

La Chimica analitica è la scienza della informazione chimica: si occupa di sviluppare e applicare metodi, strumenti e strategie per ottenere informazioni sulla composizione e natura della materia. L'informazione chimica consiste nella conoscenza della qualità e della quantità delle specie chimiche che costituiscono il sistema di interesse. Una **misurazione** (o determinazione analitica) è l'insieme di operazioni materiali e di calcolo compiute mediante i dispositivi posti ad interagire col sistema misurato allo scopo di assegnare una misura ad una grandezza definita come parametro del sistema. Una **misura** (risultato o dato sperimentale) è un'informazione costituita da un numero, un'incertezza (ci dice l'errore associato alla nostra misura) e un'unità di misura relativa a un parametro determinato del sistema studiato. E' il risultato (numerico) della misurazione. Il **campione** è una porzione del materiale da analizzare. *Spesso il campione viene suddiviso in più porzioni, dette aliquote*, per poter ripetere e controllare le analisi. La componente del campione di interesse per una particolare analisi viene chiamata analita. La matrice del campione è costituita da tutte le componenti del campione escluso l'analita di interesse (sostanze interferenti, reagenti, solventi).

La chimica analitica si occupa di sviluppare e applicare metodi, strumenti e strategie per ottenere informazioni sulla composizione e natura della materia, sulla identificazione e quantificazione delle diverse specie....

- **Analisi qualitativa**: determinazione della presenza di una o più specie chimiche in un campione
- **Analisi quantitativa**: determinazione della quantità di una data specie presente in un campione

Il processo chimico-analitico – Problema analitico

- Definizione del sistema chimico-analitico e degli obiettivi dell'analisi
 - Definizione delle specie chimiche da determinare, dei livelli di concentrazione entro cui ha interesse la determinazione e definizione dell'accuratezza attesa
 - Selezione del metodo analitico (sceglie ciò su cui effettuare le misurazioni di controllo)
 - Definire quale è il grado di errore che noi vogliamo accettare nei nostri risultati
- Es. controllo qualità delle acque (effettuare delle misurazioni se per esempio a livello dell'impianto industriale se sono presenti degli inquinanti che vanno ad intaccare il corso d'acqua)
Es. monitoraggio stato di salute delle piante

Il processo chimico-analitico – Campionamento

Il campionamento è il processo attraverso il quale si ottiene un campione rappresentativo del sistema da studiare (su cui effettuare le misurazioni). Il risultato del campionamento è un campione omogeneo, sufficientemente piccolo da essere analizzato in laboratorio e la cui composizione sia il più possibile uguale alla composizione media del sistema in analisi.

Popolazione → campione grossolano → campione da laboratorio

Il processo chimico-analitico – Preparazione campione

La preparazione o trattamento del campione è l'insieme di operazioni analitiche che trasformano il campione grossolano in una forma adatta all'analisi chimica (campione da laboratorio).

Es: per la determinazione colorimetrica della concentrazione di Fe nell'acqua fluviale occorrono le seguenti operazioni analitiche: H₂SO₄ - 1,10-ortofenantrolina - Idrossilammina cloridrato e Tampone acetico

→ La **DILUIZIONE**, detta in gergo 'PORTARE A VOLUME': è l'operazione analitica attraverso cui un campione, generalmente in soluzione, viene posto in un recipiente tarato, in genere un matraccio, e progressivamente diluito attraverso aggiunte di solvente, fino a raggiungere la tacca di taratura.

Es. per determinare la massa dei pigmenti fotosintetici nelle foglie di spinaci occorrono le seguenti operazioni analitiche:

→ **FRANTUMAZIONE** e **MACINAZIONE**: sono operazioni necessarie per ridurre le dimensioni delle particelle di campioni solidi

→ **MISCELAMENTO**: è necessario che i materiali solidi siano accuratamente miscelati per assicurare una distribuzione casuale dei componenti (omogeneità)

→ **L'ESTRAZIONE**: con solvente è l'operazione analitica che consiste nel trasferimento di un soluto da una fase ad un'altra

→ la **FILTRAZIONE PER GRAVITÀ**: è l'operazione che consente la separazione di una fase solida (precipitato) da una fase liquida (filtrato), mediante la percolazione della soluzione attraverso un filtro poroso permeabile solo al liquido.

Il processo chimico-analitico – Misurazione

- i risultati analitici dipendono dalla misurazione di una proprietà (P) fisica o chimica dell'analita
- P deve variare in modo noto e riproducibile al variare della concentrazione C dell'analita

Il **SEGNALE** è la quantità fisica che misuriamo a livello strumentale

Ogni segnale è costituito da 2 contributi:

- il primo originato dall'analita (sostanza da determinare)
- il secondo generato da altri componenti (interferenti) del campione (la matrice) e dalla strumentazione usata per la misurazione (RUMORE)

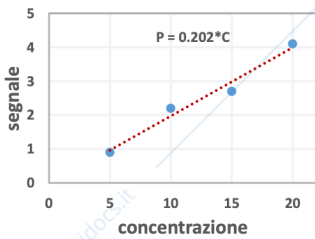
Il processo chimico-analitico – Elaborazione dati

CALIBRAZIONE: processo attraverso il quale si stabilisce la relazione funzionale univoca e riproducibile tra la quantità fisica misurata (segnale P) e la quantità chimica di interesse (concentrazione C).

$$P = f(C)$$

$$P = kC$$

Il segnale misurato deve dipendere dalla concentrazione dell'analita



Prepariamo 4 soluzioni a concentrazione crescente di analita

- La prima a 5 ppm
- La seconda a 10 ppm
- La terza a 15 ppm
- La quarta a 20 ppm

Di ognuna si misura il segnale e notiamo che della prima è 1, della seconda è 2, della terza è poco meno di 3 e dell'ultima è 4. Il grafico esprime la dipendenza lineare tra il segnale e la concentrazione. Man mano che aumenta la concentrazione il segnale aumenta in modo proporzionale.

