Camera di Commercio di Bari
Azienda Speciale
SAMER
Laboratorio Pubblico

RETELAB
RETE DEI LABORATORI DELLE CAMERE DI COMMERCIO

CAMERA DI COMMERCIO
INDUSTRIA, ARTIGIANATO E AGRICOLTURA DI BARI

UNIONCAMERE
CAMERE DI COMMERCIO D'ITALIA

RISONANZA MAGNETICA E CONTROLLO QUALITÀ

Bari, 11 Novembre 2013

ELABORAZIONE STATISTICA DEI DATI NMR NEL PRIMO CONFRONTO INTERLABORATORIO RETELAB

Dott.ssa Mariangela Vezzoso

Innovative Solutions S.r.l. – Società Spin Off del Politecnico di Bari
qualita@innovative-solutions.it

CONTROLLO E QUALITA' DEI RISULTATI

Un risultato controllato e qualitativamente corretto è di fondamentale importanza per il confronto delle performance dei laboratori in un circuito interlaboratorio

NORME DI RIFERIMENTO

UNI CEI EN ISO/IEC 17025:2005

UNI CEI EN ISO/IEC 17043:2010

MANUALE UNICHIM 179/0 2011
MANUALE UNICHIM 179/1 2011
MANUALE UNICHIM 179/2 2011
ISO 13528:2005

NORME DI RIFERIMENTO

UNI CEI EN ISO/IEC 17025:2005

Sviluppo del metodo di prova

UNI CEI EN ISO/IEC 17043:2010

MANUALE UNICHIM 179/0 2011
MANUALE UNICHIM 179/1 2011
MANUALE UNICHIM 179/2 2011
ISO 13528:2005

NORME DI RIFERIMENTO

UNI CEI EN ISO/IEC 17025:2005

UNI CEI EN ISO/IEC 17043:2010

MANUALE UNICHIM 179/0 2011
MANUALE UNICHIM 179/1 2011
MANUALE UNICHIM 179/2 2011
ISO 13528:2005

Organizzazione Circuito Interlaboratorio e Redazione Report

NORME DI RIFERIMENTO

UNI CEI EN ISO/IEC 17025:2005

UNI CEI EN ISO/IEC 17043:2010

MANUALE UNICHIM 179/0 2011
MANUALE UNICHIM 179/1 2011
MANUALE UNICHIM 179/2 2011
ISO 13528:2005

Statistica

STATISTICA (ISO/IEC 17043:2010, ISO 13528:2005)

Metodi statistici – ISO/IEC 17043 (Allegato B) e ISO 13528

Esistono varie procedure per stabilire il valore assegnato e la sua incertezza.

.

La scelta fra tali metodi è responsabilità del coordinatore della prova dopo consultazione con il gruppo di esperti. Nella ISO 13528 e nell'All. B della ISO 17043 sono riportati i seguenti cinque metodi:

a) valori prescritti (ad es. derivati da un requisito di legge)

b) per percezione (livello di prestazione fissato dal coordinatore)

c) da un modello generale (es. Horwitz)

d) dai risultati di un esperimento di precisione (unico metodo di prova)

e) valori di consenso dai partecipanti

STATISTICA (ISO/IEC 17043:2010, ISO 13528:2005)

Metodi statistici – ISO/IEC 17043 (Allegato B) e ISO 13528

Esistono varie procedure per stabilire il valore assegnato e la sua incertezza.

