



CONTROL, TRATAMIENTO Y REDUCCIÓN DE MICRO PLÁSTICOS
Y CONTAMINANTES EMERGENTES EN AGUAS RESIDUALES
URBANAS Y EN EL MEDIO COSTERO FRONTERIZO

EVALUACIÓN DE LA HOMOGENIDAD Y ESTABILIDAD DE MUESTRAS DE INTERCOMPARATIVO

ACTIVIDAD 1: Desarrollo de herramientas para la evaluación de microplásticos y CEC en las EDAR y el medio acuático.

Interreg



Cofinanciado por
la Unión Europea
Cofinanciado pela
União Europeia

España – Portugal





Actividad	1. Desarrollo de herramientas para la evaluación de microplásticos y CEC en las EDAR y el medio acuático
Acción	1.3. Ejercicio interlaboratorios para la validación de metodología analítica para la determinación de compuestos indicadores en aguas residuales
Fecha de actualización	16/12/2024
Versión	1.0
Autores	INTECMAR
Participantes	USC, AEdP, IEO





Índice

1. OBJETO	4
2. ALCANCE	4
3. REFERENCIAS	5
4. DEFINICIONES	6
5. RESPONSABILIDADES	6
6. DESARROLLO	6
6.1. Recepción y preparación de muestras	7
6.2. Comprobaciones preliminares	7
6.3. Ensayos de homogeneidad.....	8
6.3.1. Control de la homogeneidad.....	8
6.3.2. Criterios de control de homogeneidad.....	10
6.3.3. Resumen de criterios propuestos en ISO 13528.....	13
6.4. Ensayos de estabilidad	14
6.4.1. Control de estabilidad	14
6.4.2. Criterios de control de la estabilidad.	15
6.4.3. Estabilidad en las condiciones de transporte.....	16
7. ANEXOS	16
7.1. Hoja Excel de cálculos de homogeneidad ISO 13528/IUPAC	16





1. OBJETO

El presente protocolo tiene por objeto describir la sistemática establecida por INTECMAR para la evaluación previa de **la homogeneidad y la estabilidad** de las muestras destinadas al ensayo de aptitud, dentro del marco del proyecto BlueWWater, donde se pretende evaluar la capacidad de varios laboratorios analíticos para la determinación de contaminantes emergentes en muestras de agua superficial y residual.

INTECMAR describe en este protocolo general el diseño estadístico y los métodos seguidos para la determinación de homogeneidad suficiente y la estabilidad de las muestras del ensayo de aptitud durante el desarrollo de este.

2. ALCANCE

El procedimiento se aplica a las muestras correspondientes al ensayo de aptitud del proyecto BlueWWater, incluidos en el Alcance del mismo y dirigido fundamentalmente a los laboratorios de ensayo participantes.

El proyecto BlueWWater tiene como objetivo la mejora de la calidad de las masas de agua fluviales, de transición y costeras, por medio del control, seguimiento y evaluación de las emisiones de microplásticos y contaminantes emergentes (CECs) al medio acuático, a través del estudio de la eficiencia de las estaciones de tratamiento de aguas residuales urbanas (EDAR) en las regiones de Galicia y norte de Portugal, y del riesgo ambiental de estos contaminantes, garantizando así un uso sostenible de los recursos hídricos y contribuyendo a la implementación de la normativa comunitaria.

Los datos básicos del Alcance son los siguientes:

- Número de laboratorios participantes: al menos 12 laboratorios de ensayo de Galicia y norte de Portugal
- Número de matrices de agua: 2, agua superficial y agua residual.
- Número de muestras de agua: 4 muestras
 - 2 agua superficial (río y costera)
 - 2 agua residual (entrada y salida de EDAR)
- Parámetros a analizar: contaminantes emergentes. Sustancias orgánicas incluidas en la propuesta de Directiva para el tratamiento de aguas residuales urbanas:





Categoría 1: Sustancias que pueden tratarse con mucha facilidad:

- *Amisulprid* (nº CAS 71675-85-9)
- *Carbamazepina* (nº CAS 298-46-4)
- *Citalopram* (nº CAS 59729-33-8)
- *Claritromicina* (nº CAS 81103-11-9)
- *Diclofenaco* (nº CAS 15307-86-5)
- *Hidroclorotiazida* (nº CAS 58-93-5)
- *Metoprolol* (nº CAS 37350-58-6)
- *Venlafaxina* (nº CAS 93413-69-5)

Categoría 2: Sustancias que pueden eliminarse con facilidad:

- *Benzotriazol* (nº CAS 95-14-7)
- *Candesartán* (nº CAS 139481-59-7)
- *Irbesartán* (nº CAS 138402-11-6)
- *Mezcla de 4-metilbenzotriazol (nº CAS 29878-31-7) y 6-metil-benzotriazol (nº CAS 136-85-6)*

- Método analítico propuesto: cromatografía líquida de alto rendimiento (UHPLC) acoplada a espectrometría de masas en tándem (MS/MS).