Il processo chimico-analitico – Interpretazione e decisione

- valutare le limitazioni del risultato: occorre stimare l'attendibilità dei risultati (in termini di precisione e accuratezza) e fornire quindi una misura delle incertezze associate ai risultati.
- l'incertezza di una misurazione è importante tanto quanto la misurazione stessa: fornisce informazioni riguardanti l'affidabilità della misurazione.

Capire quale è l'incertezza associata al risultato

—> Il campione è una porzione del materiale da analizzare. Spesso il campione viene suddiviso in più porzioni, dette aliquote, per poter ripetere e controllare le analisi => **REPLICA:** è una misurazione ripetuta eseguita sullo stesso campione. Es. si misura la concentrazione di un analita in più aliquote (porzioni) identiche del campione. ... le repliche permettono di determinare la variabilità (incertezza) dell'analisi...

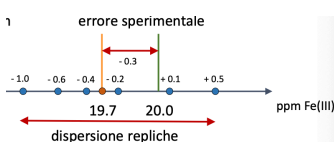
Processo di misura

ESEMPIO: Sei porzioni uguali (aliquote) di una soluzione standard (soluzione di cui noi conosciamo la concentrazione, si prepara in lab o si prende ma si sa con certezza la concentrazione) contenente una concentrazione nota di 20.0 ppm di Fe(III) vengono analizzate con una nuova procedura analitica.

I risultati ottenuti (ppm) sono: 20.1 - 19.0 - 19.4 - 19.8 - 20.5 - 19.6

In generale, misurazioni ripetute della stessa quantità di analita danno risultati diversi, ho degli errori che mi causano le oscillazioni dei valori. Perché i valori misurati si discostano dalla concentrazione nota di 20.0 ppm? Perché a ogni misurazione ho degli errori. La procedura analitica è adeguata?

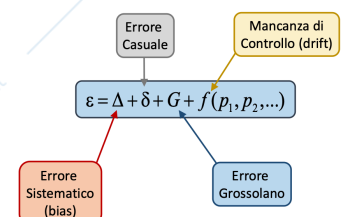
Se si hanno 6 repliche che ci danno risultati diversi e vogliamo una stima della concentrazione di ferro possiamo fare una media dei valori ottenuti = **Media aritmetica:** è la stima più affidabile del valore vero. La media è un indice di tendenza centrale (gli indici di tendenza centrale sono quantità statistiche fondamentali utili per la stima del valore centrale dei dati) dove N = numero di aliquote e Xi rappresenta una delle 6 repliche. Il valore medio è: 19.7 ppm. Il valore noto è: 20.0 ppm.



Il risultato che noi otteniamo lo possiamo valutare secondo due punti di vista:

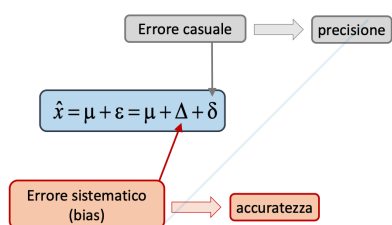
1. La distanza che c'è tra la media calcolata e il valore vero, più queste due quantità sono in accordo meglio è —> **accuratezza**
2. Dispersione delle mie repliche —> **precisione** = grado di accordo che c'è tra le misurazioni replicate

La misurazione avrà sempre uno scostamento = errore, rispetto al valore vero che stiamo misurando. L'errore è la differenza tra la nostra misura e il valore vero della grandezza che stiamo cercando. In un mondo ideale l'errore è zero ma non è mai così, si avrà sempre un errore che può essere scomposto in più componenti: ci sono più tipologie di errore che concorrono tutti insieme nell'errore complessivo. Gli errori più importanti sono gli errori sistematici e casuali.



- Errore sistematico (bias) → è un errore riproducibile, che si ripresenta sempre nello stesso modo (con stesso ordine di grandezza e stesso segno), è possibile individuarlo ed eliminarlo.
- Errore casuale → NON si presenta sempre nello stesso modo, NON è possibile individuarlo ed eliminarlo; è sempre presente, ma è possibile minimizzarlo.
- Mancanza di controllo (drift) → ex: variabilità dovuta a condizioni ambientali del laboratorio, che hanno effetto sulla misurazione; con attenzione, sono eliminabili.
- Errore grossolano → errori grandi ed evidenti, quindi eliminabili (errori di scrittura dei dati, errori nelle conversioni delle unità di misura, etc...)

Se non si considerano gli ultimi due errori, l'errore è dato dalla precisione e dall'accuratezza



La **precisione** rappresenta l'accordo tra misure ripetute della stessa grandezza (repliche) effettuate nelle stesse condizioni (ripetibilità o riproducibilità). La precisione di una misura dipende dagli errori casuali.

