



WEC CONSULTORES

Analítica y Gestión de Calidad

Validación de metodologías analíticas

Bioq. Roberto Núñez

Evaluación de la Precisión



Evaluación de la Precisión

- Condiciones de precisión

Repetibilidad

- Mismo método
- Misma Muestra
- Mismo analista
- Mismo Laboratorio
- Mismo día
- Mismo equipo

Reproducibilidad

- Mismo método
- Misma Muestra
- Distinto analista
- Distinto Laboratorio
- Distinto día
- Distinto equipo

Pres. intermedia

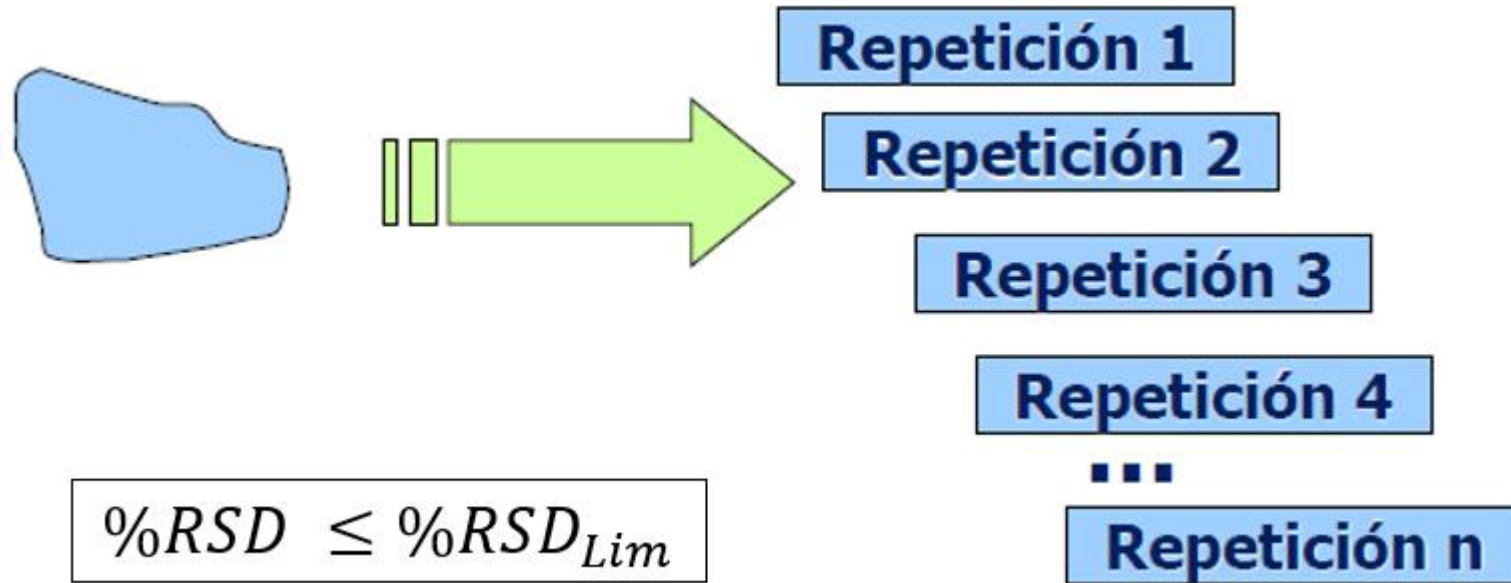
- Mismo método
- Misma Muestra
- Distinto analista
- Distinto día
- Distinto equipo

