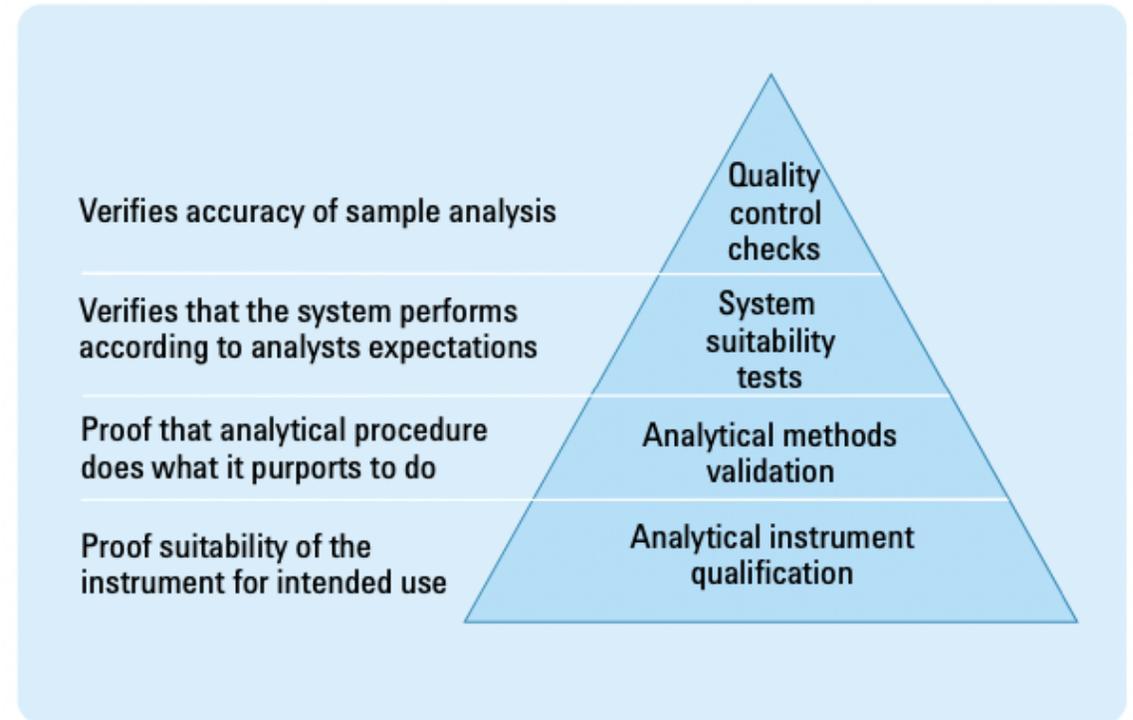


VALIDACIÓN DE METODOLOGÍAS ANALÍTICAS

QUÍMICA ANALÍTICA II – CURSO TEÓRICO 2025

TECNÓLOGO QUÍMICO - UTU – UDELAR - UTEC

Repasemos...



Repasemos...

- ▶ Necesitamos demostrar que nuestros métodos analíticos dan resultados **CONFIABLES**, ya que dichos resultados se utilizarán para tomar decisiones relevantes.
- ▶ Necesitamos conocer el **DESEMPEÑO** de nuestros métodos analíticos
- ▶ Necesitamos que nuestros métodos analíticos sean **ADECUADOS AL USO PREVISTO**.



¿Qué es validar un método analítico?

“Establecer **evidencia documentada** que proporcione un **alto grado de seguridad** de que un proceso específico **producirá consistentemente** un producto que **cumpla con sus especificaciones y atributos de calidad predeterminados.”**

US-FDA “General Principles of Validation” - 1987

“Proceso de **establecer las características de desempeño y las limitaciones** de un método y la **identificación de las influencias** que pueden cambiar esas características, y en qué medida.”

Eurachem, 1998

¿Qué es validar un método analítico?

Tabla 1 – Definiciones del concepto de ‘validación’ en ISO 9000, ISO/IEC 17025 y VIM

Definición	Referencia
confirmación, a través de la aportación de evidencia objetiva, de que se han cumplido los requisitos para un uso o aplicación específico previsto	ISO 9000 [9] ^a
confirmación, a través del examen y aportación de evidencias objetivas, de que se cumplen los requisitos particulares para un uso específico previsto	ISO/IEC 17025 [1]
verificación, donde los requisitos especificados son adecuados para un uso previsto	VIM [7] ^b
^a ISO 9000 define ‘proceso de calificación’, como “el proceso para demostrar la capacidad de cumplir los requisitos especificados”	
^b VIM define ‘verificación’ como “aportación de evidencia objetiva de que un elemento dado satisface los requisitos especificados”	

Eurachem, 1998

Adecuación al uso

- ▶ Concepto **fundamental** en Química Analítica
- ▶ Según IUPAC (Compendium of Analytical Nomenclature, 1997) es el “grado el cual los datos producidos por un **proceso de medición** habilitan a un **usuario** a tomar **decisiones técnica y administrativamente correctas** para un propósito indicado”.



Validación de métodos analíticos

¿Por qué
validar?

¿Qué validar?

¿Cómo
validar?

¿Cuándo
validar?

¿Cuánto
validar?

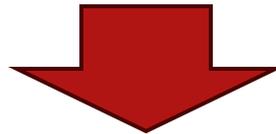
POR QUÉ VALIDAR

Demuestra que el método es **confiable** y se **adecua al uso previsto**

Permite conocer **errores** en el método analítico

Proporciona un **conocimiento sólido y experiencia** en los detalles prácticos para llevar a cabo el método, incluyendo el conocimiento de las **etapas críticas** del proceso.

Da al laboratorio y sus empleados una mayor **confianza** en sus propios resultados.

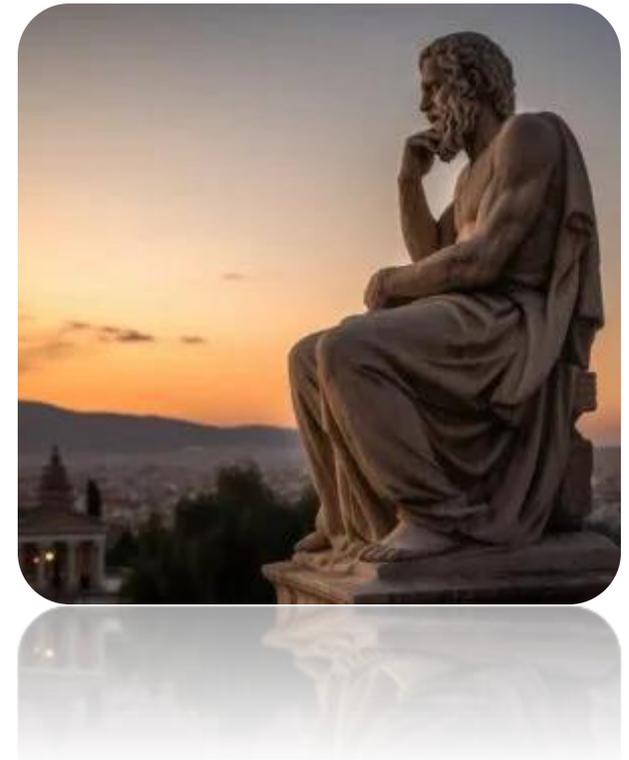


CALIDAD DE LOS RESULTADOS ANALÍTICOS

POR QUÉ VALIDAR

“If the result of an analysis cannot be trusted then it has little value and the analysis might as well have not been carried out.”

H. Cantwell (ed.) Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods – A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics, (3rd ed. 2025).



QUÉ VALIDAR

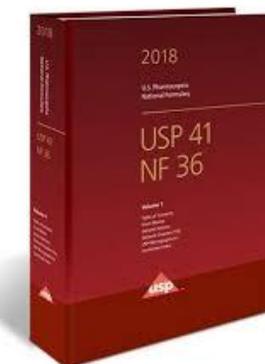
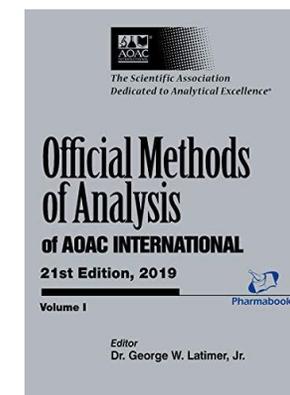
- ▶ Un método debe ser validado cuando es necesario demostrar que sus características de desempeño son adecuadas para el uso previsto.
- ▶ El laboratorio deberá validar:
 - métodos no **normalizados**;
 - métodos diseñados/desarrollados por el laboratorio;
 - métodos **normalizados** usados fuera de su ámbito de aplicación;
 - ampliaciones o modificaciones de métodos normalizados.

Método de ensayo normalizado:

¿Qué es?

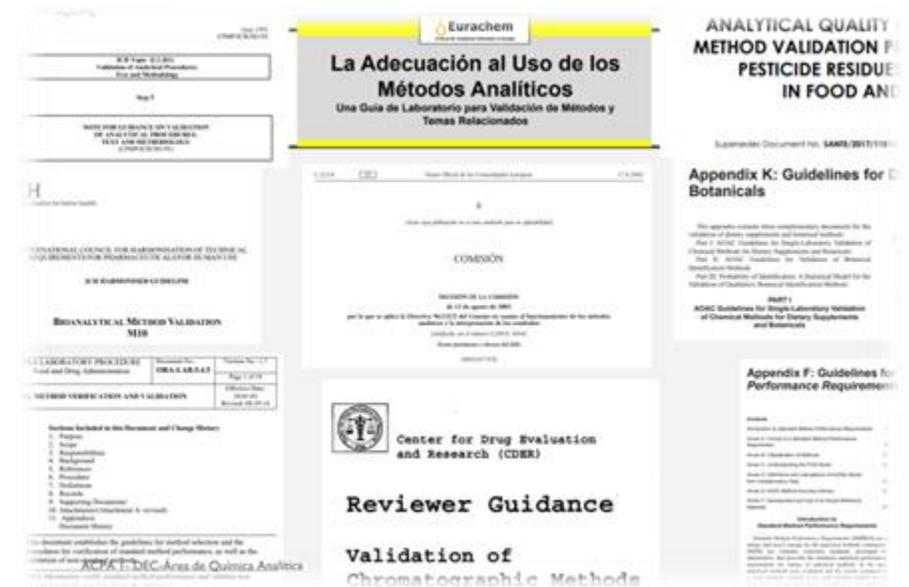
Método Normalizado de Análisis

- ▶ Es un **método analítico** que ha sido evaluado por un comité de normalización y ha sido publicado como Norma Técnica.
- ▶ Se consideran métodos normalizados aquellos **emitidos por organismos de normalización internacionales** (ej. ISO), **regionales** (normas europeas EN o Mercosur NM), o **nacionales** como ASTM, BS, DIN, etc.
- ▶ También se consideran métodos “normalizados” los emitidos por organizaciones internacionalmente reconocidas como **EPA, AOAC, Standard Methods for Water and Wastewater, USP, EP, etc.**
- ▶ El laboratorio debe confirmar que **puede operar adecuadamente los métodos normalizados antes de introducir los ensayos o calibraciones.** (ISO/IEC 17025 5.4.2)



CÓMO VALIDAR

- ▶ Existe un acuerdo general sobre que tipo de estudios son requeridos para validar un método analítico, **pero no hay un procedimiento único sobre como deben realizarse los mismos.**
- ▶ La extensión de la validación de un método nuevo o modificado depende directamente, del grado de desarrollo del método y de la historia y competencia del laboratorio, así como del **marco regulatorio** requerido por el área de trabajo del laboratorio.
- ▶ Los requisitos de validación cambian teniendo en cuenta: **el tipo de matriz, la técnica analítica, el estado del arte del momento, las sugerencias del grupo regulador.**



CÓMO VALIDAR

Definir las **características de desempeño del método** (cifras de mérito)

Establecer cuáles de esas cifras de mérito son **importantes para el método**

Establecer **valores límites razonables** para cada una de las cifras de mérito seleccionadas (adecuación al uso)

Diseñar **procedimientos de ensayo** para cada cifra de mérito relevante

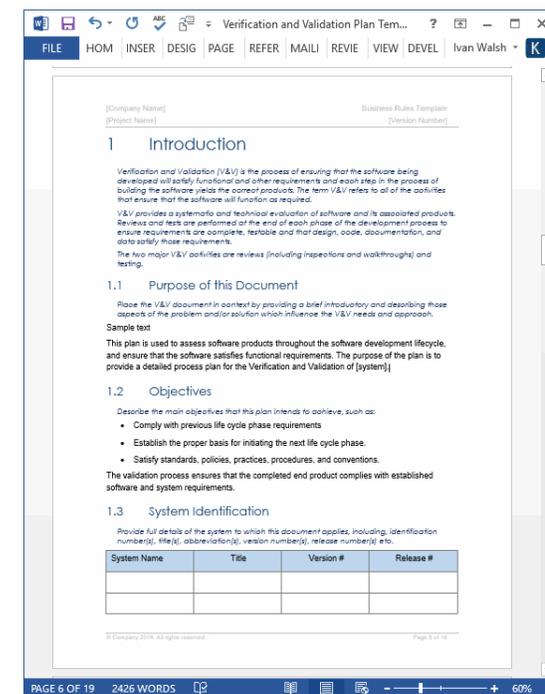
Realizar los ensayos

Documentar los resultados

Evaluar los resultados y extraer **conclusiones**

CÓMO VALIDAR

- ▶ En el Plan de Validación (a ser redactado ANTES) debe indicarse:
 - *La técnica analítica (ej: AAS, Espectrofotometría, HPLC)*
 - *El o los analitos (ej: Cr total, Cr(VI))*
 - *La matriz o matrices (ej: Aguas residuales, Suelos, Plasma humano)*
 - *El rango de concentraciones (ej: 10 ppb a 100 ppm)*
 - *Equipos, reactivos y estándares de referencia*
 - *Los analistas que ejecutarán la validación*
 - *Cómo se ejecutaran los ensayos (procedimientos detallados de análisis)*
 - *Requisitos de las características de desempeño*
- ▶ Recordar que además del plan de validación, deberá realizarse un informe final con los resultados de la validación (registro)



Características de Desempeño – Cifras de mérito

1. Precisión

2. Veracidad

3. Selectividad

4. Detectabilidad

5. Rango de trabajo

6. Linealidad

7. Robustez

8. Incertidumbre

Características de Desempeño – Cifras de mérito

Tabla 2 – Información general sobre las características de desempeño evaluadas habitualmente durante la validación del método

Características de desempeño
Selectividad
Límite de detección (LOD) y límite de cuantificación (LOQ)
Intervalo de trabajo
Sensibilidad analítica
Veracidad <ul style="list-style-type: none"> • Sesgo, recuperación
Precisión <ul style="list-style-type: none"> • repetibilidad, precisión intermedia y reproducibilidad
Incertidumbre de medida ^a
Robustez
^a En sentido estricto, la incertidumbre de medida no es una característica del desempeño de un procedimiento de medida particular pero sí de los resultados obtenidos al usar dicho procedimiento.

EURACHEM, 1998

CUÁNTO VALIDAR

Tabla 2 – parámetros típicos a validar según el método (caso 3)

Parámetro	Tipo de Método			
	Cualitativo	Componentes trazas	Componentes mayoritarios	Propiedad física
Selectividad	✓	✓	✓	-
Linealidad	-	✓	depende	depende
L. de Detección	✓	✓	-	-
L. de Cuantificación	-	✓	-	-
Precisión	-	✓	✓	✓
Veracidad	-	✓	✓	✓
Rango	-	✓	✓	✓
Robustez	✓	✓	✓	✓
Incertidumbre	-	✓	✓	✓

OAA – GUIA PARA LA VALIDACION DE METODOS DE ENSAYO. Ver.2 - 2019

CUÁNTO VALIDAR

Tabla 3 – Extensión de la validación para cuatro tipos de aplicaciones analíticas. Ejemplo para el sector farmacéutico [13]. ‘x’ significa una característica de desempeño que normalmente se valida

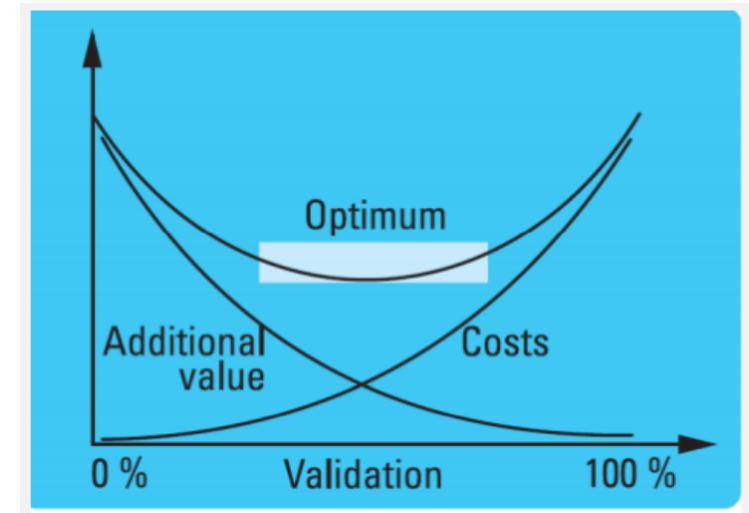
Característica de desempeño	Tipo de aplicación analítica			
	Ensayo de identificación	Ensayo de cuantificación de impurezas	Ensayo para límite de impurezas	Cuantificación del component principal
Selectividad	x	x	x	x
Límite de detección			x	
Límite de cuantificación		x		
Intervalo de trabajo incluyendo linealidad		x		x
Veracidad (sesgo)		x		x
Precisión (repetibilidad y precisión intermedia)		x		x

NOTA La tabla se ha simplificado y adaptado a la estructura y terminología de esta Guía.

EURACHEM, 1998

CUÁNTO VALIDAR

- ▶ Validar conlleva altos costos y mucho tiempo.
- ▶ Validar lo justo y necesario para lograr que sea **adecuado al uso en el tiempo**.
- ▶ La validación debe ser **tan amplia** como sea necesaria para cumplir con los requisitos **en relación con el uso dado o la aplicación**.
- ▶ La extensión ('alcance') de la validación dependerá de la aplicación, la naturaleza de los cambios realizados y de las circunstancias en que el método se va a utilizar.



HERRAMIENTAS DE VALIDACIÓN

- ▶ **BLANCOS:** no contienen el analito. Permiten saber cuánto de la señal de medida es atribuible a otras causas
 - Blanco de reactivos
 - Blanco de muestra (matriz)
 - Blanco de calibración
 - Blanco de procedimiento

- ▶ **MUESTRAS DE RUTINA:** Dan información sobre precisión, interferencias, etc., que pueden aparecer en el trabajo diario.

HERRAMIENTAS DE VALIDACIÓN

- ▶ **MATERIALES O SOLUCIONES ADICIONADOS/FORTIFICADOS (spiked):** contienen una cantidad conocida de analito deliberadamente añadida.
- ▶ **PATRONES DE MEDIDA:** Tradicionalmente se identifican con soluciones de sustancias individuales, pero en la práctica puede ser todo aquello en lo cual ha sido caracterizado un parámetro o propiedad particular y que puede emplearse como referencia metrológica.

MR (RM): cualquier material empleado como valor de referencia, ya sean reactivos de laboratorio de pureza conocida, productos químicos industriales u otros dispositivos. La propiedad o analito debe ser estable y homogénea

MRC (CRM): ADEMÁS: alto grado de caracterización, trazabilidad metrológica, incertidumbre y documentación

PRECISIÓN

- ▶ Tal como la define el VIM (3ª Ed, 2012):

Grado de concordancia entre las indicaciones o los valores medidos obtenidos en mediciones de un mismo objeto, o de objetos similares, bajo condiciones especificadas.

- Grado de concordancia de mediciones repetidas
 - Medida de dispersión de los resultados analíticos
-
- ▶ ¿Qué origina la dispersión de las medidas analíticas? => Fluctuaciones aleatorias difíciles de controlar, de diversas fuentes (operador, instrumentales, ambientales, etc.), conocidas como “errores aleatorios”



EVALUACIÓN DE LA PRECISIÓN

- ▶ La precisión se estima con la desviación estándar muestral ($n < 30$)

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

Desviación estándar
absoluta

$$s_{rel} = \frac{s}{\bar{x}}$$

Desviación estándar
relativa (RSD)

$$s_{rel}(\%) = CV = \frac{s}{\bar{x}} \cdot 100$$

Desviación estándar relativa
porcentual (coeficiente de
variación)

CONDICIONES DE PRECISIÓN

- ▶ La precisión se puede evaluar en diferentes condiciones (VIM, 2102):

Repetibilidad (r)

- condición de medición, dentro de un conjunto de condiciones que incluye el mismo procedimiento de medida, los mismos operadores, el mismo sistema de medida, las mismas condiciones de operación y el mismo lugar, así como mediciones repetidas del mismo objeto o de un objeto similar en un periodo corto de tiempo

Precisión Intermedia

- condición de medición, dentro de un conjunto de condiciones que incluye el mismo procedimiento de medición, el mismo lugar y mediciones repetidas del mismo objeto u objetos similares durante un periodo amplio de tiempo, pero que puede incluir otras condiciones que involucren variaciones

Reproducibilidad (R)

- condición de medición, dentro de un conjunto de condiciones que incluye diferentes lugares, operadores, sistemas de medida y mediciones repetidas de los mismos objetos u objetos similares

CONDICIONES DE PRECISIÓN

	Operario	Muestra	Equipo	Laboratorio	Procedimiento analítico	Período de Tiempo
Repetibilidad	El mismo	La misma	Los mismos	El mismo	El mismo	Corto
Precisión Intermedia	Diferente	La misma	Diferentes	El mismo	El mismo	Diferentes días
Reproducibilidad	Diferente	La misma (mismo nivel C)	Diferentes	Diferente	El mismo	Diferentes días

PRECISIÓN

► Fuentes de imprecisión en un método analítico



La precisión se evaluará para TODO el método analítico

PRECISIÓN

- ▶ La precisión en condiciones de repetibilidad se puede evaluar para:
 - EQUIPOS: se evalúa la precisión asociada al uso de un equipo, midiendo en forma repetida ($n=10$) una misma muestra
 - PROCESO ANALÍTICO: Mismas alícuotas de la muestra o estándares, preparados independientemente (a lo largo del día). Se ve imprecisión inherente al procedimiento analítico y al equipo al mismo tiempo, también a la preparación de la muestra

EVALUACIÓN DE LA PRECISIÓN

► Intervalo de repetibilidad (I_r)

Es la **máxima diferencia admisible** entre dos valores obtenidos por el mismo operador con el mismo material sobre una misma muestra en un breve periodo de tiempo.

