



**ESEMPI APPLICATIVI DI VALUTAZIONE DELL'INCERTEZZA NELLE
MISURAZIONI CHIMICHE**

INDICE

parte	sezione	pagina
	Esempio n. 1: Analisi del mercurio in matrici solide mediante spettrofotometria ad assorbimento atomico con vapori freddi	2
1.1.	Introduzione	2
1.2.	Principio del metodo	2
1.3.	Modalità operative	2
1.4.	Valutazione dell'incertezza dei risultati	4
1.5.	Appendice: Valutazione dell'incertezza dei punti di taratura	7
1.6.	Incertezza delle quantità riportate sull'asse delle ordinate	9
1.7.	Valutazione delle incertezze delle quantità riportate sui due assi	10

Esempio n. 1: Analisi del mercurio in matrici solide mediante spettrofotometria ad assorbimento atomico con vapori freddi

1.1. Introduzione

La determinazione del mercurio in matrici solide mediante trattamento termico del campione e determinazione spettrometrica "AAS a vapori freddi", viene proposta come primo esempio di valutazione dell'incertezza di misura in quanto, pur prevedendo alcuni stadi di trattamento comuni a molte altre procedure analitiche, risulta particolarmente semplice. Tale procedura prevede infatti una pesata del campione e la successiva analisi strumentale dell'analita. In tale determinazione sono comunque presenti le problematiche associate alla taratura dello strumento e di conseguenza verranno valutate le relative incertezze che possono costituire una componente non trascurabile dell'incertezza totale di misura.

Nell'esempio proposto verranno valutati i contributi, all'incertezza complessiva, dei vari stadi analitici che prevedono l'utilizzo di strumenti e materiali di riferimento per la taratura al fine di evidenziare quali sono i più significativi e pertanto da controllare attentamente.

1.2. Principio del metodo

Il campione in polvere, posto su una navicella in nichel viene introdotto in un tubo di decomposizione mediante un sistema automatico. Attraverso un ciclo di riscaldamento predeterminato il campione viene essiccato e successivamente decomposto termicamente. I prodotti di decomposizione trasportati dal flusso di ossigeno passano attraverso il tubo di decomposizione e giungono sulla parte catalitica terminale dello stesso che ha la funzione di trattenere gli alogeni e gli ossidi di azoto e di zolfo. I prodotti di decomposizione vengono infine trasportati sull'amalgama d'oro che agisce da trappola selettiva per il mercurio.

Il mercurio viene rilasciato dall'amalgama mediante rapido riscaldamento della stessa e trasportato dal flusso di ossigeno all'interno della cella di misura dove avviene la determinazione spettrofotometrica.

1.3. Modalità operative

Le prove non devono essere effettuate prima di trenta minuti dall'accensione dello strumento, in modo da permettere la stabilizzazione di tutte le condizioni di lavoro dello strumento stesso.

a) Taratura dello strumento di misura

Per la taratura strumentale viene utilizzata una soluzione di riferimento di Hg alla concentrazione di $1000 \pm 2 \text{ mgL}^{-1}$.

Un volume della soluzione di riferimento da 1000 mgL^{-1} di Hg pari a 1mL, prelevato con una pipetta da 1mL, viene introdotto in un palloncino tarato di vetro da 100 mL e portato a volume con acqua. Si ottiene in tal modo una soluzione da 10 mgL^{-1} .

Con una pipetta da 1mL, si preleva un'altra aliquota di 1mL della soluzione da 10 mgL^{-1} di Hg e la si introduce in un palloncino tarato di vetro da 100 mL portandola a volume con acqua. Si ottiene in tal modo una soluzione da $100 \text{ }\mu\text{gL}^{-1}$.

Si prelevano quindi, con micropipette, volumi crescenti della soluzione da $100 \text{ }\mu\text{gL}^{-1}$ e si introducono nell'analizzatore di mercurio, impostando i tempi di essiccazione secondo quanto riportato nella Tabella 1.

