

4^a Edición

Estadística y Quimiometría para Química Analítica

Prentice
Hall

James N. Miller
Jane C. Miller

ESTADÍSTICA Y QUIMIOMETRÍA PARA QUÍMICA ANALÍTICA

ESTADÍSTICA Y QUIMIOMETRÍA PARA QUÍMICA ANALÍTICA

Cuarta edición

**James N. Miller
Jane C. Miller**

Traducción

Carlos Maté Jiménez
Profesor Propio de Estadística
Escuela Técnica Superior de Ingeniería – I.C.A.I.
Universidad Pontificia Comillas de Madrid

Roberto Izquierdo Hornillos
Profesor Titular de Química Analítica
Universidad Complutense de Madrid



Madrid • México • Santafé de Bogotá • Buenos Aires • Caracas • Lima • Montevideo • San Juan
San José • Santiago • São Paulo • White Plains

Datos de catalogación bibliográfica

**ESTADÍSTICA Y QUIMIOMETRÍA PARA
QUÍMICA ANALÍTICA**
MILLER, N. J. y MILLER, J. C.

PEARSON EDUCACIÓN, S.A., Madrid, 2002

ISBN: 84-205-3514-1

Materia: ESTADÍSTICA. 311

Formato 170 × 240

Páginas: 296

No está permitida la reproducción total o parcial de esta obra ni su tratamiento o transmisión por cualquier medio o método, sin autorización escrita de la Editorial.

DERECHOS RESERVADOS

© 2002 respecto a la primera edición en español por:

PEARSON EDUCACIÓN, S.A.

Núñez de Balboa, 120

28006 MADRID

MILLER, N. J. y MILLER, J. C.

ESTADÍSTICA Y QUIMIOMETRÍA PARA QUÍMICA ANALÍTICA

ISBN: 84-205-3514-1

Depósito legal: M.29.356-2002

PRENTICE HALL es un sello editorial autorizado de PEARSON EDUCACIÓN, S.A.

Traducido de:

Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry

Fourth Edition

Copyright © 2000, por Pearson Education Limited

ISBN: 0-13-022888-5

Edición en español:

Equipo editorial:

Editora: Isabel Capella

Técnico editorial: Marta Caicoya

Equipo de producción:

Director: José Antonio Clares

Técnico: Diego Marín

Equipo de diseño: Mario Guindel, Lía Sáenz y Begoña Pérez

Composición: COPIBOOK, S.L.

Impreso por: Lavel, S. A.

IMPRESO EN ESPAÑA - PRINTED IN SPAIN



Este libro ha sido impreso con papel y tintas ecológicos

Contenido

Prólogo a la primera edición	ix
Prólogo a la cuarta edición	xi
Agradecimientos	xiii
Glosario de símbolos	xv
1. Introducción	1
1.1. Los problemas analíticos	1
1.2. Errores en el análisis cuantitativo	2
1.3. Tipos de errores	3
1.4. Errores aleatorios y sistemáticos en el análisis volumétrico .	7
1.5. El manejo de errores sistemáticos	11
1.6. Planificación y diseño de experimentos	15
1.7. Calculadoras y computadoras en los cálculos estadísticos	16
Bibliografía	19
Ejercicios	19
2. Estadística de medidas repetidas	21
2.1. Media y desviación estándar	21
2.2. La distribución de medidas repetidas	23
2.3. La distribución log-normal	27
2.4. Definición de «muestra»	28
2.5. La distribución muestral de la media	29
2.6. Límites de confianza de la media para muestras grandes	30
2.7. Límites de confianza de la media para muestras pequeñas ..	32
2.8. Presentación de resultados	33
2.9. Otros usos de los límites de confianza	34
2.10. Límites de confianza de la media geométrica de una distri- bución log-normal	35

2.11. Propagación de errores aleatorios	36
2.12. Propagación de errores sistemáticos	39
Bibliografía	40
Ejercicios	41
3. Contrastes de significación	43
3.1. Introducción	43
3.2. Comparación de una media experimental con un valor conocido	43
3.3. Comparación de dos medias experimentales	45
3.4. El contraste <i>t</i> para datos emparejados	49
3.5. Contrastes de una y dos colas	51
3.6. El contraste <i>F</i> para la comparación de desviaciones estándar	53
3.7. Datos anómalos	55
3.8. Análisis de la varianza	58
3.9. Comparación de varias medias	59
3.10. La aritmética de los cálculos ANOVA	62
3.11. El contraste chi-cuadrado	65
3.12. El contraste de la normalidad de una distribución	67
3.13. Conclusiones a partir de los contrastes de significación	68
Bibliografía	71
Ejercicios	72
4. La calidad de las medidas analíticas	77
4.1. Introducción	77
4.2. Muestreo	78
4.3. Estimación y separación de varianzas usando ANOVA	79
4.4. Estrategia de muestreo	81
4.5. Métodos de control de calidad: Introducción	82
4.6. Diagramas de Shewhart para valores medios	82
4.7. Diagramas de Shewhart para rangos	84
4.8. La determinación de la capacidad del proceso	86
4.9. Longitud media de rachas: diagramas de sumas acumuladas	88
4.10. Esquemas de pruebas de suficiencia	92
4.11. Ensayos de colaboración	96
4.12. Incertidumbre	100
4.13. Muestreo de aceptación	104
Bibliografía	106
Ejercicios	106
5. Métodos de calibración en análisis instrumental: regresión y correlación	111
5.1. Introducción: análisis instrumental	111
5.2. Gráficas de calibrado en análisis instrumental	113
5.3. El coeficiente de correlación momento-producto	115
5.4. La recta de regresión de <i>y</i> sobre <i>x</i>	119
5.5. Errores en la pendiente y ordenada en el origen de la recta de regresión	120
5.6. Cálculo de una concentración y su error aleatorio	123
5.7. Límites de detección	125
5.8. El método de las adiciones estándar	127

5.9.	El uso de rectas de regresión para comparar métodos analíticos	130
5.10.	Rectas de regresión ponderadas	135
5.11.	Intersección de dos líneas rectas	140
5.12.	ANOVA y los cálculos de regresión	141
5.13.	Métodos de regresión no lineal: Introducción	143
5.14.	El ajuste de curvas	146
5.15.	Datos anómalos en la regresión	150
	Bibliografía	152
	Ejercicios	152
6.	Métodos no paramétricos y robustos	157
6.1.	Introducción	157
6.2.	La mediana: análisis inicial de los datos	158
6.3.	El contraste de los signos	163
6.4.	El contraste de rachas de Wald-Wolfowitz	165
6.5.	El contraste de rangos y signos de Wilcoxon	166
6.6.	Contrastes simples para dos muestras independientes	168
6.7.	Contrastes no paramétricos para más de dos muestras	172
6.8.	Correlación ordinal	174
6.9.	Métodos de regresión no paramétricos	176
6.10.	Métodos robustos	178
6.11.	Métodos de regresión robustos	182
6.12.	El contraste de la bondad del ajuste de Kolmogorov	183
6.13.	Conclusiones	184
	Bibliografía	185
	Ejercicios	186
7.	Diseño de experimentos y optimización	189
7.1.	Introducción	189
7.2.	Aleatorización y formación de bloques	190
7.3.	ANOVA de dos factores	191
7.4.	Cuadrados latinos y otros diseños	194
7.5.	Interacciones	195
7.6.	El diseño factorial frente al de un factor cada vez	200
7.7.	Diseño factorial y optimización	200
7.8.	Optimización: principios básicos y métodos univariantes	204
7.9.	Optimización utilizando el método de búsqueda de la variable alterna	208
7.10.	Método de la máxima pendiente	211
7.11.	Optimización por el método simplex	213
7.12.	El revenido simulado	217
	Bibliografía	217
	Ejercicios	218
8.	Análisis multivariante	221
8.1.	Introducción	221
8.2.	Análisis inicial	222
8.3.	Análisis de componentes principales	224
8.4.	Análisis de conglomerados («clusters»)	228
8.5.	El análisis discriminante	232

8.6.	El método de los K vecinos más próximos	236
8.7.	El modelado de clase disjunta	237
8.8.	Regresión múltiple	237
8.9.	Regresión sobre componentes principales	238
8.10.	Regresión multivariante	238
8.11.	Regresión sobre mínimos cuadrados parciales	239
8.12.	Calibración multivariante	239
8.13.	Redes neuronales artificiales	242
8.14.	Conclusiones	243
	Bibliografía	243
	Ejercicios	244
	Soluciones a los ejercicios	
	Apéndice 1. Contrastes de significación estadística de uso común	257
	Apéndice 2. Tablas estadísticas	261
	Índice	273

Prólogo a la primera edición

Añadir otro volumen a los numerosos textos sobre estadística pudiera parecer una tarea sin excesivas garantías de éxito, sin embargo, la realidad es que muchos científicos de prestigio ignoran desgraciadamente los métodos estadísticos más elementales. Es más asombroso aún que los químicos analíticos, que practican una de las ciencias más cuantitativas de todas las existentes, no estén más inmunizados que otros contra este peligroso, pero sin lugar a dudas curable mal. Es de esperar, por lo tanto, que este libro pueda beneficiar a los científicos analíticos que deseen diseñar y realizar sus experimentos correctamente, así como extraer tanta información de los resultados como razonablemente puedan. Pretende también ser interesante al creciente número de estudiantes que se especializan en Química Analítica, y a los que utilizan métodos analíticos de forma rutinaria en el trabajo de laboratorio.

Existen otras dos razones que nos han animado a escribir este libro. Una es el enorme impacto de la microelectrónica, en forma de microcomputadoras y calculadoras de bolsillo, sobre la estadística: estos aparatos han resuelto los problemas que planteaban los procedimientos analíticos difíciles a todos los científicos prácticos. La segunda es el rápido desarrollo de nuevos procedimientos «quimiométricos», incluyendo el reconocimiento de pautas, optimización, técnicas de filtrado numérico, simulaciones y otros, todos ellos factibles por las ventajas que aportan las computadoras.

El último capítulo de este libro intenta dar al lector al menos una introducción del potencial de algunos de estos métodos estadísticos más novedosos. No se ha incluido, sin embargo, ningún programa de computador en el libro —en parte debido a las dificultades de presentar programas que puedan ejecutarse en todos los tipos populares de microcomputadoras, y en parte debido a la existencia de una cantidad sustancial de libros y programas de computador adecuados y disponibles al público.

x

La disponibilidad de este tremendo potencial de cálculo, hace que de forma natural el científico aplique métodos estadísticos de manera racional y correcta. Al limitar la extensión de este libro y recalcar su sesgo práctico, no hemos intentado mostrar con detalle las bases teóricas de los contrastes estadísticos descritos. No obstante, hemos intentado aclarar al analista aquellos contrastes que son apropiados a los tipos de problemas con que probablemente se encuentre en el laboratorio. En el texto hay ejemplos resueltos, y al final de cada capítulo ejercicios para el lector. Muchos de ellos están basados en los datos proporcionados por trabajos de investigación publicados en *The Analyst*. Nuestro profundo agradecimiento a Mr. Phil Weston, editor, por permitirnos hacer uso de su distinguida revista. También agradecemos a nuestros colegas, amigos y familia su paciencia durante la preparación del libro; al editor de la serie, Dr. Bob Chalmers; y a nuestros editores por su eficiente cooperación y consejos.

Prólogo a la primera edición

J. C. Miller

J. N. Miller

abril 1984

Prólogo a la cuarta edición

Desde que se publicó la tercera edición de este libro, en 1993, la utilización de métodos estadísticos elementales y avanzados en la enseñanza, y la práctica de las ciencias analíticas ha continuado creciendo con rapidez. Esta nueva edición intenta adaptarse a estos desarrollos, a la vez que conserva el planteamiento básico de las ediciones anteriores, donde se optó por una aproximación pragmática y, en la medida de lo posible, no matemática a los cálculos estadísticos.

Un cambio relevante en los últimos años ha sido el uso mucho más amplio de los métodos más avanzados del análisis multivariante. Esto se ha reflejado con la incorporación de un capítulo extra en el libro (Capítulo 8) que proporciona una introducción más detallada a dichos métodos, sin entrar en el álgebra matricial que subyace en los mismos. También nos hemos sentido animados a modificar el título del libro para reflejar el uso más amplio de estas técnicas quimiométricas. Actualmente este término se emplea a veces para referirse tanto a los métodos estadísticos elementales como a los multivariantes aplicados a la química. Sin embargo, hemos preferido el punto de vista consistente en aplicarlos a los cálculos más avanzados que requieran la potencia de los computadores personales.

Todos los estudiantes, investigadores y personal de laboratorio tienen ahora acceso a dichos computadores. Como es habitual, la disponibilidad de tal rango de técnicas estadísticas eleva en lugar de disminuir la necesidad de una comprensión completa de estos métodos. Por todo ello, nos hemos animado a incluir en el texto ejemplos de cálculos realizados por dos programas de computador consolidados: Excel y Minitab. El primero resulta accesible probablemente desde la mayoría de los puestos de cálculo, empleándose ampliamente en la recogida y procesamiento de datos procedentes de instrumentos analíticos, mientras el segundo se elige con frecuencia en la educa-

ción así como por los científicos prácticos. En cada programa los cálculos, por lo menos los más simples empleados en este libro, resultan fácilmente accesibles y se presentan de manera simple, encontrándose disponibles muchos textos como introducciones generales al paquete en cuestión. Además, en estos programas se encuentran disponibles prestaciones adicionales como gráficos, diagnóstico de la regresión, etc.; representando oportunidades para una mejor y más elaborada comprensión e interpretación de los datos. Estas prestaciones «extra» se utilizan en algunos ejemplos proporcionados en el Manual del Profesor, que acompañaba la edición de nuestro libro la primera vez. El Manual también contiene ideas para las clases y el trabajo de laboratorio, un conjunto completo de figuras para emplearlas como transparencias (OHP masters), así como soluciones detalladas a los ejercicios comprendidos en este volumen: este texto contiene ahora sólo esbozos de soluciones.

Otra área de evolución rápida en las ciencias analíticas ha sido la relativa a la calidad de los resultados analíticos. Por esta razón, el Capítulo 4, que comprende una serie de tópicos relevantes, se ha escrito sustancialmente de nuevo y ampliado para esta edición. Se ha extendido el tratamiento de los diagramas de control y se ha dado una mayor cobertura a las importantes áreas de los esquemas de ensayo de proficiencia y de los ensayos de colaboración. Otras áreas de la estadística donde hemos intentado proporcionar más detalles son varios aspectos de la regresión y la calibración, los métodos robustos y el tratamiento de las observaciones anómalas, el análisis exploratorio de datos, el análisis de la varianza, el diseño de experimentos y la optimización. El Apéndice 1 se ha refundido para ofrecer mayor asesoramiento sobre la cuestión crítica del contraste estadístico más adecuado para utilizarlo en una situación concreta. La inclusión de más contrastes de significación implica que las tablas estadísticas también se hayan expandido. Algunos pocos tópicos que se trataban en ediciones anteriores, pero que tenían una limitada aplicación práctica, se han omitido para dar espacio a estas nuevas áreas.

Estamos muy agradecidos a muchos lectores, tanto del cuerpo de profesores como del grupo de estudiantes, que de forma continuada nos siguen proporcionando comentarios y sugerencias constructivos; así como nos señalan errores pequeños y omisiones. También agradecemos a la Royal Society of Chemistry el permiso para utilizar datos de artículos publicados en *The Analyst*. Por último, agradecemos a Alex Seabrook y sus colegas editoriales en Pearson Education por su perfecta mezcla de experiencia, paciencia y entusiasmo.

James N. Miller
Jane C. Miller
octubre 1999

Agradecimientos

Los editores agradecen el permiso para reproducir el material siguiente con derechos de autor.

Las Tablas A.2, A.3, A.4, A.7, A.8, A.11, A.12, A.13 y A.14, reproducidas con el permiso de Routledge. La Tabla 4.5 reimpressa con permiso del *Journal of the American Statistical Association*, derechos de autor de 1958 de la American Statistical Association. Reservados todos los derechos. La Tabla A.6 reproducida con permiso de John Wiley & Sons, Limited. La Tabla A.10 adaptada con permiso del Institute of Mathematical Statistics. Datos de artículos publicados en *The Analyst* utilizados con el permiso de la Royal Society of Chemistry. Ejemplos de entradas y salidas de Minitab utilizadas con permiso de Minitab Inc.

