



**BioQualità**  
Laboratorio microbiologico  
e chimico

## **SANA BOLOGNA 2018**

**Botanicals and contaminants: emerging issues or new managing of existing risks?**

**Icardi Laura - *BIOQUALITÀ***

**The question of controls: sampling, methods and analysis**

September 10, 2018





**BioQualità**  
Laboratorio microbiologico  
e chimico

BioQualità di Icardi Laura  
C.so Asti, 27 Guarene CN  
Tel . 335.7482661  
Tel e fax 0173.212501  
E-mail :lauraicardi@bioqualita.com



## La chimica è una scienza giovane...

Come scienza sperimentale, nasce nel XVII secolo, quando si cominciò ad analizzare con metodo scientifico la materia e le sue trasformazioni.

Per la chimica organica si può considerare l'anno 1829 quando un processo fortunato di Friedrich Wöhler abbattè la barriera tra «chimica» e «biologia».

Contemporaneamente si definiscono i primi metodi analitici intesi in senso «moderno».

Un **metodo analitico** si può definire come una sequenza di operazioni definita e concordata per indagare una determinata proprietà o concentrazione di un analita in un campione di prova





Un metodo analitico è definito da:

- ➔ Campo di misura
- ➔ Specificità-selettività analitica
- ➔ Limite di rivelabilità
- ➔ Limite di quantificazione
- ➔ Range dinamico e lineare
- ➔ Accuratezza intesa come esattezza più precisione (quest'ultima a sua volta distinta in ripetibilità, precisione e riproducibilità)
- ➔ Incertezza di misurazione
- ➔ Robustezza.

Una cosa seria.....

L'affidabilità dei risultati analitici si può definire adeguata o almeno...nota e misurabile





BioQualità  
Laboratorio microbiologico  
e chimico

BioQualità di Icardi Laura  
C.so Asti, 27 Guarene CN  
Tel . 335.7482661  
Tel e fax 0173.212501  
E-mail :lauraicardi@bioqualita.com



tanti sforzi in laboratorio portano alla misurazione sempre più  
esatta dei parametri indagati



**NEL MATERIALE?**

**NO! NEL CAMPIONE!**

**NON È LA STESSA COSA?**

**FORSE SI...FORSE NO...DIPENDE!!!...**

**DA COSA DIPENDE?**





BioQualità  
Laboratorio microbiologico  
e chimico

BioQualità di Icardi Laura  
C.so Asti, 27 Guarene CN  
Tel . 335.7482661  
Tel e fax 0173.212501  
E-mail : lauraicardi@bioqualita.com



Nell' analisi chimica viene detto **campionamento** l'insieme di operazioni necessarie alla preparazione di un campione, ovvero la quantità di sostanza o la parte di un materiale che dovrà essere sottoposta ad analisi e che dovrà rappresentare significativamente l'intera massa.





**BioQualità**  
Laboratorio microbiologico  
e chimico

BioQualità di Icardi Laura  
C.so Asti, 27 Guarene CN  
Tel . 335.7482661  
Tel e fax 0173.212501  
E-mail :lauraicardi@bioqualita.com

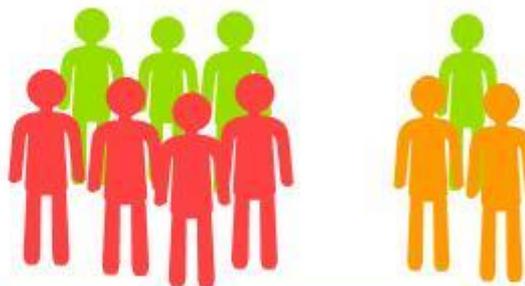


## POPOLAZIONE



**Campione  
rappresentativo**

contiene tutte le  
variabili (colori) della  
popolazione di origine



**Campioni NON  
rappresentativi**

contengono solo alcune variabili  
(colori) della popolazione di origine



BioQualità  
Laboratorio microbiologico  
e chimico

BioQualità di Icardi Laura  
C.so Asti, 27 Guarene CN  
Tel . 335.7482661  
Tel e fax 0173.212501  
E-mail : lauraicardi@bioqualita.com



## Criticità: il campione non rappresenta il materiale in modo omogeneo perché....

- ⇒ il materiale non è omogeneo
- ⇒ l'analita non è distribuito in modo omogeneo
- ⇒ i campioni elementari prelevati non erano adeguati alla disomogeneità del materiale/distribuzione dell'analita
- ⇒ difficoltà operative
- ⇒ non conoscenza della distribuzione dell'analita
- ⇒ costi di campionamento / valore del materiale
- ⇒ ecc. ecc. ecc.





