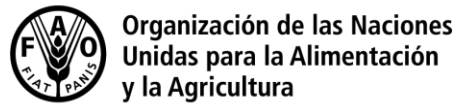


COMISIÓN DEL CODEX ALIMENTARIUS



Organización de las Naciones
Unidas para la Alimentación
y la Agricultura



Organización
Mundial de la Salud

S

Viale delle Terme di Caracalla, 00153 Roma, Italia - Tel: (+39) 06 57051 - Correo electrónico: codex@fao.org - www.codexalimentarius.org

Tema 5 del programa

CX/MAS 23/42/7

Abril de 2023

PROGRAMA CONJUNTO FAO/OMS SOBRE NORMAS ALIMENTARIAS COMITÉ DEL CODEX SOBRE MÉTODOS DE ANÁLISIS Y TOMA DE MUESTRAS

Cuadragésima segunda reunión

Budapest (Hungría)

13 – 16 de junio de 2023, con aprobación del informe el 20 de junio de 2023 (virtual)

DOCUMENTO DE INFORMACIÓN: DIRECTRICES SOBRE LA INCERTIDUMBRE EN LA MEDICIÓN (CXG 54-2004)

(Preparado por Alemania)

Los miembros y observadores del Codex que deseen presentar comentarios sobre el documento de información deberán hacerlo siguiendo las instrucciones de la carta circular CL 2023/14/OCS-MAS disponible en la página web del Codex/Circulares: <http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/resources/circular-letters/es/>

Introducción

1. En la 39.^a reunión del Comité sobre Métodos de Análisis y Toma de Muestras (CCMAS) se acordó iniciar un nuevo trabajo de revisión de las *Directrices sobre la incertidumbre en la medición* (CXG 54-2004) y se señaló que un documento informativo con ejemplos apoyaría la revisión de la CXG 54-2004¹.
2. El CCMAS, en su 40.^a reunión, adoptó varias decisiones sobre el CXG 54-2004 revisado, incluido el traslado de ejemplos al documento de información.
3. El CCMAS, en dicha reunión, señaló que el documento de información tenía por objeto dar algunos ejemplos sobre los procedimientos para estimar la incertidumbre en la medición y proporcionar al usuario algunas referencias sobre los temas generales. El CCMAS no examinó el documento de información, ya que tenía que tener en cuenta los cambios realizados en la revisión del documento CXG 54 en la reunión. El documento se presentará en la 41.^a reunión del CCMAS con miras a su examen².
4. En la 41.^a reunión del CCMAS, se preparó y debatió un proyecto de documento de información.
5. El CCMAS, en su 41.^a reunión, acordó solicitar a Alemania que revisara el documento de información teniendo en cuenta los comentarios y decisiones tomadas en la reunión, para distribuirlo a fin de recabar comentarios y someterlo a la consideración del CCMAS en su 42.^a reunión³.
6. El documento de información se actualizó teniendo en cuenta los comentarios recibidos durante la 41.^a reunión del CCMAS y se presenta en el Apéndice I.

Cambios

7. En comparación con la versión anterior (presentada en la 41.^a reunión del CCMAS), se realizaron los siguientes cambios en el documento de información:
 - Se realizaron algunos cambios de redacción a lo largo del documento.
 - Se agregó a la Sección 2 una discusión del método de Monte Carlo (incluido un ejemplo).
 - Se agregó una nueva nota al final de la Sección 3 sobre el caso en que la precisión depende de la concentración.
 - Se agregó un párrafo al final de la Sección 5 sobre la necesidad de realizar un estudio de verificación.

¹ REP18/MAS, párrafos 60 y 61

² REP19/MAS, párrafos 65 y 66

³ REP21/MAS, párrafo 70

- Se agregó una nueva nota al final de la Sección 7 sobre el submuestreo.
- El párrafo sobre los intervalos de confianza para las estimaciones de desviación típica se volvió a redactar para aclarar la sintaxis de Excel y las expresiones matemáticas subyacentes.
- Se agregó un breve párrafo al comienzo de la Sección 9 que resume los tipos de procedimientos descritos en la ISO 5725-3 revisada y la nueva ISO TS 23471.
- Las referencias fueron actualizadas.

Recomendación

8. Se invita al Comité a que:
 - a. Acepte el proyecto de documento de información (Apéndice I).
 - b. Publique el documento de información en el sitio web del Codex.

PROYECTO DE DOCUMENTO DE INFORMACIÓN PROCEDIMIENTOS PARA LA ESTIMACIÓN DE LA INCERTIDUMBRE EN LA MEDICIÓN

(para recabar observaciones a través de la CL 2023/14/OCS-MAS)

1 Introducción

El resultado de una medición siempre debe ir acompañado de información sobre su incertidumbre. Dicha información proporciona una indicación de la calidad del resultado de la medición y permite una comparación significativa con otros resultados de medición o valores de referencia. Sin una declaración sobre la incertidumbre en la medición, el resultado de una medición es esencialmente incompleto y no se puede interpretar correctamente.

Este documento proporciona orientación sobre las fuentes de incertidumbre que se originan en el laboratorio mismo en relación con los procedimientos y las condiciones que comienzan con la muestra de laboratorio y terminan con el resultado de la medición. En particular: no se abordará la cuestión de la incertidumbre del muestreo y hasta qué punto las muestras de laboratorio son representativas del contenido del continente. Estas cuestiones se abordan en el documento CXG 50-2004 [13].

La incertidumbre en la medición se define como un parámetro «... que caracteriza la dispersión de los valores que podrían atribuirse razonablemente al mensurando», véase la Sección 2.2.3 en la *Guía para la expresión de la incertidumbre en la medición* (GUM) [1]. Este documento tiene como objetivo aclarar lo que se quiere decir en esta definición y proporcionar la información necesaria para comprender cómo se relacionan entre sí los diferentes enfoques para la evaluación de la incertidumbre en la medición. Esto debería permitir al lector tomar decisiones informadas sobre el mejor procedimiento a adoptar en cualquier caso dado.

En consecuencia, el presente documento proporciona información de antecedentes y aclara las nociones básicas que son fundamentales para una evaluación e interpretación correctas de la incertidumbre en la medición. Primero, se describen y comparan los enfoques de arriba hacia abajo y de abajo hacia arriba. Luego, se presenta el modelo básico para el enfoque de arriba hacia abajo. Esto constituye un marco conveniente para dilucidar algunos de los aspectos conceptuales básicos de la incertidumbre en la medición. En el curso del debate se explicará el término «mensurando» y se aclarará más la relación entre los enfoques de arriba hacia abajo y de abajo hacia arriba sobre la base de una clasificación más general de las fuentes de incertidumbre. Se abordará la cuestión de la incertidumbre estadística en la estimación de los parámetros de dispersión, como los valores de desviación típica, y se examinará el efecto del número de observaciones sobre esta incertidumbre estadística. A continuación, se proporcionarán diseños específicos para la evaluación de los diferentes componentes del enfoque de arriba hacia abajo, entre ellos diseños para la evaluación de los efectos de submuestreo y matriz. Finalmente, los ejemplos ilustrarán cómo la incertidumbre en la medición influye en los planes de muestreo.

2 Enfoques de arriba hacia abajo versus de abajo hacia arriba

El término «enfoque de abajo hacia arriba» se utiliza para indicar cualquier enfoque en el que la incertidumbre en la medición se calcula sobre la base de una ecuación que expresa la relación entre las variables de entrada y el resultado de la medición. Según formula la Sección 4.1.1 de la GUM [1]: En la mayoría de los casos, un mensurando Y no se mide directamente, sino se determina a partir de N otras cantidades X_1, X_2, \dots, X_N a través de una relación funcional (modelo) f :

$$Y = f(X_1, X_2, \dots, X_N)$$

Debe enfatizarse que en este enfoque, el resultado de la medición Y se *calcula* a partir de las variables de entrada X_1, X_2, \dots, X_N . La concentración del analito es un ejemplo de resultado de medición; la densidad óptica, el área de pico y la altura de la señal son ejemplos de variables de entrada.

Un enfoque alternativo, descrito p. ej. en la Guía CG4 de EURACHEM/CITAC [2] y en ISO 21748[4], consiste en hacer uso de los datos de *validación de métodos* disponibles. Según expone la Sección 7.6.1 de la Guía EURACHEM [2]: «Un estudio colaborativo realizado para validar un método publicado [...] es una fuente valiosa de datos para respaldar la estimación de la incertidumbre». En este enfoque, no existe una «relación funcional» entre las variables de entrada y el resultado de la medición. Más bien, los resultados se obtienen en diferentes condiciones de medición, y la variación total observada se divide en componentes individuales. Este enfoque a menudo se denomina el enfoque *de arriba hacia abajo*.

