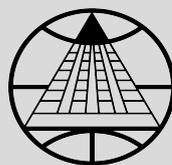


---

**Eurachem** 



**CITAC**  
Cooperation on International  
Traceability in Analytical Chemistry

---

**EURACHEM / CITAC Guide**

**Incertidumbre de medición  
derivada del muestreo**

**Una guía de métodos y enfoques**

**Segunda Edición inglesa 2019**

**Primera Edición Española 2021**

**Producida conjuntamente con  
Eurolab, Nordtest, y  
RSC Analytical Methods Committee**

---

INTENTIONALLY BLANK

## Incertidumbre de medición derivada del muestreo: una guía de métodos y enfoques

Segunda Edición inglesa (2019)  
Primera Edición española (2021)

Producida conjuntamente por  
Eurachem, EUROLAB, CITAC, Nordtest y el RSC  
Analytical Methods Committee

### Editores

Michael H Ramsey (University of Sussex, UK),  
Stephen L R Ellison (LGC, UK)  
Peter Rostron (University of Sussex, UK)

### Composición del Grupo de Trabajo\*

#### **Miembros de Eurachem**

Michael H Ramsey (Chair)	University of Sussex, UK
Stephen L R Ellison (Secretary)	LGC, UK
Paolo de Zorzi	ISPRA (Italian National Institute for Environmental Protection and Research), Italy
Pentti Minkkinen	LUT University, Finland
Eskil Sahlin	RISE (Research Institutes of Sweden), Sweden
Alex Williams	UK
Silke Ritche	BAM, Germany

#### **Miembros EUROLAB**

Irache Visiers	Applus
Ruediger Kaus	Eurolab DE

#### **Miembros CITAC**

Ilya Kuselman	Independent Consultant on Metrology, Israel
Jorge Eduardo S.Sarkis	Institute of Nuclear and Energy Research, Brazil

#### **Representación Nordtest**

Bertil Magnusson	Trollboken AB, Sweden
------------------	-----------------------

#### **Representación RSC AMC**

Peter Rostron	RSC, UK
Roger Wood	RSC, UK

\*En el momento de aprobación del documento

### Agradecimientos

Este documento ha sido elaborado principalmente por un grupo de trabajo conjunto de Eurachem / EUROLAB / CITAC / Nordtest / AMC con la composición que se muestra (derecha) trabajando en el período de 2017-2019. Los editores agradecen a todas estas personas y organizaciones y a otras personas que han contribuido con comentarios, asesoramiento y ayuda.

La producción de esta guía fue apoyada en parte por Analytical Methods Trust.

Esta publicación debe citarse como:  
M H Ramsey, S L R Ellison and P Rostron (eds.) Eurachem/EUROLAB/  
CITAC/Nordtest/AMC Guide: *Measurement uncertainty arising from  
sampling: a guide to methods and approaches*. Second Edition, Eurachem  
(2019). ISBN (978-0-948926-35-8). Disponible en: <http://www.eurachem.org>

## Prefacio

La incertidumbre de la medición es el parámetro individual más importante que describe la calidad de las mediciones. Esto se debe a que la incertidumbre condiciona fundamentalmente las decisiones que se basan en el resultado de la medición. Se ha logrado un progreso sustancial en el diseño de procedimientos para estimar la incertidumbre que deriva de la parte analítica de la medición, y se dispone de orientación sobre estos procedimientos [1]. Sin embargo, una medición involucra casi invariablemente el proceso de tomar una **muestra**. Esto se debe a que, por lo general, es imposible analizar la mayor parte del material a caracterizar (**el objeto de estudio del muestreo**). Si el objetivo de la medición es estimar el valor de la concentración de analito en un objeto de estudio del muestreo, entonces la incertidumbre asociada con el proceso de muestreo debe contribuir inevitablemente a la incertidumbre asociada con el resultado informado. Se ha hecho cada vez más evidente que el muestreo es a menudo la contribución más importante a la incertidumbre y requiere una gestión y un control igualmente cuidadosos. Por lo tanto, debe evaluarse la incertidumbre que deriva del proceso de muestreo. Si bien la orientación existente identifica el muestreo como una posible contribución a la incertidumbre en un resultado, los procedimientos para estimar la incertidumbre resultante no están bien desarrollados y se requiere orientación adicional y específica.

Históricamente, los metrologos se han preocupado principalmente por las mediciones realizadas dentro de los laboratorios, y el proceso de muestreo ha sido realizado, y la responsabilidad asociada, por un grupo diferente de personas que a menudo se encuentran en organizaciones separadas. El conocimiento del metrologo del proceso de muestreo es entonces muy limitado. A la inversa, la llegada de las técnicas analíticas in situ a veces permite al metrologo realizar mediciones en el lugar del muestreo y en contacto con el material que se va a muestrear. Ejemplos de esta situación son el análisis de procesos dentro de la producción industrial y las mediciones in situ en terrenos contaminados. La colocación del sensor analítico en estas situaciones constituye entonces la toma de una muestra, y el metrologo se vuelve no solo consciente de, sino responsable de, todas las etapas del proceso de medición, incluido el muestreo. Este conocimiento de todo el proceso es importante, independientemente de la división del esfuerzo. Dado que los procesos analíticos y de muestreo contribuyen a la incertidumbre en el resultado, la incertidumbre solo puede estimarse si se comprende el proceso completo. Además, la optimización del esfuerzo relativo en el muestreo y el análisis solo es posible cuando se comprenden los ambos procesos.

Si las diferentes etapas son responsabilidad de diferentes personas, es necesario que haya una buena comunicación entre todas las partes involucradas. Los encargados de planificar el muestreo y los científicos analíticos deben optimizar todo el procedimiento de medición y diseñar una estrategia para estimar la incertidumbre. Ambos necesitan discutir los objetivos de las mediciones con el cliente. Las tres partes necesitan orientación del regulador correspondiente sobre cómo actuar sobre estas estimaciones de incertidumbre, para asegurar la confiabilidad de las decisiones basadas en las mediciones. Para respaldar estas decisiones, todas las partes necesitan estimaciones

fiables de la incertidumbre, incluida la derivada del muestreo. Aunque ninguna guía general puede reemplazar el asesoramiento de expertos en casos complejos o críticos, esta guía describe los métodos necesarios para satisfacer la necesidad de estimaciones confiables de la incertidumbre del muestreo para la mayoría de los sistemas de medición analítica.

Desde la publicación de la primera edición de esta Guía en 2007, ha habido una serie de desarrollos importantes que se han incorporado en esta segunda edición. Éstos incluyen:

- la expresión de la incertidumbre de la medición como un factor de incertidumbre ( $F_U$ ) cuando la distribución de frecuencia que describe la incertidumbre del muestreo es logarítmica normal en lugar de normal, y el uso de un "factor de incertidumbre" en un balance de incertidumbre.
- el uso de un diseño no balanceado para estimar la incertidumbre de forma más rentable de lo que puede lograrse utilizando el diseño balanceado de "método duplicado";
- actualizaciones de las definiciones y referencias para reflejar los documentos y la literatura internacionales actuales, incluidas las aplicaciones de estos métodos a las mediciones in situ e in situ, realizadas a escala macro y micro.

## Prefacio a la primera edición española

Una de las novedades fundamentales de la nueva versión de la norma ISO/IEC 17025 ha sido la incorporación de la evaluación derivada de las actividades del muestreo. La segunda edición de esta Guía de Eurachem aborda de manera actualizada esta temática. Por ello, he coordinado un Grupo de Trabajo para su traducción constituido por:

- Instituto Nacional de Calidad (<https://www.gob.pe/inacal>)



**INACAL**  
Instituto Nacional  
de Calidad

Christian Uribe

Rocío Taquire

- Canal de Isabel II, S.A ([www.canaldeisabelsegunda.es](http://www.canaldeisabelsegunda.es)).



Silvia León Oltra

Irene Gómez Rodríguez

Araceli Tejada Sáenz

María de Paz García

Celia Comino Galán

La revisión completa del documento ha sido realizada por:

- Canal de Isabel II, S.A. Pedro Pablo Morillas Bravo



Pablo Rohner Hernández

Juan Felipe Daza

Espero que esta traducción permita facilitar la difusión y acceso a esta guía.

Nota: Esta edición en español, denominada UfS: 2019.P2-ES, es una traducción de la edición en inglés de la Guía Eurachem “Measurement uncertainty arising from sampling: A guide to methods and approaches, Second Edition (2019)”, segunda impresión (UfS:2019.P2), incluidas las correcciones publicadas como “Errata versión 1.2” ( de 4 de Marzo de 2020).

## Resumen

Esta Guía tiene como objetivo describir varios métodos que se pueden utilizar para estimar la incertidumbre de la medición, particularmente la que surge de los procesos de muestreo y la preparación física de las muestras. Se necesita una visión holística del proceso de medición para incluir todos estos pasos, así como el proceso analítico, en el caso de que el mensurando se defina en términos del valor de la concentración del analito en el objetivo de muestreo, en lugar de solo en la muestra entregada al laboratorio. La Guía comienza explicando la importancia de conocer la incertidumbre total en una medición para realizar una interpretación confiable de las mediciones y valorar su adecuación al uso. Cubre todo el proceso de medición, definiendo cada uno de los pasos de los componentes y describiendo los efectos y errores que causan incertidumbre en la medición final.

Se describen dos enfoques principales para la estimación de la incertidumbre a partir del muestreo. El enfoque empírico utiliza muestreo y análisis repetidos, bajo diversas condiciones, para cuantificar los efectos causados por factores como la heterogeneidad del analito en el objetivo de muestreo y las variaciones en la aplicación de uno o más protocolos de muestreo, para cuantificar la incertidumbre (y generalmente algunos de sus componentes). El enfoque de modelado utiliza un modelo predefinido que identifica cada una de las partes componentes de la incertidumbre, hace estimaciones de cada componente y las suma para hacer una estimación general. En ocasiones, en este enfoque se pueden utilizar modelos de la teoría del muestreo para estimar algunos de los componentes a partir del conocimiento de las características de los componentes particulados.

Se dan ejemplos resueltos de cada uno de estos enfoques, en una variedad de áreas de aplicación diferentes. Estos incluyen investigaciones del medio ambiente (del suelo y el agua), de los alimentos (durante el cultivo y procesamiento) y de la alimentación animal. Las estimaciones de la incertidumbre expandida de la medición van desde un pequeño porcentaje hasta más del 80% en relación con el mensurando. La contribución del muestreo es ocasionalmente pequeña, pero a menudo es dominante (puede exceder el 90% de la incertidumbre de la medición expresada como varianza). Esto sugiere que una mayor proporción del gasto debe destinarse al muestreo, en lugar del análisis químico, si es necesario reducir la incertidumbre total para lograr la adecuación al uso.

Las cuestiones de gestión que se abordan incluyen la responsabilidad de la calidad en todo el proceso de medición, que debe incluir el procedimiento de muestreo. Se brinda orientación sobre la selección del enfoque más apropiado para cualquier aplicación, y si una validación inicial del sistema es suficiente, o si existe la necesidad de un monitoreo continuo de la incertidumbre del muestreo utilizando el control de calidad del muestreo. Se considera también el coste adicional de estimar la incertidumbre en relación con el ahorro de costes que se pueden lograr al conocer la incertidumbre de la medición de manera más confiable.

Una guía de este tipo nunca puede ser totalmente exhaustiva y, aunque existen apéndices con detalles de algunas de las técnicas estadísticas empleadas y fuentes de

asesoramiento más detallado, a menudo será necesario el asesoramiento de expertos en situaciones más complejas. Esta guía pretende ser una introducción útil a este tema, pero esperamos que también estimule la investigación adicional sobre métodos mejorados de estimación de la incertidumbre.

# Índice

<b>Prefacio</b>	<b>i</b>
<b>Prefacio a la primera edición española</b>	<b>iii</b>
<b>Resumen</b>	<b>iv</b>
<b>Lista de acrónimos y abreviaturas</b>	<b>x</b>
<b>PARTE 1 – Introducción y alcance</b>	<b>1</b>
<b>1 Introducción</b>	<b>1</b>
1.1 Justificación de la Guía	1
1.2 Objetivo de la guía	1
1.3 Aplicación para evaluar la adecuación al uso	1
1.4 Público destinado para la Guía	2
1.5 Relación de esta Guía con otros documentos	2
1.6 Uso de la Guía	3
<b>2 Alcance y campo de aplicación</b>	<b>4</b>
<b>3 Terminología</b>	<b>4</b>
<b>PARTE 2 – Conceptos fundamentales</b>	<b>5</b>
<b>4 Muestreo en el proceso de medición</b>	<b>5</b>
<b>5 Incertidumbre de medida</b>	<b>7</b>
5.1 Definición de la incertidumbre de medida	7
5.2 Especificación del mensurando	8
5.3 Error, precisión e incertidumbre	9
5.4 Muestreo y preparación física como fuentes de incertidumbre de medida	10
5.5 Fuentes de incertidumbre	11
5.6 Heterogeneidad como fuente de incertidumbre	11
5.7 Variación de la incertidumbre con el nivel de concentración	12

<b>PARTE 3 – Estimación de la incertidumbre de medida incluyendo el muestreo</b>	<b>16</b>
<b>6 Enfoques para la estimación de la incertidumbre</b>	<b>16</b>
<b>7 El mensurando</b>	<b>17</b>
<b>8 Comportamiento general de estudios de incertidumbre de muestreo</b>	<b>17</b>
<b>9 Enfoque empírico</b>	<b>17</b>
9.1 Información general	17
9.2 Fuentes de incertidumbre	18
9.3 Modelo estadístico para la estimación empírica de la incertidumbre	19
9.4 Estimación empírica de la incertidumbre	20
9.5 Cálculo de la incertidumbre y sus componentes	23
9.6 Métodos empíricos alternativos de estimación de la incertidumbre	25
<b>10 El enfoque de modelamiento</b>	<b>25</b>
10.1 Modelamiento de causa-efecto	25
10.2 Teoría de muestreo para la estimación de la incertidumbre	25
<b>PARTE 4 – Problemas de gestión</b>	<b>30</b>
<b>11 Responsabilidades en la calidad del muestreo</b>	<b>30</b>
<b>12 Selección del enfoque de estimación de la incertidumbre</b>	<b>30</b>
<b>13 Control de calidad del muestreo</b>	<b>31</b>
13.1 Relación entre validación y control de calidad	31
13.2 Métodos de control interno de calidad del muestreo	32
<b>14 Informar e interpretar la incertidumbre</b>	<b>34</b>
14.1 Introducción	34
14.2 Incertidumbre expandida, $U$	34
14.3 Declaraciones relativas a la incertidumbre	35
14.4 Factor de incertidumbre	35
14.5 Contribuciones a la incertidumbre	35
14.6 Aplicabilidad de las estimaciones	36
14.7 Interpretación de las declaraciones de la incertidumbre contra los límites	36
<b>15 Coste de la estimación de la incertidumbre del muestreo</b>	<b>37</b>

<b>16</b>	<b>Evaluar la adecuación al uso de las mediciones utilizando la incertidumbre</b>	<b>37</b>
<b>17</b>	<b>Implicaciones para planificar estrategias de muestreo y medición</b>	<b>39</b>
17.1	Experiencia y consulta	39
17.2	Evitar el sesgo del muestreo	40
17.3	Planificación de la estimación de la incertidumbre	40
17.4	Criterios de adecuación al uso	40
17.5	Uso de datos de validación previa	40
17.6	Aceptación de la incertidumbre de muestreo	41
17.7	Estimación de incertidumbre para mediciones on-site e <i>in situ</i>	41
	<b>Apéndice A: Ejemplos</b>	<b>42</b>
	<b>Ejemplo A1: Nitrato en lechuga cultivada en invernadero</b>	<b>43</b>
	<b>Ejemplo A2: Plomo en suelo superficial contaminado</b>	<b>49</b>
	<b>Ejemplo A3: Hierro disuelto en aguas subterráneas</b>	<b>59</b>
	<b>Ejemplo A4: Vitamina A en papillas para bebés que contienen fruta y cereales molidos:</b>	<b>68</b>
	<b>Ejemplo A5: Enzima en pienso para pollos</b>	<b>86</b>
	<b>Ejemplo A6: cadmio y fósforo en suelo agrícola mediante un enfoque de modelado</b>	<b>89</b>
	<b>Apéndice B: Terminología</b>	<b>99</b>
	<b>Apéndice C: Procedimientos estadísticos de utilidad</b>	<b>108</b>
	<b>C1. Estimación del sesgo entre dos métodos de muestreo, mediante el uso de muestras pareadas</b>	<b>108</b>
	<b>C2. Descripción adicional de los errores de muestreo a partir de la teoría de muestreo</b>	<b>110</b>
	<b>C3. Empleo de software para cálculos</b>	<b>113</b>
	<b>Apéndice D: Diseños experimentales alternativos para la estimación empírica de la incertidumbre</b>	<b>114</b>
	<b>D1. Diseños de niveles múltiples para estimar efectos de otros componentes</b>	<b>114</b>
	<b>D2. Diseños simplificados y no balanceados, para reducir el coste de implementación</b>	<b>115</b>

<b>Apéndice E: Modificación de la incertidumbre de muestreo utilizando predicciones de la teoría de muestreo</b>	<b>116</b>
<b>Bibliografía</b>	<b>117</b>

## Lista de acrónimos y abreviaturas

ANOVA	Análisis de varianza
AQC	Control de Calidad Analítico
BIPM	Bureau International des Poids et Mesures
CEN	European Committee for Standardization
CH	Estructura de heterogeneidad
CTS	Ensayo colaborativo en muestreo
df	Grados de libertad
DH	Distribución de heterogeneidad
FAPAS	Nombre comercial de organizador de ejercicios de intercomparación
FSE	Error fundamental del muestreo
GEE	Estimación global de error
GFAAS	Espectrometría de absorción atómica en horno de grafito
GSE	Error de agrupación y segregación
GUM	Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement. ISO
HPLC	Cromatografía líquida de alta resolución
IDE	Error incremental de delimitación
IEC	International Electrotechnical Commission
IFCC	International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine
IPE	Error incremental y de preparación de la muestra
ISO	<u>International Organization for Standardization</u>
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
IUPAP	International Union of Pure and Applied Physics
IXE	Error incremental de extracción
LOD	Límite de detección
LOQ	Límite de cuantificación
MRC	Material de Referencia Certificado
MU	Incertidumbre de medición
NIFES	National Institute of Nutrition and Seafood Research
NIST	National Institute of Standards and Technology
OIML	<u>International Organization of Legal Metrology</u>
PSE	Error de selección del punto
PME	Error de mineralización del punto
PT	Ejercicio de intercomparación
QA	Aseguramiento de la Calidad
QC	Control de Calidad
RANOVA	Análisis de varianza robusto
RSD	Desviación estándar relativa
RST	Objeto de estudio del muestreo de referencia
SD	Desviación estándar
SPT	Ejercicio de intercomparación de muestreo
SS	Suma de cuadrados
SWE	Error ponderado
TAE	Error analítico total
TSE	Error total de muestreo

## PARTE 1 – Introducción y alcance

### 1 Introducción

#### 1.1 Justificación de la Guía

El propósito principal de la medición es permitir que se tomen decisiones. La fiabilidad de estas decisiones depende del conocimiento de la incertidumbre de los resultados de medición. Si se subestima la incertidumbre de las mediciones, por ejemplo, cuando el **muestreo** no se tiene en cuenta, entonces se pueden tomar decisiones erróneas que pueden tener grandes consecuencias financieras. La **adecuación al uso** de los resultados de medición solo se puede juzgar teniendo estimaciones fiables de sus incertidumbres. Por esta razón es esencial que estén disponibles procedimientos efectivos para estimar las incertidumbres derivadas de todas las partes del proceso de medición. Estos deben incluir incertidumbres que derivan de cualquier muestreo relevante y preparación física. Las opiniones sobre si la contribución analítica a la incertidumbre es aceptable solo se puede hacer con el conocimiento de la incertidumbre que se origina en el resto del procedimiento de medición.

#### 1.2 Objetivo de la guía

**1.2.1** El objetivo de esta Guía es explicar el fundamento, y la aplicación práctica, de los métodos disponibles para la estimación de la incertidumbre que incluye la contribución del muestreo. La Guía no tiene como objetivo recomendar protocolos de muestreo individuales, que a menudo se prescriben en otros documentos o regulaciones, sino más bien considerar la incertidumbre de medida generada por cualquier protocolo empleado.

**1.2.2** La Guía también tiene como objetivo explicar la importancia del muestreo para el balance de la incertidumbre global y, por lo tanto, para la fiabilidad de las decisiones consecuentes tomadas utilizando las mediciones. Así como explicar cómo estimar la incertidumbre, la Guía explicará la justificación para incluir el muestreo en la gestión global del proceso de medida.

**1.2.3** A diferencia de la suposición que a menudo se hace para las estimaciones de la incertidumbre para un método analítico, una estimación para un protocolo de muestreo para un lote de material no debe suponerse como aplicable automáticamente a cualquier lote posterior de material. Por ejemplo, dependiendo del objeto de estudio del muestreo, el grado de **heterogeneidad** (es decir, la falta de homogeneidad) puede haber cambiado sustancialmente. Por lo tanto, será necesario un monitoreo de rutina de los parámetros clave de la calidad del muestreo para examinar y actualizar las estimaciones de la incertidumbre para los lotes posteriores.

#### 1.3 Aplicación para evaluar la adecuación al uso

Uno de los principales beneficios de conocer la incertidumbre de una medida es permitir que una parte interesada evalúe su adecuación para algún uso en particular. Por lo tanto, una comprensión adecuada de la **incertidumbre del muestreo** debe integrarse en la perspectiva más amplia de la adecuación al uso. Esto es importante por dos razones. En primer lugar, asegura que la estimación de la incertidumbre de cada medición sea realista en comparación con el valor óptimo de la incertidumbre requerida para tomar decisiones fiables. En segundo lugar, dado este nivel de incertidumbre que se requiere para ser adecuado al uso, es necesario

distribuir el esfuerzo (o gasto) entre el muestreo y los aspectos analíticos del proceso de medida para obtener la incertidumbre requerida de la manera más económica. Estas ideas se desarrollan más adelante, y en la Sección 16 se introduce un enfoque cuantitativo para evaluar la adecuación al uso del balance de incertidumbre frente a costes.

### 1.4 Público destinado para la Guía

Esta guía está destinada principalmente a especialistas como planificadores de muestreo y para químicos analíticos que necesitan estimar la incertidumbre asociada con sus resultados de medición. Otras partes interesadas deben buscar asesoramiento especializado para aplicaciones particulares.

### 1.5 Relación de esta Guía con otros documentos

**1.5.1** La práctica actual en la estimación de la incertidumbre para un amplio rango de mediciones se basa en la ‘Guía para la Expresión de Incertidumbre en la Medida’ (‘la GUM’) [2], publicada en 2008 por ISO en colaboración con BIPM, IEC, IFCC, IUPAC, IUPAP y OIML. La GUM presenta los conceptos necesarios, establece los principios generales y proporciona un procedimiento aplicable para los casos cuando está disponible un modelo adecuado del proceso de medición. La aplicación de este enfoque al análisis químico se describió en 1995 en una Guía Eurachem para ‘Cuantificar la Incertidumbre en Medidas Analíticas’ [3], y se amplió para incluir el uso de datos de validación y desempeño del método en una tercera edición en el 2012 [1]. Otras contribuciones útiles para la estimación práctica de la incertidumbre de las mediciones analíticas utilizando datos de estudios colaborativos fueron hechas por el Comité de Métodos Analíticos de la Royal Society of Chemistry en 1995 [4], y por ISO TC/69 en 2017 [5]. Esta guía sobre el muestreo es consistente con los principios generales establecidos en la GUM.

**1.5.2** La teoría de muestreo se ha desarrollado en gran medida independientemente de la química analítica y la metrología química. La calidad del muestreo generalmente se ha abordado en la teoría de muestreo mediante la selección de un protocolo de muestreo ‘correcto’, una validación adecuada y el entrenamiento del personal de muestreo (es decir, **los muestreadores**) para garantizar que este protocolo se aplique correctamente [6]. Luego se asume que las muestras serán representativas y no sesgadas, y la varianza será la predicha por el modelo.

**1.5.3** Un enfoque alternativo es estimar la incertidumbre de muestreo para los materiales típicos, o para los **objetos de estudio del muestreo**, durante la validación del protocolo de muestreo, y para confirmar el cumplimiento en la práctica utilizando el control de calidad continuo. Esto es más consistente con los procedimientos ya establecidos para el resto del proceso de medición. Curiosamente, la calidad del muestreo solo es cuantificable a través de las mediciones que se realizan sobre las muestras resultantes.

**1.5.4** Se han escrito protocolos de muestreo para describir el procedimiento recomendado para el muestreo de innumerables tipos de materiales y para muchos componentes químicos diferentes. Estos protocolos a veces se especifican en la regulación o en acuerdos

internacionales <sup>a</sup> [7]. Estos procedimientos rara vez identifican las contribuciones relativas del muestreo y el análisis químico a la incertidumbre combinada.<sup>b</sup>

**1.5.5** En consecuencia, existe una variedad de literatura previa sobre la teoría y la práctica del muestreo. Por lo tanto, como se explicó en la Sección 1.2.1, esta Guía no busca proponer más protocolos de muestreo, sino más bien proporcionar metodologías para cuantificar la incertidumbre que surge cuando se utiliza un protocolo dado.

**1.5.6** El grupo Nordtest ha preparado un manual que describe procedimientos para la estimación de la incertidumbre del muestreo, derivado de esta Guía, pero con más casos de estudio [8].

## 1.6 Uso de la Guía

**1.6.1** Este documento resume los conceptos necesarios para comprender la incertidumbre en el muestreo, y proporciona procedimientos que permiten su implementación práctica. Además, la Guía aborda cuestiones relacionadas con la gestión, el aseguramiento de la calidad y el informe de los resultados con la incertidumbre. El alcance y el campo de aplicación previsto se establecen en la Sección 2, que también resume los enfoques cubiertos. La terminología se discute en la Sección 3, y los términos clave se definen en el Apéndice B.

**1.6.2** En las secciones 4 y 5 se tratan los conceptos fundamentales. En la sección 4 se proporciona una visión general del proceso de medición. Esto incluye una explicación de la terminología de muestreo utilizada e indica qué pasos del proceso se consideran en detalle en esta Guía. En la sección 5 se discute en mayor detalle la incertidumbre de la medida y sus fuentes.

**1.6.3** Las secciones 6 al 10 describen metodologías para la estimación de la incertidumbre, con una discusión de las ventajas de las diversas opciones. Los dos enfoques generales disponibles se resumen en la Sección 6, y se tratan en detalle en las Secciones 9 y 10, respectivamente. La intención es proporcionar una gama de opciones que se puedan aplicar, en lugar de especificar algún enfoque en particular.

**1.6.4** Los asuntos de gestión y calidad se abordan en las Secciones 11 al 13. Estos incluyen una discusión muy breve de las responsabilidades para la calidad en el muestreo (Sección 11) antes de discutir la selección del enfoque de estimación de la incertidumbre en la Sección 12. El uso del control de calidad de muestreo para monitorear el desempeño del muestreo se trata en la Sección 13. El reporte y el uso de la incertidumbre, y su efecto sobre la fiabilidad de las decisiones, se discuten en la Sección 14. El coste es un factor importante y la selección del método de estimación más rentable y apropiado se explica en la Sección 15. Conocer el valor de la incertidumbre ayuda a evaluar la adecuación al uso de la medición como un todo, y en sus partes componentes, y esto se discute en la Sección 16.

**1.6.5** Se proporcionan como apéndices una gama de ejemplos, un glosario detallado de términos y definiciones utilizados en esta Guía, algunos procedimientos estadísticos importantes y diseños experimentales, y una discusión de la mejora de la incertidumbre de muestreo utilizando predicciones de la teoría del muestreo.

---

<sup>a</sup> Los "**procedimientos de muestreo** de aceptación" se aplican al muestreo de una amplia gama de materiales [7].

<sup>b</sup> Algunos conceptos de la teoría de muestreo pueden adaptarse útilmente para la estimación de la incertidumbre de medida (Sección 10.2).

## 2 Alcance y campo de aplicación

**2.1** Los principios de esta Guía son aplicables a la estimación de la incertidumbre de una gama completa de materiales que están sujetos a medición analítica (p. ej., gaseosos, líquidos y sólidos). Estos incluyen materiales ambientales (p. ej., roca, suelo, agua, aire, desechos y biota), alimentos, materiales industriales (p. ej., materias primas, intermediarios de procesos y productos), materiales forenses y productos farmacéuticos. Este enfoque es aplicable al muestreo por cualquier protocolo, ya sea que use muestras simples o compuestas, o determinaciones únicas o múltiples.

**2.2** La Guía describe la estimación de la incertidumbre utilizando i) medición y muestreo replicados (el ‘enfoque empírico’) y ii) modelamiento basado en magnitudes de influencia identificadas y consideraciones teóricas (el ‘enfoque de modelización’).

**2.3** Se trata el uso de estimaciones de incertidumbre en la evaluación de la adecuación al uso y en la optimización del esfuerzo entre las partes individuales del proceso de medición. Los métodos de evaluación de la adecuación al uso que se describen incluyen aquellos basados en el porcentaje de la varianza total y otros basados en el análisis de coste-beneficio.

**2.4** Aunque se pueden aplicar los principios generales de esta Guía, no se discute específicamente el muestreo microbiológico. Tampoco se discute la estimación de la incertidumbre en la información espacial o temporal, como la ubicación o el tamaño de las áreas de alta concentración de analito.

## 3 Terminología

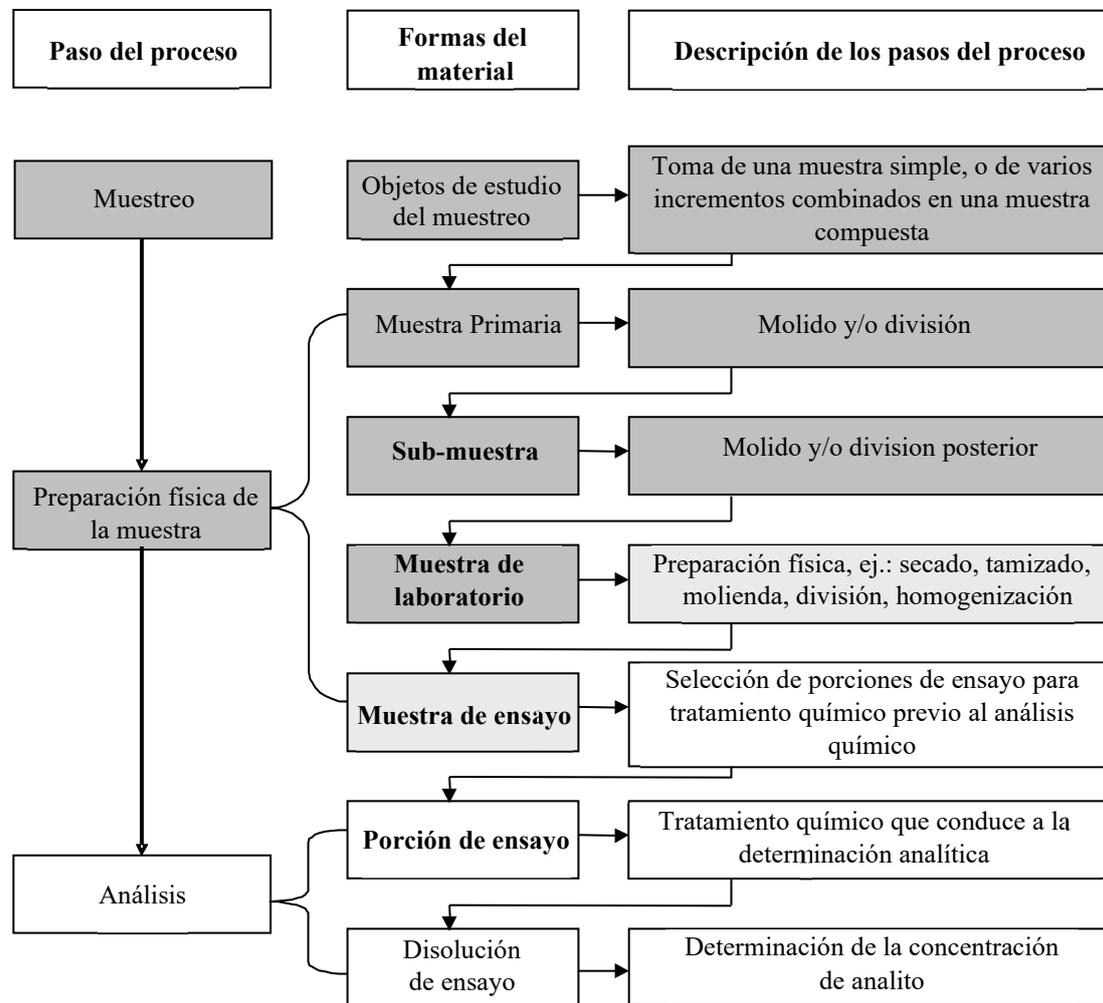
**3.1** Las definiciones precisas de muchos de los términos utilizados en esta Guía varían en función del área de aplicación. En el Apéndice B se incluye una lista completa de los términos y sus diferentes definiciones. En esta Guía, se han seleccionado definiciones normativas de cada término que son tan generalmente aplicables como sea posible a todos los sectores de aplicación. Los términos utilizados se enumeran en el Apéndice B y en negrita en el primer uso en el texto.

**3.2** La ciencia analítica generalmente se ocupa de la composición, por lo que el mensurando usualmente está relacionado a la cantidad o proporción de un analito en una mezcla. Esto se puede expresar de varias maneras diferentes, que incluyen (por ejemplo) fracción de masa, fracción de volumen, fracción de cantidad de sustancia (mol) y masa o cantidad de sustancia por unidad de volumen. Desafortunadamente, no existe un término general aceptado ampliamente que cubra todos estos conceptos. En esta guía, por lo tanto, el término ‘concentración’, cuando no está calificado, debe entenderse como aplicable a cualquiera de estas diferentes medidas de proporción o cantidad. Cuando el texto requiere una interpretación restringida, ‘concentración’ se califica (por ejemplo, como ‘concentración de cantidad de sustancia’) o se reemplaza con un término más específico (por ejemplo, ‘fracción de masa’).

## PARTE 2 – Conceptos fundamentales

### 4 Muestreo en el proceso de medición

Figura 1: Diagrama esquemático del proceso de medición típico



La figura muestra un proceso de medición completo, comenzando con el muestreo primario y terminando con la determinación analítica. Hay muchos pasos intermedios, como el transporte y la conservación de muestras, no estando siempre presentes todos ellos. Cada paso produce una contribución a la incertidumbre de medida. Esta Guía se concentra en los pasos del proceso de muestreo y **preparación de muestra** física (cuadros sombreados), ya que el último paso está bien cubierto en guías previas [1]. Observe que dos de los pasos de muestreo ocurren dentro del laboratorio (gris claro) y con frecuencia se consideran parte del proceso analítico. Para las definiciones de los términos, consulte el Apéndice B.

Un objeto de estudio del muestreo es la porción de un material, en un momento particular, que la muestra (y, por lo tanto, el resultado de medición) pretende representar. El objeto de estudio del muestreo necesita definirse antes del diseño del plan de muestreo. Puede definirse por regulación, como la totalidad de un lote o remesa. Si las propiedades y características (ej.: concentración de analito) del material en un área determinada, o período de tiempo, son de interés y deben conocerse, entonces puede considerarse como un objeto de estudio del muestreo. Cuando se requiere la composición de un lote completo (ej.: de un material alimenticio), entonces el lote completo constituye el objeto de estudio del muestreo. Cuando se requiere la variación espacial (o temporal) de la concentración (ej.: para encontrar ‘puntos

críticos' dentro de un material contaminado), entonces cada lugar donde se requiera la concentración será un objeto de estudio del muestreo separado. Cualquier objeto de estudio del muestreo generará en última instancia un resultado de medida reportado y una incertidumbre.

**Las muestras primarias** a menudo están compuestas de un número de **incrementos**, que se combinan para formar una **muestra compuesta** antes de realizar una medición. Lo que se requiere es la incertidumbre sobre este valor de medición único, realizado en esta muestra compuesta, y ocasionado por todos los pasos preparatorios. El valor de esta incertidumbre a menudo se verá afectado por el número de incrementos que se toman. Esto contrasta con la situación cuando se toman varias muestras primarias distintas ( $n$ ) de diferentes partes del objeto de estudio del muestreo y se miden por separado. Si la composición del objeto de estudio del muestreo se calcula tomando el valor medio de estas mediciones separadas, entonces la incertidumbre sobre el valor medio se calcula utilizando el error estándar de la media ( $s/\sqrt{n}$ ). Esto no es lo mismo que la incertidumbre sobre una medición única, cuya estimación es el objetivo de esta Guía.

**4.1** Todo el proceso de medición (Figura 1) típicamente comienza con la toma de la muestra primaria desde un objeto de estudio del muestreo. La muestra resultante pasa por uno varios pasos antes de la determinación analítica. Todos los pasos contribuyen a la incertidumbre en el resultado final, cuando el valor del analito requerido (es decir, el valor del **mensurando** o el valor verdadero), se expresa en términos de la concentración de analito en el objeto de estudio del muestreo. Ya existen guías sobre la estimación de los pasos analíticos del proceso de medición [1]. Esto ciertamente incluirá la selección de la porción de ensayo, el tratamiento químico que precede a la medición y la determinación analítica, pero también puede incluir la preparación física de la muestra de laboratorio por medios tales como secado, tamizado, molienda, división y homogeneización.

**4.2** En la práctica común, todas las diversas porciones de material en la segunda columna de la Figura 1 a menudo se denominan simplemente como una 'muestra'. Es claramente importante diferenciarlas cuidadosamente en la discusión, especialmente aquellas consideradas particularmente en esta Guía (en los cuadros sombreados en la Figura 1). Esto se discute con más detalle en la Sección 5.2.

**4.3** Los métodos descritos en la Guía ayudarán a identificar la fuente dominante de la incertidumbre, tal como el muestreo en lugar del análisis químico, pero no necesariamente explicarán la causa. Sin embargo, se sabe que la heterogeneidad dentro del objeto de estudio del muestreo, ya sea espacial o temporal, es una causa importante de incertidumbre en muchas circunstancias. Se necesitarían estudios separados para caracterizar la variabilidad que contribuye a la incertidumbre. Para los fines de esta Guía, la heterogeneidad dentro del objeto de estudio del muestreo se trata como solo una causa de incertidumbre en la medición final. Este es el caso, cualesquiera sean las acciones que se tomen para minimizar los efectos de la heterogeneidad por aplicación de cualquier protocolo de muestreo en particular.

## 5 Incertidumbre de medida

### 5.1 Definición de la incertidumbre de medida

5.1.1 La incertidumbre de medida (MU), se define en la terminología metrológica [2] como:

*Parámetro, asociado con el resultado de una medición, que caracteriza la dispersión de los valores que podrían atribuirse razonablemente al mensurando.*

La definición incluye varias características importantes, que se discuten en los siguientes párrafos.

5.1.2 El ‘parámetro’ puede ser, por ejemplo, un rango, una desviación estándar, un intervalo (como un intervalo de confianza) o semiintervalo ( $\pm u$  es una declaración de un semiintervalo) u otra medida de dispersión tal como una desviación estándar relativa. Tenga en cuenta que cuando MU se expresa como una desviación estándar, el parámetro se conoce como "incertidumbre estándar", usualmente otorgándosele el símbolo  $u$ . Otras formas de expresión se consideran en la Sección 14.

5.1.3 La incertidumbre está "asociada con" cada resultado de medición. Un resultado de medición completo típicamente incluye una indicación de la incertidumbre en la forma  $x \pm U$ , donde  $x$  es el resultado de la medición y  $U$  una indicación de la incertidumbre (se verá que el símbolo  $U$  tiene un significado especial, en esta Guía; indica una ‘incertidumbre expandida’, que se discutirá más adelante en la Sección 14). Esta forma de expresar un resultado es una indicación para el usuario final del resultado que, con una confianza razonable, el resultado implica que el valor del mensurando está dentro de este intervalo.

5.1.4 El mensurando es simplemente una magnitud, como una longitud, una masa o una concentración de una sustancia, que está siendo medida. El término ‘valor del mensurando’ está estrechamente relacionado al concepto tradicional del "valor verdadero" en la terminología de la estadística clásica. Desde este punto de vista alternativo ‘incertidumbre’ ha sido definida históricamente<sup>c</sup> como:

*Una estimación adjunta a un resultado de ensayo que caracteriza el rango de valores dentro del cual se afirma que el valor verdadero está ubicado*

Esta definición (que se denominará como la definición estadística) tiene la ventaja de ser más fácil de explicar a quienes toman las decisiones, quienes a menudo reconocen la frase "valor verdadero" como el valor de interés para su decisión. Tiene la desventaja de que el valor verdadero en sí mismo nunca se puede conocer y esto generalmente requiere una explicación más detallada.

5.1.5 La definición metrológica afirma que la incertidumbre expresa "la dispersión de los valores que podrían atribuirse razonablemente al mensurando". Esta es una frase particularmente importante. Indica que, aunque la incertidumbre está asociada con un resultado de medición, el rango citado debe relacionarse al posible rango de valores para el mensurando. Por ejemplo, el mensurando podría ser la masa total de oro en un depósito geológico. Tal rango es bastante diferente de una declaración de **precisión**, que describiría el

<sup>c</sup> ISO 3534-1: 1993 Statistics – Vocabulary and Symbols, International Organization for Standardization, Geneva

rango de resultados que podrían observarse si la medición se repitiera. Al solicitar información sobre ‘dónde podría estar el valor del mensurando’, esta definición de incertidumbre implícitamente requiere que el científico de la medición considere *todos* los efectos que podrían influir en el resultado de la medición. Estos efectos obviamente incluyen las causas de la variación aleatoria de una medición a la siguiente durante el tiempo de medición. Pero también es esencial considerar las fuentes de **sesgo** durante el experimento, y que muy a menudo, estas generan efectos más grandes que los que se pueden observar solo con mediciones repetidas. Es decir, la incertidumbre de medida automáticamente requiere un rango que incluye un margen para *ambos* efectos aleatorios y sistemáticos.

