιακά 80 mL ακετόνης. Μετά από κάθε προσθήκη το μίγμα αναδεύεται με γυάλινη ράβδο ώστε να ενσωματωθεί όλη η ποσότητα ακετόνης που προστέθηκε. Τέλος το μίγμα ομογενοποιείται όπως παραπάνω για 1 λεπτό στον ομογενοποιητή υψηλής ταχύτητας.

Στην συνέχεια το μίγμα διηθείται με ηθμό 40 Whatmann.

Λαμβάνονται με σιφώνιο 2.5 mL από το διήθημα σε ογκομετρική φιάλη των 100 mL και συμπληρώνουμε με νερό μέχρι την χαραγή.

Σημείωση: Το βήμα αυτό είναι δυνατόν να απλοποιηθεί ως εξής: Σε ογκομετρικό κύλινδρο λαμβάνονται 40 mL νερό (περίπου - η ποσότητα του νερού δεν είναι κρίσιμη). Λαμβάνεται με σιφώνιο 1.0 mL διηθήματος και προστίθεται στον κύλινδρο με το νερό. Το μίγμα αναδεύεται και είναι έτοιμο για καθαρισμό μέσω της ανοσοβιολογικής στήλης.

Λαμβάνονται 40 mL από το διάλυμα, τα οποία διαβιβάζονται μέσα από την ανοσοβιολογική στήλη με ρυθμό 1-2 mL/min. Η στήλη εκπλένεται με 20 mL νερό και στη συνέχεια οι αφλατοξίνες εκλύονται με περίπου 2 mL μεθανόλης HPLC που προστίθενται σταδιακά στη στήλη. Η μεθανόλη συλλέγεται σε εσμυρισμένο ογκομετρικό σωλήνα και συμπυκνώνεται με N₂ σε τελικό όγκο 1.0 mL. Προστίθεται 1.0 mL νερού HPLC. Το μίγμα αναδεύεται και είναι έτοιμο για ανάλυση με υγρή χρωματογραφία.

5.2 Χρωματογραφική ανάλυση

Ροή κινητής φάσης : 0.8 mL/min
Ροή Ιωδίου (αντιδραστήριο Post Column) : 0.5 mL/min
Όγκος ένεσης : 100 µL
Μήκη κύματος : Excitation 360 nm, Emission 455 nm

6. ΠΟΣΟΤΙΚΟΙ ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΙ

Η καμπύλη βαθμονόμησης καλύπτει συγκεντρώσεις προτύπων από 0.25 έως 2.5 µg/l, οι οποίες αντιστοιχούν σε συγκεντρώσεις από 1 έως 10 µg/Kg στο αρχικό δείγμα.

Η περιεκτικότητα σε αφλατοξίνες του αρχικού δείγματος υπολογίζεται από τον τύπο:

$$c = \frac{A - a}{b}$$

όπου :

c = η περιεκτικότητα σε αφλατοξίνη σε µg/Kg στο αρχικό δείγμα

A = εμβαδόν κορυφής αφλατοξίνης στο χρωματογράφημα

a = τεταγμένη επί την αρχή της καμπύλης αναφοράς

b = κλίση της καμπύλης αναφοράς

7. ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΕΠΙΚΥΡΩΣΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

7.1 Αξιολόγηση καμπύλης βαθμονόμησης - Γραμμικότητα

Για την αξιολόγηση της καμπύλης βαθμονόμησης χρησιμοποιήθηκαν τρία επίπεδα συγκεντρώσεων (χαμηλή, μέση, υψηλή) και πραγματοποιήθηκαν τετραπλοί προσδιορισμοί για κάθε συκέντρωση.

c	B1		
	1 ppb	5 ppb	10 ppb
M.O.	1112391	4443140	10009042
SD	151444	690590	360503
RSD	13.6	15.5	3.6

$r^2: 0.9936$

$\psi = -111147,4 + 993625.1 \chi$

c	B2		
	1 ppb	5 ppb	10 ppb
M.O.	813301	2754921	6105824
SD	171635	384308	208546
RSD	21.1	13.9	3.4

$r^2: 0.9922$

$\psi = 70421,8 + 591423.8 \chi$

c	G1		
	1 ppb	5 ppb	10 ppb
M.O.	1712238	7361143	13694324
SD	208528	1436604	258935
RSD	12.2	19.5	1.9

$r^2: 0.9990$

$\psi = 502883.1 + 1328690.9 \chi$

c	G2		
	1 ppb	5 ppb	10 ppb
M.O.	1061152	4469952	9492877
SD	47872	807001	263700
RSD	4.5	18.1	2.8

$r^2: 0.9979$

$\psi = -3387,7 + 939634.0 \chi$

Οι χρόνοι κατακράτησης για τις τέσσερις αφλατοξίνες υπολογίστηκαν από 12 μετρήσεις των τριών προτύπων.

	B1	B2	G1	G2
Χρόνος κατακράτησης	15.2	10.2	9.1	6.4
SD	0.6	0.3	0.3	0.2

7.2 Ορθότητα (Trueness) / Πιστότητα (Precision)

Επειδή δεν υπήρχαν πιστοποιημένα υλικά αναφοράς έγινε χρήση εμβολιασμένων δειγμάτων σε τρία επίπεδα συγκεντρώσεων.

Το δείγμα που χρησιμοποιήθηκε ήταν αράπικα φιστίκια με ελεγχόμενη απουσία αφλατοξινών.

Κάθε δείγμα αναλύθηκε από 6 φορές.

c	B1		
	1 ppb	5 ppb	10 ppb
M.O.	0.75	3.40	6.26
SD	0.099	0.121	0.080
RSD	13.3	3.6	1.3
% recovery	75	68	63

c	B2		
	1 ppb	5 ppb	10 ppb
M.O.	0.72	3.22	6.14
SD	0.054	0.117	0.154
RSD	7.5	3.6	2.5
% recovery	72	64	61

c	G1		
	1 ppb	5 ppb	10 ppb
M.O.	0.35	2.59	5.06
SD	0.073	0.185	0.290
RSD	21.1	7.1	5.7
% recovery	35	51	51

c	G2		
	1 ppb	5 ppb	10 ppb
M.O.	0.46	1.83	4.02
SD	0.074	0.143	0.151
RSD	16.04	7.85	3.76
% recovery	46	37	40

7.3 Προσδιορισμός ορίου ανίχνευσης (detection limit)

Το όριο ανίχνευσης υπολογίστηκε από χρωματογράφημα μίγματος προτύπων αφλατοξινών (B1,B2,G1,G2) χαμηλής συγκέντρωσης, με βάση τον λόγο σήματος προς θόρυβο.

$S/N = 3/1$ στην περιοχή $\pm 10w$ για την κάθε κορυφή, όπου $w =$ ημι-εύρος κορυφής

	Όριο ανίχνευσης (ppb)
B1	0.2
B2	0.04
G1	0.2
G2	0.1

VALIDATION OF IN-HOUSE METHOD FOR THE DETERMINATION OF AFLATOTOXINS (B1,B2,G1,G2) IN NUTS AND DRY FRUITS.

Eleni Foufa, Elli Apergi, Stavros Psaroudakis, Chemists of the General Chemical State Laboratory, Division of Environment, Athens, GREECE

This method describes the quantitation of Aflatoxins B1,B2,G1,G2 in nuts and dried fruit and applies especially in the determination of concentrations exceeding the limits set by the government.

Principle:

The sample is extracted by an Acetone/Water mixture, and Aflatoxins are retained on an immunoaffinity column. Methanol is used as the elution solvent and the determination is carried out by HPLC with Fluorimetric detector.

Procedure:

The entire sample quantity is chopped in a home type blender and 50g is weighed in a conical flask and homogenized after the addition of Acetone/Water solvent. The prepared mixture is filtered. 1mL of the filtrate mixed with 40 mL of water is passed through the immunoaffinity column at a given standard rate and washed with water. Aflatoxins are eluted with methanol and HPLC analysis follows using 85/15 Water/THF as the mobile phase.

Validation Data:

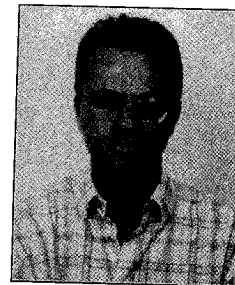
Calibration curve linearity, trueness and precision, and detection limit are determined and evaluated.

Επικύρωση της μεθόδου προσδιορισμού της περιεκτικότητας των πλαστικοποιητών DEHA και DEHP σε υλικά από PVC

Δημήτριος Σπυρόπουλος

Χημικός Μηχανικός Γ.Χ.Κ., Γ' Χ.Υ. Αθηνών,

Εργαστήριο Υλικών και Αντικειμένων σε επαφή με Τρόφιμα



1. ΣΚΟΠΟΣ

Η παρουσίαση του τρόπου εργασίας για την επικύρωση μιας αναλυτικής μεθόδου που αναπτύχθηκε στο εργαστήριο ελέγχου των "Υλικών και Αντικειμένων σε Επαφή με Τρόφιμα" της Γ' Χ. Υ. Αθηνών του ΓΧΚ και η οποία δεν πρόκειται να βρισκεται σε συχνή χρήση.

2. ΜΕΘΟΔΟΣ ΚΑΙ ΠΕΔΙΟ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ

Η μέθοδος αυτή περιγράφει τον τρόπο προσδιορισμού της περιεκτικότητας των πλαστικοποιητών αδιπικού δι-αιθυλ-εξυλεστέρα (DEHA) και φθαλικού δι-αιθυλ-εξυλεστέρα (DEHP) σε υλικά από PVC.

Η μέθοδος εφαρμόζεται σε όλα τα υλικά από PVC με περιεκτικότητες που ανήκουν στις περιοχές:

- 0-2% κ.β. και
- 2-25% κ.β.

3. ΣΥΝΤΗΜΗΣΕΙΣ

DEHA: Αδιπικός δι-αιθυλ-εξυλεστέρας, καθαρότητας μεγαλύτερης από 99%.

DEHP: Φθαλικός δι-αιθυλ-εξυλεστέρας, καθαρότητας μεγαλύτερης από 99%.

BBP: Φθαλικός βουτυλο-βενζυλεστέρας, καθαρότητας μεγαλύτερης από 99%.

THF: Τετραϋδροφουράνιο, αναλυτικής καθαρότητας.

4. ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

Τα υλικά από PVC διαλύονται σε τετραϋδροφουράνιο και ακολουθώς καταβυθίζονται με εξάνιο. Στο διάλυμα του εξανίου γίνεται αεριοχρωματογραφικός προσδιορισμός των DEHA και DEHP.

5. ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

- 5.1. Αδιπικός δι-αιθυλ-εξυλεστέρας (DEHA), καθ. >97%.
- 5.2. Φθαλικός δι-αιθυλ-εξυλεστέρας (DEHP), καθ. >97%.
- 5.3. Φθαλικός βουτυλο-βενζυλ-εστέρας (BBP).
- 5.4. Τετραϋδροφουράνιο (THF), αναλυτικής καθαρότητας.
- 5.5. n - Εξάνιο 95% (pestiscan).

6. ΣΥΣΚΕΥΕΣ ΚΑΙ ΒΟΗΘΗΤΙΚΑ ΜΕΣΑ

- 6.1. Σύστημα αέριου χρωματογράφου HP 5890 Series II Plus με ανιχνευτή FID, αυτόματο με δειγματοδότη HP 7673 και στήλη Quadrex Methyl Silicone 25m x 0.20 mm x 0.25μ (ή άλλη ανάλογη).
- 6.2. Ηλεκτρονικός ζυγός υποδιαίρεσης 0.0001gr.
- 6.3. Ογκομετρικοί κύλινδροι των 50 ml με εσμηρισμένο πάμα.
- 6.4. Γυάλινα φιαλίδια (vials) σφραγιζόμενα με το ειδικό πάμα τους.
- 6.5. Σφραγιστικό σύστημα.
- 6.6. Ογκομετρικές φιάλες των 50 ml και 25 ml.
- 6.7. Σύριγγες των 200 μl και 300 μl.
- 6.8. Σιφόνιο των 2 ml.

7. ΤΡΟΠΟΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

7.1 ΥΨΗΛΗ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ ΠΛΑΣΤΙΚΟΠΟΙΗΤΗ

7.1.1 Καμπύλη Αναφοράς

Παρασκευάζονται 5 διαλύματα με συγκεντρώσεις 20, 40, 80, 160 και 240 mg/l σε DEHA και DEHP και 50 mg/l σε BBP (εσωτερικό πρότυπο) καθώς και τυφλά.

7.1.2 Προετοιμασία του Δείγματος.

7.1.2.1. Μεμβάνες από PVC. Κόβονται δύο υποδείγματα από την υπό

εξέταση μεμβράνη επιφανείας 20 cm² το καθένα (S₁, S₂) και ζυγίζονται, οπότε λαμβάνονται οι μάζες m₁ και m₂.

7.1.2.2. Άλλα υλικά από PVC. Κόβονται δύο υποδείγματα από το υπό εξέταση υλικό βάρους 20 - 30 mg, ζυγίζονται και σημειώνονται οι μάζες τους.

7.1.2.3. Κάθε υποδείγμα τοποθετείται σε ογκομετρικό κύλινδρο με εσμήρισμα των 50 ml και προστίθενται 1.5 ml THF. Το όλον αναμιγνύεται μέχρις πλήρους διάλυσης του υλικού. Στη συνέχεια προστίθενται 23.5 ml εξανίου και το εσωτερικό πρότυπο.

7.1.2.4. Οι κύλινδροι αφήνονται για χρονικό διάστημα 1 - 2 ωρών προς διαύγηση και ακολουθεί μεταφορά 1-2 ml από τα διαλύματα σε αντίστοιχα vials τα οποία στη συνέχεια διατάσσονται στο δίσκο του αυτόματου δειγματοδότη για να ακολουθήσει η αεριοχρωματογραφική ανάλυση.

7.1.3. Αεριοχρωματογραφική Ανάλυση

7.1.3.1. Τα υπό εξέταση διαλύματα αναλύονται στον αέριο χρωματογράφο με στήλη όπως αναφέρεται στο 6.1. και ανιχνευτή FID.

7.1.3.2. Οι αεριοχρωματογραφικές συνθήκες είναι:

Ροή: 0.8 ml/min, σταθερή, split 1:20.

Θερμοκρασία Φούρνου: 80°C (παραμονή για 1min), αύξηση με ρυθμό 20°C/min μέχρι τους 260°C (παραμονή για 5min).

Θερμοκρασία Εισαγωγής: 270°C.

Θερμοκρασία ανιχνευτή: 300°C.

Χρόνοι εμφάνισης των προσδιοριστέων:

DEHA: 12.587 min

DEHP: 13.587 min

BBP : 12.173 min (εσωτερικό πρότυπο)

7.2 ΧΑΜΗΛΗ ΠΕΡΙΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ ΠΛΑΣΤΙΚΟΠΟΙΗΤΗ

7.2.1 Καμπύλη Αναφοράς - Βαθμονόμησης

Παρασκευάζονται 4 διαλύματα με συγκεντρώσεις 0.8, 1.4, 4 και 8 mg/l σε DEHA και DEHP και 2 mg/l σε BBP (εσωτερικό πρότυπο) καθώς και τυφλά.

Η κατεργασία των δειγμάτων και ο αεριοχρωματογραφικός προσδιορισμός είναι ακριβώς ίδια όπως και για τις υψηλές συγκεντρώσεις με μόνη διαφορά ότι η εισαγωγή του δείγματος στον χρωματογράφο γίνεται σε splitless mode.

8. ΕΠΙΚΥΡΩΣΗ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η επικύρωση μιας μεθόδου πρέπει να είναι ανάλογη των απαιτήσεων του εργαστηρίου και της εμπειρίας των αναλυτών που θα εφαρμόσουν την μέθοδο. Με άλλα λόγια η επικύρωση πρέπει να είναι κατάλληλη για τον σκοπό που προορίζεται.

Οι παρακάτω ερωτήσεις και οι αντίστοιχες απαντήσεις τους χρησιμοποιούνται από το εργαστήριό μας ως οδηγός για την έκταση της επικύρωσης που απαιτείται για μια αναλυτική μέθοδο.

**ΠΡΑΚΤΙΚΕΣ ΕΡΩΤΗΣΕΙΣ ΠΡΙΝ ΑΠΟ ΤΗΝ
ΕΠΙΚΥΡΩΣΗ ΜΙΑΣ ΜΕΘΟΔΟΥ ΑΝΑΛΥΣΗΣ**

- Ερώτηση 1: Υπάρχει εμπειρία από συναφείς αναλύσεις;
Είναι διεθνώς παραδεκτό ότι η εμπειρία και η γνώση των αναλυτών παίζει πολύ σημαντικό ρόλο στην εκτέλεση μιας ανάλυσης και δεν μπορεί με κανένα τρόπο να παραβλεφθεί αυτός ο παράγων.

Αν το εργαστήριο έχει εμπειρία σε παρόμοιες αναλύσεις τότε προφανώς δεν χρειάζεται να εξετάσει λεπτομερώς όλους τους παράγοντες που θα μπορούσαν να επηρεάσουν την επίδοση της μεθόδου. Η εμπειρία των αναλυτών είναι πολύτιμη στην εστίαση των προσπαθειών επικύρωσης στα στάδια εκείνα της μεθόδου που θα αναμενόταν να παρουσιάσουν πρόβλημα.

Η απάντηση στο ερώτημα αυτό μπορεί να είναι :

- Απάντηση 1 : ΝΑΙ ΟΧΙ

Για το εργαστήριό μας είναι ναι, όπως προκύπτει από τα μέχρι τώρα δείγματα που έχει εξετάσει και τα προγράμματα στα οποία έχει πάρει μέρος.

- Ερώτηση 2 : Είναι οι εξεταζόμενες ουσίες πτητικές, δραστικές ή ασταθείς;

Είναι φυσικό ότι αν συμβαίνει ένα τουλάχιστον από τα παραπάνω, θα πρέπει να δοθεί ιδιαίτερη προσοχή στην επικύρωση της μεθόδου αφού πολλοί παράγοντες θα πρέπει να προβλεφθούν με σχολαστική ακρίβεια για να είναι η επαναληψιμότητα και η αναπαραγωγιμότητα σε ικανοποιητικά επίπεδα.

Η απάντηση μπορεί να είναι

- Απάντηση 2 : ΝΑΙ ΟΧΙ

Στην συγκεκριμένη περίπτωση η απάντηση είναι όχι. Οι εξεταζόμενες ουσίες είναι σταθερές.

- Ερώτηση 3 : Η μέθοδος θα βρίσκεται σε συχνή χρήση στο εργαστήριο;

Είναι λογικό ότι για μια μέθοδο που θα χρησιμοποιείται συχνά, σε βάση ρουτίνας, η επικύρωση πρέπει να είναι πιο λεπτομερής από ότι για μια μέθοδο που θα χρησιμοποιείται περιστασιακά για την αντιμετώπιση κάποιων ερωτημάτων.

Η απάντηση μπορεί να είναι

- Απάντηση 3 : ΝΑΙ ΟΧΙ

Για το εργαστήριό μας η απάντηση είναι όχι. Στην πράξη η μέθοδος έχει χρησιμοποιηθεί στο παρελθόν εντατικά για κάποιες μικρές χρονικές περιόδους αλλά γενικά δεν χρησιμοποιείται πλέον συχνά.

- Ερώτηση 4 : Ποιός είναι ο σκοπός χρησιμοποίησης της μεθόδου;

Η απάντηση στην ερώτηση αυτή μπορεί να είναι

- Απάντηση 4 :

Έλεγχος ορίων (π.χ. : Αγορανομικά, τελωνειακά δείγματα).

Ακριβής προσδιορισμός (π.χ.: Εξάρτηση της τιμής ενός προϊόντος από την συγκέντρωση σε κάποιο συστατικό).

Στην συγκεκριμένη περίπτωση η μέθοδος αποσκοπεί στον έλεγχο ορίων της συγκέντρωσης σε αγορανομικά και τελωνειακά δείγματα.

Είναι φανερό επομένως, ότι οι απαιτήσεις για την επαναληψιμότητα και την αναπαραγωγιμότητα της μεθόδου είναι μειωμένες σε σχέση με άλλες περιπτώσεις, όπου μπορεί να απαιτείται ο ακριβής προσδιορισμός της συγκέντρωσης για οικονομικούς λόγους.

Το εργαστήριο θα πρέπει να συνεκτιμά πάντα τις απαντήσεις στα παραπάνω ερωτήματα πριν προχωρήσει στην επικύρωση μιας μεθόδου, αν δεν θέλει να ξοδεύει άσκοπα τους πόρους του.

8.1. ΓΡΑΜΜΙΚΟΤΗΤΑ

8.1.1. Υψηλές Συγκεντρώσεις

Ελέγχουμε αν για την περιοχή συγκεντρώσεων που εξετάζουμε υπάρχει γραμμική σχέση μεταξύ συγκέντρωσης και σήματος ανιχνευτή.

Όλα τα πρότυπα αναλύονται εις απλούν και χαράσσεται η καμπύλη συσχέτισης μεταξύ της συγκέντρωσης του αναλύτη και του λόγου της επιφάνειας της κορυφής αυτού προς την επιφάνεια της κορυφής του εσωτερικού προτύπου.

Επισυνάπτονται, τα διαγράμματα και οι πίνακες προσδιορισμών του Excel στο Παράρτημα.

8.1.2. Χαμηλές Συγκεντρώσεις

Λαμβάνονται υπόψη τέσσερα (4) πρότυπα όπως αναφέρονται στη μέθοδο και το μηδέν. Γίνονται έξι (6) μετρήσεις για κάθε πρότυπο.

**9. ΕΠΑΝΑΛΗΨΙΜΟΤΗΤΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ ΑΥΤΟΜΑΤΟΥ
ΔΕΙΓΜΑΤΟΔΟΤΗ + ΑΕΡΙΟΥ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΟΥ**

9.1 Λόγος επιφανειών αναλύτη και εσωτερικού προτύπου

9.1.1 Χαμηλές συγκεντρώσεις

Στις χαμηλές συγκεντρώσεις έγιναν όλες οι αναλύσεις των προτύπων εις εξαπλούν και έτσι εύκολα μπορεί να υπολογιστεί η επαναληψιμότητα του συστήματος, σύμφωνα με τον τύπο :

$$r = 2.8 s$$

όπου

r: επαναληψιμότητα

s: τυπική απόκλιση

9.2 Χρόνος κατακράτησης

9.2.1. Υψηλές συγκεντρώσεις (split)

a/a	t _r	SD _{t_r}
BBP	12,263	0,004
DEHA	12,699	0,0014
DEHP	14,004	0,0019

Πίνακας 1 DEHA σε Υψηλές Συγκεντρώσεις - Καμπύλη βαθμονόμησης

a/a	1	2	3	4	5
Συγκέντρωση (mg/l)	20	40	80	160	240
Επιφάνεια κορυφής	5146	8380	22595	38763	51019
Επιφάνεια κορυφής Εσωτερικού Προτύπου	12030	9957	13086	11289	10030
Λόγος επιφανειών	0.428	0.842	1.727	3.433	5.086

Εξίσωση συσχέτισης : $y = 0.0100 + 0.8475 x$

Συντελεστής συσχέτισης : $R = 0.9999$

Πίνακας 2 DEHP σε Υψηλές Συγκεντρώσεις - Καμπύλη βαθμονόμησης

a/a	1	2	3	4	5
Συγκέντρωση (mg/l)	20	40	80	160	240
Επιφάνεια κορυφής	5810	9250	24399	39542	51015
Επιφάνεια κορυφής Εσωτερικού Προτύπου	12030	9957	13086	11289	10130
Λόγος επιφανειών	0.483	0.929	1.865	3.502	5.036

Εξίσωση συσχέτισης : $y = 0.1011 + 0.8333 x$

Συντελεστής συσχέτισης : $R = 0.9994$

Πίνακας 3 DEHA σε Χαμηλές Συγκεντρώσεις - Καμπύλη βαθμονόμησης

Συγκέντρωση (μg/25ml)	20.1	40.8	102.0	204.0
Μέτρηση 1 (DEHA/BBP)	1987	3663	8739	17756
Μέτρηση 2 (DEHA/BBP)	4511	4001	3925	3966
Μέτρηση 3 (DEHA/BBP)	1858	4147	9076	17744
Μέτρηση 4 (DEHA/BBP)	4256	4598	4081	3927
Μέτρηση 5 (DEHA/BBP)	1910	3722	9157	18481
Μέτρηση 6 (DEHA/BBP)	4411	4183	4207	4120
Μέση τιμή y	1868	3929	8992	19994
Τυπική Απόκλιση (s _y)	4318	4415	4060	4328
Σχετική Τυπική Απόκλιση RSD _y %	1508	3898	9479	18073
Μέση τιμή x	3565	4382	4504	4178
Τυπική Απόκλιση (s _x)	1833	3709	9994	18555
Σχετική Τυπική Απόκλιση RSD _x %	4083	4176	4555	4149
Εξίσωση συσχέτισης	0.436	0.896	2.190	4.483
Συντελεστής συσχέτισης	0.01	0.01	0.05	0.1
	1.99	1.22	2.10	2.11
	20.63	41.55	100.39	204.63
	0.39	0.50	2.09	4.30
	1.91	1.19	2.09	2.06

Εξίσωση συσχέτισης
Συντελεστής συσχέτισης

$$: y = -0.0180 + 0.0220 x$$

$$: R = 0.9994$$

Πίνακας 4 DEHP σε Χαμηλές Συγκεντρώσεις - Καμπύλη βαθμονόμησης

Συγκέντρωση (μg/25ml)	20.14	40.28	100.7	201.4
Μέτρηση 1 (DEHP/BBP)	2521	3983	9642	18624
Μέτρηση 2 (DEHP/BBP)	4318	4001	3925	9366
Μέτρηση 3 (DEHP/BBP)	2605	4529	9747	18019
Μέτρηση 4 (DEHP/BBP)	4511	4598	4081	3927
Μέτρηση 5 (DEHP/BBP)	2561	3917	9747	19243
Μέτρηση 6 (DEHP/BBP)	4256	4183	4207	4120
Μέση τιμή y	2722	4205	9816	19937
Τυπική Απόκλιση (s _y)	4411	4415	4060	4328
Σχετική Τυπική Απόκλιση RSD _y %	1902	4176	10519	19047
Μέση τιμή x	3565	4382	4504	4178
Τυπική Απόκλιση (s _x)	2444	3962	10791	19522
Σχετική Τυπική Απόκλιση RSD _x %	4083	4176	4555	4149
Εξίσωση συσχέτισης	0.585	0.962	2.711	4.638
Συντελεστής συσχέτισης	0.03	0.02	0.05	0.06
	4.95	2.39	1.91	1.32
	21.60	38.30	101.25	201.38
	1.29	1.02	2.30	2.71
	5.96	2.67	2.27	1.35

Εξίσωση συσχέτισης
Συντελεστής συσχέτισης

$$: y = 0.0986 + 0.0225 x$$

$$: R = 0.9995$$

Πίνακας 5 Επαναληψιμότητα συστήματος - χαμηλές συγκεντρώσεις

Συγκέντρωση (mg/l)	DEHA	DEHP
	Επαναληψιμότητα (mg/l)	Επαναληψιμότητα (mg/l)
0.8	0.04	0.13
1.4	0.06	0.10
4	0.23	0.26
8	0.46	0.30

9.2.2. Χαμηλές συγκεντρώσεις (splitless)

a/a	t _r	SD _{t_r}
BBP	12.519	0.0053
DEHA	12.967	0.0055
DEHP	14.34	0.017

9.3. Συμμετρία.

Ελέγχεται η συμμετρία των κορυφών ώστε σύμφωνα με το τύπο:
 $S_{10} = a/b$
 όπου a,b τα πλάτη της κορυφής εκατέρωθεν του κεντρικού άξονα στο

1/10 του ύψους, το S₁₀ να παίρνει τις τιμές 0.5 έως 1.5.
 Σε κάθε περίπτωση η συμμετρία βρισκόταν μεταξύ 0.8 και 1.2

9.4. Διαχωριστική ικανότητα

Η διαχωριστική ικανότητα μεταξύ των κορυφών θα πρέπει να είναι μεγαλύτερη από 1,3 υπολογιζόμενη από την εξίσωση:

$$Resolution = \frac{t_{r1} - t_{r2}}{(w_{0.5})_1 + (w_{0.5})_2}$$

Δεν χρειάστηκε να γίνει ο υπολογισμός γιατί οι κορυφές χώριζαν πολύ καλά μεταξύ τους.

