

|   |   |                                   |           |               |
|---|---|-----------------------------------|-----------|---------------|
|  | <b>INSTRUCTIVO VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS</b> |                                   |           | <b>I14-02</b> |
| Subsistema emisor<br>Laboratorio de Control de Calidad de Aguas                   | Fecha de Emisión<br>01-agt-20                       | Fecha último cambio:<br>01-agt-20 | L/C:<br>A | Página 1 de 9 |

|  |   |
|--|---|
| <b>Aplicación</b>                      | Este instructivo aplica a las metodologías normalizadas (AOAC, ISO, NTC, SM) que se emplean en el Laboratorio de Empresas Públicas Municipales de Sibaté SCA ESP.   |
| <b>Objetivo</b>                        | El presente documento tiene como propósito presentar los lineamientos para la verificación de métodos de ensayos analíticos cuantitativos normalizados en el Laboratorio de Control de Calidad de Aguas de Empresas Públicas Municipales de Sibaté SCA ESP.   |
| <b>Responsables</b>                    | Laboratorio de Control de Calidad de Aguas  |
| <b>Documentos y Formatos asociados</b> | ISO/IEC 17025:2017  |
| <b>Glosario</b>                        | <p><b>Límite de Detección del Método:</b> concentración más baja del analito que puede ser determinada con un nivel aceptable de incertidumbre por un método específico y con un equipo determinado.</p> <p><b>Límite de Cuantificación:</b> es la menor concentración o cantidad de analito de una muestra que puede ser cuantificada, con aceptable precisión y exactitud bajo las condiciones experimentales establecidas.</p> <p><b>Linealidad:</b> Se refiere a la proporcionalidad directa entre la concentración y la señal producida por el instrumento. Sus resultados son utilizados para calcular la curva de regresión usando el método de los mínimos cuadrados.</p> <p><b>Material de Referencia Certificado:</b> material de referencia acompañado por la documentación emitida por un organismo autorizado que proporciona uno o varios valores de propiedades especificadas, con incertidumbre y trazabilidad asociadas, empleando procedimientos válidos.</p> <p><b>Matriz:</b> Medio en el cual se cuantifican o identificación los analitos o compuestos de interés, ejemplo: agua, suelo, sedimento, entre otras.</p> <p><b>Método de medida:</b> descripción genérica de la secuencia lógica de operaciones utilizadas en una medición.</p> <p><b>Parámetro:</b> Analito a determinar de acuerdo con el protocolo estandarizado y validado.</p> <p><b>Precisión:</b> proximidad entre las indicaciones o valores medidos obtenidos en las mediciones repetidas de un mismo objeto, o de objetos similares, bajo condiciones especificadas. La precisión está asociada a la repetibilidad y reproducibilidad.</p> <p><b>Principio de medida (técnica de análisis):</b> Fenómeno que sirve como base de una medición.</p> <p><b>Proceso:</b> Toda aquella actividad donde se interrelacionan varios factores para generar un producto o servicio.</p> |

| FUNCIONARIO | ELABORADO                 | REVISADO                   | APROBADO                   |
|-------------|---------------------------|----------------------------|----------------------------|
| NOMBRES     | Amanda Ascensio Martínez  | Johon Alexander Simbaqueva | Jose Pedro Cantor Mosquera |
| CARGO       | Profesional Universitario | Control Interno            | Gerente General            |
| FECHA       | Agosto de 2020            |                            | 1 / 9                      |

|   |   |                                   |           |               |
|---|---|-----------------------------------|-----------|---------------|
|  | <b>INSTRUCTIVO VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS</b> |                                   |           | <b>114-02</b> |
| Subsistema emisor<br>Laboratorio de Control de<br>Calidad de Aguas                | Fecha de Emisión<br>01-agt-20                       | Fecha último cambio:<br>01-agt-20 | L/C:<br>A | Página 2 de 9 |

