

**APAT**

**Agenzia per la protezione dell'ambiente e per i servizi  
tecnici**

Stage interno APAT

Marzo-Luglio 2007

**IMPORTANZA DEI CIRCUITI DI  
INTERCONFRONTO NELLE MISURE IN CAMPO  
AMBIENTALE: VERIFICA E QUALITÀ DEL  
DATO**

Dr.ssa Silvia Ghinaglia

TUTOR: Dr. Damiano Centioli

## **PREFAZIONE**

L'Agenzia per la protezione dell'ambiente e per i servizi tecnici (APAT) è l'autorità pubblica preposta ad assicurare la comparabilità dei dati ambientali prodotti da tutti i laboratori delle Agenzie ambientali (ARPA ed APPA) presenti sul territorio nazionale, attraverso l'armonizzazione delle metodiche e dei protocolli di indagine.

L'affidabilità e la comparabilità nel tempo dei dati prodotti dai diversi laboratori nazionali ed internazionali, permette di ricavare gli strumenti necessari a sviluppare metodologie risolutive per il monitoraggio e la valutazione di impatto ambientale e per tutelare territori esposti a continue forme di inquinamento.

Ad esempio l'emanazione del D.M. n. 471/99 del Ministero dell'Ambiente, ha posto le basi affinché a livello nazionale, si elaborassero criteri di valutazione per i suoli contaminati univoci per tutto il territorio da adottare per le operazioni di bonifica dei suoli. Si è resa quindi necessaria una attenta attività di verifica della attendibilità della qualità dei dati prodotti da laboratori diversi.

Per assicurare la qualità e la comparabilità dei dati di monitoraggio ambientale l'APAT, oltre ad emanare raccolte di metodiche analitiche armonizzate, ha attivato un laboratorio per la produzione dei materiali di riferimento ed organizza dei circuiti di interconfronto tra i laboratori delle ARPA.

I circuiti di interconfronto, essendo esercizi mirati all'analisi di materiali di riferimento di matrici ambientali, offrono un valido supporto per i laboratori per una più corretta valutazione degli inquinanti in strutture complesse quali quelle ambientali e permettono di rendere comparabili i dati analitici prodotti da laboratori diversi.

Si deve sottolineare come assicurare la qualità e la comparabilità dei dati analitici prodotti dai laboratori ricopra una importanza notevole soprattutto nel campo ambientale. Infatti dai dati analitici prodotti in laboratorio possono scaturire decisioni che possono avere un forte impatto pubblico ed economico quali possono essere ad esempio il blocco del traffico cittadino od il dover bonificare un'area contaminata.

# **THE IMPORTANT ROLE OF INTERLABORATORY COMPARISON FOR ENVIRONMENTAL MONITORING MEASUREMENTS: DATA QUALITY ASSURANCE**

## **SUMMARY:**

The thesis' purpose is to describe the great work done by the Italian Environmental Protection Agency and Technical Service (APAT) in order to harmonize the environmental monitoring measurements performed on the national territory by the Regional and Provincial Environmental Agencies. In this respect, APAT plays an important role in improving the analytical data quality through the realization of inter-laboratory comparison.

An inter-laboratory comparison provides for the organization, management and evaluation of analytical tests performed on a sufficiently homogeneous material (Reference Material), according to pre-determinate conditions ("ISO Guide 43").

The production, characterization and certification of reference materials (RMs) is a key activity in improving and maintaining a worldwide coherent system of measurements.

They are divided in Laboratory Reference Materials and Standard or Certified Reference Materials. A Laboratory Reference Materials is defined as a material, one or more properties of which are sufficiently well established to be used for the calibration of an apparatus, the assessment of measurement method or for assigning values to materials. A Certified Reference Material is defined as a material, one or more of whose properties values are certified by a technically valid procedure (ISO Guide 34 e 35) accompanied by or traceable to a certificate or other documentation that is issued by a certifying body.

Every step of a Reference Material production contribute to the calculation of the uncertainty related to the evaluation of the interest property. For this reason homogeneity, stability and characterizations tests are taken place.

Usually, inter-laboratory comparison is organized following simple and well delineated steps like a starting project, a development and a final evaluation.

Inter-laboratory comparison consist in:

- Certification Exercises, in which the purpose is the certification of one or more properties of a Reference Material.
- Collaborative trials that determine the performance characteristics of a method.
- Proficiency Tests (PTs) that are the fundamental instrument for the assurance of data quality.

It is now widely recognized the need for laboratories of an appropriate quality assurance/quality control system (QA/QC) to demonstrate their ability to produce consistent and reliable data. Among the actions required for QA/QC, there is the need to demonstrate that the laboratory analytical systems should be under statistical control and that the analytical methods should be validated. This results “fit-for-purpose” could be reached through the participation in proficiency tests.

In order to make clear the structure of a PTs I would take as a model the APAT-IC002 proficiency test.

The objective of the APAT-IC002 proficiency test was the determination of As, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Mo, Ni, Pb, Se, Zn, concentrations in an organic matrix (compost). The proficiency test APAT-IC002 was carried out using the reference material APAT RM004.

The APAT RM004 was prepared from the APAT Environmental Metrology Service. The raw material was obtained from aerobic composting plant located near Rome. The plant produces compost from organic waste originating from municipal routine plant trimmings, from pruning, lawn mowing and wastes deriving from vegetable markets.

The bottles of APAT RM004 were prepared performing homogeneity, stability and studies to check the fitness for purpose of the material. The characterization and the values for each analysis were assessed by mineralization and ICP-MS analysis using a robust statistic method.

All laboratories participating were provided to adopt their own analytical methods (sample preparation, chemical treatments and measurements) normally used in their routine analytical activity. The final data sent from laboratories to APAT gave this results:

- Not all the metals examined in the inter-laboratory comparison were measured by all the laboratories.
- The statistic analysis does not underline the influence of a mineralization method more than another.
- Concerning the graphics analysis and Z-score evaluations of the data emerges the reliability of the laboratories in determining the metals concentration in an environmental matrix with high organic substance content like the compost examined.

To conclude, participation in proficiency testing schemes provides laboratories with an objective means of assessing and demonstrating the reliability of the data they are producing. This method is becoming an integral feature of laboratory accreditation and the results generated in proficiency testing are used for the purpose of a continuing assessment of the technical competence of laboratories. With the advent of “mutual recognition”, there is, also in Italy, an increased demand of proficiency testing schemes, that will provide an interpretation and assessment of results, which are transparent to the participating laboratory and its “customer”.

## RIASSUNTO:

Lo scopo di questa tesi è quello di illustrare l'importante lavoro svolto per armonizzare le misure effettuate sul territorio nazionale dalle reti delle Agenzie Regionali e provinciali impegnate nell'attività di protezione dell'ambiente. A tal proposito APAT svolge un ruolo di particolare rilevanza nell'ambito del sistema delle agenzie in Italia attraverso la realizzazione di circuiti di interconfronto. Un circuito di interconfronto prevede l'organizzazione, la gestione e la valutazione di prove effettuate su un materiale sufficientemente omogeneo (materiale di riferimento) da parte di due o più laboratori, in accordo con condizioni pre-determinate ("ISO Guide 43").

I Materiali di Riferimento si distinguono in certificati e non certificati. I Materiali di Riferimento non certificati ("Laboratory Reference Materials" LRM) vengono definiti come materiale che per una o più proprietà definite, è sufficientemente omogeneo e stabile ed è considerato adeguato ad esempio per la taratura di un apparato, per stabilire le carte di controllo qualità o valutare la riproducibilità a lungo termine dei dati di laboratorio. I Materiali di Riferimento Certificati ("Standard Reference Materials" SRM) sono invece caratterizzati con una procedura metrologicamente valida (riportate nelle ISO Guide 34 e 35) per una o più proprietà indicate, sono accompagnati da un certificato che riporta i valori delle proprietà, l'incertezza associata ed una dichiarazione che stabilisca la catena di riferibilità del valore delle proprietà indicate.

Ogni passaggio coinvolto nella produzione di un Materiale di Riferimento contribuisce al calcolo della incertezza relativa e alla valutazione della proprietà di interesse. Per tale motivo vengono eseguite prove di omogeneità, stabilità e caratterizzazione. In generale, un esercizio di interlaboratorio è organizzato in base ad un semplice e chiaro schema che comprende il progetto iniziale, lo sviluppo e la valutazione finale.

Gli esercizi di interlaboratorio comprendono:

- Esercizi di Certificazione, in cui l'obiettivo è la certificazione di una o più proprietà) di un Materiale di Riferimento

- Studi Collaborativi, in cui l'obiettivo è la convalida (lo studio delle prestazioni) di un singolo metodo analitico ("test method") utilizzato da tutti i laboratori partecipanti
- Esercizi del tipo *Proficiency tests (PTs)*, in cui l'obiettivo è la valutazione delle prestazioni dei laboratori partecipanti e verificarne la qualità del dato.

Negli ultimi anni si è resa sempre più evidente la necessità da parte dei laboratori ambientali di un appropriato sistema di garanzia e controllo della qualità (QA/QC) per dimostrare la reale capacità di ottenere risultati attendibili. Tra i requisiti richiesti in un sistema di garanzia e controllo della qualità vi è la necessità di dimostrare che i dati prodotti da un laboratorio di analisi siano sotto un controllo statistico e che i metodi analitici risultino validati. Risultati di qualità potrebbero essere conseguiti partecipando ai *proficiency tests*.

Per meglio chiarire la struttura di un *PTs* prenderò in considerazione come modello il circuito APAT-IC002.

L'obiettivo dell'esercizio di interconfronto APAT-IC002 è stata la determinazione della concentrazione di As, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Mo, Ni, Pb, Se, Zn, in una matrice organica (compost). Il Materiale di Riferimento utilizzato nel circuito APAT-IC002 è l'APAT RM004.

L'APAT RM004 è stato preparato dal Servizio di Metrologia ambientale APAT. Il materiale di sfalcio è stato ottenuto dalla decomposizione aerobica di piantelocate vicino Roma.

Le bottiglie dell'APAT RM004 sono state ottenute attraverso prove di omogeneità, stabilità e studi per trovare il materiale ideale per lo scopo. La caratterizzazione ed i valori di ogni analista sono stati ottenuti tramite previa mineralizzazione e successiva analisi all'ICP-MS, utilizzando un metodo statistico robusto. A tutti i laboratori partecipanti è stato permesso di utilizzare i metodi di analisi analitica normalmente utilizzati nelle analisi di routine.

I risultati finali spediti dai laboratori all'APAT hanno dato i seguenti risultati:

- Non tutti i metalli esaminati negli esercizi di interlaboratorio sono stati misurati da tutti i laboratori
- L'analisi statistica non evidenzia differenze tra i diversi metodi di mineralizzazione

- In base all'analisi grafica dei valori di Z-score dei dati emerge la affidabilità dei laboratori nella determinazione della concentrazione dei metalli in una matrice ambientale ad alto contenuto di materia organica come il compost esaminato.

Per concludere, la partecipazione ai circuiti interlaboratorio rappresenta pertanto una se non la migliore caratteristica di accreditamento di un laboratorio, che partecipando e valutando i propri risultati è in grado di regolare e migliorare le proprie prestazioni risalendo ed eliminando eventuali fonti di errore o di incertezza. Questa metodologia sta diventando una vera e propria caratteristica per l'accreditamento dei laboratori ed i risultati prodotti dagli esercizi di interconfronto sono utilizzati con lo scopo di un continuo monitoraggio delle competenze tecniche dei laboratori. Con l'avvento del "controllo reciproco", c'è anche in Italia, un incremento di domande di tipologie di esercizi di interconfronto, che permetteranno una interpretazione dei risultati che sia cristallina sia ai partecipanti del circuito che agli stessi "clienti".



# INDICE

<b>INTRODUZIONE.....</b>	<b>1</b>
<b>1. MATERIALI DI RIFERIMENTO.....</b>	<b>2</b>
<b>2. ORGANIZZAZIONE DEI CIRCUITI DI INTERCONFRONTO.....</b>	<b>7</b>
<b>3. <i>PROFICIENCY TESTS</i>: ESEMPIO DI CIRCUITO DI INTERCONFRONTO APAT.....</b>	<b>9</b>
3.1 Struttura del Circuito di Interconfronto APAT.....	11
3.2 Produzione del Materiale di Riferimento APAT RM004.....	12
3.3 Prove di omogeneità del Materiale di Riferimento....	12
3.4 Prove di stabilità del Materiale di Riferimento.....	15
3.5 Determinazione della concentrazione degli elementi metallici di interesse.....	17
3.5.1 Struttura Preparazione della matrice per analisi con l'ICP- MS: mineralizzazione e liofilizzazione.....	18
3.5.2 Analisi del campione tramite ICP-MS.....	21
3.6 Procedure utilizzate dai partecipanti per la dissoluzione dei campioni.....	22
3.7 Elaborazione statistica dei dati.....	23
3.8 Risultati e discussione del circuito di interconfronto APAT-IC002.....	28

3.9	Conclusioni del circuito APAT-IC002.....	43
<b>4.</b>	<b>CONCLUSIONI.....</b>	<b>45</b>
<b>5.</b>	<b>RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI.....</b>	<b>47</b>

# INTRODUZIONE

Lo scopo di questa tesi è quello di illustrare l'importante lavoro svolto per armonizzare le misure effettuate sul territorio nazionale dalle rete delle Agenzie Regionali e provinciali impegnate nell'attività di protezione dell'ambiente attraverso la realizzazione di circuiti di interconfronto organizzati dall'APAT.

Infatti la Norma UNI CEI EN ISO/IEC 17025, approvata in forma definitiva nel novembre 2000, specifica i requisiti generali che devono essere soddisfatti dai Laboratori di Prova e Taratura che intendano dimostrare di attuare un sistema di qualità, di essere tecnicamente competenti e di poter produrre risultati tecnicamente validi. Affinché infatti i risultati delle misurazioni possano essere accettati come validi dalle parti interessate, l'affidabilità delle misurazioni analitiche deve essere valutata su basi rigorose. Allo scopo di facilitare l'accettazione su scala internazionale dei risultati, gli Enti ed i Laboratori di Prova e Taratura devono adottare riferimenti di misura concordati allo stesso livello dimostrando conformità ad una medesima norma internazionale. In questo contesto, uno dei concetti base specificati dalla norma UNI CEI EN ISO/IEC 17025, relativo ai requisiti di competenza tecnica per i tipi di prove e/o tarature eseguite dal laboratorio, è l'uso di metodi validati e la stima dell'incertezza di misurazione e la partecipazione ai confronti interlaboratorio. La confrontabilità dei risultati analitici è fornita dalla stima dell'incertezza che assume quindi particolare rilevanza in misurazioni di tipo chimico, soprattutto sulla base del fatto che tali misure possono dare origine ad azioni legali o contenziosi internazionali. La partecipazione ai circuiti di interconfronto organizzati dall'APAT permette quindi ai laboratori delle ARPA di verificare le proprie capacità analitiche mettendosi a confronto con gli altri ed eventualmente apportare azioni migliorative.

Tale metodologia, si prefigge inoltre di documentare, a livello internazionale, l'attività italiana di protezione ambientale, consentendo ai risultati di tale attività di essere utilizzati a livello mondiale per indagini, studi e programmazione di interventi.

Un circuito di interconfronto prevede l'organizzazione, la gestione e la valutazione di prove effettuate su un materiale sufficientemente omogeneo (materiale di riferimento)

da parte di due o più laboratori, in accordo con condizioni pre-determinate (“ISO Guide 43”).

## **1. MATERIALI DI RIFERIMENTO**

In generale, i materiali di riferimento si distinguono in certificati e non certificati. I Materiali di Riferimento non certificati (“Laboratory Reference Materials” LRM) vengono definiti come materiale che per una o più proprietà definite, è sufficientemente omogeneo e stabile ed è considerato adeguato ad esempio per la taratura di un apparato, per stabilire le carte di controllo qualità o valutare la riproducibilità a lungo termine dei dati di laboratorio. Le proprietà di un materiale di riferimento possono essere sia qualitative che quantitative ed esso può essere utilizzato solo per uno scopo in un processo di misura.

