

LA ELECCIÓN DEL MÉTODO DE ANÁLISIS: IMPORTANCIA E IMPACTO

Universidad de Sevilla

Sara R. Salgado González

Facultad de
Farmacia



UNIVERSIDAD DE SEVILLA

FACULTAD DE FARMACIA

Departamento de Química Analítica

Grado en Farmacia

"LA ELECCIÓN DEL MÉTODO DE
ANÁLISIS: IMPORTANCIA E IMPACTO"

Trabajo Fin de Grado
Revisión bibliográfica

Autora: Sara R. Salgado González
Tutora: M^a Teresa Morales Millán

Sevilla, septiembre de 2018.



A todos los que confiaron en mi durante esta etapa.

RESUMEN

El método analítico es una pieza fundamental en el análisis químico, y se emplea para resolver problemas relativos a la composición y naturaleza de la materia. El análisis químico tiene diversos ámbitos de aplicación, destacando el control de calidad de las materias primas y de los productos. El objetivo de este trabajo es evaluar la importancia de la elección del método de análisis en los resultados obtenidos. El trabajo describe como al método de análisis le afectan un conjunto de factores que determinan si es apto o presenta anomalías que impliquen la necesidad de seleccionar otro método. Todos los métodos que sean utilizados en un laboratorio de análisis deben ser evaluados para asegurar que proporcionan resultados válidos y confiables, es decir, tienen que ser validados y verificados. Es importante que el método que se desea estandarizar sea compatible con las condiciones de trabajo del laboratorio, además de ser documentado, y permitir que todos los analistas reciban la capacitación adecuada acerca del uso del método ya validado. El trabajo muestra que la implantación de un sistema de calidad por parte del laboratorio, la formación del personal, así como un buen criterio de elección del método y su correcta aplicación, conducirá a la obtención buenos resultados. El sistema de calidad debe ser evaluado por el propio laboratorio y a través de organismos independientes de prestigio. Los ensayos colaborativos son de gran utilidad para evaluar las características de cada método de análisis, poniendo de manifiesto la precisión intermedia y la variabilidad existente entre laboratorios. La organización y planificación de este ejercicio corre a cargo de entidades públicas o privadas que, además, realizan el tratamiento estadístico de los resultados obtenidos por los distintos laboratorios participantes y emiten el correspondiente informe con las conclusiones. El trabajo muestra varios ejemplos.

Palabras clave: Elección del método, método analítico, control de calidad, validación.

ÍNDICE

	Página
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Factores que determinan la calidad del método de análisis	3
1.1.1.Exactitud	4
1.1.2.Selectividad	4
1.1.3.Precisión	4
1.1.4.Sensibilidad	4
1.1.5.Trazabilidad	5
1.1.6.Robustez	5
1.1.7.Límite de detección	6
1.1.8.Límite de cuantificación	6
1.2. Tipos de métodos	7
1.3. Causas de la obtención de resultados incorrectos	8
1.3.1.Incompetencia	8
1.3.2.Método empleado	9
1.3.3.Contaminación	9
1.3.4.Interferencias	9
1.3.5.Calibración	10
1.3.6.Muestreo	11
1.3.7.Pérdidas y degradación	12
1.4. Validación de un método de análisis	12
2. OBJETIVOS	14
3. METODOLOGÍA	15
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	16
4.1. Consideraciones generales para el desarrollo y selección del método	17
4.1.1.Instrumentos y aparatos	17
4.1.2.Estándares	18
4.1.3.Reactivos	18
4.1.4.Disolventes	18
4.1.5.Agua	18
4.2. ¿Por qué es necesario validar un método?	19
4.3. Estrategias para validar un método	20
4.3.1.Ejemplo práctico: determinación del ion Nitrito (UV-VIS)	21
4.3.2.Estudios colaborativos	26
4.3.3.Ejemplo aplicado: determinación de proteínas en harina	30
4.4. Proceso para la adecuada elección del método de análisis	32
5. CONCLUSIONES	33
6. BIBLIOGRAFÍA	35

“La calidad es ya una exigencia más que un deseo.”

Valcárcel y Ríos

1. INTRODUCCIÓN

La Química Analítica es la ciencia que estudia las leyes, principios y técnicas cuya finalidad es la determinación de la composición química de una muestra (Burriel et al., 1985).

Los análisis químicos tienen sus orígenes en problemas cuya solución o interpretación exigen mediciones fiables; por tal motivo, la primera etapa de un análisis es la definición del objetivo. A su vez se necesita un buen conocimiento del método. Los químicos analíticos son juzgados, en parte, por su habilidad para la selección del método más adecuado para dar solución al problema planteado (Laitinen y Harris, 1982).

Entendiendo el análisis como un procedimiento para llegar a la comprensión mediante la descomposición de sus elementos constitutivos, y el método científico como la contrastación de esto (Pérez y Lopera, 2016).

En Química Analítica, la experimentación está precedida por una serie de pasos, que deben ser realizados ordenadamente y que son muy elaborados, tanto o más que la medición en sí. La realización de un análisis químico conlleva los siguientes pasos (Laitinen y Harris, 1982):

1. Definir el objetivo.
2. Elección del método de análisis.
3. Toma de la muestra.
4. Preparación de la muestra.
5. Medición de la muestra.
6. Disolución de la muestra.

7. Eliminación de interferencias.
8. Medición del analito.
9. Cálculos.
10. Análisis e interpretación de los resultados.

La Figura 1 muestra las etapas del proceso analítico general, que consiste en un conjunto de operaciones sucesivas realizadas para solucionar un determinado problema analítico.

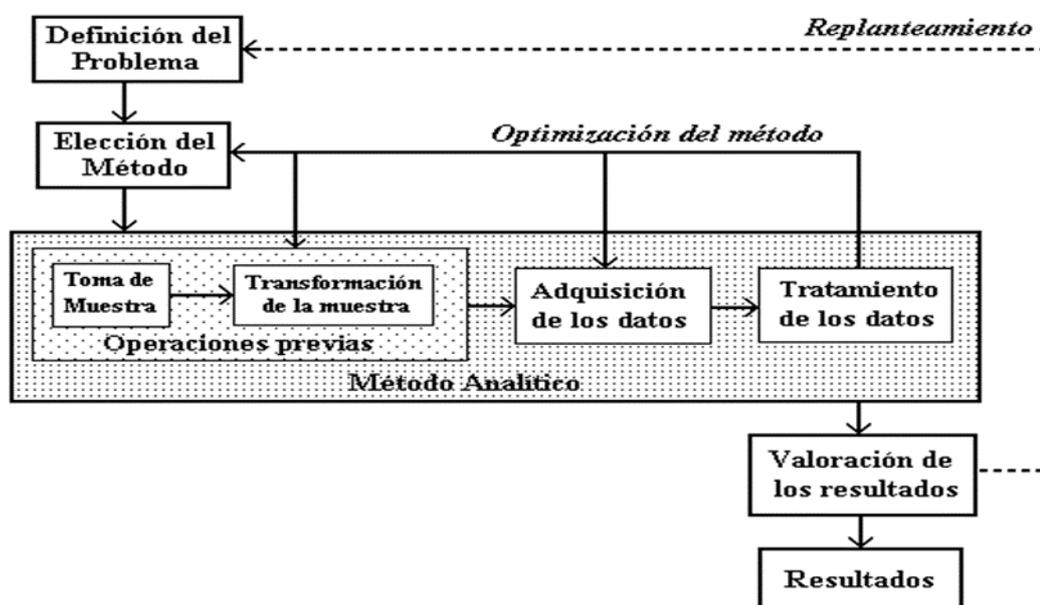


Figura 1. Etapas del método analítico (Samaniego, 2016).

Esta revisión se basará en el segundo paso, y no por ello menos importante, la elección del método de análisis.

La elección del método es una etapa crucial en la resolución del problema analítico y para que sea adecuada han de valorarse los objetivos del análisis y la repercusión de los resultados. Es imprescindible que los ensayos de los laboratorios cumplan determinados requisitos que garanticen la calidad de su realización y a la vez aporten información sobre las características del producto. Para ello se requiere de un proceso que asegure las exigencias y sea

demostrativo de la competencia técnica del laboratorio (Sardiñas y Hernández, 2002).

El laboratorio debe usar métodos de ensayo o de calibración que sean apropiados para obtener resultados de calidad y la satisfacción del cliente. Se deben utilizar preferentemente los métodos publicados como normas internacionales, regionales o nacionales. Además de usar la última versión vigente de la norma UNE-EN ISO 17025 (2005).

Al elegir un método, se tienen en cuenta algunos o todos los siguientes criterios de diseño: exactitud, precisión, sensibilidad, selectividad, robustez, escala de operación, tiempo de análisis, disponibilidad de equipo y costo (Harvey, 2016). Los laboratorios de química que brindan servicios técnicos analíticos encaminan la acreditación de sus ensayos con el propósito de brindar una información con mayor credibilidad, útil para la toma de decisiones en el marco económico y comercial, médicas y las referidas al medio ambiente entre otras (Sardiñas y Hernández, 2002).

