

comisión del codex alimentarius



ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES
UNIDAS PARA LA AGRICULTURA
Y LA ALIMENTACIÓN

ORGANIZACIÓN
MUNDIAL
DE LA SALUD



OFICINA CONJUNTA: Viale delle Terme di Caracalla 00100 ROMA Tel: 39 06 57051 www.codexalimentarius.net Email: codex@fao.org Facsimile: 39 06 5705 4593

Tema 5 del programa

CX/MAS 01/6

PROGRAMA CONJUNTO FAO/OMS SOBRE NORMAS ALIMENTARIAS
COMITÉ DEL CODEX SOBRE MÉTODOS DE ANÁLISIS Y TOMA DE MUESTRAS
23ª reunión
Budapest (Hungría), 26 de febrero – 2 de marzo de 2001

**EXAMEN DE LAS DIRECTRICES ARMONIZADAS PARA EL EMPLEO DE LA INFORMACIÓN
DE RECUPERACIÓN EN LA MEDICIÓN ANALÍTICA**

Antecedentes

El Comité sobre métodos de análisis y toma de muestras ha seguido examinando la cuestión de los factores de recuperación desde su 19ª reunión y en particular el desarrollo de las Directrices de la UIQPA en esta área. En la 22ª reunión, la delegación del Reino Unido presentó un informe parcial sobre las Directrices Armonizadas para la Utilización de los Factores de Recuperación en la Medición Analítica, que se publicarían en poco tiempo. Se notó que las diferencias entre los países en la aplicación de los factores de corrección podrían dar lugar a conflictos comerciales. Por ejemplo, podría ser que en el informe de un análisis de una muestra se indicara que en base a los resultados corregidos o sin corregir de dicha muestra el producto se ajustaba a la especificación, mientras que en el informe de otro análisis de la misma muestra se indicara lo contrario.

El Comité expresó la opinión general de que había diferencias en el empleo de los factores de recuperación en el contexto analítico alimentario y que le resultaría extremadamente difícil lograr el consenso. Se intercambiaron opiniones sobre el empleo de los factores de recuperación pero no se llegó a una conclusión en este punto. El Comité decidió aplazar los futuros debates en espera de la publicación de las directrices armonizadas. Pidió que cuando la UIQPA publicara las directrices, éstas se distribuyeran a los países miembros, y que se solicitaran observaciones sobre las mismas por medio de una circular del Codex que incluiría elementos pertinentes del documento de sala Nº 8 (que presenta la posición de los Estados Unidos sobre este asunto). El Comité examinaría las directrices publicadas y las observaciones presentadas, a fin de decidir si sería oportuno aprobar el documento por referencia (ALINORM 99/23, párr. 32-35).

Las principales cuestiones planteadas por los Estados Unidos son las siguientes:

Los Estados Unidos destacaron que el documento se examinaba por la tercera vez en el CCMAS y se quedaba esencialmente sin alterar aunque varias cuestiones críticas se habían planteado sobre el carácter no práctico del documento en cuanto a su aplicación para análisis de los alimentos. Se ponía en duda la suposición que los laboratorios analíticos quisieran lograr “la mejor estimación del resultado verdadero”, ya que las normas y especificaciones en muchos casos no se establecen sobre la base del “resultado verdadero” definido como entidad química específica o grupo de entidades distintas, sino más bien en términos de especificaciones prácticas.

Con respecto a los límites de inocuidad de alimentos (residuos de plaguicidas y medicamentos veterinarios) hay mucha incertidumbre al establecer el límite, y la aplicación adicional factores analíticos de corrección no sería útil. Las pérdidas causadas en el establecimiento de los límites analíticos se incluyen intrínsecamente en

el límite. En este respecto, las Directrices no tienen en cuenta la posibilidad de calcular dos veces los factores de corrección y no resolvieron el problema de una manera simple para los fines del Codex.

Se necesitaba una declaración indicativa especificando que los resultados se podían presentar como la especificación, el límite o la tolerancia. Si se trata de dos países con requisitos diferentes, un informe en cualquier de los sistemas se podría presentar junto a los factores de recuperación utilizados en el cálculo.

Los Estados Unidos recomiendan que el CCMAS adopte una declaración sobre la recuperación en el sentido siguiente:

Con respecto a las entidades químicas, los resultados se pueden presentar corregidos o sin corregir, siguiente lo indicado o supuesto en la norma del Codex. El informe de análisis debería dar informaciones sobre el empleo de factores de corrección. Si se exige o se permite una corrección, el cálculo debería ser parte integrante del método de análisis. Si se calcula la recuperación y las requisitos no están en el protocolo, el informe debería indicar como se deriva la corrección.

La versión final de las Directrices Armonizadas para el Empleo de la Información de Recuperación en la Medición Analítica, publicada desde la última reunión del CCMAS, se adjuntan al presente documento como Anexo II. La delegación del Reino Unido preparó un informe parcial que presenta la versión final de las Directrices a fin de facilitar la discusión en el Comité, el Dr. Roger Wood siendo uno de los autores del Informe Técnico sobre las Directrices de la UIQPA. Este informe se adjunta en el Anexo 1.

De conformidad con la decisión del Comité, se invita a los gobiernos y organizaciones internacionales a que examinen las Directrices publicadas por la UIQPA, teniendo en cuenta las propuestas de los Estados Unidos arriba mencionadas, y a que presenten observaciones particularmente sobre las medidas que el Comité podría tomar en esta área. In particular, el Comité debe decidir si sería oportuno aprobar el documento por referencia para los fines del Codex.

Los gobiernos y los organismos internacionales interesados que deseen formular observaciones deberán hacerlo por escrito (si posible por correo electrónico) al Secretario, Programa Conjunto FAO/OMS sobre normas alimentarias, FAO, Viale delle Terme di Caracalla, 00100 Roma, Italia con copia a la Dra. Mária Váradi, Central Food Research Institute (KÉKI), Herman Ottó út 15, H-1022 Budapest, Fax : +361 212 9853 o 361 355 8928, Email : m.varadi@mail.cfri.hu, **antes del 30 de enero de 2001**

**INFORME PARCIAL SOBRE LA ELABORACION DE DIRECTRICES ARMONIZADAS PARA
EL EMPLEO DE LA INFORMACION DE RECUPERACION
EN LA MEDICION ANALITICA**
(preparado por el Reino Unido)

INTRODUCCION

1. El Comité del Codex sobre Métodos de Análisis y Toma de Muestras (CCMAS) se ha ocupado principalmente de la elaboración y ratificación de los métodos de análisis y muestreo contenidos o adjuntos a las normas del Codex. Sin embargo, se ha modificado el mandato del Comité, que ahora se ocupa también de determinar en qué medida sus métodos son utilizados debidamente por los laboratorios. Esto lo ha demostrado el hecho de que la Comisión del Codex Alimentarius, en junio de 1997, ha aprobado normas de calidad para los laboratorios relacionados con las importaciones/exportaciones de productos alimenticios. En sustancia, los laboratorios deben:

- 1 utilizar métodos de análisis validados
- 2 participar en planes de ensayo de aptitud
- 3 introducir procedimientos de control de la calidad adecuados
- 4 ajustarse a los criterios de la Guía 25 ISO/IEC

2. El objetivo de todos estos principios consiste en permitir a los laboratorios alcanzar la “mejor estimación del resultado verdadero”. A tales efectos, la Comisión del Codex Alimentarius adoptó por referencia varios protocolos/directrices preparadas por Grupo de Trabajo Interdivisional para la Armonización de los Planes de Garantía de Calidad en los Laboratorios Analíticos y el programa de armonización de la UIQPA/ISO/AOAC International. A la fecha la Comisión Ha aprobado protocolos/directrices sobre estudios colaborativos (1), estudio de funcionamiento (2) y control interno de calidad (3). El Grupo de Trabajo Interdivisional Ha adoptado y publicado recientemente las Directrices para la utilización de la información de recuperación en la medición analítica (4).

3. La 22^a reunión del CCMAS discutió un proyecto de estas Directrices . Se reconoció que era un asunto que preocupaba a los analistas. La aplicación de factores de recuperación en la análisis podía causar diferencias en los datos de los informes de análisis para la misma muestra. Esta cuestión fue examinada por la 22^a reunión del CCMAS.

