



“Validazione dei metodi di prova e stima dell’incertezza di misura”

Teramo 3-4, 10-11/12/2008



VALIDAZIONE DEI METODI DI PROVA

PROVE CHIMICHE/FISICHE



La norma ISO 17025 prevede al punto 5.4.5, che :

Il laboratorio deve validare i metodi non normalizzati, i metodi sviluppati/progettati dal laboratorio stesso, i metodi normalizzati utilizzati al di fuori del proprio campo di applicazione prefissato, come pure estensioni e modifiche di metodi normalizzati per confermare che siano ancora adatti allo scopo previsto...



Il compito dei laboratori di controllo generalmente non è quello di produrre (sviluppare) metodi nuovi , ma di applicare quelli normalizzati: riportati nelle leggi oppure emessi da enti normatori (UNI;ISO, AFNOR,DIN ecc) o da organizzazioni incaricate (APAT/IRSA CNR; EPA ecc).

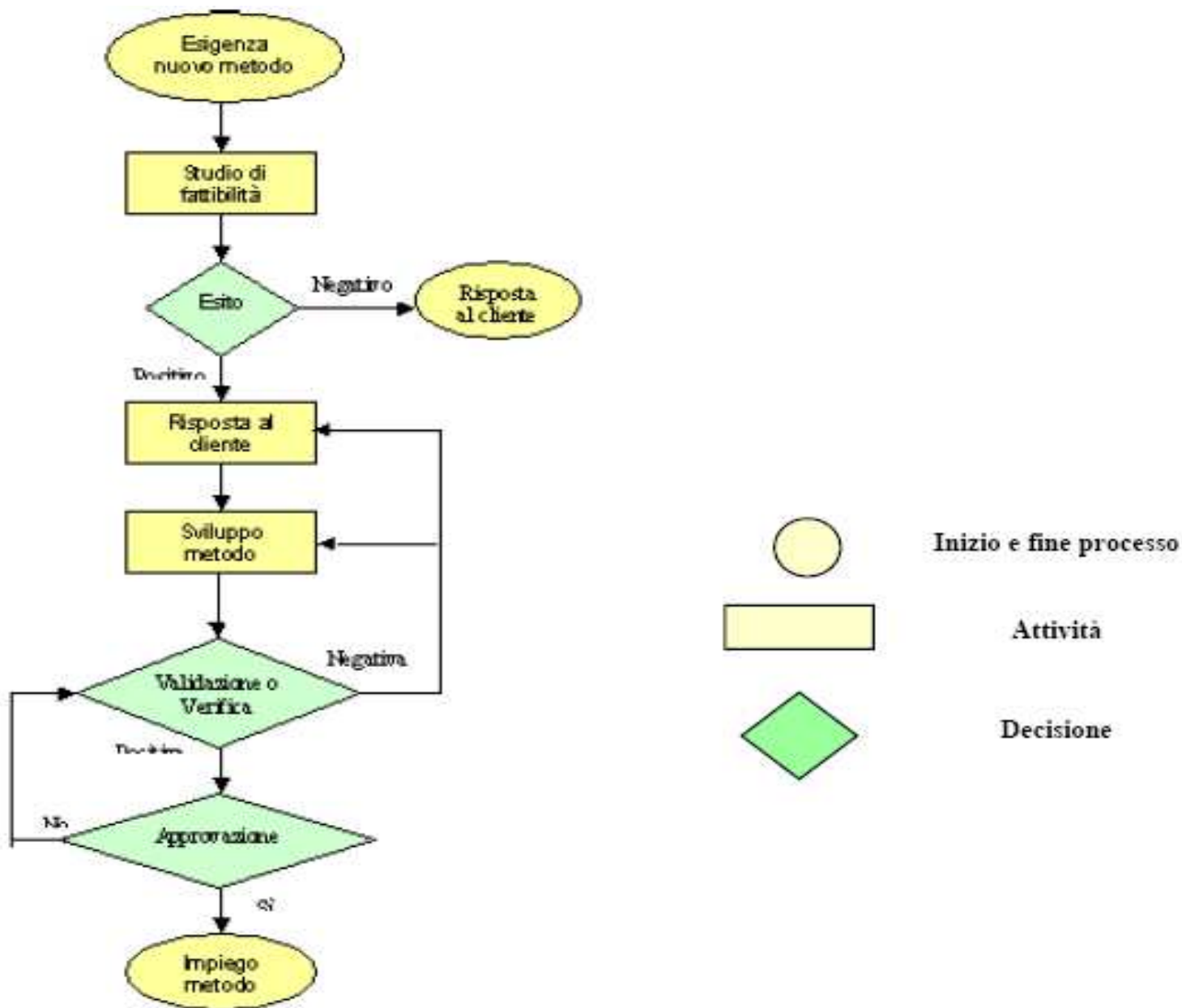


Il laboratorio deve, in ogni caso, dimostrare di essere in condizione di applicare i metodi normalizzati e di garantire il rispetto della qualità delle loro prestazioni.

Questi metodi non riportano, molto spesso, i dati di qualità (“performance”) dei risultati: precisione, esattezza, incertezza..., per cui il laboratorio non è messo in condizione di verificare, per confronto, la capacità di applicarli e deve, di fatto, procedere con una propria sperimentazione di validazione)



La pianificazione della **progettazione** del metodo di prova,
la **validazione** di un metodo interno,
così come la **verifica dell'applicabilità** di un metodo
normalizzato nell'uso del laboratorio
fanno parte di un **processo** che si sviluppa
attraverso le seguenti fasi coordinate dal responsabile
dell'attività di prova:





- richiesta di introduzione/modifica di un metodo prova
- studio di fattibilità
- approvazione dello studio di fattibilità
- sviluppo e stesura del metodo
- sperimentazione di validazione metodo interno o di verifica di applicabilità metodo normalizzato
- stesura del rapporto finale
- approvazione del metodo
- riesame e eventuale rivalidazione del metodo



ESIGENZA NUOVO METODO

L'esigenza di un nuovo metodo o di modificare un metodo già in uso deriva in genere:

- da disposizioni di legge;
- da richieste di organizzazioni pubbliche e/o private o di singoli clienti privati;
- dall'interno dell'Agenzia



STUDIO DI FATTIBILITÀ

Lo studio di fattibilità inizia con l'esame dei requisiti che il metodo deve garantire per soddisfare la richiesta del cliente pubblico o privato e si conclude con l'indicazione della capacità o meno del laboratorio a corrispondere alla richiesta stessa.

Oltre ai requisiti tecnici devono essere considerati, nella scelta del metodo, anche i requisiti economici (costi e tempi di esecuzione della prova) determinati anche dal numero annuale di prove previste.



STUDIO DI FATTIBILITÀ

Per definire la natura del problema e dare una prima indicazione sulla scelta del metodo, occorre conoscere, ad esempio:

- quale accuratezza (precisione ed esattezza) viene richiesta;
- quanto campione è disponibile (e quindi quale deve essere la sensibilità del metodo);
- qual è il campo di applicazione e qual è il campo di misura;
- quali sono, nel campione, gli interferenti possibili (da cui il tipo di studio di selettività);
- quali sono le proprietà fisiche e chimiche della matrice del campione;
- quanti campioni devono essere analizzati.

Dopo aver verificato l'esistenza o meno di metodi normalizzati, o anche di letteratura, adatti allo scopo, è possibile valutare se si può utilizzare un metodo normalizzato, oppure deve essere sviluppato un metodo interno



STUDIO DI FATTIBILITÀ

Lo studio di fattibilità si conclude con un rapporto di fattibilità che deve essere approvato anche dalla funzione in grado di garantire la disponibilità delle risorse economiche necessarie per l'eventuale acquisto di apparecchiature e reattivi (compresi i materiali di riferimento certificati), per l'eventuale adeguamento dei locali e per l'aggiornamento degli operatori qualificati.

Il cliente deve essere informato dell'esito dello studio di fattibilità, con particolare riferimento, ove richiesto e necessario, ai tempi previsti della messa in esercizio del metodo di prova e, se applicabile, del corrispettivo previsto per la singola esecuzione della prova stessa.

Lo sviluppo del metodo non può iniziare prima che sia risolta ogni eventuale differenza tra la richiesta e l'offerta



SVILUPPO METODO

Il responsabile dello sviluppo del metodo, con la eventuale collaborazione di operatori qualificati, inizia la fase di sperimentazione che può prevedere anche le operazioni di campionamento.

In ogni caso, se si tratta di metodi interni, devono essere definite le operazioni di preparazione del campione di prova; le scelte di materiali di riferimento, certificati e non; le modalità di taratura della strumentazione; le operazioni di analisi vere e proprie; l'elaborazione e la presentazione dei dati.



SVILUPPO METODO

Si provvede quindi alla redazione, in bozza, del metodo di prova, nel caso si intenda progettare e sperimentare un metodo interno, o delle eventuali procedure di prova integrative che dettagliano, senza modificarlo sostanzialmente, il metodo normalizzato, se prescelto. Devono inoltre essere predisposte, in bozza, le istruzioni operative eventualmente necessarie per il controllo di buon funzionamento delle apparecchiature per l'esecuzione del metodo.

Solo quando le condizioni operative sono definite e dettagliate, può iniziare la validazione del metodo interno o la verifica dell'applicabilità del metodo normalizzato (qualificazione).



VALIDAZIONE/QUALIFICAZIONE

La validazione o qualificazione del metodo rappresenta la parte conclusiva dello sviluppo del metodo.

Il laboratorio deve verificare (validare) che i requisiti che si prefigge di raggiungere, definiti dallo studio di fattibilità e eventualmente integrati nella stessa fase di sviluppo, sono soddisfatti applicando il metodo di prova così come sviluppato e redatto.



Definizione del termine **validazione** :

“Conferma , sostenuta da evidenze oggettive che i requisiti relativi ad una specifica utilizzazione o applicazione prevista sono stati soddisfatti” (ISO 9000)



La validazione riguarda tutto il **sistema analitico**, intendendo per tale la combinazione di tutti i fattori coinvolti nell'ottenimento dei risultati analitici: analista, apparecchiatura, metodo, reagenti ecc.

Validare un metodo di prova significa quindi dare dimostrazione che esso è adeguato allo scopo per il quale è applicato (*"fitness for purpose"*).

Lo **scopo** è definito peraltro dalle esigenze di chi deve utilizzare i risultati ottenuti applicando il metodo.



I parametri che caratterizzano le prestazioni di un metodo di prova (“ **parametri di validazione**”), la cui conoscenza è necessaria per garantire che il metodo è adeguato allo scopo per il quale è applicato, sono:

- **Selettività**
- **Limite di rivelabilità e limite di quantificazione**
- **Campo di applicazione, campo di misura e linearità**
- **Precisione**
- **Esattezza**
- **Sensibilità**
- **Robustezza**
- **Recupero**
- **Incertezza**

**BISOGNA VALUTARLI
TUTTI?**

NO

**SCEGLIERE E VALUTARE
QUELLI SIGNIFICATIVI PER
IL METODO**



**In rapporto allo scopo del metodo,
il laboratorio definirà
quali dei parametri di validazione
devono essere studiati.**

Diversi organismi, compreso UNICHIM, hanno elaborato tabelle nelle quali vengono indicati i parametri da determinare in funzione delle esigenze a cui il metodo deve corrispondere.