El método incluye la secuencia de operaciones técnicas para llevar a cabo un análisis químico (Cuadros et al., 2013), suele ser un proceso complejo, con varias etapas (mencionadas anteriormente), que comienza con el muestreo y finaliza con la obtención de resultados (Taverniers et al., 2004a).

1.1. Factores que determinan la calidad del método de análisis

Un método analítico se caracteriza por cuatro cualidades básicas: exactitud, selectividad, precisión y sensibilidad (Valcárcel y Ríos, 1992) las cuales se presentarán a continuación.

1.1.1. Exactitud

La guía ISO 3534-1 (2006), define exactitud como “La proximidad en la concordancia entre un resultado y el valor de referencia aceptado”, teniendo en cuenta la nota que indica que “el término exactitud, cuando se aplica a un conjunto de resultados de ensayo, implica una combinación de componentes aleatorios y un error sistemático común o componente de sesgo, que en inglés se conoce como “bias” (Riu et al., 2000).

1.1.2. Selectividad

Según la IUPAC (2001) es el medio de expresar cualitativamente la extensión en que otras sustancias interfieren en la determinación de un analito con un método determinado (Compañó y Ríos, 2002).

1.1.3. Precisión

Es la concordancia obtenida, al realizar varias mediciones, en los datos resultantes. Cuando existe mucha diferencia entre los datos se dice que hay errores aleatorios. Cualquier valor certificado debe ir acompañado de una incertidumbre que ha de ser tan pequeña como sea posible, de ahí que se realicen varias mediciones (Valcárcel y Ríos, 1992).

1.1.4. Sensibilidad

Es la capacidad de un método analítico para diferenciar dos cantidades o dos concentraciones de analito muy parecidas y “la capacidad de demostrar que dos muestras tienen diferentes cantidades de analito es una parte esencial de muchos análisis. La sensibilidad de un método es una medida de su capacidad para establecer que tales diferencias son significativas.” (Harvey, 2016; Compañó y Ríos, 2002).

Además, también es importante destacar los siguientes conceptos: trazabilidad, robustez, límite de detección y límite de cuantificación.

1.1.5. Trazabilidad

De acuerdo con el Vocabulario Internacional de Metrología, la trazabilidad se define como la “propiedad del resultado de una medición -o el valor de un estándar- que consiste en que se pueda establecer el resultado previsible de su comparación directa con los patrones apropiados, generalmente nacionales o internacionales, mediante una cadena ininterrumpida de comparaciones reales, todas con incertidumbres conocidas” (Riu et al., 2000). La Figura 2 muestra un esquema de la trazabilidad aplicada al proceso analítico.



Figura 2. Trazabilidad en el procedimiento analítico (Santos, 2015).

1.1.6. Robustez

Cuando un método está relativamente libre de interferencias químicas y puede usarse con muchos analitos en una amplia variedad de matrices de muestras, tales métodos se consideran robustos. Este método debe proporcionar resultados confiables.

Es la cualidad de un método que mide su capacidad de resistir pequeños cambios en las condiciones operatorias sin que su funcionamiento se vea alterado (Compañó y Ríos, 2002).

1.1.7. Límite de detección

“El límite de detección (LDD) se define habitualmente como la cantidad o concentración mínima de sustancia que puede ser detectada con fiabilidad por un método analítico determinado. Intuitivamente, el LDD sería la concentración mínima obtenida a partir de la medida de una muestra (que contiene el analito) que seríamos capaces de discriminar de la concentración obtenida a partir de la medida de un blanco, es decir, de una muestra sin analito presente” (Boqué, 2004).

Según la ISO (ISO, 1997) que introduce el término general “concentración neta mínima detectable” (equivalente al límite de detección), como la concentración (o cantidad) neta verdadera de analito en el material sujeto a análisis que conducirá, con una probabilidad $(1-b)$, a la conclusión de que la concentración (o cantidad) de analito en el material analizado es mayor que la de un blanco. La IUPAC (IUPAC, 1995), en un documento preliminar, proporcionaba una definición similar y adoptaba el término “valor (verdadero) mínimo detectable”, como equivalente al límite de detección

1.1.8. Límite de cuantificación

Se entiende por límite de cuantificación (LC) de dicho método, la mínima cantidad de analito presente en la muestra que se puede cuantificar, bajo unas condiciones experimentales descritas, con una adecuada precisión y exactitud.

El límite de cuantificación es por tanto un término cuantitativo mientras que el límite de detección es sólo cualitativo (AEFI, 2001).

1.2. Tipos de métodos

Existen distintos tipos de métodos de análisis que pueden ser utilizados en la resolución de problemas analíticos.

- **Métodos desarrollados en el laboratorio "en casa" para cubrir unas necesidades concretas:** generalmente son métodos estándar u oficiales que han sufrido ligeras o profundas modificaciones con el fin de adaptarlos a las necesidades actuales o a otro tipo de muestras diferentes a aquellas para las que se desarrollaron. En ocasiones cada laboratorio elabora sus propios métodos. Esto puede deberse a que el análisis o el analito es muy específico y se debe evaluar, un ejemplo sería una matriz especial que es de interés solo para el laboratorio. Por consiguiente el laboratorio está en la necesidad de evaluar la capacidad de los analistas, equipos y demás recursos que se encuentren relacionados con el método en cuestión por lo que los métodos deben estar debidamente validados documentados y autorizados para ser aplicados. En cuanto en la evaluación de la capacidad del método se sugiere realizar comparaciones con otros métodos normalizados. En lo posible se recomienda utilizar materiales de referencia, estándares (USP, 2007).

- **Métodos normalizados de análisis o estándar:** son métodos que han sido estudiados por diferentes organizaciones y que utilizan estudios interlaboratorio para validarlos (ISO, UNE, ASTM). Están considerados los mejores. Han sido desarrollados por estas organizaciones y se han sometido a intensas investigaciones por un gran número de analistas y laboratorios antes de adquirir el calificativo estándar. Han sido publicados por estas organizaciones internacionales (regionales o nacionales) que son organizaciones técnicas respetables; de referencias legales; tales como los métodos publicados por la FDA (Food and Drug Administration), y que se ejecutan tal y como se describe en la norma (Valcárcel y Ríos, 1992; USP, 2007).

- **Métodos no normalizados:** Los métodos no normalizados son aquellos que no han sido publicados por fuentes autorizadas y/o validadas. Es muy probable que los métodos sin normalización no dispongan de datos de validación o estudios colaborativos fiables o suficientes, se recomienda realizar una validación cuando

sea posible para de esta manera garantizar la confiabilidad del método. Se ha de tener en cuenta que si el método sufre cambios se requerirá una revalidación de dicho método. Cuando sea necesario utilizar métodos no normalizados, han de ser concertados con el cliente y deben incluir una especificación clara de los requisitos expuestos por éste, del objetivo del ensayo y de la calibración. Requieren una adecuada validación antes de ponerlos en práctica (UNE-EN ISO 17025, 2005; USP, 2007).

1.3. Causas de la obtención de resultados incorrectos

A pesar de que la elección del método se realice correctamente, en algunos casos pueden producirse resultados incorrectos al aplicarlo. A continuación, se tratarán algunos conceptos que facilitarán la comprensión de la obtención de resultados erróneos en el laboratorio (Figura 3).



Figura 3. Causas de la obtención de resultados incorrectos

(elaboración propia).

1.3.1. Incompetencia

Atañen a fallos del personal. La dirección del laboratorio debe asegurar la cualificación de todas las personas que operan en el laboratorio. El personal que

realiza las tareas específicas debe estar calificado sobre la base de la educación, formación y experiencia adecuadas además de poseer habilidades demostradas (UNE-EN ISO 17025, 2005).

1.3.2. Método empleado

- Métodos desarrollados por el laboratorio: la introducción de los métodos de ensayo y de calibración desarrollados por el laboratorio para su propio uso debe ser una actividad planificada y debe ser asignada a personal calificado, provisto de los recursos adecuados (Morales, 2017).

- Métodos no normalizados: cuando sea necesario usar métodos no normalizados, éstos deben ser acordados con el cliente y deben incluir una especificación clara de los requisitos del cliente y del objetivo del ensayo o de la calibración. El método desarrollado debe haber sido validado adecuadamente antes del uso (UNE-EN ISO 17025, 2005).

Una mala aplicación del método, de la elección, o del tratamiento de éste conducirá a la obtención de malos resultados. Por ejemplo, si el método elegido es el adecuado pero se aplica en un rango de concentraciones fuera del rango aprobado, o con matrices que no están incluidas en el proceso original de validación, pueden producirse resultados incorrectos (Morales, 2017).