Glosario de símbolos

- a
 - ordenada en el origen de la recta de regresión
- b
 - pendiente de la recta de regresión
- c
 - número de columnas en el **ANOVA** de dos factores
- C
 - término de corrección en el **ANOVA** de dos factores
- C
 - utilizado en el contraste de Cochran para la homogeneidad de las varianzas
- F
 - cociente de dos varianzas
- G
 - utilizado en el contraste de Grubbs para datos anómalos
- h
 - número de muestras en el **ANOVA** de un factor
- μ
 - media aritmética de una población
- M
 - número de signos menos en el contraste de rachas de Wald-Wolfowitz
- n
 - tamaño muestral
- N
 - número de signos más en el contraste de rachas de Wald-Wolfowitz
- N
 - número total de medidas en **ANOVA** de dos factores
- v
 - número de grados de libertad
- $P(r)$
 - probabilidad de r
- Q
 - La Q de Dixon, utilizada para contrastar datos anómalos
- r
 - coeficiente de correlación momento-producto
- r
 - número de filas en **ANOVA** de dos factores
- r
 - número de observaciones mas grandes y mas pequeñas descartadas en los cálculos de la media recortada
- R^2
 - coeficiente de determinación
- R'^2
 - coeficiente de determinación ajustado
- r_s
 - coeficiente de correlación ordinal de Spearmann

s	- desviación estándar de una muestra
$s_{y/x}$	- desviación estándar de los residuos de y
s_b	- desviación estándar de la pendiente de la recta de regresión
s_a	- desviación estándar de la ordenada en el origen de la recta de regresión
$s_{(y/x)W}$	- desviación estándar de los residuos de y de la recta de regresión ponderada
S_{xo}	- desviación estándar del valor de x estimado utilizando la recta de regresión
s_B	- desviación estándar de un blanco
s_{XE}	- desviación estándar de un valor de x extrapolado
s_{xOW}	- desviación estándar de un valor de x estimado utilizando la recta de regresión ponderada
σ	- desviación estándar de una población
σ_0^2	- varianza de la medida
σ_1^2	- varianza muestral
t	- cantidad utilizada en el cálculo de los límites de confianza y en contrastes de significación de la media (véase la Sección 2.4)
T	- gran total en el ANOVA
T_1 y T_2	- estadísticos utilizados en el contraste de la suma de rangos de Wilcoxon
w	- rango
w_i	- peso dado a un punto en la recta de regresión
\bar{x}	- media aritmética de una muestra
x_0	- valor de x estimado utilizando la recta de regresión
x_0	- valor anómalo de x
\hat{x}_i	- pseudo-valor en estadística robusta
x_E	- valor de x extrapolado
\tilde{x}_w	- media aritmética de los valores de x ponderados
X^2	- cantidad utilizada para contrastar la bondad del ajuste
\hat{y}	- valores de y pronosticados por la recta de regresión
\bar{y}_w	- media aritmética de los valores de y ponderados
y_B	- señal del blanco
z	- variable normal estándar

Introducción

1.1. Los problemas analíticos

Un químico analítico puede enfrentarse con dos tipos de problemas. A veces se le solicita sólo una respuesta cualitativa. Por ejemplo, la presencia de boro en agua destilada es muy peligrosa en la producción de componentes microelectrónicos: «¿contiene boro esta muestra de agua destilada?». Otras veces, es un problema común en la ciencia forense la comparación de muestras de suelo: «¿pueden proceder estas dos muestras de suelo del mismo lugar?». En otros casos, los problemas que se le plantean son cuantitativos: «¿cuánta albúmina hay en esta muestra de suero sanguíneo?», «¿cuánto plomo hay en esta muestra de agua del grifo?» «Esta muestra de acero contiene pequeñas cantidades de cromo, wolframio y manganeso: ¿cuánto de cada uno?». Estos son ejemplos típicos de análisis cuantitativo uni o multicomponente.

De todos es conocido que la química analítica moderna es una ciencia **cuantitativa**. Obviamente en muchos casos una respuesta cuantitativa es mucho más valiosa que otra cualitativa. Para un analista puede ser útil decir que ha detectado boro en una muestra de agua destilada, pero es mucho más útil para él poder decir *cuánto* boro se encuentra presente en dicha muestra. La persona que solicitó el análisis podría, una vez que tiene esta respuesta cuantitativa, juzgar si la concentración de boro es de interés o no, considerar cómo se puede reducir, etc. Pero si sólo supiese que había boro presente, le sería difícil juzgar el significado del resultado. En otros casos, sólo tiene valor un resultado cuantitativo. Por ejemplo, casi todas las muestras de suero sanguíneo humano contienen albúmina; la única pregunta es, *¿cuánta?*

Es importante considerar que aun cuando se requiera una respuesta cualitativa, a menudo se utilizan métodos cuantitativos para obtenerla. Este aspecto se aclara con la ayuda de los ejemplos expuestos al principio de esta sección. En realidad, un analista nunca diría simplemente «puedo o no puedo detectar boro en esta muestra de agua». Utilizaría un método cuantitativo capaz de detectar boro a niveles de $1 \mu\text{g ml}^{-1}$. Si su ensayo diese un resultado negativo, podría describirse de la forma: «esta muestra contiene menos de

1 $\mu\text{g ml}^{-1}$ de boro». Si el ensayo diese un resultado positivo se podría decir que la muestra contiene al menos 1 $\mu\text{g ml}^{-1}$ de boro (también con otra información; véase mas abajo). Para comparar dos muestras de suelo se podrían utilizar aproximaciones cuantitativas mucho más complejas. Por ejemplo, las muestras podrían estar sujetas a un análisis de tamaños de partícula, cuyas proporciones se clasificarían de acuerdo con el tamaño, en un número (por ejemplo, 10 tamaños) de intervalos de tamaño de partícula, y se determinaría la fracción de muestra en cada intervalo. Entonces cada muestra se caracterizaría por estos diez datos. Se pueden emplear procedimientos muy complejos (véase el Capítulo 8) que proporcionen una valoración cuantitativa de su similitud.

1.2. Errores en el análisis cuantitativo

Una vez que se acepta que los estudios cuantitativos jugarán un papel predominante en cualquier laboratorio analítico, también se debe aceptar que los errores que aparezcan en tales estudios son de gran importancia. Nuestro principio guía será que *no existen resultados cuantitativos de interés si no van acompañados de alguna estimación de los errores inherentes a los mismos*. Este principio naturalmente se aplica no solo a la química analítica sino a cualquier campo de estudio donde se obtengan resultados experimentales numéricos. Se pueden examinar rápidamente una serie de ejemplos sencillos donde no solo se aclara el principio sino que también se plantean los tipos de problemas estadísticos que se encontrarán y resolverán en los próximos capítulos.

Supóngase que un químico sintetiza un reactivo analítico que considera que es completamente nuevo. Lo estudia utilizando un método espectrométrico y el compuesto proporciona un valor de 104 (normalmente, muchos de nuestros resultados se expresarán en unidades cuidadosamente elegidas, pero en este hipotético ejemplo se pueden utilizar unidades arbitrarias). Revisando la bibliografía, el químico encuentra que ningún compuesto descubierto hasta el momento ha proporcionado un valor de más de 100 cuando se ha estudiado por el mismo método bajo las mismas condiciones experimentales. La pregunta surge de manera natural, ¿ha descubierto en realidad nuestro químico un compuesto nuevo? La respuesta a esta pregunta reside, desde luego, en el grado de confianza en que se puede asignar ese valor experimental de 104. ¿Qué errores están asociados con él? Si un estudio posterior indica que el resultado es correcto dentro de 2 unidades (arbitrarias), es decir, el verdadero valor probablemente cae en el intervalo 104 ± 2 , entonces es muy probable que se haya caracterizado un nuevo material. No obstante, si las investigaciones muestran que los errores pueden alcanzar hasta 10 unidades (es decir, 104 ± 10), entonces es muy probable que el verdadero valor sea, en realidad, menor que 100, en cuyo caso está lejos de ser cierto el nuevo descubrimiento. En otras palabras, resulta esencial un conocimiento de los errores experimentales (tanto en este caso como en cualquier otro) para la interpretación adecuada de los resultados. En términos estadísticos este ejemplo conllevaría la comparación de los resultados experimentales con un valor supuesto o de referencia: este tema se estudia con detalle en el Capítulo 3.

Una situación muy habitual es la del analista que realiza varias determinaciones repetidas durante el análisis de un componente. (El valor y signifi-

cación de tales repeticiones se analiza con detalle en el próximo capítulo.) Supóngase que un analista realiza un experimento volumétrico cuatro veces y obtiene valores de 24.69, 24.73, 24.77 y 25.39 ml. El primer aspecto a señalar es que los valores de valoración se presentan redondeados en 0.01 ml; este aspecto también se analiza en el Capítulo 2. Resulta obvio que los cuatro valores son diferentes, debido a los errores inherentes a las medidas, y a que el cuarto valor (25.39 ml) es en esencia diferente de los otros tres. La pregunta que surge aquí es, ¿puede rechazarse este cuarto valor con seguridad, de manera que (por ejemplo) se proponga 24.73 ml como valor medio, precisamente el valor promedio de las otras tres lecturas? En términos estadísticos, ¿es el valor 25.39 ml una «observación anómala»? Los Capítulos 3 y 6 analizan con detalle el tópico importante del rechazo de resultados anómalos.

Otro problema frecuente consiste en la comparación de dos (o más) conjuntos de resultados. Supóngase que un analista mide el contenido de vanadio de una muestra de acero por dos métodos distintos. Con el primer método obtiene un valor medio de 1.04 %, con un error estimado del 0.07%; utilizando el segundo método obtiene un valor medio del 0.95 % y un error del 0.04 %. De la comparación de estos resultados surgen varias preguntas. ¿Son los dos valores medios significativamente diferentes, o son indistinguibles dentro de los límites de error experimental? ¿Es un método significativamente menos propenso a errores que el otro? ¿Cuál de los dos valores medios está en realidad más cerca del valor verdadero? De nuevo, el Capítulo 3 analiza éstas y otras cuestiones relacionadas con este problema.

Para concluir esta sección conviene considerar que muchos análisis se basan en métodos gráficos. En lugar de realizar medidas repetidas sobre la misma muestra, se realizan una serie de medidas sobre un pequeño grupo de patrones que tienen concentraciones conocidas cubriendo un intervalo considerable. Por este camino se establece una curva de calibrado que puede utilizarse para estimar la concentración de muestras de ensayo estudiadas usando el mismo procedimiento. En la práctica, por supuesto, todas las medidas (de patrones y muestras de ensayo) estarán sujetas a errores. Es necesario, por ejemplo, calcular los errores involucrados en el trazado de la curva de calibrado; estimar el error en la concentración de una muestra determinada utilizando la curva y estimar el límite de detección del método, es decir, la cantidad de analito más pequeña que se pueda detectar con un grado de confianza concreto. Estos procedimientos, que son especialmente frecuentes en análisis instrumental, se describen en el Capítulo 5.

Estos ejemplos representan sólo una parte de los problemas posibles que surgen de la existencia de errores experimentales en el análisis cuantitativo. Sin embargo, como se ha visto, los problemas deben ser resueltos si los datos cuantitativos tienen algún significado real. Es pues obvio que se deban estudiar los diferentes tipos de error con más detalle.

1.3. Tipos de error

Los científicos experimentales hacen una distinción fundamental entre tres tipos de error. Éstos son conocidos como errores **groseros o accidentales**,

aleatorios y sistemáticos. Los errores groseros se reconocen rápidamente: se pueden definir como errores que son tan importantes que no existe otra alternativa real que abandonar el experimento y empezar de nuevo por completo. Ejemplos de los mismos podrían incluir la avería total de un instrumento, la caída o vertido accidental de una muestra crucial, o descubrir durante el desarrollo de un experimento que un reactivo que se suponía puro, en realidad estaba contaminado. Tales errores (que ocurren ocasionalmente incluso en los laboratorios mejor dotados!) normalmente se reconocen con mucha facilidad. Por todo ello, a continuación se va a diferenciar cuidadosamente entre los errores **aleatorios** y los **sistemáticos**.

Esta diferenciación se puede lograr mediante un cuidadoso estudio de una situación experimental real. Cuatro estudiantes (A-D) realizan cada uno un mismo análisis en el que *exactamente* 10.00 ml de hidróxido sódico *exactamente* 0.1 M es valorado con ácido clorhídrico *exactamente* 0.1 M. Cada estudiante repite la valoración cinco veces y obtiene los resultados mostrados en la Tabla 1.1.

Tabla 1.1. Errores aleatorios y sistemáticos.

Estudiante	Resultados (ml)					Comentario
A	10.08	10.11	10.09	10.10	10.12	Preciso, sesgado
B	9.88	10.14	10.02	9.80	10.21	Impreciso, insesgado
C	10.19	9.79	9.69	10.05	9.78	Impreciso, sesgado
D	10.04	9.98	10.02	9.97	10.04	Preciso, insesgado

Los resultados obtenidos por el estudiante A presentan dos características. Primera, todos ellos están muy próximos uno de otro; todos los resultados caen entre 10.08 y 10.12 ml. En términos cotidianos se diría que los resultados son altamente *reproducibles*. La segunda característica distintiva de los resultados es que son *todos demasiado grandes*: en este experimento (algo inusual) se conoce la respuesta correcta de antemano, 10.00 ml. Resulta evidente que hayan surgido dos tipos de error completamente diferentes en el experimento de los estudiantes. Primero, existen **errores aleatorios**: éstos provocan que los resultados individuales difieran uno de otro de manera que caigan a ambos lados del valor medio (10.10 ml en este caso). Los errores aleatorios afectan a la **precisión**, o **reproductibilidad**, de un experimento. En el caso del estudiante A queda claro que los errores aleatorios son pequeños, de manera que se dice que los resultados son **precisos**. Sin embargo, también existen **errores sistemáticos**: éstos provocan que todos los resultados sean erróneos en el *mismo sentido* (en este caso todos son demasiado grandes). El error sistemático total (nótese que en un experimento dado pueden existir varias fuentes de error sistemático, algunos positivos y otros negativos, véase el Capítulo 2) es denominado el **sesgo** de la medida. En muchos experimentos los errores aleatorios y los sistemáticos no se detectan fácilmente con solo observar los resultados, sino que también tienen orígenes muy distintos en cuanto a la técnica experimental y al equipo utilizado. Antes de examinar las causas de los errores en este experimento, sin embargo, se pueden analizar brevemente los resultados obtenidos por los estudiant-

tes B-D. El estudiante B ha obtenido resultados que contrastan con los del estudiante A. La media de los cinco resultados (10.01 ml) está muy próxima al valor verdadero, de manera que no hay evidencia de sesgo. Sin embargo, la variabilidad de los resultados es muy grande, lo que indica una precisión insatisfactoria, es decir, errores aleatorios sustanciales. La comparación de estos resultados con los obtenidos por el estudiante A muestra claramente que los errores aleatorios y sistemáticos pueden ocurrir independientemente unos de otros. Esta conclusión se refuerza por los datos de los estudiantes C y D. El trabajo del estudiante C tiene una precisión pobre (intervalo 9.69-10.19 ml) y el resultado promedio (9.90 ml) es sesgado. El estudiante D ha logrado resultados precisos (intervalo 9.97-10.04 ml) e insesgados (promedio 10.01 ml). La distinción entre errores aleatorios y sistemáticos se resume en la Figura 1.1. utilizando una serie de diagramas de puntos. Este método gráfico simple de exposición de datos, en el que los resultados individuales se representan como puntos sobre una escala lineal, se utiliza frecuentemente en el análisis inicial de los datos (véanse los Capítulos 3 y 6).

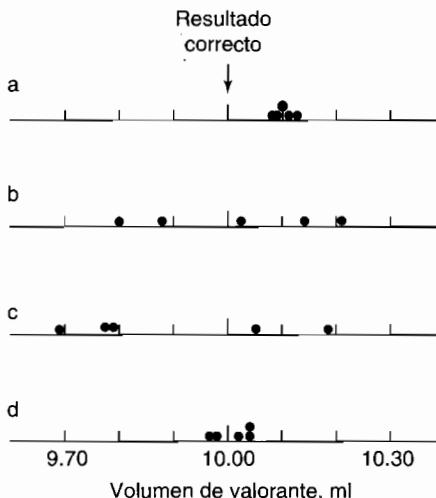


Figura 1.1. Sesgo y precisión. Diagrama de puntos de los datos de la Tabla 1.1.

En muchos experimentos analíticos la pregunta más importante es ¿hasta qué punto se aproxima el resultado al verdadero valor de la concentración o cantidad que se pretende medir? Esto se expresa como la **exactitud** del experimento. La Organización Internacional de Estándares (ISO) define la exactitud como «el grado de concordancia entre el resultado de un ensayo y el valor de referencia aceptado» del analito. Bajo esta definición, la exactitud de un resultado individual puede estar afectada por *los dos* errores, aleatorios y sistemáticos. La exactitud de un resultado promedio también tiene contribuciones de ambas fuentes de error: incluso si los errores sistemáticos están ausentes, el resultado promedio probablemente no será exactamente igual al valor de referencia, debido a la existencia de errores aleatorios (véanse los Capítulos 2 y 3). Los resultados obtenidos por el estudiante B ilustran estos principios. Cuatro de las cinco medidas de este estudiante muestran inexac-

titud significativa, es decir, están suficientemente distantes del verdadero valor de 10.00. Sin embargo, el promedio de los resultados de B (10.01) es muy exacto, de manera que parece que la inexactitud de los resultados individuales se debe en gran medida a errores aleatorios y no a errores sistemáticos. En contraposición, todos los resultados individuales del estudiante A, y el promedio resultante, son inexactos: dada la buena precisión del trabajo de este estudiante, parece cierto que estas inexactitudes se deban a errores sistemáticos. Debe hacerse constar que, pese al planteamiento de muchos diccionarios, exactitud y precisión tienen significados completamente distintos en el estudio de errores experimentales.

En resumen, la precisión describe errores aleatorios, el sesgo describe errores sistemáticos, y la exactitud, es decir, la proximidad al verdadero valor de una medida individual o un valor promedio, incorpora ambos tipos de error.

Aunque se utilizó anteriormente la palabra «reproducibilidad» como una definición aproximada de la precisión, el convenio moderno establece una cuidadosa distinción entre **reproducibilidad** y **repetibilidad**. Se puede aclarar esta distinción mediante una ampliación del experimento anterior. Por el camino normal el estudiante A, por ejemplo, realizaría las cinco medidas repetidas en una sucesión rápida; pero es muy probable que no tardara más de una hora aproximadamente en realizar el ejercicio completo. Utilizaría la misma serie de soluciones y el mismo material de vidrio a lo largo del experimento, añadiría la misma preparación de indicador a cada matraz de valoración, y permanecerían iguales la temperatura, humedad y demás condiciones de laboratorio. En tales circunstancias la precisión medida sería la precisión *dentro de rachas*: esto se denomina **repetibilidad**. Sin embargo, supóngase, que por alguna razón las valoraciones fueron realizadas por diferentes personas del laboratorio en cinco ocasiones distintas y en diferentes laboratorios, utilizando recipientes de vidrio y preparaciones de indicador diferentes. En este caso, no sería sorprendente encontrar una gran variabilidad en los resultados. Este conjunto de datos reflejaría la precisión *entre rachas* del método, por ejemplo su **reproducibilidad**.