|  |  |
|--|--|
|  | <p><b>Rango de Trabajo:</b> Rango de concentración del analito que puede determinarse satisfactoriamente con adecuada linealidad, exactitud y precisión.</p> <p><b>Recuperación:</b> Se presenta como el porcentaje rescatado, de una concentración conocida de un estándar adicionado a una muestra; permite detectar la presencia de interferencias en la muestra, o si hay un efecto de matriz que produce errores sistemáticos. Refleja la exactitud de un método.</p> <p><b>Repetibilidad:</b> Refleja la precisión de un método, cuando se desarrolla bajo las mismas condiciones, utilizando la misma muestra, analizada por el mismo analista, en los mismos equipos y reactivos y durante una misma sesión de trabajo.</p> <p><b>Reproducibilidad:</b> precisión de medida bajo un conjunto de condiciones de reproducibilidad.</p> <p><b>Condición de reproducibilidad de una medición:</b> Condición de medición, dentro de un conjunto de condiciones que incluye diferentes lugares, operadores, sistemas de medición y mediciones repetidas de los mismos objetos u objetos similares.</p> <p><b>Repetición:</b> Son mediciones repetidas de una misma muestra.</p> <p><b>Réplica:</b> Análisis sucesivos de una misma muestra bajo las mismas condiciones, utilizando el método analítico completo.</p> <p><b>Robustez:</b> Medida de la capacidad de un procedimiento analítico para permanecer inafectado por pequeñas pero deliberadas variaciones en los parámetros del método. Proporciona además una indicación de su fiabilidad durante su uso normal.</p> <p><b>Sensibilidad:</b> Propiedad analítica asignable a un método analítico, que puede definirse por su capacidad para discriminar entre concentraciones semejantes de analito, o su capacidad para poder determinar pequeñas concentraciones de este en una muestra. La definición más general de la sensibilidad es la pendiente de la curva de calibración, a mayor valor de la pendiente, mayor la sensibilidad.</p> <p><b>Selectividad-Especificidad:</b> Propiedad del método de producir una respuesta medible debida solo a la presencia del analito de interés.</p> <p><b>Tanda de muestras:</b> Número máximo de muestras que se tiene en cuenta para realizar todos los análisis de control de calidad analítico correspondientes a cada parámetro. (Ver tabla 2. Control de calidad analítico por parámetro y método de medición matriz agua).</p> <p><b>Trazabilidad metrológica:</b> Propiedad de un resultado de medida por la cual el resultado puede relacionarse con una referencia mediante una cadena ininterrumpida y documentada de calibraciones, cada una de las cuales contribuye a la incertidumbre de medida.</p> <p><b>Validación:</b> verificación de que los requisitos especificados son adecuados para un uso previsto.</p> |
|--|--|

| FUNCIONARIO | ELABORADO                 | REVISADO                   | APROBADO                   |
|-------------|---------------------------|----------------------------|----------------------------|
| NOMBRES     | Amanda Ascensio Martínez  | Johon Alexander Simbaqueva | Jose Pedro Cantor Mosquera |
| CARGO       | Profesional Universitario | Control Interno            | Gerente General            |
| FECHA       | Agosto de 2020            |                            | 2 / 9                      |

|   |  |                               |                                   |               |
|---|--|-------------------------------|-----------------------------------|---------------|
|  | <b>INSTRUCTIVO VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS</b>                |                               |                                   | <b>114-02</b> |
|   | Subsistema emisor<br>Laboratorio de Control de<br>Calidad de Aguas | Fecha de Emisión<br>01-agt-20 | Fecha último cambio:<br>01-agt-20 | L/C:<br>A     |

|  |  |
|--|--|
|  | <b>Verificación:</b> aportación de evidencia objetiva de que un elemento satisface los requisitos especificados. |
|--|--|

## DESARROLLO DE ACTIVIDADES

### 1. INTRODUCCIÓN

|            |   |
|------------|---|
| <b>1.1</b> | <p>La ISO 9000 define verificación como “confirmación, a través de la aportación de evidencias objetivas, de que se cumplen los requisitos especificados. El VIM (International Vocabulary of Metrology por sus siglas en inglés) establece que la verificación es “la aportación de evidencia objetiva de que un elemento dado satisface los requisitos especificados” [1]</p> <p>Por tanto, se define verificación como la demostración mediante experimentos, de que un método establecido funciona adecuadamente de acuerdo con las especificaciones determinadas en el laboratorio de ensayo.</p> <p>Los atributos de verificación de metodologías analíticas cuantitativas en el Laboratorio de Control de Calidad de Aguas de Empresas Públicas Municipales de Sibaté son:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Límite de detección</li> <li>• Límite de cuantificación</li> <li>• Rango de trabajo</li> <li>• Repetibilidad</li> <li>• Precisión Intermedia</li> <li>• Exactitud</li> </ul> |
|------------|---|