1.3.3. Contaminación

Entre las fuentes de contaminación se puede considerar el agua empleada en análisis, los reactivos, la contaminación cruzada y el propio laboratorio. Pero se considera al riesgo biológico como el de mayor incidencia en las prácticas académicas (Álvarez y Campuzano, 2003).

1.3.4. Interferencias

Una interferencia se puede definir como “una desviación clínicamente significativa en la medida de la concentración de un constituyente, debida al efecto de otro componente o propiedad de la muestra”.

La interferencia es la causa de error de tipo aleatorio más importante. Las interferencias que producen errores analíticos se pueden clasificar en función del mecanismo que las produce:

- Causas químicas: el interferente compite con los reactivos o inhibe el indicador de la reacción. También puede producir complejos o precipitados con el constituyente.
- Causas físicas: el interferente tiene propiedades parecidas al constituyente, como fluorescencia, color, dispersión de la luz, la posición de elución o idéntica respuesta que el constituyente en el electrodo de medida.
- Efecto matriz: el interferente altera una propiedad física de la matriz de la muestra, como la viscosidad, tensión superficial, turbidez o fuerza iónica.
- Inhibición enzimática: el interferente altera la actividad de la enzima presente en el reactivo o en la muestra por diferentes mecanismos (Ventura et al., 2007).

Con el fin de evitar posibles interferencias, cuando las muestras poseen matrices complejas, el método elegido debe discriminar entre analito de interés y otros compuestos presentes en la muestra. En muchos casos para conseguirlo es necesario realizar un pretratamiento de la muestra, que en muchos casos requiere de un proceso de separación (Morales, 2017).

1.3.5. Calibración

Debe ser hábito en todo laboratorio que trabaje bien. El diseño de los programas de calibrado se hará según la frecuencia de uso de aparatos e instrumentos y la magnitud del tiempo durante el cual permanecen sin usarse. “La calibración no es una operación única, sino que se debe definir la periodicidad con que se debe llevar a cabo, y el mantenimiento de los certificados de calibración correspondientes en el registro” (Verdoy et al., 2006; Valcárcel y Ríos, 2002). La Figura 4 muestra un esquema del proceso de calibración.



Figura 4. Esquema representativo de la calibración (Curto, 2015).

1.3.6. Muestreo

Pocas veces puede emplearse para el análisis la cantidad total de producto a analizar, de aquí que sea necesaria la toma de muestra. El intentar una clasificación razonable de los diferentes materiales parece una labor imposible. Se realizan análisis de fases sólidas, líquidas y gaseosas además de cualquier combinación de ellas. La exactitud de cada análisis descansa sobre una muestra representativa. Para que sea significativa, esta muestra debe tener la misma composición que el lote completo. Es tarea del analista preocuparse de que la muestra sea representativa verdaderamente porque los resultados del análisis no pueden ser mejores que la muestra (Brown y Sallee, 1967).

1.3.7. Pérdidas y degradación

Los analitos pueden perderse o degradarse durante el proceso analítico por diferentes razones: degradación por calor, pérdidas por volatilidad durante la

digestión o evaporación, pérdidas como consecuencia de la adsorción en superficies, extracción incompleta debido a la no penetración del disolvente en la muestra o fuertes enlaces analito-matriz (Morales, 2017).

1.4. Validación de un método de análisis

La validación consiste en “la confirmación mediante el examen y la aportación de evidencias objetivas de que se han cumplido los requisitos particulares para una utilización específica prevista” (Compañó y Ríos, 2002). Validar un método es básicamente el proceso para definir un requisito analítico, y la confirmación de que cuenta con capacidades acordes con las aplicaciones requeridas (Morillas et al., 2016).

El laboratorio debe validar los métodos, las ampliaciones y modificaciones de los métodos, para confirmar que son aptos para el fin previsto. No siempre la información contenida en los métodos analíticos publicados en la bibliografía es suficiente para decidir sobre su utilidad en un caso concreto sin llevar a cabo un cierto trabajo en el laboratorio (Figura 5). La validación deber ser amplia, tanto como sea necesario para satisfacer las necesidades del tipo de aplicación. Además, debe registrar los resultados obtenidos, el procedimiento usado para la validación y una declaración sobre la aptitud del método (UNE-EN ISO 17025, 2005).

En el proceso de validación del método está implícito que los estudios para determinar los parámetros del desempeño del mismo se realizan usando equipos dentro de especificaciones, que están calibrados y que trabajan correctamente. Asimismo, el operador que realiza los estudios debe ser técnicamente competente en el campo de trabajo bajo estudio y debe poseer suficiente conocimiento sobre el trabajo a realizar con el fin de que sea capaz de tomar decisiones apropiadas a partir de las observaciones hechas mientras avanza el estudio (Bievre et al., 1998).

A un método analítico que posee unas características de funcionamiento adecuadas para la aplicación que se le quiere dar se conocerá como método

validado. Estas características son las que se han citado anteriormente: exactitud, precisión, sensibilidad, etc. (Morales, 2017).

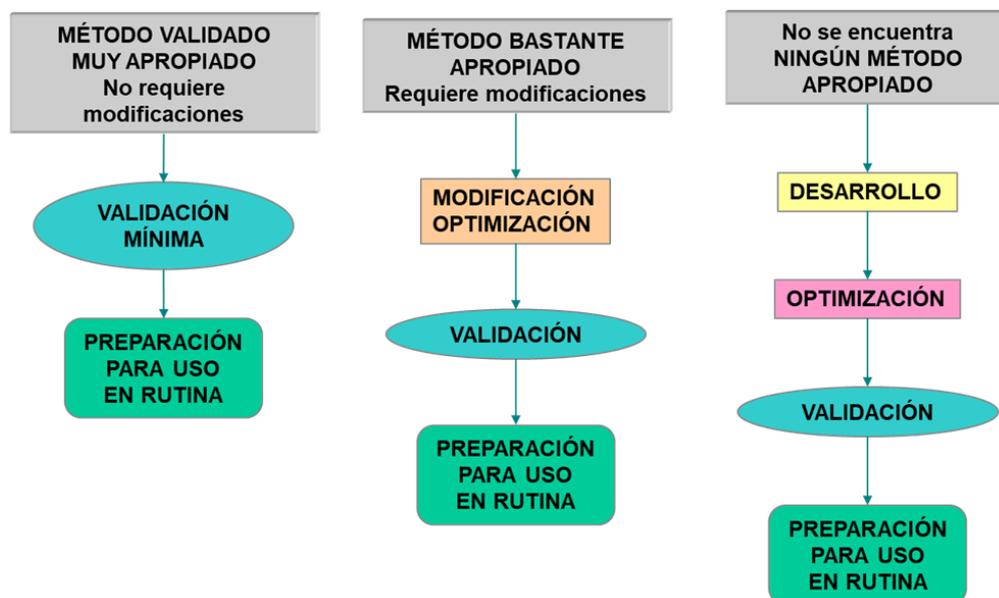


Figura 5. Selección y validación de los métodos analíticos (Compañó y Ríos, 2002).

McCully y Lee apuntan las siguientes prioridades a la hora de realizar la elección del método (Valcárcel y Ríos, 2002):

- Son mejores los métodos que han sido validados en el intervalo de concentraciones de interés frente a métodos fuera de dicho intervalo.
- Se prefieren métodos que son ampliamente usados a aquellos que se utilizan con menos frecuencia.
- Son más apropiados los métodos sencillos, rápidos y de bajo coste.
- Se elegirán métodos recomendados o aceptados por organizaciones internacionales relevantes.
- Se prefieren métodos que han demostrado su validez mediante estudios colaborativos por diversos laboratorios.

2. OBJETIVOS

El principal objetivo de este trabajo es evaluar la importancia de la elección del método de análisis en los resultados obtenidos, dando un enfoque basado en los resultados para la selección de métodos analíticos, y facilitar la modificación o desarrollo de un método que produzca datos analíticos de calidad, de manera confiable y definido por los objetivos establecidos.

Este enfoque está basado en el desempeño por parte del laboratorio, respondiendo a una declaración de trabajo. Se quiere llegar a un método que satisfaga los requisitos y objetivos de calidad de medición del laboratorio. Se pondrá de manifiesto la importancia del control de calidad en el laboratorio analítico, los distintos factores que conforman el concepto de calidad de un método y las herramientas disponibles para conseguirlo.

Este objetivo principal se conformará mediante el conjunto de pequeños objetivos:

- Describir los conceptos que conforman la calidad de un método, estableciendo sus objetivos y características concretas, así como el tratamiento estadístico, la evaluación final de los resultados y la forma de implementarlos y su importancia trascendental para la acreditación de los laboratorios analíticos.
- Explicar la metodología a seguir en el laboratorio, destacando el tratamiento estadístico de los resultados y el papel que juegan los analistas en la obtención de correctos resultados.
- Exponer la importancia de la validación del método, a través de dos estrategias como son los resultados interlaboratorio y los del laboratorio individual.
- Mostrar ejemplos de las estrategias de validación y apoyarlo con ejemplos prácticos que avalen esto.
- Exposición de dos ejemplos que apoyen la importancia de la validación del método por parte del laboratorio.