L'**accuratezza** rappresenta l'accordo tra il valore sperimentale misurato (singolo o medio) e il valore "vero" (o accettato) della grandezza misurata. L'accuratezza di una misura dipende principalmente dagli errori sistematici.

ACCURATEZZA

L'accuratezza esprime la vicinanza del risultato al valore "vero" della grandezza misurata.

$$\hat{x} - \mu = \Delta + \delta$$

L'accuratezza del singolo risultato sperimentale comprende sia l'errore sistematico che quello casuale.

Se il risultato è calcolato come valor medio di un numero sufficiente di misure replicate, l'errore sistematico (bias) può essere preso come misura dell'accuratezza.

$$\bar{x} - \mu = \Delta + \min(\delta)$$

L'accuratezza si stima mediante confronto tra il valore sperimentale e il valore di riferimento μ (valore di uno standard o di un metodo alternativo):

1. analizzando campioni di composizione accuratamente nota (materiali standard di riferimento certificati)
2. analizzando campioni in bianco (che non contengono nessuno degli analiti)
3. utilizzando un metodo analitico diverso per misurare la stessa quantità

Errore assoluto

$$\varepsilon_{ASS} = \bar{x} - \mu$$

Errore relativo

$$\varepsilon_{REL} = \frac{\bar{x} - \mu}{\mu} \cdot 100$$

Bianco = soluzione che contiene solvente e reagente, ma non l'analita d'interesse

Errori sistematici

- errori personali: sono dovuti a distrazione o non conoscenza della corretta procedura (bolle d'aria nel rubinetto della buretta, errori di parallasse, ecc.).
- errori 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, presenza di interferenti, etc..).
- errori strumentali: sono dovuti a inesatta calibrazione o utilizzazione impropria della vetreria e degli strumenti di misura, all'uso di strumenti non idonei, ecc.

PRECISIONE

Misure sperimentali ripetute su "aliquote identiche dello stesso campione" in "identiche circostanze" non forniscono, in generale, risultati identici → errori casuali; la precisione descrive la riproducibilità della misurazione.

Gli errori casuali (detti anche indeterminati o "random"), causano una dispersione più o meno simmetrica dei dati intorno al valore medio. 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. Gli errori casuali non possono essere eliminati, anche se possono essere ridotti operando con cura. Occorre limitare queste sorgenti, per portare la metodica in condizioni di riproducibilità.

ESEMPIO: calibrazione di una pipetta da 10 (± 0.02) mL (mediante 50 misure), i risultati (tutti diversi tra loro, infatti per fare una migliore stima del volume faccio la media dei valori) ottenuti mediante misurazioni ripetute di una quantità sperimentale seguono generalmente una distribuzione gaussiana. L'errore casuale può essere stimato mediante una serie di misurazioni replicate (n), calcolando indici di dispersione: quantità statistiche fondamentali utili per la stima della dispersione dei dati. La deviazione standard è la radice quadrata della varianza. La deviazione standard misura la tendenza delle repliche a distribuirsi intorno alla media, più è piccola, tanto più le repliche si raggruppano vicino alla media. —> Coefficiente di variazione: $CV\% = s/x * 100$, è una misura relativa adimensionale, ed è il rapporto tra la deviazione standard e la media; il coefficiente di variazione varia in funzione della variazione standard. L'incertezza di una singola misura non è nota; ma l'errore casuale può essere minimizzato replicando le misurazioni: effetto di compensazione. Le repliche, oltre un certo numero n , non hanno un effetto rilevante nel migliorare la stima dell'errore casuale.

Cifre significative e propagazione dell'incertezza

In base alla convenzione sulle cifre significative, ogni misura deve essere scritta utilizzando tutte le cifre significative.

All'ultima cifra significativa è associata un'incertezza.

Le cifre significative sono quindi tutte le cifre certe più la prima cifra incerta (ovvero la cifra su cui cade l'incertezza sperimentale).

Letture di una misura: evitare di perdere cifre significative nel processo di lettura!

Riportare la lettura approssimando al decimo più vicino della distanza tra due tacche successive; si ottiene una cifra significativa in più!

Gli zeri all'inizio del numero non sono mai cifre significative in quanto determinano solamente la posizione della virgola decimale. Gli zeri sono significativi solo se:

- si trovano nel numero tra due cifre significative;
- si trovano alla fine del numero e a destra della virgola decimale

Arrotondamenti

Quando si sopprime una cifra in quanto non significativa, la cifra precedente deve essere:

- aumentata di 1 se la cifra eliminata è maggiore di 5;
- deve essere lasciata inalterata se la cifra eliminata è minore di 5;
- se la cifra soppressa è uguale a 5, arrotondare alla cifra pari più vicina.

Arrotondamenti: solo sul risultato finale, non sui risultati di calcolo intermedi

Come riportare un risultato sperimentale: media (\pm incertezza assoluta) es 25.66 (± 0.03). In presenza di repliche, l'incertezza può essere stimata come deviazione standard o intervallo di confidenza. N.B. Si può non riportare l'incertezza se si esprime il risultato con il corretto numero di cifre significative. In questo caso, si assume l'incertezza (± 1) sull'ultima cifra significativa! Es 25.66 \Rightarrow 25.66 (± 0.01).