Nella validazione del metodo, il parametro di maggiore interesse è l'accuratezza, che è "stimabile" attraverso l'incertezza.

La validazione ha, quindi, come obiettivo principale quello di stimare l'incertezza di misura, parametro considerato come "indicatore" sia della corrispondenza allo scopo che della riferibilità dei risultati.



Campo di misura e campo di applicazione

Questi due termini vengono impiegati spesso sinonimi.

Campo di misura: intervallo di valori del misurando entro il quale il metodo è applicabile; all'interno del quale i parametri di interesse (precisione, esattezza) assumono valori accettabili

Campo di applicazione: individua le sostanze, proprietà determinabili con il metodo, all'interno di più matrici, in uno o più campi di misura.



Robustezza

La robustezza viene definita come la capacità posseduta da un metodo di non essere influenzato, significativamente, in termini di risultati finali, per effetto di variazioni deliberate introdotte nelle sue fasi di realizzazione.

Le prove di ripetibilità intermedia (carte di controllo) danno informazione sulla robustezza del metodo e possono segnalare la necessità di impostare uno studio effettivo per la stima della robustezza.



Specificità e recupero

Specificità: capacità di misurare quantitativamente le proprietà chimiche di un misurando in presenza di potenziali interferenti

Recupero: rapporto tra il valore trovato ed il valore presunto vero. Molto spesso l'esattezza di un metodo è definita dal recupero dell'analita dalla matrice



Sensibilità

Sensibilità: capacità di discriminare tra piccole differenze nella concentrazione o quantità o caratteristiche del misurando.

Sensibilità: variazione della risposta di uno strumento di misurazione diviso per la corrispondente variazione nello stimolo

Sensibilità: corrisponde alla pendenza della retta di taratura



Riferibilità

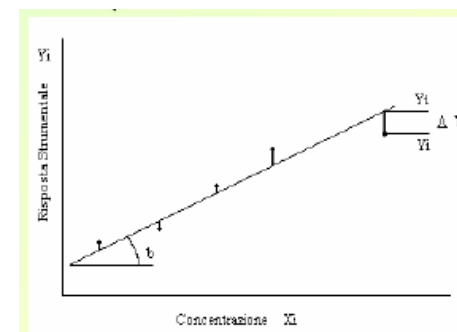
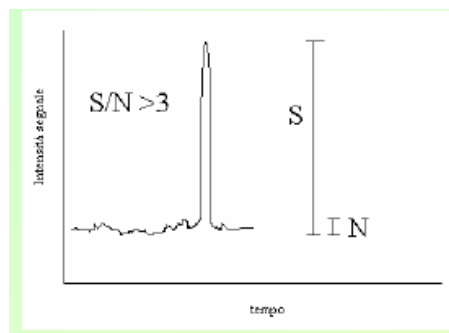
Nel caso di prove chimiche la riferibilità è garantita, nella maggior parte dei casi, dall'uso di materiali di riferimento certificati, i cui valori di una o più proprietà sono certificati da un procedimento che stabilisce la riferibilità ad una accurata realizzazione dell'unità nella quale i valori di proprietà sono espressi e per cui ciascun valore certificato è accompagnato da un'incertezza con un livello di fiducia stabilito



Limite di rivelabilità (LOD)

Limite di quantificazione (LOQ)

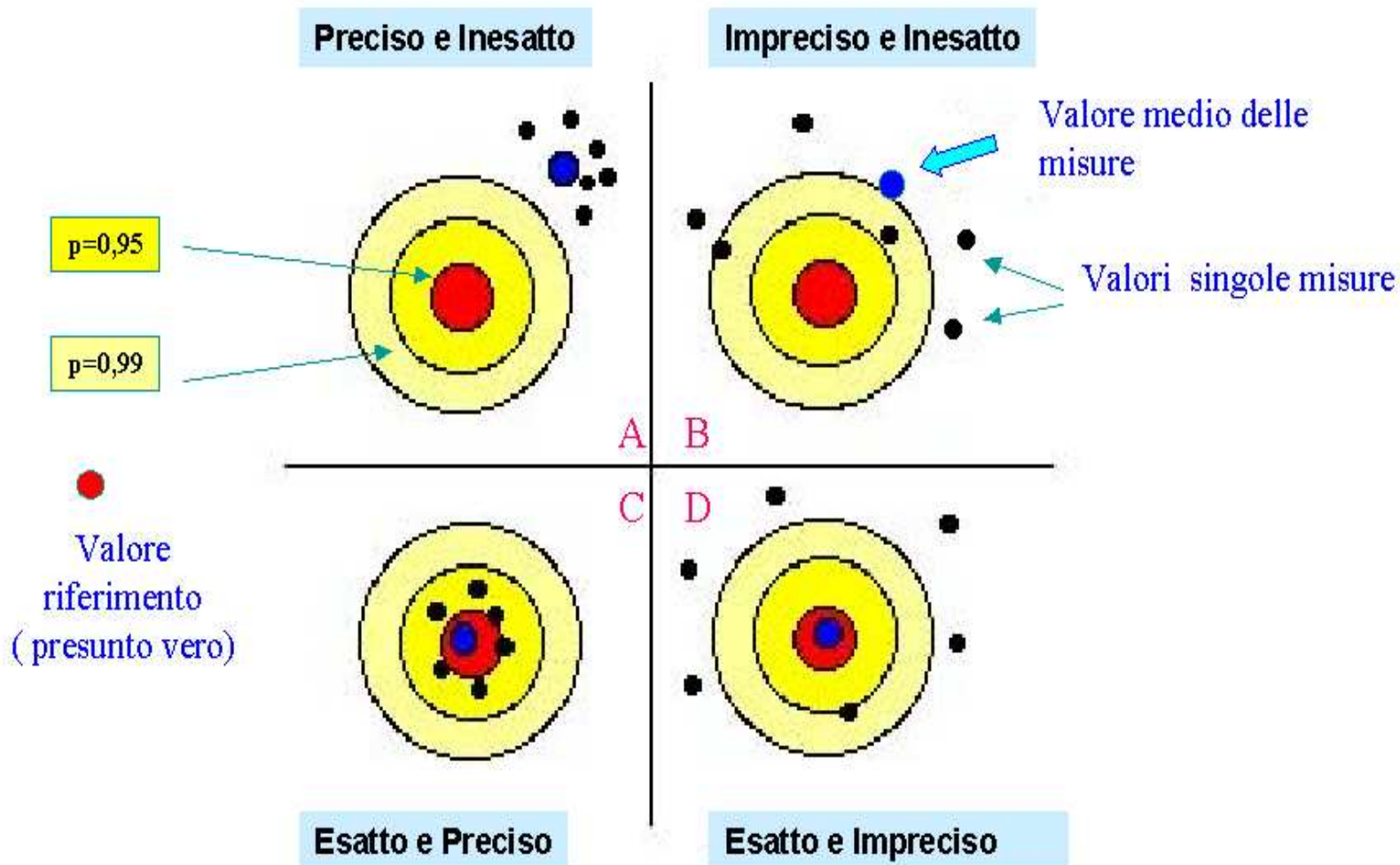
Il limite di rivelabilità può essere stimato dalla retta di taratura (LOD strumentale), oppure applicando ripetutamente il metodo su bianco matrice (LOD del metodo); oppure ancora dal calcolo del rapporto segnale :rumore di fondo.



Il parametro **LOQ** può essere definito come quella concentrazione di analita al di sotto della quale, esso è determinabile (quantificabile) con una precisione troppo bassa, per cui i risultati sarebbero troppo imprecisi.



- **Precisione:** grado di accordo fra i risultati indipendenti ottenuti con un procedimento di analisi in condizioni ben specificate
(ISO 5725)
- **Esattezza (*trueness*):** grado di accordo tra il valore medio ottenuto da una larga serie di risultati e il valore di riferimento accettato
(ISO 5725)





PRECISIONE

La **precisione** è la bontà dell'accordo tra i risultati di misurazioni successive dello stesso misurando, ovvero la misura della vicinanza reciproca delle misure all'interno di un set di misurazioni su di uno stesso campione.

ripetibilità e Riproducibilità sono due tipi di misura della precisione

La **ripetibilità** è la bontà dell'accordo tra i risultati di misurazioni successive dello stesso misurando condotte nelle stesse condizioni di misurazione.

La **Riproducibilità** è la bontà dell'accordo tra i risultati di misurazioni successive dello stesso misurando condotte in condizioni di misurazione non omogenee.



La precisione di un metodo “misura” la dispersione dei risultati di prove ripetute sullo stesso campione dovuta a fattori casuali.

La distribuzione è assunta di tipo normale o gaussiana e la dispersione “random” intorno al valore medio è misurato dallo **scarto tipo di ripetibilità** (“standard deviation”)

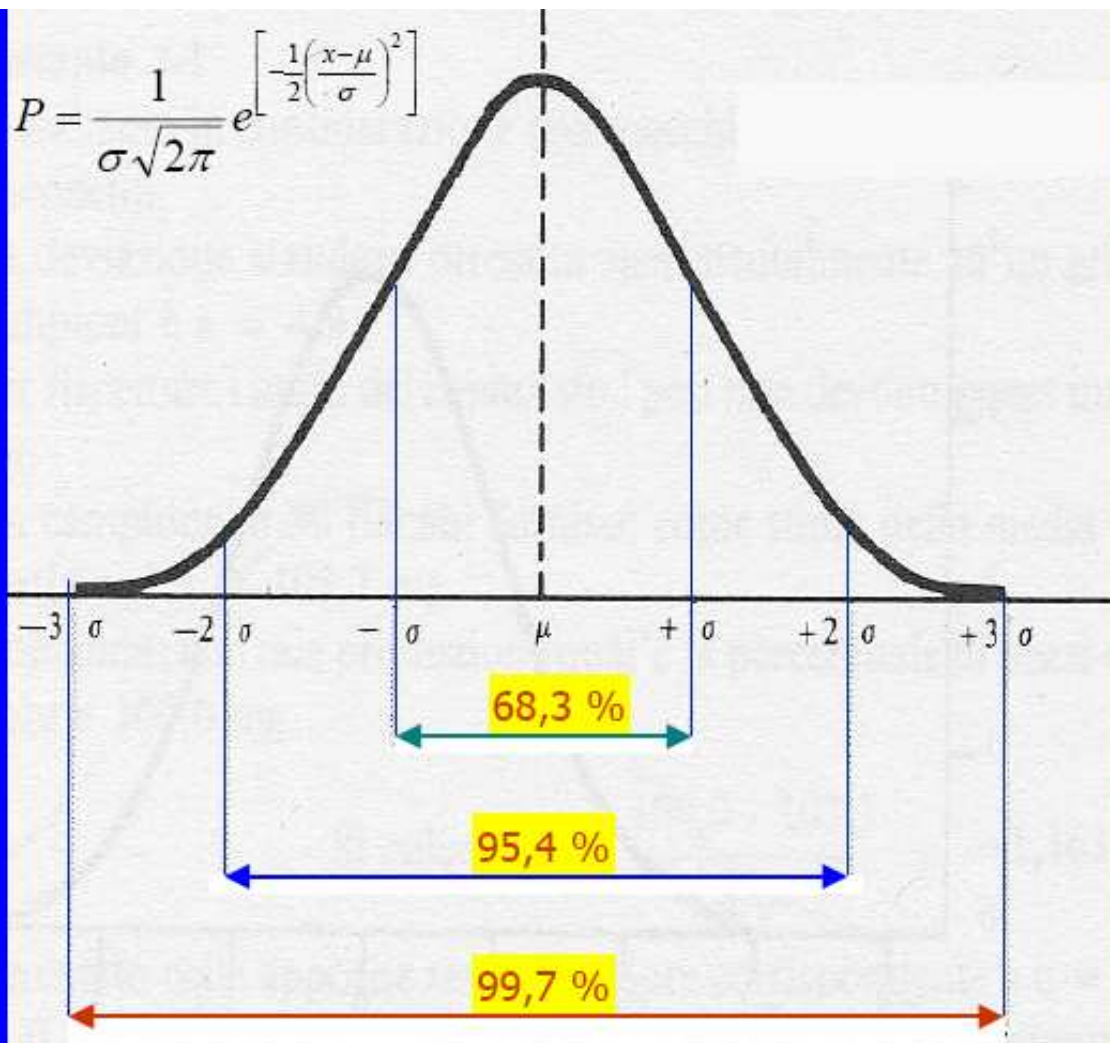
$$S_r = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2}{n - 1}}$$

