

Control de Calidad analítico en la determinación de metales

Cálculo de la Incertidumbre



- * Lic. Juan Vuolo
- * 11,12 y 13 de Mayo de 2016
- * RELAS
- * Ciudad de Córdoba

Validación analítica

Requisito técnico para la competencia de un laboratorio (Norma ISO 17025 Competencia Técnica)

- * **ERRORES**
- * **EXACTITUD**
- * **CERTEZA o VERACIDAD**
- * **REPETIBILIDAD y REPRODUCIBILIDAD**
- * **SELECTIVIDAD y ANALISIS DE INTERFERENCIAS**
- * **LINEALIDAD**
- * **LIMITES DE DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN**
- * **ROBUSTEZ**
- * **RECUPERACIONES SOBRE MATRICES**
- * **INCERTIDUMBRE**
- * **EJERCICIOS COMPARATIVOS INTERLABORATORIOS**

Validan al “RESULTADO”

REFERENCIAS

- * **IRAM 35051**, Procedimientos para la evaluación de la incertidumbre de medición en la calibración, 2004
- * **IRAM 35051**, Procedimientos para la evaluación de la incertidumbre de medición en química analítica, 2009
- * **EURACHEM GUIDE**, Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement, 2012
- * **Nordtest Report TR 537**, 2012. Handbook for calculation of measurement uncertainty in environmental laboratories.
- * **IRAM 34552-1**, Estadística. Vocabulario y símbolos
- * **IRAM 34553-1**, Estadística. Exactitud, certeza, repetibilidad y reproducibilidad de los métodos de medición y de sus resultados

METODOS DE ENSAYO

- * **Métodos Normalizados:** se deberán **confirmar** antes de ser utilizados. Frente a modificaciones se deberán reconfirmar
- * **Métodos No Normalizados – Desarrollos propios:** validación y verificación exhaustiva
 - ✓ Trazabilidad
 - ✓ Materiales de Referencia certificados con su incertidumbre
 - ✓ Equipamiento / Instrumental
 - ✓ **Procedimientos** de Ensayo
 - ✓ Procedimientos para la validación y la estimación de la incertidumbre
 - ✓ Registros

VALIDACIÓN

- En una **validación** metodológica se confirma y se demuestra, dando evidencias objetivas, que se cumplen los requisitos analíticos para el propósito previsto. Se declara la aptitud del método para su uso.
- **Verificación:** comprobación que el laboratorio aplica un método correctamente (Traceability in Chemical Measurement EURACHEM/CITAC Guide, 2002)

ERRORES

- ❑ **ERROR EN EL RESULTADO DE UNA MEDICIÓN:** Diferencia con un valor de referencia aceptado

- * **Aleatorio:** componente cuya variación es no predecible en la serie de mediciones
- * **Sistemático:** variación predecible y constante en la serie de medición

- ❑ **ERROR:** suma de las componentes aleatorias y sistemáticas. Se combinan linealmente



EXACTITUD

- * Es la cercanía que hay entre el resultado de un ensayo, y su valor de referencia o valor aceptado como verdadero.

- * Concepto cualitativo

CERTEZA Y SESGO

- * La **Certeza** o Veracidad es la cercanía entre el **promedio** de una serie de mediciones y un valor de referencia. Es también cualitativa
- * El **sesgo** es la cercanía entre la **esperanza matemática** de los resultados y el valor de referencia aceptado. Es el error sistemático total, a diferencia del error aleatorio. Es la expresión cuantitativa de la certeza.
- * Al sesgo se lo evalúa utilizando MRC, fortificando matrices, comparando con métodos de referencia, comparando con ensayos interlaboratorios

REPETIBILIDAD

- Es la **precisión** bajo condiciones de **repetibilidad**, y depende de la distribución de los errores aleatorios. No está relacionada con el valor verdadero.