Con el fin de obtener medidas de precisión que posteriormente se puedan utilizar para «respaldar la estimación de la incertidumbre» siguiendo el enfoque de arriba hacia abajo, se pueden realizar dos tipos principales de experimentos: estudios en un laboratorio único (internos) y en varios laboratorios (colaborativos). Cabe destacar que las medidas de precisión obtenidas en estos dos tipos de estudios no siempre son comparables. No obstante, si no se han tenido en cuenta las fuentes de incertidumbre relevantes, a menudo es conveniente complementar la información procedente de un estudio realizado en varios laboratorios con experimentos posteriores de un solo laboratorio.

La principal diferencia entre los dos enfoques es que mientras que el enfoque de abajo hacia arriba comienza con una consideración físico-química del mecanismo de medición real, el enfoque de arriba hacia abajo comienza con un conjunto de datos en el que se puede observar directamente la variación entre los distintos resultados de medición. En este sentido se puede decir que el enfoque de abajo hacia arriba es *teórico* mientras que el enfoque de arriba hacia abajo es *empírico*.

Una distinción relacionada es que en el enfoque de abajo hacia arriba el punto de partida es la relación entre el resultado de la medición y las variables de entrada, mientras que en el enfoque de arriba hacia abajo el punto de partida es la relación entre la variación total y los componentes individuales de la variación.

Finalmente, otra distinción entre los dos enfoques es que, si bien el número de componentes en el enfoque de arriba hacia abajo suele ser bajo⁴, el número de variables de entrada en el enfoque de abajo hacia arriba puede ser bastante alto. Por esta razón, en el enfoque de abajo hacia arriba a menudo no es práctico realizar un experimento en el que se puedan obtener de manera confiable estimaciones de las incertidumbres asociadas con todas las variables de entrada. De hecho, el enfoque de abajo hacia arriba permite explícitamente la inclusión de *información previa* sobre el tamaño de los errores que se puede esperar que surjan en relación con cada fuente (evaluación de Tipo B).

En el caso del enfoque de abajo hacia arriba, hay dos opciones para calcular la incertidumbre de medición combinada (es decir, total). La primera opción consiste en realizar una aproximación lineal. Este enfoque a menudo se conoce como la ley de propagación de la incertidumbre. En el caso del enfoque de abajo hacia arriba entre las diferentes variables de entrada, la incertidumbre de medición combinada, expresada como la desviación típica, se obtiene de la siguiente manera:

$$u_c = \sqrt{\sum_{i=1}^N c_i \cdot u_i^2}$$

donde u_c denota la incertidumbre combinada, u_i denota la incertidumbre asociada con la variable de entrada i y c_i denota el coeficiente de sensibilidad correspondiente, generalmente obtenido mediante diferenciación parcial ($c_i = \left(\frac{\partial f}{\partial x_i}\right)^2$), véanse las secciones 5.1.2 y 5.1.3 en la GUM [1].

La segunda opción consiste en aplicar el método Monte Carlo (MCM). Esto se puede describir brevemente como «muestreo repetido de los PDF de X_i y la evaluación del modelo en cada caso», véase 5.9.1 en [3]. Esta opción también se conoce como la propagación de distribuciones. En la práctica, la implementación de esta opción requiere un software, ya que el número de ejecuciones de simulación (es decir, el número de veces que se muestrea cada variable de entrada) suele ser del orden de 10^6 . Si el modelo f es altamente no lineal, se recomienda el MCM. Por ejemplo, en el caso de la suma estándar, el modelo es

$$Y = \frac{a}{b}$$

En este modelo, b denota el parámetro de pendiente, calculado como

$$b = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x}) \cdot (y_i - \bar{y})}{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}$$

donde x_i denota las concentraciones estándar añadidas (con valor medio \bar{x}) y y_i denota los valores de respuesta correspondientes (con valor medio \bar{y}); y a denota la intercepción, calculada como

$$a = \bar{y} - b \cdot \bar{x}.$$

Los valores de incertidumbre de las variables individuales x_i se toman de los certificados de las sustancias de referencia estándares de los materiales, mientras que los valores de incertidumbre de las variables y_i se obtienen del análisis de regresión (desviación típica residual).

Para este modelo, los resultados obtenidos mediante aproximación lineal y mediante MCM pueden diferir considerablemente. El cálculo de MCM también mostrará si la distribución del mensurando es asimétrica. Por ejemplo, en el caso de la suma estándar, la distribución del mensurando $Y = \frac{a}{b}$ suele estar sesgada hacia la derecha:

⁴ El número de componentes se deriva directamente del diseño experimental del estudio de validación del método.

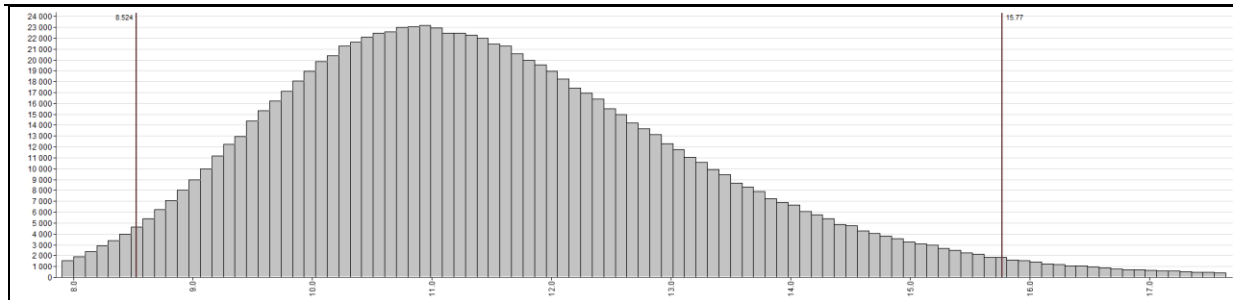


Figura 1: Distribución asimétrica a la derecha para el mensurando de adición estándar $Y = \frac{a}{b}$ obtenido a través de 10^6 ejecuciones de simulación del MCM.

En el caso del enfoque de arriba hacia abajo, la incertidumbre total en la medición se obtiene sumando diferentes componentes de la varianza, como la varianza entre laboratorios y la varianza de repetibilidad. Debe tenerse en cuenta el número de mediciones repetidas. Por ejemplo, en el caso más simple, la incertidumbre típica total se obtiene como

$$u = \sqrt{s_L^2 + \frac{s_r^2}{n_r}}$$

donde s_L denota la desviación típica entre laboratorios, s_r denota la desviación típica de repetibilidad y n_r denota el número de réplicas cuyo valor medio se toma como resultado final de la medición. Para más información, se remite al lector a la norma ISO 21748 [4].

3 Modelo básico para el enfoque de arriba hacia abajo

En esta sección, se analiza el modelo básico para el enfoque de arriba hacia abajo. El modelo se basa en el supuesto de que los datos de un estudio de validación entre laboratorios (también conocido como estudio colaborativo) están disponibles. Dicho estudio se realiza para caracterizar el desempeño de un método analítico. En particular, la caracterización de la *precisión*⁵ de un método analítico se puede utilizar «para respaldar la estimación de la incertidumbre». Se remite al lector a la serie ISO 5725, en particular a la Parte 2 [5], para obtener información general.

El modelo básico es el siguiente:

$$\begin{aligned} \text{Índice de medición } Y &= \text{valor verdadero} + \text{sesgo del método (promedio entre laboratorios y matrices)} \\ &+ \text{sesgo específico de la matriz} + \text{sesgo de laboratorio} + \text{error de repetibilidad} \end{aligned}$$

Para más detalles, se remite al lector a [6] y [7].

A continuación, se analizan los términos individuales del modelo básico.

Valor verdadero

En general, se desconoce el valor verdadero. Puede estimarse promediando, p. ej. métodos, muestras y laboratorios. Sin embargo, es fundamental tener en cuenta que en la GUM [1], la incertidumbre en la medición se define *sin ninguna referencia a un valor verdadero* y se la define como un parámetro «... que caracteriza la dispersión de los valores que podrían atribuirse razonablemente al mensurando», véase la Sección 2.2.3 en la GUM [1]. Desde entonces, esta definición se ha adoptado en todas las demás normas y documentos de orientación pertinentes (EURACHEM [2], VIM [8]). Esto no significa que el valor verdadero ya no juegue un papel en la evaluación de la incertidumbre en la medición. Sin embargo, no es la diferencia (no disponible) entre el valor verdadero y el resultado de la medición, sino la *incertidumbre de la corrección del sesgo* lo que debe tenerse en cuenta en la evaluación de la incertidumbre en la medición. En otras palabras, el enfoque cambia del valor verdadero (no disponible) a la incertidumbre en la estimación del sesgo. Hay que tener en cuenta que si se dispone de un valor de referencia certificado junto con un valor de incertidumbre de referencia, este último puede incluirse en la corrección de la incertidumbre de sesgo.