I Materiali di Riferimento Certificati (“Standard Reference Materials” SRM) sono invece caratterizzati con una procedura metrologicamente valida (riportate nelle ISO Guide 34 e 35) per una o più proprietà indicate, sono accompagnati da un certificato che riporta i valori delle proprietà, l’incertezza associata ed una dichiarazione che stabilisca la catena di riferibilità del valore delle proprietà indicate.

Le prime definizioni di materiale di riferimento ed i suoi primi utilizzi si sono avuti negli anni ’80. In seguito, lo sviluppo degli scambi commerciali tra paesi diversi, l’aumentata attenzione alla protezione dei consumatori e dell’ambiente, ha portato ad un incremento delle attività di controllo ed alla necessità di assicurare l’accuratezza e la comparabilità dei risultati delle misure analitiche a livello nazionale ed internazionale. La prima conseguenza è stata quindi il notevole impulso all’utilizzo dei materiali di riferimento nelle attività di misura, collegate anche a determinazioni di tipo qualitativo.

I circuiti di interconfronto (o di interlaboratorio), avendo lo scopo di valutare la comparabilità dei dati tra diversi laboratori, utilizzano in generale Materiali di Riferimento non certificati (LRM).

La nuova ISO Guide 35 considera i processi di produzione e caratterizzazione dei materiali di riferimento come processi tra loro integrati, in cui ogni fase contribuisce al calcolo della incertezza tipo composta da associare alla stima dei valori delle

proprietà di interesse. Il calcolo dell'incertezza tiene conto di molteplici fattori, come il fatto che solo una unità del lotto prodotto viene usata dall'utilizzatore e che l'assegnazione del valore alla proprietà di interesse è inevitabilmente accompagnato da una incertezza.

E' bene inoltre tenere presente che il materiale una volta prodotto viene immagazzinato dal produttore per un certo periodo di tempo e successivamente deve essere trasportato al laboratorio dell'utilizzatore.

Il calcolo dell'incertezza tipo risulta pertanto composta e deve tener conto di diversi contributi come:

- l'**omogeneità**: per i Materiali di Riferimento bisogna considerare la validità per ogni singola unità o per una aliquota della singola unità del valore ( e dalla sua incertezza) assegnato alla proprietà di interesse
- la **stabilità nel breve termine** che non deve essere inficiata durante il trasporto all'utilizzatore
- la **stabilità a lungo termine** che deve permanere durante tutto il periodo di conservazione prima del suo utilizzo
- la **caratterizzazione**, cioè l'incertezza del valore assegnato alla proprietà di interesse.

Le fasi dei processi di produzione e caratterizzazione di un materiale di riferimento che contribuiscono al calcolo dell'incertezza tipo composta portano alla elaborazione di un modello la cui espressione matematica è:

$$C_{RM} = C_{car} + \delta C_{bb} + \delta C_{sts} + \delta C_{lts}$$

Per il significato dei simboli usati si veda la *Tabella 1*.

<b>Tabella 1 - Significato dei simboli usati</b>	
<b>Simbolo</b>	<b>Significato</b>
$C_{RM}$	Stima del valore della proprietà di interesse
$C_{car}$	Stima del valore della proprietà derivato dalla caratterizzazione
$\delta C_{bb}$	Stima della correzione eventualmente derivante dall'eterogeneità residua
$\delta C_{sts}$	Stima della correzione eventualmente derivante dall'instabilità a breve termine
$\delta C_{lts}$	Stima della correzione eventualmente derivante dall'instabilità a lungo termine
$u_{RM}$	Incertezza tipo della stima del valore della proprietà di interesse
$u_{car}$	Incertezza tipo della stima del valore della proprietà derivata dalla caratterizzazione
$u_{bb}$	Incertezza tipo della stima del valore della eterogeneità residua
$u_{sts}$	Incertezza tipo della stima del valore dell'instabilità nel breve termine
$u_{lts}$	Incertezza tipo della stima del valore dell'instabilità nel lungo termine

Il processo di produzione di un materiale di riferimento è tale che le correzioni dovute all'eterogeneità residua ed alla instabilità possono generalmente considerarsi trascurabili; al contrario le incertezze associate alle stime di queste correzioni vanno considerate nel calcolo dell'incertezza tipo composta, associata al valore di ogni proprietà di interesse. Assumendo che le grandezze d'ingresso siano tra loro non correlate, l'espressione per l'incertezza tipo composta associata alla stima del valore della proprietà di interesse è:

$$u_{RM} = \sqrt{u_{car}^2 + u_{bb}^2 + u_{sts}^2 + u_{lts}^2}$$

(Vedi *Tabella 1*)

Le incertezze tipo attribuibili all'omogeneità, stabilità e caratterizzazione sono calcolate utilizzando disegni sperimentali che permettono di separare le varie componenti. Ad esempio, per la valutazione dell'omogeneità tra le diverse unità del lotto le componenti dell'incertezza sono la ripetibilità del metodo di misura utilizzato e la variazione tra le unità del lotto stesso.

Per il calcolo delle componenti si può utilizzare un disegno sperimentale che può essere descritto dall'analisi della varianza (ANOVA) ad una via, in cui la ripetibilità del

metodo è data dalla variazione all'interno dei gruppi, mentre la variabilità tra unità è data dalla variabilità tra gruppi.

I metodi per la produzione di Materiali di Riferimento risultano in generale ben delineati nella nuova ISO Guide 35:2006 che risulta conforme a quanto richiesto dalla “Guide to the expression of uncertainty in measurement” (GUM) in quanto riporta indicazioni su come calcolare i contributi all'incertezza tipo composta del misurando (valore della proprietà di interesse in un materiale di riferimento) derivanti dalla eterogeneità residua, dall'instabilità e dall'assegnazione del valore.

Per ottenere un materiale di riferimento, la materia prima che viene campionata viene trasferita in laboratori competenti (ad esempio l'APAT) e trattata al fine di ottenere una massa omogenea di materiale che deve essere in seguito sottoposta a prove sia di omogeneità che stabilità.

Durante la **prove di omogeneità** vengono selezionate in modo casuale alcune unità dall'intero lotto di produzione e vengono sottoposte a misure indipendenti di un certo elemento (come ad esempio Hg) presente all'interno della matrice in modo da determinarne la massa senza alcun trattamento chimico del campione. Devono essere effettuate in condizioni di ripetibilità un numero adeguato di misurazioni al fine di verificare che i dati ottenuti abbiano una distribuzione normale.

In seguito viene applicata l'analisi della varianza ad una via (ANOVA), in cui i gruppi sono costituiti dalle unità selezionate in modo casuale di materiale di riferimento candidato. La variazione tra gruppi indica la variazione attribuibile alle differenze tra unità, mentre la variazione all'interno di ogni gruppo rappresenta le variazioni dovute al metodo di misura. Dall'analisi della varianza deve emergere che l'eterogeneità residua del materiale non risulta essere significativa rispetto alle variazioni del metodo sperimentale utilizzato. L'incertezza tipo della stima dell'eterogeneità residua secondo ISO Guide 35 è data da:

$$u_{bb} = \frac{MQ_{tra} - MQ_{int\ ra}}{n}$$

Dove:

$u_{bb}$  : Incertezza tipo della stima dell'eterogeneità residua

$MQ_{tra}$  : Media dei quadrati delle varianze “tra”

$MQ_{intra}$  : Media dei quadrati delle varianze “intra”

n : Numero totale delle misurazioni

Se  $MQ_{tra} < MQ_{intra}$  , cioè la differenza tra unità, è inferiore alla variazione introdotta dal metodo di misurazione, la ISO Guide 35 pone l'incertezza tipo della stima dell'omogeneità uguale a 0 ( $u_{bb} = 0$ ).

Le **prove di stabilità** devono evidenziare la eventuale degradazione del materiale nei laboratori nel corso di un certo periodo di tempo.

Campioni di unità selezionate vengono posti a diverse temperature (-18°C, +20°C , +40°C) per un certo periodo di tempo e poi riportati a temperatura ambiente.

Di tali campioni si valuta poi se sia variata nel tempo la quantità dell'elemento (Hg) da cui in precedenza avevo fatto riferimento per ricavare la massa senza alcun trattamento chimico del campione.

La verifica di stabilità del materiale viene effettuato valutando il valore assoluto della pendenza (b) della retta di regressione ottenuta dall'analisi dei campioni che deve essere:

$$|b| < t_{0,95,n-2} * s(b)$$

Dove:

t : Valore del fattore t di Student per 2 gradi di libertà con un livello di confidenza pari al 95%

s(b) : Incertezza associata alla pendenza

Se la pendenza risulta non essere significativa il materiale è stabile rispetto all'elemento analizzato.

E' bene inoltre verificare il risultato ottenuto con un test ANOVA ad una via.

L'ultimo passo necessario per ottenere un materiale di riferimento è la sua **caratterizzazione** al fine di valutare gli elementi presenti in traccia (in genere affidato a diversi laboratori indipendenti), ed ottenere infine il “Documento di caratterizzazione”.



Tale documento deve riportare le informazioni principali come richiesto dalla ISO Guide 31:

- Il tipo di materiale di riferimento.
- Le caratteristiche fisiche (ad esempio dimensioni delle particelle, peso e contenitore)
- Sintesi dei risultati delle prove di omogeneità e stabilità
- Modalità di assegnazione del valore alla proprietà di interesse
- Elenco dei laboratori che hanno partecipato al circuito per l'assegnazione del valore della proprietà di interesse
- Valore della proprietà di interesse e sua incertezza
- Il tipo di utilizzo del materiale
- Data di caratterizzazione e scadenza

## 2. ORGANIZZAZIONE DEI CIRCUITI DI INTERCONFRONTO

Generalmente, i circuiti di interconfronto sono organizzati seguendo una serie di passaggi chiari e ben delineati.

Nella prima fase di ogni Circuito di Interconfronto è necessario infatti stabilire previamente da parte degli organizzatori un **progetto** che delinei nel modo più opportuno l'obiettivo e/o lo scopo e che permetta quindi di selezionare i diversi studi che devono essere eseguiti.

Inoltre, una volta stabilite le possibili metodologie e selezionati i materiali di riferimento si procede alla selezione dei partecipanti del circuito.

Nella seconda fase, quella dello **sviluppo** dell'Esercizio di Interlaboratorio, vengono preparati i materiali di riferimento non certificati che verranno poi distribuiti ai partecipanti, i quali effettueranno le analisi necessarie richieste e provvederanno a stilare un rapporto dei risultati ottenuti ed inviare tali risultati agli organizzatori.

Infine, nella terza ed ultima fase, in cui viene anche organizzata una riunione e discussione tra i partecipanti, si procede alla **valutazione** dei risultati attraverso analisi statistiche dei dati ottenuti.

I risultati così ottenuti vengono poi comunicati attraverso un rapporto finale ai partecipanti in cui viene valutata l'attendibilità delle analisi effettuate nei diversi laboratori del circuito.

Esistono diversi tipi di esercizi di interlaboratorio ciascuno con modalità differenti.

Gli esercizi Interlaboratorio possono infatti seguire uno Schema Qualitativo, volto ad analizzare qualitativamente una o più caratteristiche di un LRM; possono servire per incrementare la propria capacità di elaborazione di dati manipolando e trattando un set di dati fornito dagli organizzatori o possono essere effettuati sia per valutare le capacità di rivelazione che per prevenire collusione di risultati ("Split Level Test"). I circuiti possono contemplare un Esercizio a Prestazione Singola, organizzato una volta sola, senza continuità, o a Schema Continuo, che viene cioè organizzato in modo periodico o continuo.

Gli organizzatori variano a seconda dei tipi di Esercizi di Interlaboratorio, che possono essere:

- Esercizi di Certificazione, in cui l'obiettivo è la certificazione di una o più proprietà (ad esempio un analita) di un Materiale di Riferimento e sono normalmente condotti da fornitori di SRMs, come BCR, NIST, IAEA, etc.
- Studi Collaborativi, in cui l'obiettivo è la convalida (lo studio delle prestazioni) di un singolo metodo analitico ("test method") utilizzato da tutti i laboratori partecipanti; in genere sono organizzati dagli enti di normazione quali UNI, CEN, ISO.
- Esercizi del tipo ***Proficiency tests (PTs)***, in cui l'obiettivo è la valutazione delle prestazioni dei laboratori partecipanti e **verificarne la qualità del dato**. Essi sono generalmente usati o raccomandati da enti di accreditamento, come UKAS, COFRAC, ENAC, IPQ e vengono organizzati da enti ed istituti sia pubblici che privati. A tal proposito APAT svolge un ruolo di particolare rilevanza nell'ambito del sistema delle agenzie in Italia, in cui è emersa l'esigenza di iniziative che sistematicamente consentano, da un lato, di disporre di strumenti ed informazioni mirati ad un crescente miglioramento delle proprie attività di misura, dall'altro, un confronto costante sulle tematiche tecnico analitiche tra i soggetti coinvolti nel sistema dei controlli ambientali.

### **3. PROFICIENCY TESTS: ESEMPIO DI CIRCUITO DI INTERCONFRONTO APAT**

Negli ultimi anni si è resa sempre più evidente la necessità da parte dei laboratori ambientali di un appropriato sistema di garanzia e controllo della qualità (QA/QC) per dimostrare la reale capacità di ottenere risultati attendibili. Tra i requisiti richiesti in un sistema di garanzia e controllo della qualità vi è la necessità di dimostrare che i dati prodotti da un laboratorio di analisi siano sotto un controllo statistico e che i metodi analitici risultino validati. Partecipare pertanto ad esercizi di interlaboratorio che verifichino l'efficienza e stimolino un affinamento delle conoscenze tecniche di un laboratorio è un aspetto essenziale per l'accreditamento e la garanzia della qualità del dato.

Il *proficiency test* è un elemento essenziale per l'assicurazione qualità del laboratorio. Per via della crescente domanda di prove indipendenti di competenza da parte degli organismi di regolamentazione e dei clienti, i *proficiency test* si sono rivelati uno strumento importante per tutti i laboratori di analisi in ogni Paese.

I *proficiency test* devono essere effettuati al fine di garantire che i laboratori forniscano dati analitici adeguati sia nell'ambito delle analisi ufficiali sia per tutti gli altri scopi di ricerca.

In un periodo in cui i laboratori devono competere intensamente, i *proficiency test* forniscono la possibilità di comparare la competenza nell'effettuazione di specifiche prove.

Il *proficiency testing* è una valutazione indipendente e non soggetta ad influenze delle performance di tutti gli aspetti del laboratorio, sia a livello umano che strumentale. Il *proficiency test* non dovrebbe essere confuso con le prove collaborative o di standardizzazione dove, come prima accennato, sia il metodo che il laboratorio devono essere testati.

Nel corso dei *proficiency test* il laboratorio viene incoraggiato ad impiegare il metodo di analisi abituale, e di conseguenza a simulare il più possibile la misura di un campione di routine. Anche se l'esito dell'analisi può essere dipendente dalla scelta del metodo questo può dipendere anche dalla prestazione delle apparecchiature o dalla competenza dell'analista.

Nella maggior parte degli schemi una parte essenziale della prova consiste nel seguire le istruzioni circa l'inserimento dei risultati e la data entro cui questi devono essere restituiti all'organizzatore del circuito per la valutazione.

Ogni partecipante riceve un *report* che rivela il numero di laboratorio a cui corrisponde nell'ambito del circuito, consentendo l'identificazione del proprio risultato. I risultati e le prestazioni, in forma anonima sono visibili anche agli altri partecipanti del circuito, consentendo al laboratorio di comparare le proprie performance con quelle degli altri partecipanti. I *report* contengono anche informazioni relative ai metodi impiegati dai laboratori.

I Laboratori che non hanno avuto buoni risultati nel *proficiency test* devono applicare delle manovre correttive come richiesto o dagli organismi di accreditamento o dal sistema qualità interno.

Per meglio delineare le modalità di svolgimento di un *proficiency tests* prenderò in esame uno tra i primi esercizi di interconfronto organizzati dall'APAT, che ha riguardato la determinazione del contenuto di metalli in una matrice organica (compost).