### 2 Verificación de métodos

|            |   |
|------------|---|
| <b>2.1</b> | <p style="text-align: center;"><b>DETERMINACIÓN DE ATRIBUTOS EN LA VERIFICACIÓN DE METODOS ANALITICOS</b></p> <p>Límite de detección</p> <p>El límite de detección está definido como el nivel en el cual la detección del analito se vuelve problemática [1].</p> <p>Está definido por la siguiente fórmula:</p> $LD = LB + (k) (SD)$ <p>Donde<br/>LB: Señal media de los blancos de reactivos</p> <p>SD: Desviación estándar de las mediciones a la concentración del analito correspondiente al Límite de detección.</p> <p>k: La selección del valor de k está dada por el nivel de confianza deseado, para concluir que la muestra contiene el analito de interés.</p> |
|------------|---|

| FUNCIONARIO | ELABORADO                 | REVISADO                   | APROBADO                   |
|-------------|---------------------------|----------------------------|----------------------------|
| NOMBRES     | Amanda Ascensio Martínez  | Johon Alexander Simbaqueva | Jose Pedro Cantor Mosquera |
| CARGO       | Profesional Universitario | Control Interno            | Gerente General            |
| FECHA       | Agosto de 2020            |                            | 3 / 9                      |

|   |  |                               |                                   |               |
|---|--|-------------------------------|-----------------------------------|---------------|
|  | <b>INSTRUCTIVO VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS</b>                |                               |                                   | <b>114-02</b> |
|   | Subsistema emisor<br>Laboratorio de Control de<br>Calidad de Aguas | Fecha de Emisión<br>01-agt-20 | Fecha último cambio:<br>01-agt-20 | L/C:<br>A     |

Para la fórmula anterior, generalmente el uso de un  $k=3$  es recomendado y corresponde a un nivel de confianza del 99.86% [2], quedando entonces la fórmula así:

$$LD = LB + (3) (SD)$$

Finalmente si la desviación estándar de las mediciones de la concentración en el Límite de Detección, SD se asume como aproximadamente igual a la desviación estándar del blanco SB, entonces el Límite de detección es tres desviaciones estándar por arriba de la señal del blanco:

$$LD = LB + (3) (SB)$$

El número de réplicas (m) debería ser suficiente para obtener un estimado adecuado de la desviación estándar. Típicamente se consideran necesarias de 6 a 15 réplicas del blanco; usualmente se recomiendan 10 réplicas en procedimientos/protocolos de verificación [1].

**Límite de cuantificación:**  
El límite de cuantificación es el mínimo nivel de analito que puede ser determinado con desempeño aceptable [1]. Con base a lo descrito en el ítem anterior, el límite de cuantificación se calcula con la siguiente ecuación

$$LC = LB + (k) (SB)$$

Para la fórmula anterior, se utiliza un  $k=10$  [1,2].

Por lo tanto el Límite de cuantificación calculado es diez desviaciones estándar por arriba de la señal del blanco:

$$LC = LB + (10) (SB)$$

Donde  
LB: Señal media de los blancos de reactivos  
SB: Desviación estándar de las mediciones del blanco

Este resultado es el LC estimado, el cual es el valor de concentración sobre el cual se empieza a trabajar para determinar el límite de cuantificación del método LCM. Como ya se sabe, este límite es el que en la práctica indica el valor mínimo que puede ser medido bajo condiciones de exactitud y precisión aceptables.

Para determinar el LCM, se debe partir de un experimento que involucre una serie de patrones de baja concentración lo más próximo al LC estimado, luego se procede a su análisis por el método en verificación, posteriormente se determina sobre el conjunto de datos de concentración el coeficiente de variación (precisión) y el porcentaje de error (exactitud).