BioQualità  
Laboratorio microbiologico  
e chimico

BioQualità di Icardi Laura  
C.so Asti, 27 Guarene CN  
Tel . 335.7482661  
Tel e fax 0173.212501  
E-mail :lauraicardi@bioqualita.com



**Il trasporto e la conservazione del campione prima dell'analisi comportano problemi di mantenimento delle caratteristiche chimiche, fisiche o biologiche del campione.**

Conservare il campione in modo tale che la sua composizione non subisca variazioni nel tempo può risultare difficile: moltissimi sono i fattori che possono alterarlo

⇒ il materiale del contenitore

⇒ la presenza di umidità, di ossigeno e di anidride carbonica

⇒ l'esposizione alla luce o al calore

... senza parlare di casi particolari in cui nel campione fossero in atto lente reazioni chimiche o crescite microbiologiche.





## IMPORTANTISSIMO

se l'analita non è stabile, o non è stabile la massa da cui deriva il campione, perché quest'ultimo sia rappresentativo della massa campionata, deve essere analizzato entro tempi adeguati.

In pratica, l'analisi è una fotografia al tempo del campionamento....

Se campione/analita/massa non sono stabili e l'analisi non è rapida  
i dati analitici non servono più a descrivere la massa!!!



## Criticità: il campione al momento dell'analisi, non rappresenta più il materiale originale.....

- ⇒ attività chimiche
- ⇒ attività microbiologiche
- ⇒ decadimenti naturali



possono avere vicendevolmente effetto sia su parametri chimici che microbiologici.....



Ma quanto incide il campionamento sull'errore globale della prova?

Stima dell'errore campionario....

$$ES(\bar{y}_{ccs}) = \frac{s}{\sqrt{n}} \cdot \sqrt{\frac{N-n}{N-1}} \quad \text{oppure}$$

$$ES(\bar{y}_{ccs}) = \sqrt{(1-f) \frac{s^2}{n}}$$

La stima dell'errore campionario nel caso di dati provenienti da campionamento casuale semplice è pari a:

**Errore campionario** → 
$$e = t_{\frac{\alpha}{2}} \cdot ES = t_{\frac{\alpha}{2}} \cdot \frac{s}{\sqrt{n}} \cdot \sqrt{\frac{N-n}{N-1}}$$

dove  $t_{\alpha/2}$  è il quantile della distribuzione t di Student legato al livello di fiducia della stima. Per n sufficientemente grande (n>100) si può ricorrere all'approssimazione normale (per esempio, nel caso di un livello di fiducia pari al 95% vale approssimativamente 1,96).

Livello di fiducia 1-α	$t_{\alpha/2}$ n=50	$Z_{\alpha/2}$
0,90	1,6759	1,68
0,95	2,0086	1,96
0,99	2,6778	2,58



Sulla base della sua stima si deduce che l'errore campionario è tanto più grande:

⇒ **quanto maggiore è il livello di fiducia** che si ha nella stima - i valori dei coefficienti  $t$  ( $z$ ) crescono al crescere del livello di fiducia

⇒ **quanto più elevata è la variabilità della caratteristica studiata nella popolazione** - che si riflette nella variabilità della caratteristica osservata sul campione

⇒ **quanto minore è la dimensione del campione** - legata alla varianza campionaria secondo una proporzione inversa



BioQualità  
Laboratorio microbiologico  
e chimico

BioQualità di Icardi Laura  
C.so Asti, 27 Guarene CN  
Tel . 335.7482661  
Tel e fax 0173.212501  
E-mail :lauraicardi@bioqualita.com



La frazione di campionamento svolge un ruolo trascurabile sulla precisione delle stime.