Se debe aprender otra lección del experimento de valoración. Es fácil apreciar que los datos obtenidos por el estudiante C son inaceptables, y que los del estudiante D son los más aceptables. Sin embargo, en ocasiones puede ocurrir que haya dos métodos disponibles para un análisis concreto, de los cuales uno de ellos sea preciso pero sesgado, y el otro impreciso pero sin sesgo. En otras palabras, puede suceder que se tenga que elegir entre los tipos de resultados obtenidos por los estudiantes A y B respectivamente. ¿Qué tipo de resultado es preferible? Es imposible dar una respuesta dogmática a esta pregunta, ya que en la elección del método analítico nos basaremos, en la práctica, en el coste, facilidad de automatización, velocidad del análisis, y otros factores que caen fuera de nuestra evaluación elemental. No obstante, es importante darse cuenta que un método que se encuentre sustancialmente libre de errores sistemáticos puede aún, si es muy impreciso, dar un valor

medio que esté (por azar) considerablemente alejado del valor correcto. Por otra parte un método que es preciso pero sesgado (por ejemplo, el estudiante A) puede convertirse en otro que sea preciso e insesgado (por ejemplo, el estudiante D) si se descubren y eliminan los errores sistemáticos. También existirán casos en los que, debido a que las medidas que se obtienen son absolutamente nuevas, no sea factible controlar alguno de los errores sistemáticos. Los errores aleatorios nunca se pueden eliminar, aunque mediante una técnica cuidadosa se pueden minimizar, y realizando medidas repetidas se puede medir y evaluar su significación. Los errores sistemáticos pueden eliminarse en muchos casos mediante controles adecuados de nuestra técnica experimental y de nuestro equipo. En la próxima sección se contempla esta importante distinción entre los dos principales tipos de error.

Cuando se suministra una muestra a un laboratorio y se requiere determinar la concentración de uno de sus constituyentes, se estimará sin duda, o quizás se sabe por experiencia, la extensión con que se presentan los principales errores sistemáticos y aleatorios. El cliente que suministra la muestra puede querer esta información resumida en una afirmación sencilla, aportando *el intervalo dentro del cual es razonablemente verosímil que se encuentre la verdadera concentración*. Este intervalo, el cual se debería dar con una probabilidad (por ejemplo, «hay una probabilidad del 95 % que la concentración se encuentre entre ... y ...»), se denomina la **incertidumbre** de la medida. Este concepto, cuyos orígenes se encuentran en la metrología física, está actualmente ganando en importancia y popularidad en la química analítica, y se analiza con más detalle en el Capítulo 4.

1.4. Errores aleatorios y sistemáticos en el análisis volumétrico

El ejemplo de los experimentos volumétricos de los estudiantes muestra con claridad que los errores aleatorios y sistemáticos pueden ocurrir independientemente unos de otros y surgir en diferentes etapas del experimento. Ya que la volumetría es un procedimiento relativamente simple y todavía ampliamente utilizado, es importante examinarlo con detalle en este contexto. Se puede considerar que un análisis volumétrico es completo cuando incluye los siguientes pasos.

1. Preparación de una solución patrón de uno de los reactivos. Esto supone (a) pesar un pesasustancias o recipiente similar que contenga cierta cantidad de material sólido, (b) transferir el material sólido a un matraz aforado y pesar de nuevo el pesasustancias para obtener por diferencia el peso del sólido transferido (pesada *por diferencia*, y (c) llenar el matraz con agua destilada hasta el enrase (suponiendo que se contempla una valoración en medio acuoso).
2. Transferir una alícuota del material estándar a un matraz de valoración con ayuda de una pipeta. Esto supone (a) llenar la pipeta hasta el enrase adecuado, y (b) vaciar el contenido de manera específica en el matraz de valoración.

3. Valoración del líquido contenido en el matraz con una solución del otro reactivo añadido desde una bureta. Esto implica (a) llenar la bureta y permitir que el líquido contenido en ella se vacíe hasta que el menisco alcance un nivel constante, (b) añadir unas pocas gotas de solución de indicador al matraz de valoración, (c) leer el volumen inicial de la bureta, (d) añadir poco a poco el líquido de la bureta al matraz de valoración hasta que se juzgue que se ha alcanzado el punto final, y (e) medir el nivel final del líquido contenido en la bureta.

Aunque un análisis elemental de este tipo implica diez pasos diferentes, generalmente los siete últimos se repiten, como se ha visto, varias veces. En principio, se podría examinar cada paso para evaluar los errores aleatorios y sistemáticos que pudieran ocurrir. En la práctica, es más sencillo examinar separadamente las etapas que utilizan pesadas [pasos 1(a) y (b)], y las etapas restantes que conllevan el uso de equipo volumétrico. (No se pretende dar descripciones detalladas de las técnicas experimentales utilizadas en las diferentes etapas. De igual manera, no se exponen métodos para calibrar pesas, material de vidrio, etc.) Entre las contribuciones para detectar los errores, son de importancia las tolerancias de las pesas utilizadas en los pasos gravimétricos, y del material de vidrio volumétrico. Algunas instituciones tales como la British Standards Institution (BSI) y la American Society for Testing and Materials (ASTM) han publicado especificaciones estándar para estas tolerancias. La tolerancia de una pesa de 100 g de alta calidad puede ser tan pequeña como ± 0.25 mg, aunque para una pesa empleada en tareas rutinarias la tolerancia podría ser de hasta cuatro veces más grande. De igual manera, para un matraz aforado de grado A de 250 ml es ± 0.12 ml; el material volumétrico de grado B presenta generalmente tolerancias dos veces más grandes que el material de vidrio de grado A. Si una pesa o una pieza de vidrio está dentro de los límites de tolerancia, pero no posee exactamente el peso o volumen correcto, surgirá un error sistemático. Así pues, si el matraz aforado tiene en realidad un volumen de 249.95 ml, este error se reflejará en el resultado de todos los experimentos basados en el uso de dicho matraz. La repetición del experimento no revelará el error; en cada repetición se supondrá que el volumen es 250.00 ml cuando de hecho es menor que éste. No obstante, si se comparan los resultados de un experimento en el que se ha utilizado éste con los de otros experimentos (por ejemplo, en otros laboratorios) realizados con otros matraces, entonces el hecho de que todos los matraces tengan volúmenes ligeramente diferentes contribuirá a la variación aleatoria, por ejemplo, a la reproducibilidad de los resultados.

Los procedimientos de pesada se encuentran normalmente asociados con errores *aleatorios* muy pequeños. Es muy común que en tareas de laboratorio rutinarias se utilicen balanzas de «cuatro cifras», y el error aleatorio que se comete no debería ser mayor que ± 0.0001 - 0.0002 g (en el próximo capítulo se describe con detalle los términos estadísticos empleados para expresar errores aleatorios). Debido a que la cantidad que se pesa es normalmente del orden de 1 g o más, resulta evidente que el error aleatorio, expresado en tanto por ciento de la pesada efectuada, no es mayor del 0.02 %. Un buen material estándar para el análisis volumétrico debería tener (entre otras características) un peso molecular tan alto como sea posible, de manera que se minimi-

cen estos errores aleatorios de pesada cuando se prepare una solución de una molaridad dada. En algunos análisis se utilizan «microbalanzas» para pesar cantidades de unos pocos miligramos, sin embargo, los errores de pesada cometidos son sólo unos pocos microgramos.

Los errores *sistemáticos* en las pesadas pueden ser apreciables y proceder de una serie de fuentes establecidas. Entre ellas se incluyen la adsorción de humedad en la superficie del recipiente de pesada; los errores provocados al no permitir que los recipientes calentados se enfrien, antes de pesar, a la misma temperatura de la balanza (este error es especialmente frecuente en gravimetría cuando se pesan crisoles); pesas oxidadas o contaminadas por el polvo; y el efecto boyante de la atmósfera, que actúa de diferente forma sobre objetos de diferente densidad. Con el fin de lograr un trabajo más exacto, las pesas se deben calibrar en relación a estándares suministrados por cuerpos estatutarios y autoridades de normativas (véanse los párrafos anteriores). Esta calibración puede ser muy exacta, por ejemplo, de ± 0.01 mg para pesadas en el intervalo de 1 a 10 g. El efecto atmosférico puede ser importante. Por ejemplo, una muestra de un líquido orgánico de densidad 0.92 g ml⁻¹ que pesa 1.2100 g al aire, pesaría 1.2114 g *al vacío*, implicando una diferencia superior al 0.1 %. Aparte de usar procedimientos de calibración, que se discutirán en la próxima sección, pueden tomarse algunas precauciones experimentales sencillas para minimizar estos errores sistemáticos. La pesada por diferencia (véanse los párrafos anteriores) elimina los errores sistemáticos que proceden, por ejemplo, de la humedad u otros contaminantes en la superficie del recipiente. (Véase también la Sección 2.12.) Si se toman estas precauciones, los errores producidos en las etapas de la pesada serán mínimos, y es probable que en muchos experimentos volumétricos los errores de pesada sean despreciables comparados con los que surjan por el uso del equipo volumétrico. De hecho, los métodos gravimétricos se usan generalmente para calibrar el material de vidrio volumétrico, pesando (en condiciones estándar) el agua que contenga dicho material.

Los errores *aleatorios* asociados a los procedimientos volumétricos provienen del uso de material de vidrio. Al llenar un matraz aforado de 250 ml hasta el enrascado, el error (es decir, la distancia entre el menisco y el enrascado) puede ser aproximadamente ± 0.03 cm en el cuello del matraz de diámetro de ca. 1.5 cm. Éste corresponde a un error en volumen de 0.05 ml, sólo un 0.02 % del volumen total del matraz. De igual manera, al llenar una pipeta de transferencia de 25 ml, el error aleatorio no debería exceder de 0.03 cm en una caña de 0.5 cm de diámetro; esto proporciona un error en volumen de aproximadamente 0.006 ml, 0.024 % del volumen total. El error en la lectura de una bureta (graduada en divisiones de 0.1 ml) es quizás de 0.01 a 0.02 ml. Cada valoración implica dos lecturas (los errores *no* son simplemente aditivos; véase el Capítulo 2); si el volumen de valoración es aproximadamente 25 ml, el porcentaje de error vuelve a ser muy pequeño. Las condiciones experimentales deberían planificarse de manera que el volumen de valorante utilizado no sea demasiado pequeño (no menos de 10 ml), ya que de otra manera los errores serían considerables. (Esta precaución es análoga a la utilización de un compuesto estándar de alto peso molecular para minimizar el error de pesada.) Aun cuando un análisis volumétrico suponga varios pasos,

y en cada uno de ellos se use una pieza de material de vidrio, resulta evidente que los errores aleatorios deberían ser pequeños si los experimentos se realizan con cuidado. En la práctica, un buen análisis volumétrico debería tener una desviación estándar relativa (véase el Capítulo 2) de no más del 0.1 %. Hasta hace poco, tal precisión se alcanzaba en contadas ocasiones en métodos de análisis instrumental, y aún no es habitual. Los métodos clásicos pueden proporcionar resultados con desviaciones estándar relativas, tan bajos como del 0.01 %, cuando se realizan por expertos y se toman todas las precauciones posibles.

Los procedimientos volumétricos incorporan varias fuentes importantes de error sistemático. Entre los principales se encuentran los errores de vaciado en el uso de material de vidrio volumétrico, los errores de calibración en el material de vidrio, y los «errores de indicador». Quizá el error más frecuente en el análisis volumétrico rutinario sea no dejar pasar el tiempo suficiente para que una pipeta se vacie adecuadamente, o se estabilice el nivel del menisco en la bureta. Además, las pipetas son de dos tipos, las que se vacían por evacuación y las de soplado en las que el último líquido remanente debe ser expulsado a la fuerza. Si se confunden los dos tipos, por ejemplo, soplando en una pipeta de vaciado, ¡se incurriría ciertamente en un craso error! Los errores por vaciado tienen un efecto sistemático y otro aleatorio: el volumen liberado es invariablemente menor que el que debería ser. La temperatura a la que se realiza un experimento tiene dos efectos. El equipo volumétrico se calibra convencionalmente a 20 °C, pero la temperatura en un laboratorio analítico puede diferir con facilidad de ésta en varios grados, y muchos experimentos, por ejemplo los análisis bioquímicos, se llevan a cabo en «habitaciones frías» a ca. de 4 °C. En segundo lugar, la temperatura afecta tanto al volumen del material de vidrio como a la densidad de los líquidos. El coeficiente de dilatación para soluciones acuosas diluidas es aproximadamente del 0.025 % por grado, mientras que para recipientes de vidrio sódico variará aproximadamente casi un 0.003 % por grado en volumen y para recipientes de vidrio borosilicatado la variación será del 0.001 % por grado. Resulta evidente que los cambios en los volúmenes del material de vidrio serán sólo importantes en trabajos de muy alta calidad, e incluso sólo si la temperatura es muy diferente de 20 °C. Además, los efectos de la dilatación de las disoluciones se autocompensarán en gran parte si todas las soluciones se mantienen a la misma temperatura. El efecto es mucho más acusado en soluciones no acuosas.

Los errores de indicador pueden ser muy importantes: quizás más grandes que los errores aleatorios en un análisis volumétrico típico. Por ejemplo, en la valoración de ácido clorhídrico 0.1 M con hidróxido sódico 0.1 M, se espera que el punto final corresponda con un pH de 7. Sin embargo, en la práctica, se estima utilizando un indicador como el naranja de metilo. En experimentos diferentes se muestra que esta sustancia cambia de color sobre un intervalo de pH ca. 3-4. Por lo tanto, si la valoración se realiza añadiendo la base al ácido, el indicador conducirá a un punto final aparente cuando el pH sea ca. 3.5, es decir, justo antes del verdadero punto final. Es probable que el error sistemático que se ocasiona aquí sea del 0.2 %. Si la valoración se realiza a la inversa, es decir, añadiendo ácido a la base, el punto final in-

dicado por el naranja de metilo estará en realidad un poco más alejado del punto final verdadero. En cualquier caso, se puede evaluar y corregir el error realizando un experimento en **blanco**, es decir, determinando la cantidad de base o ácido necesaria para producir el cambio de color del indicador ante la *ausencia* del ácido (base).

En cualquier procedimiento analítico, clásico o instrumental, deberá ser posible considerar y estimar las fuentes de error sistemático y aleatorio que surjan en cada una de las etapas del experimento. Es muy recomendable que el analista haga esto con un cuidadoso diseño experimental, ya que le permitirá evitar fuentes de error mayores (véanse las Secciones 1.5 y 1.6). Sin embargo, merece la pena señalar que en los análisis volumétricos los errores son bastante inusuales en el sentido de que no implican ninguna etapa individual que tenga un error mayor que los errores de otras etapas. En muchos otros análisis, el error global está controlado en la práctica por el error generado en un único paso. Este aspecto se analiza en el próximo capítulo.

1.5. El manejo de errores sistemáticos

Gran parte del contenido de este libro tratará de la evaluación de errores aleatorios, los cuales pueden estudiarse mediante un amplio conjunto de métodos estadísticos. En muchos casos se supondrá, por conveniencia, que están ausentes los errores sistemáticos (aunque se describirán los métodos que prueban su existencia). Es necesario analizar en este momento los errores sistemáticos con más detalle: cómo surgen y cómo pueden abordarse. En el ejemplo del análisis volumétrico expuesto en la Sección 1.3 se muestra con claridad que los errores sistemáticos hacen que el valor medio de un conjunto de medidas repetidas se desvíe del verdadero valor. Se deduce que (a) en contraposición con los errores aleatorios, los sistemáticos no se pueden apreciar con la mera repetición de mediciones, y (b) a menos que se conozca de antemano el resultado verdadero de un análisis (*situación muy improbable!*), podrían existir errores sistemáticos muy grandes, que pasen inadvertidos si no se toman las debidas precauciones. En otras palabras, es demasiado fácil pasar por alto las principales fuentes de error sistemático. Un pequeño conjunto de ejemplos clarificarán tanto los posibles problemas como sus soluciones.

En los últimos años, se ha mostrado mucho interés en las concentraciones de metales de transición en muestras biológicas tales como el suero sanguíneo. Por ejemplo, se han realizado muchas determinaciones de los niveles de cromo en suero con resultados sorprendentes. Diferentes químicos, han obtenido concentraciones de cromo que varían desde < 1 a ca. de 200 ng ml^{-1} , al estudiar todos ellos muestras de suero procedentes de individuos sanos. En general, se han obtenido recientemente los resultados más bajos, poniéndose de manifiesto que los resultados iniciales más altos, al menos en parte, eran debidos a la contaminación de las muestras por el cromo procedente de las jeringas de acero inoxidable, tapones de tubos, etc. La determinación de trazas de cromo, por ejemplo, por espectrometría de absorción atómica es, en principio, relativamente directa, y no cabe duda que los

resultados alcanzados por cada grupo de químicos son satisfactorios en términos de precisión, si bien se pasó por alto en varios casos el gran error sistemático introducido por la contaminación. Los errores metodológicos sistemáticos de este tipo son extremadamente comunes: el lavado incompleto de un precipitado en un análisis gravimétrico, y el error producido por el indicador en un análisis volumétrico (véase la Sección 1.4) son otros ejemplos bien conocidos.

Otra clase de error sistemático que se presenta con frecuencia surge cuando se realizan supuestos falsos sobre la exactitud de un instrumento analítico. Los analistas con amplia experiencia saben demasiado bien que los monocromadores en los espectrómetros se desajustan paulatinamente, de manera que no son infrecuentes errores de varios nanómetros en las longitudes de onda seleccionadas, a pesar de que se realicen muchos análisis fotométricos sin efectuar los controles adecuados. Los instrumentos sencillos tales como el material de vidrio volumétrico, cronómetros, pH-metros y termómetros, pueden presentar todos ellos errores sistemáticos sustanciales, si bien una gran mayoría del personal de laboratorio utiliza con regularidad estos instrumentos como si no tuvieran nunca sesgo. Además, la disponibilidad creciente de instrumentos controlados por microprocesadores o microcomputadoras ha reducido al mínimo el número de operaciones y el nivel de pericia requerido a los operadores. En estas circunstancias es irresistible la tentación de considerar que los resultados de los instrumentos son perfectos, aun cuando tales instrumentos están sujetos a errores sistemáticos (a menos que posean suficiente «inteligencia» para poder autocalibrarse; véase la Sección 1.7).