Sesgo del método (promedio entre laboratorios y matrices)

El sesgo del método entre laboratorios y matrices puede estimarse estableciendo promedios entre laboratorios y matrices. Como se explicó en el estudio del valor verdadero, la contribución correspondiente al cálculo de la incertidumbre en la medición consistirá en la incertidumbre en la estimación de este sesgo.

Sesgo específico de la matriz (desajuste de la matriz)

En muchos casos, el sesgo de un método depende de la matriz que se examina. En otras palabras: el sesgo varía de una matriz a otra. Estos efectos ocurren cuando la extracción del analito se ve afectada por la matriz, de modo que una

⁵ La precisión se define (parafaseando 2.15 en [8]) como el grado de concordancia entre los resultados de medición independientes obtenidos en condiciones específicas. Por ejemplo, la precisión de la reproducibilidad caracteriza la concordancia entre los resultados de diferentes laboratorios, mientras que la precisión de la repetibilidad caracteriza la concordancia entre los resultados obtenidos en condiciones casi idénticas en el mismo laboratorio. La precisión se puede utilizar para derivar una estimación de la incertidumbre en la medición, pero no debe confundirse con la incertidumbre en la medición.

parte del analito no se recupera; o cuando una parte de la matriz se extrae junto con el analito e interactúa con el mecanismo físico-químico de la medición, lo que genera un sesgo. El componente correspondiente de la variabilidad total se llama componente de desajuste de la matriz. Es importante señalar que todas las fuentes de incertidumbre enumeradas en la Sección 7 contribuyen a este término del modelo básico. Véase Uhlig (2023) [24] para más información.

Sesgo de laboratorio

En muchos casos, el sesgo de un método depende del laboratorio que realiza la medición. En otras palabras, el sesgo varía de un laboratorio a otro. El componente correspondiente de la variabilidad total se llama desviación típica del laboratorio.

Error de repetibilidad

Este término representa la variación entre mediciones repetidas (es decir, mediciones independientes realizadas en condiciones de prueba casi idénticas).

Tenga en cuenta en el caso de que la precisión dependa del nivel de concentración:

Cuando existe una relación conocida entre precisión (p. ej., reproducibilidad interna) y concentración, es posible aplicar un enfoque basado en una distinción clara entre, por un lado, la variación aleatoria entre los resultados de las pruebas a un nivel de concentración determinado y, por otro, el rango de valores que pueden «razonablemente atribuirse al mensurando», es decir, la incertidumbre de la medición. Este enfoque se describe en Uhlig (2023) [25] y da lugar de forma bastante natural a intervalos de incertidumbre de medición asimétricos en casos de precisión relativamente alta (por ejemplo, superior al 10 %) y heteroscedasticidad (p. ej., reproducibilidad interna relativa constante). Este enfoque también se describe en el Anexo E de ISO TS 23471 [20].

4 Especificación del mensurando

El concepto de «mensurando» claramente juega un papel central en la definición de la incertidumbre en la medición y arrojará más luz sobre la conexión entre los datos de validación y la incertidumbre en la medición.

Dejando de lado los tecnicismos de la definición de mensurando⁶, es suficiente señalar que la especificación del mensurando tiene tres componentes separados:

- especificación de una propiedad, p. ej. *concentración media de arsénico*. Téngase en cuenta que el concepto de «analito» corresponde a esta parte de la especificación del mensurando.
- especificación de un fenómeno, cuerpo o sustancia con la que está asociada la propiedad, p. ej. *un lote determinado de jugo de manzana*. Téngase en cuenta que el concepto de «matriz» utilizado en la sección anterior corresponde a esta parte de la especificación del mensurando.
- y especificación de un marco de referencia con respecto a la manera en que se caracteriza la propiedad, p. ej. [ng/ml].

En términos generales, la especificación del mensurando implica indicar (1) *qué se va a medir*, (2) *en qué se va a medir* y (3) *cómo se debe expresar el resultado de la medición para asegurar la comparabilidad con otros resultados de medición o valores relevantes*.

En particular, la especificación del mensurando debe incluir información sobre si la concentración de analito debe medirse en una muestra de laboratorio o en una «muestra más grande» o en un lote de productos en un contenedor. Solo en el último caso es relevante la incertidumbre del *muestreo* (véase la Sección 7 para obtener una descripción general de las diferentes fuentes de incertidumbre). De manera similar, si los resultados de medición de varias muestras de laboratorio se utilizan para evaluar la conformidad del material a granel de un contenedor, lo que es relevante es la incertidumbre de medición del valor promedio entre los resultados correspondientes a las muestras de laboratorio individuales.

En un sentido más general, si bien la incertidumbre de la medición siempre se determina sobre la base de la muestra de laboratorio, es importante incluir toda la información disponible sobre la muestra de laboratorio en la evaluación de la incertidumbre de la medición, p. ej.

- ¿De dónde proviene el material (p. ej. contenedor)?
- ¿Se han analizado otras muestras del mismo origen?

⁶ En el VIM [8], mensurando se define como «cantidad que se pretende medir» (definición 2.3). La cantidad, a su vez, se define como «propiedad de un fenómeno, cuerpo o sustancia, donde la propiedad tiene una magnitud que puede expresarse como un número y una referencia» (definición 1.1). Un ejemplo dado directamente bajo esta definición es la «concentración de la cantidad de etanol en una muestra de vino *i*». El término «referencia» en esta definición se explica en la NOTA 2 como: «Una referencia puede ser una unidad de medida, un procedimiento de medida, un material de referencia o una combinación de los mismos».

- ¿Cuál es el uso previsto del resultado de la medición (p. ej., evaluación de la conformidad para la muestra de laboratorio individual o para el contenedor)?

Por ejemplo, la determinación de la contribución a la incertidumbre que surge de la heterogeneidad del material (p. ej., variabilidad fundamental, véase la Sección 9.4) puede requerir una cantidad considerable de trabajo, dependiendo del analito, la concentración y el tamaño de grano/partícula. Si se conoce el origen del material, se puede utilizar los resultados obtenidos previamente con respecto a la contribución de la heterogeneidad a la incertidumbre en lugar de obtener una nueva estimación desde cero.

La especificación del mensurando también debería permitir determinar si se requiere corrección de sesgo o recuperación, y qué forma debería tomar esta corrección. Por ejemplo, si el mensurando se especifica en términos de la cantidad de analito recuperado, entonces la corrección de la recuperación puede no ser apropiada. Por otro lado, si el mensurando se especifica en términos de la cantidad total de analito presente en una muestra de prueba, entonces puede ser necesaria la corrección de la recuperación.

Finalmente, puede ser poco práctico o imposible proporcionar una especificación exhaustiva del mensurando. Por esta razón, puede ser necesario incluir un componente adicional de la incertidumbre en la medición, llamado «incertidumbre de definición» (véase la definición 2.27 en VIM [8]), para tener en cuenta cualquier ambigüedad («cantidad finita de detalle») en el especificación del mensurando. Sin embargo, en la mayoría de los casos, la incertidumbre de la definición puede considerarse insignificante.

5 Relación entre mensurando y datos de validación

Si los resultados de un estudio de validación se van a utilizar para determinar la incertidumbre en la medición, debe asegurarse que el estudio se refiera al mismo mensurando.

Ejemplo 1: La incertidumbre en la medición se está evaluando en un laboratorio determinado para un mensurando especificado en términos de concentración del analito en las muestras de prueba. El método analítico utilizado ha sido validado para el mismo analito, pero sobre la base de extractos en lugar de muestras de prueba. En otras palabras, el mensurando para el estudio de validación es la concentración del analito en extractos. De ello se deduce que el mensurando para el que debe evaluarse la incertidumbre en la medición, es diferente del mensurando del estudio de validación. En consecuencia, la incertidumbre en la medición no puede evaluarse sobre la base de la caracterización de la dispersión de los resultados de la medición del estudio de validación.

Ejemplo 2: La incertidumbre en la medición se evalúa en un laboratorio determinado para un mensurando especificado en términos de un rango de matrices. El método analítico utilizado ha sido validado para el mismo analito, pero solo para una de las matrices. De ello se deduce que el mensurando para el que debe evaluarse la incertidumbre en la medición, es diferente del mensurando del estudio de validación. En consecuencia, la incertidumbre en la medición no puede evaluarse sobre la base de la caracterización de la dispersión de los resultados de la medición del estudio de validación (falta el término de sesgo de la matriz).