La scelta fra tali metodi è responsabilità del coordinatore della prova dopo consultazione con il gruppo di esperti. Nella ISO 13528 e nell'All. B della ISO 17043 sono riportati i seguenti cinque metodi:

a) valori prescritti (ad es. derivati da un requisito di legge)

b) per percezione (livello di prestazione fissato dal coordinatore)

c) da un modello generale (es. Horwitz)

d) dai risultati di un esperimento di precisione (unico metodo di prova)

e) valori di consenso dai partecipanti

STATISTICA (ISO/IEC 17043:2010, ISO 13528:2005)

Metodi statistici – ISO/IEC 17043 (Allegato B) e ISO 13528

Definizioni

Scostamento: $D = x_i - X$ (dove x_i è il valore ottenuto dal laboratorio e X è il valore assegnato)

Scarto tipo: $\sigma = \sqrt{\Sigma(X-x_i)^2/(n-1)}$

z-score: D / σ

Valutazione della prestazione

Se $|z| < 2.0$ il risultato è soddisfacente e non genera alcun segnale

Se $2.0 < |z| < 3.0$ il risultato è discutibile e genera un segnale di warning (W)

Se $|z| > 3.0$ il risultato è insoddisfacente e genera un segnale di action (A)

STATISTICA (ISO/IEC 17043:2010, ISO 13528:2005)

Determinazione del valore di consenso e dello scarto tipo dai dati di una prova valutativa interlaboratorio

APPLICAZIONE DEI TEST DI ANOMALIA
Individuazione dei valori anomali per varianza e media
(UNI ISO 5725-2)

USO DI ANALISI ROBUSTA
Algoritmo A (ISO 13528:2005)

Analisi Statistica

Valutazione intralaboratorio
(elaborazione del set di dati relativo a ciascuno spettrometro NMR)

Valutazione interlaboratorio
(studio statistico delle concentrazioni medie e delle incertezze di misura relative al tubo NMR incognito etichettato con X)

Analisi Statistica

Valutazione intralaboratorio
(elaborazione del set di dati relativo a ciascuno spettrometro NMR)

Valutazione interlaboratorio
(studio statistico delle concentrazioni medie e delle incertezze di misura relative al tubo NMR incognito etichettato con X)

Analisi Statistica

Valutazione intralaboratorio
(elaborazione del set di dati relativo a ciascuno spettrometro NMR)

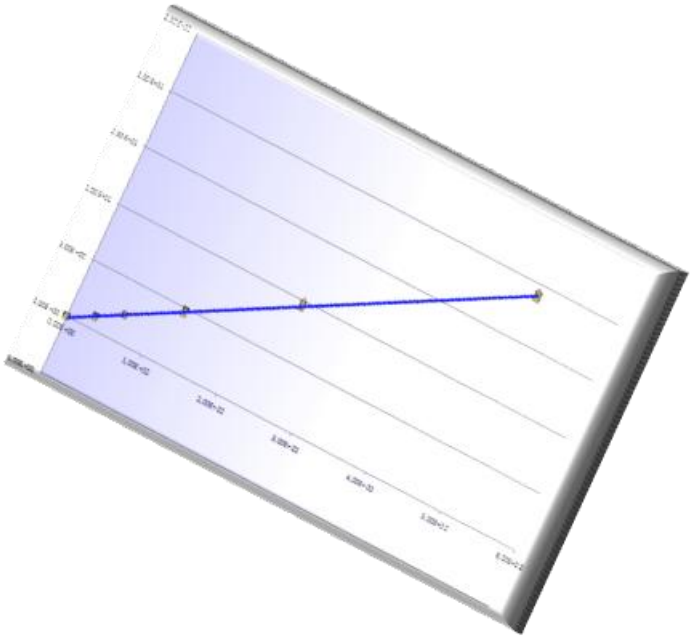
- Retta di taratura
- Ripetibilità e riproducibilità
- Calcolo conc. soluzione incognita (X)

Valutazione interlaboratorio
(studio statistico delle concentrazioni medie e delle incertezze di misura relative al tubo NMR incognito etichettato con X)