Se tiene en cuenta:

- ✓ Un mismo laboratorio
- ✓ El mismo instrumental
- ✓ El mismo analista
- ✓ La misma muestra o estándar
- ✓ Se ejecuta en el corto plazo
- ✓ En general 10 mediciones independientes de uno mas estándares, determinando la desviación estándar
- ✓ Repetir 3 o más veces en el corto plazo
- ✓ Aplicar la prueba estadística de Fisher

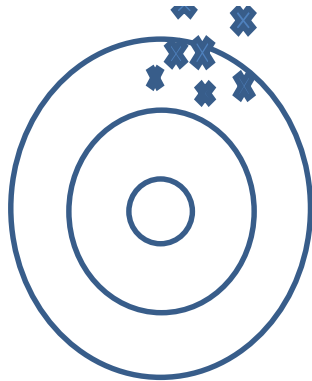


REPRODUCIBILIDAD

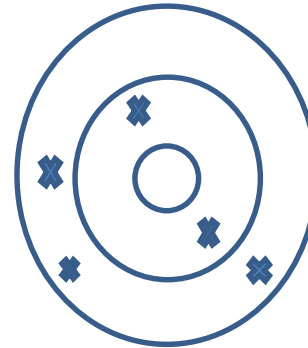
Precisión bajo condiciones de reproducibilidad.

Se tiene en cuenta:

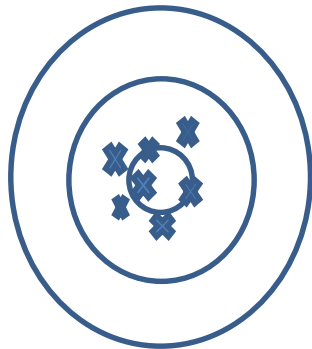
- ✓ Distintos analistas
- ✓ Distintos equipamientos y materiales (si puede ser aplicado)
- ✓ Intervalos de tiempo más largos
- ✓ Se trabajo con el **mismo** método, pero a método completo



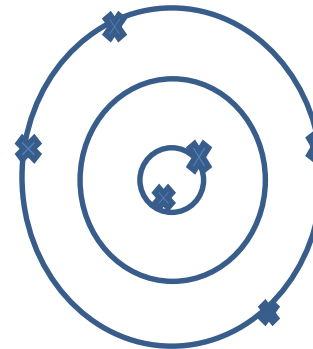
Repetibilidad sin Veracidad



Dispersión sin Veracidad



Repetibilidad y Veracidad



Dispersión con Veracidad

LINEALIDAD

- * Propiedad del método de ensayo para generar una respuesta o señal directamente proporcional a la concentración del analito. Responde a la ecuación de una recta ($y=ax+b$) donde a es la **sensibilidad** de la técnica.
- * Se utiliza el método de los cuadrados mínimos, y el indicador de la bondad de la linealidad no es el coeficiente de correlación r , sino el **análisis de los residuos**, con distribuciones al azar y sin tendencias
- ✓ Se realiza Prueba de hipótesis verificando que la pendiente es estadísticamente diferente de cero. Es decir, que las variaciones son explicadas por el modelo
- ✓ Al menos 3 puntos para la calibración
- ✓ Siempre interpolar
- ✓ Idealmente realizar replicados de cada punto de calibración
- ✓ Homocedasticidad. Igual ponderación para todos los puntos. No siempre se cumple en Qca Analítica. Se puede ponderar

SELECTIVIDAD y ESPECIFICIDAD

- * **Selectividad:** es la capacidad de la técnica para diferenciar entre el analito y otros componentes presentes en la muestra. Resulta muy importante para su evaluación el análisis de blancos y de matrices fortificadas

Es muy dependiente del proceso instrumental de medición y de las características químicas del analito en relación a este proceso (GC, GC/MS, GC/MSⁿ, FLD, ICP/OES, ICP/MS)

- * **Especificidad:** capacidad del método para determinar únicamente el analito de interés

AMBITO DINÁMICO LINEAL

- Es el rango de concentración en el que la respuesta del método es lineal y se cumple con los requisitos de precisión y exactitud.
- * **Interpolación:** curvas de calibración
- * **Extrapolación:** agregados patrón para la eliminación de interferencias **multiplicativas** debidas al efecto de la matriz. El agregado patrón no elimina las interferencias **aditivas**.