**5.1.6** Para considerar un ejemplo analítico simple, una medición simple de la concentración en un sólido típicamente involucrará la extracción de material, pesaje, operaciones volumétricas y quizás espectrometría o cromatografía. La medición repetida mostrará una dispersión de valores debido a variaciones aleatorias en estas operaciones. Pero todos los analistas saben que la extracción rara vez se completa, y, para un material dado, ese impedimento para extraer el material conducirá a un resultado consistentemente bajo. Si bien las buenas prácticas analíticas siempre intentan reducir tales efectos a insignificantes, persistirá cierto sesgo. Al expresar la incertidumbre sobre el valor del mensurando, entonces, el analista debe tener en cuenta la posibilidad razonable de sesgo por tales causas. (Usualmente, esto se hace al considerar información como el rango de recuperaciones del analito observado en materiales de referencia o en experimentos de adición).

**5.1.7** Las mismas consideraciones se aplican en el caso del muestreo. Es bien sabido que las diferentes muestras tomadas de un material a granel a menudo mostrarán una variación real en el valor, lo que queda claro por la medición repetida. También es bien sabido que el muestreo puede estar sesgado, por ejemplo, por la eliminación diferencial de materiales, la programación inapropiada del muestreo donde ocurren fluctuaciones temporales, o por restricciones de acceso. Estos efectos influirán en la relación entre el valor del mensurando y el resultado que se observa. Si bien las buenas prácticas en el muestreo se destinan a reducir estos efectos a insignificantes, una evaluación cuidadosa de la incertidumbre siempre considera la posibilidad de efectos sistemáticos residuales.

**5.1.8** Las guías actuales sobre la incertidumbre de medida [2] dejan en claro que la incertidumbre de medida (Sección 2.2 de la referencia [2]) no está destinada a permitir ‘errores groseros’ o ‘equivocaciones’ (Sección 3.4.7 de la referencia [2]). Esto excluiría, por ejemplo, los errores causados por transcripción o mal uso grosero del protocolo de medición. Sin embargo, el muestreo puede producir altos niveles de incertidumbre (ej.: el 80% del valor de la concentración), simplemente a través de la aplicación rutinaria de un protocolo de medición aceptado a un material altamente heterogéneo. Incluso cuando los procedimientos son nominalmente correctos, también habrá ligeras variaciones en los procedimientos reales debido a la ambigüedad en los protocolos de medición y las pequeñas adaptaciones que se hacen a los protocolos en situaciones de muestreo del mundo real. Si estos altos niveles de incertidumbre conducen a niveles inaceptables de fiabilidad en las decisiones que se basan en ellos, depende de una evaluación rigurosa de la adecuación al uso (ver Sección 16).

## 5.2 Especificación del mensurando

**5.2.1** Cuando a un usuario final se le presenta un resultado de concentración citado para una muestra a granel en la forma ‘ $x \pm U$ ’, interpretará de manera muy natural que ese intervalo

incluye el rango de valores atribuibles a la concentración en el objeto de estudio del muestreo (ej.: un lote de material). Implícito en este punto de vista está la idea de que el mensurando es 'la concentración (del analito) en el lote del material', y que la incertidumbre incluye cualquier margen necesario para la heterogeneidad en material a granel. El analista, por el contrario, podría referirse a 'la concentración en la muestra de laboratorio analizada', descartando implícitamente la variación entre muestras de laboratorio. Claramente, un punto de vista incluye los efectos del muestreo, mientras que el otro no. El efecto sobre la incertidumbre puede, por supuesto, ser muy considerable. En términos metrológicos, esta distinción surge porque los dos puntos de vista están considerando diferentes mensurandos. Uno está considerando 'concentración en el objeto de estudio del muestreo', el otro 'concentración en la muestra de laboratorio'. Otro ejemplo podría ser la 'concentración de contaminante en el vertido de una fábrica durante la realización del muestreo', en comparación con 'la concentración promedio del contaminante durante un año'.

**5.2.2** Estas ambigüedades en la interpretación solo pueden evitarse mediante la especificación cuidadosa del mensurando. Es claramente necesario declarar la magnitud (masa, longitud, concentración, etc.). Es igualmente importante tener claro el alcance de la medición, incluyendo información sobre factores como la hora, el lugar o la población a la que se supondrá que se aplica el resultado de la medición. Algunas situaciones particulares de la especificación del mensurando y sus implicaciones para la estimación de la incertidumbre se discuten a continuación.

Nunca es posible evitar todas las ambigüedades en la implementación de la redacción del protocolo de muestreo.

**5.2.3** Cuando se toma una muestra compuesta por la combinación de varios incrementos a lo largo de un objeto de estudio del muestreo, y se analiza como una muestra primaria única, esa determinación única de la concentración del analito proporciona una estimación del valor del mensurando (es decir, la composición promedio del objeto de estudio del muestreo), como se discutió brevemente en la Sección 4. La incertidumbre sobre este valor único refleja la incertidumbre en la estimación del valor del mensurando. Por el contrario, si se toman varias muestras primarias independientes del objeto de estudio del muestreo, cada una analizada una vez, y se calcula el valor medio, este también será una estimación del valor del mensurando. Sin embargo, la incertidumbre no será la de la medición (expresada como desviación estándar,  $s$ ), sino el error estándar del valor medio (expresado como  $s/\sqrt{n}$ ). Esta última incertidumbre sobre la media se puede reducir tomando más muestras primarias<sup>d</sup> mientras que la incertidumbre en la medición no se puede reducir.

### 5.3 Error, precisión e incertidumbre

**5.3.1** La incertidumbre está relacionada con otros conceptos, como exactitud, error, veracidad, sesgo y precisión. Otras guías discuten las relaciones con cierto detalle [1, 2]. Sin embargo, vale la pena repetir algunas de las diferencias importantes:

- La incertidumbre es un rango de valores atribuibles sobre la base del resultado de la medición y otros efectos conocidos, mientras que el error se define como una diferencia

---

<sup>d</sup> Asumiendo que las muestras son aleatorias e independientes, y asumiendo un sesgo de cero.

entre un resultado único y un "valor verdadero (o de referencia)". El "sesgo" puede considerarse como un error promedio.

- La incertidumbre tiene en consideración todos los efectos que pueden influir un resultado (es decir, errores aleatorios y sistemáticos); la precisión solo incluye los efectos que varían durante las observaciones (es decir, solo algunos errores aleatorios).
- La incertidumbre es válida para la correcta aplicación de los procedimientos de medición y muestreo, pero, como se señaló en la Sección 5.1.8, no está destinada a dar margen para el error grosero del operador.

### 5.4 Muestreo y preparación física como fuentes de incertidumbre de medida

**5.4.1** El acto de tomar una muestra introduce incertidumbre en el resultado de la medición reportado siempre que el objeto de estudio de la medición se defina en términos de la concentración de analito en el objeto de estudio del muestreo y no simplemente en la muestra de laboratorio.

**5.4.2** Los protocolos de muestreo nunca son perfectos ya que nunca pueden describir la acción requerida por el muestreador para cada eventualidad posible que pueda surgir en el mundo real en el que ocurre el muestreo. La ubicación en el espacio (o tiempo) para la toma de una muestra rara vez se especifica exactamente (ej.: al milímetro o segundo más cercano). El muestreador tiene que tomar tales decisiones (idealmente con criterios objetivos), pero como la heterogeneidad es inevitable (en el espacio o en el tiempo), tales decisiones afectarán la concentración estimada. Una apreciación de estas fuentes de incertidumbre es importante en el diseño e implementación de métodos para la estimación de la incertidumbre.

Cuando se toman **muestras duplicadas**, por ejemplo, tomarlas exactamente en el *mismo* lugar y tiempo puede no reflejar la incertidumbre de la medición que realmente existe. Esto se discutirá más adelante en la descripción de los métodos de estimación (Secciones 6 al 10) y en los diversos ejemplos desarrollados (Apéndice A).

**5.4.3** La heterogeneidad siempre genera incertidumbre. Si el ítem de muestreo fuese perfectamente homogéneo, entonces esta contribución sería cero, pero casi todos los materiales son heterogéneos hasta cierto punto en alguna escala. Si la porción de ensayo es de unos pocos microgramos, entonces casi todo el material será heterogéneo y el proceso de muestreo contribuirá a la incertidumbre en la medición de la concentración del analito. La heterogeneidad se puede cuantificar en un experimento separado, pero si el fin es estimar la concentración de analito en el concepto más amplio de muestreo, entonces esta heterogeneidad contribuye a la incertidumbre de medida (como se discute en la Sección 4.3 y 5.6).

**5.4.4** Se pueden hacer argumentos similares para la incertidumbre que surge en los procesos de preparación física (ej.: transporte, preservación, trituración, división, secado, tamizado, homogeneización) que ocurren después del acto de muestreo y antes de cualquier tratamiento químico de la muestra de ensayo (Figura 1). Cada paso puede introducir errores de una variedad de mecanismos, tales como la pérdida de analito, la pérdida de partículas finas, o la contaminación del equipamiento o de muestras anteriores. Los métodos empleados y el entrenamiento brindado deben apuntar a reducir estos errores al mínimo. Además, sin

embargo, se requieren procedimientos para estimar la incertidumbre que todos estos pasos, cuando se aplican en la práctica, generan en el valor final de la medición.

## 5.5 Fuentes de incertidumbre

**5.5.1** La incertidumbre surge de una variedad de fuentes, y éstas se han categorizado en diferentes maneras. Por ejemplo, la Guía de Incertidumbre de Eurachem identifica ocho categorías principales de efectos que son importantes para estimar la incertidumbre [1], de los cuales los dos primeros son muestreo y preparación de muestra. Los efectos específicos identificables en estas dos categorías se muestran en la Tabla 1. Un enfoque de modelización podría usar estos efectos como la base para un modelo matemático. Alternativamente, la teoría de muestreo identifica ocho fuentes distintas de error en el muestreo (Tabla 2); cada uno de estos también se puede reducir a una variedad de factores causales, que a su vez se pueden usar en varios enfoques de modelización. Un enfoque alternativo adicional es considerar todos los pasos en el proceso de medición (Figura 1) como fuentes de incertidumbre que contribuyen a la incertidumbre de la medición final. En esta Guía, los diseños de estudio más simples tratan la incertidumbre como resultado de cuatro clases de efectos (Tabla 3), y las clases se tratan como fuentes de incertidumbre en un modelo estadístico simple; esto es consistente con la agrupación de fuentes de incertidumbre sugerida explícitamente en la referencia [1]. En su forma más simple, esta categorización se puede reducir a dos categorías: "**incertidumbre de muestreo**" e "incertidumbre analítica".

**5.5.2** La característica importante de cada una de estas clasificaciones diferentes es que cada una está destinada a garantizar que, sin importar cómo se agrupan y evalúen, se tengan en cuenta todos los efectos que en la práctica son importantes al estimar la incertidumbre. Mientras se cumpla este requisito, cualquier esquema de categorización puede aplicarse a la estimación de la incertidumbre. Los esquemas de categorización enumerados en la Tabla 2 y la Tabla 3 cubren prácticamente todos los efectos importantes.

**5.5.3** Cada categorización diferente de las fuentes generalmente conducirá a un diseño de estudio diferente, y muy a menudo a métodos fundamentalmente diferentes de evaluación de las contribuciones de incertidumbre. Esto da como resultado estimaciones sustancialmente independientes de incertidumbre a través de diferentes enfoques. Como se señaló en otra referencia [5], estimaciones de incertidumbre muy diferentes para el mismo sistema sugieren que al menos una metodología de estudio es errónea. Esto forma la base de un control sobre la validez de un enfoque. Cuando sea posible, por lo tanto, se recomienda la comparación de estimaciones de incertidumbre que surgen de enfoques de evaluación independientes como un medio de validación para estimaciones particulares y para evaluar la validez de diferentes enfoques.

## 5.6 Heterogeneidad como fuente de incertidumbre

**5.6.1** La IUPAC actualmente define a la homogeneidad y a la heterogeneidad como "El grado en que una propiedad o componente se distribuye uniformemente a lo largo de una cantidad de material." ([9] ver el Apéndice B para las definiciones). Así definida, la heterogeneidad está entre los factores más importantes que contribuyen a la incertidumbre asociada con el muestreo. Los incrementos de ubicaciones diferentes en el objeto de estudio del muestreo tendrán diferentes concentraciones del analito en un material heterogéneo y habrá una variación de muestra a muestra en la concentración de analito - usualmente visible como una contribución a la variación observada de los resultados. En general, se desconoce la

dependencia exacta de la concentración con la ubicación, por lo que no se puede hacer ninguna corrección. Esto genera incertidumbre en cualquier resultado dado o, en general, en cualquier promedio de dichos resultados.

**5.6.2** La nota de IUPAC, como un complemento a la definición anterior [9], indica que "El grado de heterogeneidad (el opuesto a la homogeneidad) es el factor determinante del error de muestreo". La nota es una buena indicación de la importancia de la heterogeneidad en el muestreo. Existen otras fuentes de error e incertidumbre en la operación general del muestreo; por ejemplo, la contaminación cruzada y la estabilización imperfecta de las muestras, cualquiera de las cuales puede dar lugar a un sesgo (desconocido) o una variabilidad adicional. Tanto la heterogeneidad y sus efectos, como la variabilidad aleatoria y el sesgo de selección, siguen siendo el mayor problema en la gestión adecuada del muestreo y generalmente serán la fuente más significativa de incertidumbre.

**5.6.3** Algunas veces se usa una definición alternativa de homogeneidad para el material particulado, que, si consiste en partículas de diferentes materiales, nunca puede ser 'homogéneo' en el sentido definido por IUPAC. En este contexto, una mezcla en la que la probabilidad de selección de diferentes tipos de partícula es constante en todo el objeto de estudio del muestreo puede denominarse "homogénea" para indicar que la concentración esperada sería la misma en una muestra tomada en cualquier punto del material. Incluso aquí, sin embargo, debe reconocerse que la naturaleza particulada del material conduce a una variación de muestra a muestra debido a la composición ligeramente diferente de los incrementos realmente tomados; la heterogeneidad, según lo definido por IUPAC, todavía tiene un efecto bajo estas circunstancias y, en consecuencia, todavía contribuye a la incertidumbre.

### **5.7 Variación de la incertidumbre con el nivel de concentración**

Antes de calcular la incertidumbre de muestreo como se describe en la Sección 6, la variación de la incertidumbre con el nivel de concentración debe ser considerada. Si hay un amplio rango de concentración, la incertidumbre (expresada en unidades de concentración) puede aumentar con la concentración y los cálculos se realizan preferiblemente sobre datos transformados logarítmicamente. La incertidumbre expresada en unidades relativas no es apropiada cuando la concentración de analito está dentro de un factor de diez del límite de detección. Cuando hay un gran número de mediciones duplicadas (ej.: > 50), puede ser posible ajustar un modelo de incertidumbre de muestreo en función de la concentración [10, 11, 12]. En los ejemplos A1 y A4, el rango de concentración es estrecho, y los cálculos se realizan sobre los datos en unidades de concentración, es decir, no se realiza ninguna transformación de datos. En el Ejemplo A2, la incertidumbre se calcula utilizando datos tanto en unidades de concentración como después de la transformación logarítmica, y se comparan los resultados. En el Ejemplo A3 los cálculos se realizan en unidades absolutas, y para el Ejemplo A5 en unidades relativas, es decir, como porcentajes. En realidad, a menudo es difícil saber si la incertidumbre varía con la concentración y cómo, y qué método de estimación es, por lo tanto, el más apropiado.

**Tabla 1: Algunas fuentes de incertidumbre en el muestreo y en la preparación de muestra, adaptadas de la referencia [1]**

Muestreo	Preparación de muestra
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Heterogeneidad (o falta de homogeneidad)</li> <li>- Efectos de la estrategia específica del muestreo (ej.: aleatorio, aleatorio estratificado, proporcional, etc.)</li> <li>- Efectos del movimiento del medio (en particular selección de la densidad)</li> <li>- Estado físico del medio (sólido, líquido, gas)</li> <li>- Efectos de la temperatura y la presión</li> <li>- Efectos del proceso de muestreo en la composición (ej.: adsorción diferencial en el sistema de muestreo)</li> <li>- Transporte y conservación de la muestra</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Homogeneización y/o efectos del <b>submuestreo</b></li> <li>- Secado</li> <li>- Molienda</li> <li>- Disolución</li> <li>- Extracción</li> <li>- Contaminación</li> <li>- Derivatización (efectos químicos)</li> <li>- Errores de dilución</li> <li>- (Pre-) Concentración</li> <li>- Efectos de especiación</li> </ul>

**Tabla 2: Fuentes de incertidumbre de muestreo en la teoría de muestreo\***

<b>Fuente</b>	<b>Descripción</b>
Error de muestreo fundamental (FSE)	Un resultado de la heterogeneidad constitucional (siendo las partículas diferentes química o físicamente)
Error de agrupamiento y segregación (GSE)	Un resultado de la heterogeneidad distributiva
Error de selección puntual de largo alcance (PSE <sub>1</sub> )	Tendencias en el espacio o en el tiempo
Error de selección puntual periódico (PSE <sub>2</sub> )	Niveles periódicos en el espacio o en el tiempo
Error de delimitación de incremento (IDE)	Identificar la muestra correcta para tomar. Considera los límites de volumen de un dispositivo de muestreo correcto
Error de extracción de incremento (IXE)	Retirar la muestra prevista. Considera la forma de los bordes de corte del dispositivo de muestreo
Error de Incremento y preparación de muestra (IPE)	<p><i>Contaminación (material extraño en la muestra):</i></p> <p><i>Pérdidas (adsorción, condensación, precipitación, etc.):</i></p> <p><i>Alteración de la composición química (preservación):</i></p> <p><i>Alteración de la composición física (aglomeración, rotura de partículas, humedad, etc.):</i></p> <p><i>** Errores involuntarios (números de muestras mezclados, falta de conocimiento, negligencia):</i></p> <p><i>** Errores deliberados (saladura de minerales de oro, errores intencionados en delimitación incremental, falsificación, etc.)</i></p>
Error de ponderación (SWE)	El resultado de errores en la asignación de pesos a diferentes partes de una muestra compuesta desigual.

\* Esta clasificación sigue la de Gy [13] y otros (discutido en la Sección 10).

\*\* Excluido de las estimaciones de incertidumbre como errores groseros [2].

**Tabla 3: Contribuciones de incertidumbre en el enfoque empírico**

Proceso	Clase de efecto*	
	<i>Aleatorio (precisión)</i>	<i>Sistemático (sesgo)</i>
<b>Análisis</b>	Variabilidad analítica (contribución combinada de efectos aleatorios)	Sesgo analítico (efecto combinado de las fuentes de sesgo)
<b>Muestreo</b>	Variabilidad de muestreo (dominada por la heterogeneidad y las variaciones del operador)	<b>Sesgo de muestreo</b> (efecto combinado del sesgo de selección, sesgo del operador, etc.)

\* La diferenciación de los efectos aleatorios de los sistemáticos puede depender del contexto. Un efecto sistemático en las mediciones por parte de una organización (ej.: sesgo analítico) puede también considerarse un efecto aleatorio cuando se ve en el contexto del valor de consenso de un ensayo de aptitud entre organizaciones.

## PARTE 3 – Estimación de la incertidumbre de medida incluyendo el muestreo

### 6 Enfoques para la estimación de la incertidumbre

**6.1** Existen dos enfoques generales para la estimación de la incertidumbre. Uno de ellos, descrito como 'empírico', 'experimental', 'retrospectivo' o 'top-down', usa algún nivel de replicación de todo el procedimiento de medición para dar una estimación directa de la incertidumbre para el resultado final de la medición. Este enfoque se llama enfoque 'empírico' en esta Guía. El segundo, descrito de diversas maneras como 'de modelamiento', 'teórico', 'predictivo' o 'bottom-up', tiene como objetivo cuantificar todas las fuentes de incertidumbre individualmente, y luego utiliza un modelo para combinarlas. En consecuencia, se denominará enfoque de "modelización". Estos enfoques no son mutuamente excluyentes. El método empírico se puede adaptar para estimar las contribuciones a la incertidumbre de uno o más efectos o clases de efecto. Ambos enfoques pueden emplearse juntos de manera útil para estudiar el mismo sistema de medición, si es necesario. La aplicabilidad de los dos enfoques varía entre los diferentes materiales a muestrear.

**6.2** El enfoque adoptado en esta Guía es describir en detalle el enfoque empírico, que tiene la mayor aplicabilidad al rango más amplio de sistemas de medición y aplicaciones (ej.: gaseoso, líquido y sólido). Los enfoques de modelización se describen para situaciones particulares a las que se aplican (ej.: sólidos particulados). También se brindará asesoramiento sobre cómo se puede utilizar una combinación de estos diferentes enfoques para proporcionar estimaciones de incertidumbre más fiables y rentables en un rango de sistemas de medición. Este enfoque dual está destinado a permitir al usuario de la Guía seleccionar el método más apropiado de estimación de incertidumbre para su situación particular. (La Sección 1 proporciona orientación sobre la selección del enfoque).

**6.3** La referencia [5] señala que los enfoques de modelamiento y el tipo de estudio empírico utilizado en un ensayo colaborativo son extremos de una continuidad:

*Sin embargo, hay tener en cuenta que la repetibilidad observada o alguna otra estimación de precisión se toma a menudo como una contribución separada a la incertidumbre, incluso en el enfoque GUM. Del mismo modo, los efectos individuales se verifican usualmente al menos por su significación o se cuantifican antes de evaluar la reproducibilidad. Por lo tanto, la evaluación práctica de la incertidumbre usa a menudo algunos elementos de ambos extremos.*

Por lo tanto, al referirse a cualquier extremo es importante tener en cuenta que estos son extremos y que muchas estimaciones prácticas involucran elementos de ambos enfoques.

**6.4** El objetivo general de cualquier enfoque es obtener una estimación suficientemente fiable de la incertidumbre de medida global. Esto no necesariamente requiere que se cuantifiquen todas las fuentes individuales de incertidumbre, solo que se evalúe el efecto combinado. Sin embargo, si se encuentra que el nivel global de incertidumbre es inaceptable (es decir, las mediciones no son adecuadas para su uso), entonces se deben tomar medidas para reducir la incertidumbre. Alternativamente, la incertidumbre puede ser innecesariamente pequeña, en cuyo caso puede haber justificación para aumentar la incertidumbre analítica y,

por lo tanto, disminuir el coste del análisis. Los métodos para modificar la incertidumbre se discuten en el Apéndice E. Sin embargo, en esta etapa, es esencial tener información sobre qué parte general del procedimiento de medición está causando la contribución dominante a la incertidumbre global, y puede ser necesario evaluar los efectos individuales. La ventaja del estudio inicial detallado es que esta información ya está disponible; la desventaja es que es costoso obtenerlo y puede resultar innecesario si la incertidumbre es aceptable. Los planificadores deben considerar el nivel de detalle requerido en una estimación de incertidumbre, teniendo en cuenta la probabilidad de requerir información detallada para un mayor desarrollo.

## 7 El mensurando

**7.1** En la siguiente discusión, se asume que el mensurando es un valor promedio que representa la composición del objeto de estudio del muestreo completo, y que el mensurando debe estimarse a través de un proceso de muestreo y análisis. Esto se relaciona con la especificación del mensurando (Sección 5.2) y la definición del objeto de estudio del muestreo (Sección 4.1).

## 8 Comportamiento general de estudios de incertidumbre de muestreo

**8.1** El trabajo analítico debe llevarse a cabo bajo un sistema de calidad apropiado, que incluya métodos analíticos validados, ensayos de aptitud, control de calidad interno y evaluación externa, según corresponda. Los procedimientos de validación deben incluir todos los pasos que normalmente se llevan a cabo dentro del laboratorio (incluyendo cualquier submuestreo de las muestras de ensayo), y deben incluir controles de sesgo utilizando materiales de referencia certificados u otros métodos, para la estimación del sesgo analítico [14]. Hay que tener en cuenta que los métodos de estimación de incertidumbre descritos en esta Guía también se pueden aplicar a la estimación de incertidumbres asociadas con el submuestreo.

**8.2** Los laboratorios que realizan el análisis químico deben reportar las estimaciones de la concentración tal cual se obtienen; en particular, los valores no deben ser alterados, truncados o reportados como 'menores que' un límite inferior, ya sea por debajo del límite de detección (LOD) o por debajo de cero. No reportar las observaciones negativas o las observaciones por debajo de LOD dará como resultado una subestimación de la incertidumbre.

## 9 Enfoque empírico

### 9.1 Información general

**9.1.1** El enfoque empírico ('top-down') pretende obtener una estimación fiable de la incertidumbre, sin conocer necesariamente ninguna de las fuentes individualmente. Se basa en estimaciones de precisión globales de ensayos de medición internos (in-house) o entre organizaciones. Es posible describir el tipo general de fuente, como efectos aleatorios o sistemáticos, y subdividirlos como los que surgen del proceso de muestreo o del proceso analítico. Las estimaciones de la magnitud de cada uno de estos efectos se pueden hacer por separado de las propiedades de los métodos de medición, tales como la **precisión de muestreo** (para efectos aleatorios que surgen del muestreo) o el sesgo analítico (para efectos sistemáticos que surgen del análisis químico). Estas estimaciones se pueden combinar para

producir una estimación de la incertidumbre en el resultado de la medición. Este enfoque se ilustra en detalle en los Ejemplos A1, A2, A3 y A4.

## 9.2 Fuentes de incertidumbre

**9.2.1** Es posible considerar que la incertidumbre de las medidas surge de cuatro fuentes de error generales. Estas cuatro fuentes son los errores aleatorios que surgen de los métodos de muestreo y análisis, y también los errores sistemáticos que surgen de estos métodos. Estos errores se han cuantificado tradicionalmente como la precisión del muestreo, la precisión analítica, el sesgo de muestreo y el sesgo analítico, respectivamente (Tabla 4). Si los errores de estas cuatro fuentes se cuantifican, por separado o en combinaciones, es posible estimar la incertidumbre de las mediciones que producen estos métodos. Los métodos para la estimación de tres de los cuatro errores están bien establecidos. Las precisiones de repetibilidad de muestreo y analítica se pueden estimar mediante la duplicación de una proporción (ej.: 10%) de las muestras y análisis, respectivamente. Otras contribuciones a la incertidumbre analítica, tal como variación entre días y sesgo analítico, pueden ser añadidas. Estas contribuciones adicionales deben estimarse por separado. Por ejemplo, la variación entre días debería determinarse durante la validación del método analítico. El sesgo analítico se puede estimar midiendo el sesgo en materiales de referencia certificados compatibles, y suponiendo que este sesgo representa el que presenta el material de ensayo, o tomándolo directamente de la validación del método analítico.

**9.2.2** Los procedimientos para estimar el sesgo de muestreo incluyen el uso de un objeto de estudio del muestreo, **de referencia** [15, 16] (el equivalente de muestreo de un material de referencia). Alternativamente, estos utilizan mediciones de ensayos de muestreo entre organizaciones, en los que el sesgo de muestreo insospechado potencialmente introducido por cada participante se incluye en la estimación de la incertidumbre basada en la variabilidad global [17] (Sección 9.5). Aunque algunos de los componentes de la incertidumbre asociados con los efectos sistemáticos pueden ser difíciles de estimar, puede ser innecesario hacerlo si hay buena evidencia de que los efectos sistemáticos son pequeños y están bien controlados. Dicha evidencia puede ser cualitativa, como el conocimiento previo de la naturaleza química o física del objeto de estudio del muestreo, o cuantitativa, como la información, por ejemplo, de mediciones previas en lotes completos. (Véanse los Ejemplos A3 y A4, Apéndice A.)

**Tabla 4: Estimación de las contribuciones de incertidumbre en el enfoque empírico**

Proceso	Clase de efecto	
	<i>Aleatorio</i>	<i>Sistemático (sesgo)</i>
<i>Análisis</i>	<i>los análisis duplicados brindan precisión en condiciones de repetibilidad</i>	<i>ej.: datos de validación o MRC</i>
<i>Muestreo</i>	<i>Muestras duplicadas</i>	<i>Objeto de estudio del muestreo de referencia, ensayo de muestreo entre organizaciones</i>

Cuatro clases de efectos que contribuyen a la incertidumbre de las mediciones, y métodos para su estimación.

### 9.3 Modelo estadístico para la estimación empírica de la incertidumbre

Para diseñar métodos experimentales para estimar la incertidumbre utilizando el enfoque empírico, es necesario tener un modelo estadístico que describa la relación entre los valores medidos y verdaderos de la concentración del analito. Este modelo de efectos aleatorios considera una medición única de la concentración de analito ( $x$ ), en una muestra (compuesta o única), de un objeto de estudio del muestreo particular:

$$x = X_{verdadero} + \varepsilon_{muestreo} + \varepsilon_{analítico}$$

donde  $X_{verdadero}$  es el valor verdadero de la concentración del analito (como sea expresado) en el objeto de estudio del muestreo (es decir, equivalente al valor del mensurando). El error total debido al muestreo es  $\varepsilon_{muestreo}$  y el error analítico total es  $\varepsilon_{analítico}$

En una investigación de un objeto de estudio del muestreo único, si las fuentes de variación son independientes, la varianza de medición  $\sigma_{medida}^2$  viene dada por,

$$\sigma_{medida}^2 = \sigma_{muestreo}^2 + \sigma_{analítico}^2$$

Donde  $\sigma_{muestreo}^2$  es la varianza entre muestras en un objeto de estudio del muestreo (en gran parte debido a la heterogeneidad del analito), y  $\sigma_{analítico}^2$  es la varianza entre análisis en una muestra.

Si se usan estimaciones estadísticas de varianza ( $s^2$ ) para aproximar estos parámetros, obtenemos

$$s_{medida}^2 = s_{muestreo}^2 + s_{analítico}^2$$

La incertidumbre estándar ( $u$ ) se puede estimar utilizando  $s_{medida}$ , que por lo tanto viene dada por

$$u = s_{medida} = \sqrt{s_{muestreo}^2 + s_{analítico}^2} \quad \text{Ecuación 1}$$

La varianza causada por la preparación física de la muestra puede incluirse dentro de la varianza de muestreo, o expresarse como un término separado si es necesario.

Dado que  $s_{analítico}$ , según lo determinado en el enfoque empírico, es solo el componente de repetibilidad de la incertidumbre analítica,  $s_{medida}$  puede subestimarse. Esto se discute más a fondo en la sección 9.4.4.

En una evaluación de varios objetos de estudio del muestreo, la cual se recomienda para la estimación de la incertidumbre del muestreo (Sección 9.4.2), el modelo debe ampliarse a

$$x = X_{verdadero} + \varepsilon_{objetivo} + \varepsilon_{muestreo} + \varepsilon_{analítico}$$

donde el término adicional  $\varepsilon_{objetivo}$  representa la variación de concentración entre objetos de estudio y tiene varianza  $\sigma_{entre-objetos\ de\ estudio}^2$ . El ANOVA apropiado genera estimaciones de las varianzas  $\sigma_{entre-objetos\ de\ estudio}^2$ ,  $\sigma_{muestreo}^2$  y  $\sigma_{analítico}^2$ , y la incertidumbre se calcula exactamente igual que antes, usando la Ecuación 1.

La varianza total  $\sigma_{total}^2$ , dada por

$$\sigma_{total}^2 = \sigma_{entre-objetos\ de\ estudio}^2 + \sigma_{muestreo}^2 + \sigma_{analítico}^2$$

también es un parámetro útil para evaluar la adecuación al uso; esto se discute más a fondo en la sección 16.2. Para fines prácticos, las varianzas poblacionales se reemplazan por sus estimaciones  $s^2$  para dar

$$s_{total}^2 = s_{entre-objetos\ de\ estudio}^2 + s_{muestreo}^2 + s_{analítico}^2 \quad \text{Ecuación 2}$$

## 9.4 Estimación empírica de la incertidumbre

**9.4.1** Cuatro tipos de métodos son aplicables para la estimación de la incertidumbre utilizando el enfoque empírico (Tabla 5). Un quinto método variográfico se describe brevemente en la Sección 9.6. El método principal descrito más adelante en esta Guía es el 'método duplicado' (#1). Si un muestreador usa varios protocolos de muestreo en el Método #2, se puede detectar cualquier sesgo entre los protocolos. Si varios muestreadores aplican un único protocolo (Método #3, que es equivalente a un ensayo colaborativo en muestreo: CTS o ensayo de desempeño del método), entonces se puede detectar el sesgo entre diferentes muestreadores e incluirlo en la estimación de la incertidumbre. Si varios muestreadores aplican diferentes protocolos seleccionados por ser los más apropiados para el objeto de estudio establecido, en su opinión profesional (Método #4, que es equivalente a un ensayo de aptitud de muestreo - SPT), entonces se puede detectar sesgo de muestreo introducido entre los protocolos de muestreo, o entre los muestreadores, e incluir en la estimación de la incertidumbre. Se ha descrito un ejemplo práctico de este enfoque, pero solo con una ronda única de un SPT [17].

**9.4.2** El método duplicado es el más simple y probablemente el más rentable de los cuatro métodos descritos en la Tabla 5. Se basa en que un único muestreador duplica una pequeña

**Tabla 5: Cuatro métodos empíricos para estimar la incertidumbre combinada, incluyendo el muestreo**

Método #	Descripción del método	Muestreadores (personas)	Protocolos	Componente estimado			
				Muestreo		Analítico	
				Precisión	Sesgo	Precisión	Sesgo
1	Duplicados	Simple	Simple	Si	No	Si <sup>3</sup>	No <sup>1</sup>
2	Protocolos	Simple	Múltiple	Entre protocolos		Si <sup>3</sup>	No <sup>1</sup>
3	CTS	Múltiple	Simple	Entre muestreadores		Si	Si <sup>2</sup>
4	SPT	Múltiple	Múltiple	Entre protocolos + entre muestreadores		Si	Si <sup>2</sup>

<sup>1</sup>La información de sesgo analítico se puede obtener al incluir materiales de referencia certificados en la tanda analítica (ver Ejemplo A2, Apéndice A).

<sup>2</sup>El sesgo analítico se incluye parcial o completamente en ejercicios colaborativos en los que participan múltiples laboratorios.

<sup>3</sup>En estos enfoques, la precisión se estima en condiciones de repetibilidad

proporción (es decir, 10%, pero no menos de ocho objetos de estudio) de las muestras primarias<sup>§</sup> [18, 19]. Idealmente, los duplicados se toman de al menos ocho objetos de estudio del muestreo, seleccionados aleatoriamente para representar la composición típica de dichos objetos de estudio. Si solo existe un objeto de estudio del muestreo, entonces se pueden extraer los ocho duplicados de allí, pero la estimación de la incertidumbre solo será aplicable a ese objeto de estudio. Las muestras duplicadas se toman repitiendo el mismo protocolo de muestreo nominal, con variaciones permitidas que reflejan la ambigüedad en el protocolo de muestreo y el efecto de la heterogeneidad a pequeña escala del analito de interés en la implementación de ese protocolo. Por ejemplo, en un diseño 'W' para recolectar una muestra compuesta sobre un área de cultivo de lechugas, el punto inicial de partida y la orientación de la 'W' se altera para la muestra duplicada; para un diseño de cuadrícula, nuevamente, el punto de partida y la orientación son alterados (Ej.: A1, Apéndice A). Las muestras duplicadas se obtienen utilizando un único protocolo de muestreo y por una sola persona (muestreador). Ambas muestras duplicadas están sujetas a preparación física que resulta en dos muestras de ensayo separadas. Porciones de ensayo duplicadas se extraen de ambas muestras de ensayo y se analizan por duplicado (es decir, análisis químico duplicado). Este sistema de muestreo duplicado y análisis químico en ambas muestras se conoce como un "diseño balanceado" (Figura 2). Tenga en cuenta que el método duplicado no incluye ninguna contribución del sesgo de muestreo, que debe suponerse insignificante o estimarse por separado utilizando, por ejemplo, múltiples muestreadores, múltiples protocolos y/o ensayos de muestreo entre organizaciones como en los otros tres métodos.

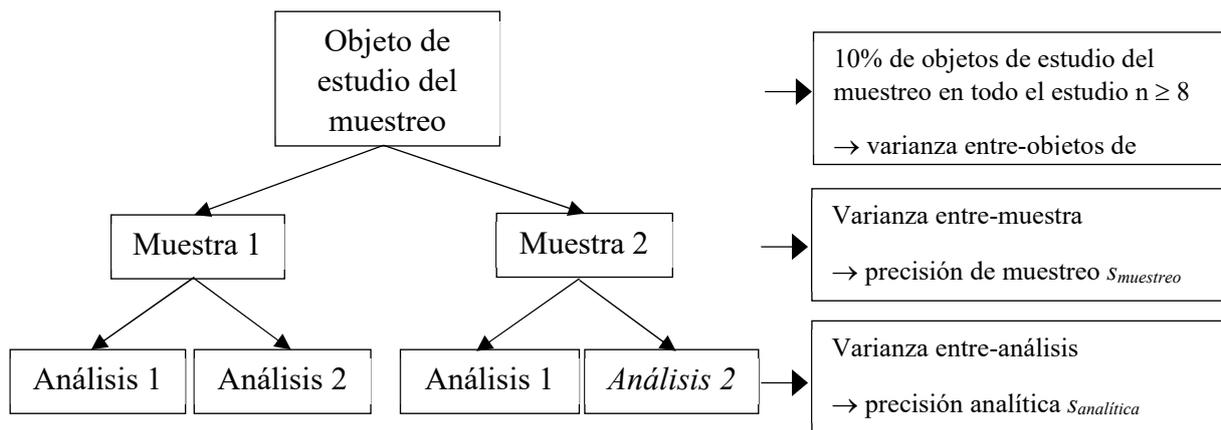
Nota 1: Aunque el 'método duplicado' generalmente se describe en términos de un muestreador y protocolo único, el mismo diseño puede usarse con diferentes muestreadores para incorporar la contribución 'entre operadores' a la incertidumbre (equivalente al Método #3).

Nota 2: Un diseño más rentable 'no-balanceado' tiene análisis duplicado en solo una de las dos muestras, por ejemplo, en la Muestra 1 en la Fig. 2. Tiene el mismo número de duplicados de muestra que el diseño balanceado, pero tiene la mitad del número de duplicados analíticos. Esto reduce el coste adicional de aplicar este método al mismo número de objetos de estudio en un 33% ([20] Anexo D).

---

<sup>§</sup> Se puede usar un mayor nivel de replicación, pero la duplicación suele ser la forma más efectiva de replicación en los estudios de muestreo. Es mejor tomar duplicados de 12 objetos de estudio del muestreo, que tomar triplicados de ocho, por ejemplo, ya que si bien cada estimación de la incertidumbre del muestreo ( $S_{muestreo}$ ) tiene un error estándar más bajo, la estimación se basa en una proporción menor de la población total de objetos de estudio del muestreo y, por lo tanto, es menos representativa. Se requiere el número mínimo de ocho duplicados para proporcionar estimaciones suficientemente confiables de la incertidumbre. [19].

Figura 2: Un diseño balanceado



Diseño experimental balanceado para la estimación empírica de la incertidumbre (es decir, diseño anidado en dos etapas), utilizando el 'método duplicado'. La eliminación del *Análisis 2* en la muestra 2 daría como resultado un diseño no-balanceado más rentable [Fig. D2 (b)], discutido en la anterior Nota 2.

**9.4.3** Las porciones de ensayo se analizan químicamente de forma anónima mediante un método analítico apropiado en condiciones de repetibilidad (ej.: distribuidas aleatoriamente dentro de un lote analítico). Si el laboratorio ha realizado estimaciones independientes de la incertidumbre de medida de la porción analítica, esto será útil para comparar con las estimaciones realizadas por este método, o para incluirlas por separado en el balance de incertidumbre si es necesario [21]. La varianza causada por la preparación física de la muestra se puede incluir en la varianza del muestreo al tener una preparación independiente en cada uno de los duplicados de la muestra. Alternativamente, esta varianza puede estimarse por separado insertando un nivel adicional de replicación en el diseño experimental (Apéndice D).

**9.4.4** El diseño balanceado propuesto aquí solo dará la desviación estándar de repetibilidad de las mediciones analíticas. Para estimar la otra parte de la incertidumbre analítica, se debe tener en cuenta otras fuentes de incertidumbre, incluida la variación día a día y el sesgo analítico potencial. Las limitaciones de este enfoque, y un ejemplo desarrollado, se dan en la Sección 6 del Ejemplo A2. Una alternativa es pedirle al laboratorio de medición la repetibilidad y la incertidumbre de medida, y luego verificar que la repetibilidad obtenida en este estudio es similar a la declarada por el laboratorio. Si este es el caso, podemos usar la incertidumbre de medida dada por el laboratorio como  $u(\text{analítica})$  (normalmente  $U/2$ ). Cuando la repetibilidad observada difiere considerablemente de la estimación de incertidumbre de medida del laboratorio, usualmente es prudente utilizar la mayor de las dos. Una segunda alternativa es utilizar la estimación del sesgo analítico hecha a partir de los materiales de referencia certificados compatibles contenidos en el lote analítico. Esta estimación del sesgo se puede combinar con la repetibilidad para obtener la incertidumbre de medida [1, 22]

## 9.5 Cálculo de la incertidumbre y sus componentes

**9.5.1** El componente aleatorio de la incertidumbre se puede estimar aplicando el análisis de varianza (ANOVA)<sup>h</sup> o cálculo de rango<sup>i</sup> a las mediciones de la concentración en las muestras duplicadas. La estimación se basa en el modelo descrito en la Sección 9.3, aplicado a cualquier protocolo de medición que se esté empleando (con su número especificado de incrementos de muestra y réplicas analíticas). Tanto el ANOVA como los cálculos de rango pueden usarse para cálculos en unidades de concentración. Cuando la desviación estándar es aproximadamente proporcional a la concentración, o la incertidumbre relativa es superior al 20 %, los cálculos deben realizarse después de la transformación logarítmica de los datos. Consulte la sección 5.7 sobre la variación de la desviación estándar versus la concentración.