Las condiciones bajo las cuales se pueden utilizar los datos de validación para respaldar una estimación de la incertidumbre en la medición se pueden establecer de la siguiente manera:

Si...

el resultado de la medición se obtiene mediante un método validado

y el mensurando está incluido en el alcance de la validación

y la precisión en el laboratorio que está evaluando la incertidumbre en la medición es comparable a la precisión del método tal como se caracteriza en el estudio de validación

entonces...



las estimaciones de precisión del estudio de validación se pueden utilizar en el cálculo de la incertidumbre en la medición.

Para verificar y proporcionar evidencia de competencia en la aplicación del método y para asegurar la precisión adecuada en el laboratorio que está evaluando la incertidumbre en la medición, puede ser necesario realizar un estudio de verificación.

Se remite al lector a la Sección 7 de EURACHEM [2] para obtener más orientación sobre el uso de datos de validación en la evaluación de la incertidumbre en la medición.

6 Métodos empíricos versus racionales

En la definición del mensurando, la especificación de la propiedad debe contener información suficiente para permitir seleccionar la referencia apropiada (véase 1.1 en el VIM [8]). En particular, es importante distinguir entre

- Método empírico (métodos de tipo I en el sistema Codex)
- Método racional (métodos de tipo II-IV en el sistema Codex)

En la Sección 5.4 de EURACHEM [2], se proporciona la siguiente explicación: «*En la medición analítica, es particularmente importante distinguir entre las mediciones destinadas a producir resultados que son independientes del método utilizado y aquellas que no están destinadas para ello. Estos últimos a menudo se denominan métodos empíricos o métodos definidos operacionalmente.*»

En la Sección 5.5 del mismo documento se explica que los métodos no empíricos a veces se denominan métodos racionales. Esta distinción está estrechamente relacionada con la distinción entre mensurandos *definidos operacionalmente* y *no definidos operacionalmente* que se encuentra en la Sección 9.2.3 de la Guía ISO 35 [9]. También se remite al lector a la Sección 3.1 de la Guía de EURACHEM a la trazabilidad metrológica en la medición química [21].

En lo que respecta a la evaluación de la incertidumbre en la medición, esta distinción tiene la siguiente implicación importante: para los métodos *empíricos* (mensurandos *definidos operacionalmente*), no existe un término de sesgo de método en el modelo básico para el enfoque de arriba hacia abajo descrito en la Sección 3. (Téngase en cuenta que el enfoque de abajo hacia arriba no permite la distinción de *método* frente a *otros* componentes de sesgo).

7 Fuentes de incertidumbre en los enfoques de arriba hacia abajo y de abajo hacia arriba

En el enfoque de *arriba hacia abajo*, la variación total observada en un conjunto de datos se divide en diferentes componentes. En el enfoque de *abajo hacia arriba*, la incertidumbre total se obtiene a partir de los valores de incertidumbre asociados con las variables de entrada individuales. Surge la siguiente pregunta: ¿cuál es la *relación* entre los componentes del modelo de arriba hacia abajo y las fuentes de incertidumbre incluidas en el modelo de abajo hacia arriba?

Para responder a esta pregunta, ahora se proporciona una descripción general de los diferentes tipos de fuentes de incertidumbre, *independientemente del enfoque*. La intención es distinguir categorías amplias de fuentes de incertidumbre. Además de arrojar más luz sobre la relación entre los enfoques de arriba hacia abajo y de abajo hacia arriba, esta descripción general puede resultar útil para determinar qué fuentes pueden ser relevantes en un caso dado, y si todas las fuentes relevantes se han considerado en la evaluación de la incertidumbre de la medición.

Las fuentes de incertidumbre se clasifican convenientemente en seis encabezados principales:

- Muestreo (La cuestión de la incertidumbre en el muestreo no se aborda en el presente documento. Se remite al lector a CXG 50-2004 [13].)
- Almacenamiento/transporte
- Submuestreo
- Condiciones de medición
- Procedimiento de medición
- Efectos computacionales

Fuente de incertidumbre Papel en la incertidumbre en la medición

<i>Muestreo</i>	<p>Si el mensurando se define en términos de p. ej. concentración del analito en un contenedor o en un lote de productos, se requiere un muestreo y se debe evaluar su contribución a la incertidumbre en la medición, véase la Sección 7.6 en ISO 17025 [10].</p> <p>Si el mensurando se define en términos de un solo material de prueba (muestra de laboratorio), entonces no hay contribución a la incertidumbre debido al muestreo. Sin embargo, puede haber una contribución del submuestreo (es decir, obtener porciones de prueba de la muestra de laboratorio).</p> <p>La <i>variabilidad fundamental</i> es uno de los «subcomponentes» de la incertidumbre del muestreo, véase la explicación en la Sección 9.4.</p>
<i>Almacenamiento/transporte</i>	<p>Si las distintas condiciones de almacenamiento o transporte tienen un efecto sobre los resultados de la medición, entonces se debe tener en cuenta la contribución correspondiente a la incertidumbre total.</p>
<i>Submuestreo</i>	<p>Este término denota tomar porciones de prueba de la muestra de laboratorio. Si esta última no es homogénea (finamente molida en el caso de materia sólida, mezclada o agitada en el caso de líquidos y semisólidos), no se puede garantizar que la incertidumbre del submuestreo sea insignificante. En consecuencia, se requiere una homogeneización adecuada antes del submuestreo para reducir esta fuente de incertidumbre.</p> <p>La <i>variabilidad fundamental</i> es uno de los «subcomponentes» de la incertidumbre del submuestreo, véase la explicación en la Sección 9.4.</p>
<i>Condiciones de medición</i>	<p>Hay que enfatizar que el término medición como se usa aquí incluye cualquier preparación y limpieza de la muestra.</p> <p>Si diferentes condiciones de medición (por ejemplo, diferentes épocas del año, diferentes técnicos, diferentes reactivos, diferentes equipos) contribuyen a la incertidumbre en la medición, esta fuente debe tenerse en cuenta.</p>
<i>Procedimiento de medición</i>	<p>Este término denota el componente de incertidumbre intrínseco o irreductible asociado con los mecanismos físicos, químicos y bioquímicos que participan en el procedimiento de medición (incluidos los procedimientos de preparación y limpieza de la muestra), p. ej. eficiencia de la extracción. Se puede considerar que las variables de entrada en el enfoque de abajo hacia arriba pertenecen a este título.</p>
<i>Efectos computacionales</i>	<p>El modelo de calibración y los métodos de cálculo inexactos, los procedimientos de integración de picos y el redondeo también contribuirán a la incertidumbre en la medición.</p>

Nota sobre el submuestreo:

En el enfoque de arriba hacia abajo, cualquier estimación de la incertidumbre en la medición debe tener en cuenta al menos los dos componentes siguientes: sesgo de laboratorio y repetibilidad. Para métodos no destructivos, cualquier variación de submuestreo contribuye al componente de repetibilidad. Para reflejar la variación de submuestreo encontrada en las muestras de rutina, se deben usar muestras «reales» en el estudio de validación. Si esto no es factible (p. ej., porque las muestras difieren demasiado de un laboratorio a otro) y se utiliza material de prueba homogéneo, entonces el componente de repetibilidad del submuestreo debe estimarse en un experimento separado.

El componente de submuestreo no debe confundirse con el componente de sesgo de matriz (desajuste de matriz), que puede variar considerablemente de un laboratorio a otro, inflando así el componente entre laboratorios.

8 Requisitos relacionados con el tamaño de los datos

Si se calcula una desviación típica sobre la base de una serie de resultados de medición, ¿qué tan bien caracteriza la dispersión real de los valores? De hecho, si se realizan varias series de mediciones y se calcula un valor de desviación típica por separado para cada una, estos valores de desviación típica serán diferentes. En otras palabras, una desviación típica concreta, obtenida sobre la base de datos empíricos, solo representa una *estimación* de la desviación típica «verdadera».⁷

El intervalo de confianza para una desviación típica se puede obtener mediante la siguiente fórmula de Excel: SQRT((N-1)/CHISQ.INV(p,N-1)), donde p es el valor de probabilidad (p. ej., 0,025 o 0,975) y N es el número de laboratorios o el número de pruebas dentro del único laboratorio. Esta fórmula de Excel corresponde a las siguientes fórmulas matemáticas para los límites inferior y superior (LCL y UCL) de un intervalo de confianza del 95 % dada una desviación típica estimada s: $LCL = \sqrt{\frac{N-1}{\chi^2_{(N-1,0.975)}}} \cdot s$ y $UCL = \sqrt{\frac{N-1}{\chi^2_{(N-1,0.025)}}} \cdot s$, donde $\chi^2_{(v,p)}$ denota el p-cuantil de una distribución de chi-cuadrado con v grados de libertad.