LIMITE DE DETECCION (LD)

- Aceptado como la Concentración mínima detectable o el Valor mínimo detectable.
- Sería la menor concentración del analito que genera una respuesta que es estadísticamente atribuible al analito y diferencial del ruido.
- La señal atribuible al LD no necesariamente debe poder ser cuantificada, pero se puede expresar en unidades de concentración
- * Generalmente relación Señal/Ruido = 3
- * Desviación estándar de un blanco: $3S$
- * Desviación estándar de un blanco fortificado de baja concentración (cerca al LD): $3S$
- * 10 mediciones
- * Analíticamente define el rango de aplicabilidad del método. Es útil para la determinación de presencia o ausencia

LIMITE DE CUANTIFICACION (LQ)

- ❑ Menor valor de concentración del analito que se puede “cuantificar”, bajo las condiciones aceptadas de precisión y veracidad del método.
- ❑ Aceptadamente considerado como:
 - ✓ **Señal** $bco + 10 S_{bco}$
 - ✓ 10 S_{bco} fortificado con un nivel cercano al LQ
 - ✓ Concentración tal que la Desviación Estándar Relativa del método resulta cercana al 10%



ROBUSTEZ

- Es la habilidad del método para mantener su respuesta analítica relativamente constante, frente a cambios menores en las condiciones experimentales establecidas
- Se realizan pequeños cambios y se evalúan los resultados.
Test estadístico de Youden sobre modelos experimentales

INCERTIDUMBRE DE LA MEDICIÓN

- * Es una **duda** en el valor resultante de la medición. Es informar entre que valores (debido a la dispersión) está comprendido el resultado de la medición.

Hay dos componentes:

- * Del **Tipo A**: que se evalúa a través de métodos estadísticos para los resultados observados (promedios, desvíos estándar)
- * Del **Tipo B**: evaluados por métodos no estadísticos
En general, obtenidos a partir de certificados de referencia, fabricantes, datos previos, experiencias previas



FUENTES DE INCERTIDUMBRE

1. Muestreos no representativos
2. Condiciones ambientales
3. Resolución del instrumental de medición
4. Materiales de Referencia
5. Constantes y parámetros externos utilizados en cálculos
6. Variabilidad en las observaciones repetidas en condiciones aparentemente idénticas



Por qué se debe informar la incertidumbre?

- * **Requisitos Normativos**
- * **Requisitos del Cliente**
- * **Requisitos Legales**



Discusión: un subproducto del proceso de fabricación de alimento balanceado para gatos tiene un límite de 0,02 mg/kg establecido por la FDA.

El laboratorio de control determina un valor de 0,04 mg/kg. Puede afirmarse que no cumple con el límite establecido?

El laboratorio informa que la incertidumbre de la técnica es de +/- 60%. Por tanto el 60% de 0,04 mg/kg es 0,024 mg/kg

Entonces, de acuerdo a la medición realizada, dice que el resultados estará comprendido entre 0,016 mg/kg y 0,064 mg/kg.

Así, no sería posible afirmar que el producto no cumple con lo especificado. En todo caso, será un resultado dudoso para la aceptación