**9.5.2** Los valores de  $s_{muestreo}$  y  $s_{analítico}$  del ANOVA son estimaciones de la precisión del muestreo y la precisión analítica respectivamente. El componente aleatorio de la incertidumbre de medida se calcula mediante la combinación de estas dos estimaciones (Ecuación 1). La incertidumbre expandida, para un 95% de confianza aproximadamente, por ejemplo, requiere que este valor se multiplique por un factor de cobertura de 2. La incertidumbre expandida ( $U$ ) se calcula usando

$$U = 2s_{medida} \quad \text{Ecuación 3}$$

$U$  también puede expresarse como relativa al valor reportado  $x$  y expresarse en términos de porcentaje, como una incertidumbre expandida relativa  $U'$ :

$$U' = 100 \cdot \frac{2s_{medida}}{x} \% \quad \text{Ecuación 4}$$

La incertidumbre relativa es más ampliamente aplicable que la incertidumbre estándar, ya que no cambia apreciablemente en función de la concentración en los valores muy superiores al límite de detección analítica (>10 veces). Se pueden seleccionar otros factores de cobertura según corresponda. La mejora de esta estimación de incertidumbre para incluir el error sistemático del análisis químico se discute en el Ejemplo A2, Apéndice A.

La incertidumbre expandida relativa solo para el muestreo o análisis puede expresarse de manera similar como:

$$U'_{muestreo} = 100 \frac{2s_{muestreo}}{X} \%$$

y

$$U'_{analítica} = 100 \frac{2s_{analítica}}{X} \%$$

<sup>h</sup> A menudo hay una pequeña proporción (es decir <10%) de valores atípicos en las distribuciones de frecuencia de la variabilidad analítica, dentro de la muestra y entre muestras. Esto requiere el uso de algún método para reducir el efecto de los valores atípicos en ANOVA clásico, como el uso de métodos estadísticos robustos. Esto proporciona una estimación más fiable de las varianzas de las poblaciones subyacentes. Una explicación más completa de estos métodos se da en el ejemplo desarrollado en el Apéndice A1 (p40), A2 (p45).

<sup>i</sup> Ver ejemplo en Apéndice A3.

Cuando la incertidumbre estándar declarada del laboratorio  $u_{\text{analítica}}$  sea mayor que  $s_{\text{analítica}}$ , según lo determinado por ANOVA, la sustitución de  $s_{\text{analítica}}$  por  $u_{\text{analítica}}$  será una mejor estimación de la incertidumbre.

**9.5.3** El ANOVA clásico asume que la distribución de frecuencia del efecto es aproximadamente normal (es decir, gaussiana), pero en algunos casos ha mostrado ser aproximadamente log-normal. En tales casos, se pueden tomar los logaritmos naturales de los valores de medición y realizar el ANOVA en esos valores transformados logarítmicamente. Los resultados de dicho ANOVA no están en las unidades originales de la concentración del analito, pero se pueden usar para calcular un **factor de incertidumbre** estándar ( $^F u$ ) y el factor de incertidumbre expandida ( $^F U$ ). Un valor de medición puede entonces multiplicarse por  $^F U$  para calcular el límite de confianza superior y dividirse por  $^F U$  para calcular el límite de confianza inferior del intervalo de incertidumbre.

La desviación estándar de los valores transformados logarítmicamente en base e ( $s(\ln(x)) = s_G$ ) se puede utilizar para calcular el factor de incertidumbre estándar ( $^F u$ ) [23], donde

$$^F u = \exp(s_G)$$

El factor de incertidumbre expandida más útil ( $^F U$ ) usando  $k = 2$ , se puede calcular de dos maneras, ya sea como

$$^F U = \exp(2s_G) \quad \text{Ecuación 5}$$

Alternativamente, puesto que multiplicar por  $k$  en el espacio logarítmico es lo mismo que elevar a la potencia de  $k$  en el espacio lineal, es decir  $^F U = (^F u)^k$ ,  $^F U$  también puede calcularse más simplemente como

$$^F U = (^F u)^2$$

El límite de confianza superior para el intervalo de incertidumbre expandida se calcula multiplicando la concentración medida ( $x$ ) por  $^F U$ , y el límite de confianza inferior como  $x$  dividido por  $^F U$ . Por lo tanto, este intervalo de confianza no es simétrico alrededor del valor de medición en el espacio de concentración lineal normal.

La incertidumbre relativa  $u'$ , expresada como una fracción, puede calcularse a partir de

$$u' = \sqrt{\exp(s_G^2) - 1}$$

que, para valores modestos de  $u'$ , (ej.:  $<0,2$ ) es aproximadamente igual a  $s_G$ .

Un ejemplo desarrollado del cálculo de  $^F U$  se da en el Ejemplo A2 del Apéndice A.

**9.5.4** Debido a que la incertidumbre de muchos sistemas de medición está dominada por la heterogeneidad dentro del objeto de estudio del muestreo, el uso del "método duplicado" más simple a menudo proporciona una estimación de incertidumbre razonablemente fiable. Los estudios de sistemas ambientales han mostrado que los efectos entre-operadores y entre-protocolos a menudo son mucho más pequeños que los causados por la heterogeneidad [24]. En la Sección 1 se proporciona más información sobre la selección del método más efectivo

para la estimación de la incertidumbre. Se dan ejemplos de aplicaciones del método duplicado en los Ejemplos A1 y A2, Apéndice A.

**9.5.5** Además de una única estimación inicial de incertidumbre para un protocolo de muestreo particular aplicado a un objeto de estudio del muestreo particular, la aplicación rutinaria del 'método duplicado' también es útil como una forma de monitorear la calidad del muestreo continuo (Sección 13). Esto puede dar un margen para el efecto sobre la incertidumbre de los cambios en la heterogeneidad del objeto de estudio del muestreo entre diferentes aplicaciones del mismo protocolo de muestreo. Se puede obtener evidencia cuantitativa de la calidad del muestreo, en lugar de basarse únicamente en el supuesto de que las muestras son representativas, si se toman con un protocolo correcto.

## **9.6 Métodos empíricos alternativos de estimación de la incertidumbre**

**9.6.1** Se sugirió la variografía como un medio empírico adicional para estimar la incertidumbre de medida a partir de las fuentes combinadas de muestreo y análisis [25], y ahora se ha demostrado [26]. Es particularmente útil en situaciones donde existe una variación espacial y/o temporal a gran escala en la concentración de analito que puede cuantificarse y modelarse. Este es el caso de algunos ejemplos de la geoquímica de rocas y suelos, y en el control de emisiones (ej.: aguas residuales), cuando se han tomado grandes cantidades ( $n > 100$ ) de muestras distribuidas de manera uniforme. Más orientación sobre los principios y la aplicación de la variografía para este propósito, con un estudio de caso, está disponible [8].

## **10 El enfoque de modelamiento**

### **10.1 Modelamiento de causa-efecto**

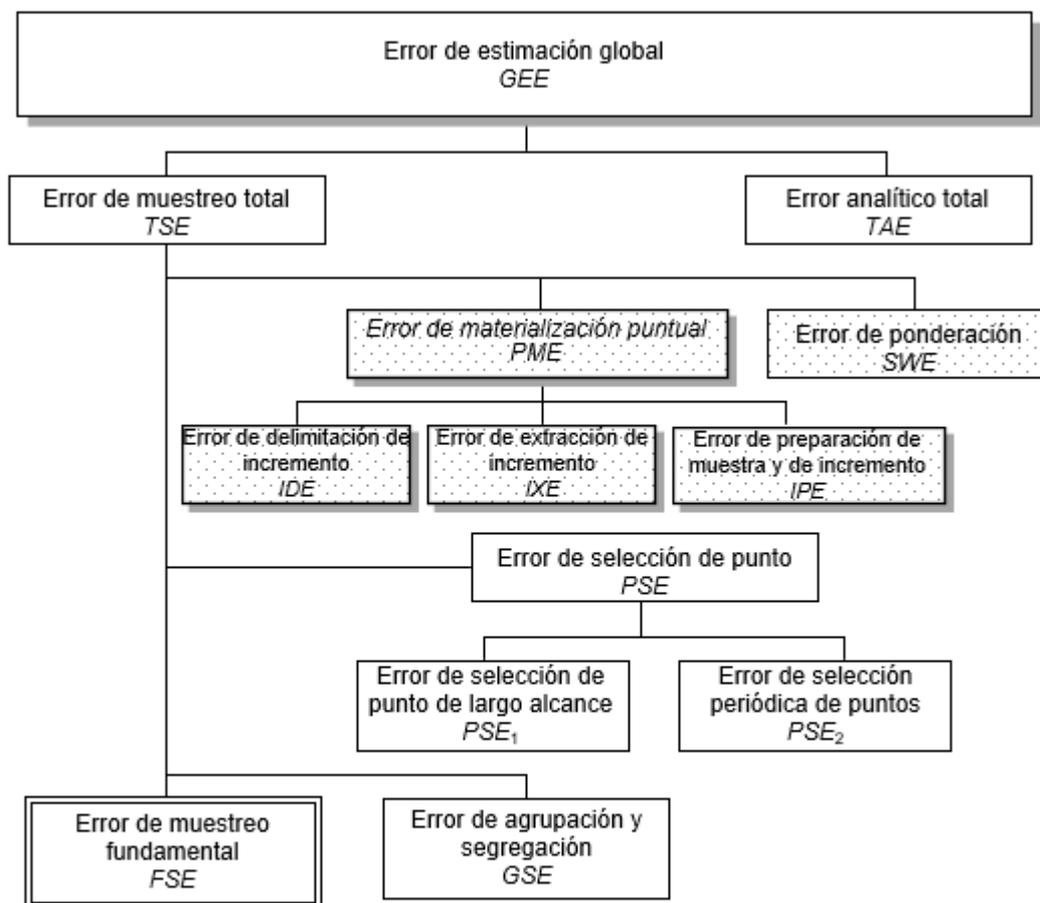
**10.1.1** El enfoque de modelamiento, a menudo conocido coloquialmente como "bottom-up", se ha descrito para los métodos de medición en general [2] y se ha aplicado a las mediciones analíticas [1]. Inicialmente identifica todas las fuentes de incertidumbre, cuantifica las contribuciones de cada fuente y luego combina todas las contribuciones, como un balance, para dar una estimación de la incertidumbre estándar combinada. En el proceso, el método de medición se separa en todos sus pasos individuales. Esto puede tomar útilmente la forma de un diagrama de causa y efecto, o 'espina de pescado' [1]. La incertidumbre de medida generada por cada uno de estos pasos se estima de forma independiente, ya sea empíricamente o por otros métodos. La incertidumbre combinada se calcula combinando la incertidumbre de todos los pasos por los métodos apropiados. Este enfoque está bien establecido para los métodos analíticos [1], pero solo se ha aplicado más recientemente al proceso de muestreo [25, 27]. Para los sistemas particulados, la teoría de muestreo utiliza un enfoque similar para identificar siete tipos de error de muestreo. Uno de estos errores (fundamental) se estima utilizando una ecuación basada en un conocimiento detallado de las partículas individuales que se están muestreando, como se discute en la siguiente sección (y en el Ejemplo A5, Apéndice A).

### **10.2 Teoría de muestreo para la estimación de la incertidumbre**

**10.2.1** La teoría de muestreo se ha propuesto como un método apropiado para estimar la incertidumbre del muestreo [28]. Este enfoque se basa en el uso de un modelo teórico, como el de Gy. Pierre Gy ha desarrollado una teoría de muestreo completa descrita en muchas publicaciones [6, 13, 29, 30, 31, 32]. La Figura 3 muestra la clasificación de Gy de los errores

de muestreo. La mayoría de los errores de muestreo, excepto los errores de preparación, se deben a la heterogeneidad del material, que se puede dividir en dos clases: 1) heterogeneidad de constitución (CH) y 2) heterogeneidad de distribución (DH). Ambas heterogeneidades pueden definirse matemáticamente y estimarse experimentalmente. La heterogeneidad de constitución se refiere al hecho de que todos los materiales naturales son heterogéneos, es decir, consisten en diferentes tipos de partículas (moléculas, iones, granos). Usando esta terminología, una distribución se denomina 'heterogénea' si las partículas no se distribuyen aleatoriamente en el objeto de estudio del muestreo (o lote) que se investigará.

**Figura 3: Clasificación de errores de muestreo en la teoría de muestreo de Gy**



$$GEE = TSE + TAE$$

$$TSE = (PSE + FSE + GSE) + (IDE + IXE + IPE) + SWE$$

\* los errores del muestreo incorrecto se indican mediante cuadros sombreados y se excluyen de las estimaciones de incertidumbre

**10.2.2** La clasificación de errores de muestreo forma un marco lógico y útil para diseñar y auditar procedimientos de muestreo. Los que son centrales para la estimación de la incertidumbre (ej.: FSE en la Figura 3) se analizan a continuación, y otros (SWE, PSE y GSE) en el Apéndice C.

**10.2.3** El error de determinación total, que Gy llama el error de estimación global (GEE), es la suma del error de muestreo total (TSE) y el error analítico total (TAE). Los componentes

de TSE se pueden dividir en dos grupos principales: 1) errores de muestreo incorrecto, 2) errores de muestreo correcto. Algunos errores de muestreo incorrecto surgen de lo que la GUM [2] refiere como errores groseros, y como tal se excluirían de las estimaciones de incertidumbre. Los errores de muestreo correcto ocurren dentro de las buenas prácticas y pueden considerarse para su inclusión dentro de las estimaciones de incertidumbre siguiendo el enfoque GUM [2].

**10.2.4** *Los errores de muestreo incorrecto* surgen del equipamiento y de los procedimientos de muestreo que no siguen las reglas de muestreo correcto definidas en la teoría de muestreo. En la Figura 3, estos errores se muestran en cuadros sombreados. El error de delimitación de incremento (IDE) es un error que se genera si la forma de la muestra no es correcta. Por ejemplo, desde una corriente de proceso, la muestra correcta es una parte completa de igual grosor cortada a través del flujo de proceso. El dispositivo de muestreo debe diseñarse de modo que pueda extraer el perfil de muestra deseada (es decir, todos los componentes tienen la misma oportunidad de terminar en la muestra). De lo contrario, se crea un error de extracción de muestra o incremento (IXE). Los errores de preparación de muestra (IPE) tienen varias causas potenciales enumeradas en la Tabla 2, dos de las cuales están excluidos del cálculo ya que la definición GUM los considera errores groseros [2].

**10.2.5** Los errores de muestreo incorrecto tienen las siguientes propiedades en común: 1) crean sesgo de muestreo y aumentan la varianza total de forma impredecible, 2) son circunstanciales y, por lo tanto, cualquier intento de estimarlos experimentalmente no es útil normalmente, porque es costoso y los resultados no pueden generalizarse. La forma correcta es minimizar o eliminar estos errores auditando cuidadosamente el equipamiento y los procedimientos, reemplazando los dispositivos y procedimientos estructuralmente incorrectos con aquellos que siguen las reglas de muestreo correcto y mediante la capacitación suficiente del personal de muestreo. Solo si esta parte técnica se ejecuta correctamente, la parte teórica de la evaluación de la incertidumbre tiene valor predictivo.

**10.2.6** Los **errores de muestreo correcto** se muestran en la parte inferior de la Figura 3. Cuando se eliminan los errores de muestreo incorrecto, estos errores pueden modelarse y usarse para estimar la incertidumbre del muestreo. El error de muestreo fundamental está entre los más importantes y se considerará más adelante aquí; otros se discuten en el Apéndice C2.

**10.2.7** El **error de muestreo fundamental (FSE)** es el error mínimo de un procedimiento de muestreo ideal. En última instancia, depende del número de partículas críticas en las muestras (una 'partícula crítica' es la que contiene el analito). Para gases y líquidos homogéneos es muy pequeña, pero para sólidos, polvos y materiales particulados, especialmente a bajas concentraciones de partículas críticas, el error fundamental puede ser muy grande. Si el lote a muestrear puede tratarse como un objeto unidimensional, se pueden usar modelos de error de muestreo fundamental para estimar la incertidumbre del muestreo. Si el lote no puede ser tratado como un objeto unidimensional, al menos el error de selección puntual tiene que ser tomado en cuenta cuando se estima la varianza de las muestras primarias. Si la preparación de la muestra y la reducción del tamaño por división se llevan a cabo correctamente, se pueden usar modelos de error de muestreo fundamental para estimar los componentes de varianza generados por estos pasos. Si el valor esperado para el número de partículas críticas en la muestra se puede estimar fácilmente en función del tamaño de la muestra, la distribución de

Poisson o la distribución binomial se pueden usar como modelos de muestreo para estimar la incertidumbre de la muestra. En la mayoría de los casos, se puede utilizar el modelo de error de muestreo fundamental.

**10.2.8** Si el material a muestrear consiste en partículas que tienen diferentes formas y distribuciones de tamaño, es difícil estimar el número de partículas críticas en la muestra. Se puede usar una ecuación para estimar la varianza relativa del error de muestreo fundamental:

$$\sigma_r^2 = C \cdot d^3 \left( \frac{1}{M_S} - \frac{1}{M_L} \right) \quad \text{Ecuación 6}$$

donde

$\sigma_r = \frac{\sigma_a}{a_L}$  = desviación estándar relativa del error de muestreo fundamental

$\sigma_a$  = desviación estándar absoluta (en unidades de concentración)

$a_L$  = concentración promedio del lote

$d$  = tamaño de partícula característico = 95% límite superior de la distribución de tamaño

$M_S$  = tamaño de muestra

$M_L$  = tamaño del lote

$C$  es una constante de muestreo que depende de las propiedades del material muestreado;  $C$  es el producto de cuatro parámetros:

$$C = f g \beta c \quad \text{Ecuación 7}$$

$f$  = factor de forma (ver Figura 4)

$g$  = factor de distribución de tamaño ( $g = 0,25$  para distribución de tamaño amplia y  $g = 1$  para tamaños de partícula uniformes)

$\beta$  = factor de liberación (ver Figura 4). Para materiales donde las partículas están completamente liberadas,  $\beta = 1$ . Para material no liberado, se usa una ecuación empírica

$\beta = \left( \frac{L}{d} \right)^x$ , donde se han sugerido valores de  $x$  que varían de 0,5 a 1,5.

$c$  = factor de constitución y puede estimarse si las propiedades del material necesarias están disponibles mediante el uso de:

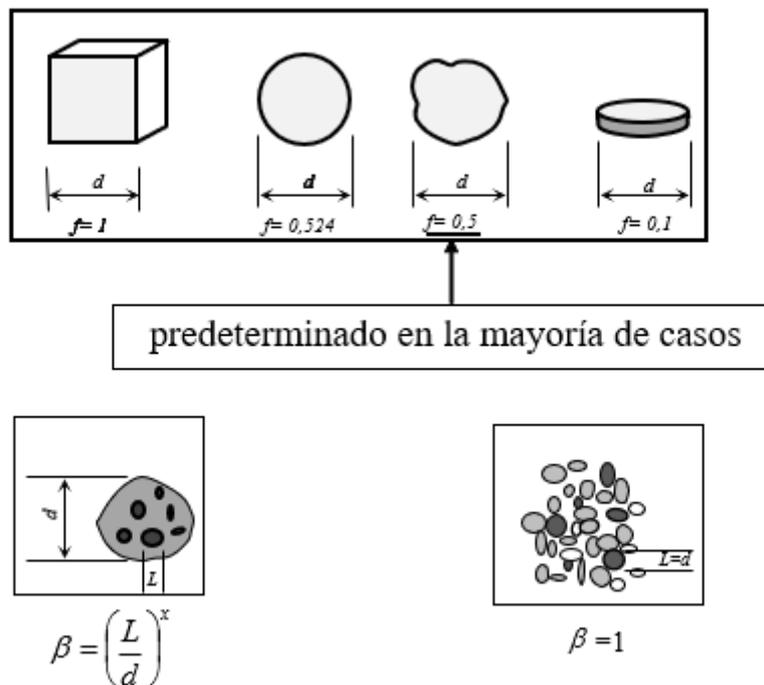
$$c = \frac{\left( 1 - \frac{a_L}{\alpha} \right)^2}{\frac{a_L}{\alpha}} \rho_c + \left( 1 - \frac{a_L}{\alpha} \right) \rho_m \quad \text{Ecuación 8}$$

Aquí  $a_L$  es la concentración promedio del lote,  $\alpha$  es la concentración del analito en las partículas críticas,  $\rho_c$  es la densidad de las partículas críticas y  $\rho_m$  es la densidad de la matriz o partículas diluyentes. Una descripción más completa de estos términos se puede encontrar en [29].

**10.2.9** Si las propiedades del material no están disponibles y son difíciles de estimar, la constante de muestreo  $C$  siempre se puede estimar experimentalmente. Los materiales de referencia certificados, por ejemplo, son un grupo especial de materiales para los cuales se puede estimar la constante de muestreo a partir de los datos existentes.

**10.2.10** En el ejemplo A5, apéndice A, se proporciona un ejemplo de cómo se puede utilizar el modelo de error de muestreo fundamental en la práctica.

**Figura 4** Estimación de factores para la estimación del error de muestreo fundamental.



El factor de forma de partícula  $f$  (parte superior) y el factor de liberación  $\beta$  para material no liberado (inferior izquierda) y material liberado (inferior derecha).  $L$  es el tamaño de liberación de las partículas críticas.

## PARTE 4 – Problemas de gestión

### 11 Responsabilidades en la calidad del muestreo

**11.1** Las implicaciones de considerar el muestreo como parte integral del proceso de medición son de gran alcance, e incluyen problemas de gestión. El rigor que se aplica a la evaluación y mejora de la calidad de las actividades dentro del laboratorio analítico debe aplicarse por igual a los procedimientos de muestreo. La responsabilidad de la calidad de todo el proceso de medición debe recaer en última instancia en una organización, y las responsabilidades para las diferentes partes del proceso deben definirse adicionalmente. Del mismo modo, un organismo debe asumir la responsabilidad de estimar la incertidumbre de medida, basándose en la información de todos los participantes. Esta organización puede informar a todos los participantes de las contribuciones derivadas de los pasos principales del procedimiento de medición.

### 12 Selección del enfoque de estimación de la incertidumbre

**12.1** Los enfoques empíricos (de arriba hacia abajo –“top-down”–) y modelado (de abajo hacia arriba –“bottom-up”–) tienen sus ventajas en ciertas circunstancias. Estos deben tenerse en cuenta al seleccionar el enfoque para un ejercicio de muestreo determinado.

- El enfoque empírico incluye todas las fuentes de incertidumbre, sin que el científico tenga que conocer su identidad de antemano. Por ejemplo, se aplica automáticamente a los contaminantes y mineralogías particulares presentes en un emplazamiento geológico. Los cálculos no requieren ningún conocimiento previo de la naturaleza del material (por ejemplo, tamaño del grano, especiación de analito, grado de heterogeneidad). Es relativamente rápido y fácil de aplicar en la práctica (especialmente para el 'método duplicado'). Hay al menos cuatro opciones disponibles para permitir estimaciones progresivamente más precisas (y más costosas) de incertidumbre, según proceda (Tabla 5). Algunos de estos métodos pueden permitir un error sistemático (como el sesgo de muestreo) dentro de la estimación de la incertidumbre. Las pruebas de competencia de muestreo y los objetos de estudio del muestreo de referencia todavía están en las primeras etapas del desarrollo, pero ya muestran una promesa considerable para esta aplicación [17].
- Entre las desventajas del enfoque empírico se encuentra que no cuantifica necesariamente ninguno de los componentes individuales de la incertidumbre (aunque este conocimiento se puede añadir con resolución limitada). No se basa en un modelo teórico de muestreo de partículas, pero esto puede ser una ventaja en aplicaciones para materiales que no son en forma de partícula (por ejemplo, gaseoso, líquidos, biota). El enfoque empírico solo da un valor aproximado de incertidumbre, que se asume que es constante sobre el objeto de estudio del muestreo, lo cual también ocurre en el enfoque de modelado. Los valores extremos en las mediciones de réplicas pueden dar lugar a una sobreestimación del valor de incertidumbre, que no es representativo de la mayoría de las mediciones. Sin embargo, este efecto puede minimizarse mediante el uso de estadística robusta ([33] y la sección 6 de los ejemplos A1 y A2).
- La principal ventaja del enfoque de modelado es que permite identificar fácilmente la mayor fuente de incertidumbre, si estaba en el modelo. Proporciona un método transparente que muestra qué componentes de incertidumbre se han considerado en la

suma de la incertidumbre. Por último, cuando se dispone de información previa, los enfoques de modelado pueden ser menos costosos que los extensos estudios experimentales.

- Las desventajas del enfoque de modelado incluyen que las predicciones teóricas de la incertidumbre pueden requerir mediciones previas detalladas de la mineralogía, el tamaño de grano y la especiación del analito del material que se muestrea (por ejemplo, el suelo), y cómo estos varían a través del objeto de estudio. Los supuestos idealizados tienen que ser hechos por lo tanto sobre la composición del material (por ejemplo: mineralogía, tamaño de grano y especiación del analito). El enfoque de modelado mediante la teoría de muestreo requiere estimaciones o suposiciones sobre ocho tipos de error de muestreo, y también cómo pueden variar en el destino. Tanto los enfoques teóricos como los empíricos pueden llevar relativamente mucho tiempo y, por lo tanto, ser costosos de implementar. Las estimaciones genéricas pueden ser demasiado generales y no reflejar las circunstancias específicas en un objeto de estudio del muestreo determinado. Además, no todas las fuentes de incertidumbre podrían ser identificadas, lo que puede llevar a una subestimación de la incertidumbre total.

Por lo tanto, en resumen, los métodos empíricos tienden a ser generalmente más aplicables en una amplia gama de tipos de materiales, y no dependen tan fuertemente de conocimientos previos del sistema o de todas las fuentes de incertidumbre. Esto supondrá menos tiempo y, por lo tanto, son menos costosos de aplicar, lo que es particularmente valioso en las pruebas puntuales de diferentes objetos de estudio del muestro. Los enfoques de modelización, por el contrario, conducen a una evaluación más detallada de las fuentes de incertidumbre individuales conocidas y son más adecuados al desarrollar un esquema de muestreo a largo plazo para una aplicación específica bien caracterizada.

### 13 Control de calidad del muestreo

#### 13.1 Relación entre validación y control de calidad

**13.1.1** Una vez que se ha establecido una incertidumbre que hace que las mediciones sean adecuadas para su propósito, se puede llevar a cabo la evaluación de los procedimientos de muestreo y análisis propuestos para cumplir con esos fines. Para ello se necesitan dos herramientas de evaluación: validación y control de calidad continuo.

**13.1.2** La validación comprende una estimación única de los componentes de incertidumbre determinados en las condiciones que se espera que se encuentren en el uso rutinario de los procedimientos. La validación se puede realizar genéricamente para el método de muestreo (validación inicial) o directamente en el emplazamiento de muestreo 'in situ' para el objeto de estudio seleccionado (validación in situ). La validación inicial se utiliza cuando el muestreo se realiza como una actividad única (muestra puntual, por ejemplo, en la investigación del emplazamiento contaminado) y la validación in situ se repite a intervalos (muestreo repetido, por ejemplo, tiempo o muestreo proporcional al flujo de aguas residuales). En resumen, la validación demuestra lo que se puede lograr y, si esto se ajusta al requisito de adecuación al uso, los procedimientos se consideran adecuados para su uso rutinario.

**13.1.3** Sin embargo, la validación por sí sola no puede garantizar que los resultados rutinarios sean realmente adecuados para su propósito. Las condiciones rutinarias o específicas del sitio pueden diferir de las que prevalecen durante la validación, ya sea de forma sistemática u ocasional. Esto es especialmente cierto para el muestreo, donde la mayor parte del

componente de incertidumbre a menudo se deriva de la heterogeneidad del objeto de estudio del muestreo, es decir, donde el grado de heterogeneidad puede variar notablemente de un objeto de estudio a otro. Esto también es cierto cuando se aplica un método de muestreo en diferentes sitios. Estas circunstancias ponen de manifiesto la necesidad de un control interno de calidad continuo que incluya el muestreo, para garantizar que las condiciones que prevalecen en la validación (y, por lo tanto, la incertidumbre esperada asociada a los resultados) siguen siendo aplicables cada vez con el muestreo y se ejecutan procedimientos analíticos. El uso combinado de validación y control de calidad se muestra en el Tabla 6.

**Table 6: Ilustración del uso combinado de la validación y el control de calidad del muestreo**

	<b>Un método utilizado en muchos emplazamientos</b>	<b>Un método utilizado repetidamente en un emplazamiento</b>
<i>Validación</i>	Validación inicial que proporciona datos del desempeño genéricos	Validación en el emplazamiento que proporciona los datos del desempeño para el objeto de estudio específico
<i>Control de calidad</i>	Amplio control de calidad con verificación específica in-situ de los datos generales del desempeño	Control de calidad puntual que verifica la coherencia de los datos del desempeño con el tiempo

**13.1.4** La necesidad de un control interno de la calidad del muestreo no es ampliamente reconocida en la actualidad, y los métodos para ejecutarlo no están bien establecidos, excepto en algunas áreas especializadas como la prospección geoquímica [34]. Se ofrecen sugerencias específicas para el control de calidad del muestreo para algunas matrices en muestreo Ambiental [35]. Sin embargo, no se trata de nuevos principios; con una calificación menor, los principios del control interno de calidad del análisis son aplicables al muestreo [16, 36, 37]. Además, los métodos utilizados en la validación son, con cierta simplificación, aplicables al control de calidad interno. La razón de la simplificación es que la validación debe proporcionar una buena estimación de la incertidumbre, mientras que el control de calidad solo tiene que demostrar coherencia, en el espacio y el tiempo, con la incertidumbre establecida en la validación.

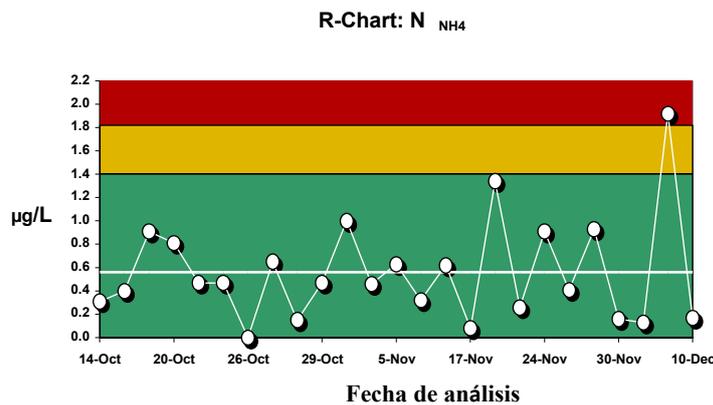
## 13.2 Métodos de control interno de calidad del muestreo

**13.2.1** El punto de interés es casi exclusivamente el relativo a la precisión. El sesgo es difícil de abordar en la validación y casi imposible en el control de calidad interno. El ‘valor de referencia’ (objeto de estudio del muestreo de referencia), el equivalente conceptual en el muestreo de un material de referencia certificado [15], rara vez está disponible. Además, no es totalmente útil: tenemos que ver si los resultados de los objetos de estudio del muestreo

individuales son adecuados para su propósito, no si se pueden obtener resultados imparciales y reproducibles en un objeto de estudio de referencia posiblemente no representativo.

**13.2.2** La herramienta principal es la replicación. Esto se ejecuta mínimamente tomando dos muestras de cada objeto de estudio del muestreo mediante una duplicación completa (y adecuadamente aleatorizada) del protocolo de muestreo. Cada muestra se analiza una vez y se calcula la diferencia entre los resultados  $D = |x_1 - x_2|$ . Si las desviaciones estándar de repetibilidad validadas del muestreo y el análisis son  $s_{r,s}$  y  $s_{r,a}$  respectivamente, la desviación estándar de la repetibilidad combinada es  $s_{r,medida} = \sqrt{s_{r,s}^2 + s_{r,a}^2}$ . Por lo tanto, se puede construir un gráfico de control de rango unilateral con un límite de control (en el intervalo de confianza del 95%) de  $2,83s_{r,medida}$  y un límite de acción (en el intervalo de confianza del 99%) de  $3,69s_{r,medida}$  [37] (Figura 5). Un valor fuera de control de  $d$  manifiesta que el resultado debe ser examinado como posiblemente no apto para el propósito. Tal resultado no es diagnóstico y puede derivar de una perturbación en el muestreo o el análisis; estos últimos deben ser detectados por métodos estándar de control de calidad analítico.

**Figura 5: Ejemplo de un gráfico R para el control de calidad del muestreo**



Para la construcción de este gráfico R, véase el Nordtest Guide [37].

**13.2.3** Los datos del control de calidad también se pueden utilizar para actualizar la precisión del método de muestreo obtenida en la validación de métodos utilizando los mismos métodos, ANOVA o cálculos de diferencias relativas.

**13.2.4** En algunos casos, el coste adicional del muestreo duplicado se puede eliminar mediante el uso del método SAD (Split Absolute Difference) en los que el número normal de incrementos que se combinarán como muestra se segrega al azar en dos subconjuntos de igual tamaño, cada uno de los cuales se procesa y analiza por separado [38, 39]. La diferencia entre estos resultados tiene una incertidumbre  $\sqrt{4u_s^2 + 2u_a^2}$  si se mantienen las condiciones aplicables a la validación. Esto se podría utilizar de nuevo para definir un límite de acción en un gráfico de control unilateral.

## 14 Informar e interpretar la incertidumbre

### 14.1 Introducción

**14.1.1** Es crucial garantizar que los informes sean claros en cuanto al mensurando que se informa. En particular, es importante tener claro si el resultado y su incertidumbre se aplican a una sola porción de ensayo, a una muestra de laboratorio, a la totalidad de un objeto de estudio del muestreo (ej.: un material a granel) o a una serie de objetos de estudio. Utilizando los principios de la GUM [2] y las anteriores Guías Eurachem/CITAC [ej.: 1], la incertidumbre se estimará inicialmente en forma de una incertidumbre estándar,  $u$ , que incluye la debida asignación de todos los efectos que puedan influir razonablemente en el resultado. La incertidumbre puede ser citada en esta forma sin cambios. Sin embargo, a menudo es conveniente informar en otras formas para aumentar la confianza o para una aplicabilidad más amplia. Es esencial tener en cuenta cualquier limitación en la estimación de la incertidumbre, como la exclusión del sesgo de muestreo u otros efectos descuidados. En los párrafos siguientes se describen las cuestiones más importantes y se orienta sobre su interpretación.

### 14.2 Incertidumbre expandida, $U$

**14.2.1** La incertidumbre estándar  $u$  aplicada a un resultado en la forma  $x \pm u$ , y asociada con una distribución normal, describe un intervalo que incluye sólo alrededor del 68% del área de la distribución. Esto se toma generalmente para indicar que hay una probabilidad mayor que el 32% de que el valor de medición esté fuera de este intervalo. Esto se considera confianza insuficiente para la mayoría de las aplicaciones prácticas. Por lo tanto, es una práctica normal aplicar un multiplicador adecuado a la incertidumbre estándar para que el intervalo establecido incluya una mayor proporción de la dispersión. Convencionalmente, este multiplicador, generalmente designado como  $k$ , se conoce como el *factor de cobertura*, y el producto  $ku = U$  es referido como la *incertidumbre expandida*.

**14.2.2** La elección de  $k$  se discute con considerable detalle en otras publicaciones [1, 2]. Sin embargo, los principios claves son:

- $k$  debe elegirse para reflejar un intervalo de confianza aproximado para la distribución en particular.
- Si se sabe que una distribución determinada es aplicable, se utiliza. De lo contrario, una distribución normal se considera una suposición razonable cuando las contribuciones dominantes a la incertidumbre se distribuyen normalmente o hay varias contribuciones aproximadamente iguales de distribuciones arbitrarias. Con esta suposición,  $k$  se basa típicamente en el valor de la  $t$  de Student para un nivel de confianza adecuado (a dos colas) y el número de grados de libertad.
- En el enfoque de modelización, el número de grados de libertad se deriva formalmente de los grados de libertad para contribuir a las incertidumbres de acuerdo con una fórmula publicada [1, 2], o aproximado del número de grados de libertad para la contribución dominante [1]. Más comúnmente, se supone que el número de grados de libertad es lo suficientemente grande como para justificar una elección de  $k=2$  para aproximadamente un intervalo de confianza del 95%.

Para la mayoría de los propósitos prácticos,  $k=2$  es considerada aceptable, y en algunas ocasiones obligatoria [40]. Sin embargo, es importante indicar el valor de  $k$  utilizado, y el nivel aproximado de confianza que  $k$  implica, al informar de la incertidumbre expandida.

### **14.3 Declaraciones relativas a la incertidumbre**

**14.3.1** A menudo, se encuentra que la incertidumbre estándar del muestreo aumenta aproximadamente proporcionalmente con el valor del resultado. En estas circunstancias, a menudo es más práctico citar la incertidumbre en una forma relativa, como una desviación estándar relativa  $u / \bar{x}$  o en un intervalo de porcentaje usando la Ecuación 4 (por ejemplo:  $\pm 10\%$ ). El valor relativo citado se basa generalmente en una estimación de incertidumbre para uno o más resultados representativos, pero es aplicable en un mayor rango de valores de concentración.

**14.3.2** Es importante no extrapolar una simple desviación estándar relativa a la concentración cero, ya que la incertidumbre normalmente no desaparece por completo en niveles muy bajos y la suposición de proporcionalidad ya no es válida. Los enfoques más generales de estas situaciones pueden especificar un rango de concentración sobre el que se aplica el valor de incertidumbre relativa [37], o bien expresar la incertidumbre en función de la concentración [1,10]. En el Apéndice A se muestran ejemplos trabajados que muestran el cálculo y la expresión de incertidumbre. Algunos ejemplos hacen que el cálculo de la incertidumbre en las unidades de concentración originales (A1 y A2) y otros cálculos utilizan la incertidumbre relativa (A3-A6), aunque todos los ejemplos finalmente expresan la incertidumbre en forma relativa.

### **14.4 Factor de incertidumbre**

Como se explica en la sección 9.5.3 [23], a veces es más apropiado expresar la incertidumbre de medida como factor de incertidumbre expandida ( $^F U$ ). Esto ocurre cuando la distribución de frecuencias sigue aproximadamente una distribución normal logarítmica, lo que no es infrecuente en valores altos de incertidumbre de muestreo.

### **14.5 Contribuciones a la incertidumbre**

Es necesario indicar los pasos exactos que se incluyen en cada contribución a la incertidumbre de medida. Es posible cuantificar algunos componentes específicos de la incertidumbre de medida, pero la metodología requerida depende del método de estimación empleado, los detalles del diseño experimental y la persona a la que se destina la información. Por ejemplo, el diseño experimental de la Figura 2 dará estimaciones separadas de dos componentes denominados ‘muestreo’ y ‘analítica’. Cuando se examinan los detalles de esta implementación particular del dibujo o modelo, se pone de manifiesto que la incertidumbre derivada de la preparación física de la muestra se incluye en el título general de ‘muestreo’, mientras que la de la preparación química se incluye dentro de ‘analítica’. Si es necesario, es posible introducir un nuevo nivel de duplicación de la preparación física dentro del diseño experimental para estimar la contribución separada que esa etapa en particular introduce [22]. Cuando la incertidumbre de muestreo se expresa como un factor de incertidumbre (en el dominio de registro) y la incertidumbre analítica como incertidumbre relativa (en el dominio lineal) es posible sumar estas dos componentes [21]. Un enfoque es tener las componentes de muestreo e incertidumbre analítica calculadas y expresadas en el dominio de registro, como se muestra en el ejemplo A2. Un segundo enfoque consiste en suponer, para el componente

analítico, que la incertidumbre estándar relativa ( $s_{\text{analítica}}$ ) es aproximadamente igual a la desviación estándar de los logaritmos naturales ( $s_{G, \text{analítica}}$ ). Esta es una aproximación aceptable cuando el  $s'_{\text{analítica}} < 0,2$ , que suele ser el caso. A continuación, las dos componentes se pueden combinar como varianzas en base logarítmica, como en el primer enfoque. Aunque los pasos exactos que se incluyen en cada contribución a la incertidumbre de medida deben estar documentados, en la práctica, son estimados. Para los usuarios menos experimentados en mediciones analíticas, puede ser mejor informar de un valor para la incertidumbre global, indicando qué fuentes se han considerado.

### 14.6 Aplicabilidad de las estimaciones

Recordando el debate sobre la especificación de la medida (sección 5.2) es crucial garantizar que los informes sean claros en cuanto al mensurando que se informa. Como se observa en la sección 14.1.1, es particularmente importante indicar claramente si el resultado y su incertidumbre se aplican a una sola porción de ensayo, a una muestra de laboratorio, a todo el objeto de estudio del muestreo o a una serie de objetos de estudio. A diferencia de las estimaciones de incertidumbre para las mediciones analíticas, es muy probable que el mismo protocolo de muestreo produzca mediciones con diferentes niveles de incertidumbre a partir del muestreo cuando se aplica a un nuevo objeto de estudio del muestreo. Se requerirán nuevas estimaciones para objetos de estudio sustancialmente diferentes, especialmente cuando haya razones para suponer que el grado de heterogeneidad ha cambiado.