DT-0002/4 * INCERTEZZA NELLE MISURE CHIMICHE - ESEMPI

Tabella 1 - Condizioni operative per la preparazione della curva di taratura

Punto di taratura (q)	Prelievo della soluzione di riferimento diluita	Tempo di essiccazione
(ng Hg)	(μ L)	(sec)
5	50	35
10	100	70
15	100+50	105
20	200	140
25	250	175

I tempi e i modi di decomposizione ed analisi sono gli stessi per tutti i punti e sono quelli fissati per il trattamento dei campioni (vedere punto 2.2).

In Tabella 2 sono riportati i risultati della taratura strumentale effettuata ripetendo tre introduzioni distinte per ciascuno dei punti della curva.

b) Analisi dei campioni

Si pesa una quantità di campione compresa tra 100 e 150 mg, al più vicino 0,1 mg, direttamente nella cuvetta di analisi in nichel. Si impostano nel software dello strumento il peso di campione introdotto, il tempo di essiccazione (pari a 30 secondi) e il tempo di decomposizione (pari a 120 secondi); la cuvetta viene quindi posta sul portacampioni e si procede all'analisi tramite l'apposita opzione del software.

Qualora il contenuto di mercurio rilevato ecceda il valore limite della curva di taratura si dovrà ripetere l'analisi del campione diminuendo la quantità pesata senza però scendere mai al di sotto del limite di 10 mg. Nel caso in cui invece l'analisi abbia fornito risultati vicini al limite di rivelabilità, si dovrà ripetere l'analisi aumentando la quantità di campione iniziale, con un limite superiore di 250 mg.

DT-0002/4 * INCERTEZZA NELLE MISURE CHIMICHE - ESEMPI

Tabella 2 - Dati relativi alla curva di taratura

Hg(ng)= q	0	5	10	15	20	25
Assorbanza, y_q	0,0004	0,0952	0,2190	0,3182	0,4221	0,5282
	0,0006	0,0997	0,2122	0,3224	0,4346	0,5292
	0,0005	0,0934	0,2185	0,3156	0,4329	0,5410
Ass., media, \bar{y}_q	0,0005	0,0961	0,2166	0,3187	0,4299	0,5328
Incertezza tipo, $u(\bar{y}_q)$	0,0001	0,00324	0,00379	0,00343	0,00678	0,00712
Incertezza tipo rel%, $\frac{u(\bar{y}_q)}{\bar{y}_q} \cdot 100$		3,37	1,75	1,08	1,58	1,34

La retta di regressione ottenuta con l'algoritmo dei minimi quadrati non pesati è: $\bar{y}_q = a + bq$, dove:

\bar{y}_q è l'assorbanza e q è la massa di mercurio in nanogrammi (ng) con $a = -0,00719$ (ng)
 $b = 0,02173$ (ass./ng), $r = 0,99963$; equazione della retta $\bar{y}_q = -0,00719 + 0,02173q$;
 $\sigma = 15$; $\bar{y}_q = 0,31882$.

Lo scarto tipo dei residui è $s_{y,q} = 0,00541$. I residui hanno andamento casuale, come si può constatare:

$$(\bar{y}_q - \hat{y}_q)_{q=5} = -0,00536;$$

$$(\bar{y}_q - \hat{y}_q)_{q=10} = 0,00649;$$

$$(\bar{y}_q - \hat{y}_q)_{q=15} = -0,00006;$$

$$(\bar{y}_q - \hat{y}_q)_{q=20} = 0,00249;$$

$$(\bar{y}_q - \hat{y}_q)_{q=25} = -0,00326$$

dove: $\hat{y}_q = a + bq$

1.4. Valutazione dell'incertezza dei risultati

Seguendo lo schema descritto nella parte della Guida che riguarda la valutazione dell'incertezza nel campo dell'analisi chimica, le componenti dell'incertezza dei risultati ottenuti con questo metodo sono quelle che provengono dalla ripetibilità, dalla taratura della bilancia e dalla taratura dello spettrometro.

Il campione non viene diluito né vi è da tener conto di un fattore legato al trattamento. Infatti, la formula di calcolo dei risultati è data semplicemente da:

$$y = \text{Hg}(ng/g) = \frac{q}{P} \quad (1)$$

dove:

- q : è la massa, in nanogrammi di mercurio, ricavata dalla curva di taratura
- \hat{P} : è la massa di campione, in grammi, pesata per l'analisi.