10. ΕΠΑΝΑΛΗΨΙΜΟΤΗΤΑ ΤΗΣ ΜΕΘΟΔΟΥ

10.1. Υψηλές συγκεντρώσεις (2-25% κ.β.)

Λαμβάνονται έξι (6) υπο-δείγματα μεμβράνης των 20 cm² και ζυγίζονται. Στον πίνακα 6 παρατίθενται τα αποτελέσματα ζύγισης των υπο-δειγμάτων. Ακολουθεί προσδιορισμός της συγκεντρώσεως του πλαστικοποιητή DEHA σύμφωνα με την μέθοδο που εξετάζεται. Στον πίνακα 7 παρατίθενται τα αποτελέσματα χωρίς τη διόρθωση ως προς τη μάζα και στον πίνακα 8 τα αποτελέσματα με διόρθωση ως προς τη μάζα.

Πίνακας 6 Μάζα των 6 υπο-δειγμάτων μεμβράνης για τον προσδιορισμό των πλαστικοποιητών.

α/α	Μάζα (gr)	Συμβολισμός
1	0.0266	KAT1
2	0.0242	KAT2
3	0.0238	KAT3
4	0.0221	KAT4
5	0.0253	KAT5
6	0.0240	KAT6

Μέση τιμή (x) : **0.024 gr**
 Τυπική Απόκλιση (SD) : **0.0015**
 Σχετική Τυπική Απόκλιση (RSD %) : **6.23**

Πίνακας 7 Επαναληψιμότητα προσδιορισμού περιεκτικότητας DEHA για υψηλές συγκεντρώσεις (χωρίς διόρθωση ως προς τη μάζα).

Υπο-δείγμα	Μάζα Υπο-δειγματος	Μέτρηση 1,2 $S_{\text{measurand}}/S_{\text{IS}}$	Περ/τητα mg/20cm ²
KAT1	0.0266	2.675	3.14
		2.710	3.18
KAT2	0.0242	2.385	2.80
		2.403	2.82
KAT3	0.0238	2.363	2.78
		2.360	2.77
KAT4	0.0221	2.169	2.55
		2.210	2.59
KAT5	0.0253	2.358	2.77
		2.464	2.87
KAT6	0.0240	3.101	3.65
		3.152	3.71

Μέση τιμή (x) : **2.97mg**
 Τυπική Απόκλιση (SD) : **0.38mg**
 Σχετική Τυπική Απόκλιση (RSD %) : **12.70 %**
 Επαναληψιμότητα : **1,064mg**

Πίνακας 8 Επαναληψιμότητα προσδιορισμού περιεκτικότητας DEHA για υψηλές συγκεντρώσεις (με διόρθωση ως προς τη μάζα).

Υπο-δείγμα	Μάζα Υπο-δειγματος	Μέτρηση 1,2 $S_{\text{measurand}}/S_{\text{IS}}$	Περ/τητα mg/20cm ²
KAT1	0.0266	2.675	2.83
		2.710	2.87
KAT2	0.0242	2.385	2.78
		2.403	2.80
KAT3	0.0238	2.363	2.80
		2.360	2.80
KAT4	0.0221	2.169	2.76
		2.210	2.82
KAT5	0.0253	2.358	2.63
		2.464	2.75
KAT6	0.0240	3.101	3.65
		3.152	3.71

KAT6: Outlier (Test Grubbs)

Μέση τιμή (x) : **2.78mg**
 Τυπική Απόκλιση (SD) : **0.066mg**
 Σχετική Τυπική Απόκλιση (RSD %) : **3.36 %**
 Επαναληψιμότητα : **0.1848mg**

10.2. ΧΑΜΗΛΕΣ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΕΙΣ (0-2% κ.β.)

Λαμβάνονται έξι (6) υπο-δείγματα μεμβράνης των 20 cm² και ζυγίζονται.

Στον πίνακα 9 παρατίθενται τα αποτελέσματα ζύγισης των υπο-δειγμάτων.

Πίνακας 9 Μάζα των έξι υπο-δειγμάτων μεμβράνης για τον προσδιορισμό των πλαστικοποιητών.

α/α	Μάζα (gr)	Συμβολισμός
1	0.0261	KATX1
2	0.0236	KATX2
3	0.0220	KATX3
4	0.0217	KATX4
5	0.0224	KATX5
6	0.0241	KATX6

Μέση τιμή (x) : **0.023 g**
 Τυπική Απόκλιση (SD) : **0.0016g**
 Σχετική Τυπική Απόκλιση (RSD %) : **7.08%**

Στον πίνακα 10 παρατίθενται τα αποτελέσματα χωρίς τη διόρθωση ως προς τη μάζα και στον πίνακα 11 τα αποτελέσματα με διόρθωση ως προς τη μάζα.

Πίνακας 10 Επαναληψιμότητα προσδιορισμού περιεκτικότητας DEHA για χαμηλές συγκεντρώσεις (χωρίς διόρθωση ως προς τη μάζα).

Υπο-δείγμα	Μάζα Υπο-δειγματος	Μέτρηση 1,2 $S_{\text{measurand}}/S_{\text{IS}}$	Περ/τητα mg/20cm ²
KATX1	0.0261	0.543	25.52
		0.530	24.90
KATX2	0.0236	0.475	23.41
		0.497	23.43
KATX3	0.0220	0.501	23.28
		0.471	22.72
KATX4	0.0217	0.472	21.63
		0.445	21.05
KATX5	0.0224	0.499	23.53
		0.474	22.36
KATX6	0.0241	0.522	24.54
		0.533	25.05

Μέση τιμή (x) : **23.26μg**
 Τυπική Απόκλιση (SD) : **1.28μg**
 Σχετική Τυπική Απόκλιση (RSD %) : **5 %**
 Επαναληψιμότητα : **3.584μg**

Πίνακας 11 Επαναληψιμότητα προσδιορισμού περιεκτικότητας DEHA για χαμηλές συγκεντρώσεις (με διόρθωση ως προς τη μάζα).

Υπο-δείγμα	Μάζα Υπο-δειγματος	Μέτρηση 1,2 $S_{\text{measurand}}/S_{\text{IS}}$	Περ/τητα mg/20cm ²
KATX1	0.0261	0.543	22.49
		0.530	21.93
KATX2	0.0236	0.475	22.81
		0.497	22.83
KATX3	0.0220	0.501	24.33
		0.471	23.75
KATX4	0.0217	0.472	22.93
		0.445	22.31
KATX5	0.0224	0.499	24.16
		0.474	22.96
KATX6	0.0241	0.522	23.42
		0.533	23.91

Μέση τιμή (x) : **23.15μg**
 Τυπική Απόκλιση (SD) : **0.76μg**
 Σχετική Τυπική Απόκλιση (RSD %) : **3%**
 Επαναληψιμότητα : **2.13 μg**

11. ΑΚΡΙΒΕΙΑ ΜΕΘΟΔΟΥ (ΑΝΑΚΤΗΣΗ)

6 τεμάχια μεμβράνης από PVC επιφάνειας έκαστο 20 cm² μετά από εκχύλιση με εξάνιο στεγνώνονται, ελέγχονται ώστε να επιβεβαιωθεί η απουσία πλαστικοποιητών και προστίθενται 2 mg (2.012 mg για την ακρίβεια) DEHA/20 cm². Τα δείγματα παραμένουν για 24 ώρες σε πρε-

μία. Ακολουθεί προσδιορισμός της περιεκτικότητας του DEHA. Στον πίνακα 12 παρατίθενται τα αποτελέσματα.

Πίνακας 12 Ακρίβεια της μεθόδου προσδιορισμού πλαστικοποιητών - Υψηλές συγκεντρώσεις / 2mg DEHA.

A/a	Μέτρηση (S_{mes}/S_{IS})	Μάζα Μετρούμενου (mg)
1	1.81	2.12
2	1.71	2.01
3	1.81	2.12
4	1.77	2.08
5	1.76	2.07
6	1.85	2.17
Μέση Τιμή		: 2.09mg
Τυπική Απόκλιση		: 0.06mg
Σχετική Τυπική Απόκλιση (%)		: 2.66 %
% Ανάκτηση		: 103.87%

6 τεμάχια μεμβράνης από PVC επιφάνειας έκαστο 20 cm² μετά από εκχύλιση με εξάνιο στεγνώνονται, ελέγχονται ώστε να επιβεβαιωθεί η απουσία πλαστικοποιητών και προστίθενται 80 µg DEHA και 40 µg DEHP /20cm². Τα δείγματα παραμένουν για 24 ώρες σε ημερία. Ακολουθεί προσδιορισμός της περιεκτικότητας των πλαστικοποιητών. Στον πίνακα 13 παρατίθενται τα αποτελέσματα.

Πίνακας 13 Ακρίβεια της μεθόδου προσδιορισμού πλαστικοποιητών - Χαμηλές συγκεντρώσεις / 80µg DEHA, 40 µg DEHP

a/a	DEHA (80 µg)		DEHP (40 µg)	
	Μέτρηση (S_{mes}/S_{IS})	Μάζα Μετρούμενου(mg)	Μέτρηση (S_{mes}/S_{IS})	Μάζα Μετρούμενου(mg)
1	1.63	75.01	0.79	30.65
2	1.62	74.47	0.79	30.97
3	1.60	73.6	0.70	26.57
4	1.59	73.05	0.83	32.54
5	1.57	72.28	0.72	27.64
6	1.58	72.74	0.80	31.12

Μέση Τιμή	: 73.53µg	Μέση Τιμή	: 29.91 µg
Τυπική Απόκλιση	: 1.05 µg	Τυπική Απόκλιση	: 2.30 µg
Σχετική Τυπική Απόκλιση (%)	: 1.42 %	Σχετική Τυπική Απόκλιση (%)	: 7.68 %
% Ανάκτηση	: 91.91%	% Ανάκτηση	: 74.78%

DEHA Υψηλές συγκεντρώσεις

Calibration points	5
Sum Xi	13,52915
Sum Xi^2	57,5024
Sum Yi	11,51637
Sum Yi^2	41,53682
Sum Xi * Yi	48,87051
Mean value X	2,70583
Mean value Y	2,303275
Slope B	0,8475
Intercept of calibration curve A (blank value)	0,0100
Sum (Xi - X)^2	20,89482
Sum (Xi - X) * (Yi - Y)	17,70916
Sum (Yi - Y)^2	15,01145
Standard error of estimate Sr	0,0274
Magnitude P	0,3504
Square root magnitude W	1,2452
Intercept of upper confidence bound Yupp	0,1184
Intercept of lower confidence bound Ylow	-0,0985
Degrees of freedom f = n - 2	3

12. ΣΥΝΟΠΤΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΕΠΙΚΥΡΩΣΗΣ

12.1. Υψηλές συγκεντρώσεις (2 - 25%κ.β.)

Επίπεδο συγκέντρωσης DEHA 112 µg/ml-περιεκτικότητας 11,2%

	DEHA	DEHP
Τυπική απόκλιση μεθόδου	0.066 µg/25ml	
Σχετική τυπική απόκλιση μεθόδου %	2.4 %	
Επαναληψιμότητα μεθόδου	0.18 µg/25ml	
Σχετική επαναληψιμότητα μεθόδου %	6.7 %	
Εκτεταμένη αβεβαιότητα	0.12 mg	
Σχετική εκτεταμένη αβεβαιότητα %	4.7 % (95%)	
Όριο ανίχνευσης	0,52% (5,2µg/ml)	1,4% (14µg/ml)
Όριο ποσοτικού προσδιορισμού	1,56% (15,6µg/ml)	4,2% (42µg/ml)
Συντελεστής συσχέτισης R	0.9999	0.9994
Ακρίβεια (ανάκτηση)	103.87%	

12.2. Χαμηλές συγκεντρώσεις (0 -2% κ.β.)

Επίπεδο συγκέντρωσης DEHA 4 µg/ml ---- περιεκτικότητας 0,2%

Επίπεδο συγκέντρωσης DEHP 2 µg/ml ----- περιεκτικότητας 0,1%

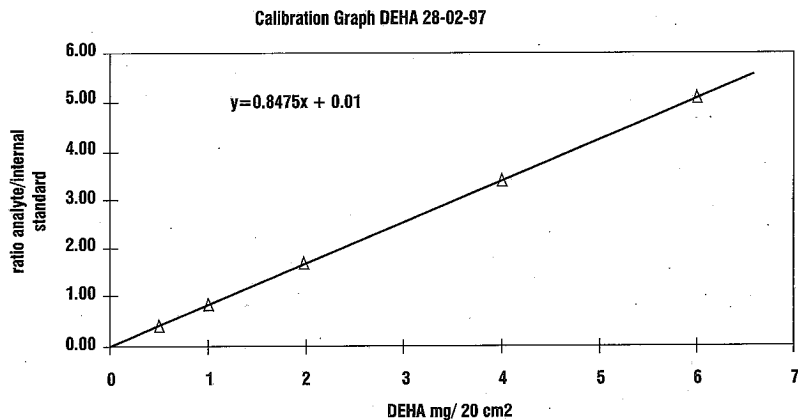
	DEHA	DEHP
Τυπική απόκλιση μεθόδου	0.76 µg/25ml	
Σχετική τυπική απόκλιση μεθόδου %	3.0 %	
Επαναληψιμότητα μεθόδου	2.13 µg/25ml	
Σχετική επαναληψιμότητα μεθόδου %	9.18 %	
Εκτεταμένη αβεβαιότητα	1.49 µg/25ml	
Σχετική εκτεταμένη αβεβαιότητα %	5.88 % (95%)	
Σχετική επαναληψιμότητα συστήματος	3.4 - 5.9%	3.7-13.9%
Όριο ανίχνευσης	0,02% (0,2µg/ml)	0,02% (0,2µg/ml)
Όριο ποσοτικού προσδιορισμού	0,06% (0,6µg/ml)	0,06% (0,6µg/ml)
Συντελεστής συσχέτισης	0.9994	0.9995
Ακρίβεια (ανάκτηση) μεθόδου	91.91%	74.78%

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

Επισυνάπτονται οι καμπύλες αναφοράς για τους πλαστικοποιητές DEHA και DEHP στις υψηλές και χαμηλές συγκεντρώσεις καθώς και τα φύλλα του excel με τους υπολογισμούς για την δημιουργία τους.

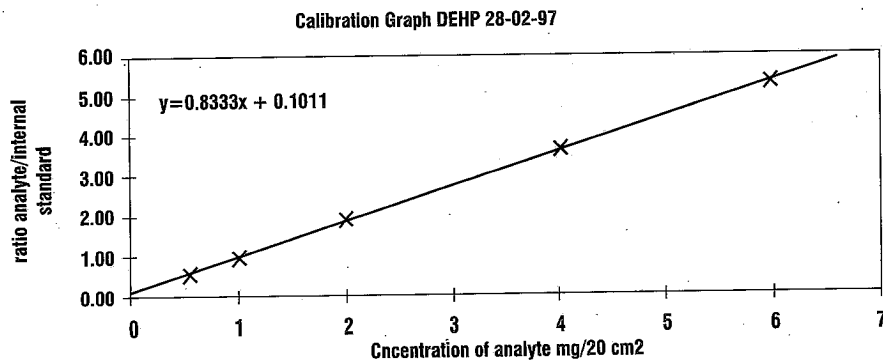
No.	Xi mg/20cm ²	DEHA area	BBP area	Yi ratio analyte/IS
1	0,501	5146	12030	0,42776
2	1,003	8380	9957	0,84162
3	2,006	22595	13086	1,72665
4	4,002	38763	11289	3,43370
5	6,017	51019	10030	5,08664
6			1	0,00000
7			1	0,00000
8			1	0,00000
9			1	0,00000
10			1	0,00000
11			1	0,00000
12			1	0,00000
13			1	0,00000
14			1	0,00000
15			1	0,00000
16			1	0,00000
17			1	0,00000

t-Value (95%)	3,1820	18	1	0,00000
Magnitude N	15,0092	19	1	0,00000
Within laboratory detection limit WDL	0,1280	20	1	0,00000
Standard error of the procedure Sr (x)	0,0323	21	1	0,00000
Square root sum (xi-x)^2	4,5711	22	1	0,00000
Standard error of the slope B	0,0060	23	1	0,00000
Correlation coefficient R	0,9999	24	1	0,00000



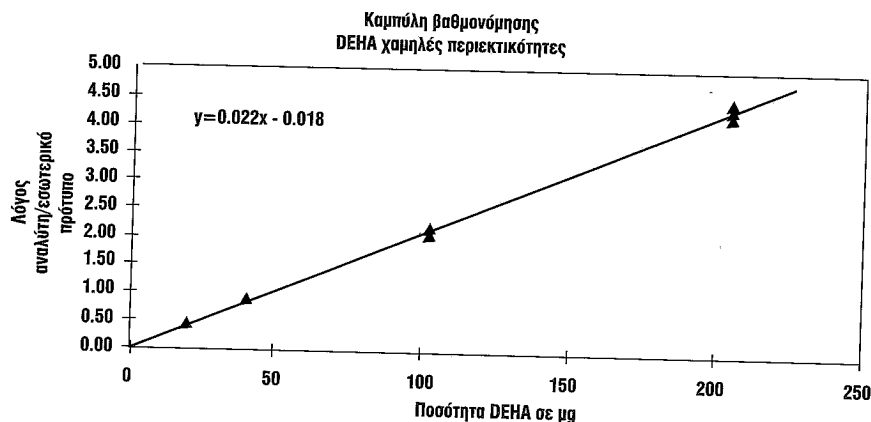
DEHP Υψηλές συγκεντρώσεις

Calibration points	5	No.	Xi mg/20cm ²	DEHA area	BBP area	Yi ratio analyte/IS
Sum Xi	13,6316	1	0,539	5810	12030	0,48296
Sum Xi^2	58,09783	2	1,008	9250	9957	0,92899
Sum Yi	11,86541	3	2,015	24399	13086	1,86451
Sum Yi^2	42,71145	4	4,028	39542	11289	3,50270
Sum Xi * Yi	49,79391	5	6,042	51015	10030	5,08624
Mean value X	2,72632	6			1	0,00000
Mean value Y	2,373082	7			1	0,00000
Slope B	0,8333	8			1	0,00000
Intercept of calibration curve A (blank value)	0,1011	9			1	0,00000
Sum (Xi - X)^2	20,93372	10			1	0,00000
Sum (Xi - X) * (Yi - Y)	17,44501	11			1	0,00000
Sum (Yi - Y)^2	14,55387	12			1	0,00000
Standard error of estimate Sr	0,0734	13			1	0,00000
Magnitude P	0,3551	14			1	0,00000
Square root magnitude W	1,2470	15			1	0,00000
Intercept of upper confidence bound Yupp	0,3924	16			1	0,00000
Intercept of lower confidence bound Ylow	-0,1901	17			1	0,00000
Degrees of freedom f = n - 2	3	18			1	0,00000
t-Value (95%)	3,1820	19			1	0,00000
Magnitude N	14,53771	20			1	0,00000
Within laboratory detection limit WDL	0,3495	21			1	0,00000
Standard error of the procedure Sr (x)	0,0881	22			1	0,00000
Square root sum (xi-x)^2	4,5753	23			1	0,00000
Standard error of the slope B	0,0160	24			1	0,00000
Correlation coefficient R	0,9994					



DEHA Χαμηλές συγκεντρώσεις

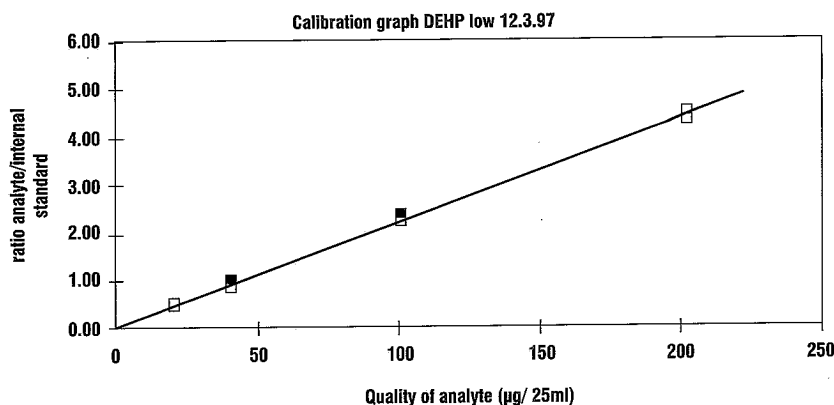
Calibration points		24					
Sum Xi		2203,2	No.	Xi µg/20cm ²	DEHA area	BBP area	Yi ratio analyte/IS
Sum Xi ²		324604,8	1	20,4	1869	4318	0,43284
Sum Yi		48,02898	2	20,4	1987	4511	0,44048
Sum Yi ²		155,3805	3	20,4	1858	4256	0,43656
Sum Xi*Yi		7100,322	4	20,4	1910	4411	0,43301
Mean value X		91,8	5	20,4	1508	3565	0,42300
Mean value Y		2,001208	6	20,4	1833	4083	0,44893
Slope B		0,0220	7	40,80	3663	4001	0,91552
Intercept of calibration curve A (blank value)		-0,0180	8	40,80	4147	4598	0,90191
Sum (Xi - X) ²		122351	9	40,80	3722	4183	0,88979
Sum (Xi - X) * (Yi - Y)		2691,262	10	40,80	3929	4415	0,88992
Sum (Yi - Y) ²		59,2645	11	40,80	3898	4382	0,88955
Standard error of estimate Sr		0,0551	12	40,80	3709	4176	0,88817
Magnitude P		0,0689	13	102,00	8739	3925	2,22650
Square root magnitude W		1,0538	14	102,00	9076	4081	2,22396
Intercept of upper confidence bound Y upp		0,1025	15	102,00	9157	4207	2,17661
Intercept of lower confidence bound Y low		-0,1386	16	102,00	8992	4060	2,21478
Degrees of freedom f = n - 2		22	17	102,00	9479	4504	2,10457
t-Value (95%)		2,0740	18	102,00	9994	4555	2,19407
Magnitude N59,19761			19	204,00	17756	3966	4,47705
Within laboratory detection limit WDL		5,4788	20	204,00	17744	3927	4,51846
Standard error of the procedure Sr (x)		2,5067	21	204,00	18481	4120	4,48568
Square root sum (xi-x) ²		349,7871	22	204,00	19994	4328	4,61969
Standard error of the slope B		0,0002	23	204,00	18073	4178	4,32575
Correlation coefficient R		0,9994	24	204,00	18555	4149	4,47216



DEHP Χαμηλές συγκεντρώσεις

Calibration points		24					
Sum Xi		2175,12	No.	Xi µg/20cm ²	DEHA area	BBP area	Yi ratio analyte/IS
Sum Xi ²		316383,3	1	20,14	2521	4318	0,58384
Sum Yi		51,39305	2	20,14	2605	4511	0,57748
Sum Yi ²		170,6961	3	20,14	2561	4256	0,60174
Sum Xi*Yi		7345,689	4	20,14	2722	4411	0,61709
Mean value X		90,63	5	20,14	1902	3565	0,53352
Mean value Y		2,141377	6	20,14	2444	4083	0,59858
Slope B		0,0225	7	40,28	3983	4001	0,99550
Intercept of calibration curve A (blank value)		0,0986	8	40,28	4529	4598	0,98499
Sum (Xi - X) ²		119252,2	9	40,28	3917	4183	0,93641
Sum (Xi - X) * (Yi - Y)		2687,937	10	40,28	4205	4415	0,95243
Sum (Yi - Y) ²		60,64422	11	40,28	4176	4382	0,95299
Standard error of estimate Sr		0,0515	12	40,28	3962	4176	0,94875
Magnitude P		0,0689	13	100,70	9642	3925	2,45656
Square root magnitude W		1,0538	14	100,70	9747	4081	2,38839
Intercept of upper confidence bound Y upp		0,2111	15	100,70	9747	4207	2,31685
Intercept of lower confidence bound Y low		-0,0139	16	100,70	9816	4060	2,41773
Degrees of freedom f = n - 2		22	17	100,70	10519	4504	2,33548
t-Value (95%)		2,0740	18	100,70	10791	4555	2,36905
Magnitude N		60,58594	19	201,40	18624	3966	4,69592
Within laboratory detection limit WDL		4,9908	20	201,40	18019	3927	4,58849

Standard error of the procedure Sr (x)	2,2835	21	201,40	19243	4120	4,67063
Square root sum $(\sum(x_i-x)^2)$	345,3291	22	201,40	19937	4328	4,60652
Standard error of the slope B	0,0001	23	201,40	19047	4178	4,55888
Correlation coefficient R	0,9995	24	201,40	19522	4149	4,70523



VALIDATION OF THE METHOD FOR THE DETERMINATION OF THE CONTENT OF THE PLASTICIZERS DEHA AND DEHP IN PVC MATERIALS

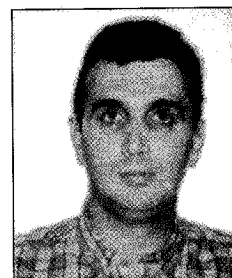
Dimitrios Spyropoulos, Chemical Engineer of the General Chemical State Laboratory, C' Division of Athens, Laboratory of Materials and Articles intended to come in contact with Foodstuffs, Athens, GREECE.

The validation of an analytical method for the determination of the plasticizers content of a PVC material is described here. The most commonly used plasticizers are DEHA and DEHP. Particularly for food contact materials, the DEHA is almost exclusively used due to its lower toxicity. The laboratory has a lot of experience in the application, control and development of similar methods and is going to use the method for the control of the statutory limits of these plasticizers in the plastics materials for food contact applications. The method is not to be used at a routine base.

Παρατηρήσεις και διαπιστώσεις κατά την επικύρωση μεθόδων στα χημικά εργαστήρια

Ιωάννης Γ. Γρηγοριάδης

Χημικός Μηχανικός Γενικού Χημείου Κράτους



A. ΧΡΗΣΗ ΤΩΝ BCR

Σύμφωνα με το SOP 00 00 06 003 παράγρ. 4.6.1. ο έλεγχος της επαναληψιμότητας μιας αναλυτικής διαδικασίας σε ένα εργαστήριο με την χρήση πιστοποιημένων υλικών αναφορές γίνεται με ένα χ^2 -test, όπου συγκρίνεται ο λόγος $\chi_c^2 = (s_w/\sigma_{w_0})^2$ με την τιμή του χ^2 -table = $\chi^2_{n-1, 0.95/(n-1)}$ που λαμβάνεται από πίνακες.

Την απαιτούμενη τιμή της τυπικής απόκλισης (σ_{w0}) είτε την βρίσκουμε στο πιστοποιητικό στη θέση -(within data sets SD)- είτε την υπολογίζουμε με χρήση μονόδρομης ANOVA, από τη σχέση:

$$\sigma_{w_0} = \left\{ \left[\sum_{j=1}^p (n_j - 1) \cdot s_j^2 \right] / [N - P] \right\}^{1/2}$$

όταν δεν υπάρχει.

Ιδιαίτερα χρήσιμη είναι η ανωτέρω σχέση για στατιστική σύγκριση με τις ενδεικτικές τιμές (πλην των πιστοποιημένων) που αναφέρονται στο BCR, καταγράφονται οι μετρήσεις των εργαστηρίων που συμμετείχαν και μπορούν να αξιοποιηθούν και αυτές όταν αναλύουμε το BCR.

ΠΑΡΑΔΕΙΓΜΑΤΑ

α) Τα αποτελέσματα της χοληστερόλης - πιστοποιημένης τιμής στο BCR - καταγράφονται στον Πίνακα 1.