3. REFERENCIAS

1. *UNE-EN ISO/IEC 17043:2023. Evaluación de la conformidad – Requisitos General para la competencia de los proveedores de los ensayos de aptitud.*
2. *UNE-EN ISO/IEC 17025:2017. Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración.*
3. *ISO 13528:2022. Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparison.*
4. *The International Harmonized Protocol for Proficiency testing of analytical chemistry laboratories (2006). Pure Appl. Chem. Vol78, pp 145-196.*
5. *Guía EURACHEM “Selection, Use and Interpretation of Proficiency Testing (PT) Schemes – 2ª edición 2011 y 3ª edición. 2021.*
6. *Analytical Methods Committee - Robust Statistic Part I & II. Analyst 114, 1693-1702 (1989)*
7. *AMC technical brief (2006). Representing data distribution with kernel density estimates.*
8. *Iria González-Mariño, Verónica Castro, Rosa Montes, Rosario Rodil, Ana Lores, Rafael Cela y José Benito Quintana: “Multi-residue determination of psychoactive pharmaceuticals, illicit drugs and related metabolites in wastewater by ultra-highperformance liquid chromatography-tandem mass spectrometry” Journal of Chromatography A, Vol.1569 – Septiembre 2018; 91-100*



9. Rosa Montes, Sandra Méndez, Julio Cobas, Nieves Carro, Teresa Neuparth, Nelson Alves, Miguel M. Santos, José Benito Quintana y Rosario Rodil: "Occurrence of persistent and mobile chemicals and other contaminants of emerging concern in Spanish and Portuguese wastewater treatment plants, transnational river basins and coastal water" *Science of the Total Environment* 885 (2023) 163737

4. DEFINICIONES

- **Ensayo de aptitud:** Evaluación del desempeño de los participantes con respecto a criterios previamente establecidos a través de comparaciones interlaboratorios (Ref. ISO 17043)
- **Ensayo Interlaboratorios:** Tipo de ensayo de aptitud que se realiza con una distribución simultánea a los participantes, se selecciona un material con un valor asignado o certificado contra el cual es comparado el resultado obtenido por el o los participantes. Sirve para indicar el desempeño individual o grupal de los laboratorios.
- **Ítem de ensayo de aptitud:** Muestra, producto, artefacto, material de referencia, equipo, estándar de medición, conjunto de datos u otra información utilizada para evaluar el desempeño de los participantes en las pruebas de competencia.
- **Material de referencia MR:** Material, suficientemente homogéneo y estable con respecto a una o más propiedades especificadas, que se ha establecido para que sea adecuado para su uso previsto en un proceso de medición. (ISO 17034:2017)

5. RESPONSABILIDADES

Es responsabilidad del INTECMAR la organización y gestión del ensayo de aptitud, cumpliendo con los requisitos de la ISO 17043 y las directrices definidas en el proyecto BlueWWater.

Las responsabilidades, en este caso referidas a la evaluación de la homogeneidad y estabilidad de los ítems de ensayo de aptitud enviados a los participantes, serán las siguientes:

- ✓ Realizar mediciones para determinar la estabilidad y homogeneidad, así como los valores asignados y las incertidumbres asociadas a los mensurandos del ítem de ensayo de aptitud.
- ✓ Encargar la realización de los ensayos de homogeneidad y estabilidad a laboratorios de referencia
- ✓ Autorizar el envío de los ítems de ensayo previa confirmación de homogeneidad
- ✓ Comprobar que los resultados de estabilidad han sido satisfactorios a lo largo de la ronda de aptitud
- ✓ Realizar ensayos previos a los ítems de ensayo de aptitud apropiados

6. DESARROLLO

La verificación de la homogeneidad y estabilidad de ítems de ensayo son condiciones mínimas fundamentales para la correcta ejecución de los ensayos de aptitud. La estimación de ambos



parámetros se realiza mediante análisis estadísticos de las medidas de unos analitos seleccionados, en las matrices oportunas, que suelen ser los que presentan mayor variabilidad.