**Il ruolo principale è svolto dalla dimensione assoluta del campione  $n$ .**

*Quale dimensione dovrebbe avere il campione affinché la precisione delle stime sia pari o non inferiore ad un prefissato valore?*

A questa domanda è possibile rispondere, ma a condizione di disporre di informazioni precise sulla varianza elementare della popolazione relativamente al carattere di maggiore interesse nell'indagine

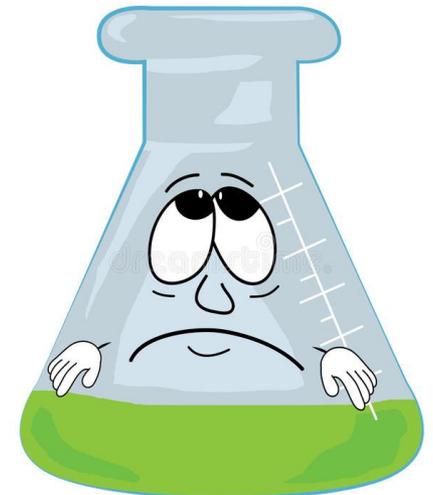




**Riepilogando**, per il calcolo della numerosità campionaria si devono conoscere:

- ⇒ il livello di significatività che vogliamo per le nostre stime
- ⇒ l'intervallo che accettiamo per le nostre stime ( $\pm$ )
- ⇒ il valore della varianza della popolazione
- ⇒ la numerosità della popolazione

Per le analisi alimentari.....stime  
USDA/GIPSA... stimano l'errore associato  
al campionamento fino al 90%!!!!!!!





BioQualità  
Laboratorio microbiologico  
e chimico

BioQualità di Icardi Laura  
C.so Asti, 27 Guarene CN  
Tel . 335.7482661  
Tel e fax 0173.212501  
E-mail :lauraicardi@bioqualita.com



## Prove sperimentali condotte dal laboratorio BIOQUALITÀ:

Dati da campioni eseguiti su matrice omogenea o presumibile omogenea: **piccola piscina privata**  
parametro indagato: **pH in piscina**



### Prova A:

⇒ un solo operatore esperto sulla prova



⇒ prove eseguite dallo stesso analista in rapida successione



Stesso errore sul campionamento + conoscenza sulla varianza

Stesso errore sulla prova

### Prova B:

⇒ Più operatori non esperti sulla prova



⇒ prove eseguite dallo stesso analista in rapida successione



Diverso errore sul campionamento + nessuna conoscenza sulla varianza

Stesso errore sulla prova

### Prova C:

⇒ un solo operatore non esperto (padrone della vasca)