### 14.7 Interpretación de las declaraciones de la incertidumbre contra los límites

Los resultados a menudo se comparan con tolerancias o límites reglamentarios para evaluar el cumplimiento de un requisito. Al realizar tales comparaciones, es importante tener en cuenta la incertidumbre. Un debate completo está fuera del alcance de la presente Guía; se encuentra un debate más detallado de ello en las referencias [1] y [41]. Los principios básicos son:

- Decidir si la decisión requiere una prueba de conformidad, una prueba de *no* conformidad, o un enfoque de ‘riesgo compartido’, y establecer un nivel de confianza adecuado.
- Para la prueba de conformidad, el resultado y su intervalo de incertidumbre deben estar completamente dentro del rango permitido.
- Para la prueba de *no* conformidad, el resultado y su intervalo de incertidumbre deben estar completamente *fuera* del rango permitido.
- Para los enfoques de riesgo compartido, establecer un rango para los resultados de medición aceptables basado en el intervalo permitido, ajustado para proporcionar una probabilidad especificada de falsa aceptación y de falso rechazo. Las guías más recientes proporcionan detalles útiles del procedimiento [42].

A efectos reglamentarios, es importante consultar las regulaciones específicas aplicables, ya que ninguna orientación general puede abarcar actualmente todos los casos. Por ejemplo, generalmente se considera arriesgado ‘aceptar’ material que no se ha demostrado conforme, empleando un enfoque de declaración de conformidad. Sin embargo, el enjuiciamiento penal en la mayoría de los países requiere pruebas claras del *incumplimiento* y en estas circunstancias (ej.: delitos por alcohol en sangre) es una práctica habitual buscar pruebas de incumplimiento con altos niveles de confianza.

## 15 Coste de la estimación de la incertidumbre del muestreo

**15.1** Parece lógico considerar que el presupuesto total para la validación y control de calidad del muestreo deben evaluarse junto con los costes que se derivarán de decisiones erróneas basadas en estimaciones inadecuadas de incertidumbre. Se asume que la estimación de la incertidumbre de ejecución aumentará los costes globales de medición. La aplicación del método de duplicados, por ejemplo, puede aumentar el coste del muestreo hasta en un 10 %, y el análisis en un 30%, es decir, se requieren tres análisis adicionales para aplicar el diseño equilibrado al 10% de los objetos de estudio del muestreo. Este aumento del coste puede ser justificado, sin embargo, por la información adicional obtenida y la reducción de las pérdidas potenciales por decisiones incorrectas que podrían haberse tomado sin tener conocimiento de la incertidumbre (Sección 16).

Nota: Se puede realizar un diseño experimental económico más sesgado, en el que sólo se analiza dos veces una de las muestras duplicadas, si se realiza un tratamiento estadístico adecuado (Apéndice D, [20]).

**15.2** Es más difícil evaluar los costes generales para los otros métodos de estimación de incertidumbre. Los ensayos de muestreo entre organizaciones requieren los gastos de al menos ocho participantes diferentes (para obtener una fiabilidad aceptable [17]), y, por lo tanto, es probable que sean significativamente más altos que los del método duplicado. Los métodos de modelado requerirán información detallada sobre el material que se está muestreando. Para algunos materiales que son relativamente consistentes en muchos lotes, estos valores pueden ser generalmente aplicables y, por lo tanto, hacer que este enfoque sea más rentable que los métodos empíricos que toman un mayor número de mediciones adicionales en cada lote. Por lo tanto, este debate debe incluir en qué medida se estima el valor de incertidumbre para una combinación de protocolo/material determinada mediante una validación preliminar y cuánto se supervisa y/o actualiza continuamente el valor mediante un esquema de control de calidad de muestreo en curso (Sección 1). Parece lógico considerar que el presupuesto total para la validación y control de calidad del muestreo deben evaluarse junto con los costes que se derivarán de decisiones erróneas basadas en estimaciones inadecuadas de incertidumbre.

## 16 Evaluar la adecuación al uso de las mediciones utilizando la incertidumbre

**16.1** Una comprensión adecuada de la incertidumbre a partir del muestreo debe integrarse en la perspectiva más amplia de la adecuación al uso. Se han sugerido tres enfoques para establecer criterios para la adecuación al uso. El primer enfoque consiste en establecer un límite en el valor máximo de incertidumbre (es decir, **incertidumbre diana**) [43, 44] que se considera aceptable. Este enfoque se ha aplicado ampliamente en el sector analítico, donde se ha aplicado una incertidumbre relativa objetivo (ej.: 10%). El problema con este enfoque es que no se relaciona necesariamente con el uso previsto para el que el usuario requiere la medición.

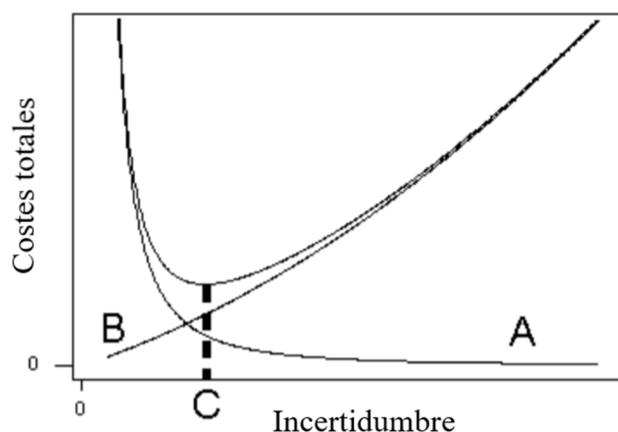
**16.2** El segundo enfoque consiste en comparar la varianza generada por la medición (muestreo y análisis) con la varianza de las mediciones entre los diferentes objetos de estudio del muestreo. Hay muchas situaciones en las que el objetivo de las mediciones es comparar las concentraciones entre diferentes objetos de estudio del muestreo, como en la exploración

minera donde el objetivo es localizar un objeto de estudio del muestreo con una concentración significativamente mayor de un elemento de interés (ej.: oro). Una aplicación de este enfoque, por ejemplo, establece el criterio de idoneidad para la adecuación al uso que la varianza de medida no contribuya más del 20 % a la varianza total (definida en la Ecuación 2) [45].

**16.3** El tercer enfoque, y más generalmente aplicable, para juzgar la idoneidad para fines de medición, es considerar el efecto de la medición en su propósito final. Todas las mediciones analíticas se llevan a cabo para apoyar una decisión. Una decisión puede ser correcta o incorrecta. Una decisión incorrecta implica costos adicionales, y tomar una decisión incorrecta es más probable si la incertidumbre es mayor. Considere, por ejemplo, la fabricación de un material contra una especificación de un nivel máximo aceptable de impureza.<sup>g</sup> Cada lote de material se analiza para determinar el nivel de impureza. Un resultado ‘falso positivo’ tiene como consecuencia que el lote de material se desecha o se reelabora innecesariamente para reducir el nivel aparentemente inaceptable de impureza. Un resultado ‘falso negativo’ significa que un lote defectuoso se libera al cliente, una situación que puede requerir una compensación financiera. Ambas situaciones son más propensas a ocurrir si la incertidumbre es mayor. Esto parece sugerir que la medición debe llevarse a cabo para que la incertidumbre sea la más pequeña que se pueda lograr. Sin embargo, reducir la incertidumbre de un resultado de medición requiere una rápida escalada de los costes. Una regla útil aquí es que, cuando la variación aleatoria domina la incertidumbre, el coste de una medida es inversamente proporcional al cuadrado de la incertidumbre; una reducción de la incertidumbre en un factor de 2 exige un aumento del gasto en un factor de 4.

**16.4** El verdadero coste de una decisión es la suma de los costes de medición y los costes adicionales de decisiones incorrectas. De lo anterior podemos ver que esta suma tiene un valor mínimo en algún nivel particular de incertidumbre (Figura 6), y esta incertidumbre es la definición de adecuación al uso.

**Figura6: Funciones de pérdida esquemática dependientes de la incertidumbre de medida**



La línea A muestra los costes de medición. La línea B muestra los costes de decisiones incorrectas. La suma de estas dos líneas (el coste total mostrado por la línea más alta) muestra un coste mínimo en el punto C, que es la incertidumbre que puede considerarse adecuada para su uso.

<sup>g</sup>Este concepto es igualmente aplicable a las situaciones en las que los materiales han regulado concentraciones mínimas de analito, en cuyo caso son aplicables los términos ‘falso cumplimiento’ y ‘falso incumplimiento’.

**16.5** El reparto óptimo de los recursos entre el muestreo y el análisis también es una cuestión de costes. Incluso una consideración elemental (excluyendo los costes) muestra que las incertidumbres de muestreo y análisis deben ser aproximadamente equilibradas. Por ejemplo, si las incertidumbres de muestreo y análisis son de 10 y 3 unidades respectivamente, la incertidumbre general de medición es  $\sqrt{10^2 + 3^2} = 10,4$ . La incertidumbre global apenas se ve afectada por una reducción de la incertidumbre del análisis: si se reduce a (digamos) 1 unidad, la incertidumbre global se reduce a  $\sqrt{10^2 + 1^2} = 10,05$ , un cambio intrascendente. Un enfoque más sofisticado tiene en cuenta los diferentes costes de análisis y muestreo. Si los costes unitarios de muestreo y análisis son A y B para el mismo nivel específico de incertidumbre, la relación óptima de incertidumbre de muestreo  $u_{muestreo}$  a la incertidumbre analítica  $u_{analítica}$  es dado por:

$$\frac{u_{muestreo}}{u_{analítica}} = \left(\frac{A}{B}\right)^{\frac{1}{4}}.$$

Esta proporción proporciona el gasto mínimo para una determinada incertidumbre

$\sqrt{u_{muestreo}^2 + u_{analítica}^2}$  o, alternativamente, la incertidumbre mínima para un gasto determinado [46].

Métodos para modificar la incertidumbre a partir del muestreo se tratan en el Apéndice E, aunque operar a un ‘coste total mínimo’ no siempre es alcanzable o necesario.

## 17 Implicaciones para planificar estrategias de muestreo y medición

### 17.1 Experiencia y consulta

Como muestra la Sección 4, los procesos de muestreo y análisis abarcan una serie de actividades. Con frecuencia se asignan diferentes partes del proceso a diferentes empleados, que pueden tener un conocimiento muy diferente de los objetivos y, lo que es más importante, diferentes conocimientos sobre el efecto de las diferentes partes del proceso. En general, todos los involucrados tendrán un buen conocimiento de alguna parte del proceso, pero pocos son capaces de dominar el proceso completo. Por lo tanto, es importante que los responsables de planificar el muestreo involucren a químicos analíticos y técnicos de muestreo experimentados siempre que sea posible. También es prudente incluir expertos estadísticos en la mayoría de las circunstancias (véase más adelante). Los responsables de la toma de decisiones (es decir, los gerentes de empresas y los que actúan sobre los resultados de las actividades de muestreo) deben participar en la planificación de nuevas aplicaciones, y también se debe consultar a los reguladores cuando un protocolo esté destinado a apoyar la reglamentación.

Aunque los principios de esta Guía son ampliamente aplicables, la orientación estadística de expertos siempre es valiosa y debe considerarse esencial en algunas circunstancias. Estas incluyen:

- cuando las distribuciones de frecuencia observadas o esperadas no sean normales, por ejemplo, cuando los resultados contengan valores atípicos superiores al 10%, o cuando los resultados muestren distribuciones marcadamente asimétricas;

- cuando las grandes consecuencias financieras o sociales dependen de una estimación fiable de la incertidumbre;
- cuando se necesitan intervalos de confianza en las estimaciones de incertidumbre o, para planes de muestreo más complejos, sobre los resultados de la medición;
- cuando la estrategia de muestreo es más compleja que el muestreo aleatorio simple con mediciones replicadas, por ejemplo, en la implementación del muestreo estratificado.

### 17.2 Evitar el sesgo del muestreo

Los métodos descritos en esta Guía son adecuados para establecer la variabilidad del muestreo, pero solo los métodos más complejos pueden comenzar a evaluar las incertidumbres asociadas con el posible sesgo en el muestreo. Por esta razón, se debe prestar mucha atención a minimizar las posibles fuentes de sesgo. Estas incluyen un posible sesgo asociado con el muestreo diferencial debido al tamaño de partícula, a la densidad o a la velocidad de flujo; sesgo en la selección de puntos de muestreo; el efecto de diferentes equipos de muestreo, etc. Debe buscarse experiencia específica en metodología de muestreo, a menos que se pueda demostrar que estos factores están adecuadamente controlados o están completamente especificados por un protocolo de muestreo establecido.

### 17.3 Planificación de la estimación de la incertidumbre

Los ejercicios de muestreo siempre deben prever al menos algunas muestras y mediciones replicadas para evaluar la incertidumbre de los resultados.

### 17.4 Criterios de adecuación al uso

Lo ideal es que la planificación comience por establecer criterios claros de adecuación al uso, teniendo en cuenta los costes e incertidumbres relativos del muestreo y del análisis cuando se conozcan o puedan determinarse razonablemente de antemano. La Sección 16 proporciona orientación sobre cómo se puede optimizar el esfuerzo analítico y de muestreo.

### 17.5 Uso de datos de validación previa

Las principales incertidumbres asociadas con las mediciones analíticas se estiman a menudo durante, o sobre la base de, la validación del método analítico, proceso que se lleva a cabo antes de poner en uso el método. En consecuencia, debe tenerse en cuenta si la variabilidad constatada como parte del experimento de muestreo debe sustituir, informar o simplemente servir de control, de la incertidumbre analítica de medida evaluada utilizando información previa. Al examinar esta cuestión, cabe señalar que la variabilidad observada durante una serie relativamente corta de análisis rara vez es suficiente como estimación de la incertidumbre. Los estudios a largo plazo son más fiables generalmente. Por lo general, es más seguro basarse en datos de validación previa a menos que la variación observada sea significativamente mayor.

Las incertidumbres asociadas a la variabilidad del muestreo pueden estimarse por adelantado, especialmente cuando se debe planificar y aplicar un programa de muestreo a largo plazo. En estas circunstancias, por lo general es prudente obtener una estimación inicial de la incertidumbre del muestreo. Los estudios en curso pueden entonces servir como un control de la validez continua de la estimación de la incertidumbre, por ejemplo, aplicando los principios internos de control de calidad como se discute en la Sección 13.

### 17.6 Aceptación de la incertidumbre de muestreo

Antes de informar los resultados de las mediciones, debe evaluarse si son aceptables y de acuerdo con los objetivos de calidad establecidos para la incertidumbre global y su componente de muestreo, probablemente basados en algún criterio de adecuación al uso, antes de la realización de las medidas.

### 17.7 Estimación de incertidumbre para mediciones on-site e *in situ*

Se ha demostrado que el ‘método duplicado’ de estimación de la incertidumbre empírica puede aplicarse a las mediciones que se realizan tanto on-site [47] como *in situ* [48] (es decir, sin eliminar una porción de prueba). Es aplicable a las mediciones *in situ* realizadas tanto a escala macro (cm) como a la microescala ( $\mu\text{m}$ ) [49]. Sin embargo, todavía hay algunas preguntas pendientes para las mediciones *in situ*. Por ejemplo, en el caso de los suelos, no está claro si se debe esperar que las mediciones *in situ* y las correspondientes basadas en laboratorio sean comparables, cuando una porción de ensayo para la medición de laboratorio (on-site) puede haber sido secada, tamizada o alterada de otro modo. Este tratamiento puede afectar claramente al aparente ‘sesgo’ entre las mediciones basadas en laboratorio e *in situ*, y a su vez afecta a la evaluación de la incertidumbre. Se plantea una cuestión similar para la aplicación específica a las mediciones *in situ* de la radiactividad, donde las mediciones de laboratorio se realizan generalmente en una porción de muestra mucho más pequeña que la evaluada mediante la medición *in situ* de los rayos gamma, por ejemplo [50].

## Apéndice A: Ejemplos

### Introducción

La forma más efectiva de explicar las metodologías descritas en el texto principal de esta Guía es mostrar ejemplos de trabajo. Estos ejemplos no pretenden abarcar todas las circunstancias, sino mostrar cómo los principios generales pueden aplicarse a una variedad de situaciones en una variedad de sectores diferentes. Estos incluyen alimentos (producción y venta al por menor), alimentos para animales y medio ambiente (suelo y agua). Todos los ejemplos están estructurados utilizando el mismo formato básico, con el fin de ayudar a la comprensión y la comparabilidad.

**Nota:** Para permitir que los cálculos sean comprobados, estos ejemplos muestran más dígitos de los que normalmente se reportarían para la incertidumbre de medida. En la práctica, rara vez es útil utilizar más de dos cifras significativas al informar la incertidumbre de medida. ([1], para 9.5.1).

**Ejemplo A1: Nitrato en lechuga cultivada en invernadero**

Medida				Estimación de la incertidumbre		
Analito/ Técnica	Unidad <sup>1</sup>	Sector/ Matriz	Muestra(s)	Objetivo	Diseño	Estadística
Nitrato/Extracción con agua caliente y determinación mediante HPLC	mg kg <sup>-1</sup> tal cual se recibe	Alimentación/ Lechuga	1 área de cultivo de lechuga Iceberg cultivada en invernadero	Incertidumbre de medida global, de muestreo y análisis	Empírico - método duplicado	ANOVA robusto sobre los valores de concentración

**1 Alcance**

Estimar la incertidumbre de medida, y las contribuciones del muestreo y del análisis, para el seguimiento de rutina de la lechuga cultivada en invernadero, utilizando un protocolo de muestreo estándar.

**2 Escenario y objeto de estudio del muestreo**

El nitrato es esencial para la salud vegetal; sin embargo, provoca inquietud para la salud humana asociada con la alimentación de niveles elevados de nitrato. Las concentraciones de nitrato en lechuga se supervisan regularmente de acuerdo con los requisitos de la UE. Se realizan estimaciones de concentración para cada 'área de cultivo' de hasta 20.000 cogollos de lechuga, y el resultado de cada área de cultivo se utiliza individualmente para evaluar la conformidad con el Reglamento pertinente. En consecuencia, cada área de cultivo se considera una muestra, en lugar de los cogollos de lechuga individuales. Es deseable una estimación de la incertidumbre de medida para realizar una comparación fiable de las concentraciones de nitrato medidas con respecto al umbral reglamentario europeo [51] (4500 mg kg<sup>-1</sup>).

**3 Protocolo de muestreo**

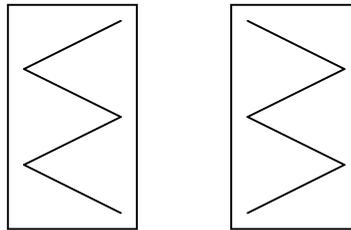
El protocolo aceptado para este fin especifica que una muestra compuesta se prepara a partir de 10 cogollos de lechuga (S1) recogidos de cada área de cultivo de lechuga [52]. Las lechugas se seleccionan caminando en forma de W o formando un trayecto de cinco puntos a través del área bajo investigación. Este protocolo se aplica a todas las áreas de cultivo independientemente del tamaño. Las muestras fueron tomadas por la mañana y transportadas al laboratorio contratado en cajas refrigeradas con hielo para su recepción en las 24 horas siguientes al muestreo.

**4 Diseño del estudio – método duplicado (Sección 9.4.2)**

Se seleccionaron un mínimo de ocho áreas de cultivo para su inclusión en el protocolo de estimación de incertidumbre. Para cada una de ellas se tomó una segunda muestra de 10 cogollos (S2) además de la muestra de rutina (S1). Esta muestra duplicada se tomó de una manera que representaba la variación que podría ocurrir debido a las ambigüedades en el

protocolo de muestreo, por ejemplo, el posicionamiento del origen del diseño W y su orientación.

**Figura A1.1: Ejemplo del 'método duplicado'**



Ejemplo de cómo se puede aplicar el método duplicado. Utilizando el diseño W como ejemplo, el protocolo estipula el diseño, pero no la posición u orientación. La 'W' es igualmente probable que comience a la izquierda o a la derecha. Diez cabezas se toman a lo largo de la línea de la W para crear una muestra compuesta para un área de cultivo.

---

## **5 Muestreo y análisis en el laboratorio**

Las muestras primarias se congelaron al recibirlas en el laboratorio. Una lechuga (incremento) de cada muestra de 10 cogollos se cortó en cuatro cuartos iguales y dos de estos fueron reservados. Esto se repitió para cada uno de los 10 incrementos de la muestra. Los 20 cuartos resultantes se colocaron en un procesador Hobart y se maceraron para procesar una muestra compuesta. Se tomaron dos porciones a ensayo (10 g). Cada porción a ensayo se extrajo con agua caliente y se determinó la concentración de nitrato por HPLC (detector ultravioleta). Las muestras de control de calidad (recuperación sobre muestra adicionada) se analizaron simultáneamente con las muestras reales. No se pudo detectar ningún sesgo analítico significativo, por lo que la corrección de sesgos se consideró innecesaria para los datos resultantes. Los valores de medición originales utilizados para la estimación de la incertidumbre tenían un redondeo adecuado, no existiendo valores inferiores a cero o al límite de detección.

## **6 Resultados**

Las mejores estimaciones de la concentración de nitrato en cada una de las ocho áreas objeto de estudio del muestreo se muestran en la Tabla A1.1.

Antes de aplicar métodos estadísticos es útil inspeccionar los datos para determinar los niveles generales de variabilidad. Los duplicados analíticos (ej.: BS1A1 y BS1A2) están generalmente dentro de  $300 \text{ mg kg}^{-1}$  entre sí, lo que sugiere una precisión analítica de menos del 10%. Los duplicados de muestra (ej.: DS1 y DS2) coinciden peor, pero generalmente difieren en menos del 20%. Sin embargo, el área C muestra una diferencia mayor, lo que sugiere un valor atípico.

**Tabla A1.1: Mediciones de la concentración (mg kg<sup>-1</sup>) de nitrato en ocho muestras duplicadas. Las muestras duplicadas están etiquetadas como S1 y S2. Del mismo modo, los análisis duplicados se etiquetan como A1 y A2. Por lo tanto, DS1A2 (valor 4.754 mg kg<sup>-1</sup>) es el análisis 2, de la muestra 1 de la diana de muestreo D.**

Muestra objeto	S1A1	S1A2	S2A1	S2A2
A	3.898	4.139	4.466	4.693
B	3.910	3.993	4.201	4.126
C	5.708	5.903	4.061	3.782
D	5.028	4.754	5.450	5.416
E	4.640	4.401	4.248	4.191
F	5.182	5.023	4.662	4.839
G	3.028	3.224	3.023	2.901
H	3.966	4.283	4.131	3.788

La cuantificación del componente aleatorio de la incertidumbre de medida y dos de sus principales componentes (muestreo y análisis) se realizó mediante un análisis robusto de la varianza (RANOVA [53], Apéndice C3, como se muestra en la figura A1.2. Se empleó el ANOVA robusto, ya que los valores de las áreas que resultaron aberrantes, en este entorno relativamente bien controlado, eran más probablemente valores anómalos que no un reflejo de problemas estadísticos de las poblaciones subyacentes de cada área.

Nota: No se deben utilizar métodos robustos cuando surjan valores aparentemente atípicos como parte de la población típica de incrementos o áreas, a menos que la implementación específica permita distribuciones no normales para parte de la estructura de error que se asume ([23, 33]).

Calculando las estimaciones robustas de estos resultados se tiene:

$$s_{muestra} = 319,05 \text{ mg kg}^{-1}$$

$$s_{análisis} = 167,94 \text{ mg kg}^{-1}$$

La ecuación 1 se puede utilizar para calcular:

$$s_{medida} = \sqrt{(s_{muestra}^2 + s_{análisis}^2)} = 360,55 \text{ mg kg}^{-1}$$

Esto se puede utilizar como una estimación del componente aleatorio de la incertidumbre estándar ( $u$ ).

La incertidumbre relativa expandida se da por la Ecuación 4 (página 20) como:

$$U_{medida}' = 2 * 100 * 360,55 / 4.408 = 16,4\% \text{ (del valor de concentración)}$$

**Figura A1.2: Resultado del ANOVA Clásico y Robusto sobre los datos de la Tabla A1.1**

RESULTADOS DE ANOVA CLÁSICO				
Media = 4.345,5625				
Desviación Estándar (Total) = 774,5296				
Suma de Cuadrados = 12.577.113    4.471.511    351.320				
	Entre-muestras	Muestreo	Análisis	
Desviación Estándar	556,2804	518,16089	148,18063	
Variación Porcentual	51,583582	44,756204	3,6602174	
RESULTADOS DE ANOVA ROBUSTO:				
Media = 4.408,3237				
Desviación Estándar (Total) = 670,57617				
	Entre-muestras	Muestreo	Análisis	Medidas
Desviación Estándar	565,39868	319,04834	167,94308	360,5506
Variación Porcentual	71,090791	22,636889	6,2723172	28,909209
Incertidumbre relativa	–	14,474814	7,6193626	16,357719
(% al 95% confianza)				

Resultados de ANOVA para los datos producidos a partir de un diseño experimental equilibrado ( $n = 8$ , Tabla A1.1). Tanto las estimaciones robustas como las clásicas se proporcionan para su comparación. Las estimaciones de desviación estándar se calculan para ‘entre-objetos de estudio de muestreo’ (*Sentre-objetos de estudio*), ‘dentro-objetos de estudio de muestreo’ (*Sobjetos de estudio*) y dentro del análisis químico (*Sanálisis*). Los resultados se encuentran en las mismas unidades de concentración que los datos de entrada (es decir,  $\text{mg kg}^{-1}$  en este caso).

Sólo para el muestreo, la incertidumbre relativa expandida (componente aleatorio) se da de manera similar por:

$$U_{\text{muestra}}' = 2 * 100 * 319,05 / 4.408 = 14,5\%$$

Para su comparación, la incertidumbre expandida para la contribución analítica (componente aleatoria) se da por:

$$U_{\text{analítica}}' = 2 * 100 * 167,94 / 4.408 = 7,6\%$$

Este valor es menor que los límites normales establecidos en el control de calidad analítico interno (ej.: 10%).

Las estimaciones de recuperación analítica no fueron estadísticamente diferentes de una recuperación del 100% (es decir, no se detectó ningún sesgo analítico). En este ejemplo, por lo tanto, no se hizo ninguna contribución adicional para la incertidumbre asociada al sesgo analítico.

## 7 Comentarios

Esta estimación de incertidumbre no incluye ninguna estimación del posible sesgo de muestreo.

## 8 Evaluación de la idoneidad para la adecuación al uso de estas mediciones

El criterio de adecuación al uso utilizado inicialmente es el basado en el porcentaje de varianza total (sección 16.2). Cuando se utiliza RANOVA, el programa calcula cuánto contribuye la varianza entre-área, dentro-área (o muestreo) y analítica (como porcentaje) a la varianza total (Figura A1.2). Para este estudio de nitrato en lechuga la contribución máxima a la varianza total es de la variabilidad entre-área (71,1%). Combinando el muestreo (22,6%) y contribuciones analíticas (6,3%) está claro que el proceso de medición combinado contribuye con el 28,9% de la varianza total. Esto es ligeramente mayor que el ideal del 20%. De esta varianza de medida, el muestreo es el factor dominante, responsable del 78,2% de la varianza del proceso de medición.

La adecuación al uso también puede evaluarse utilizando la metodología de incertidumbre optimizada (OU). Este método aborda la evaluación de la adecuación al uso con consideraciones financieras (Sección 16.3) [54]. En este caso se puede demostrar que se requiere un aumento desde 10 cogollos hasta 40 cogollos en la muestra compuesta para lograr la adecuación al uso (Apéndice E, y [55]).

## 9 Informes e interpretación

Para cada área de cultivo de lechuga (objeto de estudio del muestreo), la concentración de nitrato de la muestra compuesta de 10 cogollos se compara con el valor umbral (4.500 mg kg<sup>-1</sup>). Cada concentración de nitrato debe informarse con la incertidumbre de medida (16,4% del valor medido) Tabla A1.2. La interpretación de si cada lote supera un valor umbral, basado en su medición y la incertidumbre asociada, depende de la redacción del reglamento apropiado [42].

## 10 Resumen

Incertidumbre de medida		
Muestreo	Análisis	Total
14,5%	7,6%	16,4%

**Table A1.2 Informe de la concentración de nitrato para cada lote con sus incertidumbres de medida**

Objeto de muestreo	S1A1	Incertidumbre Expandida
A	3.898	639,3
B	3.910	641,2
C	5.708	936,1
D	5.028	824,6
E	4.640	761,0
F	5.182	849,8
G	3.028	496,6
H	3.966	650,4

Las concentraciones de nitrato asociadas con S1A1 (muestra de rutina) se muestran con la incertidumbre de medida asociada (calculada a partir de  $U = 16,4\%$ ). Por ejemplo, la Muestra F tiene un valor de la medida (o valor verdadero) entre  $4.332 \text{ mg kg}^{-1}$  y  $6.032 \text{ mg kg}^{-1}$ .

## Ejemplo A2: Plomo en suelo superficial contaminado

Media				Estimación de la incertidumbre		
Analito/ Técnica	Unidad	Sector/Matriz	Muestra(s)	Objetivo	Diseño	Estadística
Plomo total /ICP-AES	mg kg <sup>-1</sup> base seca	Ambiental/ Suelo superficial	100 medidas – cada área 30 m x 30 m, con una profundidad de 0–150 mm	Incertidumbre – medidas totales, muestreo y análisis.  Factor de incertidumbre	Empírico - método duplicado	ANOVA robusta en valores de concentración  & ANOVA clásica después de la transformación logarítmica

### 1 Alcance

Estimar la incertidumbre de medida y las contribuciones del muestreo y el análisis, en cada una de las 100 muestras diferentes dentro de un emplazamiento, utilizando un protocolo de muestreo común.

### 2 Escenario y objeto de estudio del muestreo

Se realizó una investigación de un emplazamiento de 9 hectáreas, como parte de la evaluación del terreno para el desarrollo potencial de viviendas [56]. El analito más importante para la evaluación del riesgo para la salud humana fue el plomo. Con el fin de comparar la concentración de plomo en el suelo con el límite del umbral reglamentario nacional (450 mg kg<sup>-1</sup>), se necesitó una estimación de la concentración de plomo y la incertidumbre de medida para cada una de las 100 muestras.

### 3 Protocolo de muestreo

Se tomaron cien muestras de suelo superficial (profundidad nominal de 0 a 150 mm) con una barrena de mano (diámetro de 25 mm) en 100 ubicaciones. Estas ubicaciones se distribuyeron en una rejilla regular con un espaciado de muestra de 30 m (Tabla A2.1) y, por lo tanto, cada una de ellas pretende representar un área de 30 m por 30 m. La prospección se realizó con cinta métrica y brújula.

### 4 Diseño del estudio – método duplicado (Sección 9.4.2)

Se muestrearon por duplicado diez de las muestras (ej.: 10 del número total), en lugares seleccionados aleatoriamente, utilizando el diseño balanceado (Figura 2). Las muestras duplicadas se tomaron a una distancia de 3 m de la muestra original, en dirección aleatoria. El objetivo es reflejar la ambigüedad en el protocolo de muestreo, la incertidumbre en la localización de la muestra (ej.: el error de sondeo) y también el efecto de la heterogeneidad a

pequeña escala sobre la concentración medida dentro de la muestra especificada. Se seleccionaron seis materiales de referencia certificados por suelo (MRC) para su análisis a fin de estimar el sesgo analítico en un rango de concentración.

## **5 Muestreo y análisis en el laboratorio**

Las muestras primarias se secaron al horno durante la noche a 60 °C, se desagregaron y tamizaron para eliminar partículas con un tamaño de grano natural superior a 2 mm (basado en la definición de suelo). Las muestras tamizadas (<2 mm) fueron todas molidas (95% < 100 µm) y mezcladas. Se tomaron porciones de ensayo de 0,25 g para su disolución con ácidos nítrico y perclórico, antes de la determinación del plomo por ICP-AES [57]. Las mediciones estaban sujetas a un control de calidad analítico completo (AQC) y se corrigieron para las concentraciones de las muestras a partir de los blancos de reactivos cuyos valores eran estadísticamente diferentes de cero. Los valores de medición originales utilizados para la estimación de la incertidumbre tenían un redondeo adecuado, no existiendo valores inferiores a cero o al límite de detección.

## **6 Resultados**

### **6.1 Estimación inicial de la incertidumbre relativa**

Las mejores estimaciones de la concentración de plomo en cada una de las 100 ubicaciones de muestreo se muestran bajo formato de mapa (Tabla A2.1).

Para la estimación de la incertidumbre se utilizaron cuatro mediciones del diseño equilibrado para cada uno de las 10 muestras seleccionados para la duplicación (Tabla A2.2). La inspección visual de los datos permite una evaluación cualitativa inicial de la importancia relativa de las dos fuentes de incertidumbre de medida. El bajo nivel de concordancia entre los valores de concentración de algunos de los duplicados de la muestra indica un alto nivel de incertidumbre en el muestreo (ej.: S1 comparado con S2 para la muestra 'D 9'). Sin embargo, la concordancia entre los duplicados analíticos (A1 y A2) suele ser mucho mejor para la mayoría de las muestras (< 10% de diferencia) que entre los duplicados de las muestras.

La inspección visual del histograma de los valores medidos de concentración de plomo en todo el sitio (Fig A2.1a) sugiere que la distribución de frecuencia está sesgada positivamente. Este sesgo se puede eliminar en gran medida mediante la toma de los logaritmos naturales de estos valores de medición, lo que resulta en una distribución que es aproximadamente normal (Fig A2.1b).

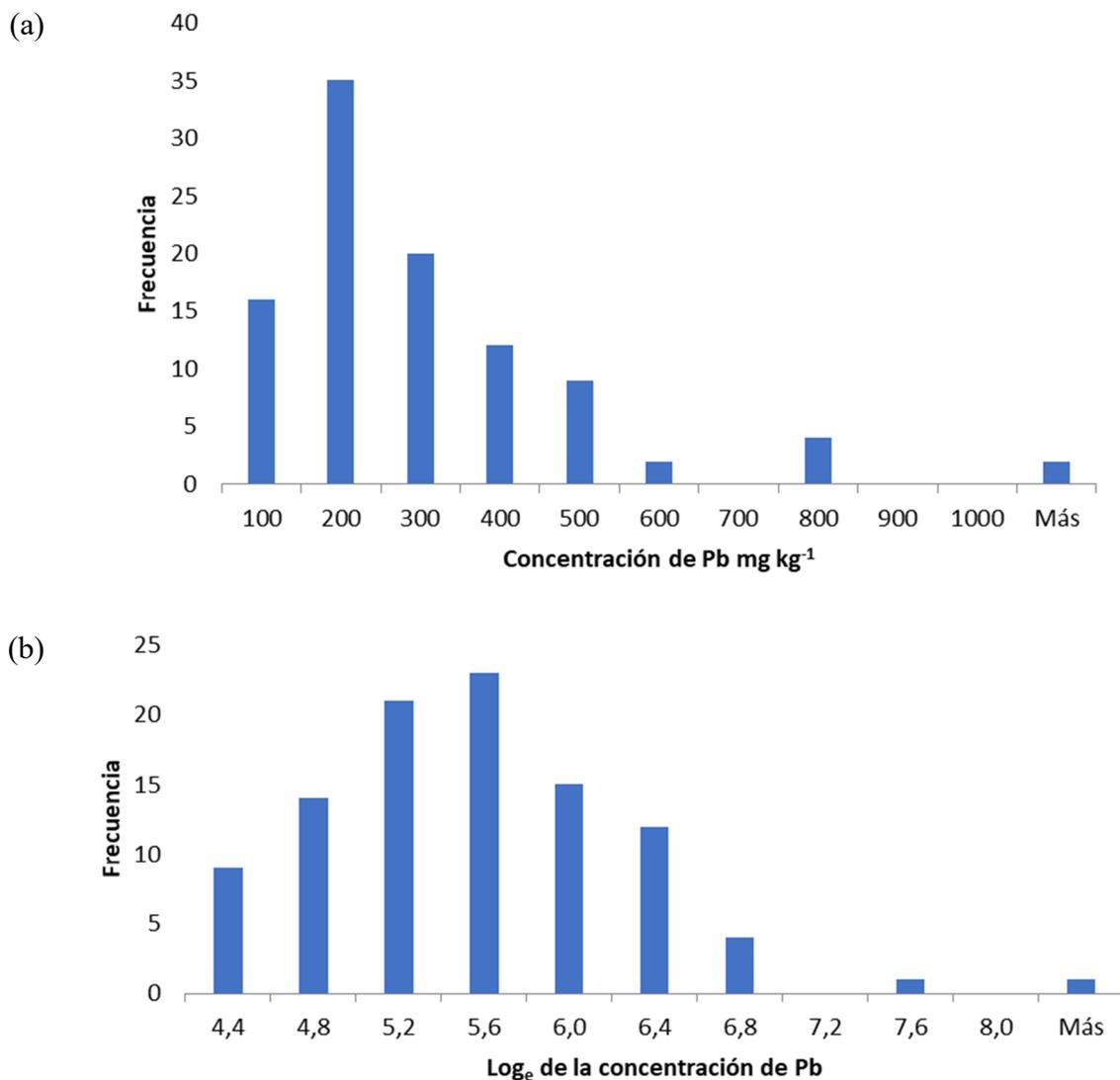
**Table A2.1: Concentraciones de plomo medidas en cada muestra de la rejilla de muestreo ( $\text{mg kg}^{-1}$ ), mostradas por las coordenadas reales utilizadas en la rejilla de muestreo regular (separación de 30 m) [56]. Muestran un alto grado de variabilidad entre ubicaciones de aproximadamente un factor de 10. La variabilidad dentro de 10 de estos lugares seleccionados al azar (es decir, A4, B7, C1, D9, E8, F7, G7, H5, I9 y J5) fue utilizada para la estimación de la incertidumbre a partir del muestreo (Tabla A2.2). Esta variación dentro de las muestras es sustancial (por ejemplo, un factor de 2) pero sustancialmente menor que la variabilidad entre las muestras.**

Fila	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
1	474	287	250	338	212	458	713	125	77	168
2	378	3590	260	152	197	711	165	69	206	126
3	327	197	240	159	327	264	105	137	131	102
4	787	207	197	87	254	1840	78	102	71	107
5	395	165	188	344	314	302	284	89	87	83
6	453	371	155	462	258	245	237	173	152	83
7	72	470	194	82,5	162	441	199	326	290	164
8	71	101	108	521	218	327	540	132	258	246
9	72	188	104	463	482	228	135	285	181	146
10	89	366	495	779	60	206	56	135	137	149

**Tabla A2.2: Mediciones de la concentración ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) de un plomo en 10 muestras duplicadas del total de 100 muestras en un estudio de suelo contaminado (Tabla A2.1) [56]. Las muestras duplicadas se etiquetan como S1 y S2. Asimismo, los análisis duplicados se etiquetan como A1 y A2. Por lo tanto, D9S1A2 (valor  $702 \text{ mg kg}^{-1}$ ) es el análisis 2, a partir de la muestra 1 del objeto de estudio del muestreo D9. Los valores mostrados se redondean para mayor claridad y se utilizan para cálculos posteriores, pero generalmente los valores no redondeados son preferibles para estos cálculos.**

Muestras	S1A1	S1A2	S2A1	S2A2
A4	787	769	811	780
B7	338	327	651	563
C1	289	297	211	204
D9	662	702	238	246
E8	229	215	208	218
F7	346	374	525	520
G7	324	321	77	73
H5	56	61	116	120
I9	189	189	176	168
J5	61	61	91	119

**Fig A2.1 Histogramas de la concentración de Pb (en mg kg<sup>-1</sup>) medidos en 100 muestras de suelo mostradas en (a) la escala lineal original (b) después de tomar logaritmos naturales.**



Utilizando los valores de medición originales no transformados (Tabla A2.2), el componente aleatorio de la incertidumbre de medida y dos de sus componentes principales (muestreo y análisis) pueden cuantificarse mediante un análisis robusto de la varianza (utilizando, por ejemplo, el programa RANOVA2 [53]). Las estadísticas robustas asumen una distribución normal subyacente, pero se adaptan a los valores atípicos que son evidentes en estos datos (ej.: muestra A4, duplicado de muestra D9S1/S2, duplicado analítico B7S2A1/A2), y en la mayoría de conjuntos de datos similares [33] (pero véase la Nota en el ejemplo A1, sección 6). Las estimaciones de incertidumbre se promedian sobre las 10 muestras, suponiendo que la incertidumbre no va a variar significativamente sobre este rango de concentración. La incertidumbre se expresa en términos relativos para que sea aplicable en este rango de concentración (Sección 14.3).

Calculando las estimaciones robustas de estos resultados (Fig. A2.2) se tiene:

$$s_{\text{muestreo}} = 123,8 \text{ mg kg}^{-1}$$

$$s_{\text{análisis}} = 11,1 \text{ mg kg}^{-1}$$

La ecuación 1 se puede utilizar para calcular:

$$s_{\text{medida}} = \sqrt{(s_{\text{muestreo}}^2 + s_{\text{análisis}}^2)} = 124,3 \text{ mg kg}^{-1}$$

Esto se puede utilizar como una estimación del componente aleatorio de la incertidumbre estándar ( $u$ ).