DT-0002/4 * INCERTEZZA NELLE MISURE CHIMICHE - ESEMPI

La formula per il calcolo dell'incertezza tipo composta relativa è perciò la seguente:

$$\left[\frac{u(y_m)}{y_m} \right]^2 = \left[\frac{u(y_m)_A}{y_m} \right]^2 + \left[\frac{u(\hat{q}_m)_B}{\hat{q}_m} \right]^2 + \left[\frac{u(\hat{P}_m)_B}{\hat{P}_m} \right]^2 \quad (2)$$

dove i simboli hanno un significato analogo a quello che fa riferimento alla formula 4 della presente Guida, parte chimica (vedere comunque le definizioni e i valori riportati in calce alla Tabella 3).

Non resta che calcolare separatamente i tre addendi che fanno riferimento, rispettivamente, alla ripetibilità come normalmente intesa, alla incertezza della taratura dello spettrofotometro e a quella della taratura della bilancia.

a) Calcolo dei risultati e della loro incertezza di ripetibilità

Nove aliquote di un campione di materiale solido, precedentemente omogeneizzato, vengono pesate e trattate in successione con lo strumento di misurazione. In Tabella 3 sono riportati i dati delle pesate effettuate (\hat{P}), delle assorbanze misurate (y_q), dei valori di quantità (\hat{q}) di mercurio ricavate dalla curva di taratura nonché quelli dei risultati finali (y) ricavati applicando la formula (1). In calce alla tabella sono riportati lo scarto tipo di ripetibilità dei risultati e l'incertezza tipo relativa dovuta alla ripetibilità.

Tabella 3 - Dati riguardanti le 9 prove di ripetibilità

Prova	1	2	3	4	5	6	7	8	9
$\hat{P}(g)$	0,0997	0,1104	0,1215	0,1053	0,1152	0,1286	0,1357	0,1034	0,1078
$y_q(abs)$	0,3470	0,3898	0,4400	0,3616	0,3894	0,4470	0,4837	0,3533	0,3866
$\hat{q}(ng)$	16,30	18,27	20,58	16,97	18,25	20,90	22,59	16,59	18,12
$y(ng/g)$	163,5	165,5	169,4	161,2	158,4	162,5	166,5	160,4	168,1
s_q^2	0,0748	0,0770	0,0821	0,0753	0,0770	0,0830	0,0887	0,0750	0,0768

Incetezza tipo di ripetibilità, $u(y)(ng) = 3,69$; media dei risultati $y_m(ng/g) = 163,94$; media dei valori ricavati dalla curva di taratura $\hat{q}_m(ng) = 18,73$; media delle pesate dei campioni $\hat{P}_m(g) = 0,11418$

Incetezza tipo di ripetibilità della media: $u(y)/\sqrt{9}(ng/g) = 1,23 = u(y_m)_A$, incetezza tipo dovuta a ripetibilità

- Incetezza tipo relativa di ripetibilità: $\left[\frac{u(y_m)_A}{y_m} \right] = \frac{1,23}{163,94} = 0,00750 = 7,5 \cdot 10^{-3}$

- Incetezza tipo relativa dovuta alla taratura dello spettrofotometro (i valori di s_q sono calcolati dalla formula (3)).

$$\frac{1}{(9)^2} \cdot \sum s_q^2 = u(q'_m)_B = \frac{0,078856}{9} = 0,00876; \quad u(q'_m)_B = 0,09359; \quad \left[\frac{u(q'_m)_B}{\hat{q}_m} \right] = \frac{0,09359}{18,73} = 0,00500 = 5,0 \cdot 10^{-3}$$

- Incetezza tipo relativa dovuta alla taratura della bilancia: $\frac{u(\hat{P}_m)_B}{\hat{P}_m} = \frac{1,25 \cdot 10^{-5}}{0,11418} = 1,1 \cdot 10^{-4}$

Per il calcolo di $u(\hat{P}_m)_B$ vedere punto 3.3.

