

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI TERAMO

**Intensificazione sostenibile delle produzioni
ortofrutticole di qualità - 1° anno**

**Elementi di chimica analitica del
suolo e dei fitofarmaci (4 CFU)**

Prof. Marcello Mascini

mmascini@unite.it

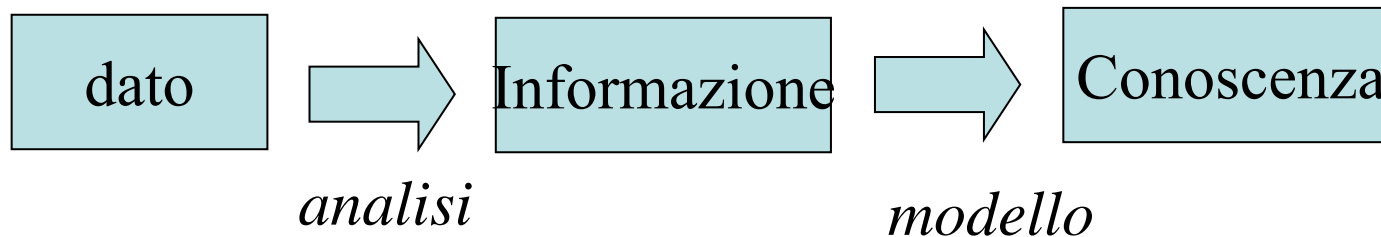
ERRORE NELL'ANALISI E VALUTAZIONE DEL DATO ANALITICO

E' impossibile effettuare una analisi chimica con risultati privi di incertezza, è quindi necessario determinare il grado di incertezza associato alla misura per ogni campione analizzato.

Il primo passaggio assolutamente necessario è stabilire quale è il massimo errore tollerabile nella misura!

I dati

- I dati sono delle informazioni elementari che descrivono aspetti particolari di un fenomeno.
 - Esempio:
 - dati di un individuo:
 - Altezza, peso, colore pelle, concentrazione composti chimici nel sangue, composizione DNA, taglia abiti e calzature,...
- I dati possono essere qualitativi o quantitativi
- Di per se un dato non ha significato. E' necessaria una forma di analisi che corredi il dato con qualche aspetto "significativo" del campione stesso in modo da aumentare la "conoscenza"
 - Esempio: per dare senso alla composizione chimica del sangue è necessario un modello del corpo umano e delle azioni delle patologie.



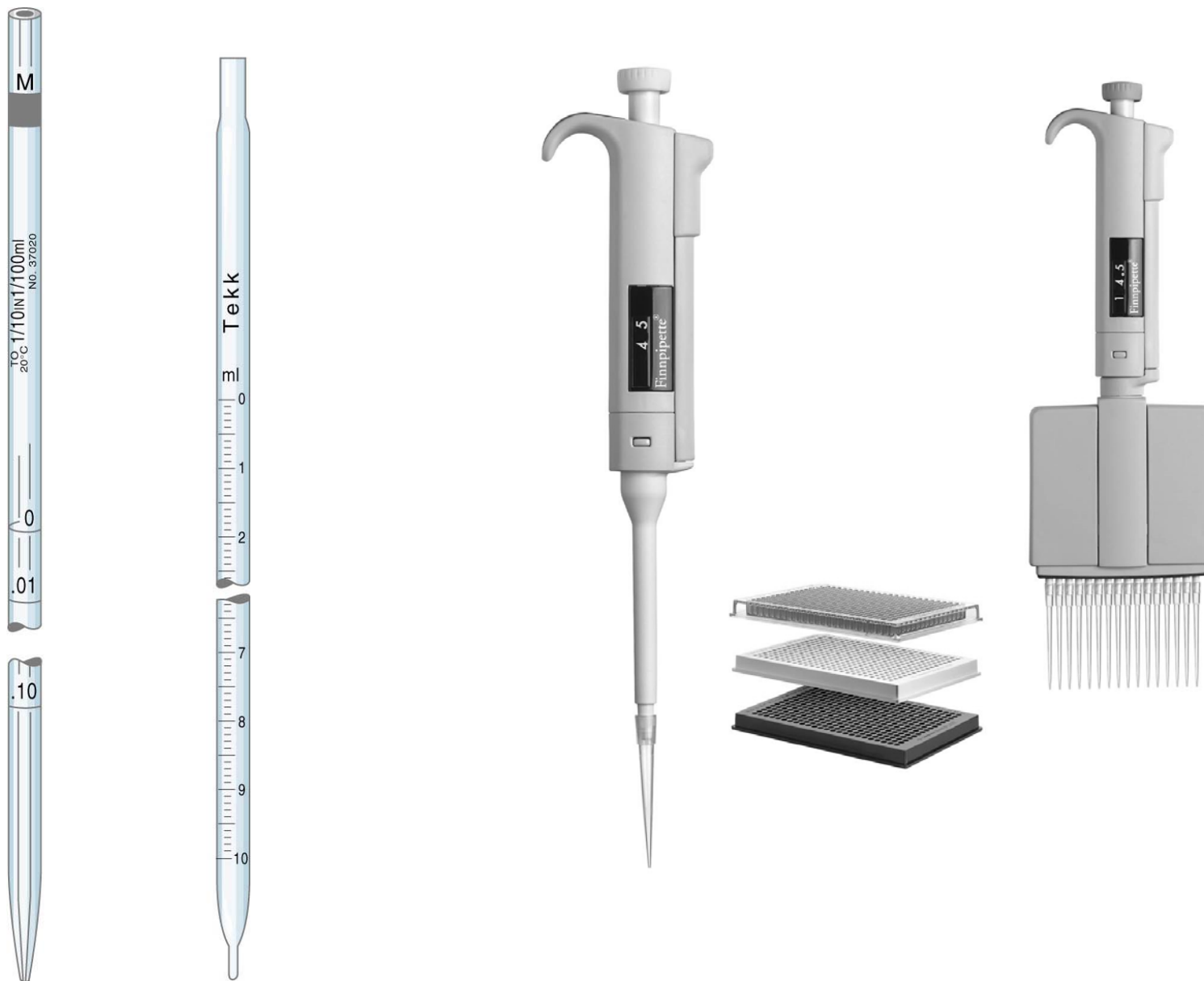
Tipologie di dati

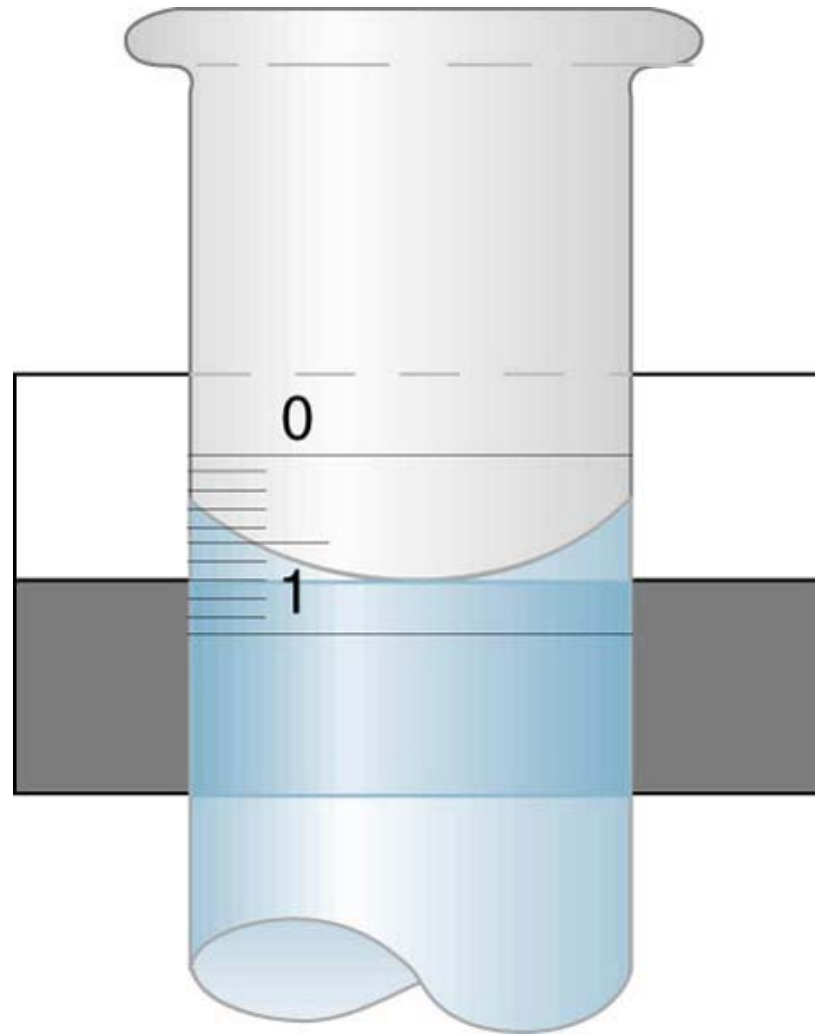
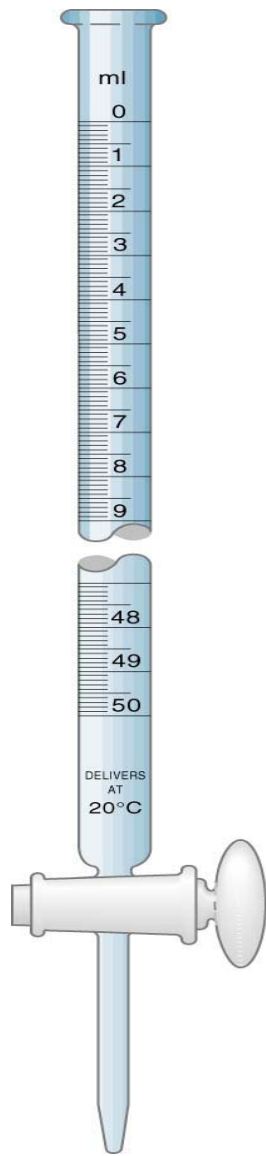
- Quantitativi (*hard*)
 - Valore numerico ed unità di misura
 - La temperatura dell'acqua è 400.0 K
 - I dati quantitativi sono la base della scienza galileiana e delle cosiddette “*hard sciences*”: le discipline basate su dati rigorosi connessi tra loro da modelli matematici.
- Qualitativi (*soft*)
 - Etichette, descrittori, categorie
 - Generalmente sono espressi verbalmente
 - “l' acqua è *calda*”
 - Dati difficilmente standardizzabili e riproducibili (es. analisi sensoriale)
 - *Fuzzy logics*: tentativo di rendere quantitativi dei dati espressi verbalmente
- Dati discreti:
 - Range limitato e valori pre-definiti
- Dati continui
 - Range limitato ma valori continui
 - I limiti strumentali possono dar luogo a discretizzazioni
 - Esempio conversione Analogico-Digitale

Dati Univariati

- Molti procedimenti analitici producono dati univariati in cui cioè il dato sperimentale dipende da una sola variabile
 - Misura di una singola variabile incognita
 - Controllare le interferenze
 - Tenere costanti tutte le condizioni sperimentali tranne la variabile target
 - Richiede una preparazione elaborata del campione per isolare solo la variabile da misurare
- Un dato univariato è espresso con uno scalare e una unità di misura.
 - Esempio:
 - La misura di una resistenza elettrica è $100\text{K}\Omega$
 - Il peso di una mela è 80g
 - La concentrazione di K^+ in un acqua è 1.02 mg/l

pipette di vetro ed automatiche .