Υπολογίζεται η σ_{w0} με μονόδρομη ANOVA από τη σχέση

$$\sigma_{w_0} = \left\{ \left[\sum_{j=1}^p (n_j - 1) \cdot s_j^2 \right] / [N - P] \right\}^{1/2}$$

όπου

P = ο αριθμός των εργαστηρίων

n_j = ο αριθμός των μετρήσεων που πραγματοποιεί το εργαστήριο j

s_j = η τυπική απόκλιση του εργαστηρίου j

N = $\sum_{j=1}^p n_j$ = Το σύνολο των μετρήσεων όλων των εργαστηρίων

στο παράδειγμα της χοληστερόλης έχουμε:

$$N = n_1 + n_2 + n_3 + n_4 + n_5 + n_6 + n_7 = 5 + 3 + 6 + 3 + 6 + 6 + 6 = 35$$

$$P = 7$$

$$\sigma_{w_0} = \left\{ \left[(5-1) \cdot 0,13461^2 + (3-1) \cdot 0,07767^2 + (6-1) \cdot 0,18435^2 + (3-1) \cdot 0,25813^2 + (6-1) \cdot 0,11089^2 + (6-1) \cdot 0,30166^2 + (6-1) \cdot 0,12111^2 \right] / [35-7] \right\}^{1/2} = 0,18685 \text{ mg/100gr.}$$

Πίνακας 1

Results Accepted for Certification of Cholesterol in BCR CRM 162
Cholesterol in mg/100gr oil

DATA SET	NUM REPLICATES						MEAN	ST.DEV
L140B	5	2,16000	2,22000	2,10000	2,32000	2,44000		
L120B	3	2,99000	3,03000	3,14000			2,24800	0,13461
L80B	6	2,85000	2,80000	3,05000	2,55000	2,93000	3,05333	0,07767
L8NB	3	2,31000	2,26000	1,84000		2,64000	2,80333	0,18435
L50B	6	1,93000	2,08000	1,91000	2,02000	2,21000	2,13667	0,25813
L40B	6	3,10000	2,90000	3,40000	2,80000	3,40000	2,02167	0,11089
L20B	6	1,90000	1,90000	2,10000	2,20000	2,00000	2,70000	0,30166
						2,10000	3,05000	0,12111
							2,03333	

Πίνακας 2

STATISTICAL EVALUATION

Summary of the Statistical Data for BCR CRM 162(cholesterol mass fraction of oil).

RM no.	BCR CRM 162 (soya-maize oil blend)
Number of data sets	7
Number of replicate measurements	35
Unit (mass fraction)	mg/100gr
Mean of means	2,47805
SD of means	0,47248
Half-width of the 95% confidence interval	0,43697
Within- data sets SD	0,18685
Between- data sets SD	0,46279
Outlying or straggl.mean values? (Nalimov+Dixon tests)	no
Outlying or straggl. variances? (Cochran test)	no
Variances homogeneous? (Bartlett test)	yes (at 95% significance)
Distribution of means normal? (Kolmogorov-Smirnov-Lilliefors test)	yes (at 95% significance)

Πίνακας 3

Results Accepted for an Indicative Value for Campesterol in BCR CRM 162.
Campesterol in mg/100gr oil

DATA SET	NUM REPLICATES						MEAN	ST.DEV
L120B	3	139,280	139,740	136,660			138,560	1,661
L8NB	3	136,510	137,120	136,420			136,683	0,381
L50B	6	128,710	127,990	128,730	125,680	127,510	127,450	1,126
L20B	3	142,400	148,000	141,300			143,900	3,593

ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Τα στοιχεία των παραπάνω Πινάκων 1,2 και 3 προέρχονται από το πιστοποιητικό που συνοδεύει το πιστοποιημένο υλικό αναφοράς BCR CRM 162.

Το ίδιο αποτέλεσμα είναι καταχωρημένο στο πιστοποιητικό του BCR στη θέση within data sets SD, όπως φαίνεται στον Πίνακα 2.

β) Τα αποτελέσματα της καμπεστερόλης - ενδεικτική (μη πιστοποιημένη) τιμή στο BCR - καταγράφονται στον Πίνακα 3.

Η σωο δεν είναι καταχωρημένη στο πιστοποιητικό του BCR υπολογίζεται όμως από την ανωτέρω σχέση.

$$N = n_1 + n_2 + n_3 + n_4 = 3 + 3 + 6 + 3 = 15$$

$$P = 4$$

$$\sigma_{wo} = \{ [(3-1) \cdot 1,661^2 + (3-1) \cdot 0,381^2 + (6-1) \cdot 1,126^2 + (3-1) \cdot 3,593^2] / [15-4] \}^{1/2} = 1,85783 \text{ mg/100gr.}$$

Η υπολογισθείσα σ_{wo} μπορεί να χρησιμοποιηθεί περαιτέρω σε έλεγχο επαναληψιμότητας με χ^2 -test.

Β. ΤΥΠΙΚΕΣ ΑΠΟΚΛΙΣΕΙΣ ΔΕΥΤΕΡΟΓΕΝΟΥΣ ΥΛΙΚΟΥ ΑΝΑΦΟΡΑΣ ΚΑΙ ΠΙΣΤΟΠΟΙΗΜΕΝΟΥ ΥΛΙΚΟΥ ΑΝΑΦΟΡΑΣ (BCR)

Εξετάζοντας κάποιο BCR και κατόπιν δευτερογενές υλικό αναφοράς στο ίδιο επίπεδο συγκέντρωσης παρατηρούμε ότι άλλοτε έχουμε τυπική απόκλιση $S_{\text{δευτερογ.υλικού αναφ.}} \leq S_{\text{BCR}}$ και άλλοτε $S_{\text{δευτερογ.υλικού αναφ.}} > S_{\text{BCR}}$.

Σαν κοινή αρχή μπορούμε να δεχτούμε:

α) ως τυπική απόκλιση της μεθόδου να θεωρείται για το εργαστήριο και να δίδεται προς τα έξω αυτή που προκύπτει από την εξέταση του BCR (για κάθε επίπεδο συγκέντρωσης) αφού βέβαια ελεγχθεί με ένα χ^2 -test ότι η επαναληψιμότητα είναι αποδεκτή.

β) ως τυπική απόκλιση για χρήση στον εσωτερικό έλεγχο ποιότητας να θεωρείται αυτή που προκύπτει κατά την εξέταση εκάστου δευτερογενούς υλικού αναφοράς (για κάθε επίπεδο συγκέντρωσης).

ΠΡΟΣΟΧΗ όμως θα ελέγχονται και οι τυπικές αποκλίσεις της περίπτωσης β) με μια στατιστική δοκιμασία (π.χ με ένα χ^2 -test) ώστε να μην διαφοροποιούνται σε τετοιο βαθμό που να μην μπορούν να γίνουν δεκτές.

ΠΑΡΑΔΕΙΓΜΑ

Σε επίπεδο συγκέντρωσης (c_1) για το παλμιτικό οξύ έστω ότι από 7 μετρήσεις που εκτελούμε στο BCR υπολογίζεται ότι $S_{BCR} = 0,14$.

Στο πιστοποιητικό του BCR είτε αναφέρεται είτε υπολογίζουμε με μονόδρομη ANOVA την απαιτούμενη τυπική απόκλιση σ_{wo} η οποία έστω ότι για το παλμιτικό οξύ είναι $\sigma_{wo} = 0,18$.

Εκτελούμε 15 μετρήσεις με ένα δευτερογενές υλικό αναφοράς και στο ίδιο επίπεδο συγκέντρωσης (c_1) για το παλμιτικό οξύ βρίσκουμε $S_{\text{δευτερογ.υλικού αναφ}} = 0,22$

Εφαρμόζουμε κατόπιν ένα χ^2 -test όπου για μεν το BCR προκύπτει:

$$\chi_c^2 = (0,14/0,18)^2 = 0,60$$

$$\chi^2\text{-table} = \frac{\chi^2 n - 1, 0,95}{n-1} = \frac{12,59}{7-1} = 2,10$$

Η τιμή $\chi^2_{n-1,0,95}$ λαμβάνεται από τον Πίνακα 4 που ακολουθεί για $n = (n-1)$ βαθμούς ελευθερίας και στάθμη εμπιστοσύνης 95% .

Επειδή $\chi_c^2 = 0,60 < \chi^2\text{-table} = 2,10$ η επαναληψιμότητα για την εξέταση του BCR είναι αποδεκτή.

Για το δευτερογενές υλικό αναφοράς προκύπτει:

$$\chi_c^2 = (0,22/0,18)^2 = 1,49$$

$$\chi^2\text{-table} = \frac{\chi^2 n - 1, 0,95}{n-1} = \frac{23,68}{15-1} = 1,69$$

Επειδή $\chi_c^2 = 1,49 < \chi^2\text{-table} = 1,69$ η επαναληψιμότητα για την εξέταση του δευτερογενούς υλικού αναφοράς είναι αποδεκτή.

Αν όμως $S_{\text{δευτερογ.υλικού αναφ}} = 0,26$ στο ίδιο επίπεδο συγκέντρωσης (c_1) για το παλμιτικό οξύ, με 15 μετρήσεις, τότε:

$$\chi_c^2 = (0,26/0,18)^2 = 2,09$$

$$\chi^2\text{-table} = \frac{\chi^2 n - 1, 0,95}{n-1} = \frac{23,68}{15-1} = 1,69$$

Επειδή $\chi_c^2 = 2,09 > \chi^2\text{-table} = 1,69$ η επαναληψιμότητα και κατά συνέπεια η τυπική απόκλιση $S_{\text{δευτερογ.υλικού αναφ}} = 0,26$ δεν μπορεί να γίνει δεκτή, και συνεπώς δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε διάγραμμα ελέγχου ποιότητας (QC).

Στην περίπτωση αυτή το εργαστήριο αναζητά την αιτία της στατιστικά σημαντικής διαφοράς μεταξύ S_{BCR} και $S_{\text{δευτερογ.υλικού αναφ}}$ και προβαίνει σε διορθωτικές ενέργειες.

Πίνακας 4

Κριτικές τιμές της κατανομής χ^2 -τετράγωνο (χ^2_v)

Στάθμη εμπιστοσύνης

βαθμοί ελευθερίας v	90%	95%	97,5%	99%
1	2,71	3,84	5,02	6,63
2	4,61	5,99	7,38	9,21
3	6,25	7,81	9,35	11,34
4	7,78	9,49	11,14	13,28
5	9,24	11,07	12,83	15,09
6	10,64	12,59	14,45	16,81
7	12,02	14,07	16,01	18,48
8	13,36	15,51	17,53	20,09
9	14,68	16,92	19,02	21,67
10	15,99	18,31	20,48	23,21
11	17,28	19,68	21,92	24,73
12	18,55	21,03	23,34	26,22
13	19,81	22,36	24,74	27,69
14	21,06	23,68	26,12	29,14
15	22,31	25,00	27,49	30,58
16	23,54	26,30	28,85	32,00
17	24,77	27,59	30,19	33,41
18	25,99	28,87	31,53	34,81
19	27,20	30,14	32,85	36,19
20	28,41	31,41	34,17	37,57
21	29,62	32,67	35,48	38,93
22	30,81	33,92	36,78	40,29
23	32,01	35,17	38,08	41,64
24	33,20	36,42	39,36	42,98
25	34,38	37,65	40,65	44,31
26	35,56	38,89	41,92	45,64
27	36,74	40,11	43,19	46,96
28	37,92	41,34	44,46	48,28
29	39,09	42,56	45,72	49,59
30	40,26	43,77	46,98	50,89
40	51,81	55,76	59,34	63,69
50	63,17	67,50	71,42	76,15
60	74,40	79,08	83,30	88,38
70	85,53	90,53	95,02	100,4
80	96,58	101,9	106,6	112,3
90	107,6	113,1	118,1	124,1
100	118,5	124,3	129,6	135,8

ΣΗΜΕΙΩΣΗ: Τα στοιχεία του παραπάνω Πίνακα 4 ελήφθησαν από το βιβλίο: Χ.Ζαχαροπούλου (1989) «ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ μέθοδοι-εφαρμογές» Τόμος Α', Έκδοση Β.

Γ. ΤΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ S_r (υπο συνθήκες επαναληψιμότητας) ΚΑΙ ΤΥΠΙΚΗ ΑΠΟΚΛΙΣΗ S_L (υπο συνθήκες ενδοεργαστηριακής αναπαραγωγιμότητας)

Σύμφωνα με το SOP 00 00 07 001 παραγρ. 8.1.5. για την επικύρωση μεθόδου στο εργαστήριο προσδιορίζεται η ενδοεργαστηριακή επαναληψιμότητα ή/και η ενδοεργαστηριακή αναπαραγωγιμότητα.

Ετσι δεν υποχρεωνόμαστε στο φάκελλο τεκμηρίωσης να συμπεριλάβουμε και τις δυο τυπικές αποκλίσεις S_r , S_L .

Ιδιαίτερα σε πολύπλοκες και χρονοβόρες αναλύσεις όπου δεν υπάρχει η πολυτέλεια και ο χρόνος να δουλευτεί εξαρχής και συστηματικά από πολλά άτομα η συγκεκριμένη ανάλυση, αρκεί πρακτικά ο υπολογισμός μόνο της S_r .

Όπου όμως έχουν υπολογισθεί στο ίδιο εργαστήριο για την ίδια μέθοδο S_r και S_L

θα πρέπει να ελέγχεται με μια στατιστική δοκιμασία η μεταξύ τους σχέση και να αποδεικνύεται ότι δεν διαφέρουν στατιστικά σημαντικά. Ιδιαίτερα αν η S_L είναι μεγαλύτερη από $1,6 \cdot S_r$ που δίδεται από εμπειρική σχέση (SOP 00 00 07 001 παραγρ.8.6) ο έλεγχος καθίσταται απαραίτητος και γίνεται είτε με F-test, είτε με χ^2 -test εφόσον υπάρχει και συνεξετάζεται κάποιο BCR, είτε με κάποια άλλη στατιστική δοκιμασία.

Αν η διαφορά S_L και S_r είναι στατιστικά σημαντική τότε η S_L δεν γίνεται δεκτή και θα πρέπει να ξαναυπολογιστεί ενδεχομένως με διαφοροποίηση στην ομάδα των αναλυτών που θα χρησιμοποιηθούν.

ΠΑΡΑΔΕΙΓΜΑ

Σε επίπεδο συγκέντρωσης (c_1) βρέθηκε πειραματικά στο εργαστήριο με μια μέθοδο, υπο συνθήκες ενδοεργαστηριακής επαναληψιμότητας $S_r = 0,03$ από 6 μετρήσεις σε ένα δείγμα.

Στο ίδιο επίπεδο συγκέντρωσης (c_1) βρέθηκε πειραματικά στο ίδιο εργαστήριο με την ίδια μέθοδο και στο ίδιο δείγμα, υπο συνθήκες ενδοεργαστηριακής αναπαραγωγιμότητας $S_L = 0,12$ από 8 μετρήσεις.

Στο ίδιο επίπεδο συγκέντρωσης (c_1) συνεξετάστηκε BCR με την ίδια μέθοδο, στο ίδιο εργαστήριο και βρέθηκε $S_{BCR} = 0,05$ από 7 μετρήσεις ενώ παράλληλα υπολογίστηκε με μονόδρομη ANOVA (ή δόθηκε απευθείας η τιμή από το πιστοποιητικό του BCR) η $\sigma_{w_0} = 0,07$.

Παρατηρούμε ότι:

α) $S_L / S_r = 0,12/0,03 = 4$ αρκετά μεγαλύτερη από το 1,6 της εμπειρικής σχέσης.

β) εφαρμογή F-test

$F_{\text{πειραμ.}} = S_L^2 / S_r^2 = 0,12^2 / 0,03^2 = 16 > F_{\text{theor}} = 4,88$ (για 7 βαθμούς ελευθερίας για τον αριθμητή, 5 βαθμοί ελευθερίας για τον παρανομαστή και 95% επίπεδο εμπιστοσύνης).

Οι τιμές F_{theor} ενός άκρου δίνονται από τον Πίνακα 5, που ακολουθεί.

γ) εφαρμογή χ^2 -test

$$\chi_c^2 = (S_L / \sigma_{w_0})^2 = (0,12/0,07)^2 = 2,94 > \chi^2\text{-table} = \frac{\chi_{n-1,0,95}^2}{n-1} = \frac{14,07}{8-1} = 2,01$$

Οι τιμές $\chi_{n-1,0,95}^2$ δίνονται στον Πίνακα 4.

Από τα α), β), γ) συνάγεται ότι διαφέρουν στατιστικά σημαντικά οι S_L και S_r στο συγκεκριμένο επίπεδο συγκέντρωσης (c_1), **δεν γίνεται δεκτή η S_L και προβαίνουμε σε διορθωτικές ενέργειες.**

Αν στο ίδιο παράδειγμα η $S_L = 0,09$ αντί 0,12 πάλι από 8 μετρήσεις, τότε

α) $S_L / S_r = 0,09/0,03 = 3$ τιμή μεγαλύτερη από το 1,6 της εμπειρικής σχέσης.

β) εφαρμογή F-test

$F_{\text{πειραμ.}} = S_L^2 / S_r^2 = 0,09^2 / 0,03^2 = 9 > F_{\text{theor}} = 4,88$ (για 7 βαθμούς ελευθερίας για τον αριθμητή, 5 βαθμοί ελευθερίας για τον παρανομαστή και 95% επίπεδο εμπιστοσύνης).

γ) εφαρμογή χ^2 -test

$$\chi_c^2 = (S_L / \sigma_{w_0})^2 = (0,09/0,07)^2 = 1,65 < \chi^2\text{-table} = \frac{\chi_{n-1,0,95}^2}{n-1} = \frac{14,07}{8-1} = 2,01$$

Συνεπώς **μπορεί να γίνει δεκτή η $S_L = 0,09$** αφού ικανοποιείται μία έστω δοκιμασία, το χ^2 -test.

Αν στο αρχικό παράδειγμα η $S_r = 0,06$ αντί 0,03 πάλι από 6 μετρήσεις τότε

α) $S_L / S_r = 0,12/0,06 = 2$ τιμή μεγαλύτερη από το 1,6 της εμπειρικής σχέσης.

β) εφαρμογή F-test

$F_{\text{πειραμ.}} = S_L^2 / S_r^2 = 0,12^2 / 0,06^2 = 4 < F_{\text{theor}} = 4,88$ (για 7 βαθμούς ελευθερίας για τον αριθμητή, 5 βαθμοί ελευθερίας για τον παρανομαστή και 95% επίπεδο εμπιστοσύνης).

γ) εφαρμογή χ^2 -test

$$\chi_c^2 = (S_L / \sigma_{w_0})^2 = (0,12/0,07)^2 = 2,94 < \chi^2\text{-table} = \frac{\chi_{n-1,0,95}^2}{n-1} = \frac{14,07}{8-1} = 2,01$$

Συνεπώς **μπορεί να γίνει δεκτή η $S_L = 0,12$** αφού ικανοποιείται μία έστω δοκιμασία, το F-test.

Συμπερασματικά μπορεί να γίνει δεκτή η S_L όταν υπάρχει έστω και μια στατιστική δοκιμασία (π.χ. F-test ή χ^2 -test) όπου με ρεαλιστικές παραδοχές και προσεγγίσεις αποδεικνύεται ότι εκπληρούται.

ΠΙΝΑΚΑΣ 5 Κριτικές τιμές της κατανομής F ενός άκρου για επίπεδο εμπιστοσύνης 95%.

βαθμοί ελευθερίας αριθμητή

βαθμοί ελευθ. Παρανομαστή	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	14	16	20
1	161	200	216	225	230	234	237	239	241	242	243	244	245	246	248
2	18,51	19,01	9,16	19,25	19,30	19,33	19,36	19,37	19,38	19,39	19,4	19,41	19,42	19,43	19,44
3	10,13	9,55	9,28	9,12	9,01	8,94	8,88	8,84	8,81	8,78	8,76	8,74	8,71	8,69	8,66
4	7,71	6,94	6,59	6,39	6,26	6,16	6,09	6,04	6,00	5,96	5,93	5,91	5,87	5,84	5,80
5	6,61	5,79	5,41	5,19	5,05	4,95	4,88	4,82	4,78	4,74	4,70	4,68	4,64	4,60	4,56
6	5,99	5,14	4,76	4,53	4,39	4,28	4,21	4,15	4,10	4,06	4,03	4,00	3,96	3,92	3,87
7	5,59	4,74	4,35	4,12	3,97	3,87	3,79	3,73	3,68	3,63	3,60	3,57	3,52	3,49	3,44
8	5,32	4,46	4,07	3,84	3,69	3,58	3,50	3,44	3,39	3,34	3,31	3,28	3,23	3,20	3,15
9	5,12	4,26	3,86	3,63	3,48	3,37	3,29	3,23	3,18	3,13	3,10	3,07	3,02	2,98	2,93
10	4,96	4,10	3,71	3,48	3,33	3,22	3,14	3,07	3,02	2,97	2,94	2,91	2,86	2,82	2,77
11	4,84	3,98	3,59	3,36	3,20	3,09	3,01	2,95	2,90	2,86	2,82	2,79	2,74	2,70	2,65
12	4,75	3,88	3,49	3,26	3,11	3,00	2,92	2,85	2,80	2,76	2,72	2,69	2,64	2,60	2,54
13	4,67	3,80	3,41	3,18	3,02	2,92	2,84	2,77	2,72	2,67	2,63	2,60	2,55	2,51	2,46
14	4,60	3,74	3,34	3,11	2,96	2,85	2,77	2,70	2,65	2,60	2,56	2,53	2,48	2,44	2,39
15	4,54	3,68	3,29	3,06	2,90	2,79	2,70	2,64	2,59	2,55	2,51	2,48	2,43	2,39	2,33
16	4,49	3,63	3,24	3,01	2,85	2,74	2,66	2,59	2,54	2,49	2,45	2,42	2,37	2,33	2,28
17	4,45	3,59	3,20	2,96	2,81	2,70	2,62	2,55	2,50	2,45	2,41	2,38	2,33	2,29	2,23
18	4,41	3,55	3,16	2,93	2,77	2,66	2,58	2,51	2,46	2,41	2,37	2,34	2,29	2,25	2,19
19	4,38	3,52	3,13	2,90	2,74	2,63	2,55	2,48	2,43	2,38	2,34	2,31	2,26	2,21	2,15
20	4,35	3,49	3,10	2,87	2,71	2,60	2,52	2,45	2,40	2,35	2,31	2,28	2,23	2,18	2,12

ΣΗΜΕΙΩΣΗ : Τα στοιχεία του παραπάνω Πίνακα 5 ελήφθησαν από το βιβλίο: Χ.Ζαχαροπούλου (1989) «ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ μέθοδοι-εφαρμογές» Τόμος Α', Έκδοση Β.

Δ. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΓΡΑΜΜΙΚΩΝ ΔΙΑΓΡΑΜΜΑΤΩΝ ΠΡΑΚΤΙΚΕΣ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ

Πολλές φορές με χρήση των ελαχίστων τετραγώνων από τις πειραματικές τιμές μας κατασκευάζουμε την ευθεία $y = a \cdot x + b$ και υπολογίζουμε την κλίση a , την τεταγμένη επί την αρχή b και τον συντελεστή συσχέτισης r (ή το r^2).

Στο SOP 00 00 07 001 παραγρ.9.1 αναφέρεται ότι τιμές του $r^2 > 0,98$ (ή αντίστοιχα του $|r| > 0,99$) θεωρούνται ικανοποιητικές όσον αφορά τα κριτήρια για την γραμμικότητα.

Πρέπει να τονιστεί ότι η τιμή του συντελεστή συσχέτισης αποτελεί ενδεικτικό μέτρο του βαθμού διασποράς των πειραματικών σημείων και για την ακρίβεια δίνει μόνο το μέτρο των διαφορών των μετρούμενων μέσων τιμών \bar{y} από τις υπολογιζόμενες τιμές \hat{y} της ευθείας παλινδρόμησης. Δεν μπορεί όμως να δείξει εάν οι τιμές y_i δείχνουν τυχαία κατανομή γύρω από την γραμμή παλινδρόμησης ή ότι υπάρχει κάποιο είδος μη τυχαίας κατανομής ένδειξη ότι υπάρχει μη γραμμική σχέση μεταξύ των y και x .

Πρακτικά ικανοποιητική τιμή του r δεν επιβεβαιώνει γραμμική σχέση αλλά μόνο ικανοποιητική συσχέτιση των μεγεθών x και y . Έτσι π.χ. διάγραμμα με σημεία που αποδίδουν μια γραμμή με πολύ μικρή διασπορά, αλλά με μια μικρή καμπύλωση μπορεί να παρουσιάζει καλύτερη τιμή r , από ένα διάγραμμα σημείων μιας πραγματικά γραμμικής σχέσης με μεγαλύτερη διασπορά.

Προτείνεται για τον έλεγχο της γραμμικότητας να χρησιμοποιηθεί μια ισχυρότερη στατιστική τεχνική που στηρίζεται στην ανάλυση των διακυμάνσεων και αποφαινεται τελικά αν υπάρχει έλλειψη προσαρμογής στο γραμμικό μοντέλο.

Οι τύποι που χρησιμοποιούνται ελήφθησαν από το βιβλίο D.M.Himmelblau "Process Analysis by Statistical Methods" και είναι οι ακόλουθοι:

$$S_r^2 = \frac{\sum_{i=1}^f p_i (\bar{y}_i - \hat{y}_i)^2}{f-2} \quad S_e^2 = \frac{\sum_{i=1}^f \sum_{j=1}^{p_i} (y_{ij} - \bar{y}_i)^2}{N-f}$$

$$N = \sum_{i=1}^f p_i$$

όπου

p_i : ο αριθμός των μετρήσεων για το y σε επίπεδο x_i

N : ο συνολικός αριθμός των μετρήσεων για το y

f : ο αριθμός των επιπέδων x_i που χρησιμοποιούνται για την κατασκευή της καμπύλης

\bar{y}_i : η μέση τιμή των μετρήσεων y σε επίπεδο x_i

\hat{y}_i : η τιμή του y που προκύπτει από το γραμμικό μοντέλο στο επίπεδο x_i

y_{ij} : μεμονωμένες τιμές μέτρησης για το y σε επίπεδο x_i

Εφαρμογή F- test

$$F_{\text{πειραμ}} = \frac{S_r^2}{S_e^2}$$

Βρίσκουμε το F_{theor} ενός άκρου από τον πίνακα 5 για $(f-2)$ βαθμούς ελευθερίας για τον αριθμητή, $(N-f)$ βαθμούς ελευθερίας για τον παρονομαστή και 95% επίπεδο εμπιστοσύνης.

Αν $F_{\text{πειραμ}} > F_{\text{theor}}$ υπάρχει σημαντική έλλειψη προσαρμογής στο γραμμικό μοντέλο.

Αν $F_{\text{πειραμ}} < F_{\text{theor}}$ δεν υπάρχει σημαντική έλλειψη προσαρμογής στο γραμμικό μοντέλο.

Παρακάτω δίδονται δύο παραδείγματα όπου στο μεν πρώτο φαίνεται ότι με $r = 0,966$ (ή $r^2 = 0,93 < 0,98$) **δεν** έχουμε σημαντική έλλειψη προσαρμογής στο γραμμικό μοντέλο ενώ στο δεύτερο παράδειγμα με $r = 0,995$ (ή $r^2 = 0,989 > 0,98$) **έχουμε** σημαντική έλλειψη προσαρμογής στο γραμμικό μοντέλο, από τα οποία καταδεικνύεται ότι η τιμή r δεν μπορεί να χρησιμεύσει ως τεκμήριο γραμμικότητας μεταξύ των συσχετιζόμενων ποσοτήτων.

Ε. ΙΣΟΔΥΝΑΜΙΑ ΔΥΟ ΜΕΘΟΔΩΝ

Αναλύεται παρακάτω ένα παράδειγμα όπου συγκρίνεται μια μέθοδος με την οποία προσδιορίζεται η συγκέντρωση (x_i) του αναλύτη σε 12 δείγματα με μια άλλη μέθοδο αναφοράς με την οποία προσδιορίζεται επίσης η συγκέντρωση (μ_i) του αναλύτη στα ίδια δείγματα και οι τιμές πινακοποιούνται κατά ζεύγη.

Παρατηρούμε ότι ενώ με κατά ζεύγη δοκιμασία t (των προσημασμένων ή απόλυτων διαφορών) οι δύο μέθοδοι δεν είναι ισοδύναμοι, με χρήση στατιστικής γραμμικών διαγραμμάτων προκύπτει ότι οι δύο μέθοδοι είναι ισοδύναμοι.