Se recomienda que las desviaciones típicas se calculen sobre la base de un mínimo de $N = 12$ valores (correspondientes a $v = 11$ grados de libertad para la estimación de la desviación típica), en cuyo caso $\chi^2_{(N-1,0.975)} = \chi^2_{(11,0.975)} = 21.92$ y $\chi^2_{(N-1,0.025)} = \chi^2_{(11,0.025)} = 3.82$, y el intervalo de confianza para la desviación típica es $[0.71 \cdot s, 1.70 \cdot s]$.

En cuanto a la estimación simultánea de p. ej. la desviación típica entre laboratorios (o entre matrices) y la desviación típica de la repetibilidad, esta recomendación significa que los resultados de medición de al menos 12 laboratorios (o matrices) deben estar disponibles, cada uno con al menos dos réplicas por laboratorio (o matriz).

Se requiere que los datos de al menos ocho laboratorios estén disponibles (véase la Sección 6.3.4 en ISO 5725-1 [18] donde se propone de ocho a 15 laboratorios como un número «común»).

En el caso de que se tomen en consideración *simultáneamente* diferentes fuentes de incertidumbre, por ejemplo, en el enfoque de abajo hacia arriba, el requisito relativo al tamaño de los datos se puede aplicar mediante la fórmula de Satterthwaite. Más específicamente, supongamos que se incluyen dos fuentes de incertidumbre diferentes en el cálculo de la incertidumbre combinada, u_1 y u_2 . Digamos que cada uno se obtuvo aplicando la fórmula para la desviación típica de la muestra a partir de los resultados de la medición n_1 y n_2 , respectivamente. El número de grados de libertad para la incertidumbre combinada se puede calcular como

$$\text{Grados de libertad para la incertidumbre combinada} = \frac{(u_1^2/n_1 + u_2^2/n_2)^2}{\frac{(u_1^2/n_1)^2}{n_1 - 1} + \frac{(u_2^2/n_2)^2}{n_2 - 1}}$$

La recomendación es asegurar un mínimo de 11 grados de libertad para la incertidumbre combinada.

En el caso de que se utilice información previa para un valor individual u_i (variable de Tipo B) y no se disponga de información sobre el tamaño de los datos, se sugiere utilizar $n_i = 7$; la incertidumbre aproximada que corresponde a este tamaño de datos pretende reflejar el hecho de que, en el caso de las variables de Tipo B, los supuestos de distribución a menudo se basan en «suposiciones fundamentadas».

Ejemplo de aplicación de la fórmula de Satterthwaite

Supongamos que la incertidumbre de la medición debe evaluarse sobre la base de la siguiente relación funcional, donde el resultado de la medición Y se expresa en función de cuatro variables de entrada:

$$Y = f(X_1, X_2, X_3, X_4) = X_1 + X_2 + X_3 + X_4$$

Cuadro 1: Tamaño de los datos y valores de incertidumbre para las variables de entrada

Variable de entrada	Tipo	n	u^2
X_1	A	3	4
X_2	B	30	15

⁷ En el Cuadro 3 del documento CXG 59 [11] se proporcionan rangos esperados para estimaciones de desviación típica calculadas a partir de datos empíricos para diferentes valores de N (número de observaciones). Téngase en cuenta que los rangos esperados no deben confundirse con los intervalos de confianza.

X_3	B	30	15
X_4	B	No disponible Tomar $n_4 = 7$	5

Ahora se puede aplicar la fórmula de Satterthwaite.

$$\begin{aligned} & \text{Grados de libertad para la incertidumbre combinada} \\ &= \frac{(u_1^2/n_1 + u_2^2/n_2 + u_3^2/n_3 + u_4^2/n_4)^2}{\frac{(u_1^2/n_1)^2}{n_1 - 1} + \frac{(u_2^2/n_2)^2}{n_2 - 1} + \frac{(u_3^2/n_3)^2}{n_3 - 1} + \frac{(u_4^2/n_4)^2}{n_4 - 1}} \\ &= 9.4 \end{aligned}$$

9 Procedimientos simples para evaluar componentes de incertidumbre

Si los datos de validación están incompletos (es decir, algunas de las fuentes relevantes de incertidumbre no se han caracterizado), se deben realizar más experimentos antes de que se pueda aplicar el enfoque de arriba hacia abajo.

Por ejemplo, en un estudio colaborativo, cada laboratorio participante idealmente debería recibir muestras que representen diferentes matrices y diferentes concentraciones de analitos. Sin embargo, debido a las restricciones en la disponibilidad de material, los estudios colaborativos a menudo se realizan sobre la base de una sola muestra por participante. En tal caso, casi no se pueden sacar conclusiones sobre el impacto de los efectos de la matriz. En consecuencia, la caracterización del término de sesgo específico de la matriz del modelo básico a menudo debe realizarse en un experimento separado.

A continuación, se describen procedimientos simples para caracterizar diferentes componentes de variación, como el sesgo específico de la matriz.

En [12] se proporcionan procedimientos más sofisticados para estimar simultáneamente varios componentes de variación. También se remite al lector a la norma ISO TS 23471 [20], en la que se describen diseños de estudio para la evaluación de datos obtenidos de varios niveles de concentración en un laboratorio; y a la ISO 5725-3 [19], en la que se describen, principalmente, diseños de estudio alternativos para la evaluación de datos de un nivel de concentración en varios laboratorios.

9.1 PROCEDIMIENTO PARA CARACTERIZAR LA VARIACIÓN INTERNA

Si el método analítico es un método interno, se lleva a cabo un estudio de validación interno (laboratorio único). Si los datos de validación están incompletos o no están disponibles, los componentes internos de la variación se pueden caracterizar sobre la base de un experimento adicional (o datos de CC, siempre que dichos datos estén disponibles y tengan una estructura adecuada).

La variación interna total se denomina precisión intermedia y debe reflejar todas las fuentes de incertidumbre relevantes, excepto el sesgo de la matriz⁸, en particular, la variación que surge de diferentes condiciones de medición (es decir, operador, lote de reactivos, etc.) dentro del laboratorio, junto con la repetibilidad.

La estructura de los datos experimentales o de CC debe permitir la distinción entre condiciones de repetibilidad internas y condiciones intermedias (día diferente, técnico diferente, lote de reactivo diferente, etc.). Entonces, la incertidumbre se puede calcular de la siguiente manera:

$$u = \sqrt{s_I^2 - s_{r, inhouse}^2 + \frac{s_{r, inhouse}^2}{k}}$$

donde s_I denota la desviación típica intermedia, $s_{r, inhouse}$ denota la estimación de repetibilidad y k denota el número de réplicas cuyo valor medio se toma como resultado final de la medición.

Como se explica en la Sección 8, se recomienda que, como mínimo, se representen en el conjunto de datos $N = 12$ diferentes condiciones de medición internas (por ejemplo, diferentes días).

En el siguiente ejemplo, tomamos el caso de que los datos de CC estén disponibles para 20 días diferentes. (Si no se dispone de datos de control de calidad adecuados y se requiere un experimento adicional, $N = 12$ días son suficientes).

⁸ Por definición, la precisión intermedia no incluye el sesgo de la matriz, véase 2.22 en VIM [8]. Si se incluye el sesgo de la matriz, se utiliza el término reproducibilidad interna.

Cuadro 2: Datos de CC internos para calcular los valores de desviación típica intermedios (internos) y de repetibilidad

	Resultado 1	Resultado 2
Día 1	10,72	12,29
Día 2	4,56	0,90
Día 3	8,79	9,75
Día 4	10,08	6,51
Día 5	12,29	11,32
Día 6	7,95	6,79
Día 7	13,06	14,54
Día 8	11,23	12,09
Día 9	7,31	9,51
Día 10	5,85	5,08
Día 11	7,48	9,12
Día 12	12,59	10,65
Día 13	7,55	6,59
Día 14	12,05	11,15
Día 15	4,86	6,48
Día 16	6,99	7,10
Día 17	7,40	6,75
Día 18	8,85	11,15
Día 19	11,93	10,17
Día 20	8,50	8,29

Los valores de la desviación típica entre días y de repetibilidad se calculan de la siguiente manera.