Sirve para evaluar si los valores obtenidos al realizar el procedimiento analítico **son concordantes para poder promediarlos**.

$$I_r = Z \cdot \sqrt{2} \cdot \sigma_r \approx 2,8 \cdot s_r$$

Donde: $Z = 1,96$ (95%), σ_r es la desviación estándar en condiciones de repetibilidad (gran número de medidas), s_r estimador de la desviación estándar en condiciones de repetividad ($n < 30$)

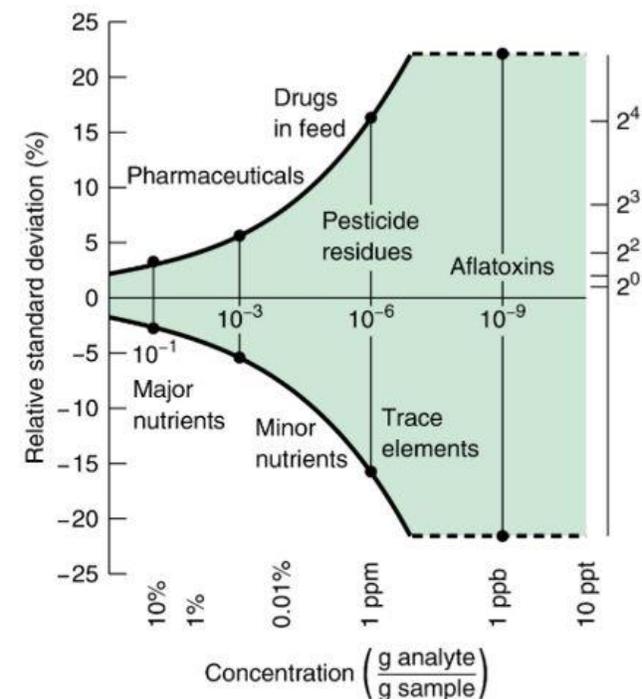
1. EVALUACIÓN DE LA PRECISIÓN

Table 4 Analyte Concentration vs. Precision

Analyte (%)	Analyte ratio	Unit	RSD (%)
100	1	100%	1.3
10	10^{-1}	10%	2.8
1	10^{-2}	1%	2.7
0.1	10^{-3}	0.1%	3.7
0.01	10^{-4}	100 ppm	5.3
0.001	10^{-5}	10 ppm	7.3
0.0001	10^{-6}	1 ppm	11
0.00001	10^{-7}	100 ppb	15
0.000001	10^{-8}	10 ppb	21
0.0000001	10^{-9}	1 ppb	30

Source: Ref 9.

AOAC. Peer-Verified Methods Program: Manual on Policies and Procedures, Arlington, VA. 1998.



La “trompeta” de Horwitz

EVALUACIÓN DE LA PRECISIÓN: ejemplo

- ▶ Mediante dos métodos analíticos se realiza la determinación de la pureza de una sal patrón de Ni por complejometría. Suponiendo que todos los valores son promediables, calcular s , y CV, e indicar si las desviaciones estándar son significativamente distintas.

P (%) Método 1	P (%) Método 2
98,633	101,980
99,129	100,145
99,779	100,681
97,872	100,234
99,003	100,450
99,164	100,402

EVALUACIÓN DE LA PRECISIÓN: ejemplo

	P (%) Método 1	P (%) Método 2
1	98,633	101,980
2	99,129	100,145
3	99,779	100,681
4	97,872	100,234
5	99,003	100,450
6	99,164	100,402
n	6	6
Promedio	98,93	100,65
Desv est	0,64	0,68
Varianza	0,41	0,46
%RSD (CV)	0,64	0,67

$$\text{Varianza} = s^2$$

¿Son las desviaciones estándar significativamente diferentes?

Test de contraste F:

$$H_0: \sigma_1^2 = \sigma_2^2$$

$$H_1: \sigma_1^2 \neq \sigma_2^2$$

La igualdad implica no diferencia significativa

Estadístico: $F = \frac{s_1^2}{s_2^2}$ (se disponen tal que $F > 1$)

Grados de libertad: numerador: $n_1 - 1$, denominador $n_2 - 1$

Se cumple H_0 si $F < F_{\text{crit}}(\alpha, n_1-1, n_2-1)$

EVALUACIÓN DE LA PRECISIÓN: ejemplo

Table A.4 Critical values of F for a two-tailed test ($P = 0.05$)

v_2	v_1													
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12	15	20	
1	647.8	799.5	864.2	899.6	921.8	937.1	948.2	956.7	963.3	968.6	976.7	984.9	993.1	
2	38.51	39.00	39.17	39.25	39.30	39.33	39.36	39.37	39.39	39.40	39.41	39.43	39.45	
3	17.44	16.04	15.44	15.10	14.88	14.73	14.62	14.54	14.47	14.42	14.34	14.25	14.17	
4	12.22	10.65	9.979	9.605	9.364	9.197	9.074	8.980	8.905	8.844	8.751	8.657	8.560	
5	10.01	8.434	7.764	7.388	7.146	6.978	6.853	6.757	6.681	6.619	6.525	6.428	6.329	
6	8.813	7.260	6.599	6.227	5.988	5.820	5.695	5.600	5.523	5.461	5.366	5.269	5.168	
7	8.073	6.542	5.890	5.523	5.285	5.119	4.995	4.899	4.823	4.761	4.666	4.568	4.467	
8	7.571	6.059	5.416	5.053	4.817	4.652	4.529	4.433	4.357	4.295	4.200	4.101	3.999	
9	7.209	5.715	5.078	4.718	4.484	4.320	4.197	4.102	4.026	3.964	3.868	3.769	3.667	
10	6.937	5.456	4.826	4.468	4.236	4.072	3.950	3.855	3.779	3.717	3.621	3.522	3.419	
11	6.724	5.256	4.630	4.275	4.044	3.881	3.759	3.664	3.588	3.526	3.430	3.330	3.226	
12	6.554	5.096	4.474	4.121	3.891	3.728	3.607	3.512	3.436	3.374	3.277	3.177	3.073	
13	6.414	4.965	4.347	3.996	3.767	3.604	3.483	3.388	3.312	3.250	3.153	3.053	2.948	
14	6.298	4.857	4.242	3.892	3.663	3.501	3.380	3.285	3.209	3.147	3.050	2.949	2.844	
15	6.200	4.765	4.153	3.804	3.576	3.415	3.293	3.199	3.123	3.060	2.963	2.862	2.756	
16	6.115	4.687	4.077	3.729	3.502	3.341	3.219	3.125	3.049	2.986	2.889	2.788	2.681	
17	6.042	4.619	4.011	3.665	3.438	3.277	3.156	3.061	2.985	2.922	2.825	2.723	2.616	
18	5.978	4.560	3.954	3.608	3.382	3.221	3.100	3.005	2.929	2.866	2.769	2.667	2.559	
19	5.922	4.508	3.903	3.559	3.333	3.172	3.051	2.956	2.880	2.817	2.720	2.617	2.509	
20	5.871	4.461	3.859	3.515	3.289	3.128	3.007	2.913	2.837	2.774	2.676	2.573	2.464	

v_1 = number of degrees of freedom of the numerator; v_2 = number of degrees of freedom of the denominator.

Grados libertad numerador = $6-1 = 5$

Grados libertad denominador = $6-1 = 5$

F (estadístico) = $0,46 / 0,41 = 1,121$

Fijamos nivel de significancia $\alpha = 0,05$ (95%)

F crit ($5,5, 0,05$) = $7,146$

$F < F$ crit $\Rightarrow H_0$ es válida: no hay diferencia significativa entre ambas desviaciones estándar

VERACIDAD

- ▶ **DIFERENCIAS ENTRE VERACIDAD Y EXACTITUD:** Ambos conceptos miden la distancia entre el “valor verdadero o real” y el “valor obtenido”

EXACTITUD (ACCURACY): es la diferencia entre un valor medido y el valor real del mensurando en la muestra, no es medible. Se refiere a una medida individual

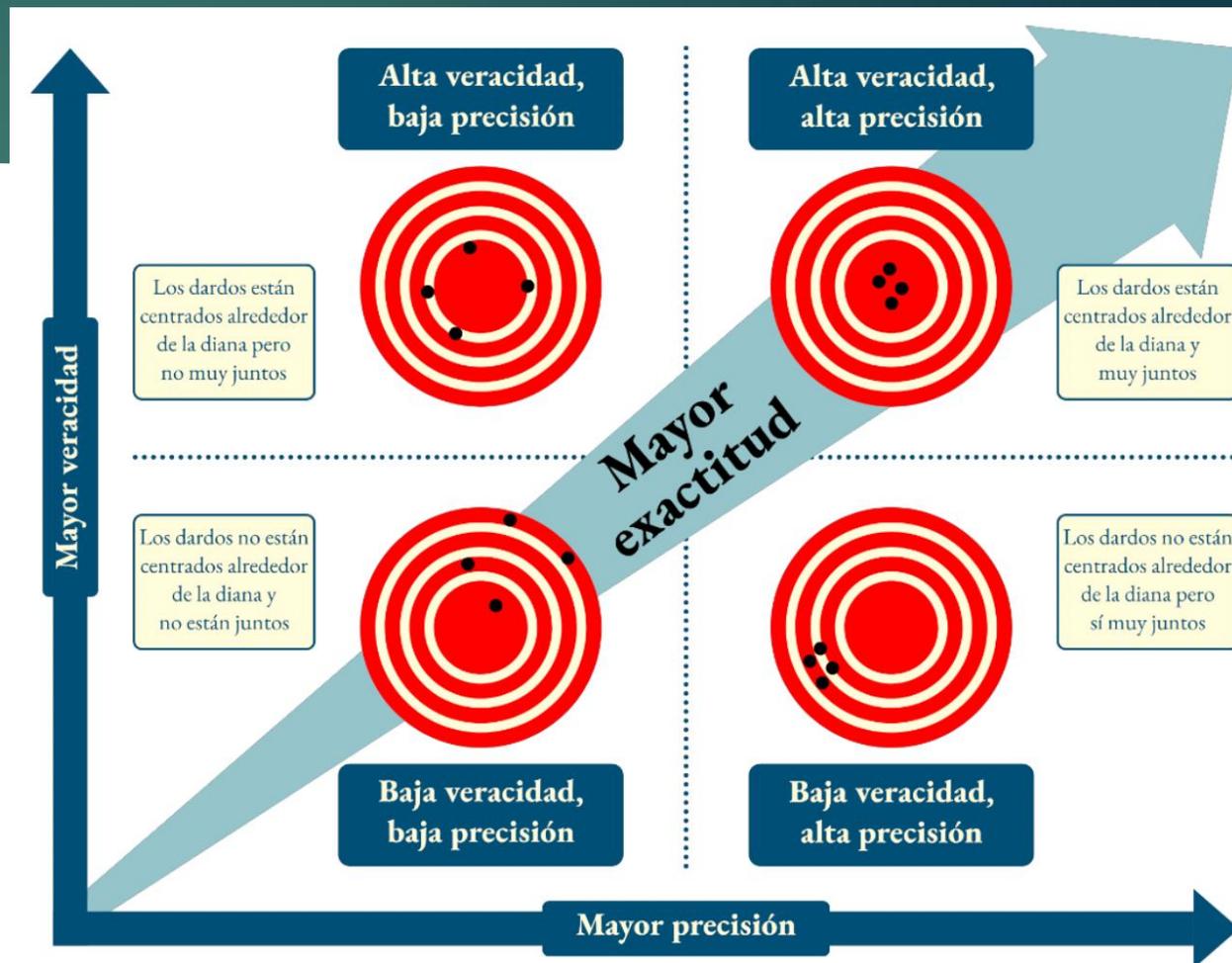
VERACIDAD (TRUENESS): es la diferencia entre el promedio de una serie extensa de medidas y el valor de referencia aceptado para el mensurando. Se refiere a una serie de medidas.

VERACIDAD

- ▶ El valor real o verdadero de una magnitud no puede ser conocido, apenas estimado
- ▶ El valor real o verdadero es remplazado por un “valor de referencia” aceptado (materiales de referencia)

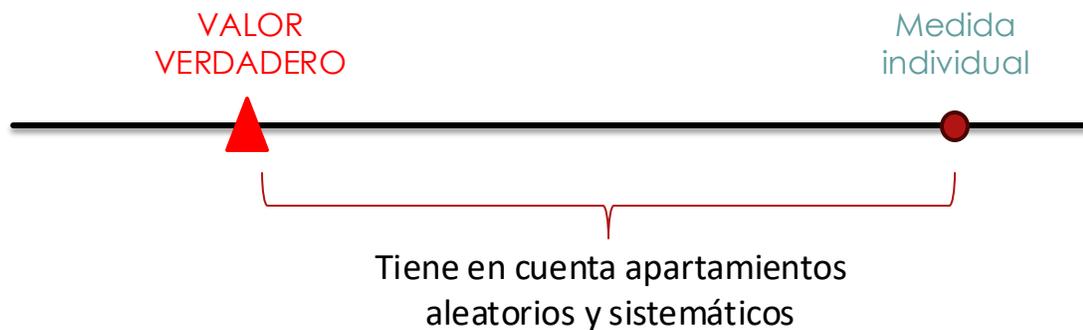
VERACIDAD

- ▶ La exactitud tiene un componente sistemático y un componente aleatorio
- ▶ Alta exactitud en una medida implica determinaciones PRECISAS Y VERACES

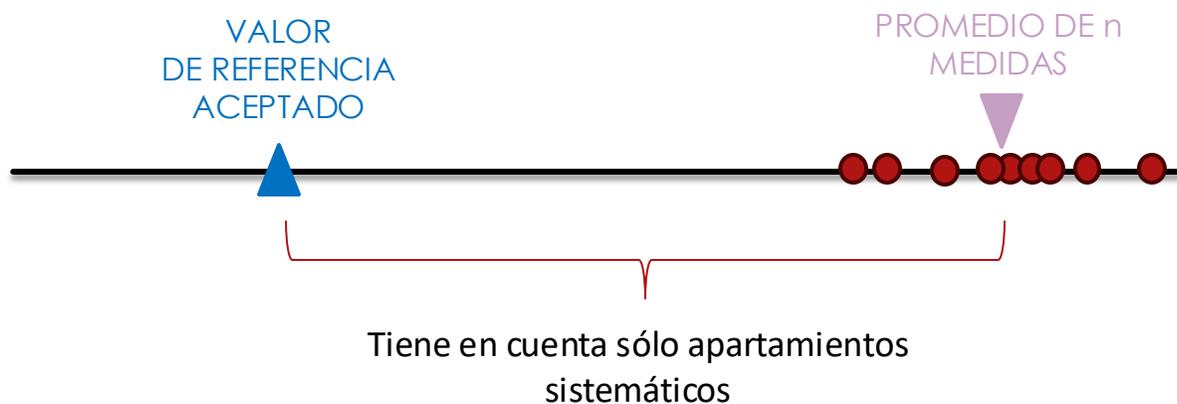


2. VERACIDAD

▶ EXACTITUD



▶ VERACIDAD



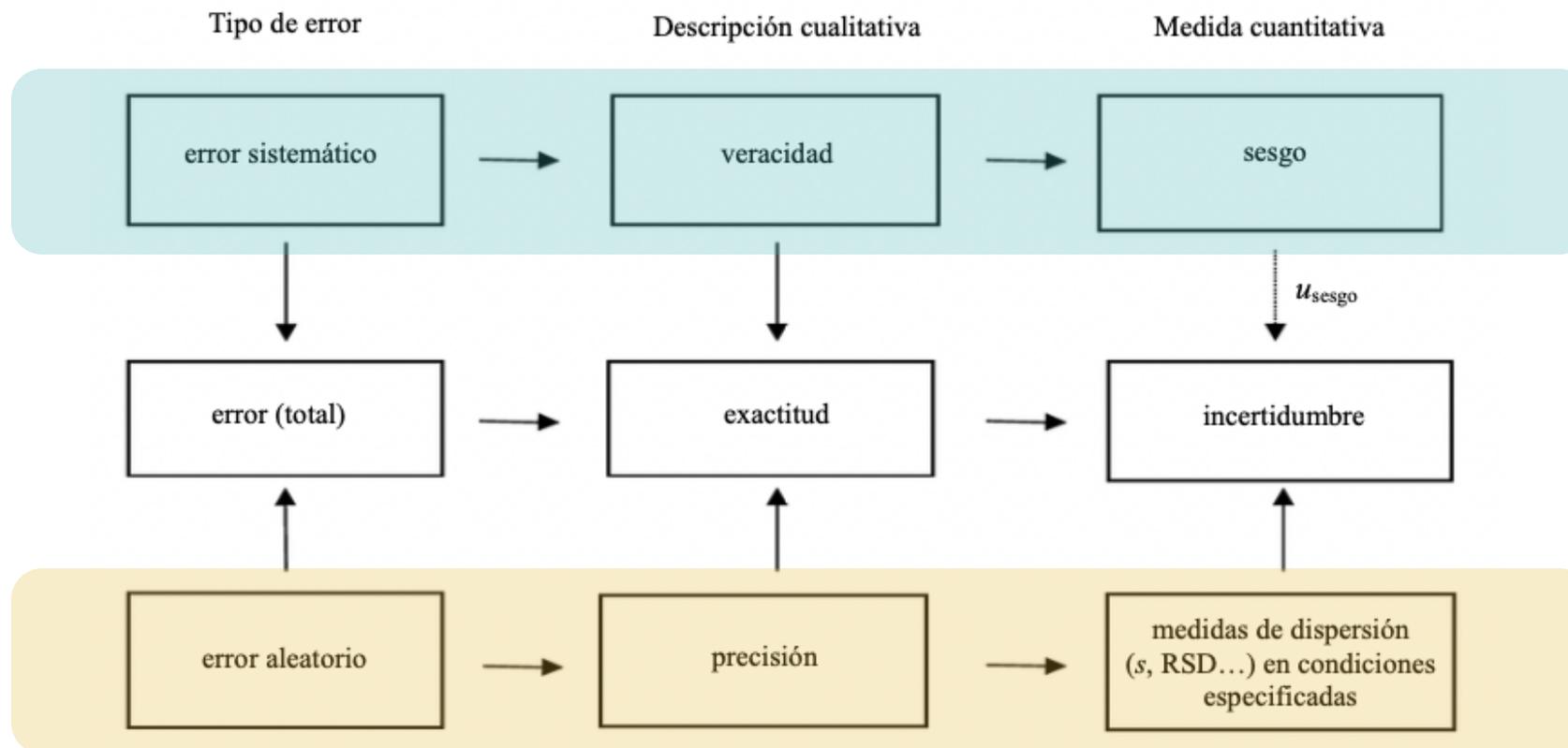
ERROR:

Es la diferencia entre un valor medido, y el valor de referencia aceptado

VERACIDAD

- ▶ La VERACIDAD es una característica de desempeño que se evalúa por medio del sesgo.
- ▶ SESGO se define como la **diferencia entre el valor promedio de una serie de medidas y el valor aceptado como verdadero para el mensurando (valor de referencia)**. El SESGO estima el error sistemático de la medición.
- ▶ Los apartamientos sistemáticos generalmente permanecen constantes y de forma predecible entre medidas. Puede o no conocerse su origen. Generalmente se pueden aplicar correcciones para compensarlos.

VERACIDAD



EVALUACIÓN DE LA VERACIDAD

► Expresiones matemáticas para el sesgo:

- Expresión absoluta: $b = \bar{x} - x_{ref}$
- Expresión porcentual: $b(\%) = \frac{\bar{x} - x_{ref}}{x_{ref}} \times 100$
- Recuperación relativa de adiciones: $R'(\%) = \frac{\bar{x}' - \bar{x}}{x_{adicion}}$
- Recuperación aparente: $R(\%) = \frac{\bar{x}}{x_{ref}} \cdot 100$

Donde:

\bar{x} valor promedio de las medidas

x_{ref} Valor de referencia

\bar{x}' valor promedio de la muestra
adicionada

$x_{adicion}$ concentración añadida

EVALUACIÓN DE LA VERACIDAD

- ▶ EVALUACIÓN DE LA VERACIDAD DE UN MÉTODO:
 - a) Análisis de Materiales de Referencia
 - b) Comparación de resultados obtenidos mediante otro método
 - c) Experimentos de recuperación utilizando muestras adicionadas

Los estudios deben cubrir el alcance del método y por tanto pueden requerir ensayos a diferentes concentraciones de analito o a diferentes muestras

EVALUACIÓN DE LA VERACIDAD

A) Uso de materiales de referencia:

- El sesgo se prueba con la ayuda de **materiales de referencia certificados**: el método se utiliza para medir el contenido de analito de dicho material realizando un número elevado de repeticiones.
- Se puede aplicar una prueba de significancia a la hipótesis nula de que el método está libre de sesgo, esto es el resultado obtenido por el método no es estadísticamente diferente al declarado por el certificado de referencia.
- El **material de referencia certificado** (MRC) seleccionado debe ser **representativo de la muestra en estudio** (matriz, nivel de analito, lo más similar posible al material o muestra de estudio).



Standard Reference Material[®] 1546a

Meat Homogenate

CERTIFICATE OF ANALYSIS

Purpose: The certified values delivered by this Standard Reference Material (SRM) are intended for validating methods for determining cholesterol, vitamins, and elements in canned meat products and similar materials and for quality assurance when assigning values to in-house control materials.

Description: A unit of SRM 1546a consists of four cans, each containing approximately 85 g of a mixture of pork and chicken products blended in a commercial process.