Questo circuito (APAT-IC002) si è sviluppato fondamentalmente nelle seguenti fasi:

- Produzione del materiale di riferimento;
- Prove di omogeneità e stabilità del materiale;
- Distribuzione del materiale ai laboratori partecipanti al circuito;
- Determinazione dei valori assegnati ai diversi analiti;
- Elaborazione dei risultati prodotti dai laboratori;
- Predisposizione di una bozza del rapporto finale e raccolta dei commenti da parte dei laboratori partecipanti;
- Predisposizione del rapporto finale e di un rapporto di sintesi;

Al fine di disporre di materiali di riferimento il più possibile simili alle matrici su cui i laboratori sono chiamati ad effettuare le loro determinazioni analitiche, l'APAT ha realizzato un laboratorio per la produzione e la caratterizzazione di tali materiali (M.Belli et al., 2004). I materiali di riferimento prodotti dall'APAT fanno parte dei "materiali con matrice", da utilizzare per la convalida dei metodi analitici ed in generale per qualificare la rete dei laboratori coinvolti nel sistema dei controlli

ambientali. Gli analiti e le matrici selezionati per la produzione di questi materiali sono generalmente in accordo con quelli che vengono abitualmente analizzati nei laboratori ambientali, nelle azioni di monitoraggio e controllo ambientale. I materiali di riferimento prodotti dall' APAT sono distribuiti a titolo gratuito, così come la partecipazione ai circuiti di interconfronto è gratuita per tutti i laboratori.

Il materiale di riferimento (APAT RM004) distribuito ai laboratori partecipanti è stato preparato in conformità ai criteri definiti a livello internazionale ed ha le seguenti caratteristiche:

- Omogeneità tra le unità distribuite ai diversi laboratori partecipanti al circuito di interconfronto;
- Stabilità chimica, fisica e biologica per tutta la durata del circuito di interconfronto;
- Concentrazione degli analiti oggetto del circuito ignota ai laboratori.

### 3.1 STRUTTURA DEL CIRCUITO D'INTERCONFRONTO APAT

Nell'interconfronto APAT-IC002 è stato richiesto ai laboratori la determinazione del contenuto di metalli (As, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Mo, Ni, Pb, Se, Zn) in un materiale di riferimento in matrice caratterizzata da un elevato tenore di sostanza organica (compost), denominato APAT RM004.

La determinazione delle concentrazioni di tali metalli rientra nelle norme vigenti a livello nazionale in materia di produzione ed impiego di compost: Legge n° 784 del 19 ottobre 1984 e successive modifiche ed integrazioni (Decreto ministeriale del 27 marzo 1988), Decreto ministeriale 28 settembre 1993 e decisione della Commissione 7 aprile 1998 (98/488/CE) in materia di etichettatura ecologica. All'interconfronto hanno partecipato laboratori appartenenti al sistema delle agenzie (ARPA/APPA) rappresentanti la quasi totalità delle realtà territoriali.

I laboratori partecipanti hanno eseguito le determinazioni analitiche adottando i metodi, sia di preparazione/pre-trattamento del campione che di misura, impiegati abitualmente nelle proprie attività di analisi ambientale in modo da testare

efficientemente l'attendibilità dei loro risultati ed individuare eventuali scostamenti tra i valori misurati e i valori di riferimento.

### 3.2 PRODUZIONE DEL MATERIALE DI RIFERIMENTO APAT RM004

Il compost è stato prelevato da cumuli stabilizzati di un impianto di compostaggio dedicato al trattamento di rifiuti di origine vegetale (sfalci/potature) e/o da mercati ortofrutticoli.

Il materiale è stato trasferito nei Laboratori del Servizio Metrologia Ambientale dell'APAT per le operazioni di trattamento. Il compost tal quale, collocato in vasche rettangolari in uno strato di spessore pari a circa 5 centimetri, è stato essiccato in stufa ventilata alla temperatura di 40°C al fine di stabilizzare il contenuto di acqua presente. Il materiale essiccato è stato setacciato per eliminare la frazione superiore a 2 millimetri, costituita da residui lignei e materiale estraneo di origine non vegetale e non riconducibile a compost.

La frazione di compost inferiore a 2 millimetri è stata macinata meccanicamente fino ad una granulometria inferiore a 90 micrometri. Il materiale di riferimento è stato quindi omogeneizzato in un cilindro rotante (omogeneizzatore) per quattro settimane, alla velocità di 48 giri al minuto. Trascorso tale periodo, il materiale è stato sottoposto a prove per la verifica dell'omogeneità della massa complessiva.

### 3.3 PROVE DI OMOGENEITA' DEL MATERIALE DI RIFERIMENTO

L'omogeneità della massa è stata determinata tramite determinazioni di carbonio ed azoto totale su aliquote di campione (10-15g), ognuna prelevata direttamente dall'omogeneizzatore ad intervalli di tre minuti. Il materiale è stato successivamente imbottigliato nell'arco di otto ore.

Per prevenire fenomeni di stratificazione del materiale, con possibili effetti negativi sull'omogeneità delle bottiglie, un ciclo di rotazione di cinque minuti

dell'omogeneizzatore è stato sempre effettuato dopo il riempimento di ogni gruppo di quaranta bottiglia. Le bottiglie sono state numerate in base alla sequenza di prelievo e conservate in un locale a temperatura controllata (+20°C).

Le prove di omogeneità per il materiale di riferimento APAT RM004 sono state effettuate tramite determinazioni di carbonio totale e di mercurio (M. Belli, et al., 2004; G.Bonas, et al.,2003; ISO Guide 35:1989).

L'omogeneità "*intra*" bottiglia è stata determinata tramite lo scarto tipo "*intra*" di trenta misure effettuate dallo stesso operatore su trenta aliquote prelevate da una unica bottiglia. Il calcolo del coefficiente di variazione percentuale (CV %), sulla base dello scarto tipo e del valore medio delle trenta misure indipendenti, rappresenta la variabilità delle misure attorno al valore medio.

L'omogeneità "*tra*" bottiglie è stata determinata tramite lo scarto tipo "*tra*" di dieci valori medi, ognuno ottenuto da tre misure effettuate dallo stesso operatore su tre aliquote prelevate da ognuna delle dieci bottiglie di materiale di riferimento (per un totale di trenta misure per ogni analista). Il calcolo del coefficiente di variazione percentuale (CV %), sulla base dello scarto tipo tra bottiglie e del valore medio dei dieci valori medi, rappresenta la variabilità tra le diverse bottiglie attorno al loro valore medio complessivo. Valori del coefficiente di variazione "*tra*" comparabili al coefficiente di variazione "*intra*" indicano omogeneità delle bottiglie di materiale di riferimento. La valutazione dell' omogeneità "*tra*" bottiglie è stata completata applicando il test statistico dell'analisi delle varianze (ANOVA) (EC, BCR/01/97-Part A, 1997). Questo test permette di valutare la potenziale diversità delle bottiglie e di quantificare l'incertezza associata alla diversità tra le bottiglie ( $S_{bb}$ = eterogeneità residua).

Il contenuto di carbonio totale è stato determinato con un analizzatore elementare CHNS-O, mentre il contenuto di mercurio è stato determinato con un analizzatore diretto (Direct Mercury Analyzer-DMA 80). Le misure di carbonio totale sono state intervallate da misure effettuate su materiale di riferimento di acetanilide (C = 71.09%, H = 6.71%, N = 10.36% in peso) al fine di valutare la precisione del metodo analitico adottato e di tenere sotto controllo la stabilità strumentale.

Le misure di mercurio per la valutazione della omogeneità del materiale APAT RM004 sono state intervallate da misure effettuate sul Materiale di Riferimento Certificato BCR-145R.

I risultati delle prove di omogeneità “*intra*” e “*tra*” bottiglie, riportati nella *Tabella 2*, confermano l’omogeneità del materiale di riferimento APAT RM004 prodotto nei laboratori APAT e la sua idoneità ad essere utilizzato nell’esercizio di interconfronto.

<i>Tabella 2 - Risultati delle prove di omogeneità sul materiale di riferimento APAT RM004 per carbonio totale e mercurio.</i>				
	<b>Hg (mg kg<sup>-1</sup>) APAT RM 004</b>		<b>C (g kg<sup>-1</sup>) APAT RM 004</b>	
	<i>Intra</i>	<i>Tra</i>	<i>Intra</i>	<i>Tra</i>
<b>Peso (g)</b>	0,5	0,5	0,02	0,02
<b>Media</b>	0,236	-	359,38	-
<b>Grande Media</b>	-	0,236	-	366,01
<b>Scarto tipo</b>	0,0010	0,004	0,97	1,08
<b>CV %</b>	4,3	1,7	0,3	0,3
<b>N° Campioni</b>	30	30	30	30
<b>N° Bottiglie</b>	1	10	1	10

Utilizzando i risultati dello stesso circuito d’interconfronto è stato possibile a posteriori confermare l’omogeneità del materiale anche per gli elementi metallici di interesse. La base statistica su cui sono state svolte le valutazioni è la medesima di quella prevista per carbonio e mercurio. Le misure sono state eseguite mediante spettrometro di massa al plasma accoppiato induttivamente (ICP-MS).

In particolare, sulla base della norma ISO 13528:2005 (E)- Annex E, la quale prevede come criterio di omogeneità del materiale inviato ai laboratori che il rapporto tra lo scarto tipo “*tra*” bottiglie ( $S_{bb}$ ) e lo scarto robusto del circuito di interconfronto APAT-IC002 ( $v_{rif}$ ) sia inferiore a 0,3. I risultati riportati in *Tabella 3* confermano l’idoneità del materiale ai fini del circuito.



**Tabella 3 - Conferma omogeneità "tra" bottiglie per gli elementi metallici in APAT RM004**

<b>Analita</b>	<b>S<sub>bb</sub>/ v<sub>rif</sub></b>
As	0,06
Cd	0,2
Co	0,02
Cr	0,04
Cu	0,1
Mo	0,02
Ni	0,01
Pb	0,2
Zn	0,2

### 3.4 PROVE DI STABILITA' DEL MATERIALE DI RIFERIMENTO

Le prove di stabilità per il materiale di riferimento sono state effettuate tramite determinazioni di carbonio totale e di mercurio utilizzando le stesse tecniche analitiche adottate per le prove di omogeneità.

Le prove di stabilità sono state eseguite secondo il metodo “isocrono” (A.M.H. Van der Veen, et al, 2001). Tale metodo prevede l’esecuzione, in una unica soluzione, di tutte le misure sulle porzioni di campione prelevate dalle bottiglie selezionate. Le prove di stabilità hanno coperto il periodo di tre mesi di durata dell’interconfronto.

Per simulare i possibili effetti dovuti a condizioni ambientali diverse, la stabilità è stata determinata con riferimento a due distinte temperature di conservazione dei campioni: +20 °C e +40°C.

Trentacinque bottiglie del materiale di riferimento sono state selezionate per le prove di stabilità nel tempo. Di queste, venticinque bottiglie sono state collocate in un congelatore alla temperatura di -18°C, cinque sono state collocate in un ambiente a

temperatura controllata di +20°C e le rimanenti cinque bottiglie in un forno alla temperatura di +40°C.

Ogni 30 giorni, dal gruppo di bottiglie posto alla temperatura di -18°C, sono state prelevate:

- Cinque bottiglie da collocare alla temperatura di +20°C;
- Cinque bottiglie da collocare alla temperatura di +40°C.

Al novantesimo giorno sono state prelevate le rimanenti cinque bottiglie dal gruppo conservato alla temperatura di -18°C (gruppo di riferimento) ed insieme a tutte le altre bottiglie, precedentemente poste alle temperature di +20°C e di +40°C, sono state effettuate in una unica soluzione tutte le misure per le prove di stabilità.

La stabilità del materiale di riferimento è stata valutata per ciascuna temperatura con:

- Lo scarto tipo “*intra*” fra le bottiglie appartenenti allo stesso intervallo di tempo, il valore medio di concentrazione e il coefficiente di variazione percentuale (CV%) corrispondente;
- Lo scarto tipo “*tra*” fra i valori medi di concentrazione delle bottiglie appartenenti ad intervalli di tempo differenti, il valore medio di concentrazione e il coefficiente di variazione percentuale (CV%) corrispondente;
- Il rapporto tra il valore medio di concentrazione delle bottiglie appartenenti allo stesso intervallo di tempo e il valore medio di concentrazione delle bottiglie appartenenti all’intervallo di tempo e di temperatura di riferimento (gruppo di riferimento) (G.Bonas, et al., 2003);
- La regressione lineare dei rapporti citati al punto precedente, incertezza associata alla stabilità del materiale (Sstab) (G. Bonas, et al, 2003);
- L’analisi della varianza (ANOVA), per valutare se il diverso intervallo di tempo ad una certa temperatura incide sulla stabilità.

Il materiale di riferimento si considera stabile per valori bassi dei coefficienti di variazione e comunque comparabili alla ripetibilità della misura dell’analita considerato. I valori ottenuti per il gruppo di bottiglie conservate alla temperatura di -18°C per l’intero periodo di prova, non avendo subito potenzialmente alcun fenomeno di degradazione, rappresentano il valore di riferimento. I risultati delle prove di

stabilità, riportati nella *Tabella 4* sono in linea con le finalità dell'esercizio di interconfronto.

Inoltre, le misure di mercurio per la valutazione della stabilità del materiale APAT

**Tabella 4- Risultati delle prove di stabilità sul materiale di riferimento APAT RM004**

<b>Hg APAT RM004</b>		<b>C APAT RM004</b>	
<b>Peso (g)</b>	0,3	<b>Peso (g)</b>	0,02
<b>Regressione 20°C (R<sup>2</sup>)</b>	0,12	<b>Regressione 20°C (R<sup>2</sup>)</b>	0,57
<b>S<sub>stab</sub> 20°C (mgKg<sup>-1</sup>)</b>	0,004	<b>S<sub>stab</sub> 20°C (mgKg<sup>-1</sup>)</b>	2,6
<b>Cv% 20°C</b>	1,0	<b>Cv% 20°C</b>	0,7
<b>Regressione 40°C (R<sup>2</sup>)</b>	0,5	<b>Regressione 40°C (R<sup>2</sup>)</b>	0,9
<b>S<sub>stab</sub> 40°C (mgKg<sup>-1</sup>)</b>	0,003	<b>S<sub>stab</sub> 40°C (mgKg<sup>-1</sup>)</b>	0,8
<b>Cv% 40°C</b>	1.2	<b>Cv% 40°C</b>	0.4
RM004 sono state intervallate da misure effettuate sul Materiale di Riferimento Certificato AgroMat-CP1 (compost).			

### 3.5 DETERMINAZIONE DELLA CONCENTRAZIONE E DEGLI ELEMENTI METALLICI DI INTERESSE

In questo esercizio di interconfronto è di fondamentale importanza determinare con accuratezza e precisione i valori di As, Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Mo, Ni, Pb, Se, Zn nel compost APAT RM004 che possono essere presenti sia in grandi quantità o solo in traccia.

Per questi elementi metallici di interesse dell'interconfronto, sono stati determinati i valori di riferimento delle concentrazioni (ISO Guide 43-1: 1997) espressi in mg Kg<sup>-1</sup> di sostanza secca. In *Tabella 5* sono riportati i valori assegnati delle concentrazioni degli elementi metallici e la relativa incertezza calcolata conformemente alla norma internazionale ISO 13528:2005 (E).

<b>Tabella 5- Valori assegnati delle concentrazioni degli elementi (Metodo acqua regia)</b>	
<b>Analita</b>	<b>Valore assegnato (mg Kg<sup>-1</sup> s*s)</b>
As	5,8 + 0,4
Cd	0,45 + 0,04
Co	8 + 1
Cr	427 + 29
Cu	96 + 3
Hg	0,35 + 0,06
Mo	8,2 + 0,8
Ni	217 + 7
Pb	106 + 9
Se	0,5 + 0,1
Zn	188 + 7

La concentrazione degli elementi per i valori di riferimento è stata determinata principalmente mediante l'uso dello spettrometro di massa al plasma accoppiato induttivamente (ICP-MS) . Prima di effettuare tale analisi è necessario procedere alla completa mineralizzazione della matrice in esame.

### 3.5.1 PREPARAZIONE DELLA MATRICE PER ANALISI CON L'ICP-MS: MINERALIZZAZIONE E LIOFILIZZAZIONE

In termini biologici, la **mineralizzazione** può essere descritta come la biodegradazione completa di un composto organico, che avviene generalmente in natura ad opera di microrganismi semplici (ad esempio ioni minerali). In laboratorio è possibile realizzare tale processo e mineralizzare o funghi e che porta alla sua totale decomposizione in composti inorganici la matrice organica in esame tramite l'utilizzo di acidi forti come HCl e HNO<sub>3</sub>.