Valutazione intralaboratorio
Retta di taratura

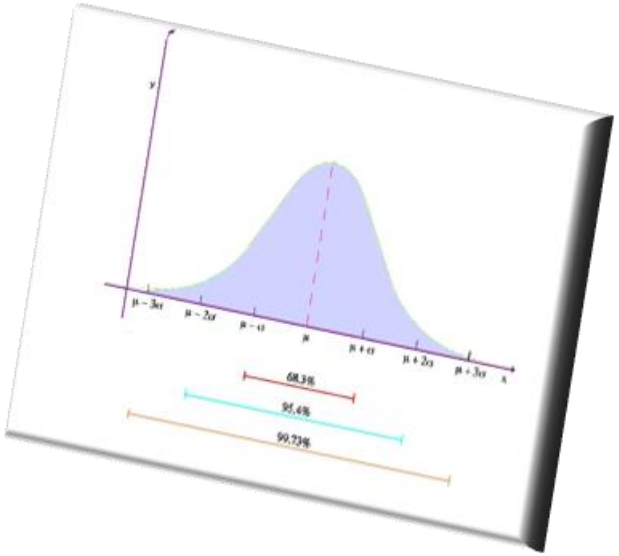
Parametri di precisione retta			
Pendenza (m)	3,84E-02	S_m	2,07E-04
Intercetta (n)	-7,42E-02	S_n	4,86E-02
R^2	0,9999	$S_{y/x}$	1,50E-01

Test sulle rette
ANOVA
Mandel
Omogeneità delle rette 123, 145, 12345



Valutazione intralaboratorio
Ripetibilità e riproducibilità

Test sui tubi A (Conc. $_{max}$), C(Conc. $_{int}$), E(Conc. $_{min}$)
Test della distribuzione di normalità (Shapiro – Wilk)
Valutazione della presenza di dati anomali (test di Dixon, Grubbs singola osservazione, Grubbs due osservazioni, Huber).
Calcolo del recupero [criterio accettabilità (80-110)%]



Valutazione intralaboratorio
Ripetibilità e riproducibilità

Parametri di precisione **A (Conc. $_{max}$), C (Conc. $_{int}$), E (Conc. $_{min}$)**	**Controlli** **UNICHIM 179/1 2011** **AOAC (Guidelines for single laboratory validation of chemical methods for dietary supplements and botanicals)**
Scarto tipo (S_r) (S_r calcolata è stata introdotta nel calcolo dell'incertezza di misura composta)	• controlli di accettabilità: 1/2SR < Sr < 3/2SR • andamento di S_r in funzione della concentrazione C
Limite di ripetibilità (r) (r è stata utilizzata per il controllo della ripetibilità dei risultati in doppio)	• andamento di r in funzione della concentrazione C
Coeff. di variazione percentuale (CV%)	• CV% < 10

Valutazione intralaboratorio
Calcolo conc. soluzione incognita (X)

TUBO	m	n	Integrale	C_i	C_{med}	r	$\|X_1-X_2\|$	accettabilità	S_r	Sy/x	$U_{composta}$
	$A = m\,C_i + n$		A	mg/l	mg/l			Risultato $\|X_1-X_2\| < r$	Lab	Taratura	±
X	3,84E-02	-7,42E-02	3,50	92,90	95,24	9,13	5,10	OK!	1,71	0,13	**1,15**
			3,70	98,00							
			3,60	94,84							

Analisi Statistica

Valutazione intralaboratorio
(elaborazione del set di dati relativo a ciascuno spettrometro NMR)

Valutazione interlaboratorio
(studio statistico delle concentrazioni medie e delle incertezze di misura relative al tubo NMR incognito etichettato con [illegible])

Analisi Statistica

Valutazione intralaboratorio
(elaborazione del set di dati relativo a ciascuno spettrometro NMR)

Valutazione interlaboratorio
(studio statistico delle concentrazioni medie e delle incertezze di misura relative al tubo NMR incognito etichettato con X)

Test statistici di C_i e U_i

Calcolo z-score

Valutazione interlaboratorio
Test statistici di C_i e U_i

Test sulle U_x dei tubi X_i	Test sulle C_x dei tubi X_i
Valutazione della presenza di dati anomali (test di Cochran, Grubbs singola osservazione, Grubbs due osservazioni, Huber).	Test della distribuzione di normalità (Shapiro – Wilk)
	Valutazione della presenza di dati anomali (test di Grubbs singola osservazione, Grubbs due osservazioni, Huber).
I valori risultati anomali, con la probabilità del 95%, sono stati esclusi dalla popolazione del set di dati.	