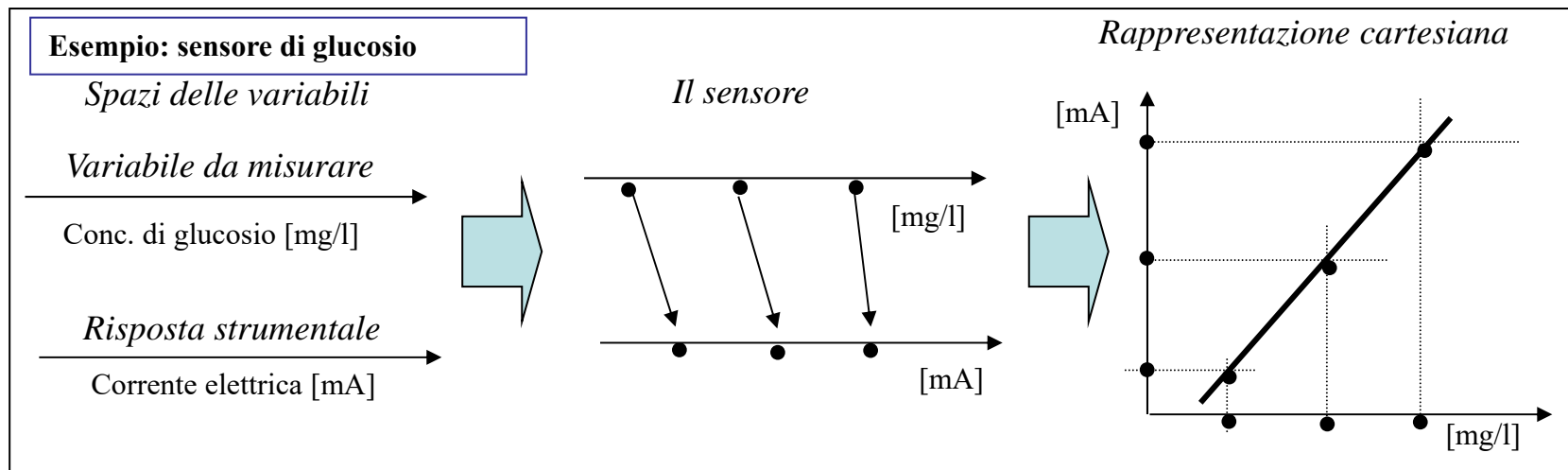
Le bilance moderne sono elettroniche. Sono calibrate con masse note. Le bilance analitiche comuni sono sensibili a 0.1 mg.



Bilancia analitica elettronica.

Criterio fondamentale della analisi dati

- I dati sono rappresentati in spazi vettoriali euclidei
- Ad ogni osservabile viene fatta corrispondere una dimensione dello spazio ed è associato un vettore di base.
- Il sistema di riferimento dello spazio vettoriale è costituito da una base di vettori ortonormali pari al numero degli osservabili descritti.
- Questa assunzione è ovvia per i dati univariati:



Il Problema Generale dell'Analisi Dati

- Come estrarre da una misura strumentale informazioni sul campione misurato.
- Nell'analisi univariata lo strumento fornisce un "output" per un unico "input"

$$y = k \cdot x$$

y: risposta dello strumento

x: sollecitazione del campione

k: caratteristica dello strumento

- Lo scopo dello strumento è dato y come posso ricavare x (valore incognito)? Attraverso la conoscenza di k ; Come conosco k ? Attraverso la calibrazione.
- Calibrare lo strumento vuol dire esporlo a sollecitazioni (x) note, per cui misurando l'output y posso ricavare il valore di k e quindi rendere lo strumento utilizzabile.

Calibrazione

- Ogni strumento è descritto da una funzione caratteristica che mette in relazione la grandezza d'uscita (segnale V) con la grandezza alla quale il sensore è sensibile (misurando x)

$$V = f(x)$$

- Nei casi più semplici, f è lineare $V = k \cdot \varepsilon$
 - Es. strain gauge:

- V : segnale; ε : sollecitazione (strain); k : parametro funzionale del sensore

- Il sensore è utilizzabile, cioè dal segnale si può stimare il misurando, solo quando sono noti sia la funzione caratteristica che i parametri funzionali.
- La stima dei parametri funzionali può essere ottenuta **solo** calibrando il sensore, cioè attraverso una serie di misure sperimentali ed applicando una **regressione statistica**.

Concetti fondamentali della teoria della misura

- **Errori di misura: ripetendo più volte la “stessa misura” si ottengono risultati diversi.**
- Per “stessa misura” si intende l’esposizione del sensore allo stesso misurando, le condizioni ambientali non sotto controllo possono variare, e per effetto della cross-selettività influenzare la risposta del sensore (o della catena di trasduzione).
- Fluttuazioni della risposta: la **media aritmetica** è la quantità che meglio rappresenta la misura. Più grande è il numero di misure ripetute più affidabile e significativa è la rappresentazione del valor vero della media aritmetica.

Stima dei parametri funzionali

- La forma funzionale della caratteristica deve essere imposta a-priori
- **Le deviazioni tra forma funzionale e dati sperimentali vengono interpretate come errori di misura.**
- Per calibrare il sensore lo si deve sottoporre a sollecitazioni note. Quindi si deve essere in grado di generare valori noti del misurando con grande precisione (standards)
- Da questa precisione dipende la bontà della calibrazione e quindi la bontà delle misure che potrò eseguire con il sensore.

Stima dei parametri funzionali

esempio: strain gauge

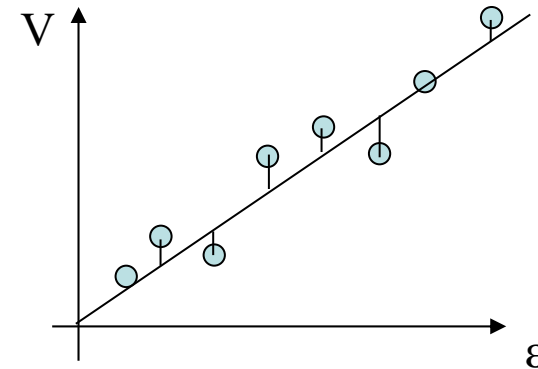
Misurando: strain ($\Delta L/L$)

Output: tensione elettrica

Forma funzionale: lineare

Parametro funzionale: k (fattore di gauge, sensibilità)

$$V = k \cdot \varepsilon$$



calibrazione

V : noto;

ε : nota

k : ignoto

$$k = \frac{V}{\varepsilon}$$

misura

V : noto;

ε : ignota

k : nota

$$\varepsilon = \frac{V}{k}$$

Esistono gli errori di misura:
Quindi non è possibile
applicare le formule a lato
ma serve un a teoria
statistica (regressione) che
minimizzi l'errore nella
stima di k .

Regressione statistica

- Chiamiamo regressione la stima parametri da dati sperimentali
- La regressione è utilizzata o per calcolare parametri fisico/chimici da misure sperimentali o per calibrare uno strumento di misura
 - Di modo che dato un segnale dello strumento siamo in grado di determinare il valore della grandezza misurata
- La regressione è una operazione statistica a causa della presenza degli errori di misura
- Gli errori di misura rendono le variabili misurate delle grandezze stocastiche dotate di una distribuzione di probabilità per cui il valore realmente osservato è solo una “occorrenza” del fenomeno.
- Il metodo generale per la regressione è il metodo dei minimi quadrati
 - La soluzione ottimale è quella che rende minimo l’errore quadratico.

Risultati di un'analisi di un campione contenente 30 ppm (mg/L) di rame(II) (Cu^{2+}) \rightarrow 28.7; 30.2; 29.8; 29.5; 30.5; 30.1;

$$\bar{x} \text{ (media)} = \sum_{i=1}^N x_i / N = 29.8.$$

$$\text{mediana} = (29.8 + 30.1) / 2 = 29.95$$

PRECISIONE: indica la riproducibilità delle misure ottenute con lo stesso metodo. Si esprime mediante la *deviazione standard*, la *varianza* o il *coefficiente di variazione* (*deviazione standard relativa*).

ACCURATEZZA: indica la vicinanza del valore espresso al suo valore vero o accettato come vero. È espressa mediante l'*errore assoluto o relativo*.

Precisione e Accuratezza

I termini *precisione* e *accuratezza* sono messi in relazione con gli errori casuali e sistematici.

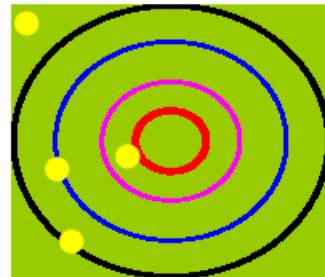
- Una misura è tanto più *precisa* quanto più i singoli valori misurati in condizioni di *ripetibilità* si concentrano intorno alla media della serie di misure effettuate.
 - La variabilità dei risultati viene quantificata nella deviazione standard.
 - Si preferisce quantificare la precisione con il coefficiente di variazione, in genere espresso in percentuale.
- L'*accuratezza* esprime invece l'assenza di errori sistematici nella misura:
 - una misura è tanto più accurata quanto più la media delle misure si approssima al valore vero della grandezza.
 - Anche l'accuratezza è spesso espressa come rapporto fra l'errore sistematico e il valore della grandezza.

Precisione: bontà dell'accordo tra i risultati di misurazioni successive.

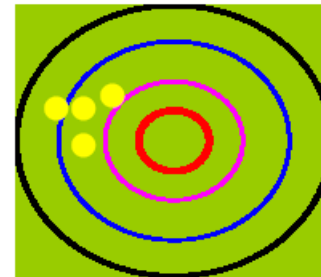
Esattezza*: bontà dell'accordo tra il risultato, x_i , o il valore medio dei risultati di un'analisi, ed il valore vero o supposto tale, x_t .

Gli errori possono essere **errori casuali** o **errori sistematici**. Quelli casuali influenzano la precisione, quelli sistematici l'esattezza. Gli errori casuali influenzano la precisione, quelli sistematici l'esattezza.

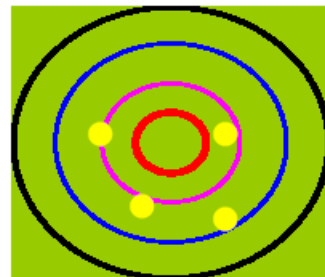
Né esatto
né
preciso



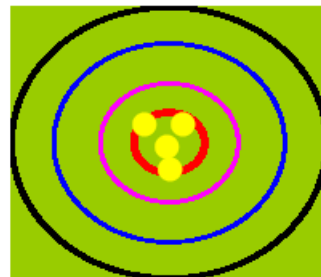
Non
esatto
ma
preciso



Esatto ma
non
preciso



Esatto e
preciso



Errore assoluto = $x_i - x_t$;

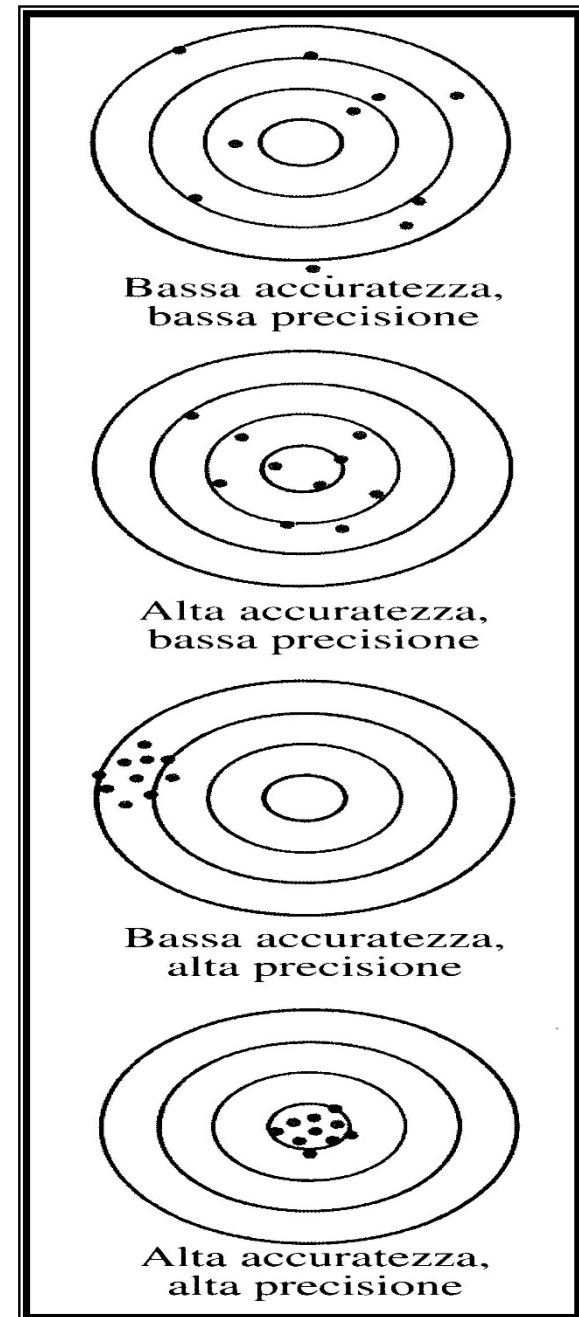
x_t = valore vero

Errore relativo = $(x_i - x_t) / x_t \times 100$

p.es. $(29.8 - 30.0) / 30.0 \times 100 = -0.67\%$

Tipi di errore:

- *errore casuale* → dispersione simmetrica dei dati
- *errore sistematico* → media diversa dal valore vero o accettato
- *errore grossolano* → produce *outliers*



influiscono sulla



Errori che portano ad una sovrastima
(o sottostima) del valore vero:
errori **sistematici**

accuratezza della misura:
capacità di dare una risposta vicina al
valore vero.

influiscono sulla



Errori che portano a stime in
parte superiori in parte inferiori
al valore vero:
errori **casuali**

precisione della misura:
ripetibilità
(nello stesso esperimento)
riproducibilità
(in esperimenti diversi)

Gli errori sistematici e casuali possono verificarsi indipendentemente, ed essere associati a diversi stadi dell'esperimento.

