

Determinación de la repetibilidad y reproducibilidad del método ISO 9622 para la determinación del contenido de grasa en leche cruda en un interlaboratorio, bajo los lineamientos de la norma NTC 3529-2.



César Augusto Suárez Algarín

**FUNDACION UNIVERSITARIA LOS LIBERTADORES
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS BÁSICAS
ESPECIALIZACIÓN EN ESTADÍSTICA APLICADA
BOGOTÁ D.C.**

2020

Determinación de la repetibilidad y reproducibilidad del método ISO 9622 para la determinación del contenido de grasa en leche cruda en un interlaboratorio, bajo los lineamientos de la norma NTC 3529-2R

**Químico
César Augusto Suárez Algarín**

Trabajo de Grado para Optar por el Título de especialista en estadística aplicada

**JUAN CARLOS RUBRICHE CÁRDENAS
Magister en Ciencias Matemáticas
Director De Trabajo De Grado**

**FUNDACION UNIVERSITARIA LOS LIBERTADORES
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS BÁSICAS
ESPECIALIZACIÓN EN ESTADÍSTICA APLICADA
BOGOTÁ D.C.
2020**

NOTA DE ACEPTACIÓN

Firma del presidente del Jurado _____

Firma del Jurado _____

Firma del Jurado _____

Las directivas de la Fundación Universitaria los Libertadores, los jurados calificadores y el cuerpo docente no son responsables por los criterios e ideas expuestas en el presente documento, estos corresponden únicamente al autor.

TABLA DE CONTENIDO

	Pág.
1. INTRODUCCIÓN	10
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	12
3. JUSTIFICACIÓN	14
4. OBJETIVOS	15
4.1 Objetivo general	15
4.2 Objetivos específicos	15
5. MARCO TEÓRICO	16
5.1 COMPONENTES DE PRECISIÓN	16
5.2 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE UN EXPERIMENTO DE PRECISIÓN	17
5.2.1 TABULACIÓN DE LOS RESULTADOS Y ANOTACIÓN UTILIZADA	17
5.2.1.1 Celdas	17
5.2.1.2 Resultados originales de ensayo	17
5.2.1.3 Medias de celda (formato B de la Tabla A2)	17
5.2.1.4 Medidas de la dispersión de las celdas (formato C de la Tabla A3)	18
5.2.2 ESCRUTINIO DE LOS RESULTADOS PARA CONSISTENCIA Y VALORES ATÍPICOS	18
5.2.2.1 Técnica de consistencia gráfica	18
5.2.2.1.1 h Mandel	18
5.2.2.1.2 k Mandel	19
5.2.2.2 Técnica numérica para datos atípicos	20
5.2.2.2.1 Prueba C de Cochran	20
5.2.2.2.2 Prueba de Grubbs	20
5.2.3 CÁLCULO DE LA MEDIA GENERAL Y VARIANZAS	21
5.2.3.1 Método de análisis	21
5.2.3.2 Cálculo de la media general \hat{m}	22
5.2.3.3 Cálculo de varianzas	22
5.2.3.4 Límite de repetibilidad y reproducibilidad	22
5.2.3.5 Dependencia de la varianza sobre m	23
6. METODOLOGÍA	24
6.1 Fuente de datos	24

6.2 Método Normalizado	24
6.3 Software estadístico	24
7. ANÁLISIS Y RESULTADOS	25
7.1 Tabulación de resultados	25
7.2 Técnicas de consistencia gráfica	26
7.2.1 h Mandel	26
7.2.2 k Mandel	27
7.3 Técnicas numéricas para datos atípicos	28
7.3.1 Prueba de Cochran	28
7.3.2 Prueba de Grubbs	29
7.4 Media general y varianzas y su dependencia	29
8. CONCLUSIONES	31
9. RECOMENDACIONES	32
10. BIBLIOGRAFÍA	33
ANEXOS	34

ÍNDICE DE TABLA

	Pag.
Tabla 1. Formato A. Datos originales: Contenido de grasa en muestras de Leche Cruda	25
Tabla 2. Formato B. Medias celdas del parámetro grasa en leche cruda.	26
Tabla 3. Formato C. Desviación estándar determinación de grasa en leche cruda.	26
Tabla 4. Estadísticos h y k Mandel para la determinación de grasa en leche cruda	28
Tabla 5. Resultados Prueba Grubbs	29
Tabla 6. Resultados repetibilidad y reproducibilidad	29
Tabla A1. Formato A. Formas recomendadas para la comparación de los datos originales	34
Tabla A2. Tabla 2. Formato B. Formas recomendadas para la comparación de medias	34
Tabla A3. Formato C. Formas recomendadas para la comparación de la dispersión intraceldas	34

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Estadístico h Mendel.	26
Figura 2. Estadístico k Mendel.	27

RESUMEN

En este trabajo se realiza la determinación de la repetibilidad y reproducibilidad de un método normalizado ISO 9622 que se emplea para la determinación del contenido de grasa en leche cruda, este estudio se realizó de acuerdo a los lineamientos establecidos en la norma NTC 3529-2:1999, los datos utilizados en este trabajo provienen de un estudio interlaboratorio en 6 laboratorios de la empresa donde se aplica el mismo método de análisis, a los resultados se les realizaron pruebas de consistencia de datos de forma gráfica con los estadísticos h y k Mandel y pruebas numéricas mediante la aplicación del test de Cochran y Grubbs los cuales no arrojaron datos atípicos, dudosos o aberrantes. Los resultados obtenidos indican que para los niveles de concentración evaluados de 2,04%(g/100g) a 4,14%(g/100g), se puede esperar que aproximadamente el 95% de los resultados de dos mediciones realizadas sobre la misma muestra dentro de un laboratorio, difieran en valor absoluto en menos de $r = 0,02\%(g/100g)$. Mientras que la diferencia esperada entre resultados de dos laboratorios difieran en valor absoluto en menos de $R = 0,21\%(g/100g)$.