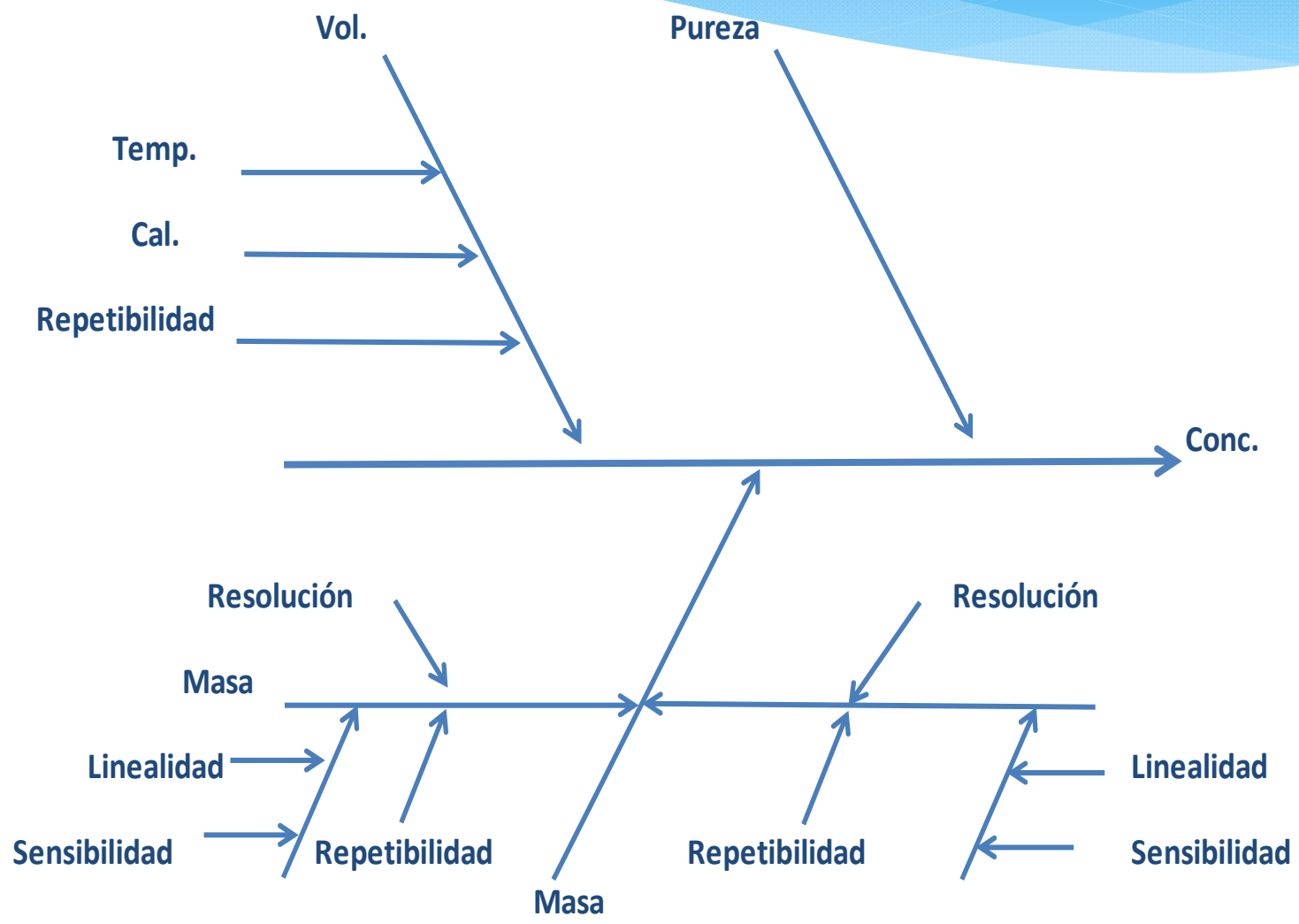


MÉTODO TRADICIONAL

- Se deben identificar todas la etapas del proceso e identificar todas las fuentes de incertidumbres posibles.