Nelle operazioni preliminari è necessario pulire tutta la vetreria e/o la plastica mediante immersione per almeno sei ore in una soluzione calda di HNO<sub>3</sub> 0,5M e successivamente risciacquata con acqua distillata.

Il metodo di riferimento utilizzato è quello basato sull'utilizzo di una miscela di acido nitrico-acido cloridrico in rapporto 1:3 con riscaldamento a pressione ambiente, detto metodo "acqua regia".

Nel metodo "acqua regia", viene pesato 1g di campione in un becker in duran (o teflon) da 250ml e vengono poi aggiunti 30ml di HCl 37% con molta cautela, per non indurre una reazione violenta provocata dalla presenza di sostanza organica. Il tutto viene coperto con vetro d'orologio ed a reazione ultimata vengono aggiunti 10ml di HNO<sub>3</sub> 70%. La reazione viene lasciata reagire a freddo, sotto cappa, per almeno dodici ore.

Il becker contenente il campione coperto viene poi posto su una piastra a circa 120°C per due ore (preferibilmente a bagnomaria o su bagno di sabbia), mantenendosi sotto il punto di ebollizione. Trascorse due ore viene tolto il vetro d'orologio ed aumentata gradualmente la temperatura fino a raggiungere l'ebollizione del campione consentendo l'evaporazione degli acidi. Il tutto viene fatto evaporare sino a che non si raggiunge la consistenza apparente di un fango evitando di portare a secco.

Il becker viene lasciato poi raffreddare e vengono aggiunti altri 15ml di HCl e 5ml di HNO<sub>3</sub>. Si copre nuovamente con vetro d'orologio e si ripete il procedimento di riscaldamento su piastra a 120°C e successivo raffreddamento.

Infine vengono aggiunti altri 5ml di HCl e il becker, questa volta scoperto, viene posto su piastra a 120°C e riscaldato per alcuni minuti fino al punto di ebollizione. Quando la soluzione si colora di giallo vengono aggiunti 30ml di acqua distillata ed il campione, ancora caldo, viene filtrato su filtro in carta resistente agli acidi, recuperando la soluzione in un matraccio da 100ml. Il residuo sul filtro va lavato ripetutamente con più aliquote di una soluzione calda di acqua distillata e HCl 37% (10:1), fino alla scomparsa del colore giallo dal filtro. L'acqua di lavaggio va recuperata nel matraccio. Infine, la soluzione lasciata raffreddare viene portata a volume con acqua distillata.

A volte, per ottenere una maggiore efficienza nella concentrazione dell'analita in esame, al fine di una migliore analisi all'ICP-MS, si procede prima della mineralizzazione alla liofilizzazione della matrice.

La **liofilizzazione** (in inglese detta anche *freeze-drying*) è un processo tecnologico che permette l'eliminazione dell'acqua da una matrice organica. Il metodo comprende due

processi fisici: il congelamento e la sublimazione. Il principio del metodo prevede l'applicazione del calore al campione congelato e mantenuto sottovuoto; l'umidità del prodotto è segregata sotto forma di ghiaccio, e poi estratta direttamente come vapore per sublimazione dalla superficie, che viene poi condensato come ghiaccio su di una superficie fredda. La sublimazione viene condotta in condizioni di temperatura e pressione accuratamente controllate per evitare danni alla struttura così che il campione originale sia ripristinabile se reidratato.

Il processo si svolge in tre tappe:

- Congelamento rapido, su piastre congelanti a  $-30^{\circ}$  /  $40^{\circ}\text{C}$ , del prodotto posto in vaschette. Un congelamento troppo rapido con produzione di numerosi cristalli di ghiaccio intracellulari non è desiderabile, poiché la sublimazione è difficile o lenta all'interno delle cellule. Un congelamento lento, al contrario, produce cristalli grandi che sublimano rapidamente ma possono danneggiare le strutture cellulari. È perciò richiesto un congelamento intermedio, che bilancia la facilità di sublimazione con un danno strutturale minimo.
- Sublimazione e primo essiccamento: le stesse piastre usate per il congelamento vengono scaldate a  $+40^{\circ}\text{C}$  e i cristalli di ghiaccio iniziano a sublimare. La sublimazione comincia a  $-20^{\circ}\text{C}$  con vuoto inferiore a 1.33 mbar, con riscaldamento sufficiente. Il calore viene trasferito dalla piastra alla superficie del prodotto e da questo al fronte di sublimazione, ove si trova presenza di prodotto congelato e di prodotto già essiccato. Il fronte di sublimazione man mano avanza verso l'interno del prodotto e lo strato esterno essiccato agisce come un isolante via via più efficiente dei cristalli di ghiaccio interni, per cui serve più calore. Il vapore si trasferisce dal fronte di sublimazione all'esterno creando una struttura porosa. Impianti più moderni avvicinano man mano le piastre radianti contro il prodotto fornendo calore per conduzione. Il vapore d'acqua deve essere rimosso dalla camera di sublimazione o per congelamento su serpentine refrigerate oppure con mezzi essiccanti.
- Secondo essiccamento: un certo quantitativo di acqua non congela e non può essere rimosso per sublimazione. L'acqua residua, insieme al ghiaccio non completamente sublimato, sono ridotti col secondo processo di essiccamento, che comporta un riscaldamento sotto vuoto di 0.13-0.67 mbar, con una temperatura

superficiale non superiore a 60°C. A questo punto l'umidità è del 10% e deve essere abbassata al 2 – 3%. Segue il riscaldamento: quello radiante è il più usato, ma è stato introdotto anche il riscaldamento con microonde, con numerosi vantaggi, come la diminuzione di imbrunimenti superficiali e facilità di controllo. Il processo dura in tutto circa 4 ore e si può procedere subito dopo alla mineralizzazione del campione.

### 3.5.2 ANALISI DEL CAMPIONE TRAMITE ICP-MS

La **spettrometria di massa** è una tecnica analitica applicata sia all'identificazione di sostanze sconosciute, sia all'analisi in tracce di sostanze. Viene comunemente usata in combinazione con tecniche separative, quali la gascromatografia e la cromatografia in fase liquida (HPLC), o - più recentemente - con tecniche ionizzanti quali il plasma a induzione.

Il principio su cui si basa la spettrometria di massa è la possibilità di separare una miscela di ioni in funzione del loro rapporto massa/carica generalmente tramite campi magnetici statici o oscillanti.

Lo strumento opera con il seguente schema: il campione viene aspirato dalle apposite provette mediante una pompa peristaltica e viene introdotto in una camera di nebulizzazione che permette la trasformazione in aerosol che viene spruzzato all'interno della torcia dove c'è il plasma; il plasma è generato da un flusso di gas Argon che passa dentro un generatore di radiofrequenze (torcia) che permette la ionizzazione degli atomi presenti tramite il trasferimento di energia dalle spirali di induzioni al gas stesso; in tal modo anche il campione viene ionizzato; successivamente il fascio di ioni creato dal plasma, passando attraverso un interfaccia metallica (coni), entra nella camera di misura che è mantenuta sottovuoto; nella prima parte della camera di misura il fascio di ioni passa nella cella di reazione ad ottapolo dove vengono abbattute le interferenze tramite collisioni con molecole di idrogeno e/o elio allo stato gassoso; infine gli ioni generati dal plasma vengono separati in funzione del rapporto massa carica per mezzo di un separatore di massa quadrupolare ed inviati ad un rivelatore di tipo ad elettromoltiplicatore che acquisisce il segnale sia con conteggio digitale che analogico; i dati acquisiti vengono inviati in tempo reale al computer per la visualizzazione dello

spettro di massa. La determinazione della concentrazione dei singoli analiti avviene confrontando l'intensità dei segnali dello spettro con la curva di taratura riferita all'analita stesso.

Tale curva di taratura deve essere costruita giornalmente e si costruisce tramite l'acquisizione degli spettri di soluzioni (almeno tre) di riferimento a diverse concentrazioni di ogni analita. Le concentrazioni di queste soluzioni devono essere scelte a seconda della tipologia di campione da analizzare in modo tale che la concentrazione del campione sia compreso all'interno della retta.

### 3.6 PROCEDURE UTILIZZATE DAI PARTECIPANTI PER LA DISSOLUZIONE DEI CAMPIONI

Per una corretta valutazione dei dati ricevuti dai diversi laboratori in seguito all'analisi del materiale fornito è bene considerare la significativa influenza che l'applicazione di diversi metodi di mineralizzazione può avere sul risultato finale.

Infatti i dati presentati dai laboratori partecipanti al *Proficiency test* hanno messo in evidenza una varietà delle tipologie di trattamento chimico utilizzate per la dissoluzione dei campioni da analizzare. Al fine, quindi, di consentire una valutazione più coerente dei dati e per evidenziare eventuali differenze nelle risposte analitiche associate alle procedure utilizzate, i laboratori partecipanti al circuito di interconfronto sono stati suddivisi sulla base delle procedure utilizzate per la dissoluzione dei campioni. Sono state pertanto definite le seguenti classi:

- Classe 1: La mineralizzazione viene effettuata utilizzando una miscela di acido fluoridrico (HF) e acido nitrico ( $\text{HNO}_3$ ) e/o acido cloridrico (HCl).
- Classe 2: La mineralizzazione viene effettuata utilizzando una miscela di acido nitrico ( $\text{HNO}_3$ ) e/o acido cloridrico (HCl) e/o acido solforico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ).
- Classe 3: La mineralizzazione viene effettuata utilizzando una miscela di acido nitrico ( $\text{HNO}_3$ ), acido cloridrico (HCl), perossido di idrogeno ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) e/o acido perclorico ( $\text{HClO}_4$ ).



- Classe 4: La mineralizzazione viene effettuata utilizzando una miscela di acido nitrico ( $\text{HNO}_3$ ), perossido di idrogeno ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) e/o acido perclorico ( $\text{HClO}_4$ ).
- Classe 5: La mineralizzazione viene effettuata utilizzando una miscela di acido nitrico ( $\text{HNO}_3$ ) e acido cloridrico ( $\text{HCl}$ ).
- Classe 6: In questa ultima categoria sono state raggruppate le metodologie che effettuano una analisi diretta (Attivazione Neutronica Strumentale- INAA o analizzatore diretto di mercurio- DMA).

La Classe 6, pur non facendo riferimento ad alcuna specifica procedura di dissoluzione del campione, è necessariamente esplicitata. In tale classe sono compresi i laboratori che hanno utilizzato metodi di analisi diretta e che quindi non prevedono alcun trattamento chimico del campione prima della sua analisi. L'attivazione neutronica strumentale è per principio idonea alla determinazione solo di alcuni degli elementi di interesse del circuito di interconfronto, mentre l'analizzatore diretto di mercurio si basa su tecniche spettroscopiche ad assorbimento atomico applicabile a campioni tal quali.

### 3.7 ELABORAZIONE STATISTICA DEI DATI

Il trattamento statistico dei dati dipende dal tipo di Esercizio Interlaboratorio effettuato. Generalmente l'analisi statistica è necessaria nella preparazione dei Materiali di Riferimento sia nelle fasi di campionamento che in quelle relative agli studi di omogeneità e stabilità.

Nella valutazione dei dati di un *Proficiency test* come questo organizzato dall'APAT, l'obiettivo è quello di valutare le prestazioni analitiche dei laboratori partecipanti ed il loro scostamento dai parametri di riferimento.

Nello specifico, i parametri di riferimento in un *Proficiency test* sono il Valore di Riferimento o Assegnato, convenzionalmente accettato come valore vero e il valore sperimentale che si può scostare dal valore vero.

Il valore di riferimento viene stabilito dalle modalità di preparazione del campione ("sample formulation") mediante aggiunta o diluizione dell'analita, mentre il valore sperimentale viene stabilito in base al risultato dell'esercizio di interconfronto.

Se il campione distribuito è un SRM, allora il Valore Certificato può essere usato come valore di riferimento.

I metodi statistici per la valutazione del valore di riferimento vengono stabiliti mediante l'appropriato calcolo della media dei risultati di tutti i partecipanti o di un gruppo selezionato di laboratori esperti attraverso un Metodo Classico (Tests per gli “*Outliers*” come il Test di Grubbs) o un Metodo Robusto (“Windsorisation”).

Il **Metodo Classico** per la determinazione del valore di riferimento e della deviazione standard ( $X_m$  &  $S$ ) consiste nella applicazione di Test per l'individuazione di “*Outlier*” e loro eventuale rigetto e nel calcolo della media dei risultati rimanenti.

La scelta del test dipende dalla distribuzione dei dati in quanto ogni test per “*outlier*” è adatto ad una particolare distribuzione dei dati.

Quando sono effettuati  $n$  test per “*outlier*”, per ottenere una probabilità complessiva  $PT$ , ciascun test dovrebbe essere effettuato ad un livello di probabilità  $P_i$  tale da rispettare la seguente relazione legata al Test per “*outlier*” multipli (Correzione di Bonferroni):

$$P_i = 1 - (1 - PT)^{1/n}$$

Nel **Metodo Robusto** o “Windsorisation” invece, è previsto il calcolo della media “robusta” ( $X_m$ ) usando tecniche robuste come la mediana e il calcolo della deviazione standard ( $S$ ) prendendo in considerazione tutti i risultati. Valori che invece cadono all'esterno delle deviazioni massime accettabili vengono riallocati mediante l'utilizzo di algoritmi iterativi.

Nei Circuiti di interconfronto APAT, una volta effettuati gli esercizi di interconfronto da parte dei soggetti partecipanti, l'APAT stessa provvede alla elaborazione statistica dei dati trasmessi dai diversi laboratori.

Nel caso specifico di tale circuito di interconfronto, l'elaborazione statistica dei dati trasmessi all'APAT dai laboratori partecipanti è stata effettuata mediante l'utilizzo di software Excel, S-Plus e i risultati delle misure sono stati sottoposti ai seguenti test statistici:

- **Test di Grubbs**

Il Test di Grubbs (Grubbs 1969 e Stefansky 1972) individua i valori abnormi fra i dati.

E' usato per individuare "outlier" in un insieme di dati più o meno omogenei. È basato sull'assunzione di normalità dei dati. Prima di applicare il test di Grubbs è necessario verificare che dati siano ragionevolmente approssimati ad una distribuzione normale.

- **Test di Boxplot**

Il Test di Box-plot individua la tendenza centrale, la variabilità e i valori abnormi fra i valori medi di tutti i laboratori (S.P.Millard et al.,2001).

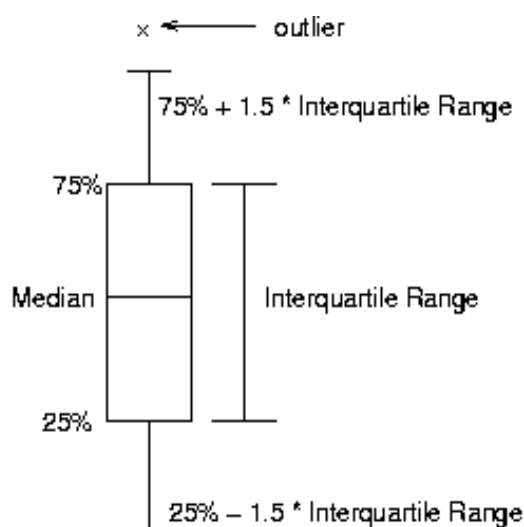
Il box-plot (o semplicemente boxplot o anche box & whiskers plot – letteralmente: "diagramma a scatola e baffi") è una forma di rappresentazione grafica in statistica.

Serve per descrivere in modo compatto e grafico la distribuzione di una funzione.

È il disegno su un piano cartesiano di un rettangolo, i cui estremi sono il primo e terzo quartile (Q1 e Q3), è tagliato da una linea all'altezza della mediana (Q2). Il minimo della distribuzione viene indicato con (Q0), mentre il massimo con (Q4).

Abitualmente vengono aggiunte due righe (detti anche baffi) corrispondenti ai valori distanti 1,5 volte la distanza interquartile a partire rispettivamente dal primo dal terzo quartile.