1. INTRODUCCIÓN

Un estudio interlaboratorio se puede definir como un procedimiento de control para evaluar el desempeño de un grupo de laboratorios a través de un ensayo colaborativo (Flores, Fernandez-Casal, Naya, Tarrío-Saavedra, & Bossano, 2018). En un estudio interlaboratorio, se elige un número adecuado de laboratorios para participar en el experimento con objetivo de analizar las muestras y obtener resultados.

Los laboratorios participantes reciben muestras (previamente homogeneizadas o para ser homogeneizados por los laboratorios) para el análisis, luego, los resultados de las mediciones de los laboratorios se evalúan de acuerdo con el grado de variabilidad de los datos. Algunos de los factores más comunes que pueden ser un las causas de variabilidad son: los equipos de laboratorios, operadores, materiales, temperatura y humedad, entre otros. Estudios interlaboratorios, que a veces también se denominan colaborativos (Flores, Fernandez-Casal, Naya, Tarrío-Saavedra, & Bossano, 2018).

Una de las maneras de determinar esta variabilidad es mediante la evaluación de la repetibilidad y reproducibilidad del método usado en un estudio interlaboratorio mediante una evaluación previa de la consistencia de los resultados (NTC 3529-2, 1999), varias técnicas estadísticas se aplican con frecuencia para estudiar la consistencia de los resultados de las pruebas de los diferentes laboratorios que participan en un estudio interlaboratorio. La norma ASTM E-691 (Práctica estándar para realizar un estudio interlaboratorio para determinar la precisión de un método de prueba) recomienda aplicar solo una técnica gráfica de las estadísticas k y h de Mandel (Flores, Fernandez-Casal, Naya, Tarrío-Saavedra, & Bossano, 2018), mientras que la NTC 3529-2 (Exactitud - veracidad y precisión - de métodos de medición y resultados) recomienda, además de la técnica gráfica, utilizar las pruebas de Cochran y Grubbs (NTC 3529-2, 1999) la cual fue la que se utilizó en el desarrollo de este trabajo.

Actualmente se reconoce la necesidad de incluir en estos estudios interlaboratorios la determinación de la repetibilidad y la reproducibilidad como propiedades de los sistemas de medición, debido a que ayudarían a identificar desviaciones de mediciones que se puedan estar presentando en alguno de los laboratorios participantes.

En la empresa actualmente se están realizando este tipo de ejercicios de estudios interlaboratorios donde se está evaluando a cada laboratorio mediante el z score, que dependiendo del resultado se podrían obtener laboratorios con sesgos aceptables o no, sin embargo el estudio de la repetibilidad y reproducibilidad complementaria dicha información ya que proporcionaría un parámetro de calidad en cuanto a la precisión de cada laboratorio y la del método en general empleado.

2. PLANTEAMIENTO PROBLEMA

Cualquier tipo de proceso requiere dentro de su organización un sistema de medición apropiado que permita medir la calidad de las características de los productos que se fabrican y la materia prima que recibe. Un sistema de medición está formado por el instrumento con el cual se mide y por las personas que lo utilizan. Tanto los operadores como el instrumento de medida producen dentro del sistema de medición dos tipos de variaciones: unas que se deben al azar y que son imposibles de eliminar y otras que se producen generalmente por descuido o accidente dentro del proceso y que pueden ser corregidas una vez que se detectan (Botero, Arbeláez y Mendoza, 2007).

El estudio de repetibilidad y reproducibilidad permite calcular estas variaciones dentro de cualquier tipo de proceso o sistema de medición y determinar si esta variabilidad es aceptable o no (Botero, et al, 2007). Existen varios métodos para realizar estos estudios y normas que sirven de guía para determinar la reproducibilidad y reproducibilidad de los métodos normalizados como lo es la norma NTC 3529-2.

Algunos autores emplean métodos más comunes para abordar la necesidad de determinar la repetibilidad y la reproducibilidad tales como el análisis de ANOVA realizado por Botero, et al, 2007, el de promedio y rangos empleado por Portuondo y Portuondo, 2010 o utilizan estos métodos en conjunto como lo realizaron Llamosa et al, 2007. Una alternativa para la realización de estos estudios es bajo la Norma NTC 3529-2:1999, la cual se utiliza solo a métodos normalizados de medición y requiere de la aplicación de ensayos interlaboratorios.

La empresa cuenta con varios laboratorios a nivel nacional, los cuales son utilizados para evaluar el cumplimiento de las características de calidad de los productos que fabrica y la materia prima que reciben, por lo tanto se hace necesario realizar un seguimiento continuo de que las mediciones realizadas en dichos laboratorios sean confiables, uno de los mecanismos empleados es la realización de los programas interlaboratorios donde se evalúa el desempeño de los laboratorios participantes.

Sin embargo actualmente no se está evaluando la repetibilidad y reproducibilidad de este método de análisis en cada uno de los interlaboratorio realizados, por lo tanto se hace necesario implementar una metodología que permita determinar estos parámetros de variabilidad, lo cual proporcionaría un parámetro de calidad tanto global como individual del desempeño de las mediciones obtenidas en los laboratorios de la empresa que le permitiría tomar acciones tempranas ante desviaciones que se puedan presentar en sus sistemas de medición. En este trabajo se pretende entonces tomar como guía la norma NTC 3529-2 para lograr este objetivo. Por lo tanto la pregunta a resolver en este trabajo es: ¿Como obtener por comparación de resultados interlaboratorios los valores de repetitividad y reproducibilidad del contenido de grasa en leche cruda determinado por espectroscopia IR bajo los lineamientos descritos en la norma NTC 3529-2:1999?

3. JUSTIFICACIÓN

El desarrollo de este trabajo permitirá dar cumplimiento a uno de los requisitos establecidos en la norma técnica NTC-ISO/IEC 17025 “Requisitos generales de competencia de laboratorios de ensayos y calibración.”, la cual establece que todo laboratorio de calibración/ensayo debe tener procedimientos de control de la calidad para realizar el seguimiento de la validez de los ensayos y las calibraciones llevados a cabo (NTC 3529-2 NTC-ISO/IEC 17025, 2017), uno de estos métodos es el estudio de repetibilidad y reproducibilidad.