La incertidumbre expandida relativa la da la Ecuación 4 (página 20), con un factor de cobertura de 2 como:

$$U_{\text{medida}}' = 2 * 100 * 124,3 / 297,3 = 83,63\% \text{ (del valor de concentración)}$$

Para el muestreo solamente, la incertidumbre expandida relativa (componente aleatorio) viene dada igualmente por:

$$U_{\text{muestreo}}' = 2 * 100 * 123,8 / 297,3 = 83,29\%$$

Para su comparación, la incertidumbre expandida para la contribución analítica (componente aleatorio) viene dada por

$$U_{\text{analítica}}' = 2 * 100 * 11,1 / 297,3 = 7,5\%$$

Este valor es inferior a los límites típicos establecidos en el control de calidad analítico interno (ej.: 10%)

## 6.2 Transformación logarítmica de valores y el factor de incertidumbre

La segunda manera de estimar la incertidumbre es transformar en logaritmos los valores de medición (Tabla A2.2), generalmente usando el logaritmo natural (abreviado  $\ln$  o  $\log_e$ ), asumiendo que son distribuciones logarítmicas normales. El histograma (Fig A2.1) muestra que la variabilidad entre-áreas es logaritmo-normal, pero necesitamos evaluar en detalle la distribución de frecuencia de la variabilidad de muestreo dentro de cada área. Con solo diez duplicados de muestra en este ejemplo, no es posible caracterizar completamente esta distribución de muestreo. Sin embargo, la relación inusualmente grande de las medias de las medidas en los duplicados de la muestra para dos objetos de estudio (4,3 para G7, y 2,8 para D9), sugiere un sesgo positivo asociado con una distribución logarítmica normal para la variabilidad del muestreo, similar a la de la variabilidad entre-áreas (Fig A2.1). Además, ambos tipos de variabilidad están controlados en gran medida por la heterogeneidad del analito, que se ha demostrado que a menudo es de una forma similar de distribución de frecuencias en una amplia gama de escalas espaciales [58].

**Figura A2.2: El resultado de RANOVA2 para los datos obtenidos a partir de un diseño experimental equilibrado aplicado a los valores de medición originales ( $n = 10$ , Tabla A2.2). Muestra las estimaciones clásicas y robustas de la media y las varianzas de las contribuciones, mostradas en el modelo estadístico (Ecuaciones 1 & 2), expresadas como desviaciones estándar. El resultado también muestra el factor de incertidumbre ampliado calculado a partir de los valores transformados por  $\log_e$  (en la octava línea), discutidos en la Sección 6.2 a continuación.**

### ANOVA Clásica

Media	<b>317,8</b>	No. Muestras		<b>10</b>
Total Sdev	<b>240,19</b>			
	<u>Entre-Áreas</u>	<u>Muestreo</u>	<u>Análisis</u>	<u>Medida</u>
Desviación estándar	<b>197,55</b>	<b>135,43</b>	<b>17,99</b>	<b>136,62</b>
% de la varianza total	<b>67,65</b>	<b>31,79</b>	<b>0,56</b>	<b>32,35</b>
Incertidumbre expandida relativa (95%)		<b>85,23</b>	<b>11,32</b>	<b>85,98</b>
Factor de Incertidumbre (95%)	<b>2,6032</b>		<b>1,12</b>	<b>2,6207</b>

### ANOVA Robusta

Media	<b>297,31</b>			
Total Sdev	<b>218,49</b>			
	<u>Entre-Áreas</u>	<u>Muestreo</u>	<u>Análisis</u>	<u>Medida</u>
Desviación estándar	<b>179,67</b>	<b>123,81</b>	<b>11,144</b>	<b>124,31</b>
% de la varianza total	<b>67,63</b>	<b>32,11</b>	<b>0,26</b>	<b>32,37</b>
Incertidumbre expandida relativa (95%)		<b>83,29</b>	<b>7,50</b>	<b>83,63</b>

Tanto las estimaciones robustas como las clásicas se dan para comparación. Las estimaciones de desviación estándar se calculan para el análisis 'entre áreas' ( $s_{entre-áreas}$ ), 'dentro del muestra' ( $s_{muestreo}$ ) y dentro del análisis químico ( $s_{analítico}$ ). Los resultados se encuentran en las mismas unidades de concentración que los datos de entrada (es decir,  $\text{mg kg}^{-1}$  en este caso), excepto por el porcentaje de varianza total, la incertidumbre expandida relativa y el factor de incertidumbre expandida ( $^FU$ ).

Los valores que se calculan aplicando ANOVA clásico a los valores transformados en logaritmos neperianos ( $\log_e$ ) se indican en la Tabla A2.3. El valor medio en escala logarítmica (5,478), da la media geométrica ( $239,4 \text{ mg/kg} = e^{5,478}$ ). La desviación estándar de la medida de los valores  $\log_e$ -transformados ( $s_{G,medida} = 0,4817$ ) se puede utilizar para calcular el factor de incertidumbre expandido ( $2,6207 = e^{2*0,4817}$ ) mediante la Ecuación 5.

$$^FU = \exp(2s_G) \quad \text{Ecuación 5}$$

(repetida a partir de la Sección 9.5.3)

Este cálculo también se puede realizar automáticamente mediante un programa ANOVA que registra y transforma en logaritmos los valores de medición originales que son los datos de entrada (resultado en la Fig.A2.2, línea 8) [53].

**Table A2.3. Resultado de ANOVA clásico cuando se aplica a los logaritmos naturales de cada uno de los valores de concentración medidos en la Tabla A2.2.**

Media	<b>5,478</b>			
Total Sdev	<b>0,82337</b>			
	<u>Entre-Áreas</u>	<u>Muestreo</u>	<u>Análisis</u>	<u>Medida</u>
Desviación estandar	<b>0,66775</b>	<b>0,4784</b>	<b>0,0567</b>	<b>0,4817</b>
% de la varianza total	<b>65,77</b>	<b>33,76</b>	<b>0,47</b>	<b>34,23</b>

Para este ejemplo, el valor de  $^F U_{medida}$  es 2,62. En este factor de incertidumbre predomina la contribución del muestreo,  $^F U_{muestreo}$ , que es 2,60. Este componente se muestra directamente en el resultado de ANOVA (Fig. 2.2, línea 8). También se puede calcular directamente como 2,6034 ( $= e^{2 \cdot 0,4784}$ ) colocando el valor de  $S_{G,muestreo}$  ( $=0,4784$ , Tabla A2.3) en la Ecuación 5.

**Tabla A2.4: Límites de confianza (LCL inferior, y UCL superior) e intervalo de confianza (IC), calculados para un valor de concentración nominal medido de 300 mg kg<sup>-1</sup>, cuando la incertidumbre de medida se expresa como incertidumbre expandida relativa ( $U'$ ), o factor de incertidumbre expandido ( $^F U$ ). El valor mucho más elevado del UCL en la aproximación del  $^F U$  refleja mejor la desviación positiva de la distribución de frecuencia subyacente (Figs A2.1)**

	Valor	LCL	Cálculo de LCL	UCL	Cálculo de UCL	IC alrededor del valor medido
Unidades		mg kg <sup>-1</sup>		mg kg <sup>-1</sup>		mg kg <sup>-1</sup>
$U'$	83,6%	49	300 - 83,6%	551	300 + 83,6%	± 251
$^F U$	2,62	115	300/2,62	784	300 x 2,62	(-185, +484)

Una manera útil de comparar estos dos enfoques para calcular y expresar la incertidumbre es comparar los límites de confianza resultantes al 95% (Tabla A2.4). Para un valor típico de concentración de plomo medido de 300 mg kg<sup>-1</sup>, la incertidumbre expandida del 83,6%, proporciona un límite de confianza inferior (LCL) de 49 mg kg<sup>-1</sup> (es decir 300 – 83,6%) y un límite de confianza superior (UCL) de 551 mg kg<sup>-1</sup> (es decir 300 + 83,6%). Esto proporciona un intervalo de confianza simétrico de ± 251 mg kg<sup>-1</sup>. Sin embargo, utilizando el método del factor de incertidumbre, el LCL es de 115 mg kg<sup>-1</sup> (es decir 300/2,62), y la UCL es de 784 mg kg<sup>-1</sup> (es decir 300×2,62). Este intervalo de confianza es claramente asimétrico alrededor del valor medido, siendo de -185 mg kg<sup>-1</sup> a + 484 mg kg<sup>-1</sup> del valor medido respectivamente. Esta desviación positiva refleja las suposiciones hechas sobre la distribución de los resultados originales de la medición (Fig A2.1a). El enfoque del factor de incertidumbre es mucho más

inclusivo de los pocos valores muy altos, con el UCL que sube hasta 784 en lugar de sólo 551 mg kg<sup>-1</sup>, y es por lo tanto más representativo de la dispersión de las mediciones originales. Además, la distribución de frecuencia de los valores de medición originales sugiere que hay más del 10% de los valores periféricos, que es el límite para la estimación fiable de la incertidumbre utilizando este ANOVA robusto particular [53]. Ambos factores sugieren que el enfoque del factor de incertidumbre es más fiable en este caso.

### 6.3 Cálculo de la incertidumbre relativa a partir del factor de incertidumbre

Aunque el factor de incertidumbre es a veces la forma más fiable de expresar la incertidumbre de la medida, también puede ser útil expresarla en términos de la incertidumbre relativa más usual. La incertidumbre relativa ( $u'$ ) se expresa generalmente como un porcentaje (Ecuación 4, página 20), pero también puede expresarse como una fracción de la unidad. Como se describe en la Sección 9.5.3, el valor fraccionario de  $u'$  puede calcularse a partir de la desviación estándar de los logaritmos naturales de los valores de medición ( $s(\ln(x)) = s_G$ ) utilizando la relación:

$$u' = \sqrt{\exp(s_G^2) - 1}$$

En este ejemplo, donde  $s_{G,medida}$  es 0,4817, esta ecuación da  $u'$  como 0,5111 (es decir 51%). Como  $u'$  es mayor que la directriz especificada del 20%, (es decir,  $u' > 0,2$ ), no puede multiplicarse por 2 para dar una incertidumbre expandida.

### 6.4 Inclusión del sesgo analítico

El sesgo analítico se estimó en -3,41% ( $\pm 1,34\%$ ) utilizando una relación de función lineal [59] establecida entre los valores medidos en los valores certificados de los seis MRC (Tabla A2.5).

Actualmente no existe consenso sobre la mejor manera de combinar los efectos aleatorios y sistemáticos en una estimación de la incertidumbre, aunque se han identificado cuatro opciones [22]. Una opción [22] es considerar el sesgo analítico estimado (ej.: -3,41%) al ser un valor típico para los participantes en un ensayo de intercomparación. Si este sesgo, y su propia incertidumbre (1,34%) a continuación, se añade al componente aleatorio de la incertidumbre (utilizando la suma de cuadrados) aumentará la varianza a la que se encontraría en un ensayo de este tipo. La lógica de este enfoque es que la incertidumbre adicional que se detecta generalmente en los ensayos de intercomparación se debe al sesgo desconocido dentro de cada organización. Cuando se puede hacer una estimación de la varianza extra causada por estos sesgos entre diferentes laboratorios, esto se puede añadir al componente aleatorio dentro de una organización. En este caso, la incertidumbre relativa estándar del análisis aumenta al 5,24% [ $= (3,75^2 + 3,41^2 + 1,34^2)^{0,5}$ ]. La incertidumbre expandida del análisis (10,48%) es entonces mayor que el valor objetivo analítico del 10%, pero también puede compararse de forma útil con una estimación independiente de la incertidumbre de la medida del análisis realizado en el laboratorio. La incertidumbre expandida para toda la medición aumenta así al 83,95% [ $= (83,29^2 + 10,48^2)^{0,5}$ ], que es prácticamente idéntica al componente puramente aleatorio del 83,63%. Utilizando el enfoque del factor de incertidumbre, la contribución del sesgo analítico sería igualmente no significativa en este ejemplo. En los casos en que no sea significativa, podría añadirse a la  $^{FU}$  utilizando métodos publicados [21].

**Tabla A2.5: Valores de concentración de plomo medidos y certificados para los MRC para la estimación del sesgo del método analítico [56]**

Nombre MRC ( $n=4$ )	Medida ( $\text{mg kg}^{-1}$ )	Desviación estándar ( $\text{mg kg}^{-1}$ )	Valor certificado ( $\text{mg kg}^{-1}$ )	$U$ del valor certificado (95% conf.)
NIST2709	19,7	3,2	18,9	0,5
NIST2710	5.352,0	138,0	5.532,0	80,0
NIST2711	1.121,4	14,7	1.162,0	31,0
BCR141	34,4	3,9	29,4	2,6
BCR142	36,2	4,6	37,8	1,9
BCR143	1.297,5	33,0	1.333,0	39,0

## 7 Comentarios

Esta estimación de la incertidumbre no tiene en cuenta ningún sesgo de muestreo no apreciado (Sección 9.4.2). Sin embargo, debido a que la heterogeneidad del objeto de estudio del muestreo predomina sobre la incertidumbre, en comparación la incertidumbre adicional introducida por el sesgo en el muestreo a menudo puede suponerse que no es significativa (como se muestra en el sesgo analítico). Cuando se requiera una mejor estimación de la incertidumbre, debido quizás a las consecuencias financieras potencialmente grandes de subestimar la incertidumbre, puede ser preferible utilizar uno de los métodos más elaborados utilizando múltiples muestreadores y/o protocolos (Tabla 5).

Si el mensurando (o valor verdadero) se hubiera definido como la concentración media de plomo en todo el emplazamiento, la incertidumbre habría tenido que incluir la contribución del error estándar en el valor medio calculado, expresado como  $s_{total}/\sqrt{n}$ . Para este ejemplo, el  $s_{total}$  es de  $403 \text{ mg kg}^{-1}$ ,  $n = 100$  (Tabla A2.1) y la incertidumbre sobre la media ( $291,9 \text{ mg kg}^{-1}$ ) es, por lo tanto, del 27,6% del valor, con un nivel de confianza del 95%. Este valor se puede calcular sin conocer la contribución individual de la incertidumbre desde el muestreo o el análisis, y en la que a menudo predomina la contribución de  $S_{\text{entre-áreas}}$ . Alternativamente, suponiendo una distribución logarítmica normal de los 100 valores de medición (Tabla A2.1), la media geométrica es  $208 \text{ mg kg}^{-1}$  y  $s_{G,total}$  en estos valores es 0,733. Este valor puede calcularse sin conocer la contribución individual de la incertidumbre del muestreo o del análisis, y en la que predomina  $S_{\text{entre-áreas}}$ . Alternativamente, suponiendo una distribución logarítmica normal de todos los 100 valores de medición (Tabla A2.1), la media geométrica es de  $208 \text{ mg kg}^{-1}$  y  $s_{G,total}$  en estos valores es de 0,733. El factor de incertidumbre  $^FU$  en la media geométrica es 1,158 (es decir,  $\exp[2s_G/\sqrt{n}]$  usando la Ecuación 5), dando un

intervalo de confianza más pequeño pero asimétrico de -13,7% a 15,8% de la media geométrica.

## 8 Evaluación de la adecuación al uso de estas mediciones

Utilizando el método de ‘porcentaje de varianza total’ (Sección 16.2), el resultado de la Figura A2.1 atribuye el porcentaje de la varianza total ([desviación estándar (total)]<sup>2</sup>) que aporta el ‘entre-áreas’, el muestreo (dentro del área) y el análisis (dentro de la muestra). En este ejemplo en particular existe claramente un predominio de la varianza ‘entre-áreas’ (67,6% de la varianza total), aunque es inferior al umbral ideal del 80% (Sección 16.2). Además, el muestreo domina (32,11% de la varianza total) sobre el análisis químico (0,26% de la varianza total) como factor que contribuye a la varianza de la medición. La varianza del muestreo (es decir, dentro del área) se identifica como la principal contribución (99,2% de incertidumbre en el proceso de medición en este caso (es decir  $100 * 32,11 / [32,11 + 0,26]$ )).

La evaluación de la idoneidad a efectos de las mediciones en la investigación de suelos contaminados utilizando el método de incertidumbre optimizado (Sección 16.3), se describe en otras referencias [60, 61].

## 9 Informes e interpretaciones

Las mediciones individuales de la concentración de plomo informadas para estas muestras deberían haber adjuntado un valor de  $^FU$  de 2,62, o un valor  $U'$  igual al 83,9% del valor de concentración. Esto se aplica a todos estos valores medidos (Tabla A2.1), que son al menos 10 veces superiores al límite de detección analítico (estimado como  $2 \text{ mg kg}^{-1}$  en este caso). En aquellos casos en que esto no es así, será necesario expresar la incertidumbre en función de la concentración [10]. Además, la incertidumbre sobre las mediciones medias tomadas en las 10 muestras en las que se tomaron muestras duplicadas (ej.: las enumeradas en la Tabla A2.2), tendrá un  $^FU$  reducido de 1,98 (es decir.  $\exp(2 * s_G / \sqrt{2})$  utilizando la Ecuación 5), o una estimación  $U'$  del 59,3% ( $= 83,9 / \sqrt{2}$ )

Conociendo el valor de la incertidumbre, también es posible realizar una interpretación probabilística del nivel de contaminación por plomo en el emplazamiento [24].

## 10 Resumen

	Incertidumbre de medida *		
	Muestreo	Analítica	Total
$^FU$	2,60	1,12	2,62
$U'$	83,3%	10,5%	83,9%

\*con factor de cobertura de 2 (es decir, 95% nivel de confianza)

## Ejemplo A3: Hierro disuelto en aguas subterráneas

Medida				Estimación de la incertidumbre		
Analito/ Técnica	Unidad	Sector/Matriz	Muestra	Propósito	Diseño	Estadísticas
Hierro disuelto/ ICP-AES	mg l <sup>-1</sup>	Medioambiente / agua subterránea	Agua subterránea próxima a un pozo seleccionado para el seguimiento en una masa de agua subterránea	Incertidumbre total	Duplicados empíricos utilizados en la validación y el control de calidad	Método de rangos en unidades absolutas

### 1 Alcance

El alcance es la determinación de la incertidumbre total de la medida de hierro disuelto en un estudio de validación del muestreo y control posterior de la incertidumbre de muestreo durante el seguimiento.

### 2 Escenario y objeto de estudio del muestreo

En la ciudad de Århus, la segunda ciudad más grande de Dinamarca, se ha establecido un programa de vigilancia operacional en una masa de agua subterránea, que constituye un importante recurso de agua de consumo, para el control de la tendencia de la calidad del agua debido al riesgo de deterioro consecuencia de la extracción intensiva de agua de consumo.

La masa de agua subterránea está mezclada, de arriba abajo del glacial, con sedimentos glaciares y arcillas y arenas del Mioceno. La geología del emplazamiento se complica con varios acuíferos locales (capa subterránea de roca permeable que contiene agua, o mezclas permeables de materiales no consolidados) y acuitardo (formación geológica de capas compuestas de arcilla o de roca no porosa que restringen el flujo de agua de un acuífero a otro). La masa de agua subterránea así identificada es de 2 km x 2 km x 10 m, comenzando a 20-30 m por debajo de la superficie. La calidad natural del agua subterránea es anaeróbica sin nitrato, con sulfato y hierro reducido, pero sin sulfuro de hidrógeno ni metano. Una de las amenazas para la masa del agua subterránea es la intrusión de oxígeno en el acuífero como resultado de la extracción de agua y la reducción asociada de la capa de nivel freático.

En la masa del agua subterránea, se habían muestreado nueve pozos para análisis químicos durante el seguimiento, y ahora están disponibles seis pozos para el muestreo. En el plan de seguimiento operativo, se estableció el objetivo de supervisar un pozo dos veces al año, fijando una probabilidad del 95% de reconocer un deterioro de la calidad del 20%. Se decidió utilizar el hierro disuelto como parámetro objetivo ya que es un indicador rápido del estado de oxidación del acuífero (disminución de la concentración de hierro con un aumento de la oxidación) y el potencial redox como evidencia de apoyo. El oxígeno, el pH, la conductividad eléctrica y el potencial redox se utilizaron como indicadores en tiempo real de la estabilidad del muestreo y el sodio, el calcio y el cloruro como parámetros generales de calidad del agua

subterránea. Sólo se tratan aquí dos de los parámetros clave, el hierro disuelto y el potencial de redox.

El cumplimiento del objetivo de seguimiento requiere una incertidumbre de medida, que incluya tanto el muestreo como el análisis, de no más del 10 % (comparación del par de medias obtenidas para las dos muestras, con un intervalo de confianza del 95 %, a dos colas) correspondiente a una incertidumbre expandida de medida del 20%. Para garantizar el cumplimiento del programa de seguimiento con el objetivo establecido, se llevó a cabo inicialmente un estudio de validación del muestreo que incluye todos los pozos disponibles y, sobre la base de los resultados de este programa, se creó un programa rutinario de control de la calidad del muestreo para su implantación en el programa de seguimiento de cada pozo seleccionado.

Las propiedades de la masa de agua subterránea se resumieron sobre la base de actividades de seguimiento anteriores (vigilancia). La Tabla A3.1 muestra un resumen de los dos parámetros clave, incluida la variabilidad en el tiempo y el espacio, así como la incertidumbre de medida (muestreo y analítica).

**Tabla A3.1: Parámetros químicos clave para nueve pozos para el monitoreo de la masa de agua subterránea**

	<b>Potencial Redox</b>	<b>Hierro disuelto</b>
	mV	mg l <sup>-1</sup>
Medida	-123	1,11
Desviación estándar relativa	27%	56%
Principal causa de incertidumbre	Impacto en el oxígeno durante el muestreo y la medición en línea	Filtración

Los datos químicos sugieren que la composición del agua subterránea es bastante uniforme en el tiempo y el espacio con respecto a los componentes principales (datos no mostrados, desviación estándar relativa 1,9-16%), mientras que la variabilidad es alta para los parámetros redox (oxígeno, potencial redox y hierro disuelto). Las principales causas de incertidumbre previstas se indican en la tabla para los dos parámetros clave y las causas se controlaron durante el muestreo.

### 3 Protocolo de muestreo

El muestreo se realizó de acuerdo con el protocolo de seguimiento de agua subterránea del Condado de Århus, con bombas en funcionamiento continuo (Grundfos MP1) fijadas en el centro del intervalo examinado de cada pozo. Las tasas de bombeo fueron de 1–2 m<sup>3</sup> h<sup>-1</sup> (purga de pozos) con una reducción del 10% justo antes del muestreo. Dos de los seis pozos eran pozos de extracción de gran diámetro equipados con bombas de alto rendimiento. Estos se bombearon con 40–60 m<sup>3</sup> h<sup>-1</sup> para purga de pozos, seguido de una reducción de la tasa de bombeo justo antes del muestreo. Durante la purga, se siguió el desarrollo de la calidad del agua con mediciones en línea de oxígeno, pH, conductividad eléctrica y potencial redox hasta

que se tomaron lecturas estables y luego se tomaron las muestras. Se rellenó un informe de campo durante el muestreo, incluyendo los rendimientos de las bombas y los tiempos de bombeo, así como las mediciones del nivel freático.

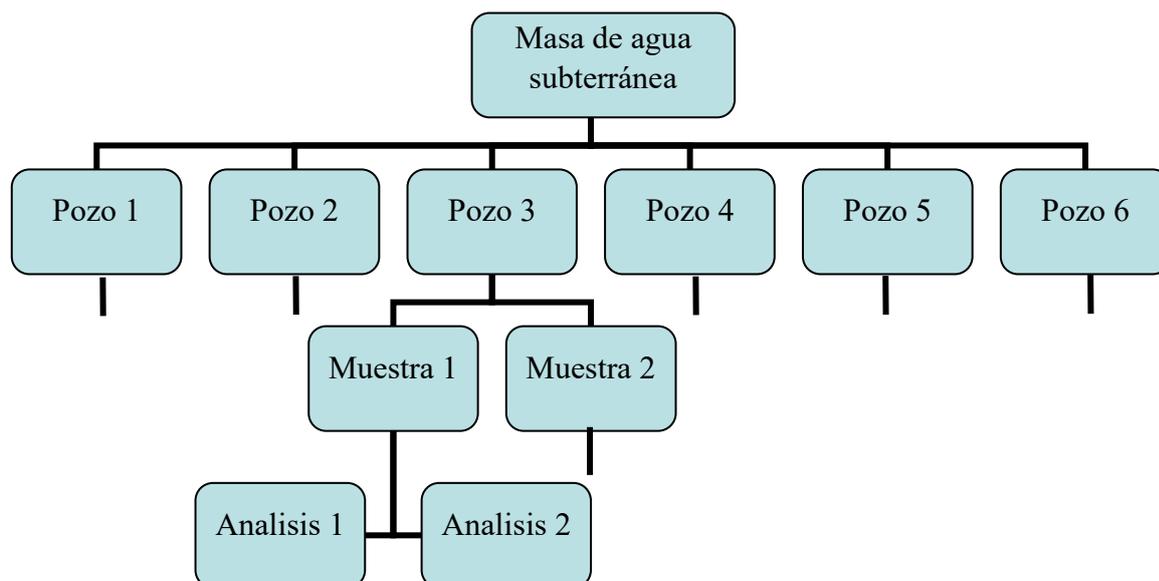
#### 4 Diseño del estudio – empírico

Se seleccionó un enfoque empírico para el diseño del estudio con el fin de proporcionar estimaciones de heterogeneidad en la masa de agua subterránea (variación entre-masa de agua pozo a pozo y a lo largo del tiempo) y la incertidumbre de medida, identificando la incertidumbre de muestreo y la incertidumbre analítica.

##### 4.1 Validación

El objetivo del programa de validación era garantizar que se pudiera obtener una incertidumbre de medida que se ajuste al objetivo de calidad establecido y describir los componentes de la incertidumbre para identificar los puntos de mejora, si fuera necesario. El programa de validación se estableció con el muestreo de seis pozos, dos muestreos independientes por pozo y dos submuestras por muestra analizada, véase la Figura A3.1.

**Figura A3.1 Esquema de diseño para la validación**



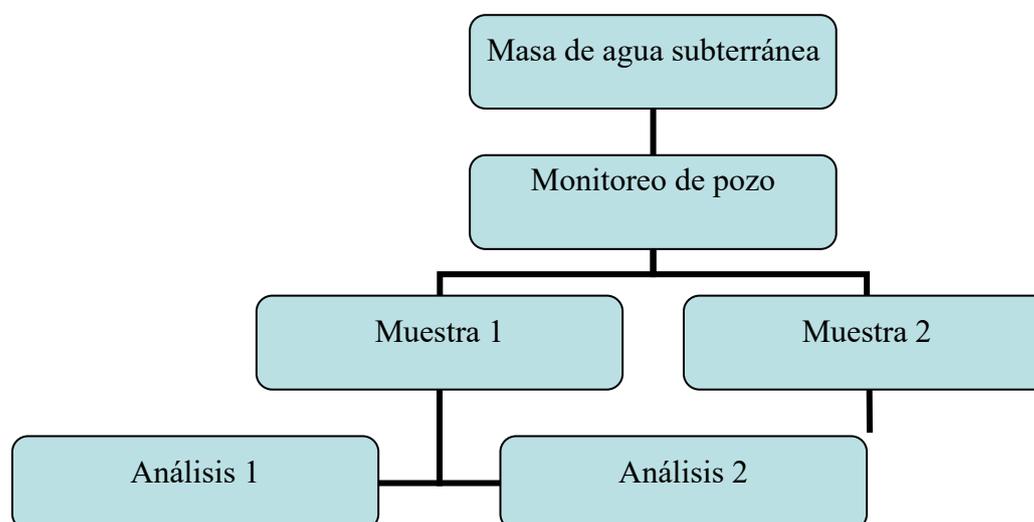
Se tomaron un total de 12 muestras y se enviaron 24 submuestras para su análisis en una ronda de muestreo como estudio de validación.

##### 4.2 Control de calidad

El objetivo del programa de control de calidad para el seguimiento operativo era garantizar que la incertidumbre de las medidas no aumentara con el tiempo durante el seguimiento. El programa de control de calidad se estableció tras una cuidadosa evaluación de los resultados del estudio de validación, y fue diseñado para incluir un muestreo duplicado, cada uno con análisis por duplicado, en una de las dos veces que se realiza el muestreo anual dentro del programa de seguimiento, ver Figura A3.2. En total, se incluyeron seis actuaciones de

muestreo con 12 muestras y 24 submuestras analizadas en la primera fase del programa de control de calidad.

**Figura A3.2 Esquema de diseño para el control de calidad, mostrado para una actuación de muestreo**



## 5 Submuestreo y análisis

El pretratamiento de la muestra y la configuración analítica para los dos parámetros clave (potencial redox y hierro disuelto) se muestran en la Tabla A3.2.

**Tabla A3.2: Pretratamiento y programa analítico**

	Potencial redox	Hierro disuelto
Pretratamiento	Analizado <i>in situ</i> on-line	Filtrado <i>in situ</i> , conservado con ácido nítrico, analizado en laboratorio

### 5.1 Submuestreo y pretratamiento de la muestra

Se realizaron mediciones duplicadas en línea/submuestras para análisis en laboratorio extrayendo flujos de muestras separados y tratando cada flujo de forma independiente. Esto significa que la "incertidumbre analítica" obtenida con el diseño duplicado también incluía el submuestreo, el pretratamiento, tales como filtrado, y el transporte. Una estimación de la incertidumbre analítica por sí sola podría obtenerse a partir de los datos de control de calidad de laboratorio, véase la Sección 5.3.

Las muestras se filtraron *in situ* excluyendo el oxígeno a través de filtros de membrana de acetato de celulosa de 0,45  $\mu\text{m}$  y se preservaron submuestras *in situ* para el análisis de metales acidulando con ácido nítrico. Las submuestras se almacenaron en recipientes de polietileno en la oscuridad por debajo de 10°C durante el transporte al laboratorio.

## 5.2 Análisis de laboratorio

Los análisis se realizaron en un laboratorio independiente y acreditado (ISO/IEC 17025) utilizando métodos acreditados sujetos al control de calidad y al control de calidad analíticos requeridos. Los métodos y los datos de desempeño del control de calidad se muestran en la Tabla A3.3.

**Tabla A3.3: Métodos y datos de desempeño del control de calidad analítico para análisis de laboratorio a niveles > 0,2 mg l<sup>-1</sup>.**

	Método	Repetibilidad <i>s<sub>r</sub></i>	Reproducibilidad dentro del laboratorio <i>SR<sub>w</sub></i>	Incertidumbre expandida	Límite de detección
Hierro	ICP-AES	0,95%	4,3%	8,6%	0,01 mg l <sup>-1</sup>

El material de referencia certificado (MRC) VKI Metal LL2, nominal 0,200 mg Fe l<sup>-1</sup> se utilizó para el control de calidad con 101,9% de recuperación aparente (media para 92 resultados de control).

## 5.3 Métodos de cálculo

Los datos de réplicas se trataron mediante el método de rangos. Para la comparación, las estimaciones de incertidumbre se calcularon mediante el análisis de la varianza (ANOVA) y ANOVA robusta (RANOVA) utilizando la versión 1.0.1 de ROBAN (Apéndice C3).

Los métodos de cálculo aplicados se muestran en la Sección 7 (ver abajo). Los cálculos de rango se realizan fácilmente utilizando una hoja de cálculo estándar.

No se evaluó cuantitativamente la aparición de errores sistemáticos de muestreo, pero se utilizó la coherencia de los resultados obtenidos como un control cualitativo de los errores sistemáticos. Por ejemplo, si se encontró hierro disuelto por encima de 0,1 mg l<sup>-1</sup> en la misma muestra en la que se determinó que el oxígeno era superior a 0,1 mg l<sup>-1</sup>, esto indicaría un error sistemático de muestreo y/o pretratamiento. Del mismo modo, se comprobó que el potencial redox y el contenido de oxígeno se correspondieran con el fin de controlar los errores sistemáticos.

## 6 Resultados

Los datos del estudio de validación (seis pozos diferentes) utilizando cálculos de rango se muestran en la Tabla A3.4 y los cálculos detallados se muestran en la Tabla A3.7.

**Tabla A3.4: Incertidumbre expandida relativa (% , factor de cobertura 2) para el análisis, muestreo y entre-masas de agua (entre pozos) obtenida durante la validación mediante cálculos de rangos**

Cálculos de rango	Análisis	Muestreo	Entre-masas de agua
Hierro disuelto	1,8%	10,5%	70%

Para su comparación, las estimaciones estadísticas se muestran en la Tabla A3.5, tal como se obtienen utilizando ANOVA y RANOVA.

**Tabla A3.5: Incertidumbre expandida relativa (% , factor de cobertura 2) para análisis, muestreo y entre-masas de agua (entre pozos) según se obtiene para el hierro disuelto durante la validación usando cálculos de ANOVA y RANOVA**

Hierro disuelto	Análisis	Muestreo	Entre-masas de agua
ANOVA	1,6%	9,6%	70%
RANOVA	1,8%	9,9%	72%

Las estimaciones estadísticas obtenidas con las estadísticas de rango durante el control de calidad (seis ocasiones de muestreo) se muestran en la Tabla A3.6.

**Tabla A3.6: Incertidumbre expandida relativa (% , factor de cobertura 2) para análisis, muestreo y entre-masas de agua (entre actuaciones) según se obtiene durante el control de calidad utilizando cálculos de rango**

	Análisis	Muestreo	Entre-masas de agua <sup>1</sup>
Hierro disuelto	2,5%	3,6%	9,9%
<sup>1</sup> En el control de calidad, la variabilidad entre las muestras se produjo entre las ocasiones de muestreo -variación de tiempo para un pozo.			

Ninguna muestra de agua subterránea obtuvo mediciones de oxígeno disuelto por encima de 0,1 mg l<sup>-1</sup>, y el bajo potencial redox medido (-110 a -200 mV) concuerda con la ausencia de oxígeno (<0,1 mg l<sup>-1</sup>) y con las altas concentraciones de hierro disuelto (0,92 a 2,8 mg l<sup>-1</sup>).

**Tabla A3.7: Resultados y cálculos de rango para el estudio de validación, hierro disuelto, datos básicos en negrita, símbolos utilizados para describir cálculos solamente (T: Masa de agua, S: Muestra, A: Análisis, R: Diferencias absolutas)**

Pozo	S1A1	S1A2	S2A1	S2A2	R1	R2	R <sub>S+A</sub>	Promedio
	mg l <sup>-1</sup>	mg l <sup>-1</sup>	mg l <sup>-1</sup>	mg l <sup>-1</sup>	mg l <sup>-1</sup>	mg l <sup>-1</sup>	mg l <sup>-1</sup>	mg l <sup>-1</sup>
99,474	0,815	0,834	0,912	0,893	0,019	0,019	0,078	0,86
99,468	1,8	1,83	1,94	1,93	0,030	0,010	0,12	1,88
99,469	1,69	1,68	1,79	1,77	0,010	0,020	0,095	1,73
99,916	2,62	2,61	2,83	2,84	0,010	0,010	0,22	2,73
99,327	1,66	1,63	1,58	1,59	0,030	0,010	0,06	1,62
99,371	1,52	1,53	1,47	1,50	0,010	0,030	0,04	1,51
				Promedio	0,018	0,017	0,102	1,719
							Desviación estándar	0,604
Análisis	$R_A = (\overline{R_1} + \overline{R_2})/2$		R <sub>A</sub> =	0,017	$s_A = R_A/1,128$		s <sub>A</sub> =	0,015
							CV <sub>A</sub> =	0,89 %
Muestreo	$S_{M+A} = \overline{R_{M+A}}/1,128$		S <sub>M+A</sub> =	0,091	$S_M = \sqrt{S_{M+A}^2 - \left(\frac{S_A}{\sqrt{2}}\right)^2}$		S <sub>M</sub> =	0,090
							CV <sub>S</sub> =	5,23 %
Entre muestras			S <sub>M.A.+M+A</sub> =	0,604	$S_{M.A.} = \sqrt{S_{M.A.+M+A}^2 - \left(\frac{S_{M+A}}{\sqrt{2}}\right)^2}$		S <sub>M.A.</sub> =	0,601
							CV <sub>T</sub> =	35 %

## **7 Comentarios**

El uso de cálculos ANOVA y RANOVA, para el hierro disuelto medido durante la validación, proporcionó estimaciones estadísticas solo ligeramente diferentes de las obtenidas con los cálculos de rango simple.

Los valores de incertidumbre analítica estimados a partir de la validación y del control de calidad posterior (es decir, 1,9 % y 2,5 %) son ampliamente consistentes. La incertidumbre de muestreo fue menor cuando se muestreó un solo pozo en diferentes ocasiones durante el control de calidad (3,6-3,8%) que cuando se muestrearon diferentes pozos al mismo tiempo durante la validación (10-15%). También la incertidumbre entre la muestra en diferentes ocasiones fue menor que cuando se muestrearon diferentes pozos.

Si se hubiera requerido un control continuo de la incertidumbre de muestreo, los datos de control podrían haberse recogido en gráficos de control para obtener una alerta temprana de incertidumbre excesiva (errores aleatorios) para cada actuación de muestreo.

El número de réplicas (seis) en este estudio fue menor que el utilizado en la mayoría de los casos y el riesgo de un menor nivel de confianza en las estimaciones de incertidumbre debe considerarse en la evaluación de los resultados.

La contribución a la incertidumbre del sesgo del muestreo solo se abordó mediante la evaluación de la coherencia de las mediciones obtenidas, a partir de diferentes parámetros químicos interrelacionados (oxígeno, hierro disuelto, redox) y la evaluación apoyó la conclusión de que el muestreo y el pretratamiento de la muestra habían logrado evitar el sesgo debido al impacto del oxígeno y a la obstrucción del filtro.

## **8 Resumen**

La incertidumbre de medida (% incertidumbre con factor de cobertura 2) se resume a continuación para el hierro disuelto.

Los datos muestran que el requisito de menos del 20 % de incertidumbre de medida expandida podría cumplirse para el hierro disuelto (validación de muestreo), y que la incertidumbre de medida requerida se logró en realidad durante el seguimiento rutinario (muestreo control de calidad). Además, los datos muestran que de requerirse un mejor grado de supervisión, el punto de mejora sería el incremento de la intensidad del seguimiento del hierro disuelto (que predomina en la incertidumbre entre muestras).

Hierro disuelto en agua subterránea	Incertidumbre expandida, factor de cobertura de 2			Variabilidad entre objetos de estudio (k = 2)
	Muestreo	Análisis	Medida	
Validación	11 %	1,9 %	11 %	70 % <sup>1</sup>
Control de calidad	3,6%	2,5%	4,4%	9,9% <sup>2</sup>

<sup>1</sup>En el estudio de validación, la variabilidad en el objeto de estudio reside en los pozos  
<sup>2</sup>En el control de calidad, la variabilidad en el objeto de estudio reside en las actuaciones de muestreo

## 9 Agradecimientos

El trabajo presentado aquí ha sido apoyado por el Centro Nórdico de Innovación, el Comité de Contaminación de Suelos y Aguas Subterráneas del Consejo Danés de Ciencias Técnicas y el Condado de Århus, Dinamarca. Mogens Wium, GEO ha realizado hábilmente trabajos de campo.

### Ejemplo A4: Vitamina A en papillas para bebés que contienen fruta y cereales molidos:

Medida				Estimación de la incertidumbre		
Analito / técnica	Unidad	Sector/Matriz	Objeto del estudio	Propósito	Diseño	Estadística
Vitamina A (como retinol/ HPLC)	$\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ en polvo	Comida/Papilla de bebé que contiene fruta	Lote producido	Incertidumbre de medida global.	Método empírico duplicado	ANOVA de 1 vía de valores de concentración

#### 1 Alcance

El alcance es estimar la incertidumbre de medida y las contribuciones del muestreo y del análisis. Las estimaciones se basan de un tipo de papilla para bebés, tomadas en 10 lotes diferentes, usando un protocolo de muestreo que recoge duplicados de muestras de cada lote.

#### 2 Escenario y objeto de estudio del muestreo

En la producción de papillas para bebés, la vitamina A (retinol) es adicionada como una premezcla (junto con vitamina D y vitamina C). La premezcla es un ingrediente menor. Todos los ingredientes son mezclados antes de su distribución en paquetes. Los análisis anteriores indican una mayor variación en resultados analíticos entre paquetes de lo que se esperaba. Se consideraría aceptable una incertidumbre de medida del 20-30%. La cuestión que se planteó fue si la variación se debe principalmente a la incertidumbre analítica o a la incertidumbre de muestreo. Una de las teorías sugiere que la vitamina se distribuye de manera desigual dentro del paquete y, por lo tanto, generará una mayor incertidumbre analítica si la porción de ensayo es demasiado pequeña (ej.: 3-5 g)<sup>i</sup>. Una posible explicación de la heterogeneidad es que la premezcla de vitaminas se aglomera en pequeños puntos calientes, debido a las interacciones electroestáticas con las partículas de la fruta en polvo de la papilla. Los fabricantes recomiendan un tamaño de porción de ensayo de 40-50 g cada vez que se analiza vitamina A, D y C en polvo de papilla para bebés.

Es aconsejable realizar una estimación de la incertidumbre de medida con el fin de comparar la concentración de la vitamina A obtenida con los valores declarados y los umbrales regulatorios europeos. Se eligió un enfoque empírico utilizando el método duplicado para determinar el componente aleatorio de la incertidumbre de medida. Y se realizó una comparación con un valor de referencia para estimar el componente sistemático.

<sup>i</sup> CEN-Standard EN-12823-1 'Productos alimenticios – determinación de vitamina A por HPLC' indica una muestra a ensayo (réplica) de 2–10 g aproximadamente.

### 3 Protocolo de muestreo

Normalmente, se emplea un enfoque de muestreo puntual en el que una muestra (un paquete) de un lote se utiliza como muestra de cribado comparando su contenido con los valores declarados y los límites legales.

**Validación:** En este estudio se seleccionan dos muestras de cada uno de los 10 lotes diferentes de *un tipo* de papilla en polvo para bebés (es decir, 10 objetos de estudio del muestreo). Cada muestra es igual a un paquete de aproximadamente 400 g de polvo.