Los errores sistemáticos no solo surgen de procedimientos y de aparatos; pueden también proceder del sesgo humano. Algunos químicos padecen de algún grado de astigmatismo o daltonismo (esto último es más frecuente entre los hombres que entre las mujeres), que podrían provocar errores en las lecturas de instrumentos y otras observaciones. Varios autores han registrado diferentes tipos de sesgos en el número, por ejemplo, una tendencia que favorezca los números pares sobre los impares, o incluso los dígitos 0 y 5 sobre otros dígitos, en la presentación de resultados. Por tanto, queda claro que las diversas clases de errores sistemáticos son un riesgo constante, y a menudo oculto, para el analista, de manera que para minimizarlos deben considerarse las sucesivas etapas con sumo cuidado.

Existen diferentes aproximaciones a este problema, y en cada uno de los procedimientos analíticos se debe considerar cualquiera de ellas o todas ellas. Las primeras precauciones deberían tomarse antes de empezar cualquier trabajo experimental. El analista debería considerar con cuidado cada etapa del experimento que esté a punto de realizar, el aparato que se utilice, el muestreo y el procedimiento analítico que se vaya a adoptar. En esta primera etapa, debería intentar identificar las fuentes probables de error sistemático, tales como las funciones del instrumento que necesitan calibración, las etapas del procedimiento analítico donde los errores tienen mayor probabilidad de ocurrir. También debe considerar los ensayos que deban efectuarse para verificar los errores sistemáticos. Las previsiones de este tipo pueden ser de gran valor (en la próxima sección se verá que debe prestarse igual atención a las fuentes de error aleatorio) y, normalmente, merece la pena el tiempo

invertido. Por ejemplo, una buena reflexión de este tipo podría haber revelado la posibilidad de que existiera contaminación en el experimento de determinación de cromo descrito anteriormente.

La segunda línea de actuación contra los errores sistemáticos radica en el diseño del experimento en cada etapa. Ya se ha visto (Sección 1.4) que la pesada por diferencia puede eliminar algunos errores sistemáticos gravimétricos: puede suponerse que estos errores existen con la misma extensión en ambas pesadas, de manera que el proceso de sustracción los elimina. Otro ejemplo de planificación experimental previsora lo proporciona el error de la longitud de onda del espectrómetro descrito anteriormente. Existen dos procedimientos para determinar la concentración de una muestra por espectrometría de absorción. En el primero, la muestra se estudia en una célula del espectrómetro de 1 cm de camino óptico a una longitud de onda de 400 nm, y la concentración del componente ensayado se determina a partir de la ecuación conocida $A = \varepsilon bc$ [donde A , ε , c y b son, respectivamente, la absorbancia medida, el valor de referencia aceptado de la absorvidad molar (unidades $l\ mol^{-1}\ cm^{-1}$) del componente ensayado, la concentración molar de este analito, y el paso óptico de la célula del espectrómetro (cm)]. Aquí pueden surgir varios errores sistemáticos: la longitud de onda podría ser, como ya se ha comentado, por ejemplo, de 405 nm en vez de 400 nm, con lo cual el valor de referencia de ε es inadecuado; este valor de ε podría ser incorrecto en cualquier caso; la escala de absorbancia del espectrómetro podría exhibir un error sistemático y el paso óptico de la célula podría no ser exactamente 1 cm. Alternativamente, el analista podría emplear una serie de soluciones de la sustancia ensayada de concentración conocida, y medir la absorbancia de cada una a 400 nm. (Una de estas soluciones de calibrado sería un blanco, es decir, contendría todos los reactivos analíticos excepto el de la sustancia que se ensaya.) Entonces, se podrían utilizar los resultados para construir un gráfico de calibrado para utilizarlo en el análisis de la muestra ensayada en las mismas condiciones experimentales. Esta importante aproximación al análisis instrumental se describe con detalle en el Capítulo 5. Cuando se utiliza este segundo método, no se requiere el valor de ε , y se anulan los errores debidos a los desplazamientos de las longitudes de onda, errores de absorbancia e inexactitud del camino óptico, ya que ocurren igualmente en la calibración y en los experimentos de ensayo. Todas las fuentes principales de error sistemático son, sólo en principio, eliminadas con tal de que las condiciones para la muestra y la calibración sean de hecho equivalentes (por ejemplo, se supone que la longitud de onda y las escalas de absorbancia no se alteran durante el experimento).

La última y más efectiva protección contra los errores sistemáticos quizás sea el uso de materiales de referencia y métodos estándar. Antes de comenzar el experimento, se calibra cada componente del aparato mediante un procedimiento adecuado. Ya se ha visto como puede calibrarse el equipo volúmetrico mediante el uso de métodos gravimétricos. De forma análoga, se puede calibrar la escala de las longitudes de onda del espectrómetro con la ayuda de fuentes de luz estándar, las cuales tienen líneas de emisión estrechas a longitudes de onda bien establecidas, y las escalas de absorbancia de los espectrómetros se pueden calibrar con filtros estándar sólidos o líquidos. De manera análoga, muchos componentes de equipos se pueden calibrar de

manera que sus errores sistemáticos se conozcan de antemano. La importancia de este área de la química (y otras ciencias experimentales) se refleja en el amplio trabajo de organismos como el National Physical Laboratory and LGC (Laboratory of the Government Chemist), en el Reino Unido, el National Institute for Science and Technology (NIST), en EEUU, y organizaciones similares en otras partes del mundo. Se han escrito volúmenes completos sobre la estandarización de tipos concretos de equipos, y una serie de organizaciones comerciales se especializan en la venta de materiales de referencia estándar.

Si los errores sistemáticos se producen en el transcurso de procesos químicos o como resultado del uso de reactivos impuros, en lugar de producirse en el equipo, puede usarse una forma de comparación alternativa, es decir, la determinación debe repetirse mediante un procedimiento completamente independiente. Si se utilizan dos (o más) métodos físicos o químicos no relacionados al efectuar un análisis, y si conducen consistentemente a resultados que muestran sólo diferencias aleatorias, entonces es razonable suponer que no estén presentes errores sistemáticos significativos. Para que esta aproximación sea válida, *cada etapa* de los dos experimentos tiene que ser independiente. Como en el caso de la determinación de cromo en suero, no será suficiente sustituir la etapa de la espectrometría de absorción atómica por un método colorimétrico o por espectrometría de plasma. Los errores sistemáticos sólo se revelarían alterando además los métodos de muestreo, por ejemplo, minimizando o eliminando el uso de jeringas de acero inoxidable. Otro aspecto importante es que las comparaciones deben hacerse teniendo en cuenta el intervalo total de concentraciones para el que se usa un procedimiento analítico. Por ejemplo, el método de unión del colorante verde de bromocresol a proteínas utilizado frecuentemente para la determinación de albúmina en suero, se correlaciona bien con métodos alternativos (por ejemplo, inmunológicos) a niveles normales o altos de albúmina, pero cuando los niveles de albúmina son anormalmente bajos (¡estos son inevitablemente los casos de mayor interés clínico!) la concordancia entre los dos métodos es escasa, y el método del colorante, proporciona en forma consistente (y errónea) concentraciones de albúmina más altas. Las aproximaciones estadísticas utilizadas en las comparaciones de métodos se describen con detalle en los Capítulos 3 y 5.

El predominio de los errores sistemáticos en el trabajo analítico cotidiano se puede aclarar por los resultados de los **ensayos de colaboración**. Si un analista experimentado y capaz encuentra 10 ng ml^{-1} de un fármaco en una muestra de orina, es natural pensar que otros analistas obtendrían resultados similares para la misma muestra, y las diferencias sólo se deberían a errores aleatorios. Desafortunadamente, en la práctica esto se encuentra lejos de la verdad. En muchos ensayos de colaboración en los que intervienen diferentes laboratorios, cuando se examinan partes alícuotas de una muestra mediante los mismos procedimientos experimentales y los mismos tipos de instrumentos, muestran variaciones en los resultados mucho mayores que las esperadas de los errores aleatorios. La conclusión ineludible es que en muchos laboratorios no se detectan o corrigen una serie de errores sistemáticos, tanto positivos como negativos. La importancia obvia de esta situación, con

serias implicaciones para todos los científicos analíticos, ha alentado muchos estudios sobre la metodología de los ensayos de colaboración y **esquemas de suficiencia**, y de la evaluación estadística de sus resultados. Estos esquemas han conducido recientemente a importantes mejoras en la calidad de los resultados analíticos en muchos campos. Estos temas se analizan con mayor detalle en el Capítulo 4.

1.6. Planificación y diseño de experimentos

Muchos químicos consideran los contrastes estadísticos como métodos que sólo se utilizan para evaluar los resultados de un experimento concluido. Aunque ésta es de hecho un área de aplicación esencial de la estadística, es también necesario ser consciente de la importancia de los conceptos estadísticos en la planificación y diseño de experimentos. En la sección anterior se recalca el valor de intentar predecir errores sistemáticos, lo cual permite al analista hacer planes para después valorarlos. Las mismas consideraciones se aplican a los errores aleatorios. Como se verá en el Capítulo 2, la combinación de errores aleatorios de partes individuales de un experimento para dar un error global requiere el uso de fórmulas estadísticas sencillas. En la práctica, el error global está dominado a menudo por el error en una etapa del experimento, en tanto que otros errores muestran efectos despreciables cuando todos los errores se combinan correctamente. De nuevo, es obvio que se espere identificar, *antes de que empiece el experimento*, en donde puede surgir el error dominante, y entonces intentar minimizarlo. Aunque los errores aleatorios nunca pueden eliminarse, en realidad pueden minimizarse prestando atención preferente a las técnicas experimentales: un ejemplo sencillo sería la mejora de la precisión de un experimento espectrométrico usando una célula de muestra a temperatura constante. Por tanto, para los errores aleatorios y sistemáticos, la moraleja es clara: antes de comenzar el experimento, hay que esforzarse en identificar las fuentes graves de error, de manera que el experimento pueda ser diseñado para minimizar tales errores.

Existen otros otros aspectos y aún más sutiles del diseño experimental. En muchos análisis, se encuentra que una o más características deseables del método (por ejemplo sensibilidad, selectividad, velocidad de muestreo, bajo coste, etc.) dependerán de una serie de factores experimentales. Al diseñar el experimento, hay que pretender que la combinación óptima de estos factores se use de forma adecuada, y obtener la mejor sensibilidad, selectividad, etc. Aunque puedan estar implicados algunos experimentos preliminares o conocimientos previos, la optimización deberá realizarse (con el objeto de conservar recursos y tiempo) antes de que el método se utilice de forma rutinaria o se haga un uso generalizado del mismo.

La complejidad de los procedimientos de optimización puede aclararse con la ayuda de un ejemplo. En el análisis enzimático, la concentración de analito se determina a partir de observaciones de la velocidad de una reacción catalizada por enzimas. El analito es a menudo el sustrato, es decir, el compuesto que cambia en la reacción catalizada por el enzima. Supóngase que se busca la máxima velocidad de reacción en un experimento concreto y que la velocidad en la práctica depende (entre otros factores) del pH de la

mezcla de reacción, la temperatura y concentración de enzima. ¿Cómo se pueden encontrar las condiciones óptimas? Es fácil identificar una aproximación posible. El analista podría realizar una serie de experimentos, en cada uno de los cuales la concentración de enzima y la temperatura permanezcan constantes, pero se varíe el pH. En cada caso podría determinarse la velocidad de la reacción catalizada por el enzima y podría obtenerse el valor del pH óptimo (que se supone es de 7.5). Podrían realizarse una segunda serie de experimentos sobre la velocidad de reacción, manteniendo constante el pH a 7.5, y fijando la concentración de enzima nuevamente, pero se variaría la temperatura. Así se obtendría una temperatura óptima, que se supone es de 40 °C. Finalmente, una serie de experimentos a pH 7.5 y 40 °C, pero con diferentes concentraciones de enzima, indicarían el nivel óptimo de enzima. Esta aproximación a la optimización del experimento es claramente tediosa: en ejemplos de investigación más reales pueden necesitarse más de tres factores experimentales. A ello se añade además otra objeción fundamental que consiste en que el método supone que los factores (pH, temperatura, concentración de enzima) afectan a la velocidad de reacción de forma *independiente*. Esto podría no ser cierto. Por ejemplo, se ha encontrado que, a pH 7.5, la temperatura óptima es de 40 °C. Sin embargo, a un pH diferente la temperatura óptima podría no ser 40 °C. En otras palabras, estos factores pueden afectar a la velocidad de reacción de una forma *interactiva*, y las condiciones establecidas en las series de experimentos que se acaban de describir podrían no ser en realidad las óptimas. Una vez comenzada la primera serie de experimentos en diferentes condiciones, se podría entonces obtener una serie diferente de valores «óptimos». Con este ejemplo sencillo queda claro que la optimización experimental puede ser un problema extremadamente complejo. Este importante aspecto de la estadística, tal y como se aplica a la química analítica, se considerará con más detalle en el Capítulo 7.

1.7. Calculadoras y computadoras en los cálculos estadísticos

Ningún químico puede ignorar los sorprendentes avances que recientemente han surgido en el ámbito de la microelectrónica. Estos avances han hecho posible la construcción de aparatos que simplifican enormemente los cálculos estadísticos. El rápido crecimiento de la **quimiometría** (la aplicación de métodos matemáticos a la solución de problemas químicos de todos los tipos) se debe a la facilidad con que pueden manejarse grandes cantidades de datos, y realizar cálculos complejos, con calculadoras y computadoras.

Estos aparatos están a disposición del químico analítico a varios niveles de complejidad y coste. Las calculadoras de mano son muy baratas, fiables y capaces de realizar muchos cálculos estadísticos rutinarios descritos en este libro pulsando un número mínimo de teclas. Las funciones preprogramadas permiten cálculos de la media y desviación estándar (véase el Capítulo 2) y de regresión lineal y correlación (véase el Capítulo 5). Otras calculadoras pueden ser programadas por el usuario para realizar otros cálculos tales como límites de confianza (véase el Capítulo 2), contrastes de significación (véase el Capítulo 3) y regresión no lineal (véase el Capítulo 5). Las calcula-

doras de este tipo pueden resultar más que adecuadas para muchas aplicaciones en laboratorios que realizan investigación analítica o análisis de rutina. La única desventaja radica en la imposibilidad de manejar grandes cantidades de datos.

Las computadoras personales (PCs) se encuentran en la actualidad en todos los laboratorios químicos. Muchos instrumentos modernos son controlados por PCs, los cuales también manejan y dan cuenta de los datos analíticos obtenidos, y muchos científicos analíticos tienen sus propios PCs en sus mesas de trabajo. Los PCs portátiles facilitan la recogida y cálculos de datos en el campo, y son rápidamente transferidos a otros homólogos cuando se regresa al laboratorio. En la actualidad, muchos instrumentos están desprovistos de controles manuales, debido a que están totalmente controlados por PCs acoplados adecuadamente. Otras funciones de los PCs pueden incluir la comprobación del rendimiento del instrumento, el diagnóstico e información del mal funcionamiento, el almacenamiento de grandes bases de datos (por ejemplo, de espectros digitalizados) y comparar los datos analíticos con bases de datos, optimización de las condiciones de operación (véase el Capítulo 7), y seleccionar y utilizar una variedad de cálculos de calibrado. Una preocupación es que no siempre se explica al usuario el software del que está provisto el instrumento controlado por la computadora: un analista podría sufrir el infortunio de tener que interpretar una serie de datos, por ejemplo, a través de una rutina de calibración que no estuviese definida y pudiera no ser siempre apropiada. Ésta es una situación indeseable, aunque el deseo de las compañías de instrumentación de intentar proteger *software* específicos costosos de la piratería es comprensible.

Se pueden conseguir para PCs abundantes y excelentes programas básicos de estadística. En la actualidad, la capacidad de memoria y velocidad de las computadoras son más que adecuadas para trabajar con grandes series de datos, y los PCs están dotados ordinariamente de procesadores de textos, los cuales ayudan enormemente a la compilación de informes analíticos y trabajos de investigación. También son fáciles de conseguir los programas de **hojas de cálculo**. Éstos, aunque fueron inicialmente diseñados para cálculos financieros, son más que adecuados para el trabajo estadístico, poseyendo muchas funciones estadísticas incorporadas y excelentes posibilidades de presentación gráfica. La popularidad de las hojas de cálculo deriva de su velocidad y simplicidad de uso, y la posibilidad de realizar cálculos casi instantáneos del tipo «que ocurriría si...» : por ejemplo, ¿cuál sería la media y la desviación estándar de una serie de resultados si se sospecha que se han omitido una parte de los datos? Las hojas de cálculo se diseñan para que sea fácil la introducción rápida de datos, y los datos en formato de hoja de cálculo pueden exportarse fácilmente a programas estadísticos más especializados. **Microsoft Excel** es la hoja de cálculo más popular y ofrece muchas de las posibilidades estadísticas que necesitarán muchos lectores de este libro. En los próximos capítulos se proporcionan ejemplos de su aplicación, y la bibliografía proporciona algunos libros que describen e ilustran su aplicación a problemas estadísticos.

Posibilidades de cálculo más avanzadas son proporcionadas por programas estadísticos especializados. Entre ellos, **Minitab** es muy utilizado en

centros de educación y laboratorios de investigación. Además de las funciones estadísticas convencionales, ofrece cálculos más avanzados, incluyendo métodos multivariantes (véase el Capítulo 8), análisis exploratorio de datos (AED) y contrastes no paramétricos (véase el Capítulo 6), diseño experimental (véase el Capítulo 7) y muchos métodos de control de calidad (véase el Capítulo 4). También se pueden conseguir para PCs excelentes programas más especializados para diferentes tipos de análisis multivariante: el más conocido es *Unscrambler*. Versiones nuevas y actualizadas de estos programas, con posibilidades extra y/o interfaces mejoradas para usuarios, aparecen a intervalos de tiempo regulares. Aunque se puede acceder a funciones de ayuda en cada caso, es preciso decir que el programa se diseña normalmente para usuarios en vez de estudiantes, por lo que no hace mucho hincapié en el énfasis tutorial. Sin embargo, el programa VAMSTAT es una herramienta valiosa; diseñado específicamente con propósitos tutoriales, con pruebas en pantalla para estudiantes y claras explicaciones de muchos métodos importantes.