Por otra parte la empresa actualmente realiza ensayos interlaboratorios a nivel nacional en sus diferentes laboratorios, donde evalúa el desempeño de los laboratorios participantes, por lo cual se dispone de la fuente de información necesaria para realizar los estudios de repetibilidad y reproducibilidad siguiendo los lineamientos de la Norma NTC 3529-2:1999, que generaría un valor agregado a los ensayos interlaboratorios ya que además de poder identificar desviaciones en las mediciones de los laboratorios participantes se podrían caracterizar el nivel de precisión alcanzado al emplear el método por parte de los laboratorio (repetibilidad) y la precisión global del método (reproducibilidad) siendo una manera eficiente de realizar seguimiento a la validez de los resultados.

La información obtenida en este trabajo servirá para tomar acciones preventivas en los laboratorios al poder conocer su estado actual de la calidad de resultados en comparación con los obtenidos de laboratorios pares que emplean los mismos equipamientos y métodos, lo cual ayudara a mejorar continuamente su sistema de calidad de las mediciones analíticas.

4. OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar la repetibilidad y reproducibilidad del método ISO 9622 para la determinación del contenido de grasa en leche cruda en un interlaboratorio, bajo los lineamientos de la norma NTC 3529-2.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar pruebas de consistencias h-Mandel y k-Mandel a los resultados obtenidos de los laboratorios participantes en el interlaboratorios.
- Realizar pruebas de valores atípicos: Prueba C de Conchran y Grubbs a los resultados obtenidos en el interlaboratorio.
- Determinar la Reproducibilidad y repetibilidad del método normalizado empleado en el interlaboratorio bajo la norma NTC 3529-2:1999.

5. MARCO TEÓRICO

Los estudios interlaboratorios, que a veces también se denominan colaborativos, son estudios en los que varios laboratorios analizan los mismos materiales (Heyden & Smeyers-Verbeke, 2007).

Los ensayos colaborativos o los estudios de aptitud del método evalúan las características de desempeño de un método específico (Heyden & Smeyers-Verbeke, 2007). En la NTC 3529-2 se llaman experimentos de precisión y considerar la evaluación de la precisión y la veracidad del ensayo interlaboratorio. La NTC 3529-2 describe específicamente experimentos de precisión para la determinación de la repetibilidad y la reproducibilidad.

A continuación veremos el modelo que propone dicha norma.

5.1 COMPONENTES DE PRECISIÓN

Para estimar la exactitud (veracidad y precisión) de un método de medición, es útil suponer que cada resultado de ensayo, y , es la suma de tres componentes (NTC 3529-2):

$$y = m + B + e \quad (1)$$

En donde, para el material en particular ensayado,

- m es la media general (esperanza matemática).
- B es el componente de sesgo del laboratorio en condiciones de repetibilidad.
- e es el error aleatorio que ocurre en cada medición en condiciones de repetibilidad.

Esta componente e es estimada por s_r^2 , la varianza de repetibilidad, mientras que la varianza de B da lugar a s_L^2 , la varianza entre laboratorios. La variabilidad de reproducibilidad es la suma de la varianza de repetibilidad y la varianza entre laboratorios (Heyden & Smeyers-Verbeke, 2007).

$$s_R^2 = s_L^2 + s_r^2 \quad (2)$$

s_L^2 Es el estimado de la varianza entre laboratorios

s_w^2 Es el estimado de la varianza intralaboratorio

s_r^2 Es la media aritmética de s_w^2

5.2 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE UN EXPERIMENTO DE PRECISIÓN

5.2.1 TABULACIÓN DE LOS RESULTADOS Y ANOTACIÓN UTILIZADA

5.2.1.1 Celdas

A cada combinación de un laboratorio y un nivel se le llama celda de un experimento de precisión. En el caso ideal, los resultados de un experimento con p laboratorios y q niveles consisten en una tabla con pq celdas, cada una conteniendo n réplicas de resultados de ensayos que pueden todos ser usados para el cómputo de la desviación estándar de repetibilidad y desviación estándar de reproducibilidad. Esta situación ideal no es, sin embargo, obtenida siempre en la práctica. Ocurren desvíos debidos a datos redundantes, datos faltantes y valores atípicos (NTC 3529-2, 1999).

5.2.1.2 Resultados originales de ensayo

Los resultados se deben tabular en el formato A de la Tabla A1 como se encuentra en los anexos (NTC 3529-2, 1999), donde

n_{ij} = es el número de resultados de ensayo en la celda del laboratorio i al nivel j

y_{ijk} = es cualquiera de estos resultados de ensayo ($k = 1, 2, \dots, n_{ij}$)

p_j = es el número de laboratorios reportando al menos un resultado para el nivel j (después de eliminar cualquier resultado de ensayo designado como atípico o como erróneo)

5.2.1.3 Medias de celda (formato B de la Tabla A2)

Éstas se derivan de la Tabla A1 formato A que se encuentra en los anexos de la siguiente manera (NTC 3529-2, 1999):

$$\bar{y}_{ij} = \frac{1}{n_{ij}} \sum_{k=1}^{n_{ij}} y_{ijk} \quad (3)$$

Las medias de celdas deberían ser registradas con una cifra significativa más que el resultado de ensayo en la Tabla A1 formato A que se encuentra en los anexos.

