

DIRECTRICES SOBRE LA ESTIMACIÓN DE LA INCERTIDUMBRE DE LOS RESULTADOS

(CAC/GL 59 – 2006)

1. INTRODUCCIÓN

Un requisito en virtud de ISO/IEC 17025 es que los laboratorios determinen y faciliten la incertidumbre asociada con los resultados analíticos. Para ese fin, los laboratorios de alimentos que funcionan según las Directrices sobre Buenas Prácticas de Laboratorio en el Análisis de Residuos de Plaguicidas (CAC/GL 40-1993) deberían disponer de suficientes datos derivados de la validación/verificación del método, de estudios entre laboratorios y actividades de control interno de la calidad, que pueden utilizarse para estimar las incertidumbres, especialmente para los métodos rutinarios utilizados en el laboratorio. Las presentes directrices se elaboraron teniendo en cuenta las recomendaciones generales del Comité del Codex sobre Métodos de Análisis y Toma de Muestras (CCMAS).

1.1 CONCEPTO Y COMPONENTES DE LA INCERTIDUMBRE

La medición de la incertidumbre guarda relación con la “incertidumbre” asociada con los datos generados por un proceso de medición. En química analítica, se define generalmente como la incertidumbre asociada con el proceso de laboratorio pero puede incluir también un componente de incertidumbre asociado con el muestreo.

Por tanto, la “estimación” de la incertidumbre describe el espectro en torno a un resultado comunicado o experimental dentro del cual puede esperarse que se encuentre el valor real dentro de un nivel definido de probabilidad. Se trata de un concepto diferente a la medición del error, que puede definirse como la diferencia entre un resultado individual y el valor verdadero. Comunicando la incertidumbre se pretende proporcionar un mayor nivel de confianza en la validez del resultado comunicado.

Las contribuciones a la incertidumbre de los datos son numerosas y se describen detalladamente en las Tablas 1 y 2. En una situación ideal la evaluación de la incertidumbre exige una comprensión y estimación de las contribuciones a la incertidumbre de cada una de las actividades de que consta el proceso de medición.

2. IDENTIFICACIÓN DE LAS FUENTES DE INCERTIDUMBRE

En general, la incertidumbre de las mediciones está formada por numerosos componentes, que tienen su origen en las actividades relacionadas con la muestra. La incertidumbre de un resultado analítico se ve influida por tres fases principales de determinación:

- Operaciones externas: muestreo (S_S), envasado, transporte y almacenamiento de muestras¹;
- Preparación de la porción de ensayo: subdivisión, preparación y procesamiento de la muestra (S_{Sp});
- Análisis (S_A): extracción, limpieza, evaporación, derivatización, determinación instrumental².

La incertidumbre estándar (S_{Res}) y relativa (CV_L) combinadas pueden calcularse según la ley de propagación de errores:

$$S_{Res} = \sqrt{S_S^2 + (S_{Sp}^2 + S_A^2)}; S_{Res} = \sqrt{S_S^2 + S_L^2} \quad (1)$$

Si se analiza la muestra completa el residuo medio sigue siendo el mismo y la ecuación puede escribirse como se indica a continuación:

¹ El envasado, transporte, almacenado y preparación de las muestras para el laboratorio pueden tener una influencia importante en los residuos detectados, pero con frecuencia su contribución a la incertidumbre no puede cuantificarse en base a la información disponible. Ejemplos de tales errores son la selección de la posición de la muestra, el tiempo de muestreo, el etiquetado incorrecto, la descomposición de analitos o la contaminación de la muestra.

² Si el resultado se ha corregido para la recuperación, se incorporará la incertidumbre asociada a dicha corrección.

$$CV_{Res} = \sqrt{CV_S^2 + CV_L^2} \text{ and } CV_L = \sqrt{CV_{Sp}^2 + CV_A^2} \quad (2)$$

Donde CV_L es la incertidumbre relativa de la fase de laboratorio de la determinación, que puede derivarse de la subdivisión, preparación y elaboración de la muestra, así como de las fases de análisis.

Deberá observarse que normalmente solo se exige a un laboratorio que estime la incertidumbre relacionada con aquellos procesos sobre los que ejerce un control, esto es, solo aquellos procesos que tienen lugar en el laboratorio si el muestreo no es responsabilidad del personal del mismo.

2.1 ERRORES EN MEDICIONES ANALÍTICAS

En la mayoría de las mediciones podemos distinguir entre tres tipos de errores: generales, aleatorios y sistemáticos.

Los errores generales guardan relación con los errores no intencionados/impredecibles al generar el resultado analítico. Los errores de este tipo invalidan la medición. Los procedimientos de garantía de calidad de los laboratorios deben minimizar este tipo de errores. No es posible ni deseable evaluar estadísticamente e incluir los errores generales en la estimación de la incertidumbre. En este documento no es necesario prestarles más atención.

Los errores aleatorios se hallan presentes en todas las mediciones y hacen que los resultados duplicados recaigan a ambos lados del valor medio. El error aleatorio de una medición no puede compensarse, pero, si se incrementa el número de observaciones y se capacita al analista, se pueden reducir los efectos.

Los errores sistemáticos ocurren en la mayoría de los experimentos, pero sus efectos son bastante diferentes. La suma de todos los errores sistemáticos en un experimento se conoce como sesgo. Como sobre un gran número de mediciones su suma *no es* cero, los errores sistemáticos individuales no pueden ser detectados directamente repitiendo los análisis. El problema de los errores sistemáticos es que pueden pasar inadvertidos si no se toman las precauciones adecuadas. En la práctica, los errores sistemáticos en un análisis solamente pueden ser identificados si la técnica analítica se aplica a un material de referencia, la muestra es analizada por otro analista o preferiblemente en otro laboratorio, o analizando de nuevo la muestra mediante otro método analítico. Sin embargo, el material de referencia solo reúne las condiciones ideales para determinar el sesgo del método si coincide idénticamente desde el punto de vista de analito, matriz y concentración. El sesgo de un método también puede investigarse por estudios de recuperación. Sin embargo, los estudios de recuperación aprecian solamente los efectos del análisis (S_A) y no son aplicables necesariamente a las muestras añadidas de forma natural o a componentes del sesgo que pueden ser introducidos antes del paso analítico. En el análisis de plaguicidas normalmente no se corrigen los resultados para la recuperación, pero deberían corregirse si la recuperación media se aparta significativamente del 100%. Si el resultado se ha corregido en cuanto a recuperación, la incertidumbre asociada a la recuperación deberá incorporarse a la estimación de la incertidumbre de la medición.