Παράδειγμα 1

x_i	y_{ij}			\bar{y}_i	$\hat{y}_i = 1,94 \cdot x_i + 0,15$	p_i
1	1,6	2,2	3,1	2,3	2,09	3
2	3,5	3,9	4,6	4,2	4,03	4
3	4,7	5,3		5,0	5,97	2
4	7,9	8,4	9,2	8,5	7,91	3
						$N = \sum p_i = 12$

$f =$ αριθμός επιπέδων $x_i = 4$

Από τα ζεύγη των τιμών x, y

x	1	2	3	4
y	2,3	4,2	5,0	8,5

με χρήση ελαχίστων τετραγώνων προκύπτει $y = 1,94 \cdot x + 0,15$ και υπολογίζεται το $r = 0,9657$ (ή το $r^2 = 0,9325$).

Εφαρμογή των τύπων του Himmelblau που προαναφέραμε δίνει:

$$S_r^2 = \frac{3 \cdot (2,3 - 2,09)^2 + 4 \cdot (4,2 - 4,03)^2 + 2 \cdot (5,0 - 5,97)^2 + 3 \cdot (8,5 - 7,91)^2}{4 - 2} = 3,174 / 2 = 1,587$$

$$S_e^2 = \frac{[(1,6 - 2,3)^2 + (2,2 - 2,3)^2 + (3,1 - 2,3)^2 + (3,5 - 4,2)^2 + (3,9 - 4,2)^2 + (4,6 - 4,2)^2 + (4,7 - 5,0)^2 + (5,3 - 5,0)^2 + (7,9 - 8,5)^2 + (8,4 - 8,5)^2 + (9,2 - 8,5)^2]}{12 - 4} = 3,28 / 8 = 0,41$$

$$\text{Εφαρμογή F- test} \quad F_{\text{πειραμ}} = \frac{S_r^2}{S_e^2} = \frac{1,587}{0,41} = 3,87 < F_{\text{theor}} = 4,46$$

Βρίσκουμε το $F_{\text{theor}} = 4,46$ από τον Πίνακα 5 για 2 βαθμούς ελευθερίας για τον αριθμητή, 8 βαθμούς ελευθερίας για τον παρονομαστή και 95% επίπεδο εμπιστοσύνης.

Συνεπώς αν και $r = 0,966$ (ή το $r^2 = 0,93 < 0,98$) **δεν** υπάρχει σημαντική έλλειψη προσαρμογής στο γραμμικό μοντέλο.

Παράδειγμα 2

x_i	y_{ij}		\bar{y}_i	$\hat{y}_i = 2,13 x_i - 0,3$	p_i
1	1,6	1,8	2,0	1,83	3
2	4,0	4,1	4,3	3,96	4
3	5,6	5,8	5,7	6,09	2
4	8,2	8,3	8,7	8,22	3

$N = \sum p_i = 12$

$f =$ αριθμός επιπέδων $x_i = 4$

Από τα ζεύγη των τιμών x, y

x	1	2	3	4
y	1,8	4,2	5,7	8,4

με χρήση ελαχίστων τετραγώνων προκύπτει $y = 2,13 \cdot x - 0,3$ και υπολογίζεται το $r = 0,9947$ (ή το $r^2 = 0,9894$).

Εφαρμογή των τύπων του Himmelblau που προανέφερα δίνει:

$$S_f^2 = \frac{3 \cdot (1,8 - 1,83)^2 + 4 \cdot (4,2 - 3,96)^2 + 2 \cdot (5,7 - 6,09)^2 + 3 \cdot (8,4 - 8,22)^2}{4 - 2} = 0,6345 / 2 = 0,31725$$

$$S_e^2 = \frac{[(1,6 - 1,8)^2 + (1,8 - 1,8)^2 + (2,0 - 1,8)^2 + (4,0 - 4,2)^2 + (4,1 - 4,2)^2 + (4,3 - 4,2)^2 + (5,6 - 5,7)^2 + (5,8 - 5,7)^2 + (8,2 - 8,4)^2 + (8,3 - 8,4)^2 + (8,7 - 8,4)^2]}{12 - 4} = 0,34 / 8 = 0,0425$$

Εφαρμογή F-test $F_{\text{πειραμ}} = \frac{S_f^2}{S_e^2} = \frac{0,31725}{0,0425} = 7,46 > F_{\text{theor}} = 4,46$

Βρίσκουμε το $F_{\text{theor}} = 4,46$ από τον Πίνακα 5 για 2 βαθμούς ελευθερίας για τον αριθμητή, 8 βαθμούς ελευθερίας για τον παρανομαστή και 95% επίπεδο εμπιστοσύνης.

Συνεπώς αν και $r = 0,995$ (ή το $r^2 = 0,989 > 0,98$) **υπάρχει σημαντική έλλειψη προσαρμογής στο γραμμικό μοντέλο.**

Κατά συνέπεια δεν απορρίπτεται η υπό εξέταση μέθοδος πριν εξαντληθούν όλες οι δυνατές στατιστικές δοκιμασίες και είναι εξίσου σωστό διαφορετικά εργαστήρια να δέχονται ισοδύναμες δύο μεθόδους ενώ έχουν εφαρμόσει διαφορετικά στατιστικά test προκειμένου να αποδείξουν την ισοδυναμία.

ΠΑΡΑΔΕΙΓΜΑ

Αριθμός Δειγματος

Αποτελέσματα εξετάσεων	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Με τη μέθοδο αναφοράς μ	2,0	3,0	4,0	4,5	5,2	5,5	5,9	6,9	7,3	7,5	8,2	9,4
Με την υπό εξέταση μέθοδο x_i	1,7	3,0	3,8	4,6	5,1	5,5	6,0	6,5	6,8	7,5	8,0	9,2

Θεωρητικές τιμές t_{theor} (δύο άκρων) της κατανομής Student σε διάφορους βαθμούς ελευθερίας (ν) και για διάφορες στάθμες εμπιστοσύνης, δίνονται στον Πίνακα 6 που ακολουθεί.

ΠΙΝΑΚΑΣ 6

Κριτικές τιμές της κατανομής Student δύο άκρων

Στάθμη εμπιστοσύνης

βαθμοί ελευθερίας ν	90%				95%				97,5%				99%			
	90%	95%	97,5%	99%	90%	95%	97,5%	99%	90%	95%	97,5%	99%	90%	95%	97,5%	99%
1	6,3138	12,7060	25,4520	63,6570	13	1,7709	2,1604	2,5326	3,0123							
2	2,9200	4,3027	6,2053	9,9248	14	1,7613	2,1448	2,5096	2,9768							
3	2,3534	3,1825	4,1765	5,8409	15	1,7530	2,1315	2,4899	2,9467							
4	2,1318	2,7764	3,4954	4,6041	16	1,7459	2,1199	2,4729	2,9208							
5	2,0150	2,5706	3,1634	4,0321	17	1,7396	2,1098	2,4581	2,8982							
6	1,9432	2,4469	2,9687	3,7074	18	1,7341	2,1009	2,4450	2,8784							
7	1,8946	2,3646	2,8412	3,4995	19	1,7291	2,0930	2,4334	2,8609							
8	1,8595	2,3060	2,7515	3,3554	20	1,7247	2,0860	2,4231	2,8453							
9	1,8331	2,2622	2,6850	3,2498	30	1,6973	2,0423	2,3596	2,7500							
10	1,8125	2,2281	2,6338	3,1693	40	1,6839	2,0211	2,3289	2,7045							
11	1,7959	2,2010	2,5931	3,1058	60	1,6707	2,0003	2,2991	2,6603							
12	1,7823	2,1788	2,5600	3,0545	120	1,6577	1,9799	2,2699	2,6174							
					∞	1,6449	1,9600	2,2414	2,5758							

ΣΗΜΕΙΩΣΗ

Τα στοιχεία του παραπάνω Πίνακα 6 ελήφθησαν από το βιβλίο : Δ.Π.Ψωνός (1984) "ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ", Έκδοση Β.

α) Παίρνοντας την απόλυτη διαφορά $d_i = |x_i - \mu_i|$ όπως αναφέρεται στο SOP 00 00 07 001 παρ.7.2.2 προκύπτει:

Απόλυτη διαφορά $d_i = x_i - \mu_i $	0,3	0	0,2	0,1	0,1	0	0,1	0,4	0,5	0	0,2	0,2
---------------------------------------	-----	---	-----	-----	-----	---	-----	-----	-----	---	-----	-----

$N=12$, $\bar{d}=0,175$, $S_D=0,160$ για $v=N-1=11$ βαθμούς ελευθερίας.

$$t_{\text{exp}} = \frac{\bar{d}}{S_D} \cdot \sqrt{N} = \frac{0,175}{0,160} \cdot \sqrt{12} = 3,789$$

Βρίσκουμε το $t_{\text{theor}}=2,201$ από τον Πίνακα 6 για $v=11$ βαθμούς ελευθερίας και στάθμη εμπιστοσύνης 95%.

Επομένως $t_{\text{exp}}=3,789 > t_{\text{theor}}=2,201$

β) Παίρνοντας την προσημασμένη διαφορά (όχι την απόλυτη) $d'_i = x_i - \mu_i$ που επίσης αναφέρεται στην βιβλιογραφία προκύπτει :

Προσημασμένη διαφορά $d'_i = x_i - \mu_i$	-0,3	0	-0,2	0,1	-0,1	0	0,1	-0,4	-0,5	0	-0,2	-0,2
---	------	---	------	-----	------	---	-----	------	------	---	------	------

$N=12$, $\bar{d}'=-0,142$, $|\bar{d}'|=0,142$, $S_{D'}=0,193$ για $v = N-1 = 11$ βαθμούς ελευθερίας.

$$t_{\text{exp}} = \frac{|\bar{d}'|}{S_{D'}} \cdot \sqrt{N} = \frac{0,142}{0,193} \cdot \sqrt{12} = 2,549$$

Βρίσκουμε το $t_{\text{theor}}=2,201$ από τον Πίνακα 6 για $v=11$ βαθμούς ελευθερίας και στάθμη εμπιστοσύνης 95%.

Δηλαδή πάλι $t_{\text{exp}}=2,549 > t_{\text{theor}}=2,201$

γ) Εφαρμόζοντας τώρα τη σύγκριση μεθόδων με στατιστική γραμμικών διαγραμμάτων, όπου

$x_i = a \cdot \mu_i + b$, για να συσχετισθούν τα αναλυτικά αποτελέσματα μιας δοκιμαζόμενης μεθόδου ως προς εκείνα μιας μεθόδου αναφοράς θα πρέπει να παρουσιάζουν κλίση $a=1$ και τομή στον άξονα των τεταγμένων $b=0$. Ελέγχεται κατόπιν εάν υπάρχει στατιστικώς σημαντική διαφορά του a από τη μονάδα και του b από το μηδέν.

Στο παράδειγμά μας εφαρμόζοντας τους αντίστοιχους τύπους από την στατιστική γραμμικών διαγραμμάτων προκύπτει:

κλίση $a=0,9815$

τυπική απόκλιση της κλίσης a είναι $S_a = 0,0272$

τεταγμένη επί την αρχή $b = -0,0344$

τυπική απόκλιση του b είναι $S_b = 0,1675$

Επομένως έχουμε:

$$t_{\text{exp } a} = |a-1| / S_a = |0,9815-1| / 0,0272 = 0,680$$

$$t_{\text{exp } b} = |b-0| / S_b = |-0,0344-0| / 0,1675 = 0,205$$

Βρίσκουμε το $t_{\text{theor}}=2,228$ από τον Πίνακα 6 για $v=N-2=10$ βαθμούς ελευθερίας και στάθμη εμπιστοσύνης 95%.

Από την σύγκριση προκύπτει ότι

$$t_{\text{exp } a} = 0,680 < t_{\text{theor}} = 2,228$$

$$t_{\text{exp } b} = 0,205 < t_{\text{theor}} = 2,228$$

δηλαδή η υπόθεση ότι οι δύο μέθοδοι είναι ισοδύναμοι (δεν ανιχνεύεται αναλογικό ή σταθερό σφάλμα) είναι εξαιρετικά ισχυρή.

Συνοπτικά παρατηρούμε ότι με τη δοκιμασία των διαφορών (απόλυτων ή προσημασμένων) οι μετρήσεις της υπό εξέταση μεθόδου σε σχέση με εκείνες της μεθόδου αναφοράς στατιστικώς διαφέρουν σημαντικά (βρέθηκε $t_{\text{exp}} > t_{\text{theor}}$). Εντούτοις με την στατιστική γραμμικών διαγραμμάτων προκύπτει ότι οι ανωτέρω μετρήσεις των δύο μεθόδων δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά, πάντα αναφερόμενοι στην ίδια στάθμη εμπιστοσύνης 95% (βρέθηκε $t_{\text{exp } a} < t_{\text{theor}}$ και $t_{\text{exp } b} < t_{\text{theor}}$).

Όλες οι ανωτέρω παρατηρήσεις και διαπιστώσεις που γίνονται στα πλαίσια μεταφοράς σχετικής εμπειρίας από αντιμετώπιση πρακτικών προβλημάτων υπόκεινται και σε παραπέρα διερεύνηση. Ο υπογράφων ελπίζει να βοηθήσει τα υπό διαπίστευση εργαστήρια σε αντιμετώπιση ανάλογων προβλημάτων και να στηρίξει έτσι την όλη προσπάθεια.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. D.M.Himmelblau: "Process Analysis by statistical methods", John Wiley & Sons Inc.

2. L.A.Pipes, L.R.Harvill "Applied Mathematics for Engineers and Physicists", Mc Graw-Hill Kogakusha, Ltd.

3. Χ. Ζαχαροπούλου (1989) «Στατιστική μέθοδοι-εφαρμογές» Τόμος Α, Έκδοση Β.

4. Δ. Π. Ψωινός (1984) «Στατιστική», Έκδοση Β.

5. Εγχειρίδιο Ποιότητας Εργαστηρίων Γενικού Χημείου του Κράτους, Αρχείο Τυποποιημένων Διαδικασιών Λειτουργίας Κατηγορίας Α, SOP 00 00 06 003, SOP 00 00 07 001.

6. Εισήγηση Κ.Ευσταθίου με θέμα «Στατιστική επεξεργασία αναλυτικών αποτελεσμάτων» στα πλαίσια του εκπαιδευτικού προγράμματος «Διαπίστευση Χημικών εργαστηρίων κατά τη σειρά Ευρωπαϊκού προτύπου EN 45000» Νοέμβριος 1996.

7. Εισήγηση Μ. Κουππάρη με θέμα «Αξιολόγηση και επικύρωση αναλυτικών μεθόδων» στα πλαίσια του εκπαιδευτικού προγράμματος «Διαπίστευση Χημικών εργαστηρίων κατά τη σειρά Ευρωπαϊκού προτύπου EN 45000», Νοέμβριος 1996.

OBSERVATIONS AND COMMENTS ON THE VALIDATION OF METHODS IN THE LABORATORIES OF THE GENERAL CHEMICAL STATE LABORATORY

John Grigoriadis, Chemical Engineer of the General Chemical State Laboratory, B' Division of Thessaloniki, Thessaloniki, GREECE.

The paper deals with specific problems, questions and case studies encountered during the validation of methods in the laboratories of the GCSL, as follows:

- Use of certified reference materials, such as BCR reference materials.
- Primary and secondary reference materials: Statistical processing and evaluation of the parameters' values obtained for secondary reference materials, as compared to the respective certified values of primary reference materials.
- Repeatability standard deviation and intralaboratory standard deviation: comments on their comparability and implementation.
- Statistics of linear plots: practical applications.
- Equivalence of methods.

Παρουσίαση των γενικών αρχών γραφής SOP οργάνων

Διακρίβωση - Βαθμονόμηση

Βασίλειος Τζαμτζής

Χημικός Γενικού Χημείου του Κράτους, Διεύθυνση Τροφίμων

Ελένη Καραγεώργη

Χημικός Γενικού Χημείου του Κράτους, Δ' Χημική Υπηρεσία Αθηνών

Το γενικό πλαίσιο για την σύνταξη SOP συσκευών, που αναφέρεται στο κείμενο αυτό, βασίζεται στην σχετική εισήγηση της Ομάδας Εργασίας του Γ.Χ.Κ., στην υπάρχουσα βιβλιογραφία, στα πρότυπα EN 45001 και ISO Guide 25 και στην εμπειρία των μελών της Ομάδας από τη συμμετοχή τους σε σεμινάρια σχετικά με τη διαπίστευση των εργαστηρίων.

Το γενικό πλαίσιο αυτό συνίσταται στα εξής :

1. Το SOP λειτουργίας συντήρησης και βαθμονόμησης συσκευής είναι μια τεκμηριωμένη (καταγεγραμμένη) διαδικασία που διασφαλίζει έναν συγκεκριμένο τρόπο λειτουργίας της συσκευής από τους χρήστες ενός εργαστηρίου. Υπό την έννοια αυτή δεν αποτελεί κείμενο εκμάθησης της συσκευής στην οποία αναφέρεται και ούτε κάποιος μη εκπαιδευμένος στη συσκευή μπορεί να την λειτουργήσει βασιζόμενος μόνο στο SOP.

Το SOP οργάνου ή συσκευής αποσκοπεί στη σωστή λειτουργία, συντήρηση και βαθμονόμηση οργάνου ή συσκευής σύμφωνα με τις εξειδικευμένες απαιτήσεις που καθορίζει το κάθε εργαστήριο. Έτσι, είναι δυνατόν να υπάρχει διαφοροποίηση στα SOP συσκευών ίδιας μάρκας και μοντέλου, ανάλογα με τις κατά περίπτωση απαιτήσεις των εργαστηρίων.

2. Το SOP συντάσσεται από εκείνον το χρήστη της συσκευής ο οποίος έχει όλη την επαρκή γνώση και εκπαίδευση για τη χρήση και την παρακολούθηση (επιμέλεια) αυτής.

Θεωρείται ότι ο αρμοδιότερος και επαρκέστερος για την σύνταξη ενός SOP που θα αποτελέσει συστατικό του συστήματος ποιότητας ενός διαπιστευμένου εργαστηρίου είναι ο επιμελητής αυτής διότι συνδυάζει :

- Την γνώση της συσκευής (μελέτη εγχειριδίου – εκπαίδευση)
 - Την εμπειρία στη χρήση του οργάνου στις εξειδικευμένες συνθήκες του εργαστηρίου, που μοιραία μόνο το προσωπικό του συγκεκριμένου εργαστηρίου έχει καθορίσει και
 - Την δυνατότητα τροποποίησης των διαδικασιών (αλλαγή του SOP) αν το επιβάλλουν ορισμένες αλλαγές στις συνθήκες του εργαστηρίου
3. Το SOP αποτελείται από τις κατωτέρω τέσσερις βασικές ενότητες:

A. Περιγραφή του συστήματος

Είναι περιγραφή όλων των μερών του συστήματος, συμπεριλαμβανομένων και αυτών που πιθανόν δεν χρησιμοποιούνται σε μέθοδο ανάλυσης στην παρούσα φάση. Π.χ. Αέριος χρωματογράφος με δύο ανιχνευτές FID και ECD περιγράφεται πλήρως, έστω και αν ο ανιχνευτής ECD δεν χρησιμοποιείται στο εργαστήριο στην παρούσα φάση.

B. Λειτουργία

Είναι ακριβής και χρονικά ιεραρχημένη παράθεση – καταγραφή όλων των ενεργειών και σημείων ελέγχων που γίνονται όταν χρησιμοποιείται το σύστημα για την εκτέλεση οποιασδήποτε μεθόδου ανάλυσης. Πρέπει να τονιστεί ότι στο κείμενο του SOP :

- δεν περιλαμβάνονται διαδικασίες που αφορούν την διόρθωση βλαβών του συστήματος, διότι αυτές δεν είναι δυνατόν να είναι τυποποιημένες.
- δεν περιλαμβάνονται τιμές ή άλλες παράμετροι που χαρακτηρίζουν συγκεκριμένες μεθόδους ανάλυσης (π.χ. συγκεκριμένες ροές, θερμοκρασίες, split, όγκοι ενέσεων κ.λ.π.)
- περιλαμβάνονται τιμές ή άλλες παράμετροι που ισχύουν κατά την εφαρμογή όλων των μεθόδων ανάλυσης (π.χ. διαφορά δυναμικού ανιχνευτή όταν είναι αναμμένος και σταθεροποιημένος, τιμή πίεσης σε οβίδα αερίου κ.λ.π.)
- γίνονται παραπομπές στο εγχειρίδιο χρήσης της συσκευής, όταν σε αυτό καταγράφεται μία συγκεκριμένη διαδικασία η οποία ακολουθείται από τον χρήστη, και η οποία για οικονομία δεν είναι ανάγκη να μεταφέρεται στο κείμενο του SOP (αποφυγή αντιγραφής του εγχειριδίου). Στις περιπτώσεις εκείνες που για τη λειτουργία του οργάνου στο εργαστήριο, ακολουθείται αποκλειστικά και μόνο η διαδικασία που περιγράφεται στο εγχειρίδιο χρήσης συμπεριλαμβανομένων και των απαιτούμενων σημείων ελέγχου (μη συνήθης περίπτωση), τότε απλή παραπομπή στα συγκεκριμένα σημεία του εγχειριδίου χρήσης του οργάνου υποκαθιστά την ενότητα "Λειτουργία" του SOP.

- επισημαίνονται τα σημεία ελέγχου τα οποία απαιτούνται για την μετάβαση σε επόμενο βήμα λειτουργίας.
- προβλέπεται χρονική καταγραφή των τιμών των σημείων ελέγχου σε ειδικά έντυπα π. χ. στο βιβλίο της συσκευής.
- Όπου απαιτείται η χρήση λογισμικού, περιγράφονται επιγραμματικά μόνο τα στάδια της διαδικασίας ενώ γίνεται παραπομπή στα αντίστοιχα σημεία του εγχειριδίου χρήσης του λογισμικού.

Γ. Βαθμονόμηση

Διακρίνονται δύο περιπτώσεις :

1. Όταν το σύστημα χρησιμοποιείται σε αναλυτικές μεθόδους οι οποίες περιλαμβάνουν βαθμονόμηση μεθόδου - συστήματος, αυτή η βαθμονόμηση καλύπτει και τη βαθμονόμηση του οργάνου οπότε στο SOP στην ενότητα "Βαθμονόμηση", γίνεται παραπομπή στην αντίστοιχη μέθοδο ανάλυσης (π.χ. GC, HPLC, Φασματοφωτόμετρο που εκτελείται ποσοτικός προσδιορισμός με καμπύλη αναφοράς κ.λ.π.). Η βαθμονόμηση μεθόδου-συστήματος μπορεί να περιλαμβάνει, ανάλογα με τη συγκεκριμένη περίπτωση, την επαναληψιμότητα της απόκρισης, επαναληψιμότητα των χρόνων κατακρήτησης κορυφών, γραμμικότητα απόκρισης και εύρος, όρια ανίχνευσης και ποσοτικού προσδιορισμού.

2. Όταν το σύστημα χρησιμοποιείται σε αναλυτικές μεθόδους που σπρίζονται σε απόλυτες τιμές του οργάνου (π.χ. θερμοκρασία για προσδιορισμό υγρασίας ή τέφρας, mV για μέτρηση pH, μήκος κύματος για μέτρηση ABS διαλύματος σε αυτό το μήκος κύματος κ.λ.π.) τότε η βαθμονόμηση (διακρίβωση σε αυτή την περίπτωση) της συσκευής περιγράφεται λεπτομερώς στο SOP της συσκευής.

Δ. Συντήρηση

Καταγράφονται λεπτομερώς οι διαδικασίες συντήρησης που εκτελούνται σε τακτική ή έκτακτη βάση, είτε από το προσωπικό του εργαστηρίου, είτε από τον τεχνικό της εταιρείας εξυπηρέτησης (Service).

Προβλέπεται η καταγραφή των διαδικασιών συντήρησης στο βιβλίο της αντίστοιχης συσκευής.

Οι εκθέσεις ή πιστοποιητικά συντήρησης, που συντάσσονται από τον εξειδικευμένο τεχνικό του οργάνου αρχειοθετούνται κατάλληλα.

GENERAL PRINCIPLES FOR THE COMPILATION OF SOPS FOR THE PERFORMANCE, MAINTENANCE AND CALIBRATION OF LABORATORY EQUIPMENT

Vassilios Tzamtzis, Chemist of the General State Chemical Laboratory, Division of Food, Athens, GREECE

Helen Karageorgi, General State Chemical Laboratory, D' Division of Athens, Athens, GREECE

This presentation gives general guidance in order to compose Standard Operation Procedures for measuring instruments and other general service equipment.

Such a SOP provides a fully documented procedure ensuring a specified way of operating, maintaining and calibrating an instrument.

The most competent, appropriate and reliable person to write a SOP is considered to be the assigned user of the respective instrument.

Each SOP consists of four main parts:

- 1. Description of the system.** *It is a brief but full description of all the parts of the system.*
- 2. Operation.** *It is the exact and chronologically arranged sequence of all the actions and instrument performance checks done during the day to day operation of the instrument.*
- 3. Calibration.** *The program for the calibration of the measuring instrument is described in detail.*
- 4. Maintenance.** *A list of the preventive maintenance actions and the steps to be taken in case of malfunctioning are included.*

Επικύρωση μεθόδου προσδιορισμού τέφρας άλευρου σίτου με τη χρήση πιστοποιημένου υλικού αναφοράς

Αγγελική Φωτεινού

Χημ. Μηχανικός του Γ.Χ.Κ. - Χ.Υ. Πατρών

ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Σκοπός της παρουσίασης αυτής είναι η ανάπτυξη των διαδικασιών που ακολουθήθηκαν για την επικύρωση στο εργαστήριο της Χ.Υ. Πατρών της μεθόδου προσδιορισμού της τέφρας στα άλευρα. Η πορεία που ακολουθήθηκε έχει ως εξής: Εκτίμηση ορθότητας και πιστότητας μεθόδου προσδιορισμού τέφρας σε άλευρο σίτου με τη χρήση του πιστοποιημένου υλικού αναφοράς BCR CRM 382 και θερμοκρασία αποτέφρωσης 550 °C (μέθοδος Α).

Εφαρμογή της μεθόδου του Παρ/τος. II Καν. Ε.Ο.Κ. 1533/93 με θερμοκρασία αποτέφρωσης 900 °C (μέθοδος Β) και έλεγχος της ισοδυναμίας των μεθόδων Α και Β με την χρήση του πιστοποιημένου υλικού αναφοράς BCR CRM 382 όπως προβλέπεται στο εγχειρίδιο ποιότητας του Γ.Χ.Κ

Εκτίμηση της ορθότητας και πιστότητας της μεθόδου Β.

Επιλογή της μεθόδου Β και παραγωγή δευτερογενούς υλικού αναφοράς.

Εσωτερικός έλεγχος ποιότητας με την κατασκευή Χ-διαγράμματος ελέγχου ποιότητας (μέσου όρου).

ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΜΕΘΟΔΩΝ

ΠΟΡΕΙΑ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Σε πρώτο στάδιο εφαρμόστηκε η μέθοδος που αναφερόταν στο πιστοποιητικό του πιστοποιημένου υλικού αναφοράς BCR CRM 382 και περιελάμβανε αποτέφρωση στους 550 °C, διάρκειας τουλάχιστον 36 ωρών μέχρι σταθερού βάρους με ταυτόχρονο προσδιορισμό υγρασίας με μέθοδο που επίσης αναφερόταν στο ανωτέρω εγχειρίδιο, ώστε η τέφρα να εκφραστεί επί ξηρού.

Έγινε έλεγχος της ορθότητας (trueness) της μεθόδου σύμφωνα με το SOP 00 00 006 003 § 4.6.2 του εγχειριδίου ποιότητας του Γ.Χ.Κ. και το Πίνακα 1. Διαπιστώθηκε ότι ισχύει η σχετική ανισότητα για την προσδιορισθείσα μέση τιμή τέφρας επί ξηρού

$$\mu - 2S_D = \bar{X} \text{ επί ξηρού } 550^\circ\text{C} = \mu + 2S_D \quad (1)$$

όπου

μ : η πιστοποιημένη τιμή της τέφρας επί ξηρού του πιστοποιημένου υλικού αναφοράς,

S_D : η τυπική απόκλιση των μέσων όρων των μετρήσεων όλων των εργαστηρίων που έλαβαν μέρος στην διαδικασία πιστοποίησης.