Gli errori sistematici dipendono da cause che agiscono secondo leggi definite.

- Errori metodologici
(effetti di umidità e temperatura sulla pesata, effetti di svuotamento dello strumento di analisi volumetrica, errori di indicatore,.....)
- Errori legati all'accuratezza dello strumento (tolleranza ammessa nella calibrazione degli strumenti)
- Errori umani sistematici (astigmatismo, daltonismo,.....)

ERRORI SISTEMATICI

Gli errori *sistematici*, o *bias*, sono errori che possono essere individuati e quindi devono essere corretti.

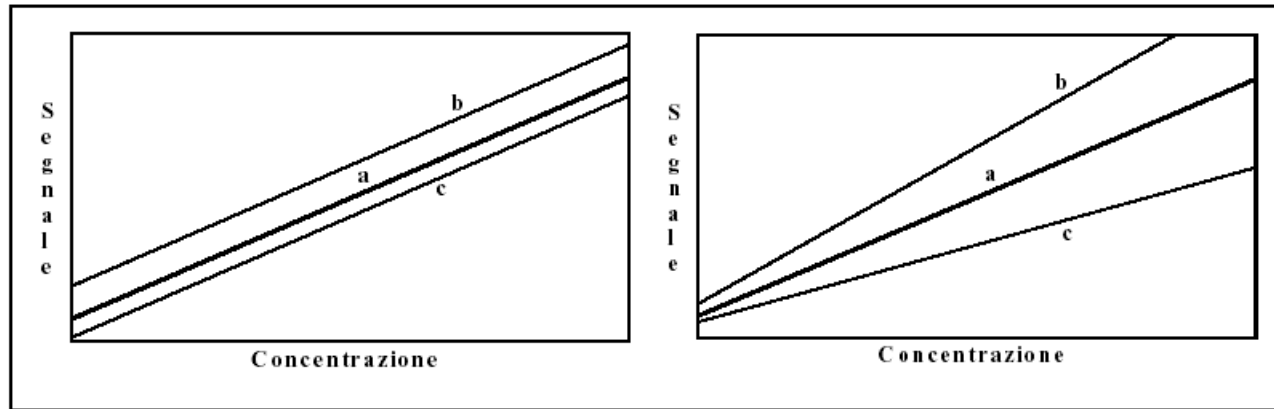
Gli errori *sistematici strumentali* sono dovuti a inesatta calibrazione o utilizzazione impropria della vetreria e degli strumenti di misura, all'uso di strumenti non idonei, ecc.

Gli errori *sistematici di metodo* sono dovuti a un comportamento non ideale di reattivi e reazioni, o all'uso di condizioni sperimentali non idonee (formazione di composti più o meno solubili del previsto, tempi di calcinazione inadeguati, ecc).

Gli errori *sistematici personali* sono dovuti a distrazione o ignoranza della corretta procedura (bolle d'aria nel beccuccio della buretta, errori di parallasse ecc.). Gli errori sistematici personali sono talvolta connessi a difetti fisici o a veri e propri pregiudizi inconsci (tendenza a terminare la titolazione dopo aver aggiunto un volume il più possibile confrontabile con quello ottenuto in titolazioni precedenti, oppure calcolato teoricamente, ecc.).

$$\text{bias} = \mu - x_t$$

Gli errori *sistematici* possono essere *costanti* o *proporzionali*.



Effetto di errori sistematici costanti e proporzionali (positivi e negativi) sulla curva di calibrazione

Errori sistematici costanti: bias negativo dovuto a perdite per solubilità in gravimetria, bias positivo dovuto ad assorbimenti estranei in spettrofotometria, ecc.

Errori sistematici proporzionali: bias negativo dovuto a perdite di analita in seguito a estrazioni non efficienti, ecc.

Gli errori sistematici possono essere identificati ed annullati mediante

- analisi di campioni standard, se disponibili;
- analisi del campione mediante un metodo indipendente, ovvero che prevede l'utilizzo di strumentazione di provata affidabilità o di riferimento;
- analisi del *bianco*, cioè di una soluzione contenente tutti i componenti presenti nel campione in esame eccetto l'analita di interesse; il bianco ideale è costituito dalla stessa matrice in cui è contenuto l'analita di interesse; l'analisi del bianco nelle titolazioni volumetriche consente, per esempio, di correggere l'errore connesso al volume di titolante necessario per far virare l'indicatore colorimetrico stesso;
- analisi di campioni contenenti un diverso ammontare della variabile misurata (per es. si pensi alla perdita connessa alla solubilità durante il lavaggio con volumi diversi di acque di lavaggio).

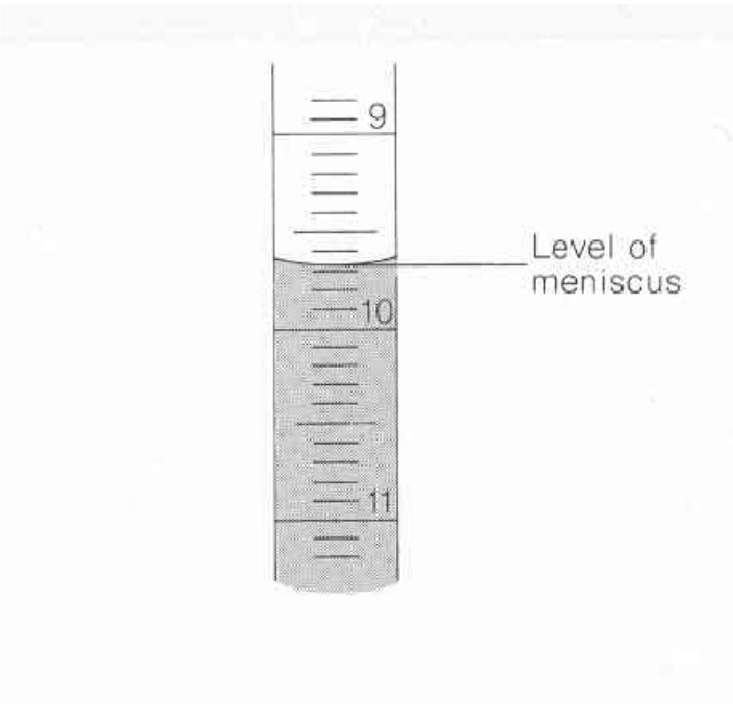
Gli errori **casuali** dipendono da numerose cause, legate al modo col quale viene effettuata la misura, che agiscono di volta in volta in modo diverso.

Es.: lettura di una misura da una scala graduata

buretta
con sensibilità = 0.1 ml

Letture: 9.68 ml.

La stima a livello di 0.01 ml (1/10 della sensibilità dello strumento) e' soggetta ad errore.



The diagram shows a vertical burette with a scale. Major markings are labeled 9, 10, and 11. Between 9 and 10, there are 10 minor markings, each representing 0.02 ml. The liquid level is indicated by a horizontal line labeled 'Level of meniscus' at the 8th minor mark above 9, which corresponds to 9.68 ml.

Non possono venire eliminati. E' possibile minimizzarli, mediante un utilizzo accurato della tecnica di misura, misurarli e valutare il loro significato mediante analisi statistica su misure ripetute.

ERRORI CASUALI

Gli *errori casuali* (detti anche *indeterminati* o "random" in lingua inglese), causano una dispersione più o meno simmetrica dei dati intorno al valore medio.

Essi sono legati a fluttuazioni indefinite di una miriade di parametri sperimentali, quali temperatura, pH, pressione, umidità, punto d'arresto di una titolazione, forza ionica, ecc. oltre che alle tolleranze dei pesi delle bilance e della vetreria utilizzata per la misurazione di volumi e alle incertezze dei valori desunti dagli strumenti di misura.

Queste fluttuazioni avvengono anche cercando di lavorare con la massima cura.

Gli errori casuali non possono essere eliminati, anche se possono essere ridotti operando con cura.

Si definiscono:

campione = l'insieme delle misure in esame

popolazione = l'insieme di tutte le possibili misure

\bar{X} = la media del campione

μ = la media della popolazione

s = la deviazione standard del campione

σ = la deviazione standard della popolazione

La distribuzione del campione è rappresentabile in modo discreto (istogramma).

La distribuzione della popolazione è rappresentabile con una curva continua (curva normale o Gaussiana).

Analisi dati: deterministica o statistica

- Il dato in quanto risultato di una misura è un'entità stocastica
 - Questo è un concetto fondamentale delle scienze sperimentali
 - Ripetendo N volte “la stessa misura” si ottengono N valori differenti
 - Se non si ottengono valori differenti lo strumento di misura ha una risoluzione non adeguata.
- Esempio:
 - Se si misura 5 volte la lunghezza di un asse con diversi strumenti si ottiene:

| <i>Strumento</i> | <i>Risoluzione</i> | <i>Misure [cm]</i> |
|----------------------|--------------------|--|
| Metro da sarta | 1 cm | 120, 120, 120, 120, 120 |
| Metro da falegname | 1 mm | 119.8, 119.9, 120.1, 120.0, 120.2 |
| Calibro | 0.1 mm | 119.84, 120.31, 119.83, 120.10, 120.34 |
| Micrometro | 0.01 mm | 119.712, 120.032, 119.879, 120.320, 119.982 |
| Interferometro laser | 0.5 μm | 119.9389, 120.0032, 119.8643, 119.3492, 120.2010 |

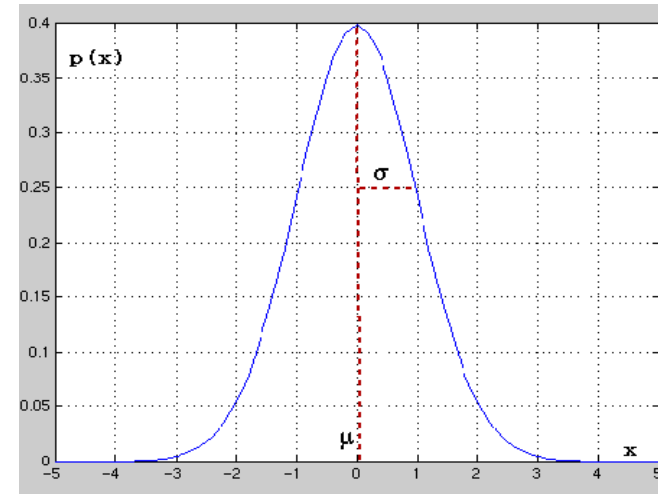
All'aumentare della risoluzione strumentale il dato diventa da deterministico stocastico

Distribuzione Normale

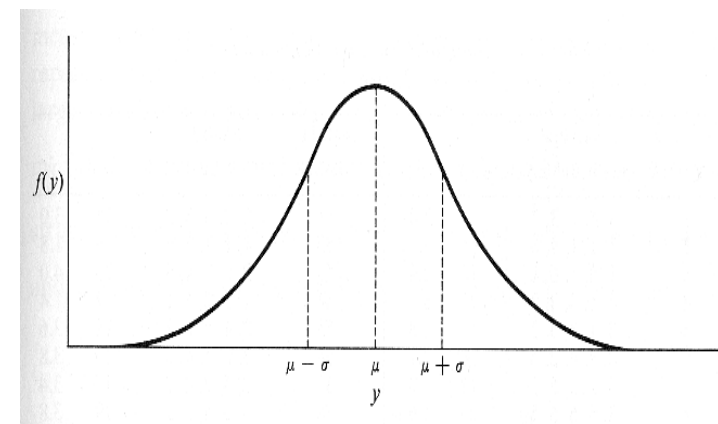
gaussiana

- La distribuzione di Gauss è la PDF più importante soprattutto per quanto riguarda le misure sperimentali.
- La distribuzione ha la seguente forma funzionale