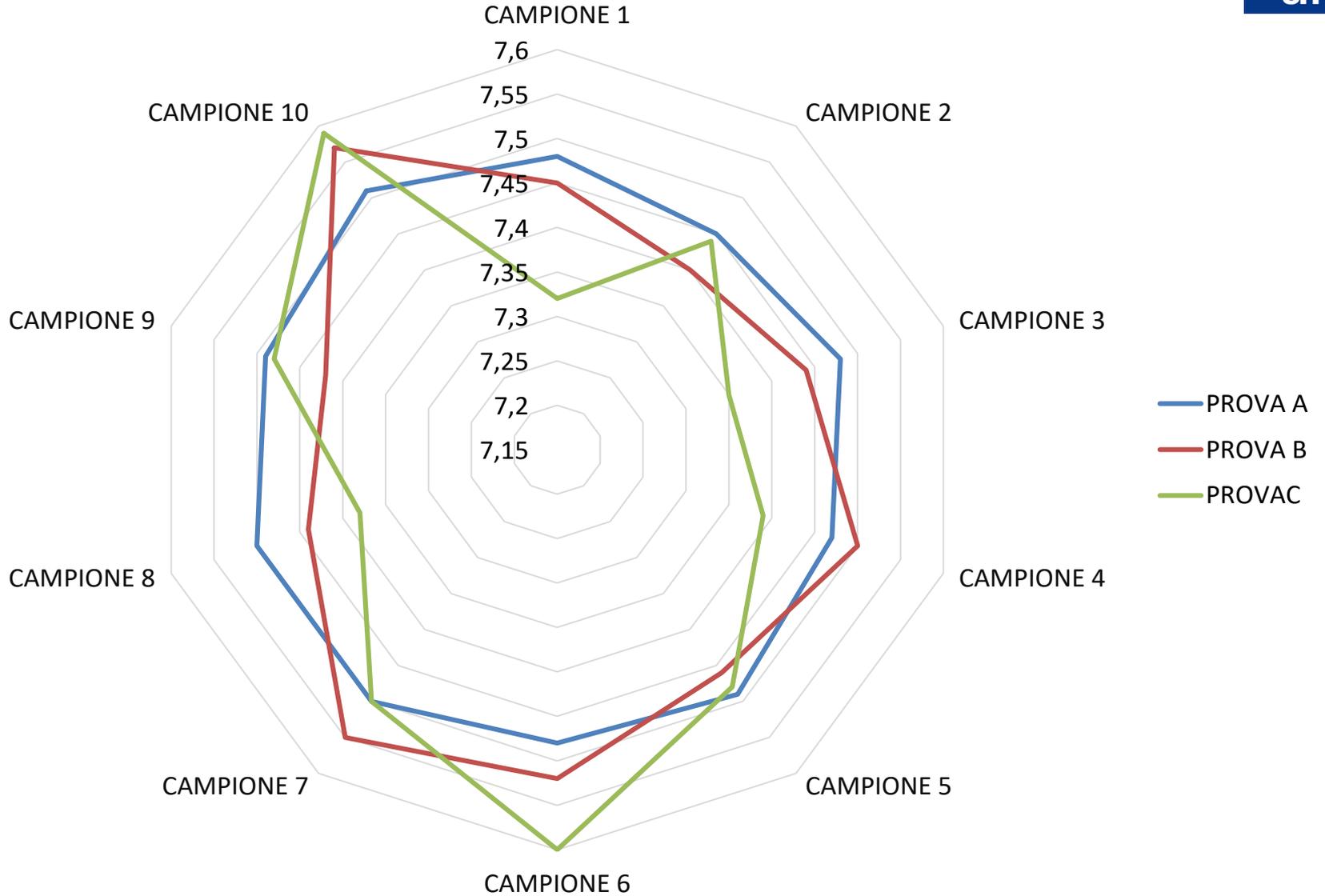


⇒ prove eseguite dallo stesso analista in rapida successione



Stesso errore sul campionamento + nessuna conoscenza sulla varianza

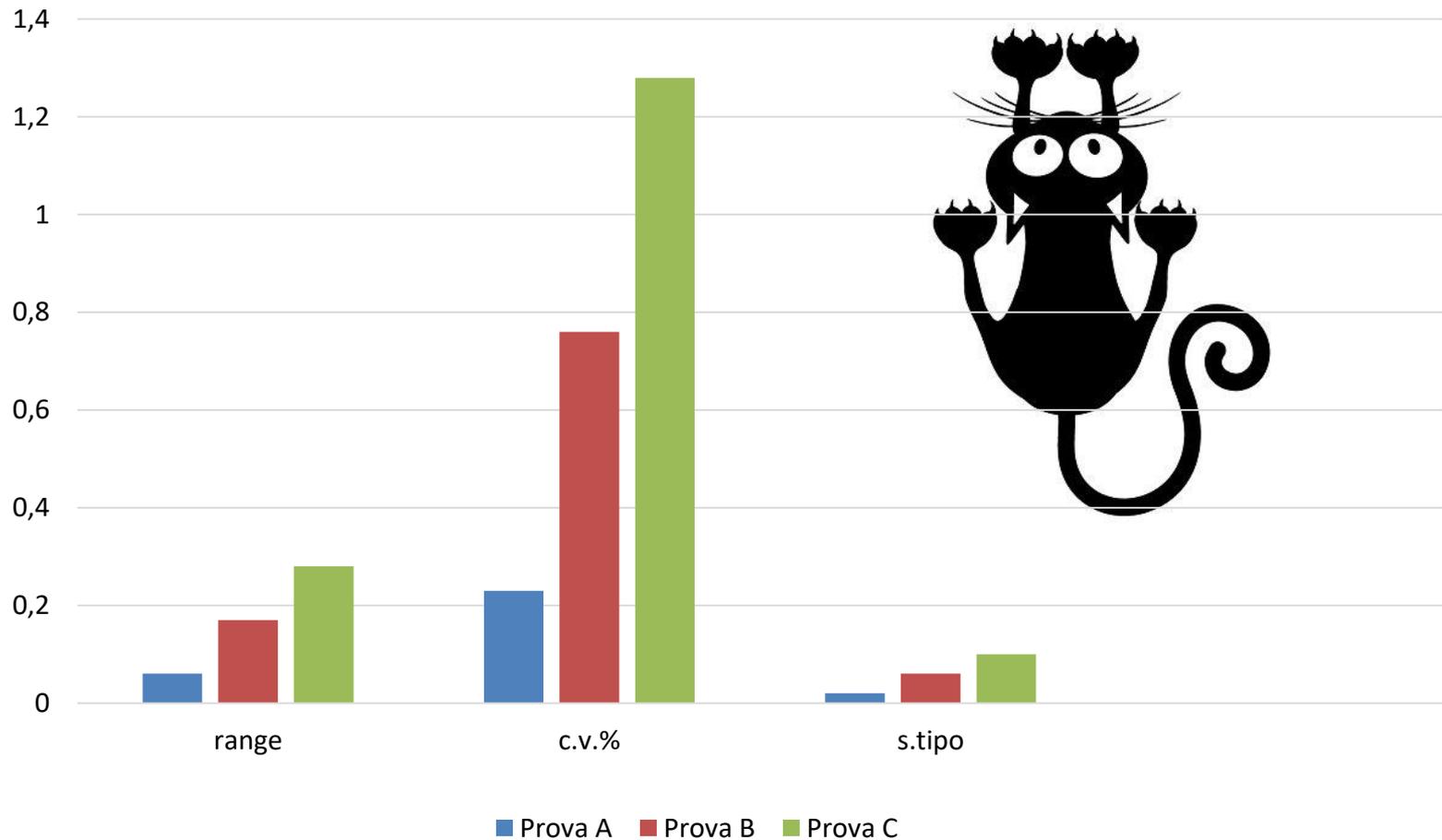
Stesso errore sulla prova





	Prova A	Prova B	Prova C
Valore minimo	7,45	7,40	7,32
Valore massimo	7,51	7,57	7,60
Intervallo (range)	0,06	0,17	0,28
media	7,485	7,475	7,453
mediana	7,485	7,455	7,46
varianza	0,00029	0,00325	0,00909
scarto tipo	0,017	0,057	0,095
Coefficiente variazione %	0,229	0,763	1,279







**BioQualità**  
Laboratorio microbiologico  
e chimico

BioQualità di Icardi Laura  
C.so Asti, 27 Guarene CN  
Tel . 335.7482661  
Tel e fax 0173.212501  
E-mail :lauraicardi@bioqualita.com



## **La varianza del parametro era presumibile considerando dati quali**

- ⇒ la clorazione della piscina era realizzata con pastiglie di cloro inserite in un cestello della pompa di circolazione
- ⇒ la pompa di circolazione aveva una bassa potenza
- ⇒ era presente un solo punto di aspirazione e un solo punto di immissione sul lato corto
- ⇒ la temperatura dell'acqua era più elevata in superficie

pertanto.....

Con una scarsa circolazione, una vasca relativamente grande e una temperatura dell'acqua disomogenea...anche per una massa considerabile ad «occhio» omogenea e un parametro di bassa variabilità...si sono evidenziate difformità percepibili