Finalmente, se verifican los siguientes criterios de aceptación coeficiente de variación y porcentaje de error relativo menor al 20%. Si el LCM evaluado experimentalmente no cumple con precisión y exactitud, se debe analizar un nuevo conjunto de estándares de baja concentración por encima del primer ensayo. Cuando se llegue al punto en el que los ensayos realizados cumplen los criterios de precisión y exactitud, se declara la concentración más baja que haya cumplido. [4]

**Rango de trabajo**

El rango de trabajo es el intervalo en el cual el método proporciona resultados con una incertidumbre aceptable (Linealidad de la respuesta). El extremo inferior del intervalo de trabajo está determinado por el límite de cuantificación, LC. El extremo superior del intervalo de trabajo

| <b>FUNCIONARIO</b> | <b>ELABORADO</b>          | <b>REVISADO</b>            | <b>APROBADO</b>            |
|--------------------|---------------------------|----------------------------|----------------------------|
| NOMBRES            | Amanda Ascensio Martínez  | Johon Alexander Simbaqueva | Jose Pedro Cantor Mosquera |
| CARGO              | Profesional Universitario | Control Interno            | Gerente General            |
| FECHA              | Agosto de 2020            |                            | 4 / 9                      |

|   |   |                                   |           |               |
|---|---|-----------------------------------|-----------|---------------|
|  | <b>INSTRUCTIVO VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS</b> |                                   |           | <b>114-02</b> |
| Subsistema emisor<br>Laboratorio de Control de<br>Calidad de Aguas                | Fecha de Emisión<br>01-agt-20                       | Fecha último cambio:<br>01-agt-20 | L/C:<br>A | Página 5 de 9 |

| <p>está definido por las concentraciones a las cuales se observan anomalías significativas en la sensibilidad analítica [1].</p> <p>Se debe demostrar la linealidad de la respuesta del analito en el rango de trabajo establecido. El método más empleado para encontrar los coeficientes de la recta de calibrado es el método de mínimos cuadrados, el cual busca la recta de calibrado que haga que la suma de los cuadrados de las distancias verticales entre cada punto experimental y la recta de calibrado sea mínima [2].</p> <p>Evaluación del modelo de línea recta</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Preparar una solución stock de la sustancia que se desea cuantificar y un blanco de reactivos.</li> <li>• Preparar cinco (5) soluciones stock independientes en niveles de concentración del analito en el rango lineal, reportado por la literatura específica del método de ensayo que se está estandarizando.</li> <li>• Con estas soluciones y el blanco de reactivos, se realiza una curva de calibración (respuesta vs concentración).</li> <li>• Realizar 3 lecturas de cada concentración y registrar los resultados mediante una tabla, de tal forma, que se facilite la visualización de los mismos.</li> <li>• La curva de calibrado se establece siempre con la respuesta del instrumento en el eje vertical (y) y la concentración en el eje horizontal (x).</li> <li>• Los datos se someten a regresión lineal para obtener la ecuación de cada recta (<math>y = mx + b</math>) y se consignan en la tabla los valores para cada caso, correspondientes al coeficiente de correlación lineal (r), pendiente de la curva de calibración (m) y el intercepto de la curva (b).</li> </ul> <p>Para verificar que se ajustan los puntos experimentales a una línea recta, se calcula el coeficiente de correlación (r). Se estima que como mínimo debe ser <math>\geq 0,995</math> para garantizar el ajuste lineal entre las concentraciones y las respuestas obtenidas [2].</p> <p>Repetibilidad: Es una medida de cuan cerca están los resultados entre sí. Por lo general, se expresa mediante parámetros estadísticos que describen la propagación de los resultados, típicamente la desviación estándar relativa (%RSD), también denominado coeficiente de variación (CV), calculada a partir de los resultados obtenidos mediante la realización de mediciones repetidas en condiciones específicas [1].</p> <p>La tabla 1, presenta las condiciones específicas que caracterizan el cálculo de la repetibilidad y la precisión intermedia</p> <table border="1" data-bbox="420 1516 1265 1736" style="margin-left: auto; margin-right: auto;"> <thead> <tr> <th>Variable/Atributo</th> <th>Repetibilidad</th> <th>Precisión Intermedia</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Analista</td> <td>mismo</td> <td>mismo ó diferente</td> </tr> <tr> <td>Laboratorio</td> <td>mismo</td> <td>mismo</td> </tr> <tr> <td>Día</td> <td>mismo</td> <td>mismo ó diferente</td> </tr> <tr> <td>Método</td> <td>mismo</td> <td>mismo</td> </tr> <tr> <td>Equipo</td> <td>mismo</td> <td>mismo ó diferente</td> </tr> </tbody> </table> <p style="text-align: center;">Tabla 1. Condiciones de estimación de Repetibilidad y precisión intermedia</p> | Variable/Atributo | Repetibilidad        | Precisión Intermedia | Analista | mismo | mismo ó diferente | Laboratorio | mismo | mismo | Día | mismo | mismo ó diferente | Método | mismo | mismo | Equipo | mismo | mismo ó diferente |
|---|-------------------|----------------------|----------------------|----------|-------|-------------------|-------------|-------|-------|-----|-------|-------------------|--------|-------|-------|--------|-------|-------------------|
| Variable/Atributo   | Repetibilidad     | Precisión Intermedia |                      |          |       |                   |             |       |       |     |       |                   |        |       |       |        |       |                   |
| Analista  | mismo             | mismo ó diferente    |                      |          |       |                   |             |       |       |     |       |                   |        |       |       |        |       |                   |
| Laboratorio   | mismo             | mismo                |                      |          |       |                   |             |       |       |     |       |                   |        |       |       |        |       |                   |
| Día   | mismo             | mismo ó diferente    |                      |          |       |                   |             |       |       |     |       |                   |        |       |       |        |       |                   |
| Método  | mismo             | mismo                |                      |          |       |                   |             |       |       |     |       |                   |        |       |       |        |       |                   |
| Equipo  | mismo             | mismo ó diferente    |                      |          |       |                   |             |       |       |     |       |                   |        |       |       |        |       |                   |