Primero introducimos la siguiente notación: los días se indexan $i = 1, \dots, m$ (en este ejemplo, $m = 20$); las réplicas dentro de cada día se indexan $j = 1, n$ (en este ejemplo, $n = 2$); y los resultados de las mediciones individuales se denotan x_{ij} .

Primero, calcular el valor medio general \bar{x} y los valores medios específicos del día \bar{x}_i . Luego calcular la suma de cuadrados entre días:

$$SSB = n \cdot \sum_{i=1}^m (\bar{x}_i - \bar{x})^2$$

y la suma de cuadrados de un día:

$$SSW = \sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^n (x_{ij} - \bar{x}_i)^2$$

Así, la desviación típica de repetibilidad interna $s_{r, inhouse}$ se obtiene como

$$s_{r, inhouse} = \sqrt{\frac{SSW}{m \cdot (n - 1)}}$$

y la desviación típica entre días s_D se obtiene como

$$s_D = \sqrt{\frac{1}{n} \left(\frac{SSB}{m-1} - s_{r, inhouse}^2 \right)}.$$

(Si el valor debajo del signo de la raíz cuadrada es negativo, entonces $s_D = 0$).

Finalmente, la desviación típica intermedia (interna) se calcula como:

$$s_I = \sqrt{s_D^2 + s_{r, inhouse}^2}.$$

Para los datos del

Cuadro 2, los resultados del cálculo son los siguientes:

Cuadro 3: Cálculo de SSB y SSW sobre la base de datos de CC internos

Valor medio general \bar{x}	Valores medios específicos del día \bar{x}_i	Diferencias $\bar{x}_i - \bar{x}$	SSB	Diferencias $x_{ij} - \bar{x}_i$	Diferencias $x_{ij} - \bar{x}_i$	SSW
8,91	11,51	2,60	283,05	-0,79	0,79	29,95
	2,73	-6,18		1,83	-1,83	
	9,27	0,36		-0,48	0,48	
	8,29	-0,61		1,79	-1,79	
	11,80	2,90		0,49	-0,49	
	7,37	-1,54		0,58	-0,58	
	13,80	4,90		-0,74	0,74	
	11,66	2,75		-0,43	0,43	
	8,41	-0,50		-1,10	1,10	
	5,46	-3,44		0,39	-0,39	
	8,30	-0,61		-0,82	0,82	
	11,62	2,72		0,97	-0,97	
	7,07	-1,83		0,48	-0,48	
	11,60	2,69		0,45	-0,45	
	5,67	-3,24		-0,81	0,81	
	7,05	-1,86		-0,06	0,06	
	7,08	-1,83		0,32	-0,32	
	10,00	1,09		-1,15	1,15	
	11,05	2,14		0,88	-0,88	
	8,40	-0,51		0,10	-0,10	

Se obtienen las siguientes estimaciones de precisión:

Cuadro 4: Estimaciones de precisión obtenidas a partir de datos de CC internos

$S_{r, inhouse}$	S_D	S_I
1,22	2,59	2,86

9.2 PROCEDIMIENTOS PARA CARACTERIZAR LA VARIACIÓN ENTRE MATRICES (DESAJUSTE DE MATRICES)

En esta sección se supone que la heterogeneidad entre las muestras de laboratorio es insignificante y que el mensurando se especifica en términos de varias matrices, de las cuales se seleccionan N matrices⁹. La selección debe basarse en el uso y el alcance previsto del método. Como se explica en la Sección 8, se recomienda que, como mínimo, se incluyan $N = 12$ matrices.

Un enfoque simple para caracterizar la variación entre matrices consiste en aumentar las N matrices y obtener resultados de medición duplicados en un solo laboratorio para cada matriz. De esta manera, la variación entre las matrices (sesgo específico de la matriz) se puede distinguir de la variación dentro de cada matriz (error de repetibilidad). En este procedimiento, la matriz se modela como un efecto aleatorio y el resultado es una desviación típica que caracteriza la variación entre todas las matrices incluidas en la especificación del mensurando.

Ejemplo

Cuadro 5: Datos de un experimento para el cálculo del sesgo de la matriz

	MV1	MV2
Matriz 1	114,51	112,24
Matriz 2	120,25	111,59
Matriz 3	88,46	86,62
Matriz 4	118,93	102,35
Matriz 5	74,06	80,91

⁹ Por ejemplo, varios tipos de manzanas diferentes o varias razas de ganado diferentes.

Matriz 6	117,50	102,69
Matriz 7	120,96	109,35
Matriz 8	96,05	92,92
Matriz 9	98,43	87,09
Matriz 10	107,99	117,42
Matriz 11	117,34	126,87
Matriz 12	76,56	109,79

Aplicando el mismo procedimiento de cálculo que en la Sección 9.1, se obtienen las siguientes estimaciones de precisión:

Cuadro 6: Estimaciones de precisión para calcular el sesgo de la matriz

S_r	S_{matriz}
9,53	12,24

Véase Uhlig (2023) [24] para más información sobre el sesgo de la matriz.

9.3 PROCEDIMIENTOS PARA CARACTERIZAR LA VARIACIÓN ENTRE LABORATORIOS

Procedimiento 1: Realizar un estudio de validación entre laboratorios con un mínimo de $N = 12$ laboratorios y con resultados de medición duplicados dentro de cada laboratorio. Es necesario asegurar que la heterogeneidad entre las muestras de laboratorio sea insignificante. De esta manera, la variación entre los laboratorios (sesgo de laboratorio) se puede distinguir de la variación dentro de los laboratorios (error de repetibilidad). En este procedimiento, el laboratorio se modela como un efecto aleatorio y el resultado es una desviación típica que caracteriza la variación entre laboratorios.

Ejemplo

Cuadro 7: Datos de un experimento para el cálculo del sesgo del laboratorio

	MV1	MV2
Laboratorio 1	0,981	1,238
Laboratorio 2	0,182	0,601
Laboratorio 3	1,107	0,994
Laboratorio 4	1,471	1,532
Laboratorio 5	1,169	0,674
Laboratorio 6	0,491	1,271
Laboratorio 7	1,717	0,970
Laboratorio 8	0,931	1,171
Laboratorio 9	1,017	1,248
Laboratorio 10	0,909	0,723
Laboratorio 11	0,812	1,312
Laboratorio 12	1,375	1,719

Aplicando el mismo procedimiento de cálculo que en la Sección 9.1, se obtienen las siguientes estimaciones de precisión:

Cuadro 8: Estimaciones de precisión para calcular el sesgo del laboratorio

S_r	$S_{laboratorio}$
0,30	0,23

Procedimiento 2: Si los datos de TP están disponibles y un número suficiente de participantes (idealmente, al menos 12) han usado el mismo método, entonces estos datos pueden usarse para caracterizar la variación entre laboratorios. Para garantizar una evaluación neutral de los datos y evitar conflictos de intereses, los datos deben provenir de esquemas de TP administrados por las autoridades competentes.

9.4 PROCEDIMIENTOS PARA CARACTERIZAR LA VARIABILIDAD FUNDAMENTAL

La variabilidad fundamental es un subcomponente del término de error de repetibilidad del modelo básico que figura en la Sección 3 y denota la variación irreductible entre muestras que permanece incluso bajo el grado de homogeneidad más alto que se puede alcanzar. La variabilidad fundamental refleja la heterogeneidad a nivel de las partículas constituyentes de la muestra; influye en la incertidumbre de los resultados de la medición cuando el analito objetivo se encuentra en partículas portadoras escasamente distribuidas. La variabilidad fundamental aparece dos veces: primero, durante el muestreo, y segundo, durante el submuestreo en el laboratorio, es decir, la extracción de una porción de

prueba después de la homogeneización de la muestra de laboratorio. En la práctica, la variabilidad fundamental no insignificante puede reducirse modificando el procedimiento de prueba en dos aspectos: primero, moliendo o triturando o mezclando más fino el material de prueba, y segundo, aumentando el tamaño de la porción de prueba.

Cabe señalar que, si bien en teoría se puede lograr una división correcta de la variabilidad observada entre el muestreo, el submuestreo y otros componentes de incertidumbre, hacerlo es difícil en la práctica *cuando la variabilidad fundamental es significativa*. Consideremos el caso de que la cantidad de partículas portadoras en la muestra de laboratorio recolectada del contenedor o lote de productos varíe aleatoriamente entre 0 y 10. La variabilidad fundamental entre las submuestras (porciones de prueba) dependerá, por tanto, de la muestra de laboratorio de la que se obtuvieron. En tal situación, una caracterización correcta de la variabilidad fundamental sería bastante complicada. Sería mucho más eficiente garantizar que la variación con respecto al número de partículas portadoras entre muestras de laboratorio fuera insignificante; en otras palabras, garantizar que cada muestra de laboratorio sea representativa del contenedor o lote de productos, eliminando así de la ecuación la variabilidad fundamental del muestreo. A menudo, esto se puede lograr aumentando el tamaño de la muestra de laboratorio; pero una observación más general es que una evaluación correcta de la variabilidad fundamental requiere el empleo apropiado del paso de muestreo, es decir, la consideración de los diferentes pasos desde el muestreo hasta el análisis como un solo proceso¹⁰.

