

Traccia per la redazione del metodo di prova

Il documento che segue, predisposto dalla Commissione “Prodotti fertilizzanti“ di UNICHIM, contiene linee guida per la redazione di metodi di prova che accompagnano le richieste di immissioni sul mercato di nuovi prodotti.

La produzione di un tale documento nasce da una esigenza manifestata dalla “Sottocommissione Ministeriale per l’aggiornamento dei metodi ufficiali di analisi dei prodotti agroalimentari e delle sostanze di uso agrario. Fertilizzanti ed Affini” a proposito dei metodi di prova sopra citati. Poiché tali metodi devono rispondere ad alcuni precisi requisiti, la Sottocommissione Ministeriale ritiene opportuno far riferimento a linee guida per la corretta redazione dei metodi stessi, provenienti dall’Ente di normazione.

Il documento prende lo spunto dalla normativa attualmente in vigore a livello internazionale. I riferimenti principali sono costituiti dai documenti UNI IO01 del 18/1/2006, rev. 1: “Istruzione Operativa per la stesura delle norme UNI” e ISO 78/2: Chemistry-Layouts for standards - Part 2: Methods of chemical analysis 2°ed (1/3/1999).

Formattazione del testo

Margini: Superiore: 2,5 cm

Inferiore: 2 cm

Sinistro: 2 cm

Destro: 2 cm

Interlinea: singola

Carattere: Times New Roman, corpo 12

I paragrafi da redigere comprendono la sequenza che segue.

TITOLO: utilizzare una forma concisa ed il più possibile esplicativa dell’oggetto trattato.

Avvertenza: scrivere, ad es., “Le persone incaricate di eseguire questo metodo di prova devono avere familiarità con la normale pratica di laboratorio. Questo metodo non affronta i problemi di sicurezza associati al suo impiego, se mai esistessero. Resta a carico dell’utilizzatore stabilire buone pratiche per la sicurezza, per la salute e per garantire la conformità alla legislazione italiana “.

1) Introduzione: illustrare il motivo per cui si propone il metodo di prova. Eventuali sottopunti saranno indicati con 0.1, 0.2, 0.3 ecc.

2) Oggetto: specificare in forma chiara, sintetica e senza ambiguità l’oggetto del metodo di prova, indicando quale sia il misurando.

In caso di metodi di prova suddivisi in parti, scopo e campo di applicazione di ciascuna parte devono definire l’oggetto della sola parte in questione.

3) Campo di applicazione: specificare i limiti di applicazione del metodo di prova e quale sia la natura delle matrici (fertilizzanti ed affini) a cui il metodo può essere applicato, limiti di rivelabilità e di massima concentrazione ammessa.

4) Riferimenti normativi: elencare solo le norme citate nel testo e necessarie per l’applicazione del metodo di prova in questione; tali norme devono essere emesse da organismi ufficialmente riconosciuti (UNI/CEI, ISO/IEC, CEN/CENELEC/ETSI).

5) Termini e definizioni: riportare il termine al singolare. Le definizioni devono essere quanto più chiare e concise possibile e non devono contenere requisiti.

6) Principio: illustrare sinteticamente il principio del metodo di prova e le diverse fasi in cui esso si articola.

7) Reazioni e interferenze: riportare le reazioni essenziali ai fini della comprensione del testo e del calcolo del risultato; indicare, altresì, le possibili sostanze interferenti nei prodotti fertilizzanti elencati nel campo di applicazione e i loro limiti di tollerabilità.

8) Reattivi: iniziare riportando la seguente affermazione, o una equivalente: “Durante la prova, se non è stato specificato altrimenti, usare solo reagenti di qualità analitica riconosciuta e acqua distillata o demineralizzata o di equivalente purezza”. Proseguire nel seguente ordine:

- materiali solidi usati nella forma commerciale disponibile. Questi materiali devono essere descritti senza ambiguità, riportando per es., nome e formula chimica, concentrazione, numero di CAS, eventuale presenza di acqua di cristallizzazione;
- soluzioni o sospensioni con concentrazioni conosciute in via approssimativa;
- soluzioni a titolo noto e soluzioni di riferimento;
- indicatori;
- enzimi;
- materiali ausiliari (essiccanti, ecc.).

9) Apparecchiature: elencare le strumentazioni e i sistemi di misura da impiegare, oltre a quelli di normale uso in laboratorio, precisando quali siano le caratteristiche e le prestazioni minime che debbono essere in grado di erogare, comprese le eventuali tolleranze.

10) Campionamento: far riferimento a una procedura ufficialmente riconosciuta in sede nazionale o internazionale; in assenza di una tale procedura, specificare le modalità da seguire per l’ottenimento del campione di laboratorio, per la sua stabilizzazione e conservazione e per la successiva preparazione del campione di prova, dal quale prelevare le aliquote necessarie per la/e determinazione/i richiesta/e. E’ opportuno che il proponente del metodo fornisca un campione di laboratorio rappresentativo per eventuali prove di controllo da parte dell’ufficio valutatore.

11) Procedimento: deve comprendere l’illustrazione dei seguenti sottopunti:

11.1) **Preparazione delle aliquote di prova:** descrivere il metodo di misura della quantità da impiegare e dell’accuratezza necessaria nella misurazione;

11.2) **Eventuale preparazione di un bianco** da trattare in parallelo con la prova, mediante la stessa procedura e gli stessi reagenti;

11.3) **Taratura del sistema di misura:** riportare nel dettaglio tutte le operazioni necessarie per ottenere una valida curva di taratura;

11.4) **Determinazione:** descrivere accuratamente la sequenza delle operazioni da eseguire sull’aliquota di prova, compresa la misurazione finale.