3. METODOLOGÍA

La realización de este trabajo, con carácter bibliográfico, se ha realizado gracias a la utilización de diferentes fuentes de información como bases de datos, libros, artículos científicos, tesis doctorales o informes y guías científicas. Según la parte del trabajo, cabe destacar unos u otros en concreto.

En primer lugar, se realizaron búsquedas en las bases de datos de la Universidad de Sevilla *Fama+* y en *PubMed* utilizando como palabras clave “calidad” y “control de calidad”, o “método analítico” a partir de las cuales se obtuvo numerosa bibliografía de los primeros epígrafes.

Los libros Valcárcel, M. y Ríos, A. “La calidad en los laboratorios analíticos”, “Garantía de calidad en los laboratorios analíticos”; Valcárcel M. “La química analítica, hoy y mañana”; C. Miller, J.N. Miller.” Estadística para química analítica.”, han sido las guías a partir de las cuales se ha ido construyendo la introducción y los aspectos más generales del trabajo, ya que son obras de carácter global sobre la calidad en los laboratorios analíticos, en las que se abordan la práctica totalidad de los aspectos que hay que tener en cuenta para implantar los sistemas de calidad.

Esta información se ha ido completando con información adicional más específica tomada de numerosos artículos que forman parte de la base de datos llamada *PubMed*, a partir de palabras clave como “Interlab studies”, “Proficiency Testing”, “Collaborative studies”, “Certification Study”, se obtuvieron las diferentes fuentes de información bibliográfica.

Tras la lectura del título de los artículos encontrados en cada una de las búsquedas se hizo una primera selección, descartándose los que no estaban relacionados con el trabajo. Para la siguiente selección se procedió a la lectura del resumen de los mismos, hasta recopilar una serie de artículos con información atractiva para el desarrollo del trabajo. Se procedió leyendo con detenimiento dichos artículos y seleccionando lo importante para los objetivos propuestos.

Los criterios de exclusión principales a la hora de seleccionar la información fueron la restricción de cualquier documento del que no se dispusiera de forma completa, el criterio personal para determinar qué textos no tenían relación con los objetivos perseguidos por el trabajo, y los textos encontrados en la web cuya procedencia era poco fiable, desconocida o sin referencias bibliográficas.

Por último, también han sido fuente de documentación la Guía de laboratorio para la validación de métodos y temas relacionados desarrollada por Eurachem y diferentes protocolos y normas como la ISO/IEC 17025:2005, entre otras.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

“Un método de laboratorio incluye todos los procesos físicos, químicos y radiométricos llevados a cabo en un laboratorio para proporcionar un resultado analítico” (EPA, 2004).

No conviene perder de vista que la aplicación de un buen método no garantiza la calidad de los resultados. Solo la aplicación correcta y contrastada de un buen método puede garantizar la calidad en los resultados obtenidos, evidentemente implica la necesidad de los sistemas de control para evaluar la calidad (Valcárcel y Ríos, 2002).

Si un laboratorio ofrece resultados analíticos de buena calidad, es decir, de una calidad aceptable para los clientes, y además funciona bien en las pruebas de suficiencia (homologación) o en los ensayos de colaboración, resulta obvio que los resultados obtenidos por ese laboratorio deberían mostrar una consistencia elevada en su día a día. Esa consistencia debe ser evaluada (Miller y Miller, 2002). “El laboratorio debe asegurar la calidad de los resultados, de una manera planeada y revisada, y debe considerar el uso de esquemas internos de control de calidad, la participación en esquemas de comparación entre laboratorios, el uso regular de materiales de referencia certificados y el uso de materiales de

referencia secundarios, réplicas usando métodos distintos o el mismo método, repetición de análisis, o correlación de diferentes características de un mismo espécimen” (Rodríguez y Blanco, 2001).

4.1. Consideraciones generales para el desarrollo y selección del método

Si la naturaleza de las muestras y analitos se conocen de antemano, y las variaciones en una matriz de muestra y la concentración de analitos se encuentran dentro de un rango relativamente pequeño, el desarrollo o la selección de métodos analíticos es más fácil. En la mayoría de las situaciones, sin embargo, el número de muestras, matrices, interferencias, analitos y variaciones entre las muestras pueden influir en la selección de un método para un analito dado. Hay variedad en cuanto a métodos disponibles, pero ningún método individual proporciona una solución general (EPA, 2004).

4.1.1. Instrumentos y aparatos

En primer lugar, hay que diferenciar entre aparato e instrumento (Compañó y Ríos, 1992):

- Aparato: equipo sin la capacidad de realizar mediciones, con el fin de ejecutar funciones como calentar, agitar, evaporar, etc.
- Instrumento (de medida): equipo destinado a la realización de medidas.
Ejemplos: termómetro, balanza, pHmetro.

Han de cumplir unos requisitos básicos obligatoriamente:

1. Deben desarrollar el trabajo que se requiere para ellos, sus prestaciones han de ser acordes al nivel de exigencia requerido.
2. Han de permanecer en óptimas condiciones para su uso cuando sea necesario. Esto implica su mantenimiento y vigilancia por parte del personal.
3. Precisan de una calibración periódica, que dependerá de su naturaleza, frecuencia de empleo, exactitud requerida, etc. (Valcárcel y Ríos, 2002).

4.1.2. Estándares

Existen tanto estándares primarios como secundarios. Los primarios corresponden a los materiales de referencia y especialmente a los certificados, cuyas características están certificadas por un organismo competente. Son caros, y normalmente no se usan en el trabajo rutinario de control de calidad. Son útiles para comprobaciones ocasionales de la exactitud de un método. Los secundarios son aquellos empleados y, en algunos casos, preparados por el propio laboratorio para evaluar su control de calidad. La referencia serán los estándares primarios (Valcárcel y Ríos, 2002).

4.1.3. Reactivos

Son las sustancias con las que se llevan a cabo las reacciones o se fija la composición del medio de reacción. Existe una gran variedad de calidades, pero para el trabajo en un laboratorio analítico hay que utilizar como mínimo reactivos con la denominación “para análisis”. Sin embargo, para análisis de trazas es necesario utilizar reactivos de mayor calidad (Compañó y Ríos, 1992).

Para cada reactivo se le confecciona una etiqueta, que se guarda en el archivo, separada del propio recipiente que lo contiene y en la que se hará constar la fecha en que se recibe, la fecha en la que se abre en el laboratorio por primera vez y la fecha de caducidad (Valcárcel y Ríos, 2002).

4.1.4. Disolventes

Deben tener pureza adecuada al tipo de análisis que se aplique. Gran parte de los cuidados y consideraciones hechas para los reactivos y sus disoluciones se pueden extender a los disolventes (Valcárcel y Ríos, 2002).

4.1.5. Agua

Es el disolvente más usado en el laboratorio y el más importante en el control de calidad. El agua ha de ser pura. El grado de pureza

elegido debe controlarse periódicamente a través de la conductividad y someterla a análisis de metales pesados y materia orgánica (Valcárcel y Ríos, 2002).

4.2. ¿Por qué es necesario validar un método?

Llevar a cabo la validación del método elegido es necesario porque la validación de las metodologías analíticas, junto con otras actividades, permite obtener resultados analíticos fiables. Entre estas otras actividades se encuentra la calibración.

Es imprescindible hacer una correcta medición y ser capaz de demostrar que los resultados obtenidos son correctos. Para que un resultado analítico sea apto para su uso, implica que éste debe ser lo suficientemente fiable para que cualquier decisión basada en él, pueda ser tomada con confianza. Debe validarse el desempeño de un método y estimar la incertidumbre del resultado, para un determinado nivel de confianza (Morillas et al., 2016). Se debe comprobar que el método seleccionado y aplicado es el idóneo. Los resultados proporcionarán las respuestas necesarias.

La Figura 6 muestra dos distribuciones en las que puede observarse la aceptación o rechazo del resultado analítico, a mayor incertidumbre existe una mayor probabilidad de realizar una falsa aceptación o rechazo del resultado. Una incorrecta aceptación o rechazo de un resultado tiene como consecuencia que el material/producto se desecha o acepta incorrectamente al haber tomado una decisión incorrecta, de aquí la importancia de establecer reglas estadísticas de decisión que permiten decidir la aceptación o rechazo de los resultados obtenidos en una serie analítica con unas probabilidades de detección de error y de falso rechazo determinadas.