Alle volte vengono anche rappresentati nel grafico i valori che fuoriescono dall'intervallo delimitato dalle due righe come punti isolati (outlier).



- **Test di Cochran**

Il Test di Cochran come il test di Leneve è un test per l'omogeneità della varianza tra più campioni. Esso individua i valori abnormi (solo valori massimi) fra le varianze di tutti i laboratori (ISO 5725-2:1994).

Tale test, proposto da Cochran nel 1967 può essere applicato solo ad esperimenti bilanciati. E' metodologicamente semplice e permette una verifica rapida della ipotesi nulla di omoscedasticità dei vari trattamenti.

- **Test di Leneve**

Il Test di Leneve è anch'esso un test per l'omogeneità della varianza tra più campioni, applica l'analisi della varianza ad un criterio, ma i gruppi possono avere anche un numero differente di osservazioni. A differenza del test di Cochran può essere applicato solo disponendo dei dati originali, non delle loro varianze, perché utilizza gli scarti di ogni valore campionario dalla media del suo gruppo.

- **Test di Shapiro- Wilk per la normalità**

Il Test di Shapiro –Wilk verifica la normalità della distribuzione dei valori medi di tutti i laboratori (S.P.Millard, et al., 2001).

- **Test di Kolmogorov- Smirnov per la normalità**

Il Test di Kolmogorov-Smirnov si applica a distribuzioni continue ponendo a confronto la distribuzione cumulativa teorica con la distribuzione cumulativa osservata.

Il test si basa sulla differenza D che rappresenta la differenza massima, in valore assoluto, tra le due distribuzioni cumulative ed è definita come segue:

$$D = \max_{-\infty < x < \infty} |F_N(x) - F(x)|$$

dove F(x) è la funzione di distribuzione cumulativa teorica e F<sub>N</sub>(x) è la funzione di distribuzione cumulativa campionaria.

- **Test di analisi della varianza (ANOVA)**

L'Analisi della varianza (ANOVA) è un insieme di tecniche statistiche facenti parte della statistica inferenziale che permettono di confrontare due o più gruppi di dati confrontando la variabilità interna a questi gruppi con la variabilità tra i gruppi.

L'ipotesi nulla solitamente prevede che i dati di tutti i gruppi abbiano la stessa origine, ovvero la stessa distribuzione stocastica, e che le differenze osservate tra i gruppi siano dovuti solo al caso.

Si usano queste tecniche quando le variabili esplicative sono di tipo nominale. Nulla impedisce di usare queste tecniche anche in presenza di variabili esplicative di tipo ordinale o continuo, ma in tal caso sono meno efficienti delle tecniche alternative (p.es.: regressione lineare).

- **Z-score**

Gli Z-score sono i valori utilizzati negli esercizi di interlaboratorio per valutare l'efficienza e la conformità dei dati forniti da ogni laboratorio con quelli reali.

In generale, per valori di  $|Z\text{-score}| < 2$ , la risposta del laboratorio è ottimale, per valori di  $|Z\text{-score}|$  tra 2-3 il valore è sospetto, mentre per valori di  $|Z\text{-score}| > 3$  la risposta è errata. In questo caso il laboratorio deve aprire una non conformità per indagare il motivo del risultato ed effettuare le opportune correzioni.

In questo *Proficiency test* organizzato dall'APAT, i valori di Z-score per ciascun elemento metallico determinato dai laboratori partecipanti, sono stati calcolati secondo l'equazione:

$$|Z| = \frac{X_{LAB} - X_{RIF}}{g_{RIF}}$$

Dove:

- $X_{LAB}$  = valore medio del parametro ottenuto dal laboratorio (media di tre misure);
- $X_{RIF}$  = valore di consenso del parametro,
- $g_{RIF}$  = scarto tipo robusto del circuito di interconfronto APAT-IC002.

Il valore  $\vartheta_{\text{RIF}}$  (scarto tipo robusto del circuito d'interconfronto APAT-IC002) è stato calcolato sulla base dei valori medi delle concentrazioni determinate dai laboratori con il proprio metodo. Il valore è stato determinato conformemente a ISO 13528:2005 (E).

<b>Tabella 6 - Valori dello scarto tipo robusto (mg/Kg s*s) del circuito per ciascun elemento</b>	
<b>Analita</b>	<b>Scarto tipo robusto</b>
As	1,5
Cd	0,2
Co	2,5
Cr	131
Cu	13
Hg	0,16
Mo	4,1
Ni	47
Pb	22
Se	0,51
Zn	25

In *Tabella 7* è riportata la scala utilizzata per la valutazione dell'accettabilità dei dati presentati all'APAT dai laboratori partecipanti all'interconfronto.

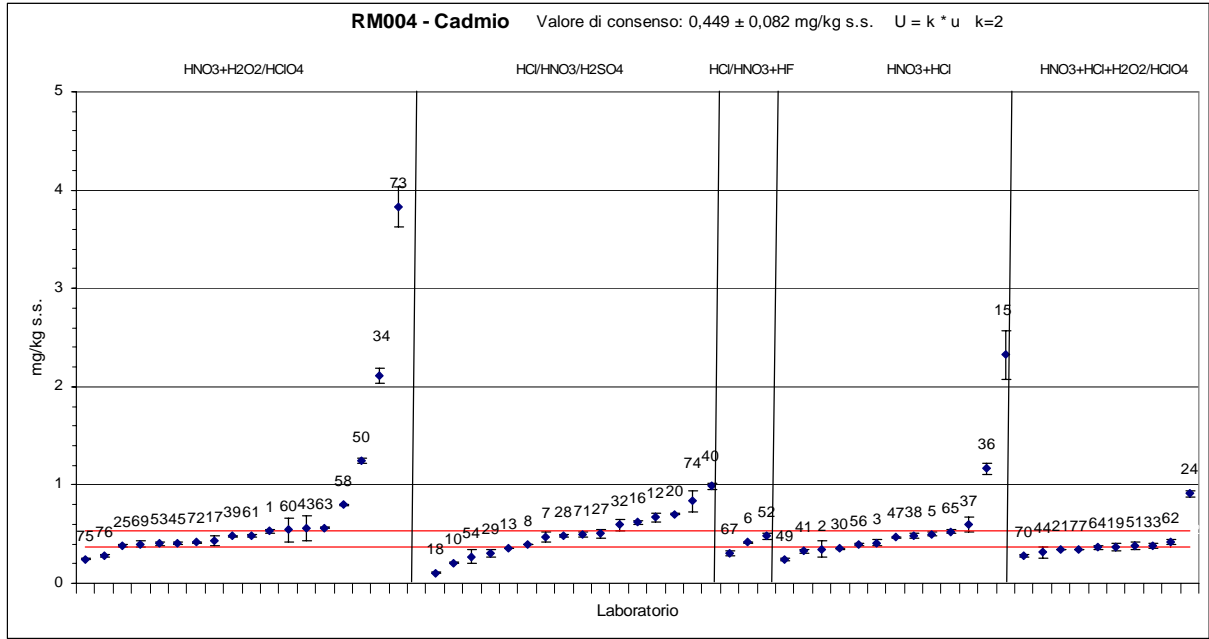
<b>Tabella 7 - Scala di valutazione dell'accettabilità (Z-score) dei dati</b>	
<b><math> \text{Z-score}  &lt; 2</math></b>	<b>Accettabile</b>
<b><math>2 &lt;  \text{Z-score}  &lt; 3</math></b>	<b>Discutibile</b>
<b><math> \text{Z-score}  &gt; 3</math></b>	<b>Non accettabile</b>

### 3.8 RISULTATI E DISCUSSIONE DEL CIRCUITO DI INTERCONFRONTO APAT-IC002

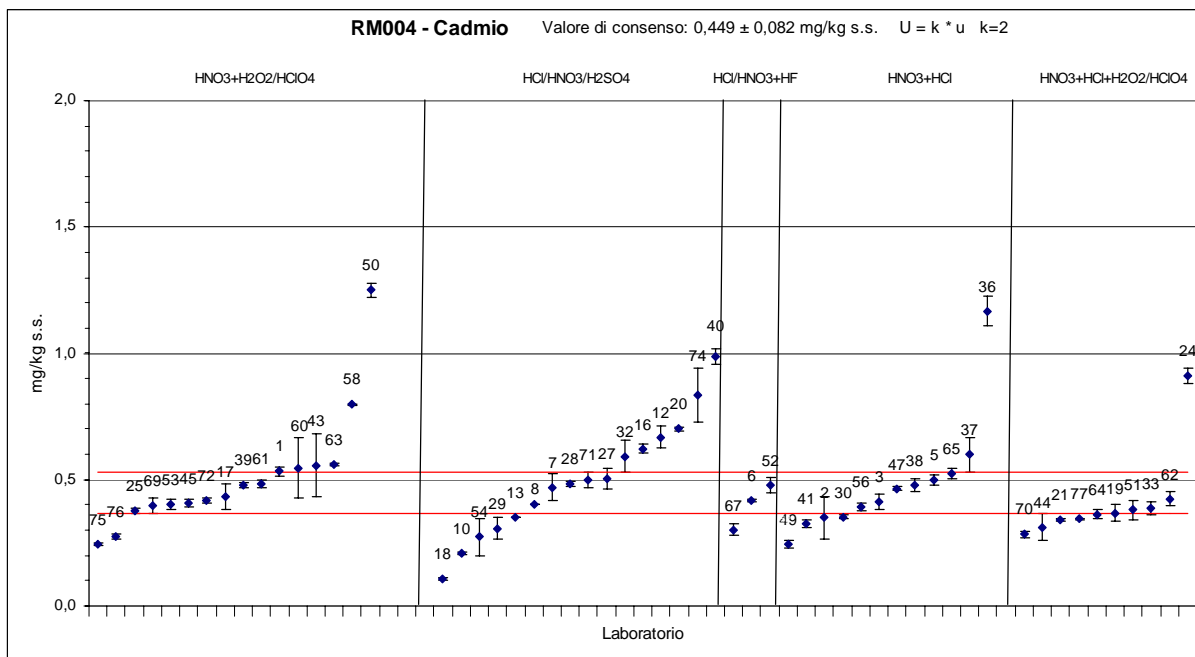
Nei grafici 1-6 sono riportati alcuni dati dei laboratori partecipanti all'interconfronto, inclusi ed esclusi i valori abnormi (*outliers* per test di Grubbs). I grafici riportano per ciascun elemento metallico analizzato, i valori medi delle concentrazioni con le relative

incertezze (uno scarto tipo), suddivisi per la tipologia di dissoluzione dei campioni utilizzata dai diversi laboratori ed ordinati per valore di concentrazione crescente. Le linee rosse individuano la fascia di riferimento corrispondente a due volte l'incertezza ( $u$ ) del valore assegnato ( $U=K*u$  per  $K=2$ ).

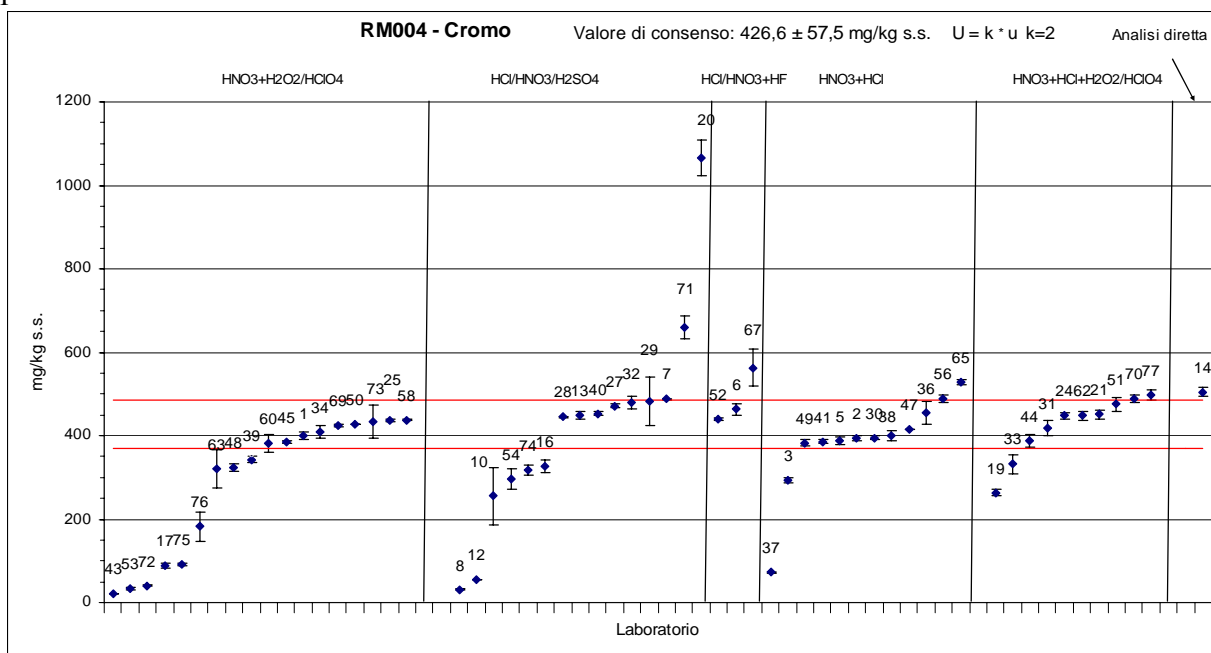
**Grafico 1.** APAT RM004 - Valori medi delle concentrazioni di Cadmio rilevate da ciascun laboratorio (tot 60 laboratori) suddivisi per metodo di dissoluzione e ordinati per valore crescente.



**Grafico 2.** APAT RM004 - Valori medi delle concentrazioni di Cadmio rilevate da ciascun laboratorio escluso i lab 15, 34, 73 (outlier per test di Grubbs) (tot 57 laboratori) suddivisi per metodo di dissoluzione e ordinati per valore crescente.

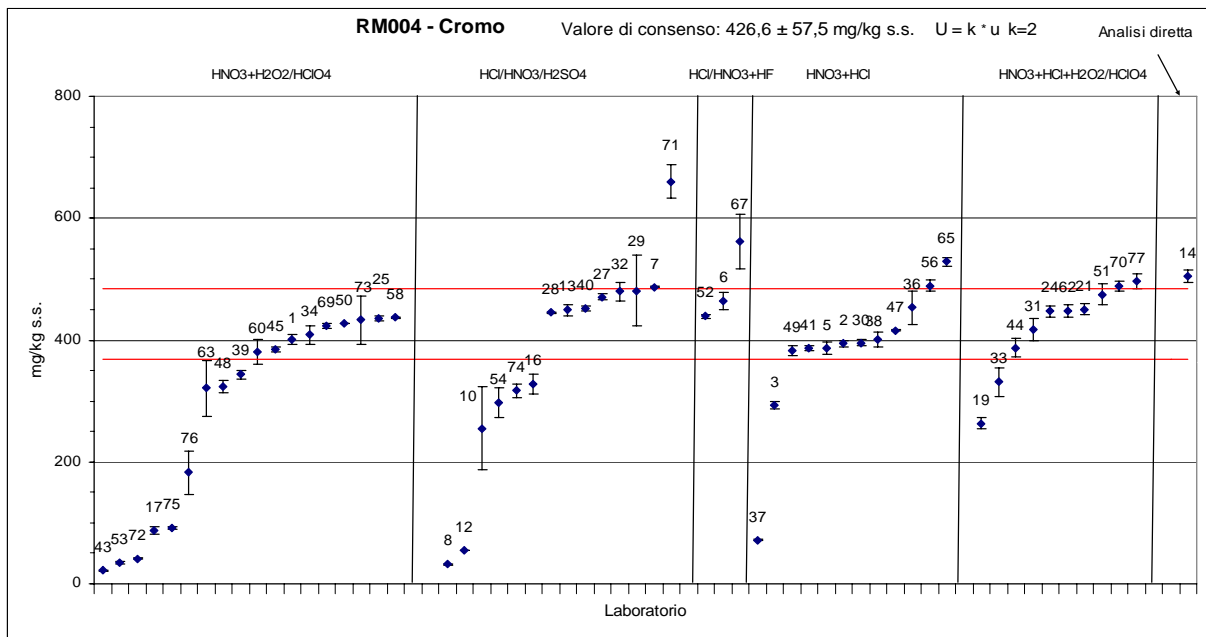


**Grafico 3.** APAT RM004 - Valori medi delle concentrazioni di Cromo rilevate da ciascun laboratorio (tot 59 laboratori) suddivisi per metodo di dissoluzione e ordinati per valore crescente.