INTECMAR garantiza la homogeneidad y estabilidad de los ítems de ensayo. La **homogeneidad** se analiza una vez envasado el ítem, tal y como se suministra al participante, pero antes del envío. La **estabilidad** se realiza durante el período en que el ejercicio se desarrolla (antes y después del envío de los ítems). INTECMAR dispone de laboratorio, por lo que la preparación de los materiales de ensayo se realiza en sus propias instalaciones. Los ensayos de homogeneidad y estabilidad se realizan por medio de la participación de laboratorios de referencia para los análisis.

La homogeneidad y estabilidad, siempre que sea posible, requiere un muestreo previo para asegurar su fiabilidad, aunque se pueden dar casos en los que la cantidad de los ítems sea limitada. Si se diera este caso, la homogeneidad y estabilidad se asegurará con los registros de la sistemática de obtención y preparación de los ítems.

Los ítems de ensayo deben cumplir con las características de homogeneidad y estabilidad para el desarrollo del ensayo de aptitud, aplicando los criterios detallados en este protocolo.

6.1. Recepción y preparación de muestras

INTECMAR asegura el control de acceso al material original muestreado, a través de su identificación y de unas condiciones de almacenamiento y de seguridad adecuadas, que permiten preservar y separar el material para evitar su contaminación y degradación.

INTECMAR ha aplicará procedimientos en los que se definen y controlan los procesos de embalaje y etiquetado (etiquetas de ítems legibles y seguras), el transporte (nacional e internacional), que es subcontratado, pero se controlan las condiciones de transporte, la sistemática y la entrega correcta en el tiempo previsto.

El proceso de embalaje y etiquetado de los *ítems* de ensayo está definido en el Protocolo General del Ensayo de Aptitud.

6.2. Comprobaciones preliminares

INTECMAR es responsable de recepcionar los materiales muestreados y de realizar las comprobaciones preliminares correspondientes.

Mediante un equipo agitador de varillas homogeniza los volúmenes de agua de cada matriz en unas condiciones establecidas.

Se procede a realizar posteriormente el embotellado y etiquetado de los lotes de muestras de la ronda de aptitud.

Después se realiza el muestreo entre el lote de las muestras ya preparadas con el fin de proceder a los ensayos de homogeneidad y estabilidad correspondientes.



Los ensayos de homogeneidad y estabilidad serán realizados por el laboratorio de referencia que se designe.

Una vez realizado este proceso, gestiona con el servicio de mensajería el envío de muestras desde el INTECMAR a los distintos laboratorios participantes.

6.3. Ensayos de homogeneidad

INTECMAR garantiza la homogeneidad de los ítems de ensayo mediante el cumplimiento de los criterios estadísticos establecidos para tal fin en **la norma ISO 13528, el Protocolo Armonizado de la IUPAC** y otros. La homogeneidad se determina una vez envasado el ítem de ensayo, tal y como se suministra al participante, pero antes del envío.

El método para verificar la homogeneidad de la muestra implica **tomar al azar $n \geq 10$ porciones del material de prueba**, homogeneizarlas por separado si es necesario, tomar dos muestras de prueba de cada porción y analizar las $2n$ porciones en un orden aleatorio mediante un método cuya desviación estándar ($S_{muestra}$), **en condiciones de repetibilidad** no sea mayor del 30% de la desviación estándar objetivo (σ_{PT}), es decir la reproducibilidad esperada de la prueba de aptitud.

Por tanto el material cumple el ensayo de homogeneidad si:

$$S_{muestra} \leq 0,3 * \sigma_{PT} \text{ (desv. std. objetivo)}$$

Si la homogeneidad es satisfactoria, el análisis de varianza de un factor debería mostrar que la varianza entre muestras no es significativamente mayor que la varianza intramuestras.

INTECMAR no distribuirá a los participantes los ítems correspondientes hasta que las submuestras individuales sean de suficiente homogeneidad.

Para el aseguramiento de la homogeneidad del material preparado, se envían a analizar 10 muestras al laboratorio de referencia, que se ensayan por duplicado, en condiciones de repetibilidad. Con los resultados obtenidos, una vez recibidos, se realiza un estudio estadístico de acuerdo con los criterios de homogeneidad exigidos por la norma ISO 13528 y el Protocolo Armonizado de la IUPAC.

