

**PNTs (Calibración y aspectos relacionados). Ej. de un Lab. acreditado por ENAC. Decisiones internas, Comentarios adicionales, Dato exp.**

Alcance: Analito (muestra) Intervalo conc.	Técnica (método)	Dilución muestra	Conc. muestra / Límites	Preparación. Patrones calib.	Diseños: nc Frecuencia calibración Control de calidad (verificación)	Validación exactitud	Información adicional
Nitrato (aguas de consumo) TIPO: Analito simple, Matriz simple  0.5-390 mg/L	Colorimetría (reducción de nitrato a nitrito (Gries), medida a 540 nm) Señal: Abs. (UA)  (autoanalizador)	Max.: 20 Posible: 1000 <sup>b</sup>	Nivel usual < 200 mg/L (pozos)  VP= 50 mg/L (CE) <sup>d</sup>	Adición de analito-patrón sobre agua ultrapura (hemodiálisis)	Calibración: [0.5, 0.8, 1, 2, 5, 10, 20] mg/L (calibrado y dilución automática; analizador)  Frecuencia calibración: anual. (7 nc) (Ensayos: diarios)  Control de calidad (verificación): nivel 1: 1 mg/L nivel 2: 30 mg/L (diluida 1/2 para controlar la dilución automática)	Fortificación (Recuperación): Adición analito-patrón (3 nc: 0.5, 15 y 390 mg/L.) sobre distintas matrices (9)  (si $E < E_L$ se asume no efecto matriz) Pseudo-adición estándar; $\chi^2_{b1}$ - comparable?	STATUS: Acreditado  $E = 10\%$ (al VP) <sup>d1</sup> $P = 10\%$ (al VP) <sup>d1</sup> repetibilidad y precisión intermedia  $E_L < 10\%$ (alcance) $P_L < 10\%$ (alcance) $E_{exp} = 6\%$ $P_{exp} = 1$ y 8% $L_Q = 0.5$ mg/L <sup>d2</sup>
Nitrato (aguas residuales) TIPO: Analito simple, Matriz compleja; intermedia tras dilución 1/10  5-7800 mg/L	Id.  PNT-Ensayo: Dilución de las muestras 1/10	Max. 400 Posible: 1000 <sup>b</sup>	Ordenadas Municipales: 65 mg/L N = 288 mg/L NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (En general se cumple)	Id.  (Gracias a la dilución)	Id.	Fortificación (Recuperación): Adición analito-patrón (3 nc: 0.5, 15 y 7800 mg/L) sobre distintas matrices (agua industrial, entrada y salida EDAR)  (si $E < E_L$ se asume no efecto matriz) Pseudo-adición estándar; $\chi^2_{b1}$ - comparable?	Id.  $E_L < 15\%$ (alcance) $P_L < 15\%$ (alcance) $E_{exp} = 11\%$ $P_{exp} = 1$ y 6%  $L_Q = 5$ mg/L (equivale a 0.5 sin dilución de muestras)
Analitos: ° 2-MIB, G, 2,4,6-TCA 2,3,6-TCA, 2,3,4-TCA 2,4,6-TBA, (agua de consumo) TIPO: Analito complejo Matriz simple  - 2-MIB: 25-8000 ng/L - Resto: 5-1600 ng/L	GC-MS (SBSE-TD-GC-MS) (Multianalito) Señal: Área pico relativa (UA). A/A <sub>PI</sub>	Posible 20 <sup>b</sup>	Nivel usual < 200 ng/L (muestras procesadas de río, canal...)  No existe VP. Se fija en VP = 500 ng/L (2-MIB), 100 (resto)	Adición de analito-patrón sobre agua limpia (envasada)	Calibración: - 2-MIB: [25, 50, 100, 200, 350, 500] ng/L - Resto de analitos: [5, 10, 20, 50, 80, 100] ng/L  Frecuencia calibración: semanal. (Ensayos: 3 tandas/semana)  Control de calidad (verificación): 2-MIB: 30, 450 ng/L Resto: 7, 95 ng/L	No validado (aún no compensa económicamente su acreditación)  Posible: Fortificación (Recuperación): Muestras fortificadas a 3 nc	STATUS: I+D  $E_L < 25\%$ (alcance) $P_L < 25\%$ (alcance) (tomado de plaguicidas en aguas al VP <sup>d1</sup> )  $L_Q = 25$ ng/L (2-MIB) y 5 ng/L (resto) (tomado de plaguicidas en aguas), $L_Q \leq 25\%$ (VP) <sup>d1</sup>
Plaguicidas (frutas y hortalizas) TIPO: Analito complejo Matriz compleja  0.05-4.5	CG-MS/MS (extracción con disolventes) (Multianalito) Señal: Área pico relativa (UA). A/A <sub>PI</sub> Se emplean 4 P.i. + 1 adicional (Control de Recuperación; extracción)	Posible 20 <sup>b</sup>  (no suele aplicarse)	LMR (CE <sup>d1</sup> , armonizados) Ej. 0.02 mg.kg <sup>-1</sup> (plaguicidas prohibidos)  Nivel usual: 0 o muy bajo y siempre < 0.5 mg.kg <sup>-1</sup>	Extracto de triturado de matriz sin plaguicidas fortificados a 5 (6) nc	- [0.05, 0.10, 0.15, 0.20, 0.25] mg.kg <sup>-1</sup> (multianalito) OM(x) = 0.5 Frecuencia calibración: cada 15-20 muestras (~ 1 tanda de ensayos, contaminación carbofrit)  Control de calidad (verificación): - 0.05, 0.15, 0.25 mg/kg (rotando)	Fortificación (Recuperación): Extracto de triturado de matriz sin plaguicidas fortificados a 0.05, 0.20 y 4.5 mg/kg  La matriz está presente en la validación y la calibración	STATUS: Acreditado, I+D  $E = 25\%$ (al VP) <sup>d1</sup> $P = 25\%$ (al VP) <sup>d1</sup> repetibilidad y precisión intermedia $E_L < 25\%$ (alcance) $P_L < 25\%$ (alcance)  $L_Q \leq 25\%$ (VP) <sup>d1</sup> $L_Q = 0.05$ mg/kg