**BioQualità**  
Laboratorio microbiologico  
e chimico

BioQualità di Icardi Laura  
C.so Asti, 27 Guarene CN  
Tel . 335.7482661  
Tel e fax 0173.212501  
E-mail :lauraicardi@bioqualita.com



### **Prova A:**

- ⇒ l'operatore esperto ha azionato la pompa di filtraggio a vuoto per 1 ora prima di effettuare i campioni
- ⇒ ha prelevato in più punti, conferito le aliquote in un grande contenitore e quindi prelevato i 10 campioni

### **Prova B:**

- ⇒ i diversi operatori non esperti sulla prova hanno campionato in punti diversi, chi vicino alla mandata, chi sul fondo, chi in superficie cercando punti più possibile sparpagliati

### **Prova C:**

- ⇒ L'operatore non esperto ha campionato 10 bottigliette in diversi punti intorno alla vasca e non ha utilizzato i guanti



BioQualità  
Laboratorio microbiologico  
e chimico

BioQualità di Icardi Laura  
C.so Asti, 27 Guarene CN  
Tel . 335.7482661  
Tel e fax 0173.212501  
E-mail :lauraicardi@bioqualita.com

ASSO  
ERBE



## Prove sperimentali condotte dal laboratorio BIOQUALITÀ

Dati da campioni eseguiti su matrice disomogenea o presumibile disomogenea: **carro con grano appena raccolto**  
parametro indagato: **DON**