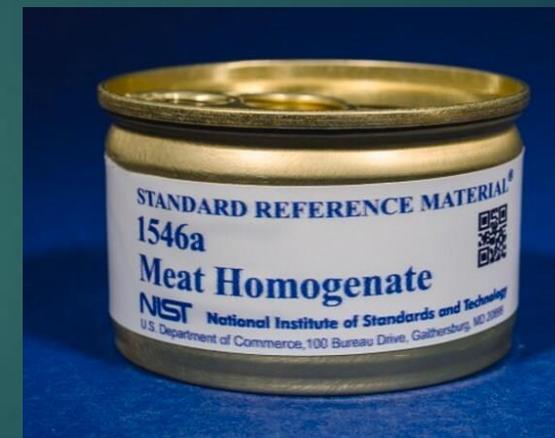
Certified Values: NIST certified values are traceable to the International System of Units (SI) derived unit of mass fraction, expressed as milligrams per kilogram or milligram per gram. The values are reported on an as-received basis [1].

Table 1. Certified Values for Cholesterol, Vitamins, and Elements in SRM 1546a

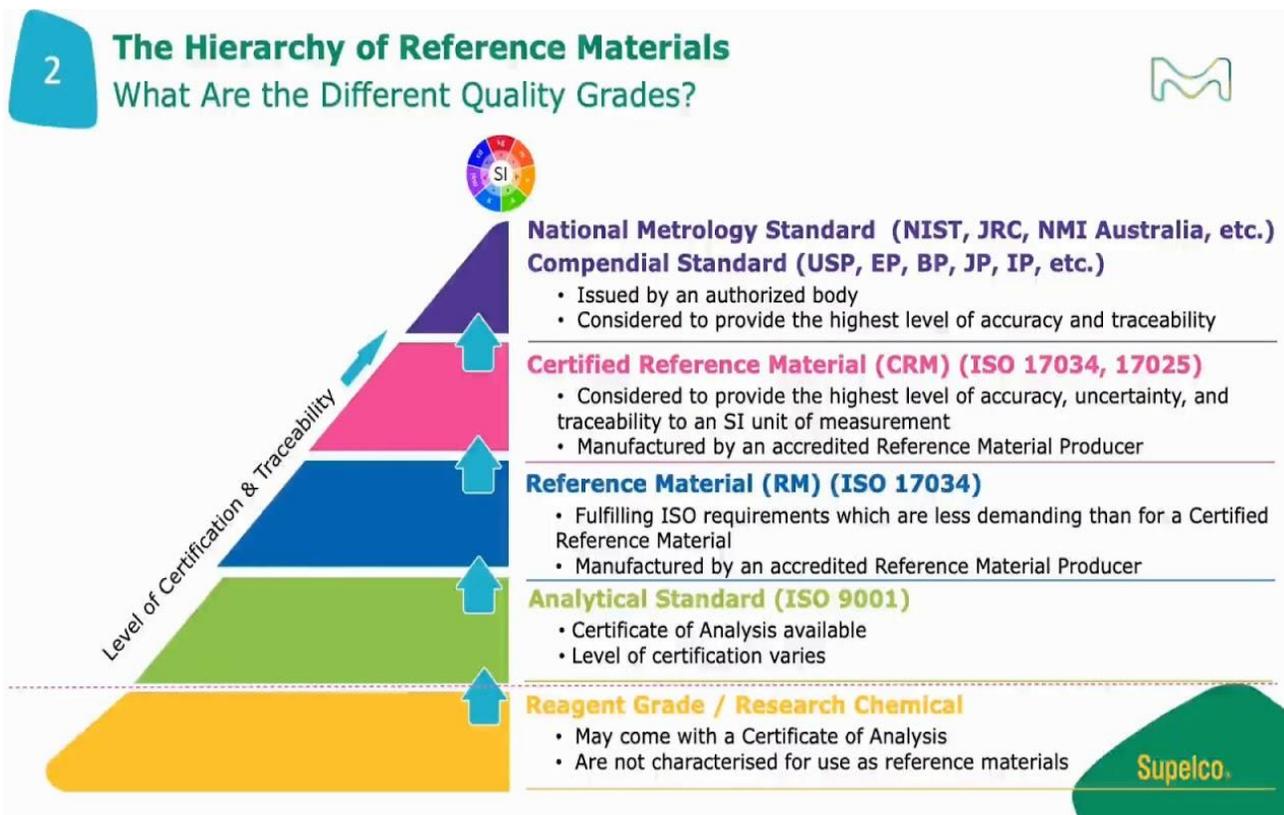
Measurand	Mass Fraction ^(a) (mg/g)	Measurand	Mass Fraction ^(a) (mg/kg)
Cholesterol	0.717 ± 0.022	Copper (Cu)	0.605 ± 0.051
		Iron (Fe)	10.17 ± 0.35
		Magnesium (Mg)	178.1 ± 4.8
		Manganese (Mn)	0.286 ± 0.024
		Phosphorus (P)	1651 ± 32
		Potassium (K)	2490 ± 210
Niacin (Vitamin B ₃) ^(b)	0.401 ± 0.022	Selenium (Se)	0.281 ± 0.017
Niacinamide (Vitamin B ₃) ^(b)	38.18 ± 0.74	Sodium (Na)	9600 ± 1100
Total Vitamin B ₃ as Niacinamide ^(c)	41.0 ± 4.8	Zinc (Zn)	17.88 ± 0.35
25-Hydroxyvitamin D ₃	0.00090 ± 0.00012		

^(a) Values are expressed as $x \pm U_{95\%}(x)$, where x is the certified value and $U_{95\%}(x)$ is the expanded uncertainty of the certified value. The true value of the analyte lies within the interval $x \pm U_{95\%}(x)$ with 95 % confidence. To propagate this uncertainty,

SRM



EVALUACIÓN DE LA VERACIDAD



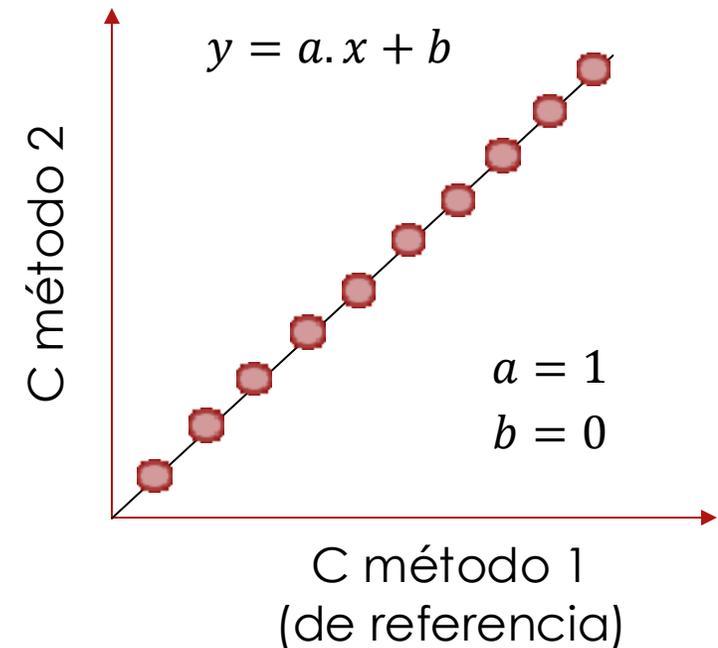
La evaluación del sesgo requiere de un valor de referencia fiable, preferiblemente un MRC con la misma matriz y en concentraciones del analito similares a las muestras reales.

Un determinado MR debería utilizarse únicamente para un fin durante un estudio de validación. Por ejemplo, un MR usado para la calibración no debería utilizarse para evaluar el sesgo.

EVALUACIÓN DE LA VERACIDAD

B) Comparación del métodos de medida con otro método de referencia

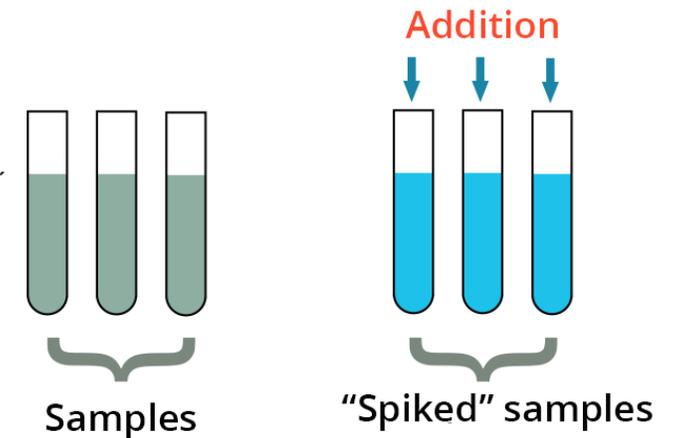
- La veracidad también se puede comprobar comparando los resultados del método que se está validando con los resultados obtenidos cuando se aplica un método estándar o de referencia a los mismos materiales de prueba.
- Si se adopta este enfoque, se deben utilizar varios materiales de prueba que contengan diferentes niveles de analito y los resultados se pueden evaluar utilizando pruebas estadísticas.



EVALUACIÓN DE LA VERACIDAD

C) Aditivación (spike):

- Si no se dispone de materiales de referencia, a veces se evalúa la veracidad **analizando una porción de prueba de la muestra antes y después de añadirle una masa conocida de analito**, un proceso conocido como “aditivación” (spike).
- Si la diferencia entre las dos mediciones no es equivalente a la cantidad añadida, la recuperación no es del 100%, se indica algún sesgo en el método.
- El analito debería añadirse **en la misma forma química que se encuentra en la muestra**, aun así, **el analito añadido puede no comportarse siempre de la misma manera que el analito presente de forma natural en el material de prueba**.
- Por este motivo, es prudente suponer que, si bien una recuperación inferior o superior al 100% indica un grado de sesgo, una recuperación cercana al 100% **no indica necesariamente la ausencia de sesgo**.



EVALUACIÓN DE LA VERACIDAD

Table 7 Analyte Recovery at Different Concentrations

Active Ingredient (%)	Analyte ratio	Unit	Mean recovery (%)
100	1	100%	98-102
≥ 10	10 ⁻¹	10%	98-102
≥ 1	10 ⁻²	1%	97-103
≥ 0.1	10 ⁻³	0.1%	95-105
0.01	10 ⁻⁴	100 ppm	90-107
0.001	10 ⁻⁵	10 ppm	80-110
0.0001	10 ⁻⁶	1 ppm	80-110
0.00001	10 ⁻⁷	100 ppb	80-110
0.000001	10 ⁻⁸	10 ppb	60-115
0.0000001	10 ⁻⁹	1 ppb	40-120

Source: Ref. 9.

AOAC. Peer-Verified Methods Program: Manual on Policies and Procedures, Arlington, VA. 1998.

EVALUACIÓN DE LA VERACIDAD: ejemplo

Un nuevo procedimiento para la determinación de S en combustible se ensaya sobre un material de referencia que contiene 0,123% de S ($\mu_0 = 0,123\%$).

Los resultados del ensayo son los siguientes:

Determinación	1	2	3	4	5	6	7
Resultado	0,120	0,119	0,118	0,121	0,124	0,122	0,120

Determinar si existe evidencia estadística de sesgo en el método, con un nivel de confianza del 95%.

EVALUACIÓN DE LA VERACIDAD: ejemplo

- ▶ Se plantea el siguiente test de hipótesis:

$$H_0: \bar{x} = \mu_0 \text{ (no existe sesgo)}$$

$$H_1: \bar{x} \neq \mu_0 \text{ (existe sesgo)}$$

- ▶ El estadístico se calcula como: $t = \frac{|\bar{x} - \mu_0|}{s/\sqrt{n}}$

- ▶ Se acepta H_0 si $t < t_{n-1; 0,05}$

Valor de t para un intervalo de confianza de Valor crítico de t para valores de P de número de grados de libertad	90%	95%	98%	99%
1	6.31	12.71	31.82	63.66
2	2.92	4.30	6.96	9.92
3	2.35	3.18	4.54	5.84
4	2.13	2.78	3.75	4.60
5	2.02	2.57	3.36	4.03
6	1.94	2.45	3.14	3.71
7	1.89	2.36	3.00	3.50
8	1.86	2.31	2.90	3.36
9	1.83	2.26	2.82	3.25
10	1.81	2.23	2.76	3.17
12	1.78	2.18	2.68	3.05
14	1.76	2.14	2.62	2.98
16	1.75	2.12	2.58	2.92
18	1.73	2.10	2.55	2.88
20	1.72	2.09	2.53	2.85
30	1.70	2.04	2.46	2.75
50	1.68	2.01	2.40	2.68
∞	1.64	1.96	2.33	2.58

Los valores críticos de $|t|$ son adecuados para un contraste de *dos* colas. Para un contraste de *una* cola el valor se toma de la columna para *dos veces* el valor de P deseado, es decir, para un contraste de una cola, $P = 0.05$, 5 grados de libertad, el valor crítico se lee de la columna $P = 0.10$ y es igual

EVALUACIÓN DE LA VERACIDAD: ejemplo

Det	Resultado (%)
1	0,120
2	0,119
3	0,118
4	0,121
5	0,124
6	0,122
7	0,120
PROMEDIO	0,121
s	0,0019881

$$t = \frac{|\bar{x} - \mu_0|}{s/\sqrt{n}} = \frac{|0,121 - 0,123|}{0,001988/\sqrt{7}} = 3,23$$

De la tabla de la distribución t:

$$t_{crit} = t_{6;0,05} = 2,45$$

Como $t > t_{crit} \Rightarrow$ rechazamos $H_0 \Rightarrow$ existe evidencia significativa de sesgo con un 95% de confianza

EVALUACIÓN DE LA VERACIDAD: ejemplo

En un laboratorio clínico se está validando un nuevo método (M1) para determinar Fe en sangre. Se lo compara con un método ya validado que se toma como referencia (Mref).

Se miden muestras reales de sangre humana (diferentes entre sí)

Se obtienen los siguientes resultados para 10 muestras:

Indicar si el método M1 es sesgado respecto al de referencia

Determinación	Resultado M1 (ug/dL)	Resultado Mref (ug/dL)
Muestra 1	45,3	44,3
Muestra 2	44,2	44,1
Muestra 3	47,4	45,2
Muestra 4	48,9	46,2
Muestra 5	40,5	48,3
Muestra 6	43,6	49,2
Muestra 7	47,2	51,0
Muestra 8	44,1	40,4
Muestra 9	42,2	46,2
Muestra 10	42,0	49,2

EVALUACIÓN DE LA VERACIDAD: ejemplo

- ▶ Se plantea el siguiente test de hipótesis:

$H_0: \bar{d} = 0$ (los métodos arrojan el mismo resultado)

$H_1: \bar{d} \neq 0$ (los métodos están sesgados entre sí)

- ▶ El estadístico se calcula como:
$$t = \frac{|\bar{d}|}{s_d/\sqrt{n}}$$

- ▶ Se acepta H_0 si $t < t_{n-1; 0,05}$

\bar{d} es el promedio de las diferencias d entre los valores emparejados

EVALUACIÓN DE LA VERACIDAD: ejemplo

Determinación	Resultado M1	Resultado Mref	Diferencia
1	45,3	44,3	1,0
2	44,2	44,1	0,1
3	47,4	45,2	2,2
4	48,9	46,2	2,7
5	40,5	48,3	-7,8
6	43,6	49,2	-5,6
7	47,2	51,0	-3,8
8	44,1	40,4	3,7
9	42,2	46,2	-4,0
10	42,0	49,2	-7,2
		Prom D	-1,9
		s D	4,299
		n	10
		n-1	9
		estadístico	1,375508274
		t (9, 0,05)	2,262157163

$$t = \frac{|\bar{d}|}{s_d/\sqrt{n}} = \frac{|-1,9|}{4,299/\sqrt{10}} = 1,37$$

De la tabla de la distribución t:

$$t_{crit} = t_{9;0,05} = 2,26$$

Como $t < t_{crit} \Rightarrow$ se acepta $H_0 \Rightarrow$ no existe evidencia significativa de sesgo entre los dos métodos con un 95% de confianza

EVALUACIÓN DE LA VERACIDAD: ejemplo

- ▶ Se pretende comparar la performance de un titulador automático para una titulación ácido-base (NaOH vs. ftalato ácido de potasio, usado como patrón). Se toma como método de referencia la titulación manual con indicador visual (fenolftaleína). Los resultados (para la concentración de NaOH en mol/L) se muestran a continuación:

C NaOH (TA, M)	0,10232	0,10241	0,10623	0,10722	0,10421	0,10429
C NaOH (TM, M)	0,10091	0,10081	0,10073	0,10134	0,10029	0,10110

Indicar si el promedio de concentraciones obtenido para el titulador difiere significativamente de aquel de la titulación manual.

EVALUACIÓN DE LA VERACIDAD: ejemplo

VERSION I

Esta prueba se utiliza si se puede asumir que las desviaciones estándar significativamente iguales (varianzas homogéneas).

Ello se puede probar con la prueba vista en la pag. 30

- ▶ Se plantea el siguiente test de hipótesis:

$$H_0: \mu_1 = \mu_2$$

$$H_1: \mu_1 \neq \mu_2$$

- ▶ El estadístico se calcula como:

$$t = \frac{(\bar{x}_1 - \bar{x}_2)}{s_p \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}} \quad s_p = \sqrt{\frac{(n_1 - 1) \cdot s_1^2 + (n_2 - 1) \cdot s_2^2}{(n_1 + n_2 - 2)}}$$

- ▶ Se acepta H_0 si $|t| < t_{n_1+n_2-2; 0,05}$

EVALUACIÓN DE LA VERACIDAD: ejemplo

VERSION II:

Si no se puede asumir desviaciones estándares significativamente iguales

- ▶ Se plantea el siguiente test de hipótesis:

$$H_0: \mu_1 = \mu_2$$

$$H_1: \mu_1 \neq \mu_2$$

- ▶ El estadístico se calcula como:

$$t = \frac{(\bar{x}_1 - \bar{x}_2)}{\sqrt{\frac{s_1^2}{n_1} + \frac{s_2^2}{n_2}}}$$

$$GL = \frac{\left(\frac{s_1^2}{n_1} + \frac{s_2^2}{n_2}\right)^2}{\left(\frac{s_1^4}{n_1^2(n_1 - 1)} + \frac{s_2^4}{n_2(n_2 - 1)}\right)}$$

- ▶ Se acepta H_0 si $|t| < t_{GL; 0,05}$

EVALUACIÓN DE LA VERACIDAD: ejemplo

	C NaOH (TA, mol/L)	C NaOH (TM, mol/L)
	0,10232	0,10191
	0,10241	0,10181
	0,10623	0,10193
	0,10722	0,10134
	0,10421	0,10029
	0,10429	0,1011
promedio	0,10444667	0,10139667
desv std	0,00198106	0,00063792

Prueba F para varianzas de dos muestras		
	C NaOH (TA, mol/L)	C NaOH (TM, mol/L)
Media	0,10444667	0,10139667
Varianza	3,9246E-06	4,0695E-07
Observaciones	6	6
Grados de libertad	5	5
F	9,64398283	
P(F<=f) una cola	0,01324527	
Valor crítico para F	7,14638183	

Como $F > F_{crit} \Rightarrow$ Las desviaciones estándar difieren significativamente \Rightarrow Se usa la 2da versión del test

EVALUACIÓN DE LA VERACIDAD: ejemplo

$$t = \frac{(\bar{x}_1 - \bar{x}_2)}{\sqrt{\frac{s_1^2}{n_1} + \frac{s_2^2}{n_2}}} = \frac{(0,10444667 - 0,10139667)}{\sqrt{\frac{3,92 \times 10^{-6}}{6} + \frac{4,02 \times 10^{-7}}{6}}} = 3,59$$

$$GL = \frac{\left(\frac{s_1^2}{n_1} + \frac{s_2^2}{n_2}\right)^2}{\left(\frac{s_1^4}{n_1^2(n_1 - 1)} + \frac{s_2^4}{n_2^2(n_2 - 1)}\right)} = \frac{\left(\frac{3,92 \times 10^{-6}}{6} + \frac{4,02 \times 10^{-7}}{6}\right)^2}{\left(\frac{0,00198^4}{36(6 - 1)} + \frac{0,00064^4}{36(6 - 1)}\right)} \approx 6$$

	C NaOH (TA, mol/L)	C NaOH (TM, mol/L)
Media	0,10444667	0,10139667
Varianza	3,9246E-06	4,0695E-07
Observaciones	6	6
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	6	
Estadístico t	3,5896709	
Valor crítico de t (dos colas)	2,44691185	

$$t_{6; 0,05} = 2,45$$

$$t = 3,59$$

Como $t > t_{crit} \Rightarrow$ Los promedios de los métodos difieren significativamente

SELECTIVIDAD

El grado por el cual un método puede determinar un analito particular dentro de una mezcla compleja, sin ser interferido por otros componentes de la mezcla.

WELAC / Eurachem: 93

La selectividad analítica se relaciona con “el grado en el que un método puede ser utilizado para determinar analitos particulares en mezclas o matrices sin interferencias de otros componentes de comportamiento similar

Guia Eurachem, 2016

SELECTIVIDAD

- ▶ Un método analítico puede ser, según su selectividad:

Universal: Sensibilidades comparables para un gran grupo de analitos con propiedades muy diversas

Selectivo: cuando la sensibilidad es alta para un grupo de especies químicas y baja o nula para cualquier otra especie.

Específico: cuando es sensible a una sola especie química siendo la sensibilidad baja o nula para cualquier otra

Sensibilidad: qué tanto cambia la señal analítica con un dado cambio de concentración de analito (pendiente de la CC)

SELECTIVIDAD

- ▶ En general, los métodos analíticos son universales o selectivos.
- ▶ Por lo tanto una parte de la señal analítica observada puede ser debida a INTERFERENCIAS
- ▶ Siempre se debe verificar la posible existencia de INTERFERENCIAS; en caso de que sean significativas, deberán ser eliminadas, en caso contrario, se debe asegurar que no afectan a la determinación.