Evaluación de la Precisión

- Medición repetida de una muestra de referencia



Evaluación de Repetibilidad



Evaluación de Repetibilidad

RSD experimental

$$RSD_{\text{experimental}} = \frac{\sigma}{x} \times 100\%$$

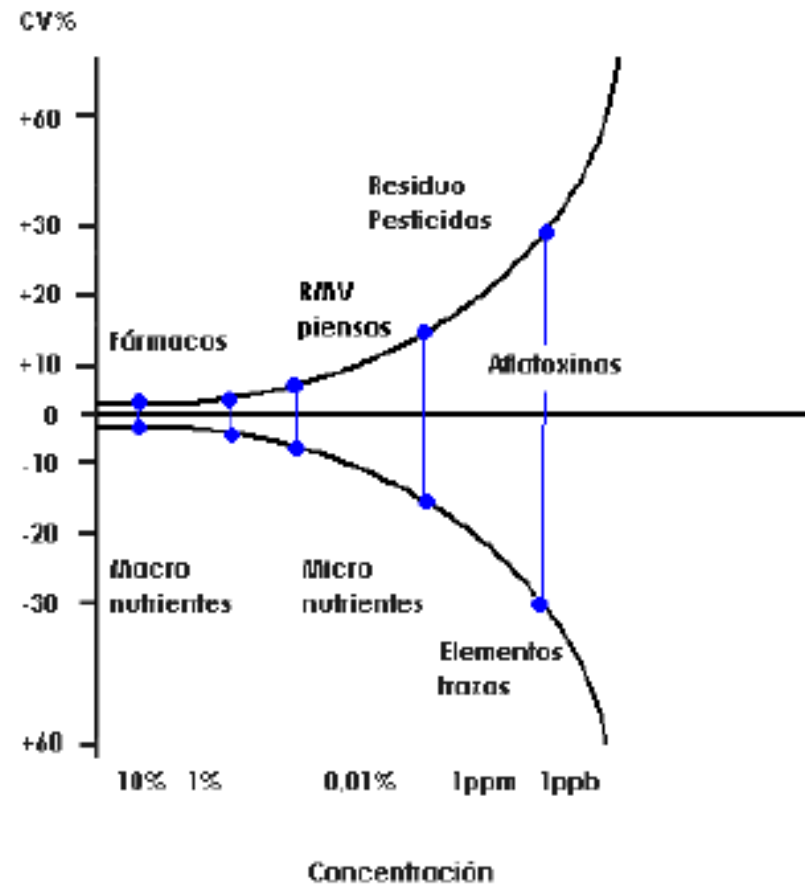
RSD Horwitz :

$$RSD_{\text{Horwitz}} = 2^{1-0.5\log(\text{Concentración})}$$

El método Cumple con las condiciones de Repetibilidad si

$$RSD_{\text{experimental}} \leq (0.67)RSD_{\text{Horwitz}}$$

Evaluación de Repetibilidad



Evaluación de Repetibilidad

- Una muestra de referencia de agua es evaluada en condiciones de repetibilidad en cuanto al contenido de N-NO₂, los valores obtenidos son

Lectura	Resultado mg/L
1	40,2
2	40,8
3	40,6
4	39,9
5	38,9
6	40,5
7	40,1
8	39,3
9	39,8
10	40,2
Promedio	40,03
Desv. Est. (s)	0,59
%RSD (CV)	1,46

$$\%RSD_{cal} = \frac{s}{\bar{x}} \cdot 100$$

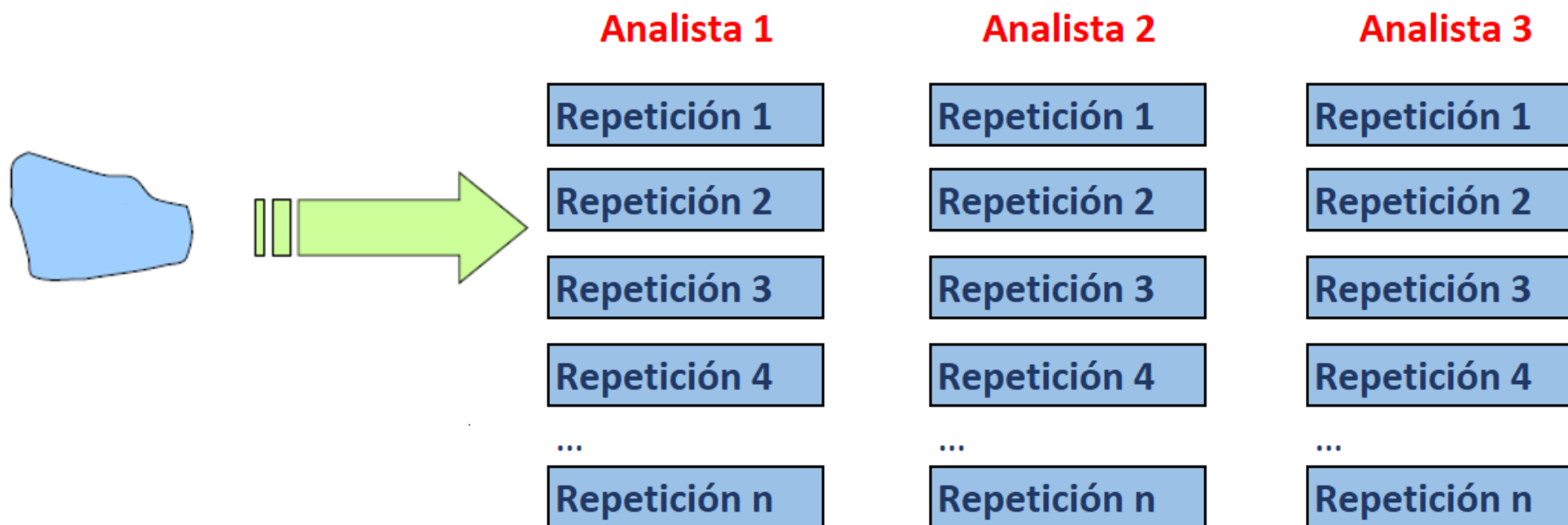
$$\%RSD_{cal} = \frac{0,59}{40,3} \cdot 100 = 1,46$$