Valutazione interlaboratorio
Test statistici di C_i e U_i

Principio attivo	Aldicarb δ 1.48					
Retta	123		145		12345	
	Ci (mg/L)	U (±)	Ci (mg/L)	U (±)	Ci (mg/L)	U (±)
Cod Lab						
G3	92,53	0,82	91,32	0,82	91,85	1,37
G2	113,32	16,94	97,80	20,31	105,14	21,07
G5	95,62	1,31	95,67	1,31	95,63	1,33
G9	93,47	0,76	93,00	0,76	93,27	0,76
G1	95,97	3,48	92,53	3,48	93,74	3,38
F7	90,65	1,08	90,04	1,06	90,47	1,07

	Dati esclusi dal test di Huber
	Dati esclusi dai test di Grubbs
	Dati esclusi dal test di Cochran

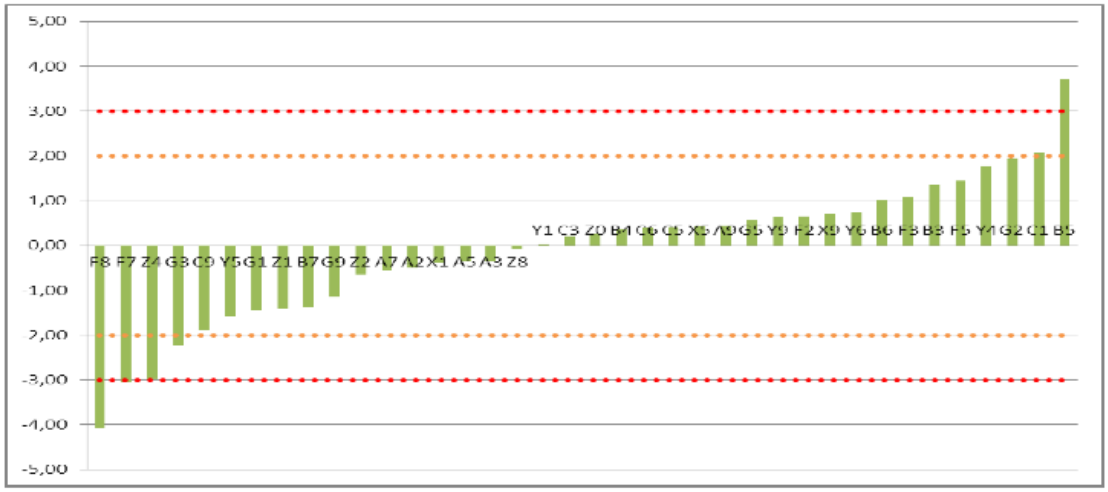
Valutazione interlaboratorio
Test statistici di C_i e U_i

numero dati (n)	31
media (Xm)	94,75
varianza (Sr^2)	1,66
scarto tipo (Sr)	1,29
CV%	1,36
minimo (Min)	92,49
massimo (Max)	96,89
intervallo (Range)	4,40
mediana	95,24
media Limite di fiducia inferiore (p = 0,95)	94,27
media Limite di fiducia superiore (p = 0,95)	95,22
intervallo di fiducia della media (I.F.) (p = 0,95)	0,47
gradi di libertà (v-1)	30
t di Student (v = n-1; p = 0,95)	2,04
limite di ripetibilità metodo (r)	3,72

Valutazione interlaboratorio
Calcolo z-score

Per tutti i laboratori partecipanti al confronto interlaboratorio è stato effettuato il calcolo dello z-score, considerando la concentrazione media (C_m) e l'incertezza di misura (Sr_m) privi dei dati risultati anomali con la probabilità del 95%.

$$z\text{-score} = (C_i - C_m)/Sr_m$$



E' necessario scalare gli integrali rispetto al segnale del TSP (3-Trimethylsilyl-2,2,3,3-tetradeutero-propanoic acid) fissato a 0 ppm?