Qué puede causar interferencias en un método:

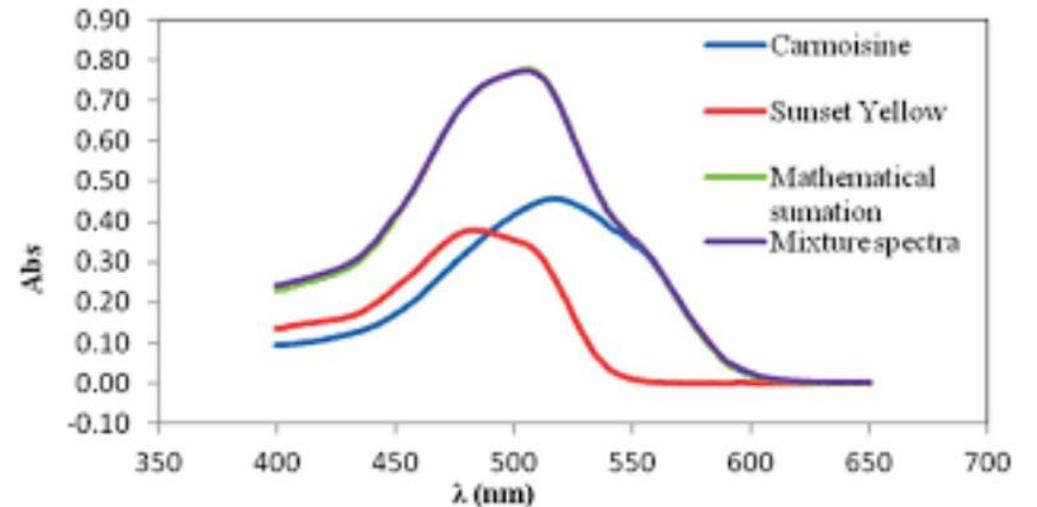
- Comportamiento químico similar
- Comportamiento físico similar
- Reacciones químicas no previstas
- Efectos físicos no previstos

SELECTIVIDAD: interferencias aditivas

- ▶ Aparecen cuando la señal de interferencia se suma/añade (o resta/sustrae) a la señal del analito, y se obtienen valores en exceso (defecto).

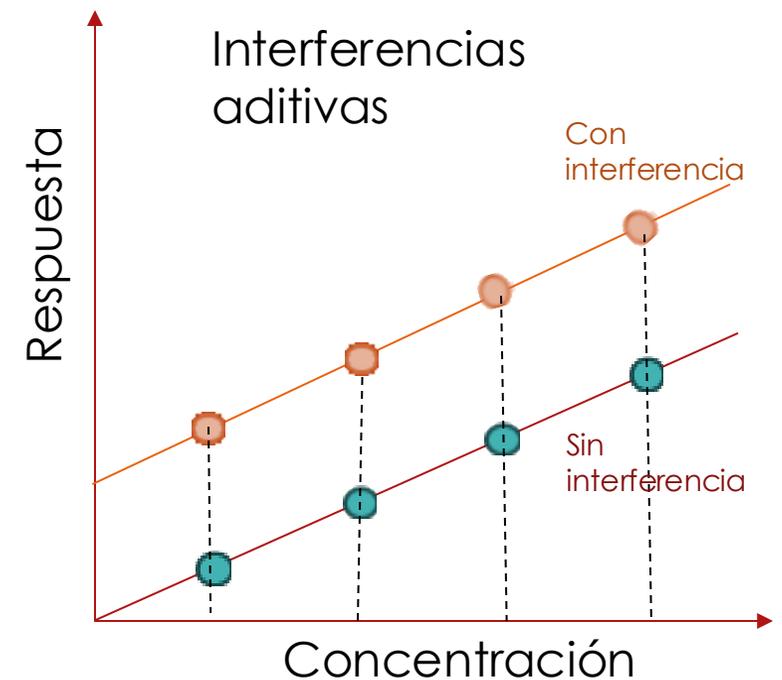
Ejemplo: en una determinación espectrofotométrica UV-Vis, la presencia de otro componente que absorba a la misma λ causará una interferencia aditiva.

- ▶ Pueden causar un error sistemático y por lo tanto están relacionadas con la veracidad del método.



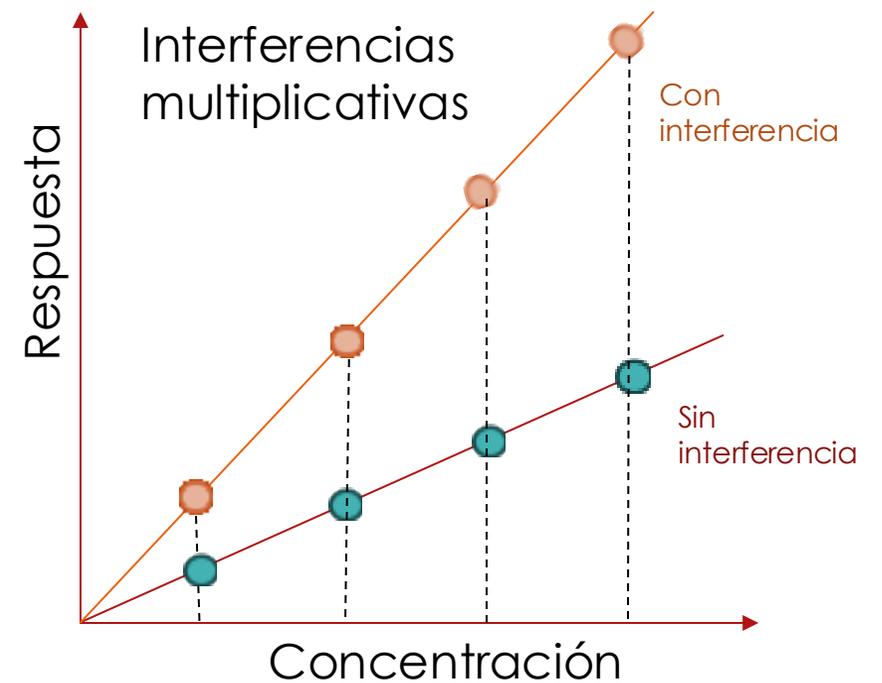
SELECTIVIDAD: interferencias aditivas

- ▶ Para determinar la existencia de interferencias, se prepara un blanco, es decir, una disolución que contiene exactamente la misma composición de la muestra, pero que no contiene el analito. La señal obtenida al medir esta solución se considera el BLANCO DE LA MUESTRA.
- ▶ El blanco puede ser INTERNO o EXTERNO:
 - Blanco Interno: se elimina el analito de la muestra y se mide nuevamente la misma
 - Blanco externo: son muestras similares que no contienen el analito
- ▶ Algunas matrices son muy difíciles de conseguir sin el analito, sobre todo si son matrices complejas o de origen natural => se debe recurrir a materiales de referencia certificados



SELECTIVIDAD: interferencias multiplicativas

- ▶ El efecto es dependiente de la concentración de analito.
- ▶ Cuando esto ocurre, se denomina “efecto matriz”
- ▶ La interferencia puede ser positiva o negativa



SELECTIVIDAD: evaluación de interferencias

- ▶ También se puede analizar la muestra con métodos basados en **principios fisicoquímicos diferentes** y comparar los resultados de ambos métodos.
- ▶ Se evalúa estadísticamente con un test de ordenada y un test de pendiente:

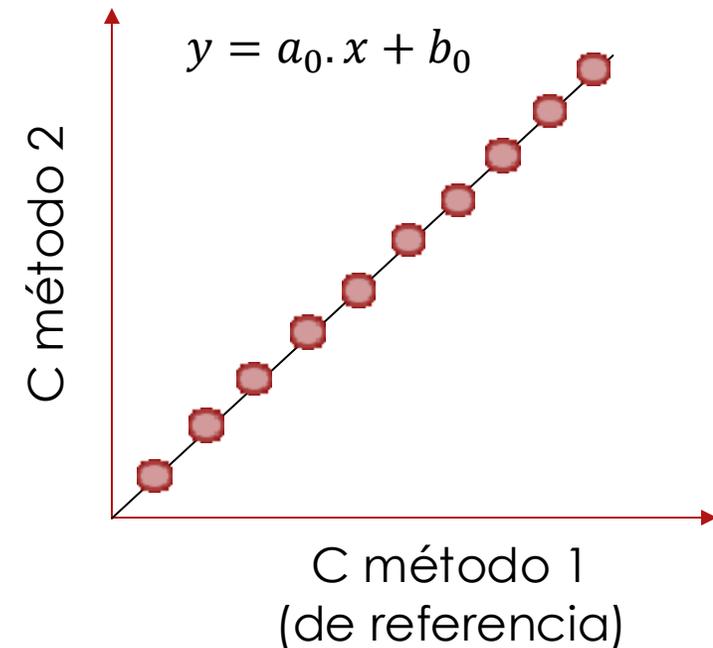
$$H_0: b_0 = 0$$

$$H_1: \text{no } H_0$$

$$H_0: a_0 = 1$$

$$H_1: \text{no } H_0$$

- ▶ Si:
 - $b_0 \neq 0 \Rightarrow$ existe un error sistemático constante por causa de interferencias aditivas
 - $a_0 \neq 1 \Rightarrow$ existe un error sistemático variable (multiplicativo) por efecto matriz
 - $b_0 \neq 0$ y $a_0 \neq 1 \Rightarrow$ existen ambos tipos de interferencias



SELECTIVIDAD: evaluación de interferencias

- ▶ Test para la ordenada en el origen:

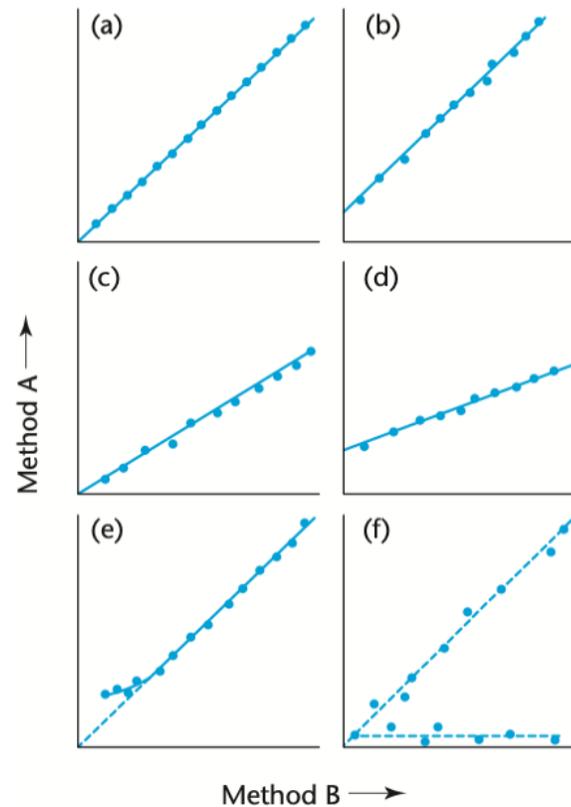
$$\text{Estadístico: } t = \frac{b_0}{s_{b_0}} \quad \text{donde } s_{b_0} = s_{y/x} \sqrt{\frac{\sum x_i^2}{n \sum (x_i - \bar{x})^2}} \quad \text{y } s_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum (y_{\text{medido}} - y_{\text{estimado}})^2}{(n-2)}}$$

- ▶ Test para la pendiente:

$$\text{Estadístico: } t = \frac{a_0 - 1}{s_{a_0}} \quad \text{donde } s_{a_0} = \frac{s_{y/x}}{\sqrt{\sum (x_i - \bar{x})^2}} \quad \text{y } s_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum (y_{\text{medido}} - y_{\text{estimado}})^2}{(n-2)}}$$

En cualquiera de los casos, se acepta H_0 si $t < t_{(1-\frac{\alpha}{2}), (n-2)}$

SELECTIVIDAD: evaluación de interferencias

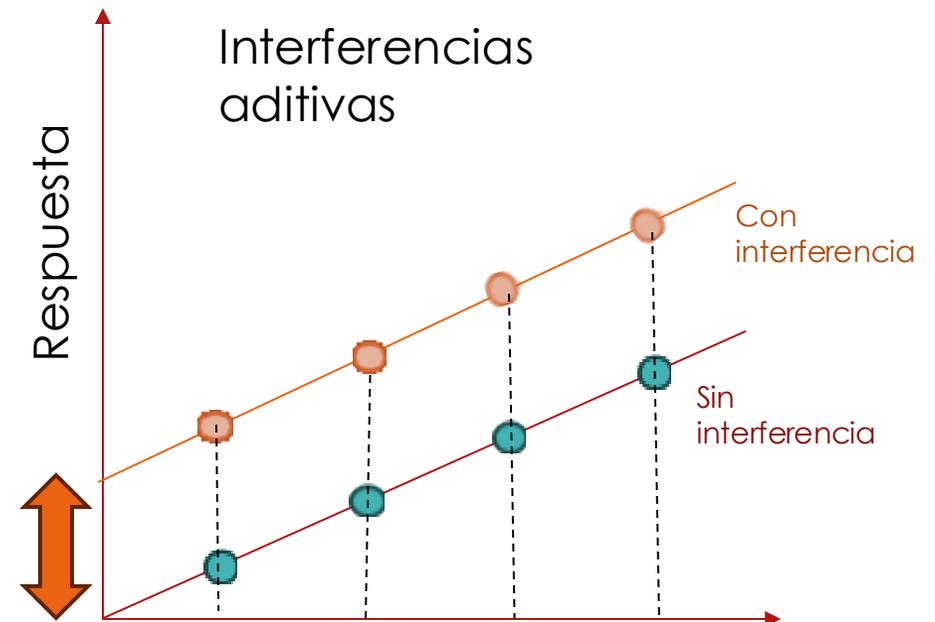


- ▶ (a) Métodos equivalentes
- ▶ (b) Interferencia aditiva
- ▶ (c) Interferencia multiplicativa (efecto matriz)
- ▶ (d) Aditiva y multiplicativa
- ▶ (e) Interferencia a baja concentraciones
- ▶ (f) Analito bajo formas diferentes

Miller & Miller – 6th Ed, 2010

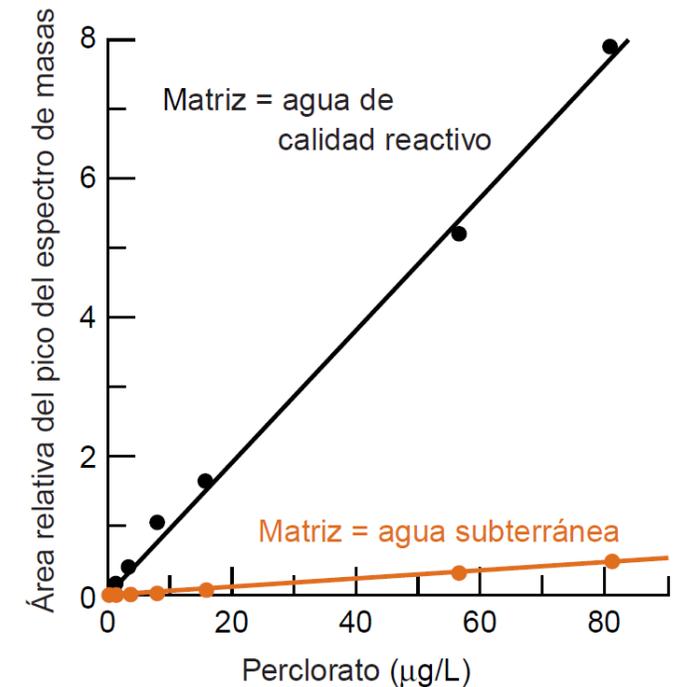
3. SELECTIVIDAD: interferencias aditivas

- ▶ La interferencia aditiva se corrige de la siguiente forma:
 - Restando a las medidas la medida promedio de la señal del blanco
 - Tomando dicho valor como origen en la ordenada de la curva de calibración



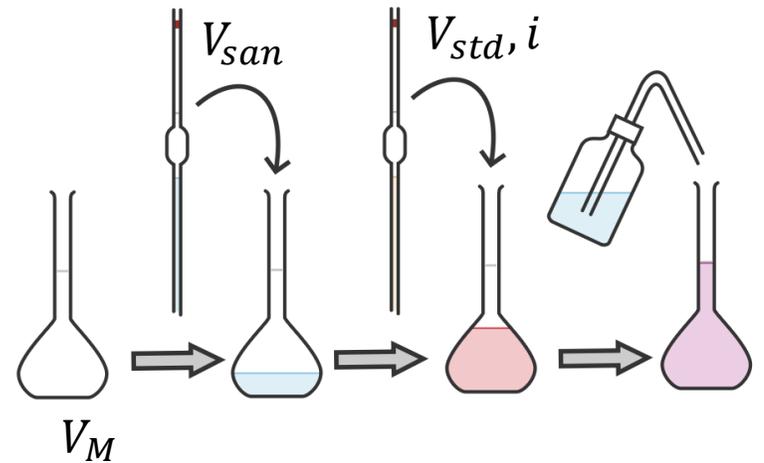
SELECTIVIDAD: interferencias multiplicativas

- ▶ **Método de las adiciones estándar:**
 - Para eliminar los efectos matriz de éste tipo se puede utilizar el **método de adiciones estándar** (calibrado interno), o **utilizando patrones que imiten la matriz de la muestra**.
 - Ninguno de los dos garantiza la eliminación del efecto matriz, porque los estándares externos o internos no tienen la misma historia que la muestra, especialmente en muestras complejas



Environ. Sci. Technol. 2000, 34, 9, 1862–1864

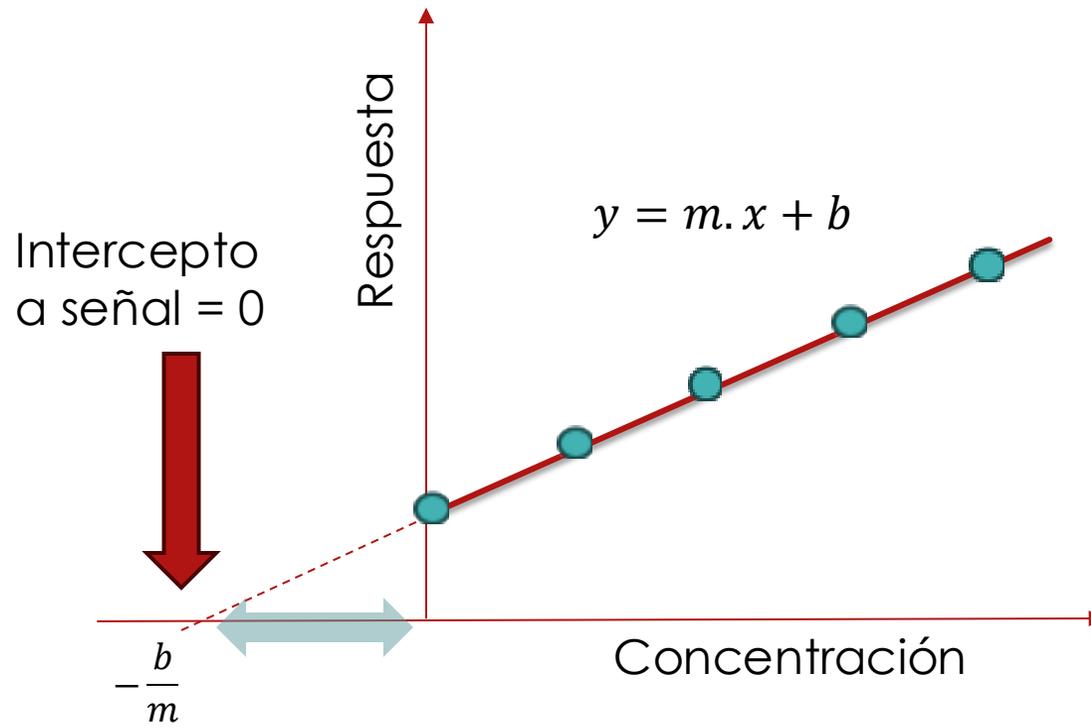
Método de las adiciones estándar



La concentración total de analito x para cada matraz se calcula de la siguiente forma:

$$c'_x = c_x \cdot \frac{V_{san}}{V_M} + c_{std} \cdot \frac{V_{std,i}}{V_M}$$

Método de las adiciones estándar



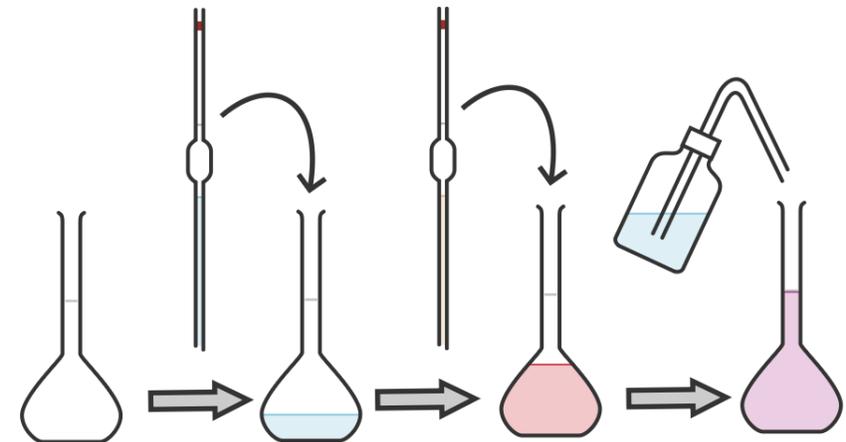
Se puede demostrar que la concentración del analito x en la muestra, se obtiene de la intersección de la recta con el eje horizontal (señal = 0):

Por lo tanto:

$$c_x = \frac{b}{m} \cdot \left(\frac{V_M}{V_{san}} \right)$$

Adiciones Estándar: ejemplo

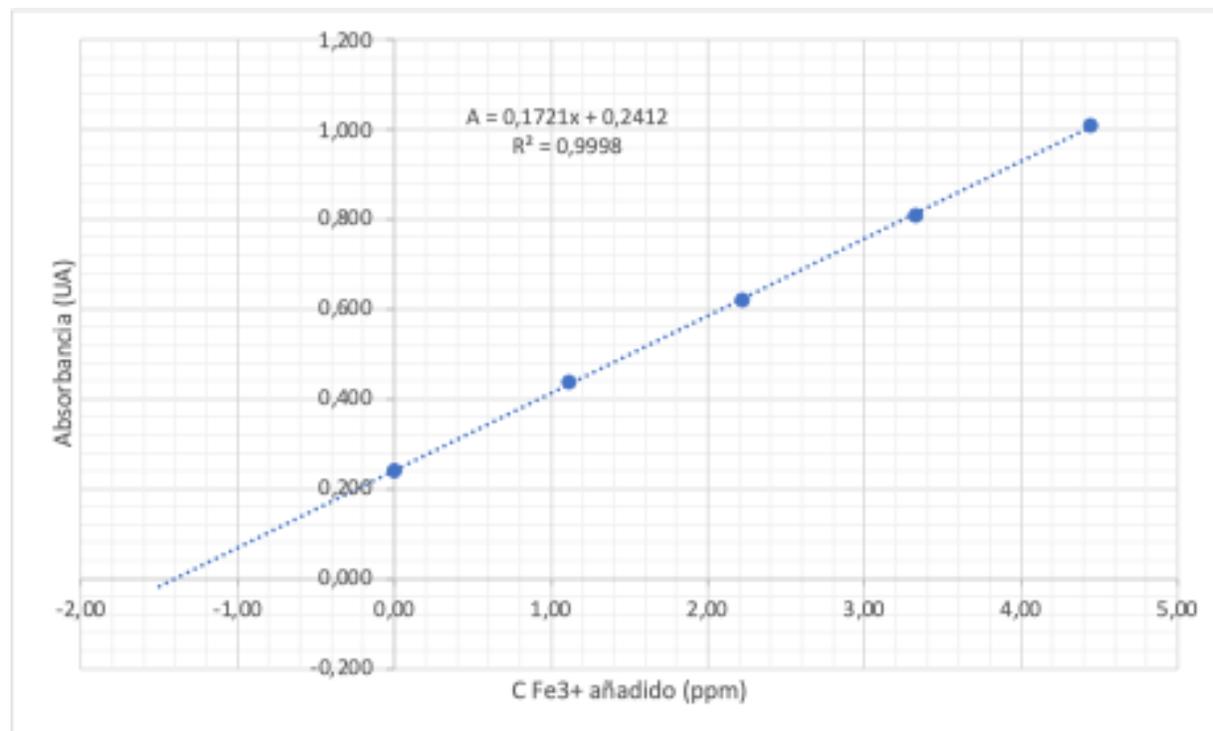
- ▶ Se pipetearon alícuotas de 10,00 mL de una muestra de agua natural en matraces aforados de 50,00 mL. A cada uno se le añadieron exactamente 0,00; 5,00; 10,00; 15,00 y 20,00 mL de una solución estándar que contenía 11,1 ppm de Fe^{3+} , seguido de un exceso de ión tiocianato para dar el complejo rojo $\text{Fe}(\text{SCN})^{2+}$. Después de llevar a volumen con agua, se midieron las absorbancias a una longitud de onda apropiada. Las lecturas de absorbancia, A , para las cinco soluciones fueron 0,240; 0,437; 0,621; 0,809 y 1,009, respectivamente.