Por ejemplo:

- * Volumen (temperatura, calibración, repetibilidad)
- * Pureza de material
- * Resolución del instrumento
- * Calibración (sensibilidad, linealidad)
- * Repetibilidad
- * Pesadas





MÉTODO NORDTEST

- * Determinación de la incertidumbre de una forma simple, integral y práctica basada en datos previos de validación y de controles de calidad

Método para el cálculo

Analizando de atrás hacia adelante resulta:

$$U_{\text{final}} = U_{\text{expandida}} = 2 \times U_{\text{combinada}}$$

La incertidumbre expandida es la incertidumbre combinada que se multiplica por un factor de cobertura k , que en general es igual a 2

Luego:

* Incertidumbre combinada U_c

Es la raíz cuadrada de la suma cuadrática de todas las fuentes de incertidumbre que han sido identificadas. Luego hay que identificar todas estas fuentes.

$$U_{Combinada} = \sqrt{(U_{RW})^2 + (U_{sesgo})^2}$$

Donde

*Incertidumbre de la Reproducibilidad Intermedia (U_{RW})

Es la incertidumbre conocida como “dentro del laboratorio”

Es directamente el desvío estándar sacado de una muestra o proceso de control. Pueden utilizarse cartas de control estables que cubran a **todo** el proceso analítico

Si el laboratorio establece un límite de control del 95% de confianza ($2S$), entonces

$$U_{RW} = 2 \frac{Scarta\ control}{2} = Scarta\ control$$

* Incertidumbre del sesgo (U_{sesgo})

El sesgo del laboratorio siempre debe ser eliminado de ser posible. Pero lo que no puede eliminarse nunca es la incertidumbre de ese sesgo

Deben determinarse las incertidumbres de:

1. El Sesgo propio del laboratorio
2. El S del Sesgo del laboratorio, medido a partir del desvío estándar de n mediciones como $\frac{S_{sesgo}}{\sqrt{n}}$
3. Material de Referencia Certificado U_{MRC}

$$U_{sesgo} = \sqrt{(sesgo)^2 + \left(\frac{S_{sesgo}}{\sqrt{n}}\right)^2 + (U_{MRC})^2}$$

Incertidumbre del sesgo (U_{sesgo})

Para determinar el sesgo del laboratorio se deben hacer n mediciones de un patrón de referencia certificado, distinto al utilizado para las calibraciones (NIST, lote distinto, etc)

Deben determinarse las incertidumbres de:

- * Es desvío estándar de esas réplicas es el S_{sesgo} y aplica al 2do término de la ecuación anterior (expresarlo también como porcentaje)
- * El sesgo propio se obtiene de la diferencia entre el promedio de las mediciones y el valor teórico esperado
- * La incertidumbre del MRC (U_{MRC}) se obtiene desde los propios certificados de los fabricantes

*Ejemplo:

El laboratorio realizó 16 mediciones de un MRC de As cuyo valor teórico es de 15,0 ppb (+/- 0,1 ppb). El promedio fue de 15,4 ppb con un desvío estándar de 0,32 ppb

Se utilizaron los siguientes materiales de referencia:

1. Matraz de 100 ml +/- 0,01 ml
2. Transferpette de 200 microlitros +/- 0,01 microlitros
3. Estándar de 15,0 ppb +/- 0,1 ppb

$$U_{\text{MRC}} = \sqrt{\sum_{i=1} (UI)^2}$$

$$*U_{MRC} = \frac{0,1 \text{ ppb}}{1,96} = 0,051 \text{ ppb} \quad U_{MRC} = \frac{100 \% \times 0,51 \text{ ppb}}{15,0 \text{ ppb}} = 0,34\%$$

$$U_{MRC} = \frac{0,01 \text{ ml}}{\sqrt{3}} = 0,0058 \text{ ml} \quad U_{MRC} = \frac{100 \% \times 0,058 \text{ ml}}{100 \text{ ml}} = 0,006\%$$

$$U_{MRC} = \frac{0,01 \text{ ul}}{\sqrt{3}} = 0,0058 \text{ ul} \quad U_{MRC} = \frac{100 \% \times 0,058 \text{ ul}}{200 \text{ ul}} = 0,003\%$$