- incertezza assoluta e risultato devono terminare alla stessa cifra decimale
- la prima cifra dell'incertezza individua l'ultima cifra significativa del risultato
 1. stimo l'incertezza
 2. identifico l'ultima cifra significativa
 3. scrivo il valore della misura in accordo

Propagazione dell'incertezza

Spesso è necessario calcolare l'incertezza di un risultato ottenuto, mediante operazioni aritmetiche, da 2 o più dati sperimentali di cui è nota l'incertezza assoluta. Es: incertezza di una concentrazione, che è il risultato di una operazione aritmetica tra massa di soluto e volume di soluzione, a cui sono associati le incertezze delle misure derivanti dagli strumenti analitici (bilancia e dispositivi volumetrici).

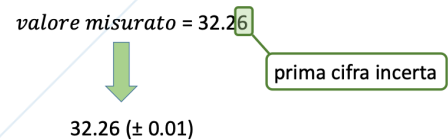
- Nelle operazioni di addizione/sottrazione: dopo aver espresso tutti i numeri con lo stesso esponente, il risultato deve avere tante cifre decimali quante il numero che ha meno cifre decimali.
- Nelle operazioni di moltiplicazione/divisione: il risultato deve avere tante cifre significative quante il numero che contiene meno cifre significative.

Assunzione: le misurazioni delle grandezze nell'operazione sono indipendenti e affette solo da errori casuali.

Conclusioni

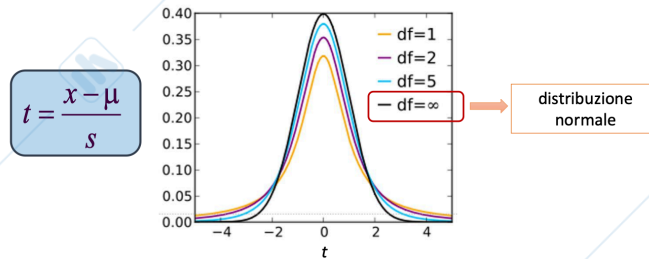
Il calcolo dell'incertezza cambia in funzione del processo di misura

- incertezza di una singola misura strumentale (tolleranza/sensibilità dello strumento)
- incertezza di una misura come risultato di un'operazione aritmetica, ad esempio la concentrazione in una soluzione (regole di propagazione dell'incertezza)
- incertezza associata ad una serie di misurazioni replicate di una grandezza (deviazione standard o intervallo di fiducia)

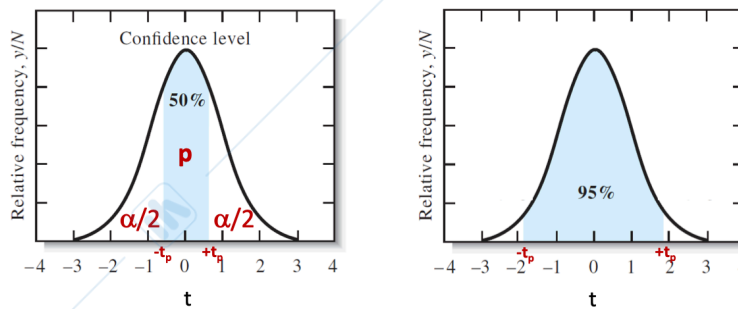


Intervalli di fiducia

Gli intervalli di fiducia rappresentano un'altra modalità per esprimere l'incertezza (precisione) del risultato (legata ad un livello di fiducia). Per definirli, occorre introdurre il concetto di distribuzione di probabilità (in particolare, la distribuzione normale o Gaussiana, la distribuzione z normale standard e la distribuzione t di Student). Per un piccolo campione o stime ottenute da poche ripetizioni, si approssima la distribuzione normale standard con la distribuzione t di Student.

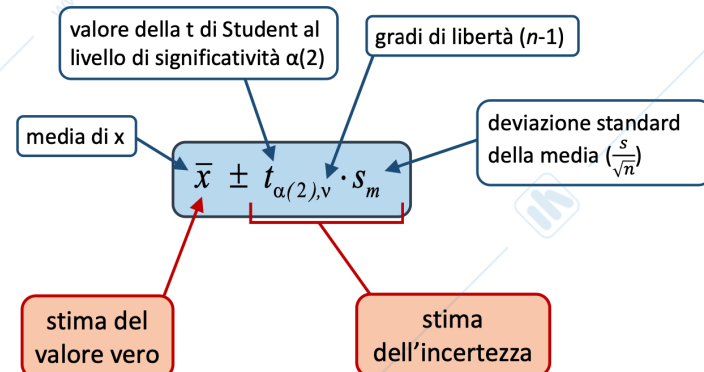


Determinare il valore vero (μ) della grandezza misurata è impossibile (richiederebbe infinite misurazioni): possiamo però stabilire un intervallo intorno alla media sperimentale (\bar{x}) all'interno del quale si prevede che si trovi μ (con una certa probabilità). Tale intervallo si chiama intervallo di fiducia (confidenza).
 Livello di fiducia (confidenza): è la probabilità (p) che il valore vero (μ) della grandezza misurata sia incluso nell'intervallo tra i valori $-t_p$ e $+t_p$. Si esprime come $1 - \alpha$ (α si chiama livello di significatività).