4. Algunas delegaciones consideraron que el uso de factores de recuperación constituía una práctica habitual. Sin embargo, se señaló que ciertos métodos, por ejemplo los empleados para los residuos de plaguicidas (que no pertenecen directamente al CCMAS en el sistema Codex), no requerían este tipo de corrección. La necesidad de aplicar factores de recuperación debía determinarse como parte de la elaboración y validación de cada método. Era evidente que el método debía describir el procedimiento de recuperación como parte del método mismo, y no como protocolo separado. Los Estados Unidos, en particular, prepararon un documento de sala (CRD 8) presentando sus opiniones, y con una referencia a un artículo tratando esta cuestión desde su perspectiva.

5. Sin embargo el Comité reconoció que la utilización de factores de recuperación era un tema controversia para los químicos analíticos y que diversos sectores de la química analítica aplicaban prácticas diferentes. Las exigencias formales legislativas con respecto a la utilización de factores de recuperación varían también de un sector al otro

6. Aunque no sea explícitamente declarado, la mayor parte de los delegados en los comités sobre los productos suponen que las especificaciones se establecen y se aplican en una base corregida mas bien que en una base no corregida desconocida y variable.

DIRECTRICES ARMONIZADAS EL EMPLEO DE LA INFORMACION DE RECUPERACION EN LA MEDICION ANALITICA

7. La UIQPA ha preparado Directrices generales que pueden ayudar para dar cuenta de la “mejor estimación del resultado verdadero” y contribuir a la comparabilidad de los resultados analíticos presentados. Las Directrices son disponibles libremente y se incluyen en el Anexo del presente documento. Sin embargo es esencial considerar los siguientes puntos en las Directrices:

4.1 Argumentos a favor de la corrección

- La finalidad de la ciencia analítica consiste en obtener una estimación de la verdadera concentración del analito nativo con una incertidumbre aceptable.
- La verdadera concentración puede estimarse sólo si se corrigen niveles de recuperación del analito considerablemente bajos.
- Un sesgo sin corregir, debido a un nivel de recuperación bajo, significa que los resultados no serán universalmente comparables, no serán reproducibles y por tanto resultarán inadecuados para respaldar el reconocimiento mutuo.
- Los métodos de corrección sugeridos son isomórficos con técnicas analíticas perfectamente aceptables, tales como el establecimiento de parámetros internos y la dilución isotópica, y por tanto en principio no son sospechosos. Aunque cierta incertidumbre va asociada inevitablemente con los factores de corrección, dicha incertidumbre puede estimarse e incorporarse en una incertidumbre global relacionada con el resultado final.

4.2 Argumentos en contra de la corrección

- Las recuperaciones estimadas basadas en un sucedáneo pueden ser mayores que el valor correspondientes del analito nativo. El resultado corregido de esta manera tendrá aún un sesgo negativo.
- Los factores de corrección estimados pueden ser de aplicación dudosa porque pueden variar según las distintas matrices y las diferentes concentraciones del analito.
- Los factores de corrección estimados a menudo tienen una incertidumbre relativa elevada, mientras que los resultados no corregidos normalmente tienen la menor incertidumbre relativa asociada únicamente a la medición volumétrica e instrumental. (Sin embargo, la incertidumbre es escasa sólo si no se incluye ninguna incidencia del sesgo). Por lo tanto, los resultados corregidos tendrán una elevada incertidumbre relativa, suficientemente alta, de ser explícita, como para crear una impresión desfavorable entre los que no están familiarizados con los problemas del análisis. Esto a su vez puede afectar a la credibilidad de la ciencia en la aplicación de la legislación.
- Pueden producirse desviaciones relativamente pequeñas con respecto a la unidad en los factores de corrección debido en gran parte a errores aleatorios más bien que a una pérdida sistemática del analito. En este caso, la corrección puede aumentar la incertidumbre absoluta del resultado.
- Algunas legislaciones que imponen niveles máximos para los contaminantes se basan en el entendimiento de que los resultados no corregidos se utilizarán para fines de observancia.

RECOMENDACIONES EN LAS DIRECTRICES

Se han formulado las siguientes recomendaciones acerca del uso de la información sobre la recuperación en estas directrices. Los han aprobado la UIQPA, ISO y EUROCHEM. AOACI esta de acuerdo con la substancia de las Directrices, no aprobó las recomendaciones.

1. Por lo general, los resultados deben corregirse en función de la recuperación, a menos que haya motivos imperiosos para no hacerlo, como por ejemplo, en el caso en que un límite reglamentario o contractual se haya fijado utilizando datos sin corregir, o las tasas de recuperación se acerquen a la unidad. Sin embargo, es sumamente importante que, al notificarse los datos, a) se especifique claramente si se ha aplicado o no una corrección en función de la recuperación, y b) de haberse aplicado una corrección en función de la recuperación, se incluyan en el informe la magnitud de la corrección y el método en base al cual se ha calculado. Esto permitirá promover la comparabilidad directa de los conjuntos de datos. De esta manera, en todos los casos, las funciones de la corrección deberán establecerse sobre la base de consideraciones estadísticas apropiadas, documentadas, archivadas y que estén a disposición del cliente.
2. Los valores de recuperación siempre deberán establecerse en el marco del método de validación, ya sea que las recuperaciones se notifiquen o que los resultados se corrijan, de modo que los valores medidos puedan convertirse en valores corregidos y vice versa.
3. Cuando se justifica el empleo de un factor de recuperación, la modalidad de cálculo debe preverse en el procedimiento.

4. Durante el proceso de validación del método, deberán elaborarse gráficos para el control interno de calidad, que se utilizarán en todos los análisis rutinarios. Las series de pruebas que arrojen valores de recuperación fuera de la gama aceptable deberán volverse a analizar en el contexto de una variación aceptable, o bien los resultados deberán presentarse como semicuantitativos.

CONCLUSIONES

La diversidad en el tratamiento de la información relativa a las recuperaciones es una causa importante de la no equivalencia de los datos. Para mitigar los efectos de ello debe promoverse normalmente la práctica de notificar los datos analíticos después de aplicar un factor de corrección apropiado. Sin embargo, en caso de que un límite reglamentario se base en datos para los cuales no se ha aplicado ningún factor de corrección, para el futuro previsible se mantendrá la situación actual de notificación de datos “brutos”.

Deberán mantenerse registros adecuados en los que se describan detalladamente los experimentos de recuperación y sus resultados. Si se sabe o se sospecha que una proporción del analito nativo presente en el material de ensayo no puede extraerse mediante el procedimiento analítico, éste último debe describirse como procedimiento utilizable únicamente para la determinación del analito “disponible”. Esta especificación deberá figurar en los certificados analíticos. No puede efectuarse, ni intentarse, ninguna compensación válida para estimar el analito “ligado”, que no tenga en cuenta un modelo de recuperación.

Debe reconocerse la doble función que desempeña la determinación de las tasas de recuperación en las mediciones analíticas, es decir: a) la realización del control de calidad y b) el cálculo de los valores de recuperación. Para esta última función se requieren datos más amplios y detallados.

Recomendaciones al CCMAS

Se recomienda al Comité

- Que examine el principio de exigir a los laboratorios que corrijan los resultados analíticos para la recuperación de los bienes que circulan en el comercio internacional;
- Que recomiende a la Comisión del Codex Alimentarius que apruebe las Directrices armonizadas para los fines del Codex

Referencias

1. “Protocol for the Design, Conduct and Interpretation of Method Performance Studies”, ed. W. Horwitz, *Pure Appl. Chem.*, 1988, **60**, 855-864, revised 1995 *Pure Appl. Chem.*, 1995, **67**, 331-343.
2. “The International Harmonised Protocol for the Proficiency Testing of (Chemical) Analytical Laboratories”, ed. M. Thompson and R. Wood, *Pure Appl. Chem.*, 1993, **65**, 2123-2144. (Also published in *J. AOAC International*, 1993, **76**, 926-940.
3. “Guidelines on Internal Quality Control in Analytical Chemistry Laboratories”, ed. M. Thompson and R. Wood, *Pure Appl. Chem.*, 1995, **67**, 649-666.
4. Harmonised Guidelines For The Use Of Recovery Information In Analytical Measurement, Michael Thompson, Steven L R Ellison, Ales Fajgelj, Paul Willetts and Roger Wood, *Pure Appl. Chem.*, 1999, **71**, 337 – 348
5. “Common Problems in Data Interpretations: Correction Factors”, William Horwitz and Richard Albert, *Inside Laboratory Management*, 1997, July, 4 - 5.