$$\bar{X} = \frac{\sum_{i=1}^n X_i}{n}$$

Con n = numero delle prove e Xi= valore della prova singola 29



CURVA DI DISTRIBUZIONE NORMALE



$\mu = \text{media}$

$\sigma = \text{scarto tipo}$



Procedura per la valutazione della ripetibilità - Schema





Valutazione preliminare dei dati

I risultati ottenuti nelle prove fisiche, chimiche e biologiche devono essere sottoposti ad una valutazione statistica per verificare che i dati sperimentali si dispongano secondo una distribuzione normale (gaussiana)

Test di normalità di Shapiro-Wilk

e, successivamente, andare a valutare l'eventuale presenza di valori che si discostino in modo evidente dagli altri (dati aberranti o valori anomali).

Test di anomalia di Dixon

Test di anomalia di Huber



Procedura per la valutazione della ripetibilità:

- analizzare 10 (n) campioni o materiali di riferimento o bianchi fortificati indipendenti a diversi livelli di concentrazione entro il range dinamico (*stesso operatore, strumento, laboratorio, tempo limitato*);
- determinare la deviazione standard e calcolare il limite di ripetibilità:

$$r = t * S_r * \sqrt{2}$$

dove t è t di Student (per il livello di fiducia desiderato e v gradi di libertà. In pratica, si accetta come possibile l'uso di $v = \infty$ e quindi, per $1-\alpha = 0,95$, si usa $t = 1,96 \approx 2$); S_r è la deviazione standard della ripetibilità.



La distribuzione t (di Student)

Gradi di libertà (ν)	Frazione p in percento					
	68,27	90	95	95,45	99	99,73
1	1,84	6,31	12,71	13,97	63,66	235,80
2	1,32	2,92	4,30	4,53	9,92	19,21
3	1,20	2,35	3,18	3,31	5,84	9,22
4	1,14	2,13	2,78	2,87	4,60	6,62
5	1,11	2,02	2,57	2,65	4,03	5,51
6	1,09	1,94	2,45	2,52	3,71	4,90
7	1,08	1,89	2,36	2,43	3,50	4,53
8	1,07	1,86	2,31	2,37	3,36	4,28
9	1,06	1,83	2,26	2,32	3,25	4,09
10	1,05	1,81	2,23	2,28	3,17	3,96
15	1,03	1,75	2,13	2,18	2,95	3,59
20	1,03	1,72	2,09	2,13	2,85	3,42
30	1,02	1,70	2,04	2,09	2,75	3,27
40	1,01	1,68	2,02	2,06	2,70	3,20
50	1,01	1,68	2,01	2,05	2,68	3,16
∞	1,00	1,64	1,96	2,00	2,58	3,00



$$A \leq \frac{S_r}{\sigma_r} \leq B$$

Gradi di libertà $\nu=n-1$	A	B
1	0.0316	2,241
2	0.160	1,921
3	0,268	1,765
4	0,348	1,669
5	0,408	1,602
6	0,454	1,551
7	0,491	1,512
8	0,522	1,480
9	0,548	1,454
10	0,570	1,431
11	0,589	1,412
15	0.646	1,354
20	0,692	1,307
30	0,748	1,251

$p= 0,95$

Limite inferiore

Limite superiore



Il limite di ripetibilità è definito come il parametro con il quale si deve confrontare la differenza tra dati in doppio ottenuti in condizioni di ripetibilità (la definizione vale anche per le condizioni di ripetibilità intermedia o riproducibilità).

$$r = |X_2 - X_1| = t \times S \times \sqrt{2}$$

Il limite di ripetibilità, r , è il valore massimo, prevedibile ad un certo livello di fiducia, della differenza assoluta tra due risultati ottenuti in condizioni di ripetibilità:

se nelle normali condizioni di lavoro la differenza tra due risultati è maggiore di r , i risultati sono sospetti.



ESATTEZZA

L'esattezza è la vicinanza d'accordo tra il valore medio ottenuto da una serie numerosa di risultati e il valore di riferimento accettato.

Non è possibile parlare di esattezza se non è disponibile un *valore di riferimento accettato*.

La definizione di esattezza comprende anche il grado di accordo tra la media dei risultati ottenuti con il metodo in corso di sviluppo e le medie di quelli ricavati sugli stessi campioni con altri metodi (basati su procedimenti di natura indipendente rispetto a quello del metodo in esame), la cui prestazione in termini di esattezza e precisione sia già stata dimostrata.

Le modalità con cui si può stimare l'esattezza della media dei risultati di un procedimento analitico sono sostanzialmente due:

- 1) *dal confronto con valori di riferimento accettati*
- 2) *dal confronto con la media dei risultati ottenuti con altri metodi indipendenti e già validati*



L'esattezza può essere valutata mediante analisi di uno o più materiali di riferimento certificati (CRM).

Quali sono le caratteristiche che devono possedere i MRC per essere impiegati in questo confronto?

Devono avere una composizione il più possibile simile a quella dei campioni reali in esame

Sono scelte in funzione delle prestazioni ricercate con il metodo da validare

(L'incertezza del materiale di riferimento certificato dovrebbe essere, secondo le indicazioni ISO o ILAC, trascurabile rispetto al valore dell'incertezza che il laboratorio ha deciso di avere come requisito "target" (rapporto di 1:3))



Procedura per la valutazione dell'esattezza (caso 1):

Si eseguono n prove replicate (almeno 6; possibilmente 10) indipendenti su un materiale di riferimento o su una matrice bianca fortificata dopo aver valutato che lo scarto tipo trovato è in linea con le aspettative di ripetibilità, si confronta il valore medio trovato con il valore di riferimento e si verifica se la loro differenza è significativa o meno al 95 % di fiducia.



Se è conosciuta l'incertezza del materiale di riferimento la verifica è eseguita con il seguente test statistico :

$$\frac{|C_{CRM} - \bar{X}|}{\sqrt{\frac{S_r^2}{n} + u_{CRM}^2}} \leq t_{p,v}$$

con C_{CRM} = valore certificato del CRM

con X_{medio} = valore medio delle n prove di
ripetibilità

$$v = \frac{\left(\frac{S_r^2}{n} + u_{CRM}^2\right)^2}{\left(\frac{S_r^2}{n}\right)^2} \times (n-1)$$



Procedura per la valutazione dell'esattezza (caso 2):

Il metodo da validare viene confrontato con uno normalizzato che dispone di dati di scarto tipo di ripetibilità e di riproducibilità.

Se il laboratorio esegue sullo stesso campione due serie di prove n_a e n_b , con il metodo da validare e con quello normalizzato, ottenendo due valori medi e due valori di scarto tipo s_a e s_b non significativamente diversi tra loro ed entrambi compatibili con gli scarti tipo del metodo normalizzato, allora il metodo interno può essere considerato esatto se :



$$\frac{|\bar{x}_a - \bar{x}_b|}{S \times \sqrt{\frac{1}{n_a} + \frac{1}{n_b}}} \leq t_{p,v}$$

con

t = valore della variabile di Student al livello di probabilità p= al 95%;

con v = gradi di libertà;

con S = scarto tipo dato dalla relazione:

$$S = \sqrt{\frac{(n_a - 1)S_a^2 + (n_b - 1)S_b^2}{(n_a + n_b - 2)}}$$



VALIDAZIONE/QUALIFICAZIONE

Nel caso in cui i risultati ottenuti non corrispondono con gli obiettivi previsti, la funzione responsabile può richiedere un riesame delle condizioni sperimentali e una nuova stesura del metodo o delle procedure di prova integrative.

Al termine della sperimentazione, comprensiva della validazione, il responsabile procede alla valutazione della documentazione raccolta e provvede a redigere il rapporto finale di validazione/qualificazione.

La documentazione tecnica che registra i risultati ottenuti comprende tutte le prove eseguite per controllare che le prestazioni sono garantite nelle condizioni routinarie del laboratorio (registri di validazione/qualificazione).



VALIDAZIONE/QUALIFICAZIONE

Il Responsabile del laboratorio ha la responsabilità di valutare il rapporto finale e, nel caso la valutazione sia positiva, approva il metodo interno o la procedura di prova integrativa e autorizza l'applicazione del nuovo metodo.



RIASSUMENDO

**Il processo di validazione di un metodo analitico
richiede:**

- **pianificazione e attribuzione delle risorse da impiegare**
- **chiara definizione dei requisiti da soddisfare**
- **chiara descrizione del metodo da validare**
- **programma di validazione che indichi:**
 - **le informazioni deducibili da fonti esistenti**
 - **gli esperimenti che si intendono eseguire**
- **registrazione dei risultati**
- **valutazione finale**
- **dichiarazione di validità (o meno) del metodo all'interno del campo di applicazione stabilito**



ASSICURAZIONE QUALITA' DEI RISULTATI DI PROVA

Il metodo nuovo introdotto nell'uso routinario deve essere sottoposto al controllo della qualità per monitorare la validità delle prove, secondo quanto previsto dal punto 5.9 della ISO 17025 che si realizza, ad esempio mediante:

- 1) verifica della ripetibilità ristretta tramite il controllo del limite di ripetibilità "r";
- 2) la costruzione di carte di controllo;
- 3) uso di bianchi,
- 4) standard di taratura;
- 5) campioni civetta;
- 6) materiali di riferimento
- 7) proficiency tests

Le carte di controllo, soprattutto se sono costruite avvalendosi della disponibilità di un materiale di riferimento stabile nel tempo (possibilmente certificato, ma comunque a valore noto del determinando), consentono di verificare se le prestazioni di precisione e di esattezza (e quindi di incertezza) stimate nel processo di validazione o nella verifica di applicabilità di un metodo normalizzato, sono mantenute nel tempo.