| FUNCIONARIO | ELABORADO                 | REVISADO                   | APROBADO                   |
|-------------|---------------------------|----------------------------|----------------------------|
| NOMBRES     | Amanda Ascensio Martínez  | Johon Alexander Simbaqueva | Jose Pedro Cantor Mosquera |
| CARGO       | Profesional Universitario | Control Interno            | Gerente General            |
| FECHA       | Agosto de 2020            |                            | 5 / 9                      |

|   |  |                               |                                   |               |
|---|--|-------------------------------|-----------------------------------|---------------|
|  | <b>INSTRUCTIVO VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALITICOS</b>                |                               |                                   | <b>114-02</b> |
|   | Subsistema emisor<br>Laboratorio de Control de<br>Calidad de Aguas | Fecha de Emisión<br>01-agt-20 | Fecha último cambio:<br>01-agt-20 | L/C:<br>A     |

|  |   |
|--|---|
|  | <p>El ensayo de Repetibilidad del método se realiza sobre una serie de alícuotas, de una muestra homogénea que se analiza independientemente desde el principio (preparación de la muestra) hasta el final (lectura de resultados) por el mismo instrumento y el mismo analista.</p> <p>Para determinar la Repetibilidad se trabaja un mínimo de tres muestras a tres niveles de concentración cubriendo el rango de trabajo, analizando cada nivel por triplicado [2,3].</p> <p>Una vez determinada las 9 medidas correspondientes a los 3 niveles de concentración (Limite de cuantificación y 50% y 100% del rango de trabajo), se calcula el coeficiente de variación global que corresponde a la Repetibilidad del método (Promedio de los coeficientes de variación a los tres niveles de concentración), la cual no debe superar el valor reportado en la referencia normalizada (AOAC, ISO, NTC, etc.), sí el mismo lo indica. En caso de no indicarlo, el CV obtenido corresponde a la repetibilidad del método.</p> <p>Precisión Intermedia.</p> <p>La precisión intermedia es determinar la variabilidad del método, efectuando una serie de análisis sobre la misma muestra, en un mismo laboratorio, pero en condiciones operativas diferentes. Típicos factores a estudiar incluyen el día y el analista. Las muestras se preparan independientemente a tres niveles de concentración, por triplicado, variando el día por cada analista (2 analistas), es decir, se obtendría un total de muestras 36.</p> <p>La estimación de la precisión intermedia se realiza mediante herramientas tales como el cálculo del porcentaje de desviación estándar relativa global CV (Coeficiente de Variación) de las respuestas obtenidas a los tres niveles de concentración. Generalmente se aceptan valores de %CV de la precisión intermedia, inferiores al doble del %RSD de la repetibilidad del método [2].</p> <p>Exactitud (% de recuperación)</p> <p>La exactitud de medición expresa la proximidad de un único resultado a un valor de referencia [1].</p> <p>Cuando se dispone de materiales de referencia certificados, el valor de dicho material es el que se acepta como valor verdadero y la exactitud puede evaluarse, desde el citado valor [2].</p> <p>La exactitud evalúa el grado de aproximación entre el valor promedio obtenido experimentalmente de una serie de resultados y un valor de referencia aceptado. Se expresa en términos de error.</p> $\% Error = \frac{\bar{X} \text{ exp} - X \text{ teórica}}{X \text{ teórica}} \times 100$ <p>Donde:</p> <p><math>\bar{X}</math> exp = Es el valor promedio de concentración de las 10 réplicas</p> <p>X Teórica = Es el valor de la concentración del estándar preparado para el ejercicio.</p> <p>Registrar los datos en el registro de Precisión, exactitud de estándares y Recuperación</p> |
|--|---|