En las Tablas 1 y 2 se dan algunos ejemplos que son fuente de error. Debe observarse que no todas las fuentes que se mencionan tienen que ser evaluadas en la estimación de la incertidumbre. Algunas fuentes ya están incorporadas en la incertidumbre general, mientras que otras son insignificantes y pueden descartarse. No obstante, es importante reconocer y apreciar todas las fuentes antes de suprimirlas. Se puede obtener más información en los documentos publicados^{3,4}.

Cuadro 1: Fuentes de error en la preparación de la porción de prueba

	Fuentes de errores sistemáticos	Fuentes de errores aleatorios
Preparación de la muestra	La porción de muestra por analizar (muestra analítica) puede elegirse incorrectamente.	La muestra analítica está en contacto con otras porciones de la muestra y es contaminada por ésta.

³ Ambrus A. Reliability of residue data (Fiabilidad de los datos de residuos), Accred. Qual. Assur. 9, pp. 288-304. 2004.

⁴ EURACHEM Guide to Quantifying Uncertainty in Analytical Measurements (Guía para Cuantificar la Incertidumbre en las Mediciones Analíticas), 2ª ed. 1999, <http://www.measurementuncertainty.org>.

	Fuentes de errores sistemáticos	Fuentes de errores aleatorios
		El enjuagado y lavado se efectúan en distinta medida; tallos y piedras pueden eliminarse diferentemente.
Procesamiento de la muestra (S _{Sp})	Descomposición del analito durante el procesamiento de la muestra, contaminación cruzada de las muestras.	Falta de homogeneidad del analito en unidades individuales de la muestra analítica.
		Falta de homogeneidad del analito en la muestra analítica molida/picada.
		Variación de temperatura durante el proceso de homogenización.
		La textura (madurez) de los materiales de la planta afecta a la eficiencia del proceso de homogenización.

Cuadro 2: Fuentes de errores en el análisis (S_A):

	Fuentes de errores sistemáticos	Fuentes de errores aleatorios
Extracción / limpieza	Recuperación incompleta del analito.	Variación de la composición (p.ej. contenido de agua, grasa y de azúcar) de los materiales de muestra tomados de un producto.
	Interferencia de materiales extraídos simultáneamente (carga del adsorbente).	Temperatura y composición de la muestra/matriz soluble.
Determinación cuantitativa	Interferencia de los compuestos extraídos simultáneamente.	Variación del volumen nominal de los mecanismos dentro de los intervalos de tolerancia permitidos.
	Pureza incorrecta del patrón analítico.	Precisión y linealidad de balances.
	Mediciones desviadas del peso/volumen.	Reacciones de derivación incompletas y variables.
	Sesgo del operador al leer instrumentos y equipo análogos.	Cambio de las condiciones del entorno-laboratorio durante el análisis.
	Determinación de sustancia que no es originaria de la muestra (p.ej. contaminación del material de envasado).	Condiciones de detección, cromatográficas y de inyección variables, (efecto matriz, inactividad del sistema, respuesta del detector, variación de señal a ruido, etc.).
	Determinación de sustancia que difiere de la definición de residuo.	Efectos del operador (falta de atención).
	Calibración desviada.	Calibración.

3. PROCEDIMIENTOS PARA ESTIMAR LA INCERTIDUMBRE DE LA MEDICIÓN

A pesar de que los laboratorios disponen de una serie de opciones para calcular la incertidumbre de la medición, existen dos procedimientos denominados “bottom up” y “top down”⁵, que son los más comúnmente utilizados.

El método *bottom-up*:

El método *bottom up* o método de componente por componente incorpora un proceso en base a la actividad por el cual el analista descompone todas las operaciones analíticas en actividades primarias. Seguidamente se combinan o agrupan en actividades comunes y se hace una estimación de su contribución al valor combinado de incertidumbre del proceso de medición. Este método puede ser muy laborioso y exige un conocimiento exacto de todo el proceso analítico. La ventaja para el analista es que este método proporciona una clara comprensión de las actividades analíticas que suponen una importante contribución a la incertidumbre de la medición y que por consiguiente pueden asignarse como puntos críticos de control para reducir o dirigir la incertidumbre de la medición en las aplicaciones futuras del método.

El método *top-down*:

El método *top down* está basado en la validación del método y datos de precisión a largo plazo derivados de muestras de control del laboratorio, resultados de ensayos de aptitud, datos bibliográficos publicados y/o ensayos de colaboración entre laboratorios. Las estimaciones de la incertidumbre basadas en estudios entre laboratorios también pueden tomar en consideración la variabilidad de los datos entre laboratorios y proporcionar la estimación más fiable del rendimiento del método y de la incertidumbre asociada a su aplicación. Sin embargo, es importante reconocer que los estudios de colaboración están diseñados para evaluar el rendimiento de un método específico y de los laboratorios participantes. Normalmente no evalúan la imprecisión que se debe a la preparación o el procesamiento de la muestra ya que las muestras tienden a ser altamente homogeneizadas.

Los laboratorios analíticos para residuos de plaguicidas buscan normalmente más de 200 residuos en numerosos productos que dan lugar a un número prácticamente infinito de combinaciones. Por tanto, se recomienda que para estimar la incertidumbre asociada a los procedimientos para residuos múltiples, los laboratorios utilicen una gama de analitos seleccionados convenientemente y matrices muestra que representen los residuos y los productos por analizar desde el punto de vista de las propiedades fisicoquímicas y la composición según las partes pertinentes de las Directrices sobre Buenas Prácticas de Laboratorio en el Análisis de Residuos de Plaguicidas en lugar de establecer la incertidumbre para cada combinación de método/analito/matriz. La selección de una gama representativa de analitos y matrices para proporcionar una estimación de la incertidumbre debería fundamentarse en datos y estudios de validación sobre la combinación elegida de matriz/analito.

En resumen, los laboratorios deben utilizar o bien sus propios datos de precisión a largo plazo o el procedimiento basado en la actividad (cálculo de componente por componente) para establecer y refinar los datos de la incertidumbre.

En ciertas situaciones puede ser también conveniente estimar la contribución de la incertidumbre debido a la variabilidad de la muestra. Ello requiere una comprensión de la variabilidad del analito dentro del lote de muestra y ni el laboratorio ni el analista tienen fácil acceso a la misma. Los valores obtenidos del análisis estadístico de más de 8500 datos de residuos (Tabla 4) proporcionan actualmente la mejor estimación¹. *Estas estimaciones pueden incorporarse al valor combinado de la incertidumbre.*

Del mismo modo, puede ser necesario tomar en consideración la estabilidad de los analitos durante el almacenamiento y procesamiento de la muestra si es posible que ello dé lugar a variabilidad de analitos entre analistas y laboratorios.

⁵ Ambrus A and Soboleva E. Contribution of sampling to the variability of residue data (*Contribución del muestreo a la variabilidad de los datos de residuos*), JAOAC. 87, 1368-1379, 2004.