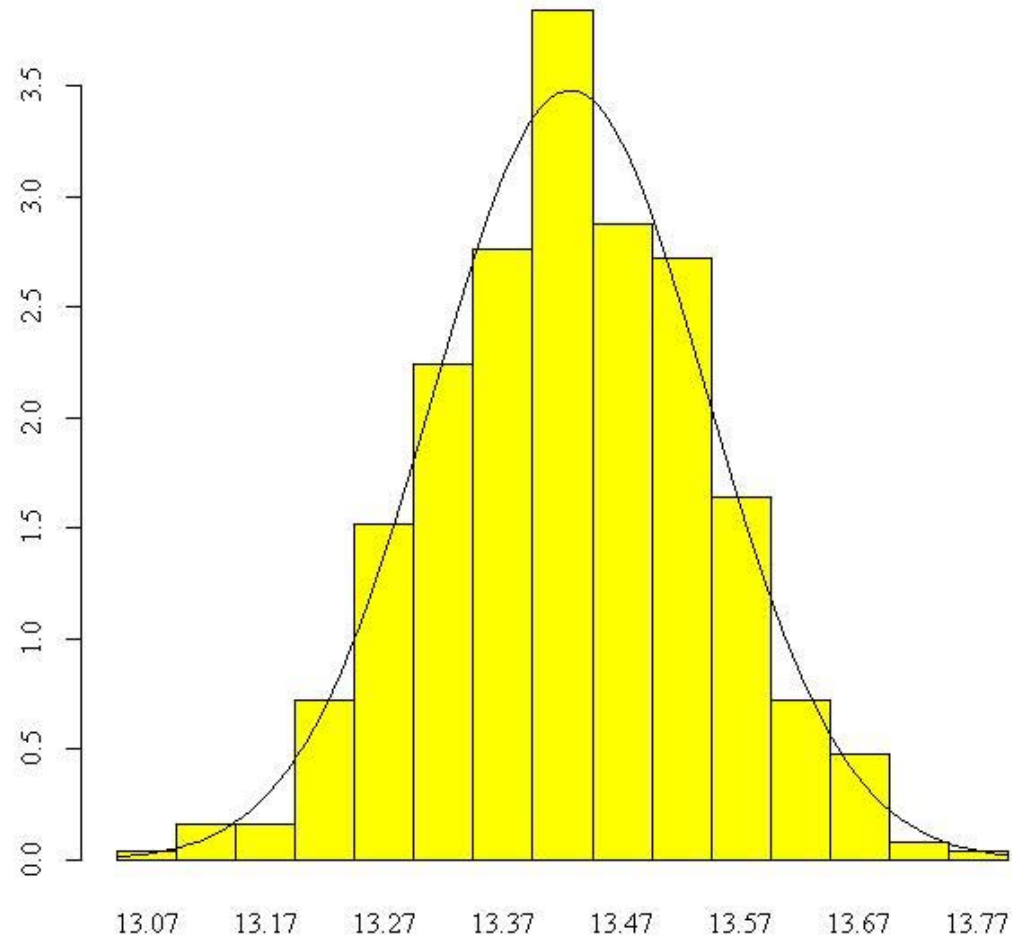
$$f(x) = \frac{1}{\sqrt{2\pi\sigma}} \exp\left[-\frac{(x-\mu)^2}{2\sigma^2}\right]$$



- Dove μ è il valor medio e σ^2 la varianza
- La funzione è simmetrica attorno al valor medio
- Il valore di σ determina la larghezza della curva.



La distribuzione normale



Le curve gaussiane possono essere descritte mediante :

- ✓ la media della *popolazione* μ
- ✓ la deviazione standard σ

popolazione di dati \rightarrow numero teorico infinito di misure

campione di dati \rightarrow numero finito di dati

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

La deviazione standard

La deviazione standard o scarto quadratico medio è una misura della variabilità di una variabile casuale ed ha la stessa unità di misura dei valori osservati.

In pratica misura la dispersione dei dati intorno al valore atteso.

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

dove $\bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i$ è la media aritmetica.

La deviazione standard

- Se si conosce solo un campione della popolazione, si sostituisce il fattore
- $1 / n$ con $1 / (n - 1)$, ottenendo come nuova definizione:

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

A partire dalla deviazione standard si definisce anche la **deviazione standard relativa** come il rapporto tra σ_x e la media aritmetica dei valori:

$$\text{RSD} = \sigma_r = \frac{\sigma_x}{\bar{x}}$$

DEVIAZIONE STANDARD DEL CAMPIONE

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

\bar{x} tende a μ e s tende a σ per un numero elevato di misure

$N-1$ = numero di variabili indipendenti o *gradi di libertà*
(un grado di libertà viene usato per calcolare la media)

In pratica non si ha un guadagno rilevante nella precisione della misura oltre le 10 ripetizioni!

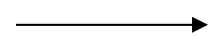
La **precisione** di una misura può essere espressa in altri modi:

VARIANZA



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

DEVIAZIONE
STANDARD RELATIVA
(COEFFICIENTE DI
VARIANZA)



$$\text{RSD (CV)} = (s / \bar{x}) \times 100$$

Tutti i parametri relativi alla precisione possono essere trovati tramite un semplice calcolatore o foglio excel!

I calcolatori utilizzano delle equazioni approssimate per maggiore semplicità ma i risultati sono attendibili.

Risultati dell'analisi del campione di rame (II) (Cu^{2+}) \rightarrow 28.7; 30.2; 29.8; 29.5; 30.5; 30.1;

\bar{x} (media) = 29.8 ppm; $s_x = 0.639$; $\sigma_x = 0.583$ ($\mu = 30$ ppm)

$s^2 = 0.408$; CV (RSD) = $0.639 / 29.8 \times 100 = 2.14\%$

attenzione alle cifre significative!

Esempio: gradi Brix in Pesche

- Supponiamo di avere misurato il contenuto in gradi brix di una popolazione di 31 pesche.

- | | | | | | | | | |
|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 9.80 | 8.00 | 10.20 | 9.10 | 11.30 | 12.80 | 11.30 | 11.20 | 9.90 |
| | 7.70 | 11.50 | 11.90 | 11.60 | 9.20 | 8.30 | 11.90 | 10.40 |
| | 9.50 | 11.20 | 13.20 | 14.60 | 13.70 | 13.20 | 13.70 | 13.20 |
| | 13.70 | 11.50 | 12.50 | 14.30 | 12.50 | 12.10 | | |

$$media = \frac{1}{31} \sum_{i=1}^{31} x_i = 11.45$$

$$\sigma^2 = \frac{1}{30} \sum_{i=1}^N (x_i - 11.45)^2 = 3.51$$

Il numero di cifre significative è *il numero di cifre necessario per esprimere i risultati di una misurazione consistenti con la precisione misurata*

Il numero 56.098 ha 5 cifre significative.

56.098 mm = 0.56098 dm = 0.056098 m sempre 5 cifre significative. Lo zero finale è sempre significativo!

Moltiplicazione e divisione

L'incertezza dell'ultima cifra è trasmessa nelle operazioni matematiche, nel calcolo si individua un *numero chiave*, quello con il minimo grado di certezza cioè con meno cifre significative e più piccolo in valore assoluto:

$$35.63 \times 0.5481 \times 0.05300 / 1.1689 = 88.5470578$$

il risultato è 88.55; le altre cifre non hanno senso

se la grandezza del risultato è più piccola del numero chiave si può aggiungere una cifra su cui però si è incerti

$$42.68 \times 891 / 132.6 \times 0.5247 = 546.57$$

il risultato è 547 o 546.6

Addizione e sottrazione

Non si usa un numero chiave ed è importante determinare quante cifre saranno significative.

p.es. peso formula di Ag_2MoO_4 pesi atomici: $\text{Ag} = 107.870$; $\text{Mo} = 95.94$; $\text{O} = 15.9994$

il risultato è 375.68 e si può arrotondare alla seconda (o terza) cifra decimale prima dell'addizione

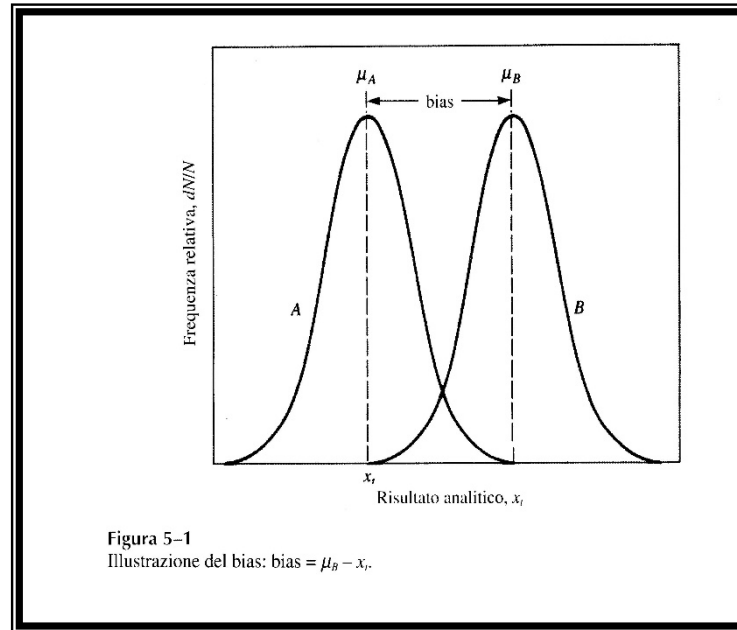
Logaritmi

Il numero su cui si deve operare e la mantissa del logaritmo hanno lo stesso numero di cifre significative

una soluzione di 2.0×10^{-3} M di HCl ha un $\text{pH} = -\log[\text{H}^+] = -(-3 + 0.30) = 2.70$

Per aumentare l'accuratezza di una misura si può aumentare il numero chiave (p. es. tramite pesata) o misurarlo con una cifra in più (se possibile).

Errore sistematico (*bias*)



- errori strumentali (p.es. variazioni nel volume dispensato da una pipetta o nella tensione di alimentazione di strumenti)
- errori di metodo (comportamento fisico e chimico non ideale di reagenti e reazioni)
- errori personali (valutazione soggettiva dell'operatore)

Uso del test Q per il rigetto degli *outliers* (errori grossolani)

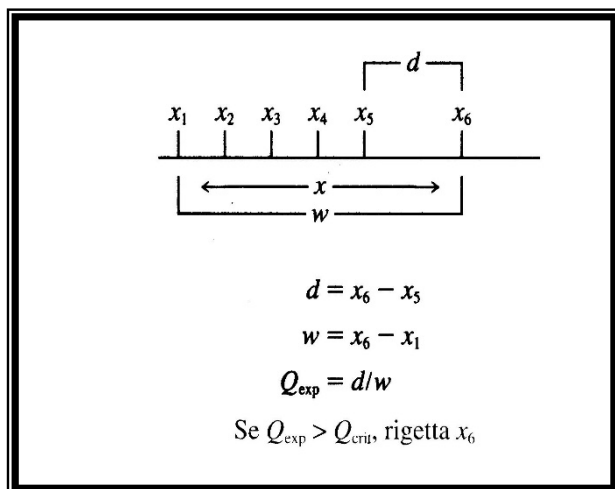


Tabella 5-1

Valori critici per il quoziente di rigetto *

| Numero di osservazioni | Q_{crit} (scarto se $Q_{\text{exp}} > Q_{\text{crit}}$) | | |
|------------------------|---|-------------------|-------------------|
| | 90% di confidenza | 95% di confidenza | 99% di confidenza |
| 3 | 0.941 | 0.970 | 0.994 |
| 4 | 0.765 | 0.829 | 0.926 |
| 5 | 0.642 | 0.710 | 0.821 |
| 6 | 0.560 | 0.625 | 0.740 |
| 7 | 0.507 | 0.568 | 0.680 |
| 8 | 0.468 | 0.526 | 0.634 |
| 9 | 0.437 | 0.493 | 0.598 |
| 10 | 0.412 | 0.466 | 0.568 |

* Riprodotto da D. B. Rorabacher, *Anal. Chem.* 1991, 63,139. Per gent. conc. dell'American Chemical Society.