UNION INTERNACIONAL DE QUIMICA PURA Y APLICADA
DIVISIONES DE QUIMICA ANALITICA, APLICADA, CLINICA, INORGANICA Y FISICA
GRUPO DE TRABAJO INTERDIVISIONAL PARA LA ARMONIZACION DE LOS PLANES DE
GARANTIA DE CALIDAD EN LOS LABORATORIOS ANALITICOS
DIRECTRICES ARMONIZADAS PARA EL EMPLEO DE LA INFORMACION DE
RECUPERACION EN LA MEDICION ANALITICA

(Informe técnico)

Conclusiones del Simposio sobre la armonización de los sistemas de garantía de calidad para los laboratorios analíticos, Orlando (EE.UU.), 4-5 de septiembre de 1996, celebrado bajo el patrocinio de la IUPAC, la ISO y la AOAC INTERNACIONAL

Preparado para la publicación por

MICHAEL THOMPSON (1), STEVEN ELLISON (2), ALES FAJGELJ (3),
PAUL WILLETTS (4) Y ROGER WOOD (4)

- (1) Department of Chemistry, Birbeck College (University of London), Londres WC1H0PP, Reino Unido
- (2) Laboratory of the Government Chemist, Queens Road, Teddington, Middlesex TW110LY, Reino Unido
- (3) Organismo Internacional de Energía Atómica, laboratorios del Organismo de Seibersdorf, A-2444 Seibersdorf, Austria
- (4) Laboratorio de bromatología, (MAFF), Norwich Research Park, Colney, Norwich NR47UQ, Reino Unido

* La composición del Grupo de trabajo durante 1995-99 era la siguiente:

Presidente: M. Parkany, 1995-97, (Switzerland); A. Fajgelj, 1997- , (IAEA, Austria);
Miembros: T.B. Anglov (Denmark); K. Bergknut (Norway); K.G. Boroviczeny (Grmany); Carmen Camara (Spain); K. Camman (Germany); Jyette Molin Christensen (Denmark); S. Coates (AOAC Int., USA); W.P. Cofino (The Netherlands); P. De Bievre (Belgium); T.D. Geary (Australia); T. Gills (USA); A.J. Head (UK); J. Hlavay (Hungary); D.G. Holcombe (UK); P.T. Holland (New Zealand); W. Horwitz (USA); A. Kallner (Sweden); H. Klich (Germany); J. Kristiansen (Denmark); Helen Liddy (Australia); E.A. Maier (Belgium); H. Muntau (Italy); C. Nieto De Castro (Portugal); E. Olsen (Denmark); Nancy Palmer (USA); S.D. Rasberry (USA); M. Thompson (UK); M.J. Vernengo (Argentina); R. Wood (UK).

Se permite volver a publicar el presente informe sin que sea necesaria una autorización oficial de la IUPAC, a condición de que figuren un agradecimiento, junto con las referencias completas y el símbolo de los derechos de autor de la IUPAC (© 1995 IUPAC). La publicación de una traducción a otro idioma está supeditada a la condición adicional de la aprobación previa de la Organización nacional correspondiente que se adhiere a la IUPAC.

Directrices armonizadas para el uso de información sobre la recuperación en la medición analítica (Informe técnico)

Sinopsis. La ISO, la IUPAC y LA AOAC INTERNACIONAL han cooperado para producir protocolos o directrices concertados sobre “la formulación, la realización y la interpretación de estudios sobre la eficacia de los métodos” [1], el “ensayo de aptitud de los laboratorios de análisis (químicos) [2] y el “control interno de calidad en los laboratorios de química analítica” [3]. Al Grupo de trabajo que produjo estos protocolos/directrices se le pidió que preparara directrices sobre el uso de la información sobre la recuperación en la medición analítica. En dichas directrices deberían exponerse en breve algunas recomendaciones mínimas para los laboratorios que proporcionan datos analíticos sobre los procedimientos de control interno de calidad que han de emplearse.

Un proyecto de estas directrices se examinó en el séptimo Simposio internacional sobre la armonización de los sistemas de garantía de calidad en los laboratorios de análisis químicos, patrocinado por la IUPAC/ISO/AOAC INTERNACIONAL, que se celebró en Orlando (EE.UU.), el 4 y el 5 de septiembre de 1996. Las actas de dicho simposio están a disposición de quien las solicite [4].

La finalidad de estas directrices consiste en delinear el marco conceptual necesario para examinar los tipos de análisis en los cuales la pérdida del analito durante el procedimiento analítico es inevitable. Algunas cuestiones no pueden abordarse de manera satisfactoria y por lo tanto siguen siendo irreductiblemente complejas, a menos que no se establezca un marco conceptual de este tipo. Las cuestiones de que se trata se refieren a a) la validez de los métodos de estimación de la recuperación del analito a partir de la matriz del material de ensayo, y b) la oportunidad de emplear la estimación de la recuperación para corregir los datos brutos a los efectos de obtener el resultado del ensayo. Los tipos de análisis químicos más afectados por estas consideraciones son los ensayos en los cuales un analito orgánico está presente en concentraciones muy bajas en una matriz compleja.

INDICE

1. Introducción
2. Definiciones y terminología utilizadas en las Directrices
3. Procedimientos de evaluación de la recuperación
 - 3.1 Recuperación a partir de materiales de referencia
 - 3.2 Información sobre la recuperación a partir de sucedáneos
 - 3.2.1 Dilución isotópica
 - 3.2.2 Enriquecimiento
 - 3.2.3 Parámetros internos
 - 3.3 Discordancia de matrices
 - 3.4 Concentración del analito
4. ¿La información sobre la recuperación debe utilizarse para corregir las mediciones?
 - 4.1 Argumentos a favor de la corrección
 - 4.2 Argumentos en contra de la corrección
 - 4.3 Métodos racionales y métodos empíricos
5. Estimación de la recuperación
 - 5.1 Estudios de recuperación representativa
 - 5.2 Control interno de calidad
6. Incertidumbre en la notificación de la recuperación
 - 6.1 Estimación de la incertidumbre en la recuperación
7. Conclusiones
8. Recomendaciones
9. Bibliografía

Apéndice: Incertidumbre en la notificación de la recuperación

Se reconoce que el uso de la información sobre la recuperación para corregir/ajustar los resultados analíticos suscita controversias entre los químicos analistas. En los distintos sectores de la química analítica se emplean prácticas diferentes. Los requisitos legislativos formales relacionados con el uso de los factores de recuperación también varían de un sector a otro. Sin embargo, la finalidad de la IUPAC consiste en preparar Directrices generales que puedan ayudar a obtener la “mejor estimación del resultado verdadero” y contribuir a la comparabilidad de los resultados analíticos notificados.

En el presente documento se trata de ofrecer directrices que tengan un ámbito de aplicación general y recomendaciones que reflejen la práctica corriente más eficaz para lograr el resultado arriba indicado. No obstante, algunos sectores específicos de la química analítica tendrán que ajustar estas Directrices a sus propias necesidades, por lo cual las recomendaciones no se considerarán vinculantes para todas las esferas de la química analítica.

1. INTRODUCCION

La estimación y el uso de la recuperación representa una esfera en la que la práctica varía entre los químicos analistas. Las variaciones más evidentes en la práctica se observan en la determinación de los analitos, tales como residuos de medicamentos veterinarios y residuos de plaguicidas, en matrices complejas, como por ejemplo los productos alimenticios y los análisis ambientales. Por lo general estos métodos de análisis dependen de la transferencia del analito de la matriz compleja a una solución más sencilla utilizada con el fin de presentar el analito para la determinación instrumental. Sin embargo, el procedimiento de transferencia da lugar a una pérdida de analitos. Casi siempre en estos procedimientos una proporción considerable del analito queda en la matriz después de la extracción, de modo que la transferencia es incompleta y la medición siguiente arroja un valor inferior al de la verdadera concentración en el material de ensayo de origen. Si estas pérdidas no se compensan de alguna manera, es posible que los distintos laboratorios obtengan resultados muy discordantes. Habrá discrepancias aún mayores si algunos laboratorios compensan las pérdidas y otros no lo hacen.

Los estudios sobre la recuperación constituyen evidentemente un componente esencial de la validación y del uso de todos los métodos analíticos. Es importante que todos los que están implicados en la producción e interpretación de los resultados analíticos sean conscientes de los problemas y de la base sobre la cual se notifica el resultado. En la actualidad, sin embargo, no hay ningún enfoque único bien definido para estimar, expresar y aplicar la información sobre la recuperación.

Las incongruencias más grandes en la práctica analítica atañen a la corrección de la medición bruta, que (en principio) puede eliminar el ligero sesgo debido a la pérdida del analito. Las dificultades que se encuentran para estimar de manera fidedigna el factor de corrección desalienta al personal profesional de algunos sectores de análisis de aplicar dichas correcciones.