Intervalli di fiducia della media

$$\bar{x} - t_p \cdot \frac{s}{\sqrt{n}} < \mu < \bar{x} + t_p \cdot \frac{s}{\sqrt{n}} \quad \rightarrow \quad \text{Intervallo di fiducia intorno alla media } \bar{x} \text{ ottenuta da } n \text{ repliche}$$



ESEMPIO:

Un chimico ha ottenuto i seguenti risultati relativi al contenuto di alcool (C₂H₅OH) in un campione di sangue: 0.084% 0.089% 0.079%. Calcolare l'intervallo di fiducia della media al 95% e al 99%, assumendo che i 3 risultati siano l'unico modo per stimare la precisione del metodo.

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^3 x_i}{3} = 0.084\%$$

$$s = 0.005\%$$

$$\bar{x} \pm \frac{t_{0.05(2),2} \cdot s}{\sqrt{n}} = 0.084 \pm \frac{4.303 \times 0.005}{\sqrt{3}} = 0.084 \pm 0.012\%$$

$$\bar{x} \pm \frac{t_{0.01(2),2} \cdot s}{\sqrt{n}} = 0.084 \pm \frac{9.925 \times 0.005}{\sqrt{3}} = 0.084 \pm 0.029\%$$

Test statistici per la chimica analitica

I test statistici (o test delle ipotesi) sono strumenti statistici ideati per verificare ipotesi di lavoro, per assegnare un valore di probabilità ai risultati, per individuare effetti non casuali.

Un test statistico implica sempre la formulazione di un'ipotesi nulla (H_0), quella da verificare, contro un'ipotesi alternativa (H_1). L'aggettivo nulla è usato per sottolineare che la differenza da valutare non è significativa e quindi è spiegabile sulla base dei soli errori casuali. Le due ipotesi si escludono a vicenda.

- Ipotesi nulla H_0 : i due valori misurati sono simili tra loro e le differenze osservate sono dovute solamente ad errori casuali. E' accettata ad una probabilità $1 - \alpha$.
- Ipotesi alternativa H_1 : è l'ipotesi di significatività statistica delle differenze osservate (i valori non sono simili tra loro). L'ipotesi alternativa è accettata quando l'ipotesi nulla viene rifiutata ad un livello di significatività α . C'è una differenza significativa tra i due valori osservati.

Test t di Student

Confronto tra una media sperimentale (\bar{x}) e un valore noto (μ)

$$H_0: \bar{x} = \mu$$

$$H_1: \bar{x} \neq \mu$$

La media \bar{x} è ottenuta da n repliche con deviazione standard s .

$$t_{calc} = \frac{\bar{x} - \mu}{s_m} \quad v = n - 1$$

La deviazione standard della media s_m è:

$$s_m = \sqrt{\frac{s^2}{n}} = \frac{s}{\sqrt{n}}$$

Se $t_{calc} > t_{crit}$, allora rigetto H_0 al livello di significatività α .

Il test mi permette di verificare le due ipotesi

Si basa sul valore detto t calcolato (differenza tra i valori che stiamo confrontando, diviso la deviazione standard della media). Più è basso t più aumenta la probabilità di accettare l'ipotesi H_0 , più t è alto più è alta la probabilità di rifiuto di H_0 e accettare H_1 . t critico è un valore tabellare. Se il valore calcolato è minore di quello critico accettiamo H_0 , se il valore calcolato è maggiore di quello critico si accetta H_1 .

ESEMPIO

Un nuovo strumento analitico viene valutato in un laboratorio chimico determinando la massa (mg) di Cu contenuta in una determinata massa (1 g) di un materiale di riferimento certificato (CRM). Il certificato di analisi afferma che la massa di Cu è 5.0 mg per 1.0000 g di materiale CRM; 25 campioni di 1.0000 g di CRM sono stati analizzati dal nuovo strumento analitico, fornendo i seguenti risultati:

- media $\bar{x} = 5.2$ mg
- deviazione standard $s = 0.4$ mg

Il risultato ottenuto (5.2 mg) è in accordo con il valore noto (5.0 mg)?

Il nuovo strumento analitico è accurato al 10% di significatività?

Confronto la media sperimentale (5.2) con il valore noto di riferimento (5.0)

$$H_0: \bar{x} = 5.0$$

$$H_1: \bar{x} \neq 5.0$$

$$t_{calc} = \frac{\bar{x} - \mu}{s / \sqrt{n}} = \frac{5.2 - 5.0}{0.4 / \sqrt{25}} = 2.50$$

Il valore critico t_{crit} di tabella, al 10% di significatività, è: $t_{crit} = t_{0.10(2), 24} = 1.711$

$$2.50 > 1.71$$

$$t_{calc} > t_{0.10(2), 24}$$

$$H_1: \bar{x} \neq \mu$$

CONCLUSIONE:

La media sperimentale è significativamente diversa, al livello del 10% di significatività, dal valore noto. Il nuovo metodo non è accurato; c'è evidenza di errore sistematico.

Test Q di Dixon

Test per valutare la presenza di dati anomali (che vengono poi esclusi dalla media).

Ipotesi H_0 → il dato più estremo è un dato anomalo

Ipotesi H_1 → il dato più estremo non è un dato anomalo

Lo scopo del test di Dixon è determinare se una misura estrema (la più bassa o la più alta di un insieme di repliche) è significativamente diversa dalle altre (dato anomalo).

Il test di Dixon può essere applicato ad un insieme di misure singole (repliche) o anche ad un insieme di medie provenienti, ad esempio, da diversi laboratori che hanno analizzato lo stesso campione (circuiti interlaboratorio).