3.1 ESTIMACIONES DE LA INCERTIDUMBRE DE LOS RESULTADOS QUE COMPRENDE EL ANÁLISIS DE COMPONENTES MÚLTIPLES

La estimación de la incertidumbre de los resultados para residuos de componentes múltiples que tiene su origen en la aplicación de mezclas técnicas que incluyen isómeros estructurales y ópticos, metabolitos y otros productos de descomposición puede exigir un método diferente, especialmente cuando el LMR se ha establecido para la suma de todos o algunos de los residuos de los componentes. La evaluación de los errores aleatorios y sistemáticos de los resultados a partir de las mediciones de puntos culminantes múltiples se explica detalladamente en una publicación reciente⁶.

4. VALORES DE REFERENCIA PARA INCERTIDUMBRES ACEPTABLES

El establecimiento de la desviación estándar de una serie de ensayos realizados por un solo laboratorio, como una medida de la incertidumbre estándar, exige los resultados de un gran número de datos, que no siempre se encuentran disponibles. Sin embargo, para cantidades más pequeñas de datos la desviación estándar real puede calcularse como se indica a continuación:

Dependiendo del número de observaciones (n), la relación de las desviaciones estándar verdaderas (σ), las desviaciones estándar calculadas (S) y la gama esperada del valor medio (\bar{x}) en el 95% de probabilidad se ilustran en la Tabla 3. El factor de multiplicación, f , proporciona el enlace entre los valores estimados y verdaderos como la función del número de mediciones.

Tabla 3 Los valores de f para el cálculo de gamas esperadas de desviación estándar y valores medios

N	$S_{\min} = f_1\sigma$	$S_{\max} = f_2\sigma$	$\bar{x} = \pm f_3S$
	f_1	f_2	f_3
5	0,35	1,67	1,24
7	0,45	1,55	0,92
15	0,63	1,37	0,55
31	0,75	1,25	0,37
61	0,82	1,18	0,26
121	0,87	1,13	0,18

Por ejemplo: la repetibilidad de las operaciones de laboratorio, CV_L , se determinó a partir de 7 porciones de ensayo extraídas de una muestra homogeneizada que contenía residuos añadidos. El promedio de residuo hallado fue de 0,75 mg/kg con una desviación estándar de 0,2 mg/kg. Puede esperarse que el residuo real de la muestra procesada oscile entre $0,75 \pm 1,24 \cdot 0,2 = 0,75 \pm 0,248$ mg/kg, mientras que la verdadera incertidumbre de los resultados de medición se encontrará probablemente entre 0,0696 ($0,2 \cdot 0,35$) y 0,334 ($0,2 \cdot 1,67$) mg/kg en el 95% de los casos.

Los valores de referencia para la incertidumbre estándar, que figuran en la Tabla 4, se basan en un gran número de datos y pueden utilizarse para apreciar la realidad de la incertidumbre estimada en un laboratorio con el fin de evitar un valor alto o bajo no razonable.

⁶ Soboleva E., Ambrus A., Jarju O., Estimation of uncertainty of analytical results based on multiple peaks (*Estimación de la incertidumbre de los resultados analíticos a partir de puntos culminantes múltiples*), J. Chromatogr. A. 1029. 2004, 161-166.

Tabla 4. Incertidumbres típicas esperadas de las etapas principales del muestreo y análisis de residuos de plaguicidas

Procedimiento	Incertidumbre relativa	Observaciones
Muestreo de productos de origen vegetal Refleja la variación de los residuos por término medio en muestras compuestas tomadas de un lote aleatoriamente. No incorpora los errores de los procedimientos de seguimiento.	Productos medios y pequeños. (Tamaño muestra ≥ 10) ^a : 26-30% ^b .	Para probar el cumplimiento del LMR, la incertidumbre del muestreo se define como 0, ya que los LMR hacen referencia a los residuos por término medio en muestras a granel.
	Productos grandes. (Tamaño muestra ≥ 5) ^a : 36-40% ^b .	
Muestreo de productos de origen animal	La relación entre el número de muestra(s) a tomar para detectar un porcentaje especificado de violación (β_p) con una probabilidad dada (β_t), se describe por ^a : $1-\beta_t = (1-\beta_p)^n$.	Las muestras primarias deben seleccionarse aleatoriamente a partir del lote completo.
Procesamiento de la muestra Incluye la operación física realizada para homogeneizar la muestra analítica y el submuestreo, pero excluye la descomposición y evaporación de analitos.	Varía en gran medida dependiendo de la matriz de muestra y el equipo. No puede darse ningún valor típico. Los analistas tienen que intentar mantenerlos ^c por debajo del 8-10%.	Puede verse influido por el equipo utilizado para picar/homogeneizar la muestra y la matriz de muestra, pero es independiente del analito.
Análisis Incluye todos los procedimientos realizados desde el punto de fijar las porciones de prueba.	Dentro de la reproductibilidad de laboratorio: 16-53% para concentraciones de 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ a 1 mg/kg ^c . La media entre reproductibilidad de laboratorios dentro de 0,001-10 mg/kg : 25% ^d .	El CV_A típico puede determinarse adecuadamente partiendo de estudios de recuperación realizados con varias combinaciones de plaguicidas - productos en días diferentes y durante el uso del método.

Notas:

- (a) *Métodos de Muestreo Recomendados para la Determinación de Residuos de Plaguicidas a Efectos del Cumplimiento de los LMR (CAC/GL 33-1999)*;
- (b) *Ambrus A y Soboleva E. Contribution of sampling to the variability of residue data (Contribución del muestreo a la variabilidad de los datos de residuos), JAOAC. 87, 1368-1379, 2004*;
- (c) *Directrices sobre Buenas Prácticas de Laboratorio en el Análisis de Residuos de Plaguicidas (CAC/GL 40-1993)*;
- (d) *Alder L., Korth W., Patey A., van der Schee y Schoeneweis S., Estimation of Measurement Uncertainty in Pesticide Residue Analysis (Estimación de la Incertidumbre de la Medición en el Análisis de Residuos de Plaguicidas), J. AOAC International, 84, 1569-1578, 2001.*

Además de las incertidumbres estimadas por laboratorios individuales, las autoridades de control y demás gestores de riesgos pueden decidir sobre una incertidumbre expandida por defecto de las mediciones que puede utilizarse para estimar el cumplimiento de los LMR (véase la sección 5) a partir de valores de reproductibilidad entre laboratorios. Por ejemplo, una incertidumbre expandida del 50% para CV_L se considera que es un valor por defecto razonable.