6.3.1. Control de la homogeneidad.

La evaluación de homogeneidad para una preparación de muestra se realiza siguiendo las tareas detalladas a continuación.



- a) Se elige uno o varios compuestos representativos para evaluar la verificación de homogeneidad y su medida asociada a la matriz que corresponda, por ejemplo:
- Muestras de agua: 4 muestras
 - 2 muestras de matriz agua superficial (1 de río, 1 de costera)
 - 2 muestras de matriz agua residual (1 de entrada y 1 de salida de EDAR)
 - Parámetros para analizar: Contaminantes emergentes
 - Uno o varios compuestos representativos de entre los detallados en al alcance del ensayo de aptitud
- b) Se preparan, embotellan, etiquetan y empaquetan los ítems de la prueba de aptitud para la ronda correspondiente, asegurándose que haya suficientes ítems para los participantes en el esquema y para la verificación de homogeneidad.
- c) De cada lote correspondiente, se seleccionan **$n \geq 10$ porciones del material de prueba** en su forma de botella final usando un **proceso de selección aleatorio adecuado**. El número de ítems incluidos en el control de homogeneidad puede reducirse si se dispone de datos adecuados de controles de homogeneidad previos en artículos similares preparados por los mismos procedimientos.
- d) Se envían al laboratorio designado previamente elegido para que realice los ensayos de homogeneidad, así como el método de medición a utilizar. El método debe tener una repetibilidad suficientemente pequeña para que se pueda detectar cualquier falta de homogeneidad significativa. La relación entre la desviación estándar de repetibilidad para el método ($S_{analítica}$) y la desviación estándar para la evaluación de competencia debe ser inferior a 0,5 como recomienda el Protocolo Armonizado de IUPAC.

$$S_{analítica} / \sigma_{PT} (\text{desv. std. objetivo}) < 0,5$$

Esto no siempre es posible, por lo que en ese caso deberían usarse más réplicas.

- e) El laboratorio designado que recibe las muestras prepara **$m \geq 2$ porciones de prueba de cada ítem de prueba de aptitud** utilizando técnicas apropiadas con el fin de minimizar las diferencias entre porciones de prueba.

De igual forma procede a tomar **porciones de prueba $n \times m$ en un orden aleatorio**, obteniendo un resultado analítico de cada una y completando la serie de mediciones **en condiciones de repetibilidad**.

Una vez finalizados los ensayos el Laboratorio envía los informes con los resultados obtenidos a INTECMAR





- f) INTECMAR determina mediante análisis de la varianza (ANOVA) el promedio general \bar{x} , la desviación estándar dentro de las muestras S_w y la desviación estándar entre muestras S_s (ver Anexo 1).

En los diseños generales para demostrar experimentalmente homogeneidad, se utilizan análisis apropiados de los diseños de varianza, generando estimaciones para los componentes de ésta, en particular la estimación de la desviación estándar dentro de las muestras, incluida la repetibilidad de medición (S_w) y la variación entre muestras (S_s). La siguiente técnica es para un número elegido n de ítems de prueba de aptitud, medidos en repetición m veces.

Cuando no es posible realizar mediciones repetidas, por ejemplo, con pruebas destructivas, la desviación estándar de los resultados se puede usar como S_s . En este escenario, es muy relevante tener un método con valores bajos de S_r . (*Desv. Std. de repetibilidad*)

6.3.2. Criterios de control de homogeneidad

El criterio fundamental es comparar la desviación estándar entre muestras S_s con la desviación estándar para la evaluación de competencia objetivo σ_{PT} . Los ítems de la prueba de aptitud pueden considerarse adecuadamente homogéneos si:

$$S_{muestra} \leq 0,3 * \sigma_{PT} \text{ (desv. std. objetivo)}$$

NOTA: La justificación para el factor de 0,3 es que cuando se cumple este criterio, la desviación estándar entre muestras no contribuye más de aproximadamente el 10% (0,1 σ_{PT}) de la desviación estándar para la evaluación de competencia (cuando $\pm 3,0$ es el criterio para una señal de acción).