DT-0002/4 * INCERTEZZA NELLE MISURE CHIMICHE - ESEMPI

b) Calcolo dell'incertezza dovuta alla taratura dello spettrofotometro

Lo scarto tipo, $s_{\hat{q}}$, che spetta alla quantità di mercurio \hat{q} determinata per mezzo della curva di taratura lineare viene calcolata con la formula:

$$s_{\hat{q}} = \frac{s_{\bar{y}/q}}{b} \left[\frac{1}{m} + \frac{1}{n} + \frac{(y_q - \bar{y}_q)^2}{b^2 \sum (q_i - \bar{q})^2} \right]^{1/2} \quad (3)$$

dove:

- $s_{\bar{y}/q}$ e b : hanno i valori riportati in Tabella 2;
- $n = 5$: numero dei punti di taratura;
- $m = 1$: è il numero delle letture effettuate su ogni aliquota di campione;
- y_q : è la lettura effettuata durante ogni singola prova;
- q_i : è la massa di mercurio (in ng) del generico punto i di taratura;
- $\bar{q} = 15$: è il valore medio (in ng) della massa dei punti di taratura;
- $\bar{y}_q = 0,31882$: è la media generale delle letture effettuate in fase di taratura.

In calce alla Tabella 3 viene mostrato come si ricava il valore di $u(\hat{q}_m)_B$ e quindi di $\frac{u(\hat{q}_m)_B}{\hat{q}_m}$ attraverso la formula (3).

c) Calcolo dell'incertezza dovuta alla taratura della bilancia

Dal certificato SIT della bilancia utilizzata, l'incertezza estesa ($n=10$ misurazioni della massa campione di 0,100002 g, al livello di probabilità del 95%) è pari a $6,0 \cdot 10^{-5}$. Perciò tenendo conto che la variabile di Student t è 2,26, si ha:

$$s_p = \frac{6,0 \cdot 10^{-5}}{2,26} = 2,65 \cdot 10^{-5}$$

Siccome il punto di taratura della bilancia è prossimo ai valori delle masse delle aliquote dei campioni pesati, si può assumere che l'incertezza tipo, s_p , possa essere calcolata da questa formula (bisogna infatti tener presente che per ogni campione si effettuano due pesate: tara e tara più campione):

$$s_{p'} = \sqrt{2} s_p$$

Da cui:

$$s_{P'_m} = s_{p'} / \sqrt{9} = 1,25 \cdot 10^{-5} = u(P'_m)_B$$

La massa media delle aliquote di campione analizzato è data da $\hat{P}_m = 0,11418$ grammi. Quindi si ottiene, in definitiva, l'incertezza tipo relativa dovuta alla taratura della bilancia

$$\frac{u(P'_m)_B}{\hat{P}_m} = \frac{1,25 \cdot 10^{-5}}{0,11418} = 1,09 \cdot 10^{-4}$$

DT-0002/4 * INCERTEZZA NELLE MISURE CHIMICHE - ESEMPI

d) Calcolo dell'incertezza tipo composta

Applicando la formula (2) ai valori di incertezza tipo relative riportate in calce alla Tabella 3 si ottiene:

$$\left[\frac{u(y_m)}{y_m} \right]^2 = (7,5 \cdot 10^{-3})^2 + (5,0 \cdot 10^{-3})^2 + (1,1 \cdot 10^{-4})^2 = 81,26 \cdot 10^{-6}$$

(É evidente che l'incertezza dovuta alla taratura della bilancia è trascurabile rispetto alle altre due).

Da cui:

$$u(y_m) = 9,14 \cdot 10^{-3} \cdot 163,94 = 1,48 \text{ ng di mercurio}$$

Considerando soltanto l'incertezza di ripetibilità si sarebbe ottenuto:

$$u(y_m)_A = 7,5 \cdot 10^{-3} \cdot 163,94 = 1,23 \text{ ng}$$

e) Calcolo dell'incertezza estesa

É necessario innanzi tutto calcolare il numero dei gradi di libertà effettivi v_{eff} del sistema. Tenendo conto che l'incertezza dovuta alla taratura della bilancia è trascurabile, la formula (9b) della Parte Generale della presente Guida fornisce il seguente risultato:

$$v_{eff} = \frac{(9,14)^4}{\frac{(7,5)^4}{8} + \frac{(5,0)^4}{3}} = 11,5 \approx 11$$