| <b>FUNCIONARIO</b> | <b>ELABORADO</b>          | <b>REVISADO</b>            | <b>APROBADO</b>            |
|--------------------|---------------------------|----------------------------|----------------------------|
| NOMBRES            | Amanda Ascensio Martínez  | Johon Alexander Simbaqueva | Jose Pedro Cantor Mosquera |
| CARGO              | Profesional Universitario | Control Interno            | Gerente General            |
| FECHA              | Agosto de 2020            |                            | 6 / 9                      |

|   |  |                               |                                   |               |
|---|--|-------------------------------|-----------------------------------|---------------|
|  | <b>INSTRUCTIVO VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS</b>                |                               |                                   | <b>114-02</b> |
|   | Subsistema emisor<br>Laboratorio de Control de<br>Calidad de Aguas | Fecha de Emisión<br>01-agt-20 | Fecha último cambio:<br>01-agt-20 | L/C:<br>A     |

En general el CV y el % error debe ser < 15%. Este criterio puede variar en algunos parámetros de acuerdo a la técnica utilizada y en los niveles bajos. En la siguiente tabla se establecen los CV y %Error máximos por parámetro:

| % Error y CV máximos | VARIABLE               | NORMA DE REFERENCIA                     |
|----------------------|------------------------|---|
| 15%                  | Color real             | Standard Methods 2120C                  |
|                      | Color aparente         | Standard Methods 2120B                  |
|                      | Turbiedad              | Standard Methods 2130B                  |
|                      | Alcalinidad            | Standard Methods 2320B                  |
|                      | Dureza total y cálcica | Standard Methods 2340C                  |
|                      | Conductividad          | Standard Methods 2510 B                 |
|                      | Cloro residual         | Standard Methods 4500 Cl-G              |
|                      | Cloruros               | Standard Methods 4500-Cl B              |
|                      | Nitritos               | Standard Methods 4500-NO <sub>2</sub> B |
|                      | Sulfatos               | Standard Methods 4500-SO <sub>4</sub> E |
|                      | Fósforo Total          | Standard Methods 4500-P B,E             |
|                      | Ortofosfatos           | Standard Methods 4500-P B,E             |
| 20%                  | pH                     | Standard Methods 4500-H <sup>+</sup> B  |
|                      | Hierro Total           | Standard Methods 3500-Fe B              |

Tabla 2. Porcentajes de error (%error) y coeficientes de variación (CV) máximos por determinación analítica

#### Descarte de datos

Para que el conjunto de datos que conforman un ensayo sea válido para realizar cualquier tipo de análisis estadístico, es necesario, depurar el conjunto descartando los datos atípicos que no representan el verdadero comportamiento del ensayo, aplicando el contraste de Grubbs (formalmente simbolizado por una G, aunque a veces se emplea una T). Para ello se realiza el siguiente procedimiento:

- 1) Ordene el conjunto de datos de menor a mayor (xbajo, .....xalto)
- 2) Calcule el promedio (X) y la desviación estándar (s)
- 3) Estime el estadístico T de la siguiente manera:

$$T_1 = \frac{(x_{\text{alto}} - \bar{X})}{s} ; \quad T_2 = \frac{(\bar{X} - x_{\text{bajo}})}{s}$$

- 4) Compare los valores T respecto de los encontrados en la tabla para un nivel de confianza del 95% (con una probabilidad de 0.05) y n datos medidos (ver tabla Valores críticos T para contraste de datos (Tcrítico, 95%)); si el valor de T1 ó T2 calculado es mayor que el de las tablas, dicho dato se debe rechazar. Si el dato es menor no se rechaza.