A falta de estrategias coherentes para la estimación y el uso de la información sobre la recuperación, es difícil efectuar comparaciones válidas entre los resultados producidos en distintos laboratorios o comprobar si esos datos responden a los fines establecidos. Esta falta de transparencia puede tener consecuencias importantes en la interpretación de los datos. Por ejemplo, en el contexto del análisis, la diferencia entre la aplicación y la no aplicación de un factor de corrección a los datos analíticos puede llevar a que se exceda de un límite legislativo o bien a que el resultado esté en consonancia con el límite. Así pues, cuando se requiere una estimación de la *concentración verdadera*, hay casos en los que es absolutamente necesario compensar las pérdidas en el cálculo del resultado analítico notificado.

Estas Directrices ofrecen un marco conceptual para adoptar decisiones coherentes sobre la estimación y el uso de la información sobre la recuperación en los varios sectores de la ciencia analítica.

2. DEFINICIONES Y TERMINOLOGIA EMPLEADAS EN LAS DIRECTRICES

Se supone que al leer estas Directrices se aplica la terminología analítica general, si bien a continuación figuran algunas definiciones específicas de los términos más importantes en el ámbito de las Directrices:

Recuperación: proporción de la cantidad del analito presente o añadida a la porción analítica del material de ensayo que se extrae para la medición.

Sucedáneo: compuesto o elemento puro añadido al material de ensayo, cuyo comportamiento químico y físico se considera representativo del analito nativo.

Recuperación del sucedáneo: recuperación de un compuesto o un elemento puro añadido específicamente a la porción de ensayo o al material de ensayo como enriquecimiento. (A veces denominada “recuperación marginal”).

Analito nativo: analito incorporado en el material de ensayo por procesos naturales y procedimientos de fabricación (a veces denominado “analito de origen”). El analito nativo incluye el “analito de origen” y el “residuo de origen”, reconocidos en algunos sectores de la comunidad analítica. Se define de esta manera para distinguirlo del analito añadido durante los procedimientos de análisis.

Método de análisis empírico: un método que determina el valor al que se puede llegar utilizando únicamente el método *per se*, y que constituye, por definición, el único método para establecer la magnitud sometida a medición. (A veces denominado “método de definición de análisis”).

Método de análisis racional: un método que determina una o más sustancias químicas o analitos., para los cuales pueda haber varios métodos de análisis equivalentes.

3. PROCEDIMIENTOS DE EVALUACION DE LA RECUPERACION

3.1 Información sobre la recuperación a partir de materiales de referencia de las matrices

En principio, las recuperaciones podrían estimarse mediante el análisis de los materiales de referencia de las matrices. La recuperación es la relación entre la concentración medida del analito y la concentración que se declara presente. Los resultados obtenidos con materiales de ensayo de la misma matriz pueden, en principio, corregirse en función de la recuperación sobre la base de la recuperación medida para el material de referencia. Sin embargo, hay varios problemas que pueden obstaculizar el uso de los materiales de referencia, a saber: a) la validez de toda estimación de una recuperación de este tipo depende del supuesto de que el método analítico es por lo demás insesgado; b) se dispone de una gama limitada de materiales de referencia con una matriz adecuada; y c) es posible que haya cierta discordancia de matrices entre el material de ensayo y el material de referencia más apropiado disponible. En este último caso, el valor de la recuperación obtenido a partir del material de referencia no puede aplicarse rigurosamente al material de ensayo.

El último punto se refiere en especial a sectores como el análisis de los productos alimenticios, en el cual los materiales de referencia han de pulverizarse finemente y desecarse para asegurar su homogeneidad y estabilidad. Es probable que este tratamiento afecte a la recuperación en comparación con los valores correspondientes que se obtienen a partir de los mismos alimentos frescos. Sin embargo, la discordancia de matrices constituye un problema general en la aplicación de la información sobre la recuperación, y se trata por separado en la Sección 3.3.

3.2 Información sobre la recuperación a partir de sucedáneos

En caso de que no se disponga de materiales de referencia (certificados), la recuperación del analito puede estimarse estudiando la recuperación de un compuesto o elemento añadido que se considere un sucedáneo del analito nativo. El grado de transferencia de este sucedáneo a la fase de medición se calcula por separado y este valor de recuperación, cuando proceda, puede atribuirse también al analito nativo. En principio, este procedimiento permite corregir la pérdida del analito, y hacer una estimación insesgada de la concentración del analito nativo en la matriz original. Un procedimiento de “corrección en función de la recuperación” de este tipo es implícito o explícito en varios métodos de análisis diferentes y debe considerarse un procedimiento válido, si se demuestra que se ejecuta de la debida manera.

Para que este procedimiento sea válido, el sucedáneo debe comportarse, desde el punto de vista cuantitativo, de idéntica al analito nativo en la matriz, sobre todo con respecto a su fraccionamiento entre las distintas fases. En la práctica, siempre resulta difícil demostrar esta equivalencia y deben formularse algunas hipótesis. El carácter de estas hipótesis puede determinarse examinando los varios tipos de sucedáneos que se utilizan.

3.2.1 Dilución isotópica

El mejor tipo de sucedáneo es una versión modificada isotópicamente del analito, que se emplea en un procedimiento de dilución isotópica. Las propiedades químicas del sucedáneo son idénticas o muy similares a las del analito nativo y, siempre que el analito añadido y el analito nativo alcancen un equilibrio efectivo, su recuperación será idéntica a la del analito. En los métodos de dilución isotópica la recuperación del sucedáneo puede estimarse por separado, mediante espectrometría de masas o bien por medición radiométrica, si se ha utilizado un radioisotopo, y puede aplicarse válidamente al analito nativo. No obstante, no siempre es fácil lograr un equilibrio efectivo. En algunos sistemas químicos, por ejemplo en la determinación de los oligoelementos metálicos en la materia orgánica, el analito nativo y el sucedáneo

pueden transformarse prontamente en la misma forma química mediante la aplicación de reactivos poderosos que destruyen la matriz. Este tratamiento convierte el metal orgánicamente ligado en simples iones que se hallan en equilibrio efectivo con el sucedáneo. Este procedimiento tan sencillo es usualmente eficaz en la determinación de los oligoelementos, no puede aplicarse a los residuos de plaguicidas. En este caso, es posible que el analito esté en parte químicamente ligado a la matriz. Los reactivos químicos poderosos no pueden utilizarse para liberar el analito sin correr el riesgo de destruirlo. El analito nativo y el sucedáneo no pueden lograr un equilibrio efectivo. Por lo tanto, es probable que la recuperación del sucedáneo sea mayor que la del simple analito nativo. Así pues, incluso para este tipo de sucedáneo es posible que la estimación de la recuperación resulte sesgada. Además, la aplicación del procedimiento de dilución isotópica se ve limitado por la disponibilidad y el costo de los analitos enriquecidos por isótopos.

3.2.2 Enriquecimiento

Una solución menos costosa, aplicada muy frecuentemente, consiste en estimar con un experimento separado la recuperación del analito después de haberlo añadido para fines de enriquecimiento. Si se dispone de una matriz en blanco (una muestra de la matriz que no contiene de hecho el analito), ésta puede enriquecerse con el analito y su recuperación se puede determinar mediante el procedimiento de análisis normal. Si no se dispone de ninguna matriz en blanco, se puede enriquecer una porción de ensayo ordinaria y analizarla junto con otra porción de ensayo no enriquecida. La diferencia entre los dos resultados obtenidos constituye la parte recuperada del analito añadido, que puede compararse con la cantidad conocida añadida. Este tipo de estimación de la recuperación se denomina aquí “recuperación del sucedáneo” (el analito añadido actúa como un sucedáneo del analito nativo). Es análogo al método de las adiciones estándar, y tropieza con el mismo problema que se encuentra con los analitos modificados isotópicamente, a saber, la posibilidad de que el analito añadido no se encuentre en una situación de equilibrio efectivo con el analito nativo. Si el analito añadido no está ligado a la matriz de manera tan firme como el analito nativo, el nivel de recuperación del sucedáneo tenderá a ser elevado en relación con el del analito nativo. Estas circunstancias dan lugar a un sesgo negativo en un resultado analítico corregido.