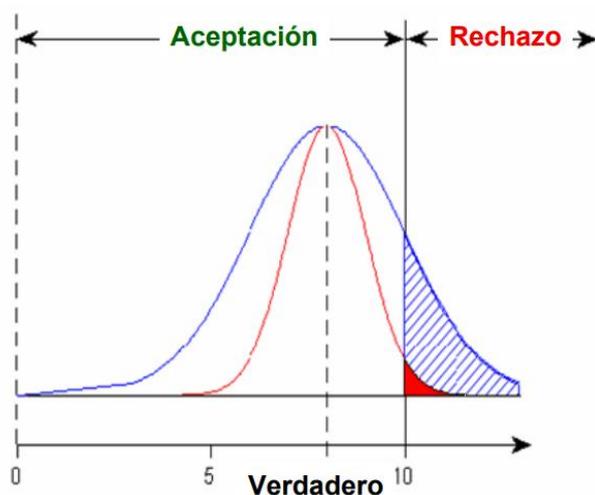


Figura 6. Aceptación o rechazo del resultado analítico (Eguileor, 2016).

4.3. Estrategias para validar un método

Una vez finalizado el desarrollo inicial del método, o seleccionado el laboratorio debe documentar en detalle el procedimiento de medición. Este procedimiento documentado es el que se toma para la validación formal del método. Existen dos estrategias fundamentales: el uso de resultados interlaboratorios y la validación del laboratorio individual (Figura 7) (Morillas et al., 2016).

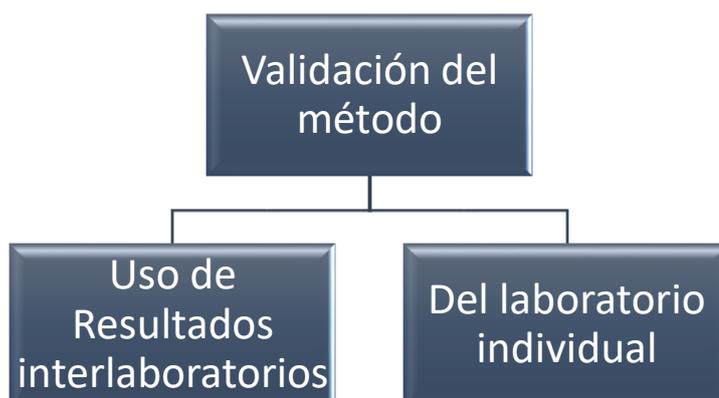


Figura 7. Tipos de validación del método analítico (elaboración propia).

Hay un gran número de publicaciones sobre el uso de las comparaciones entre laboratorios, referidos como “estudios colaborativos” o “estudios cooperativos”, como herramienta para validar métodos. Se abordará en profundidad este tipo de validación.

La Tabla 1 muestra cómo la extensión de la validación puede ser diferente según el tipo de aplicación analítica para la que se estén realizando los ensayos.

Tabla 1. Extensión de la validación para cuatro tipos de validaciones analíticas. Ejemplo para el sector farmacéutico. La “x” significa una característica de desempeño que normalmente se valida (Morillas, 2016).

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

4.3.1. Ejemplo práctico: determinación del ión nitrito mediante espectroscopia UV-Vis

Para mostrar de forma práctica el desarrollo de un proceso de validación para un método analítico, y su posterior aplicabilidad al análisis rutinario, se han tomado los datos experimentales del artículo “Validación de métodos analíticos. Implementación al análisis rutinario” (Galán et al., 2012) dada la imposibilidad de realizar dicho proceso en el laboratorio, y debido al carácter experimental de dicha revisión. Se han realizado cálculos estadísticos usando Microsoft Excel. Se muestra el proceso de validación

para la determinación de ion nitrito por espectrofotometría ultravioleta – visible (UV-Vis) a partir de la reacción de Griess-Saltzman.

Las muestras analizadas para la determinación del ion nitrito se tomaron en aire ambiente a partir del dióxido de nitrógeno ambiental, utilizando para ello muestreadores pasivos. En este procedimiento el dióxido de nitrógeno es captado en una disolución de trietanolamina (TEA), formándose como producto de la reacción, entre el dióxido de nitrógeno y TEA, un TEA-N-óxido. Se ha demostrado que la eficiencia en la reducción del dióxido de nitrógeno por la trietanolamina depende de la hidratación de la misma. La conversión del dióxido de nitrógeno a ion nitrito es 1:1. Posteriormente, el ion nitrito es extraído en laboratorio y analizado mediante espectrofotometría UV-Vis a una longitud de onda de 540 nm, mediante una reacción colorimétrica, basada en la reacción Griess-Saltzman anteriormente mencionada (Figura 8).

En la reacción colorimétrica, el ion nitrito procedente del dióxido de nitrógeno ambiental, da lugar a la formación de una sal de diazonio, por reacción con el ácido fosfórico y sulfanilamida, obteniéndose un complejo de color rojo-violeta.

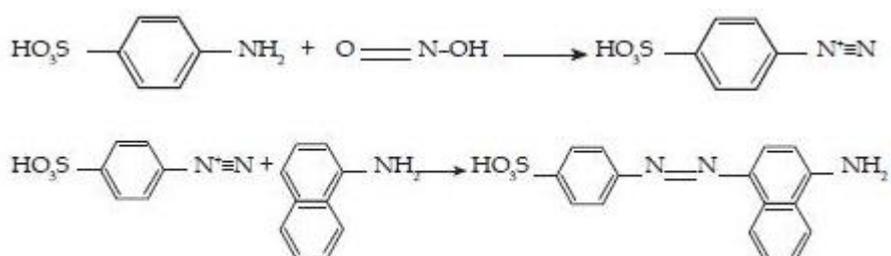


Figura 8. Reacción de Griess-Saltzman (Galán et al., 2012).

La cantidad de ion nitrito existente en la muestra se obtuvo por referencia a una curva de calibrado derivada del análisis de disoluciones patrón de nitrito. Durante el proceso de validación del método analítico, se calcularon, por un lado, parámetros de validación (exactitud, precisión, límite de detección, límite de cuantificación, e incertidumbre), y por otro

lado, se calcularon criterios de aceptación para la curva de calibrado (linealidad de la curva de calibrado y desviación típica de la pendiente), para su posterior aplicación al análisis de muestras problema, que no se ha tenido en cuenta porque el objetivo es ejemplificar la importancia de la validación del método de análisis.

Exactitud y precisión: para el cálculo de la exactitud y precisión, se prepararon 3 disoluciones hijas con concentraciones de 10 µg/ml, 20 µg/ml y 25 µg/ml, respectivamente, a partir de una disolución madre diferente a la disolución patrón de nitrito (disolución de nitrito sódico: 999,5 mg/l). A continuación, se añadieron en tubos de vidrio alícuotas de 100 µl de cada disolución hija, realizando un triplicado de cada una de ellas. Posteriormente, se hicieron reaccionar con el reactivo Griess-Saltzman, y se midieron, en sentido creciente de concentración, a 540 nm, frente a una curva patrón. Se analizaron 3 alícuotas para cada día de análisis, del total de 10 días, obteniéndose un total de 30 alícuotas para el cálculo de la exactitud y precisión. La exactitud se calculó según la siguiente expresión:

$$Ex = \left(\frac{v_R - v_0}{v_R} \right) \cdot 100$$

Donde:

Ex: exactitud.

v_R : valor de referencia (en este caso µg/ml de la disolución hija).

v_0 : valor observado (en este caso µg/ml obtenidos en el análisis).

La precisión se calculó según la siguiente expresión:

$$CV = \left(\frac{d_t}{\bar{X}} \right) \cdot 100$$

Donde:

CV: coeficiente de variación.

d_t : desviación típica.

X: promedio de las muestras observadas.

Tabla 2. Valores de exactitud y precisión (elaboración propia).

$\mu\text{g} / \text{ml}$	Exactitud	Precisión
10	8,21	3,28
20	6,8	2,38
25	5,54	2,08
X	Desviación típica	
18,3333333	7,63762616	

La Tabla 2 muestra los resultados obtenidos para ambos parámetros. Como valores de exactitud y precisión del método analítico se tomaron los valores más desfavorables, siendo éstos: 8,21 % como valor de exactitud y 3,28 % como valor de precisión. Puede observarse como el valor de la exactitud analítica aumenta conforme el valor de referencia se aproxima a cero, ocurriendo de forma similar en el caso de la precisión.

Límite de detección: el límite de detección, LD, se calculó según el método IUPAC, que relaciona la concentración que da una señal equivalente a la respuesta de un blanco (muestra que no contiene el analito que se quiere determinar), más tres desviaciones típicas.

$$LD = x_{mb} + 3 \cdot dt$$

Donde: x_{mb} = valor promedio de 10 masas analíticas de blanco.

Límite de cuantificación: el límite de cuantificación, LC, se calculó según el método IUPAC, que relaciona la concentración que da una señal equivalente a la respuesta de un blanco más diez desviaciones típicas.

$$LC = x_{mb} + 10 \cdot dt$$

Tabla 3. Límite de detección y límite de cuantificación (elaboración propia).