**Control de calidad:** El control de calidad (QC) del muestreo de diferentes tipos de papilla para bebés se hizo mediante la selección de dos muestras de cada uno de los 8 lotes de *diferentes* tipos de papilla para bebés (ej.: 8 objetos de estudio del muestreo). Todos los tipos de papillas contienen fruta además de cereales molidos.

Para garantizar la calidad de cada paquete de producto dentro de la “Fecha de consumo preferente” de la papilla en polvo, el fabricante envuelve el producto en una bolsa hermética y protegida de la luz. Por lo tanto, se asume que la degradación de la vitamina A es insignificante durante la vida útil normal. El muestreo para la validación se realizó en el lugar de la producción. Para el control de calidad, las muestras se adquirieron parte en el lugar de la producción, y parte en los minoristas. Cuando las muestras se recogieron en los minoristas, se prestó atención a tomar las dos muestras (de cada producto) en diferentes minoristas, pero además se aseguró que las muestras tuvieran el mismo número de lote. Esto es importante para evitar incluir variaciones entre los lotes a la incertidumbre de muestreo, ya que el protocolo en este caso especifica el muestreo de un lote en particular.

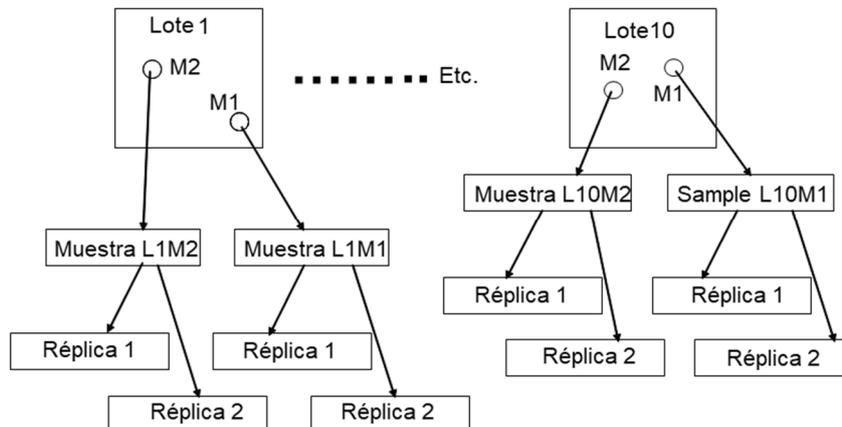
### 4 Estudio del diseño: enfoque empírico

Se seleccionó un enfoque empírico (“top-down”) – método duplicado para una estimación del componente aleatorio de incertidumbre de muestreo. La validación está hecha con un tipo de papilla para bebés que contiene fruta y cereales molidos. En el muestreo de los controles de calidad se ensayaron diferentes papillas de bebé (todas con fruta y cereales molidos) para ver si la estimación de la incertidumbre de medida del estudio de validación es apropiada para los diferentes tipos de papilla para bebés que contienen fruta y cereales molidos.

#### 4.1 Validación:

Las muestras se recogen en línea de producción (justo después de la operación de llenado de los paquetes) de forma aleatoria. Se recogen dos muestras (dos paquetes, cada uno de aproximadamente 400 g) de cada una de las 10 unidades de producción (lotes) de un tipo de papilla para bebés en polvo.

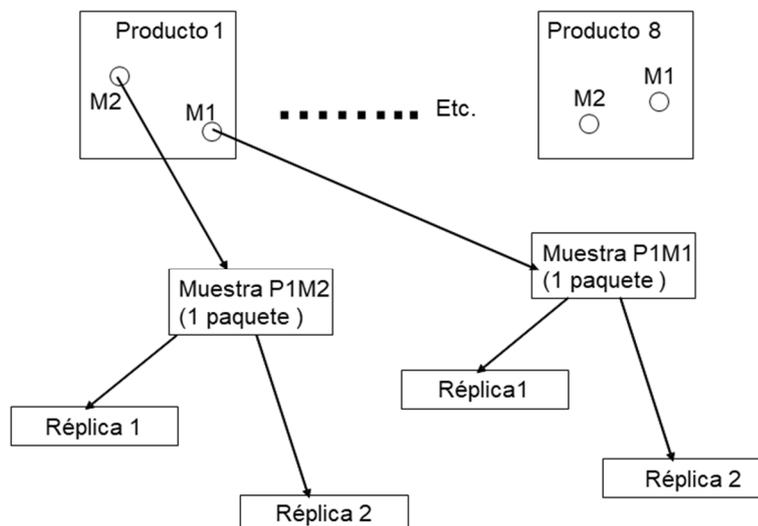
**Figura A4.1: Muestro para validación. Se cogieron dos muestras de cada una de las 10 unidades de producción/lotes de cada tipo de papilla para bebés**



#### 4.2 Control de calidad

Para el control de calidad se cogen dos muestras de un lote de cada uno de los 8 tipos de papillas para bebés, que contienen fruta y cereales molidos. Las papillas proceden de tres fabricantes diferentes. Las muestras (excepto dos de los tipos de papillas) se obtienen de dos fabricantes. El resto se compran a minoristas.

**Figura A4.2: Muestreo para control de calidad. Se cogen dos muestras de un lote de cada uno de los 8 tipos de papilla para bebés.**



## 5 Muestreo y análisis en el laboratorio

El trabajo analítico está realizado por el “The National Institute of Nutrition and Seafood Research” (NIFES). El laboratorio está acreditado según la norma EN ISO/IEC 17025.

El laboratorio obtiene buenos resultados en la participación en ejercicios de intercomparación de laboratorios (FAPAS y BIPEA) (en el periodo 2000-2005,  $|Z\text{-score}| < 1$ ). El método fue validado usando materiales de referencia certificados (MRC). Los datos relativos al desempeño del laboratorio se muestran en la Tabla A4.1.

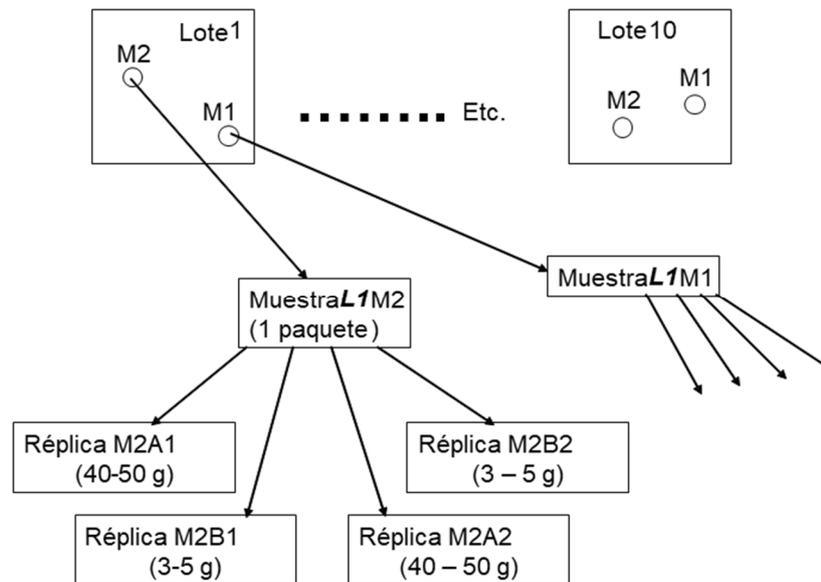
**Tabla A4.1: Métodos y datos de desempeño del control de calidad: análisis de laboratorio.**

Parámetros	Vitamina A: determinada como retinol
Método	HPLC – columna de fase normal – detección-UV
Repetibilidad	2 RSD (%) = 6
Reproducibilidad-dentro	2 RSD (%) = 8
Incertidumbre de la medida	14% (95% intervalo de confianza)
Recuperación	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Adición estándar, dentro del laboratorio: 90-110%</li> <li>➤ Basada en ejercicios de intercomparación (periodo 1999-2005), matrices diferentes: 88-113%, recuperación media del 100,5%</li> </ul>
Límite de cuantificación (LOQ)	0,14 mg kg <sup>-1</sup>
MRC usado	NIST 2383 – comida para bebés (mezcla de alimentos)
➤ MRC – nivel certificado	0,80 ± 0,15 mg kg <sup>-1</sup> (95% intervalo de confianza)
➤ MRC – valor analizado	0,77 ± 0,14 mg kg <sup>-1</sup> (n=28, 95% intervalo de confianza)

### 5.1 Muestreo secundario

Se usa un divisor de muestra mecánico (Retsch) para dividir las muestras. De cada una de las muestras primarias, se recogen cuatro muestras de ensayo (réplicas): dos porciones de aproximadamente 3–5 g y dos porciones de aproximadamente 40–50 g.

Figura A4.3: División de la muestra primaria para hacer cuatro muestras de ensayo



## 5.2 Análisis

El método analítico está basado en CEN-Standard EN-12823-1 (productos alimenticios – determinación de vitamina A mediante HPLC – Parte 1: medida de trans-retinol y 13-cis-retinol). El retinol se saponifica usando hidróxido de potasio etanólico que contiene antioxidantes. La vitamina A se extrae usando hexano. El análisis se realiza mediante cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC), con un detector UV.

En la validación, para cada una de las muestras primarias, se realizan dos análisis en réplicas de 40-50 g y dos análisis en réplicas de 3-5 g. Para el Control de Calidad se realizan dos análisis en muestras a ensayo de 40-50 g. En cada una de las muestras a ensayo solo se lleva a cabo una determinación analítica (no hay análisis por duplicado)

## 6 Información de los fabricantes

Los datos para estimar el “valor certificado” de la vitamina A en papilla para bebés son proporcionados por el fabricante (Nestlé) del producto elegido para la validación, ver tabla A4.2.

**Tabla A4.2: Datos proporcionados por el fabricante.**

Producto	Papilla de harina de avena con plátano y albaricoques (Nestlé).
Peso del lote, incluido la premezcla (1 lote= 2 paquetes de mezcla)	1.092 kg
Peso de la premezcla con la vitamina en el lote	1.228 kg
Vitamina A en la premezcla (datos del certificado de análisis)	9.016 IU g <sup>-1</sup> = 2.705 µg g <sup>-1</sup> (retinol)
Vitamina A incluida en el lote	304 µg 100 g <sup>-1</sup> (retinol)
Vitamina A en ingredientes de acuerdo con la especificación de producto	45 µg 100 g <sup>-1</sup> (retinol)
“Valor verdadero” estimado de vitamina A	349 µg 100 g <sup>-1</sup> (retinol)
Vitamina A declarada como	Retinol (suma de trans- y cis- retinol)

## 7 Resultados

### Muestra de ensayo (réplica) 40g – papilla para bebés

**Tabla A4.3: Validación de los datos- provienen del mismo producto, los resultados se dan en µg 100 g<sup>-1</sup> de polvo.**

Lote	M1A1	M1A2	M2A1	M2A2
L1	402	325	361	351
L2	382	319	349	362
L3	332	291	397	328
L4	280	278	358	321
L5	370	409	378	460
L6	344	318	381	392
L7	297	333	341	315
L8	336	320	292	306
L9	372	353	332	337
L10	407	361	322	382

M1 y M2: muestras primarias y muestras de la ubicación 1 y 2 de un lote de producción

A1 y A2: análisis realizados por duplicado en réplicas de la muestra primaria M

Valor medio analizado (réplica 40g): 348 µg 100 g<sup>-1</sup>

### Muestra a ensayo (réplica) 4g – Papilla en polvo

**Tabla A4.4: Validación de los datos: mismo producto, resultados dados en  $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$  en polvo**

Lote	M1A1	M1A2	M2A1	M2A2
L1	400	491	323	355
L2	423	159	392	434
L3	315	391	252	454
L4	223	220	357	469
L5	462	343	262	293
L6	353	265	305	456
L7	298	234	152	323
L8	425	263	417	353
L9	622	189	291	272
L10	292	397	142	568

M1 y M2: muestras primarias y muestras de la ubicación 1 y 2 de un lote de producción

A1 y A2: análisis realizados por duplicado en réplicas de la muestra primaria M

Valor medio analizado (réplica) 4g:  $341 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$

#### 7.1 Cálculos

El cálculo del ANOVA se puede hacer usando las herramientas disponibles en Excel, Minitab, SPSS etc. En este estudio los cálculos se han realizado en una hoja Excel y los detalles se muestra en la sección 11: Cálculos ANOVA.

#### Cálculo de la incertidumbre de análisis, ANOVA de un factor, muestra a ensayo (réplica) de 40g.

**Tabla A4.5: Resultados de los cálculos de ANOVA: incertidumbre de análisis, suma de la diferencia de cuadrados, dentro-grupos (SS-Error). Para más detalles ver Sección A4.11**

$SS_{E-Anal}$ ( $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ ) <sup>2</sup>	Grados de libertad (gl)	Varianza = $SS_{E-Anal} / \text{gl}$ ( $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ ) <sup>2</sup>	Desviación estándar, $SD_{anal}$ $= \sqrt{(SS_{EAnal}) / \text{gl}}$ ( $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ )	Desviación estándar relativa $RSD_{anal}(\%)$ $= (SD / \bar{X}_a) * 100\%$
16.595	20	829,75	28,805	8,28

### Cálculo de incertidumbre de muestreo, ANOVA de un factor, muestra a ensayo (réplica) de 4g.

**Tabla A4.6: Resultados de los cálculos de ANOVA: incertidumbre de muestreo: suma de las diferencias de los cuadrados. Para más detalles ver sección A4.11**

$SS_M$ ( $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ ) <sup>2</sup>	Grados de libertad (gl)	Varianza $V_M =$ $(SS_M / gl_M - SSE_{Anal} / gl_A) / 2$ ( $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ ) <sup>2</sup>	Desviación estándar, $SD_M$ $= \sqrt{V_M}$ ( $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ )	Desviación estándar relativa $RSD_M$ (%) $= (SD / \bar{X}_M) * 100\%$
14.231	10	296,7	17,22	4,95

### Cálculos de la incertidumbre de medida: muestra a ensayo (réplica) de 40 g.

El valor de RSD (%) de los cálculos de ANOVA puede ser usado como estimación de la incertidumbre estándar  $u$  (%). El laboratorio analítico ha estimado que la incertidumbre estándar analítica es un 7%, la cual es menor que el componente aleatorio analítico para este tipo de muestra, un 8,28%. En los cálculos se usa el valor más alto de estos dos. Se combinan los valores de RSD de las tablas A4.5 y A4.6, con la ecuación 1, los resultados se presentan en la tabla A4.7.

$$u_{\text{medida}} = \sqrt{(u_{\text{muestr}})^2 + (u_{\text{anal}})^2} \quad \text{Ecuación A1}$$

**Tabla A4.7: Incertidumbre de medida: muestra a ensayo (réplica) de 40g.**

Incertidumbre de medida, Cálculos de ANOVA: muestra a ensayo (réplica) de 40g			
	Muestreo	Analítica	Total
Incertidumbre $u$ (%)	4,95	8,28	9,7
Incertidumbre expandida $U$ (%) = $2 * u$ Con un factor de cobertura de 2 (es decir, 95% de confianza)	9,9	17	20

### Cálculo de la incertidumbre de análisis, ANOVA de un factor, muestra a ensayo (réplica) de 4g

Se usan los mismos cálculos que para la réplica de 40g (ver tabla A4.14, en la sección 11 de este ejemplo)

**Tabla A4.8: Resultados de los cálculos de ANOVA: incertidumbre del análisis, muestra a ensayo (réplica) de 4 g, suma de la diferencia de cuadrados, sin grupos (SS-Error)**

SS <sub>E</sub> ( $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ ) <sup>2</sup>	Grados de libertad (gl) ( $N*2-N$ ) = 20	Varianza = SS <sub>E</sub> /gl ( $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ ) <sup>2</sup>	Desviación estándar, SD <sub>análisis</sub> $=\sqrt{\text{SS}_E / \text{gl}}$ ( $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ )	Desviación estándar relativa RSD <sub>análisis</sub> (%) $= (\text{SD} / \bar{X}_a) * 100\%$
312.206,5	20	15.610,325	124,9413	36,6800

**Cálculo de la incertidumbre de muestro, ANOVA de un factor, muestra a ensayo (réplica) de 4 g.**

**Tabla A4.9: Resultados de los cálculos de ANOVA: incertidumbre de análisis, muestra a ensayo (réplica) de 4 g suma de la diferencia de cuadrados**

SS <sub>M</sub> ( $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ ) <sup>2</sup>	Grados de libertad (gl)	Varianza V <sub>M</sub> = (SS <sub>M</sub> /gl <sub>M</sub> – SSE <sub>Anal</sub> /df <sub>A</sub> )/2 ( $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ ) <sup>2</sup>	Desviación estándar, SD <sub>M</sub> $=\sqrt{V_M}$ ( $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ )	Desviación estándar relativa RSD <sub>M</sub> (%) $= (\text{SD} / \bar{X}_M) * 100\%$
102.860,25	10	-2.662,15	$\sqrt{-2.662,15}$ Ajustado a cero	Convencionalmente ajustado a 0

Se usan los mismos cálculos que para la muestra de análisis de tamaño de 40 g (Tabla A4.15, Sección 11 de este ejemplo)

El valor negativo del valor de V<sub>M</sub> en la tabla A4.9 indica que la SD<sub>M</sub> es pequeña comparada con el valor de la SD<sub>análisis</sub>. En este caso, las estimaciones de SD<sub>análisis</sub> y SD<sub>M</sub> usando ANOVA robusto confirmaron la desviación estándar de muestreo más pequeña; Las estimaciones robustas de ANOVA fueron  $u_{\text{Muestreo}} (\%) = 6,9\%$  y  $u_{\text{Análisis}} (\%) = 30\%$ .

El muestreo es idéntico para los experimentos de las muestras a ensayo (réplicas) de 40g y 4g (Por lo tanto, la incertidumbre de muestro debería ser la misma), se usa como estimador una RSD muestreo (%) = 5% ( $\approx 4,95$  ver tabla A4.7).

#### **Cálculo de la incertidumbre de medida – muestra a ensayo (réplica) de 4 g**

Usando el valor de la RSD (%) calculado en las tablas A4.5 y A4.6 como una estimación de la incertidumbre de medida combinada con la ecuación A1, los resultados que se obtuvieron se recogen a continuación (Tabla A4.10)

**Tabla A4.10: Incertidumbre de medida: muestra a ensayo (réplica) de 4 g.**

Incertidumbre de medida, cálculos de ANOVA: muestras a ensayo (réplicas) de 4g			
	Muestreo*	Análisis	Medida
Incertidumbre $u$ (%)	5	36,7	37
Incertidumbre expandida $U$ (%) = $2*u$ Con un factor de cobertura de 2 (es decir, 95% de confianza)	10	73,4	74

\*El valor de  $u$  (%) se ha obtenido a partir de los cálculos de las réplicas de 40g.

## 7.2 Efecto del tamaño de la muestra a ensayo en la incertidumbre de medida

La papilla para bebés parece homogénea y, por lo tanto, se espera una incertidumbre de medida baja. Sin embargo, los análisis indican una alta incertidumbre cuando se emplea la muestra a ensayo de 4g (la norma CEN-Standard EN-12823-1 indica un tamaño aproximado de la muestra a ensayo de 2-10g). Los fabricantes recomiendan usar una muestra de un tamaño de 40-50g.

Lo ensayos de validación dieron los siguientes resultados:

**Tabla A4.11: comparación de la incertidumbre medida – muestras a ensayo de 40g y 4g:**

Tamaño muestra a ensayo	Incertidumbre de medida ( $u_{medida}$ )	Incertidumbre de medida expandida $U_{medida}$
Muestra a ensayo de 40 g	9,7%	20%
Muestra a ensayo de 4 g	37%	74%

Se puede concluir que  $u_{40g} \ll u_{4g}$ . Una  $U_{medida}$  de aproximadamente un 20% es aceptable, usando el criterio del fabricante de 20-30%, mientras que la  $U_{medida}$  de 74% se considera demasiado alta, teniendo en cuenta la matriz y las condiciones de producción de este tipo de producto.

Por lo tanto, se puede concluir que la muestra a ensayo de 4g no es “adecuada al uso” cuando se analiza la vitamina A (retinol) en papilla para bebés que contienen fruta y cereales molidos. Se recomienda un tamaño de muestra para análisis de 40-50 g. Esto también apoya la teoría de que la vitamina se distribuye en el producto de manera desigual, posiblemente como “puntos calientes” locales debido a interacciones electrostáticas.

## 7.3 Control de Calidad

De acuerdo con la sección 13.2.2 de esta guía, la principal herramienta en el control de calidad es el uso de réplicas. Esto se lleva a cabo cogiendo dos muestras (de manera aleatoria) de cada uno de los objetos de estudio duplicando el protocolo de muestreo. Solo es necesario

analizar la muestra una vez y se calcula la diferencia entre resultados  $D = |x_1 - x_2|$ . En este estudio cada muestra se analiza dos veces, pero la comparación está hecha a partir de un análisis de cada muestra (doble set).

En el estudio de control de calidad, se han usado porciones de 40g. De acuerdo con las especificaciones, los productos contienen diferentes cantidades de vitamina A.

**Tabla A4.12 Datos del control de calidad para una porción de ensayo de 40g de diferentes productos,  $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$  en polvo.**

Producto	Fabricante	Ingredientes de la papilla	M1A1	M1A2	M2A1	M2A2
P1	1	Avena, arroz y pera	322	319	350	375
P2	1	Avena, centeno, arroz y pera.	332	317	358	393
P3	1	Trigo, banana y manzana.	443	430	461	388
P4	1	Trigo y manzana.	318	383	390	334
P5	2	Avena, arroz y banana	252	219	265	227
P6	2	Centeno y manzana	274	239	233	217
P7	2	Avena, arroz y manzana	206	225	198	195
P8	3	Centeno, espelta, avena y manzana (producto orgánico)	392	335	375	416

M1 y M2: muestras primarias (muestras de laboratorio) de las localizaciones 1 y 2 de un lote de cada producto.

A1 y A2: análisis de dos réplicas de cada muestra de ensayo.

### Control de calidad – cálculos y gráficos de control

Las incertidumbres validadas de muestreo y análisis son  $u_{\text{muestreo}}$  y  $u_{\text{análisis}}$  respectivamente. La elaboración de un gráfico de control se describe en la Sección 13.2. En el caso de la papilla de bebés (muestra a ensayo de 40g) se han realizado los siguientes cálculos:

$$\begin{aligned} \text{Límite de aviso: } LA_v &= 2,83 * \sqrt{u_{\text{anal}}^2 + u_{\text{muest}}^2} \\ &= 2,83 * \sqrt{(4,95^2 + 8,28^2)}\% = 27\% \end{aligned}$$

$$\text{Límite de acción: } LA_c = 3,69 * \sqrt{(4,95^2 + 8,28^2)}\% = 36\%$$

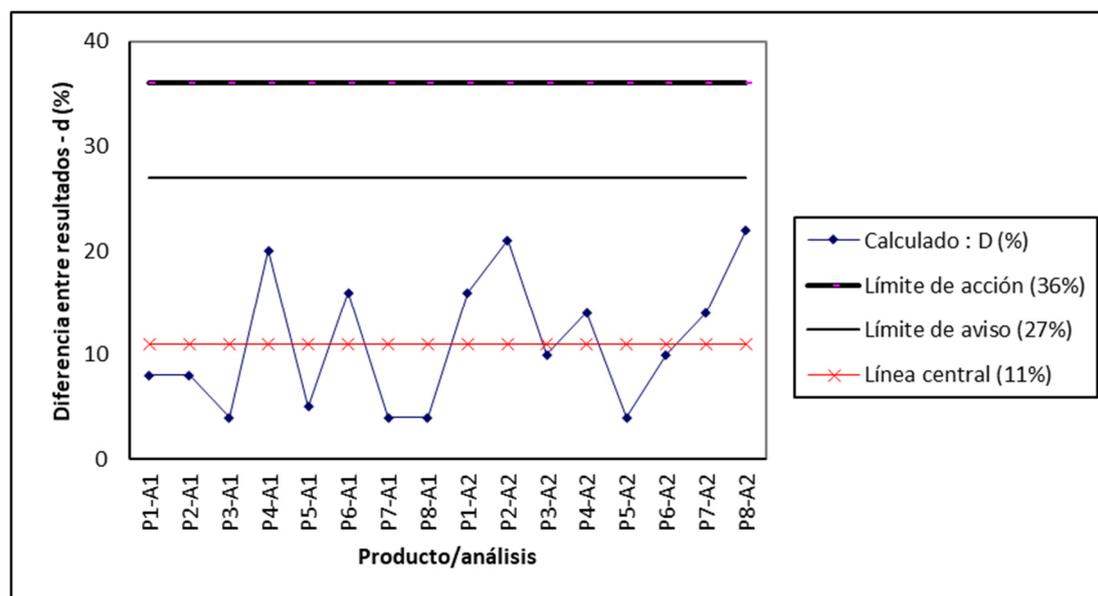
$$\text{Línea central: } LC = 1,128 * \sqrt{(4,95^2 + 8,28^2)}\% = 11\%$$

El cálculo de  $D$  (%) en la Tabla A4.13 puede ser comparado directamente con el límite de acción, o los resultados pueden presentarse en un gráfico de control, ver Figura A4.4

**Tabla A4.13: Control de Calidad: cálculo de las diferencias  $D$  y  $D$  (%) – entre muestras de un lote ( $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$  en polvo)**

Producto	Análisis	Muestra M1 $X_{M1}$	Muestra M2 $X_{M2}$	$D$ $=  x_{M1} - x_{M2} $	$\bar{x}$	$D(\%) = (D / \bar{x}) * 100\%$
P1	A1	322	350	28	336	8
P2		332	358	26	345	8
P3		443	461	18	452	4
P4		318	390	72	354	20
P5		252	265	13	259	5
P6		274	233	41	254	16
P7		206	198	8	202	4
P8		392	375	17	384	4
P1	A2	319	375	56	347	16
P2		317	393	76	355	21
P3		430	388	42	409	10
P4		383	334	49	359	14
P5		219	227	8	223	4
P6		239	217	22	228	10
P7		225	195	30	210	14
P8		335	416	81	376	22

**Figura A4.4: Gráfico de control: análisis de control de calidad de la vitamina A en papilla de bebés que contiene cereales y frutas**



El gráfico de control de la Figura A4.4 muestra que cuando se recojan duplicados de muestras del mismo lote, las diferencias entre los resultados analíticos  $D$  (%) es más pequeña que el límite de acción. De hecho, todos los cálculos de diferencias son más pequeños que el límite de aviso del 27%.

La incertidumbre de medida se determina durante la validación y es considerada por lo tanto adecuada para el control de calidad del muestro de papilla para bebés que contienen cereales molidos y fruta.

Si el procedimiento normal es analizar una muestra de cada lote, se recomienda que se recojan muestras por duplicado del mismo lote al menos en uno de los 10 lotes muestreados.

### **Incertidumbre de medida**

#### Incertidumbre de muestreo

Los cálculos del estudio de validación dan una incertidumbre expandida de medida  $U_{\text{muestreo}}$  (%) = 10 % (40g de muestra a ensayo – ver tabla A4.7). En el cálculo de la incertidumbre no están incluidas las contribuciones debidas a las diferencias “entre protocolos” y “entre muestreadores”.

#### Incertidumbre analítica

Los cálculos del estudio de validación dan una incertidumbre expandida de análisis ( $U_{\text{análisis}}$ ) del 17% – 40 g de la muestra a ensayo. El laboratorio reporta su propia estimación de la incertidumbre de análisis (ver table A4.1):  $2 \cdot \text{RSD}_{\text{intra-lab}}$  (%) = 14%.  $2 \cdot \text{RSD}_{\text{intra-lab}}$  (%) se usa como estimación para  $U_{\text{análisis}}$  en el laboratorio. La  $U_{\text{análisis}}$  encontrada en el estudio de validación estaba al mismo nivel, pero incluso un poco mayor que la  $U_{\text{análisis}}$  reportada por el laboratorio.

El material de referencia certificado (MRC) usado es 2383 (NIST) – preparado de comida para bebés. El MRC es una mezcla de diferentes comidas de origen vegetal y animal, y la incertidumbre encontrada cuando se analiza el MRC podría no ser idéntica a la encontrada cuando se analiza el polvo de papilla para bebés. Los datos del laboratorio para el MRC 2383 han sido incluidas en la siguiente tabla:

MRC 2383	Valor medido mg kg <sup>-1</sup>	$U$ (%) <sub>95%</sub>	Sesgo del laboratorio (%)
Certificado	0,80 ± 0,15	18,8	-
Análisis	0,77 ± 0,14	18,2	- 3,75

La incertidumbre de medida y el sesgo determinados para el MRC podrían tenerse en cuenta para la incertidumbre de medida analítica (como en la guía NordTest UFS, Ejemplo 2), pero como la matriz de la validación del estudio es diferente a la del MRC usado, no se ha incluido en este estudio.

#### Incertidumbre de medida total

Los cálculos del estudio de validación dan una incertidumbre expandida de medida  $U_{medida}(\%) = 20\%$  (40 g muestra de análisis – ver table A4.7)

#### Error sistemático (Sesgo)

El laboratorio reporta una recuperación del 90-110%. La recuperación basada en resultados de ejercicios de intercomparación 1999-2005 es de 88-113%. Los resultados para los ejercicios de intercomparación indicados no reflejan un error sistemático (o es muy pequeño). Los análisis del MRC 2383 en el laboratorio dan un valor del 96,3% del valor certificado, lo que indica un sesgo pequeño (-3,7%). Como la matriz del MRC “preparado de comida para bebés” es diferente a la papilla para bebés, y el método analítico incluye la extracción, el sesgo determinado al analizar el MRC puede no ser representativo para los análisis de papilla para bebés.

En el estudio de validación, el valor medio de retinol obtenido fue 348 µg 100 g<sup>-1</sup> (al analizar la muestra a ensayo de 40 g). De acuerdo con los datos dados por el fabricante (ver tabla A4.2), el “valor verdadero” para el retinol calculado fue 349 µg 100 g<sup>-1</sup> en polvo de papilla. Esto supone una recuperación del 99,7% del “valor verdadero”. Esto indica que el error sistemático debido al muestreo y a los análisis es pequeño, y que puede ser despreciable cuando se analiza papilla en polvo para bebés que contiene frutas y cereales molidos, con la condición de que se use una muestra a ensayo de 40-50g.

## 8 Comentarios

Cuando se usa una muestra a ensayo de aproximadamente 40 g, la concentración  $C$  de retinol en papilla en polvo para bebés que contiene cereales molidos y fruta debería ser reportada con una incertidumbre expandida de medida, por ejemplo,  $C \pm 20\%$  del valor medido de  $C$  (al nivel de confianza del 95%).

Cuando se analiza el polvo de papilla para bebés que contiene cereales molidos y fruta, se recomienda usar una muestra a ensayo relativamente grande 40-50g y no 2-10g como indica el método oficial CEN (UNE-EN 1282-1). Dado que la incertidumbre analítica del laboratorio (en muestra a ensayo de 40g) era mayor que la incertidumbre analítica del laboratorio, incluso podrían considerarse muestras de más de 40g.

## 9 Resumen

Incertidumbre de medida para 40 g de muestras a ensayo				Muestra
	Muestreo	Análisis	Total	Variación típica entre-objetos de estudio (Lotes) RSD <sub>LOTES</sub> (%) de los valores medios de análisis de los lotes en la prueba de validación (ver Tabla A4.15)
Incertidumbre $u$ (%) = RSD (%)	4,95	8,3	9,7	8,2
#Incertidumbre expandida $U$ (%) = $2*u$	9,9	16,6	19,4	16,4

# Con un factor de cobertura de 2 (es decir, al 95% de nivel de confianza)

## 10 Agradecimientos

Se agradece a Nestlé (Noruega) por su entusiasta cooperación y, además, por proporcionar muestras al proyecto (estudio de validación y control de calidad). También se agradece a Smaafolk - Tine Norske Meierier por ofrecernos amablemente muestras para el estudio de control de calidad. Se agradece al Institute of Nutrition and Seafood Research (NIFES) por la contribución analítica (análisis e información sobre el sistema de control de calidad del laboratorio). El estudio se realizó con el apoyo financiero del Nordic Innovation Center y la Norwegian Food Safety Authority.

## 11 Cálculo ANOVA, vitamina A en papilla para bebés – detalles

Cálculo de la incertidumbre de análisis, ANOVA de un factor, muestra a ensayo de 40g

Tabla A4.14: Cálculos ANOVA – incertidumbre de los análisis – suma de la diferencia de cuadrados, entre-grupos (SS-Error)

Muestra	Análisis ( $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ )		Valor medio – cada muestra ( $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ )	Cuadrados de las diferencias– Entre-grupos ( $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ ) <sup>2</sup>
	A1 = $x_{ij} = x_{i1}$	A2 = $x_{ij} = x_{i2}$	$\bar{x}_i = (x_{i1} + x_{i2})/2$	$(x_{i1} - \bar{x}_i)^2 + (x_{i2} - \bar{x}_i)^2$
L1-M1	402	325	363,5	1482,25
L2-M1	382	319	350,5	992,25
L3-M1	332	291	311,5	420,25
L4-M1	280	278	279	1
L5-M1	370	409	389,5	380,25
L6-M1	344	318	331	169
L7-M1	297	333	315	324
L8-M1	336	320	328	64
L9-M1	372	353	362,5	90,25
L10-M1	407	361	384	529
L1-M2	361	351	356	25
L2-M2	349	362	355,5	42,25
L3-M2	397	348	372,5	600,25
L4-M2	358	321	339,5	342,25
L5-M2	378	460	419	1681
L6-M2	381	392	386,5	30,25
L7-M2	341	315	328	169
L8-M2	292	306	299	49
L9-M2	332	337	334,5	6,25
L10-M2	322	382	352	900
Valor medio de las medidas: $\bar{X}_a = 1/20 * \sum_{i=1}^{20} \bar{x}_i = 347,85 \mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$			<sup>2</sup> SS-Error (SS <sub>E</sub> ): $= \sum_{i=1}^{20} [(x_{i1} - \bar{x}_i)^2 + (x_{i2} - \bar{x}_i)^2] = \sum_{i=1}^{20} 2 * (x_i - \bar{x}_i)^2$	
SS <sub>E</sub> ( $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ ) <sup>2</sup>	Grados de libertad (gl) ( $N*2-N$ )=20	Varianza = SS <sub>E</sub> /gl ( $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ ) <sup>2</sup>	Desviación estándar, SD <sub>análisis</sub> $= \sqrt{\text{SSE} / \text{gl}}$ ( $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$ )	Desviación estándar relativa RSD <sub>análisis</sub> (%) $= (\text{SD} / \bar{X}_a) * 100\%$
16.595	20	829,75	28,80538	8,280978

cont./...

**Notas en la Tabla A4.14.**

1. Cálculo de SS-Error – en este caso dos muestras a ensayo son analizadas para cada muestra de laboratorio, por lo tanto:

$$(x_{i1} - \bar{x}_i)^2 = (x_{i2} - \bar{x}_i)^2 \Rightarrow SS_E = \sum_{i=1}^{20} [(x_{i1} - \bar{x}_i)^2 + (x_{i2} - \bar{x}_i)^2] = 2 \sum_{i=1}^{20} (x_{i1} - \bar{x}_i)^2$$

Si el número de muestras a ensayo analizadas es mayor de dos, los cuadrados de las diferencias no deben ser iguales o los

cálculos deben ser hechos de la siguiente manera:  $SS_E = \sum_{i=1}^{20} \sum_{j=1}^n (x_{ij} - \bar{x}_i)^2$

2.  $gl = (N*n-N) = (20*2-20) = 20$  donde  $N$  es el número de muestras y  $n$  es el número de muestras a ensayo para cada lote.

---

**Cálculo de la incertidumbre de muestreo, ANOVA de un factor, muestra de análisis de 40g  $\mu\text{g } 100 \text{ g}^{-1}$  en polvo)**

**Tabla A4.15: Cálculos ANOVA – incertidumbre de muestreo – suma de las diferencias de cuadrados.**

M1A1= $x_{i1}$	M1A2= $x_{i2}$	M2A1= $x_{i3}$	M2A2= $x_{i4}$	$\bar{x}_i$	$\left(\frac{x_{i1} + x_{i2}}{2} - \bar{x}_i\right)^2$	$\left(\frac{x_{i3} + x_{i4}}{2} - \bar{x}_i\right)^2$
402	325	361	351	359,75	14,0625	14,0625
382	319	349	362	353	6,25	6,25
332	291	397	348	342	930,25	930,25
280	278	358	321	309,25	915,0625	915,0625
370	409	378	460	404,25	217,5625	217,5625
344	318	381	392	358,75	770,0625	770,0625
297	333	341	315	321,5	42,25	42,25
336	320	292	306	313,5	210,25	210,25
372	353	332	337	348,5	196	196
407	361	322	382	368	256	256
$SS_{muestreo} = \sum_{i=1}^{10} \left[ \left( \frac{x_{i1} + x_{i2}}{2} - \bar{x}_i \right)^2 + \left( \frac{x_{i3} + x_{i4}}{2} - \bar{x}_i \right)^2 \right]$ $= \sum_{i=1}^{10} \left[ 2 * \left( \frac{x_{i1} + x_{i2}}{2} - \bar{x}_i \right)^2 + 2 * \left( \frac{x_{i3} + x_{i4}}{2} - \bar{x}_i \right)^2 \right] = 14.231$						
Valor medio de todas las medidas $\bar{X} = 347,85$				RSD <sub>Muestreo</sub> (%) = $(SD_{Muestreo} / \bar{X}) * 100\% = 4,95\%$		
SSE <sub>Análisis</sub> = 16.595 (ver Tabla A4.14)				gl <sub>M</sub> = 10 (ver nota de la tabla) gl <sub>A</sub> = 20 (ver Tabla A4.14)		
Varianza $V_{Muestreo} = (SS_S / gl_M - SS_A / gl_A) / 2$ $= (14.231 / 10 - 16.595 / 20) / 2 = 296,675$				$SD_{Muestreo} = \sqrt{V_{muestra}} = 17,224$		

**Notas de la Tabla A4.15.**

1. La diferencia  $d$  entre el valor medio  $\bar{X}$  de dos valores  $\left(\frac{x_{i1} + x_{i2}}{2}\right)$  y  $\left(\frac{x_{i3} + x_{i4}}{2}\right)$  para cada uno de los valores son

idénticos. La expresión puede escribirse como:  $SS_{Muestreo} = \sum_{i=1}^{10} 4 * d_i^2 = \sum_{i=1}^{10} \left[ 4 * \left( \frac{x_{i1} + x_{i2}}{2} - \bar{x}_i \right)^2 \right]$

2.  $gl_M = (NL * n - NL) = (10 * 2 - 10) = 10$  donde  $NL$  es el número de lotes y  $n$  es el número de muestras primarias (= muestras de laboratorio) analizadas para cada lote.

**Ejemplo A5: Enzima en pienso para pollos**

Medidas				Estimación de la incertidumbre		
Analito/ Técnica	Unidad <sup>1</sup>	Sector/ Matriz	Objeto de estudio del muestreo	Propósito	Diseño	Estadística
Enzima/ HPLC	% m/m (es decir, fracción de masa)	Alimentación y piensos /piensos para pollos	Bolsa de 25 kg	Incertidumbre total (eslabones débiles en la cadena de medición)	Modelado con teoría de muestreo (de Gy)	Suma de variaciones de componentes en unidades relativas

<sup>1</sup> Incluye base de informes

**1 Alcance**

El alcance es estimar la incertidumbre de muestreo con el protocolo de muestreo dado aplicando la teoría de muestreo de Gy (Sección 10.2). El analito es un ingrediente enzimático agregado en el pienso. La teoría de muestreo proporciona estimaciones realistas solo si todas las operaciones de muestreo y división de muestras se llevan a cabo atendiendo a las reglas de corrección de muestreo; en este ejemplo se asume que no hay errores graves y que los "errores de muestreo incorrecto" son insignificantes.

**2 Escenario y objeto de estudio del muestreo**

Se usa una enzima como aditivo en el pienso para pollos (densidad =  $0,67 \text{ g cm}^{-3}$ ). La concentración nominal de la enzima es de 0,05% m/m. El polvo de la enzima tiene una densidad de  $1,08 \text{ g cm}^{-3}$ . Los polvos son cuidadosamente mezclados. La distribución del tamaño de las partículas es conocida estimándola en  $d = 1,00 \text{ mm}$  y un factor asociado de  $g = 0,5$ . El propósito de este ejercicio es estimar la incertidumbre total del protocolo (es decir, el error de muestreo fundamental, Sección 10.2.7 y Figura 4) usado para estimar la media que contiene cada bolsa de 25 kg empleada para enviar el producto al consumidor.

**3 Estudio de diseño, empleando un enfoque de modelado ("bottom-up")**

El modelo ha sido construido usando la teoría de muestreo descrita en la Sección 10.2. Los parámetros, ya sean medidos directamente o estimados, han sido asumidos como valores individuales y que son constantes dentro y entre cada bolsa.

**4 Muestreo y análisis en el laboratorio**

La concentración actual de la enzima en el objeto de estudio del muestreo, el cual se ha establecido en sacos de 25 kg, se estimó cogiendo una muestra primaria de 500 g.

El material de la muestra primaria se muele hasta un tamaño de partícula de  $<0,5 \text{ mm}$ . Luego, la enzima se extrae de una porción a ensayo de 2 g usando un disolvente adecuado y la concentración se determina usando cromatografía líquida. La desviación estándar relativa del análisis cromatográfico, estimada a partir de los datos de control de calidad del laboratorio, es del 5%.