5.2.1.4 Medidas de la dispersión de las celdas (formato C de la Tabla A3)

Estas se derivan de la tabla A1 formato A y de la tabla A2 formato B que se encuentra en los Anexos de la siguiente manera:

Para el caso general use la desviación estándar intracelda

$$s_{ij} = \sqrt{\frac{1}{n_{ij}-1} \sum_{k=1}^{n_{ij}} (y_{ijk} - \bar{y}_{ij})^2} \quad (4)$$

O, su equivalente

$$s_{ij} = \sqrt{\frac{1}{n_{ij}-1} \left[\sum_{k=1}^{n_{ij}} (y_{ijk})^2 - \frac{1}{n_{ij}} \left[\sum_{k=1}^{n_{ij}} y_{ijk} \right]^2 \right]} \quad (5)$$

Usando estas ecuaciones, debe cuidarse de retener un número suficiente de dígitos en los cálculos; es decir cada valor intermedio debe ser calculado al menos con el doble de dígitos que en los datos originales (NTC 3529-2, 1999).

5.2.2 ESCRUTINIO DE LOS RESULTADOS PARA CONSISTENCIA Y VALORES ATÍPICOS

A partir de los datos recolectados de un número de niveles específicos, se van a estimar la desviación estándar de repetibilidad y reproducibilidad. La presencia de laboratorios o valores individuales que parecen ser inconsistentes con los demás laboratorios o valores, pueden cambiar los estimados, y hay que tomar decisiones respecto a estos valores. Se introducen dos enfoques:

- a) Técnica de consistencia gráfica.
- b) Prueba de valores atípicos numéricos.

5.2.2.1 Técnica de consistencia gráfica

Se usan dos medidas llamadas estadísticos h y k de Mandel (Heyden & Smeyers-Verbeke, 2007) .

5.2.2.1.1 h Mandel

Se calcula el estadístico de consistencia interlaboratorio, h , para cada laboratorio dividiendo la desviación de la celda (la media de la celda menos la gran media para ese nivel) por la desviación estándar entre las medias de las celdas (para ese nivel) (NTC 3529-2, 1999):

$$h_{ij} = \frac{\bar{y}_{ij} - \bar{\bar{y}}_j}{\sqrt{\frac{1}{(p_j-1)} \sum_{i=1}^{p_j} (\bar{y}_{ij} - \bar{\bar{y}}_j)^2}} \quad (6)$$

En la cual \bar{y}_{ij} se obtiene de la ecuación (3) y para $\bar{\bar{y}}_j$ se obtiene de la ecuación (19).

Se grafican los valores h_{ij} para cada celda en orden de laboratorio, en grupos para cada nivel (y agrupados separadamente para los diferentes niveles examinados por cada laboratorio) (NTC 3529-2, 1999).

La estadística h_i es una estadística de consistencia entre laboratorios, que mide para un nivel seleccionado la desviación estandarizada del valor medio obtenido por el laboratorio i (\bar{y}_{ij}) de la gran media para ese nivel ($\bar{\bar{y}}_j$). Por lo tanto, es una medida del sesgo de laboratorio (Heyden & Smeyers-Verbeke, 2007).

5.2.2.1.2 k Mandel

Se calcula el estadístico de consistencia intralaboratorio k :

$$k_{ij} = \frac{s_{ij} \sqrt{p_j}}{\sqrt{\sum s_{ij}^2}} \quad (7)$$

Para cada laboratorio dentro de cada nivel.

Se grafican los valores k_{ij} para cada celda en orden de laboratorio, en grupos para cada nivel (y separadamente agrupados para los diferentes niveles examinados por cada laboratorio).

La estadística k_i es una estadística de consistencia dentro del laboratorio que compara para un nivel seleccionado la desviación estándar dentro de un laboratorio para la desviación estándar media de los diferentes laboratorios para ese nivel (Heyden & Smeyers-Verbeke, 2007).

5.2.2.2 Técnica numérica para datos atípicos

5.2.2.2.1 Prueba C de Cochran

La norma NTC 3529-2 asume que entre laboratorios existen solamente pequeñas diferencias en las varianzas intralaboratorios. La experiencia, sin embargo, muestra que esto no siempre es el caso, así que una prueba ha sido incluida aquí para probar la validez de esta suposición (NTC 3529-2, 1999).

Dado un conjunto p de desviaciones estándar s todas calculadas a partir del mismo número (n) de resultados replicados, la prueba estadística de Cochran; C , es

$$C = \frac{s_{máx}^2}{\sum_{i=1}^p s_i^2} \quad (8)$$

En donde

$s_{máx}$ = es la desviación estándar más alta en el conjunto.

Esta prueba se puede utilizar varias veces, lo que significa que si, en una primera ronda, laboratorios o valores en un laboratorio individual son rechazados, La prueba de Cochran se aplica nuevamente a los laboratorios restantes (Heyden & Smeyers-Verbeke, 2007).

5.2.2.2.2 Prueba de Grubbs

Un resultado distante. Para determinar si el resultado más alto es un valor atípico usando la prueba de Grubbs se arreglan en orden ascendente el conjunto de datos X_i para $i = 1, 2, \dots, p$ (NTC 3529-2, 1999).

$$G_p = (x_p - \bar{x})/s \quad (9)$$

En donde

$$\bar{x} = \frac{1}{p} \sum_{i=1}^p x_i \quad (10) \quad \text{y} \quad s = \sqrt{\frac{1}{p-1} \sum_{i=1}^p (x_i - \bar{x})^2} \quad (11)$$

Para probar la significancia del resultado más bajo, se calcula la prueba estadística,

$$G_1 = (\bar{x} - x_1)/s$$

Dos resultados distantes. Para probar si los dos resultados más altos pueden ser atípicos, calcule la prueba estadística, G (NTC 3529-2, 1999):

$$G = s_{p-1,p}^2 / s_0^2 \quad (12)$$

En donde

$$s_0 = \sum_{i=1}^p (x_i - \bar{x})^2 \quad (13)$$

Y

$$s_{p-1,p}^2 = \sum_{i=1}^{p-2} (x_i - \bar{x}_{p-1,p})^2 \quad (14)$$

Y

$$\bar{x}_{p-1,p} = \frac{1}{p-2} \sum_{i=1}^{p-2} x_i \quad (15)$$

Alternativamente, para probar los dos resultados más bajos, se calcula la prueba estadística de Grubbs G:

$$G = s_{1,2}^2 / s_0^2 \quad (16)$$

En donde

$$s_{1,2}^2 = \sum_{i=3}^p (x_i - \bar{x}_{1,2})^2 \quad (17)$$

Y

$$\bar{x}_{1,2} = \frac{1}{p-2} \sum_{i=3}^p x_i \quad (18)$$

5.2.3 CÁLCULO DE LA MEDIA GENERAL Y VARIANZAS

5.2.3.1 Método de análisis

El método de análisis adoptado en esta norma involucra la estimación de m y la precisión para cada nivel por separado. Los resultados de los cálculos son expresados en una tabla para cada valor de j (NTC 3529-2, 1999).