Οι αντίστοιχες τιμές του πιστοποιημένου υλικού αναφοράς BCR CRM 382 στο πιστοποιητικό είναι : μ : 0,86 και S_D : 0,03

$$\text{οπότε η (1) γίνεται } 0,86 - 2 \cdot 0,03 \leq 0,88 \leq 0,86 + 2 \cdot 0,03$$

$$0,80 = 0,88 = 0,92$$

Ακολούθησε έλεγχος της πιστότητας (precision) της μεθόδου σύμφωνα με το SOP 00 00 006 003 § 4.6.1 και διαπιστώθηκε ότι η πιστότητα είναι αποδεκτή διότι :

$$X_c^2 \leq X^2 - \text{table}$$

όπου

$$X_c^2 = (S_w / \sigma_{w0})^2 \text{ και } X^2 - \text{table} = X^2_{(n-1), 0,95} / n - 1$$

n : το πλήθος των μετρήσεων

$$X^2_{(n-1), 0,95} = 11,07 \text{ τιμή από πίνακα της } \S 4.6.2 \text{ του ανωτέρω SOP}$$

S_w : η τυπική απόκλιση που υπολογίστηκε στο εργαστήριο για n μετρήσεις: 0,026

σ_{w0} : τυπική απόκλιση (within - sets SD) που υπάρχει στο πιστοποιητικό του πιστοποιημένου υλικού αναφοράς: 0,02

$$X^2 - \text{table} : (11,07/5) = 2,274$$

$$X_c^2 : (0,026/0,02)^2 = 1,69 \text{ οπότε η (2) γίνεται } 1,69 < 2,274$$

Έγινε και παράλληλη εκτίμηση της πιστότητας (precision) με μέτρα εκτίμησης την τυπική απόκλιση S_r , την επαναληψιμότητα r και την σχετική τυπική απόκλιση $RSDr$ τόσο για την τέφρα όσο και για την υγρασία (Πίνακες 1 και 2) και διαπιστώθηκε ότι είναι αποδεκτή διότι εμπίπτει στα όρια του Πίνακα VIII του SOP 00 00 07 001 του εγχειριδίου ποιότητας του Γ.Χ.Κ.

Επειδή η θερμοκρασία των 550 °C απαιτεί πολύ μεγάλο χρόνο αποτέφρωσης, αποφασίσθηκε ο έλεγχος της ισοδυναμίας της προαναφερθείσης

μεθόδου και εκείνης του Παραρτήματος II του Καν. Ε.Ο.Κ. 1533/93, όπου η θερμοκρασία αποτέφρωσης ανέρχεται στους 900 °C και η διάρκεια αυτής είναι σημαντικά μικρότερη.

Ο έλεγχος της ισοδυναμίας των δύο μεθόδων Α και Β έγινε με την χρήση του πιστοποιημένου υλικού αναφοράς BCR CRM 382 (άλευρο σίτου) σύμφωνα με το SOP 00 00 06 003 § 4.4 και το SOP 00 00 07 001 § 7.2.2 του ανωτέρω εγχειριδίου. Διαπιστώθηκε ότι η διαφορά των δύο μέσων τιμών X550 και X900 δεν είναι στατιστικά σημαντική διότι: $t_{exp} < t_{theor}$,

$$1,185 < 2,571$$

και παράλληλα δεν υπάρχει στατιστικώς σημαντική διαφορά στις τυπικές αποκλίσεις των δύο ομάδων μετρήσεων μετά από έλεγχο με F_{test} , δηλαδή:

$$F_{exp} = (S_{550} / S_{900})^2 < F_{theor} \quad (3)$$

$$6,532 < 7,15$$

Οι πειραματικές τιμές t_{exp} και F_{exp} αναγράφονται στον Πίνακα 1 και η μεν τιμή F_{exp} υπολογίστηκε από την σχέση (3) η δε τιμή t_{exp} από την σχέση

$$t_{exp} = \frac{|\bar{X}_A - \bar{X}_B|}{S_{AB} \sqrt{\left(\frac{1}{N_A} + \frac{1}{N_B}\right)}} \quad (4)$$

όπου S_{AB} ή $S_{550-900}$ η συνδυασμένη τυπική απόκλιση (combined standard deviation) που παρέχεται από την σχέση (5)

$$S_{AB} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{N_A} (\bar{X}_A - X_{iA})^2 + \sum_{i=1}^{N_B} (\bar{X}_B - X_{iB})^2}{N_A + N_B - 2}} \quad (5)$$

Οι (4), (5) ελήφθησαν από τις σημειώσεις του κ. Ευσταθίου «Στατιστική Επεξεργασία Αναλυτικών Αποτελεσμάτων» σελ Α-37.

Η τιμή F_{theor} ελήφθη από τον Πίνακα 3.4 των ανωτέρω σημειώσεων η δε τιμή t_{theor} από τον πίνακα III του SOP 00 00 07 001 του εγχειριδίου ποιότητας του Γ.Χ.Κ. για στάθμη εμπιστοσύνης 95%.

Μετά την διαπίστωση της ισοδυναμίας των δύο μεθόδων Α και Β έγινε έλεγχος της ορθότητας της μεθόδου Β και διαπιστώθηκε ότι δεν πληρούται η ανισότητα για την προσδιορισθείσα μέση τιμή τέφρας επί ξηρού κατά το αριστερό άκρο (SOP 00 00 06 003 § 4.6.2 και Πίνακας 1).

$$\mu - 2S_D \leq \bar{X} \text{ επί ξηρού } 550^\circ\text{C} \leq \mu + 2S_D$$

$$0,80 > 0,79 \leq 0,92$$

Κατόπιν αυτού ανατρέξαμε σε άλλο τρόπο εκτίμησης της ορθότητας που επίσης χρησιμοποιείται, προβλέπεται στο SOP 00 00 07 001 § 7.1. και είναι ο ακόλουθος λόγος:

$$\frac{100 * (\bar{X} - \mu)}{\mu} \quad (6)$$

\bar{X} : η μέση τιμή N προσδιορισμών

μ : η αληθής τιμή

Ο λόγος αυτός από την βιβλιογραφία ανάλογα με την συγκέντρωση της τιμής του αναλύτη, στην περίπτωση μας της τέφρας επί ξηρού, βρίσκεται εντός συγκεκριμένων ευρών. Έτσι για $\mu > 10 \text{ mg/kg}$ ο λόγος παίρνει τιμές από -20% έως 10%. Η (6) γίνεται:

$$\frac{100(0,79 - 0,86)}{0,86} = 8,14\% \text{ τιμή εντός των ανωτέρω ευρών.}$$

Προσδιορίσαμε επίσης το ολικό σφάλμα από την σχέση:

$$T = \frac{100 * (\bar{X} - \mu) + 2Sr}{\mu} \quad T = \frac{(0,79 - 0,86) + 2 * 0,010}{0,86} * 100 = 10,5\% \quad (7)$$

Η τιμή 10,5% για το ολικό σφάλμα θεωρείται εξαιρετική σύμφωνα με τις σημειώσεις του Μ. Κουππάρη «Χαρακτηριστικά ποιότητας αναλυτικών μεθόδων» σελίδα 5.

Ακολούθησε η εκτίμηση της πιστότητας (precision) της μεθόδου Β με μέτρα εκτίμησης την τυπική απόκλιση S_r , την επαναληψιμότητα r και την σχετική τυπική απόκλιση RSD_r (Πίνακας 1) και διαπιστώθηκε ότι η πιστότητα είναι αποδεκτή διότι εμπίπτει στα όρια του Πίνακα VIII του SOP 00 00 07 001 του εγχειριδίου ποιότητας του Γ. Χ. Κ.

ΕΠΙΛΟΓΗ ΜΕΘΟΔΟΥ

Μετά την απόδειξη της ισοδυναμίας των δύο μεθόδων επελέγη η μέθοδος Β και με αυτή προσδιορίστηκε η τέφρα επί ξηρού του δευτερογενούς υλικού αναφοράς.

Η παραγωγή αυτού έγινε από το BCR CRM 382 που διαθέταμε σύμφωνα με την διαδικασία του SOP 00 00 06 003 § 4.5 και τους άλλους τρόπους εκτίμησης της ορθότητας που εφαρμόσαμε. Το αναλυτικό αυτό σχήμα παραγωγής δευτερογενούς υλικού αναφοράς (αλεύρι κατηγορίας Μ) περιγράφεται στο Πίνακα 4

Μετά την αξιολόγηση των αποτελεσμάτων το δευτερογενές αυτό υλικό αναφοράς, αλεύρι κατηγορίας Μ, έγινε αποδεκτό και τα αποτελέσματα του Πίνακα 3 χρησιμοποιήθηκαν για την κατασκευή Χ- διαγράμματος ελέγχου ποιότητας (μέσου όρου) προς χρήση στον εσωτερικό έλεγχο ποιότητας

Πίνακας 1

Προσδιορισμός τέφρας πιστοποιημένου υλικού αναφοράς BCR CRM 382

α/α	550 °C	900 °C	550 °C	900 °C
X1	0,75632	0,70073	0,86322	0,79977
X2	0,76058	0,70024	0,86808	0,79921
X3	0,75778	0,68232	0,86489	0,77876
X4	0,79866	0,69139	0,91154	0,78911
X5	0,80736	0,70481	0,92148	0,80443
X6	0,76481	0,68643	0,87291	0,78345
\bar{X}	0,77425	0,69432	0,88368	0,79245
S_r	0,023	0,009	0,026	0,010
r	0,064	0,025	0,072	0,029
RSD_r	2,970	1,290	2,940	1,260
S_{AB}	0,127		0,135	
F_{exp}	6,532		6,76	
F_{theor}	7,15		7,15	
t_{exp}	1,092		1,167	
t_{theor}	2,571			

Πίνακας 2

Προσδιορισμός υγρασίας πιστοποιημένου υλικού αναφοράς BCR CRM 382 στους 103 °C

X1	12,4353
X2	12,3836
X3	12,3659
X4	12,4330
X5	12,3483
X6	12,3404
\bar{X}	12,3844
S_r	0,041
r	0,115
RSD_r	0,331

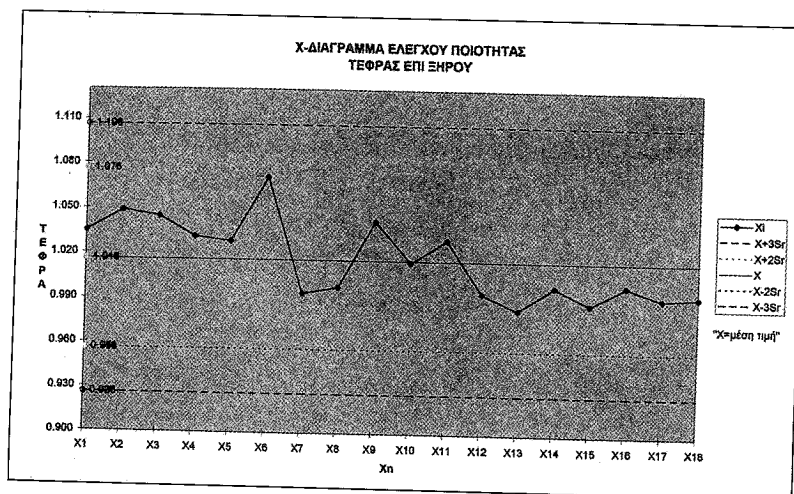
όπου

$$r = 2,8 \cdot S_r \quad S_r = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (\bar{X} - X_i)^2}{n-1}} \quad RSD_r = \frac{100 \cdot S_r}{\bar{X}}$$

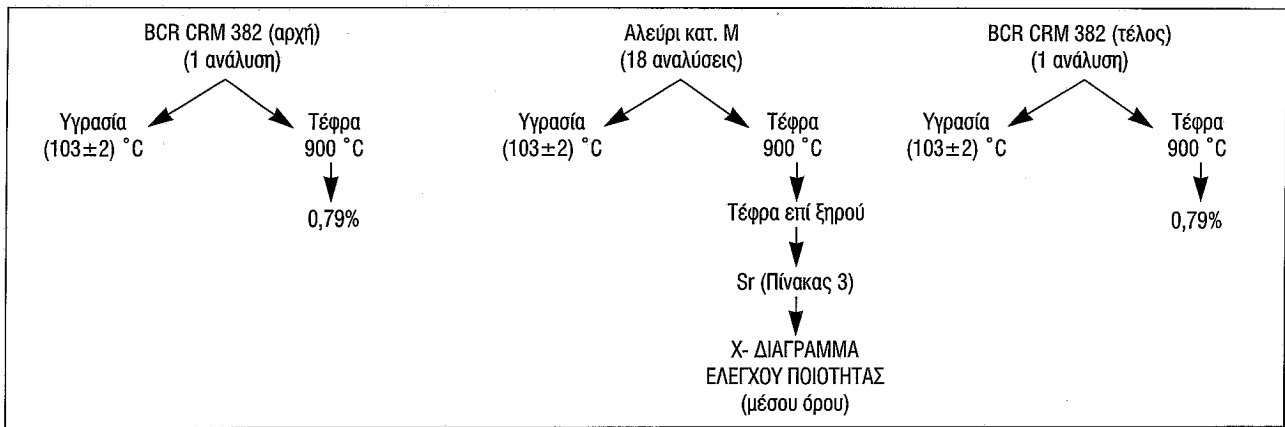
Οι τιμές τέφρας επί ξηρού στους 550 °C και 900 °C υπολογίσθηκαν με $\bar{X} = 12,3844$ (μέση τιμή υγρασίας στους (103 ± 2) °C από έξι μετρήσεις (βλ. Πιν.2).

Πίνακας 3 Προσδιορισμός τέφρας σε αλεύρι κατ.Μ στους 900 °C

α/α	Υγρασία	Τέφρα ως έχει στους 900 °C	Τέφρα επί ξηρού στους 900 °C
X1	14,08	0,8893	1,03503
X2	14,02	0,9017	1,04873
X3	14,03	0,8983	1,04490
X4	13,88	0,8882	1,03135
X5	13,89	0,8856	1,02845
X6	13,92	0,922	1,07110
X7	13,81	0,8567	0,99397
X8	13,55	0,8629	0,99815
X9	13,85	0,8980	1,04287
X10	13,77	0,8753	1,01508
X11	13,84	0,8876	1,03018
X12	13,69	0,8585	0,99467
X13	13,85	0,8476	0,98387
X14	13,88	0,8609	0,99965
X15	13,90	0,8506	0,98792
X16	14,10	0,8594	1,00047
X17	14,03	0,853	0,99221
X18	14,02	0,8545	0,99384
\bar{X}	13,8950	0,8750	1,01622
S_r			0,030
r			0,072
RSD_r			2,53



Πίνακας 4: Αναλυτικό σχήμα παραγωγής δευτερογενούς υλικού αναφοράς



VALIDATION OF THE METHOD OF DETERMINATION OF ASH IN WHEAT FLOUR WITH THE USE OF A CRM

Angeliki Fotinou, Chemical Engineer of the General Chemical State Laboratory, Division of the Chemical Service of Patra.

This paper describes the validation of the method applied for the determination of ash in wheat flour by using a suitable certified reference material. Validation of the method includes the following :

• Evaluation of trueness and precision of a method involving ashing at 550 o C (method A) by using certified material B C R 382 (wheat flour).

- Application of the method described in the ANNEX II of Regulation 1533/93 EC by ashing at 900o C (method B).
- Confirmation of the equivalence of methods A and B for C.R.M. BCR 382.
- Evaluation of trueness and precision for method B.
- Selection of method B for the analysis of routine samples.
- Preparation of a secondary reference material to be used as a quality control sample.
- Design of an internal quality control scheme involving the use of a control chart.

Αβεβαιότητα στις χημικές μετρήσεις

Ευγενία Λαμπή

Δρ. Χημικός του Γ.Χ.Κ., Γ' Χημικής Υπηρεσία Αθηνών,
Εργ. Υλικών και Αντικειμένων σ' επαφή με Τρόφιμα



I. ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Στις Χημικές Μετρήσεις όπως και σε οποιαδήποτε άλλη δοκιμή, όταν αναφέρεται το αποτέλεσμα της μέτρησης φυσικής ποσότητας, είναι υποχρεωτικό να δίνεται και κάποια ποσοτική ένδειξη της ποιότητας αυτού, ούτως ώστε αυτός που θα το χρησιμοποιήσει να μπορεί να εκτιμήσει την αξιοπιστία του. Χωρίς αυτή την ένδειξη, το εν λόγω αποτέλεσμα, δεν μπορεί να συγκριθεί είτε με οποιοδήποτε άλλο, είτε με τις δεδομένες τιμές προδιαγραφών ή προτύπων.

Είναι απαραίτητο επομένως, να υπάρχει μία εύκολα εφαρμόσιμη, καταννητή και γενικά αποδεκτή διαδικασία για το χαρακτηρισμό της ποιότητας ενός αποτελέσματος μέτρησης δηλαδή της εκτίμησης και έκφρασης της αβεβαιότητάς του.

Ο όρος «αβεβαιότητα» ως ποσοτικοποιούμενο χαρακτηριστικό, είναι σχετικά νέος στην ιστορία των μετρήσεων, ενώ το «σφάλμα» και το «σφάλμα ανάλυσης» έχει μακρά παρουσία στην πρακτική των επιστημονικών μετρήσεων και τη μετρολογία. Είναι δε πλέον ευρέως αποδεκτό, ότι ακόμα και όταν όλα τα γνωστά και αναμενόμενα συστατικά του σφάλματος έχουν εκτιμηθεί και έχουν εφαρμοστεί οι κατάλληλες διορθώσεις, εξακολουθεί να παραμένει μία αβεβαιότητα γύρω από την ορθότητα του αποτελέσματος, δηλαδή μία αμφιβολία για το πόσο καλά το αποτέλεσμα μίας μέτρησης αναπαριστά την αληθή τιμή (true value) της ποσότητας που μετράται.

Έτσι ο Αναλυτής όταν παρουσιάζει το αποτέλεσμα μιας ανάλυσης πρέπει να δίνει και μια παραμετρο που να εκφράζει την ποσοτική ένδειξη του εύρους των τιμών (range) που εύλογα μπορούν να αποδοθούν στη συγκέντρωση του προσδιοριστέου.

Δεδομένου ότι η αβεβαιότητα θα πρέπει να αντικατοπτρίζει τις απαιτήσεις του Διεθνούς Συστήματος Μονάδων και να εφαρμόζεται σε όλους τους τομείς των μετρήσεων, οι κύριοι άξονες πάνω στους οποίους κινήθηκε ο προβληματισμός για την εκτίμηση και τον υπολογισμό της είναι οι ακόλουθοι.

- Η ιδανική μέθοδος για την εκτίμηση και έκφραση της αβεβαιότητας ενός αποτελέσματος μέτρησης πρέπει να είναι γενική (καθολική), δηλαδή να εφαρμόζεται σε όλα τα είδη μετρήσεων και όλους τους τύπους δεδομένων.
- Η πραγματική ποσότητα που χρησιμοποιείται για να εκφράσει την αβεβαιότητα, θα είναι: α) εσωτερικά σταθερή (συνεπής), δηλαδή να εξάγεται απευθείας από τα συστατικά τα οποία συνεισφέρουν σ' αυτήν, αλλά και ανεξάρτητη από το πως αυτά ομαδοποιούνται ή αποσυντίθενται σε υποσυστατικά και β) μεταβιβάσιμη, δηλαδή να είναι δυνατή η απευθείας χρήση της εκτίμησης της αβεβαιότητας ενός αποτελέσματος ως συστατικού για την εκτίμηση της αβεβαιότητας άλλων μετρήσεων στην οποία χρησιμοποιείται το εν λόγω αποτέλεσμα.

II. ΟΡΙΣΜΟΙ

Ο όρος αβεβαιότητα σημαίνει αμφιβολία και κατ' επέκταση η «αβεβαιότητα μιας μέτρησης» στην ευρύτερη έννοιά της σημαίνει αμφιβολία ως προς την εγκυρότητα και την ακρίβεια του αποτελέσματος μιας μέτρησης. Ο επιστημονικός ορισμός της αβεβαιότητας ελήφθη από το Διεθνές Λεξικό των Βασικών και Γενικών Όρων στην Μετρολογία (International Vocabulary of Basic and General Terms in Metrology -VIM) και είναι: «Μια παράμετρος

που σχετίζεται με το αποτέλεσμα μετρήσεως, χαρακτηρίζει δε τη διασπορά των τιμών που ευλόγως μπορούν να αποδοθούν στο μετρούμενο».

Τυπική αβεβαιότητα (standard uncertainty), ορίζεται ως η αβεβαιότητα μιας μέτρησης εκπεφρασμένη ως τυπική απόκλιση.

Συνδυασμένη τυπική αβεβαιότητα (combined standard uncertainty), ορίζεται η τυπική αβεβαιότητα αποτελέσματος μέτρησης, όταν αυτό το αποτέλεσμα προκύπτει από τις τιμές ενός αριθμού άλλων ποσοτήτων, ισοδυναμεί δε με τη θετική τετραγωνική ρίζα του αθροίσματος των όρων (επιμέρους διακυμάνσεων) ή των συμμεταβολών των επιμέρους ποσοτήτων σταθμισμένων ανάλογα με το πως το αποτέλεσμα της μέτρησης μεταβάλλεται σε αντιστοιχία με τις αλλαγές αυτών.

Εκτεταμένη αβεβαιότητα (expanded uncertainty), η οποία εκφράζει ένα διάστημα για το αποτέλεσμα μέτρησης, το οποίο αναμένεται να περιλαμβάνει ένα μεγάλο ποσοστό της κατανομής των τιμών που μπορούν ευλόγως να αποδοθούν στο μετρούμενο.

Συντελεστής συσχέτισης (coverage factor) ορίζεται ο αριθμητικός συντελεστής με τον οποίο πολλαπλασιάζεται η συνδυασμένη αβεβαιότητα, ώστε να προκύψει η εκτεταμένη αβεβαιότητα.

Εκτίμηση τύπου A (της αβεβαιότητας) ορίζεται η μέθοδος εκτίμησης με στατιστική ανάλυση μιας σειράς παρατηρήσεων.

Εκτίμηση τύπου B (της αβεβαιότητας) ορίζεται η μέθοδος εκτίμησης με άλλες εκτός στατιστικής μεθόδους.

III ΣΦΑΛΜΑ ΚΑΙ ΑΒΕΒΑΙΟΤΗΤΑ

Γενικώς μια μέτρηση έχει ατέλειες, οι οποίες προκαλούν σφάλμα στο αποτέλεσμα. Παραδοσιακά ένα σφάλμα θεωρείται ότι αποτελείται από ένα τυχαίο και ένα συστηματικό συστατικό.

Ως **σφάλμα (error)** ορίζεται η διαφορά μεταξύ ενός συγκεκριμένου αποτελέσματος και της αληθούς τιμής του μετρούμενου. Το σφάλμα συνήθως αποτελείται από δύο συστατικά μέρη, το συστηματικό και το τυχαίο.

Ειδικότερα το τυχαίο σφάλμα πιθανόν προκύπτει από μη προγνωστές ή μη σταθερές και ασυνεχείς μεταβολές των παραγόντων που επηρεάζουν τη μέτρηση. Οι επιδράσεις αυτών των μεταβολών, οριζόμενες ως τυχαίες επιδράσεις, προκαλούν διακυμάνσεις σε επαναλαμβανόμενες παρατηρήσεις για το ίδιο προσδιοριστέο συστατικό.

Αν και δεν είναι δυνατόν να αντιμετωπισθεί το τυχαίο σφάλμα ενός αποτελέσματος μέτρησης, συνήθως μπορεί αυτό να μειωθεί με αύξηση του αριθμού των παρατηρήσεων της αναμενόμενης τιμής.

Πρέπει να τονιστεί ότι η πειραματική τυπική απόκλιση του αριθμητικού μέσου όρου ή της μέσης τιμής μιας σειράς παρατηρήσεων δεν είναι το τυχαίο σφάλμα αυτού, αν και διατυπώνεται έτσι σε ορισμένες εκδόσεις. Είναι όμως μια μέτρηση της αβεβαιότητας του μέσου όρου οφειλόμενη σε τυχαίες επιδράσεις. Η ακριβής τιμή του τυχαίου σφάλματος δεν μπορεί να γίνει γνωστή.

Πρέπει ως εκ τούτου να γίνει σαφές ότι η αβεβαιότητα και το σφάλμα δεν είναι συνώνυμοι όροι, αλλά αναπαριστούν διαφορετικές έννοιες.

Ως συστηματικό σφάλμα ορίζεται το συστατικό εκείνο του σφάλματος το οποίο σε μια σειρά προσδιορισμών του ίδιου μετρούμενου παραμένει σταθερό ή μεταβάλλεται κατά προγνωσίμο τρόπο. Είναι ανεξάρτητο από τον αριθμό των μετρήσεων και ως εκ τούτου δεν μπορεί να ελαττωθεί αυξανόμενου του αριθμού των προσδιορισμών κάτω από σταθερές συνθήκες.

Το αποτέλεσμα μιας μέτρησης θα πρέπει να διορθώνεται για όλα τα σημαντικά συστηματικά σφάλματα.

Ένας άλλος τύπος σφάλματος που μπορεί να θεωρηθεί εξαιρετική περίπτωση τυχαίου σφάλματος είναι το πλάσματικό σφάλμα, το οποίο τυπικά οφείλεται σε ανθρώπινο σφάλμα ή σε κακή λειτουργία μιας συσκευής και ως εκ τούτου ακυρώνει το αποτέλεσμα.

Από την άλλη πλευρά η αβεβαιότητα αντανάκλα την έλλειψη ακριβούς γνώσης της τιμής του προσδιοριστέου. Δηλαδή το αποτέλεσμα μιας μέτρησης μετά τη διόρθωση για τα αναγνωρισμένα συστηματικά σφάλματα εξακολουθεί να είναι μόνο μία εκτίμηση της τιμής του προσδιοριστέου εξαιτίας της αβεβαιότητας που προκύπτει από τις τυχαίες επιδράσεις (τυχαίο σφάλμα) και από την ατελή διόρθωση του αποτελέσματος για τις συστηματικές επιδράσεις (συστηματικό σφάλμα).

Έτσι το συστηματικό μέρος του σφάλματος μπορεί να διορθωθεί για μια μέτρηση αν είναι γνωστές όλες οι πηγές του, σε αντίθεση με το τυχαίο, το οποίο εξ ορισμού είναι μεταβλητό από τον έναν προσδιορισμό στον επόμενο. Αντιθέτως η αβεβαιότητα, εάν εκτιμηθεί για μια αναλυτική

διαδικασία και καθορισμένο τύπο δείγματος, μπορεί να εφαρμοσθεί για όλους τους προσδιορισμούς, ενώ κανένα μέρος της δεν είναι δυνατόν να διορθωθεί.

Για να διευκρινιστεί περαιτέρω η διαφορά, μπορεί να δοθεί το ακόλουθο παράδειγμα. Το αποτέλεσμα μιας ανάλυσης μετά τη διόρθωση μπορεί κατά τύχη να είναι πολύ κοντά στην «αληθή» τιμή του μετρούμενου και κατά συνέπεια το σφάλμα του εξαιρετικά μικρό. Αντιθέτως, η αβεβαιότητα μπορεί να εξακολουθεί να είναι πολύ μεγάλη, απλώς διότι ο αναλυτής είναι αβέβαιος για το κατά πόσον το αποτέλεσμα είναι κοντά στην αληθή τιμή. Δηλαδή η αβεβαιότητα μιας μέτρησης δεν θα πρέπει να θεωρείται ότι αντανάκλα στο σφάλμα αυτό καθ' αυτό, ούτε στο σφάλμα μετά τη διόρθωση.