Día de análisis	μgNO_2^- / ml de Blanco	X masas de Blanco	Desviación típica	LD	LC
1	0,06	0,0415	0,011645218	0,07643566	0,15795218
2	0,062				
3	0,038				
4	0,048				
5	0,039				
6	0,03				
7	0,03				
8	0,031				
9	0,04				
10	0,037				

La Tabla 3 muestra los resultados obtenidos, el promedio de los resultados de los blancos fue $0,042 \mu\text{g NO}_2^- / \text{ml} \pm 0,012 \mu\text{g NO}_2^- / \text{ml}$, siendo el valor del límite de detección de $0,077 \mu\text{g NO}_2^- / \text{ml}$. Igualmente, el valor del límite de cuantificación fue $0,158 \mu\text{g NO}_2^- / \text{ml}$.

Incertidumbre del método analítico: la incertidumbre es un parámetro asociado al resultado de una medida que caracteriza la dispersión de la misma. La incertidumbre del método analítico, I_{met} , se calculó a partir de la siguiente expresión:

$$I_{\text{met}}^2 = I_{\text{eq}}^2 + I_{\text{cal}}^2 + I_{\text{ext}}^2$$

Donde:

I_{eq} es la incertidumbre correspondiente a la resolución del equipo.

I_{cal} es la incertidumbre correspondiente a la calibración.

I_{ext} es la incertidumbre correspondiente a la eficiencia de extracción.

La Tabla 4 muestra los valores obtenidos para cada una de las incertidumbres. El valor de la incertidumbre del método analítico fue de 9,415%.

Tabla 4. Incertidumbre del método analítico (elaboración propia).

I^2_{eq}	I^2_{cal}	I^2_{ext}	I^2_{met}
0	86,085	0,25	88,645

Dada la necesidad, por parte de los laboratorios de ensayo, de asegurar la calidad del resultado final, se ha mostrado el ejemplo de validación de un método analítico para la cuantificación de ión nitrito en muestras ambientales.

4.3.2. Estudios colaborativos

Según AOAC Internacional, los estudios colaborativos constituyeron la primera herramienta de validación, donde analistas experimentados y competentes (colaboradores) trabajaron independientemente y en laboratorios diferentes, usando el nuevo método para analizar muestras homogéneas de prueba para un analito en particular (Ortega et al., 2010).

Se realizan estudios colaborativos para evaluar la precisión intermedia y la variabilidad entre laboratorios (Soledad, 2009).

Los estudios de colaboración, o de desempeño de un método, son un tipo de ensayo inter-laboratorio en el cual todos los laboratorios siguen el mismo protocolo escrito para medir una cantidad/concentración de un determinado componente en porciones de muestras idénticas. El informe de los resultados se usa para determinar las características del método. Normalmente, estas características son la precisión intra e interlaboratorio, y cuando es necesario y posible, otras características dadas, tales como error sistemático, recuperación, parámetros de control de calidad internos y sensibilidad, entre otras (IUPAC, 1994).

El número de laboratorios que participan lo determina la entidad organizadora del ensayo. Para asegurar que los resultados sean fiables y tengan aplicación, se recomienda que no participen pocos laboratorios, siendo 5 el mínimo y 8 o más los recomendados. Dichos laboratorios han de ser expertos y deben estar

familiarizados con el método objeto de estudio que analizará las muestras, de acuerdo a las instrucciones de la entidad organizadora, y devolverán sus resultados al centro de arbitraje (Miller y Miller, 2002).

La entidad organizadora estimará los valores medios y desviaciones estándar de cada laboratorio y procederá en consecuencia a la eliminación de los valores erróneos (Compañó y Ríos, 2002).

Para que un laboratorio no sea eliminado debe superar una serie de ensayos o test.

Los resultados de los laboratorios que no han sido eliminados se someten a un tratamiento estadístico, normalmente, se realiza un análisis de la varianza (ANOVA, de sus siglas en inglés, *Analysis of variance*) que sirve para separar y estimar las diferentes causas de variación, así sean debidas al error aleatorio o al método de análisis empleado. Con esta técnica se comprueba si la diferencia entre las medidas muestrales es demasiado grande para explicarse por medio del error aleatorio (Miller y Miller, 1993).

En este tipo de ejercicios, además del ANOVA, que es el método usado cuando se realizan replicados en cada laboratorio, se puede utilizar otra aproximación llamada "SPLIT-LEVEL" en la que a los laboratorios participantes se les envían dos muestras (X e Y) que difieren ligeramente en composición y concentración, y estos las analizan sin hacer replicados (AOAC, 1989). Los resultados de los laboratorios pueden representarse de acuerdo con el procedimiento de las dos muestras de Youden (Youden, 1959).

Si el método no se encuentra sujeto a errores sistemáticos estas dos variaciones de σ^2 no deberían diferir de forma significativa, siendo la diferencia entre ellas el error aleatorio (Miller y Miller, 1993).

Cada laboratorio se representa en un diagrama según sus coordenadas (X,Y) que son los resultados obtenidos para las dos muestras recibidas. Los valores medios de X y de Y constituyen el "centroide" que se toma como referencia para trazar dos líneas perpendiculares que dividen el gráfico en cuatro cuadrantes.

La longitud de la perpendicular desde un punto cualquiera a la diagonal da una medida del error aleatorio y la distancia desde ese punto de corte al centroide se relaciona con la magnitud del error sistemático; el error total equivale a la distancia entre el centroide y el punto correspondiente a ese laboratorio (Figura 9).

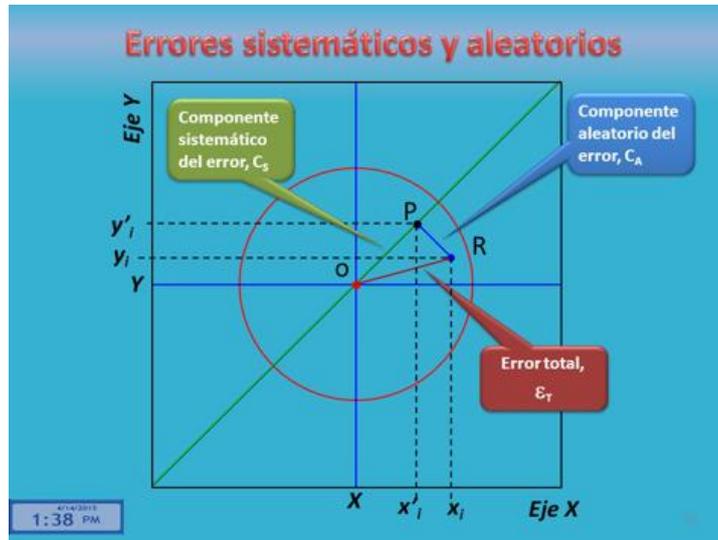


Figura 9. Representación de los errores (Pérez, 2015).

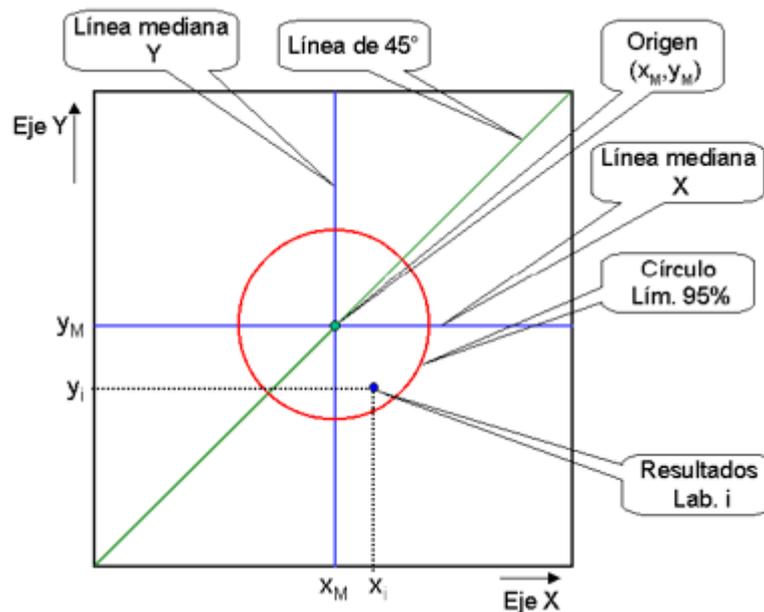


Figura 10. Representación del círculo de confianza de Youden (Pérez, 2004).

El centroide también se emplea como referencia para trazar el círculo de confianza, del 95% generalmente. Los laboratorios que producen resultados de calidad caen dentro de este círculo de confianza y fuera del mismo se encuentran los laboratorios cuyos resultados no son confiables. (Figura 10) (Agulla et al., 2008).

La varianza debida al error aleatorio puro se puede estimar como la diferencia entre las dos medidas $D = X_i - Y_i$. Paralelo a esto, la varianza debida al error total se puede estimar si se calculan las sumas $T = X_i + Y_i$. De manera análoga al ANOVA, se puede comprobar con el ensayo F de una cola ($F > F_{95, l-1, l-1}$) si S_T^2 es significativamente mayor que S_D^2 y por lo tanto el sesgo del laboratorio (error sistemático) es importante. En la Tabla 5 se recogen las expresiones matemáticas para el cálculo de las varianzas debidas a los errores aleatorio, total y sistemático.