Es también útil ampliar el criterio y considerar el error de muestreo real y la repetibilidad en la verificación de homogeneidad (Protocolo IUPAC recomendado). En estos casos, se procede de la siguiente forma:

Calcular: $\sigma_{permisible}^2 = (0,3 \sigma_{PT})^2$

Calcular: $c = F_1 \sigma_{permisible}^2 + F_2 S_w^2$

donde:

S_w es la desviación estándar interna de repetibilidad (intra-muestras)



F₁ y F₂ provienen de tablas estadísticas estándar, reproducidas a continuación en la Tabla 1, para el número de elementos de prueba de aptitud seleccionados y con cada elemento probado por duplicado

El criterio que evidencia de que el lote de material no es suficientemente homogéneo es el siguiente:

$$\text{Si } Ss > \sqrt{c}$$

Tabla 1

n	C (95%)	F1	F2
7	0,727	2,10	1,43
8	0,680	2,01	1,25
9	0,638	1,94	1,11
10	0,602	1,88	1,01
11	0,570	1,83	0,93
12	0,541	1,79	0,86
13	0,515	1,75	0,8
14	0,492	1,72	0,75
15	0,471	1,69	0,71
16	0,452	1,67	0,68
17	0,434	1,64	0,64
18	0,418	1,62	0,62
19	0,403	1,60	0,59
20	0,389	1,59	0,57

NOTA 1: "n" es el número de elementos de prueba de aptitud seleccionados, probados por duplicado (m = 2)

Los criterios adicionales para asegurar que los datos de la prueba de homogeneidad son válidos para el análisis se detallan a continuación:

Examen de los resultados para cada porción de prueba en orden de medición para buscar una tendencia (o deriva) en el análisis; Si hay una tendencia aparente, se toman las medidas correctivas apropiadas con respecto al método de medición, teniendo cuidado en la interpretación los resultados.



Examen de los resultados promedios de muestra por orden de producción de muestra; Si existe una tendencia grave que hace que el ítem de prueba de aptitud exceda el criterio:

$$S_{muestra} \leq 0,3 * \sigma_{PT} \text{ (desv. std. objetivo)}$$

o de otra manera impide el uso del ítem de prueba de aptitud, entonces:

- Se asignan valores individuales a cada ítem de prueba de aptitud; o
- Se descarta el subconjunto de elementos de prueba de aptitud significativamente afectados y volver a probar el resto para una homogeneidad suficiente; o
- Si la tendencia afecta a todos los ítems de la prueba de aptitud, se consideran las siguientes acciones:
 - *Incluir la desviación estándar entre muestras en la desviación estándar para la evaluación de competencia, calculando σ'_{pt} como en la ecuación siguiente:*

$$\sigma'_{pt} = \sqrt{\sigma_{pt}^2 + S_s^2}$$

Esta información debe describirse completamente a los participantes.

- *Incluir S_s en la incertidumbre del valor asignado y use z' para evaluar el desempeño;*
- *Cuando σ_{pt} es la desviación estándar robusta de los resultados de los participantes, entonces la inhomogeneidad entre los ítems de la prueba de aptitud se incluye en σ_{pt} y, por lo tanto, el criterio para la aceptabilidad de la homogeneidad se puede relajar con precaución.*

Comparar la diferencia entre réplicas (o rango, si hay más de 2 réplicas) y, si es necesario, se comprueba una diferencia estadísticamente significativa entre réplicas, utilizando la prueba de Cochran (ISO 5725-2). Si la diferencia entre réplicas es grande para cualquier par de resultados, se investiga una explicación técnica de la diferencia y, si corresponde, se eliminan uno o ambos resultados del análisis.

Si no aplica ninguno de estos escenarios INTECMAR:



- Desechará el ítem de prueba de aptitud y repetirá la preparación después de corregir la causa que originó la falta de homogeneidad.
- Seguirá adelante con la ronda de ensayo de aptitud pero solo valorará la competencia de desempeño z-score a título meramente informativo, avisando a los laboratorios participantes de tal eventualidad y la causa de la misma en el Informe de ensayo de aptitud.