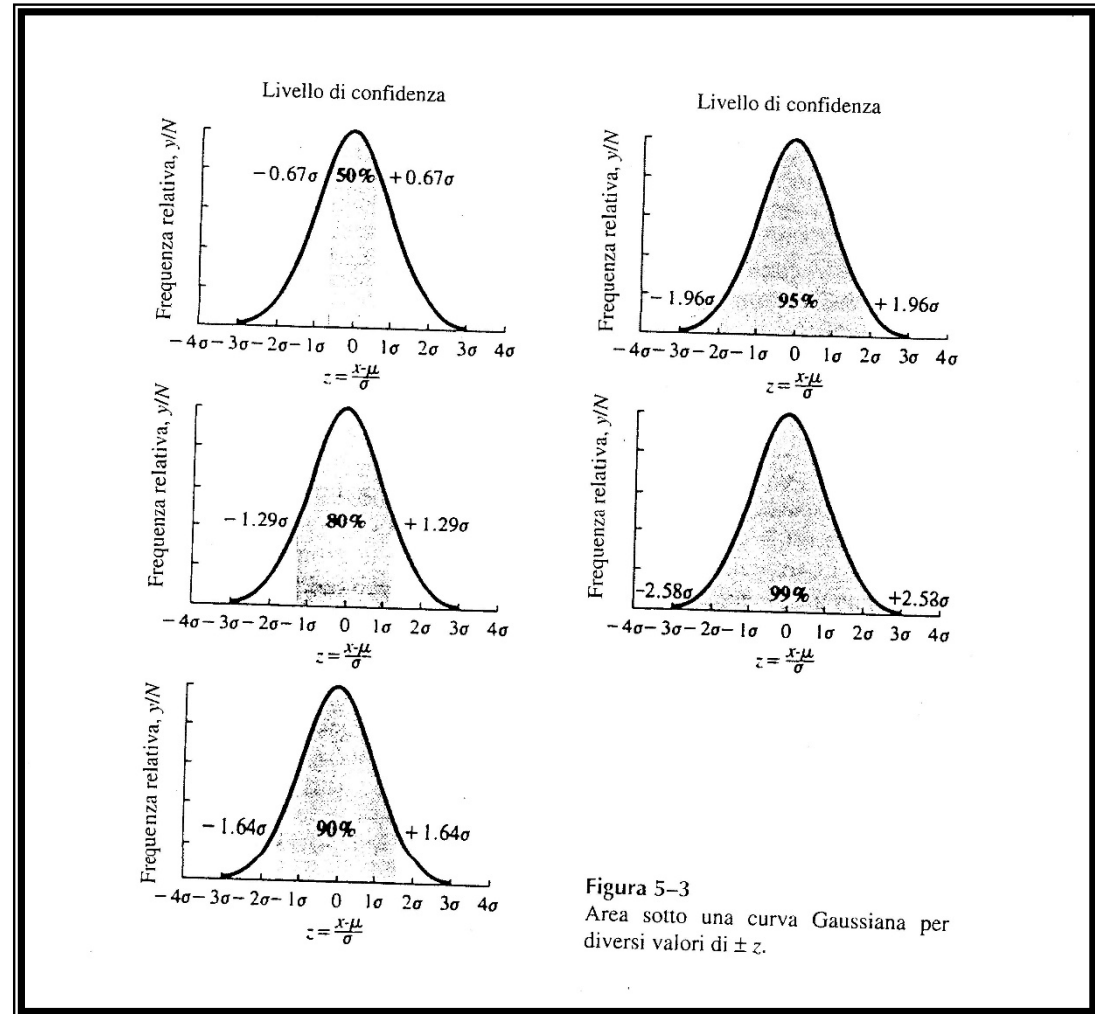
Non ha valore assoluto e bisogna utilizzarlo con attenzione!

Limiti ed intervalli di confidenza

CL(limite di confidenza) di una singola misura per $\mu = x \pm z\sigma$

di una media N di misure per $\mu = x \pm z\sigma/\sqrt{N}$

| Livello di confidenza per vari valori di z | |
|--|------|
| Livello di confidenza % | z |
| 50 | 0.67 |
| 68 | 1.00 |
| 80 | 1.29 |
| 90 | 1.64 |
| 95 | 1.96 |
| 96 | 2.00 |
| 99 | 2.58 |
| 99.7 | 3.00 |
| 99.9 | 3.29 |



spesso σ non è noto ed è necessario utilizzare una piccola serie di dati non solo per il calcolo della media ma anche della precisione. In questo caso si usa t invece di z dove:
 $t = (x - \mu) / s$

il limite di confidenza per la media di N replicati diventa

$$\text{CL per } \mu = \bar{x} \pm ts / \sqrt{N}$$

t dipende sia dal livello di confidenza desiderato che dai gradi di libertà.

I valori di t sono tabulati.

Risultati dell'analisi del campione di rame (II) (Cu^{2+}) \rightarrow 28.7; 30.2; 29.8; 29.5; 30.5; 30.1;

$$\bar{x} \text{ (media)} = 29.8 \text{ ppm}; s_x = 0.639 ;$$

ad un livello di confidenza all'80%

$$\mu = 29.8 \pm 1.48 \times 0.639 / \sqrt{6} = 29.8 \pm 0.39$$

ad un livello di confidenza al 99%

$$\mu = 29.8 \pm 4.03 \times 0.639 / \sqrt{6} = 29.8 \pm 1.05$$

Tabella 5-3

Valori di t per vari livelli di probabilità

| Gradi di libertà | Livello di probabilità | | | | |
|------------------|------------------------|------|------|------|-------|
| | 80% | 90% | 95% | 99% | 99.8% |
| 1 | 3.08 | 6.31 | 12.7 | 63.7 | 318. |
| 2 | 1.89 | 2.92 | 4.30 | 9.92 | 22.3 |
| 3 | 1.64 | 2.35 | 3.18 | 5.84 | 10.2 |
| 4 | 1.53 | 2.13 | 2.78 | 4.60 | 7.17 |
| 5 | 1.48 | 2.02 | 2.57 | 4.03 | 5.89 |
| 6 | 1.44 | 1.94 | 2.45 | 3.71 | 5.21 |
| 7 | 1.42 | 1.90 | 2.36 | 3.50 | 4.78 |
| 8 | 1.40 | 1.86 | 2.31 | 3.36 | 4.50 |
| 9 | 1.38 | 1.83 | 2.26 | 3.25 | 4.30 |
| 10 | 1.37 | 1.81 | 2.23 | 3.17 | 4.14 |
| 15 | 1.34 | 1.75 | 2.13 | 2.95 | 3.73 |
| 20 | 1.32 | 1.72 | 2.09 | 2.84 | 3.55 |
| 30 | 1.31 | 1.70 | 2.04 | 2.75 | 3.38 |
| 60 | 1.30 | 1.67 | 2.00 | 2.66 | 3.23 |
| ∞ | 1.29 | 1.64 | 1.96 | 2.58 | 3.09 |

Intervallo di Fiducia

Il limite fiduciale (o intervallo fiduciale) è molto utile per avere un'idea della vera caratteristica della popolazione che stimiamo attraverso lo studio di un campione. Per campioni ragionevolmente ampi (almeno 50-60 osservazioni), valgono le seguenti relazioni fondamentali:

indica che questo intervallo include con
probabilità 95% la VERA caratteristica
della popolazione

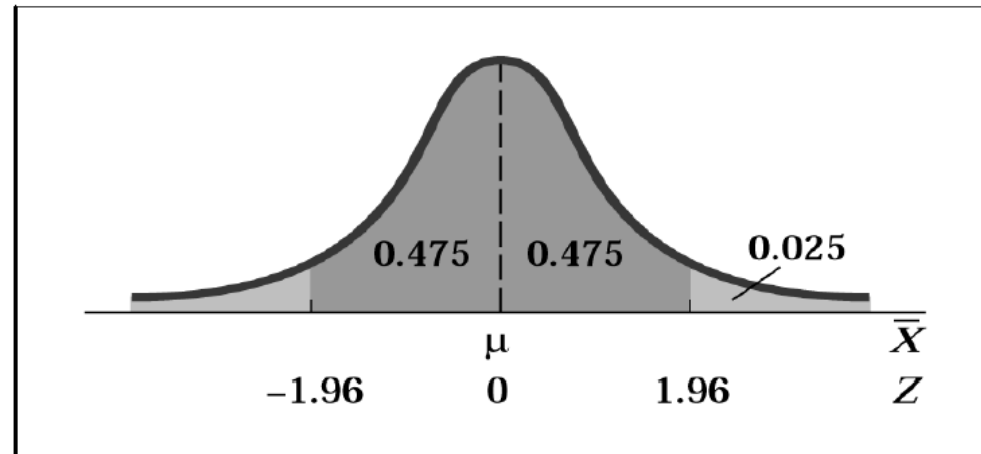
Intervallo fiduciale 95% = valore statistico \pm 2 errore standard

Intervallo fiduciale 99% = valore statistico \pm 3 errore standard

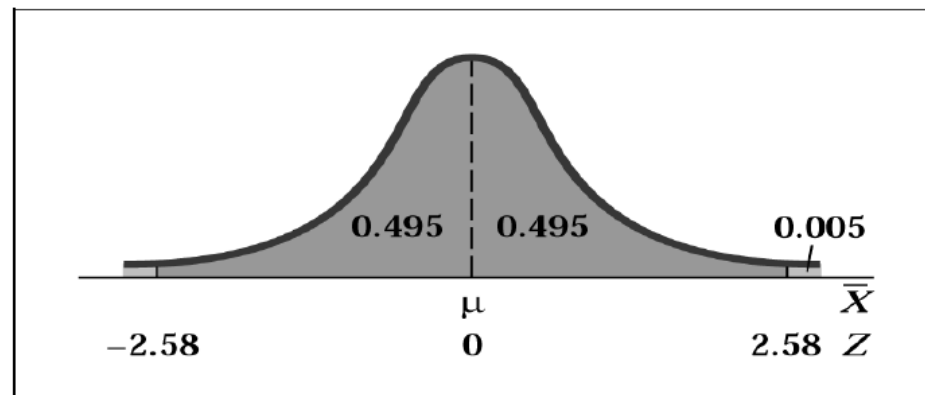
indica che questo intervallo include con
probabilità 99% la VERA caratteristica della popolazione

Intervallo di Fiducia

95%



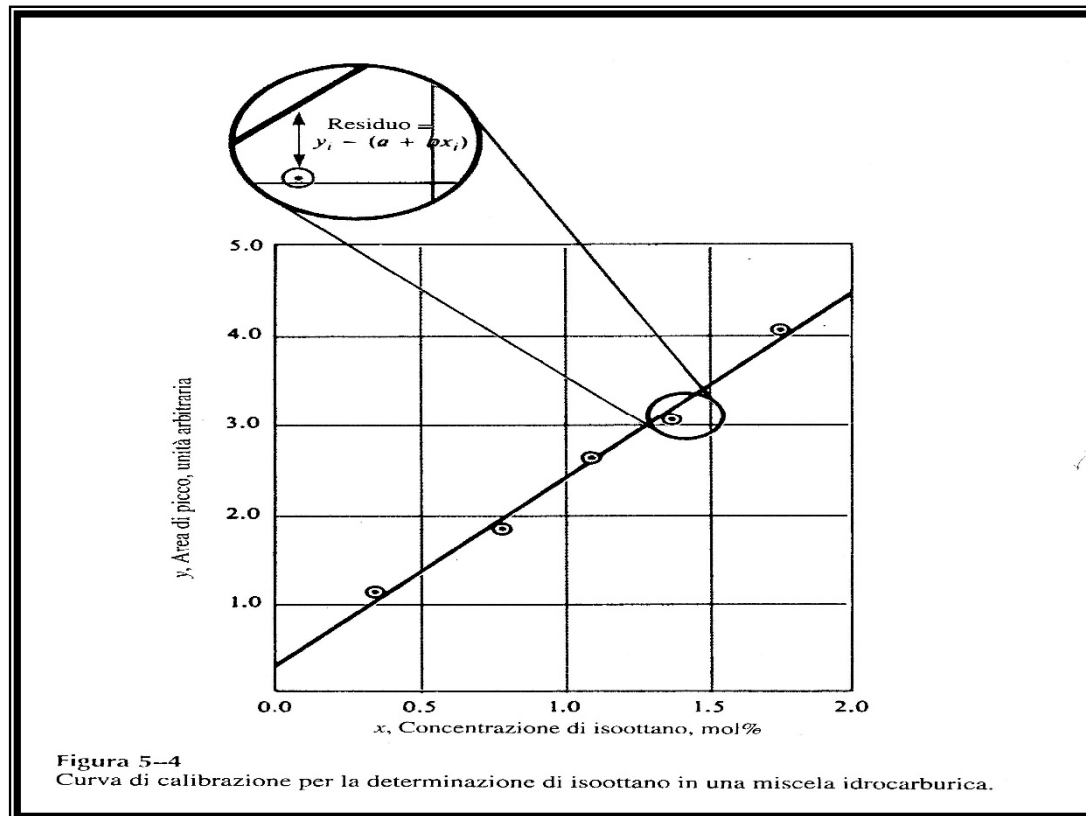
99%



CALIBRAZIONE

nell'intervallo in cui la relazione segnale/concentrazione è lineare $y = a + bx$

la migliore retta si ottiene con il metodo dei minimi quadrati lineari attraverso calcolatore.