3.2.3 Parámetros internos

Un tercer tipo de sucedáneo que se utiliza para la estimación de la recuperación es el parámetro interno. Cuando se utiliza el establecimiento de parámetros internos en los experimentos de recuperación, el sucedáneo es una entidad químicamente distinta de los analitos, y por tanto no tiene propiedades químicas idénticas. Sin embargo, normalmente se selecciona como si estuviera lo más estrechamente relacionado posible con los analitos, de modo que reproduzca en el mayor nivel practicable su comportamiento químico. El parámetro interno se utiliza, por ejemplo, en la estimación de la recuperación en la cual han de determinarse numerosos analitos en la misma matriz, para cada uno de los cuales sería imposible realizar experimentos de recuperación marginal. La cuestión de la practicabilidad va más allá de los costos de manipulación de varios analitos: algunos (por ejemplo, los residuos de nuevos medicamentos veterinarios, o metabolitos) pueden no ser disponibles en forma de sustancias puras. Aunque en algunas circunstancias puede representar la solución más eficaz en función de los costos, en el mejor de los casos el parámetro interno es un sucedáneo menos satisfactorio desde el punto de vista técnico que el enriquecimiento, porque sus propiedades químicas no son idénticas a las de los analitos. El uso de una estimación de la recuperación basada en un parámetro interno puede dar lugar a sesgos en ambas direcciones. Los parámetros internos pueden utilizarse igualmente para otros fines.

3.3 Discordancia de matrices

La discordancia de matrices se verifica cuando un valor de recuperación se estima en una matriz y se aplica a otra. El efecto de una discordancia de matrices se manifiesta como sesgo en la recuperación, además de los casos arriba indicados. Es probable que el efecto sea más importante cuando la naturaleza química de las dos matrices es muy diferente. Sin embargo, incluso cuando las matrices se corresponden razonablemente bien (por ejemplo, dos especies diferentes de hortalizas) o son nominalmente idénticas (por ejemplo, dos distintas muestras de hígado de vacuno), el analista químico puede verse obligado a formular la hipótesis infundada de que la recuperación es aún adecuada. Es evidente que esto aumenta la incertidumbre de la recuperación y del resultado corregido en función de la misma. La discordancia de matrices puede evitarse, en principio, mediante un experimento de recuperación (por ejemplo, mediante enriquecimiento) para cada material de ensayo analizado. Sin embargo, un procedimiento de este tipo a menudo es irrealizable por motivos de rentabilidad, por lo cual para determinar la recuperación en cada serie de pruebas analíticas se utiliza un material de ensayo representativo.

3.4 Concentración del analito

La recuperación del sucedáneo o del analito nativo hasta aquí se ha tratado como si fuese independiente de la concentración del mismo. Es improbable que esto sea rigurosamente cierto a bajas concentraciones. Por ejemplo, es posible que una proporción del analito sea irre recuperable debido a la adsorción irreversible sobre las superficies. Sin embargo, una vez que todos los lugares de adsorción estén ocupados, lo que ocurre a una particular concentración del analito, es probable que el aumento de la concentración no dará lugar a ninguna pérdida ulterior. Así pues, la recuperación no es proporcional a la concentración. Durante la validación de un método analítico deberán estudiarse situaciones como ésta, pero tal vez un estudio completo requiera demasiado tiempo para una utilización *ad hoc*.

4. ¿LA INFORMACION SOBRE LA RECUPERACION DEBE UTILIZARSE PARA CORREGIR LAS MEDICIONES?

De manera análoga, hay motivos fundados tanto a favor como en contra de la corrección de los resultados. Sin embargo, prescindiendo de estos argumentos explícitos, los químicos analistas se ven a menudo obligados a cumplir con la práctica corriente o con el procedimiento documentado en su esfera de aplicación. Los argumentos enumerados aquí no son necesariamente correctos en todas las circunstancias.

4.1 Argumentos a favor de la corrección

- La finalidad de la ciencia analítica consiste en obtener una estimación de la verdadera concentración del analito nativo con una incertidumbre aceptable.
- La verdadera concentración puede estimarse sólo si se corrigen niveles de recuperación del analito considerablemente bajos.
- Un sesgo sin corregir, debido a un nivel de recuperación bajo, significa que los resultados no serán universalmente comparables, no serán reproducibles y por tanto resultarán inadecuados para respaldar el reconocimiento mutuo.
- Los métodos de corrección sugeridos son isomórficos con técnicas analíticas perfectamente aceptables, tales como el establecimiento de parámetros internos y la dilución isotópica, y por tanto en principio no son sospechosos. Aunque cierta incertidumbre va asociada inevitablemente con los factores de corrección, dicha incertidumbre puede estimarse e incorporarse en una incertidumbre global relacionada con el resultado final.

4.2 Argumentos en contra de la corrección

- Las recuperaciones estimadas basadas en un sucedáneo pueden ser mayores que el valor correspondientes del analito nativo. El resultado corregido de esta manera tendrá aún un sesgo negativo.
- Los factores de corrección estimados pueden ser de aplicación dudosa porque pueden variar según las distintas matrices y las diferentes concentraciones del analito.
- Los factores de corrección estimados a menudo tienen una incertidumbre relativa elevada, mientras que los resultados no corregidos normalmente tienen la menor incertidumbre relativa asociada únicamente a la medición volumétrica e instrumental. (Sin embargo, la incertidumbre es escasa sólo si no se incluye ninguna incidencia del sesgo). Por lo tanto, los resultados corregidos tendrán una elevada incertidumbre relativa, suficientemente alta, de ser explícita, como para crear una impresión desfavorable entre los que no están familiarizados con los problemas del análisis. Esto a su vez puede afectar a la credibilidad de la ciencia en la aplicación de la legislación.
- Pueden producirse desviaciones relativamente pequeñas con respecto a la unidad en los factores de corrección debido en gran parte a errores aleatorios más bien que a una pérdida sistemática del analito. En este caso, la corrección puede aumentar la incertidumbre absoluta del resultado.
- Algunas legislaciones que imponen niveles máximos para los contaminantes se basan en el entendimiento de que los resultados no corregidos se utilizarán para fines de observancia.

4.3 Métodos racionales y métodos empíricos

Con las mediciones analíticas, por lo general, se trata de estimar la magnitud sometida a medición, es decir, el valor verdadero de la concentración del analito, con una incertidumbre aceptable. Es solamente a partir de esta base que los resultados pueden ser completamente comparables. No obstante, debe reconocerse que esta orientación se aplica en la misma medida a los métodos de análisis “racionales” y a los “empíricos” [5]. En un método racional, la magnitud sometida a medición es la concentración del “analito” que puede medirse en el material de ensayo mediante el procedimiento específico aplicado, y que el resultado es imputable al

método. Por lo tanto, si el método se considera empírico, la concentración medida es necesariamente cercana¹ al valor. En este caso, la magnitud sometida a medición es la concentración del analito “extraíble”.

Sin embargo, el hecho de considerar los métodos empíricos no lleva de por sí a que los resultados se ajusten al requisito de equivalencia. Los resultados empíricos serán “equivalentes”, en el conjunto de un determinado sector analítico, sólo en caso de que se utilice un único protocolo (más bien que un conjunto de protocolos) para una determinación peculiar. En algunos sectores, en los cuales los métodos se han afianzado o están especificados en reglamentos, se utilizará generalmente un único protocolo de método empírico de este tipo. No obstante, en muchos sectores la metodología está sometida a una evolución continua y no se dispone de protocolos individuales. En este caso, serán equivalentes solamente los resultados corregidos por la recuperación.

5. ESTIMACION DE LA RECUPERACION

En materia de estimación de la recuperación no hay ningún procedimiento general aplicable que esté exento de puntos débiles. Sin embargo, es posible realizar un “experimento conceptual” en el cual se utilice un procedimiento ideal, que constituya un punto de referencia para los procedimientos reales.

En el procedimiento ideal se dispone de un método analítico definitivo que permite determinar el analito de manera totalmente insesgada y sin pérdidas de recuperación. El método requiere demasiados recursos como para poder utilizarse en los análisis rutinarios, pero hay otro método rutinario que permite una recuperación incompleta. La recuperación obtenida con el método habitual se estima utilizando ambos métodos para analizar un amplio conjunto de materiales de ensayo característicos, un conjunto que cubra la gama requerida de matrices y de concentraciones del analito. Se obtendrá así la recuperación (y su incertidumbre) para el método rutinario en cualquier situación concebible.

En la práctica, no se dispone de un tal método de referencia definitivo, de modo que para estimar la recuperación tienen que utilizarse materiales de referencia o estudios de sucedáneos. Sin embargo, los materiales de referencia son pocos y la escasez de recursos limita la gama de los materiales de ensayo que pueden emplearse para estimar la recuperación mediante sucedáneos. Además, el uso de sucedáneos de por sí añade incertidumbre a la estimación de la recuperación porque tal vez no sea posible determinar si cierta proporción del analito nativo está ligada a la matriz mediante enlace covalente u otro enlace igualmente fuerte y por consiguiente no recuperable.