6.3.3. Resumen de criterios propuestos en ISO 13528.

- No aplica pruebas estadísticas, sino ensayos relativos a la evaluación interna
- Requiere 10 muestras y 2 replicados como mínimo al igual que Protocolo IUPAC
- Determina los valores de desviación típica para:
 - ✓ *SD muestral (Anova)*
 - ✓ *SD entre muestras $< 0.3 * \sigma_{\text{objetivo}}$*
 - ✓ *Si no se cumple el criterio anterior, el proveedor debe incluir un factor que considere esta falta de heterogeneidad de las muestras en la desviación estandar global del interlaboratorio*
- No recomienda aplicar el Test F para la comparación del valor crítico dado por SD^2 / S_r^2 frente al valor estadístico de las tablas, ya que:
 - ✓ *Sr alta: prueba insensible (SD altos cumplirían)*
 - ✓ *Sr baja: prueba poco sensible (SD bajos no cumplen)*
- Cuando la evidencia y la teoría demuestran suficiente homogeneidad, se puede recurrir a la experiencia para reducir el número de ensayos
- Se pueden plantear pruebas estadísticas similares para verificar el cumplimiento de criterios de Estabilidad (mínimo 3 muestras duplicadas)





6.4. Ensayos de estabilidad

Las muestras de ensayo deben ser suficientemente estables durante el desarrollo de la ronda de ensayo de aptitud. Esto incluye el tiempo entre la preparación y el inicio del ensayo, así como durante el transporte de las muestras y el periodo de tiempo establecido para que los participantes realicen los ensayos.

Estos criterios se han establecido mediante ensayos de estabilidad, la experiencia en ensayos de aptitud, el asesoramiento experto y la evaluación de los datos históricos comparando los datos de preparación y de homogeneidad con los valores asignados.

Los ítems de ensayo de aptitud deben cumplir con las características de estabilidad para el desarrollo del ensayo de aptitud, aplicando los criterios detallados en este protocolo.

6.4.1. Control de estabilidad

El control de la estabilidad se realiza durante la duración típica de la ronda de ensayos de aptitud (incluido o excluido el transporte).

Cuando existe una seguridad razonable de estudios experimentales previos, experiencia o conocimiento previo de que la inestabilidad es improbable, las comprobaciones de estabilidad experimentales de INTECMAR pueden limitarse a una verificación de cambios significativos en el transcurso de la ronda, realizada durante y después de la ronda de pruebas de aptitud.

Se tienen en cuenta las siguientes consideraciones para las comprobaciones de estabilidad:

- ✓ Todas las propiedades que se usan en la ronda de ensayo de aptitud deben analizarse o bien de otra manera verificar su estabilidad. Esto se puede lograr con experiencia previa y justificación técnica basada en el conocimiento de la matriz y la medición.
- ✓ Al menos se analizan 3 ítems de prueba de aptitud por duplicado; Se deben usar más muestras o más réplicas si la repetibilidad es sospechosa, por ejemplo, si:

$$S_r \text{ o } S_w > 0,5 \sigma_{PT}$$

- ✓ Las mediciones de estabilidad tienen el mismo número de repeticiones que se obtuvieron en el estudio antes del comienzo de la ronda de pruebas de aptitud (por ejemplo, la verificación de homogeneidad).

Para evaluar la estabilidad en las pruebas de aptitud se analiza una pequeña muestra de ítems de prueba de aptitud al final de una ronda y se compara con los ítems de prueba de aptitud probados antes de la ronda, para asegurar que no haya cambios durante el tiempo del estudio.



La verificación puede incluir una verificación de cualquier efecto de las condiciones de transporte al exponer adicionalmente los ítems de prueba de aptitud retenidos durante la duración del estudio a las condiciones que representan las condiciones de transporte.

Para asegurar la estabilidad del material preparado, se analizarán 3 muestras por duplicado, una antes y otra tras finalizar el ejercicio, (una vez todos los laboratorios hallan enviado sus resultados), siguiendo las tareas detalladas a continuación:

- Se envían y analizan las muestras en el mismo laboratorio que realizó los ensayos de homogeneidad, con el mismo método analítico y ensayando la misma propiedad o propiedades para la verificación de estabilidad que para las pruebas antes del inicio de la ronda de pruebas de aptitud.
- Se establece un retraso de tiempo entre la verificación de homogeneidad y la prueba de estabilidad similar al retraso de tiempo que experimentarán los ítems de prueba de aptitud analizados por los participantes en la ronda de prueba de aptitud. Si es factible, se evalúa los ítems de la prueba de aptitud en las mismas condiciones de transporte y al mismo tiempo que la ronda de pruebas de aptitud.
- Se selecciona un número **n** de los ítems de la prueba de aptitud al azar, donde **n ≥ 3**.
- Se realizan el mismo número de mediciones repetidas (**m**) en todos los elementos de prueba de aptitud en la verificación de estabilidad.
- Se analizan todas las réplicas de los ítems de prueba de aptitud **en orden aleatorio y bajo condiciones de repetibilidad**.
- Se calculan los promedios y los resultados de los dos grupos (antes y después) respectivamente.