5.2.3.2 Cálculo de la media general \hat{m}

Para el nivel j , la media general es

$$\hat{m}_j = \bar{y}_j = \frac{\sum_{i=1}^p n_{ij} \bar{y}_{ij}}{\sum_{i=1}^p n_{ij}} \quad (19)$$

5.2.3.3 Cálculo de varianzas

Tres varianzas son calculadas para cada nivel. Ellas son la varianza de repetibilidad, la varianza entre laboratorios y la varianza de reproducibilidad (NTC 3529-2, 1999).

La varianza de repetibilidad es:

$$s_{rj}^2 = \frac{\sum_{i=1}^p (n_{ij}-1) s_{ij}^2}{\sum_{i=1}^p (n_{ij}-1)} \quad (20)$$

La varianza entre laboratorios es:

$$s_{Lj}^2 = \frac{s_{dj}^2 - s_{rj}^2}{\bar{n}_j} \quad (21)$$

En donde

$$s_{dj}^2 = \frac{1}{p-1} \sum_{i=1}^p n_{ij} (\bar{y}_{ij} - \bar{y}_j)^2 = \frac{1}{p-1} \left[\sum_{i=1}^p n_{ij} (\bar{y}_{ij})^2 - (\bar{y}_j)^2 \sum_{i=1}^p n_{ij} \right] \quad (22)$$

Y

$$\bar{n}_j = \frac{1}{p-1} \left[\sum_{i=1}^p n_{ij} - \frac{\sum_{i=1}^p n_{ij}^2}{\sum_{i=1}^p n_{ij}} \right] \quad (23)$$

La varianza de reproducibilidad es:

$$s_{Rj}^2 = s_{rj}^2 + s_{Lj}^2 \quad (24)$$

5.2.3.4 Límite de repetibilidad y reproducibilidad

La desviación estándar es útil para calcular un "límite de precisión" (Eurachem 2016). Esto permite al analista decidir si existe una diferencia significativa, a un nivel de confianza del 95%, entre los resultados de los análisis por duplicado de una muestra obtenida en condiciones especificadas (Eurachem 2016).

El límite de repetibilidad (r) se calcula como sigue:

$$r = 2.8xS_r \quad (25)$$

El límite de reproducibilidad (R) se calcula como sigue:

$$R = 2.8xS_R \quad (26)$$

5.2.3.5 Dependencia de la varianza sobre m

Subsecuentemente debería ser investigado si la precisión depende de m y, si es así, la relación funcional debería ser determinada.

6. METODOLOGÍA

6.1 Fuente de datos: Resultados del Interlaboratorio realizado por la empresa a 6 de sus laboratorios correspondiente a la primera ronda llevada a cabo en el mes de abril del 2019 de análisis de grasa en porcentaje en masa (g/100g) en de leche cruda donde se evaluaron 3 niveles de concentración alta, media y baja.

6.2 Método Normalizado: El método empleado para el análisis de grasa en leche cruda por IR es el descrito por la Norma ISO 9622.

El método empleado para determinar la repetibilidad y reproducibilidad es el descrito en la norma NTC 3529-2:1999 el cual consta de los siguientes etapas a realizar.

1. Tabulación de resultados.
2. Técnicas de consistencia gráfica (estadísticos h y k Mandel).
3. Técnicas numéricas para datos atípicos (Prueba C de Cochran y Grubbs).
4. Cálculo de la media general y varianzas y su dependencia.
5. Informe de resultados obtenidos.

6.3 Software estadístico: Los cálculos fueron realizados en el software R.

7. ANÁLISIS Y RESULTADOS

7.1 Tabulación de resultados

Los resultados obtenidos en porcentaje en masa (g/100g) del ensayo interlaboratorio correspondiente al mes de abril fueron tabulados en los formatos A, B, C como se observa en las tablas 1,2 y 3 de acuerdo a la recomendado en la norma NTC 3529.2: 1999.

Los niveles 1, 2 y 3 corresponden a las muestras utilizadas en el ejercicio interlaboratorio que corresponden a una muestra con concentración alta, media y baja respectivamente en contenidos de grasa en muestras de leche cruda.

Tabla 1. Formato A. Datos originales: Contenido de grasa en muestras de Leche Cruda

Laboratorio	Concentración (g/100g)		
	Alta	Media	Baja
Laboratorio 1	4,22	3,79	2,13
	4,20	3,79	2,12
	4,21	3,78	2,13
Laboratorio 2	4,04	3,65	1,96
	4,06	3,64	1,97
	4,05	3,66	1,95
Laboratorio 3	4,18	3,77	2,09
	4,17	3,76	2,10
	4,16	3,76	2,10
Laboratorio 4	4,23	3,79	2,08
	4,24	3,79	2,08
	4,24	3,78	2,07
Laboratorio 5	4,04	3,63	2,00
	4,04	3,62	1,99
	4,05	3,62	1,99
Laboratorio 6	4,11	3,65	2,00
	4,11	3,65	1,99
	4,10	3,64	1,99

Como se puede observar en esta primera tabulación de resultados no hay datos faltantes, ni resultados erróneos. Estas muestras fueron previamente homogenizadas y conservadas con un agente bacteriostático para garantizar la estabilidad de las muestras durante el ejercicio interlaboratorio.

