



DIPARTIMENTO
SICUREZZA ALIMENTARE, NUTRIZIONE
E SANITÀ PUBBLICA VETERINARIA

9 - 10 MARZO 2023
Conferenza Online

INCERTEZZA ASSOCIATA AL CAMPIONAMENTO NELLE ANALISI CHIMICHE

PRESENTAZIONE DELL'EDIZIONE ITALIANA DELLA GUIDA EURACHEM/CITAC

Incertezza associata al campionamento nelle analisi chimiche.
Presentazione dell'esempio in matrici alimentari
"A1. Nitrati nella lattuga"

Barbara De Santis e Emanuela Gregori

www.iss.it/sicurezza-alimentare-nutrizione-e-sanità-pubblica-veterinaria



DIPARTIMENTO
SICUREZZA ALIMENTARE, NUTRIZIONE
E SANITÀ PUBBLICA VETERINARIA

OBIETTIVI - I





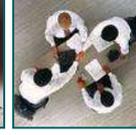




Contesti diversi



Controllo
Ufficiale
Monitoraggi



Contenziosi
Legali



Tracciabilità



Verifica
della
legislazione

ERRORE TOTALE

Errore di campionamento

Errore di analisi

Errore di sotto-campionamento

lotto

campione globale

sotto campione

analisi

re-nutrizione-e-sanità-pubblica-veterinaria



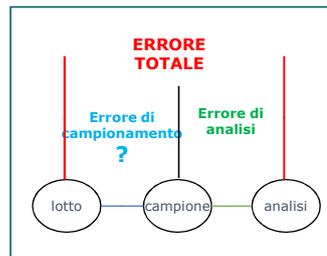
DIPARTIMENTO
SICUREZZA ALIMENTARE, NUTRIZIONE
E SANITÀ PUBBLICA VETERINARIA

OBIETTIVI - II

Valutare:

l'incertezza di misura (analisi + campionamento)

- ✓ contributo del campionamento
- ✓ contributo dell'analisi



Protocollo di campionamento standard per il monitoraggio di livelli di nitrato nella lattuga coltivata in serra con metodo dei duplicati

www.iss.it/sicurezza-alimentare-nutrizione-e-sanità-pubblica-veterinaria



SCENARIO E OGGETTO DI CAMPIONAMENTO

Metodo Empirico - Approccio 'Top down'

- basato su misure replicate (inter e intra)
- applicabile a qualsiasi sistema
- analisi dei risultati ANOVA robusta sui valori di concentrazione

L'**oggetto** di campionamento è la lattuga di una campata della serra (*non singoli cespi di lattuga*).

Il **contesto** è la verifica del Limite Massimo (LM) definito dal Regolamento europeo (1881/2006 e s.m.ei.).

Al fine di effettuare un confronto affidabile delle concentrazioni di nitrati misurate è auspicabile una valutazione dell'incertezza di misura.



www.iss.it/sicurezza-alimentare-nutrizione-e-sanità-pubblica-veterinaria



PROTOCOLLO CAMPIONAMENTO



PROTOCOLLO

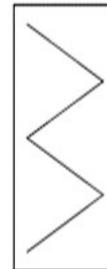
- Campione primario: un cespo di lattuga
- Campione composito: 10 cespi di lattuga

Preparazione di un campione composito a partire da 10 cespi di lattuga raccolti da ogni «campata» di lattuga.

I cespi di lattuga sono selezionati nella campata in esame seguendo un percorso a forma di W o di pentagono.

Il protocollo è applicato a tutte le campate (indipendentemente dalle dimensioni).

I campioni, prelevati al mattino, vengono trasportati e consegnati al laboratorio in condizioni di refrigerazione (p.es borse frigo) entro le 24 ore dal campionamento.