6.4.2. Criterios de control de la estabilidad.

Una vez finalizada la ronda y se reciben los resultados, se realiza el estudio estadístico correspondiente, en cuanto a la estabilidad de los ítems, según los criterios de la norma ISO 13528 y del Protocolo Armonizado de IUPAC

Se compara el promedio general de las mediciones obtenidas en el control de homogeneidad \bar{y}_1 (u otro control previo realizado) con el promedio general de los resultados obtenidos en el control de estabilidad \bar{y}_2 . Las muestras pueden considerarse adecuadamente estables si:

$$|\bar{y}_1 - \bar{y}_2| \leq 0,3 \cdot \sigma_{PT}$$



Es probable que la precisión intermedia del método de medición (o la incertidumbre de medición del ítem) pueda contribuir a la imposibilidad de cumplir dicho criterio. En este caso el criterio puede expandirse agregando la incertidumbre de la diferencia a σ_{PT} y luego verificar la diferencia según lo siguiente:

$$|\bar{y}_1 - \bar{y}_2| \leq 0,3 \cdot \sqrt{\sigma_{PT}^2 + 2 \cdot u(x_i)^2}$$

Si finalmente no se cumplen estos criterios, se pueden considerar las siguientes opciones:

- ✓ cuantificar el efecto de la inestabilidad y tenerlo en cuenta en la evaluación (por ejemplo, con índices de desempeño z`-score)
- ✓ examinar los procedimientos de preparación y almacenamiento de muestras para ver si son posibles mejoras
- ✓ no evaluar el desempeño de los participantes o hacerlo a título meramente informativo.

6.4.3. Estabilidad en las condiciones de transporte.

INTECMAR también puede tener en consideración cualquier efecto conocido del transporte al evaluar el desempeño. Cualquier aumento en la incertidumbre debido al transporte se incluirá en la incertidumbre del valor asignado.

Como el valor asignado y la desviación estándar para la evaluación de competencia se determinan a partir de los resultados de los participantes, entonces estos estadísticos podrían reflejar cualquier sesgo y efectos en la incertidumbre causados por las condiciones de transporte.

7. ANEXOS

7.1. Hoja Excel de cálculos de homogeneidad ISO 13528/IUPAC





Verificación Homogeneidad (ISO 13528:2015)

Muestra	valor1, $x_{t,1}$	valor2, $x_{t,2}$	\bar{x}_t	s_t^2	w_t^2
1	0,185	0,194	0,1895	0,00002025	4,05E-05
2	0,187	0,189	0,188	0,000001	0,000002
3	0,182	0,186	0,184	4E-06	8E-06
4	0,188	0,196	0,192	0,000016	3,2E-05
5	0,191	0,181	0,186	0,000025	5E-05
6	0,188	0,18	0,184	0,000016	3,2E-05
7	0,187	0,196	0,1915	0,00002025	4,05E-05
8	0,177	0,186	0,1815	0,00002025	4,05E-05
9	0,179	0,187	0,183	0,000016	3,2E-05
10	0,188	0,196	0,192	0,000016	3,2E-05
11					
12					
13					
14					
15					
16					
17					
18					
19					
20					

Datos

número de muestras	10
número de replicados	2
Media general \bar{x}	0,18715
Varianza de medias muestral s_x^2	1,5836E-05
Varianza intra-muestras s_w^2	3,095E-05
Varianza entre-muestras s_s^2	3,6111E-07

Dev. standard de emdias muestral s_x	0,00397946
Dev. standard intra-muestras s_w	0,00556327
Dev. standard entre-muestras s_s	0,00060093

Desv. standard esperada del ensayo de aptitud (objetivo)	σ_{pt} 0,02807
	Valor control 0,008421

Homogeneidad OK

Con margen adicional para error de muestreo real y repetibilidad (B2.3)

σ_{allow}^2 7,09132E-05	critico F_1 1,88
c 0,000164576	critico F_2 1,01
\sqrt{c} 0,012828733	

Homogeneidad OK