$$\%RSD_{lim} = 2^{1-0,5\log C} \cdot 0,67$$

$$\%RSD_{lim} = 2^{1-0,5\log 0,00004} \cdot 0,67$$

$$\%RSD_{lim} = 6,15$$

Evaluación de la Precisión Intermedia



Evaluación de la Precisión Intermedia

- Evaluación
- Análisis de varianza de un factor
 - Variación intra grupo (repetibilidad)
 - Variación total del factor de agrupamiento
 - Variación entre grupos (reproducibilidad)

$$s_r = \sqrt{MS_i}$$

$$s_i = \sqrt{\frac{MS_e - MS_i}{n}}$$

$$s_R = \sqrt{s_r^2 + s_i^2}$$

Evaluación de la Precisión Intermedia

- Una muestra de referencia de agua es evaluada en condiciones de precisión intermedia en cuanto al contenido de N-NO₂ por cinco analistas, los valores obtenidos son

Analista	1	2	3	4	5
Lectura	Resultado mg/L	Resultado mg/L	Resultado mg/L	Resultado mg/L	Resultado mg/L
1	40,2	39,5	38,3	38,9	40,9
2	40,8	39,8	38,4	38,5	41,2
3	40,6	40,2	40,2	39,7	40,5
4	39,9	40,9	38,9	39,6	40,7
5	38,9	40,3	40,9	40,2	40,6
6	40,5	39,2	40,6	39,7	41,3
7	40,1	40,4	40,2	39,8	41,7
8	39,3	40,7	40,9	38,4	40,3
9	39,8	39,1	39,4	39,4	39,7
10	40,2	41	40,8	39,6	40,8

Evaluación de la Precisión Intermedia

ANÁLISIS DE VARIANZA (Excel)

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados
Entre grupos	10,054	4	2,513
Dentro de los grupos	22,751	45	0,506