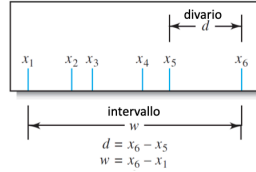
Per effettuare il test di Dixon le misure devono essere ordinate dalla più piccola alla più grande:

$$x_1 < x_2 < x_3 < \dots < x_p$$

dove x_1 è la misura più piccola e x_p la più grande.

Q = il valore più grande tra:

$$Q = \frac{d_1}{w} = \frac{x_2 - x_1}{x_p - x_1} \quad \text{or} \quad Q = \frac{d_p}{w} = \frac{x_p - x_{(p-1)}}{x_p - x_1}$$



Tanto più grandi sono i valori q tanto più c'è la probabilità che ci sia un valore anomalo.

Se q è minore di q critico accetto H0, se è maggiore accetto H1.

Se $Q > Q_{crit}$ → il dato anomalo sarà rigettato al livello di fiducia specificato.

ESEMPIO

Esempio (7 repliche di una misurazione)

Repliche	x
rep1	31.45
rep2	30.90
rep3	30.80
rep4	31.30
rep5	31.45
rep6	31.50
rep7	33.20

30.80 ← valore più piccolo
33.20 ← valore più grande

Ordino i valori dal più piccolo al più grande, poi calcolo i valori q: il primo valore confronta le due misure più piccole, il secondo valore confronterà le due misure più grandi, poi si esegue un confronto tra i due risultati ottenuti

Esempio (7 repliche di una misurazione)

Repliche	Rep ordinate	x
rep3	x_1	30.80
rep2	x_2	30.90
rep4	x_3	31.30
rep1	x_4	31.45
rep5	x_5	31.45
rep6	x_6	31.50
rep7	x_7	33.20

Q = il valore più grande tra:

$$Q = \frac{d_1}{w} = \frac{x_2 - x_1}{x_p - x_1} \quad \text{or} \quad Q = \frac{d_p}{w} = \frac{x_p - x_{(p-1)}}{x_p - x_1}$$

$$Q = \frac{x_2 - x_1}{x_7 - x_1} = \frac{30.90 - 30.80}{33.20 - 30.80} = 0.042$$

$$Q = \frac{x_7 - x_6}{x_7 - x_1} = \frac{33.20 - 31.50}{33.20 - 30.80} = 0.708$$

Valori critici di Q per $1-\alpha = 0.90, 0.95$ e 0.99

$$Q_{rep7} = 0.708 > Q_{crit}$$

CONCLUSIONE:

La replica 7 è un dato anomalo al 90%, 95% e 99% di confidenza e deve quindi essere esclusa da ogni successiva analisi.

Calibrazione in chimica analitica

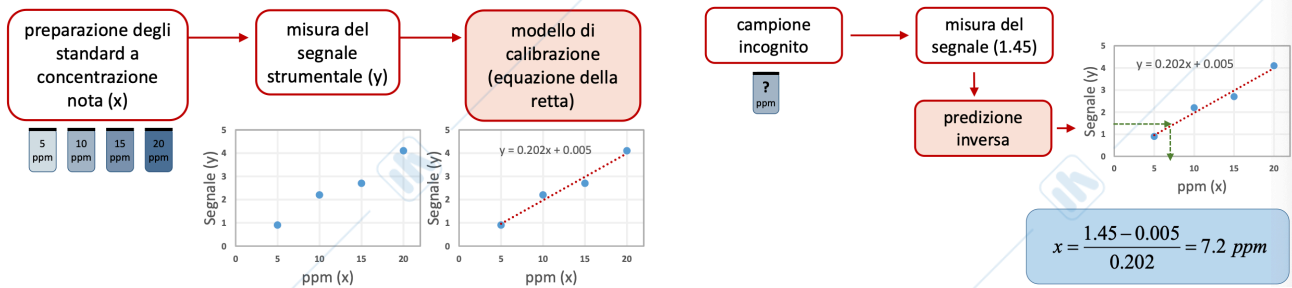
La calibrazione in chimica analitica è l'operazione che determina la relazione funzionale, univoca e riproducibile, tra la quantità fisica misurata (y) e le quantità chimiche di interesse (x), che caratterizzano i tipi di analita. (IUPAC 1998: Commission on general aspects of analytical chemistry).

$$y(\pm s_y) = m(\pm s_m) \cdot x + q(\pm s_q) \quad \rightarrow \quad x(\pm s_x) = \frac{y(\pm s_y) - q(\pm s_q)}{m(\pm s_m)}$$

La calibrazione include:

- la selezione del modello (modello lineare - retta di calibrazione)
- la stima dei parametri del modello (es. pendenza m, intercetta q)
- la stima degli errori associati ai parametri (es. s_m = incertezza associata alla pendenza e s_q = incertezza associata all'intercetta)
- la validazione del modello (es. R^2)

Più l'analita è concentrato, maggiore è l'intensità di colorazione delle soluzioni → misurabile attraverso l'assorbanza. In laboratorio si preparano soluzioni standard a concentrazione nota crescente dell'analita. Per ogni soluzione si misura il segnale (con lo spettrofotometro) che in questo caso è l'intensità di colore.