Una estrategia comúnmente empleada para abordar este problema consiste en estimar la recuperación durante el proceso de validación del método. Las recuperaciones se determinan en base a una gama de matrices y concentraciones de analitos pertinentes tan amplia como lo permiten los recursos. Los valores obtenidos se mantienen para aplicarse más tarde cuando se utilice el método analítico. Para justificar este supuesto, todas las series ordinarias del método deben contener un material de referencia (o muestras enriquecidas) que actúen como control interno de calidad. Esto contribuye a asegurar que el sistema analítico no cambie de tal manera que se invaliden las estimaciones originales de la recuperación.

Por lo tanto, se sugiere examinar las siguientes fases, si bien la falta de recursos impide en la práctica ejecutarlas por completo.

5.1 Estudios de recuperación representativa

Para la validación del método debe disponerse de la entera gama de los tipos de matrices a las cuales se aplicará dicho método. Además, han de utilizarse varios ejemplos de cada tipo con el fin de estimar la gama normal de las recuperaciones (la incertidumbre) de este tipo de matriz. Si es probable que los datos históricos sobre el material afecten a la recuperación del analito (por ejemplo, los procedimientos técnicos de elaboración o de cocción de los productos alimenticios), entonces deben proporcionarse ejemplos relativos a las distintas fases de la elaboración. Si esta gama no puede abarcarse en el ámbito de la validación, habrá una incertidumbre adicional asociada con la discordancia de matrices en el uso de la recuperación. Esta incertidumbre tendrá que estimarse posiblemente sobre la base de la experiencia adquirida.

Cuando sea técnica y financieramente posible, deberá examinarse la cuestión de una gama adecuada de concentraciones de los analitos, porque es posible que la recuperación del analito dependa de la concentración. Hay que estudiar la posibilidad de añadir un analito a una matriz, a varios distintos niveles. A niveles muy bajos, el analito puede estar ampliamente quimioadsorbido en un número limitado de lugares sobre la matriz, o adsorbido de manera irreversible sobre las superficies de los recipientes de análisis. A este nivel de concentración la recuperación podría acercarse a cero. A un nivel algo mayor, en caso de que el

¹ Cercana, pero no idéntica al verdadero valor. Es posible que los distintos laboratorios ejecuten el protocolo de manera ligeramente diferente, introduciendo un error sistemático, y también un error (aleatorio) de repetibilidad (reproducibilidad).

analito exceda del analito así adsorbido, la recuperación será parcial. A concentraciones notablemente mayores, en caso de que el analito adsorbido sólo represente una pequeña parte del analito total, la recuperación podrá completarse de manera eficaz. Es posible que el analista químico necesite tener información sobre la recuperación, a todos estos niveles de concentración. A falta de una cobertura completa, puede ser útil estimar la recuperación a cierto nivel crítico de concentración del analito, por ejemplo a nivel de un límite reglamentario. Los valores correspondientes a otros niveles tendrán que estimarse en base a la experiencia, de nuevo con una incertidumbre adicional.

Cuando se enriquece una matriz en blanco, se puede examinar fácilmente la entera gama de concentración. Cuando la concentración del analito nativo es apreciable, el enriquecimiento debe ser al menos igualmente importante, para evitar una incertidumbre relativamente grande en la recuperación del sucedáneo.

5.2 Control interno de calidad

Los principios y la aplicación del control interno de calidad (CIC) se describen en otra parte [3]. La finalidad del CIC consiste en asegurar que el funcionamiento del sistema de análisis se mantenga efectivamente invariado durante su utilización. El concepto de control estadístico es de suma importancia en el CIC aplicado a los análisis rutinarios (en contraposición a los análisis *ad hoc*). Cuando se aplica a la recuperación, el CIC tiene algunas características especiales que deben tenerse en cuenta. Este control de la recuperación puede realizarse de dos maneras distintas, según el tipo de material de control que se utilice.

- a) Puede utilizarse como material de control un material de referencia de matrices concordantes. La recuperación de este material y una estimación inicial de su variabilidad entre series de pruebas se determinan a la hora de validar el método. En las series de pruebas rutinarias siguientes el material se analiza exactamente como si fuese un material de ensayo normal, y su valor se reproduce en un gráfico de control (o el equivalente matemático). Si el resultado de una serie se halla en la zona aceptable, entonces la estimación formulada a la hora de la validación de la recuperación se considera válida para la serie. Si el resultado no se encuentra en la zona aceptable, se necesitan ulteriores investigaciones, lo que puede conllevar el rechazo de los resultados de la serie de pruebas o eventualmente una nueva investigación sobre la recuperación. Es posible que sea necesario utilizar varios materiales de control, según la longitud de la serie, la concentración del analito, etc.
- b) Para el control de calidad pueden utilizarse asimismo materiales enriquecidos. Por lo general, las estimaciones iniciales de la recuperación media y de su variabilidad entre series de pruebas se efectúan durante la validación del método, y se reproducen en un gráfico de control. Para los análisis rutinarios pueden elaborarse cualquiera de dos métodos distintos, en función de la estabilidad del material a saber: a) un único material de control a largo plazo (o de varios materiales de este tipo) se puede utilizar en cada serie de pruebas; o bien b) el enriquecimiento de todos de los materiales de ensayo para la serie o de un conjunto de los mismos seleccionado al azar. En ambos casos, la recuperación del sucedáneo se reproduce en un gráfico de control. Mientras la recuperación siga encontrándose en la zona aceptable, puede considerarse aplicable a los materiales de ensayo en general. Entre los dos métodos, el último (que requiere materiales de ensayo reales) es probablemente el más representativo, pero también el más exigente.

Se registra cierta tendencia a confundir la función del CIC con la simple estimación de la recuperación (cuando se ésta estime adecuada). Es mejor considerar los resultados del CIC únicamente como un medio de comprobar si el proceso analítico se mantiene en la zona aceptable. La recuperación estimada a la hora de validar el método puede aplicarse por lo general de manera más correcta en las series siguientes que se hallan en la zona aceptable, porque sus niveles característicos y su variabilidad pueden estudiarse más detenidamente. Cuando se utiliza el enriquecimiento en tiempo real para corregir la recuperación, se efectúa más bien una especie de calibración por adiciones estándar.

6. INCERTIDUMBRE EN LA NOTIFICACION DE LA RECUPERACION

La incertidumbre es un concepto clave en la formulación de un procedimiento para la estimación y el uso de la información sobre la recuperación. Si bien hay aspectos importantes de carácter práctico en materia de estimación de la incertidumbre que aún (a la hora de redactar el presente documento) deben aclararse, el principio de la incertidumbre constituye una herramienta inestimable en la definición conceptual de las cuestiones relacionadas con la recuperación. En el Apéndice figuran una definición de la incertidumbre, algunas referencias clave y un examen más detallado de la cuestión.

En caso de pérdida del analito en un procedimiento analítico, hay dos tipos de incertidumbres que tienen que examinarse por separado. En primer lugar, la incertidumbres u_x asociada únicamente con la determinación, a saber, las que se deben a errores gravimétricos, volumétricos, instrumentales y de calibración. Esta incertidumbre relativa u_x/x será escasa a menos que la concentración del analito no esté cerca del límite de

detección. En segundo lugar, la incertidumbre u_R de la recuperación estimada R . Aquí es probable que la incertidumbre u_R/R relativa sea algo mayor. Si el resultado bruto se corrige en

$x_{corr} = x/R$ función de la recuperación, se obtiene (es decir, el factor de corrección es $1/R$). La incertidumbre relativa sobre x_{corr} deriva de

$$\frac{u_{corr}}{x_{corr}} = \sqrt{\left(\frac{u_x}{x}\right)^2 + \left(\frac{u_R}{R}\right)^2},$$

que es necesariamente más grande que u_x/x y puede ser considerablemente mayor. Así pues, a primera vista la corrección en función de la recuperación parece reducir, tal vez sustancialmente, la confiabilidad de la medición.

Esta interpretación no es correcta. Sólo si el método se considera empírico (lo cual tiene sus desventajas en relación con la comparabilidad, como se indica arriba), u_x es la incertidumbre adecuada. Si el método se considerase racional, y no se corrigiera el sesgo debido a la pérdida de analito, una estimación realista de la incertidumbre u_x debería incluir un término descriptivo del sesgo. Por tanto, u_x'/x sería al menos comparable con u_{corr}/x_{corr} , y podría ser aún mayor que éste último.