5. EMPLEO DE LA INFORMACIÓN SOBRE LA INCERTIDUMBRE

Si es necesario el resultado se comunicará junto con la incertidumbre expandida, U , del modo siguiente:

$$\text{Resultado} = x \pm U \text{ (unidades)}$$

La incertidumbre expandida, U , puede calcularse a partir de la incertidumbre tipo (S_{Res}) combinada con un factor de cobertura de 2 tal como recomienda EURACHEM o con el valor t Student para el nivel de fiabilidad requerido (normalmente el 95%) donde el grado efectivo de libertad es inferior a 20. Los cálculos respectivos para la incertidumbre expandida son los siguientes:

$$U = 2S_{\text{Res}} \quad \text{o} \quad U = t_{v,0,95}S_{\text{Res}} \quad (3)$$

El valor numérico de los resultados comunicados debe seguir la norma general de que los últimos dígitos pueden ser variables. Los resultados sólo deben redondearse si se cita el resultado final, ya que el redondeo en los estadios iniciales de cálculo puede introducir desviaciones innecesarias en los valores calculados.

A efectos de explicación, se supone que se comunica para una muestra dada la mejor estimación del contenido de residuos. La manera de interpretar los resultados depende de la finalidad del ensayo. Entre los motivos frecuentes se encuentran la comprobación del cumplimiento del LMR nacional y la certificación de cumplimiento de un LMR del Codex correspondiente a un producto para exportación.

5.1 ENSAYOS SOBRE EL CUMPLIMIENTO DE UN LMR

El gráfico 1 muestra cómo pueden presentarse los resultados de un ensayo en cuanto al valor medido del residuo, el intervalo de incertidumbre correspondiente y el LMR.

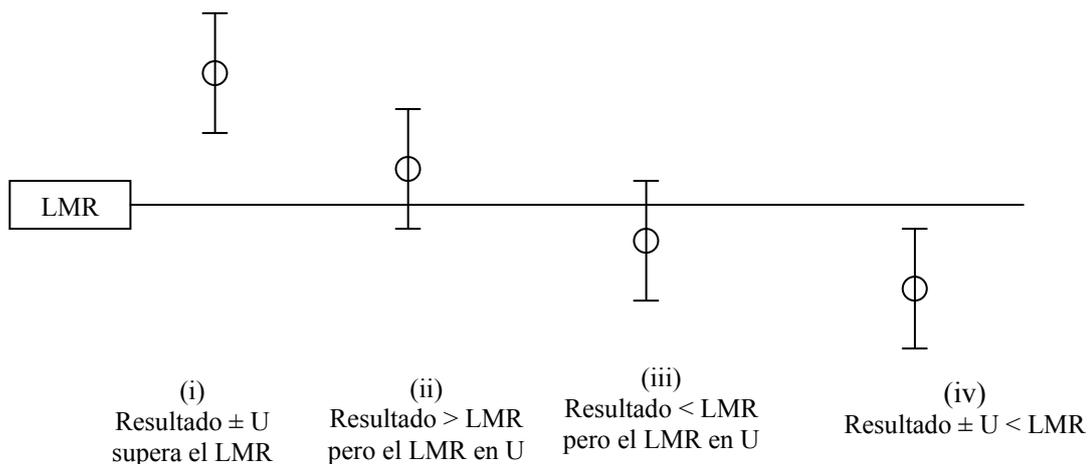


Gráfico 1. Ilustración de la relación entre el valor medido, la incertidumbre esperada y el LMR.

Situación (i)

El resultado analítico delimitado por los puntos extremos de la incertidumbre en la medición es mayor que el LMR. El resultado indica que el residuo hallado en el lote de la muestra supera el LMR.

Situación (ii)

El resultado del análisis es mayor que el LMR y el extremo inferior de la incertidumbre en la medición es menor que el LMR.

Situación (iii)

El resultado del análisis es menor que el LMR y el extremo superior de la incertidumbre en la medición es mayor que el LMR.

Situación (iv)

El resultado analítico delimitado por los puntos extremos expandidos de la incertidumbre en la medición es menor que el LMR.

5.2 Contexto para la decisión

Las situaciones ilustradas en el gráfico 1 tienen importancia para los productos de origen vegetal. La coincidencia de los residuos con los LMR en el caso de los productos de origen animal debería decidirse tras la elaboración de planes de muestreo basados en estadísticas libres de distribución y en los ejemplos que figuran en el documento sobre Métodos de Muestreo Recomendados para la Determinación de Residuos de Plaguicidas a Efectos del Cumplimiento de los LMR.

Dado que los residuos en cada muestra que se ajuste al tamaño y masa mínimos de la muestra especificados en los Métodos de Muestreo del Codex deberían ajustarse al LMR, la incertidumbre expandida debería calcularse utilizando S_L de la ecuación 1 como $U = kS_L$ donde $S_L = CV_L * \text{residuo}$.

La toma de decisiones en la Situación i) queda clara. Con el fin de evitar una extensa explicación de la incertidumbre que afecte a la eficacia del análisis destinado a comprobar el cumplimiento del LMR a nivel nacional en mercancías de producción local o de importación, el laboratorio puede notificar los resultados, dado que la muestra contiene “no menos de ‘x – U’ residuos”. Así se cumple el requisito de que se haya superado el LMR más allá de toda duda razonable en caso de impugnación de los resultados, teniendo en cuenta la medición de la incertidumbre.

En la Situación (iv) la muestra es claramente conforme con el LMR.

En las situaciones (ii) y (iii) no se puede concluir que se haya superado el LMR o que éste sea conforme sin duda razonable. Las medidas de las instancias decisorias pueden requerir un mayor examen, como se expone más abajo.

Las implicaciones de las situaciones (ii) y (iii) dependerán de las prácticas nacionales y pueden tener una repercusión considerable en la aceptación de los envíos comerciales. La distribución de productos en los mercados nacionales o en el comercio internacional cuando los resultados de los análisis correspondan a las situaciones (ii) y (iii) se debería llevar a cabo con prudencia. Por ejemplo, al certificar productos para la exportación, puede ser desaconsejable exportar remesas cuyos resultados en relación con los residuos correspondan a las situaciones (ii) y (iii). Para los países que importen productos con niveles de residuos correspondientes a la situación (ii), puede ser difícil verificar la conformidad con el LMR con un nivel aceptable de fiabilidad. Generalmente no cabe que la situación (iii) conduzca a la adopción de medidas por la parte importadora.

Glosario de los términos utilizados en el texto^a

En blanco (muestra, reactivo)	<ul style="list-style-type: none"> (i) Material (una muestra o una porción o extracto de una muestra) de la que se sabe que no contiene niveles detectables del analito buscado. También se conoce como matriz vacía. (ii) Un análisis completo realizado utilizando solo los disolventes y reactivos sin materiales de la muestra (se puede sustituir la muestra por agua para que el análisis sea realista). Conocido también como ensayo con solución testigo o procedimiento en vacío.
Incertidumbre estándar combinada	Para un resultado de medición, y , la incertidumbre total, $u_c(y)$ es una desviación estándar estimada igual a la raíz cuadrada positiva de la varianza total obtenida combinando todos los componentes de la incertidumbre utilizando la ley de propagación de la incertidumbre (ley de propagación de errores).