| FUNCIONARIO | ELABORADO                 | REVISADO                   | APROBADO                   |
|-------------|---------------------------|----------------------------|----------------------------|
| NOMBRES     | Amanda Ascensio Martínez  | Johon Alexander Simbaqueva | Jose Pedro Cantor Mosquera |
| CARGO       | Profesional Universitario | Control Interno            | Gerente General            |
| FECHA       | Agosto de 2020            |                            | 7 / 9                      |

|   |  |                               |                                   |               |
|---|--|-------------------------------|-----------------------------------|---------------|
|  | <b>INSTRUCTIVO VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS</b>                |                               |                                   | <b>114-02</b> |
|   | Subsistema emisor<br>Laboratorio de Control de<br>Calidad de Aguas | Fecha de Emisión<br>01-agt-20 | Fecha último cambio:<br>01-agt-20 | L/C:<br>A     |

| n  | 95%   | n  | 95%   | n  | 95%   | n  | 95%   | n   | 95%   |
|----|-------|----|-------|----|-------|----|-------|-----|-------|
| 3  | 1,155 | 11 | 2,355 | 19 | 2,681 | 27 | 2,859 | 35  | 2,979 |
| 4  | 1,481 | 12 | 2,412 | 20 | 2,709 | 28 | 2,876 | 36  | 2,991 |
| 5  | 1,715 | 13 | 2,462 | 21 | 2,733 | 29 | 2,893 | 37  | 3,003 |
| 6  | 1,887 | 14 | 2,507 | 22 | 2,758 | 30 | 2,908 | 38  | 3,014 |
| 7  | 2,02  | 15 | 2,549 | 23 | 2,781 | 31 | 2,924 | 39  | 3025  |
| 8  | 2,126 | 16 | 2,585 | 24 | 2,802 | 32 | 2,938 | 40  | 3,036 |
| 9  | 2,215 | 17 | 2,62  | 25 | 2,822 | 33 | 2,952 | 100 | 3,210 |
| 10 | 2,29  | 18 | 2,651 | 26 | 2,841 | 34 | 2,965 |     |       |

Tabla3.  
Valores críticos T para contraste de datos (Tcrítico, 95%)

El contraste se basa en las siguientes hipótesis:

- i) Hipótesis nula H0: todas las medidas proceden de la misma población.
- ii) Hipótesis alternativa H1: el valor comparado no pertenece a la misma población de datos y es un dato anómalo que debe ser rechazado para efectuar los cálculos estadísticos sucesivos.

Si  $T_1$  y  $T_2 < T_{crítico}$  el valor sospechoso se acepta (se acepta la hipótesis nula).

Si  $T_1$  y  $T_2 > T_{crítico}$  el valor sospechoso se rechaza (se acepta la hipótesis alternativa)

Repetir desde el primer paso y volver a hacer la respectiva comparación, en caso que más de un dato se rechace, tenga en cuenta que para un ensayo típico de 10 mediciones no más de 2 datos deberían ser descartados (debe mantenerse la proporcionalidad dependiendo de la cantidad de datos procesados), porque de lo contrario el ensayo se debe repetir.

El procedimiento general para su determinación se describe a continuación:

- Preparar y analizar 10 o más muestras de cada tipo de matriz adicionada en los casos que sea posible al 0.4C y 0.7C donde C es la concentración máxima del rango de trabajo del parámetro. (NOTA: Cuando la matriz, adicionada al 0.4C o 0.7C. exceda la concentración máxima del rango de trabajo, se empleará una dilución de la matriz previa a la adición del estándar).
- Aplicar el tratamiento estadístico para rechazo de datos
- Una vez descartados los datos anómalos calcular el promedio, desviación estándar, CV% y el % de recuperación.

En general el CV debe ser  $< 15\%$ .

Aunque es deseable alcanzar valores de recuperación cercanos al 100%, en muestras complejas como las ambientales sólo se obtienen valores del 80 o 90%, en estos casos es importante que, aunque la recuperación sea baja, la precisión del método sea alta. Este criterio puede variar en

| FUNCIONARIO | ELABORADO                 | REVISADO                   | APROBADO                   |
|-------------|---------------------------|----------------------------|----------------------------|
| NOMBRES     | Amanda Ascensio Martínez  | Johon Alexander Simbaqueva | Jose Pedro Cantor Mosquera |
| CARGO       | Profesional Universitario | Control Interno            | Gerente General            |
| FECHA       | Agosto de 2020            |                            | 8 / 9                      |