IV ΠΗΓΕΣ ΤΗΣ ΑΒΕΒΑΙΟΤΗΤΑΣ

Για την ταυτοποίηση της αβεβαιότητας σε μία αναλυτική διαδικασία είναι απαραίτητο να προσδιορισθούν οι παράγοντες που επηρεάζουν την ποιότητα του αποτελέσματος. Για το λόγο αυτό θεωρείται δόκιμο να χωρισθεί η ανάλυση σε ολοκληρωμένα στάδια, τα οποία περαιτέρω διαχωρίζονται σε επιμέρους στοιχεία που συνεισφέρουν σ' αυτήν. Παρακάτω δίνεται ένας κατάλογος που δείχνει τους παράγοντες που πρέπει να θεωρηθούν:

1. Δειγματοληψία
 - Εκτίμηση της ομοιογένειας
 - Ανάγκη λήψης μερικών δειγμάτων από διαφορετικά σημεία του όλου (σωρού)
 - Είναι το όλον στατικό ή ρέον;
 - Φυσική κατάσταση του όλου (στερεό, υγρό, αέριο)
 - Επίδραση θερμοκρασίας και πίεσης
 - Επηρεάζει η διαδικασία δειγματοληψίας τη σύνθεση του δείγματος (π.χ. προσρόφηση στο σύστημα δειγματοληψίας)
2. Παρασκευή - κατεργασία του δείγματος
 - Διαδικασίες που διασφαλίζουν αντιπροσωπευτικό υποδείγμα
 - Διάλυση
 - Εκχύλιση
 - Επιμόλυνση (contamination)
 - Παραγωγοποίηση (derivatization)
 - Σφάλματα αραίωσης
 - Συγκέντρωση
 - Έλεγχος επιδράσεων κατανομής (speciation)
3. Συμμετοχή των Πιστοποιημένων Υλικών Αναφοράς (CRMs) στο σύστημα μέτρησης.
 - Μεταφορά σε αυτόματους αναλυτές
 - Αβεβαιότητα του CRM
 - Αντιπαραβολή του CRM με το δείγμα
4. Διακρίβωση - Βαθμονόμηση της συσκευής
 - Σφάλματα βαθμονόμησης από τη χρήση Πιστοποιημένων Υλικών Αναφοράς
 - Υλικό Αναφοράς και αβεβαιότητά του
 - Αντιπαραβολή του υλικού βαθμονόμησης με το δείγμα
5. Ανάλυση
 - Επίδραση χειριστή
 - Αποφυγή επιμολύνσεων
 - Καθαρότητα αντιδραστηρίων
 - Παράμετροι της συσκευής π.χ. μυριάδες παράμετροι στους ολοκληρωτές
6. Επεξεργασία δεδομένων
 - Υπολογισμός μέσου όρου
 - Έλεγχος στρωγγυλεύσεων
 - Στατιστικά
 - Επεξεργασία αλγορίθμων (προσαρμογή μοντέλων π.χ. ελάχιστα τετράγωνα)
7. Παρουσίαση αποτελεσμάτων
 - Τελικό αποτέλεσμα
 - Εκτίμηση της αβεβαιότητας
 - Διάστημα εμπιστοσύνης
8. Ερμηνεία των αποτελεσμάτων
 - Έναντι των ορίων (μέγιστων ή/και ελάχιστων)
 - Κανονικότητα συμμόρφωσης
 - Καταλληλότητα για το σκοπό

Τα συστατικά της αβεβαιότητας, στην πράξη, μπορούν να συνίστανται στα ακόλουθα: ατελής ορισμός του μετρούμενου, δειγματοληψία, ατελής παραλαβή ή προσυγκέντρωση του μετρούμενου, επίδραση του υποστρώματος, επιμόλυνση κατά τη διάρκεια της παρασκευής του δείγματος, ανεπαρκής γνώση της επίδρασης των περιβαλλοντικών συνθηκών, ατομικές παρεκκλίσεις κατά την ανάγνωση των ενδείξεων, αβεβαιότητα ογκομετρικού εξοπλισμού και ζυγίσεων, διακριτική ικανότητα της συσκευής και κατώφλι διακρίσεως, καθορισμένες τιμές προτύπων και υλικών αναφοράς, τιμές σταθερών και παραμέτρων, προσεγγίσεις, τυχαίες διακυμάνσεις κ.λ.π.

V. ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΕΚΤΙΜΗΣΗΣ ΤΗΣ ΑΒΕΒΑΙΟΤΗΤΑΣ

Η εκτίμηση της αβεβαιότητας είναι, κατ' αρχήν, απλή, αρκεί να ακολουθηθούν τα παρακάτω βήματα (σχ. 1):

1. Προδιαγραφή (Specification)

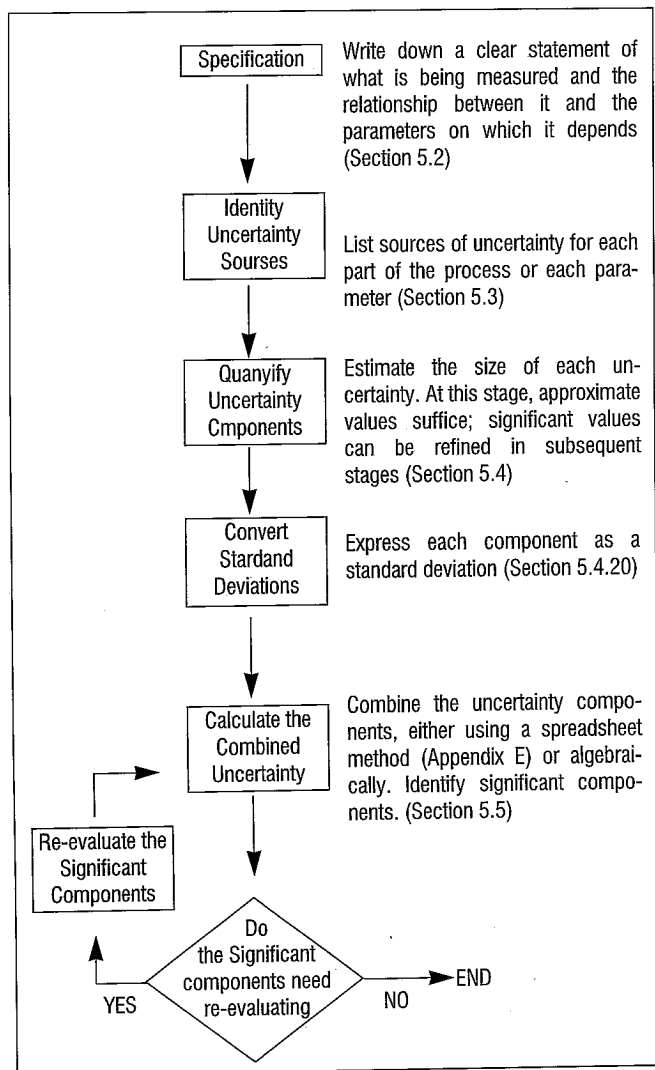
Καταγραφή με σαφήνεια της φύσεως του μετρούμενου και της σχέσεως μεταξύ αυτού και των παραμέτρων (π.χ. μετρούμενες ποσότητες, σταθερές, πρότυπα διακρίσεως κ.λ.π.) από τις οποίες εξαρτάται.

Όταν είναι δυνατόν, περιλαμβάνονται διορθώσεις για συστηματικά σφάλματα.

Οι οποιοσδήποτε πληροφορίες για τις προδιαγραφές, εφόσον υπάρχουν, πρέπει να ανευρίσκονται στη σχετική τυποποιημένη διαδικασία λειτουργίας (SOP) ή άλλη περιγραφή της μεθόδου.

Στις περισσότερες των περιπτώσεων το προσδιοριστέο y δεν μετράται απευθείας, αλλά εξαρτάται από έναν αριθμό αρχικών ή ενδιάμεσων ποσοτήτων μέσω μιας συνάρτησης f :

$$y = f(x_1, x_2, \dots, x_N) \quad (1)$$



Σχήμα 1. Διαδικασία εκτίμησης της αβεβαιότητας

2. Προδιορισμός (ταυτοποίηση) των πηγών αβεβαιότητας

Για κάθε παράμετρο στη σχέση (1) δημιουργείται ένας κατάλογος των δυνατών πηγών αβεβαιότητας

Τυπικές πηγές αβεβαιότητας είναι:

- Δειγματοληψία
- Συστηματικό σφάλμα (bias) συσκευής (π.χ. το όριο ακρίβειας κατά τη διακρίβωση αναλυτικού ζυγού, διαφορά θερμοκρασίας μεταξύ θερμοστάτη και ενδείξεως, υπερφόρτωση αυτόματου αναλυτή κ.λ.π.)
- Καθαρότητα αντιδραστηρίων
- Συνθήκες κατά τη μέτρηση (π.χ. τα ογκομετρικά όργανα μπορεί να χρησιμοποιούνται σε διαφορετικές θερμοκρασίες από αυτή της διακρίβωσης, χρήση υλικών ευαίσθητων σε αλλαγές της υγρασίας κ.λ.π.)
- Επίδραση από τη φύση του δείγματος. Η ανάκτηση του προσδιοριστέου από ένα πολύπλοκο υπόστρωμα ή η απόκριση της συσκευής μπορεί να επηρεάζονται από άλλα στοιχεία του δείγματος. Πολλές φορές η ανάκτηση από εμβολιασμένο δείγμα μπορεί να διαφέρει από ένα πραγματικό δείγμα, εισάγοντας μία αβεβαιότητα που πρέπει να εκτιμηθεί.
- Επίδραση του λογισμικού. Πολλές φορές επιλέγεται ακατάλληλο μοντέλο για τη βαθμονόμηση, π.χ. χρήση γραμμικής βαθμονόμησης για αποκρίσεις που ακολουθούν καμπύλη.
- Επιμόλυνση. Κυρίως σε αναλύσεις ιχνοποσοτήτων είναι ιδιαίτερης σπουδαιότητας η εκτίμηση της πιθανότητας επιμόλυνσης.
- Προκατάληψη του χειριστή (προκατάληψη στην ανάγνωση της μέτρησης, κακή ερμηνεία της μεθόδου κ.λ.π.)
- Τυχαίες επιδράσεις

3. Ποσοτικοποίηση της αβεβαιότητας

Το πρώτο βήμα είναι μία προκαταρκτική εκτίμηση της συνεισφοράς κάθε συστατικού στη συνδυασμένη αβεβαιότητα και η εξάλειψη των μη σημαντικών. Επιδιώκεται επίσης η αναγνώριση κάποιων ομάδων συστατικών της αβεβαιότητας που μπορούν να εκτιμηθούν ως ένα συστατικό.

Η διακρίβωση καθιστά δυνατή την εκτίμηση της συνδυασμένης αβεβαιότητας για το τμήμα της διαδικασίας μέτρησης το οποίο διακρίβωνεται (βρόγχος διακρίβωσης) χωρίς λεπτομερή υπολογισμό κάθε συστατικού της εντός του τμήματος αυτού.

Θα πρέπει στο σημείο αυτό να τονισθεί η επίδραση της συγκέντρωσης του προσδιοριστέου στην τιμή της αβεβαιότητας. Γι' αυτό συνιστάται ο ορισμός της εντός περιορισμένης περιοχής συγκεντρώσεων ή η εκτίμησή της υπό μορφή σχετικής τυπικής απόκλισης.

Υπάρχουν τέσσερις βασικοί τρόποι με τους οποίους μπορούν να εκτιμηθούν τα επιμέρους συστατικά της αβεβαιότητας:

- Πειραματική εργασία εντός του εργαστηρίου που θα εκτελέσει την ανάλυση. Συνήθως η τυπική αβεβαιότητα εκφράζεται σε όρους τυπικής απόκλισης των μετρηθεισών τιμών από πειράματα επαναληψιμότητας. Στην πράξη, αρκούν δεκαπέντε (15) επαναλήψεις της ανάλυσης (replicates), εκτός αν απαιτείται μεγαλύτερη ακρίβεια.
- Χρήση Υλικών Αναφοράς. Μετρήσεις σε υλικά αναφοράς δίνουν πολύ καλά δεδομένα για την εκτίμηση της αβεβαιότητας, καθόσον παρέχουν πληροφορίες για τη συνδυασμένη επίδραση πολλών πηγών αυτής. Οι πηγές που μπορεί να λαμβάνονται υπόψη είναι:
 - ◆ η αβεβαιότητα της εκτιμήτριας τιμής του υλικού αναφοράς
 - ◆ η αναπαραγωγιμότητα των μετρήσεων για το υλικό αναφοράς
 - ◆ οποιαδήποτε διαφορά μεταξύ της μετρούμενης τιμής για το υλικό αναφοράς και της εκτιμήτριας τιμής
 - ◆ διαφορές μεταξύ του υλικού αναφοράς και του δείγματος
 - ◆ διαφορές στην απόκριση του συστήματος μέτρησης μεταξύ υλικού αναφοράς και δείγματος π.χ. λόγω αλληλεπιδράσεων και επιδράσεων του υποστρώματος
 - ◆ χειρισμός ή προκατεργασίες που γίνονται στο δείγμα και όχι στο υλικό αναφοράς

Η χρήση γενικά των υλικών αναφοράς έχει αποδειχθεί ιδιαίτερα χρήσιμη για τον υπολογισμό αρκετών βασικών πηγών αβεβαιότητας.

- Εκτίμηση βασισμένη σε προηγούμενα αποτελέσματα/δεδομένα. Όταν η διεξαγωγή πειραμάτων είναι δύσκολη, το πρόβλημα μπορεί να λυθεί με προσφυγή σε πληροφορίες από προηγούμενες εργασίες εντός του ίδιου του εργαστηρίου ή αλλού. Ευτυχώς τέτοια πληροφόρηση είναι πολύ συχνά διαθέσιμη. Παρακάτω προτείνονται μερικές πηγές αυτής.

◆ Προμηθευτές. Για πολλές πηγές αβεβαιότητας πληροφορίες δίνουν τα πιστοποιητικά διακρίβωσης και οι κατάλογοι των προμηθευτών. Π.χ. ανοχές ογκομετρικού εξοπλισμού, ζυγοί κ.λ.π.

◆ Διεργαστηριακές μελέτες. Πολλές φορές μία διεργαστηριακή μελέτη, επί παραδείγματι σύμφωνα με τα πρότυπα AOAC/IUPAC ή το πρότυπο ISO 5725, για την επικύρωση (validation) μεθόδου μπορεί να είναι εξαιρετική πηγή για τον υπολογισμό μερικών πηγών αβεβαιότητας.

◆ Σχήματα ελέγχου ικανότητας (proficiency testing schemes). Τα αποτελέσματα που έχει φέρει το εργαστήριο σε έναν αριθμό κύκλων αποτελούν ένδειξη της διασποράς της τιμής του προσδιορισμού για έναν αριθμό αναλύσεων. Επιπλέον, τα αποτελέσματα που φέρνει το εργαστήριο μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως έλεγχος επί της εκτιμηθείσας αβεβαιότητας, λαμβάνοντας υπόψη τη διασπορά των ανωτέρω κατά τη συμμετοχή σε διαφορετικούς κύκλους. Πρέπει βέβαια να ληφθεί υπόψη η σύνθεση των δειγμάτων που αναλύθηκαν στο σχήμα, αν η εκτιμητήρια τιμή είναι ιχνηλάσιμη και αν η αβεβαιότητα της εκτιμηθείσας τιμής είναι μικρή σε σχέση με την παρατηρούμενη διασπορά των αποτελεσμάτων του σχήματος.

◆ Δεδομένα διασφάλισης ποιότητας (Q.A.) στο εργαστήριο. Δεδομένα από quality control charts για τον έλεγχο ποιότητας μέσα στο εργαστήριο (εσωτερικός έλεγχος ποιότητας) αποτελούν σημαντική πηγή πληροφοριών. Όταν χρησιμοποιούνται στα διαγράμματα Q.A. υλικά αναφοράς, μπορεί να εκτιμηθεί η συνδιασμένη αβεβαιότητα όλης της διαδικασίας στην οποία συμμετέχει το υλικό. Άλλως, τα δεδομένα Q.A. αποτελούν ένα συνεχή έλεγχο της εκτιμηθείσας αβεβαιότητας. Σαφώς, η συνδιασμένη αβεβαιότητα που προκύπτει από τις τυχαίες επιδράσεις, δεν μπορεί να είναι μικρότερη από την επαναληψιμότητα των μετρήσεων Q.A.

◆ Η εμπειρική σχέση του Horwitz. Ο Horwitz, μελετώντας τα αποτελέσματα πολλών διεργαστηριακών δοκιμών κατέληξε σε μια εμπειρική σχέση που συνδέει την διεργαστηριακή επαναληψιμότητα με τη συγκέντρωση του προσδιοριστέου, ανεξάρτητα από τη φύση αυτού. Η σχέση αυτή είναι:

$$CV (\%) = 2^{(1-0.5 \log C)} \quad (1)$$

όπου CV ο συντελεστής διακύμανσης επί τοις εκατό και C η συγκέντρωση του προσδιοριστέου εκφρασμένη σε δυνάμεις του 10 (π.χ. 1 ppm = 10⁻⁶). Η σχέση του Horwitz πρέπει να χρησιμοποιείται όταν δεν υπάρχουν άλλα δεδομένα και δίνει την τάξη μεγέθους της αναμενόμενης επαναληψιμότητας μιας ανάλυσης. Για ανάλυση στο επίπεδο του ppm προκύπτει CV 16% (RSD 0.16) ενώ για ανάλυση στα επίπεδα του ppb προκύπτει CV περίπου 45% (RSD 0.45).

Εκτίμηση βασισμένη στην κρίση του αναλυτή. Η εκτίμηση αυτού του τύπου δεν βασίζεται σε πειραματικά δεδομένα, αλλά στην υποκειμενική πιθανότητα, μία έκφραση που μπορεί να χρησιμοποιηθεί σαν συνώνυμο των «βαθμός πίστης», «διαισθητική πιθανότητα» και «αξιοπιστία». Υποτίθεται βεβαίως ότι ο βαθμός πίστης δεν βασίζεται σε μία κρίση στα πεταχτά(!), αλλά σε μια μελετημένη, ώριμη αξιολόγηση της πιθανότητας.

3.1 Υπολογισμός της τυπικής αβεβαιότητας u(xi)

Στο σημείο αυτό θα πρέπει να τονισθεί ότι όλες οι συνεισφορές της αβεβαιότητας θα πρέπει να εκφραστούν ως τυπικές αβεβαιότητες, δηλαδή ως τυπικές αποκλίσεις πριν τον συνδυασμό τους για τον υπολογισμό της συνδιασμένης αβεβαιότητας.

3.1.1. Υπολογισμός της τυπικής αβεβαιότητας με στατιστική επεξεργασία (Τύπος A)

Κατά την εκτίμηση της τυπικής αβεβαιότητας τύπου A τα συστατικά της αβεβαιότητας εκτιμώνται από μια σειρά επαναλαμβανόμενων παρατηρήσεων, με υπολογισμό της τυπικής απόκλισης.

Λαμβάνονται το πολύ δεκαπέντε υπο-δείγματα μετά από ομογενοποίηση του δείγματος και ακολουθεί η διαδικασία για τον προσδιορισμό της επαναληψιμότητας της διαδικασίας που μελετάται ή και όλης της μεθόδου. Περισσότερες επαναλήψεις χρειάζονται μόνο όταν απαιτείται ειδικά μεγάλη ακρίβεια.

Η εκτίμηση της διασποράς των τιμών του μετρούμενου γύρω από τη μέση τιμή γίνεται με την τυπική απόκλιση και του διαστήματος εμπιστοσύνης.

Εάν η τιμή του προσδιοριστέου υπολογίζεται ως ο αριθμητικός μέσος όρος μίας σειράς μετρήσεων n:

$$\bar{q} = \frac{1}{n} \sum_{k=1}^n q_k \quad (2)$$

η τυπική απόκλιση θα ισούται με τη θετική τετραγωνική ρίζα της διακύμανσης, όπου:

$$s^2(q_k) = \frac{1}{n-1} \sum_{k=1}^n (q_k - \bar{q})^2 \quad (3)$$

Δηλαδή η τυπική απόκλιση των τιμών (όταν λαμβάνονται εις απλούν) από τη μέση τιμή είναι:

$$s(q_k) = \sqrt{s^2(q_k)} \quad (4)$$

Μέτρο της διασποράς από πληθυσμιακό δείγμα σε πληθυσμιακό δείγμα που έχει ληφθεί από την ίδια κατανομή είναι η «**τυπική απόκλιση των μέσων**» ή «**τυπικό σφάλμα**»:

$$s(q) = \frac{s(q_k)}{\sqrt{n}} \quad (5)$$

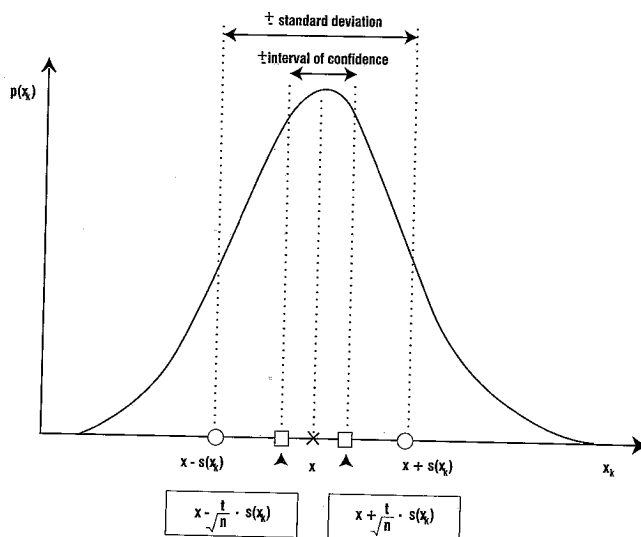
Πολλές φορές η τυπική απόκλιση εκφράζεται ως «συντελεστής μεταβλητότητας» ή «σχετική τυπική απόκλιση επί τοις εκατό»:

$$s(q_k) = \sqrt{s^2(q_k)} \quad (6)$$

Ο συνηθισμένος τύπος κατανομής είναι η κανονική ή κατανομή κατά Gauss (σχήμα 2) η οποία αποτελεί απεικόνιση της σχέσης:

$$f(x) = \frac{1}{s\sqrt{2\pi}} e^{-\frac{(q-m)^2}{2s^2}} \quad (7)$$

Οι χαρακτηριστικές περιοχές κατανομής δίνονται από τη σχέση (8):



Σχήμα 2. Κανονική Κατανομή - Στατιστικός χαρακτηρισμός των αποτελεσμάτων δοκιμών.

$$q \pm \frac{t}{\sqrt{n}} s(q_k) \quad (8)$$

όπου το $\frac{t}{\sqrt{n}} s(q_k)$ είναι η τιμή της αβεβαιότητας της δοκιμής, που υποδηλώνει ένα σημείο της περιοχής εντός της οποίας η «αληθής τιμή» αναμένεται να βρίσκεται εντός συγκεκριμένου επιπέδου εμπιστοσύνης. Ο όρος $\frac{t}{\sqrt{n}}$ ορίζεται ως συντελεστής K και παίρνει τις τιμές 1, 2 και 3 για επίπεδα εμπιστοσύνης 68.26%, 95.46% και 99.74% αντιστοίχως.

3.1.2. Υπολογισμός της Τυπικής Αβεβαιότητας με Εκτίμηση Δεδομένων (Τύπος Β)

Υπάρχουν περιπτώσεις, όπου τα συστατικά της αβεβαιότητας εκτιμώνται πάλι ως τυπικές αποκλίσεις αλλά από δεδομένα ή άλλες πηγές που υπάρχουν, όπως πιστοποιητικά διακρίβωσης ή υλικά αναφοράς.

Σε μερικές περιπτώσεις τα συστατικά της αβεβαιότητας μπορούν να εκτιμηθούν απευθείας από τον αναλυτή ο οποίος βασίζεται στην εμπειρία και τη γνώση του για τις ιδιότητες των υλικών που αναλύονται καθώς και τη συμπεριφορά των χρησιμοποιούμενων συσκευών. Αυτός ο τρόπος αναφέρεται ως εκτίμηση τύπου Β.

Κατά την εκτίμηση τύπου Β, για μία εκτίμηση της x_i της μετρούμενης ποσότητας X_i , η οποία δεν έχει επιτευχθεί από επαναλαμβανόμενες παρατηρήσεις, η αντίστοιχη διακύμανση $u^2(x_i)$, ή η τυπική αβεβαιότητα $u(x_i)$ υπολογίζονται κατόπιν επιστημονικής κρίσης βασισμένης σε όλες τις διαθέσιμες πληροφορίες για τη δυνατή διακύμανση του x_i .

Τα $u^2(x_i)$ και $u(x_i)$ που υπολογίζονται κατά τους ανωτέρω τρόπους καλούνται διακύμανση τύπου Β και τυπική αβεβαιότητα τύπου Β.

Πρέπει να σημειωθεί ότι όταν μία εκτίμηση της αβεβαιότητας προέρχεται από προηγούμενα δεδομένα, πρέπει πάλι να εκφραστεί ως τυπική αβεβαιότητα.

Στο σημείο αυτό αξίζει να υπενθυμισθεί ότι στη Χημική Ανάλυση συναντώνται δύο τύποι κατανομών.

α) **Κανονική Κατανομή**, οπότε η τυπική απόκλιση υπολογίζεται από τα δεδομένα ανάλογα με το επίπεδο εμπιστοσύνης που δηλώνεται.

Δηλαδή στην περίπτωση που δίνεται ένα διάστημα εμπιστοσύνης - στη μορφή $\pm a$ με επίπεδο εμπιστοσύνης P% - διαιρείται η τιμή a με το κατάλληλο ποσοστιαίο σημείο που αντιστοιχεί στην κανονική κατανομή για το δοθέν επίπεδο εμπιστοσύνης. Για παράδειγμα έστω ότι δίνεται μια προδιαγραφή η οποία ορίζει ότι η ακρίβεια ενός ζυγού κυμαίνεται εντός του ± 0.2 mg με επίπεδο εμπιστοσύνης 95%. Από πίνακες των επί τοις εκατό σημείων της κανονικής κατανομής βρίσκουμε ότι το διάστημα εμπιστοσύνης 95% αντιστοιχεί σε τιμή 1.96 σ. Επομένως η ανωτέρω προδιαγραφή δίνει τυπική αβεβαιότητα (τυπική απόκλιση) $0.2/1.96 = 0.1$.

β) **Τετραγωνική Κατανομή**, η οποία συνήθως χρησιμοποιείται σε πιστοποιητικά ή άλλες προδιαγραφές οι οποίες δίνουν όρια χωρίς να καθορίζουν το επίπεδο εμπιστοσύνης επί παραδείγματι στις ογκομετρικές φιάλες ο όγκος δίνεται ως $25\text{ml} \pm 0.05\text{ml}$. Επίσης, τετραγωνική κατανομή χρησιμοποιείται στις περιπτώσεις που το αποτέλεσμα (ή η εκτίμηση του) δίνεται στη μορφή μέγιστης περιοχής τιμών ($\pm a$) χωρίς να υπάρχει γνώση του είδους της κατανομής.

Εάν δίνονται από μία προδιαγραφή, όρια $\pm a$ χωρίς να αναφέρεται επίπεδο εμπιστοσύνης, τότε υποθέτουμε ορθογώνια κατανομή και η τυπική αβεβαιότητα (τυπική απόκλιση) είναι $a/\sqrt{3}$.

3.1.3. Υπολογισμός της τυπικής αβεβαιότητας από βαθμονόμηση με τη μέθοδο ελαχίστων τετραγώνων

Συνήθως, μία αναλυτική μέθοδος ή μια συσκευή βαθμονομείται με παρατήρηση της απόκρισης y , για διαφορετικές συγκεντρώσεις του προσδιοριστέου x . Στις περισσότερες των περιπτώσεων η σχέση που λαμβάνεται είναι γραμμική:

$$y = mx + c \quad (9)$$

επομένως, η συγκέντρωση x_{obs} του προσδιοριστέου θα παράγει μία απόκριση y_{obs} και θα δίνεται από τη σχέση:

$$x_{\text{obs}} = (y_{\text{obs}} - c)/m \quad (10)$$

Συνήθως οι σταθερές m και c υπολογίζονται με τη μέθοδο των ελαχίστων τετραγώνων για ένα σύνολο τιμών (x_i, y_i) .

Στη συνέχεια εκτιμώνται οι κύριες πηγές αβεβαιότητας, οι οποίες θα επηρεάσουν την υπολογιζόμενη συγκέντρωση x_{obs} , δηλαδή:

α) τυχαίες διακυμάνσεις στη μέτρηση του y , επηρεάζουσες τόσο τις αποκρίσεις αναφοράς y_i , όσο και τη μετρούμενη απόκριση y_{obs} .

β) Τυχαίες επιδράσεις οφειλόμενες σε σφάλματα στις αποδιδόμενες τιμές αναφοράς x_i .