Contaminación	Introducción involuntaria del analito en una muestra, extracto, solución estándar interna, etc., por cualquier camino y en cualquier fase durante el muestreo o el análisis.
Definición del residuo	La definición de un residuo es aquella combinación del plaguicida y sus metabolitos, derivados y compuestos afines a la que se aplica el LMR o que se utiliza para la evaluación de la exposición dietética.
Sistema de determinación	Cualquier sistema utilizado par detectar y determinar la concentración o la masa del analito. Por ejemplo, GC-FPD, LC-MS/MS, LC con derivatización post-columna, ELISA, TLC con densitometría o bioensayo.
Nivel	En este documento, hace referencia a la concentración (p. ej. mg/kg, µg/ml) o la cantidad (p. ej. ng, pg).
Lote	Una cantidad de un material alimenticio entregado en un momento dado y del que el funcionario encargado del muestreo supone o sabe que posee rasgos uniformes, tales como el origen, el productor, la variedad, el envasador, la clase de envasado, las marcas, el expedidor y otros.
Efecto matriz	Una influencia de uno o más componentes de la muestra sin detectar sobre la medición de la concentración o la masa del analito. La respuesta de algunos sistemas de determinación (p. ej.: GC, LC-MS, ELISA) ante determinados analitos posiblemente se vea afectada por la presencia de materias coextractivas procedentes de la muestra (matriz).
Procedimiento en blanco	Véase “en blanco”.
Reactivo en blanco	Véase “en blanco”.
Respuesta	El resultado absoluto o relativo señalado desde el detector en presencia del analito.
Adición	Adición del analito a efectos de determinación de la recuperación o adición estándar.
Incertidumbre estándar	Expresada como la desviación estándar de un componente de la incertidumbre.
Unidad (como parte de una muestra)	Un fruto, una hortaliza, un animal, un grano de cereal, una lata, etc. Por ejemplo, una manzana, un chuletón, un grano de trigo, una lata de sopa de tomate.
Residuo en infracción	Un residuo que supera el LMR o es ilegal por cualquier otra razón.

Nota a). Las definiciones se basan en las referencias siguientes⁷⁸⁹¹⁰. En las Directrices Revisadas sobre Buenas Prácticas de Laboratorio en el Análisis de Residuos figuran más definiciones.

⁷ EURACHEM (2000) EURACHEM/CITAC. Guide to Quantifying Uncertainty in Analytical Measurements (Guía para Cuantificar la Incertidumbre en las Mediciones Analíticas), 2ª ed., <http://www.measurementuncertainty.org>.

⁸ Métodos de Muestreo Recomendados para la Determinación de Residuos de Plaguicidas a Efectos del Cumplimiento de los LMR.

⁹ Willetts P, Wood R (1998) Accred Qual Assur 3: 231-236.

¹⁰ International Vocabulary of basic and general terms in Metrology (Vocabulario Internacional de Términos Básicos y Generales de Metrología), Ginebra, 1993.

ANEXO

Notas introductorias

Tal como se señala en el documento de referencia CAC/GL 59-2006, la estimación de la incertidumbre de las mediciones (IM) asociada con los datos analíticos es un requisito para los laboratorios acreditados según la norma ISO/IEC 17025 y una expectativa de todos los laboratorios que operan según buenas prácticas de laboratorio (GLP) en el análisis de residuos de plaguicidas. Las decisiones en torno al cumplimiento de los alimentos de normas nacionales o internacionales sobre residuos químicos y contaminantes necesitan tener en cuenta la incertidumbre asociada con los resultados de los ensayos comunicados por los laboratorios sobre análisis de lotes o envíos específicos.

Suele suceder que en ensayos de aptitud (EA) los laboratorios comuniquen estimaciones diferentes sobre la incertidumbre de las mediciones (IM), pese a que emplean métodos de ensayo muy similares para el análisis. Esta evidencia sugiere que para algunos laboratorios dedicados a la alimentación la estimación de la IM todavía parece ser una ciencia en desarrollo. La intención de este anexo es describir algunas de las opciones que los laboratorios podrían emplear para estimar la incertidumbre de las mediciones, en particular el empleo de validación del método interno, control de calidad y datos de precisión a largo plazo para métodos multiresiduos para plaguicidas. También se espera que un enfoque más armonizado de la estimación de la IM en los resultados de residuos de plaguicidas minimizará posibles conflictos en las decisiones en torno al cumplimiento de los niveles de residuos cercanos a los LMR.

En general existen dos enfoques de uso habitual para la determinación de la IM: el método denominado GUM (*Guide to the expression of Uncertainty in Measurement [Guía para la representación de la Incertidumbre en las Mediciones]*) o el enfoque “*bottom up*” y los procedimientos “*top-down*” basados en la aplicación de la precisión analítica y el sesgo.

El enfoque GUM está basado en un riguroso análisis de todos los componentes individuales de un procedimiento analítico y la estimación de errores aleatorios y sistemáticos asignados a esos pasos. Pese a que inicialmente este proceso es muy laborioso requiere que el analista posea o desarrolle una comprensión detallada de los pasos analíticos del procedimiento e identifique los puntos críticos de control en el método. A menos que se tomen en consideración todos los pasos del procedimiento, la IM puede subestimarse. Por otra parte, algunos errores operativos pueden compensarse lo cual, si se ignora, podría llevar a una sobrestimación de la incertidumbre. Generalmente se reconoce que el enfoque *bottom-up* es más apropiado para la metrología física que para las actividades de química analítica y, en particular, para los métodos multiresiduos más complejos para plaguicidas.

Quienes proponen el enfoque *top-down* señalan que los datos de laboratorio recopilados en validaciones internas, precisión a largo plazo y control de calidad (QC) analítico es más probable que proporcionen información más fidedigna sobre la IM. Para estimar la IM se pueden utilizar también datos de EA si se dispone de ellos, bien como la única base para las estimaciones o, con mayor frecuencia, en combinación con datos internos. Los datos de la reproducibilidad entre laboratorios de estudios de EA pueden proporcionar también una útil “variable comparativa” para estimaciones de un solo laboratorio.