¿Cuál es la concentración de Fe^{3+} en la muestra de agua?

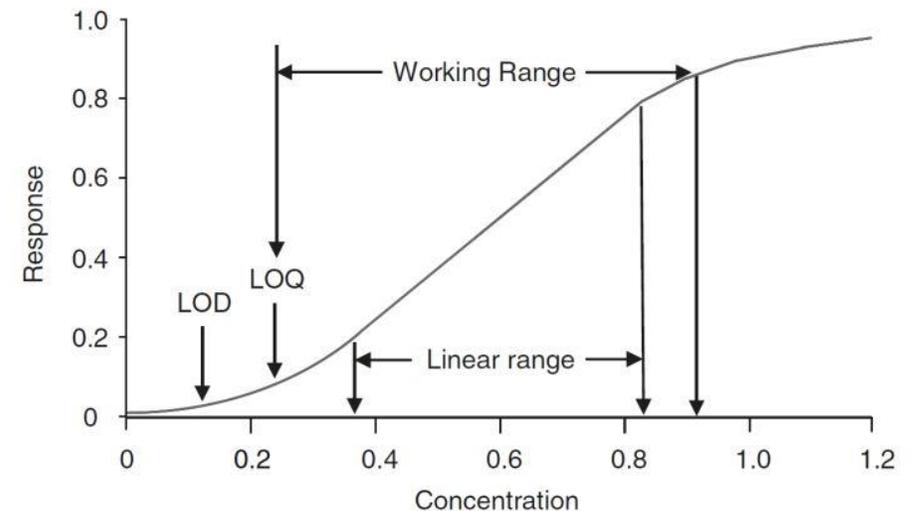
Adiciones Estándar: ejemplo

C patron	11,1 ppm		
V sample	10,00 mL		
V total	50,00 mL		
Vt Fe³⁺ (mL)		C Fe añadido	Absorbancia
0,00		0,00	0,240
5,00		1,11	0,437
10,00		2,22	0,621
15,00		3,33	0,809
20,00		4,44	1,009
	m	0,1721	
	b	0,2412	
Conc Fe³⁺ (dilución)		1,40 ppm	
Conc Fe³⁺ (muestra)		7,01 ppm	



LÍMITES DE DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN

- ▶ Se definen a efectos de poder determinar si un analito está presente en una muestra y en qué condiciones es posible determinar cuantitativamente dicho analito
- ▶ Pese a ser universalmente conocidos, calculados, informados y solicitados por los usuarios de los laboratorios, no existe un criterio único acerca de cómo establecer dichos límites.

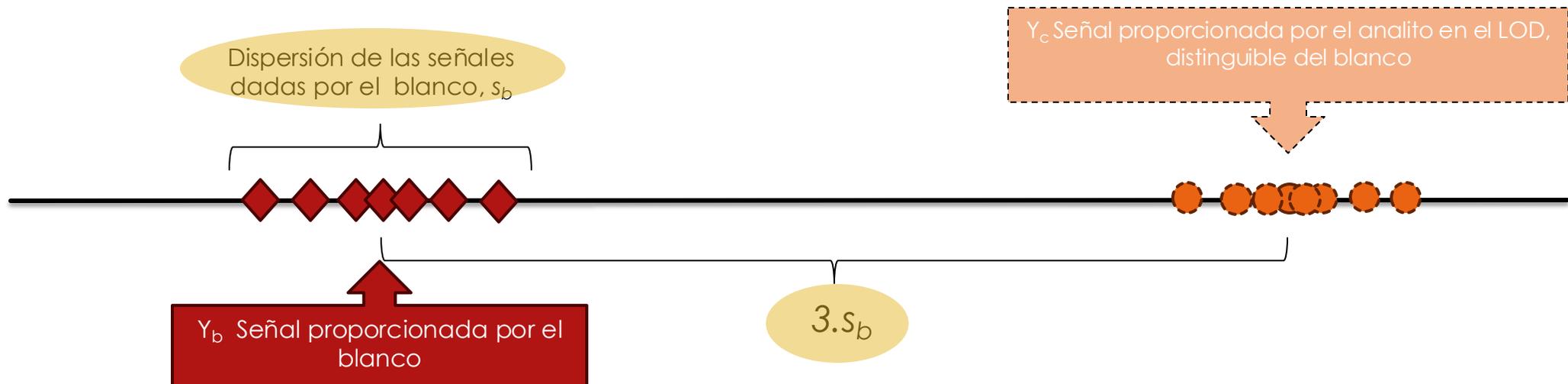


LÍMITE DE DETECCIÓN

- ▶ **Límite de Detección (LOD):** Es la concentración mínima de un analito en una muestra que puede ser detectada, pero no necesariamente cuantificada, bajo las condiciones experimentales establecidas.
- ▶ El límite de detección del instrumento puede basarse en el análisis de una muestra, usualmente un **blanco de reactivo**, sometido directamente al instrumento (es decir, omitiendo cualquier paso de preparación de muestra), o en **la relación señal/ruido** en p.ej. un cromatograma.

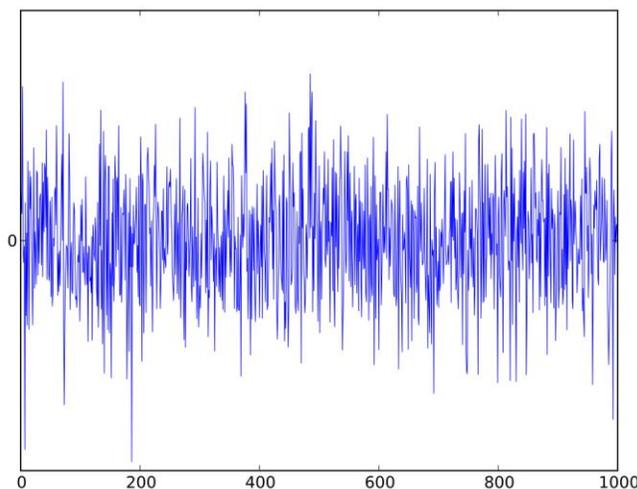
LÍMITE DE DETECCIÓN

- ▶ Básicamente el límite de detección es la **mínima concentración de analito** que proporciona una **señal analítica significativamente distinta** de la señal del blanco.
- ▶ En base a esto, se puede definir el LOD en función de la dispersión de los valores de las señales del blanco, como por ejemplo, 3 veces s_b

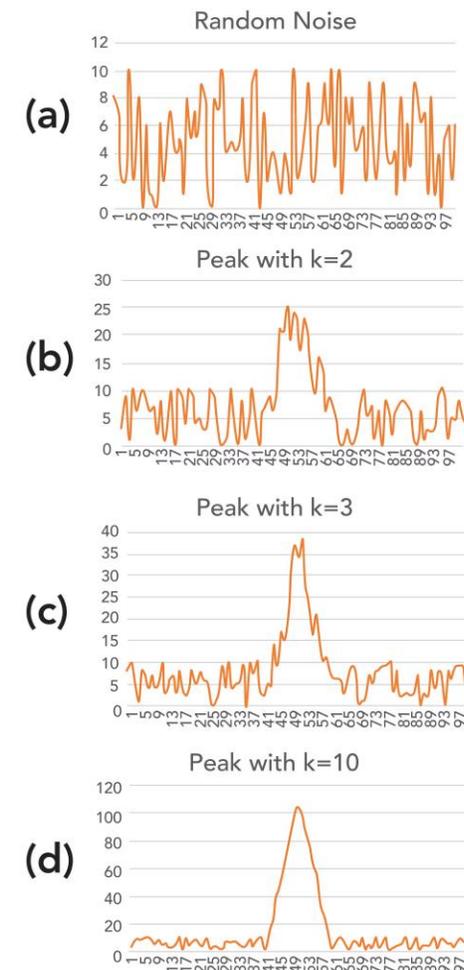
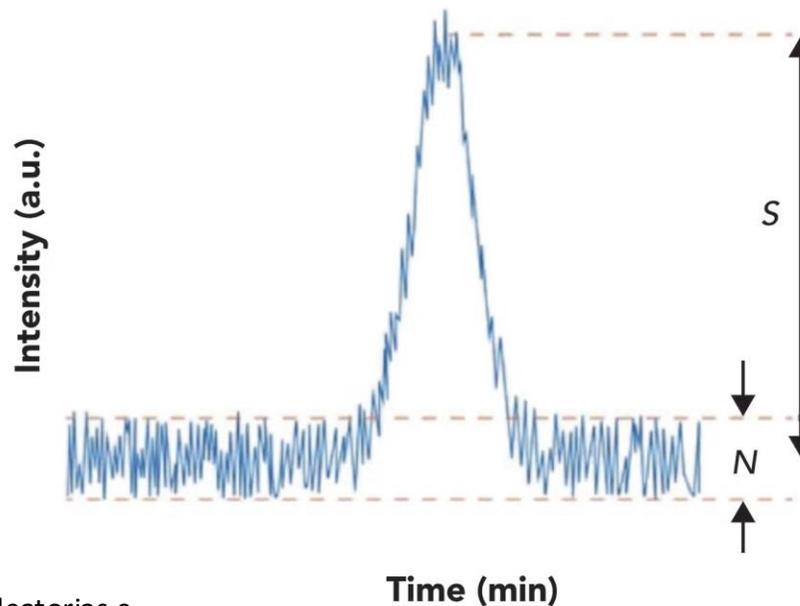


LÍMITE DE DETECCIÓN

► Relación señal / ruido



El **ruido instrumental** se refiere a las fluctuaciones aleatorias e indeseadas en la señal de un instrumento de medición, originadas por los propios componentes del sistema, como fuentes de energía, transductores y circuitos electrónicos.



LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN

- ▶ **El Límite de Cuantificación (LOQ)** es el mínimo nivel de analito que puede ser determinado con desempeño aceptable.
- ▶ “Desempeño aceptable” es considerado de diversas formas por diferentes guías incluyendo precisión y veracidad, o incertidumbre de medición.

LÍMITES DE DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN

- ▶ **Muestras adecuadas para estimar LOD y LOQ:**
 - Las muestras usadas deberían ser preferentemente o bien **a) muestras blanco**, es decir, muestras que no tengan cantidades detectables de analito, o **b) muestras de ensayo con concentraciones de analito cercanas o por debajo del LOQ esperable**.
 - Las muestras blanco funcionan bien en **métodos en los cuales se obtiene una señal medible para un blanco**, como son la espectrofotometría y la espectroscopía atómica.
 - Sin embargo, para técnicas como la cromatografía que se basan en detectar un pico por encima del ruido, **se requieren muestras con niveles de concentración cercanas o por encima del LOD**.

LÍMITES DE DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN

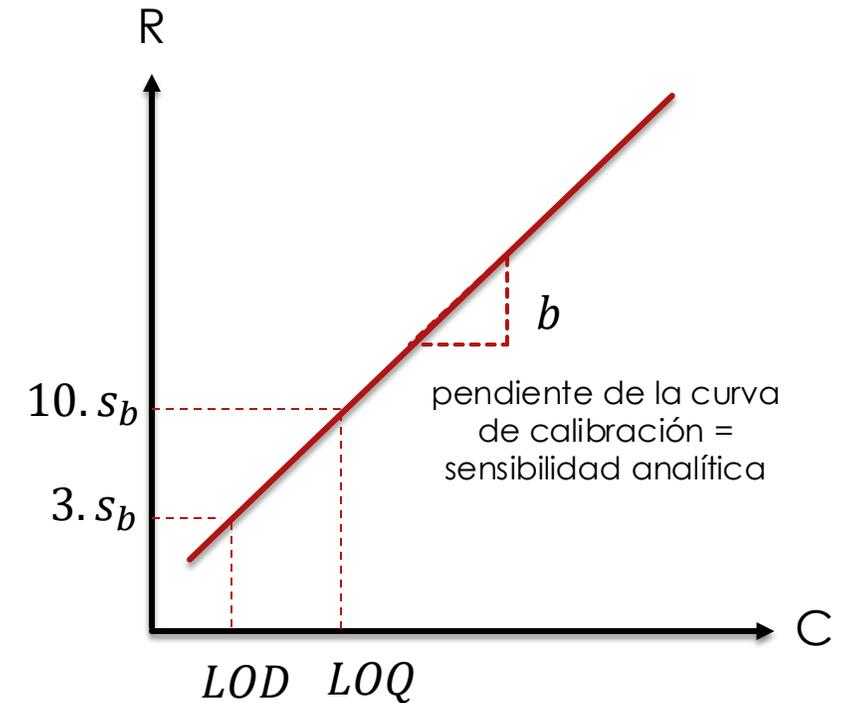
- Determinación del LOD y LOQ con curva de calibración:

$$LOD = \frac{3 \cdot s_b}{b} \quad LOQ = \frac{10 \cdot s_b}{b}$$

Donde:

s_b = desviación estándar de la señal del blanco (número elevado de muestras del blanco)

b = pendiente de la curva de calibración



LÍMITES: ejemplo

- ▶ Para un método analítico dado, la curva de calibración tiene la ecuación

$$R = 0,6352.C \text{ (ppm)}$$

10 medidas de blanco de la muestra dan las siguientes respuestas:

Lectura	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
R	0,001	0,000	0,002	0,001	0,003	0,005	0,000	0,003	0,004	0,001

Se calcula s_b fácilmente: 0,00169967

$$LOD = \frac{3 \cdot s_b}{b} = \frac{3 * 0,00169967}{0,6352} = 0,008 \text{ ppm}$$

$$LOQ = \frac{10 \cdot s_b}{b} = \frac{10 * 0,00169967}{0,6352} = 0,027 \text{ ppm}$$

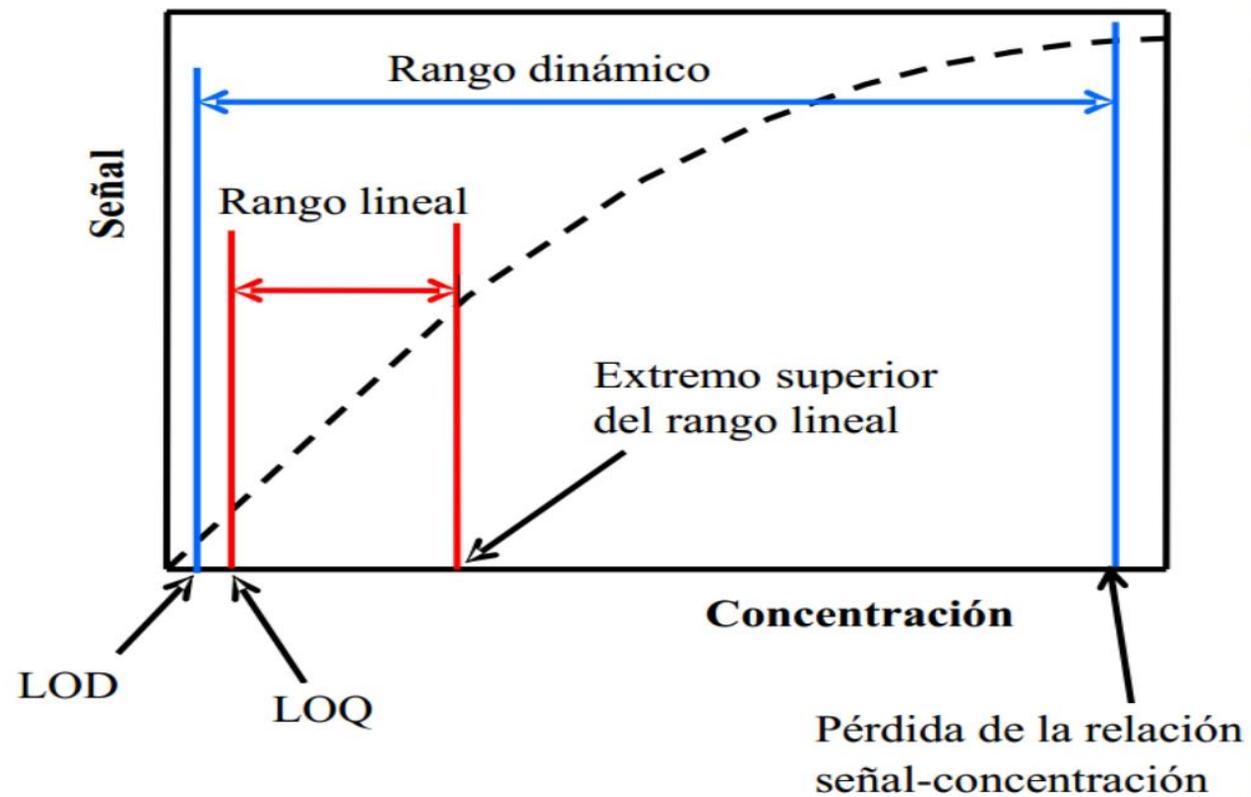
LÍMITES DE DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN

- ▶ La forma de calcular estos límites es arbitraria y depende de numerosos factores.
- ▶ El procedimiento elegido para el cálculo está fuertemente condicionado por la matriz, el riesgo asociado a la presencia de analito, la metodología analítica a utilizar y las necesidades del usuario.
- ▶ Nunca se debe informar un LOD o LOQ sin aclarar cuál fue el criterio utilizado.
- ▶ En general se recomienda seguir las sugerencias de los organismos o normativas que corresponda.

LINEALIDAD Y RANGO DINÁMICO

- ▶ La **linealidad** es la capacidad de un método de ensayo de obtener dentro de un rango dado **una respuesta directamente proporcional a la concentración de analito** en estudio.
- ▶ El **rango dinámico** de un método es el **intervalo de concentración en el que puede obtenerse una exactitud adecuada al objetivo del método**.
- ▶ El **rango de trabajo** debe ser **definido antes de comenzar la validación**. Usualmente deriva de las especificaciones del producto o de las concentraciones esperadas del analito y está definido en el procedimiento a validar.
- ▶ Es común que el **rango de trabajo sea entre 50% y 150%** del valor esperado, pero esto depende mucho de la industria.

RANGO DINÁMICO



RANGO DE TRABAJO

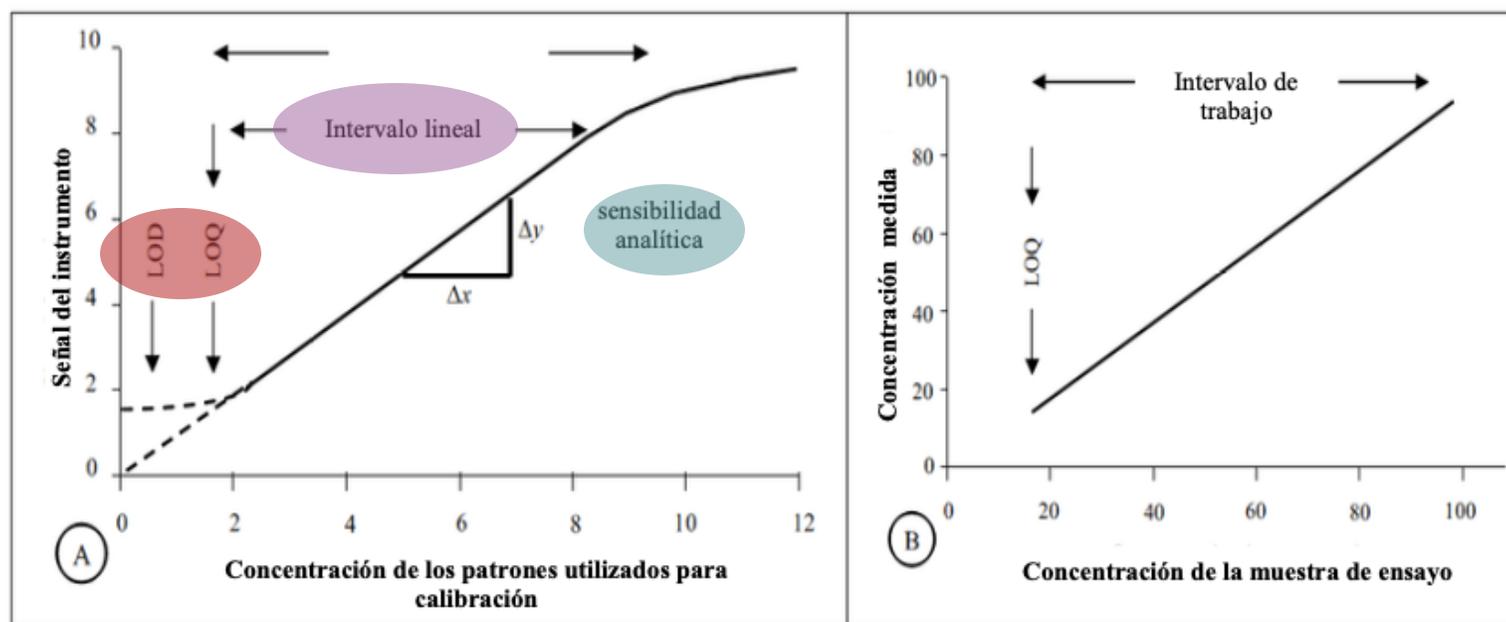


Figura 3 – A) Ejemplo típico de una curva de respuesta obtenida con un método instrumental. Se identifican las características de desempeño ‘intervalo de trabajo’, ‘intervalo lineal’, ‘sensibilidad analítica’, ‘LOD’ y ‘LOQ’. B) Ejemplo típico de una curva obtenida con un procedimiento de medición en el que se representa la concentración medida en función de la concentración de la muestra de ensayo.