Tabla 2. Formato B. Medias celdas del parámetro grasa en leche cruda.

Laboratorio	Concentración (g/100g)		
	Alta	Media	Baja
Laboratorio 1	4,210	3,787	2,127
Laboratorio 2	4,050	3,650	1,960
Laboratorio 3	4,171	3,763	2,097
Laboratorio 4	4,237	3,787	2,077
Laboratorio 5	4,043	3,623	1,993
Laboratorio 6	4,107	3,647	1,993

Tabla 3. Formato C. Desviación estándar determinación de grasa en leche cruda.

Laboratorio	Desviación estándar (g/100g)		
	Alta	Media	Baja
Laboratorio 1	0,010	0,006	0,006
Laboratorio 2	0,010	0,010	0,010
Laboratorio 3	0,011	0,006	0,006
Laboratorio 4	0,006	0,006	0,006
Laboratorio 5	0,006	0,006	0,006
Laboratorio 6	0,006	0,006	0,006

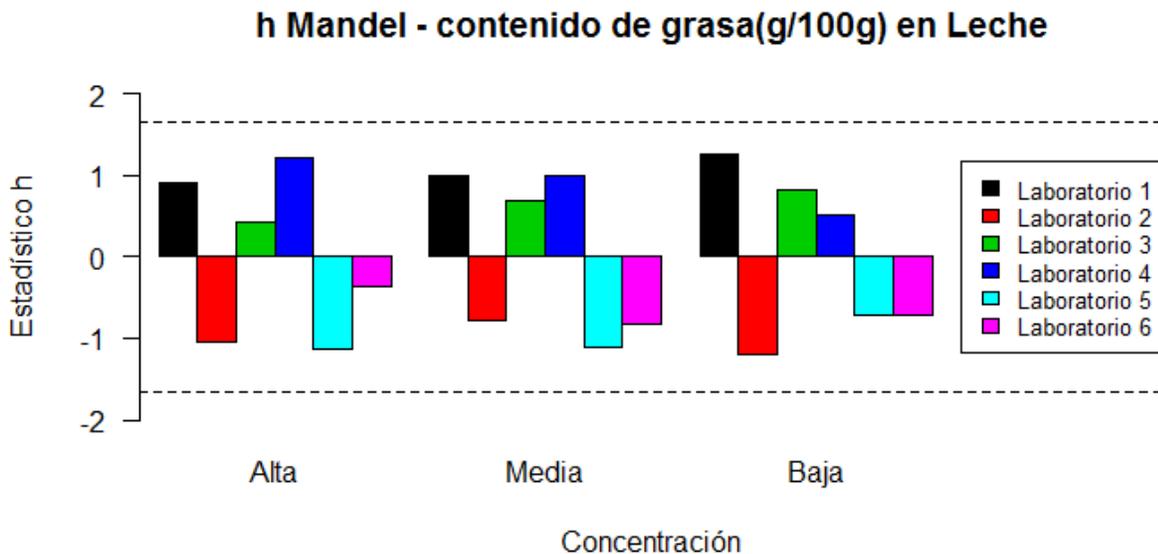
7.2 Técnicas de consistencia gráfica

7.2.1 h Mandel

```

Estadistico_h1 <- with(InterlaboratorioAbrilGrasa, mandel.h(InterlaboratorioAbrilGrasa[2:4],g=Laboratorio))
c2=as.matrix(Estadistico_h1)
laboratorio<-c("Laboratorio 1","Laboratorio 2","Laboratorio 3","Laboratorio 4","Laboratorio 5","Laboratorio 6")
barplot(c2,beside = T,las=1,ylim =c(-2.00,2.00),xlim =c(1.5,26) ,ylab = "Estadístico h", xlab = "Concentración",
col = 1:6,cex.names =1, legend=names(c2), main="h Mandel - contenido de grasa(g/100g) en Leche")
legend("right", legend=laboratorio, fill=1:6, cex=0.7, bg="white")
abline(h=c(-1.66,1.66),lty=2)
    
```

Fig. 1. Estadístico h Mendel.

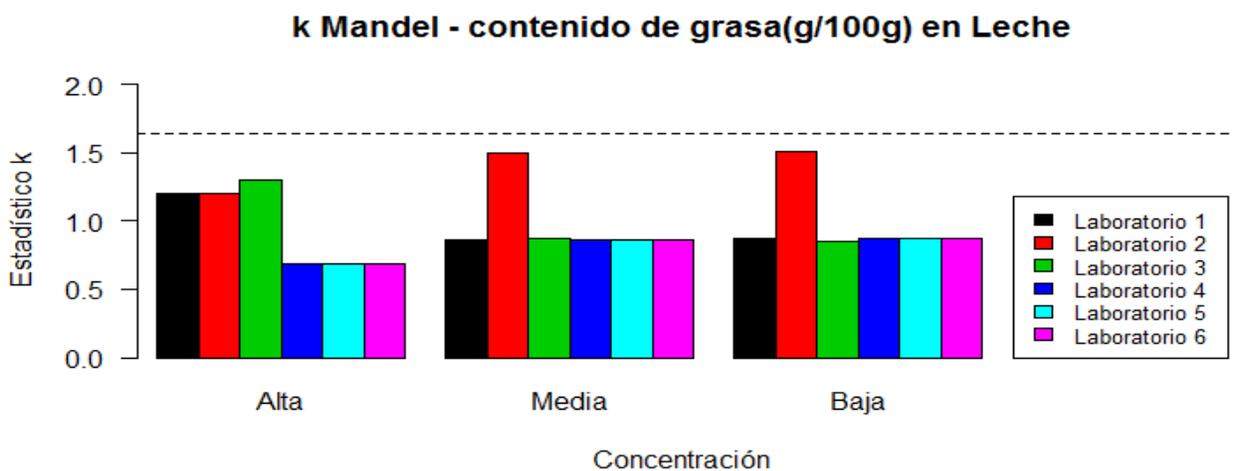


Como se puede observar en el gráfico de los h, los laboratorios presentan resultados consistentes, se puede observar además que todos los laboratorios presentan diferencias hacia un mismo lado en todos los niveles agrupándose así un conjunto de laboratorios 1,3 y 4 por una parte y los laboratorios 2,5 y 6 los cuales presentarían un sesgo común con respecto al promedio global de las mediciones. En ninguno de los casos se sobrepasa el valor crítico del 5% que para este caso con $p=6$ es de 1,66, por lo tanto todos los resultados son aceptados como correctos.