RIESAME VALIDAZIONE/QUALIFICAZIONE

Il riesame dei requisiti dei metodi di prova deve essere eseguito con una periodicità programmata e può considerare anche aspetti relativi al carico di lavoro (numero di prove eseguite; disponibilità di operatori ecc).

Il riesame del metodo può comportarne la rivalidazione

La rivalidazione di un metodo deve essere fatta , in ogni caso, se :

- il metodo non viene impiegato da lungo tempo;
- vengono introdotte modificazioni significative quali ad esempio sostituzione di apparecchiature o modificazioni tecnologiche, uso di reagenti diversi ecc.



Stima dell'incertezza di misura



Due definizioni:

“Parametro associato al risultato di una misurazione o prova, che caratterizza la dispersione dei valori ragionevolmente attribuibili al misurando”. (UNI CEI EN 13005)

“La stima che caratterizza il campo di valori entro cui giace il valore vero di un misurando”. (VIM)

Il risultato di una misurazione rappresenta la migliore stima del valore del misurando e l'incertezza, valutata considerando tutte le sorgenti d'errore, quantifica la qualità del risultato.

Una misura non completata dalla sua incertezza non può essere confrontata né con altre misure né con valori di riferimento o con limiti legali o composizionali.



L'importanza dell'incertezza di misurazione è stata pienamente recepita dalla norma UNI CEI EN ISO/IEC 17025.

5.4.6 Stima dell'incertezza di misura

5.4.6.1 Un laboratorio di taratura, o un laboratorio di prova che esegue le proprie tarature, deve avere e deve applicare una procedura per stimare l'incertezza di misura per tutte le tarature e tipi di taratura.

5.4.6.2 I laboratori di prova devono avere e devono applicare procedure per stimare l'incertezza delle misure. In certi casi la natura dei metodi di prova può escludere il calcolo dell'incertezza di misura rigoroso e valido dal punto di vista metrologico e statistico. In questi casi il laboratorio deve almeno tentare di identificare tutte le componenti dell'incertezza e fare una stima ragionevole, e deve garantire che l'espressione del risultato non fornisca un'impressione errata dell'incertezza. Una stima ragionevole deve essere basata sulla conoscenza del metodo e sullo scopo della misura e deve far uso, per esempio, delle esperienze precedenti e della validazione dei dati.



(dalla UNI CEI EN ISO/IEC 17025)

Nota 1

Il livello di rigore necessario in una stima dell'incertezza di misura dipende da fattori come:

- **i requisiti del metodo di prova;**
- **i requisiti del cliente;**
- **l'esistenza di limiti stretti su cui sono basate le decisioni della conformità ad una specifica.**



(dalla UNI CEI EN ISO/IEC 17025)

5.4.6.3 Quando si stima l'incertezza di misura, devono essere prese in considerazione, utilizzando appropriati metodi di analisi, tutte le componenti dell'incertezza che sono di rilievo in una data situazione.

Nota 1

Le fonti che contribuiscono all'incertezza di misura includono, in modo non esaustivo, i campioni di riferimento e i materiali di riferimento utilizzati, i metodi e le apparecchiature utilizzate, le condizioni ambientali e le condizioni degli oggetti da provare o da tarare, e l'operatore.

Nota 3

Per ulteriori informazioni vedere ISO 5725 e la Guida all'espressione dell'incertezza di misura (vedere bibliografia).



(dalla UNI CEI EN ISO/IEC 17025)

5.10.3 Rapporti di prova

5.10.3.1 In aggiunta a quanto indicato in 5.10.2, i rapporti di prova devono includere, se necessario per l'interpretazione dei risultati, quanto segue:

...

c) quando applicabile, una dichiarazione circa l'incertezza di misura stimata; informazioni circa l'incertezza sono necessarie nel rapporto di prova quando ciò influisce sulla validità o sull'applicazione dei risultati di prova, quando le istruzioni del cliente lo richiedono, o quando l'incertezza ha influenza sulla conformità con un limite specificato;

...



Lo studio dell'incertezza di misura può essere diversificato in funzione di quale approccio si voglia utilizzare. I percorsi possono essere molto differenti, in ogni caso **l'approccio studiato deve essere il più realistico possibile vicino alle esigenze del laboratorio, soprattutto standardizzato e collaudato nel tempo.**

Esistono diverse tipologie di approcci per il calcolo dell'incertezza di misura in ambito chimico:

- **METODO EURACHEM o METROLOGICO**
- **METODO OLISTICO o DECONSTRUTTIVO**
- **METODO HORWITZ**

Ogni approccio presenta dei “punti di forza” e dei “punti di debolezza”.



L'attuale coesistenza di diversi modelli per la valutazione dell'incertezza di misurazione, e l'aumento dei costi e tempi di analisi derivante dalla loro applicazione, hanno trasformato la stima dell'incertezza di misurazione in uno dei maggiori problemi affrontati dai laboratori che vogliono introdurre un sistema di controllo qualità, o che hanno come obiettivo l'accreditamento dei loro metodi di analisi.



METODO EURACHEM O METROLOGICO



Di tutti i modelli proposti sicuramente quello meglio accettato a livello internazionale è il modello **EURACHEM**.

Tale modello è di tipo bottom-up poiché l'approccio per la determinazione dell'incertezza parte dalla considerazione di quali siano le fonti dell'incertezza di misura e, risalendo il percorso del metodo analitico, si formula un'ipotesi delle cause.

Il modello **EURACHEM** è stato sviluppato sulla base delle interpretazioni alla norma **ISO 25** (GUM).

La linea guida **EURACHEM/CITAC Guide** “*Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement*” rappresenta un importante riferimento per il processo di determinazione dell'incertezza per un metodo analitico.

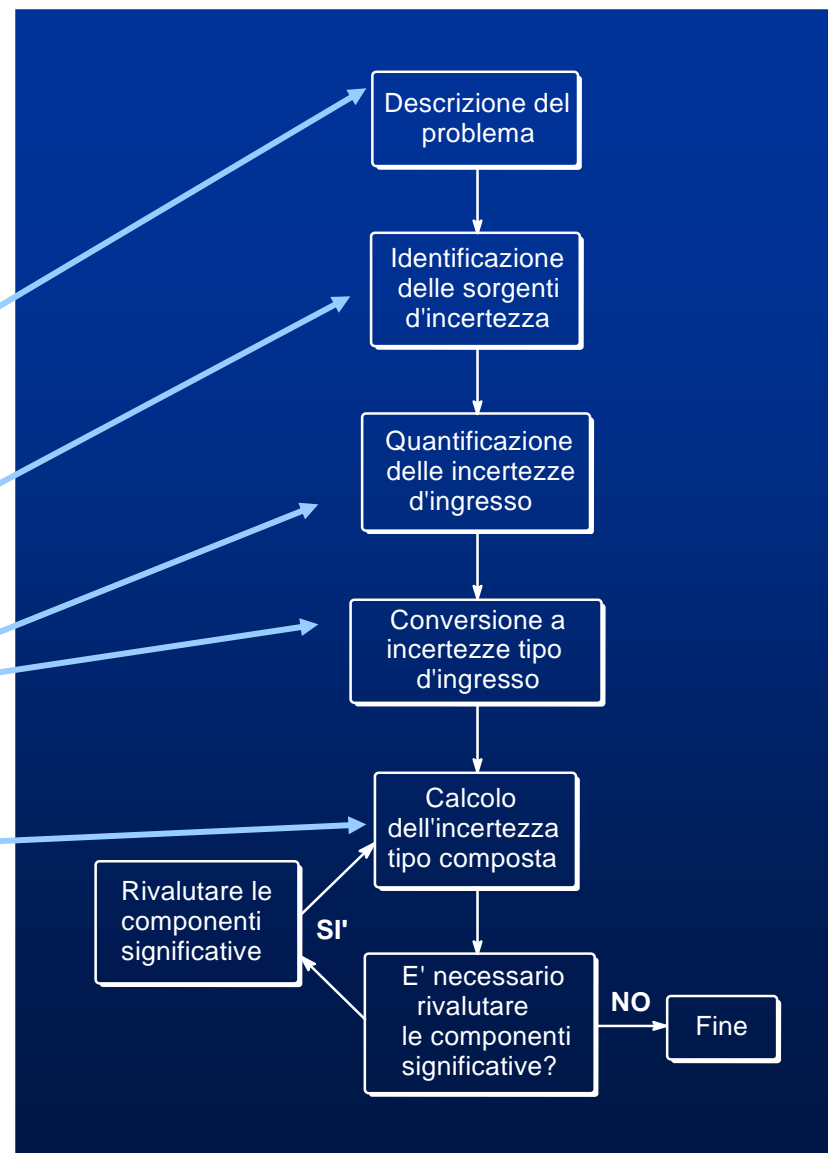
Pur non essendo privo di critiche rappresenta **l'unico sistema scientifico** di approccio all'incertezza di misura.



METODO BOTTOM-UP (EURACHEM)

Il metodo bottom-up, schematizzato in Figura, richiede:

- la definizione del misurando
- l'identificazione delle sorgenti d'incertezza
- la quantificazione delle incertezze d'ingresso
- il calcolo dell'incertezza composta



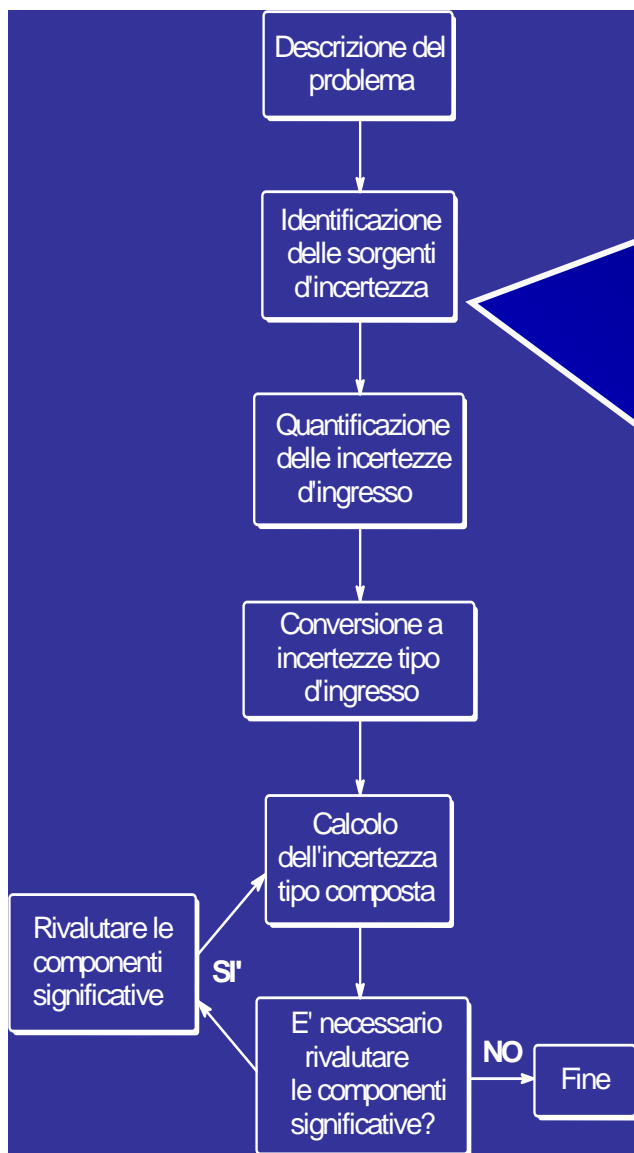


L'obiettivo di una misurazione è la determinazione del valore della grandezza da misurare, Y , detta **misurando**. Il misurando è espresso in funzione di **grandezze d'ingresso**, X_1, X_2 , ecc.:

$$Y = f(X_1, X_2, \dots, X_n)$$

L'equazione rappresenta il **modello di misurazione**. In realtà, il processo di misurazione permette di ottenere solo una stima, y , del misurando mediante sostituzione nell'eq. 1 delle stime (delle grandezze) di ingresso, x_i :