$$\%RSD_{lim} = 2^{1-0,5\log C}$$

$$\%RSD_{lim} = 2^{1-0,5\log 0,00004}$$

$$\%RSD_{lim} = 9,18$$

$$s_r = \sqrt{MS_i}$$

$$s_r = \sqrt{0,506} = 0,711$$

$$s_i = \sqrt{\frac{MS_e - MS_i}{n}}$$

$$s_i = \sqrt{\frac{2,513 - 0,506}{10}} = 0,448$$

$$s_R = \sqrt{s_r^2 + s_i^2}$$

$$s_R = \sqrt{0,711^2 + 0,448^2} = 0,840$$

$$\%RSD_{cal} = \frac{s}{\bar{x}} \cdot 100$$

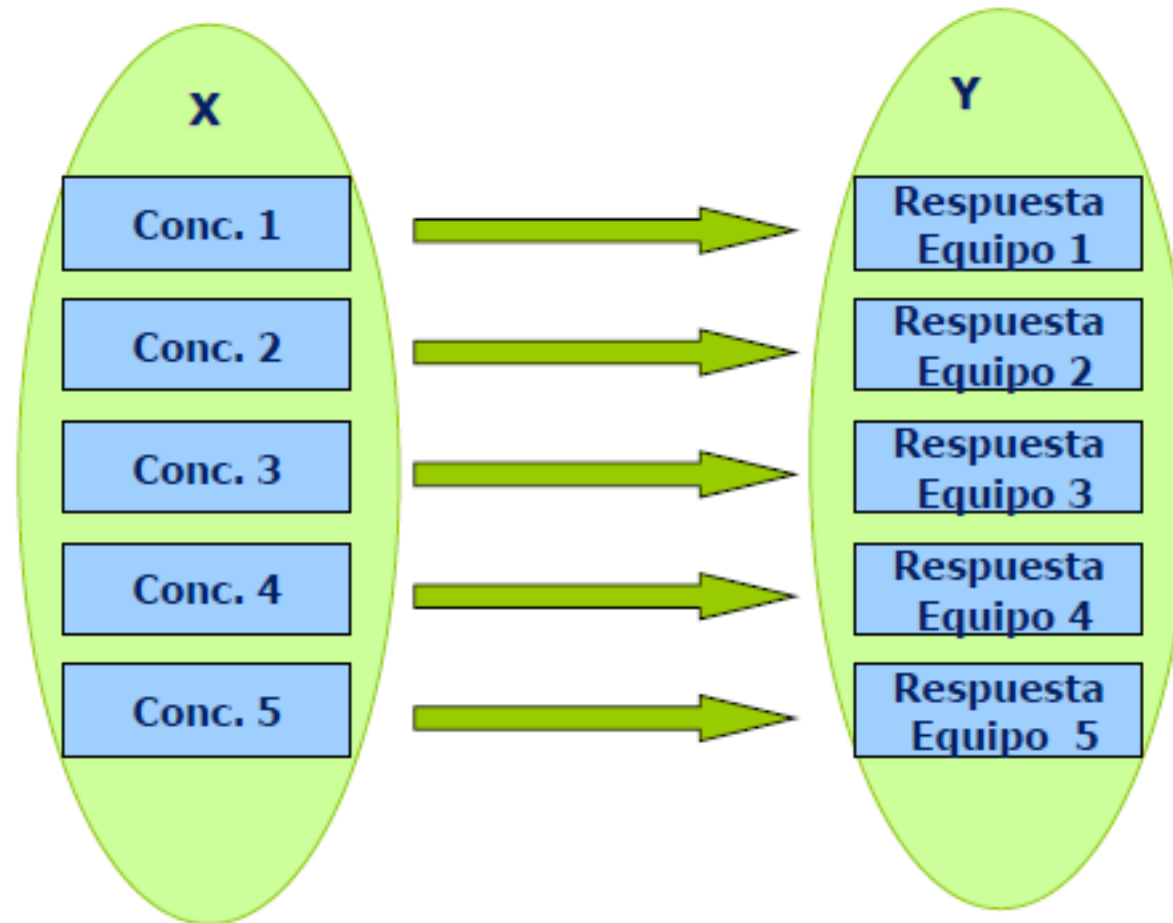
$$\%RSD_{cal} = \frac{0,840}{40,03} \cdot 100 = 2,1$$

Linealidad

Es la relación entre la concentración de analito y respuesta del método. Esta relación, denominada comúnmente curva patrón o curva de calibración. Define la capacidad del método para obtener los resultados de la prueba proporcionales a la concentración del analito.

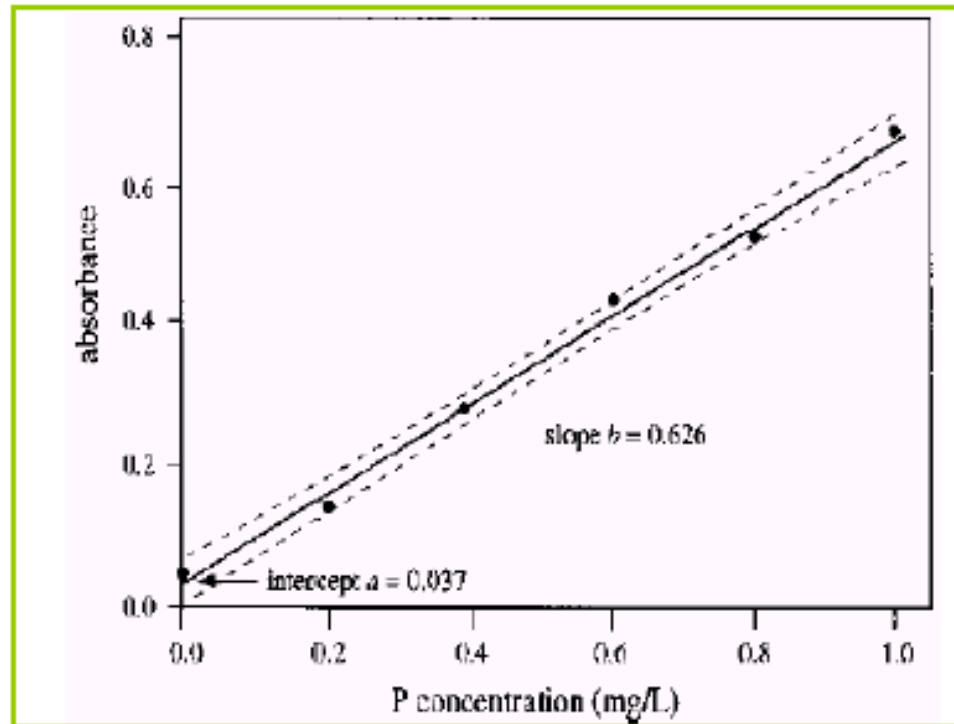
(EURACHEM – Guide The fitness for purpose of analytical methods)