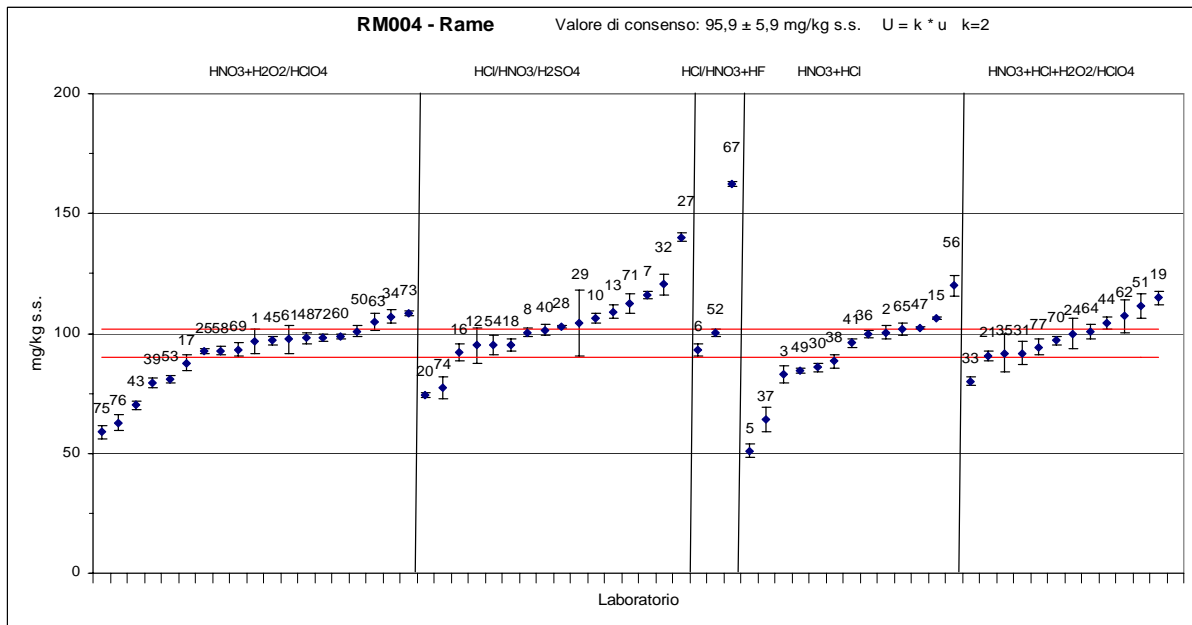




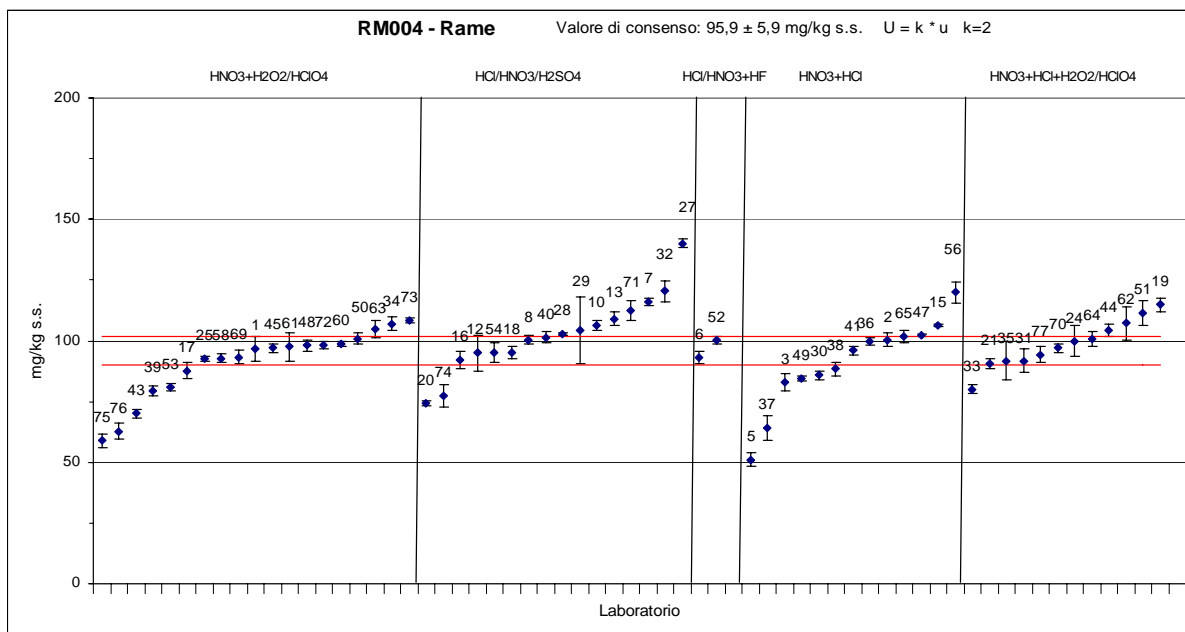
**Grafico 4.** APAT RM004 - Valori medi delle concentrazioni di Cromo rilevate da ciascun laboratorio escluso il laboratorio 20 (outlier per test di Grubbs) (tot 59 laboratori) suddivisi per metodo di dissoluzione e ordinati per valore crescente.



**Grafico 5.** APAT RM004 - Valori medi delle concentrazioni di Rame rilevate da ciascun laboratorio (tot 63 laboratori) suddivisi per metodo di dissoluzione e ordinati per valore crescente.



**Grafico 6.** APAT RM004 - Valori medi delle concentrazioni di Rame rilevate da ciascun laboratorio escluso il laboratorio 67 (outlier per test di Grubbs) (tot 62 laboratori) suddivisi per metodo di dissoluzione e ordinati per valore crescente.



In *Tabella 8* è riportato il riepilogo dei test statistici eseguiti e nella *Tabella 9* sono riepilogati i valori di Z-score attribuiti ad ogni laboratorio per ciascun elemento metallico.

Da tali dati è possibile effettuare i grafici dei valori di Z-score dei laboratori, suddivisi per elemento metallico.

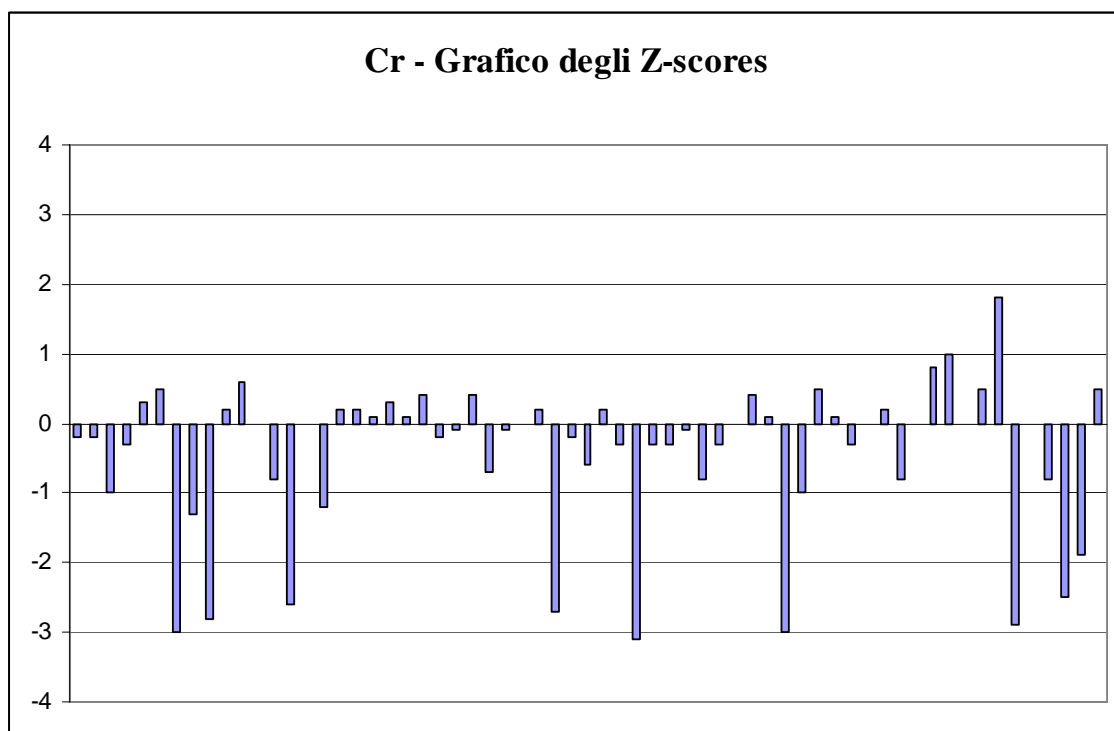
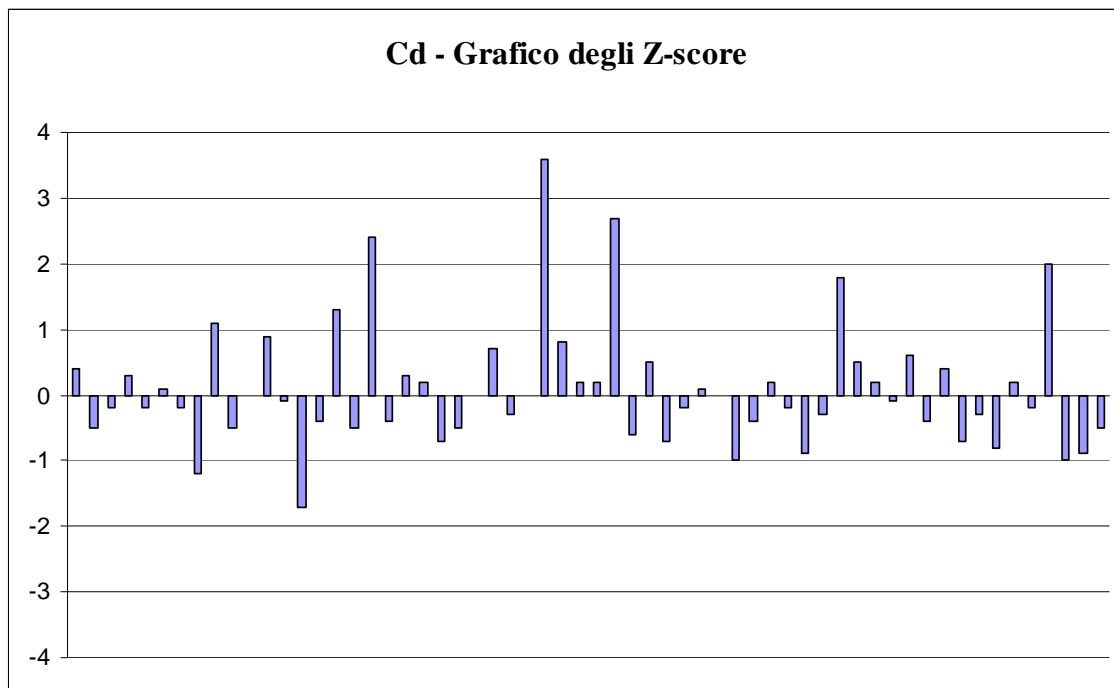
**Tabella 8 - Risultati dei test statistici relativi alle misure dei laboratori con il proprio metodo - APAT RM004**

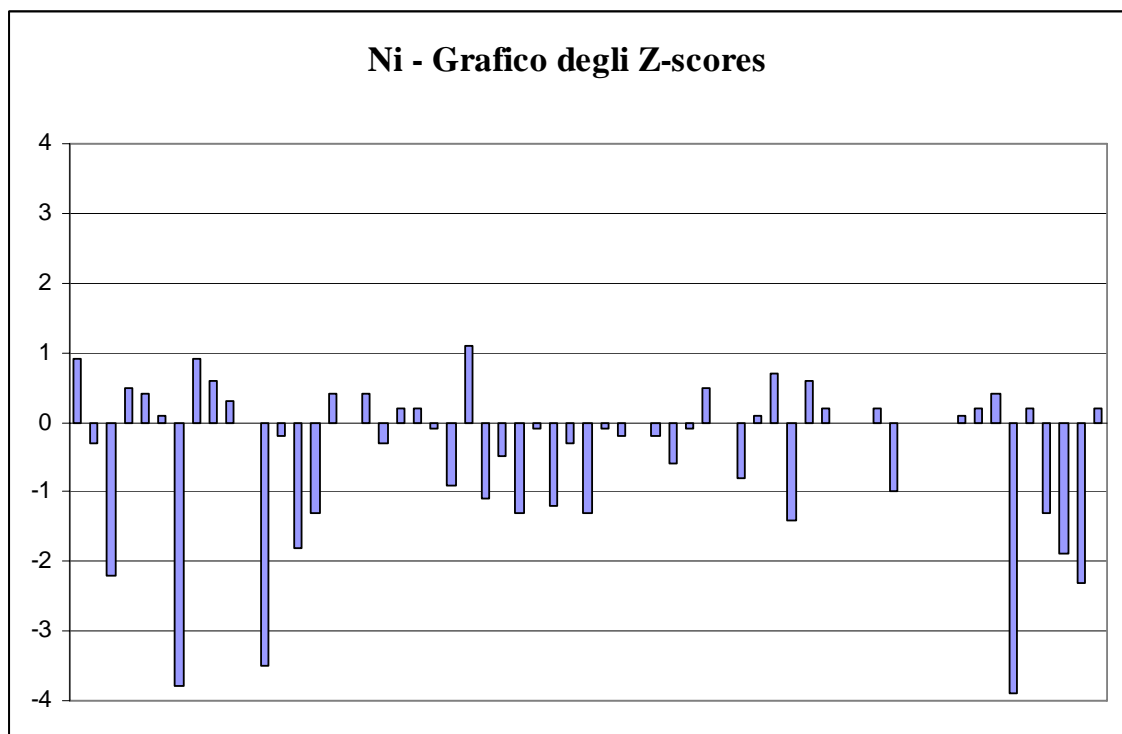
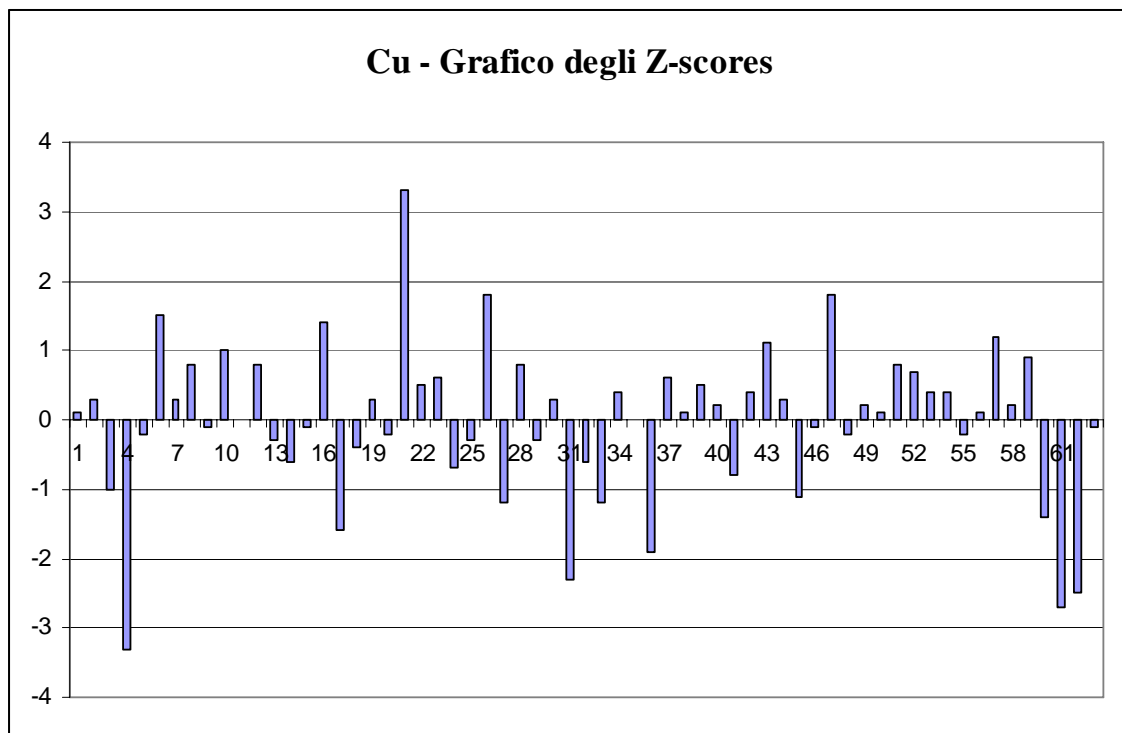
Elemento	As	Cd	Co	Cr	Cu	Hg	Mo	Ni	Pb	Se	Zn
N° Laboratori	52	60	46	59	63	47	30	62	61	31	62
N° misure per laboratorio	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
Outlier: Test di Grubbs	Lab. 39	Lab. 15, 34, 73	Lab. 73	Lab. 20	Lab. 67	Lab. 8	Lab. 20	-	Lab. 43	-	Lab. 15, 37, 2
Outlier: Test del Boxplot	Lab 39, 7, 51, 71, 1, 36, 61	Lab 73, 15, 34, 50, 36, 40, 24, 74, 58, 18	Lab 73, 20, 2, 24, 76, 15, 3, 65	Lab 20, 71, 43, 53, 72, 17, 75, 8	Lab 67, 27, 75, 76, 43, 5, 37	Lab 8, 6, 24, 75, 74, 37, 19	Lab 20, 73, 31	Lab 53, 72, 17, 8, 12, 76, 5, 75	Lab. 43, 39, 5, 37, 19	Lab. 1, 20, 12, 61, 38	Lab. 15, 37, 2, 36, 75, 20, 74
Outlier: Test di Cochran	Non applicabile	Lab 15, 73, 43	Lab 71, 3	Lab 10, 29	Lab 29	Lab 8, 13, 74	Lab 2	Lab 10, 41	Lab 54, 19, 29	Non applicabile	Lab 76, 35
Test di Leneve per gruppi di mineralizzazioni	Non significativo	Non significativo	Non significativo	Significativo	Non significativo	Non significativo	Non significativo	Significativo	Non significativo	Non significativo	Non significativo
Test della Normalità di Shapiro -Wilk	Normale	Non normale	Non normale	Normale	Non normale	Non normale	Normale	Normale	Non normale	Non normale	Normale
Test della Normalità di Kolmogorov-Smirnov	Normale	Normale	Non normale	Normale	Normale	Non normale	Normale	Normale	Normale	Non normale	Normale
Test ANOVA per gruppi di mineralizzazioni	Non significativo	Non significativo	Non significativo	Significativo	Non significativo	Non significativo	Non significativo	Significativo	Non significativo	Non significativo	Non significativo