γ) Μερικές τιμές των x_i και y_i πιθανόν να υπόκεινται σε ένα σταθερό άγνωστο αντιστάθμισμα π.χ. όταν οι τιμές του x επιτυγχάνονται από διαδοχικές αραιώσεις ενός πυκνού διαλύματος.

δ) Η υπόθεση της γραμμικότητας μπορεί να μην είναι έγκυρη.

Από τα ανωτέρω, οι τυχαίες διακυμάνσεις του y είναι οι σπουδαιότερες και εξετάζονται λεπτομερώς.

Η αβεβαιότητα $u(x_{\text{obs}}, y)$ σε μία τιμή x_{obs} οφειλόμενη σε διακύμανση

του y , μπορεί να υπολογιστεί με διάφορους τρόπους. Ενδεικτικά, κατωτέρω αναγράφονται μερικοί.

- Από τις υπολογισθείσες διακύμανση και συμμεταβολή (covariance):

Εάν οι τιμές των m και c , οι διακυμάνσεις τους $\text{var}(m)$ και $\text{var}(c)$ και η συμμεταβολή τους $\text{covar}(m,c)$ προσδιορισθούν με τη μέθοδο των ελαχίστων τετραγώνων, η διακύμανση του x , $\text{var}(x)$ δίνεται από τη σχέση:

$$\text{var}(x) = \frac{\text{var}(c) + x^2 \text{var}(m) + 2\text{covar}(c,m)}{m} \quad (11)$$

Και η αντίστοιχη αβεβαιότητα $u(x_{\text{obs}}, y)$ είναι $\sqrt{\text{var}(x)}$.

- Από το σχετικό σφάλμα των υπολοίπων (RMS error (RMS=Root Mean Square)) ή τη διακύμανση των υπολοίπων S:

$$\text{var}(x) = \frac{S^2}{m^2} \quad (12)$$

όπου:

$$S^2 = \frac{\sum (y_i - \bar{y})^2}{n-2} \quad (13)$$

με $(y_i - \bar{y})$ το υπόλοιπο του i -οστού σημείου.

Επίσης το S μπορεί να υπολογιστεί από το RMS error

$$\text{RMS error} = \sqrt{\frac{\sum (y_i - \bar{y})^2}{n}} \quad (14)$$

από τη σχέση

$$S^2 = (\text{RMS error})^2 \frac{n}{n-2} \quad (15)$$

- Από το συντελεστή συσχέτισης r (correlation coefficient)

Ο συντελεστής συσχέτισης r μαζί με το εύρος τιμών $R(y)$ των τιμών y , μπορούν να χρησιμοποιηθούν για έναν κατά προσέγγιση υπολογισμό του S:

$$S^2 = R(y)^2 \frac{1-r^2}{12} \quad (16)$$

4. Υπολογισμός της συνδυασμένης αβεβαιότητας

Το επόμενο στάδιο είναι ο συνδυασμός της τυπικής αβεβαιότητας $u(y)$ μιας τιμής y και των αβεβαιότητων των ανεξαρτήτων παραμέτρων p, q, \dots , από τις οποίες εξαρτάται, είναι:

$$u(y(p,q,\dots)) = \sqrt{\left(\frac{\partial y}{\partial p}\right)^2 (u(p))^2 + \left(\frac{\partial y}{\partial q}\right)^2 (u(q))^2 + \dots} \quad (17)$$

όπου $y(p, q, \dots)$ είναι η συνάρτηση των παραμέτρων p, q, \dots , η μερική παράγωγος του y ως προς p και ούτω καθ' εξής.

Η συνεισφορά κάθε μεταβλητής υλοποιείται επομένως με το γινόμενο του τετραγώνου της τυπικής αβεβαιότητας της μεταβλητής με το τετράγωνο της αντίστοιχης μερικής παραγώγου.

Εάν οι μεταβλητές δεν είναι ανεξάρτητες μεταξύ τους, τότε η σχέση αποβαίνει πλέον περιπλοκή.

$$u(y(x_{i,j}, \dots)) = \sqrt{\sum_{i=1}^n \left(\frac{\partial y}{\partial p}\right)^2 u(x_i)^2 + \sum_{i,k=1}^n \left(\frac{\partial y}{\partial x_i} \frac{\partial y}{\partial x_k}\right)^2 s(x_{i,k})} \quad (18)$$

όπου $s(x_{i,k})$ η συμμεταβολή μεταξύ x_i και x_k . Στην πράξη η συμμεταβολή συχνά σχετίζεται με το συντελεστή συσχέτισης r_{ik} σύμφωνα με τη σχέση:

$$s(x_{i,k}) = u(x_i) u(x_k) r_{ik} \quad (19)$$

όπου $-1 \leq r_{ik} \leq 1$

Με σκοπό την απλοποίηση των υπολογισμών, σε πολλές περιπτώσεις ακολουθούνται οι δύο κατωτέρω κανόνες:

Κανόνας 1

Για μοντέλα που περιλαμβάνουν μόνο αθροίσματα διαφορετικών ποσοτήτων, π.χ. $y = k(p + q + r + \dots)$, όπου το k είναι σταθερά, η συνδυασμένη τυπική αβεβαιότητα δίνεται από τη σχέση:

$$u_c(y(p,q,\dots)) = k \sqrt{u(p)^2 + u(q)^2} \quad (20)$$

Κανόνας 2

Για μοντέλα που περιλαμβάνουν μόνο γινόμενα ή πηλίκα, π.χ. $y = k(p \ q \ r)$

...), όπου το k είναι σταθερά, η συνδυασμένη τυπική αβεβαιότητα υπολογίζεται από τη σχέση:

$$u_c(y) = yk \sqrt{\left(\frac{u(p)}{p}\right)^2 + \left(\frac{u(q)}{q}\right)^2 + \left(\frac{u(r)}{r}\right)^2 + \dots} \quad (21)$$

όπου $(u(p)/p)$ κ.λ.π., είναι οι αβεβαιότητες των παραμέτρων εκφρασμένες ως σχετικές τυπικές αποκλίσεις.

Για μία πιο περίπλοκη σχέση των συστατικών της αβεβαιότητας, συνιστάται η διάσπαση του αρχικού μαθηματικού μοντέλου σε απλές εκφράσεις που κάθε μία υπακούει σε έναν από τους ανωτέρω κανόνες.

Για παράδειγμα, η σχέση

$$(o+p)/(q+r) \quad (22)$$

θα πρέπει να σπάσει σε δύο συστατικά τα $(o+p)$ και $(q+r)$. Οι ενδιάμεσες αβεβαιότητες καθενός από αυτά μπορεί να υπολογιστεί βάσει του κανόνα 1 και στη συνέχεια να συνδυαστούν βάσει του κανόνα 2, ώστε να δώσουν τη συνδυασμένη αβεβαιότητα.

Παρακάτω δίνονται δύο παραδείγματα που παρουσιάζουν τη χρήση των ανωτέρω κανόνων.

Παράδειγμα 1

$y = m(p-q+r)$. Οι τιμές είναι $m=1$, $p=5.02$, $q=6.45$ και $r=9.04$ με τυπικές αποκλίσεις δείγματος $sp = 0.13$, $sq = 0.05$ και $sr = 0.22$
 $y = 5.02 - 6.45 + 9.04 = 7.61$

$$u(y) = 1 \times \sqrt{0.13^2 + 0.05^2 + 0.22^2} = 0.26$$

Εφόσον το y υπολογίζεται με δύο δεκαδικά ψηφία, η τελική αβεβαιότητα δεν θα πρέπει να εκφράζεται σε περισσότερα από τρία δεκαδικά ψηφία.

Παράδειγμα 2

$y = (op/qr)$ όπου $o=2.46$, $p=4.32$, $q=6.38$ και $r=2.99$, με τυπικές αβεβαιότητες $u(o)=0.02$, $u(p)=0.13$, $u(q)=0.11$ και $u(r)=0.07$.
 $y = (2.46 \times 4.32)/(6.38 \times 2.99) = 0.56$

$$u(y) = 0.56 \times \sqrt{\left(\frac{0.02}{2.46}\right)^2 + \left(\frac{0.13}{4.32}\right)^2 + \left(\frac{0.11}{6.38}\right)^2 + \left(\frac{0.07}{2.99}\right)^2}$$

$$u(y) = 0.56 \times 0.043 = 0.024$$

VI ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ ΤΗΣ ΑΒΕΒΑΙΟΤΗΤΑΣ - ΕΚΤΕΤΑΜΕΝΗ ΣΥΝΔΙΑΣΜΕΝΗ ΑΒΕΒΑΙΟΤΗΤΑ

Μία πλήρης αναφορά (παρουσίαση) του αποτελέσματος μιας μέτρησης θα πρέπει να περιλαμβάνει ή να αναφέρεται στα κατωτέρω:

α) περιγραφή της μεθόδου υπολογισμού του αποτελέσματος και της αβεβαιότητας από τα πειραματικά δεδομένα.

β) τις τιμές ή τις πηγές όλων των διορθώσεων και των σταθερών που χρησιμοποιήθηκαν τόσο στην ανάλυση όσο και στον υπολογισμό της αβεβαιότητας.

γ) Έναν κατάλογο των συστατικών της αβεβαιότητας με την πλήρη τεκμηρίωση για τον τρόπο εκτίμησής τους.

Στην πράξη, όταν παρουσιάζονται αποτελέσματα αναλύσεων ρουτίνας είναι αρκετή εκτός αν απαιτείται διαφορετικά, η παράθεση του αποτελέσματος x μαζί με την εκτεταμένη συνδυασμένη τυπική αβεβαιότητα U . Αυτή υπολογίζεται με πολλαπλασιασμό της συνδυασμένης τυπικής αβεβαιότητας με τον κατάλληλο επιλεγθέντα συντελεστή συσχέτισης k .

$$U = ku \quad (18)$$

Η επιλογή του k εξαρτάται από την απαίτηση χρήσης του αποτελέσματος, την εμπειρία και τον απαιτούμενο βαθμό εμπιστοσύνης (επίπεδο εμπιστοσύνης). Συνήθως, βρίσκεται μεταξύ 2 και 3, για τις περισσότερες δε χημικές αναλύσεις συνιστάται η τιμή 2. Η τιμή 2 στην περίπτωση κανονικής κατανομής, αντιστοιχεί σε επίπεδο εμπιστοσύνης 95% (95.45% για την ακρίβεια).

Η συνιστώμενη μορφή για την παρουσίαση του αποτελέσματος είναι:

$$\langle \text{Αποτέλεσμα} \rangle : x \pm U \text{ (μονάδες)} \quad (19)$$

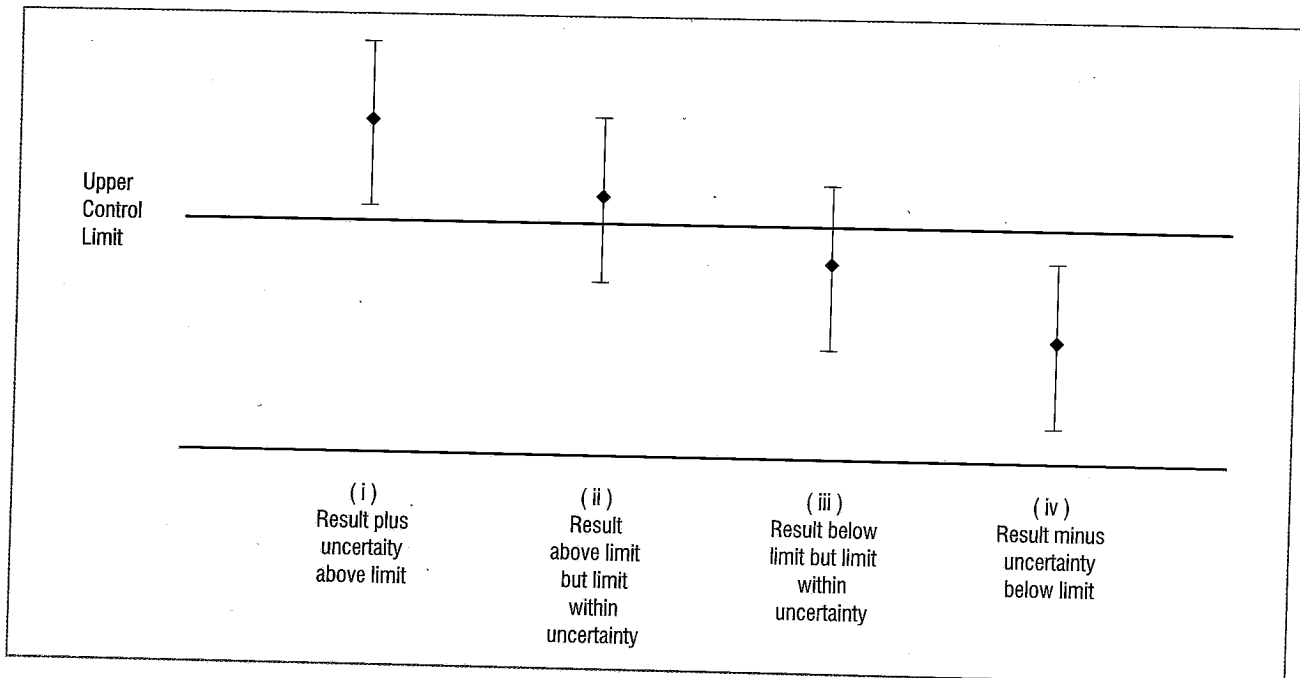
VII ΠΛΕΟΝΕΚΤΗΜΑΤΑ ΑΠΟ ΤΟΝ ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟ ΤΗΣ ΑΒΕΒΑΙΟΤΗΤΑΣ

Η εκτίμηση της αβεβαιότητας παρότι επίπονη, μπορεί να αποτελέσει μια πρόκληση για το Χημικό Αναλυτή καθότι η ανταμοιβή του μπορεί να είναι σημαντική:

- Καλύτερη κατανόηση της διαδικασίας δοκιμής.
- Ευκαιρία για μείωση του κόστους.
- Πληροφόρηση για κρίσεις συμμόρφωσης.
- Αύξηση της αποδοχής των αποτελεσμάτων.
- Παροχή μιας μέτρησης της ποιότητας του αποτελέσματος η οποία δίνει τη δυνατότητα στον χρήστη να κάνει αντικειμενική εκτίμηση της αξιοπιστίας του.

VIII ΣΥΜΜΟΡΦΩΣΗ ΕΝΑΝΤΙ ΟΡΙΩΝ

Πολλές φορές στη χημική ανάλυση αναλύονται δείγματα για τα οποία απαιτείται η συγκέντρωση του προσδιοριστέου να βρίσκεται εντός καθορισμένων ορίων π.χ. η συγκέντρωση τοξικής ουσίας στο πόσιμο νερό να βρίσκεται κάτω από καθορισμένο επίπεδο. Είναι προφανές ότι η αβεβαιότητα του αποτελέσματος έχει σαφείς συνέπειες για την ερμηνεία των



Σχήμα 3. Αβεβαιότητα και όρια συμμόρφωσης

αναλυτικών αποτελεσμάτων, εντός του ανωτέρω πλαισίου.

Και το θέμα που τίθεται είναι: τα όρια έχουν τεθεί κατόπιν αναγνώρισης της αβεβαιότητας ή όχι. Διότι και η κρίση για συμμόρφωση ή μη συμμόρφωση του αποτελέσματος θα εξαρτηθεί από αυτό.

Ας υποθεθεί για παράδειγμα, ότι τα όρια έχουν τεθεί χωρίς αναγνώριση της αβεβαιότητας, τότε τέσσερις πιθανές περιπτώσεις μπορεί να συμβούν στην περίπτωση συμμόρφωσης ως προς ανώτερο όριο (βλ. Σχήμα 3, σελ. 314).

i. Τόσο το αποτέλεσμα όσο και το αποτέλεσμα συν την εκτιμηθείσα αβεβαιότητα υπερβαίνει το όριο.

ii. Το αποτέλεσμα υπερβαίνει το όριο αλλά λιγότερο από την εκτιμηθείσα αβεβαιότητα.

iii. Το αποτέλεσμα βρίσκεται κάτω του ορίου αλλά λιγότερο από την εκτιμηθείσα αβεβαιότητα.

iv. Τόσο το αποτέλεσμα όσο και το αποτέλεσμα συν την εκτιμηθείσα αβεβαιότητα βρίσκονται κάτω του ορίου.

Η περίπτωση i) ερμηνεύεται ως σαφής μη συμμόρφωση και η iv) ως συμμόρφωση με το όριο. Οι περιπτώσεις όμως ii) και iii) πρέπει να εξεταστούν ιδιαίτερα, κάτω από το φως των συγκεκριμένων απαιτήσεων του χρήστη.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement, ISO, 1st Edition, 1993
2. Eurachem, "Quantifying Uncertainty in Analytical Measurements", Version:C, March 1995
3. European Standard EN 45001, September 1989.
4. Eurachem Guidance Document No. 1, Welac Guidance Document No. WGD2, Edition 1, April 1993.
5. ISO GUIDE 25, General Requirements for the Competence of Calibration and Testing Laboratories, third edition, 1990.
6. Marc Priel, "Calibration and Verification of Measuring Instruments and Related Uncertainties", Workshop on Traceability of Measurements Equipment and Standards in Testing and Calibration Laboratories, Paris, Febr. 15-16, 1996.
7. European Commission, Doc. BCR/48/93, "Guidelines for the Production and Certification of BCR Reference Materials", 15 December 1994.
8. International Standard ISO 10012-1, "Quality Assurance Requirements for Measuring Equipment Part 1: Metrological Confirmation System for Measuring Equipment", 1992.
9. Draft International Standard ISO/DIS 10012-2, "Quality Assurance Requirements for Measuring Equipment Part 2: Control of Measurement Processes", 1995.
10. W. Horwitz, "Evaluation of Analytical Methods Used for Regulation of Foods and Drugs", Analytical Chemistry, Vol 54, No 1, 1992.
11. ISO 5725 "Accuracy (Trueness and Precision) of Measurement Methods and Results", 1994.

12. ISO 8258 "Swewhart Control Charts", 1991.

13. AOAC, "Quality Assurance Principles for Analytical Laboratories", Garbield, Second Edition, 1991.

14. Ι. Γαρδίκης, Ε. Λαμπή, "Αβεβαιότητα στις Χημικές Μετρήσεις", Σεμινάριο "Διαπίστευση Χημικών Εργαστηρίων κατά το πρότυπο EN 45001", Ε.Ε.Χ., Ιούνιος 1997.

15. Eurachem/D, Eurolab Deutschland, Second Workshop "Measurement Uncertainty in Chemical Analysis", Berlin, 29-30 September 1997.

UNCERTAINTY IN CHEMICAL ANALYSIS

Dr Eugenia Lambi, Chemist of the General Chemical State Laboratory C' Division of Athens, Laboratory of Materials and Articles Intended to Come in Contact with Foodstuffs, Athens, GREECE.

In chemical measurements such as in any other test, the result of a measurement is essential to be presented in association with an indication of its quality. Without this indication it is impossible to assess a result and furthermore to take decisions about conformity with limits e.t.c.

The quality characteristics are often expressed by the parameter that is called "uncertainty of measurement".

The definition of the term uncertainty is taken from the current version adopted for the International Vocabulary of Basic and General Terms in Metrology and is: "A parameter associated with the result of a measurement, that characterises the dispersion of the values that could reasonably be attributed to the measurand".

The most important sources of uncertainty in an analytical procedure can be summarized as follows: sampling, sample preparation, use of Certified Reference Materials, analytical procedure, calculations, presentation of results and interpretation of results.

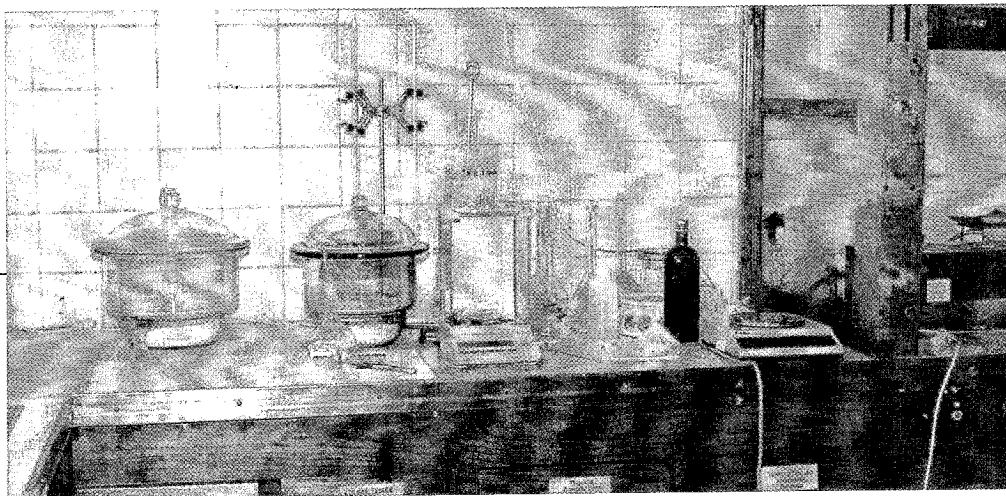
For uncertainty estimation it is essential to satisfy the following steps:

- Specification of the analytical procedure and the nature and identity of measurand.
- Identification of all possible uncertainty sources.
- Quantification of uncertainty in association with each potential uncertainty source identified above.
- Calculation of Total (Combined) Uncertainty by combination of the quantified components expressed as standard deviations, according to the appropriate rules.
- Presentation as Expanded Uncertainty.

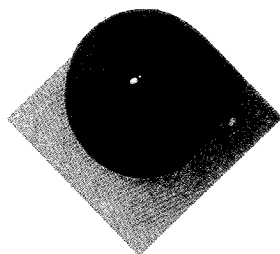
The uncertainty estimation as standard deviation of input quantities can be obtained on the way of:

- experimental evaluation of uncertainty derived from statistical distribution of a measurand in a series of repeated observations and
- estimation based on probability distributions from experience or previous measurement data.

Users of chemical analysis results, often take many important decisions and therefore a result that is expressed in a well determined confidence level is a guarantee to achieve fitness for purpose.



3η Διεθνής Έκθεση Πλαστικών, Ελαστικών & Μηχανημάτων
ΕΚΘΕΣΙΑΚΟ ΚΕΝΤΡΟ Ο.Λ.Π., ΠΕΙΡΑΙΑΣ / 11 - 15 ΜΑΡΤΙΟΥ 1999



PLASTICA

'99

Το Καλύτερο Βήμα Προβολής

ΥΠΟ ΤΗΝ ΑΙΓΙΔΑ ΤΟΥ ΣΥΝΔΕΣΜΟΥ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΩΝ ΠΛΑΣΤΙΚΩΝ ΕΛΛΑΔΟΣ
& ΤΟΥ ΕΜΠΟΡΙΚΟΥ & ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΟΥ ΕΠΙΜΕΛΗΤΗΡΙΟΥ ΠΕΙΡΑΙΩΣ

Για περισσότερες πληροφορίες
& δηλώσεις συμμετοχής,
απευθυνθείτε στους Οργανωτές



Κλαδικές Εμπορικές Εκθέσεις
Χαλεπά 1 & Αιγιαλείας 21, 151 25 Μαρούσι
Τηλ.: (01) 6844 961 - 2 / 6857 171
Fax: (01) 6841 796
e-mail: kee-expo@otenet.gr

Μέλη του Σ.Ε.Ο.Ε.Σ.

ΠΡΟΣΚΛΗΣΗ

Σας προσκαλούμε στην εκδήλωση που θα γίνει στην Ένωση Ελλήνων Χημικών, Κάνιγγος 27, Αθήνα, την Παρασκευή 18 Δεκεμβρίου 1998 και ώρα 7-9 μ.μ. με την ευκαιρία της απονομής των Βραβείων του Ιδρύματος «Λεωνίδα Ζέρβας».

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ

7.00 μ.μ. Χαιρετισμός του Προέδρου της Ένωσης Ελλήνων Χημικών
Δρα Νικολάου Κατσαρού

7.10 μ.μ. Χαιρετισμός του Προέδρου του Ιδρύματος «Λεωνίδα Ζέρβας»
Καθηγητού Δημητρίου Θεοδωρόπουλου

7.20 μ.μ. Απονομή των Βραβείων

7.30 μ.μ. Διάλεξη από τον κ. Χαράλαμπο Μ. Μουτσόπουλο, Καθηγητή Παθολογίας της Ιατρικής Σχολής του Πανεπιστημίου Αθηνών με τίτλο: «**Ανοσοδραστικά Πεπτίδια και Αυτοανοσία**».

Πρώτοι στο περιβάλλον



ΟΙ ΑΡΙΘΜΟΙ ΤΟ ΑΠΟΔΕΙΚΝΥΟΥΝ:

- 991.000.000 εκ. κύκλος εργασιών τελευταίου έτους.
- 300.000.000 εκ. για πάγιες επενδύσεις τελευταίου έτους.
- Περισσότερα από 100 ιδιωτικά & δημόσια έργα.