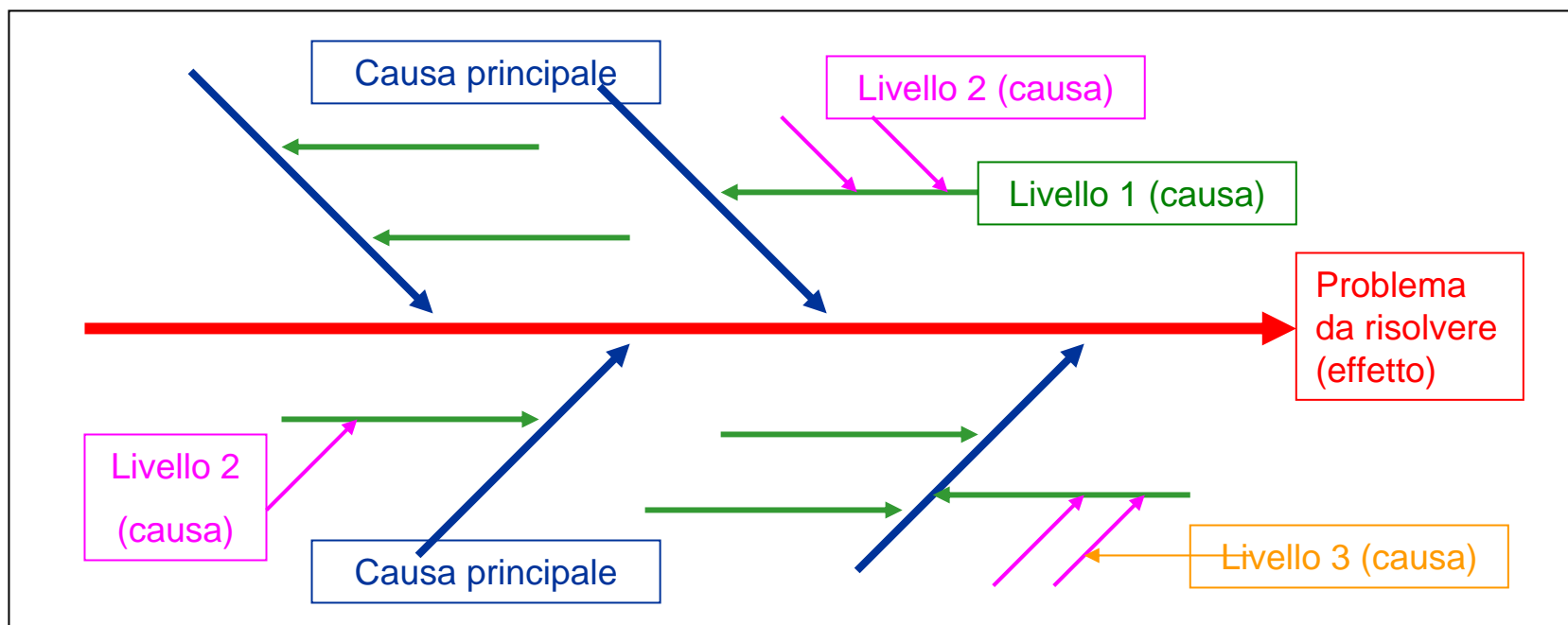
$$y = f(x_1, x_2, \dots, x_n)$$



- Definizione incompleta del misurando
- Campionamento (?)
- Estrazione/preconcentrazione incompleta
- Effetti di matrice ed interferenze
- Contaminazioni
- Conoscenza o controllo inadeguato delle condizioni ambientali che influenzano il risultato
- Bias personali nella lettura degli strumenti
- Incertezza di masse e volumi
- Incertezze legate alla risoluzione e sensibilità strumentali
- Incertezza del valore assegnato a CRM
- Incertezza del valore di costanti e parametri usati nell'algoritmo di riduzione dei dati
- Approssimazioni e assunzioni implicite del metodo analitico
- Errori casuali
- Algoritmi inadeguati di software commerciali



Fondamentale, ai fini della correttezza della stima dell'incertezza tipo composta, è il bilancio delle incertezze, definito mediante l'analisi **causa-effetto** e visualizzato per mezzo dei diagrammi a **spina di pesce** (diagrammi di **Ishikawa**). Scopo principale del diagramma, in metrologia chimica, è l'identificazione di tutte le sorgenti d'incertezza.





Identificazione delle sorgenti di incertezza

In questa fase sono individuate tutte le possibili fonti di incertezza. E' conveniente preparare una **lista** esaustiva di tutte le possibili fonti, anche se queste apparentemente non sono quantificabili o possono sembrare poco significative: la loro quantificazione verrà effettuata successivamente.

Come punto di partenza si considerano **le variabili da cui dipende l'espressione matematica del misurando.**

Tutti questi parametri avranno una fonte di incertezza (salvo ovviamente le costanti). In aggiunta ci potranno essere parametri che non appaiono direttamente, ma che possono rivelarsi critici (ad esempio nella determinazione di un principio attivo mediante estrazione liquido/liquido il tempo necessario all'estrazione deve essere valutato o tenuto sotto controllo). Questi verranno valutati nel modo più scrupoloso possibile se realmente contribuiscono come fonti di incertezza o di variabilità del sistema.



Ad ognuna delle stime d'ingresso deve essere associata una **incertezza tipo d'ingresso**.

Le incertezze tipo d'ingresso sono definite di **categoria A**, se possono essere stimate come deviazioni standard di parametri valutati mediante analisi statistica di risultati sperimentali (deviazione standard di una media, della pendenza di un diagramma di taratura, ecc.).

Le incertezze tipo d'ingresso sono definite di **categoria B** se derivano da informazioni relative alla strumentazione o ai materiali di riferimento (tolleranze della vetreria, incertezza del valore certificato di un materiale di riferimento, precisione di un termometro, ecc.).



Incertezze di tipo A

Sono le incertezze associabili a prove ripetute e possono essere stimate come scarto tipo dei parametri sperimentali soggetti a misurazione.

“La valutazione della categoria A dell’incertezza tipo può essere applicata quando siano state fatte diverse osservazioni indipendenti della grandezza d’ingresso nelle stesse condizioni di misura. Se il processo di misurazione ha sufficiente risoluzione si osserverà una dispersione dei dati.”

EA-4/02 Espressione dell’incertezza di misura nelle tarature.



Incerezze di tipo A

Possono essere definite in funzione della distribuzione statistica a cui appartengono. In funzione della distribuzione statistica dei dati sperimentali si calcola il corrispondente valore dello scarto tipo.

	Normale	Binomiale	Poisson
Scarto tipo	$s_x = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n(n-1)}}$	$s = \sqrt{np(1-p)}$	$s = \sqrt{c}$



Incertezze di tipo B

“La valutazione della categoria B dell’incertezza tipo è quella valutazione di stima d’ingresso ottenuta in modo diverso rispetto al trattamento statistico di una serie di osservazioni. L’incertezza tipo si valuta in base a un giudizio scientifico di tutte le informazioni utili sulla possibile variabilità di x_i .”

EA-4/02 Espressione dell’incertezza di misura nelle tarature.



Incertezze di tipo B

I valori che rientrano propriamente in questa categoria sono:

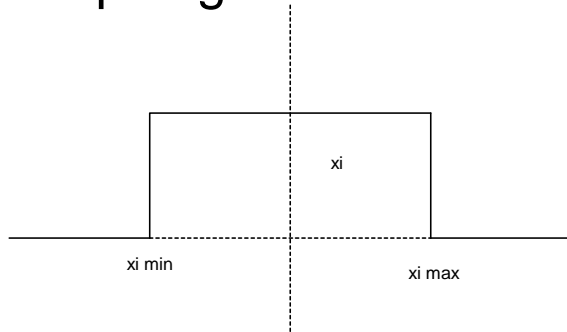
- ➔ dati di misurazioni precedenti (intervalli di temperatura o di concentrazione prestabiliti)
- ➔ esperienza o conoscenza generale del comportamento delle proprietà di materiali o strumenti d'interesse
- ➔ specifiche tecniche del costruttore
- ➔ dati forniti da certificati di taratura o di altro genere (anche interni) (drift strumentale)
- ➔ classe di accuratezza riportata nella vetreria
- ➔ incertezze assegnate a valori di riferimento presi da manuali



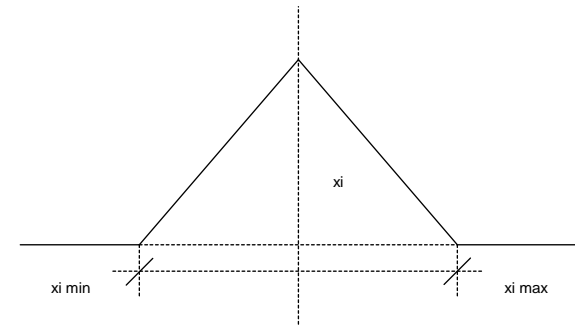
Incertezze di tipo B

Le incertezze di tipo B si possono calcolare in funzione delle varie tipologie di distribuzioni a cui esse meglio si approssimano.

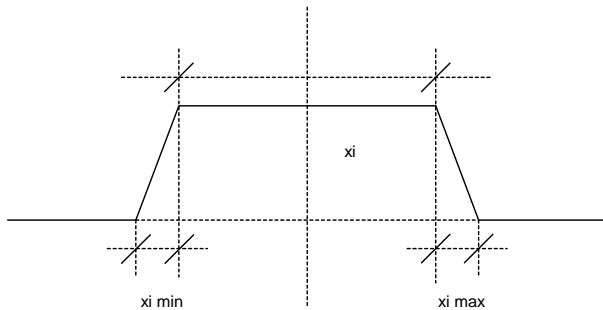
Le tipologie di distribuzioni sono:



$$u(x) = \frac{x_{i\min} - x_{i\max}}{2 \cdot \sqrt{3}}$$



$$u(x) = \frac{(x_{i\min} - x_{i\max})}{2 \cdot \sqrt{6}}$$



$$u(x) = \frac{(x_{i\min} - x_{i\max}) \cdot \sqrt{(1 + \beta^2)}}{2 \cdot \sqrt{6}}$$



Raggruppamento per gruppi omogenei

Nella logica di razionalizzare il metodo per il calcolo dell'incertezza di misura è utile dare particolare importanza al raggruppamento delle diverse incertezze di misura.

Questo con lo scopo di avere una valutazione univoca per tutte le fonti di incertezza simili. Questo procedimento oltre che semplificare la complessità delle misurazioni rende anche più efficace il modello di valutazione complessivo.