Otra de las características de los PCs que supone una ventaja es la posibilidad de formación de redes, es decir, un grupo de PCs del mismo laboratorio o de laboratorios próximos pueden conectarse de manera que tanto los programas como los datos puedan pasar libremente de uno a otro. Un beneficio obvio de dichas redes consiste en el establecimiento de Sistemas de Organización de la Información del Laboratorio, «Laboratory Information Management Systems» (LIMS), que permite que sean identificadas y rastreadas grandes cantidades de especímenes analíticos cuando se trasladan por el laboratorio. Mediante códigos de barras o sistemas similares se identifican las muestras y se les puede seguir la pista. Los PCs conectados a varios instrumentos envían grupos de resultados analíticos a una computadora central que (por ejemplo) imprime un informe resumen, incluyendo una evaluación estadística.

Es muy importante para el químico analítico recordar que la disponibilidad de todos estos equipamientos en el manejo de datos aumenta, en vez de disminuir, la necesidad de un sólido conocimiento de los principios en los que se basan los cálculos estadísticos. Una computadora o calculadora realizará con rapidez cualquier cálculo o contraste estadístico seleccionado por el usuario, *tanto si ese procedimiento es adecuado o no para los datos en estudio*. Por ejemplo, un programa de mínimos cuadrados lineales determinará una línea recta que ajuste *cualquier* conjunto de valores de x e y , aun en los casos en que la inspección visual muestre de inmediato que dicho programa resulta completamente inadecuado (véase el Capítulo 5). En otro ejemplo, un programa sencillo para probar si es significativa la diferencia entre las medias de dos conjuntos de datos puede suponer que las varianzas (véase el Capítulo 2) de los dos conjuntos sean similares; no obstante, el programa realizará a ciegas el cálculo requerido y proporcionará un «resultado» aun cuando las varianzas en realidad difieran significativamente. Incluso, series muy completas de programas de computadora suelen ser incapaces de aconsejar en la elección de un método estadístico apropiado para una serie de datos concretos. Por tanto, el analista debe emplear sus conocimientos de estadística y el sentido común para asegurar que se realiza el cálculo correcto.

Bibliografía

- [NB – Los siguientes libros son probablemente valiosos como material soporte para la mayoría de los capítulos de este libro.]
- Anderson, R. L. 1987. *Practical Statistics for Analytical Chemistry*. Van Noststrand Reinhold, New York.
- British Standards Institute. 1987. *Schedule for Tables for Use in the Calibration of Volumetric Glassware*): [BS1797]. BSI, London. (Valioso ejemplo de una monografía BSI.)
- Diamond, D. and Hanratty, V. C. 1997. *Spreadsheet Applications in Chemistry Using Microsoft Excel*. Wiley, New York. (Consejos claros del uso de Excel, con muchos ejemplos de química analítica y física.)
- Meier, P. C. and Zund, R. E. 1993. *Statistical Methods in Analytical Chemistry*. Wiley, New York. (Un texto avanzado, con programas y conjuntos de datos proporcionados en un disco.)
- Middleton, M. R. 1997. *Data Analysis Using Microsoft Excel*, Duxbury, Belmont. (Una guía clara de numerosos procedimientos estadísticos disponibles en Excel.)
- Minitab Reference Manual, Versión 11*. June 1996. Minitab Inc, State College, USA.
- Neave, H. R. 1981. *Elementary Statistics Tables*. Routledge, London. (Todos los usuarios de la estadística requieren un buen conjunto de tablas estadísticas: éste es francamente recomendable, a la vista de las claras explicaciones de las tablas y de los contrastes estadísticos asociados.)
- Youden, W. J. and Steiner, E. H. 1975. *Statistical Manual of the Association of Official Analytical Chemists*. AOAC. Arlington. (Manual clásico sobre exactitud y precisión, y sobre estudios de colaboración.)

Ejercicios

- Una muestra patrón de suero sanguíneo humano contiene 42.0 g de albúmina por litro. Cinco laboratorios (A-E) realizan cada uno seis determinaciones (en el mismo día) de la concentración de albúmina, con los siguientes resultados (en gl^{-1}):

A	42.5	41.6	42.1	41.9	41.1	42.2
B	39.8	43.6	42.1	40.1	43.9	41.9
C	43.5	42.8	43.8	43.1	42.7	43.3
D	35.0	43.0	37.1	40.5	36.8	42.2
E	42.2	41.6	42.0	41.8	42.6	39.0

Comentar el sesgo, precisión y exactitud de cada uno de estos conjuntos de resultados.

- Utilizando la misma muestra y el método del ejercicio 1, el laboratorio A realiza otras seis determinaciones posteriores de la concentración de

- albúmina, esta vez en seis días sucesivos. Los valores obtenidos son 41.5, 40.8, 43.3, 41.9, y 41.7 g l^{-1} . Comentar estos resultados.
3. Se ha determinado cuatro veces el número de lugares de unión por molécula en una muestra de anticuerpos monoclonados, con resultados de 1.95, 1.95, 1.92 y 1.97. Comentar el sesgo, precisión y exactitud de estos resultados.
4. Analizar el grado de sesgo y precisión deseables o aceptables en los siguientes análisis:
- Determinación de la concentración de lactato en muestras de sangre humana.
 - Determinación de uranio en una muestra de mineral.
 - Determinación de una droga en plasma sanguíneo después de una sobredosis.
 - Estudio de la estabilidad de un reactivo colorimétrico mediante la determinación de su absorbancia a una longitud de onda durante un período de varias semanas.
5. Para cada uno de los siguientes experimentos, intente identificar las principales fuentes probables de errores sistemáticos y aleatorios, y exponga de qué manera pueden minimizarse dichos errores:
- El contenido de hierro de un gran trozo de mineral se determina tomando una pequeña muestra, disolviéndola en ácido, y valorando con sulfato cérico después de reducir el Fe(III) a Fe(II).
 - Se utiliza el mismo procedimiento de muestreo y disolución de (i), si bien el hierro se determina colorimétricamente después de añadir un reactivo quelatante y de extraer el complejo coloreado resultante en un disolvente orgánico.
 - El contenido de sulfato en una solución acuosa se determina gravimétricamente con cloruro bárico como precipitante.

Estadística de medidas repetidas

2.1. Media y desviación estándar

En el Capítulo 1 se vio que para revelar la presencia de errores aleatorios en muchos experimentos químicos resulta necesario habitualmente realizar medidas repetidas. Este capítulo aplica a tal situación algunos conceptos estadísticos fundamentales. Se empieza considerando de nuevo el ejemplo del Capítulo 1, el cual tenía en cuenta los resultados de repetir cinco veces una valoración hecha por cuatro estudiantes. Estos resultados se reproducen a continuación.

<i>Estudiante</i>	<i>Resultados (ml)</i>				
A	10.08	10.11	10.09	10.10	10.12
B	9.88	10.14	10.02	9.80	10.21
C	10.19	9.79	9.69	10.05	9.78
D	10.04	9.98	10.02	9.97	10.04

Para comparar estos resultados se utilizaron dos criterios, el valor promedio (técnicamente conocido como una medida de una localización) y el grado de variabilidad (o dispersión). El valor promedio utilizado fue la **media aritmética** (en forma abreviada, la **media**), que es la suma de todas las medidas dividida por el número de medidas:

$$\text{La media, } \bar{x}, \text{ de } n \text{ medidas viene dada por } \bar{x} = \frac{\sum x_i}{n} \quad (2.1)$$

En el Capítulo 1 la variabilidad fue medida por la diferencia entre el valor más alto y el más bajo (el **intervalo**). Una medida más útil, que utiliza todos los valores, es la **desviación estándar**, s , que se define como sigue:

La desviación estándar, s , de n medidas viene dada por

$$s = \sqrt{\sum_i (x_i - \bar{x})^2 / (n - 1)} \quad (2.2)$$

El cálculo de estos estadísticos se aclara mediante un ejemplo.

EJEMPLO 2.1.1

Encontrar la media y la desviación estándar de los resultados del estudiante A.

x_i	$(x_i - \bar{x})$	$(x_i - \bar{x})^2$
10.08	-0.02	0.0004
10.11	0.01	0.0001
10.09	-0.01	0.0001
10.10	0.00	0.0000
10.12	0.02	0.0004
Totales	50.50	0.0010

$$\bar{x} = \frac{\sum x_i}{n} = \frac{50.50}{5} = 10.1 \text{ ml}$$

$$s = \sqrt{\sum_i (x_i - \bar{x})^2 / (n - 1)} = \sqrt{0.001/4} = 0.0158 \text{ ml}$$

Nótese que $\sum (x_i - \bar{x})$ es siempre igual a 0.

Las respuestas a este ejemplo se han proporcionado arbitrariamente con tres cifras significativas: en la Sección 2.8 se discute este importante aspecto de la presentación de resultados. El lector puede comprobar que la desviación estándar de los resultados de los estudiantes B, C y D son 0.172, 0.210 y 0.0332 ml, respectivamente, y establecer así una confirmación cuantitativa de las evaluaciones de la precisión realizadas en el Capítulo 1.

En la práctica, es inusual hacer estos cálculos sobre el papel. Todas las calculadoras de bolsillo, excepto las más básicas, proporcionan los resultados de estos cálculos si se introducen en ellas los valores de x_i . Sin embargo, se debe tener cuidado en pulsar la tecla correcta para obtener la desviación estándar. Algunas calculadoras proporcionan dos valores diferentes para la desviación estándar, uno calculado utilizando la ecuación (2.2) y el otro sustituyendo $n - 1$ por n en el denominador de esta ecuación. (La razón de estas dos formas diferentes se explicará más adelante en la pág. 24.) Obviamente, para valores grandes de n la diferencia es despreciable. Alternativamente, para realizar estos cálculos rápidamente pueden utilizarse programas disponibles para ordenador (véase el Capítulo 1).

El cuadrado de s es una cantidad estadística muy importante conocida como la **varianza**, su importancia se pondrá de manifiesto en este capítulo cuando se analice la propagación de errores.

Varianza = el cuadrado de la desviación estándar, s^2 .

El **coeficiente de variación (CV)** es otra medida de la variabilidad extensamente utilizada, también conocido como la **desviación estándar relativa (DER)**, que viene definido por $100s/\bar{x}$.

Coeficiente de variación (CV) = desviación estándar relativa (DR) = $100 s/\bar{x}$

El CV o DER, cuyas unidades se expresan obviamente en tanto por ciento, es un ejemplo de **error relativo**, es decir, una estimación del error dividida por una estimación del valor absoluto de la cantidad medida. Los errores relativos se utilizan con frecuencia al comparar las precisiones de los resultados que tienen diferentes unidades o magnitudes, y resultan de nuevo importantes en los cálculos de la propagación de errores.

2.2. La distribución de medidas repetidas

Aunque la desviación estándar proporciona una medida de la dispersión de un conjunto de resultados alrededor del valor medio, no indica la forma de la distribución. Para aclarar esto se necesita un gran número de medidas como las expuestas en la Tabla 2.1. Esta tabla presenta los resultados de 50 determinaciones de la concentración de ion nitrato, con dos cifras significativas, en una muestra concreta de agua.

Tabla 2.1. Resultados de 50 determinaciones de concentración de ion nitrato, en $\mu\text{g ml}^{-1}$.

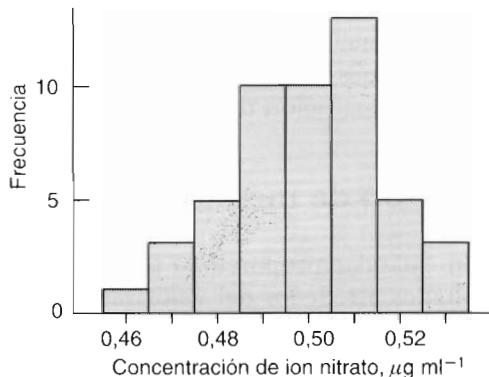
0.51	0.51	0.51	0.50	0.51	0.49	0.52	0.53	0.50	0.47
0.51	0.52	0.53	0.48	0.49	0.50	0.52	0.49	0.49	0.50
0.49	0.48	0.46	0.49	0.49	0.48	0.49	0.49	0.51	0.47
0.51	0.51	0.51	0.48	0.50	0.47	0.50	0.51	0.49	0.48
0.51	0.50	0.50	0.53	0.52	0.52	0.50	0.50	0.51	0.51

Estos resultados se resumen en una **tabla de frecuencias** (Tabla 2.2). Esta tabla indica que, el valor $0.46 \mu\text{g ml}^{-1}$ de la Tabla 2.1 aparece una vez, el valor $0.47 \mu\text{g ml}^{-1}$ aparece tres veces y así sucesivamente. El lector puede comprobar que la media de estos resultados es $0.500 \mu\text{g ml}^{-1}$ y la desviación estándar es $0.0165 \mu\text{g ml}^{-1}$. La distribución de los resultados puede apreciarse más fácilmente dibujando un **histograma** como el de la Figura 2.1. En él se muestra que las medidas están distribuidas de forma casi simétrica en torno a la media, con las medidas agrupadas hacia el centro.

Este conjunto de 50 medidas de la concentración de nitrato constituye una muestra de un gran número de ellas (en teoría infinitas) que se podrían haber tomado. Este conjunto de todas las posibles medidas se denomina **población**. Si no existen errores sistemáticos, entonces la media de la pobla-

Tabla 2.2. Tabla de frecuencias para medidas de concentración de ion nitrato.

Concentración de ion nitrato ($\mu\text{g ml}^{-1}$)	Frecuencia
0.46	1
0.47	3
0.48	5
0.49	10
0.50	10
0.51	13
0.52	5
0.53	3

**Figura 2.1.** Histograma de los datos de concentración de ion nitrato de la Tabla 2.2.

ción, denotada por μ , es el verdadero valor de la concentración de ion nitrato que se intenta determinar. La media de la muestra nos proporciona una estimación de μ . De manera similar, la población tiene una desviación estándar, denotada por σ . El valor de la desviación estándar s , de la muestra nos proporciona una estimación de σ . El uso de la ecuación (2.2) nos proporciona una estimación insesgada de σ . Si en vez de $(n - 1)$ utilizamos n en el denominador de la ecuación, el valor que se obtiene de s tiende a infraestimar σ (véase la pág. 22).

Las medidas de concentración de ion nitrato que aparecen en la Tabla 2.2 presentan sólo valores discretos, debido a las limitaciones del método de medida. En teoría una concentración podría tomar cualquier valor, de manera que para describir la forma de la población, de la que se ha extraído una muestra, se necesita una curva continua. El modelo matemático que habitualmente se emplea es la **distribución normal o Gausiana** descrita por la ecuación

$$y = \frac{1}{\sigma \sqrt{2\pi}} \exp \left\{ -\frac{(x - \mu)^2}{2\sigma^2} \right\} \quad (2.3)$$

Su forma se muestra en la Figura 2.2. No es necesario recordar esta fórmula complicada, aunque algunas de sus propiedades generales son importantes.

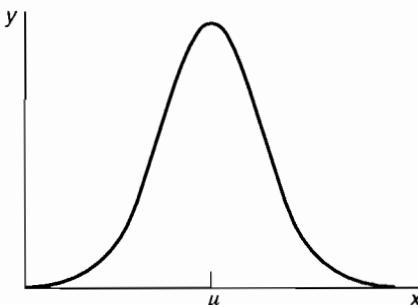


Figura 2.2. La distribución normal, $y = \exp[-(x - \mu)^2/2\sigma^2]/\sigma\sqrt{2\pi}$. La media se indica por μ .

La curva es simétrica respecto a μ y cuanto mayor sea el valor de σ mayor es la variabilidad de la curva, como se muestra en la Figura 2.3. Un análisis un poco más detallado demuestra que, cualesquiera que sean los valores de μ y σ , la distribución normal tiene las siguientes propiedades.

En una distribución normal con media μ y desviación estándar σ , aproximadamente el 68 % de los valores de la población caen dentro de $\pm 1\sigma$ de la media, aproximadamente el 95 % de los valores caen dentro de $\pm 2\sigma$ de la media, y aproximadamente el 99.7 % de los valores caen dentro de $\pm 3\sigma$ de la media.

Estas propiedades se ilustran en la Figura 2.4. Esto significaría que, si las concentraciones de ion nitrato (en $\mu\text{g ml}^{-1}$) dadas en la Tabla 2.2 se distribuyen normalmente, cerca del 68 % caería en el intervalo 0.483-0.517, alrededor del 95 % en el intervalo 0.467-0.533 y el 99.7 % en el de 0.450-0.550. De hecho, 33 de los 50 resultados (66 %) caen entre 0.483 y 0.517, 49 (98 %) entre 0.467 y 0.533, y todos los resultados se ubican entre 0.450 y 0.550, de manera que la concordancia con la teoría es bastante satisfactoria.

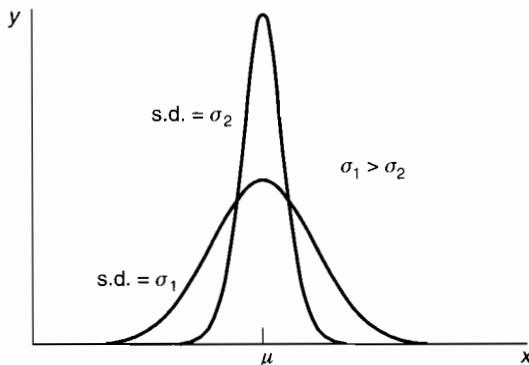


Figura 2.3. Distribuciones normales con la misma media pero con diferentes valores de la desviación estándar (d.e.).