Surge así la pregunta: ¿cómo podemos decidir si la variabilidad fundamental es significativa? La variabilidad fundamental no se puede caracterizar por medio de estudios clásicos de homogeneidad como los diseños estándar descritos en la ISO 13528 [22] y la Guía 35 [9]. De hecho, en estos diseños no es posible distinguir la variabilidad fundamental de la heterogeneidad de la muestra *per se*, por lo que la primera puede confundirse con la segunda.

El siguiente procedimiento, propuesto originalmente en Uhlig (2022) [23], permite caracterizar la variabilidad fundamental.

Paso 1

Compruebe si se cumple uno de los siguientes criterios:

Criterio 1: La desviación típica de la repetibilidad interna es mayor que el triple del valor esperado.

Criterio 2: La desviación típica de la repetibilidad interna es mayor que el valor SD de Horwitz.

Criterio 3: En los datos de control de calidad están presentes valores atípicos «superiores» conspicuos. Por ejemplo, en los datos de CC proporcionados en el Cuadro 2 (Sección 9.1), el valor del Día 7 de 14,54 puede considerarse un valor atípico «superior». La presencia de tales valores atípicos constituye una indicación más de que la variabilidad observada inesperadamente grande puede deberse a una variabilidad fundamental.

Si se cumple al menos uno de estos criterios, continúe con el Paso 2.

Paso 2

Realice el siguiente experimento:

1. Obtenga 20 resultados de prueba en condiciones de repetibilidad. Calcule la varianza correspondiente s_1^2 .
2. Aumente el tamaño de la porción de prueba con un factor k (por ejemplo, tamaño triple de la porción de prueba $k = 3$). Si no es posible o práctico aumentar el tamaño de la porción de prueba, otra opción es moler y homogeneizar un volumen que corresponda a un aumento de k veces del tamaño de la porción de prueba antes de tomar una porción de prueba con el tamaño original.
3. Obtenga 20 resultados de prueba en condiciones de repetibilidad sobre la base del material de prueba finamente molido o el tamaño de la porción de prueba aumentado. Calcule la varianza correspondiente s_2^2 .
4. Si la relación $\frac{s_1^2}{s_2^2}$ es mayor que 2,17, entonces calcule la DT que caracteriza la variabilidad fundamental de la siguiente manera:

$$s_F = \sqrt{\frac{k}{(k-1)} \cdot (s_1^2 - s_2^2)}$$

Ejemplo

¹⁰ Consideremos el siguiente ejemplo: un contenedor de 5 t contiene una sola partícula portadora, lo que se traduce en una concentración de analito de 1 µg/kg. Se extrae del contenedor una muestra de laboratorio de 5 kg. Por lo tanto, con una probabilidad del 99,9%, la muestra de laboratorio no contendrá partículas portadoras y no habrá variabilidad fundamental. Sin embargo, con una probabilidad del 0,1% la muestra de laboratorio contendrá la única partícula portadora. En tal caso, si se toma una porción de prueba de 500 g de la muestra de laboratorio, la concentración del analito en la porción de prueba será de 0 mg/kg (nueve de cada diez veces) o 10 mg/kg (una vez de cada diez). Esto corresponde a una desviación típica (de Poisson) de 1 mg/kg, lo que claramente constituye una estimación desproporcionada en relación con la situación en el contenedor. Este ejemplo muestra cómo el restringir el cálculo de la variabilidad fundamental al paso de submuestreo puede conducir a una estimación errónea importante.

Cuadro 9: Resultados de prueba de un experimento para el cálculo de la variabilidad fundamental

	Experimento 1: Tamaño original de la porción de prueba	Experimento 2: El tamaño de la porción de prueba se triplica
Muestra 1	14,0	15,1
Muestra 2	11,9	13,8
Muestra 3	10,5	11,8
Muestra 4	14,9	14,0
Muestra 5	13,1	11,4
Muestra 6	9,5	15,7
Muestra 7	15,6	12,4
Muestra 8	18,3	11,5
Muestra 9	12,5	12,1
Muestra 10	16,4	13,7
Muestra 11	18,0	15,8
Muestra 12	14,0	12,5
Muestra 13	13,0	12,8
Muestra 14	20,8	15,1
Muestra 15	10,2	11,8
Muestra 16	21,5	10,6
Muestra 17	13,9	11,1
Muestra 18	17,8	12,9
Muestra 19	7,7	11,4
Muestra 20	12,2	16,3

Hay que tener en cuenta que en el Experimento 1 se obtienen varios valores notablemente grandes, una indicación de que la variabilidad fundamental no es insignificante.

Se obtienen las siguientes varianzas y la relación correspondiente:

Cuadro 10: Varianzas y su relación

s_1^2	s_2^2	s_1^2/s_2^2
13,54	3,05	4,44

Como puede verse, la relación s_1^2/s_2^2 es mayor que el valor 2,17. En consecuencia, la variabilidad fundamental se calcula como

$$s_F = \sqrt{\frac{3}{2} \cdot (s_1^2 - s_2^2)} = 3,97$$

10 Influencia de la incertidumbre en la medición en los planes de muestreo: ejemplos

En las *Directrices generales sobre muestreo* [13] se afirma que «los métodos de muestreo del Codex están diseñados para asegurar que se utilicen procedimientos de muestreo justos y válidos cuando se analizan alimentos para verificar su conformidad con una norma del Codex para productos en particular». El tamaño de la muestra y el número de aceptación o constante de aceptabilidad para la inspección por atributos o variables se determinan sobre la base de los procedimientos y planes de muestreo descritos en las normas ISO y/o las directrices del CODEX. Si bien la incertidumbre de la medición puede considerarse irrelevante para la inspección por atributos, se debe tener en cuenta su impacto en la inspección por variables.

En la introducción a ISO 3951-1:2013 se afirma que «[se] asume en el texto de esta parte de la ISO 3951 que el error de medición es insignificante [...]». No obstante, en el Anexo B de ISO 3951-1 [14] y el Anexo P de ISO 3951-2 [15] se proporcionan procedimientos para aumentar el tamaño de la muestra para el caso de que la incertidumbre en la medición no sea insignificante. Es importante tener en cuenta que estos procedimientos solo son aplicables si «el método de medición es insesgado, es decir, el valor esperado del error en la medición es cero» (véase el Anexo P.1 en ISO 3951-2:2013 [15]). En tal caso, la variabilidad total se expresa como

$$\sigma_{total} = \sqrt{\sigma^2 + \sigma_m^2}$$

donde σ denota la desviación típica del proceso y σ_m denota la desviación típica de la medición.

Si σ_m no es insignificante (es decir, mayor que una décima parte de la desviación típica del muestreo s o la desviación típica del proceso σ), el tamaño de la muestra n debe aumentarse a $n^* = n \cdot (1 + \gamma^2)$ donde $\gamma = \sigma_m/\sigma$ (se conoce la desviación típica del proceso σ) o $n^* = n \cdot (1 + \tilde{\gamma}^2)$ donde $\tilde{\gamma}$ es un límite superior estimado de $\gamma = \sigma_m/\sigma$ (se desconoce la desviación típica del proceso σ). La constante de aceptabilidad k se mantiene sin cambios. Para obtener más detalles, consulte el Anexo P en ISO 3951-2:2013 [15].

Ejemplo

Se evalúa el contenido de sodio de un lote de 500 elementos de agua mineral preenvasada. Si no se tiene en cuenta la incertidumbre de la medición, para un NCA acordado del 2,5% (concentración máxima de 200 mg/l), nivel de inspección general II (nivel predeterminado), se debe tomar una muestra de 30 elementos para su evaluación (ISO 3951-2 [15], Anexo A, Tabla A1 y anexo B, Tabla B1). La producción está bien controlada y los gráficos de control dan una desviación típica σ del proceso de 2 mg/l. La desviación típica de la incertidumbre en la medición σ_m es de 1 mg/l y, por lo tanto, no es insignificante. Con $\gamma = \sigma_m/\sigma = 0,5$ y $1 + \gamma^2 = 1,25$ el tamaño de la muestra debe aumentarse a 38.