7.2.2 k Mandel

```
Estadistico_k1 <- with(InterlaboratorioAbrilGrasa, mandel.k(InterlaboratorioAbrilGrasa[2:4],g=Laboratorio))
c3=as.matrix(Estadistico_k1)
laboratorio<-c("Laboratorio 1","Laboratorio 2","Laboratorio 3","Laboratorio 4","Laboratorio 5","Laboratorio 6")
barplot(c3,beside = T,las=1,ylim =c(0,2.00),xlim =c(1.5,26) ,ylab = "Estadístico k", xlab = "Concentración",
        col = 1:6,cex.names =1, legend=names(c3), main="k Mandel - contenido de grasa(g/100g) en Leche")
legend("bottomright", legend=laboratorio, fill=1:6, cex=0.8, bg="white")
abline(h=c(-1.64,1.64),lty=2)
```

Fig. 2. Estadístico k Mendel.



La grafica de los k Mandel muestra que la variabilidad de los resultados de los laboratorios es aceptable, el laboratorio 2 fue el que presenta mayor variabilidad con respecto a los demás laboratorios, sin embargo esta no sobrepasa el valor crítico al 5% que para este caso de $n=3$ y $p=6$ corresponde a 1,64.

Como se puede observar en la Tabla 4, los valores numéricos de los estadísticos h y k Mandel en ninguna de los casos superan los valores críticos, como se vio gráficamente en la figura 1 y 2.

Tabla 4. Estadísticos h y k Mandel para la determinación de grasa en leche cruda.

Laboratorio	h Mandel			$h_{crítico}$	$h_{crítico}$	k Mandel			$k_{crítico}$
	Alta	Media	Baja			Alta	Media	Baja	
Laboratorio 1	0,90	1,00	1,26	-1,66	1,66	1,20	0,87	0,87	1.64
Laboratorio 2	-1,05	-0,77	-1,20	-1,66	1,66	1,20	1,50	1,50	1.64
Laboratorio 3	0,42	0,70	0,83	-1,66	1,66	1,31	0,87	0,85	1.64
Laboratorio 4	1,22	1,00	0,52	-1,66	1,66	0,69	0,87	0,87	1.64
Laboratorio 5	-1,13	-1,12	-0,71	-1,66	1,66	0,69	0,87	0,87	1.64
Laboratorio 6	-0,36	-0,81	-0,71	-1,66	1,66	0,69	0,87	0,87	1.64

7.3 Técnicas numéricas para datos atípicos

7.3.1 Prueba C de Cochran

La prueba de C Cochran se aplicó para los tres niveles evaluados para verificar las varianzas intralaboratorios mediante las siguientes líneas de código.

```
v1<-apply(VM1,2,var)
cochran.test(v1,c(3,3,3,3,3,3))
```

```
v2<-apply(VM2,2,var)
cochran.test(v2,c(3,3,3,3,3,3))
```

```
v3<-apply(VM3,2,var)
cochran.test(v3,c(3,3,3,3,3,3))
```

La prueba se aplicó a los tres niveles evaluados. La prueba de Cochran con $n=3$ para $p=6$ laboratorios corresponde a un valor crítico de 0,616 para el 5%.

- Para el nivel 1, el valor mayor de s está en el laboratorio 3 el cual obtuvo un valor del estadístico de prueba de 0,2839.
- Para el nivel 2; el valor mayor de s está en el laboratorio 2 el cual obtuvo un valor del estadístico de prueba de 0,3744.
- Para el nivel 3; el valor mayor de s está en el laboratorio 2 el cual obtuvo un valor del estadístico de prueba de 0,3773.

En ninguno de los casos se obtiene un resultado que supere el valor crítico por lo tanto todos los resultados se aceptan, esto indica que entre laboratorios existen solamente pequeñas diferencias en las varianzas intralaboratorios.

7.3.2 Prueba de Grubbs

La prueba se aplicó para los tres niveles evaluados para verificar valores atípicos simples y dobles inferiores o superiores mediante las siguientes líneas de código.

```
M1<-apply(vM1,2,mean)
grubbs.test(M1,opposite = TRUE) #simple inferior
grubbs.test(M1) #simple superior
grubbs.test(M1,type=20,opposite = TRUE) #Doble inferior
grubbs.test(M1,type=20) #Doble superior

M2<-apply(vM2,2,mean)
grubbs.test(M2,opposite = TRUE) #simple inferior
grubbs.test(M2) #simple superior
grubbs.test(M2,type=20,opposite = TRUE) #Doble inferior
grubbs.test(M2,type=20) #Doble superior

M3<-apply(vM3,2,mean)
grubbs.test(M3,opposite = TRUE) #simple inferior
grubbs.test(M3) #simple superior
grubbs.test(M3,type=20,opposite = TRUE) #Doble inferior
grubbs.test(M3,type=20) #Doble superior
```

Tabla 5. Resultados Prueba Grubbs

Concentración	Simple bajo	Simple alto	Doble bajo	Doble alto	Tipo de prueba
Alta	0,7594	0,6266	0,4525	0,5123	p-valor Estadísticos de la prueba de Grubbs
Media	0,9676	0,7835	0,6664	0,7268	
Baja	0,6587	0,5714	0,7234	0,5312	
Dudosos	1,887	1,887	0,0349	0,0349	Valores críticos de Grubbs
Atípicos	1,973	1,973	0,0116	0,0116	

La prueba de Grubbs fue aplicada a las medias de celdas, dando los valores mostrados en la Tabla 3, no hay valores dudosos o atípicos lo cual se puede afirmar ya que en las pruebas realizadas para identificar tanto valores extremos simples como dobles a ambos extremos, el p valor obtenido fue mayor a 0,05 en todos los niveles de concentración.