LINEALIDAD

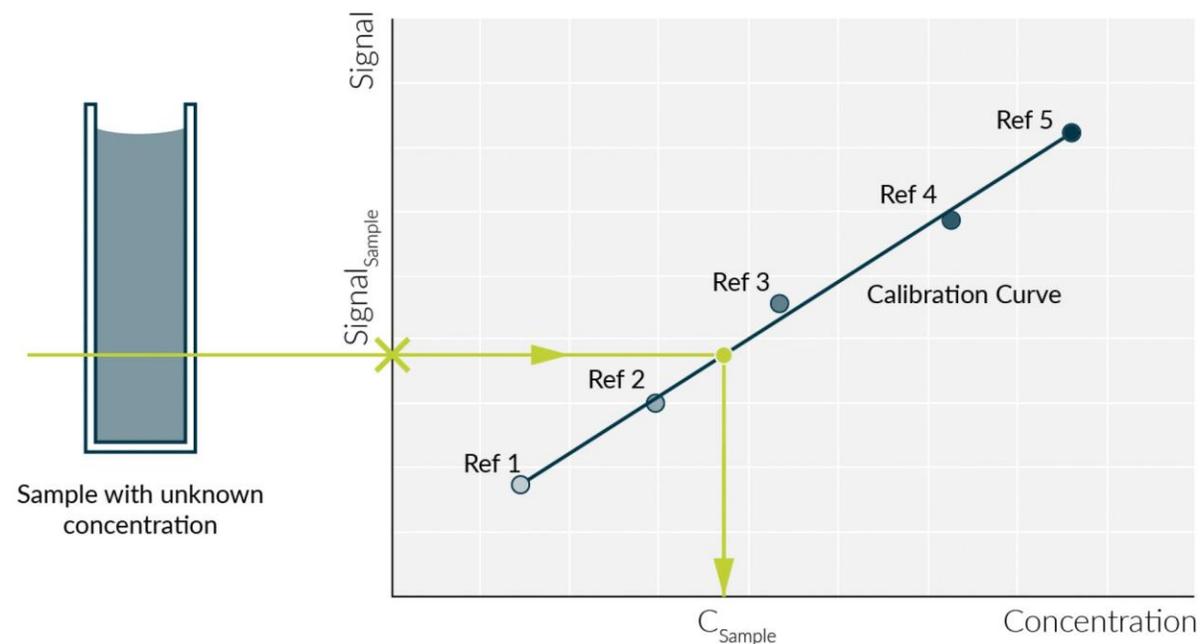
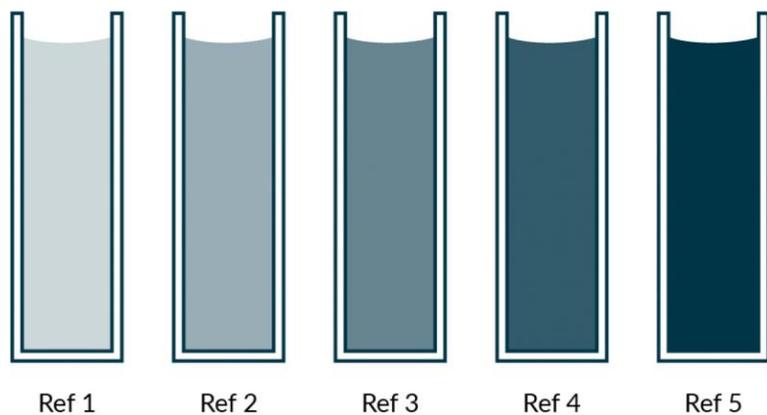
- ▶ Es de interés para los métodos que emplean calibración analítica. No así para los métodos absolutos o basados en estequiometrías definidas (gravimetrías, volumetrías).
- ▶ Define la capacidad de un método de proveer respuesta proporcional con la concentración (o masa).
- ▶ Es conveniente ya que simplifica los cálculos. La respuesta proporcional siempre implica

$$R = k.C$$

- ▶ Muchos modelos teóricos proponen dicho comportamiento (ej. Ley de Bouguer-Lambert-Beer).

LINEALIDAD Y CURVA DE CALIBRACIÓN

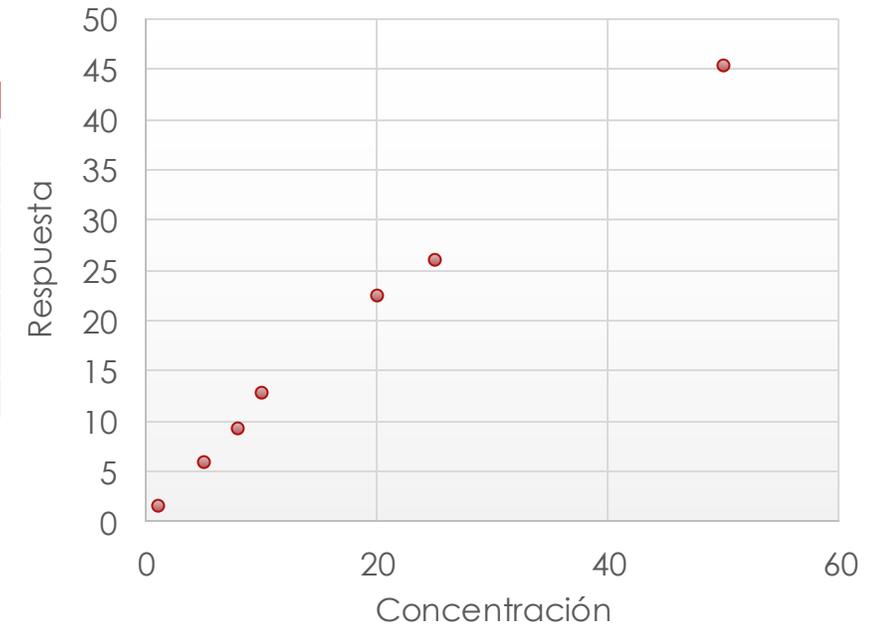
- ▶ Calibración directa (patrones externos):



LINEALIDAD Y CURVA DE CALIBRACIÓN

- **Calibración:** operación que establece la **relación** entre una propiedad del patrón de medida (masa, concentración) y la respuesta del instrumento con el cual se lo mide.

Concentración	Lectura
1.00	1.62
5.00	5.99
8.00	9.24
10.00	12.89
20.00	22.63
25.00	26.20
50.00	45.46



¿Cómo elegir el modelo de mejor ajuste a los puntos experimentales?

LINEALIDAD Y CURVA DE CALIBRACIÓN

- ▶ Deberá ser seleccionada dependiendo de la **calidad de ajuste** que se pretenda. **Cuanto más puntos contenga la curva, se puede esperar un mejor ajuste**; sin embargo, aumenta considerablemente la cantidad de trabajo experimental en virtud de la cantidad de disoluciones a preparar y de medidas a efectuar.
- ▶ En general **se comienza trabajando con 5 o más puntos durante la etapa de desarrollo de la metodología** y posteriormente para el trabajo de rutina se puede disminuir esta cantidad dependiendo de los resultados obtenidos.
- ▶ Si se halla que la mejor función de calibración es una recta, y que esta relación es estable y reproducible día a día, **se suele emplear en el trabajo de rutina una calibración por dos puntos, de los cuales uno corresponde a 0.**

LINEALIDAD: MODELO DE MEJOR AJUSTE

Es hallar (con fundamento estadístico) un modelo matemático (función) **que mejor se ajuste a los puntos obtenidos en la calibración.**

- 1) **Inspección visual de los puntos.**
- 2) **Uso del coeficiente de determinación (R^2):** parámetro estadístico relacionado con el ajuste del modelo a los puntos experimentales.
- 3) **Estudio de los residuos:** Se observa el comportamiento de los residuos, que se definen como la diferencia entre la respuesta real y la respuesta predicha por el modelo, para cada nivel de concentración.
- 4) **Estudio de la varianza respecto a la regresión.**
- 5) **Pruebas de hipótesis** (prueba de *lack of fit* o también llamada LOF: falta de ajuste).

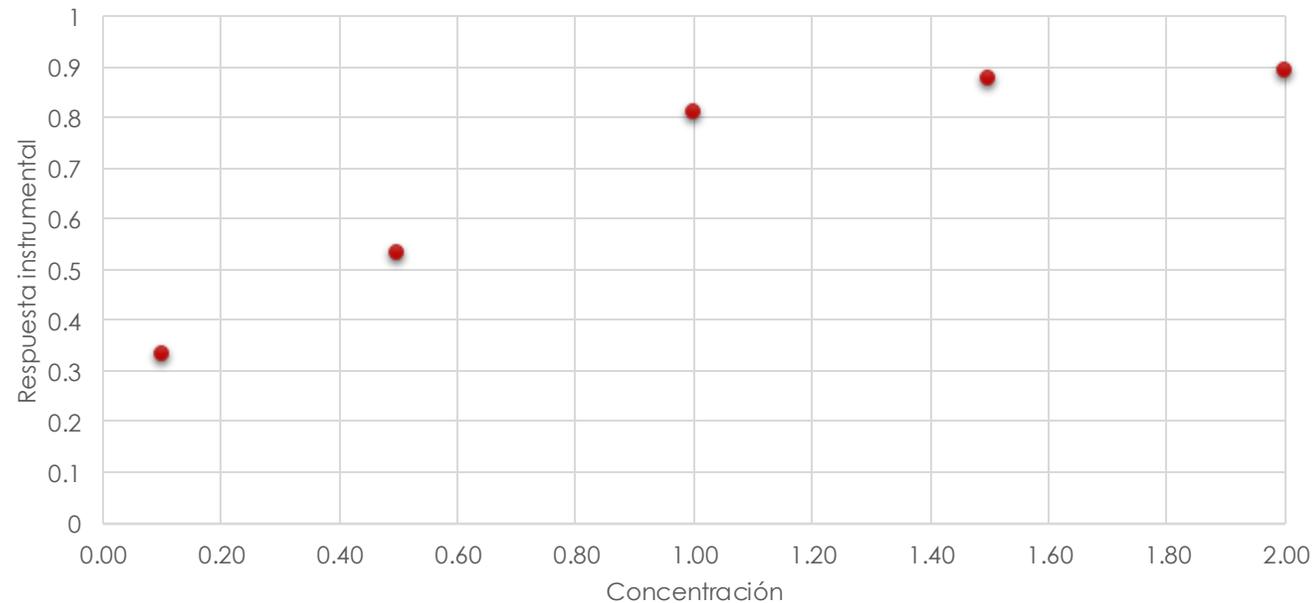
LINEALIDAD: MODELO DE MEJOR AJUSTE

► MODELOS DE AJUSTE HABITUALES EN QUÍMICA ANALÍTICA:

- LINEAL SIN ORDENADA EN EL ORIGEN: $y = \beta_1 \cdot x$
- LINEAL CON ORDENADA EN EL ORIGEN: $y = \beta_1 \cdot x + \beta_0$
- CUADRÁTICO SIN ORDENADA EN EL ORIGEN: $y = \beta_2 \cdot x^2 + \beta_1 \cdot x$
- CUADRÁTICO CON ORDENADA EN EL ORIGEN: $y = \beta_2 \cdot x^2 + \beta_1 \cdot x + \beta_0$

LINEALIDAD: INSPECCIÓN VISUAL

- ▶ Lo primero y más sencillo de realizar es visualizar los puntos y observar su comportamiento:



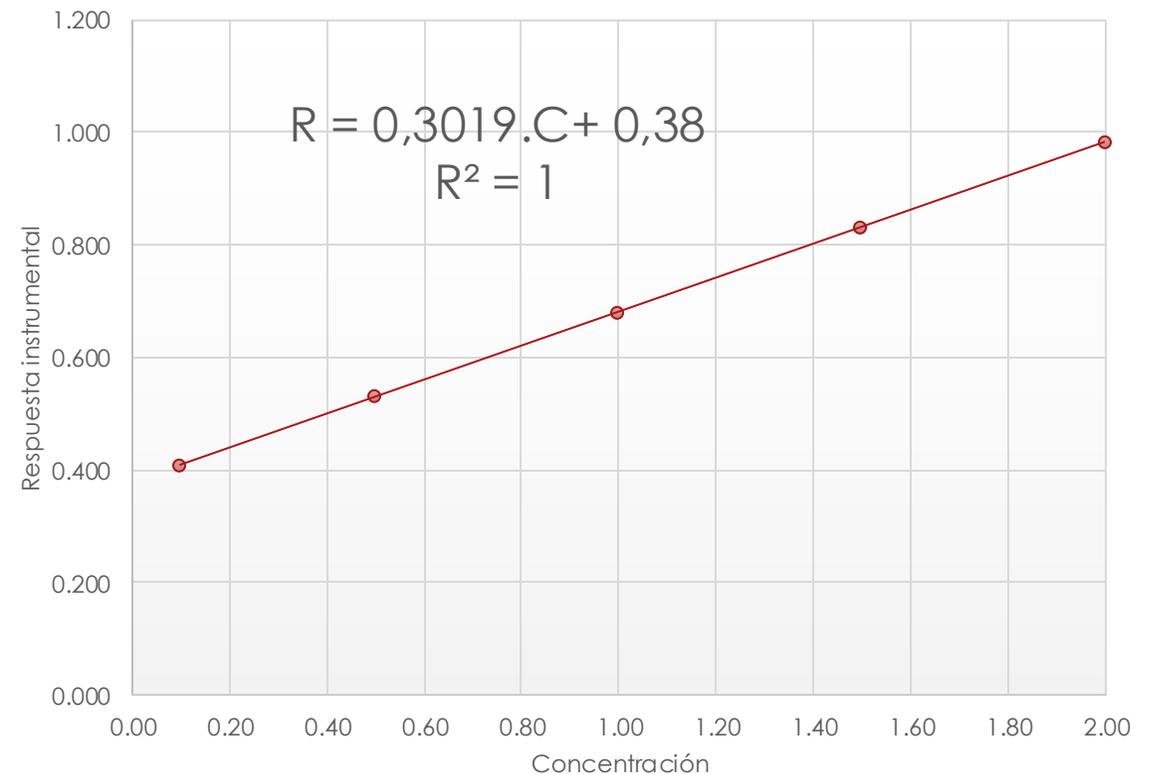
El cerebro humano es un excelente reconocedor de patrones y no se debe soslayar la etapa de observación visual y el juicio que surge de la misma. La conclusión que se obtenga de los tratamientos estadísticos debería entonces acompañar lo observado

LINEALIDAD: VALOR DE R²

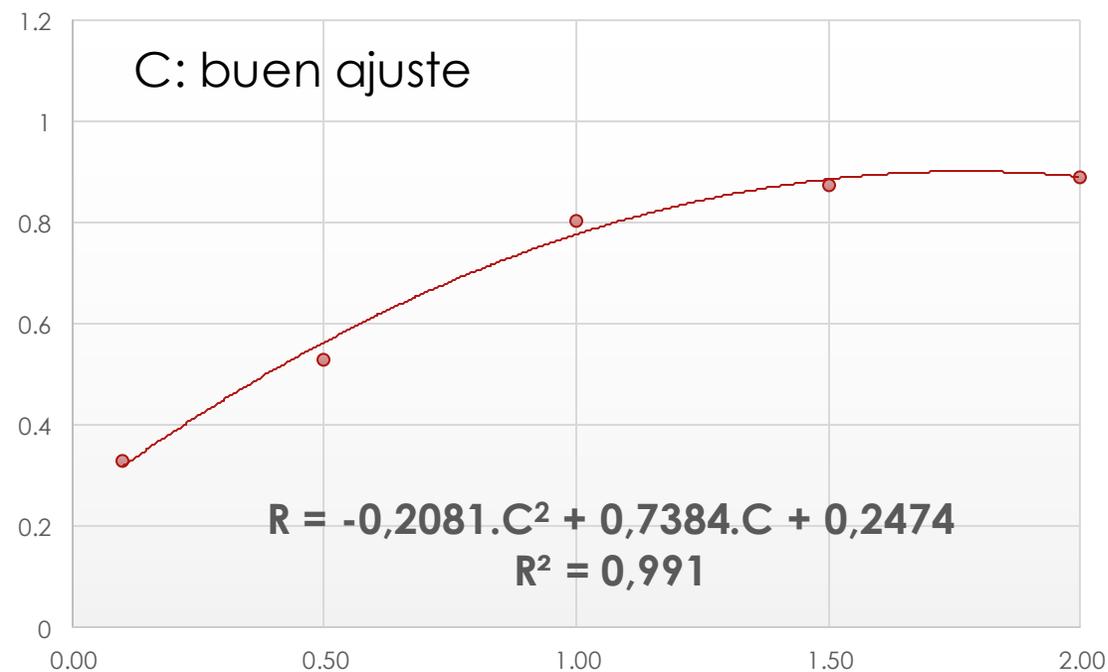
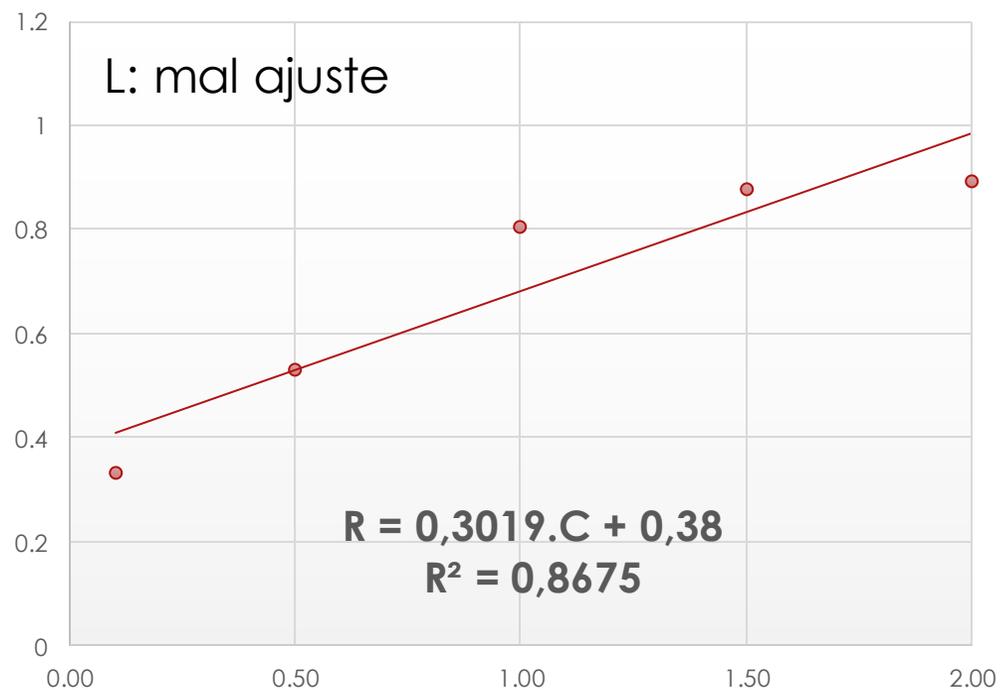
- ▶ R coeficiente de correlación:

$$R = \frac{\sum_i \{(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})\}}{\sqrt{\{[\sum_i (x_i - \bar{x})^2][\sum_i (y_i - \bar{y})^2]\}}}$$

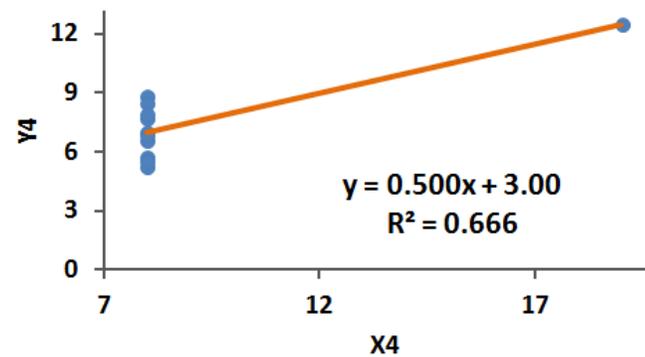
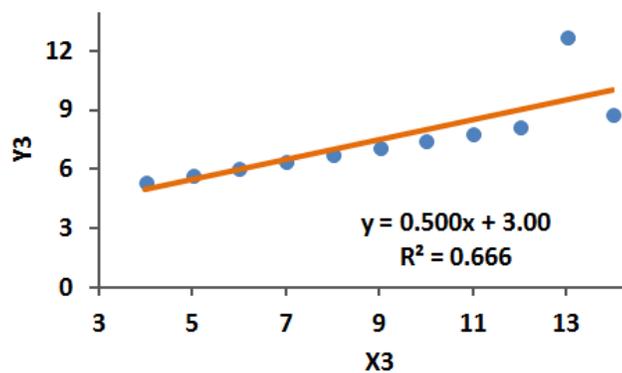
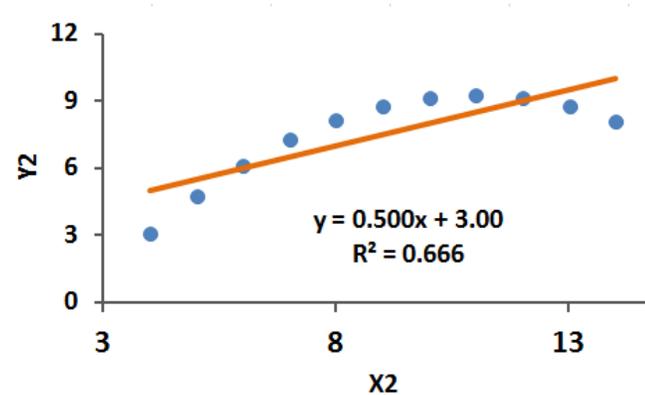
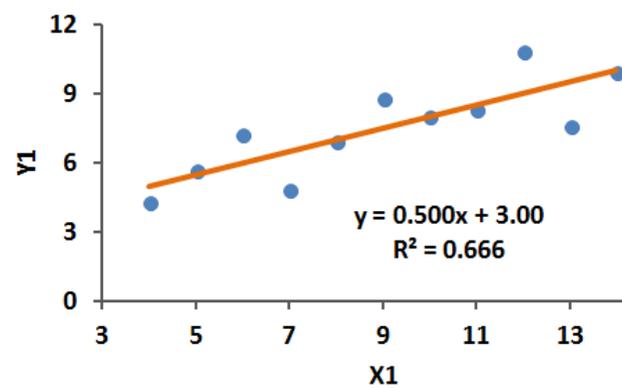
- ▶ R² = coeficiente de determinación
- ▶ R² = 1 => Ajuste perfecto del modelo a los puntos experimentales.
- ▶ Valores de R² mayores de 0,99 se consideran buen ajuste.