Pertanto, secondo la formula (8) della Parte Generale di questa Guida si ha:

$$u(y) = u(y_m) \cdot t_{v_{eff}, p=95\%} = 1,48 \cdot 2,201 = 3,26 \text{ ng di mercurio}$$

Adottando $K = 2$, si sarebbe ottenuto:

$$u(y) = 1,48 \cdot 2 = 2,96 \text{ ng di mercurio}$$

1.5. Appendice: Valutazione dell'incertezza dei punti di taratura

Questa valutazione ha lo scopo di verificare che le quantità poste sull'asse delle ascisse abbiano incertezze inferiori o trascurabili rispetto a quelle poste sull'asse delle ordinate. Solo in questo caso la regressione con l'algoritmo dei minimi quadrati non pesati dei valori sulle ordinate rispetto a quelli sulle ascisse è corretta.

a) Incertezza delle quantità riportate sull'asse delle ascisse

Queste quantità, q , in ng di mercurio, sono state calcolate utilizzando la formula:

$$q = \frac{C \cdot V}{d} \cdot 1000$$

dove:

- C : è la concentrazione della soluzione di riferimento concentrata di mercurio
[(1000 ± 2) ng / ml]
- V : è il volume, in ml, prelevati dalla soluzione di riferimento diluita (dopo la diluizione II)
- d : è il fattore di diluizione complessivo
(= $d_1 \cdot d_2 = 10000; d_1 = 100$, diluizione I; $d_2 = 100$, diluizione II)

DT-0002/4 * INCERTEZZA NELLE MISURE CHIMICHE - ESEMPI

La valutazione dell'incertezza tipo di q può essere ottenuta attraverso la formula normalmente impiegata per il calcolo dell'incertezza tipo relativa di un prodotto di variabili, ossia:

$$\left[\frac{u(q)}{q} \right] = \left\{ \left[\frac{u(c)}{c} \right]^2 + \left[\frac{u(d)}{d} \right]^2 + \left[\frac{u(v)}{v} \right]^2 \right\}^{1/2}$$

Nei sottoparagrafi 4.1.1, 4.1.2 e 4.1.3 sono riportati i valori calcolati per ogni addendo e il valore finale di $\left[\frac{u(q)}{q} \right] \cdot 100$.

c) Incertezza relativa del titolo della soluzione di riferimento concentrata di mercurio

Il produttore della soluzione madre dichiara una concentrazione $Hg = 1000 \pm 2$ mg/L.

Si deve perciò arguire che la distribuzione dell'incertezza sia considerata di tipo rettangolare (vedere 2.2 della Parte Generale).

Pertanto l'incertezza tipo relativa sarà data da:

$$\left[\frac{u(q)}{q} \right] = \left[\frac{2/\sqrt{3}}{1000} \right] = 1,15 \cdot 10^{-3}$$

L'incertezza tipo percentuale è perciò: 0,115.

d) Incertezza relativa dovuta alla diluizione della soluzione madre di riferimento e al prelievo della soluzione diluita

La soluzione madre di riferimento è stata diluita con due successive diluizioni come descritto in 2.1.

I diluizione: 1 ml soluzione madre \rightarrow 100 ml (palloncino) con acqua ($Hg = 10$ mg/L)

II diluizione: 1 ml soluzione di diluizione I \rightarrow 100 ml (palloncino) con acqua ($Hg = 0,10$ mg/L)

Da questa soluzione, usando micropipette, sono state poste nello spettrofotometro le quantità di mercurio riportate in Tabella 1. Il calcolo dell'incertezza relativa dovuta alla diluizione e al prelievo di queste quantità di mercurio è stato eseguito tenendo conto delle incertezze della vetreria tarata riportate in Tabella 4.

Tabella 4 - Valori di incertezza per la vetreria

Materiale	Volume	Incetezza tipo sperim. (10 prove)	* Incetezza dichiarata dal costruttore / $\sqrt{3}$	Incetezza tipo composta	Incetezza tipo composta relativa	Incetezza tipo composta %
Pipette	1 ml	0,0018 ml	0,0058	0,0061 ml	0,00610	0,61
Palloncino	100 ml	0,0024 ml	0,058	0,058 ml	0,00058	0,058
Micropipette	50-250 μ l	0,115%	0,058%	0,129%	0,00129	0,129

* si assume che l'incetezza dichiarata dal costruttore abbia una distribuzione rettangolare. Pertanto l'incetezza tipo corrispondente si ottiene dividendo per $\sqrt{3}$.