Este argumento se explica más detalladamente en el Apéndice.

6.1 Estimación de la incertidumbre en una recuperación

Los enfoques aquí presentados en materia de estimación de la incertidumbre de una recuperación son necesariamente indicativos y es probable que pronto serán sustituidos, a medida que se disponga de estudios más detallados. Los principios importantes son los siguientes:

- a) La recuperación y su incertidumbre estándar pueden depender ambas de la concentración del analito. Para ello es posible que se requiera la realización de estudios a distintos niveles de concentración. Las observaciones que figuran a continuación en esta sección se aplican a un solo nivel de concentración.
- b) El principal estudio sobre la recuperación debe extenderse a la entera gama de las matrices incluidas en la categoría para la cual el método se valida. Si la categoría es limitada (por ej., hígado de vacuno), deben estudiarse varias muestras diferentes del tipo en cuestión de modo que se representen las variaciones que pueden encontrar en la práctica (por ej., sexo, edad, raza, período de almacenamiento, etc.). Probablemente se requerirán como mínimo diez matrices para la estimación de la recuperación. La desviación estándar de la recuperación en relación con estas matrices constituye la parte esencial de la incertidumbre estándar de la recuperación.
- c) Si hay motivos para sospechar que no se ha extraído una proporción del analito nativo, entonces resultará sesgada la recuperación estimada mediante un sucedáneo. Este sesgo deberá estimarse e incluirse con su contribución en el presupuesto de la incertidumbre.
- d) Si un método se utiliza fuera del ámbito de aplicación de la matriz para la cual se ha validado, habrá discordancia de matrices entre los experimentos de recuperación a la hora de la validación y el material de ensayo a la hora del análisis. Esto puede dar lugar a una incertidumbre adicional en el valor de recuperación. La estimación de esta incertidumbre adicional puede resultar problemática. Probablemente sería preferible estimar la recuperación en la nueva matriz, y su incertidumbre, en un experimento separado.

7. CONCLUSIONES

La diversidad en el tratamiento de la información relativa a las recuperaciones es una causa importante de la no equivalencia de los datos. Para mitigar los efectos de ello debe promoverse normalmente la práctica de notificar los datos analíticos después de aplicar un factor de corrección apropiado. Sin embargo, en caso de que un límite reglamentario se base en datos para los cuales no se ha aplicado ningún factor de corrección, para el futuro previsible se mantendrá la situación actual de notificación de datos "brutos".

Deberán mantenerse registros adecuados en los que se describan detalladamente los experimentos de recuperación y sus resultados. Si se sabe o se sospecha que una proporción del analito nativo presente en el material de ensayo no puede extraerse mediante el procedimiento analítico, éste último debe describirse como procedimiento utilizable únicamente para la determinación del analito "disponible". Esta

especificación deberá figurar en los certificados analíticos. No puede efectuarse, ni intentarse, ninguna compensación válida para estimar el analito “ligado”, que no tenga en cuenta un modelo de recuperación.

Debe reconocerse la doble función que desempeña la determinación de las tasas de recuperación en las mediciones analíticas, es decir: a) la realización del control de calidad y b) el cálculo de los valores de recuperación. Para esta última función se requieren datos más amplios y detallados.

8. RECOMENDACIONES

Se han formulado las siguientes recomendaciones acerca del uso de la información sobre la recuperación en estas directrices:

1. Los resultados deben corregirse en función de la recuperación, a menos que haya motivos específicos para no hacerlo. Los motivos para no estimar o utilizar los factores de recuperación incluyen los casos en que (a) el método analítico se considera empírico (b) un límite reglamentario o contractual se haya fijado utilizando datos sin corregir, o (c) se sabe que las tasas de recuperación se acerquen a la unidad. Sin embargo, es sumamente importante que, al notificarse los datos, a) se especifique claramente si se ha aplicado o no una corrección en función de la recuperación, y b) de haberse aplicado una corrección en función de la recuperación, se incluyan en el informe la magnitud de la corrección y el método en base al cual se ha calculado. Esto permitirá promover la comparabilidad directa de los conjuntos de datos. Las funciones de la corrección deberán establecerse sobre la base de consideraciones estadísticas apropiadas, documentadas, archivadas y que estén a disposición del cliente.
2. Los valores de recuperación siempre deberán establecerse en el marco del método de validación, ya sea que las recuperaciones se notifiquen o que los resultados se corrijan, de modo que los valores medidos puedan convertirse en valores corregidos y vice versa.
3. Cuando se justifica el empleo de un factor de recuperación, la modalidad de cálculo debe preverse en el procedimiento.
4. Durante el proceso de validación del método, deberán elaborarse gráficos para el control interno de calidad, que se utilizarán en todos los análisis rutinarios. Las series de pruebas que arrojen valores de recuperación fuera de la gama aceptable deberán volverse a analizar en el contexto de una variación aceptable, o bien los resultados deberán presentarse como semicuantitativos.

9. BIBLIOGRAFÍA

1. *"Protocol for the Design, Conduct and Interpretation of Method Performance Studies"*, W Horwitz, *Pure Appl. Chem.*, 1988, **60**, 855- 864, revised 1995, **67**, 331-343.
2. *"The International Harmonised Protocol for the Proficiency Testing of (Chemical) Analytical Laboratories"*, M Thompson and R Wood, *Pure Appl. Chem.*, 1993, **65**, 2123-2144. (Also published in *J. AOAC International*, 1993, **76**, 926-940.
3. *"Harmonised Guidelines For Internal Quality Control in Analytical Chemistry Laboratories"*, Michael Thompson and Roger Wood, *J. Pure & Applied Chemistry*, 1995, **67**, 49-56.
4. *"Quality Assurance for Analytical Laboratories"*, edited M. Parkany, Royal Society of Chemistry, London, UK, 1993.
5. *"Sense and Traceability"*, M. Thompson, *Analyst*, 1996, **121**, 285-288.

APENDICE: INCERTIDUMBRE EN LA NOTIFICACION DE LA RECUPERACION

El principio de la incertidumbre es una herramienta valiosa para la definición conceptual de las cuestiones de recuperación. El objetivo principal del presente Apéndice consiste en exponer estos principios. La estimación de la incertidumbre de la recuperación todavía no se ha estudiado en detalle.

Definición de la incertidumbre

La ISO [1, 2] define la incertidumbre en la medición de la manera siguiente:

«Un parámetro, asociado con el resultado de una medición, que caracteriza la dispersión de los valores que pueden razonablemente atribuirse a la magnitud sometida a medición »,

con una nota que indica que "el parámetro puede ser, por ejemplo, una desviación estándar (o un determinado múltiplo de ésta), o la mitad de un intervalo que tenga un nivel de confianza declarado ». La Guía de la ISO recomienda que este parámetro se presente ya sea como incertidumbre estándar, denominada u , definida como

"la incertidumbre del resultado de una medición expresada como desviación estándar », o bien como una incertidumbre ampliada, denominada U , definida como

"una cantidad que define un intervalo relativo al resultado de una medición que se puede considerar comprensiva de una proporción importante de la distribución de los valores que pueden atribuirse a la magnitud sometida a medición ». La incertidumbre ampliada se obtiene multiplicando la incertidumbre estándar por un factor de cobertura, que en la práctica generalmente se sitúa entre 2 y 3.

Definición de la magnitud sometida a medición

Una definición clara de la magnitud sometida a medición es decisiva para la estimación de la incertidumbre y para la concordancia de los valores de recuperación. La cuestión más importante es si la magnitud sometida a medición es la cantidad de material realmente presente en la matriz muestra (método racional) o la respuesta a un procedimiento reproducible, pero por otro lado esencialmente arbitrario, establecido para fines de comparación (método empírico).