LINEALIDAD: VALOR DE R^2



INSPECCION VISUAL Y R^2

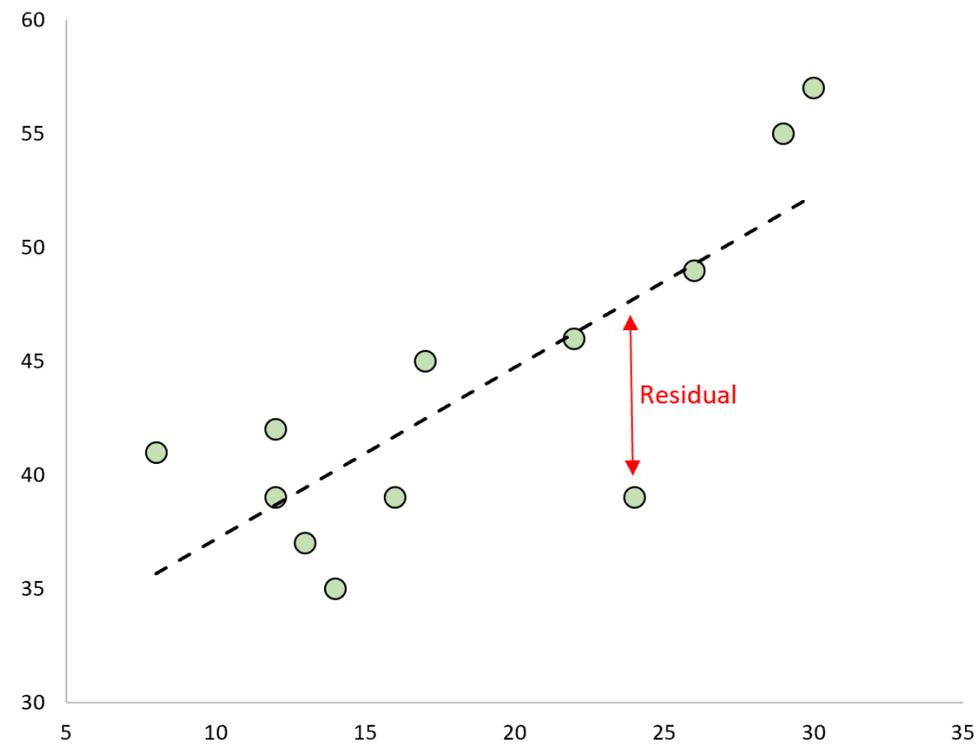


El cuarteto de
Anscombe

LINEALIDAD: ESTUDIO DE LOS RESIDUOS

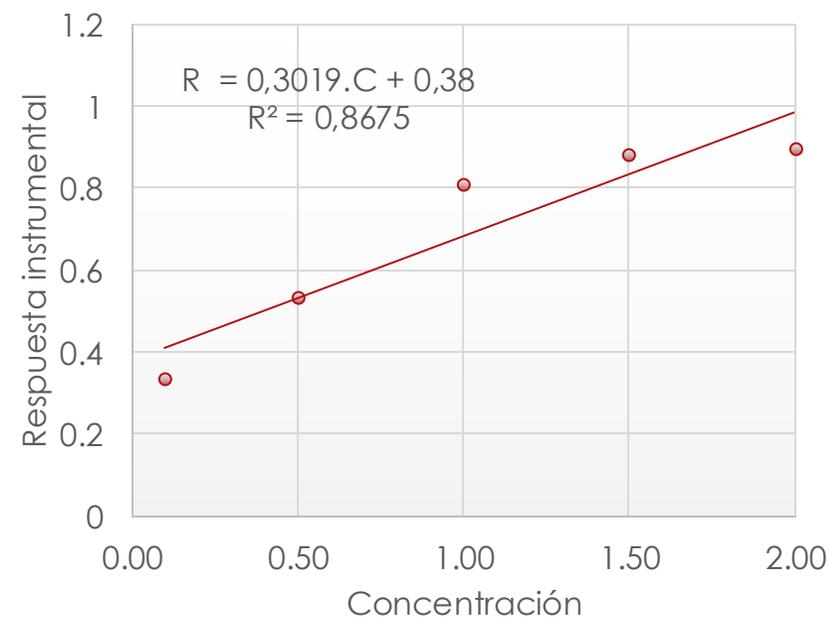
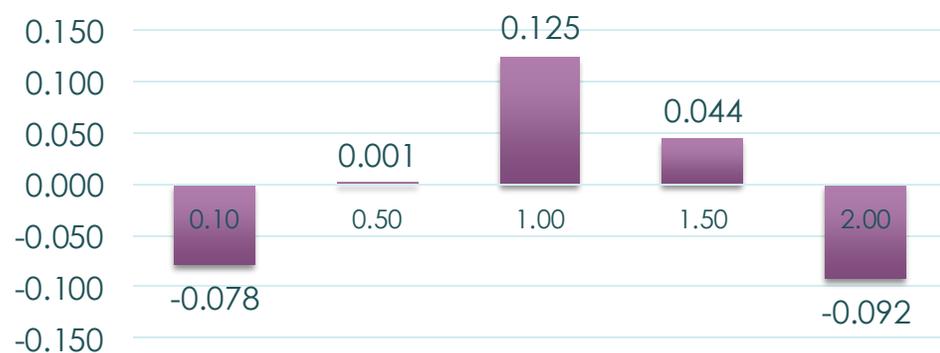
- ▶ Los residuos (o residuales) son la distancia entre el **punto experimental y el estimado por el modelo correspondiente** a ese valor de la variable independiente.

$$\text{residuo} = (y_i - \hat{y}_i)$$

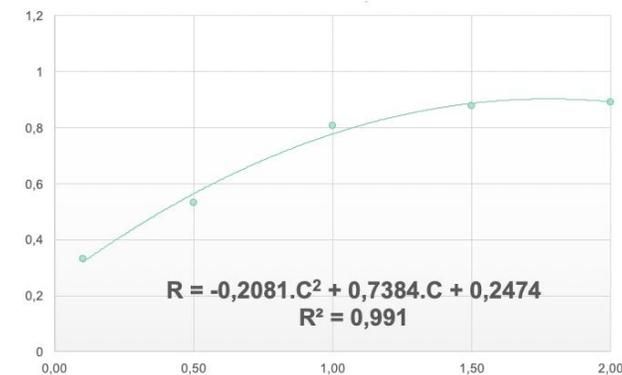
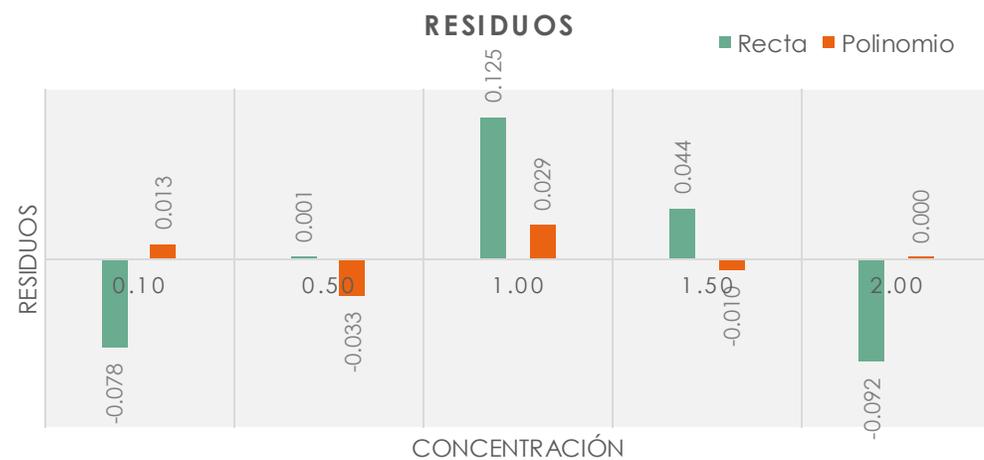
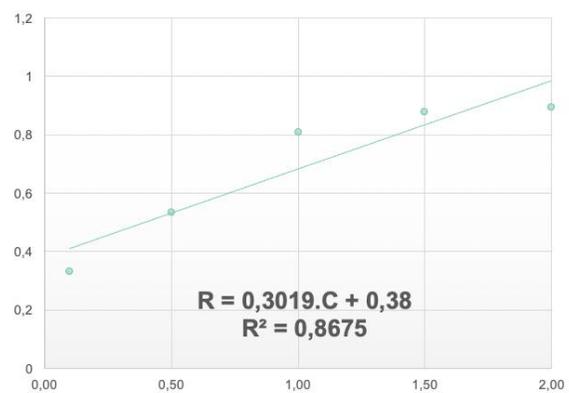


LINEALIDAD: ESTUDIO DE LOS RESIDUOS

C	Respuesta	\hat{y} recta	Residuos recta
0.10	0.332	0.410	-0.078
0.50	0.532	0.531	0.001
1.00	0.807	0.682	0.125
1.50	0.877	0.833	0.044
2.00	0.892	0.984	-0.092



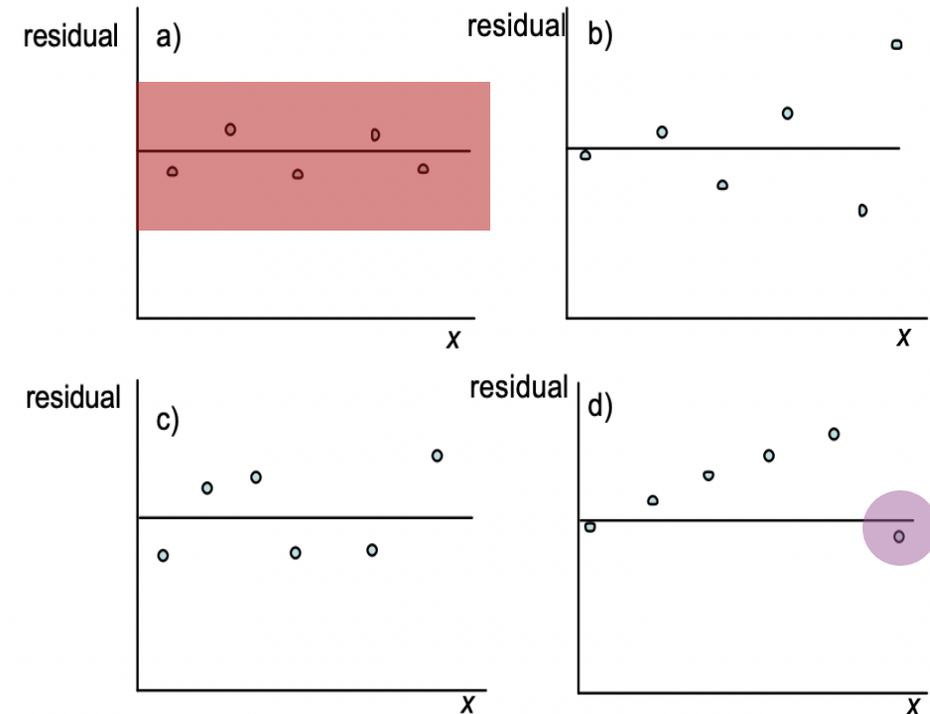
C	Respuesta	\hat{y} recta	\hat{y} polinomio	residuos recta	residuos polinomio
0.10	0.332	0.410	0.319	-0.078	0.013
0.50	0.532	0.531	0.565	0.001	-0.033
1.00	0.807	0.682	0.778	0.125	0.029
1.50	0.877	0.833	0.887	0.044	-0.010
2.00	0.892	0.984	0.892	-0.092	0.000



ESTUDIO DE LOS RESIDUOS

IDEALMENTE:

- ▶ El número de residuales positivos es aproximadamente igual al número de residuales negativos,
- ▶ Los residuales están distribuidos aleatoriamente alrededor de 0,
- ▶ Los residuales tienen todos aproximadamente el mismo valor absoluto,
- ▶ Los residuales no muestran tendencias.



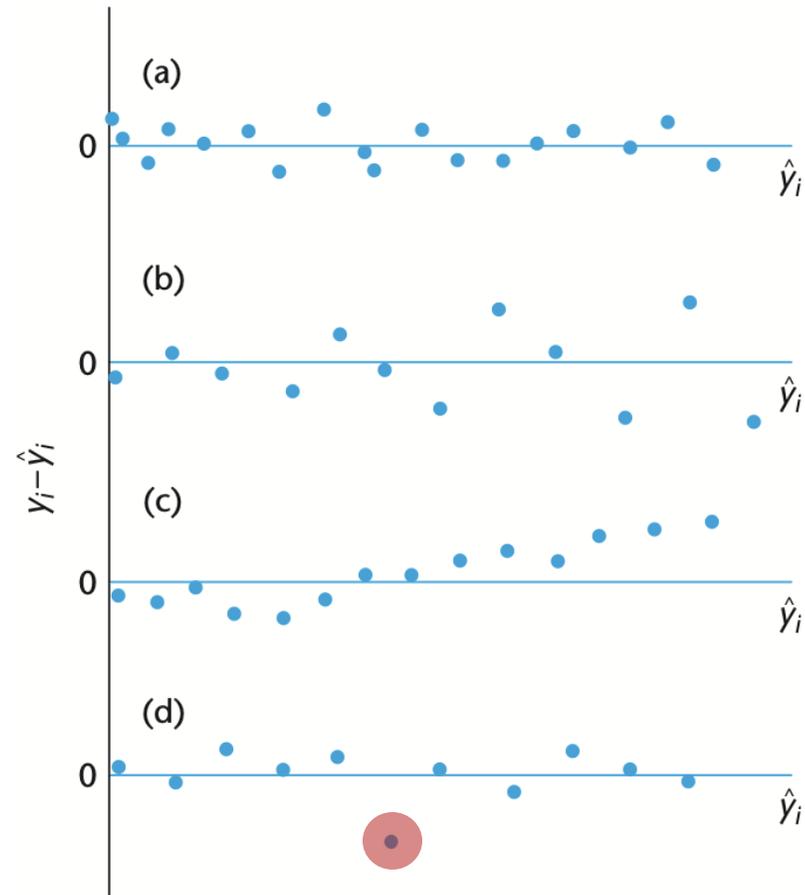
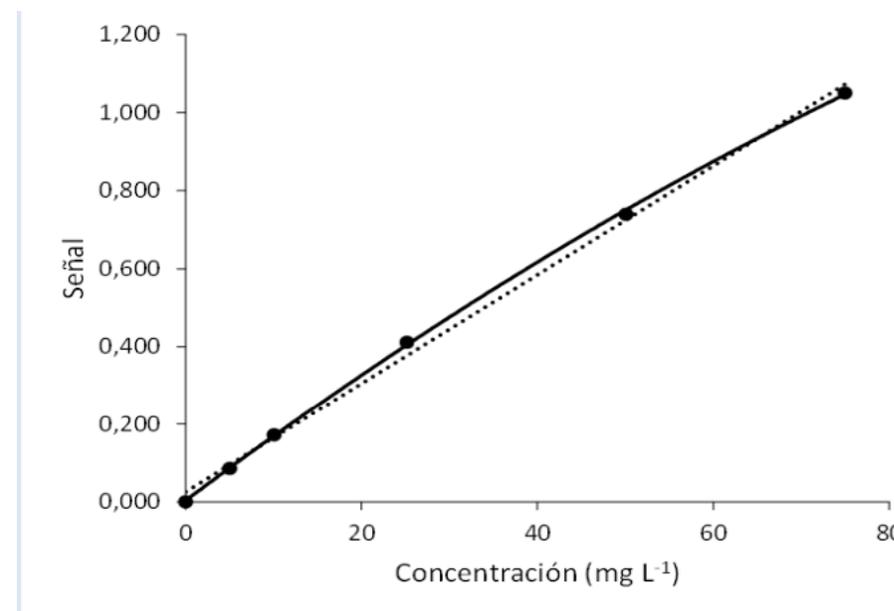


Figure 5.15 Residual plots in regression diagnosis: (a) satisfactory distribution of residuals; (b) the residuals tend to grow as y_i grows, suggesting that a weighted regression plot would be suitable; (c) the residuals show a trend, first becoming more negative, then passing through zero, and then becoming more positive as y_i increases, suggesting that a (different) curve should be plotted; and (d) a satisfactory plot, except that y_6 might be an outlier.

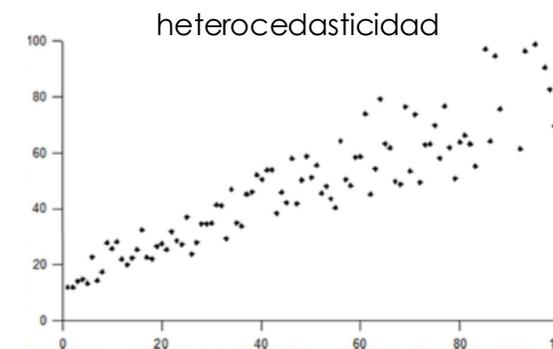
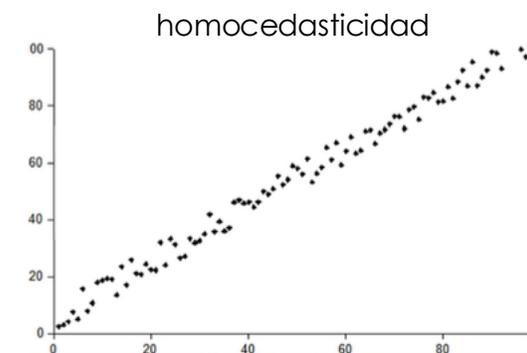
LINEALIDAD: PRUEBAS DE HIPÓTESIS

- ▶ Prueba de FALTA DE AJUSTE (test de *Lack-of-fit* o test of LOF):
 - Para un dado modelo de regresión, permite aceptarlo o rechazarlo sobre una base estadística.
 - Como todo test o prueba de hipótesis, el usuario debe elegir un nivel de significación (α) y por lo tanto un nivel de confianza (100. (1 - α)%).
 - 100. (1 - α)% es la probabilidad de aceptar H_0 siendo H_0 verdadera.
 - En Química Analítica se suele elegir $\alpha = 0,05$, o sea, el nivel de confianza es del 95%.



LINEALIDAD: TEST DE LOF

- ▶ Se dispone de mediciones de los valores de R para varios niveles de C.
- ▶ Para cada nivel de C (C_i) se dispone de varios valores de R ($R_{i,j}$) cuyo promedio será \bar{R}_i con varianza s_i^2
- ▶ Dependiendo del caso, la repetición puede ser sólo de la medida instrumental o del proceso analítico completo.
- ▶ Es condición que las varianzas sean homogéneas (homocedasticidad) => Se puede verificar mediante tests estadísticos (ej Barlett).



LINEALIDAD: TEST DE LOF

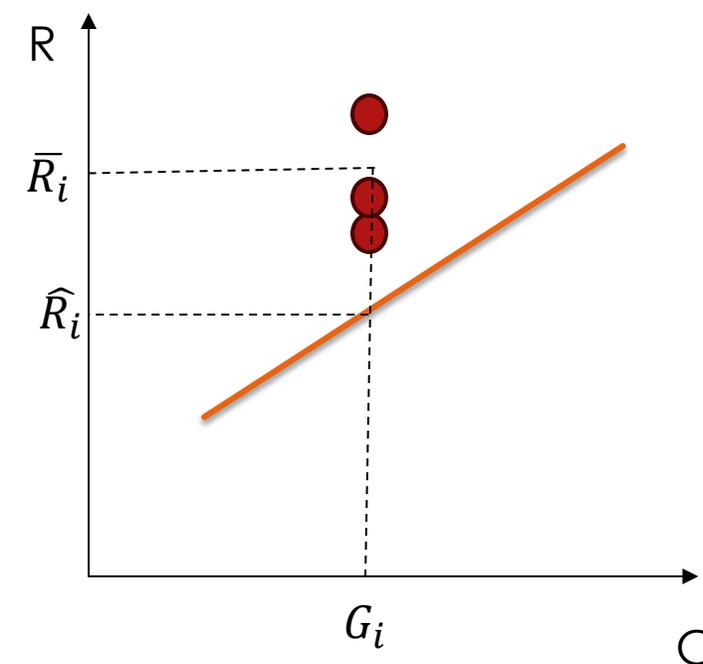
- ▶ Se calcula la varianza de repetibilidad, que es una estimación de la dispersión de las respuestas al medir repetidamente un mismo punto (R es la respuesta analítica estudiada, m el número de niveles de concentración y n el número de repeticiones de lectura de cada concentración).

$$s_{rep}^2 = \frac{\sum_{i=1}^m \sum_{j=1}^n (R_{i,j} - \bar{R}_i)^2}{m(n-1)}$$

- ▶ Se calcula la varianza de regresión, que mide la distancia entre la línea de regresión y los puntos experimentales (p son los parámetros del modelo de la curva).

$$s_R^2 = \left(\frac{n}{GL}\right) \sum_{i=1}^m (\bar{R}_i - \hat{R}_i)^2$$

$$GL = n - p$$



LINEALIDAD: TEST DE LOF

- ▶ El estadístico se calcula como:

$$F = \frac{S_R^2}{S_{rep}^2}$$

- ▶ Si el F calculado **supera** el valor crítico de $F(0,05; m-p; m(n-1))$ para el nivel de significación elegido, el modelo lineal **NO** se puede considerar una representación aceptable de la curva de calibración.
- ▶ Si por el contrario el modelo más simple pasa la prueba (F calculado $<$ F crítico), **no es necesario continuar evaluando otros modelos**, se trabajará con el más simple que pase la prueba de LOF.