En la estimación de la IM se considerarán todas las opciones. El objetivo inicial será obtener la mejor estimación posible utilizando la información disponible. Las estimaciones iniciales de laboratorios se verificarán por comparación con métodos alternativos, informes bibliográficos y comparaciones de estudios de EA. Además el juicio profesional tiene un importante papel al estimar y verificar la incertidumbre de la medición. Las estimaciones se revisarán al disponer de más datos de precisión, por ejemplo, datos del QC del lote generados de forma rutinaria durante el curso de un programa analítico.

Este Anexo se concentra en la estimación de la IM utilizando el enfoque *top-down*, basado en datos de distintas fuentes.

Aplicación de un valor por defecto para la IM en los residuos de plaguicidas en los alimentos

Los países miembros de la UE adoptaron un valor “por defecto” de la IM de $\pm 50\%$ para residuos de plaguicidas en envíos de alimentos que entran en la UE. El valor por defecto está basado en los resultados estadísticos de un número de estudios de EA de la UE sobre laboratorios competentes dedicados al análisis de residuos que participan en estudios sobre multiresiduos en la fruta y hortalizas. Las desviaciones medias estándar relativas señaladas en un número de esos estudios varía entre el 20% y el 25%, dando una IM que se aproxima al 50%.

A falta de otros datos estadísticos, un laboratorio que analiza productos alimenticios para que cumplan las normas sobre LMR para plaguicidas de la UE puede adoptar una IM por defecto del 50% siempre que pudiera establecer su aptitud analítica mediante participación en estudios de la UE o estudios de ET similares, y/o pueda demostrar precisión a largo plazo y sesgo aceptables en torno a sus resultados de ensayos. Sin embargo, más a largo plazo, competirá al laboratorio verificar su adopción de la IM por defecto mediante la estimación independiente de la IM en base a datos internos de precisión y validación.

Datos de precisión derivados del uso de la relación de Horwitz

A falta de datos de estudios entre laboratorios sobre un método particular, la desviación estándar de la reproducibilidad y por tanto la IM pueden determinarse mediante una ecuación elaborada por Horwitz que correlaciona la desviación estándar de la reproducibilidad con la concentración de analitos. La relación de Horwitz entre coeficiente de variación (CV) y concentración de analitos está basada en los resultados de un gran número de estudios de colaboración sobre la alimentación indicados en la bibliografía. La ecuación de Horwitz es también un instrumento de utilidad para comparar estimaciones internas de la IM con el valor esperado derivado de estudios entre laboratorios publicados.

Datos de precisión derivados de estudios entre laboratorios (estudios de colaboración y estudios de EA)

Los resultados indicados sobre estudios entre laboratorios están sujetos tanto a la imprecisión como al sesgo. Si en esos estudios participan suficientes laboratorios y están concebidos de forma que incluyan condiciones de ensayo reales (gama de analitos y matrices), las desviaciones estándar de la reproducibilidad que se obtengan reflejarán los típicos errores que se pueden encontrar en la práctica. Por tanto los datos de estudios de EA pueden utilizarse para proporcionar estimaciones razonables de la incertidumbre de las mediciones.

Los estudios de colaboración sobre métodos están generalmente bien definidos con instrucciones bien documentadas en torno al procedimiento analítico y normalmente incluyen sólo a laboratorios expertos con experiencia demostrada en el análisis de residuos. En estas condiciones la varianza analítica es probable que sea la que mejor se puede obtener al aplicar el método en condiciones de reproducibilidad, especialmente porque las contribuciones de errores de la muestra en homogeneidad pueden ser insignificantes. Siempre que un laboratorio pueda demostrar que puede lograr el rendimiento analítico asociado con un estudio de colaboración en particular, la desviación estándar de la reproducibilidad obtenida para el estudio será una buena base para estimar la IM. No obstante, un laboratorio competente deberá ser capaz de mejorar la precisión del método entre laboratorios cuando aplique el método en condiciones de reproducibilidad en laboratorios, y por tanto reducir la IM.

Si en estudios de colaboración se emplean materiales de referencia certificados (CRM), el informe del estudio proporcionará una estimación del sesgo del método con respecto al valor “certificado” y esto deberá tomarse en consideración al estimar la IM.

En estudios de EA es normal que los laboratorios empleen su propio método de ensayo para el análisis. El método podrá ser un método estándar, un método estándar modificado o un método desarrollado y validado internamente. Además, generalmente hay mayor variabilidad en la competencia analítica de los laboratorios participantes que la que se da en los estudios de colaboración. Debido a estos factores, la desviación estándar de la reproducibilidad obtenida sobre estudios de EA es probable que sea mayor que lo que se esperaba de estudios de colaboración basados en un método. La IM basada en tales datos puede ser mayor que las estimaciones indicadas por muchos laboratorios participantes. Sin embargo, una estimación de la IM basada en un estudio de EA con participación de laboratorios con múltiple experiencia en el empleo de una diversidad de métodos podrá ser más pragmática y útil para apreciar el cumplimiento de productos alimentarios con respecto a residuos de plaguicidas en el comercio internacional. La IM por defecto del 50% aplicada por los países miembros de la UE se basa en datos de EA para una gama de plaguicidas y matrices de alimentos.

La información de los estudios de EA es útil para comparar y verificar estimaciones basadas en datos, como una validación interna o experimentos del control de calidad, tanto si un laboratorio utiliza datos de EA como si no los utiliza.

IM derivada de validación interna y datos del control de calidad

Entre metrólogos químicos existe consenso general en torno a que la mejor fuente de los datos de incertidumbre sobre el procedimiento analítico son los estudios de validación y/o estudios de verificación del método de laboratorio, y datos del control de calidad a largo plazo. Esto se basa en la suposición que el laboratorio ha realizado estudios de validación y/o verificación, y tiene suficiente experiencia al haber acumulado sesgo a largo plazo y datos de reproducibilidad sobre muestras de control de calidad (QC) apropiadas, CRM, materiales de referencia (RM) o matrices adicionadas.

La disponibilidad limitada de CRM para residuos de plaguicidas en matrices de alimentos exige que normalmente los laboratorios se concentren en muestras adicionadas u otras muestras caracterizadas apropiadas para el control interno de la calidad. El empleo de muestras de QC basadas en matrices como muestras con residuos incurridos, muestras sobrantes de estudios de EA o muestras adicionadas de laboratorio exentas de residuos brinda a los laboratorios la posibilidad de supervisar y controlar el rendimiento del método (y analista) al recopilar información tanto sobre el sesgo como la precisión. Los gráficos de control son instrumentos excelentes para evaluar la precisión a largo plazo y supervisar el control analítico del procedimiento analítico.

Al estimar la IM se considerarán el sesgo, cuando sea pertinente, y la incertidumbre del sesgo. Esto se ilustra en el ejemplo que se expone en la sección 5.4.