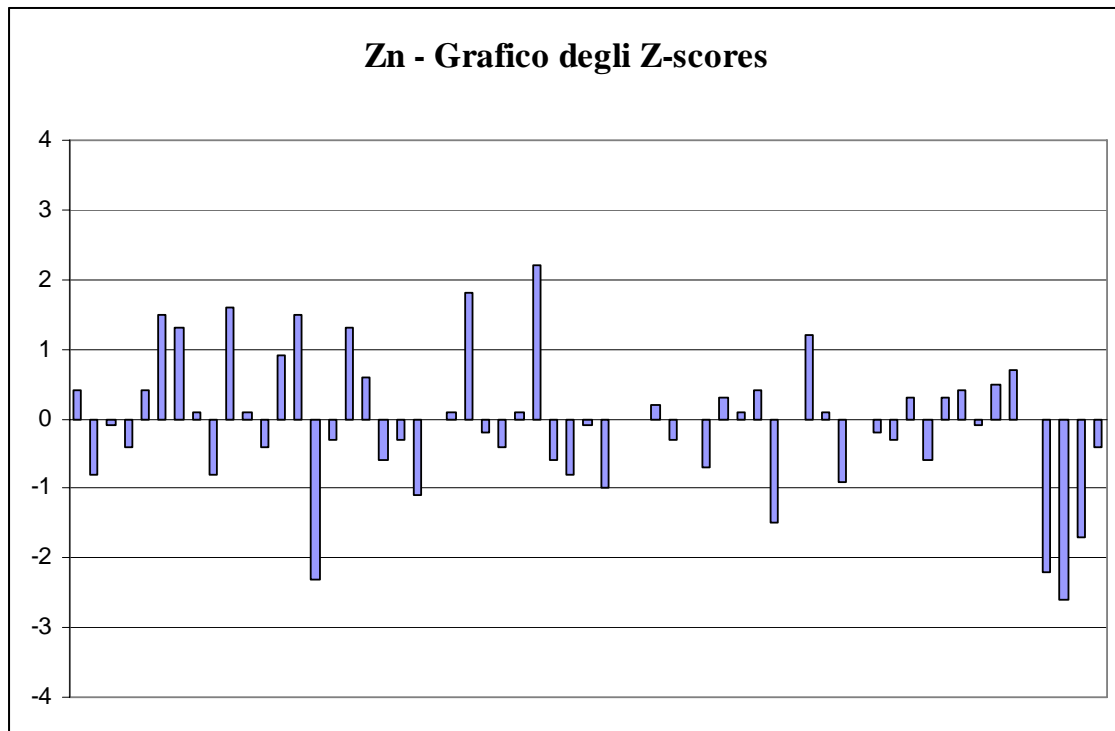
<b>Tabella 9 - APAT RM004 - Valori di Z-scores attribuiti ad ogni partecipante all'interconfronto</b>											
<b>Laboratorio</b>	<b>As</b>	<b>Cd</b>	<b>Co</b>	<b>Cr</b>	<b>Cu</b>	<b>Hg</b>	<b>Mo</b>	<b>Ni</b>	<b>Pb</b>	<b>Se</b>	<b>Zn</b>
<b>1</b>	-0.9	0.4	-0.2	-0.2	0.1	-0.7	-0.3	0.1	0.5	6.9	0.4
<b>2</b>	-0.3	-0.5	3	-0.2	0.3	-0.4	-0.4	0.9	0.5	-0.3	4.3
<b>3</b>		-0.2	1.1	-1	-1	0.1		-0.3	0.8		-0.8
<b>5</b>	0.5	0.3	-0.2	-0.3	-3.3	1.1	-1.7	-2.2	-2.5		-0.1
<b>6</b>	0.1	-0.2	0.3	0.3	-0.2	4.6	0.1	0.5	1	-0.4	-0.4
<b>7</b>	3.1	0.1	-1.4	0.5	1.5	0.6	-0.6	0.4	1		0.4
<b>8</b>	-0.2	-0.2	-1.6	-3	0.3	13.3		-4.1	1.1	-0.1	1.5
<b>10</b>	-0.3	-1.2		-1.3	0.8	-1		0.1	2.1		1.3
<b>12</b>	0.3	1.1	-1.8	-2.8	-0.1	-0.4	-1.5	-3.8	-0.5	5.8	0.1
<b>13</b>	0.4	-0.5	-0.1	0.2	1	0.1	0.2	0.9	1.8	0.3	-0.8
<b>14</b>	0.7		0.4	0.6			0	0.6		0.1	1.6
<b>15</b>		9.5	1.5		0.8			0.3			6.1
<b>16</b>	-0.3	0.9	-0.5	-0.8	-0.3						0.1
<b>17</b>	0.9	-0.1	-1.3	-2.6	-0.6	-0.7		-3.5	0.1	0.9	-0.4
<b>18</b>	-1.4	-1.7	0.3		-0.1			-0.2	-2.3		0.9
<b>19</b>		-0.4	-0.5	-1.2	1.4	1.8		-1.8	1.3		1.5
<b>20</b>	-1.1	1.3	3.3	4.8	-1.6	0.1	6.1	-1.3	-0.9	6.3	-2.3
<b>21</b>	0	-0.5	-0.7	0.2	-0.4	-0.4	-0.2	0.4	0.6	0.9	-0.3
<b>24</b>	1	2.4	2.8	0.2	0.3	4.4		0	0.8	0.5	1.3
<b>25</b>	-0.2	-0.4		0.1	-0.2			0.4	-0.1		0.6
<b>26</b>	0.1	0.3	-0.2	0.3	3.3		0.8	-0.3	0	-0.8	-0.6
<b>28</b>		0.2	-0.3	0.1	0.5	-0.7	0.1	0.2	0.3		-0.3
<b>29</b>	-0.8	-0.7	-0.7	0.4	0.6	-0.2		0.2	0.6	-0.4	-1.1
<b>30</b>	0.1	-0.5		-0.2	-0.7	-0.7		-0.1	-0.1		0
<b>31</b>			-0.5	-0.1	-0.3		2	-0.9	-0.5		0.1
<b>32</b>	0.9	0.7	0.3	0.4	1.8	-0.4	0.6	1.1	0.9	0	1.8
<b>33</b>	-0.6	-0.3	-0.9	-0.7	-1.2	-1.1	-1.3	-1.1	-0.7	-0.1	-0.2
<b>34</b>	-1.2	8.5	-0.9	-0.1	0.8	0.9	-0.9	-0.5	0.1	-0.1	-0.4
<b>35</b>					-0.3			-1.3	-0.4		0.1
<b>36</b>	2.2	3.6		0.2	0.3			-0.1	1.1		2.2
<b>37</b>		0.8	-0.7	-2.7	-2.3	1.8		-1.2	-2.5		-5
<b>38</b>	-0.1	0.2	-0.3	-0.2	-0.6	-0.8	-0.3	-0.3	-0.1	2.5	-0.6
<b>39</b>	6.5	0.2	-0.7	-0.6	-1.2	-0.6	1.3	-1.3	-3.1		-0.8
<b>40</b>	0.5	2.7	-0.2	0.2	0.4	-0.8	-0.4	-0.1	-0.3		-0.1
<b>41</b>	1.1	-0.6	-0.3	-0.3	0	-0.7		-0.2	1.3		-1
<b>43</b>		0.5		-3.1	-1.9				-4.4		

<b>Tabella 9 - APAT RM004 - Valori di Z-scores attribuiti ad ogni partecipante all'interconfronto</b>											
<b>Laboratorio</b>	<b>As</b>	<b>Cd</b>	<b>Co</b>	<b>Cr</b>	<b>Cu</b>	<b>Hg</b>	<b>Mo</b>	<b>Ni</b>	<b>Pb</b>	<b>Se</b>	<b>Zn</b>
<b>44</b>	-0.1	-0.7	-0.7	-0.3	0.6	-0.8	-0.7	-0.2	-0.1	-0.5	0
<b>45</b>	-0.2	-0.2		-0.3	0.1	-0.5		-0.6	0.2		0.2
<b>47</b>	-0.1	0.1	-0.2	-0.1	0.5	0.2	-0.4	-0.1	0.2	-0.8	-0.3
<b>48</b>	-0.1			-0.8	0.2	-0.5		0.5	0.5		0
<b>49</b>	0.5	-1		-0.3	-0.8	0.7		0	0.7		-0.7
<b>50</b>	1.5	4.1		0	0.4	-0.2		-0.8	0		0.3
<b>51</b>	3.1	-0.4	-1.2	0.4	1.1	-0.5	-0.2	0.1	-0.3		0.1
<b>52</b>	0.4	0.2		0.1	0.3	-0.6		0.7	0.3		0.4
<b>53</b>		-0.2		-3	-1.1			-4.1	-0.7		-1.5
<b>54</b>		-0.9		-1	-0.1			-1.4	2.1		
<b>56</b>	-0.7	-0.3	-0.7	0.5	1.8	1.4		0.6	1.9	-0.8	1.2
<b>58</b>	-0.1	1.8	-0.3	0.1	-0.2	-0.6	-0.3	0.2	0		0.1
<b>60</b>	0.5	0.5		-0.3	0.2	-1.5		0	0.8		-0.9
<b>61</b>	2	0.2	-1.5		0.1				-0.6	3.5	0
<b>62</b>	0.1	-0.1	-0.1	0.2	0.8	-0.7	0.1	0.2	0.7	-0.8	-0.2
<b>63</b>	1.3	0.6	-0.4	-0.8	0.7	-1.4		-1	1.1	1.5	-0.3
<b>64</b>		-0.4			0.4						0.3
<b>65</b>	-0.1	0.4	-2.1	0.8	0.4	-0.7					-0.6
<b>67</b>	0.7	-0.7	-0.7	1	4.9						0.3
<b>69</b>	-0.4	-0.3	-0.7	0	-0.2	-0.9	-0.5	0.1	0.7	0.3	0.4
<b>70</b>	1.3	-0.8		0.5	0.1	-0.1		0.2	1		-0.1
<b>71</b>	-2.3	0.2	0.6	1.8	1.2	-0.9		0.4	0.9	-0.1	0.5
<b>72</b>	-1	-0.2		-2.9	0.2	-0.9		-3.9	0.7	-0.1	0.7
<b>73</b>	-0.7	17.2	7.4	0	0.9		2.5	0.2	0.8		0
<b>74</b>	0.8	2		-0.8	-1.4	2.1		-1.3	-1.3		-2.2
<b>75</b>	1.3	-1	-1.4	-2.5	-2.7	1.7	-0.8	-1.9	-1.4	-0.9	-2.6
<b>76</b>		-0.9	2.5	-1.9	-2.5			-2.3	-1.4		-1.7
<b>77</b>	-0.1	-0.5	-0.2	0.5	-0.1	-0.6	0.8	0.2	0.5	0.9	-0.4

*Alcuni grafici rappresentativi dei valori di Z-score dei laboratori suddivisi  
per elemento metallico:*







Come è capitato anche in questo circuito di interconfronto, può avvenire che non tutti i metalli in oggetto dell'interconfronto siano stati misurati da tutti i laboratori. Solo il 27% dei laboratori ha fornito infatti i risultati per tutti gli analiti, mentre l'8% ha restituito i dati relativi al 50% dei parametri richiesti. In particolare sono risultate ridotte le misure per molibdeno e selenio, parametri che seppur previsti da talune norme di legge relative alla commercializzazione del compost, sono generalmente determinati con minor frequenza che in altre matrici ambientali. Rame, zinco, nichel, piombo e cromo sono gli elementi maggiormente misurati, tenuto presumibilmente conto che in generale i relativi metodi di analisi risultano di più comune applicazione e di maggior diffusione tra i laboratori.

Dall'analisi dei grafici e delle valutazioni relative all'accettabilità (Z-score) dei dati proposti dai laboratori emerge la loro affidabilità nel determinare la concentrazione degli elementi metallici in una matrice caratterizzata da un elevato contenuto di sostanza organica quale il compost proposto. Ciò emerge, in particolare, analizzando per singolo elemento le prestazioni ottenute; la percentuale dei laboratori con  $|Z\text{-score}|$  "accettabili" ( $<2$ ) oscilla tra l'84% ed il 94%.



Il 63% dei laboratori presenta valori di  $|Z\text{-score}| < 3$  per tutti gli elementi misurati. In *Tabella 11* è presentata, invece, la distribuzione percentuale dei laboratori sulla base del valore di  $|Z\text{-score}| > 3$ .

I valori di  $Z\text{-score}$  più critici sono riscontrabili, in ordine decrescente, nella determinazione del nichel, del cadmio, del cromo e del selenio. Viceversa, per il molibdeno e arsenico nonché per zinco e piombo, quasi la totalità dei laboratori presenta valori di  $|Z\text{-score}| < 2$ . Questi ultimi parametri sono anche quelli più largamente misurati nell'ambito dell'interconfronto insieme al cadmio.

Le valutazioni sopra riportate, tuttavia, devono considerare la metodologia con cui si procede al calcolo dello scarto tipo robusto per la determinazione dello  $Z\text{-score}$ . Lo scarto tipo del circuito dipende dal numero dei laboratori partecipanti, dalle concentrazioni degli analiti di interesse e dall'esperienza dei laboratori partecipanti. Questo comporta una difficoltà nella valutazione del miglioramento nel tempo della comparabilità dei dati prodotti dal sistema dei laboratori. Qualora si possa attribuire uno scarto tipo arbitrario (ad esempio  $\theta_{\text{RIF}}$  pari al 10% o al 20%), basato su valori di scarto tipo osservati in ripetuti circuiti d'interconfronto su una specifica matrice e per i medesimi parametri, risulta percorribile la strada di una valutazione ancor più coerente delle prestazioni dei laboratori nel tempo. Tale tipo di valutazione, al momento non praticabile, potrà essere fatta comunque in futuro sfruttando le informazioni che deriveranno dai diversi interconfronti eseguiti.