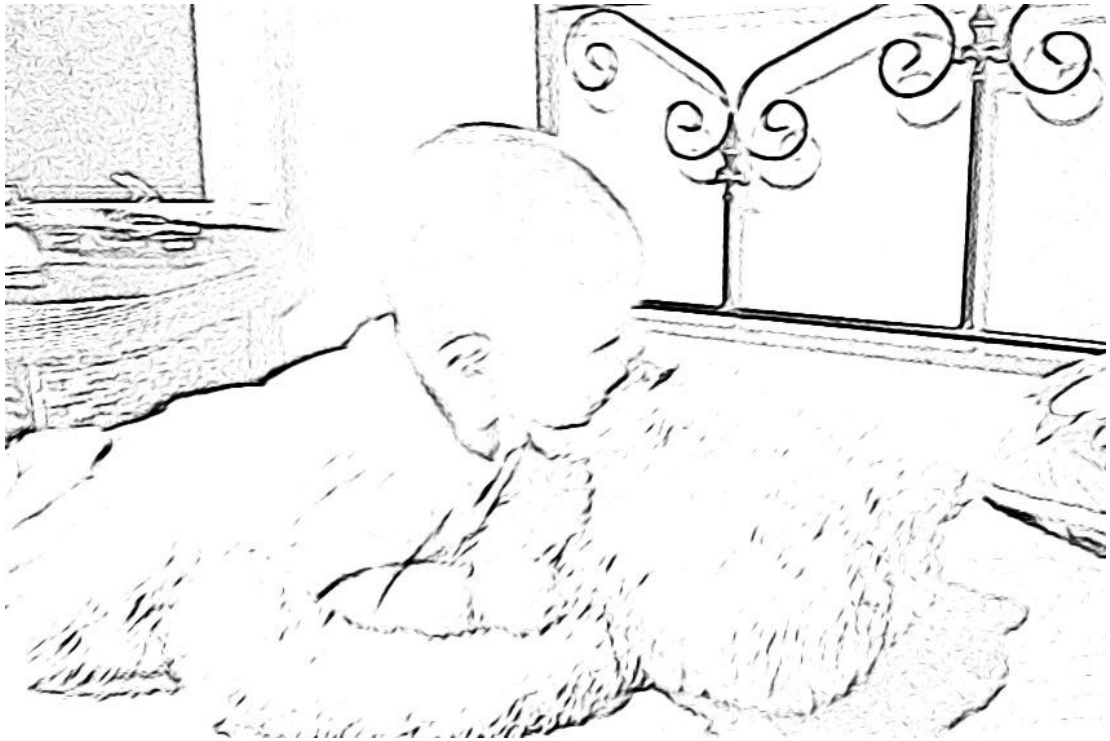
media 1 Scaled to TSP	media 2 No scaled to TSP	t calc	t tab
93,85	93,76	0,41	2,92
94,51	94,52		
99,55	95,71		

In base al test T i due valori NON sono differenti

In tabella, a titolo di esempio, sono riportati i valori per il segnale dell'Aldicarb a 1.48 ppm

Conclusioni

- La spettroscopia NMR è una tecnica affidabile e robusta che presenta tutti i requisiti ai fini della validazione di metodi di quantificazione
- La quantificazione NMR mediante retta di calibrazione, non richiede necessariamente uno standard interno di riferimento
- I CV% ottenuti (≤3,7 vs 10,0) indicano che le determinazioni quantitative della spettroscopia NMR possono essere eseguite a livelli di eccellenza
- L'accuratezza nelle misure NMR è più che soddisfacente
- Le ripetibilità indicano un'ottima stabilità di performance
- Le rette di taratura 123, 145 e 12345 sono equivalenti
- Grazie a questo confronto interlaboratorio, gli eventuali futuri confronti potranno beneficiare di valori di ripetibilità di riferimento



Grazie per l'attenzione!