La mejor forma para determinar el sesgo es mediante el empleo de CRM. No obstante dada la escasez de CRM sobre plaguicidas en los alimentos y el gran número de plaguicidas que normalmente se incorpora en una verificación multiresiduos, generalmente es necesario basarse en las recuperaciones de muestras de matrices adicionadas para proporcionar información sobre el sesgo del método.

El rendimiento de laboratorios en estudios de EA puede proporcionar además una útil indicación del sesgo de laboratorios individuales con respecto a valores consenso y, en algunos casos, el nivel de adición de las muestras de EA. No obstante, el sesgo se basará en los resultados de un número de estudios de EA o será confirmado por dichos resultados antes de utilizarlo como variable informativa en la estimación de la IM.

Ejemplos desarrollados

Los siguientes ejemplos desarrollados describen procedimientos aceptables para estimar la IM en base a diferentes combinaciones de datos internos de validación, datos internos de precisión y datos entre laboratorios. La ecuación de Horwitz y resultados de estudios de EA proporcionan además variables comparativas de utilidad para comparar estimaciones internas de la IM.

Los siguientes ejemplos desarrollados emplean datos hipotéticos de clorpirifos como un residuo de plaguicidas característico y se basan en gran medida en ejemplos presentados en el informe Técnico de Eurolab N.º 1/2007 y el Nordtest Report TR537.

5.1 Estimación de la IM utilizando la ecuación de Horwitz

La ecuación de Horwitz expresa la desviación estándar de la reproducibilidad como una función de la concentración de analitos.

$$u' = 2^{1-0,5 \log c}$$

donde u' = desviación estándar relativa de la reproducibilidad
 c = concentración de analitos (en g/g)

Entonces la IM relativa expandida, U' (al nivel de confianza del 95%) se puede calcular mediante

$$U' = 2u'$$

Como la ecuación de Horwitz es una función de la concentración de analitos, proporcionará una gama de valores de la IM dependiendo de la concentración de plaguicidas que se indica en el cuadro siguiente:

Concentración (mg/kg)	u' (%)	U' (%)
1,0	16	32
0,1	22,6	45
0,01	32	64

Ejemplo 1:

Un laboratorio mide 0,40 mg/kg de clorpirifos en una muestra de tomates.

A una concentración de 0,40 mg/kg la ecuación de Horwitz pronostica una desviación estándar de la reproducibilidad relativa del 18,4%.

$$u' = 18,4\%$$

$$U' = 2u' = 37\%$$

Por tanto el laboratorio indicaría el resultado como $0,40 \pm 0,15$ mg/kg.

El informe del laboratorio indicará que la incertidumbre señalada era una incertidumbre expandida con un factor de cobertura de 2 para dar un nivel de confianza de aproximadamente 95%. Salvo que se especifique lo contrario, generalmente esto se supone para resultados comunicados con incertidumbres expandidas.

A falta de datos de apoyo, la ecuación de Horwitz se utilizará con cierta precaución y solamente como un indicador de la posible incertidumbre asociada con los resultados de ensayo. Adelantos en metodologías analíticas, en particular técnicas instrumentales, han permitido lograr límites de cuantificación muy bajos con mucha menos incertidumbre que la pronosticada por la ecuación de Horwitz. Thompson y Lowthian han señalado que a bajas concentraciones los laboratorios tienden a superar la función de Horwitz. No obstante, cabe observar que el concepto de Thompson limita el valor máximo de u' para concentraciones inferiores a 0,1 mg/kg al 22% independientemente de la concentración.

5.2 Estimación de la IM aplicando el valor por defecto de la UE del 50%

Antes de aplicar una IM por defecto, los laboratorios se asegurarán de que pueden obtener rutinariamente incertidumbres no superiores al valor por defecto.

Ejemplo 2:

Un laboratorio mide 0,40 mg/kg de clorpirifos en una muestra de tomates. Al resultado medido se aplicará un valor por defecto de $\pm 50\%$.

De acuerdo con ello, el laboratorio indicaría el resultado como $0,40 \pm 0,20$ mg/kg.

5.3 Estimación de la IM en base a QC en el laboratorio y datos de estudios de EA

5.3.1 Utilizando el valor asignado (o de consenso) de estudios de EA

$$U' = 2u' \quad \text{Ecuación 1}$$

$$u' = \sqrt{u'(R_w)^2 + u'(\text{bias})^2} \quad \text{Ecuación 2}$$

- donde
- U' = incertidumbre relativa expandida
 - u' = incertidumbre estándar relativa combinada
 - $u'(R_w)$ = incertidumbre estándar relativa debido a la imprecisión en el laboratorio (desviación estándar relativa de la reproducibilidad en el laboratorio)
 - $u'(\text{bias})$ = componente de la incertidumbre estándar relativa derivada del sesgo

Ejemplo 3:

En este ejemplo, $u'(R_w)$ se obtiene de datos del QC en el laboratorio, preferiblemente datos de QC a largo plazo y el $u'(\text{bias})$ se calcula con datos de EA.

Resultado del laboratorio para clorpirifos en el tomate = 0,40 mg/kg.

La desviación estándar relativa de análisis de muestras de tomates en el QC de un lote, adicionadas a 0,5 mg/kg con clorpirifos (una muestra adicionada a la semana para los 3 meses anteriores) = 15%.

El laboratorio ha participado en 6 estudios de EA en que los analitos comprendían clorpirifos en distintas matrices de hortalizas y frutas. Para dichos estudios, las diferencias relativas entre el resultado del laboratorio y el valor asignado fueron -15%, 5%, -2%, 7%, -20% y -12%. Por término medio, en cada uno de los estudios de EA participaron 16 laboratorios. El promedio de la desviación estándar de la reproducibilidad (S_R) indicado para clorpirifos en los seis estudios fue de 25%.

$$u'(\text{bias}) = \sqrt{\text{RMS}'_{\text{bias}}^2 + u'(C_{\text{ref}})^2} \quad \text{Ecuación 3}$$

- donde
- $\text{RMS}'_{\text{bias}}$ = raíz cuadrada del promedio del valor relativo del sesgo
 - $u'(C_{\text{ref}})$ = promedio de la incertidumbre relativa de los valores asignados para clorpirifos en los seis estudios.

$$\begin{aligned} \text{RMS}'_{\text{bias}} &= \sqrt{\frac{\sum(\text{bias})^2}{n}} \quad (n = \text{número de estudios de EA}) \quad \text{Ecuación 4} \\ &= \sqrt{\frac{(-15)^2 + (5)^2 + (-2)^2 + (7)^2 + (-20)^2 + (-12)^2}{6}} \\ &= 11,9\% \end{aligned}$$

$$u'(C_{\text{ref}}) = \frac{S_R}{\sqrt{m}} \quad \text{Ecuación 5}$$

donde S_R = desviación estándar relativa media para clorpirifos de seis estudios

m = promedio de participantes por estudio

$$\begin{aligned} &= \frac{25}{\sqrt{16}} \\ &= 6,3\% \end{aligned}$$

Por tanto, $u'(\text{bias}) = \sqrt{(11,9)^2 + (6,3)^2} = 13,5\%$

De la ecuación 2,

$$u' = \sqrt{(15)^2 + (13,5)^2} = 20\%$$

De la ecuación 1, la incertidumbre relativa expandida (95% de confianza) = 40%.