Raggruppamento per gruppi omogenei

Considerando il processo analitico, le diverse fasi possono essere caratterizzate da un'incertezza le cui componenti sono sia di tipo A che di tipo B.

Incertezza di pesata:

- ✓ scarto aleatorio di pesata (tipo A valutata con la ripetibilità)
- ✓ taratura della bilancia (tipo B).

Incertezza di diluizione:

– per pesata: vale quanto riportato sopra

– per volume:

- ✓ portata a volume: tipo A valutata con la ripetibilità
- ✓ variazione non controllata della temperatura ambiente: influenza il volume della soluzione diluita. Tipo B: il coefficiente di espansione dell'acqua è così piccolo che in genere viene trascurata. Tipo A se le prove di ripetibilità si svolgono in un arco di tempo ampio e tale da comprendere le variazioni.
- ✓ taratura della vetreria: tipo B.



Raggruppamento per gruppi omogenei

Incertezza legata ai trattamenti (subiti dal campione, tal quale o dopo diluizione):

- ✓ tipo A valutata con la ripetibilità, se il campione subisce ogni volta tutti i trattamenti.

Se il coefficiente di recupero è significativamente diverso da 1, si introduce uno scostamento nei risultati delle prove. Quindi, se stabilito in fase di messa a punto del metodo ed inserito nel calcolo finale, si calcola l'incertezza associata.

Incertezza legata alla misurazione:

- ✓ imputabile alla misurazione: tipo A valutata con la ripetibilità
- ✓ taratura della strumentazione impiegata: tipo B.

Incertezza delle concentrazioni del materiale di riferimento per la taratura:

- ✓ titolo di purezza: tipo B
- ✓ pesate: tipo A e B
- ✓ diluizioni: tipo A e tipo B
- ✓ trattamenti: tipo A.



Calcolo dell'incertezza composta

Dopo l'individuazione di tutte le fonti di incertezza, si può calcolare l'incertezza di tipo composta $u(y)$.

Per il principio di propagazione degli errori l'incertezza composta può essere calcolata mediante la combinazione di tutte le incertezze d'ingresso espresse come incertezze tipo:

$$u(y) = \sqrt{\sum_{i=1}^n \left(\frac{\partial y}{\partial x_i} \cdot u(x_i) \right)^2 + 2 \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^n \left(\frac{\partial y}{\partial x_i} \frac{\partial y}{\partial x_j} \cdot \text{cov}(x_{ij}) \right)}$$

dove x_i sono le grandezze d'ingresso, mentre $\text{cov}(x_{ij})$ è la covarianza tra x_i e x_j . Solamente quando tutte le grandezze d'ingresso sono indipendenti e tra loro non correlate, la covarianza è uguale a zero.



Calcolo dell'incertezza composta

Nella più immediata delle semplificazioni si può ritenere che le varie fonti di incertezza siano sempre indipendenti tra di loro, conseguentemente la covarianza non viene tenuta in considerazione né calcolata.

La legge di propagazione degli errori si può quindi semplificare in:

$$u(y) = \sqrt{\sum_{i=1}^n \left(\frac{dy}{dx_i} \cdot u(x_i) \right)^2}$$

L'integrazione della formula con la conseguente espressione in termini finiti, in funzione dei vari casi di somma della propagazione degli errori, è rappresentata in tabella:



Tabella 3 - Formule per la valutazione dell'incertezza tipo composta

Linea	Funzione	Incetezza tipo composta Valore assoluto $u(y)$	Incetezza tipo composta Valore relativo $\hat{u}(y)$
1	$Y = A + B$	$\sqrt{u_A^2 + u_B^2}$	$\sqrt{\frac{A^2 \hat{u}_A^2 + B^2 \hat{u}_B^2}{(A+B)^2}}$
2	$Y = A + B + C$	$\sqrt{u_A^2 + u_B^2 + u_C^2}$	$\sqrt{\frac{A^2 \hat{u}_A^2 + B^2 \hat{u}_B^2 + C^2 \hat{u}_C^2}{(A+B+C)^2}}$
3	$Y = A - B$	$\sqrt{u_A^2 + u_B^2}$	$\sqrt{\frac{A^2 \hat{u}_A^2 + B^2 \hat{u}_B^2}{(A+B)^2}}$
4	$Y = A \cdot B$	$\sqrt{B^2 u_A^2 + A^2 u_B^2}$	$\sqrt{\hat{u}_A^2 + \hat{u}_B^2}$
5	$Y = A \cdot B \cdot C$	$\sqrt{[BC]^2 u_A^2 + [AC]^2 u_B^2 + [AB]^2 u_C^2}$	$\sqrt{\hat{u}_A^2 + \hat{u}_B^2 + \hat{u}_C^2}$
6	$Y = h \cdot A$	$h \cdot u_A$	\hat{u}_A
7	$Y = A^n$	$n \cdot A^{n-1} \cdot u_A$	$n \cdot \hat{u}_A$
8	$Y = \frac{A}{B}$	$\frac{1}{B} \sqrt{u_A^2 + \frac{A^2}{B^2} u_B^2}$	$\sqrt{\hat{u}_A^2 + \hat{u}_B^2}$
9	$Y = \left(\frac{A}{B}\right)^2$	$\left(2 \frac{A}{B}\right) \sqrt{u_A^2 + \frac{A^2}{B^2} u_B^2}$	$2 \sqrt{(\hat{u}_A^2 + \hat{u}_B^2)}$
10	$Y = A \cdot B + h \cdot C$	$\sqrt{B^2 u_A^2 + A^2 u_B^2 + h^2 u_C^2}$	$\sqrt{\frac{A^2 B^2 (\hat{u}_A^2 + \hat{u}_B^2) + C^2 h^2 \hat{u}_C^2}{(A B + h C)^2}}$
11	$\frac{A \cdot B \cdot C}{D}$	$\frac{1}{D} \sqrt{[BC]^2 u_A^2 + [AC]^2 u_B^2 + [AB]^2 u_C^2 + \left(\frac{A \cdot B \cdot C}{D}\right)^2 \cdot u_D^2}$	$\sqrt{\hat{u}_A^2 + \hat{u}_B^2 + \hat{u}_C^2 + \hat{u}_D^2}$

Nota: h e n sono costanti note con incertezza largamente inferiore a quella degli altri componenti.



Calcolo dell'incertezza composta

Le situazioni più comuni che si presentano in laboratorio sono elencate in tabella:

y	$u(y)$	$u_r(y)$
$Y = A + B + C$	$\sqrt{u_A^2 + u_B^2 + u_C^2}$	$\sqrt{\frac{A^2 u_{r(A)}^2 + B^2 u_{r(B)}^2 + C^2 u_{r(C)}^2}{(A + B + C)^2}}$
$Y = A \cdot B \cdot C$	$\sqrt{[BC]^2 u_A^2 + [AC]^2 u_B^2 + [AB]^2 u_C^2}$	$\sqrt{u_{r(A)}^2 + u_{r(B)}^2 + u_{r(C)}^2}$
$Y = A \cdot B + hC$	$\sqrt{B^2 u_A^2 + A^2 u_B^2 + h^2 u_C^2}$	$\sqrt{\frac{A^2 B^2 (u_{r(A)}^2 u_{r(B)}^2) + h^2 C^2 u_{r(C)}^2}{(A \cdot B + h \cdot C)^2}}$
$Y = \frac{A \cdot B \cdot C}{D}$	$\frac{1}{D} \sqrt{[BC]^2 u_A^2 + [AC]^2 u_B^2 + [AB]^2 u_C^2 + \left(\frac{A \cdot B \cdot C}{D}\right) \cdot u_D^2}$	$\sqrt{u_{r(A)}^2 + u_{r(B)}^2 + u_{r(C)}^2 + u_{r(D)}^2}$

Attenzione dunque a quando si utilizzano rispettivamente le incertezze assolute e relative:

$$u(y) = \frac{s(x)}{\sqrt{n}} \qquad u_r(y) = \frac{u(x)}{x}$$



Calcolo dell'incertezza estesa

$$U(y) = k \cdot u(y)$$

Vale la pena ricordare che il valore di copertura deve essere individuato tra quelli pertinenti alla variabile t di Student. Infatti anche se alcune delle variabili di ingresso possono non avere una distribuzione normale, la distribuzione della variabile y , ovvero del risultato (ovvero la distribuzione delle distribuzioni), in forza del teorema del limite centrale, ha una distribuzione normale.

La guida EURACHEM/CITAC CG 4 indica $K=2$, ma raccomanda che per $n < 6$, K corrisponda al numero di gradi di libertà effettivi; inoltre se l'incertezza tipo composta è dominata da un singolo contributo, con $n < 6$, si consiglia $k=t$ di Student per ν associati con quel contributo.

Nel DT0002 del Sinal si indica che il parametro t venga scelto in funzione del livello di confidenza con cui si esprimerà il risultato e in funzione dei gradi di libertà effettivi del sistema, determinabili con la funzione di Welch-Satterhwaite:

$$\nu_{eff} = \frac{[u(y)]^4}{\sum_{i=1}^n \left\{ \left[\left(\frac{\partial y}{\partial x_i} \right) \cdot u(\bar{x}_i) \right]^4 / \nu_i \right\}}$$



Le attività di sperimentazione e di relativa stima dell'incertezza di misura fin qui descritte permettono di esprimere l'incertezza quando si esegue un numero di prove di routine pari a quelle della sperimentazione.

Ma è sempre così?



Quasi mai (o proprio mai)

Per esprimere il risultato di una prova si ricorre di solito ad una sola determinazione (al massimo a due).

Bisogna pertanto ricondurre l'incertezza stimata in sede di validazione del metodo al numero di prove di routine effettivamente utilizzato per esprimere il risultato.