I punti più o meno sono disposti lungo una retta ($y=mx+q$)

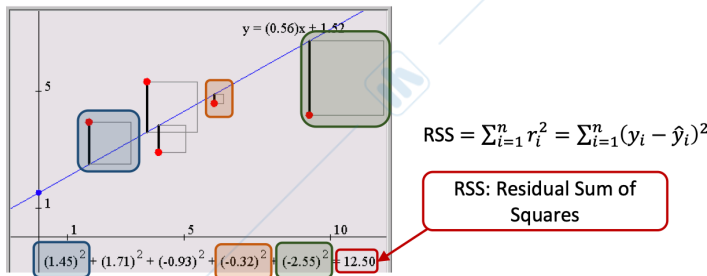
La retta di calibrazione rappresenta la dipendenza della variabile dipendente (y, segnale) dalla variabile indipendente (x, concentrazione analita). Approssima abbastanza bene i dati.

Se conosciamo il segnale (dato dalla retta) possiamo calcolarci la concentrazione del campione incognito.

Come si costruisce la retta di calibrazione?

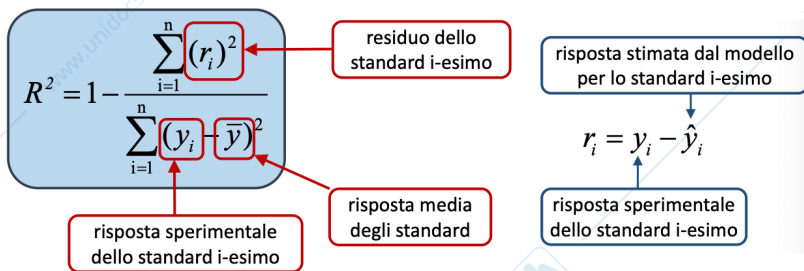
Esistono degli algoritmi automatici in grado di trovare la retta di calibrazione migliore, ma è possibile ipotizzare anche in modo grafico la sua costruzione. Si cerca di minimizzare la distanza dei punti sperimentali dalla retta, dato che tutti i punti sulla retta rappresentano un modello perfetto.

- Metodo dei Minimi Quadrati = si considerano le differenze tra il segnale sperimentale e quello stimato dal modello. Dato che alcuni residui sono positivi e altri negativi, quello che fa il metodo per trovare la migliore retta è considerare i quadrati dei suoi residui, sommandoli tutti ⇒ RSS: Residual Sum of Squares. Si cerca di minimizzare la somma dei quadrati dei “residui” (RSS)



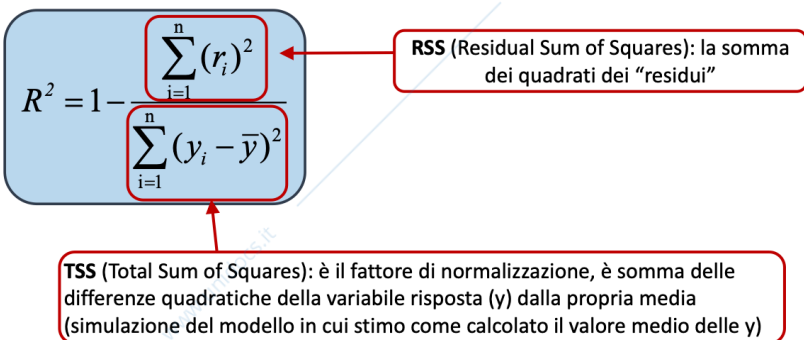
$$RSS = \sum_{i=1}^n r_i^2 = \sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2$$

RSS: Residual Sum of Squares



R^2 = coefficiente di determinazione, usato per valutare la qualità della retta di calibrazione.

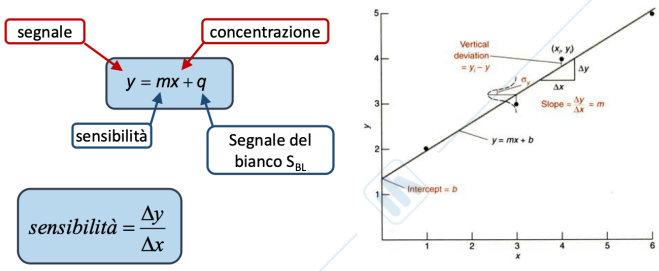
R^2 è compreso tra 0 e 1 e rappresenta la percentuale della variabilità totale dei dati (varianza) spiegata dal modello.



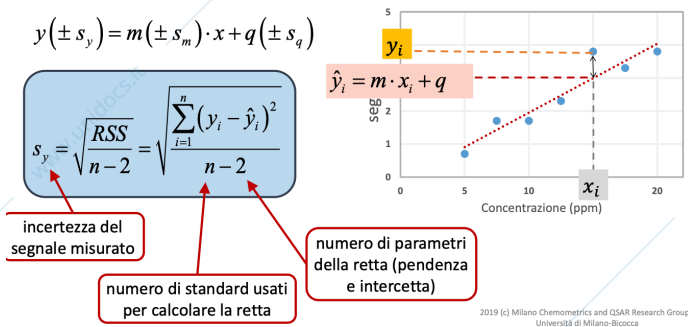
$R^2 = 1$: i residui r_i sono nulli, tutti i punti giacciono sulla retta di calibrazione; la variabile indipendente x è in grado di spiegare completamente il comportamento (l'andamento) della variabile dipendente y (risposta).

$R^2 = 0$: la variabile indipendente x NON è in grado di spiegare il comportamento (l'andamento) della variabile dipendente y (risposta).