El laboratorio indicaría el resultado como $0,40 \pm 0,16$ mg/kg.

Notas:

1. El valor RMS'_{bias} explica tanto el sesgo como la incertidumbre del sesgo.
2. La IM calculada es la mejor estimación solamente porque los datos de EA son para matrices diferentes y concentraciones diferentes de clorpirifos.
3. Si es posible la IM se calculará en base a datos generados a la concentración más crítica o casi en dicha concentración, por ejemplo LMR del Codex.

5.3.2 Estudios de EA con materiales de referencia certificados (CRM)

Si en un estudio de EA se distribuyen como muestra CRM que contienen clorpirifos, entonces no sería necesario calcular $u'(C_{ref})$ a partir de los resultados de EA.

En ese caso, $u'(C_{ref})$ sería la incertidumbre señalada para la concentración certificada, convertida a una desviación estándar relativa.

Por ejemplo, si el margen de confianza del 95% sobre el valor certificado para clorpirifos en el CRM fuera $0,489 \pm 0,031$ mg/kg, entonces:

$$u(C_{ref}) \quad (\text{desviación estándar}) = \frac{0.031}{2} = 0,0155 \text{ mg/kg, y}$$

$$u'(C_{ref}) \quad (\text{desviación estándar relativa}) = \frac{0.0155 \times 100}{0.489} = 3,17\%$$

En el supuesto improbable que en distintas rondas de estudios de EA se distribuyeran varios CRM que contienen clorpirifos para calcular U se utilizaría la media de $u(C_{ref})$.

En ambos casos, RMS'_{bias} se calcularía utilizando la ecuación 4.

Ejemplo 4:

Estudio N.º	CRM	Sesgo relativo	$u'(C_{ref})$
1	A	-12%	2,3%
2	B	-15%	1,7%
3	C	-3%	2,0%
4	C	5%	2,0%
5	C	-20%	2,0%
6	A	0%	2,3%

$$\text{Media de } u'(C_{ref}) = 2,05\%$$

De la ecuación 4, $RMS'_{bias} = 11,6\%$

De la ecuación 3, $u'(bias) = 11,8\%$

Nota:

4. Probablemente la incertidumbre relativa asociada con CRM será menor a la asociada con valores asignados o de consenso.

Si la incertidumbre estándar relativa del laboratorio debido a la imprecisión analítica $u'(R_w)$ siguiera siendo la misma, es decir 15%, entonces de las ecuaciones 1 y 2

$$u' = 19\%$$

$$U' = 38\%$$

El laboratorio podría comunicar el resultado como $0,40 \pm 0,15$ mg/kg.

5.4 Estimación de la IM utilizando datos de QC en el laboratorio

Ejemplo 5:

- Resultado del laboratorio para clorpirifos en el tomate = 0,40 mg/kg.
- Pureza indicada del material de calibración de clorpirifos utilizado para preparar la solución adicionada = $95 \pm 2\%$ (certificado de análisis).
- Para muestras del QC en el lote adicionado a 0,5 mg/kg de clorpirifos se registraron catorce recuperaciones (%) durante los 3 últimos meses; 90, 100, 87, 89, 91, 79, 75, 65, 80, 82, 115, 110, 65, 73 dieron una recuperación media de 86% y una desviación estándar relativa del 15%.

Suponiendo que la incertidumbre indicada para el material de referencia sea una incertidumbre expandida U (margen de confianza del 95%):

$$u'(C_{\text{ref}}) = \frac{2}{2} = 1\%$$

Nota:

5. Esto supone que las incertidumbres asociadas con la preparación de la solución adicionada y el adiconamiento de los tomates son ambos insignificantes. Ello puede suceder pero en caso contrario, $u'(C_{\text{ref}})$ será todavía una contribución muy baja solamente a la incertidumbre general.

$u'(R_w) = 15\%$ (desviación estándar relativa de la reproducibilidad en el laboratorio).

Utilizando la ecuación 4, y siendo el sesgo una recuperación del 100 -%,

$$\text{RMS}'_{\text{bias}} = 20\%$$

De la ecuación 3, $u'(\text{bias}) = 20\%$

De la ecuación 2, $u' = 25\%$

De la ecuación 1, $U' = 50\%$

El laboratorio podría comunicar el resultado como $0,40 \pm 0,20$ mg/kg.

Nota:

6. Esta incertidumbre se aplicaría a resultados no corregidos en cuanto a recuperación. Si al final del programa analítico, los resultados se corrigiesen en cuanto a recuperación promedio lograda durante el período de análisis de 3 meses, entonces $u'(\text{bias})$ solamente necesita reflejar la incertidumbre asociada con la recuperación media. En ese caso $u'(\text{bias})$ puede calcularse como la incertidumbre estándar relativa del factor de recuperación aplicado (la incertidumbre relativa de la recuperación media) combinada con la incertidumbre estándar relativa de la concentración adicionada, $u'(C_{\text{ref}})$.

Incertidumbre estándar relativa de la recuperación media,

$$u' \overline{\text{Rec}} = \frac{u'(R_w)}{\sqrt{n}},$$

Ecuación 6

donde

n = el número de reiteraciones de que se calcula la recuperación promedio.

$$u' \overline{Rec} = \frac{15}{\sqrt{14}} = 4\%$$

$$u'(bias) = \sqrt{u'(\overline{Rec})^2 + u'(C_{ref})^2}$$

Ecuación 7

por tanto $u'(bias) = \sqrt{(4)^2 + (1)^2} = 4,1\%$

entonces, de la ecuación 2 y 1, utilizando el valor $u'(R_w)$ del 15% calculado previamente

$$u' = 15,5\% \text{ y}$$

$$U' = 31\%$$

Si los resultados se corrigiesen en cuanto a recuperación, el resultado se indicaría como

$$0,40 \pm 0,12 \text{ mg/kg}$$

Nota:

7. Este ejemplo muestra que si los resultados se corrigen en cuanto a recuperación media basada en nueve experimentos o más de recuperación reiterados, realizados en el transcurso de un programa analítico utilizando un material de referencia para el cual se sabe que la pureza tiene un alto grado de certeza, una estimación razonable de la incertidumbre de las mediciones puede calcularse solamente a partir de la desviación estándar de la reproducibilidad en el laboratorio.