COEFFICIENTE DI CORRELAZIONE

$$r = \frac{\sum (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{n s_x s_y}$$

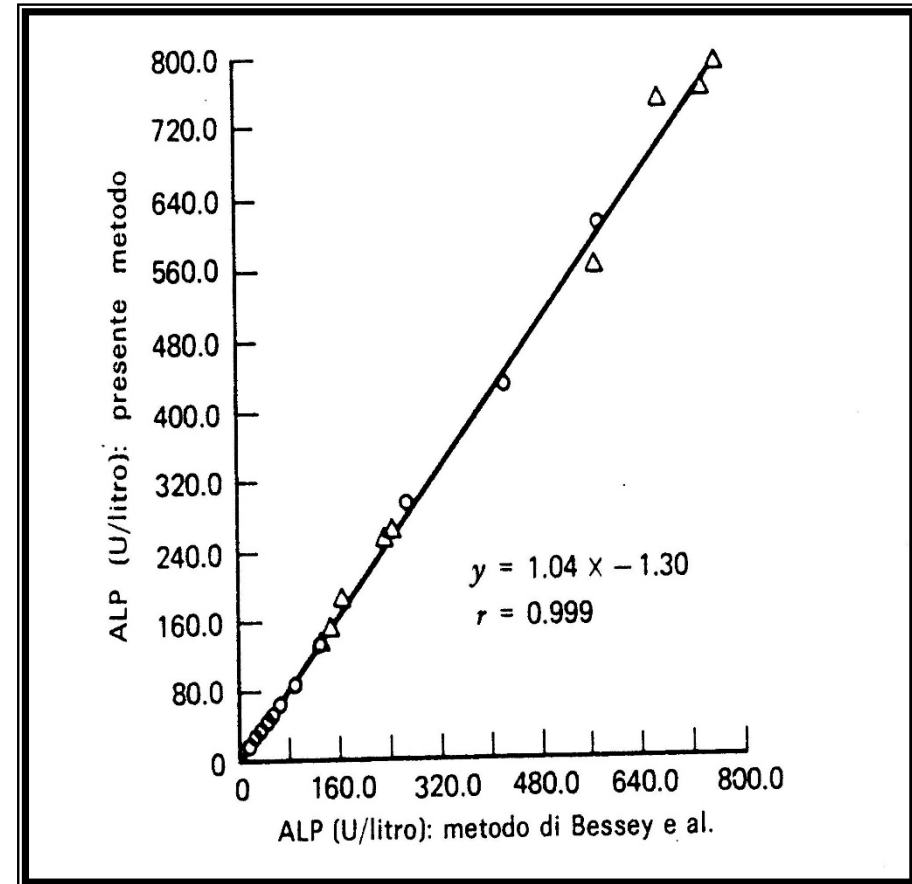
si usa per correlare le 2 variabili indipendenti x e y, indica quanto sia “buona” una retta e se due metodi analitici sono correlati

$0.90 < r < 0.95$

retta (correlazione) discreta

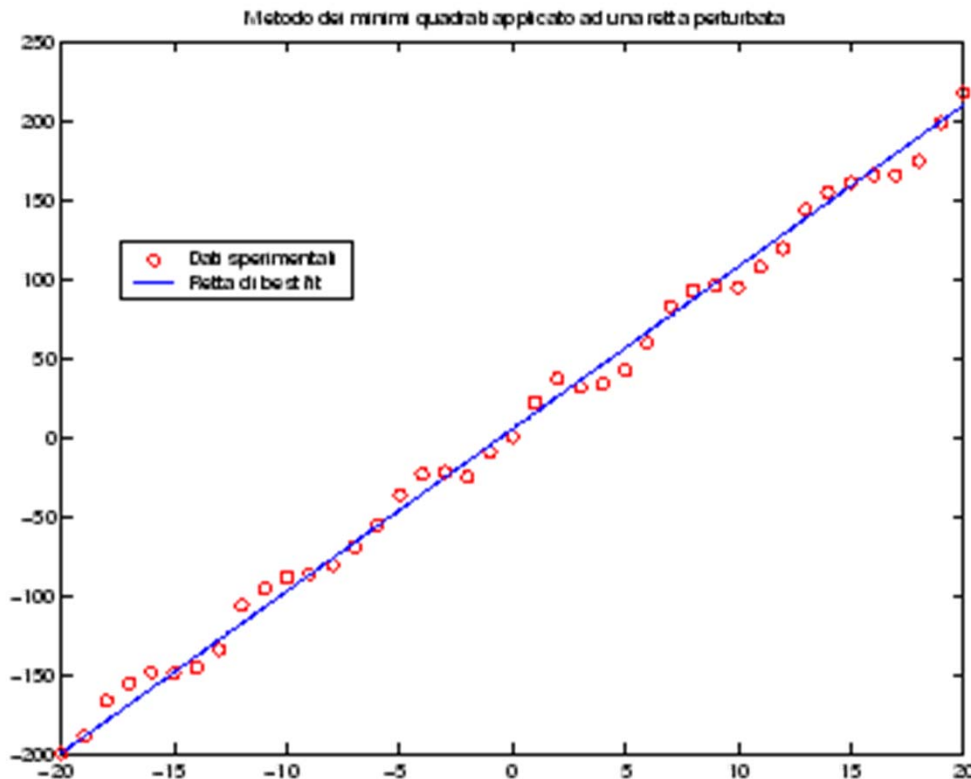
$0.95 < r < 0.99$ buona

$r > 0.99$ eccellente



Il Metodo dei Minimi Quadrati

Il metodo dei minimi quadrati consente di approssimare mediante una serie di funzioni una serie di dati con errore quadratico minimo; quando la serie di funzioni utilizzata impiega polinomi di grado non superiore al primo si afferma che la curva di regressione è *lineare*.



Applicazione del metodo dei minimi quadrati a dati sperimentali che crescono linearmente

Il Metodo dei Minimi Quadrati

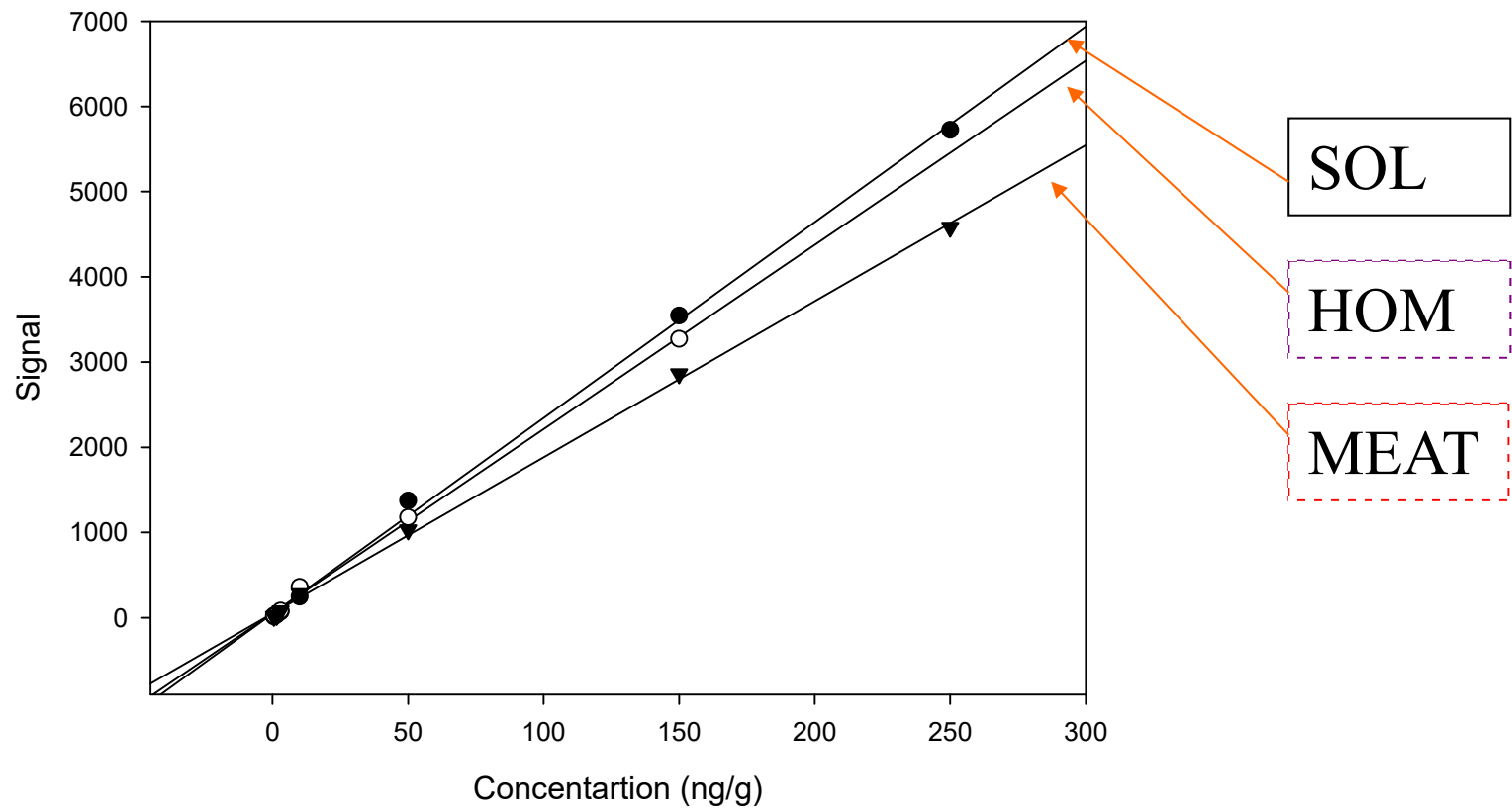
In termini più formali, avendo a disposizione la serie di n punti vogliamo determinare la retta $y=mx+q$ tale che la somma degli scarti quadratici dai punti della serie sia minima.

Lo *scarto quadratico* è definito pari a $(y_i - y(x_i))^2$, ovvero la *differenza tra il valore reale della serie e quello stimato dalla retta di regressione*.

$$\varepsilon = \sum_{i=1}^n (y_i - y(x_i))^2 = (y_1 - (mx_1 - q))^2 + \dots + (y_n - (mx_n - q))^2$$

MATRIX MATCHED CALIBRATION

TEST

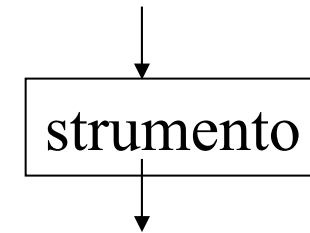


I parametri caratteristici degli strumenti:

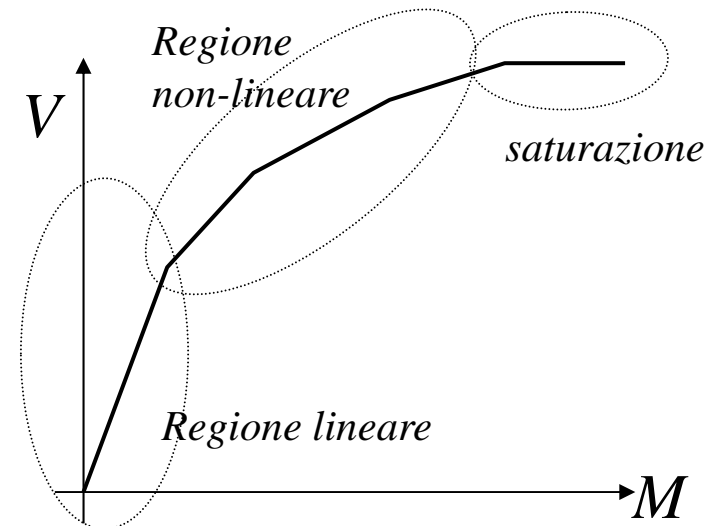
1. La curva di risposta

- Formalmente uno strumento descrive un mapping dallo spazio del misurando allo spazio del segnale d'uscita.
- Se questi spazi hanno dimensione 1, il sensore è rappresentabile attraverso una funzione $V=f(M)$.
- Questa funzione è detta risposta I/O o caratteristica del sensore e rappresenta il parametro fondamentale per caratterizzare un sensore.
- *La conoscenza della curva di risposta permette di usare il sensore come strumento di misura: dalla misura di V si evince una stima del misurando M*
- La curva di risposta si ottiene attraverso un processo di calibrazione.