Metales (aguas de consumo)	ICP-OES Detector CCD	Max. 50 (se intenta evitar)	Sodio RD140 200 mg/l	Adición de analito-patrón sobre agua ultrapura (con un 1% de ácido nítrico concentrado)	- Sodio[0,4,10,20,100,200] mg/l (multianalito) Calibración cuadrática; asegurar el criterio de linealidad de ENAC vía $R^2$ polin. Puntos influyentes 200, incluso 100  Frecuencia de la calibración diaria (Ensayos: diario)  Control de calidad (verificación): - 6, 160 mg/l	Fortificación (Recuperación): Adición analito-patrón (3 nc: 4, 54 y 9500 mg/L.) sobre distintas matrices  Pseudo-adición estándar; ¿b <sub>1</sub> - comparable? (no efecto matriz)	STATUS: Acreditado  $E = 10\%$ (al VP) <sup>d1</sup> $P = 10\%$ (al VP) <sup>d1</sup> repetibilidad y precisión intermedia  $E_L = 10\%$ $P_L = 10\%$  $L_Q = 4 \text{ mg/L}$ <sup>d2</sup>
-------------------------------	-------------------------	-----------------------------------	-------------------------	---	---	--	--

**Abreviaturas:** PI= Patrón interno, VP = Valor paramétrico (Fijado en una normativa), E=Exactitud (Error relativo, veracidad),  $E_L$ =Exactitud (Error, veracidad) límite prefijada, P=Precisión (relativa, RSD% ó CV); incluye la estimación en repetibilidad y precisión intermedia (entre-días (5) y analistas (2-3)).  $P_L$ =Precisión (relativa, RSD% ó CV) límite prefijada.  $L_Q$  = Límite de cuantificación. RD. Real Decreto.

<sup>a</sup> Criterios ENAC (de aceptación, a día de hoy) relativos a la calidad de la calibración de métodos:

- Técnicas espectrofotométricas:  $R^2 > 0.999$  (en validación del método y en rutina) ( $Nr > 1$ ; **Media(y)** podría ayudar a satisfacer el criterio, si es necesario)
- Técnicas cromatográficas:  $R^2 > 0.995$  (en validación del método y en rutina) ( $Nr > 1$ ; **Media(y)** podría ayudar a satisfacer el criterio, si es necesario)
- En estudio: en validación y calibración rutinaria; control de pendientes (no consistente para todas las técnicas)

<sup>b</sup> Criterios ENAC relativos a la dilución (Dil.) máxima posible (a día de hoy) de muestras (previa a interpolación en el calibrado), tal que Conc. original = x-est · Dil.