## 5 Resultados

Para estimar el error de muestreo fundamental de las dos etapas (EMF, Sección 10.2.7. Figura 4), tenemos que evaluar las propiedades del material (Tabla A5.1)

**Tabla A5.1: entrada de valores para la estimación de la incertidumbre de muestreo mediante el enfoque de modelado, usando la teoría de muestreo**

Muestra primaria	Muestra secundaria	Comentario
$M_1 = 500 \text{ g}$	$M_2 = 2,0 \text{ g}$	Tamaño de muestras
$M_{L1} = 25.000 \text{ g}$	$M_{L2} = 500 \text{ g}$	Tamaño del lote (objeto de estudio del muestreo)
$d_1 = 0,1 \text{ cm}$	$d_2 = 0,05 \text{ cm}$	Tamaño de las partículas
$g_1 = 0,5$	$g_2 = 0,25$	Factores estimados de la distribución del tamaño
<b>Ambas muestras</b>		
$a_L = 0,05\% \text{ m/m}$		Concentración media de la enzima en el lote
$\alpha = 100\% \text{ m/m}$		Concentración de enzima en el agregado
$\rho_c = 1,08 \text{ g cm}^{-3}$		Densidad de las partículas de la enzima
$\rho_m = 0,67 \text{ g cm}^{-3}$		Densidad de la matriz de las partículas
$f = 0,5$		Factor de forma predeterminado para partículas esferoidales
$\beta = 1$		Factor de liberación de partículas liberadas.

Las propiedades de ese material dan para el factor de constitución (Ecuación 8) un valor de  $c = 2.160 \text{ g cm}^{-3}$  y para las constantes de muestreo (Ecuación 7) El Valor de C

$$C_1 = 540 \text{ g cm}^{-3} \text{ y } C_2 = 270 \text{ g cm}^{-3}$$

La Ecuación 6 puede ser usada para dar una estimación de la desviación estándar para cada etapa del muestreo (como estimadores de la incertidumbre estándar).

$$s_{r1} = 0,033 = 3,3\% \quad \dots \text{ Muestra primaria}$$

$$s_{r2} = 0,13 = 13\% \quad \dots \text{ Muestra secundaria}$$

$$s_{r3} = 0,05 = 5\% \quad \dots \text{ Determinación analítica}$$

La desviación estándar relativa total ( $s_t$ , incertidumbre combinada) puede estimarse ahora mediante la aplicación de la regla de propagación de errores; para  $i$  errores tenemos:

$$s_t = \sqrt{\sum s_{ri}^2} = 0,143 = 14,3 \%$$

La incertidumbre expandida relativa, con un factor de cobertura de 2, es de 28,6%. (excluidas las incertidumbres analíticas asociadas con los errores sistemáticos, tales como el sesgo analítico).

## 6 Comentarios

La mayor fuente de incertidumbre en todo el proceso de medición se identifica como la generada al preparar la porción a ensayo (2 g) para la extracción de la enzima.

No se han tenido en cuenta las incertidumbres asociadas con los errores sistemáticos durante el análisis, y se ha asumido que los errores de muestreo incorrecto (y el sesgo de muestreo) son no significativos.

## 7 Evaluación de la adecuación al uso de estas mediciones

Si se decide que la incertidumbre global del 28,6% no es adecuada para el uso previsto (Sección 16) entonces, para reducir la incertidumbre global, debería modificarse la etapa en el que se prepara la porción a ensayo. Para ello, debe utilizarse una muestra más grande para la extracción, o bien la muestra primaria debe pulverizarse a un tamaño de partícula más fino, lo que sea más económico en la práctica. El modelo también puede usarse para predecir el aumento de masa o la reducción del tamaño de partícula, que se requiere para lograr la incertidumbre que se considerará adecuada para el uso previsto (por ejemplo, el Apéndice E).

## 8 Informes e interpretación

La medida de la concentración de la enzima reportada para cada saco de 25 kg debería tener una incertidumbre del 28,6% asociada al valor de concentración. Fijar este valor de incertidumbre dependerá de la verificación periódica de la validez de los valores y supuestos utilizados en su cálculo.

## 9 Resumen

Incertidumbre medida*		
Muestreo	Analítica	Total
26,8% (rel)	10,0% (rel)	28,6% (rel)

\* con un factor de cobertura de 2 (es decir, un 95% de confianza)

## Ejemplo A6: cadmio y fósforo en suelo agrícola mediante un enfoque de modelado

Medida				Estimación de la incertidumbre		
Analito/ Técnica	Unidad	Sector/ Matriz	Objeto de estudio del muestreo	Propósito	Diseño	Estadística
Cd: GF-ZAAS muestreo directo sólido  P: Método de Ca-Acetato Lactato (CAL)	mg kg <sup>-1</sup>  método de secado al aire	Medioambien tal/suelo agrícola	Suelo cultivable  – 143 x 22 m, profundidad 30 cm	Incertidumbr e total (con contribucion es de cada efecto de muestro)	Enfoque de modelado (uso de medidas exploratoria s para efectos únicos)	Suma de variaciones de componentes en unidades relativas

### 1 Alcance

Estimación de la incertidumbre global de medida mediante el sumatorio de las contribuciones individuales de incertidumbre de muestreo, preparación de las muestras y análisis usando el enfoque de modelado.

### 2 Escenario y objeto de estudio del muestreo

El objeto de la investigación es estimar la concentración media de cadmio y fósforo en la superficie de un área de suelo cultivable de 0,32 hectáreas (especificación del mensurando). En el muestreo se usan muestras compuestas en un protocolo que es utilizado normalmente para el control de la agricultura.

### 3 Protocolo de muestreo

El área objeto de estudio del muestreo ha sido muestreada usando un protocolo estratificado, con una densidad de muestreo de aproximadamente 20 incrementos por hectárea, a una profundidad de 30 cm, usando una barrena de suelo. El muestreo aleatorio estratificado se define en el Apéndice C2.3.

### 4 Estudio de diseño: enfoque de modelado de causa y efecto

#### 4.1 Identificación de los efectos en la medida

Las siguientes fuentes pueden considerarse como contribuciones potenciales significativas a la incertidumbre para el caso en general.

##### 4.1.1 Muestreo

La distribución espacial del analito sobre un objeto bidimensional crea dos componentes de incertidumbre diferentes "error de selección de punto de largo alcance" (Apéndice C2.3):

- La *varianza de muestreo* de contenido del analito entre las muestras compuestas de diferentes ubicaciones que caracteriza la “distribución estadística” del analito en el área objeto de estudio del muestreo. Ese valor suele depender de la distancia entre los puntos de muestreo y las ubicaciones de muestreo.
- El modelo espacial del analito en el área no está representado por el modelo de muestreo (estrategia de muestreo) y, por tanto, puede haber sesgo de muestreo.

Con el uso de una herramienta de muestreo, pueden aparecer diferentes efectos, como error de materialización puntual (Figura 3). Esto puede ocurrir debido a una mala referencia del nivel de la superficie (ej.: debido a la ondulación de la superficie o dificultades en la definición de los horizontes), o variación en la profundidad de la muestra actual o en la densidad del suelo (ej.: por contenido de humedad), o por pérdida selectiva de material del suelo del dispositivo de muestreo.

Si existe un gradiente de profundidad en el contenido del analito (una "tercera dimensión" al objeto de estudio del muestreo), estos efectos llevan a una única contribución de incertidumbre. Por esta razón, estos efectos, que son difíciles de determinar uno por uno, se agrupan como el "efecto de profundidad".

#### 4.1.2 Preparación de la muestra

La preparación física de la muestra comprende el paso de una muestra de campo a la muestra del laboratorio. *El tratamiento mecánico*, como la disgregación, tamizado, molienda y etapas de división, reduce la cantidad de materiales del suelo. Durante esas fases pueden surgir errores debidos a variaciones en las fuerzas y duración del tratamiento mecánico, heterogeneidad, segregación de diferentes fracciones de suelos (partículas) y distribución del tamaño de partículas. Puede darse un error de selección periódica de puntos (Figura 3) debido a la *variación del contenido de humedad* de la muestra desecada de suelo por la sorción/desorción de agua en el aire hasta un estado de equilibrio (dependiendo de la humedad y de las propiedades del material de la muestra, ej.: tamaño de partícula).

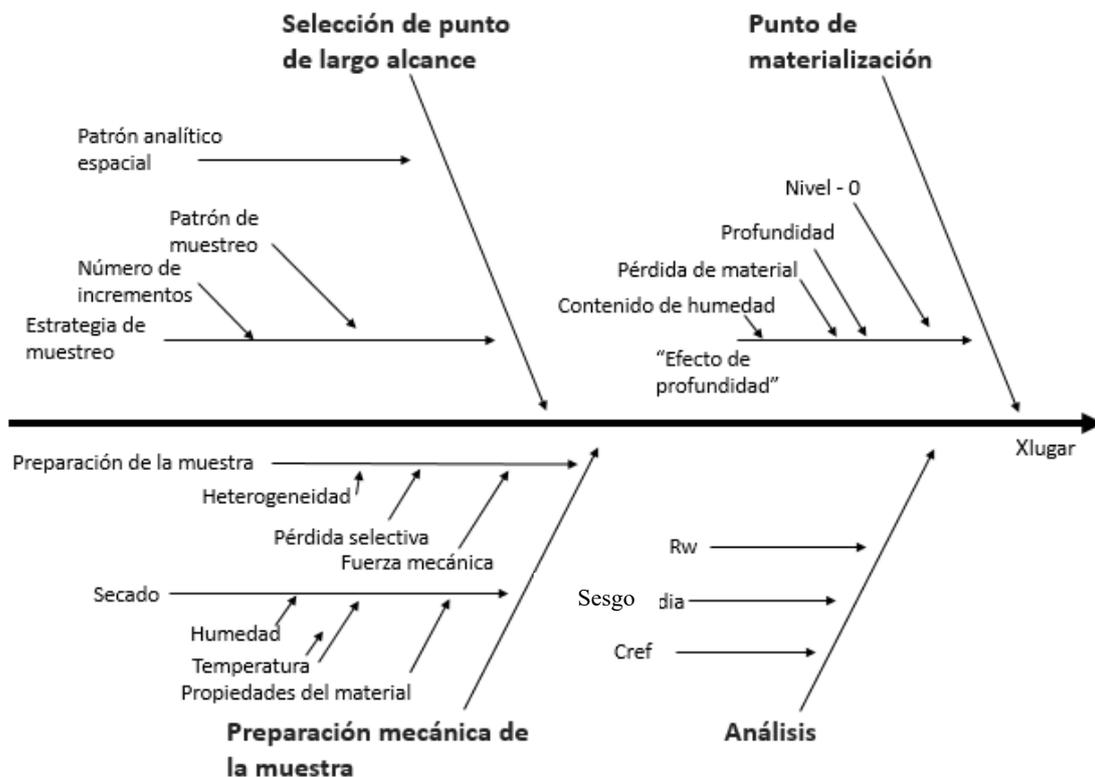
#### 4.1.3 Análisis

El análisis es el tercer paso del proceso de la medida, el cual se relaciona con los diferentes tipos de efectos que incrementan las contribuciones a la incertidumbre. La incertidumbre analítica de las muestras de laboratorio puede estimarse mediante procedimientos publicados anteriormente [1, 40]. Concretamente, puede ocurrir otro “error fundamental” con la separación de la muestra en el laboratorio en muestras de ensayo, lo que contribuirá a la incertidumbre de muestreo. No obstante, el componente aleatorio de ese efecto de muestreo está incluido en la precisión por repetibilidad analítica entre muestras a ensayo. Se debe evitar un componente sistemático significativo mediante la homogeneización adecuada de la muestra de polvo.

## 4.2 Diagrama de causa y efecto

La figura A6.1 muestra el “diagrama de causa y efecto” para el proceso de medida. Se proporcionan las fuentes de contribución a la incertidumbre en el muestreo y en las etapas de preparación de la muestra; para los análisis, solo se indican los parámetros de calidad analítica.

**Figura A6.1: diagrama de causa y efecto del muestreo de suelo cultivable ( $R_w$  es reproducibilidad dentro del laboratorio)**



### 4.3 Ecuación del modelo

Las "magnitudes de entrada" de los efectos de muestreo discutidos anteriormente no son partes constituyentes de la ecuación a partir de la cual se calcula el resultado de la medición. Se puede establecer una ecuación del modelo, apropiada para todo el proceso de medición, sin olvidar la introducción de los factores nominales de corrección en el resultado analítico:

$$x_{emplazamiento} = \bar{x}_{análisis} \times f_{entre-ubicaciones} \times f_{estrategia} \times f_{profundidad} \times f_{preparación} \times f_{secado}$$

Donde

$x_{emplazamiento}$  = resultado de la medida

$\bar{x}_{análisis}$  = media del análisis de las muestras a ensayo

$f_{entre-ubicaciones}$  = factor de corrección de la desviación "entre ubicaciones"

$f_{estrategia}$  = factor de corrección del sesgo debido a la estrategia de muestreo

$f_{profundidad}$  = factor de corrección del "efecto de la profundidad"

$f_{preparación}$  = factor de corrección de errores durante la preparación mecánica de la muestra

$f_{secado}$  = factor de corrección de la desviación por el contenido de humedad

Si no se detecta un sesgo significativo, a todos los factores de corrección se les puede asignar el valor uno, para que la mayor estimación del mensurando esté dada por:

$$x_{\text{emplazamiento}} = \bar{x}_{\text{análisis}}$$

Debido a la simplicidad de la ecuación modelo (solo factores), y asumiendo la independencia entre factores, la incertidumbre combinada puede obtenerse mediante la suma de *incertidumbres estándar relativas* de varios efectos:

$$u_{\text{emplazamiento}} = \sqrt{u_{\text{análisis}}^2 + u_{\text{entre-ubicaciones}}^2 + u_{\text{estrategia}}^2 + u_{\text{profundidad}}^2 + u_{\text{preparación}}^2 + u_{\text{secado}}^2}$$

## 5 Muestreo y análisis en el laboratorio

La masa de la muestra se dividió por el método del cono y cuarte, se secó al aire y se tamizó para seleccionar el tamaño de grano <2 mm.

El análisis se realizó mediante los siguientes métodos para el cadmio utilizando Zeeman-GF-AAS ("muestreo sólido directo") y para el fósforo utilizando el método de calcio-acetato-lactato (CAL).

## 6 Resultados de la evaluación de los efectos individuales en el estudio

La estimación de la incertidumbre estándar de la distribución del analito en el área objeto de estudio del muestreo está basada en una modificación del incremento del muestreo atendiendo al protocolo de muestreo. Para explicar el resultado de efectos individuales, se han llevado a cabo análisis adicionales.

### 6.1 Variación “entre ubicaciones”

El área fue dividida en nueve cuadrados (A, B, C x 1, 2, 3) y se cogieron incrementos de tres de cada cinco cuadrados (a través de toda el área). Los incrementos de cada cuadrado se combinaron, resultando cinco muestras compuestas por separado. Estas muestras fueron tratadas y analizadas por separado. La media de los resultados individuales constituye un resultado de medida de acuerdo con las especificaciones del mensurando.

Los resultados analíticos para ambos analitos de la investigación se muestran en la Tabla A6.1. La desviación estándar entre esos valores ( $S_{\text{cuadrados}}$ ) refleja la variación entre las muestras compuestas de cada cuadrado.

La incertidumbre estándar del valor medio (es decir, del resultado de medida) debido a este efecto puede ser estimado por consideración del número de muestras “entre ubicaciones” usando el error estándar en la media.

$$u_{\text{entre-ubicaciones}} = \frac{S_{\text{cuadrados}}}{\sqrt{n_{\text{entre-ubicaciones}}}}$$

Tabla A6.1: concentración medida de cadmio y fósforo en los cinco cuadrados

Cuadrado	Cd mg kg <sup>-1</sup>	P mg kg <sup>-1</sup>
A1	0,270	124
A3	0,285	112
B2	0,343	120
C1	0,355	118
C3	0,343	105
$\bar{x}_{cuadrados}$	0,319	116
$s_{cuadrados}$	0,039	8,0
	(12%)	(6,5%)
$u_{entre-ubic.}$	5,4%	2,9%

La tabla muestra el valor medio de los cinco cuadrados (el resultado de la medición), la desviación estándar calculada de esos valores ( $s_{cuadrados}$ ), y la estimación de la contribución de la incertidumbre de la media del error estándar ( $u_{entre-ubicaciones}$ ).

## 6.2 Estrategia de muestreo

El examen de los contenidos de analitos entre cuadrados (ver Tabla A6.1) no muestra una diferencia notable en el fósforo en ninguna dirección (ni vertical, ni horizontal, ni diagonal). Así que, no cabe esperar un sesgo significativo (ej.:  $\leq 0,5\%$ ) en el resultado medido para el analito de esta procedencia.

Para el cadmio en los dos cuadrados A se observa un descenso considerable del contenido del analito en comparación con los cuadrados B y C. Tal gradiente no sorprende para esta área en particular porque los cuadrados C se encuentran en el límite de un bosque, mientras que los cuadrados A limitan con una pradera, y los cuadrados 1 y 3 se encuentran además entre otras áreas de tierra cultivable. Se sabe que en el horizonte superior de los suelos forestales se produce la acumulación de metales pesados, lo que puede influir en las áreas adyacentes.

Se aplicó un modelo de muestreo "basado en hipótesis" para buscar dicho efecto. Sin embargo, los valores medidos con esta estrategia de muestreo solo detectaron un efecto sistemático menor. Por lo tanto, derivada de la estrategia de muestreo se incluye una incertidumbre estándar de  $\leq 1\%$  en el balance de incertidumbre para el cadmio.

## 6.3 "Efecto de profundidad"

Para poner de manifiesto el conjunto de efectos conocidos como "efecto de profundidad", se realizó el siguiente experimento.

Se recoge un incremento de núcleos para una profundidad de 35 cm en 5 "cuadrados de prueba". Para cada uno de ellos se separan segmentos de 25-30 cm y 30-35 cm, y se combinan. En la Tabla A6.2 se muestra los resultados analíticos para esas muestras.

Tabla A6.2: experimentos de profundidad

	Cd mg kg <sup>-1</sup>	P mg kg <sup>-1</sup>
<i>c.</i> (25–30 cm)	0,14	47
<i>c+</i> (30–35 cm)	0,10	35
<i>x-</i>	0,34	124
<i>x+</i>	0,30	109
$\Delta x$	0,04	15
$U_{profundidad}$	3,5%	3,7%

La tabla muestra la media de contenido de los horizontes de profundidad de cinco núcleos de diferentes ubicaciones, junto con los límites de contenido y la contribución de la incertidumbre.

Ambos analitos muestran un gradiente negativo estadísticamente significativo con respecto a la profundidad. La incertidumbre debida a la profundidad se estima considerando el contenido de analito de las capas de suelo por debajo y por encima de la profundidad de referencia (*c.*, *c+*) según el siguiente modelo.

La variación máxima en la profundidad de muestreo se asume como no más del  $\pm 10\%$  (es decir, 27-33 cm). A partir de estos datos, los límites de contenido inferior y superior (*x-*, *x+*), relacionados con el contenido medio de un núcleo de barrena de profundidad nominal, se estiman de acuerdo con:

$$x_- = \frac{\bar{x} - 0,1c_-}{0,9} \qquad x_+ = \frac{\bar{x} + 0,1c_+}{1,1}$$

La diferencia entre *x-* y *x+* ( $\Delta x_{profundidad}$ ) se asume como la desviación máxima de contenido medio debido a la variación de profundidad en los incrementos.

Si se asume una distribución rectangular para la desviación de la profundidad, la incertidumbre estándar del valor medio (Tabla A6.2) puede ser estimada como:

$$u_{profundidad} = \frac{\Delta x_{profundidad}/2}{\sqrt{3}}$$

#### 6.4 División

Las muestras de campo primarias se dividieron por la mitad, siete veces por un procedimiento de cono y cuarteo que resultó en una muestra de laboratorio que era 1/64 de la masa original.

Para revelar el “efecto por división” se realizó el siguiente experimento.

En el primer paso de división la segunda mitad del material no se descartó, sino que se consideró como un duplicado de la muestra, el cuál fue tratado como una muestra original y analizada por separado. La Tabla A6.3 muestra las desviaciones estándar relativas entre duplicados de cada uno de los 5 cuadrados de ambos analitos.

En una sencilla aproximación, se considera la media de la desviación estándar relativa como la incertidumbre estándar de la etapa de división.

$$u_{división} = \bar{s}_{división}$$

Nota: Cabe esperar la gran dispersión observada de desviaciones estándar entre los duplicados. La distribución  $\chi^2$  para  $gl = 1$  muestra una alta probabilidad para valores muy bajos y una probabilidad moderada para valores grandes.

**Tabla A6.3: desviaciones estándar relativas entre las muestras duplicadas fragmentadas y la media de esas desviaciones estándar para ambos analitos**

Cuadrado	Cd (%)	P (%)
A1	0,44	1,49
A3	9,17	2,80
B2	5,32	0,84
C1	3,24	8,88
C3	0,44	1,81
$\bar{s}_{división}$	3,7	3,3

### 6.5 Secado

No se llevó a cabo ningún experimento para evaluar el efecto de secado. Sin embargo, se empleó información de la literatura para estimar este efecto, encontrándose un contenido de humedad entre 1 y el 3% [62] para muchas muestras secadas al aire. De acuerdo con el protocolo de muestreo, el mensurando se refiere al material del suelo secado al aire.

Consecuentemente, no se requiere una corrección de la temperatura para las concentraciones del mesurando. No obstante, debe considerarse una diferencia en humedad de  $\Delta x_{\text{secado}} = 2\%$ . Asumiendo una distribución rectangular a lo largo de este intervalo, la incertidumbre estándar para ambos analitos puede ser estimada como:

$$u_{\text{secado}} = \frac{\Delta x_{\text{secado}}/2}{\sqrt{3}} = 0,6\%$$

### 6.6 Análisis

La incertidumbre de los procesos analíticos para cadmio y fosforo (Tabla A6.4 y A6.5) se estimó a partir de los datos de control de calidad, usando la aproximación Nordtest [37].

**Tabla A6.4: componentes de la incertidumbre estándar e incertidumbre combinada en análisis de muestras de suelo para cadmio.**

$R_w$	Incertidumbre de la reproducibilidad dentro del laboratorio, evaluada como la desviación estándar de la repetibilidad de la media de $n=10$ muestras de ensayo y la estabilidad del instrumento trabajando todo el día	$u_{Rw} = 3,6\%$
$C_{ref}$	Incertidumbre del valor de referencia del MRC	$u_{ref} = 2,7\%$
sesgo	No hay contribución a la incertidumbre del sesgo del laboratorio, debido a que los resultados han sido corregidos por el sesgo obtenido en las medidas diarias del MRC	-
$S_{sesgo}$	Contribución a la incertidumbre de la desviación estándar de la media ( $n=3$ ) de los análisis diarios del MRC	$u_{sesgo} = 2,7\%$
	Incertidumbre analítica combinada	$u_{análisis} = 5,2\%$

**Tabla A6.5: componentes de la incertidumbre estándar e incertidumbre combinada en análisis de muestras de suelo para fósforo.**

$R_w$	Incertidumbre de la reproducibilidad dentro del laboratorio, evaluada con la desviación estándar de la repetibilidad de la media de $n=1$ muestras de ensayo	$u_{Rw} = 1,7\%$
$C_{ref}$ sesgo $S_{sesgo}$	Incertidumbre sobre la veracidad de los resultados estimados como la precisión de reproducibilidad $s_R$ de una comparación entre laboratorios (caso más desfavorable)	$u_{sesgo} = 9,5\%$
	Incertidumbre analítica combinada	$u_{análisis} = 9,7\%$

### 6.7 Balance de incertidumbre y resultados de medida

La tabla A6.6 recoge un listado de las incertidumbres estándar evaluadas de los efectos considerados. La incertidumbre combinada se calcula con esas contribuciones.

#### Resultado de la medida:

Cd:  $0,32 \pm 0,06 \text{ mg kg}^{-1}$

P:  $116 \pm 26 \text{ mg kg}^{-1}$

(factor de cobertura de 2, aproximadamente un 95% de nivel de confianza)

**Tabla A6.6: incertidumbres relativas estándar de los efectos y las incertidumbres combinadas de ambos analitos**

Efecto	Incertidumbre estándar relativa (%)	
	Cd	P
Variación “entre ubicaciones”	5,4	2,9
Estrategia de muestreo	1,0	0,5
Profundidad	3,5	3,7
División	3,7	3,3
Secado	0,6	0,6
Análisis	5,2	9,7
<b>Incertidumbre combinada</b>	<b>9,1</b>	<b>11,3</b>

## 7 Comentarios

### 7.1 Contribución de los efectos

La tabla A6.6 refleja que el muestreo y el proceso de preparación de la muestra contribuye considerablemente en toda la incertidumbre de medida.

Para reconocer y evaluar la relevancia de los efectos individuales / etapas del proceso, se deben considerar varios aspectos:

- El efecto “*entre ubicaciones*” depende de la homogeneidad del área objeto de estudio y del número total de incrementos que se han cogido de cada cuadrado. Anteriores investigaciones muestran que 20 incrementos por hectárea de tierra cultivable producen una contribución de incertidumbre del orden de la incertidumbre analítica.
- *El error debido a la estrategia de muestreo* es difícil de cuantificar, pero con frecuencia puede ser mucho mayor de lo observado en este caso. Prácticamente solo puede controlarse mediante el “juicio experto” en la distribución a gran escala del analito sobre el área y en la elección de una estrategia de muestreo adecuada.
- Con el modelo de cálculo del *efecto de la profundidad*, éste se ha tratado como un error sistemático desconocido, esto es, la desviación con la profundidad ocurre cuando todos los incrementos (más o menos) están en la misma dirección. Esto se puede llevar a cabo bajo unas condiciones específicas, por ejemplo, un suelo arenoso y seco tiende a caerse en el extremo inferior de la barrena, de modo que la profundidad del incremento promedio sería demasiado pequeña. Si se detecta dicho efecto, entonces es posible la corrección de la desviación sistemática y solo se debe considerar el componente de error aleatorio (es decir, la incertidumbre disminuye con el factor  $1 / \sqrt{n_{\text{incr}}}$ ). La competencia del muestreador puede reducir este “error de materialización puntual”.
- El *efecto de la división* es difícil de controlar porque la reducción inicial de la masa suele realizarse en campo. Esto puede contribuir significativamente si el método de

reducción de masa es inapropiado o aplicado inadecuadamente. Consecuentemente, el entrenamiento del personal de muestreo es de gran importancia.

- El *efecto del contenido de humedad* para muestras de suelo secadas al aire no parece significativo en este caso.
- La incertidumbre del *proceso analítico* puede contribuir de manera importante en la incertidumbre combinada de medida (ej.: para el cadmio). Esto puede controlarse si se cumplen los métodos habituales de garantía de calidad analítica (ej.: un uso periódico de MRC y la participación en intercomparaciones).
- Los efectos que no se consideraron en este estudio incluyen la duración y el alcance de las fuerzas dentro del proceso de molienda y tamizado, y la humedad de la masa del suelo durante el proceso de muestreo. Se consideró que la influencia de estos efectos no era significativa, aunque estos supuestos deberían verificarse.

## 8 Evaluación de la adecuación al uso de estas mediciones

Para medidas rutinarias acorde con el protocolo de muestreo se debe analizar por duplicado una muestra compuesta de aproximadamente 10 incrementos.

En este estudio para la estimación de las contribuciones a la incertidumbre de efectos individuales, se han adicionado 10 incrementos y se han preparado y analizado 20 muestras compuestas.

Este esfuerzo y coste adicionales no son apropiados para mediciones de rutina. Sin embargo, si el tipo principal de investigación realizada por el laboratorio son mediciones en tierra cultivable, dicho estudio podría ser valioso para obtener un valor característico del componente del "error de muestreo". Además, una evaluación de los componentes del error (es decir, la evaluación de incertidumbre) también será útil para optimizar el proceso de medición.

## 9 Informes e interpretación

Las medidas de la concentración media para el área de suelo superficial tienen un valor de incertidumbre expandida que puede ser expresada como 0,06 mg kg<sup>-1</sup> o 18,2% del valor de la concentración de cadmio, y 26 mg kg<sup>-1</sup> o 22,6% para fósforo.

## 10 Resumen

Analito	Incertidumbre de medida*		
	Muestreo	Análisis	Total
Cd	15,0%	10,4%	18,2%
P	11,6%	19,4%	22,6%

\*con un valor de cobertura de 2 (es decir, un 95% de confianza)

---

## Apéndice B: Terminología

**Exactitud** Grado de concordancia entre el resultado de una medición y el valor verdadero.

*Notas:*

*1 En la práctica, el valor de referencia aceptado se sustituye por el valor verdadero.*

*2 El término “exactitud”, cuando se aplica a un conjunto de resultados de mediciones, implica una combinación de componentes aleatorios y un componente de error sistemático o sesgo.*

*3 La exactitud se refiere a una combinación de veracidad y precisión (3.3.4)*

ISO 3534-2: (2006) [63]

**Sesgo** Diferencia entre el valor razonablemente atribuido al mensurando y el valor verdadero

*Notas:*

*1 El sesgo es el error sistemático total en contraste con el error aleatorio. Puede existir uno o más componentes de error sistemático que contribuyan al sesgo. Una diferencia sistemática mayor con el valor verdadero se traduce en un valor de sesgo mayor.*

*2 El sesgo de un instrumento de medida se estima normalmente promediando el error de indicación dado en un número apropiado de mediciones repetidas. El error de indicación es: "el valor de indicación de un instrumento de medida menos el valor verdadero de la correspondiente cantidad de entrada".*

*3 En la práctica, el valor de referencia aceptado se sustituye por el valor verdadero.*

ISO 3534-2: (2006) [63]

**Muestra compuesta (también promedio y agregada)** Dos o más incrementos/submuestras mezcladas en porciones apropiadas, bien sea de forma discreta o continua (muestra compuesta mezclada), de donde se puede obtener el valor promedio de una característica deseada.

AMC (2005) [64]

**Muestra duplicada** Una de las dos (o más\*) muestras o submuestras obtenidas por separado al mismo tiempo mediante el mismo procedimiento de muestreo o de submuestreo. \*en el caso de muestras replicadas.

**Muestra replicada**

*Nota: Cada una de las muestras duplicadas es obtenida de un “punto de muestreo/toma de muestra” diferente dentro de un mismo “emplazamiento de muestreo/toma de muestra”.*

AMC (2005) [64]

**Error de resultado** Resultado de test o resultado de medición menos el valor verdadero

*Notas:*

*1 En la práctica, el valor de referencia aceptado se sustituye por el valor verdadero.*

*2 El error es la suma de los errores sistemáticos y aleatorios.*

Adaptado de ISO 3534-2: (2006) [63] (Nota omitida)

**Adecuación al uso** Grado en que los datos producidos por un proceso de medición permiten al usuario tomar decisiones técnicas y administrativas correctas para un propósito establecido.

*Nota: Según lo definido para la ciencia analítica.*

Thompson and Ramsey (1995) [16]

**Homogeneidad, heterogeneidad** Grado en el que una propiedad o componente se distribuye uniformemente en una cantidad de material.

*Notas:*

*1. Un material puede ser homogéneo con respecto a un analito o propiedad, pero heterogéneo con respecto a otro.*

*2. El grado de heterogeneidad (lo opuesto a la homogeneidad) es el factor determinante del error de muestreo.*

IUPAC (1990) [9]

<b>Incremento</b>	<p>Porción individual de material recogido mediante una única operación de un dispositivo de muestreo/toma de muestra.</p> <p>IUPAC (1990) [9], AMC (2005) [64]</p>
<b>Muestra de laboratorio</b>	<p>Muestra preparada para enviar al laboratorio y destinada a inspección o ensayo.</p> <p>ISO 78-2 (1999) [65]</p>
<b>Mensurando</b>	<p>Cantidad destinada a ser medida.</p> <p>JCGM 200:2012 [43]</p>
<b>Incertidumbre de medición</b>	<p><i>ver</i> Incertidumbre de medida.</p>
<b>Precisión</b>	<p>Grado de proximidad entre resultados independientes de ensayo/ medición obtenidos bajo condiciones establecidas.</p> <p><i>Notas:</i></p> <p><i>1. La precisión depende solo de la distribución de errores aleatorios y no se relaciona con el valor verdadero o el valor de referencia.</i></p> <p><i>2. La medida de precisión generalmente se expresa en términos de imprecisión y se calcula como la desviación estándar de los resultados del ensayo o medición. Una menor precisión se refleja en una desviación estándar mayor.</i></p> <p><i>3 Las medidas cuantitativas de precisión dependen de forma crítica de las condiciones establecidas. Las condiciones de repetibilidad y las condiciones de reproducibilidad son conjuntos particulares de condiciones extremas establecidas.</i></p> <p>ISO 3534-2: (2006) [63]</p>
<b>Muestra primaria</b>	<p>Toma de uno o más incrementos o unidades cogidas inicialmente de una población.</p> <p><i>Nota: El término primario, en este caso no se refiere a la calidad de la muestra, sino al hecho de que la muestra fue tomada durante la etapa más temprana de la medición.</i></p> <p>IUPAC (1990) [9], AMC (2005) [64]</p>

---

<b>Error aleatorio de resultado</b>	<p>Componente del error de resultado que, a lo largo de un número de resultados de test o de resultados de medición, para la misma característica o cantidad, varía de manera imprevisible.</p> <p><i>Nota: No es posible corregir el error aleatorio.</i></p> <p>ISO 3534-2: (2006) [63]</p>
<b>Muestra aleatoria</b>	<p>Muestra obtenida mediante un muestreo aleatorio.</p> <p>ISO 3534-2: (2006) [63] (Nota omitida)</p>
<b>Muestreo aleatorio</b>	<p>Muestreo donde se toma una muestra formada por <math>n</math> unidades muestrales de una población, de manera que todas las combinaciones posibles de las <math>n</math> unidades muestrales tienen una probabilidad particular de ser seleccionadas.</p> <p>ISO 3534-2: (2006) [63]</p>
<b>Muestreo aleatorio simple</b>	<p>Muestreo donde se toma una muestra de <math>n</math> unidades muestrales de una población de tal manera que todas las combinaciones posibles de las <math>n</math> unidades muestrales tengan la misma probabilidad de ser seleccionadas.</p> <p><i>Nota 1: En un muestreo a granel, si la unidad de muestreo es un incremento, la posición, delimitación y extracción de los incrementos es tal que todas las unidades de muestreo tienen la misma probabilidad de ser seleccionadas.</i></p> <p>ISO 3534-2: (2006) [63]</p>
<b>Muestreo de referencia</b>	<p>Caracterización de un área, utilizando un único dispositivo de muestreo y un solo laboratorio, hasta un grado de detalle tal que permita la configuración de un modelo de distribución para predecir las concentraciones de elementos, con incertidumbre conocida, en cualquier punto de muestreo.</p> <p>IUPAC (2005) [66]</p>

<b>Objeto de estudio de muestreo de referencia</b>	<p>El análogo en el muestreo de un material de referencia o material de referencia certificado (en análisis químico).</p> <p><i>Nota: En un objeto de estudio del muestreo, las concentraciones de uno o más elementos están bien caracterizadas en términos de variabilidad espacial / temporal. Análogamente ocurre en el muestreo de un material de referencia o un material de referencia certificado (en análisis químico) (notas adaptadas del borrador de recomendaciones de IUPAC (2003); originalmente definido en la Guía ISO 30: 1992).</i></p> <p>Thompson and Ramsey (1995) [16]</p>
<b>Muestra representativa</b>	<p>Muestra resultante de un plan de muestreo de la que se puede esperar que refleje adecuadamente las propiedades de interés en la población original.</p> <p>IUPAC (1990) [9], AMC (2005) [64]</p>
<b>Muestra</b>	<p>Porción de material seleccionado proveniente de una mayor cantidad de ese material.</p> <p>IUPAC (1990) [9], AMC (2005) [64]</p>
<b>Preparación de la muestra</b>	<p>Conjunto de operaciones necesarias para transformar una muestra agregada o a granel en una muestra de laboratorio o de ensayo.</p> <p><i>Ej.: Reducción del tamaño de partícula, mezcla y división de una muestra.</i></p> <p><i>Notas:</i></p> <p><i>1. Para materiales particulados, la finalización de cada operación de división de la muestra define el comienzo de la siguiente etapa de preparación de la muestra.</i></p> <p><i>2. La preparación de la muestra no debe, en la medida de lo posible, modificar las características de la muestra para representar a la población de la que se tomó.</i></p> <p>Adaptado de la ISO 3534-2: (2006) [63] (redacción modificada para incluir una muestra agregada o a granel, y su relevancia para la medición química)</p>

<b>Pretratamiento de la muestra</b>	<p>Nombre común para todos los procedimientos utilizados con el fin de acondicionar una muestra a un estado definido que permita su posterior examen o análisis o almacenamiento a largo plazo.</p> <p><i>Nota 1: El pretratamiento de la muestra incluye, ej.: mezcla, división, secado, trituración, estabilización.</i></p> <p>Adaptado de la ISO 11074:2015 [67] (eliminada la restricción a muestras de suelo)</p>
<b>Tamaño muestral</b>	<p>Número de unidades o cantidad de material que constituye una muestra.</p> <p>ISO 11074:2015 [67], ISO 7002: A.40 (1986) [68]</p>
<b>Muestreador Personal de muestreo/toma de muestras</b>	<p>Persona o grupo de personas que realizan los procedimientos de muestreo en la ubicación del muestreo.</p> <p><i>Nota 1: Las herramientas y otros dispositivos para obtener muestras a veces también se designan como "muestreadores". En este caso, es preferible referirse a ellos como "dispositivos de muestreo" o "equipos de muestreo".</i></p> <p>ISO 11074:2015 [67]</p>
<b>Muestreo</b>	<p>Acción de obtener o constituir una muestra.</p> <p>ISO 3534-2: (2006) [63]</p>
<b>Sesgo de muestreo</b>	<p>Parte del sesgo de la medición total atribuible al muestreo.</p> <p>AMC (2005) [64]</p>
<b>Lugar de muestreo</b>	<p>Es el emplazamiento donde se realiza el muestreo dentro del objeto de estudio del muestreo. Puede utilizarse para designar la ubicación dentro de la cual se toman muestras duplicadas (o replicadas) en puntos de muestreo particulares.</p>
<b>Plan de muestreo</b>	<p>Procedimiento predeterminado para la selección, extracción, conservación, transporte y preparación de las porciones que se escogerán de una población como muestras.</p> <p>IUPAC (1990) [9], AMC (2005) [64]</p>

<b>Punto de muestreo/toma de muestra</b>	<p>Es el lugar donde se realiza el muestreo dentro del emplazamiento de muestreo. Puede usarse para un punto específico donde se toma una muestra duplicada (o replicada), dentro de un lugar de muestreo.</p> <p><i>Nota: La precisión con la que se ubica un punto de muestreo en el espacio o en el tiempo depende del método de estudio. Se toman muestras duplicadas de puntos de muestreo que reflejan esta precisión.</i></p>
<b>Precisión de muestreo</b>	<p>Es el componente de la precisión total de la medición atribuible al muestreo.</p> <p>AMC (2005) [64]</p>
<b>Procedimiento de muestreo</b>	<p>Requisitos operativos y / o instrucciones relacionadas con el uso de un plan de muestreo particular (es decir, son las instrucciones para la implementación del plan de muestreo).</p> <p>AMC (2005) [64]</p>
<b>Objeto de estudio del muestreo</b>	<p>Porción del material, en un momento concreto, que la muestra pretende representar.</p> <p><i>Notas:</i></p> <ol style="list-style-type: none"> <li><i>1. El objeto de estudio del muestreo debe definirse antes de diseñar el plan de muestreo.</i></li> <li><i>2. El objeto de estudio del muestreo puede estar definido por normas (ej.: tamaño del lote).</i></li> <li><i>3. Si las propiedades y características (ej.: composición química) de un cierto área o período son de interés y deben conocerse, puede establecerse entonces un objeto de estudio de muestreo.</i></li> </ol> <p>AMC (2005) [64]</p>
<b>Incertidumbre de muestreo</b>	<p>ver Incertidumbre del muestreo</p>
<b>Submuestra</b>	<p>Parte seleccionada de una muestra.</p> <p><i>Nota: La submuestra puede seleccionarse mediante el mismo procedimiento que se usó para seleccionar la muestra original, pero no es preciso que sea así.</i></p> <p>ISO 3534-2: (2006) [63] (“submuestra”)</p>

<b>Submuestreo (división de la muestra)</b>	<p>Proceso de selección de una o más submuestras a partir de la muestra de una población.</p> <p>ISO 11074:2015 [67]</p>
<b>Error sistemático del resultado</b>	<p>Componente del error del resultado que, en el transcurso de varios test o mediciones, para la misma característica o cantidad, permanece constante o varía de manera predecible.</p> <p><i>Nota: Tanto los errores sistemáticos como sus causas pueden ser o no conocidos.</i></p> <p>ISO 3534-2: (2006) [63]</p>
<b>Muestreo sistemático</b>	<p>Muestreo según un plan metódico.</p> <p>Adaptado de ISO 3534-2: (2006) [63] (Notas omitidas)</p>
<b>Porción de ensayo</b>	<p>Cantidad de material, de tamaño adecuado para medir la concentración u otra propiedad de interés, extraída de la muestra a ensayo.</p> <p>IUPAC (1990) [9], ISO 11074:2015 [67], AMC (2005) [64]</p>
<b>Muestra a ensayo</b>	<p>Muestra, preparada a partir de la muestra de laboratorio, de la cual se extraen las porciones correspondientes para test o análisis.</p> <p>IUPAC (1990) [9], ISO 11074:2015 [67], AMC (2005) [64]</p>
<b>Veracidad</b>	<p>Grado de concordancia entre la esperanza matemática de un resultado de test o de medición y un valor verdadero.</p> <p><i>Notas:</i></p> <p><i>1. La medida de la veracidad generalmente se expresa en términos de sesgo.</i></p> <p><i>2. La veracidad a veces se conoce como "la precisión de la media". No se recomienda este uso.</i></p> <p><i>3. En la práctica, el valor de referencia aceptado se sustituye por el valor verdadero.</i></p> <p>ISO 3534-2: (2006) [63]</p>

<b>Incertidumbre (de medida)</b>	<p>Parámetro, asociado con el resultado de una medición, que caracteriza la dispersión de los valores que podrían atribuirse razonablemente al mensurando.</p> <p><i>Notas:</i></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. El parámetro puede ser, por ejemplo, una desviación estándar (o un múltiplo dado), o semiintervalo que tiene un nivel de confianza establecido.</li> <li>2. La incertidumbre de medida comprende, en general, muchos componentes. Algunos de estos componentes pueden evaluarse a partir de la distribución estadística de los resultados de series de mediciones y pueden caracterizarse mediante desviaciones estándar experimentales. El resto de componentes, que también pueden caracterizarse a través de las desviaciones estándar, se evalúan a partir de distribuciones de probabilidad asumidas en función de la experiencia u otra información.</li> <li>3. Se entiende que el resultado de la medición es la mejor estimación del valor del mensurando, y que todas las componentes de la incertidumbre, incluidos las derivadas de efectos sistemáticos, como las componentes asociadas con correcciones y patrones de referencia, contribuyen a la dispersión.</li> <li>4. (añadido) Si el mensurando se define en términos de la cantidad dentro del objeto de estudio del muestreo, entonces la incertidumbre del muestreo se incluye dentro de la incertidumbre de medida.</li> </ol> <p>JCGM 100 (2008) / ISO/IEC Guide 98-3:2008 [2]</p>
<b>Factor de incertidumbre</b>	<p>El factor por el cual el valor medido se multiplica y se divide para generar los límites de un intervalo de incertidumbre.</p> <p>Ramsey and Ellison (2015) [23].</p>
<b>Incertidumbre del muestreo</b>	<p>Es el componente de la incertidumbre total de la medida atribuible al muestreo.</p> <p><i>Nota: También se conoce como incertidumbre de muestreo.</i></p> <p>IUPAC (2005) [66]</p>

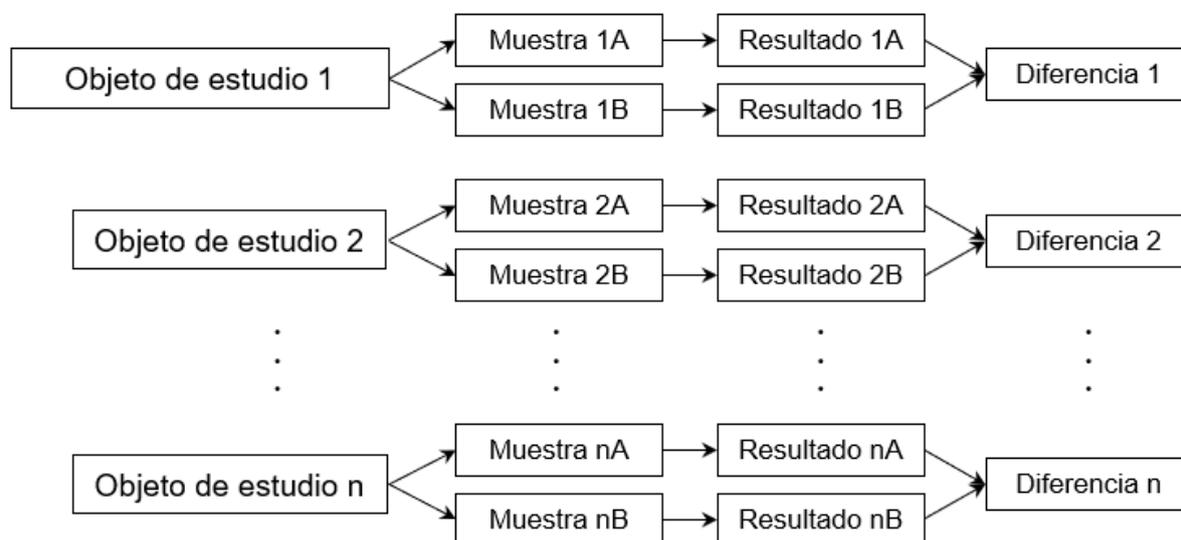
## Apéndice C: Procedimientos estadísticos de utilidad

### C1. Estimación del sesgo entre dos métodos de muestreo, mediante el uso de muestras pareadas

El método de muestras pareadas se efectúa recolectando una muestra, de acuerdo con los dos protocolos de muestreo considerados, y para cada uno de ellos un número ( $n > 20$  preferiblemente) de objetos de estudio del muestreo. El método es especialmente adecuado para comparar un nuevo protocolo con un protocolo en rutina, pero también es de aplicación general. Para cada método, el procedimiento de muestreo debe hacerse aleatorio de alguna manera, por ejemplo, comenzando la recolección de incrementos en una posición aleatoria dentro del objeto de estudio del muestreo y orientando la secuencia de incrementos en una dirección aleatoria. Las muestras recolectadas se analizan en condiciones aleatorias de repetibilidad, de tal modo que se reduzca el sesgo analítico.