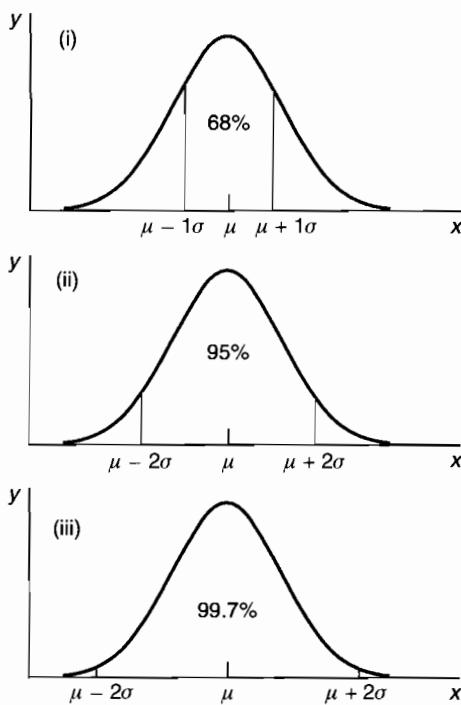


Figura 2.4. Propiedades de la distribución normal: (i) aproximadamente el 68% de los valores caen dentro de $\pm 1\sigma$ de la media; (ii) cerca del 95% de los valores se ubican dentro de $\pm 2\sigma$ de la media; (iii) aproximadamente el 99.7% de los valores se encuentran dentro de $\pm 3\sigma$ de la media.

En una distribución normal con media conocida, μ , y desviación estándar, σ , la proporción exacta de valores que caen dentro de un intervalo cualquiera puede encontrarse a partir de las tablas, con tal que los valores se hayan primero **estandarizado**, de manera que proporcionen **valores z** . Esto se realiza expresando un valor de x en términos de su desviación de la media en unidades de la desviación estándar, σ . Es decir

$$\text{Variable normal estandarizada, } z = \frac{(x - \mu)}{\sigma} \quad (2.4)$$

La Tabla A.1 (Apéndice 2) presenta la proporción de valores, $F(z)$, que caen por debajo de un valor dado de z . $F(z)$ se denomina la **función de distribución acumulativa normal estándar**. Por ejemplo, la proporción de valores por debajo de $z = 2$ es $F(2) = 0.9722$ y la proporción de valores por debajo de $z = -2$ es $F(-2) = 0.0228$. Entonces el valor *exacto* de la proporción de medidas que caen dentro de dos veces la desviación estándar de la media es $0.9772 - 0.0228 = 0.9544$.

EJEMPLO 2.2.1

Si las medidas repetidas de una valoración se distribuyen de forma normal con media de 10.15 ml y desviación estándar de 0.02 ml, encuentre la proporción de medidas que caen entre 10.12 y 10.20 ml.

Estandarizando el primer valor da $z = (10.12 - 10.15)/0.02 = -1.5$.

De la Tabla A.1, $F(-1.5) = 0.0668$.

Estandarizando el segundo valor da $z = (10.20 - 10.15)/0.02 = 2.5$.

De la Tabla A.1, $F(2.5) = 0.9938$.

Por tanto, la proporción de valores entre $x = 10.12$ y 10.20 (que se corresponde con $z = -1.5$ y 2.5) es $0.9938 - 0.0668 = 0.927$.

El lector debe advertir que, en el cálculo de la proporción de valores de z , existe una considerable variación en el formato de las tablas. Algunas tablas sólo dan valores de z positivos, de manera que las proporciones para los valores negativos se tienen que deducir mediante consideraciones de simetría. También pueden obtenerse los valores de $F(z)$ utilizando Excel o Minitab.

Aunque no se pueda demostrar que las medidas repetidas de cualquier cantidad analítica vayan a estar siempre distribuidas normalmente, la evidencia nos indica que generalmente esta hipótesis está al menos muy cerca de ser verdad. Además, como se verá al estudiar las medias muestrales, cualquier desviación de la normalidad en una población no es habitualmente importante en el contexto de los contrastes estadísticos utilizados con más frecuencia.

La distribución normal no sólo se aplica cuando se toman medidas repetidas de un mismo ejemplar. A menudo, los resultados obtenidos se adaptan a la distribución normal cuando se mide la misma magnitud para diferentes materiales de fuentes similares. Por ejemplo, si se miden las concentraciones de albúmina en suero sanguíneo procedentes de adultos humanos sanos, se encontraría que los resultados estarían aproximadamente normalmente distribuidos.

2.3. La distribución log-normal

En situaciones donde una medida se realiza sobre cada uno de una serie de ejemplares, pueden surgir otras distribuciones además de la normal. En concreto se encuentra con frecuencia la denominada **distribución log-normal**. En esta distribución, la frecuencia representada frente al *logaritmo* de la *concentración* (u otras características) proporciona una curva de distribución normal. Un ejemplo de una variable que tiene una distribución log-normal es la concentración de anticuerpos en suero sanguíneo humano. Cuando se representa la frecuencia frente a la concentración, se obtiene la curva asimétrica mostrada en la Figura 2.5a. Sin embargo, si se representa la frecuencia frente al logaritmo (por ejemplo, en base 10) de la concentración, se obtiene aproximadamente una distribución normal, como se muestra en la Figura 2.5b. Otro ejemplo de una variable que puede seguir una distribución log-normal es el tamaño de partícula de las gotas formadas por los nebulizadores utilizados en espectroscopía de llama.

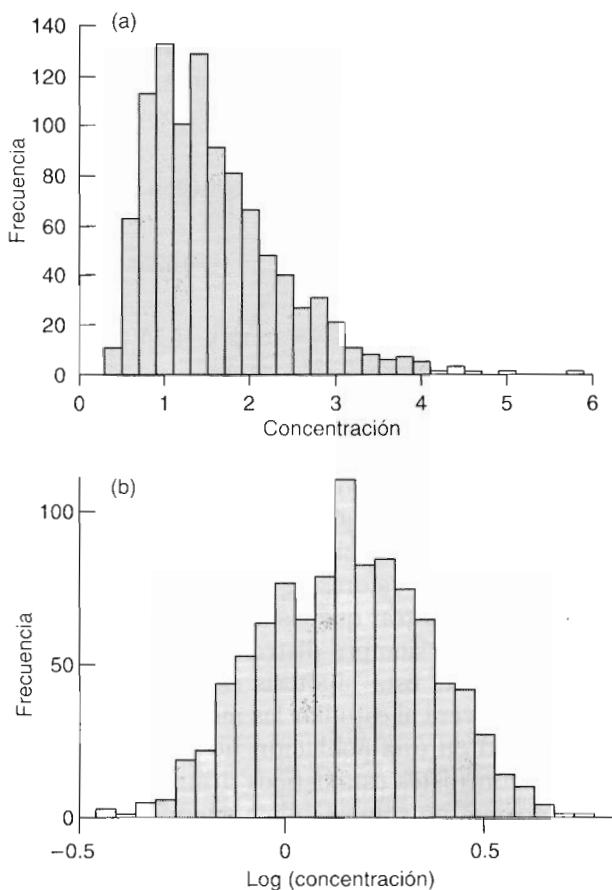


Figura 2.5. (a) Una distribución aproximadamente log-normal: concentración de anticuerpos de inmunoglobulina M en suero de varones. (b) Los resultados de (a) representados frente al logaritmo de la concentración.

El intervalo que contiene un porcentaje concreto de medidas de una variable con distribución log-normal se puede evaluar trabajando con los logaritmos de los valores. La distribución de los logaritmos de la concentración en suero sanguíneo mostrada en la Figura 2.5b tiene media 0.15 y desviación estándar 0.20. Esto significa que aproximadamente el 68 % de los valores logarítmicos se ubican en el intervalo $0.15 - 0.20$ a $0.15 + 0.20$, es decir, -0.05 a 0.35 . Tomando antilogaritmos, el 68 % de las medidas originales se encuentran en el intervalo $10^{-0.05}$ a $10^{0.35}$, es decir de 0.89 a 2.24. El antilogaritmo de la media de los valores a los que se aplica la función logaritmo, $10^{0.15} = 1.41$, proporciona la media *geométrica de la distribución original* donde la media geométrica viene dada por $\sqrt[n]{x_1 x_2 \dots x_n}$.

2.4. Definición de «muestra»

En este capítulo se ha introducido la palabra «muestra» y utilizado en sentido estadístico para un grupo de objetos seleccionados de una población de tales

objetos, por ejemplo, una muestra de 50 medidas de la concentración de ion nitrato de la población (infinita) de todas las medidas posibles, o una muestra de adultos humanos sanos elegida de una población global para medir la concentración de albúmina sérica de cada uno. La Comisión de Nomenclatura Analítica de la División de Química Analítica de la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada ha señalado que puede surgir confusión y ambigüedad si el término «muestra» se utiliza también en su sentido coloquial de «material real que se estudia» (Comisión de Nomenclatura Analítica, 1990). Se recomienda que el término muestra se confine a su concepto estadístico. Se deberían utilizar otras palabras para describir el material sobre el que se realizan las medidas, en cada caso precedido por ensayo, por ejemplo, **solución de ensayo o muestra (alícuota) de ensayo**. Entonces se puede hablar sin ambigüedad de una muestra de medidas sobre una muestra de ensayo, o de una muestra de pastillas de un lote. Una parte de ensayo de una población que varía con el tiempo, tal como un río o fluido sanguíneo, debería describirse como un **espécimen o ejemplar**. Desgraciadamente esta práctica no es en absoluto habitual, de manera que el término «muestra» se sigue utilizando para los dos usos relacionados pero distintos.

2.5. La distribución muestral de la media

Ya se ha visto que, en ausencia de errores sistemáticos, la media de una muestra de medidas proporciona una estimación del valor verdadero, μ , de la cantidad que se quiere medir. Sin embargo, aun en ausencia de errores sistemáticos, las medidas individuales varían debido a los errores aleatorios, de manera que es poco probable que la media de la muestra sea *exactamente* igual al valor verdadero. Por esta razón es más útil proporcionar un intervalo de valores que sea probable que incluya al valor verdadero. La amplitud de este intervalo depende de dos factores. El primero es la precisión de las medidas individuales, las cuales dependen a su vez de la desviación estándar de la población. El segundo es el número de medidas de la muestra. El mero hecho de repetir medidas implica que se tenga más confianza en la media de varios valores que en uno solo. Intuitivamente, se podría pensar que cuantas más medidas se tomen más fiable será la estimación de μ , el verdadero valor.

Para corroborar esta idea volvamos a la determinación de ion nitrato descrita en la Sección 2.2. En casos como el estudiado, normalmente es poco práctico realizar 50 medidas repetidas: un número más verosímil sería cinco. Se puede ver como las medias de las muestras de este tamaño están distribuidas alrededor de μ , tratando los resultados de la Tabla 2.2 como diez muestras en las que cada una de ellas contiene cinco resultados. Tomando cada columna como una muestra, las medias son 0.506, 0.504, 0.502, 0.496, 0.502, 0.492, 0.506, 0.504, 0.500, 0.486. Se puede ver que estas medias se encuentran más agrupadas entre sí que las medidas originales. Si se siguen tomando muestras de cinco medidas y se calculan sus medias, estas medidas tendrían una distribución de frecuencias propia. La distribución de todas las medias muestrales posibles (en este caso un número infinito) se denomina **distribución muestral de la media** o **distribución en el muestreo de la**

media. Su media es la misma que la media de la población original. Su desviación estándar se denomina **error estándar de la media** (e.e.m.). Existe una relación matemática exacta entre el e.e.m. y la desviación estándar, σ , de la distribución de medidas individuales:

Para una muestra de n medidas,

$$\text{el error estándar de la media (e.e.m.)} = \sigma/\sqrt{n} \quad (2.5)$$

Como es de esperar, a mayor n , menor será el valor del e.e.m. y consecuentemente menor la dispersión de las medias muestrales en torno a μ .

El término, «error estándar de la media», podría dar la impresión que σ/\sqrt{n} mide la diferencia entre \bar{x} y μ . Esto no es así: σ/\sqrt{n} proporciona una medida de la variabilidad de \bar{x} , como se verá en la siguiente sección.

Otra propiedad de la distribución muestral de la media es que, *aun cuando la población original no esté distribuida normalmente*, la distribución muestral de la media tiende a la distribución normal cuando aumenta n . Este resultado se conoce como **teorema del límite central**. Este teorema es de suma importancia ya que muchos contrastes estadísticos se realizan sobre la media y suponen que se distribuye en forma normal. Ya que en la práctica se puede suponer una distribución casi normal para las distribuciones de medidas repetidas, es razonable asumir que las medias de muestras muy pequeñas (digamos > 5) se distribuyan normalmente.

2.6. Límites de confianza de la media para muestras grandes

Conocida la forma de la distribución muestral de la media, ahora se puede volver al problema de utilizar una muestra para definir el intervalo dentro del cual se pueda suponer de manera razonable que se encuentra el valor verdadero. (Recuérdese que al hacer esto se supone que no existen errores sistemáticos.) Tal intervalo es conocido como un **intervalo de confianza** y los valores extremos de dicho intervalo se llaman **límites de confianza**. El término «confianza» implica que podemos afirmar con un grado de confianza dado, es decir, con una cierta probabilidad, que el intervalo de confianza sí incluye al valor verdadero. El tamaño del intervalo de confianza dependerá obviamente de la certeza que queramos tener de que se incluya el valor verdadero: cuanto más grande sea la certeza, más grande será el intervalo requerido.

La Figura 2.6 muestra la distribución muestral de la media para muestras de tamaño n . Si se supone que esta distribución es normal, entonces el 95 % de las medias muestrales se encontrarán en el intervalo dado por:

$$\mu - 1.96(\sigma/\sqrt{n}) < \bar{x} < \mu + 1.96(\sigma/\sqrt{n}) \quad (2.6)$$

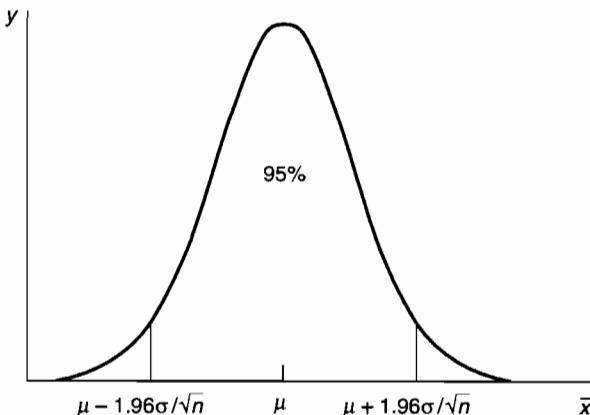


Figura 2.6. La distribución muestral de la media, mostrando el intervalo dentro del cual se encuentra el 95% de las medias muestrales.

(En esta ecuación se utiliza el valor exacto 1.96 en lugar del valor aproximado 2, citado en la Sección 2.2. El lector puede utilizar la Tabla A.1 para comprobar que la proporción de valores entre $z = -1.96$ y $z = 1.96$ es de hecho 0.95.)

Sin embargo, en la práctica se dispone habitualmente de una muestra, de media conocida, y se busca un intervalo para μ , el verdadero valor. La ecuación (2.6) puede reordenarse y expresarse de la siguiente forma:

$$\bar{x} - 1.96(\sigma/\sqrt{n}) < \mu < \bar{x} + 1.96(\sigma/\sqrt{n}) \quad (2.7)$$

La ecuación (2.7) proporciona el **intervalo de confianza al 95 % de la media**. Los **límites de confianza al 95 %** son $\bar{x} \pm 1.96(\sigma/\sqrt{n})$.

En la práctica, es poco probable conocer exactamente σ . Sin embargo, *siempre que la muestra sea grande*, σ puede ser sustituida por su estimación, s .

A veces se utilizan otros límites de confianza, en particular los límites de confianza al 99 y 99.7 %.

Para muestras grandes, los límites de confianza de la media vienen dados por

$$\bar{x} \pm zs/\sqrt{n} \quad (2.8)$$

donde el valor de z depende del grado de confianza requerido.

Para límites de confianza del 95 %, $z = 1.96$

Para límites de confianza del 99 %, $z = 2.58$

Para límites de confianza del 99.7 %, $z = 2.97$

EJEMPLO 2.6.1

Calcular los límites de confianza de la media al 95% y 99% para las medidas de la concentración de ion nitrato de la Tabla 2.1.

Se tiene que $\bar{x} = 0.500$, $s = 0.0165$ y $n = 50$. La ecuación (2.8) proporciona como límites de confianza al 95%:

$$\bar{x} \pm 1.96s/\sqrt{n} = 0.500 \pm 1.96 \times 0.0165/\sqrt{50} = 0.500 \pm 0.0046 \mu\text{g ml}^{-1}$$

y como límites de confianza al 99%:

$$\bar{x} \pm 2.58s/\sqrt{n} = 0.500 \pm 2.58 \times 0.0165/\sqrt{50} = 0.500 \pm 0.0060 \mu\text{g ml}^{-1}$$

En este ejemplo es interesante resaltar que aunque las medidas varían entre 0.46 y 0.53, el intervalo de confianza de la media al 99 % oscila entre 0.494 y 0.506.

2.7. Límites de confianza de la media para muestras pequeñas

Cuando el tamaño de muestra se hace más pequeño, s es menos fidedigno como una estimación de σ . Esto puede verse tratando nuevamente cada columna de resultados de la Tabla 2.2 como una muestra de tamaño cinco. Las desviaciones estándar de las diez columnas son 0.009, 0.015, 0.026, 0.021, 0.013, 0.019, 0.013, 0.017, 0.010, 0.018. Se vio que el valor más grande de s era aproximadamente tres veces el valor/tamaño del más pequeño. Para tener en cuenta esto, la ecuación (2.8) debe ser modificada.

Para muestras pequeñas, los límites de confianza de la media vienen dados por

$$\bar{x} \pm t_{n-1}s/\sqrt{n} \quad (2.9)$$

El subíndice ($n - 1$) indica que t depende de esta cantidad, que se conoce como el número de **grados de libertad, g.l.** (cuyo símbolo habitual es v). El término «grados de libertad» se refiere al número de desviaciones *independientes* ($x_i - \bar{x}$) que se utilizan al calcular s . En este caso dicho número es ($n - 1$), porque cuando se conocen ($n - 1$) desviaciones, la última se puede deducir ya que $\sum_i (x_i - \bar{x}) = 0$. El valor de t depende también del grado de confianza requerido. La Tabla 2.3 recoge algunos valores de t . La Tabla A.2 del Apéndice 2 proporciona una versión más completa de esta tabla.

Para valores grandes de n , los valores de t_{n-1} para intervalos de confianza del 95 % y 99 %, respectivamente, están muy próximos a los valores 1.96 y 2.58 utilizados en el Ejemplo 2.6.1. El siguiente ejemplo ilustra el uso de la ecuación (2.9).