- en colorimetría (~ muestras simples, ej. aguas): 1000
- en cromatografía (~ matrices intermedias): 20
- en cromatografía (~ matrices muy complejas): 100

<sup>c</sup> Orientaciones/Criterios ENAC relativos a la validación de la exactitud (E, P):

- Nivel mínimo:  $L_Q$  o  $L_Q + 5\% L_Q$
- Nivel máximo: L.max.Alcance o L.max.Alcance – (5-15%)

**Criterios/Decisiones internas del Lab.** (en vigor):

- Se emplea/fuerza regresión lineal OLS. (Ej, Determinación de F- mediante electrodos selectivos, log (señal)-conc. es lineal). Excepción: Metales vía ICP (Regresión cuadrática;  $R^2$  polin. >  $R^2$  lineal para el intervalo de calibración elegido. Disminuir el intervalo mejora  $R^2$  lineal pero obligaría a diluir (repetir) frecuentemente muestras, incrementando tiempo y costes).
- No hay diferencias entre calibrado en la fase de validación del método o en rutina. Excepción: En validación se hacen calibrados durante 5 días y sobre las distintas matrices del alcance. Se indica un criterio de calidad adicional (exigencia de ENAC) de la 'recta' de calibración durante la validación: 'Residual en conc.' =  $E$  (conc. de los patrones) <  $E_L$  %.
- $Nr = 1$ ; No se hacen réplicas a cada nc en calibración. En validación, debería incluir  $Nr \geq 3$  (Ej.  $Nr = 5$  a nc bajos) para evaluar homocedasticidad e incluso estimar inicialmente  $L_Q$  Ej. criterio **RSD(y) vs. x**, fijando  $L_Q$  como la conc. correspondiente al límite **RSD(y)** prefijado de repetibilidad, ej.  $P_L$ )
- $Nc \sim 2 nC + 1$  (=> Calibración OLS:  $nC = 2$ ;  $b_0, b_1$ ;  $Nc = 2 \cdot 2 + 1 = 5$  nc). No se incluye el blanco en calibración (salvo que el blanco de una señal elevada, Ej. Metales vía ICP). El límite inferior de calibración (L.inf.Cal.) =  $L_Q$ . El límite superior de calibración (L.sup.Cal.) se fija por consenso entre aspectos diversos (Ej. Coste, Alcance, Dil., linealidad) **Debería incluir OM(x).min  $\geq 0.5$**
- Estimación de alcance en conc.: L.inf.Alcance =  $L_Q$ . L.sup.Alcance ~ L.sup.Cal. \* Dil. / (1 +  $E / 100$ ), donde  $E = E_L$  o  $E_{exp}$
- Distribución de conc.: Colorimetrías: calibrados con mayor presencia de patrones en la zona de conc. baja. Cromatografía: calibrados ~ equidistantes. Método de patrón interno.
- Las exigencias sobre E y P (a un nc, Ej. VP) se extienden a todo el alcance. En los estudios de recuperación sobre matrices del alcance  $E_{exp} < E_L$  implica asumir que no hay efecto matriz
- Software para calibración: En rutina: calibración e interpolación con software del equipo. Validación: calibración e interpolación y cálculos vía EXCEL® (NOTA: para Gráficos de control se emplea STATGRAPHICS® (limitado por el coste de licencias).
- Control de calidad (Verificación de métodos): 2 nc rotando, uno al principio y otro al final de la tanda de ensayos ó 3 nc (añadiendo un nc más intermedio). Criterio aceptación ( $E_{lim}$ )

<sup>d1</sup> Legislación Europea; <sup>d2</sup> Normativa Española (aguas pre-potables)

<sup>e</sup> Analitos (olor, sabor): 2-metil-isoborneol (2-MIB), Gesosmina (G), 2,4,6-tricloroanisol (2,4,6-TCA), 2,3,6-tricloroanisol (2,3,6-TCA), 2,3,4-tricloroanisol (2,3,4-TCA), 2,4,6-tribromoanisol (2,4,6-TBA). Pre-validación: **E %:** 2-MIB: 0.74; G: 2.68; 2,4,6-TCA: 1.70; 2,3,6-TCA: 1.93; 2,3,4-TCA: 0.22; 2,4,6-TBA: 1.62.