N=10



www.iss.it/sicurezza-alimentare-nutrizione-e-sanità-pubblica-veterinaria



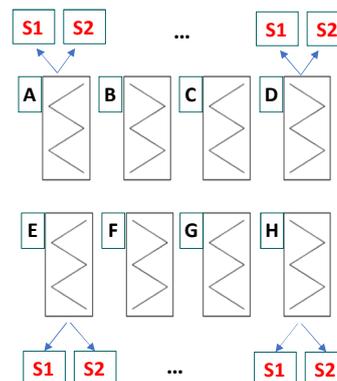
DIPARTIMENTO
SICUREZZA ALIMENTARE, NUTRIZIONE
E SANITÀ PUBBLICA VETERINARIA

METODO DEI DUPLICATI

Sono stati selezionati un minimo di **otto oggetti** di campionamento (**campate da A a H**) da includere nel protocollo di valutazione dell'incertezza.

Da ognuna di queste campate è stato prelevato un secondo campione da 10 cespi (**S2**) in aggiunta al campione di routine (**S1**).

Questo campione in duplicato è stato prelevato in modo da rappresentare la variazione che potrebbe verificarsi a causa delle ambiguità nel protocollo di campionamento data, ad esempio, dal posizionamento dell'origine dello schema a W o dal suo orientamento.



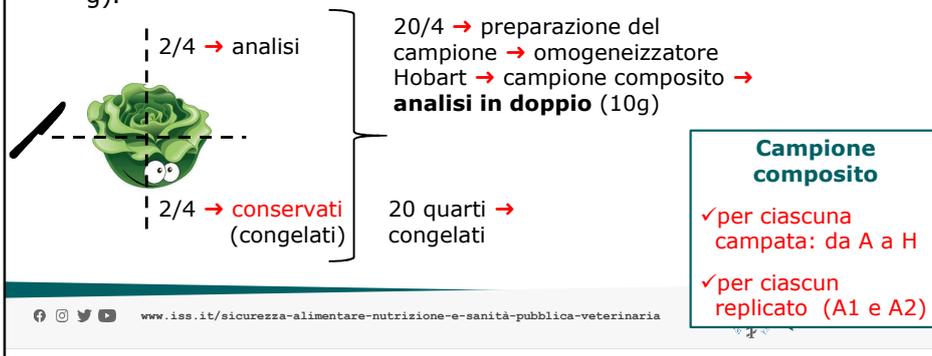
www.iss.it/sicurezza-alimentare-nutrizione-e-sanità-pubblica-veterinaria



DIPARTIMENTO
SICUREZZA ALIMENTARE, NUTRIZIONE
E SANITÀ PUBBLICA VETERINARIA

PROTOCOLLO ANALISI LABORATORIO

- I campioni primari sono stati congelati alla ricezione in laboratorio.
- Ogni cespo di lattuga (incremento) per ognuno dei campioni compositi (10 cespi) è stato tagliato in quattro quarti uguali di cui due sono stati conservati.
- I 20 quarti risultanti sono stati messi in un omogeneizzatore Hobart e tritati per formare un campione composito.
- Da questo sono state prelevate **due porzioni di prova A1 e A2** (10 g).



PROTOCOLLO ANALISI LABORATORIO

ANALISI

- La porzione (10 g) è stata estratta con acqua calda
- La determinazione del nitrato mediante HPLC (rivelatore UV).
- I campioni di controllo qualità (recupero da campione addizionato - *spike*) sono analizzati contemporaneamente ai campioni reali.
- Non è stato riscontrato alcun scostamento significativo di analisi e quindi non è stata necessaria alcuna correzione dei dati risultanti.
- I valori di misura originari usati per la valutazione dell'incertezza sono stati opportunamente arrotondati, e non vi è stata alcuna eliminazione di valori inferiori a zero o al limite di rivelabilità.