Tabla 5. Ecuaciones para el cálculo de la varianza y F_{exp} (elaboración propia).

<i>Varianza</i> <i>Error total</i>	<i>Varianza</i> <i>Error sistemático</i>	<i>Varianza</i> <i>Error sistemático</i>
$S_D^2 = \frac{\sum (D_i - D_{mean})^2}{2(l-1)}$	$S_T^2 = \frac{\sum (T_i - T_{mean})^2}{2(l-1)}$	$S_L^2 = \frac{S_T^2 - S_D^2}{2}$

L: número de laboratorios

2: por usar dos valores que se suman o restan para dar D ó T

$$F_{exp} = S_T^2 / S_D^2$$

La representación de las dos muestras de Youden se usa para identificar laboratorios con errores sistemáticos y/o aleatorios especialmente elevados. La Tabla 6 muestra los parámetros y características que se consideran para la evaluación.

Tabla 6. Evaluación de la validación del método de análisis (elaboración propia).

PARÁMETROS	VALIDACIÓN DE MÉTODOS
Protocolo	ISO 5725-2
Evaluación	Desarrollo del método analítico
Número de laboratorios	Más de 8 (5 como mínimo)
Experiencia laboratorios	Sólo experimentados
Método analítico	Estrictamente específico
Confidencialidad	Baja
Trazabilidad	Requerida
Resultado	R, r

4.3.3. Ejemplo aplicado de estudios colaborativos

Determinación de proteínas en harina

El análisis de la varianza (ANOVA) es un método que se emplea para comparar resultados obtenidos por distintos métodos, laboratorios, analistas, etc., cuando el número de medias obtenidas es superior a dos. También permite separar las contribuciones de uno o más factores a la varianza global del sistema.

Como ejemplo del método matemático ANOVA en los estudios colaborativos se han utilizado los datos originales recogidos de una publicación de Nelsen y Wehling (2008). En este estudio se ha intentado, sin éxito aparente, validar un método para la obtención del porcentaje de proteína de la harina. Como ejemplo se elige la Harina A que tiene un porcentaje conocido, 10%, de proteínas y se analizan por duplicado (numerados como 9 y 4). Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 7.

Tabla 7. Porcentajes de proteínas de muestras de harina de trigo analizadas por el método a validar (elaboración propia).

Laboratorio	Harina A(9)	Harina A(4)
1	10,46	10,69
2	10,07	10,37
3	9,51	9,07
4	10,12	9,73
5	9,42	9,66
6	9,34	9,15
7	9,39	9,24
8	11	10,96
9	9,82	9,56
10	10,04	10,51
11	10,52	10,53
12	9,88	9,81
13	9,59	9,14
14	9,55	9,41
15	10,96	10,65

Se realiza un ANOVA como resultado del cual se obtiene un F experimental de 17,04 y el valor de F tabulado es 2,42 lo cual indica que existen diferencias significativas en el análisis de proteínas entre las réplicas, ya que la $F_{\text{experimental}} > F_{\text{tabulado}}$ (Tabla 8).

Tabla 8. ANOVA en Excel para la comparación de Harina por duplicado (elaboración propia).

ANÁLISIS DE VARIANZA						
Origen de las variaciones de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F	
Entre grupos	0,0710007	14	0,000354702	17,0147302	1,03205	2,424304357
Dentro de los grupos	0,60905	15	0,040603333			
Total	10,2810167	29				

El cálculo del coeficiente de variación (reproducibilidad) muestra un valor de 6,09 que es claramente superior al recomendado por la AOAC (AOAC,1989) para el valor de concentración estudiada (10%).

Los datos obtenidos indican que el método no es fiable desde el punto de vista de la precisión interlaboratorio. En este punto, la comisión organizadora puede rechazar, o no recomendar, el método que se está ensayando por considerarlo no fiable desde el punto de vista de la reproducibilidad. Se deben inspeccionar las causas y tratar de solucionarlas.

Además, los laboratorios 3, 8, 6 y 15 proporcionan valores más altos y bajos respectivamente. Estos resultados muestran que el método tiene un sesgo sistemático. El método puede no ser invalidado si este sesgo es juzgado como trivial por el comité, aunque el desarrollador del método debería tratar de encontrar la fuente de este error y corregirla (Nelsen y Wehling, 2008).

4.4. Proceso para la adecuada elección del método de análisis

Como se ha mostrado anteriormente la elección del método de análisis es una etapa crucial en la resolución del problema analítico que consiste en el diseño y planificación del proceso analítico más adecuado para alcanzar los objetivos propuestos, lo que incluye el diseño de todos y cada uno de los pasos que unen la muestra con la obtención de resultados.

Es importante destacar que no existe “el mejor método” en términos absolutos, sino “el método más adecuado” para la resolución de un problema concreto.

Para realizar una elección adecuada es necesario involucrarse en la problemática socio-económica que conlleva la resolución del problema y asegurar que la información obtenida se ajustada a la requerida. Teniendo en cuenta los objetivos del análisis, y la repercusión de los resultados, se debe efectuar la selección del método más adecuado que requerirá posteriormente de un proceso de validación total o parcial para establecer su validez y asegurar la fiabilidad de los resultados obtenidos.

La Figura 11 muestra un diagrama de flujo en el que se recoge el proceso de elección y validación de un método desde la necesidad del cliente a resolver, que sería el problema analítico planteado, hasta la decisión del laboratorio sobre la

idoneidad del método para la resolución de dicho problema (Figura 11) (Morillas, 2016).

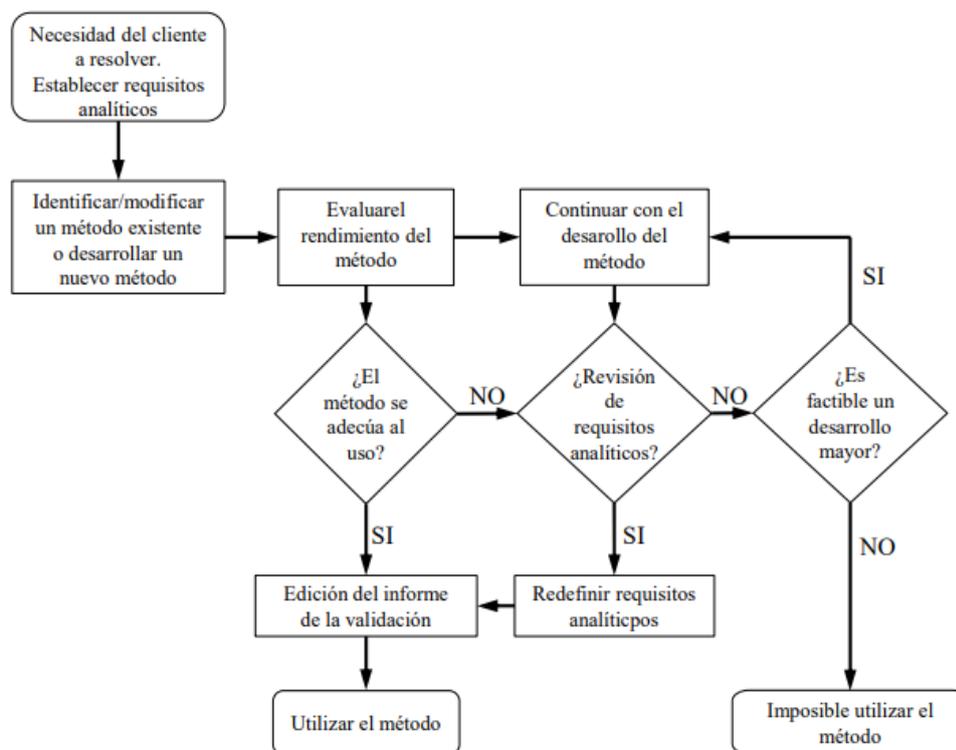


Figura 11. El proceso de elección y validación de un método (Morillas, 2016).

5. CONCLUSIONES

Se ha verificado la importancia que tiene la correcta elección del método de análisis y su repercusión en el control de calidad en los laboratorios analíticos.

Se ha comprobado que la elección del método es una etapa primordial para obtener unos resultados de calidad y que además de la elección del método es imprescindible el control de calidad, objeto de esta revisión, que resulta decisivo en el aseguramiento de los resultados.

Se ha demostrado que un método eficaz proporciona garantías y confianza a los clientes de los laboratorios.

Se han descrito los distintos factores que repercuten en la fiabilidad del método, siendo estos de vital importancia en la decisión final de utilizar el método o no.

La validación de los métodos analíticos, que es consecuencia de estos ensayos, ha sido clave para determinar el método como oficial o de referencia. Se le ha dado bastante importancia dada la utilidad que tiene.