Evaluación de la linealidad



Evaluación de la linealidad

5. LINEALIDAD.



Demostrar :

1. La relación entre X e Y existe.
2. La relación sea lineal.
3. Los residuos de la regresión debe estar libre de tendencias.

Evaluación de la linealidad

- La relación entre X e Y en un grafico esta determinada por el coeficiente de determinación r^2

$$R^2 = \frac{\sum_{t=1}^T (\hat{Y}_t - \bar{Y})^2}{\sum_{t=1}^T (Y_t - \bar{Y})^2}$$

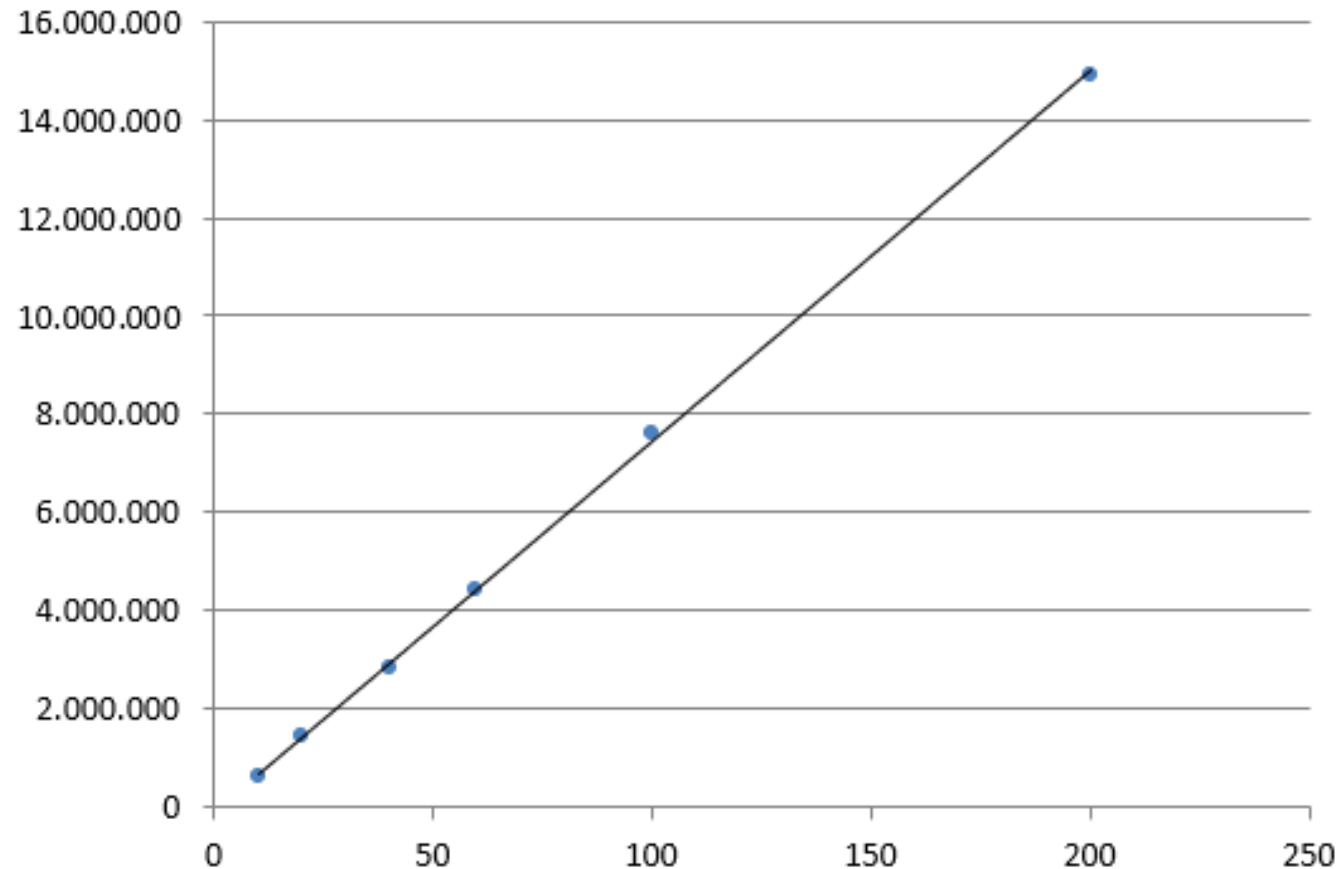
- Un valor limite de r^2 aplicado a gran parte de los métodos analíticos es de $\geq 0,99$