LINEALIDAD

- ▶ *“Todos los modelos son incorrectos, pero algunos son útiles”* – George Box (Estadístico británico)
- ▶ El modelo de regresión adoptado debe ser el más simple que dé resultados satisfactorios. Deben tenerse presente los fundamentos fisicoquímicos de la técnica empleada. No tiene sentido adoptar un modelo de regresión complejo simplemente porque parece tener mejor ajuste.
- ▶ Si los residuos son del mismo orden, se debe seleccionar el modelo más simple siempre que se ajuste a los principios fisicoquímicos del método analítico. Por ejemplo, si se trata de una técnica de espectrometría molecular UV-Vis, se buscará un rango de concentraciones que cumpla con el modelo de la ley de Bouguer y Beer.

ROBUSTEZ

La “robustez” de un procedimiento analítico es "una medida de su capacidad para permanecer no afectado por pequeñas variaciones premeditadas de los parámetros del método. La robustez proporciona una indicación de la fiabilidad del método durante su uso normal

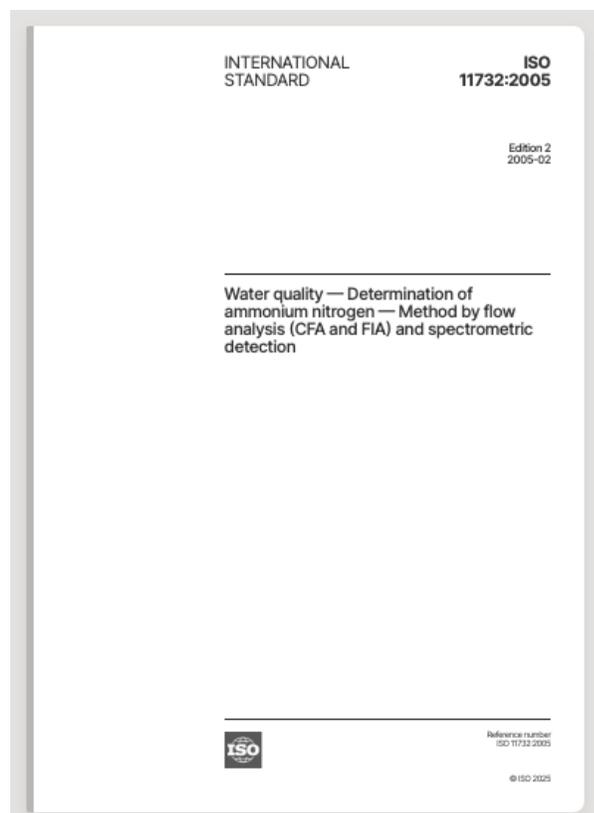
Eurachem, 1998

ROBUSTEZ

- ▶ En cualquier método habrá ciertas etapas que, si no se realizan con suficientemente cuidado, tendrán un efecto significativo en el desempeño del método e incluso puede resultar que el método no funciona en absoluto.
- ▶ Estas etapas deberían ser identificadas, por lo general como parte del desarrollo del método.
- ▶ Un "ensayo de robustez" implica hacer cambios deliberados en el método, e investigar el efecto subsiguiente en el desempeño.
- ▶ Es posible identificar las variables en el método que tienen el efecto más significativo y garantizar que, cuando se utiliza el método, están controladas estrictamente.



ROBUSTEZ: ejemplo



Ejemplo 5 – Citas de la ISO 11732 [58]. Las instrucciones indican la criticidad de algunos parámetros experimentales.

- NH_4Cl secado hasta masa constante a 105 ± 2 °C.
- Las cantidades dadas se pueden reducir (p.ej.: un décimo).
- Almacenada en una botella de plástico (polietileno) a la temperatura de la sala, la solución es estable alrededor de 1 mes.
- La absorbancia de la solución debería ser 0,3 – 0,5.
- Degasificar y purificar la solución..., llenarla en el depósito de reactivo y dejarla reposar durante al menos 2 horas.
- Esta solución puede ser almacenada en frigorífico a lo sumo una semana.
- Recipientes de vidrio, polialquenos o politetrafluoretileno (PTFE) son adecuados para recoger muestra.
- En casos excepcionales, la muestra puede almacenarse hasta dos semanas, siempre que la muestra haya sido filtrada por membrana después de la acidificación.

ROBUSTEZ: evaluación

► Diseño factorial

Se prueba el efecto de tres parámetros en dos niveles: “ALTO” (+) y “BAJO” (-)

Ejemplos de parámetros experimentales:

- pH
- Temperatura
- Pureza de reactivos
- Composición de los disolventes

Comb	Factor A	Factor B	Factor C	respuesta
1	bajo	bajo	bajo	r1
a	ALTO	bajo	bajo	r2
b	bajo	ALTO	bajo	r3
c	bajo	bajo	ALTO	r4
bc	bajo	ALTO	ALTO	r5
ac	ALTO	bajo	ALTO	r6
ab	ALTO	ALTO	bajo	r7
abc	ALTO	ALTO	ALTO	r8

ROBUSTEZ: evaluación

► Prueba de Youden & Steiner

- Permite evaluar el efecto de siete variables sólo con 8 ensayos.
- Se deben identificar los factores del método que podrían afectar los resultados obtenidos.
- Los factores a estudiar no deben ser necesariamente siete; puede considerarse un número menor de variables. Esto no afectará el balance del diseño del experimento, pero es importante considerar que siempre se deben llevar a cabo los ocho pruebas de ensayo indicado.

Valor de la condición variable	ANALISIS							
	1	2	3	4	5	6	7	8
A,a	A	A	A	A	a	a	a	a
B,b	B	B	B	b	B	b	b	b
C,c	C	c	C	c	C	c	C	c
D,d	D	D	d	d	d	d	D	D
E,e	E	e	E	e	e	E	e	E
F,f	F	f	f	F	F	f	f	F
G,g	G	g	g	G	g	G	G	g
RESULTADOS	s	t	u	v	w	x	y	z

ROBUSTEZ: evaluación

- ▶ A partir de los resultados puede calcularse el efecto de cada una de las variables haciendo el promedio de los cuatro análisis que contienen la variable en su valor más alto (mayúscula) y aquellas que corresponden al valor mas bajo (minúscula).

Ejemplo: Para la variable A

$$A = \frac{s + t + u + v}{4}$$

$$a = \frac{w + x + y + z}{4}$$

Ejemplo: Para la variable B

$$B = \frac{s + t + u + w}{4}$$

$$b = \frac{v + x + y + z}{4}$$

- ▶ Evaluar: (A-a), (B-b), (C-c), (D-d), (E-e), (F-f), (G-g)
- ▶ Cuanto mayor sea la diferencia entre el valor mayor y menor (X-x), mayor influencia tiene dicha variable en el método analítico.
- ▶ Como criterio comparar (X-x) con $\sqrt{2} \cdot s$ siendo s la desviación estándar de la precisión del método. Si $(X-x) > \sqrt{2} \cdot s$ se considera que el método es SENSIBLE a la variable estudiada

ROBUSTEZ: ejemplo

- En un dado experimento, se plantean los siguientes factores que pueden variar en un trabajo de rutina para un método analítico dado, con los siguientes niveles (bajo/ALTO):
- Temperatura (°C; 20 o 60)
 - pH buffer (3 o 7)
 - Estabilización del equipo (h; 0 o 2)
 - Tiempo de agitación (s; 60 o 180)
 - Tipo de cubeta (tipo; I o II)
 - Tiempo de lectura (s; 60 o 120)
 - Disolvente (naturaleza; etanol o isopropanol)

Indicar para qué parámetros el método es sensible (Considerar que $s = 0,5$ u.a.)

ROBUSTEZ: ejemplo

Experimento	Temp.	pH	Estab. Equipo	Tiempo Agitación	Tipo Cubeta	Tiempo Lectura	Disolvente	Resultado u.a.
1	60	7	2	180	II	120	iPrOH	20,3
2	60	7	0	180	I	60	EtOH	21,5
3	60	3	2	60	II	60	EtOH	23,6
4	60	3	0	60	I	120	iPrOH	22,8
5	20	7	2	60	I	120	EtOH	24,1
6	20	7	0	60	II	60	iPrOH	23,8
7	20	3	2	180	I	60	iPrOH	23,7
8	20	3	0	180	II	120	EtOH	20,4

ROBUSTEZ: ejemplo

	Condición Variable		Resultados		Diferencia	Comparación v2.s
	Valor alto X	Valor Bajo x	Promedio X (u.a.)	Promedio x (u.a)		0,71
T	60	20	22,1	23,0	0,95	Sensible
pH	7	3	22,4	22,6	0,20	No sensible
Est. Equip. (h)	2	0	22,9	22,1	0,80	Sensible
t agit (s)	120	60	21,5	23,6	2,10	Sensible
Tipo cubeta	Tipo II	Tipo I	22,0	23,0	1,00	Sensible
t lectura (s)	120	60	21,9	22,3	0,43	No sensible
Disolv	iPrOH	EtOH	22,7	22,4	0,25	No sensible

INCERTIDUMBRE

- ▶ La incertidumbre de un resultado es un parámetro que describe el rango de valores entre los cuales se espera que esté con un cierto nivel de probabilidad, el valor del mensurando, teniendo en cuenta todas las fuentes de error.
- **Incertidumbre estándar (u):** expresa el concepto en términos de desviaciones estándar. Fuentes individuales.
- **Incertidumbre combinada (u_c):** tiene en cuenta varias fuentes de incertidumbre individuales. Se calcula a través de propagación de incertidumbre.
- **Incertidumbre expandida (U):** define el rango mencionado anteriormente, y se obtiene mediante la multiplicación de u_c por un factor de cobertura k : $U = k \cdot u_c$. (Usualmente $k = 2$, para tener en cuenta un 95% de probabilidad).
- ▶ La incertidumbre se estima a partir de todas las fuentes (aleatorias y sistemáticas) que pueden causar variabilidad en las mediciones.

INCERTIDUMBRE

- ▶ La incertidumbre de la medición comprende, en general, muchos componentes. Algunos de estos pueden ser evaluados por tipo. Para este fin el laboratorio deberá realizar una evaluación de las incertidumbres tipo A y B que están presentes en el método.
- **Evaluación de incertidumbre tipo A:** Evaluación de un componente por un análisis estadístico de los valores de mediciones obtenidos en condiciones de medición definidas. Ejemplo: realizar varias mediciones en condiciones de repetibilidad.
- **Evaluación de incertidumbre tipo B:** Evaluación de un componente incertidumbre de la medición realizada por otros medios distinto a los del tipo A. Ejemplos: La evaluación basada en la información previa, obtenidos a partir de un certificado de calibración, o tolerancias, etc.

$$u = \frac{s_r}{\sqrt{n}}$$

$$u(V) = \frac{Tol.}{\sqrt{6}}$$

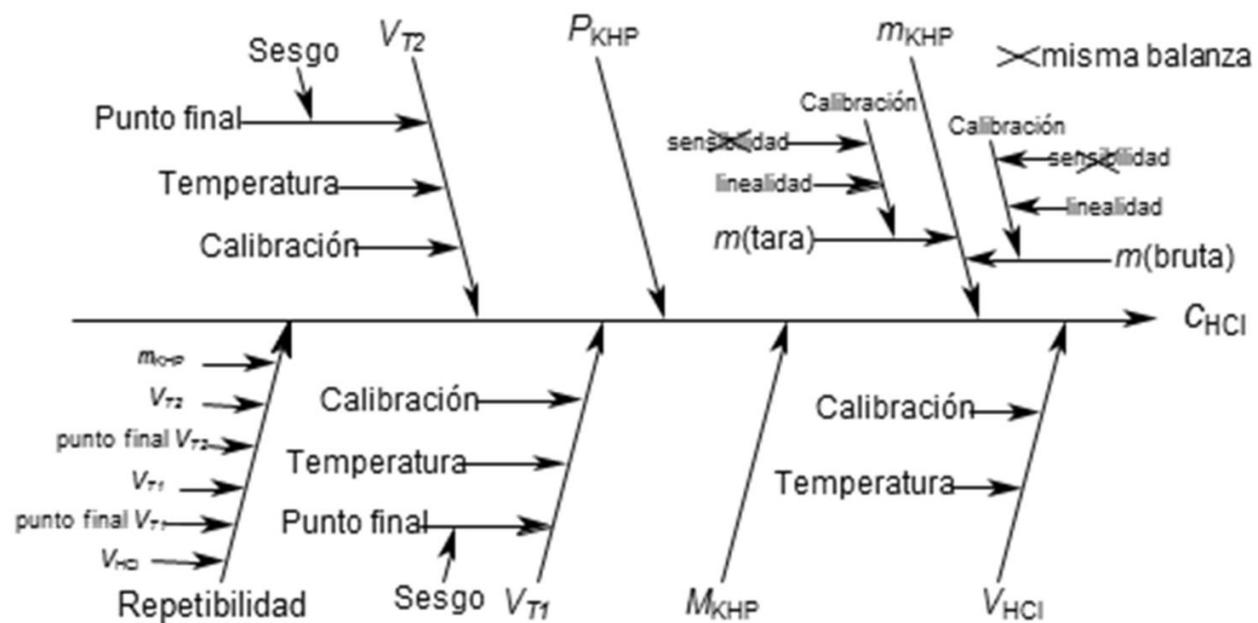
INCERTIDUMBRE

- ▶ Diferentes fuentes de incertidumbre en un método analítico

- 1. Muestreo
- 2. Efectos de la muestra: tipo de matriz, almacenamiento, etc.
- 3. Sesgos Instrumentales: Las debidas a las características de los equipos utilizados para realizar las medidas tales como: deriva, resolución, magnitudes de influencia. Ejemplo: temperatura
- 4. Pureza de Reactivos: materiales de referencia, preparación de estándares.
- 5. Analista: Las debidas a la serie de mediciones: variaciones en observaciones repetidas bajo condiciones aparentemente iguales. Ejemplo: paralelaje
- 6. Condiciones de medición: Las debidas al certificado de calibración: en él se establecen las correcciones y las incertidumbres asociadas a ellas, para un valor de k determinado, en las condiciones de calibración. Ejemplo: material volumétrico, etc.
- 7. Condiciones de medición: temperatura, humedad, etc.
- 8. Otras: Método (por ejemplo al interpolar en una recta), tablas (por ejemplo las constantes), pesada, alícuota, efectos computacionales, etc.

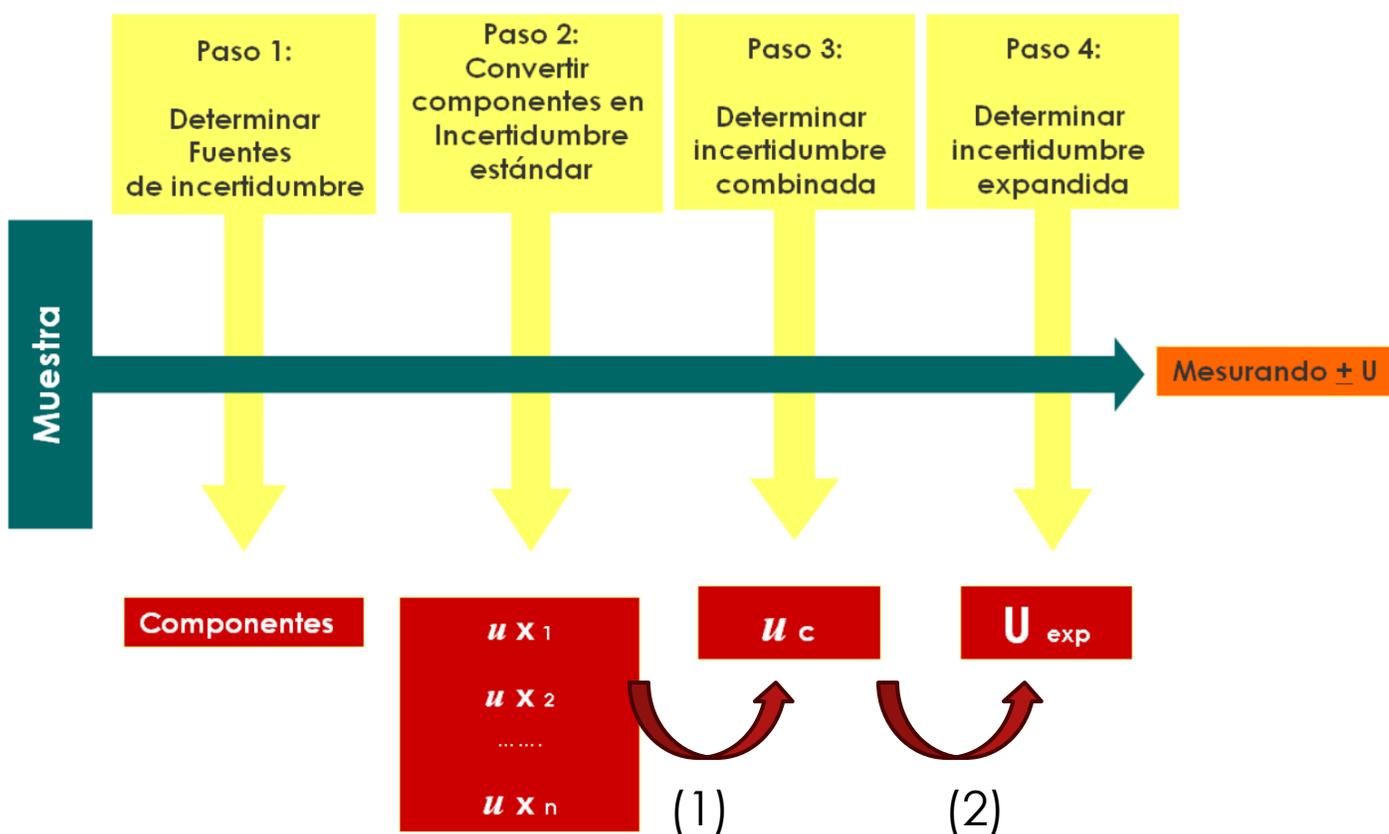
INCERTIDUMBRE

Figura A3.2: Diagrama Causa-Efecto para la valoración ácido-base



Eurachem-CITAC - Cuantificación de la Incertidumbre en Medidas Analíticas.
1ª Ed. Española. 2012

INCERTIDUMBRE: cálculo



- 1) Propagación de incertidumbre
- 2) Multiplicación por factor de cobertura k (generalmente para un 95%, $k=2$)

Bibliografía

- ▶ Eurolab España. P.P. Morillas y colaboradores. Guía Eurachem: La adecuación al uso de los métodos analíticos – Una Guía de laboratorio para la validación de métodos y temas relacionados (1a ed. 2016)
- ▶ H. Cantwell (ed.) Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods – A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics, (3rd ed. 2025). Available from www.eurachem.org.”
- ▶ Instituto de Salud Pública de Chile. Guía Técnica - Validación de métodos y determinación de la incertidumbre de la medición: “Aspectos generales sobre la validación de métodos” (2010)
- ▶ AOAC. Peer-Verified Methods Program: Manual on Policies and Procedures, Arlington, VA. (1998)
- ▶ Miller, J. N., & Miller, J. C. Estadística y quimiometría para química analítica (4ª ed.). Madrid: Prentice Hall. ISBN: 84-205-3514-1.(2002). Cap. 3, 4 y 5.

ANEXOS

INFORMACIÓN COMPLEMENTARIA

Informe de resultados respecto al LoD y LoQ

- ▶ Cuando en un proceso analítico la concentración hallada es inferior al LoD, se debe informar **NO DETECTADO** y acompañar el informe del valor del LoD estimado para el método analítico en unidades adecuadas.
- ▶ Cuando se informa un resultado como no detectado, no se está diciendo que el analito no se encuentra en la muestra, sino que está en una concentración inferior al límite de detección. El informe no debe decir “no existe”, sino que se debe **informar NO DETECTADO** (menor al límite de detección indicando el valor de dicho límite).

Informe de resultados respecto al LoD y LoQ

- ▶ Si el LoD de un método para determinar un X analito fuera $0,20 \text{ mg.L}^{-1}$ y el de cuantificación fuera $0,65 \text{ mg.L}^{-1}$, y cuando realizamos los cálculos para determinar la concentración de X en una muestra desconocida, el valor obtenido fuera $0,30 \text{ mg.L}^{-1}$, podremos afirmar que está presente, pero no podemos informar un valor numérico => **se informará $X < 0,65 \text{ mg.L}^{-1}$**
- ▶ Si el valor de la concentración del analito supera el LoQ se podrá informar su valor numérico acompañado de su correspondiente incertidumbre.

Informe de resultados respecto al LoD y LoQ

X: concentración hallada del analito	Informe del resultado
$X < \text{LoD}$	“NO DETECTADO (LoD)” “MENOR A LoD”
$\text{LoD} \leq X < \text{LoQ}$	“MENOR A LoQ”
$X \geq \text{LoQ}$	Valor \pm incertidumbre

Otras características de los métodos analíticos

- ▶ Aspectos económicos: costos por muestras
- ▶ No. de muestras por unidad de tiempo / velocidad
- ▶ Habilidades requeridas por el operador
- ▶ Aspectos de seguridad hacia los operadores
- ▶ Aspectos de seguridad hacia el medio ambiente