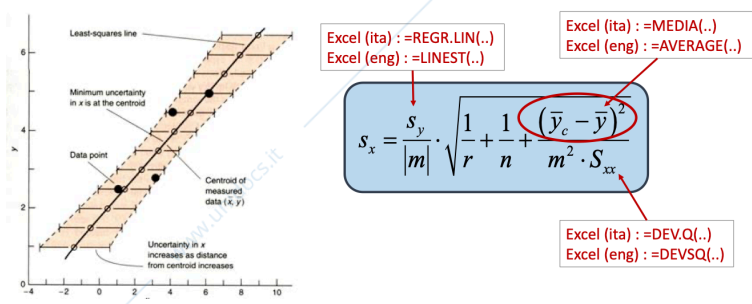
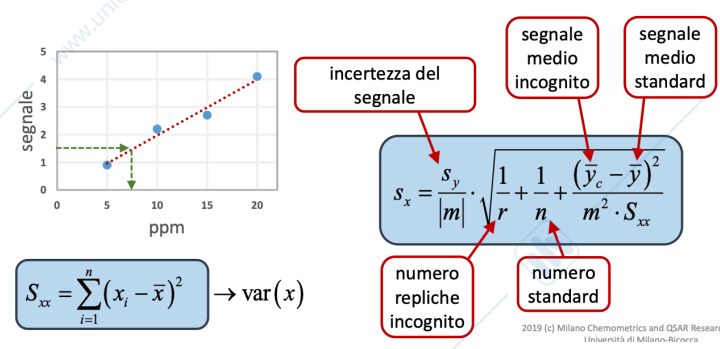
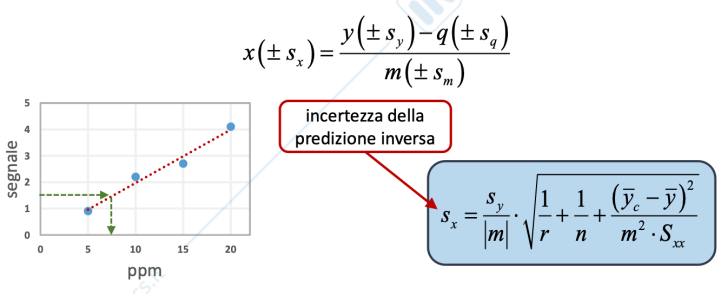
La sensibilità è definita come la variazione del segnale (variabile dipendente y) in funzione della concentrazione dell'analita (variabile indipendente x).



Stima errore casuale da una retta di calibrazione: errore standard della stima



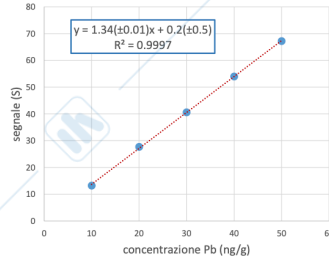
Incertezza della predizione inversa (s_x) non può essere stimata con le formule di propagazione dell'errore, poiché m e q non sono grandezze indipendenti



ESEMPIO:

Per determinare la concentrazione di piombo (ng/g) di un campione incognito, si calcola la retta di calibrazione con 5 standard (a concentrazione nota crescente di piombo) e 1 bianco, per i quali sono stati misurati i seguenti segnali:

x	y
C Pb(ng/g)	Segnale corretto
10	18.2
20	32.7
30	45.6
40	59.0
50	72.2



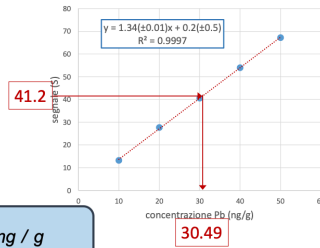
$$y = 1.34(\pm 0.01)x + 0.2(\pm 0.5)$$

$$m = 1.34 (\pm 0.01)$$

$$q = 0.2 (\pm 0.5)$$

Se il segnale del campione incognito è 42.4, il segnale corretto è $42.4 - 1.2 = 41.2$

$$x = \frac{y - q}{m} = \frac{41.2 - 0.2}{1.34} = 30.49144 (\pm \dots) \text{ ng / g}$$



$$s_x = \frac{s_y}{|m|} \cdot \sqrt{\frac{1}{r} + \frac{1}{n} + \frac{(\bar{y}_c - \bar{y})^2}{m^2 \cdot S_{xx}}}$$

$$s_x = \frac{0.455}{|1.34|} \cdot \sqrt{\frac{1}{1} + \frac{1}{5} + \frac{(41.2 - 40.5)^2}{1.34^2 \cdot 1000}} =$$

$$s_x = 0.3717 \approx 0.4$$

Concentrazione Pb nel campione: $30.5 (\pm 0.4) \text{ ng/g}$

Metodi di calibrazione

Calibrazione mediante standard esterno

1. si prepara una soluzione madre a concentrazione accuratamente nota dell'analita
2. si prepara una serie di standard diluendo la soluzione madre in matracci tarati, in passi successivi
3. si prepara il bianco reagenti (la soluzione dei reagenti e solvente usati nell'analisi)
4. si effettuano le misurazioni del segnale per ogni standard e per il bianco
5. si correggono le risposte ottenute dagli standard sottraendo la risposta per il bianco reagenti
6. si costruisce la retta di calibrazione mediante il metodo dei minimi quadrati