## Prova A:

- ⇒ un solo operatore esperto sulla prova
- ⇒ prove eseguite dallo stesso analista in rapida successione



**Stesso errore sul campionamento + conoscenza sulla varianza**  
**Stesso errore sulla prova**

## Prova B:

- ⇒ Più operatori non esperti sulla prova
- ⇒ prove eseguite dallo stesso analista in rapida successione



**Diverso errore sul campionamento + nessuna conoscenza sulla varianza**  
**Stesso errore sulla prova**

## Prova C:

- ⇒ diversi operatori esperti e non esperti
- ⇒ campioni eseguiti in tempi diversi (raccolta – mulino – stoccaggio)
- ⇒ prove eseguite da diversi analisti/laboratori con metodi diversi

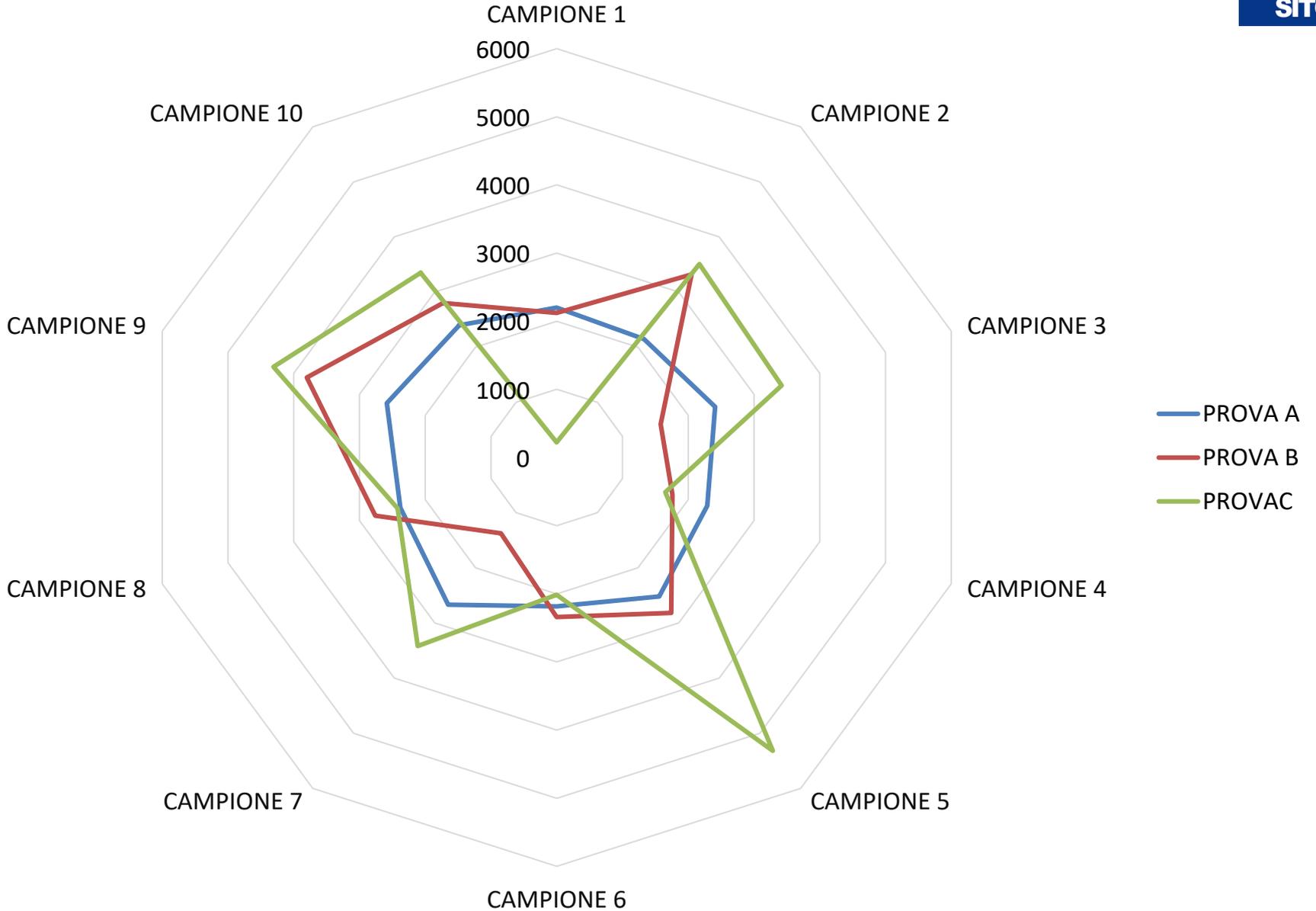


**Stesso errore sul campionamento +/- conoscenza sulla varianza**  
**Diverso errore sulla prova + diverse performance dei metodi**