<b><i>Tabella 11 - Percentuale dei laboratori con valori di <math> Z\text{-score}  &gt; 3</math></i></b>	
<b><math> Z\text{-score}  &gt; 3</math></b>	<b>Percentuale Laboratori</b>
<b>Nessun valore</b>	<b>63</b>
<b>1 valore</b>	<b>23</b>
<b>2 valori</b>	<b>11</b>
<b>3 o più valori</b>	<b>3</b>

L'analisi statistica non evidenzia l'influenza di un metodo di mineralizzazione rispetto ad un altro sulla comparabilità dei risultati analitici (*Tabella 9 - Test di Leneve ed ANOVA non parametrica*). Solo per il cromo e per il nichel, l'analisi statistica segnala una significatività nella varianza tra gruppi di mineralizzazione.

Anche se in modo non statisticamente significativo, l'uso di acido nitrico in combinazione con ossidanti (acqua ossigenata, acido perclorico), metodo che i laboratori utilizzano maggiormente, conduce frequentemente a sottostimare i valori misurati rispetto al valore assegnato. Ciò è stato particolarmente osservato nel caso del cromo, del nichel e del cobalto. Risultati maggiormente contraddittori si osservano per il cromo e per il nichel, per i quali un consistente numero di laboratori presenta valori anormali (test di Grubbs e test Box-plot) con una più evidente variabilità delle tre repliche indipendenti.

Le misure per attivazione neutronica strumentale (Instrumental Neutron Activation Analysis- INAA), effettuate da un unico laboratorio afferente ad un Istituto Nazionale di Ricerca Metrologica, presentano in generale valori di concentrazione degli elementi di poco superiori ai valori assegnati determinati a valle della dissoluzione del campione con acqua regia (metodo di riferimento).

Questo scostamento è da attribuire al fatto che l'INAA determina il contenuto totale degli elementi senza nessun trattamento chimico preliminare. Per cobalto, molibdeno, selenio, lo scostamento rispetto al valore assegnato rientra nell'incertezza estesa del valore stesso, mentre per gli altri elementi tale scostamento è compreso tra il 12% ed il 17%. La dissoluzione in acqua regia è comunemente assimilato, anche a livello internazionale, ad un metodo di digestione totale, teoricamente in grado di portare in soluzione la totalità del contenuto di metalli legati sia alla frazione organica che minerale. I risultati ottenuti dall'analisi per attivazione neutronica presentano, rispetto ad altri metodi di analisi dei metalli, il vantaggio di essere metrologicamente riferibili. Conseguentemente, le misure che ne derivano hanno un livello di qualità metrologica che può essere di notevole importanza soprattutto in fase di caratterizzazione di un materiale di riferimento. In questo caso specifico di interconfronto APAT-IC002, la disponibilità di valori di concentrazioni di alcuni metalli ottenuti mediante INAA consente ai laboratori partecipanti di porre a confronto i propri risultati con quelli forniti dall'Istituto Nazionale di Ricerca Metrologica.

Osservando il complesso dei dati analitici, è da rilevare la significativa e generalizzata dispersione dei valori relativi al molibdeno e al selenio, a testimonianza di un livello ancora basso di comparabilità tra i laboratori delle misure per tali elementi. In particolare, tale fenomeno si riscontra nel caso del selenio. Per tale elemento, anche le

misure eseguite con il metodo di riferimento, anche caratterizzate da una ridotta numerosità dei laboratori che vi hanno contribuito, determinano una elevata incertezza estesa del valore di consenso (51%). Il ridotto numero di laboratori che hanno determinato tanto il selenio che il molibdeno suggerisce, di per sé, se non una minore esperienza, quanto meno la minore consuetudine o necessità nella determinazione di tale misura.

L'osservazione complessiva dei dati del circuito consente di individuare ulteriori aspetti che possono condizionare le prestazioni dei laboratori. Accanto a fattori puramente analitici, una serie di fattori di tipo non analitico interferiscono sulla qualità dei dati prodotti. Proprio questi ultimi, talvolta anche in modo più rilevante, portano ad errori significativi.

Sono fattori di tipo analitico ad esempio:

- La determinazione della perdita di massa. Sono stati osservati casi con valori della perdita di massa associata all'umidità del campione pari allo 0,1% contro valori attesi compresi in genere tra il 3% ed il 6%, con un evidente impatto sui valori di concentrazione calcolati (*Tabella 12*);
- La scelta e l'applicazione delle procedure di pre-trattamento chimico (ad esempio l'uso diversificato degli acidi);
- Le operazioni di diluizione delle soluzioni, che in caso di errata esecuzione può indurre effetti moltiplicativi sui valori di concentrazione (10, 50, 1000 volte maggiori o minori rispetto al valore di consenso);
- L'utilizzo dell'appropriato strumento di misura;

***Tabella 12 - Esempi di errore analitico nella misura della perdita di massa***

<b>Misure</b>	<b>APAT RM004</b>	<b>APAT RM004</b>	<b>Perdita di peso calcolata</b>	<b>Perdita di peso attesa</b>
	Peso iniziale	Peso finale		
1	1,024	1,022	0,2	3,0 - 6,0
2	1,002	1,001	0,1	

Sono invece ascrivibili in senso lato ad aspetti non strettamente analitici, l'esecuzione dei calcoli, la trascrizione dei risultati o la omessa sistematica verifica dei dati prodotti.

Alla luce dell'esistenza nel presente circuito di alcuni eclatanti valori di concentrazioni abnormi, il mancato od errato controllo di tali fasi sembra essere determinante per la qualità del dato, riproponendosi, in taluni casi, in modo sistematico. Alla presenza di errori si associano in generale valori di Z-score elevati. Le azioni correttive che i laboratori possono adottare in tali casi, ricorrendo alla applicazione di criteri di assicurazione di qualità dei dati, potranno in futuro condurre a sensibili e rapidi miglioramenti delle proprie prestazioni analitiche. A titolo esemplificativo, nella *Tabella 13* è riportato un tipico esempio di discrepanza tra i risultati analitici presentati da uno stesso laboratorio relativi alla determinazione del cromo nel materiale APAT RM004, utilizzando in un caso il metodo di riferimento e nell'altro il proprio metodo interno. Le misure ottenute con i due metodi differiscono sistematicamente per un fattore prossimo a 10. Tale comportamento sembra suggerire che l'errore sia ascrivibile non ad una difforme resa del metodo analitico utilizzato, bensì presumibilmente ad una mancata verifica incrociata dei dati prodotti all'interno del laboratorio, da cui l'operatore avrebbe potuto rilevare una criticità nelle misure eseguite, risalire alle cause e apportare le correzioni del caso.

<b><i>Tabella 13 - Esempi di errore non-analitico nella misura della concentrazione di cromo</i></b>			
<b>Misure</b>	<b>Valori di Laboratorio</b>		<b>Valore Assegnato</b>
	<b>Cr (mg/Kg s*s)</b>		<b>Cr (mg/Kg s*s)</b>
	<b>Metodo di Riferimento</b>	<b>Metodo di Laboratorio</b>	<b>Valore Assegnato</b>
1	287	32,4	426+- 29
2	290	32,1	
3	285	32,1	

E' indicativo, in tal senso, il dato relativo all'utilizzo di Materiali di Riferimento (RMs) e/o Materiali di Riferimento Certificati (SRM) da parte dei laboratori. L'esercizio di interconfronto ha confermato, come nel caso di precedenti interconfronti, un loro limitato utilizzo. Circa il 23% dei laboratori ha fatto ricorso a RMs SRM ed in un solo caso è stato utilizzato un SRM con matrice analoga a quella oggetto dell'interconfronto.

Negli altri casi, sono stati utilizzati per lo più matrici vegetali (foglie), sedimenti e fanghi. E' evidente che in tale quadro le informazioni che i laboratori possono ottenere verificando il proprio metodo di misura con i materiali di riferimento suddetti, non possono essere sufficienti a garantire la migliore risposta analitica con la matrice oggetto dell'interconfronto. Sebbene, talvolta, la limitazione della disponibilità sul mercato di specifiche matrici possa costituire un vincolo (in particolare per alcuni parametri ed intervalli di concentrazione), è indubbio che debba maggiormente diffondersi il ricorso sistematico a tali materiali. Il loro uso consentirebbe, nella normale attività di laboratorio, di mantenere sotto controllo lo svolgimento e la qualità della attività analitiche.

Un'ultima considerazione è relativa alle modalità di risposta dei laboratori. Nella scheda consegnata ai laboratori unitamente al materiale di riferimento da analizzare, finalizzata all'inserimento dei risultati delle misure, erano stati previsti campi al cui interno era stato richiesto di riportare informazioni circa la descrizione dei metodi analitici (prelievo della porzione di campione, dissoluzione, misura strumentale), la determinazione dei limiti di quantificazione, l'analisi dei bianchi e l'analisi dei Materiali di Riferimento Certificati (SRM). La maggior parte dei laboratori ha compilato le sezioni dedicate ai metodi e, comunque, in caso di dubbi circa le informazioni riportate, sono stati contattati i singoli laboratori per chiarimenti ed integrazioni. In minore parte, invece, hanno documentato i valori dei limiti di quantificazione del metodo adottato per ogni parametro e, ove riportati i valori, non è stato di norma esplicitato il metodo di calcolo.

### 3.9 CONCLUSIONI DEL CIRCUITO DI INTERCONFRONTO APAT-IC002

Dall'analisi dei grafici e delle valutazioni relative alla accettabilità (Z-score) dei dati proposti dai laboratori emerge la loro affidabilità nel determinare la concentrazione degli elementi metallici in una matrice caratterizzata da un elevato contenuto di sostanza organica quale il compost proposto. Maggiormente problematiche sono risultate le determinazioni del nichel, del cadmio, del cromo, e del selenio.

Viceversa, i valori relativi all'arsenico, per i quali la quasi totalità dei laboratori presenta valori di Z-score  $<2$ , nonché i più misurati zinco e piombo, presentano una bassa frequenza di valori critici. Tali considerazioni vanno ad ogni modo lette alla luce della specificità del metodo di calcolo del valore di Z-score utilizzato nel presente circuito e l'effettiva dispersione dei dati prodotti dai laboratori.

Ai metodi basati su miscele di acido nitrico in combinazione con acqua ossigenata o acido perclorico sono per lo più associate sottostime dei valori misurati rispetto al valore di consenso. La miglior corrispondenza si osserva per lo più per quei metodi che, in analogia al metodo di riferimento (acqua regia) prevedono l'utilizzo, pur in proporzioni differenti, di acido nitrico ed acido cloridrico. Le misure per attivazione neutronica e la loro riferibilità ad un metodo primario si rivelano di particolare interesse soprattutto nella prospettiva della caratterizzazione di un materiale di riferimento.

La parte di errori presumibilmente legata a problemi non analitici, sempre presente nell'ambito di tali esercizi di interconfronto, conduce in generale a risultati fortemente anomali con valori di Z-score assai elevati in valore assoluto. Agendo su tali aspetti, con azioni correttive basate su criteri di assicurazione di qualità, si possono conseguire rapidi miglioramenti delle prestazioni analitiche di ogni laboratorio.

## 4. CONCLUSIONI

Lo scopo del Controllo Qualità in Chimica Analitica è quello di garantire la qualità dei risultati mediante impiego di metodi validati i cui risultati siano conformi a quelli riportati nel certificato di un materiale di riferimento, o a quelli ottenuti da un metodo di riferimento. Affinché i risultati delle misurazioni possano essere accettati come validi dalle parti interessate, le misurazioni analitiche devono essere affidabili e valutate su basi rigorose così da facilitare l'accettazione su scala internazionale dei risultati di prova e di taratura.

Attraverso le Buone Pratiche di Laboratorio (GLP) e del Controllo della Qualità/Assicurazione della Qualità, viene garantita la attendibilità dei risultati mediante impiego di procedure ben descritte e definite. Importanti sono anche le modalità di archiviazione dei dati analitici, al fine di garantirne le possibilità di riutilizzo nel tempo. Inoltre, nell'esercizio delle buone Pratiche di Laboratorio, un punto focale è rappresentato dalle Procedure Operative Standard (SOP), che riportano la descrizione dei percorsi per la standardizzazione dei parametri strumentali e dei processi analitici.

Le sole GLP non bastano però a garantire la qualità del dato. In generale infatti, in qualsiasi attività di controllo e monitoraggio è indispensabile realizzare e sviluppare un insieme di dati che risultino chiari e validi per tutti, in modo da poter essere utilizzati come valore di riferimento da qualsiasi operatore del settore.

In questo contesto, i circuiti interlaboratorio risultano uno strumento indispensabile per la valutazione esterna dell'affidabilità dei risultati analitici e per il miglioramento delle prestazioni di un laboratorio.

La partecipazione ai circuiti interlaboratorio rappresenta pertanto una se non la migliore caratteristica di accreditamento di un laboratorio, che partecipando e valutando i propri risultati è in grado di regolare e migliorare le proprie prestazioni risalendo ed eliminando eventuali fonti di errore o di incertezza. Tale pratica è agevolata dalle riunioni tecniche fra i partecipanti, che stimolano uno scambio costruttivo di idee volte ad un miglioramento della correttezza e dell'affidabilità delle prove e/o delle tarature eseguite.

Gli esercizi di interlaboratorio, nell'ottica di un sistema virtuoso della qualità del dato, non devono e non possono essere effettuati solo per il raggiungimento temporaneo di alti livelli di prestazione, ma devono essere svolti in modo costante nel tempo attraverso procedure e metodi validati che dimostrino una totale affidabilità nel tempo.



## **5. RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI**

- A.M.H. van der Veen, T. Lisinger, J. Pauwels; “Uncertainty calculations in the certification of reference materials.2.Homogeneity study”, Accreditation Quality Assurance 6, pp.26-30, 2001.
- APAT; Rapporto Conclusivo Interconfronto APAT-IC002.
- M. Belli, H. Muntau, U. Sansone; “IL Servizio di Metrologia Ambientale dell’APAT”, Tutto Misure, pp.7-10, anno Vi n.01, 2004.
- A.M.H. van der Veen, T. Lisinger, A. Lamberty, J. Pauwels; “Uncertainty calculations in the certification of reference materials.3.Stability study”, Accreditation Quality Assurance 6, pp.257-263, 2001.
- G.Bonas, M.Zervou, T. Papaeoannou, M. Lees; “Soft CRM: a new software for the Certification of Reference Materials”, accreditation Quality Assurance 8, pp. 101-107, 2003.
- M Belli, S. Barbizzi, S. Rosamilia, S. Balzamo, D. Centioli, P. de Zorzi; “Produzione e caratterizzazione di materiali di riferimento”, Tutto Misure, pp.103-108, n.2, 2007.
- European Commission, SMTP Programme. Guidelines for the production and certification of BCR reference materials. Doc. BCR/01/97- Part A Recommendations to proposers of reference materials projects, 1997.
- ISO Guide 43-1:1997. International Organization for Standardization, Geneva 1997.
- ISO Guide 35:1989. International Organization for Standardization, Geneva, 1989.

- ISO Guide 5725-2:1994. International Organization for Standardization, Geneva, 1994.
- ISO Guide 13528:2005 (E). International Organization for Standardization, Geneva, 2002.
- L. Soliani, F. Sartore, E. Seri; “Manuale di statistica per la ricerca e la professione – Statistica univariata e bivariata, parametrica e non parametrica per le discipline ambientali e biologiche”. Ediz. Aprile 2005
- Steven P. Millard, Nagaraj K. Neerchal; “Environmental Statistics with S-Plus”, CRC Press, USA, 2001.
- P.de Zorzi, S. Balzamo, S. Barbizzi, S. Gaudino, A. Pati, S. Rosamilia, M. Belli; *Inter-Laboratory comparison: The APAT Approach*. pp.241-246 in A. Faigelj, M. Belli, U. Sansone “Combining and Reporting Analytical Results”, edited by RSC Publishing, 2007.