ΚΑΡΚΑΝΙΑΣ

ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΙ ΚΑΘΑΡΙΣΜΟΙ-ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΝΕΡΩΝ

ΒΙ.ΠΕ. ΛΑΡΙΣΑΣ - Τ.Θ. 1607 - ΛΑΡΙΣΑ 41002
ΤΗΛ:(041) 541.386,541031-2 FAX:(041) 541.354
e-mail:karkania@otenet.gr

**Πρόγραμμα Ομιλιών
του 1ου Πανελληνίου Συνεδρίου
«Διδακτική της Χημείας στη Δευτεροβάθμια Εκπαίδευση»
Αμφιθέατρο Α15 του Τμήματος Χημείας του Πανεπιστημίου Αθηνών**

Παρασκευή 4/12/98

Σάββατο 5/12/98

- 08.30 - 09.30: Εγγραφές
09.30 - 09.45: Εναρξη - Ανακοινώσεις
- Προεδρείο: Δ. Κατάκης (Καθηγητής Πανεπιστημίου Αθηνών)**
- 09.45 - 10.30: **Α. Σταυρόπουλος (Καθηγητής Πανεπιστημίου)** «Χημεία - ο μύθος και η πραγματικότητα»
10.30 - 11.00: **Α. Μαυρίδης (Καθηγητής Πανεπιστημίου Αθηνών)** «Εννοιολογικές δυσκολίες της χημείας»
11.00 - 11.30: **Β. Κουλαϊδής, Ε. Σταυρίδου, Γ. Τσαπαρλής, Β. Χατζηνικήτα, Χ. Σολωμονίδου (Πανεπιστήμια Πάτρας, Θεσσαλίας, Ιωαννίνων, Αιγαίου)** «Η διδακτική της χημείας: σημερινή κατάσταση και προοπτικές»
11.30 - 12.00: **Ε. Βαρέλλα (Επικ. Καθηγ. Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης)** «Η χημεία στην δευτεροβάθμια Εκπαίδευση της Ευρωπαϊκής Ενώσεως: προτάσεις του θεματικού δικτύου χημείας (πρόγραμμα Σωκράτης)»
12.00 - 12.30: Διάλειμμα για καφέ
- Προεδρείο: Ν. Κατσαρός (Πρόεδρος της Ε.Ε.Χ., Ερευνητής Ε.Κ.Ε.Φ.Ε. «Δημόκριτος»)**
- 12.30 - 12.50: **Δ. Μαρκογιαννάκης (χημικός, Καθ. Μ.Ε.)** «Τα πειράματα χημείας (ή η ενοποίηση των πειραμάτων χημείας) στη Μέση Εκπαίδευση»
12.50 - 13.10: **Ν. Βουλουβούτης (Αμερικανικό Κολλέγιο «Ανατόλια» - Θεσσαλονίκη)** «Εμπειρίες από τη διδασκαλία της χημείας στο Εργαστήριο»
13.10 - 13.30: **Μ.Μαυρόπουλος (Κολλέγιο Αθηνών)** «Διδακτική αντιμετώπιση διαφόρων θεμάτων χημείας μέσω της ερευνητικής εργαστηριακής άσκησης»
13.30 - 13.50: **Γ. Ρούβας και Π. Μαρκέτος (Σχολής Μωραΐτη)** «Κανόνες ασφαλείας στο χημικό σχολικό εργαστήριο»
13.50 - 14.10: **Α. Παπαλάμπρος (Καθ. Δ.Ε., 1^ο Γυμνάσιο Λιβαδειάς)** «Πειραματική προσέγγιση στη διδασκαλία του φαινομένου της όξινης βροχής στο Γυμνάσιο και στο Λύκειο»
14.10 - 15.00: Διάλειμμα για Γεύμα
15.00 - 16.00: Παρουσιάσεις των posters
- Προεδρείο: Α. Παπαγεωργίου (Πρόεδρος Τμήματος Παιδείας και Χημικής Εκπαίδευσης της Ε.Ε.Χ.)**
- 16.00 - 16.20: **Γ. Βαρελάς (χημικός μηχανικός, Καθ. φροντιστηρίου Μ.Ε.)** «Γενικός τρόπος λύσης προβλήματος ρυθμιστικού διαλύματος»
16.20 - 16.40: **Α. Μπουλμπουτζής (Καθ. Δ.Ε.)** «Μεθοδολογία προβλημάτων χημείας πάνω σε απλές έννοιες και πειράματα απλά χημείας»
16.40 - 17.00: **Γ. Σωτηράκης (Καθ. Δ.Ε.)** «Η διδασκαλία των αρωματικών υδρογονανθράκων στη Β' Λυκείου»
17.00 - 17.20: **Μ. Γασπαράκης «Διδάσκοντας την έννοια του αριθμού οξειδωσης: Λογική θεμελίωση ή δογματική αποδοχή;»**
19.00: Επίσημη Τελετή Εναρξης του Συνεδρίου (Αίθουσα Τελετών του Πανεπιστημίου Αθηνών) - Δεξίωση
- Προεδρείο: Δ. Ταραντίλης (Μέλος της Διοικούσας Επιτροπής της Ε.Ε.Χ., Επ. Διευθυντής Γ.Χ.Κ.)**
- 09.00 - 09.45: **Ν. Κατσάνος (Καθηγητής Πανεπιστημίου Πατρών)** «Η κοινή λογική στη διδασκαλία της χημείας»
09.45 - 10.15: **Ε. Ζαρωτιάδου (Καθ. Δ.Ε. στο Πειραματικό Λύκειο της Ευαγγελικής Σχολής Σμύρνης)** «Εννοιολογικοί χάρτες (ένα χρήσιμο εργαλείο μάθησης)»
10.15 - 10.45: **Β. Παλίλης, Γ. Πολυζώης, Η. Τσιγαρίδας, Ο. Μανούρη, Χ. Σπυρόπουλος, Χ. Τσέγκας, Π. Τσέκος (Ομάδα Εκπαιδευτικών ΦΑΣΜΑ)** «Εννοιολογικός χάρτης των βασικών μεγεθών της χημείας»
10.45 - 11.15: **Δ. Νικολαΐδης και Δ. Ταραντίλης (Καθηγητής Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης και Επ. Διευθυντής Γ.Χ.Κ.)** «Διδακτική των Μηχανισμών των Οργανικών αντιδράσεων στο Ενιαίο Λύκειο»
11.15 - 11.45: Διάλειμμα για καφέ
- Προεδρείο: Γ. Γαγιάς (Μέλος της Διοικούσας Επιτροπής της Ε.Ε.Χ., Διευθυντής ΕΛ.Δ.Α)**
- 11.45 - 12.15: **Α. Ραγκούσης «Πολυαισθητηριακές μέθοδοι διδασκαλίας της χημείας για δυσλεξικούς μαθητές και όχι μόνο. Μελέτη περίπτωσης διδασκαλίας δυσλεξικού μαθητή με μοντέλα χημικών μορίων»**
12.15 - 12.45: **Δ. Χηνιάδης, Α. Γεωργιάδου, Π. Γύφτου και Ν. Σπυρέλλης (Ε.Μ.Π.)** «Αναγνωσιμότητα Διδακτικών Βιβλίων»
12.45 - 13.15: **Α. Αθανασάκης (Σχολικός Σύμβουλος ΠΕ4 Αθήνας)** «Αρχές Περιβαλλοντικών Επιστημών: ένα νέο γνωστικό αντικείμενο για τους χημικούς στο πρόγραμμα της Β' Λυκείου»
13.15 - 13.45: **Β. Παλίλης, Γ. Πολυζώης, Η. Τσιγαρίδας (Ομάδα Εκπαιδευτικών ΦΑΣΜΑ)** «Διεπιστημονική θεώρηση της διδακτικής των Φυσικών Επιστημών»
13.45 - 14.15: **Π. Σαραντόπουλος (Καθ. Δ.Ε.)** «Η αξιοποίηση των ιστορικών δεδομένων της χημείας κατά την εκπαιδευτική διαδικασία»
14.15 - 15.15: Διάλειμμα για Γεύμα
15.15 - 16.15: Παρουσιάσεις των posters
- Προεδρείο: Π. Παπαδόπουλος (Ερευνητής ΕΘ.Ι.ΑΓ.Ε.)**
- 16.15 - 16.35: **Β. Παλίλης, Γ. Πολυζώης, Η. Τσιγαρίδας, Ο. Μανούρη, Χ. Σπυρόπουλος, Χ. Τσέγκας, Π. Τσέκος (Ομάδα Εκπαιδευτικών ΦΑΣΜΑ)** «Αισθητοποίηση (Visualization) της λύσης προβλημάτων ανάμειξης διαλυμάτων»
16.35 - 16.55: **Β. Παλίλης, Γ. Πολυζώης, Η. Τσιγαρίδας (Ομάδα Εκπαιδευτικών ΦΑΣΜΑ)** «Πως μπορεί η διδακτική θεώρηση των πολλαπλών αναπαραστάσεων να υποκαταστήσει την κλασική μαθηματική διαπραγμάτευση της αναλογίας;»
16.55 - 17.15: **Π. Γύφτου, Α. Γεωργιάδου, Δ. Χηνιάδης και Ν. Σπυρέλλης (Ε.Μ.Π.)** «Προδιαγραφές για τη συγγραφή διδακτικών βιβλίων εμπειρικών μαθημάτων με έμφαση στη χημεία»

- 17.15 - 17.35: **A. Γεωργιάδου, Π. Γύφτου, Δ. Χηριάδης και Ν. Σπυρέλλης (Ε.Μ.Π.)** «Κριτήρια αξιολόγησης διδακτικών βιβλίων»
- 17.35 - 17.55: **A. Γεωργιάδου, Κ. Καφετζόπουλος, Ν. Προβής, Δ. Χηριάδης και Ν. Σπυρέλλης (Δ. Ε. και Ε.Μ.Π.)** «Τα νέα βιβλία χημείας Γυμνασίου»
- 17.55 - 18.15: **Π. Καραγκιοζίδης (χημικός Δ.Ε.)** «Χημική ονοματολογία και Εκπαιδευτική Μεταρρύθμιση»
- 18.15 - 18.45: Διάλειμμα για καφέ
- 18.45 - 20.45 **Στρογγυλό Τραπέζι: «Εκπαιδευτική Μεταρρύθμιση και Δευτεροβάθμια Εκπαίδευση»**
- Συντονιστής: Γ. Καλομοίρης (χημικός, Αντιπρόεδρος της ΟΛΜΕ)**

Κυριακή 6/12/98

Προεδρείο **Κ. Πούλος (Καθηγητής Πανεπιστημίου Πατρών)**

- 09.00 - 09.45: **Γ. Τσαπαρλής (Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων)** «Εισαγωγή στις Φυσικές Επιστήμες (Φυσική - Χημεία): Πρόταση για ένα ενοποιημένο μάθημα στην α' γυμνασίου»
- 09.45-10.05: **Μ Σταθερόπουλος (Επίκ. Καθ. Ε.Μ.Π.)** «Η χρήση της προσομοίωσης στο μάθημα της χημείας»
- 10.05-10.25: **Π. Μαρκέτος (Σχολής Μωραΐτη)** «Το μάθημα της χημείας στο Διεθνές Απολυτήριο (IB)»
- 10.25-10.45: **Μ. Τσουκάτος (πυρηνικός χημικός, M.S., Ph.D.)** «Νέες τεχνικές και μεθοδολογία στη διδακτική της χημείας»
- 10.45 - 11.15: Διάλειμμα για καφέ
- 11.15 - 12.00: **Στρογγυλό Τραπέζι: «Μεταπτυχιακό Πρόγραμμα Σπουδών στη Διδακτική της χημείας»** Συντονιστής: **Χ. Τζουγκράκη (Πανεπιστήμιο Αθηνών)**
- 12.00 - 12.45: **Στρογγυλό Τραπέζι: «Πολυμέσα -Σύγχρονες Τεχνολογίες στην Εκπαίδευση - Διαδίκτυο»** Συντονιστής: **Κ. Ευσταθίου (Πανεπιστήμιο Αθηνών)**
- 12.45 - 13.30: **Στρογγυλό Τραπέζι: «Διδακτική χημείας - Διδακτική της χημείας στις χώρες της Ευρωπαϊκής Ένωσης και στο Διεθνή χώρο»** Συντονιστής: **Γ. Τσαπαρλής (Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων)**
- 13.30 - 14.00: **Συμπεράσματα Συνεδρίου. Κλείσιμο.**

Γραπτές Ανακοινώσεις (Posters)

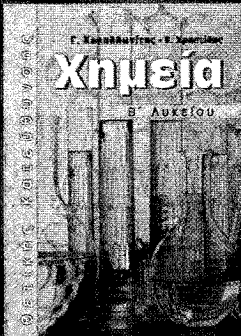
Τα posters θα είναι ανηρτημένα καθ' όλη τη διάρκεια του Συνεδρίου στους χώρους του Τμήματος Χημείας .

1. Εννοιολογικοί χάρτες (εφαρμογή στη διδακτική πράξη) **Ε. Ζαρωτιάδου**
2. Η αξιοποίηση των ηλεκτρονικών υπολογιστών με τη βοήθεια απλών λογισμικών στην επίλυση του προβλήματος της διαλυτότητας. Μια θεωρητική προσέγγιση για τη Δευτεροβάθμια Εκπαίδευση. **Μ. Χάλαρης**
3. Χρήση των υπολογιστών σε χημικούς υπολογισμούς **Β. Παλίλης, Γ. Πολυζώης, Η.Τσιγαρίδας, Θ.Μανούρη, Χ.Σπυρόπουλος, Χ.Τζέγκας, Π.Τσέκος**
4. Ο ρόλος των συνθετικών δημιουργικών εργασιών στη διδασκαλία της χημείας στη Μέση Εκπαίδευση - Δύο προτάσεις. **Π: Ξυνογαλάς**
5. Ενα χρωματικό ανάλογο του υβριδισμού των τροχιακών του άνθρακα. **Α. Κολοκούρης, Θ. Μαυρομούστακος, Μ. Ευσταθίου, Σ. Φωτοπούλου.**
6. Αυθόρμητες διεργασίες **Θ. Μαυρομούστακος, Μ. Ευσταθίου**
7. Το μεγαλείο της στρατηγικής της αντίστροφης σύνθεσης στην οργανική χημεία. **Θ. Μαυρομούστακος, Μ. Ευσταθίου, Α.Κολοκούρης**

8. Μηδενικής τάξης αντιδράσεις **Π.Παρασκευοπούλου, Δ.Ράικου, Π.Σιαμοπούλου και Α. Πέτρου**
9. Επίδραση της θερμοκρασίας στη ταχύτητα αντίδρασης - Περιπτώσεις μείωσης της ταχύτητας με αύξηση θερμοκρασίας. **Α. Μπουρλίνο, Α. Τρουπής, Μ. Χρυσικοπούλου και Α. Πέτρου**
10. Κατάλυση και μέταλλα μεταπτώσεως - Μια γενική θεώρηση **Κ. Πετρή και Α. Λεκάκου**
11. Στοιχεία χημείας και Εφαρμογών του Λευκοχρύσου **Ν. Νικόλης και Σ. Σκούνας**
12. Χρώμο: Χημεία - Μηχανισμοί - Τεχνολογία - Περιβάλλον - Βιολογικές επιπτώσεις **Μ. Νικολάου, Α. Σταυρινού και Α. Πέτρου**
13. Αλουμίνιο: Χημεία - Τεχνολογία - Βιομηχανία - Περιβάλλον - Βιολογικές επιπτώσεις **Σ. Ανδριόπουλος, Γ. Κωνσταντινίδου, Μ.-Ρ. Χριστοπούλου, Μ. Χρυσικοπούλου και Α. Πέτρου**
14. Ελεύθερες ρίζες - Βιολογική δράση - Αντιοξειδωτικοί παράγοντες **Α. Λαμπροπούλου**
15. Η τρύπα του όζοντος **Ε. Λαδάκης και Χ. Τσερέπα**
16. Προστασία του Περιβάλλοντος με σύγχρονες μεθόδους αποθείωσης των απαερίων που χρησιμοποιούν ενώσεις του ασβεστίου **Μ. Ρούλια**
17. Ιστορική εξέλιξη της φασματοσκοπίας Raman **Μ. Σουτζίδου**
18. Θεωρητικοί Ημειμπειρικοί Υπολογισμοί Τροχιακών παραμέτρων με τη μέθοδο Extended Huckel Molecular Orbital (EHMO) theory σε συνδυασμό με την Computer Aided Composition of Atomic Orbitals (CACAO). **Δ. Λιάκος και Α. Πέτρου**
19. Βιβλία χημείας γυμνασίου - λυκείου. **Συγγραφικές ομάδες**

ΕΚΔΟΣΕΙΣ ΠΑΤΑΚΗ

πρωτοπορία στην εκπαίδευση

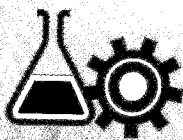


Χημεία Β' Λυκείου Θετικής Κατεύθυνσης
 με ειδικό ένθετο ερωτήσεων και ασκήσεων
 με το νέο σύστημα αξιολόγησης
Ιωάννης Κεφαλλωνίτης, Βύρων Χρηστίδης

Το βιβλίο αυτό περιέχει:

- Ερωτήσεις θεωρίας με κρίση και απάντηση
- Λυμένα προβλήματα-μεθοδολογία
- Άλυτα προβλήματα
- Ερωτήσεις νέου τύπου

ΕΚΔΟΣΕΙΣ ΠΑΤΑΚΗ Κεντρική Διεύθυνση: Εμμ. Μπενάκη 16, 106 78 ΑΘΗΝΑ, τηλ.: 38.31.078, fax: 36.28.950 • Θεσσαλονίκη: Ν. Μοναστηρίου 122, 563 34, τηλ.: (031) 70.63.54-5 • web site: <http://www.conceptum.gr/patakis>



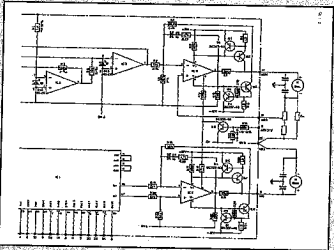
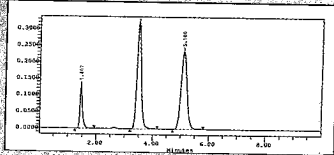
ΧΗΜΙΚΗΤΕΧΝΙΚΗ

ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΩΝ ΟΡΓΑΝΩΝ

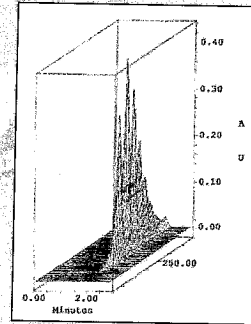
Γ. ΜΙΝΕΣΧΟΣ

Η δεκαετής πείρα μας, στο χώρο των επιστημονικών οργάνων, μας δίνει τη δυνατότητα για άμεση και υψηλού βαθμού εξυπηρέτηση των πελατών μας σε όλη την Ελλάδα.

ΥΠΟ ΠΙΣΤΟΠΟΙΗΣΗ
ISO 9002
ΤΩ
ΒΝΟΙ



- ✿ Επισκευές
- ✿ Εγκαταστάσεις νέων οργάνων
- ✿ Πιστοποίηση και Βαθμονόμηση
- ✿ Εκπαιδεύσεις
- ✿ Ανάπτυξη Αναλυτικών Μεθόδων
- ✿ Συμβόλαια συντηρήσεων
- ✿ Μεταφορές και επανεγκαταστάσεις εργαστηρίων
- ✿ Αυτοματοποίηση εργαστηριακών συσκευών - Σύνδεση με Η/Υ
- ✿ Ειδικές κατασκευές

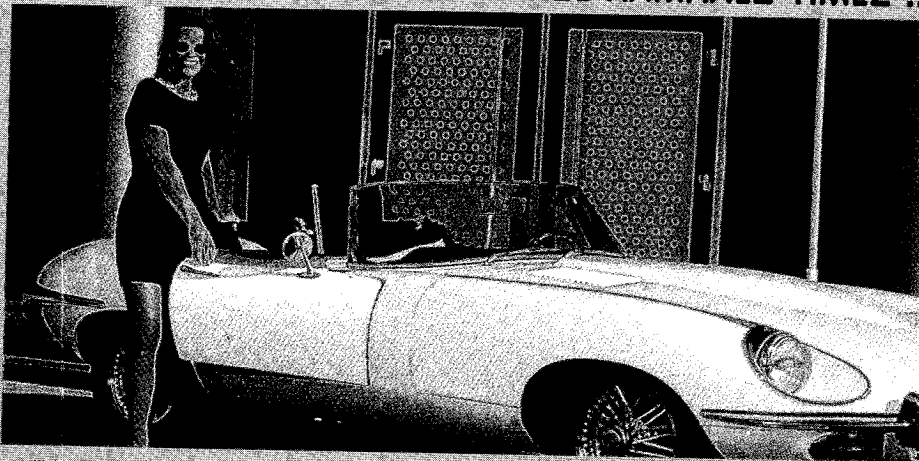


ΧΗΜΙΚΗΤΕΧΝΙΚΗ
ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΩΝ ΟΡΓΑΝΩΝ
Γ. ΜΙΝΕΣΧΟΣ

ΑΘΗΝΑ: Κόνωνος 94, 116 33 Παγκράτι, Τηλ.: 764 0144, 764 0149, Fax: 764 0841
ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗ: Βελισσαρίου 62, 546 40, Τηλ. (031) 865 986, Fax: (031) 865 387

ΕΠΕΝΔΥΣΤΕ ΣΩΣΤΑ !

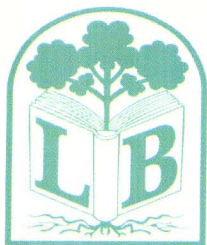
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΟΣ ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ ΣΕ ΧΑΜΗΛΕΣ ΤΙΜΕΣ !!!



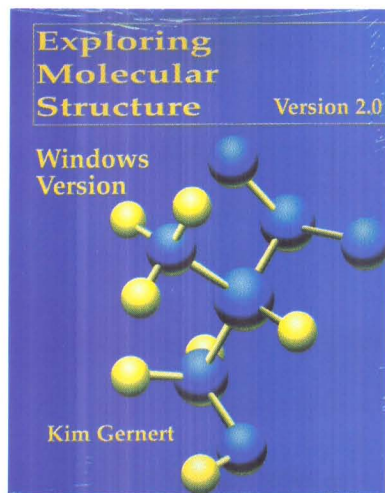
“Το μεταχειρισμένο πολλές φορές είναι ελκυστικότερο από ένα καινούριο”

- ▶ Εξοπλίζουμε το εργαστήριό σας με μεταχειρισμένες ανακαινισμένες αναλυτικές συσκευές από την μεγαλύτερη πηγή στην Ευρώπη.
- ▶ Διαθέτουμε εξοπλισμό εργαστηρίων Αναλυτικής και Κλινικής Χημείας, Βιοτεχνολογίας, Φαρμακολογίας, Ποιοτικού Ελέγχου, Μικροβιολογίας και Μικροσκοπίας.
- ▶ Όλα τα όργανα είναι τεχνικός και εμφανισιακός άρτια, απολύτως λειτουργικά, πλεγμένα και ανακαινισμένα από εξειδικευμένους τεχνικούς και προσφέρονται με εγγύηση καλής λειτουργίας σε εξαιρετικά προσιτές τιμές.
- ▶ Η επιχείρησή μας παρέχει πλήρη τεχνική και επιστημονική υποστήριξη (εγκατάσταση - εκπαίδευση - ανάπτυξη μεθόδων - πλήρη συντήρηση).

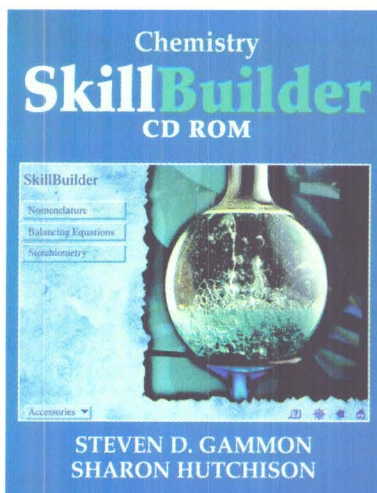
BIO - SPECTRUM
ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟΣ ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ
ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΗ ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΕΦΑΡΜΟΓΩΝ
ΗΡΑΚΛΗΣ ΙΩΑΝΝΟΥ
Τοχ. Δ/ση: Τ.Θ. 74206, Κασοσιανή 160 10, Αθήνα
Τηλ.: 01 - 77 11 397 - Κιν.: 093- 228849 - Fax: 01 - 77 15 539
e-mail: biospect@otenet.gr



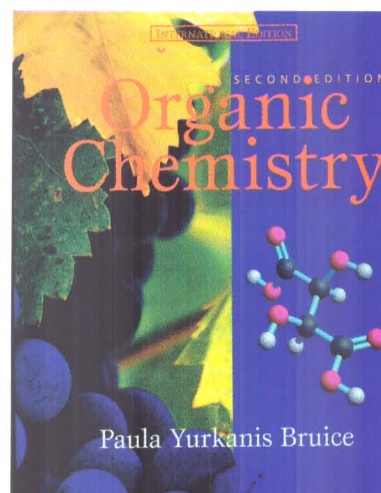
Leader Books



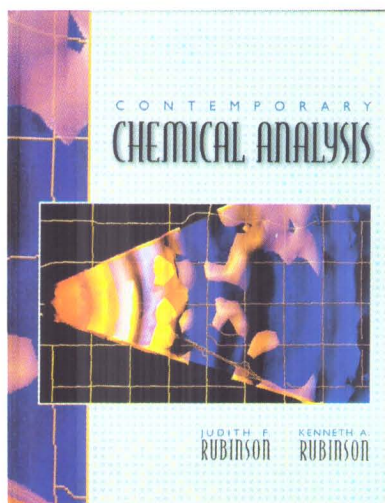
Gernert Kim: Exploring Molecular Structure, Version 2.0 for windows, 1998/CD-ROM



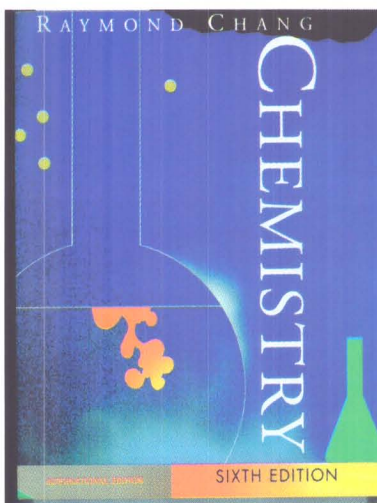
Gammon Steven: Chemistry Skill Builder, Mac/PC Version, 1998/CD-ROM



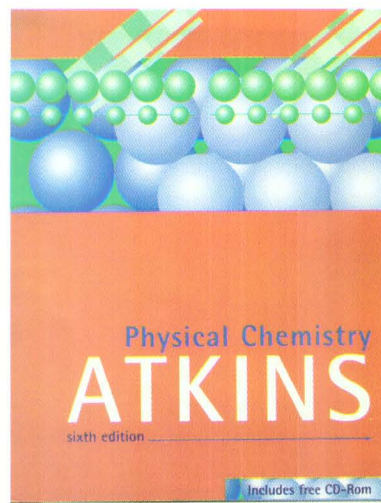
Bruice Paula: Organic Chemistry, 2nd ed., 1998-p:1256



Rubinson Judith: Contemporary Chemical Analysis, 1998-p:613



Chang Raymond: Chemistry, 6th ed., 1998-p:995
Bestseller



Atkins P.W. : Physical Chemistry [CD-ROM included], 6th ed., 1998-p:1014
Bestseller

Τα βιβλιοχαρτοπωλεία μας:

- Εμμ. Μπενάκη 45, Τ.Κ.106 81 Αθήνα - Τηλ.:38.11.937, 38.05.254
- Παν. Κυριακού 17, Τ.Κ.115 21 Αμπελόκηποι - Τηλ.: 64.66.118
- Αγ. Ιωάννου 75, Τ.Κ.153 42 Αγ. Παρασκευή - Τηλ.: 60.15.435, 60.15.452
- Σχολή Θετικών Επιστημών, Τ.Κ.157 84 Παν/πολη Ζωγράφου - Τηλ.: 72.57.485

Γραφεία:

- Κόνιαρη 62, Τ.Κ.115 21 Αμπελόκηποι - Τηλ.64.52.825, 64.50.048 -
Fax : 64.49.924 - E-mail: info@leaderbooks.hol.gr

IT'S A NEW DAY

in PCR.

Introducing New REDTaq™ DNA Polymerase

New REDTaq™ DNA Polymerase. The Benefits Are Easy To See .

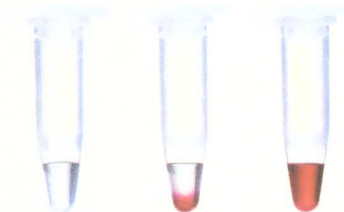
RED Taq is an entirely new Taq polymerase from Sigma. It provides the same performance as Sigma's standard Taq, but it's easier to see and more convenient to use. When REDTaq is added to a tube, a thin red layer is visible at the bottom, so you'll never again wonder where you left off pipetting. REDTaq also makes it easy to confirm appropriate mixing of samples. When the red color is uniform, the solution is thoroughly mixed.

No Loading Buffers Required

With REDTaq, post-PCR samples are dense enough to be loaded directly onto an agarose gel. The red dye serves as a tracking dye, migrating a little faster than bromophenol blue.

Greater Reaction - To - Reaction Consistency

Because new REDTaq is formulated at one unit per μl , it's easier to pipette accurately. A uniform amount of enzyme added ensures consistency in the amount of end product.



It's easy to see when REDTaq has been added ... and when it's been mixed.



Samples can be added directly to an agarose gel after PCR amplification without the addition of a loading buffer or tracking dye. The red dye migrates at the same rate as a 125 bp fragment.

New REDTaq And Sigma Standard Taq DNA Polymerase Are Now Specially Priced

Until December 31, 1998 you can enjoy significant savings by trying new REDTaq or standard Taq at our special low promotional price of 0,30 DM/unit.

Ordering Information*

To order Sigma REDTaq or Standard Taq DNA Polymerase, call your local Sigma-Aldrich office. Please refer to promotion number SI-640, to ensure that you receive special pricing. For a copy of the new Sigma PCR products brochure featuring kits, equipment, enzymes, reagents and accessories, reference code BXR when calling.

Product Number D 4309

REDTaq DNA Polymerase and 10x buffer with MgCl_2 (1 unit/ μl)

• 50 units • 250 units • 2,500 units

Product Number D 1806

Taq DNA Polymerase and 10x buffer with MgCl_2 (5 units/ μl)

• 50 units • 250 units • 1,500 units

Product Number D 4545

Taq DNA Polymerase and 10x buffer minus MgCl_2 (5 units/ μl)

• 50 units • 250 units • 1,500 units

*10,000 unit maximum at promotional price.



DISCOVER THE CHEMISTRY BETWEEN US

SIGMA • BOX 14508 • ST. LOUIS • MISSOURI 63178 • USA • A Member of the Sigma-Aldrich Family

Sigma-Aldrich Ltd. • Αργοναυτών 72 • Ηλιούπολη 163 46 • Τηλ.: 99 48 010 • Fax: 99 43 831

Purchase of REDTaq™ and Taq DNA Polymerase is accompanied by a limited license to use it in the Polymerase Chain Reaction (PCR) process for research in conjunction with a thermal cycler whose use in automated performance of the PCR process is covered by the up-front license free, either by payment to Perkin-Elmer or as purchased, i.e. an automated thermal cycler. The products are sold under licensing arrangements with F.Hoffmann-LaRoche Ltd, Roche Molecular Systems, Inc and The Perkin-Elmer Corporation.