Misurando M



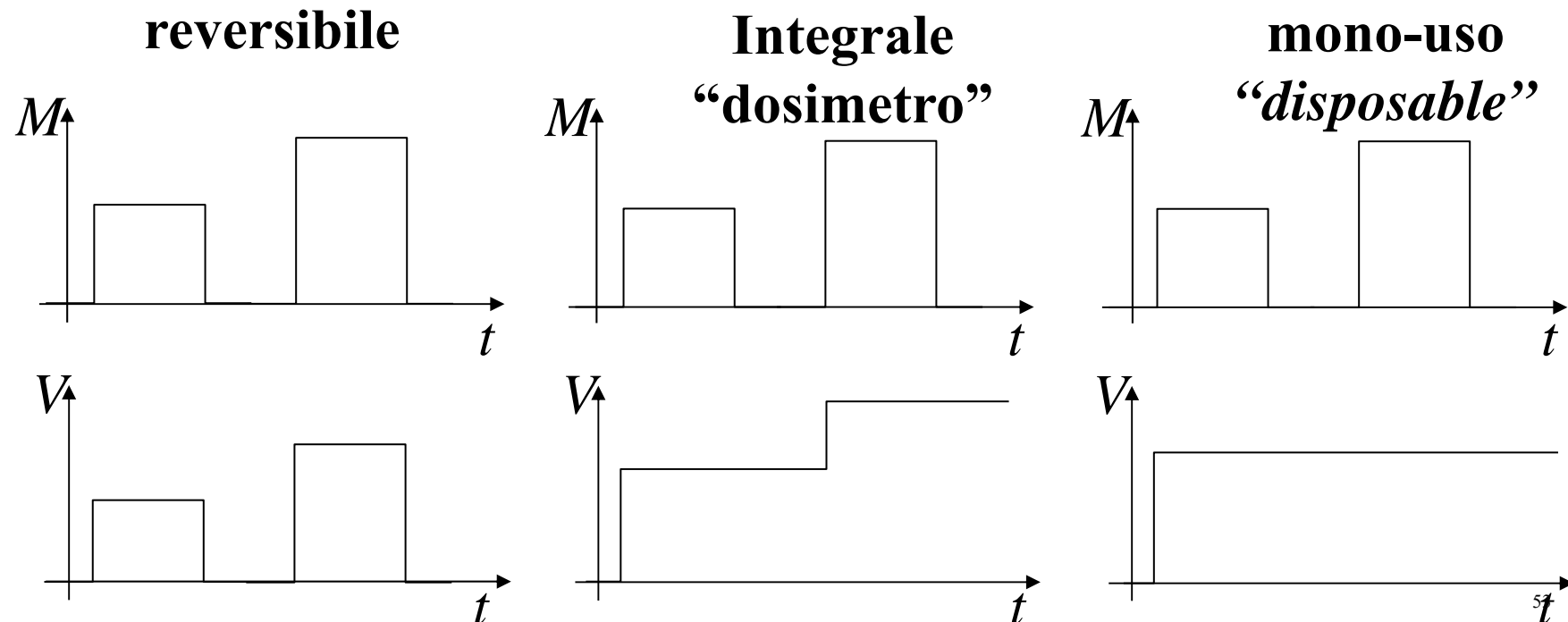
Segnale V



I parametri caratteristici degli strumenti:

2. Reversibilità

- La reversibilità esprime la capacità dello strumento di misura di seguire, con una dinamica tipica dello strumento stesso, le variazioni del misurando.
- In particolare, uno strumento è reversibile se al cessare della sollecitazione del misurando la risposta si annulla.



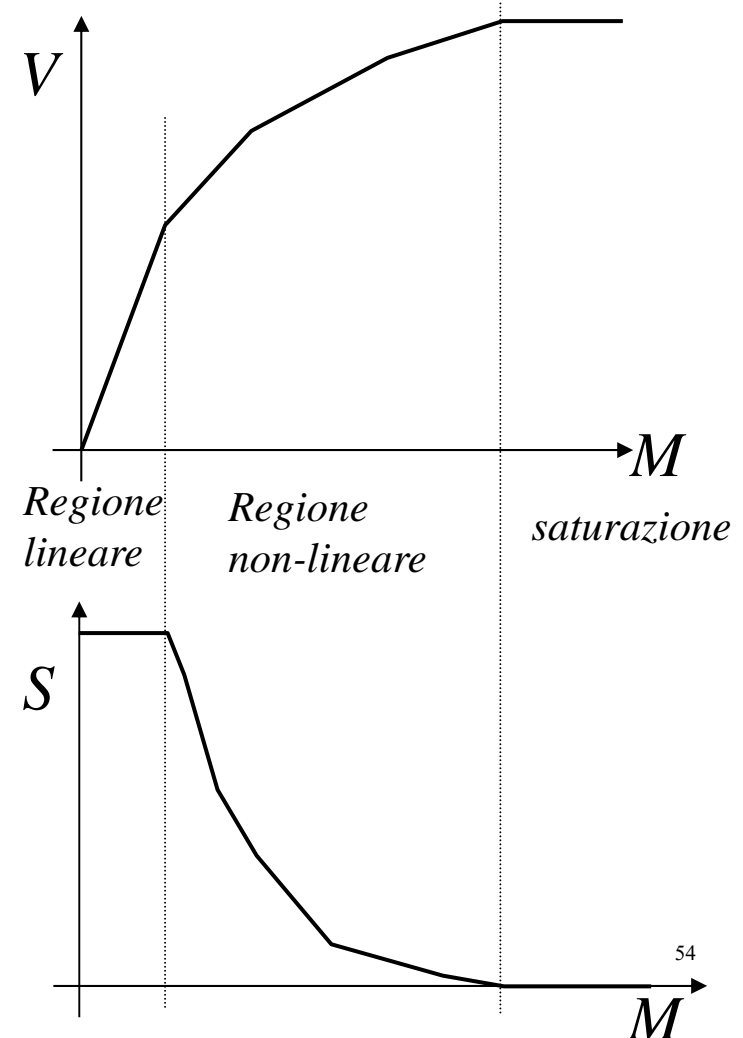
I parametri caratteristici degli strumenti:

3. Sensibilità

- La sensibilità è definita come il rapporto tra la variazione del segnale e la variazione del misurando.
- Definisce la capacità dello strumento di misura di seguire le variazioni del misurando
- Matematicamente, si esprime come la derivata della curva di risposta dello strumento

$$S = \frac{dV}{dM}$$

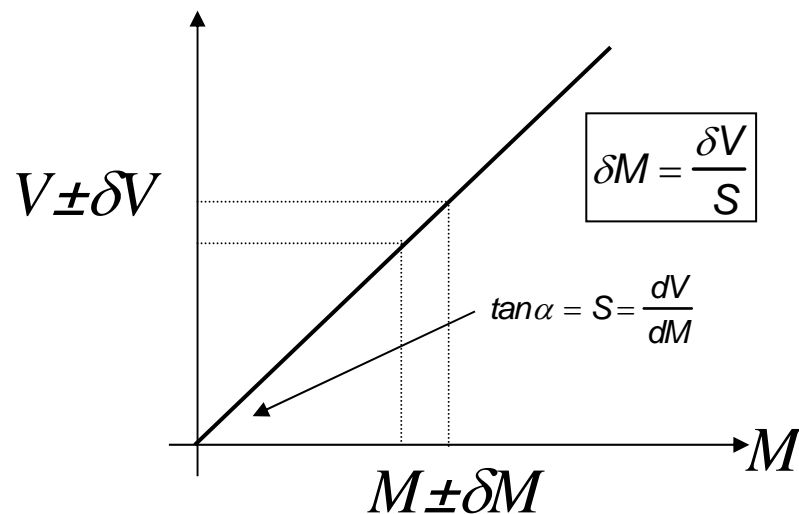
- Nella regione di non linearità, S è funzione del misurando.
- Nella regione di linearità S è massima, perciò sono massime le prestazioni dello strumento



I parametri caratteristici degli strumenti:

5. Risoluzione

- La risoluzione è legata all'esistenza degli errori di misura e del rumore.
- Per questo motivo, il segnale del sensore non è una grandezza deterministica ma ha una componente aleatoria: $V \pm \delta V$. Dove δV esprime tutti gli errori di misura
- δV è limitato inferiormente dal rumore elettronico del segnale V .
- La risoluzione esprime come l'incertezza δV si traduce in una incertezza δM sulla misura del misurando.
- Nella regione lineare:



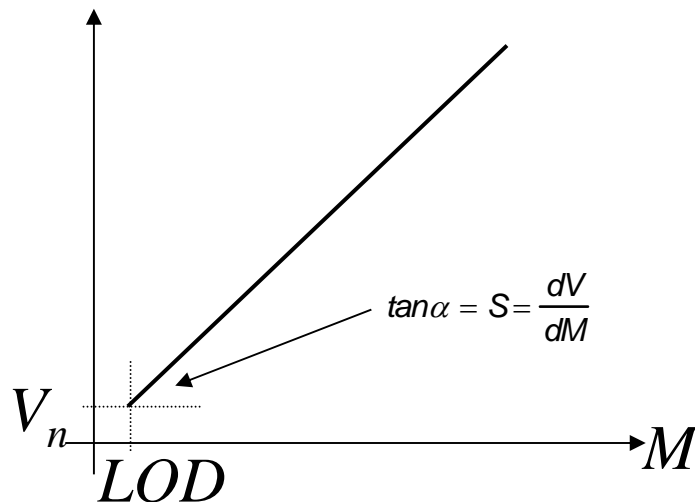
$$resolution = \lim_{V_{out} \rightarrow V_{noise}} \frac{V_{out}}{S} = \frac{V_{noise}}{S}$$

- La risoluzione dipende dalla sensibilità.
- In strumenti con sensibilità più alta gli errori di misura influiscono di meno sulla stima del misurando.
- La definizione vale anche per strumenti non lineari, se nell'intervallo δV la curva è assimilabile ad una retta.

I parametri caratteristici degli strumenti:

6. Limite di rivelazione

- La risoluzione calcolata per un segnale uguale a 0, definisce il *limit of detection* (LOD) dello strumento.
- La definizione traduce il fatto che non può esservi misura inferiore al suo errore. Quando l'errore di misura raggiunge il suo limite inferiore, il rumore elettronico V_n , si ha il limite di rivelazione teorico.
- Si definisce un $LOD_{\text{convenzionale}} = (3 \text{ o } 9) * LOD$.



$$LOD = \frac{V_n}{S}$$

MATERIALI CERTIFICATI DI RIFERIMENTO

materiali di cui è nota la composizione ed è certificata da organismi internazionali

vengono usati per la calibrazione dei metodi analitici, per valutare la performance del metodo e per controllare la qualità del dato analitico

il loro uso consente una accuratezza migliore

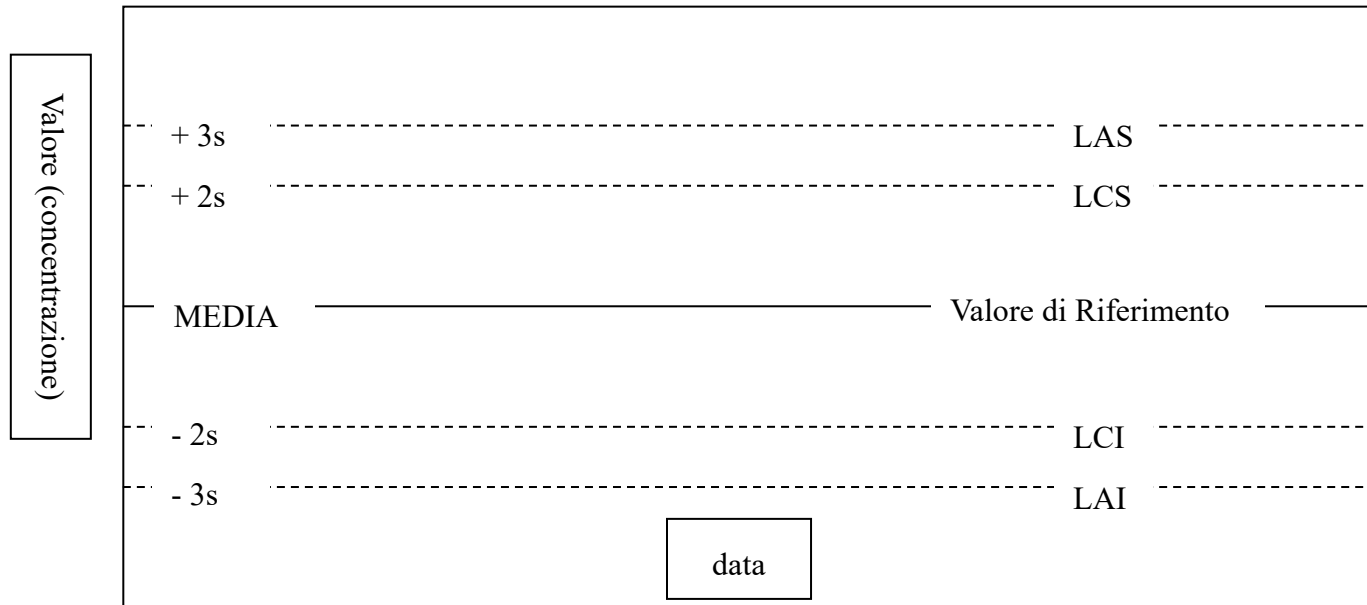
CARTE DI CONTROLLO

si usano per controllare i risultati delle analisi in un lungo periodo di tempo per evitare l'insorgenza di errori sistematici