**BioQualità**  
Laboratorio microbiologico  
e chimico

BioQualità di Icardi Laura  
C.so Asti, 27 Guarene CN  
Tel . 335.7482661  
Tel e fax 0173.212501  
E-mail :lauraicardi@bioqualita.com





**BioQualità**  
Laboratorio microbiologico  
e chimico

BioQualità di Icardi Laura  
C.so Asti, 27 Guarene CN  
Tel . 335.7482661  
Tel e fax 0173.212501  
E-mail :lauraicardi@bioqualita.com



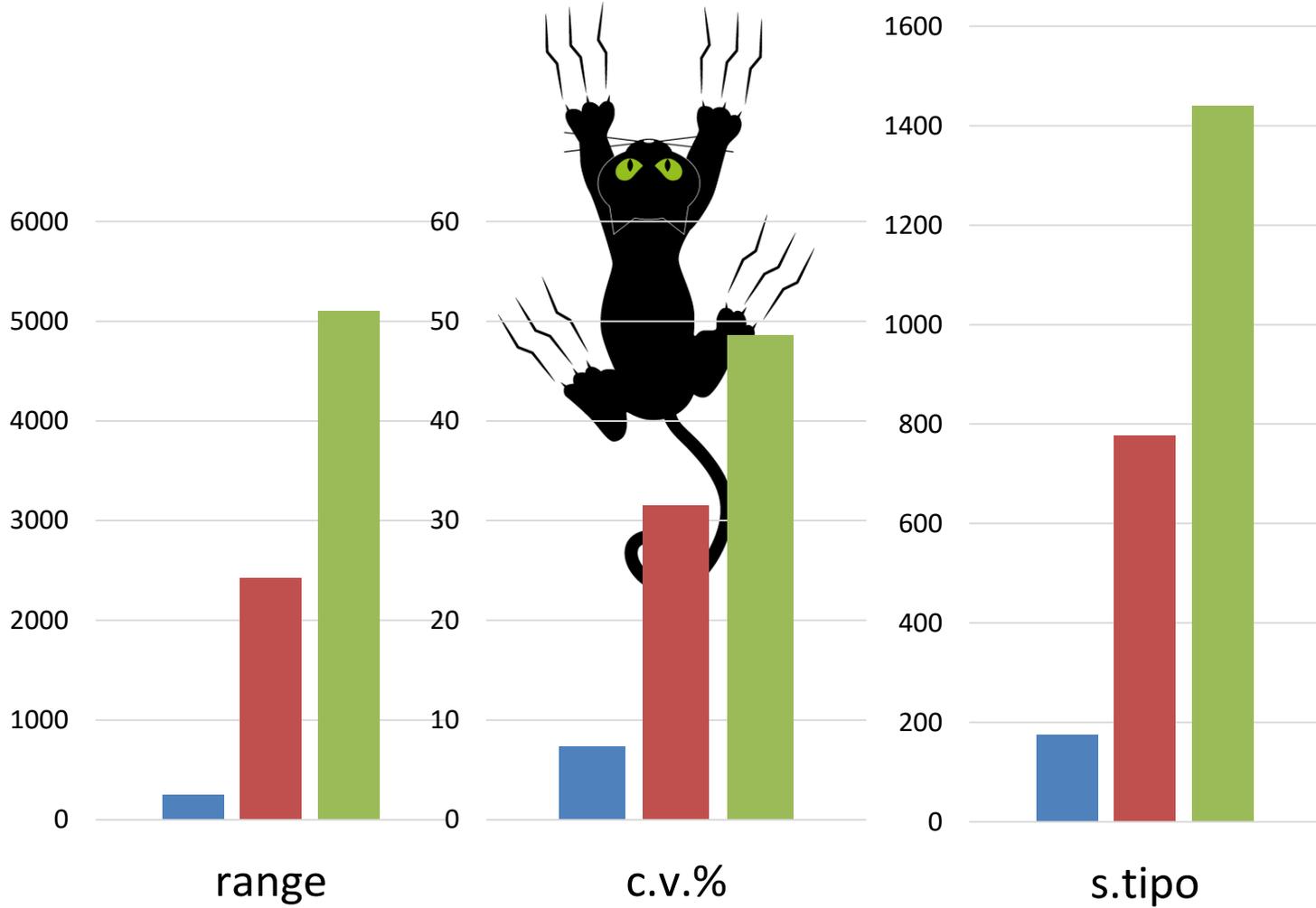
	Prova A	Prova B	Prova C
Valore minimo	2150	1375	222
Valore massimo	2670	3800	5320
Intervallo (range)	520	2425	5098
media	2379	2468	2963
mediana	2390	2550	3385
varianza	30877	604796	2073739
scarto tipo	175,6	777,7	1440
Coefficiente variazione %	7,38	31,5	48,6