12) Espressione dei risultati: riportare ed illustrare la/e formula/e con cui calcolare il risultato finale; indicare l’unità di misura e il numero di cifre significative con cui esprimere il risultato stesso.

13) Precisione

13.1) Ripetibilità stretta: ottenere la stima del valore di ripetibilità stretta (come limite di ripetibilità, r) trattando almeno 10 diverse aliquote dello stesso campione di prova, con lo stesso operatore, con le stesse apparecchiature e in tempi stretti. Qualora fosse necessario coprire un ampio campo di concentrazione, la stima del valore di ripetibilità stretta dovrà essere eseguita a più livelli di concentrazione (seguire quanto riportato nel manuale UNICHIM n.179/1 ed. 2001). Un valore di r dovrà essere indicato in base all’esperienza del proponente, delle caratteristiche del metodo di prova e della natura del fertilizzante.

13.2) Ripetibilità intermedia: ricavare la stima del valore della ripetibilità intermedia (come limite di ripetibilità intermedia, r_I) eseguendo sullo stesso campione più prove con ciascuno dei diversi operatori prescelti, in tempi differenti (per es., in giorni diversi) e, se possibile, con apparecchiature diverse. Dovrà essere indicato un valore di r_I in base all’esperienza del proponente, delle caratteristiche del metodo di prova e della natura del fertilizzante.

Al fine di contenere tempi e costi dell’operazione, ripetibilità stretta ed intermedia possono essere stimate contemporaneamente trattando aliquote diverse dello stesso campione di prova, due al giorno per ciascun operatore (con almeno 2 operatori diversi) per un periodo di almeno 10 giorni. Anche in questo caso, dovendo coprire un ampio campo di concentrazione, la procedura per la valutazione della ripetibilità intermedia dovrà essere eseguita a più livelli di concentrazione.

13.3) Riproducibilità: questo parametro (la lettera R indica il limite di riproducibilità) è molto importante e può essere stimato solamente attraverso prove interlaboratorio.

14) Giustizia (Recupero): indicare l'intervallo di recupero percentuale accettabile in un prodotto fertilizzante a titolo noto. In mancanza dell'informazione necessaria, indicare i margini di accettabilità di un recupero stimato mediante aggiunte di quantità note.

15) Limite di rivelabilità: definire i limiti di rivelabilità secondo quanto riportato da ISO 11843-1 distinguendo tra "limite critico" e "limite minimo". Per le modalità di calcolo, seguire le formule appropriate descritte nei documenti ISO 11843-2, 3, 4.

16) Limite di quantificazione: definire la concentrazione al di sopra della quale il misurando è quantificabile.

17) Controllo della qualità: specificare un sistema di controllo della qualità dei risultati basato su carte di controllo costruite con materiali di riferimento, omogenei, stabili nel tempo e a titolo noto; ad esempio, utilizzando carte Shewart.

18) Bibliografia: elencare la letteratura di riferimento riguardante il metodo di prova proposto e il relativo campo di applicazione.

19) Referente: indicare i riferimenti di una persona da contattare, con cui poter interloquire.

Metodi microbiologici

I metodi microbiologici vanno integrati ai punti 10), 14), 15), 17) come di seguito:

10) Campionamento: far riferimento a una procedura ufficialmente riconosciuta in sede nazionale o internazionale; in assenza di una tale procedura, specificare le modalità da seguire per l'ottenimento del campione di laboratorio, per la sua stabilizzazione e conservazione e per la successiva preparazione del campione di prova, dal quale prelevare le aliquote necessarie per la/e determinazione/i richiesta/e.

E' opportuno che il proponente del metodo fornisca un campione di laboratorio rappresentativo per eventuali prove di controllo da parte della Sottocommissione e specifichi la natura degli eventuali campioni di riferimento per un controllo negativo e positivo.

14) Giustizia (Recupero): indicare l'intervallo di recupero percentuale accettabile in un prodotto fertilizzante a titolo noto. In mancanza dell'informazione necessaria, indicare i margini di accettabilità di un recupero stimato mediante aggiunte di quantità note. L'intervallo di recupero si applica sui fertilizzanti comprendenti misurandi di natura microbiologica in termini di densità microbica (numero di cellule/g o unità formanti colonie/g (ufc/g)) e/o di massa/g (biomassa/g) e/o di attività biologica/g (attività enzimatiche/g o metaboliche/g).

15) Limiti di rivelabilità: definire i limiti di rivelabilità secondo quanto riportato da ISO 11843-1 distinguendo tra "limite critico" e "limite minimo". Per le modalità di calcolo, seguire le formule appropriate descritte nei documenti ISO 11843-2, 3, 4. Per i fertilizzanti costituiti da masse di microrganismi o contenenti microrganismi dei quali deve essere misurata la densità, riferirsi al limite minimo rivelabile citato dalla bibliografia specifica. Se è necessario individuare l'identità del/dei microrganismo/i; deve essere fornito un adatto protocollo di sperimentazione contenente l'indicazione della sua/loro tassonomia (genere, specie, serovar, ceppo) e degli appropriati ceppi di riferimento (ad esempio, appartenenti a collezioni internazionali).

17) Controllo della qualità: specificare un sistema di controllo della qualità dei risultati basato su carte di controllo costruite con materiali di riferimento, omogenei, stabili nel tempo e a titolo noto; ad esempio, utilizzando carte Shewart. Per i fertilizzanti costituiti da masse di microrganismi o contenenti microrganismi dei quali bisogna individuare l'identità, tale(i) microrganismo(i) deve (devono) essere già citato (i) in collezioni internazionali (banche di germoplasma microbico) ed è necessario che ne vengano forniti i dati di deposito.