7.4 Media general y varianzas y su dependencia

Tabla 6. Resultados repetibilidad y reproducibilidad

Concentración	\widehat{m}_j (g/100g)	s_r^2 (g/100g)	s_R^2 (g/100g)	r (g/100g)	R (g/100g)
Alta	4,136	0,008	0,082	0,02	0,23
Media	3,709	0,007	0,077	0,02	0,22
Baja	2,041	0,007	0,068	0,02	0,19
Promedio		0,007	0,076	0,02	0,21

Un examen de los datos obtenidos en la tabla anterior no indican ninguna dependencia y los promedios pueden ser utilizados.

Límite de repetibilidad, $r = 0,02\%(g/100g)$.

Límite de reproducibilidad, $R = 0,21\%(g/100g)$.

Los resultados obtenidos indican que para los niveles de concentración evaluados de $2,04\%(g/100g)$ a $4,14\%(g/100g)$, se puede esperar que aproximadamente el 95% de los resultados de dos mediciones realizadas sobre la misma muestra dentro de un laboratorio, difieran en valor absoluto en menos de $r = 0,02\%(g/100g)$. Mientras que la diferencia esperada entre resultados de dos laboratorios difieran en valor absoluto en menos de $R = 0,21\%(g/100g)$.

8. CONCLUSIONES

- Después de aplicar las pruebas h y k Mandel se pudo verificar que los laboratorios presentaron resultados consistentes en el ensayo interlaboratorio para el análisis de grasa en leche cruda bajo la norma ISO 9622.
- La evaluación de valores atípicos con las pruebas Cochran y Grubbs no arrojó resultados dudosos o atípicos lo cual fue de gran utilidad ya que se pudieron utilizar todos los resultados del ensayo interlaboratorio para la obtención de la repetibilidad y reproducibilidad del método de medición de grasa en leche cruda.
- Los resultados obtenidos indican que para los niveles de concentración evaluados de 2,04%(g/100g) a 4,14%(g/100g), se puede esperar que aproximadamente el 95% de los resultados de dos mediciones realizadas sobre la misma muestra dentro de un laboratorio, difieran en valor absoluto en menos de $r = 0,02\%(g/100g)$. Mientras que la diferencia esperada entre resultados de dos laboratorios difieran en valor absoluto en menos de $R = 0,21\%(g/100g)$.

9. RECOMENDACIONES

Se recomienda aplicar esta metodología para la obtención de valores de repetibilidad y reproducibilidad no solo en los interlaboratorios para el análisis de grasa, sino también para los realizados en otros parámetros fisicoquímicos como proteína, lactosa y sólidos totales.

10. BIBLIOGRAFÍA

- Botero, M., Arbeláez, O., y Mendoza, J. (2007). MÉTODO ANOVA UTILIZADO PARA REALIZAR EL ESTUDIO DE REPETIBILIDAD Y REPRODUCIBILIDAD DENTRO DEL CONTROL DE CALIDAD DE UN SISTEMA DE MEDICIÓN, *Scientia et Technica Año XIII*(37),533-537.
- Flores, M., Fernandez-Casal, R., Naya, S., Tarrío-Saavedra, J., & Bossano, R. (2018). Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*(181), 11-20.
- Heyden, Y. V., & Smeyers-Verbeke, J. (2007). Set-up and evaluation of interlaboratory studies. *JOURNAL OF CROMATOGRAPHYA*(1158), 158-167.
- NTC 3529-2. 1999. Exactitud (veracidad y precisión) de métodos de medición y resultados. Parte 2: método básico para la determinación de repetibilidad y reproducibilidad de un método normalizado de medición. Bogotá D.C: INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS Y CERTIFICACIÓN (ICONTEC), 2003.
- EURACHEM 2016. La Adecuación al Uso de los Métodos Analíticos, Una Guía de Laboratorio para Validación de Métodos y Temas Relacionados, Primera edición española, 2016, pág. 36.
- NTC-ISO/IEC 17025. 2017. REQUISITOS GENERALES DE COMPETENCIA DE LABORATORIOS DE ENSAYOS Y CALIBRACIÓN. Bogotá D.C: INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TÉCNICAS Y CERTIFICACIÓN (ICONTEC), 2017.
- Llamosa, L., Meza, L., y Botero, M. (2007). ESTUDIO DE REPETIBILIDAD Y REPRODUCIBILIDAD UTILIZANDO EL MÉTODO DE PROMEDIOS Y RANGOS PARA EL ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD DE LOS RESULTADOS DE CALIBRACIÓN DE ACUERDO CON LA NORMA TÉCNICA NTCISO/IEC 17025, *Scientia et Technica Año XIII*(35),455-460.
- Portuondo, Y., y Portuondo, J. (2010). LA REPETIBILIDAD Y REPRODUCIBILIDAD EN EL ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD DE LOS PROCESOS DE MEDICIÓN, *Tecnología Química* (2),117-121.

ANEXOS

Tabla A1. Formato A. Formas recomendadas para la comparación de los datos originales

Laboratorio	Nivel							
	1	2	j	..	q-1	q
1								
2								
..								
..					..			
i					..			
..					yijk			
..								
..					..			
p								

Tabla A2. Formato B. Formas recomendadas para la comparación de medias

Laboratorio	Nivel							
	1	2	j	..	q-1	q
1								
2								
..								
..					..			
..					..			
i					\bar{y}_{ij}			
..								
..					..			
p								

Tabla A3. Formato C. Formas recomendadas para la comparación de la dispersión intraceldas

Laboratorio	Nivel							
	1	2	j	..	q-1	q
1								
2								
..								
..					..			
i					Sij			
..								
..					..			
p								