|   |  |                               |                                   |               |
|---|--|-------------------------------|-----------------------------------|---------------|
|  | <b>INSTRUCTIVO VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALITICOS</b>                |                               |                                   | <b>114-02</b> |
|   | Subsistema emisor<br>Laboratorio de Control de<br>Calidad de Aguas | Fecha de Emisión<br>01-agt-20 | Fecha último cambio:<br>01-agt-20 | L/C:<br>A     |

|               | <p>algunos parámetros de acuerdo a la técnica utilizada. En la tabla 4 se presentan los criterios de aceptación para la recuperación.</p> <table border="1" style="margin-left: auto; margin-right: auto;"> <thead> <tr> <th style="text-align: center;">Concentración</th> <th style="text-align: center;">%R</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td style="text-align: center;">10 mg\L</td> <td style="text-align: center;">80 -120</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">1 mg\L</td> <td style="text-align: center;">80 - 120</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">100 µg\L</td> <td style="text-align: center;">80 -120</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">10 µg\L</td> <td style="text-align: center;">60 -115</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">1 µg\L</td> <td style="text-align: center;">40 - 120</td> </tr> </tbody> </table> <p>Tabla 4. criterios de aceptación para la recuperación</p> | Concentración | %R | 10 mg\L | 80 -120 | 1 mg\L | 80 - 120 | 100 µg\L | 80 -120 | 10 µg\L | 60 -115 | 1 µg\L | 40 - 120 |
|---------------|---|---------------|----|---------|---------|--------|----------|----------|---------|---------|---------|--------|----------|
| Concentración | %R  |               |    |         |         |        |          |          |         |         |         |        |          |
| 10 mg\L       | 80 -120   |               |    |         |         |        |          |          |         |         |         |        |          |
| 1 mg\L        | 80 - 120  |               |    |         |         |        |          |          |         |         |         |        |          |
| 100 µg\L      | 80 -120   |               |    |         |         |        |          |          |         |         |         |        |          |
| 10 µg\L       | 60 -115   |               |    |         |         |        |          |          |         |         |         |        |          |
| 1 µg\L        | 40 - 120  |               |    |         |         |        |          |          |         |         |         |        |          |

|                                      |  |
|--------------------------------------|--|
| <b>2. Referencias bibliográficas</b> |  |
| 2.1                                  | <p>[1]EURACHEM CITAC GUIDE. The Fitness for Purpose of Analytical Methods A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics. Reino Unido. 1998. Primera Edición Española.</p> <p>[2]INSTITUTO NACIONAL DE SALUD. Lineamientos técnicos para la estandarización y validación de métodos de ensayo. Dirección Redes en Salud Pública. Subdirección de Gestión de Calidad de los Laboratorios de Salud Pública. 2014.</p> <p>[3] INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION OF TECHNICAL REQUIREMENTS FOR REGISTRATION OF PHARMACEUTICALS FOR HUMAN USE. Validation of analytical Procedures: Text and Methodology Q2 (R1).</p> <p>[4] NATIONAL ASSOCIATION OF TESTING AUTHORITIES – NATA. – Guidelines for the validation and verification of chemical test methods – January 2018. Copyright National Association of Testing Authorities, Australia 2004.</p> |

(\*)En cumplimiento de lo estipulado en la Ley 1581 de 2012 , en los cuales se dictan las disposiciones generales para la protección de datos personales, EMPRESAS PUBLICAS MUNICIPALES DE SIBATE SCA ESP, expide la política de privacidad protección y seguridad de datos personales con el fin de garantizar que los datos personales suministrados y autorizados por nuestros , clientes, empleados, contratistas, proveedores, y demás personas que adquieran algún vínculo con la Empresa, se encuentren almacenados internamente con altos estándares de seguridad que garanticen su adecuado tratamiento y custodia.

| CONTROL DE CAMBIOS |                    |                        |
|--------------------|--------------------|------------------------|
| Fecha del Cambio   | Versión que cambia | Motivo del cambio      |
| 01/08/2020         | A                  | Creación del documento |
|                    |                    |                        |

| FUNCIONARIO | ELABORADO                 | REVISADO                   | APROBADO                   |
|-------------|---------------------------|----------------------------|----------------------------|
| NOMBRES     | Amanda Ascensio Martínez  | Johon Alexander Simbaqueva | Jose Pedro Cantor Mosquera |
| CARGO       | Profesional Universitario | Control Interno            | Gerente General            |
| FECHA       | Agosto de 2020            |                            | 9 / 9                      |