Si hay un sesgo, se debe modificar el procedimiento anterior. Una posibilidad sería proceder de la siguiente manera¹¹. La desviación típica de \bar{x} , la media entre los n resultados de la medición, se expresa como

$$\sigma_{\bar{x}} = \sqrt{\frac{\sigma^2 + \sigma_0^2}{n} + \sigma_b^2}$$

donde σ denota la desviación típica del proceso, σ_0 denota el componente de repetibilidad de la incertidumbre en la medición (calculado sobre la base de los n elementos muestreados del lote) y σ_b representa la información disponible (por ejemplo, la desviación típica entre laboratorios de un estudio de validación de método) utilizada para estimar el término de sesgo.

El procedimiento modificado es el siguiente:

1. Aumentar el tamaño de la muestra asumiendo que no hay error de medición.
2. Calcular $d = \frac{1}{n} - \frac{\sigma_b^2}{\sigma^2}$
3. Si $d \leq 0$, la variabilidad inflada debido a un sesgo no se puede compensar mediante el aumento del tamaño de la muestra.
4. Si $d \leq \frac{1}{2n}$, la compensación de sesgo a través del aumento del tamaño de la muestra puede no ser apropiada debido al gran número de muestras necesarias. Así, se sugiere reducir el sesgo o utilizar otro método de medición.
5. Si $d > \frac{1}{2n}$, calcule el nuevo tamaño de muestra como $n^* = \frac{1 + \frac{\sigma_0^2}{\sigma^2}}{d} = \frac{\sigma^2 + \sigma_0^2}{\frac{\sigma^2}{n} - \sigma_b^2}$

Ejemplo (continúa del ejemplo anterior)

Ahora se supone que existe un sesgo de método y que se dispone de una estimación σ_b de 0,2 mg/l. En consecuencia, sobre la base del valor previamente calculado de $n = 38$, d se calcula como $d = 0,016$. Dado que $d > \frac{1}{2n} = 0,013$, el nuevo tamaño de la muestra se calcula como $n^* = 77$ (con $\sigma_0 = \sigma_m = 1$ mg/l).

Los procedimientos para el muestreo a granel se proporcionan en ISO 10725: 2000 [17]. Como en el caso del muestreo de paquetes, estos procedimientos solo son válidos bajo el supuesto de que no hay sesgo de método. Actualmente se están desarrollando procedimientos modificados para el caso de que exista un sesgo de método. Por ahora, la explicación se limita al caso de que no haya sesgo.

Una incertidumbre de medición *dominante* tiene un efecto en el número de muestras de prueba por muestra compuesta n_T , así como en el número de mediciones por muestra de prueba n_M . La incertidumbre en la medición es dominante cuando tanto la desviación típica del incremento de muestreo σ_I como la desviación típica entre las muestras de prueba σ_P son mucho menores (una décima o menos) que la desviación típica de la medición σ_M (es decir, la incertidumbre en la medición), que debe ser conocida y estable, ver Anexo B en ISO 10725 [17]. El número de incrementos de muestra por muestra compuesta n_I permanece sin cambios, sin importar si la incertidumbre de la medición es dominante o no. La masa de los incrementos debe ser suficientemente grande para compensar la variabilidad fundamental.

Ejemplo

Se evaluará el contenido de cadmio de un gran lote de trigo a granel (concentración máxima, por ejemplo, 0,1 mg/kg). En este ejemplo se supone que las concentraciones de cadmio en el lote son homogéneas, lo que da como resultado desviaciones típicas σ_I y σ_P muy bajas, estimadas en 0,0015 mg/kg y 0,002 mg/kg, respectivamente. Dado que las concentraciones son muy bajas, se obtiene una incertidumbre en la medición $\sigma_M =$ relativamente alta de 0,025 mg/kg.

¹¹ Este procedimiento modificado se toma de la etapa actual de desarrollo del Anexo B de ISO/WD ISO 3951-6 [16].

El intervalo de discriminación D (diferencia entre los niveles acordados de aceptación y rechazo basados en el riesgo) es 0,02 mg/kg. Por tanto, la desviación típica de la medición $\sigma_M =$ de 0,025 mg/kg es dominante (d_I se calcula como 0,075). El número de incrementos por muestra compuesta es $n_I = 6$, el número de muestras de prueba por muestra compuesta es $n_T = 2$ y el número de mediciones por muestra de prueba es $n_M = 2$ (dando un producto $n_T \cdot n_M = 4$, que puede interpretarse como una medida de la carga de trabajo analítica). La desviación típica global combinada σ_0 se calcula como $\sqrt{\frac{n_T \cdot n_M}{n_I} \sigma_I^2 + n_M \sigma_P^2 + \sigma_M^2} \approx 0,03$ mg/kg y se divide por el intervalo de discriminación D para obtener la desviación típica relativa $d_0 = \sigma_0/D \approx 1,26$. Mediante la Tabla B1 del anexo B de la norma ISO 10725 [17], esta desviación típica relativa d_0 se utiliza para determinar el número ajustado de muestras de prueba por muestra compuesta $n_T = 2$ (es decir, n_T sigue siendo el mismo), así como el número ajustado de mediciones por muestra de prueba $n_M = 3$ cuyo producto es $n_T \cdot n_M = 6$.

Referencias

- [1] Evaluation of measurement data — Guide to the expression of uncertainty in measurement, JCGM 100:2008.
- [2] S L R Ellison and A Williams (eds.) EURACHEM/CITAC Guide CG4: Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement, Third Edition, QUAM:2012.P1.
- [3] Evaluation of measurement data — Supplement 1 to the “Guide to the expression of uncertainty in measurement” — Propagation of distributions using a Monte Carlo method, JCGM 101:2008.
- [4] ISO 21748:2017, Guidance for the use of repeatability, reproducibility and trueness estimates in measurement uncertainty estimation.
- [5] ISO 5725-2:1994, Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results — Part 2: Basic method for the determination of repeatability and reproducibility of a standard measurement method.
- [6] B Jülicher, Petra Gowik and Steffen Uhlig (1998) Assessment of detection methods in trace analysis by means of a statistically based in-house validation concept, *The Analyst*.
- [7] B Jülicher, Petra Gowik and Steffen Uhlig (1998) A top-down in-house validation based approach for the investigation of the measurement uncertainty using fractional factorial experiments, *The Analyst*.
- [8] International vocabulary of metrology — Basic and general concepts and associated terms (VIM), JCGM 200:2012.
- [9] ISO Guide 35, Fourth edition (2017), Reference materials — Guidance for characterization and assessment of homogeneity and stability.
- [10] ISO/IEC 17025:2017, General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.
- [11] CXG 59-2006, Guidelines on estimation of uncertainty of results.
- [12] S Uhlig and P Gowik (2018) Efficient estimation of interlaboratory and in-house reproducibility standard deviation in factorial validation studies, *Journal of Consumer Protection and Food Safety*.
- [13] CXG 50-2004, General guidelines on sampling.
- [14] ISO 3951-1:2016, Sampling procedures for inspection by variables — Part 1: Specification of single sampling plans indexed by acceptance quality limit (AQL) for lot-by-lot inspection for a single quality characteristic and a single AQL.
- [15] ISO 3951-2:2013, Sampling procedures for inspection by variables — Part 2: General specification for single sampling plans indexed by acceptance quality limit (AQL) for lot-by-lot inspection of independent quality characteristics.
- [16] ISO/WD 3951-6:2019, Sampling procedures for inspection by variables — Part 6: Specification for single sampling plans indexed by limiting quality (LQ).
- [17] ISO 10725:2000, Acceptance sampling plans and procedures for the inspection of bulk materials.
- [18] ISO 5725-1:1994, Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results — Part 1: General principles and definitions.
- [19] ISO 5725-3:1994, Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results — Part 3: Intermediate measures of the precision of a standard measurement method. (A new revision is currently being prepared for publication.)
- [20] ISO TS 23471, Experimental designs for the evaluation of uncertainty – Use of factorial designs for determining uncertainty functions.
- [21] S L R Ellison and A Williams (eds.) EURACHEM/CITAC Guide: Metrological Traceability in Chemical Measurement (Second Edition 2019).
- [22] ISO 13528:2015, Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparison.
- [23] S Uhlig, B Colson and P Gowik (2022) A procedure for estimating fundamental variability, available as a preprint, doi: 10.20944/preprints202211.0460.v1
- [24] S Uhlig, B Colson and P Gowik (2023) Matrix mismatch and its estimation in method validation studies, submitted for publication.

[25] S Uhlig, B Colson and P Gowik (2022) Measurement Uncertainty Interval In Case of a Known Relationship between Precision and Mean, available as a preprint, doi: 10.20944/preprints202208.0179.v1