Evaluación de la linealidad

- Se realiza el análisis de linealidad de un método de cuantificación de Sodio en agua por cromatografía iónica, los valores obtenidos son

Nivel	Conc.	Área 1	Área 2	Área 3	Promedio	%RSD
1	10	644.695	643.029	640.268	642.664	0,3
2	20	1.438.680	1.446.420	1.428.983	1.438.028	0,6
3	40	2.824.728	2.860.540	2.834.758	2.840.009	0,7
4	60	4.420.500	4.406.579	4.418.368	4.415.149	0,2
5	100	7.606.023	7.627.174	7.613.513	7.615.570	0,1
6	200	14.992.552	14.846.287	14.936.716	14.925.185	0,5

Evaluación de la linealidad



Coeficiente de determinación

- r^2 : 0,9997

Criterio de aceptación

- r^2 : 0,99

Sensibilidad

Es el cambio en la respuesta de un instrumento de medida dividido por el cambio correspondiente en el estímulo.

(Text on validation of analytical procedures. ICH Harmonized Tripartite Guideline)

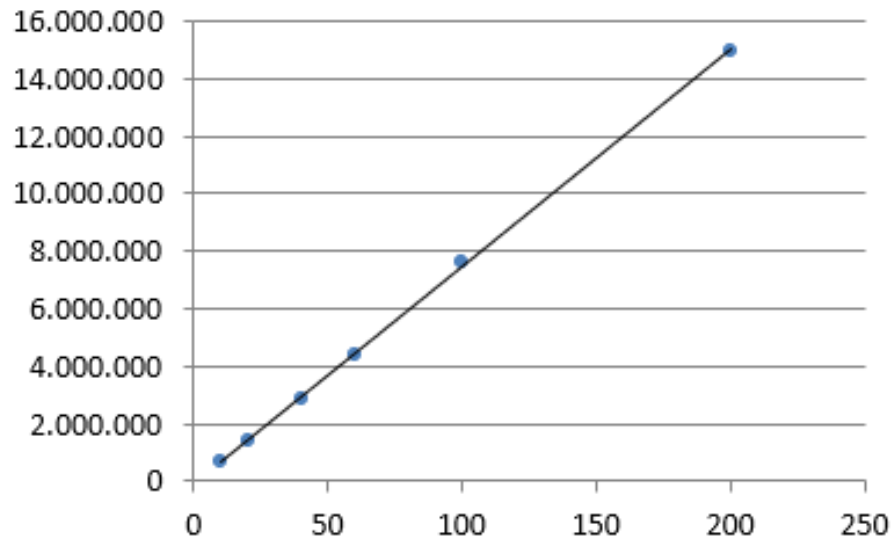
Evaluación de la Sensibilidad

La sensibilidad es cuantificada mediante el coeficiente de sensibilidad que es determinado de la siguiente manera :

$$Sensibilidad = \frac{\partial \text{Respuesta}}{\partial \text{Concentración}} = \frac{\partial Y}{\partial X}$$

Siendo el coeficiente de sensibilidad la pendiente de la recta de calibración (b).

Evaluación de la Sensibilidad



Ecuación de la recta

$$y = 75384x - 89739$$

$$\text{Sensibilidad} = 75384$$



WEC CONSULTORES

Analítica y Gestión de Calidad

Gracias por la atención

WEC Consultores

www.weconsultores.com.py

asistencia@weconsultores.com.py

San Lorenzo - Paraguay