Recuperación e incertidumbre

La recuperación $R = c_{obs} / c_{ref}$ es la relación entre la concentración (o cantidad) y el valor observado c_{obs} obtenido en un experimento separado mediante la aplicación de un procedimiento analítico y un material que contiene el analito a un valor de referencia c_{ref} . c_{ref} será a) un valor certificado de un material de referencia ; b) medido mediante otro método definitivo ; o c) definido como adición de enriquecimiento. En una separación perfecta R sería exactamente igual a la unidad. En realidad, circunstancias como por ejemplo la extracción imperfecta dan lugar a menudo a observaciones que difieren del ideal. Como consecuencia de ello, la buena práctica consiste, en la validación del método analítico, en estimar una recuperación R para el sistema de análisis. En estos experimentos, se puede investigar si la recuperación se aleja de manera significativa de la unidad. En este caso, la pregunta que se plantea es "¿ $[R - 1]$ es más grande que la incertidumbre (u_R) en la determinación de R ?", a un determinado nivel de confianza. En el Cuadro 2 figuran algunas fuentes de incertidumbre en la recuperación medida. El experimentador lleva a cabo luego una prueba de significación de la siguiente forma

$$[R - 1]/u_R > t: \quad R \text{ difiere de manera significativa de } 1$$

$$[R - 1]/u_R \leq t: \quad R \text{ no difiere de manera significativa de } 1 \quad [1b]$$

o bien t es un valor crítico basado ya sea en un "factor de cobertura" que permite una significación práctica o, cuando el ensayo es enteramente estadístico, en $t_{(\alpha/2, n-1)}$, siendo el valor correspondiente t de Student aplicable a un nivel de confianza $1-\alpha$.

Después de este ensayo, pueden distinguirse cuatro casos que difieren principalmente por el uso que se hace de la recuperación R .

- (a) R no difiere de manera significativa de 1. No se aplica ninguna corrección.
- (b) R difiere de manera significativa de 1 y se aplica una corrección en función de R .
- (c) R difiere de manera significativa de 1 pero, por motivos operacionales, no se aplica ninguna corrección en función de R .

- (d) Se utiliza un método empírico. R se considera arbitrariamente igual a la unidad y u_R igual a cero. (Aunque existe evidentemente cierta variación en la recuperación en los ensayos repetidos o reproducidos, dicha variación se integra en la precisión estimada directamente del método).

La incertidumbre se puede tratar en cada uno de los casos arriba indicados como sigue:

- (a) *R no difiere de manera significativa de 1.* El experimento no ha revelado ningún motivo para ajustar los resultados siguientes en función de la recuperación. Se puede pensar que la incertidumbre en la recuperación no es importante. No obstante, el experimento no hubiera podido diferenciar las recuperaciones en una gama comprendida entre $1 - ku_R$ y $1 + ku_R$. Se deduce de ello que aún existe una incertidumbre en lo relativo a la recuperación que debe tenerse en cuenta para calcular la incertidumbre global (Se puede considerar también que se aplica implícitamente un factor de corrección basado en $R = 1$, pero que el experimentador no está seguro de que el valor sea exactamente igual a la unidad). u_R se incluye por lo tanto en el presupuesto de la incertidumbre. Sin embargo, no se debe incluir dos veces: a menudo la incertidumbre de la recuperación se incluye automáticamente en las estimaciones de la precisión.

R difiere de 1 y se aplica una corrección. Puesto que R se incluye explícitamente en el cálculo del resultado corregido (es decir, $c_{corr} = c / R$, o bien c es el resultado sin elaborar con una incertidumbre u_c), está claro que u_R debe incluirse en el presupuesto de la incertidumbre. Esto lleva a una incertidumbre combinada u_{corr} acerca del resultado corregido que deriva de

$$\frac{u_{corr}}{c_{corr}} = \sqrt{\left(\left(\frac{u_c}{c}\right)^2 + \left(\frac{u_R}{R}\right)^2\right)}$$

u_{corr} se multiplicaría por k (en general 2) para obtener la incertidumbre ampliada U .

- (c) *R difiere de 1 y no se aplica ninguna corrección.* La no aplicación de una corrección para un efecto sistemático conocido en un método racional no es compatible con la obtención de la mejor estimación posible de la magnitud sometida a medición. En este caso, es menos evidente la oportunidad de tener en cuenta la recuperación en el cálculo de la incertidumbre global. Si R_m es sensiblemente diferente de la unidad, la dispersión de los valores de la magnitud sometida a medición está mal representada, a menos que la incertidumbre u_R no se aumente de manera apreciable. Un enfoque sencillo y pragmático que a veces se adopta cuando no se ha aplicado una corrección b para un efecto sistemático conocido consiste en aumentar la incertidumbre ampliada en el resultado final ($U_c + b$), en el cual U_c se calcula en base a la hipótesis de que b es igual a cero. En consecuencia, para la recuperación, $U = U_c + (c / R - c)$. Este procedimiento arroja una incertidumbre global pesimista, y se aleja del principio recomendado por la ISO de tratar todas las incertidumbres como desviaciones estándar.

Otra solución, si la corrección en función de la recuperación no se aplica porque el analista estima que la diferencia no es significativa en el uso normal, el caso c) puede tratarse de la misma manera que el caso a), tras aumentar u_R ya que en la prueba de significación hubiera tenido que emplearse un valor superior a u_R . Esto corresponde a estimar u_R como $|1 - R| / t$, donde t es el valor crítico utilizado en la prueba de significación. Esta incertidumbre ampliada de la recuperación debe incluirse como en el caso de b). Normalmente esto será significativo sólo cuando u_R sea comparable o superior a $|1 - R|$.

Aunque cada método proporciona una estimación de la incertidumbre, ambos presentan inconvenientes similares derivados del hecho de que no se corrige el resultado para obtener una mejor estimación de la magnitud sometida a medición. Los dos métodos dan lugar a una sobreestimación de la incertidumbre y a que la magnitud sometida a medición se encuentre cerca de uno de los límites de la gama establecida en torno al resultado (en general, el límite superior), habiendo pocas posibilidades de que el resto de la gama contenga el valor con una probabilidad significativa.

Para tasas de recuperación del orden del 70%, la incidencia adicional de la incertidumbre (antes de aplicar un factor de cobertura) se acercará al 20% del resultado. Está claro que esto no es irrazonable, habida cuenta de la proporción de la corrección en función de la recuperación que no se tiene en cuenta, aunque pone de relieve las consecuencias que puede tener para la incertidumbre notificada el hecho de omitir una importante corrección en función de la recuperación.

Así pues, es necesario efectuar una elección clara para evitar que el cliente sea engañado por un resultado obtenido con un método que se supone racional. Hay que corregir la recuperación o bien indicar una incertidumbre mucho mayor.

Por último, cabe observar que el examen anterior se refiere a un situación en la cual el resultado y su incertidumbre se obtienen a escala real y se presentan como tales. Todavía no se ha examinado el caso de que un analista dé una *interpretación* de un resultado (por ejemplo, declarando que el valor «no es inferior a...»). En este tipo de interpretación se tienen en cuenta los conocimientos profesionales del analista en materia de recuperación e incertidumbre experimental global, y por lo tanto no es necesario comunicar estos datos.

Bibliografía

1. Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement', ISO, Ginebra, 1993, (ISBN 92-67-10188-9)
2. *International Vocabulary of basic and general terms in Metrology*. ISO, Ginebra, 1993 (ISBN 92-67-10175-1)

Cuadro 1. Fuentes de incertidumbre en la química analítica

1.	Definición incompleta de la magnitud sometida a medición (por ejemplo, no especificar la forma exacta del analito que se determina).
2.	Muestreo – la muestra analizada puede no representar la magnitud sometida a medición.
3.	Extracción incompleta y/o preconcentración de la magnitud sometida a medición, contaminación de la muestra destinada a la medición, interferencias y efectos de la matriz.
4.	Conocimiento incompleto de los efectos de las condiciones ambientales sobre el procedimiento de medición o medición imperfecta de las condiciones ambientales
5.	Contaminación cruzada o contaminación de los reactivos o las matrices y muestras en blanco.
6.	Sesgo humano en la lectura de los instrumentos analógicos.
7.	Incertidumbre de los pesos y los aparatos volumétricos.
8.	Capacidad de resolución o umbral de discriminación del instrumento.
9.	Valores atribuidos a los parámetros de medición o los materiales de referencia.
10.	Valores de las constantes y otros parámetros obtenidos de fuentes externas y utilizados en la reducción algorítmica de los datos.
11.	Aproximaciones e hipótesis incorporadas en el método y el procedimiento de medición.
12.	Variaciones en observaciones repetidas de la magnitud sometida a medición en condiciones aparentemente idénticas.

Cuadro 2: Fuentes de incertidumbre en la estimación de la recuperación

1.	Repetibilidad del experimento de recuperación.
2.	Incertidumbres en los valores del material de referencia.
3.	Incertidumbres en la cantidad añadida de analito enriquecido.
4.	Mala representación del analito nativo debido a la porción enriquecida añadida.
5.	Concordancia mediocre o limitada entre la matriz experimental y la gama completa de las matrices muestra encontradas.
6.	Efecto del nivel de analito/porción enriquecida sobre la recuperación y concordancia imperfecta entre el nivel del analito en el enriquecimiento o el material de referencia y el nivel del analito en las muestras.