Ad es., sia u_c l'incertezza tipo composta della media di 10 determinazioni replicate eseguite in fase di convalida ($n=10$)

- se nella fase di routine il risultato è la media di 2 misurazioni ($m=2$), l'incertezza estesa U da associare al risultato dovrà essere espressa come:

$$U = ku_c = k\sqrt{u_A^2 \frac{n}{m} + \sum u_B^2} = k\sqrt{u_A^2 \frac{10}{2} + \sum u_B^2}$$

- Nel caso di una unica misurazione routinaria l'espressione per esprimere il risultato diviene.

$$U = ku_c = k\sqrt{u_A^2 \frac{n}{m} + \sum u_B^2} = k\sqrt{u_A^2 10 + \sum u_B^2}$$



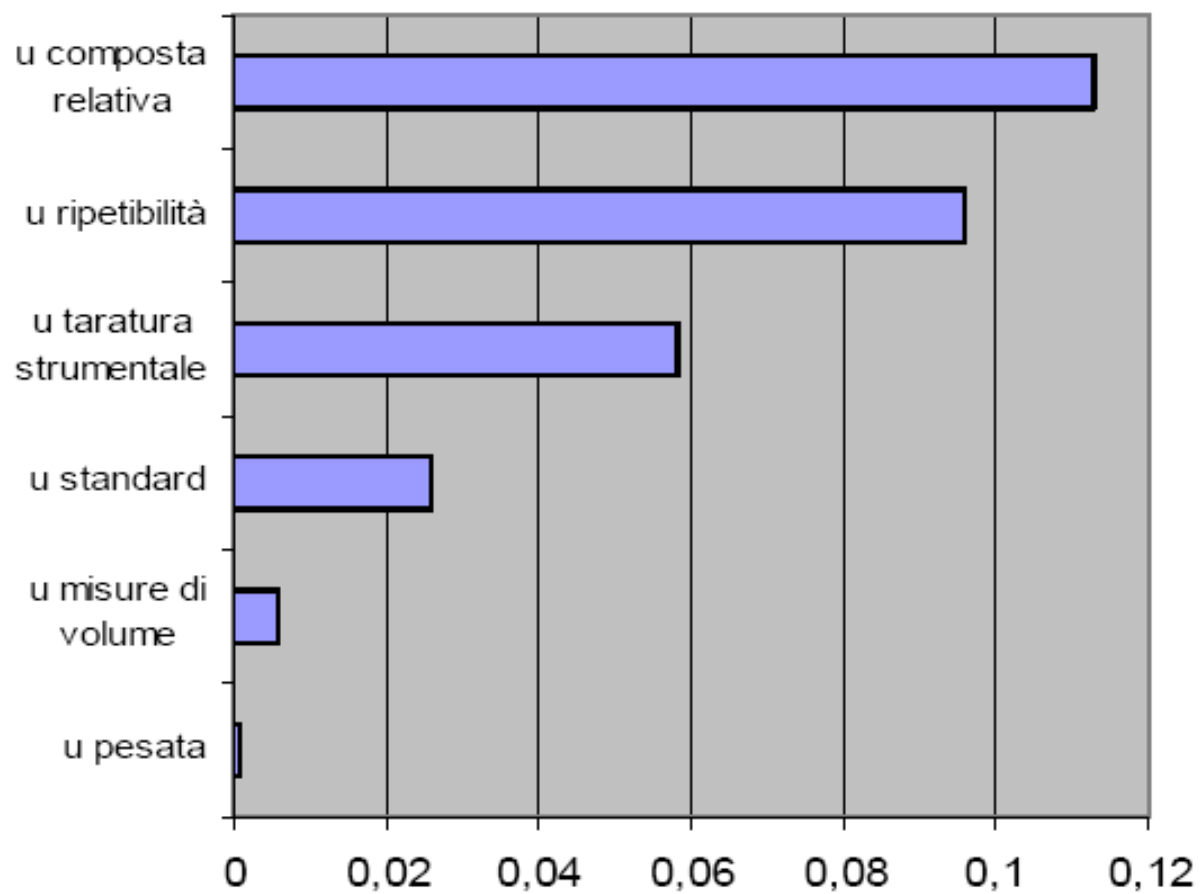
Calcolo dell'incertezza estesa

Istruzioni per l'uso

- ≈ classificare e misurare le varie fonti di incertezza (tipo A o tipo B)
- ≈ determinare i contributi per ciascuna fonte di incertezza
- ≈ trasformarli in incertezze tipo assolute $u(y)$
- ≈ trasformare le incertezze da assolute a relative (dividerle per il valore di misura)
- ≈ sommarle sotto radice quadrata calcolando l'incertezza composta
- ≈ correggere il contributo di ripetibilità per il numero di repliche effettivamente eseguite nell'applicazione routinaria del metodo
- ≈ calcolare i gradi di libertà effettivi per il sistema di misura
(in prima approssimazione ($\nu = n - 1$) e quindi l'incertezza estesa
- ≈ valutare criticamente il risultato ottenuto
- ≈ riportare nel RP il valore di incertezza estesa con la sua unità di misura e il livello di confidenza associato (arrotondamento alla prima o alla seconda cifra incerta, ovvero alla prima o alla seconda cifra significativa dell'incertezza).

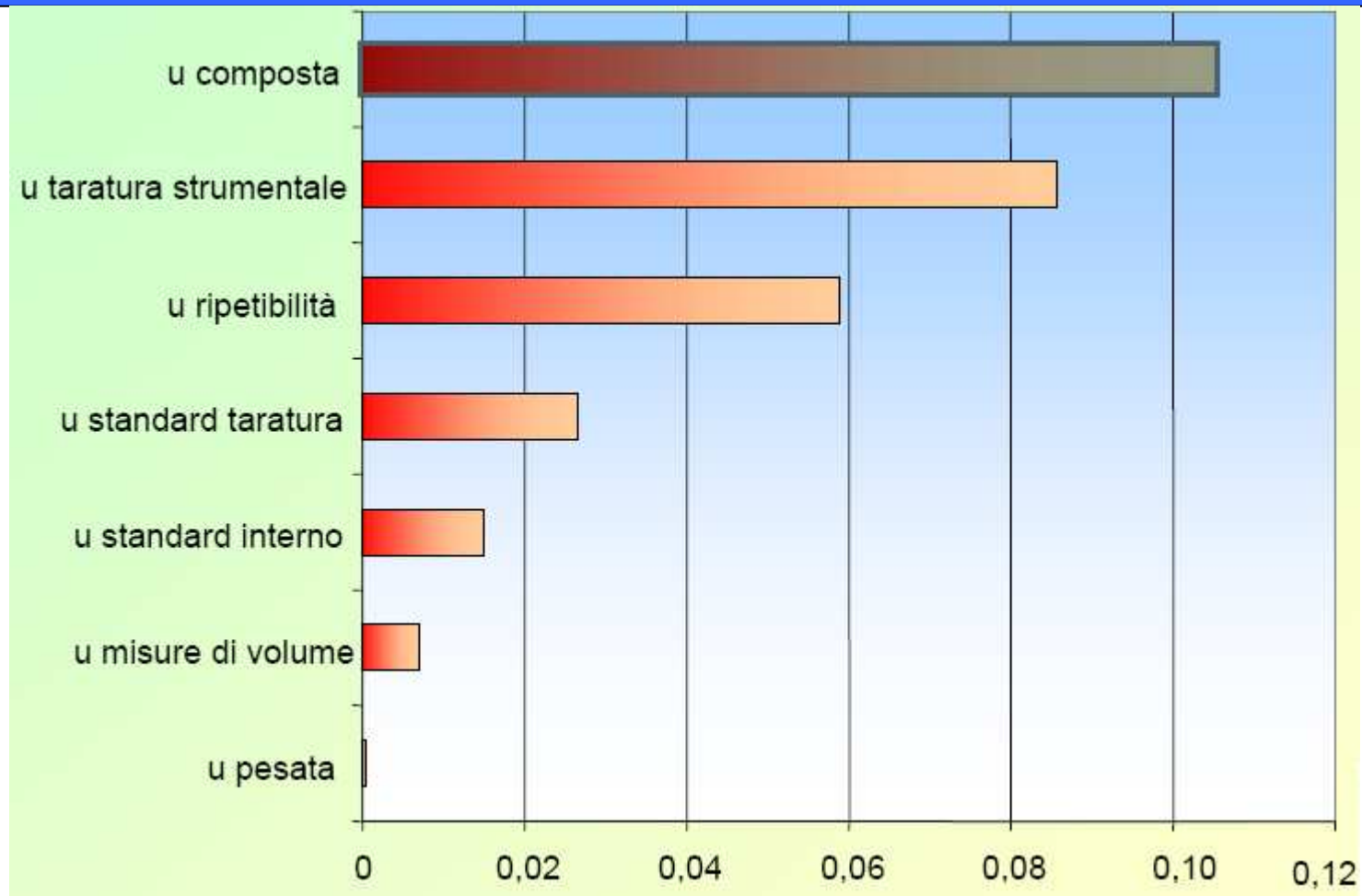


APPROCCIO METROLOGICO





APPROCCIO METROLOGICO





MODELLO EURACHEM

Punti di Forza:

- prende in considerazione le possibili fonti di incertezza in modo analitico,
- è applicabile a tutte le misure dirette in modo efficace
- è riconosciuto internazionalmente

Punti di Debolezza:

- è un procedimento complesso e articolato (un po' difficile da usare)
- nelle misure indirette presenta delle ambiguità
- non è versatile per il calcolo dell'incertezza in microbiologia



METODO OLISTICO O DECOSTRUTTIVO



METODO DECOSTRUTTIVO (TOP-DOWN)

Il modello *top-down* considera il laboratorio da un più alto livello, come membro di una popolazione di laboratori. Allora gli errori *casuali e sistematici* all'interno del laboratorio, visti da questo livello, diventano errori casuali tra i vari laboratori (randomizzazione degli errori sistematici) e come tali possono essere valutati usando tecniche statistiche abbastanza semplici.



Riproducibilità del metodo nota

1. Metodo normalizzato
2. Partecipazione a Proficiency Test

I valori di CV o RDS o R si possono utilizzare nel seguente modo:

- a) $CV\%$ o RDS = incertezza composta relativa, da moltiplicare per il valore del misurando per ottenere l'incertezza composta assoluta;
- b) Scarto tipo di riproducibilità = incertezza composta (fatta salva la sua applicabilità);
- c) Limite di riproducibilità R: $R/\sqrt{2}$ = incertezza estesa



NOTA BENE!

- a) nel caso di un metodo normalizzato la metodologia descritta può essere applicata solo previa verifica della ripetibilità riportata dal metodo;***
- b) se il laboratorio ha partecipato al confronto deve accertarsi di non essere stato escluso dall'elaborazione finale dei dati;***
- c) se il laboratorio non ha partecipato al confronto ma ha a disposizione i dati, può utilizzare lo scarto tipo di riproducibilità previa verifica della sua ripetibilità con quella fornita dal confronto e deve verificare la sua esattezza mediante un materiale di riferimento certificato al livello di concentrazione del campione utilizzato per il confronto.***

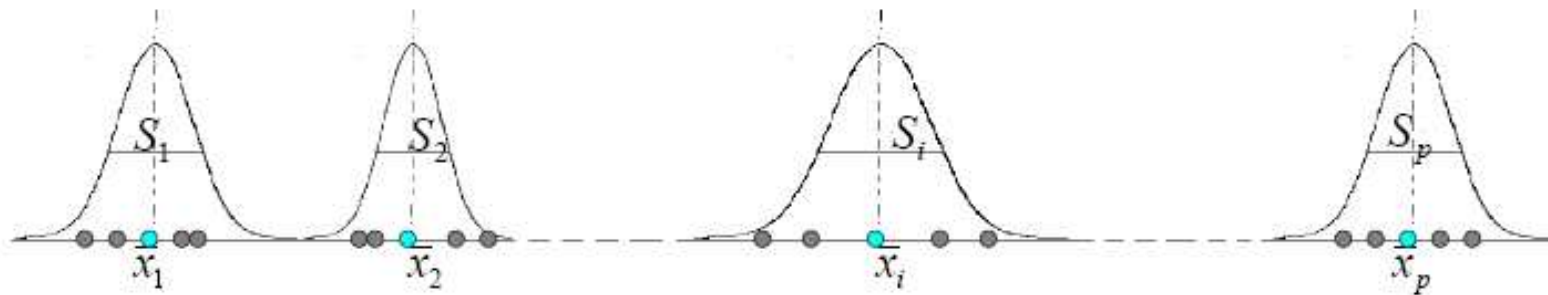


NOTA BENE!