DT-0002/4 * INCERTEZZA NELLE MISURE CHIMICHE - ESEMPI

f) *Incertezza tipo relativa percentuale dovuta alla prima diluizione: pipetta da 1 ml, palloncino da 100 ml*

$$\left[\frac{u(d_1)}{d_1} \right] = \left[(0,0061)^2 + (0,00058)^2 \right]^{1/2} \neq 0,0061; \quad \left[\frac{u(d_1)}{d_1} \right] \cdot 100 = 0,61$$

g) *Incertezza tipo relativa e percentuale dovuta alla seconda diluizione: pipetta da 1 ml, palloncino da 100 ml*

$$\left[\frac{u(d_2)}{d_2} \right] = \left[(0,0061)^2 + (0,00058)^2 \right]^{1/2} = 0,0061; \quad \left[\frac{u(d_2)}{d_2} \right] \cdot 100 = 0,61$$

h) *Incertezza tipo relativa e percentuale dovuta al prelievo con le micropipette*

$$\left[\frac{u(v)}{v} \right] = \left[(0,00115)^2 + (0,00058)^2 \right]^{1/2} = 0,00129; \quad \left[\frac{u(v)}{v} \right] \cdot 100 = 0,129$$

i) *Incertezza tipo composta relativa percentuale delle quantità di mercurio di riferimento per la taratura riportate sull'asse delle ascisse*

Si tratta di sommare quadraticamente le incertezze tipo relative percentuali calcolate ai punti 4.1.1 e 4.1.2, si ottiene:

$$\left[\frac{u(q)}{q} \right] \cdot 100 = \left[(0,61)^2 \cdot 2 + (0,129)^2 + (0,115)^2 \right]^{1/2} = (0,774)^{1/2}$$

Per il punto Hg=150 ng bisogna tener conto che vengono usate 2 micropipette (vedere Tabella 1) e perciò per quel punto:

$$\left[\frac{u(q)}{q} \right]_{Hg=150} \cdot 100 = \left[(0,61)^2 \cdot 2 + (0,129)^2 \cdot 2 + (0,115)^2 \right]^{1/2} = (0,791)^{1/2}$$

Come si vede l'incertezza tipo composta relativa percentuale resta praticamente la stessa, anche in questo caso. Pertanto, si può considerare valida per tutti i punti q sull'asse delle ascisse lo scarto tipo relativo percentuale $\left[\frac{u(q)}{q} \right] \cdot 100$.

1.6. Incertezza delle quantità riportate sull'asse delle ordinate

Dalla Tabella 2 si può ricavare il valore medio dell'incertezza tipo composta relativa percentuale delle assorbanze riportate sull'asse delle ordinate.

Si ottiene:

$$\left[\frac{u(\bar{y}_q)}{\bar{y}_q} \right] \cdot 100 = \left\{ \left[(3,37)^2 + (1,75)^2 + (1,08)^2 + (1,58)^2 + (1,34)^2 \right] / 5 \right\}^{1/2} = (3,976)^{1/2}$$

DT-0002/4 * INCERTEZZA NELLE MISURE CHIMICHE - ESEMPI

1.7. Valutazione delle incertezze delle quantità riportate sui due assi

Il rapporto fra le varianze percentuali sui due assi è dato da:

$$F = \frac{\left[\frac{u(\bar{y}_q)}{\bar{y}_q} \right]^2}{\left[\frac{u(q)}{q} \right]^2} = \frac{3,976}{0,774} = 5,16 > F_{10,9;0,95} = 3,14$$

Si può quindi concludere che l'incertezza dei valori riportati sulle ascisse è inferiore rispetto a quella dei valori riportati sulle ordinate.

Pertanto, la regressione secondo l'algoritmo dei minimi quadrati non pesati dei valori delle ordinate su quelle delle ascisse per il calcolo della retta di taratura è giustificato.