**BioQualità**  
Laboratorio microbiologico  
e chimico

BioQualità di Icardi Laura  
C.so Asti, 27 Guarene CN  
Tel . 335.7482661  
Tel e fax 0173.212501  
E-mail :lauraicardi@bioqualita.com





**BioQualità**  
Laboratorio microbiologico  
e chimico

BioQualità di Icardi Laura  
C.so Asti, 27 Guarene CN  
Tel . 335.7482661  
Tel e fax 0173.212501  
E-mail :lauraicardi@bioqualita.com



### **Prova A:**

⇒ L'operatore esperto ha campionato in molti punti utilizzando un asta apposita, ha raccolto un campione di 10 Kg, lo ha miscelato a lungo e quindi ha prelevato 10 campioni da 1Kg ciascuno

### **Prova B:**

⇒ Ogni operatore ha proceduto in modo diverso, con strumenti diversi e soprattutto ha prelevato quantità diverse

### **Prova C:**

⇒ Anche diversi operatori esperti hanno prelevato in modi diversi e quantità diverse anche se tutti hanno cercato di ottenere un campione globale prelevando in più punti

⇒ prove eseguite da diversi analisti/laboratori con metodi diversi hanno ulteriormente complicato la situazione



BioQualità  
Laboratorio microbiologico  
e chimico

BioQualità di Icardi Laura  
C.so Asti, 27 Guarene CN  
Tel . 335.7482661  
Tel e fax 0173.212501  
E-mail :lauraicardi@bioqualita.com



## Concludendo...

dal momento che la numerosità dei campioni è (per motivi economico operativi) è quasi sempre = **1**

la distribuzione dell'analita nel campione è la principale causa di variabilità

**conoscere la variabilità e operare di conseguenza è l'unico modo per ridurre l'errore associato al campionamento!!!**





**BioQualità**  
Laboratorio microbiologico  
e chimico

BioQualità di Icardi Laura  
C.so Asti, 27 Guarene CN  
Tel . 335.7482661  
Tel e fax 0173.212501  
E-mail :lauraicardi@bioqualita.com



Spesso nelle normali attività di controllo e autocontrollo manca

- ⇒ informazione dell'addetto al campionamento
- ⇒ mezzi e strumenti di campionamento adeguati
- ⇒ numerosità campionaria adeguata all'indagine o campione globale preparato da un numero adeguato di aliquote





BioQualità  
Laboratorio microbiologico  
e chimico

BioQualità di Icardi Laura  
C.so Asti, 27 Guarene CN  
Tel . 335.7482661  
Tel e fax 0173.212501  
E-mail :lauraicardi@bioqualita.com



Inoltre si dimentica troppo spesso...

⇒ il contenitore adatto



⇒ la quantità rappresentativa



⇒ un adeguato trasporto e conservazione



⇒ di definire adeguati tempi tra prelievo e analisi.....





**BioQualità**  
Laboratorio microbiologico  
e chimico

BioQualità di Icardi Laura  
C.so Asti, 27 Guarene CN  
Tel . 335.7482661  
Tel e fax 0173.212501  
E-mail :lauraicardi@bioqualita.com



**Grazie per l'invito e per l'attenzione !**



**Dr. Laura Icardi**