Conoscere il dato di riproducibilità, ad un livello di concentrazione, non ne permette l'utilizzo ad un diverso livello di concentrazione (utilizzo in un intorno di massimo il 20 %)



La **stima della precisione in condizioni di riproducibilità** (i risultati sono ottenuti con lo **stesso metodo, sullo stesso campione**, in **laboratori diversi**, con **diversi operatori e diverse apparecchiature**, in **diverse condizioni di taratura**: prove “indipendenti”) consente una **valutazione dell'incertezza** di grande interesse, soprattutto se le prove sono eseguite su un materiale di riferimento certificato, del quale si conosca anche l'incertezza ed il confronto interlaboratorio è organizzato da un “provider” affidabile, magari, accreditato.



$$\bar{x}_1 = \frac{\sum_{j=1}^n x_j}{n}$$

$$\bar{x}_2 = \frac{\sum_{j=1}^n x_j}{n}$$

$$\bar{x}_i = \frac{\sum_{j=1}^n x_j}{n}$$

$$\bar{x}_p = \frac{\sum_{j=1}^n x_j}{n}$$

Medie dei singoli
laboratori

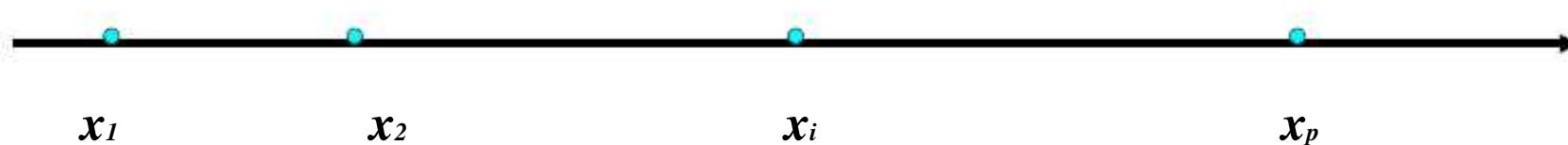
$$s_1^2 = \frac{\sum_{j=1}^n (x_j - \bar{x}_1)^2}{n-1}$$

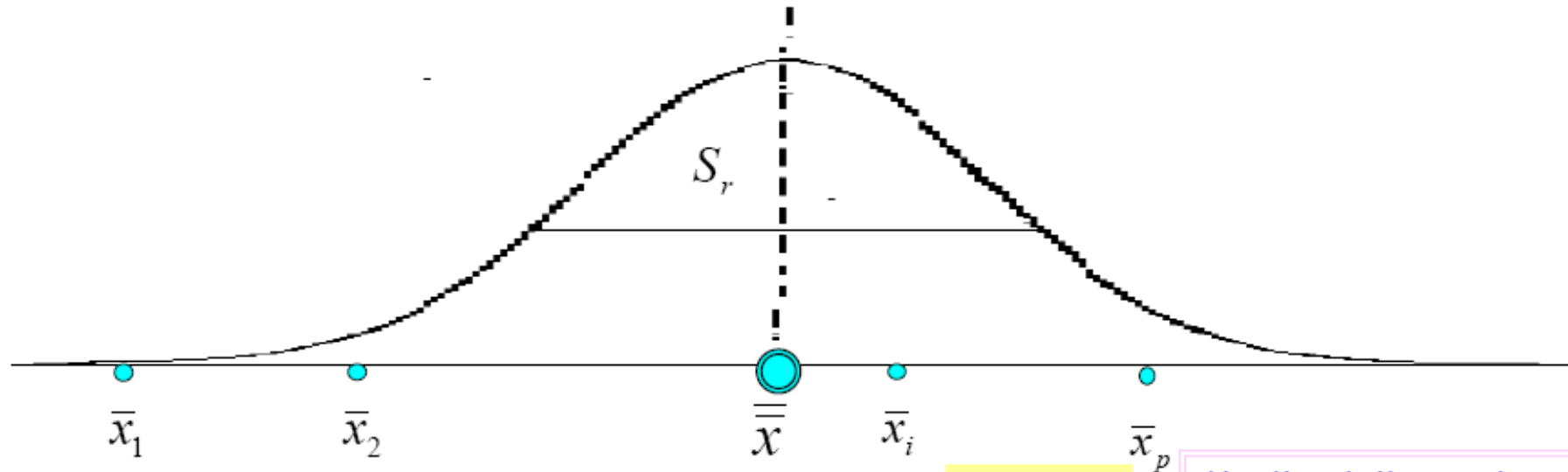
$$s_2^2 = \frac{\sum_{j=1}^n (x_j - \bar{x}_2)^2}{n-1}$$

$$s_i^2 = \frac{\sum_{j=1}^n (x_j - \bar{x}_i)^2}{n-1}$$

$$s_p^2 = \frac{\sum_{j=1}^n (x_j - \bar{x}_p)^2}{n-1}$$

Varianze di
ripetibilità
ristretta dei singoli
laboratori





Media generale
(media delle medie
o grande media)

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^p \bar{x}_i}{p}$$

$$S_r^2 = \frac{\sum_{i=1}^p S_i^2}{p}$$

Media delle varianze
di ripetibilità calcolate
sugli scarti aleatori di
ogni singolo laboratorio

$$S_M^2 = \frac{1}{(p-1)} \sum_{i=1}^p (\bar{x}_i - \bar{x})^2$$

Varianza delle
medie di ciascun
laboratorio

$$S_L^2 = S_M^2 - \frac{S_r^2}{n}$$

Varianza
interlaboratorio

$$S_R^2 = S_L^2 + S_r^2$$

Varianza di
riproducibilità



Anche il modello top-down è stato oggetto di critiche. Infatti, considerata la varietà dei problemi analitici possibili, non è sempre facile reperire un numero adeguato di laboratori interessati a partecipare ad un opportuno studio interlaboratorio.

Inoltre, l'incertezza stimata non include i contributi del campionamento, dei possibili pretrattamenti di omogeneizzazione dei campioni e delle differenze tra la composizione della matrice usata per lo studio interlaboratori e quella dei campioni usati nelle misurazioni reali.



METODO HORWITZ

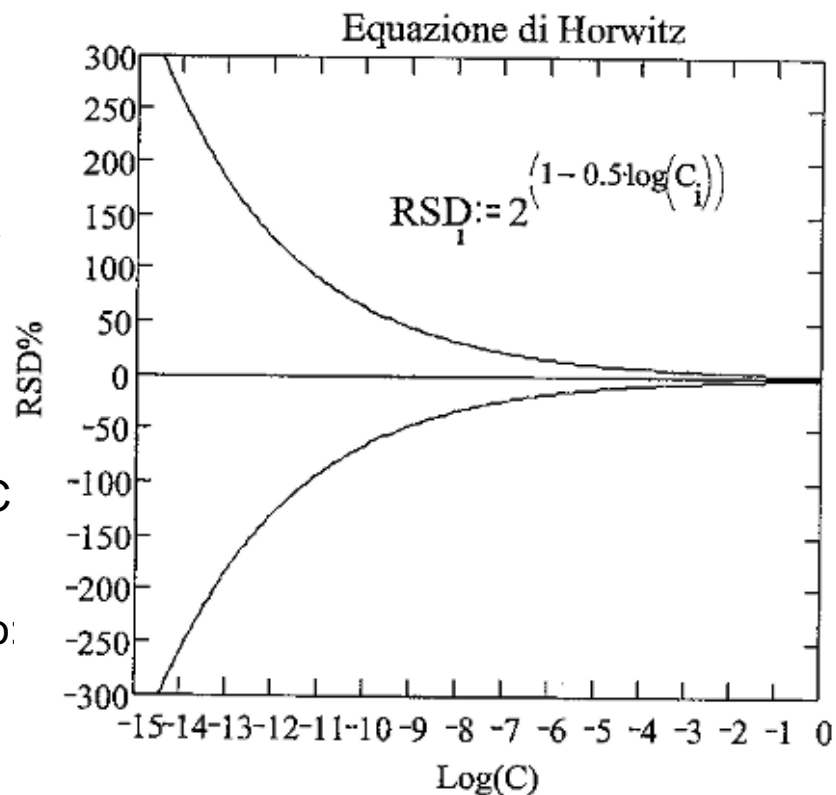


Metodo HORWITZ

- Si basa sul presupposto che gli errori casuali siano inversamente proporzionali alla concentrazione.
- Definito da un'espressione matematica empirica, ottenuta attraverso misurazioni interlaboratorio, che lega la concentrazione C dell'analita al CV% indipendentemente dal tipo di analita, dalla matrice e dallo strumento:

$$CV_R\% = 2^{(1-0,5\log C)}$$

Il CV% aumenta al diminuire della concentrazione.





MODELLO DI HORWITZ - applicazione per il calcolo dell'incertezza

- ✓ calcolare lo scarto tipo di ripetibilità s_r ,
- ✓ calcolare il rapporto di Horrat: rapporto tra s_r e lo scarto tipo σ_R calcolato dall'equazione di Horwitz,
- ✓ verificare che tale rapporto risulti $<$ di 0,66 e $>$ 0,5,
- ✓ in questo caso:

$$U_{est} = K \cdot \sigma_R$$



L'incertezza di misurazione è essenziale anche al fine di decidere il numero di cifre significative di un risultato. Infatti, questo deve essere arrotondato alla prima o seconda cifra significativa dell'incertezza.

La prima cifra significativa dell'incertezza corrisponde alla prima cifra incerta della media.

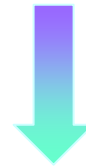
$$\begin{array}{c}
 \downarrow \\
 \mathbf{64,0966182736} \\
 \pm \\
 \mathbf{0,1703660271} \\
 \uparrow
 \end{array}
 = \mathbf{64,1 \pm 0,2 \text{ u.m. ...}}$$



$$7143,06712736 \pm 40,66025602 = 7143 \pm 41 \text{ u.m. ...}$$



La seconda cifra significativa dell'incertezza corrisponde alla seconda cifra incerta della media.



$$0,01262002 \pm 2,26237104 = 0,0 \pm 2,3 \text{ u.m. ...}$$





L'incertezza di misurazione è essenziale per confrontare i risultati tra di loro o con valori fissati da specifiche o norme.

Ad esempio, si vuole verificare se la concentrazione di un certo analita in un materiale è conforme al valore limite massimo stabilito da una certa norma: **VLA = 2,0 mg/kg**.

Il risultato dell'analisi è: **$C_{\text{analita}} = 1,803671 \text{ mg/kg}$** .

Il materiale è conforme?

LA RISPOSTA DIPENDE DALL'INCERTEZZA DI MISURAZIONE!

Se $U(C) = \pm 0,10 \text{ mg/kg}$

$C_{\text{max}} = 1,90 \text{ mg/kg}$ —————→ **CONFORME**

Se $U(C) = \pm 0,34 \text{ mg/kg}$

$C_{\text{max}} = 2,14 \text{ mg/kg}$ —————→ **POTENZIALMENTE
NON CONFORME**



NOTA BENE!

- la definizione di un modello può essere parziale con conseguente introduzione di semplificazioni o, peggio, dimenticanze
- la stima dell'incertezza di misura in campo chimico può condurre a risultati
 - **non corretti**
 - **fuorvianti**
 - **non utili al cliente**