Luego:

$$U_{MRC} = \sqrt{(0,34)^2 + (0,006)^2 + (0,03)^2} = 1,07\%$$

* Para la S del sesgo se considera:

Desvío estándar de las 16 réplicas $S = 0,32 \text{ ppb}$

$$S_{\text{sesgo}} = \frac{100 \% \times 0,32 \text{ ppb}}{15,4 \text{ ppb}} = 2,08 \%$$

Luego:

$$U_{\text{MRC}} = \frac{S_{\text{sesgo}}}{\sqrt{n}} = \frac{2,08}{\sqrt{16}} = 0,52 \%$$

Para el sesgo se considera el promedio de las 16 mediciones $\bar{X}=15,4$ ppb

$$(\bar{X} - \text{Valor verd}) = 15,4 \text{ ppb} - 15,0 \text{ ppb} = 0,40 \text{ ppb}$$

$$\text{Sesgo} = \frac{100 \% \times 0,40 \text{ ppb}}{15,0 \text{ ppb}} = 2,67 \%$$

Luego:



*

$$U_{sesgo} = \sqrt{(2,67\%)^2 + (0,52\%)^2 + (1,07\%)^2} = 2,92 \%$$

Luego:

$$U_{Combinada} = \sqrt{(2,77\%)^2 + (2,92\%)^2} = 4,02 \%$$

Luego

$$U_{Expandida} = 2 \times 4,02 \% = 8,04 \%$$

* Para la U_{RW} se considera la carta de control:

Desvío estándar de una carta de control sobre un patrón de 10,0 ppb (Valor regulado para el As en agua según CAA, art 982)

$S = 0,28 \text{ ppb}$; $\bar{X} = 10,1 \text{ ppb}$

$$U_{RW} = \frac{100 \% \times 0,28 \text{ ppb}}{10,1 \text{ ppb}} = 2,77 \%$$

Luego:

Adicionalmente o alternativamente, a la componente del U_{sesgo} se le puede incorporar las intercomparativas de los ejercicios interlaboratorios, incluso como forma de evaluar el sesgo del laboratorio.

Por ejemplo, si el laboratorio en los últimos 7 ejercicios obtuvo los siguientes sesgos porcentuales:

1%; 6%; -2%; 2%; 3%; -1%; -4%

$$\sqrt{\frac{(1)^2 + (6)^2 + (-2)^2 + (2)^2 + (3)^2 + (1)^2 + (-4)^2}{7}} = 3,18 \%$$

Análisis Financiero

| HORNO DE GRAFITO | | | | |
|------------------------------|-----------------------------|--|-------------------------------|---------------------------------|
| Recurso | Precio Unitario u\$s | Utilidad (en muestras) | Costo por muestra u\$s | Costo por parámetro u\$s |
| Celdas de Grafito | 79 | 120 | 0.658 | 0.658 |
| Viales 1.1ml | 0.39 | 1 | 0.390 | 0.390 |
| Capilares para PSD 120 | 25.6 | 2400 | 0.011 | 0.011 |
| Jeringa 100 para PSD120 | 338 | 14400 | 0.023 | 0.023 |
| Lámparas de Metales | 1000 | 14400 | 0.069 | 0.069 |
| Electrodos | 535 | 14400 | 0.037 | 0.037 |
| Mortaja | 220 | 14400 | 0.015 | 0.015 |
| Glass Quartz | 102 | 14400 | 0.007 | 0.007 |
| Calificación operacional | 320 | 28800 | 0.011 | 0.011 |
| Mantenimiento preventivo | 320 | 14400 | 0.022 | 0.022 |
| Modificadores de matriz | 200 | 28800 | 0.007 | 0.007 |
| Gas Argón (consumo 3,5L/min) | 0.0030 | 14 | 0.042 | 0.042 |
| | | | 1.294 | 1.294 |
| | | Parámetros 1 | | |
| | | Inversión Inicial en u\$s 60000 | | |
| | | Parámetros AySA 1 | | |