El diseño que se muestra a continuación en la Figura C1.1, garantiza un mínimo de trabajo adicional en cada objeto de estudio del muestreo, de modo que el experimento se puede ejecutar a bajo coste y sin interrumpir el flujo del muestreo de rutina. El resultado también es robusto, porque deriva de los datos recopilados de muchos objetos de estudio típicos pero diferentes. Por lo tanto, representa el sesgo promedio entre los resultados de los dos protocolos, en lugar del sesgo encontrado en un solo objeto de estudio, que puede resultar atípico.

**Figura C1.1: Diseño del experimento para estimar el sesgo entre dos métodos de muestreo**

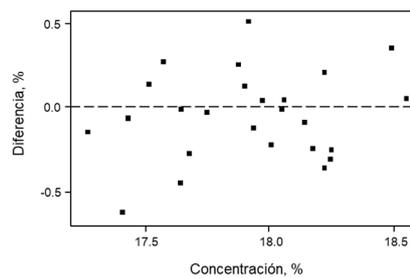


Diseño del experimento para estimar el sesgo entre dos métodos de muestreo A y B, mediante la recolección de muestras pareadas en cada objeto de estudio.

La primera etapa del examen de los resultados es verificar si las diferencias pareadas dependen de la concentración del analito. Esto es particularmente probable que suceda si el rango de concentraciones encontrado en objetos de estudio sucesivos es amplio. Un diagrama de dispersión proporciona una verificación visual útil. Cuando no hay dependencia, la estimación del sesgo es la media de las diferencias pareadas con su signo, y esta media se

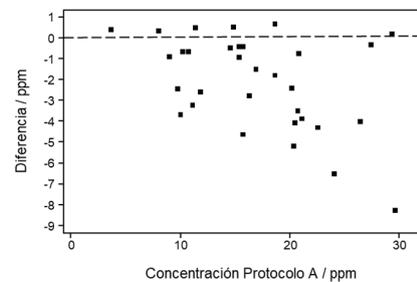
puede evaluar para determinar si hay diferencias significativas respecto del cero de la forma habitual. En el ejemplo que se muestra en la Figura C1.2, no existe una dependencia aparentemente significativa entre la diferencia (con signo) y la concentración, y el sesgo entre los métodos no es significativamente diferente de cero con un nivel de confianza del 95% mediante el test-t de las dos muestras problema. Cuando existe un sesgo claro que depende de la concentración, como en la Figura C1.3, el sesgo debe expresarse en función de la concentración. En el caso mostrado, hay evidencia (establecida mediante una función matemática [59]) de un sesgo rotacional significativo con una tendencia expresada mediante la ecuación Resultado (B) = Resultado (A) × 1,2.

Figura C1.2: Sin sesgo o tendencia significativa



Diferencias entre los resultados de dos protocolos de muestreo aplicados a 25 objetos de estudio, en función de la concentración. No hay un sesgo significativo ni se sugiere una dependencia del sesgo con la concentración.

Figura C1.3: Sesgo significativo y tendencia



Diferencias entre los resultados de dos protocolos de muestreo aplicados a 33 objetos de estudio, representados en función de la concentración. Hay un sesgo significativo (porque 27/33 de los resultados son negativos) y el sesgo absoluto aumenta al aumentar la concentración.

## C2. Descripción adicional de los errores de muestreo a partir de la teoría de muestreo

**C2.1 El error de ponderación (SWE** de sus siglas en inglés) forma su propia clase. Surge, por ejemplo, si el lote (objeto de estudio del muestreo) consta de sublotes de diferentes tamaños, pero donde la concentración media se estima como una media simple, sin tener en cuenta los tamaños de los sublotes. El método correcto consiste en calcular la media ponderada utilizando los tamaños de los sublotes como pesos de ponderación. En el análisis de material en movimiento, se genera un error de ponderación si el caudal varía, pero no se tiene en cuenta al calcular la media; en este caso, los caudales deberían registrarse simultáneamente con el muestreo y usarse como factores de ponderación para calcular la media. Otra opción es usar un dispositivo de muestreo que obtiene muestras cuyo tamaño es proporcional al caudal, y usar los tamaños de muestra como factores de ponderación en el cálculo de la media. Cabe señalar que, si una muestra compuesta está hecha de submuestras, entonces se debe usar un muestreo proporcional; de lo contrario, se genera un error de ponderación en la muestra compuesta.

**C2.2 El error de agrupamiento y segregación (GSE** de sus siglas en inglés) es el segundo término de error relacionado con errores de corto alcance. Es causado por el hecho de que la muestra normalmente no se toma fragmento a fragmento, sino como un grupo de fragmentos. Si hay segregación en el material, puede darse este tipo de error. Este error normalmente no se estima. Gy ha demostrado, sin embargo que, si el muestreo se realiza correctamente, GSE es menor o, como máximo, igual al error de muestreo fundamental (FSE).

**C2.3 Error de selección del punto (PSE** de sus siglas en inglés). Cuando la media de un objeto continuo (ej.: un proceso en flujo, un río, un sitio contaminado, ...) se estima utilizando muestras discretas, la incertidumbre de la media depende de la estrategia de muestreo, porque los resultados generalmente están *auto correlacionados*. Este error se denomina error de selección de puntos (PSE) y depende de la estrategia de muestreo. Se pueden aplicar tres estrategias básicas para tomar las muestras (ver Figura C2.1):

- 1) **Muestreo aleatorio:** El tiempo o la ubicación de los  $N$  puntos de muestreo se distribuyen aleatoriamente a lo largo del objeto de estudio.
- 2) **Muestreo estratificado (aleatorio):** El lote se divide primero en  $N$  sublotes y dentro de cada sublote se asigna aleatoriamente el punto de muestreo.
- 3) **Muestreo sistemático (estratificado):** Todas las  $N$  muestras se recogen a distancias iguales (caso unidimensional) o en un patrón simétrico fijo (objetos de estudio que desde el punto de vista de muestreo tienen dos o más dimensiones).

### Estimación de la desviación estándar de la media del lote

$$\text{Muestreo aleatorio: } s(a_L) = \frac{s_p}{\sqrt{N}}$$

$$\text{Muestreo estratificado: } s(a_L) = \frac{s_{\text{estrat}}}{\sqrt{N}}$$

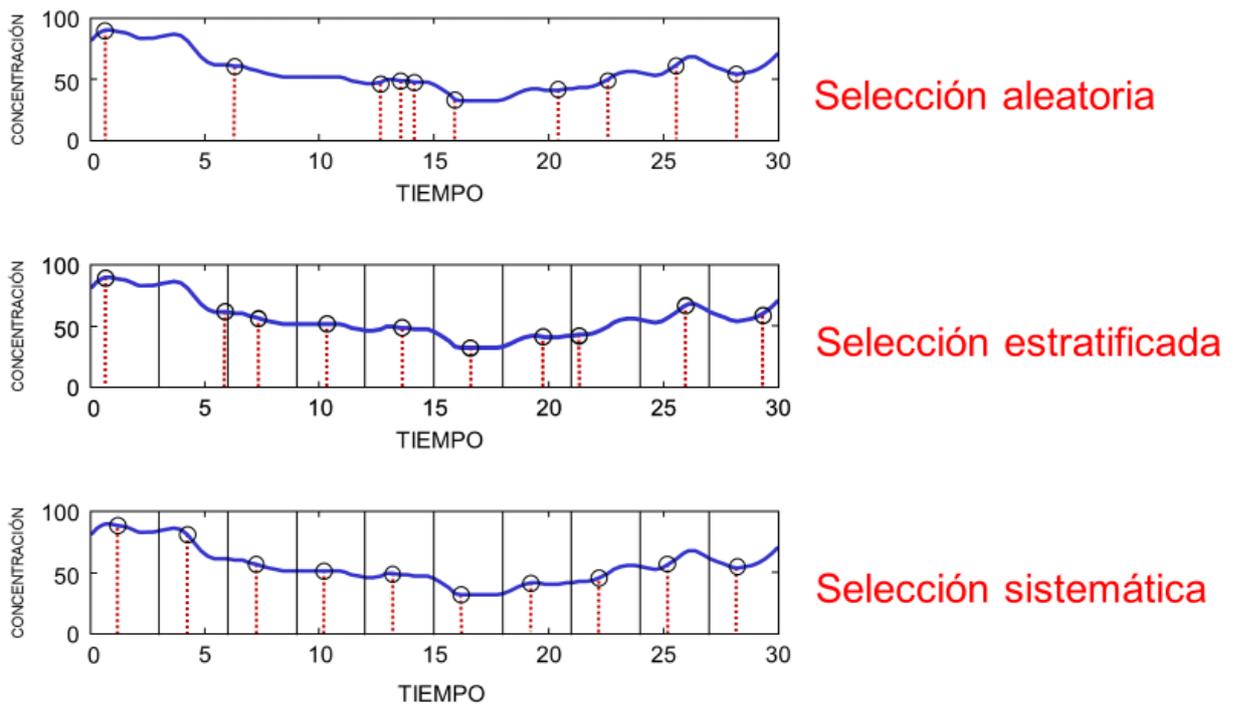
$$\text{Muestreo sistemático: } s(a_L) = \frac{s_{\text{sist}}}{\sqrt{N}}$$

$s_{\text{estrat}}$  y  $s_{\text{sist}}$  son estimaciones de desviación estándar, donde se ha tenido en cuenta la autocorrelación.

Nota: Estas ecuaciones suponen incrementos de igual tamaño. Para otras circunstancias, ver, por ejemplo, la referencia [69]

Normalmente el orden es  $s_p > s_{estrat} > s_{sist}$ , excepto cuando en el muestreo sistemático la frecuencia de muestreo es un múltiplo de la frecuencia del proceso. En este caso, el muestreo sistemático es la peor opción y la media puede estar sesgada.

Figura C2.1: Estrategias de muestreo



Diez muestras seleccionadas del objeto de estudio utilizando estrategias de selección *aleatoria*, *estratificada* aleatoria y *sistemática* estratificada.

### Estimación del PSE

La heterogeneidad de distribución de un lote unidimensional se puede caracterizar mediante la realización de un experimento variográfico, es decir, se recogen  $N$  muestras del objeto de estudio mediante la selección sistemática de muestras.  $N$  debe ser al menos 30, preferiblemente 60...100. Se debe utilizar un muestreo proporcional de flujo cruzado o, si no es posible (cuando se muestrean grandes corrientes de gas o líquido), el caudal debe registrarse simultáneamente con el tiempo de muestreo. De estos resultados, la heterogeneidad experimental  $h_i$  se puede calcular como la variación relativa sobre la media del lote (o la media del objeto de estudio del muestreo). Cuando  $N$  muestras de tamaño  $M_i$  se toman y analizan los resultados son  $a_i$ . Si no se puede realizar un muestreo proporcional,  $M_i$  también puede ser el caudal.

$$h_i = \frac{a_i - a_L}{a_L} \frac{M_i}{M} \quad (i=1,2,\dots,N)$$

donde  $a_L$  es la media ponderada del lote:

$$a_L = \frac{\sum M_i a_i}{\sum M_i} = \frac{1}{N} \sum \left(\frac{M_i}{M}\right) a_i$$

La desviación estándar de la heterogeneidad  $h$  es igual a la *desviación estándar relativa* del lote o proceso,  $s_p$ .

Para caracterizar la variabilidad del proceso, se calcula un variograma experimental a partir de las heterogeneidades:

$$V_j = \frac{1}{2(N-j)} \sum_{i=1}^{N-j} (h_{i+j} - h_i)^2, \quad j=1, 2, \dots, \frac{N}{2}$$

El variograma debe integrarse para estimar el PSE para diferentes estrategias de muestreo. Gy utiliza una integración numérica robusta.

### C3. Empleo de software para cálculos

El análisis de varianza clásico (ANOVA) está disponible en la mayoría de los programas de hojas de cálculo generales para ANOVA de un factor, pero el resultado generalmente no incluye valores explícitos para todas las variaciones de componentes. Las pruebas F y otras pruebas estadísticas habituales para la distribución normal también se implementan en la mayoría de las hojas de cálculo.

RSC / AMC ofrecen programas para métodos estadísticos clásicos y robustos generales. Los programas diseñados para admitir aplicaciones desde el enfoque empírico descrito en esta Guía, incluyen RANOVA para diseños balanceados y no balanceados, y RANOVA2 para los mismos, pero también incluyen la estimación del factor de incertidumbre, y opcionalmente para diseños con más de dos réplicas de muestra.

(<http://www.rsc.org/Membership/Networking/InterestGroups/Analytical/AMC/Software/index.asp>).

Las pruebas de detección de aberrantes (ej.: los tests de Grubbs o Dixon) se encuentran menos disponibles por norma general, ya que es software para el método de intervalo (pareado). Sin embargo, este método puede implementarse de manera relativamente simple usando funciones máximas y mínimas en una hoja de cálculo.

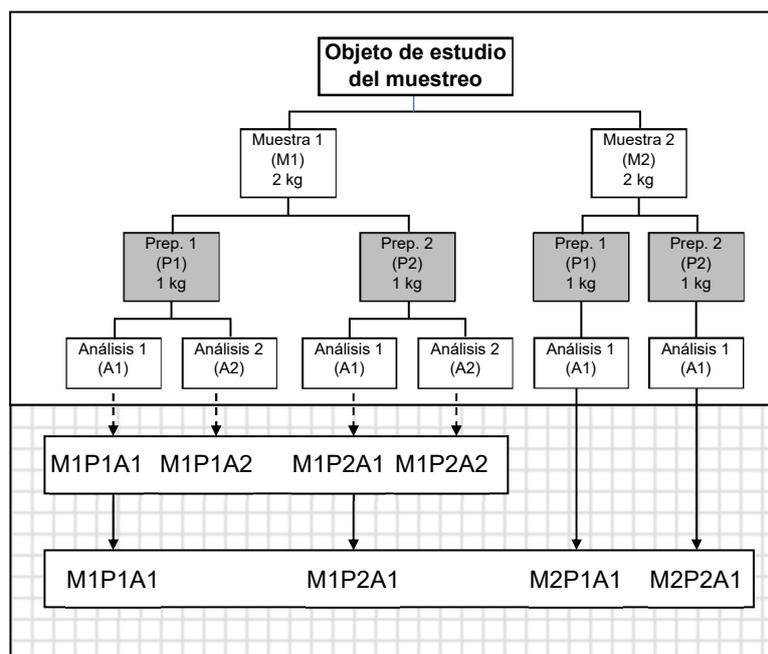
Los cálculos de intervalo (demostrados en la Sección 7 del Apéndice A3) se realizan fácilmente utilizando una hoja de cálculo estándar.

## Apéndice D: Diseños experimentales alternativos para la estimación empírica de la incertidumbre

### D1. Diseños de niveles múltiples para estimar efectos de otros componentes

El diseño general balanceado para la estimación empírica de la incertidumbre (Figura 2) incluye la incertidumbre de la preparación física de la muestra con la etapa "muestra". Puede utilizarse un diseño experimental alternativo (Figura D.1) para hacer una estimación separada de la incertidumbre de este origen ( $s_{prep}$ ). Se preparan por separado dos submuestras de las dos muestras primarias (cajas grises en la Figura D.1). Se toman porciones a ensayo duplicadas de estas submuestras para que también se pueda estimar la contribución analítica. El método ANOVA estándar robusto se puede utilizar para separar todas estas fuentes de variación (Figura A1.2, y Apéndice C3), seleccionando dos subconjuntos diferentes de cuatro mediciones, que se muestran en la Figura D.1. Los detalles completos de la aplicación de este diseño al muestreo de alimentos se pueden consultar en la referencia [22].

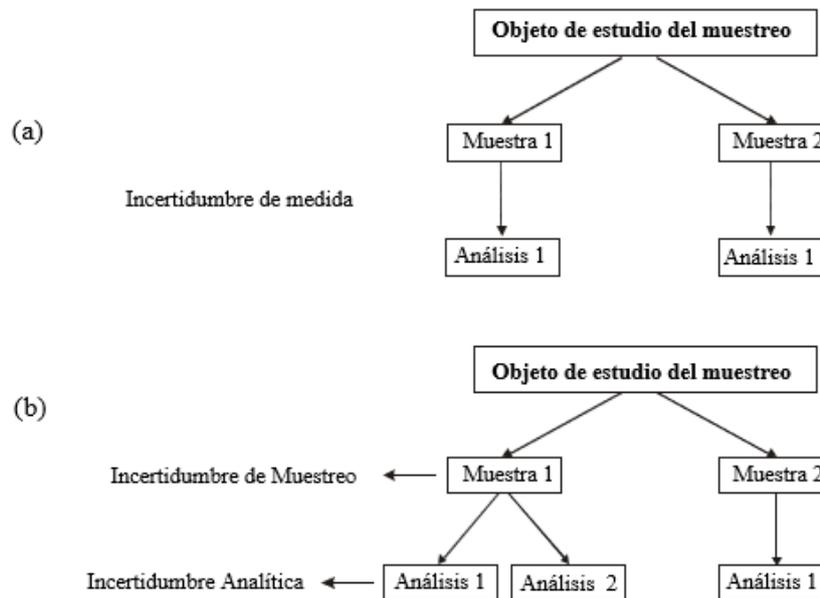
Figura D.1: Diseño experimental utilizado para la estimación de la incertidumbre de la preparación de la muestra, así como la del muestreo y el análisis



\* La sección superior representa el diseño experimental de tres niveles y no balanceado. El nivel adicional en este diseño experimental, requerido para la evaluación de  $s_{prep}$ , se muestra en los cuadros grises. La sección inferior (sombreada) muestra los grupos de datos necesarios para la aplicación de ANOVA para proporcionar estimaciones de  $s_{muestra}$ ,  $s_{prep}$  y  $s_{anal}$ , es decir, el diseño estadístico. Figura tomada de [22] con el permiso de la Royal Society of Chemistry.

D2. Diseños simplificados y no balanceados, para reducir el coste de implementación

Figura D.2: Dos alternativas simplificadas al diseño totalmente balanceado (Figura 2) que puede aplicarse para reducir el coste de estimar la incertidumbre de la medida utilizando el enfoque empírico: (a) el diseño balanceado simplificado, y (b) el diseño no balanceado



El diseño simplificado (Figura D.2a) tiene las mismas muestras duplicadas que en el diseño totalmente balanceado (Figura 2), pero no incluye análisis químicos duplicados. La incertidumbre estimada con este diseño proporciona la incertidumbre de medida total, sin ningún valor para las componentes de la incertidumbre del muestreo o el análisis. Si se requieren estas componentes, la incertidumbre analítica puede ser estimada externamente por el laboratorio, y eliminada de la incertidumbre total, para dar una estimación separada de la incertidumbre del muestreo, utilizando la Ecuación 1. La principal ventaja de este diseño es el coste analítico de implementación, que es solo la mitad del coste del diseño totalmente balanceado, para la misma cantidad de muestras duplicadas. De manera alternativa, se puede tomar el doble del número de muestras duplicadas, del doble del número de objetos de estudio para aumentar su representatividad haciendo el mismo gasto en análisis químico.

El diseño no balanceado (Figura D.2b) es intermedio entre estos dos diseños, con solo un duplicado analítico realizado en una de las muestras duplicadas. Esto tiene la ventaja de proporcionar estimaciones de las componentes de incertidumbre analíticas y de muestreo, así como la incertidumbre de medida total (con las mismas precauciones que las mencionadas para el diseño completamente balanceado en la Sección 9.4.2). Los costes analíticos adicionales se reducen en un 33% en comparación con los del caso totalmente balanceado. Los grados de libertad en este caso son similares a los de las estimaciones de la varianza analítica y de muestreo, que es más ventajoso que los grados adicionales de libertad para la incertidumbre analítica en el caso totalmente balanceado.

El ANOVA clásico se puede aplicar a los resultados de ambos diseños empleando diversos paquetes de software de hoja de cálculo diferentes (Apéndice C3). El ANOVA robusto ha sido desarrollado para diseños balanceados y no balanceados [53]. La referencia [20] también proporciona un ejemplo de un trabajo que demuestra las ventajas del diseño no balanceado sobre el diseño balanceado.

**Apéndice E: Modificación de la incertidumbre de muestreo utilizando predicciones de la teoría de muestreo**

Una vez que se ha estimado la incertidumbre del muestreo, y si se determina que no es adecuada para el fin previsto, puede ser necesario modificar este nivel de incertidumbre.

Se pueden hacer predicciones sobre cómo lograr esta modificación utilizando la teoría de muestreo (Sección 10.2). Varias teorías predicen que la varianza del muestreo es inversamente proporcional a la masa de la muestra tomada (ej.: la ecuación 6).

Esto conduce a la predicción de que cualquier modificación requerida de la incertidumbre del muestreo (desde  $u_{muestra1}$  hasta  $u_{muestra2}$ ) se puede calcular cambiando la masa de la muestra (desde  $m_{m1}$  hasta  $m_{m2}$ ) empleando la siguiente relación:

$$m_{m2} = (u_{muestra1} / u_{muestra2})^2 \cdot m_{m1} \quad \dots\dots\dots(\text{Ecuación E1})$$

Este enfoque se ilustra en el estudio del caso de nitrato en lechuga en el Ejemplo A1. Se demostró que la incertidumbre del muestreo no era adecuada para el fin previsto (por el método en la Sección 16.3), y se calculó que la incertidumbre óptima requerida era menor en un factor de aproximadamente 2. La ecuación E1 predice que esto debería lograrse aumentando el tamaño de la muestra en un factor de 4 (es decir,  $2^2$ ). La implementación de esta predicción al aumentar el número de incrementos de 10 cogollos a 40 cogollos de lechuga por lote, logró la reducción prevista en la incertidumbre de muestreo en este caso (es decir, por un factor de 1,80, que no es diferente de forma estadísticamente significativa de la mejora prevista de 2,0) [55]. No siempre se logran en la práctica tales predicciones exitosas. En un ejemplo diferente para la determinación de la humedad en la mantequilla, se calculó una reducción prevista de 3,7 en la  $u_{muestra}$ , para buscar un aumento en  $m_m$  en un factor de 14. En la práctica, este aumento en el tamaño de la muestra solo produjo una mejora experimental de 1,3. La incapacidad de este modelo para predecir el cambio en la incertidumbre del muestreo probablemente fue debida a la naturaleza de la heterogeneidad de los analitos en ese material en particular [70].

---

**Bibliografía**

- 1 Ellison S L R, Williams A (eds) (2012) Eurachem/CITAC Guide: *Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement*, 3<sup>rd</sup> edition, ISBN 978-0-948926-30-3. Available from <http://www.eurchem.org/>
- 2 JCGM 100:2008 *Evaluation of measurement data - Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement* (GUM). Sevres, (2008). <http://www.bipm.org/en/publications/guides/gum.html>. Also available as ISO/IEC CD Guide 98-3, *Evaluation of measurement data - Part 3: Guide to uncertainty in measurement (GUM)*, International Organization for Standardization, Geneva (2008)
- 3 Ellison S L R, Roesslein M, Williams A (eds) (1995) Eurachem Guide: *Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement*, Eurachem, 1st edition. ISBN 0-948926-08-2
- 4 Analytical Methods Committee (1995) Uncertainty of measurement: implications of its use in analytical science. *Analyst*, 120, 2303–2308.
- 5 ISO 21748:2017 Guidance for the use of repeatability, reproducibility and trueness estimates in measurement uncertainty evaluation. International Organization for Standardization, Geneva (2017)
- 6 Gy P M (1979) *Sampling of Particulate Materials – Theory and Practice*. Elsevier, Amsterdam, 431pp.
- 7 Codex (2004) General Guidelines on Sampling. CAC/GL-2004 ([http://www.codexalimentarius.net/download/standards/10141/CXG\\_050e.pdf](http://www.codexalimentarius.net/download/standards/10141/CXG_050e.pdf))
- 8 Nordtest (2007) Uncertainty from sampling. A Nordtest handbook for sampling planners and sampling quality assurance and uncertainty estimation. NT tec 604/TR604 ([www.nordicinnovation.net](http://www.nordicinnovation.net))
- 9 IUPAC (1990) Nomenclature for sampling in analytical chemistry (Recommendations 1990), prepared for publication by Horwitz W, *Pure and Applied Chemistry*, 62, 1193–1208.
- 10 Lee J C, Ramsey M H (2001) Modelling measurement uncertainty as a function of concentration: an example from a contaminated land investigation. *Analyst*, 126 (10), 1784–1791.
- 11 Ellison, S L R, Ramsey M H, Lawrance P, Stuart B, Minguez J, Walker M J (2017) Is measurement uncertainty from sampling related to analyte concentration? *Analytical Methods*, 9, 5989–5996. DOI: 10.1039/C7AY00752C. <http://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2017/ay/c7ay00752c#!divAbstract>
- 12 Magnusson B, Näykki T, Hovind H, Krysell M, Sahlin E, Handbook for calculation of measurement uncertainty in environmental laboratories, Nordtest Report TR 537 (ed. 4) 2017. Available from [www.nordtest.info](http://www.nordtest.info)
- 13 Gy P M (1992) *Sampling of Heterogeneous and Dynamic Material Systems*. Elsevier, Amsterdam.
- 14 Magnusson B. and Örnemark U. (eds.) Eurachem Guide: *The Fitness for Purpose of Analytical Methods – A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics*, (2nd ed. 2014). ISBN 978-91-87461-59-0.
- 15 Ramsey M H, Squire S, Gardner M J (1999) Synthetic reference sampling target for the estimation of measurement uncertainty. *Analyst*, 124 (11), 1701–1706.
- 16 Thompson M, Ramsey M H (1995) Quality concepts and practices applied to sampling – an exploratory study. *Analyst*, 120, 261–270.
- 17 Ramsey M H, Geelhoed B, Damant, AP, Wood, R (2011) Improved evaluation of measurement uncertainty from sampling by inclusion of between-sampler bias using sampling proficiency testing. *Analyst*, 136 (7), 1313 – 1321. DOI:10.1039/C0AN00705F.
- 18 Ramsey M H (1998) Sampling as a source of measurement uncertainty: techniques for quantification and comparison with analytical sources. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 13, 97–104.
- 19 Lyn J A, Ramsey M H, Coad D S, Damant A P, Wood R, Boon K A (2007) The duplicate method of uncertainty estimation: are 8 targets enough? *Analyst* 132, 1147–1152. DOI: 10.1039/b702691a.
- 20 Rostron P and Ramsey M H (2012) Cost effective, robust estimation of measurement uncertainty from sampling using unbalanced ANOVA. *Accreditation and Quality Assurance*. 17, 1, 7–14. DOI: 10.1007/s00769-011-0846-2

- 21 Ramsey M H and Ellison S L R (2017) Combined uncertainty factor for sampling and analysis. *Accreditation and Quality Assurance*, 22(4), 187-189 DOI 10.1007/s00769-017-1271-y
- 22 Lyn J A, Ramsey M H, Fussel R J, Wood R (2003) Measurement uncertainty from physical sample preparation: estimation including systematic error. *Analyst*, 128 (11), 1391 – 1398
- 23 Ramsey M H, Ellison S L R (2015) Uncertainty Factor: an alternative way to express measurement uncertainty in chemical measurement. *Accreditation and Quality Assurance*. 20, 2,153-155. doi:10.1007/s00769-015-1115-6
- 24 Ramsey M H, Argyraki A (1997) Estimation of measurement uncertainty from field sampling: implications for the classification of contaminated land. *Science of the Total Environment*, 198, 243–257.
- 25 De Zorzi P, Belli M, Barbizzi S, Menegon S, Deluisa A (2002) A practical approach to assessment of sampling uncertainty. *Accreditation and Quality Assurance*, 7, 182–188.
- 26 De Zorzi, Barbizzi S, Belli M, Barbina M, Fajgelj A, Jacimovic R, Jeran Z, Menegon S, Pati A, Petruzzelli G, Sansone U, Van der Perk M.(2008) Estimation of uncertainty arising from different soil sampling devices: The use of variogram parameters. *Chemosphere* 70, 745–752. DOI:10.1016/j.chemosphere.2007.07.068
- 27 Kurfurst U, Desaulles A, Rehnert A, Muntau H (2004) Estimation of measurement uncertainty by the budget approach for heavy metal content in soils under different land use. *Accreditation and Quality Assurance*, 9, 64–75.
- 28 Minkkinen P (2004) Practical applications of sampling theory. *Chemometrics and Intelligent Lab. Systems*, 74, 85–94.
- 29 Gy P M (1998) *Sampling for Analytical Purposes*. John Wiley & Sons Ltd, Chichester.
- 30 Gy P M (2004) Proceedings of First World Conference on Sampling and Blending. Special Issue of *Chemometrics and Intelligent Lab. Systems*, 74, 7–70.
- 31 Pitard F F (1993) *Pierre Gy's Sampling Theory and Sampling Practice*. CRC Press, Boca Raton, 2nd edition.
- 32 Smith P L (2001) *A Primer for Sampling Solids, Liquids and Gases – Based on the Seven Sampling Errors of Pierre Gy*. ASA SIAM, USA.
- 33 Analytical Methods Committee (2001). Robust statistics: a method of coping with outliers. Technical Brief No.6, Royal Society of Chemistry, London.  
<http://www.rsc.org/Membership/Networking/InterestGroups/Analytical/AMC/TechnicalBriefs.asp>
- 34 Ramsey M H (1993) Sampling and analytical quality control (SAX) for improved error estimation in the measurement of heavy metals in the environment, using robust analysis of variance. *Applied Geochemistry*, 2, 149–153.
- 35 Nordtest Sampler Certification, Version 1-0, Nordic Innovation Centre (2005).
- 36 Thompson M, Wood R (1995) Harmonised guidelines for internal quality control in analytical chemistry laboratories. *Pure and Applied Chemistry*, 67, 649–666.
- 37 Magnusson B, Naykki T, Hovind H, Krysell M (2003) *Handbook for Calculation of Measurement Uncertainty*. NORDTEST report TR 537 (project 1589-02). Can be obtained from [www.nordicinnovation.net/nordtest.cfm](http://www.nordicinnovation.net/nordtest.cfm) under link Rapporteur.
- 38 Thompson M, Coles B J, Douglas J K (2002) Quality control of sampling: proof of concept. *Analyst*, 127, 174–177.
- 39 Farrington D, Jervis A, Shelley S, Damant A, Wood R, Thompson M (2004) A pilot study of routine quality control of sampling by the SAD method, applied to packaged and bulk foods. *Analyst*, 129, 359–363.
- 40 Codex (2004) Guidelines on measurement uncertainty CAC/GL 54-2004.
- 41 Ellison S L R and Williams A (Eds). Eurachem/CITAC guide: Use of uncertainty information in compliance assessment. (First Edition, 2007). Available from [www.eurachem.org](http://www.eurachem.org).
- 42 ISO/IEC Guide 98-4:2012(en) Uncertainty of measurement — Part 4: Role of measurement uncertainty in conformity assessment. International Organization for Standardization, Geneva (2012).
- 43 JCGM 200:2012 International vocabulary of metrology – Basic and general concepts and associated terms (VIM) 3rd edition.

- 44 Bettencourt da Silva R, Williams A (Eds), Eurachem/CITAC Guide: Setting and Using Target Uncertainty in Chemical Measurement, (1st ed. 2015). Available from [www.eurachem.org](http://www.eurachem.org).
- 45 Ramsey M H, Thompson M, Hale M (1992) Objective evaluation of precision requirements for geochemical analysis using robust analysis of variance. *Journal of Geochemical Exploration*, 44, 23–36.
- 46 Thompson M, Fearn T (1996) What exactly is fitness for purpose in analytical measurement? *Analyst*, 121, 275–278.
- 47 Boon K A and Ramsey M H (2012) Judging the fitness of on-site measurements by their uncertainty, including the contribution from sampling. *Science of the Total Environment* 419, 196–207  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2011.12.001>
- 48 Ramsey M H and Boon K A (2012) Can *in situ* geochemical measurements be more fit-for-purpose than those made *ex situ*? *Applied Geochemistry* 27, 969-976. <http://dx.doi.org/10.1016/j.apgeochem.2011.05.022>
- 49 AMC (2018) Analytical Methods Committee Technical Brief No 84. Beam sampling: taking samples at the micro-scale, *Analytical Methods*, 10, 1100-1102
- 50 Rostron, P, Heathcote J A, Ramsey, M H (2015) Evaluation of uncertainties in *in situ* and *ex situ* gamma measurements on land areas with low contamination levels. *Journal of Radiological Protection* 35 (2015) 391-399. DOI: <https://dx.doi.org/10.1088/0952-4746/35/2/391>
- 51 Commission Regulation (EC) No 563/2002 of 2 April 2002 amending Regulation (EC) No 466/2001 setting maximum levels for certain contaminants in foodstuffs, *Official Journal of the European Communities*, L 86/5 to L 86/6.
- 52 European Directive 79/700/EEC. OJ L 207, 15.8.1979, p26.
- 53 Robust ANOVA programs available for balanced design (RANOVA) and both balanced and unbalanced designs (RANOVA2) from website of Royal Society of Chemistry.  
<http://www.rsc.org/Membership/Networking/InterestGroups/Analytical/AMC/Software/>
- 54 Ramsey M H, Lyn J A, Wood R (2001) Optimised uncertainty at minimum overall cost to achieve fitness-for-purpose in food analysis. *Analyst*, 126, 1777–1783.
- 55 Lyn J A, Palestra I M, Ramsey M H, Damant A P, Wood R (2007) Modifying uncertainty from sampling to achieve fitness for purpose: a case study on nitrate in lettuce. *Accreditation and Quality Assurance: Journal for Quality, Comparability and Reliability in Chemical Measurement*, 12, 67-74.
- 56 Argyraki A, (1997) Estimation of measurement uncertainty in the sampling of contaminated land. PhD Thesis (Imperial College) awarded by University of London.
- 57 Thompson M, Walsh J N A (1989) *Handbook of Inductively Coupled Plasma Spectrometry*. Blackie, Glasgow.
- 58 Ramsey M H, Solomon-Wisdom G O, Argyraki A (2013) Evaluation of *in situ* heterogeneity of elements in solids: implications for analytical geochemistry. *Geostandards and Geoanalytical Research*, 37, 4, 379-391. DOI: 10.1111/j.1751-908X.2013.00236.x
- 59 Analytical Methods Committee (2002) Fitting a linear functional relationship to data with error on both variables, Technical Brief No.10, Royal Society of Chemistry, London.  
<http://www.rsc.org/Membership/Networking/InterestGroups/Analytical/AMC/TechnicalBriefs.asp>
- 60 Ramsey M H, Taylor P D, Lee J C (2002) Optimized contaminated land investigation at minimum overall cost to achieve fitness-for-purpose. *Journal of Environmental Monitoring*, 4 (5), 809–814.
- 61 ISO 18400-104:2018, Soil Quality – Sampling – Part 104: Strategies, Annex C
- 62 Dahinden R, Desaulles A (1994) *Die Vergleichbarkeit von Schwermetallanalysen in Bodenproben von Dauerbeobachtungsflächen*, Eidgenössische Forschungsanstalt für Agrikulturchemie und Umwelthygiene. Liebefeld, Switzerland, p27.
- 63 ISO 3534-2: 2006 Statistics – Vocabulary and symbols - Part 2: Applied statistics. International Organization for Standardization, Geneva (2006).
- 64 AMC (2005) Analytical Methods Committee Technical Brief No 19. Terminology – the key to understanding analytical science. Part 2: Sampling and sample preparation  
<http://www.rsc.org/Membership/Networking/InterestGroups/Analytical/AMC/TechnicalBriefs.asp>

- 65 ISO Standard 78-2: Chemistry – Layouts for Standards – Part 2: Methods of Chemical Analysis (Second Edition, 1999).
- 66 IUPAC (2005) Terminology in Soil Sampling (IUPAC Recommendations 2005), prepared for publication by De Zorzi P, Barbizzi S, Belli M, Ciceri G, Fajgelj A, Moore D, Sansone U, and Van der Perk M. *Pure and Applied Chemistry*, 77 (5), 827–841.
- 67 ISO 11074:2015 Soil Quality – Vocabulary. International Organization for Standardization, Geneva (2015).
- 68 ISO 7002:1986 Agricultural food products – Layout for a standard method of sampling from a lot. First edition, International Organization for Standardization, Geneva (1986)
- 69 Cochran, W.G. (1977) Sampling Techniques, Wiley
- 70 Lyn J A, Ramsey M H, Damant A, Wood R (2005), Two stage application of the OU method: a practical assessment, *Analyst*, 130, 1271-1279