RISULTATI - I

Analisi dei Campioni composti

- ✓ 8 campate replicate: da AS1/AS2 ... HS1/HS2
- ✓ 2 replicati analitici A1 e A2
- ✓ In totale 32 risultati analitici AS1A1 e AS1A2 ... HS1A1 e HS1A2

Tabella A1.1. Misurazioni della concentrazione (mg kg^{-1}) di nitrato negli otto campioni in duplicato. I campioni in duplicato sono denominati S1 e S2. Allo stesso modo, le analisi in duplicato sono denominate A1 e A2. Quindi, DS1A2 (valore 4754 mg kg^{-1}) è l'analisi 2, dal campione 1 dell'oggetto di campionamento D

Oggetto di campionamento	S1A1	S1A2	S2A1	S2A2
A	3898	4139	4466	4693
B	3910	3993	4201	4126
C	5708	5903	4061	3782
D	5028	4754	5450	5416
E	4640	4401	4248	4191
F	5182	5023	4662	4839
G	3028	3224	3023	2901
H	3966	4283	4131	3788



www.iss.it/sicurezza-alimentare-nutrizione-e-sanità-pubblica-veterinaria



RISULTATI - II

Elaborazione statistica

- ANOVA classica
- ANOVA robusta

RISULTATI DELL'ANOVA CLASSICA

Media = 4345,5625

Scarto tipo (totale) = 774,5296

Somma dei quadrati = 12577113 4471511 351320

	Tra-oggetti	Campionamento	Analisi
Scarto tipo	556,2804	518,16089	148,18063
Variazione percentuale	51,583582	44,756204	3,6602174

RISULTATI DELL'ANOVA ROBUSTA

Media = 4408,3237

Scarto tipo (totale) = 670,57617

	Tra-oggetti	Campionamento	Analisi	Misura
Scarto tipo	565,39868	319,04834	167,94308	360,5506
Variazione percentuale	71,090791	22,636889	6,2723172	28,909209
Incertezza relativa (% con un livello di fiducia del 95%)	–	14,474814	7,6193626	16,357719



ISS - DIPARTIMENTO
SICUREZZA ALIMENTARE, NUTRIZIONE
E SANITÀ PUBBLICA VETERINARIA

COMMENTI - I

Il criterio di idoneità allo scopo utilizzato è quello basato sulla percentuale di varianza totale.

ANOVA robusta, il programma calcola quanto la varianza tra oggetti, intra-oggetto (o intra campioni) e la varianza analitica contribuiscono (in percentuale) alla varianza totale:

71,1% contributo massimo alla varianza totale è dato dalla variabilità tra oggetti di campionamento

28,9% contributo procedimento di misura combinato ottenuto sommando il campionamento (22,6%) e i contributi analitici (6,3%)

Questo è di poco superiore al valore ideale del 20%.

Il campionamento è il fattore dominante, responsabile del 78,2% della varianza di misura.



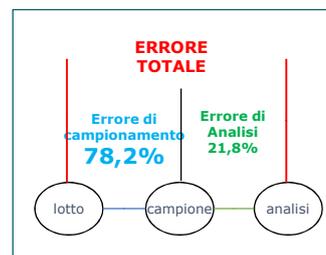
www.iss.it/sicurezza-alimentare-nutrizione-e-sanità-pubblica-veterinaria



CONCLUSIONI

Per il caso dell'analisi chimica dei nitrati analizzato in questo esempio, il campionamento è risultato il contributo dominante alla varianza totale pari al 78,2%.

Con la metodologia dell'incertezza ottimizzata (OU) si potrebbe ridurre il contributo dell'incertezza di campionamento con un aumento del numero degli incrementi (cespi) costituenti il campione composito da 10 cespi a un a 40 cespi.



www.iss.it/sicurezza-alimentare-nutrizione-e-sanità-pubblica-veterinaria



COMMENTI - II

Questo approccio affronta la valutazione dell'idoneità allo scopo includendo considerazioni di tipo economico.

Modifying uncertainty from samplig to achieve fitness for purpose: a case study on nitrate in lettuce

JA Lyn, IM Palestra, MH Ramsey, AP Damant, R. Wood

Accred Qual Assur (2007) 12:67-74

Doi 10.1007/s00769-006-0239-0



www.iss.it/sicurezza-alimentare-nutrizione-e-sanità-pubblica-veterinaria



**GRAZIE
PER L'ATTENZIONE**

barbara.desantis@iss.it

emanuela.gregori@iss.it



www.iss.it/sicurezza-alimentare-nutrizione-e-sanità-pubblica-veterinaria