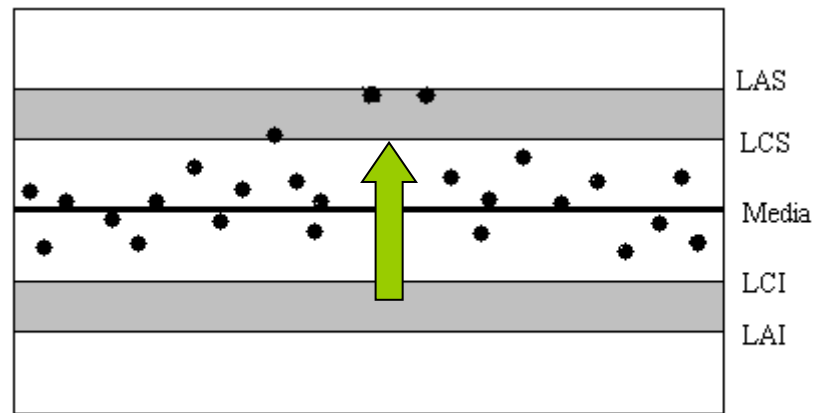
Carte di controllo

| | |
|--|-------|
| Media +3s = Limite di allarme superiore | (LAS) |
| Media +2s = Limite di controllo superiore | (LCS) |
| Media -2s, = Limite di controllo inferiore | (LCI) |
| Media -3s = Limite di allarme inferiore | (LAI) |

disposizione delle linee di riferimento in una carta di controllo



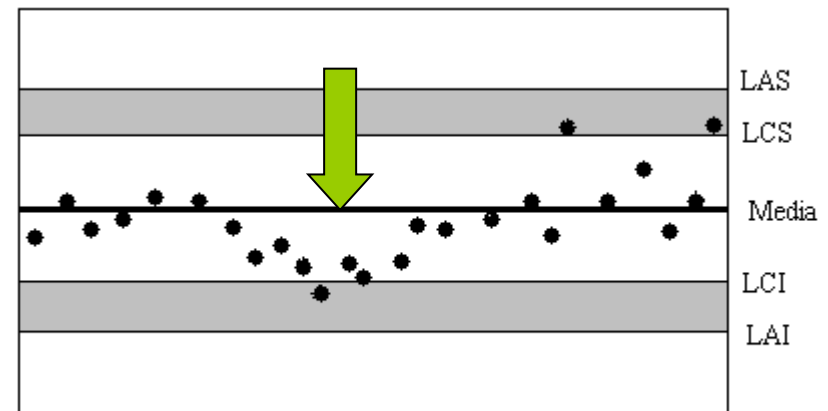
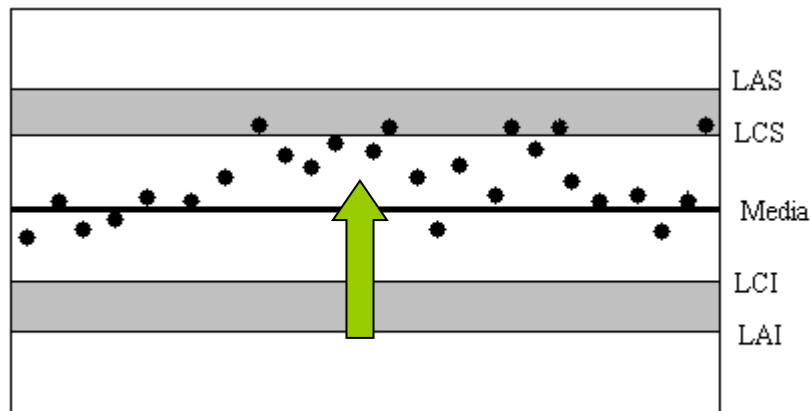
Carte di controllo (possibili criteri interpretativi)



Due (2) risultati consecutivi al di fuori dei limiti di controllo (dallo stesso lato) ma compresi nei limiti di allarme

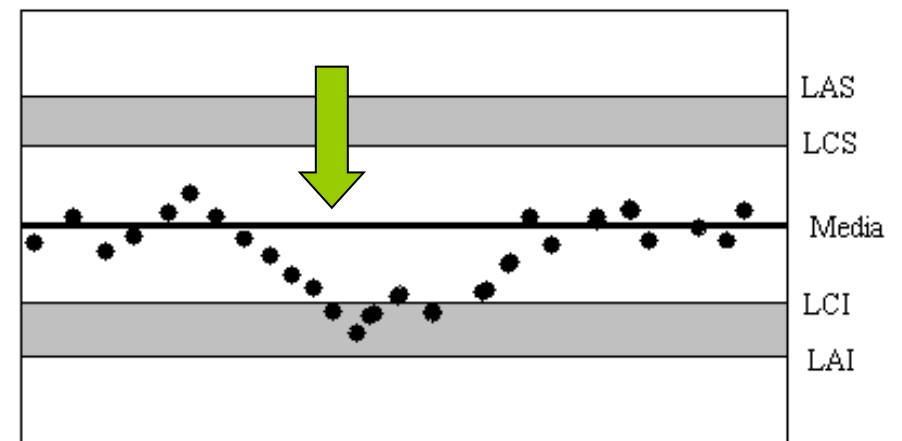
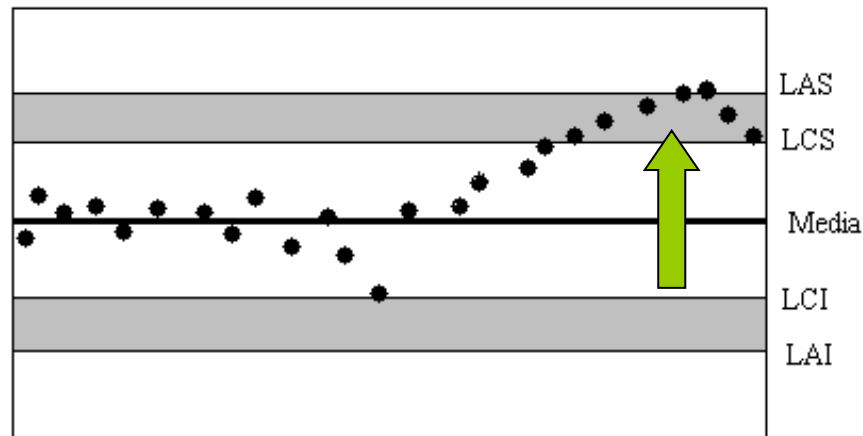
Carte di controllo

(possibili criteri interpretativi)



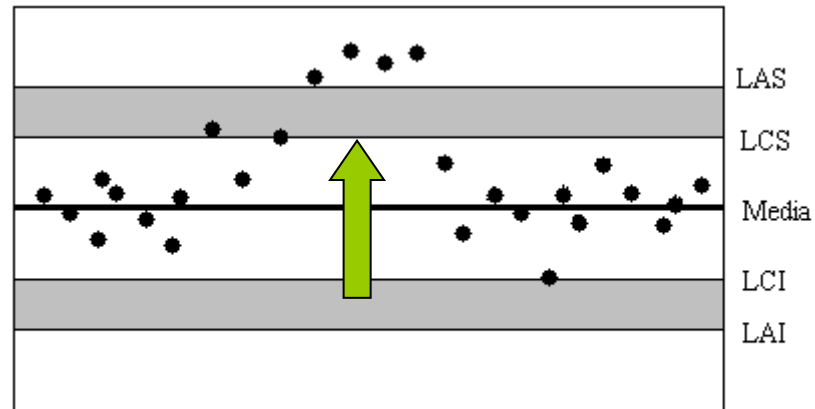
Sette (7) risultati consecutivi superiori o inferiori al valore medio

Carte di controllo (possibili criteri interpretativi)



Sette (7) risultati consecutivi in tendenza crescente o decrescente

Carte di controllo (possibili criteri interpretativi)



Risultati al di fuori dei limiti di controllo

Materiali di riferimento

- **Materiale di riferimento**
 - Materiale di cui i valori di una o più proprietà sono sufficientemente omogenei e confermati con un metodo validato, così da poter essere usato per calibrare uno strumento, per verificare un metodo di misura o per assegnare un valore al materiale [ISO Guide 30:1992]
- **Materiale di riferimento certificato**
 - Materiale di riferimento a cui è stato assegnato il contenuto di uno specifico analita, preferibilmente come risultato di uno studio cooperativo

Materiali di riferimento certificati

- Institute for Reference Materials and Measurements (IRMM)
 - CRM
 - <http://www.irmm.jrc.be/mrm.htm>
- Institute for Reference Materials and Measurements (IRMM)
 - SRM
 - <http://www.nist.gov>
- RIVM
 - http://www.rivm.nl/crl/residues/ref_standard/list/htm

Alcune definizioni...

- **TECNICA** insieme di principi teorici ed accorgimenti sperimentali che permettono di utilizzare un principio fondamentale per ottenere informazioni sulla natura di un campione
- **METODO (ANALITICO)** applicazione di una tecnica ad un problema specifico. Ve ne sono di standard (ASTM, NIST, IUPAC, NBS, UNICHIM...)
- **PROCEDURA** insieme di istruzioni di base necessarie per utilizzare il metodo
- **PROTOCOLLO** insieme di istruzioni dettagliate da seguire rigidamente perché il risultato possa essere accettato
- **MISURA** informazione data da NUMERO+INCERTEZZA+UNITÁ DI MISURA
- **MISURAZIONE** insieme di operazioni materiali e di calcolo per assegnare la misura al sistema misurato

**Nuove definizioni di parametri di qualità
secondo la Decisione 2002/657/EC;
metodi di conferma e
metodi di analisi quantitativa**

- **Accuratezza**
- **Range dinamico e lineare**
- **Selettività/specificità**
- **Limite di rivelazione**
- **Limite di quantificazione**
- **Robustezza**
- **Recupero**

Annex

Performance criteria, other requirements and procedures for analytical methods

Validazione = conferma, mediante esame ed evidenze oggettive, che i requisiti particolari per l'uso per il quale il metodo è progettato sono soddisfatti

Accuratezza = grado di accordo tra il risultato di un procedimento analitico e un valore di riferimento accettato. E' determinata dal calcolo dell'**esattezza** e della **precisione**

Esattezza (trueness) = grado di accordo tra il valor medio ottenuto da un numero ampio di risultati e un valore di riferimento accettato. E' espressa in termini di bias

Bias = differenza tra la media di un numero ampio di risultati e un valore di riferimento accettato.

Precisione = grado di accordo tra risultati indipendenti ottenuti in condizioni definite

Ripetibilità = precisione misurata in condizioni di **ripetibilità** → risultati indipendenti ottenuti da un operatore applicando lo stesso metodo su identici campioni test, nello stesso laboratorio ed utilizzando lo stesso strumento

Riproducibilità = precisione misurata in condizioni di **riproducibilità** → risultati indipendenti ottenuti da diversi operatori applicando lo stesso metodo su identici campioni test, in diversi laboratori ed utilizzando diversi strumenti

Within-laboratory reproducibility = precisione misurata nello stesso laboratorio in condizioni definite (es. riguardanti il metodo, gli operatori, gli strumenti) in un arco di tempo lungo

Annex

Performance criteria, other requirements and procedures for analytical methods

Recupero = percentuale di concentrazione di una sostanza recuperata nel corso di una procedura analitica. E' determinata durante la fase di validazione se non è disponibile alcun materiale di riferimento certificato

Robustezza = sensibilità di un metodo analitico a variazioni nelle condizioni sperimentali (condizioni ambientali e/o di preparazione del campione) nelle quali il metodo può essere applicato come descritto o con piccole modifiche.

A seguito dello studio di robustezza, dovrebbe essere indicata ogni variazione dalle condizioni sperimentali soggette a fluttuazioni (es. stabilità dei reagenti, pH, temperatura) che potrebbe influenzare il risultato analitico.

Specificità = capacità di un metodo analitico di distinguere l'analita da altre sostanze. Questa caratteristica è funzione della tecnica di misura, ma può variare a seconda della classe di composti o della matrice.