Tabla 2.3. Valores de *t* para intervalos de confianza.

Grados de libertad	Valores de <i>t</i> para intervalos de confianza de	
	95%	99%
2	4.30	9.92
5	2.57	4.03
10	2.23	3.17
20	2.09	2.85
50	2.01	2.68
100	1.98	2.63

EJEMPLO 2.7.1

Se determinó el contenido de ion sodio de una muestra de orina utilizando un electrodo selectivo de iones, obteniéndose los siguientes valores: 102, 97, 99, 98, 101, 106 mM. ¿Cuáles son los límites de confianza al 95% y 99%, para la concentración de ion sodio?

La media y desviación estándar de estos valores son 100.5 mM y 3.27 mM respectivamente. Hay seis medidas y, por lo tanto, 5 grados de libertad. A partir de la Tabla A.2 el valor de t para el cálculo de los límites de confianza al 95% es 2.57 y de la ecuación (2.9) los límites de confianza al 95% vienen dados por:

$$100.5 \pm 2.57 \times 3.27 / \sqrt{6} = 100.5 \pm 3.4 \text{ mM}$$

De forma análoga los límites de confianza al 99% vienen dados por:

$$100.5 \pm 4.03 \times 3.27 / \sqrt{6} = 100.5 \pm 5.4 \text{ mM}$$

2.8. Presentación de resultados

Como ya se ha recalcado, los resultados experimentales cuantitativos carecen de interés si no van acompañados de una estimación de los errores involucrados en su medida. Una práctica usual en la literatura de química analítica es citar la media como la estimación de la cantidad medida y a la desviación estándar como la estimación de la precisión. Menos frecuente es citar el error estándar de la media en lugar de la desviación estándar, o dar el resultado en la forma de los límites de confianza al 95 % de la media. (También se utilizan a veces, véase el Capítulo 4, estimaciones de la incertidumbre.) Ya que no existe un convenio universal es importante establecer la forma empleada y, siempre que el valor de n venga dado, las tres formas se pueden convertir unas en otras utilizando las ecuaciones (2.5) y (2.9).

Un aspecto relacionado con la presentación de resultados es el redondeo de la respuesta. El principio importante en este caso es que el número de cifras significativas dadas indican la precisión del experimento. Por ejemplo, sería absurdo, dar el resultado de un análisis volumétrico como 0.107846 M, ya que ningún analista podría alcanzar la precisión implicada de 0.000001

en una concentración aproximada de 0.1, i.e., 0.001%. En la práctica es costumbre fijar como cifras significativas todos los dígitos que sean seguros, más el primero incierto. Por ejemplo, la media de los valores 10.09, 10.11, 10.09, 10.10, y 10.12 es 10.102, y su desviación estándar es 0.01304. Claramente existe incertidumbre en la segunda cifra decimal; los resultados son todos 10.1 con una cifra decimal, pero difieren en la segunda cifra decimal. Mediante el método sugerido el resultado podría expresarse como:

$$\bar{x} \pm s = 10.10 \pm 0.01 \quad (n = 5)$$

Si se hubiera constatado que este resultado es un redondeo inaceptable de la desviación estándar, entonces el resultado se podría dar como:

$$\bar{x} \pm s = 10.10_2 \pm 0.01_3 \quad (n = 5)$$

donde el uso de los subíndices nos indica que el dígito sólo se da para evitar pérdida de información. El lector podría decidir si fue útil o no.

De manera similar, cuando se calculan los límites de confianza [véase la ecuación (2.9)], no es necesario dar el resultado de $t_{n-1}s/\sqrt{n}$ con más de dos cifras significativas. El valor de \bar{x} debería darse en ese caso con el correspondiente número de cifras decimales.

El número de cifras significativas fijado se utiliza a menudo en lugar de una estimación específica para indicar la precisión de un resultado. Por ejemplo, si se considera 0.1046 M se quiere indicar que los números de las tres primeras cifras decimales son seguros pero existen dudas acerca de la cuarta. A veces se recalca la incertidumbre en la última cifra utilizando los formatos 0.104(6) M o 0.104₆ M, pero sigue siendo preferible dar una estimación específica de la precisión tal como la desviación estándar.

Un problema que puede surgir es si un 5 debería redondearse por encima o por debajo. Por ejemplo, si 9.65 es redondeado a una sola cifra decimal ¿podría convertirse en 9.6 o 9.7? Es evidente que los resultados tendrán sesgo si un 5 se redondea siempre hacia el valor superior; este sesgo puede evitarse redondeando el 5 al número par más próximo, dando, en este caso, 9.6. Análogamente, 4.75 se redondea a 4.8.

Cuando hay que utilizar varias cantidades para calcular un resultado final (véase la Sección 2.11), estas cantidades no deben redondearse demasiado ya que se producirá una pérdida de precisión innecesaria. Una buena regla es dejar un dígito detrás de la última cifra significativa y dejar el posterior redondeo hasta que se llegue al resultado final. La misma regla se aplica cuando se usan la media y la desviación estándar en contrastes estadísticos tales como los contrastes F y t (véase el Capítulo 3): se deberían utilizar en los cálculos los valores no redondeados de \bar{x} y s .

2.9. Otros usos de los límites de confianza

Los intervalos de confianza se pueden utilizar como un test para detectar errores sistemáticos, como se muestra en el siguiente ejemplo.

EJEMPLO 2.9.1

Se comprueba la escala de absorbancia de un espectrómetro a una longitud de onda concreta usando una solución estándar con una absorbancia de 0.470. Diez medidas de absorbancia con el espectrómetro dieron $\bar{x} = 0.461$ y $s = 0.003$. Encontrar el intervalo de confianza al 95% de la absorbancia media y de aquí decidir si se encuentra presente un error sistemático.

Los límites de confianza al 95% de las absorbancias medidas por el espectrómetro son [ecuación (2.9)]:

$$\bar{x} \pm t_{n-1}(s/\sqrt{n}) = 0.461 \pm 2.26 \times 0.03/\sqrt{10} = 0.461 \pm 0.002$$

(El valor de t_9 fue obtenido a partir de la Tabla A.2.)

Ya que el intervalo de confianza no incluye la absorbancia conocida de 0.470, es probable que exista error sistemático.

En la práctica el tipo de problema del Ejemplo 2.9.1 se resuelve comúnmente de manera diferente pero relacionada (véase el Ejemplo 3.2.1).

Los límites de confianza también se pueden usar cuando se toman medidas a cada uno de una serie de especímenes. Por ejemplo, supóngase que se requiere el peso medio de una pastilla en un gran lote: se consumiría excesivo tiempo en pesar cada pastilla. De manera similar, al medir el contenido medio de hierro utilizando un método analítico destructivo tal como la espectrometría de absorción atómica, es claramente imposible examinar cada tableta. En ambos casos, podría tomarse una muestra del lote (que en tales casos forma la población) y a partir de la media y desviación estándar de la muestra se podría encontrar un intervalo de confianza para el valor medio de la cantidad medida.

2.10. Límites de confianza de la media geométrica de una distribución log-normal

En la Sección 2.3 se mencionó que las medidas de un número de especímenes puede no estar distribuida normalmente. Si proceden de una distribución log-normal, entonces los límites de confianza deberían calcularse teniendo en cuenta este hecho. Ya que el logaritmo de las medidas se distribuye normalmente es más exacto trabajar con los logaritmos de las medidas al calcular un intervalo de confianza. El intervalo de confianza obtenido será el intervalo de confianza para la media *geométrica*.

EJEMPLO 2.10.1

Los siguientes valores (expresados como porcentajes) proporcionan la concentración de anticuerpos en suero sanguíneo humano de ocho adultos sanos.

2.15, 1.13, 2.04, 1.45, 1.35, 1.09, 0.99, 2.07

Calcular el intervalo de confianza de la media geométrica al 95% suponiendo que la concentración de anticuerpos se distribuye log-normal.

Los logaritmos (en base 10) de los valores propuestos son:

$$0.332, \quad 0.053, \quad 0.310, \quad 0.161, \quad 0.130, \quad 0.037, \quad -0.004, \quad 0.316$$

La media de estos valores logarítmicos es 0.1669, dando $10^{0.1669} = 1.47$ como la media geométrica de los valores originales. La desviación estándar de los valores logarítmicos es 0.1365.

Los límites de confianza al 95% para los valores logarítmicos son:

$$0.1669 \pm 2.36 \times 0.1365 / \sqrt{8} = 0.1669 \pm 0.1139 = 0.0530 \text{ a } 0.2808$$

Los antilogaritmos de estos límites dan el intervalo de confianza de la media geométrica al 95% como 1.13 a 1.91.

2.11. Propagación de errores aleatorios

En el trabajo experimental, la cantidad que se va a determinar se calcula, con frecuencia, a partir de una combinación de cantidades observables. Ya se ha visto, por ejemplo, que incluso una operación relativamente simple como un análisis volumétrico, implica varias etapas, estando sujeta cada una de ellas a errores (véase el Capítulo 1). El cálculo final puede conllevar operaciones tales como sumas, restas, multiplicaciones o divisiones de dos o más cantidades, o elevar alguna cantidad a una potencia.

Es muy importante señalar que los procedimientos utilizados para combinar errores aleatorios y sistemáticos son completamente distintos. Esto se debe a que algunos errores aleatorios se compensan entre sí, mientras que cada error sistemático tiene lugar en un sentido definido y conocido. Supóngase, por ejemplo, que el resultado final de un experimento, x , viene dado por $x = a + b$. Si a y b tienen un error sistemático de $+1$, está claro que el error sistemático en x es de $+2$. Si, sin embargo, a y b tienen cada uno un error aleatorio de ± 1 , el error aleatorio de x no es ± 2 : esto es debido a que existirán ocasiones en que el error aleatorio en a será positivo mientras que en otras en b será negativo (o viceversa).

Esta sección sólo considera la propagación de errores aleatorios (los errores sistemáticos se consideran en la Sección 2.12). Si se conoce la precisión de cada observación, entonces se pueden usar reglas matemáticas simples para estimar la precisión del resultado final. Estas reglas se resumen a continuación.

2.11.1 Combinaciones lineales

En este caso el valor final, y , se calcula a partir de una combinación lineal de cantidades medidas a , b , c , etc., por:

$$y = k + k_a a + k_b b + k_c c + \dots \quad (2.10)$$

donde k, k_a, k_b, k_c , etc., son constantes. La varianza (definida como el cuadrado de la desviación estándar) tiene la propiedad importante de que la varianza de una suma o diferencia de cantidades independientes es igual a la suma de sus varianzas. Se puede demostrar que si $\sigma_a, \sigma_b, \sigma_c$, etc., son las desviaciones estándar de a, b y c , etc., entonces la desviación estándar de y , σ_y , viene dada por:

$$\sigma_y = \sqrt{(k_a\sigma_a)^2 + (k_b\sigma_b)^2 + (k_c\sigma_c)^2 + \dots} \quad (2.11)$$

EJEMPLO 2.11.1

En una valoración la lectura inicial en una bureta es 3.51 ml y la lectura final es 15.67 ml, ambas con una desviación estándar de 0.02 ml. ¿Cuál es el volumen de valorante utilizado y cuál es su desviación estándar?

$$\text{Volumen utilizado} = 15.67 - 3.51 = 12.16 \text{ ml}$$

$$\text{Desviación estándar} = \sqrt{(0.02)^2 + (0.02)^2} = 0.028 \text{ ml}$$

Este ejemplo aclara el aspecto importante de que la desviación estándar del resultado final es mayor que la desviación estándar de las lecturas individuales de la bureta, incluso aunque el volumen utilizado se calcule a partir de una diferencia, pero es menor que la suma de las desviaciones estándar.

2.11.2 Expresiones multiplicativas

Si y se calcula a partir de una expresión del tipo:

$$y = kab/cd \quad (2.12)$$

(donde a, b, c y d son cantidades medidas independientes y k es una constante) entonces existe una relación entre los cuadrados de las desviaciones estándar *relativas*:

$$\frac{\sigma_y}{y} = \sqrt{\left(\frac{\sigma_a}{a}\right)^2 + \left(\frac{\sigma_b}{b}\right)^2 + \left(\frac{\sigma_c}{c}\right)^2 + \left(\frac{\sigma_d}{d}\right)^2} \quad (2.13)$$

EJEMPLO 2.11.2

El rendimiento cuántico de fluorescencia, ϕ , se calcula a partir de la expresión:

$$\phi = 1/k\epsilon/\varepsilon$$

donde las cantidades implicadas se definen a continuación, con una estimación de sus desviaciones estándar relativas entre paréntesis:

- I_0 = intensidad de luz incidente (0.5%)
 I_f = intensidad de luz fluorescente (2%)
 ϵ = absorvtividad molar (1%)
 c = concentración (0.2%)
 $/$ = paso óptico (0.2%)
 k es una constante del instrumento.

De la ecuación (2.13), la desviación estándar relativa de ϕ viene dada por:

$$\text{DER} = \sqrt{2^2 + + 0.2^2 + 0.2^2 + 0.5^2 + 1^2} = 2.3\%$$

Puede observarse que la desviación estándar relativa del resultado final no es mucho mayor que la mayor de todas las desviaciones estándar relativas usadas para calcularlo (es decir, 2 % para I_f). Esto es fundamentalmente consecuencia de elevar al cuadrado las desviaciones estándar relativas y aclara una cuestión de importancia general: cualquier esfuerzo que se haga para mejorar la precisión de un experimento debe ir en la dirección de mejorar la precisión de los valores menos precisos. Como corolario de esto, no vale la pena esforzarse en incrementar la precisión de los valores más precisos. Esto no significa que los errores pequeños no sean importantes: errores pequeños en muchas etapas de un experimento, tales como los del análisis volumétrico analizados con detalle en el Capítulo 1, producirán un error apreciable en el resultado final.

Es importante resaltar que cuando una cantidad se eleva a una potencia, por ejemplo, b^3 , entonces el error no se calcula como para una multiplicación, es decir, $b \times b \times b$, debido a que las cantidades implicadas no son independientes. Si la relación es

$$y = b^n \quad (2.14)$$

entonces las desviaciones estándar de y y b están relacionadas por:

$$\left| \frac{\sigma_y}{y} \right| = \left| \frac{n\sigma_b}{b} \right| \quad (2.15)$$

(El signo del valor absoluto o módulo significa que la magnitud de la cantidad encerrada en él se toma sin tener en cuenta el signo, por ejemplo, $| -2 | = 2 .$)

2.11.3. Otras funciones

Si y es una función general de x , $y = f(x)$, entonces las desviaciones estándar de x e y están relacionadas por:

$$\sigma_y = \left| \sigma_x \frac{dy}{dx} \right| \quad (2.16)$$

EJEMPLO 2.11.3

La absorbancia, A , de una solución viene dada por $A = -\log(T)$ donde T es la transmitancia. Si el valor medido de T es 0.501 con una desviación estándar de 0.001, calcular A y su desviación estándar.

Se tiene:

$$A = -\log 0.501 = 0.300$$

También:

$$\frac{dA}{dT} = -(\log e)/T = -0.434/T$$

de manera que de la ecuación (2.17):

$$s_A = |\sigma_T(-\log e/T)| = |0.001 \times (-0.434/0.501)| = 0.00087$$

Es interesante hacer constar que para este método experimental ampliamente utilizado se pueden encontrar las condiciones para que sea mínima la desviación estándar relativa (RSD). La desviación estándar relativa (DER) de A viene dada por:

$$\text{DER de } A = 100\sigma_A/A = \frac{100\sigma_T \log e}{T \log T}$$

La derivada de esta expresión con respecto a T muestra que la DER de A es mínima cuando $T = 1/e = 0.368$.

2.12. Propagación de errores sistemáticos

Las reglas para la combinación de errores sistemáticos pueden dividirse también en tres grupos.

2.12.1. Combinaciones lineales

Si y se calcula a partir de cantidades medidas usando la ecuación (2.10), y los errores sistemáticos de a , b , c , etc., son Δa , Δb , Δc , etc., entonces el error sistemático de y , Δy , se calcula a partir de:

$$\Delta y = k_a \Delta a + k_b \Delta b + k_c \Delta c + \dots \quad (2.17)$$

Recuérdese que los errores sistemáticos son tanto positivos como negativos y que estos signos deben incluirse en el cálculo de Δy .

El error sistemático total puede ser a veces cero. Supóngase, por ejemplo, que se usa una balanza con un error sistemático de -0.01 g para pesadas utilizadas en la preparación de una solución estándar. Puesto que el peso de soluto utilizado se calcula por diferencia entre dos pesadas, se eliminan los errores sistemáticos. Se debería señalar que esto se aplica sólo a una balanza

electrónica con un único peso de referencia interno. Procedimientos como éste, considerados cuidadosamente, pueden minimizar a menudo los errores sistemáticos, como se describió en el Capítulo 1.

2.12.2. Expresiones multiplicativas

Si y se calcula a partir de cantidades medidas utilizando la ecuación (2.12) entonces se utilizan errores sistemáticos *relativos*:

$$(\Delta y/y) = (\Delta a/a) + (\Delta b/b) + (\Delta c/c) + (\Delta d/d) \quad (2.18)$$

Cuando una cantidad se eleva a alguna potencia, entonces se emplea la ecuación (2.15), con el signo del módulo omitido y las desviaciones estándar se sustituyen por errores sistemáticos.

2.12.3. Otras funciones

La ecuación utilizada es idéntica a la ecuación (2.16) pero con el signo del módulo omitido y las desviaciones estándar se sustituyen por errores sistemáticos.

En cualquier experimento analítico ocurrirán errores aleatorios y sistemáticos. El error combinado estimado del resultado final es referido como la **incertidumbre**. La incertidumbre combina errores sistemáticos y aleatorios y proporciona un intervalo realista de valores dentro del cual está probablemente ubicado el verdadero valor de la cantidad medida. Este tópico se trata con detalle en el Capítulo 4.