ICP ÓPTICO

| Recurso | Precio Unitario u\$s | Utilidad (en muestras) | Costo por muestra u\$s | Costo por parámetro u\$s |
|---|----------------------|------------------------|------------------------|--------------------------|
| Nebulizador Conikal | 1340 | 4800 | 0.279 | 0.023 |
| Antorcha | 1100 | 4800 | 0.229 | 0.019 |
| Cámara de vidrio de spray ciclónico | 1280 | 4800 | 0.267 | 0.022 |
| Tubo de vacío | 6490 | 14400 | 0.451 | 0.038 |
| Work Coil | 680 | 14400 | 0.047 | 0.004 |
| Filtro de aire | 420 | 14400 | 0.029 | 0.002 |
| Soporte para antorcha | 820 | 28800 | 0.028 | 0.002 |
| Tubo de transferencia Axial | 320 | 14400 | 0.022 | 0.002 |
| Cono de preoptica | 938 | 28800 | 0.033 | 0.003 |
| Tubos de muestra y drenaje | 144 | 28800 | 0.005 | 0.000 |
| Calificación operacional | 630 | 28800 | 0.022 | 0.002 |
| Mantenimiento preventivo | 630 | 14400 | 0.044 | 0.004 |
| Gas Argón (consumo 24L/min) | 0.0030 | 24 | 0.072 | 0.006 |
| | | | 1.528 | 0.127 |
| Parámetros Más de 20 Inversión Inicial en u\$s 110000 Parámetros AySA 12 | | | | |

ICP MASAS

| Recurso | Precio Unitario u\$s | Utilidad (en muestras) | Costo por muestra u\$s | Costo por parámetro u\$s |
|---|----------------------|------------------------|------------------------|--------------------------|
| Nebulizador MicroMist | 1748 | 4800 | 0.364 | 0.024 |
| Cono de enfoque de iones de Ni Pt | 1779 | 7200 | 0.247 | 0.016 |
| Skimmer de Ni Pt | 4002 | 7200 | 0.556 | 0.037 |
| Base Skimmer de bronce | 1054 | 28800 | 0.037 | 0.002 |
| Junta de grafito para cono de muestreo | 166 | 7200 | 0.023 | 0.002 |
| Antorcha | 1184 | 9600 | 0.123 | 0.008 |
| Tubo de drenaje | 177 | 28800 | 0.006 | 0.000 |
| Tubo para bomba peristáltica | 236 | 5760 | 0.041 | 0.003 |
| Aceite bomba externa MS | 123 | 4800 | 0.026 | 0.002 |
| Cámar de spray de cuarzo | 1182 | 14400 | 0.082 | 0.005 |
| Solución alguicida para Chiller | 212 | 4800 | 0.044 | 0.003 |
| Tubo para muestra PFA | 136 | 28800 | 0.005 | 0.000 |
| Conector de vidrio | 420 | 9600 | 0.044 | 0.003 |
| Bonete para shield torch | 630 | 14400 | 0.044 | 0.003 |
| Calificación operacional | 855 | 28800 | 0.030 | 0.002 |
| Solución Tunning | 644 | 9600 | 0.067 | 0.004 |
| Mix de Standares Internos | 2700 | 28800 | 0.094 | 0.006 |
| Sonda de muestreo de fibra de carbono | 885 | 7200 | 0.123 | 0.008 |
| Gas Argón (consumo 20L/min) | 0.0030 | 20 | 0.060 | 0.004 |
| Gas Helio (consumo 0,012L/min) | 0.0030 | 0.012 | 0.000036 | 0.0000024 |
| | | | 2.015 | 0.134 |
| Parámetros Más de 20 Inversión Inicial en u\$s 222000 Parámetros AySA 15 | | | | |



Muchas gracias por su atención !!!!

- * Laboratorio Central AySA SA
- * TEL: (011) 6319-5327
- * juan_c_vuolo@aysa.com.ar