Se ha abordado un ejemplo para ejemplificar la validación del método mediante la determinación del ión nitrito por espectroscopía UV-VIS a partir de la reacción Griess-Saltzman.

Se ha abordado la metodología en la que se basan los ensayos colaborativos, siendo estos de gran ayuda en el desarrollo de esta revisión.

Se ha mostrado un ejemplo aplicado del estudio colaborativo, mediante el método ANOVA y ha quedado reflejada la importancia de la estadística en el control de calidad en el laboratorio analítico.

6. BIBLIOGRAFÍA

Agulla A, Filippini OS, Delfino H. Informe del sexto interlaboratorio de aguas superficiales potencialmente contaminadas. Argentina: Cámara argentina de laboratorios independientes bromatológicos, ambientales y afines (CALIBA); 2008.

Álvarez A, Campuzano S. Control de la contaminación biológica en los laboratorios de docencia de la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca en Bogotá, Colombia. Nova.2003;1(1):1 - 116.

AOAC International. AOAC Official Methods of Analysis. Appendix D: Guidelines for Collaborative Study Procedures To Validate Characteristics of a Method of Analysis, J. AOAC Int. 1989; 72: 694 – 704.

Asociación Española de la Industria Farmacéuticos de la Industria. Validación de Métodos Analíticos. 1ª ed. Barcelona; 2001.

Bievre P. The Fitness for Purpose of Analytical Methods A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics. 1ª ed. México; 1998.

Boqué R. Técnicas de laboratorio: el límite de detección de un método analítico. 2004 [en línea]. [Consultado en julio de 2018] Disponible en: <http://www.urv.es>

Brown G, Sallee E. Química cuantitativa. 1ª ed. Barcelona: Reverté; 1967.

Burriel F, Lucena F, Arribas S, Hernández J. Química analítica cualitativa. 18 ed. Madrid: International Thompson editores Spain; 1985.

Compañó R, Ríos A. Garantía de la calidad en los laboratorios analíticos. 1ª ed. Madrid: Síntesis; 2002.

Cuadros L, Gámiz L, Carrasco A, Ruiz C. Glosario de términos analíticos. 1ª ed. GRASEQA; 2013.

Curto C. Calibración. 2015. [en línea]. [Consultado en Julio 2018]. Disponible en: <https://slideplayer.es/slide/2922958/>

Eguileor I. La calidad en los laboratorios de alimentos. 2016 [en línea]. [Consultado en Junio 2018]. Disponible en: http://www.aecosan.msssi.gob.es/AECOSAN/docs/documentos/noticias/2016/Escorial_16/Inaki_Eguileor.pdf

Galán D, Fernández R, Díaz A. Validación de métodos analíticos. Implementación al análisis rutinario. Higiene y Sanidad Ambiental. 2012; 12(3): 882-888.

Harvey D. Selecting an Analytical Method. 2ª ed. LibreTexts Chemistry, 2016 [Consultado en Julio 2018]. Disponible en: [https://chem.libretexts.org/Textbook Maps/Analytical Chemistry Textbook Maps/Map%3A Analytical Chemistry 2.0 \(Harvey\)/03 The Vocabulary of Analytical Chemistry/3.4%3A Selecting an Analytical Method](https://chem.libretexts.org/Textbook%20Maps/Analytical%20Chemistry%20Textbook%20Maps/Map%3A%20Analytical%20Chemistry%202.0%20(Harvey)/03%20The%20Vocabulary%20of%20Analytical%20Chemistry/3.4%3A%20Selecting%20an%20Analytical%20Method)

ISO 11843-1:1997. Capability of detection - Part 1: Terms and definitions. ISO, 1997.

ISO 3534-1:2006. Statistics - Vocabulary and symbols - Part 1: General statistical terms and terms used in probability. ISO, 2006.

IUPAC. International Union of Pure and Applied Chemistry. Nomenclature of interlaboratory analytical studies. Pure & Appl. Chem. 1994; 66 (9): 1903 – 1911.

IUPAC. International Union of Pure and Applied Chemistry. Nomenclature in evaluation of analytical methods including detection and quantification capabilities. Pure & Appl. Chem. 1995; 67: 1699-1723.

IUPAC. International Union of Pure and Applied Chem. IUPAC. Selectivity in Analytical Chemistry. Pure & Applied Chem. 2001; 73: 1381-1386.

Laitinen A, Harris E. Análisis químico. 1ª ed. Barcelona: Reverté; 1982.

Miller JC, Miller JN. Estadística para Química Analítica. 2ª ed. Estados Unidos. Addison-Wesley Iberoamerican, S.A; 1993.

Miller JN, Miller JC. Estadística y Quimiometría para Química Analítica. 4ª ed. Madrid. Prentice Hall; 2002.

Morales MT. La elección del Método. En: Asignatura Control de Calidad en el Laboratorio Analítico, Tema 12. Curso 2017/18. [Consultado en Mayo 2018]. Disponible en: <https://ev.us.es/>. [Acceso restringido].

Morillas PP. Guía Eurachem: La adecuación al uso de los métodos analíticos – Una Guía de laboratorio para la validación de métodos y temas relacionados. 2016 [en línea]. [Consultado en Julio 2018]. Disponible en www.eurachem.org

Nelsen T, Wehling P. Collaborative Studies for Quantitative Chemical Analytical Methods. Cereal food world. 2008; 53 (5); 285 – 288.

Ortega M, Rodríguez C, Zhurbenko R. Validación de métodos alternativos para análisis microbiológico de alimentos y aguas. Métodos cualitativos. Rev Cubana Hig Epidemiol.2010; 48(2): 162-176.

Pérez A. Calidad analítica. 2015. [en línea]. [Consultado en Julio 2018]. Disponible en: <https://slideplayer.es/slide/3355495/>

Pérez A. Evaluación estadística. Comparaciones interlaboratorios - Análisis de Youden. 2004. [en línea]. [Consultado en Julio 2018]. Disponible en: <https://vdocuments.site/explicacion-diagrama-youden-1.html>

Pérez JD, Lopera IC. Gestión humana de orientación analítica: un camino para la responsabilización Revista de Administração de Empresas(RAE).2016;56(1): 101.

Riu J, Boqué R, Maroto A, Rius FX. Exactitud y Trazabilidad(SEP). 2000; 22(254): 591 - 594

Rodríguez G, Blanco R. Aseguramiento de la calidad analítica y norma ISO 17 025 en laboratorios clínicos y químicos. Rev. costarric. cienc. méd. 2001; 22(1): 1-2.

Samaniego D. Proceso analítico. En: Análisis de medicamentos 1. 2016. [en línea]. [Consultado en Julio 2018]. Disponible en: <http://analisisdemedicamentos1ulat2016.blogspot.com/2016/05/proceso-analitico.html>

Santos JA. Trazabilidad y materiales de referencia. 2015. [en línea]. [Consultado en Julio 2018]. Disponible en: <https://docplayer.es/1838314-Trazabilidad-y-materiales-de.html>

Sardiñas O, Hernández M. Aseguramiento de la calidad en un laboratorio acreditado. Rev Cubana Hig Epidemiol. 2002; 40(1): 16-9.

Soledad BE. La validación en la industria. 1ª ed. Lulu.com: Beatriz Elena Soledad; 2009.

Taverniers I, Van Bockstale, E De Loose M. Trends in quality in the analytical laboratory. Traceability and measurement uncertainty of analytical result. TrAC, Trends Anal. Chem. 2004a; 23: 480-490.

USP. The United States Pharmacopeial Convention USP 30 NF 25. Spanish Supplement 1 Capítulos Generales Estándares USP. Estados Unidos de América: Twinbrook Parkway, Rockville, MD. 2007 [en línea]. [Consultado en Julio 2018]. Disponible en <https://vdocuments.mx/documents/uspcatalog20111112-dl.html>

UNE-EN ISO 17025:2005. Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración. Madrid: AENOR; 2005.

United States Environmental Protection Agency(EPA). Marlap-Selection and application of an analytical method.2004 [en línea]. [Consultado en Mayo 2018]. Disponible en: <https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-05/documents/402-b-04-001a-06-final.pdf>

Valcárcel M, Ríos A. La calidad en los laboratorios analíticos. 1ª ed. Barcelona: Reverté; 1992.

Valcárcel M. La química analítica, hoy y mañana. 1ª ed. Valencia: Universitat de Valencia; 2011.

Ventura S, Chueca P, Rojo I, Castaño JL. Errores relacionados con el laboratorio clínico. Química Clínica. 2007; 26(1): 23-28.

Verdoy PJ, Mateu J, Sagasta S. Manual de control estadístico de calidad: teoría y aplicaciones. 1ª ed. Castelló de la Plana: Publicacions de la Universitat Jaume I, D. L; 2006.

Youden WJ. Graphical diagnosis of interlaboratory test results. Ind Qual Control. 1959; 15 (11): 24 – 28.