Bibliografía

- Altman, D. G. 1991. *Practical Statistics for Medical Research*. Chapman and Hall, London. (Proporciona una discusión completa de la distribución log-normal.)
- Commision on Analytical Nomenclature. 1990. Nomenclature for Sampling in Analytical Chemistry; *Pure and Applied Chemistry* 62:1193.
- Davies, O. L. and Goldsmith, P.L. 1982. *Statistical Methods in Research and Production*. Longman, London. (Da un tratamiento más detallado de la materia objeto de este capítulo.)
- Moritz, P. 1981. Chapter 1 *Comprehensive Analytical Chemistry* Vol. XI, G. Svehla (ed.). Elsevier, Amsterdam. (Este artículo profundiza en la aplicación de la teoría de errores a los métodos analíticos.)
- Skoog, D. A. and West, D. M. 1982. *Fundamentals of Analytical Chemistry*, 4th Ed. Holt Saunders, New York. (Describe el uso de la estadística en la evaluación de datos analíticos.)

Ejercicios

1. Para investigar la reproducibilidad de un método para la determinación de selenio en alimentos, se realizaron nueve medidas sobre un lote de arroz tostado, con los siguientes resultados:

0.07 0.07 0.08 0.07 0.07 0.08 0.08 0.09 0.08 $\mu\text{g g}^{-1}$

(Moreno Domínguez, T., García Moreno, C. and Mariné Font, A. 1983 *Analyst* 108:505)

Calcular la media, desviación estándar y desviación estándar relativa de estos resultados.

2. Siete medidas del pH de una solución reguladora proporcionaron los siguientes resultados:

5.12 5.20 5.15 5.17 5.16 5.19 5.15

Calcular los límites de confianza para el verdadero pH al nivel de confianza del (i) 95 % y (ii) 99 %. (Suponer que no existen errores sistemáticos.)

3. Diez análisis repetidos de la concentración de mercurio en una muestra de condensado de gas comercial proporcionaron los siguientes resultados:

23.3 22.5 21.9 21.5 19.9 21.3 21.7 23.8 22.6 24.7 ng ml^{-1}

(Shafawi, A., Ebdon, L., Foulkes, M., Stockwell, P. and Corns, W. 1999. *Analyst* 124:185)

Calcular la media, desviación estándar, desviación estándar relativa de estos resultados y límites de confianza de la media al 99 %.

Seis análisis repetidos de otra muestra proporcionaron los siguientes valores:

13.8 14.0 13.2 11.9 12.0 12.1 ng ml^{-1}

Repítanse los cálculos para estos valores.

4. Se midió la concentración de plomo en el fluido sanguíneo para una muestra de 50 niños de un gran colegio próximo a una calle concurrida. La media muestral fue 10.12 ng ml^{-1} y la desviación estándar fue 0.64 ng ml^{-1} . Calcular el intervalo de confianza al 95 % para la concentración media de plomo de todos los niños de la escuela.

¿Qué tamaño debería tener la muestra para reducir la longitud del intervalo de confianza a 0.2 ng ml^{-1} (es decir $\pm 0.1 \text{ ng ml}^{-1}$)?

5. Para la evaluación de un método para la determinación de fluoreno en agua de mar, se adicionó a una muestra sintética de agua de mar 50 ng ml^{-1} de fluoreno. Diez muestras repetidas de la concentración de fluoreno en la muestra tuvieron una media de 49.5 ng ml^{-1} con una desviación estándar de 1.5 ng ml^{-1} .

(González, M. A. and López, M. H. 1998. *Analyst* 123:2217)

Calcule los límites de confianza de la media al 95 %. ¿Está el valor adicionado de 50 ng ml^{-1} dentro de los límites de confianza al 95 %?

6. Se utilizó una disolución 0.1 M de ácido para valorar 10 ml de una solución de álcali 0.1 M, registrándose los siguientes volúmenes de ácido:

9.88 10.18 10.23 10.39 10.21 ml

Calcule los límites de confianza de la media al 95 % y utilícelos para decidir si existe alguna evidencia de error sistemático.

7. En este problema se consideran los errores aleatorios involucrados en la preparación de una disolución estándar. Se preparó un volumen de 250 ml de una disolución 0.05 M de un reactivo de peso molecular 40, por diferencia de pesada. La desviación estándar de cada pesada fue 0.0001 g: ¿cuál fue la desviación estándar y desviación estándar relativa del peso de reactivo utilizado? La desviación estándar del volumen de disolvente utilizado fue 0.05 ml. Exprese esto como una desviación estándar relativa. De aquí calcule la desviación estándar relativa de la molaridad de la solución.

Repetir el cálculo para un reactivo de peso molecular 392.

8. El producto de solubilidad del sulfato de bario es 1.3×10^{-10} , con una desviación estándar de 0.1×10^{-10} . Calcular la desviación estándar de la solubilidad calculada del sulfato de bario en agua.

Contrastes de significación

3.1. Introducción

Una de las propiedades más importantes de un método analítico es que debería estar libre de errores sistemáticos. Esto significa que el valor dado para la cantidad de analito debería ser el valor verdadero. Esta propiedad de un método analítico se puede contrastar al aplicar el método *a una muestra de ensayo estándar* que contenga una cantidad conocida de analito (Capítulo 1). Sin embargo, como se vio en el capítulo anterior, incluso si no existieran errores sistemáticos, los errores aleatorios hacen poco probable que la cantidad medida sea exactamente igual *que la cantidad patrón conocida*. Para decidir si la diferencia entre la cantidad medida y la cantidad conocida se puede atribuir a estos errores aleatorios, se puede aplicar una prueba estadística denominada **contraste de significación**. Como su nombre indica, esta aproximación contrasta si son significativas las diferencias entre los dos resultados, o si se pueden justificar sólo por variaciones aleatorias. Los contrastes de significación se utilizan ampliamente en la evaluación de los resultados experimentales. Este capítulo considera varios contrastes que resultan especialmente útiles a los químicos analíticos.

3.2. Comparación de una media experimental con un valor conocido

Al hacer un contraste de significación se prueba la veracidad de una hipótesis denominada **hipótesis nula**, denotada por H_0 . Refiriéndonos al párrafo anterior, adoptamos como hipótesis nula aquella mediante la cual un método analítico no está sujeto a errores sistemáticos. El término *nula* se emplea para indicar que no hay otra diferencia entre el valor observado y el conocido que la atribuible a la variación aleatoria. Suponiendo que esta hipótesis nula es

verdadera, la teoría estadística se puede emplear para calcular la probabilidad de que la diferencia observada (o una superior a ella) entre la media muestral, \bar{x} , y el verdadero valor, μ , se deba solamente a errores aleatorios. Cuanto más pequeña sea la probabilidad de que la diferencia observada ocurra por azar, menos probable será que la hipótesis nula sea verdadera. Normalmente la hipótesis nula se rechaza cuando la probabilidad de que dicha diferencia observada ocurra por azar es menor que 1 en 20 veces (es decir, 0.05 ó 5%). En este caso se dice que la diferencia **es significativa al nivel 0.05 (ó 5%)**. Utilizando este nivel de significación se rechaza, en promedio, la hipótesis nula, aunque sea *de hecho verdadera*, 1 de cada 20 veces. Para estar más seguros de que se toma la decisión adecuada, se puede manejar un nivel de significación más pequeño, normalmente 0.01 ó 0.001 (1% ó 0.1%). El nivel de significación se indica escribiendo, por ejemplo, P (es decir, la probabilidad) = 0.05, y proporciona la probabilidad de rechazar una hipótesis nula cuando ésta es verdadera. Es importante tener en cuenta que si se acepta la hipótesis nula no significa que se haya *probado* que sea verdadera, sólo que no se ha demostrado que sea falsa. Se analizará posteriormente en este mismo capítulo la probabilidad de aceptar una hipótesis nula cuando sea de hecho falsa.

Para decidir si la diferencia entre \bar{x} y μ es significativa, es decir para contrastar H_0 : la media de la población = μ , se calcula el estadístico t :

$$t = (\bar{x} - \mu) / \sqrt{n/s} \quad (3.1)$$

Donde \bar{x} = media muestral, s = desviación estándar muestral y n = tamaño muestral.

Si $|t|$ (es decir, el valor calculado de t sin tener en cuenta el signo) es mayor que un cierto **valor crítico** entonces se rechaza la hipótesis nula. El valor crítico de t para un nivel de significación concreto se encuentra en la Tabla A.2. Por ejemplo, para un tamaño muestral de 10 (es decir, 9 grados de libertad) y un nivel de significación de 0.01 el valor critico es $t_9 = 3.25$, donde, como en el Capítulo 2, el subíndice se utiliza para indicar el número de grados de libertad.

EJEMPLO 3.2.1

En un método nuevo para determinar selenourea en agua, se obtuvieron los siguientes valores para muestras de agua de grifo adicionadas con 50 ng ml^{-1} de selenourea

$$50.4, \quad 50.7, \quad 49.1, \quad 49.0, \quad 51.1 \text{ ng ml}^{-1}$$

(Aller, A. J. and Robles, L. C. 1998. *Analyst* 123:919)

¿Hay alguna evidencia de error sistemático?

La media de estos valores es del 50.06% y la desviación estándar 0.956. Si se adopta

la hipótesis nula de que no hay error sistemático, es decir, $\mu = 50$, al emplear la ecuación (3.1) resulta

$$t = \frac{(50.06 - 50)\sqrt{5}}{0.956} = 0.14$$

De la Tabla A.2, el valor crítico es $t_4 = 2.78$ ($P = 0.05$). Puesto que el valor observado de $|t|$ es menor que el valor crítico, la hipótesis nula se retiene: no hay evidencia de error sistemático. Hay que señalar nuevamente que esto no significa que no existan errores sistemáticos, sino que no se ha podido constatar su existencia.

El uso de valores críticos de tablas estadísticas en contrastes de significación fue adoptado debido a que antiguamente era demasiado tedioso calcular la probabilidad de que t superaría al valor experimental. Las computadoras han alterado tal situación, y normalmente los programas estadísticos proporcionan los resultados de los contrastes de significación en términos de una probabilidad. Si los valores de los datos individuales se introducen en Minitab el resultado de realizar este contraste se muestra a continuación.

t-test of the mean

Test of mu = 50.000 vs mu not = 50.000

Variable	N	Mean	StDev	SE Mean	T	P
Selenour	5	50.060	0.956	0.427	0.14	0.90

Esto proporciona la información adicional que $P(|t| > 0.14) = 0.90$. Puesto que esta probabilidad es muy superior a 0.05, el resultado no es significativo a un $P = 0.05$, de acuerdo con el cálculo previo. Obviamente es una gran ventaja el poder calcular una probabilidad exacta, eliminando la necesidad de tablas estadísticas que contengan valores críticos. Sin embargo, los ejemplos de este libro utilizan valores críticos, ya que puede suceder que no todos los lectores tengan acceso a programas adecuados, y muchos científicos siguen realizando contrastes de significación con ayuda de calculadoras, que normalmente no proporcionan valores de P . Cuando no se proporcionen los valores de los datos individuales no podrán utilizarse, por ejemplo, Minitab o Excel. Sin embargo, cuando puedan realizarse los cálculos utilizando estos programas, se proporcionará también el valor de P .

3.3. Comparación de dos medias experimentales

Los resultados de un método analítico nuevo se pueden contrastar mediante comparación con los obtenidos utilizando un segundo método (quizá uno de referencia). En este caso tenemos dos medias muestrales \bar{x}_1 y \bar{x}_2 . Tomando como hipótesis nula que los dos métodos proporcionen el mismo resultado, es decir $H_0: \mu_1 = \mu_2$, se necesita probar si $(\bar{x}_1 - \bar{x}_2)$ difiere significativamente de cero. Si las dos muestras tienen desviaciones estándar que no son significativamente diferentes (véase la Sección 3.5 en donde se presenta un método para contrastar esta suposición), se puede calcular una estimación conjunta

de la desviación estándar, s , a partir de las dos desviaciones estándar individuales s_1 y s_2 .

Para decidir si la diferencia entre dos medias muestrales, \bar{x}_1 y \bar{x}_2 es significativa, es decir, para contrastar la hipótesis nula, $H_0: \mu_1 = \mu_2$, se calcula el estadístico t :

$$t = \frac{(\bar{x}_1 - \bar{x}_2)}{s \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}} \quad (3.2)$$

donde s se calcula a partir de

$$s^2 = \frac{(n_1 - 1)s_1^2 + (n_2 - 1)s_2^2}{(n_1 + n_2 - 2)} \quad (3.3)$$

y t tiene $n_1 + n_2 - 2$ grados de libertad.

Este método supone que las muestras se extraen de poblaciones con desviaciones estándar iguales.

EJEMPLO 3.3.1

En una comparación de dos métodos para la determinación de cromo en muestras de hierba de centeno se obtuvieron los siguientes resultados (mg Kg^{-1}):

Método 1: Media = 1.48; desviación estándar = 0.28

Método 2: Media = 2.33; desviación estándar = 0.31

Para cada método se realizaron 5 determinaciones.

(Sahuquillo, A., Rubio, R. and Rauret, G. 1999. *Analyst* 124:1)

¿Estos dos métodos proporcionan resultados cuyas medias difieren significativamente?

La hipótesis nula adoptada es que las medias de los resultados dadas por ambos métodos sean las mismas. De la ecuación (3.3), el valor conjunto de la desviación estándar es:

$$s^2 = (5 \times 0.28^2 + 5 \times 0.31^2) / (5 + 5 - 2) = 0.1745$$

$$s = 0.295$$

De la ecuación (3.2):

$$t = \frac{2.33 - 1.48}{0.295 \sqrt{\frac{1}{5} + \frac{1}{5}}} = 4.56$$

Hay 8 grados de libertad, por tanto el valor crítico (Tabla A.2) de t_8 = 2.1 ($P = 0.05$); puesto que el valor experimental de $|t|$ es más grande que éste, la diferencia entre los dos resultados es significativa al nivel del 5% y se rechaza la hipótesis nula. De hecho, ya que el valor crítico de t para $P = 0.01$ es aproximadamente 3.36, la diferencia es significativa incluso al nivel del 1%. En otras palabras, si la hipótesis nula es verdadera, la probabilidad de que esa elevada diferencia se deba al azar es menor que 1 en 100.

Otra aplicación de este contraste se pone de manifiesto en el siguiente ejemplo, empleándose para decidir si un cambio en las condiciones de un experimento afecta al resultado.

EJEMPLO 3.3.2

En una serie de experimentos para la determinación de estaño en productos alimenticios, las muestras fueron llevadas a ebullición con HCl a reflujo para diferentes tiempos. Los resultados fueron:

Tiempo de reflujo (min)	Estaño encontrado (mg Kg ⁻¹)
30	55, 57, 59, 56, 56, 59
75	57, 55, 58, 59, 59, 59

(Analytical Methods Committee, 1983. *Analyst* 108:109)

¿Es significativamente diferente la cantidad media de estaño encontrada para los dos tiempos de ebullición?

La media y la varianza (cuadrado de la desviación estándar) para los dos tiempos son:

$$30 \text{ min } \bar{x}_1 = 57.00 \quad s_1^2 = 2.80$$

$$75 \text{ min } \bar{x}_2 = 57.83 \quad s_2^2 = 2.57$$

La hipótesis nula adoptada es que el tiempo de ebullición no influye sobre la cantidad de estaño encontrada. De la ecuación (3.3) el valor conjunto para la varianza viene dado por:

$$s^2 = (5 \times 2.80 + 5 \times 2.57)/10 = 2.685$$

$$s = 1.64$$

De la ecuación (3.2):

$$t = \frac{57.00 - 57.83}{1.64 \sqrt{\frac{1}{6} + \frac{1}{6}}} = -0.88$$

$$= -0.88$$

Hay 10 grados de libertad, de manera que el valor crítico es $t_{10} = 2.23$ ($P = 0.05$). El valor observado de $|t| (= 0.88)$ es menor que el valor crítico, aceptándose por tanto la hipótesis nula: no hay evidencia de que el período de ebullición afecte a la tasa de recuperación.

La tabla siguiente muestra el resultado de realizar este cálculo con Excel.

Contraste t: dos muestras suponiendo varianzas iguales

	Variable 1	Variable 2
Media	57	57.833
Varianza	2.8	2.567
Observaciones	6	6
Varianza conjunta	2.683	
Diferencia de medias como hipótesis	0	
gl	10	
Estadístico t	-0.881	
$P(T \leq t)$ para una cola	0.199	
Valor t crítico de una cola	1.812	
$P(T \leq t)$ para dos colas	0.399	
Valor t crítico de dos colas	2.228	

La distinción entre «una y dos colas» se cubrirá en la Sección 3.5. En este momento, es suficiente considerar sólo los valores de «dos colas». Estos muestran que $P(|t| > 0.88) = 0.399$. Ya que esta probabilidad es mayor que 0.05, el resultado no es significativo al nivel del 5%.

Cuando sea poco probable que las desviaciones estándar de las poblaciones sean iguales, no es muy apropiado mezclar las desviaciones estándar muestrales para dar una estimación global o conjunto de la desviación estándar. Un método aproximado en estas circunstancias se propone a continuación:

Para contrastar $H_0: \mu_1 = \mu_2$ cuando no puede suponerse que las dos muestras proceden de poblaciones con desviaciones estándar iguales, se calcula el estadístico t donde

$$t = \frac{(\bar{x}_1 - \bar{x}_2)}{\sqrt{\frac{s_1^2}{n_1} + \frac{s_2^2}{n_2}}} \quad (3.4)$$

$$\text{con grados de libertad} = \frac{\left(\frac{s_1^2}{n_1} + \frac{s_2^2}{n_2} \right)^2}{\left(\frac{s_1^4}{n_1^2(n_1 - 1)} + \frac{s_2^4}{n_2^2(n_2 - 1)} \right)} \quad (3.5)$$

redondeándose el valor obtenido a un número entero.

El lector debería ser consciente de que existen varias versiones del número de grados de libertad proporcionadas por la literatura, reflejando el hecho de que el método es una aproximación. El método anterior es el utilizado por Minitab y resulta conservador al establecer un resultado significativo. Por otra parte, Excel, utiliza la ecuación (3.5) pero redondea el valor al del entero más próximo. Por ejemplo, si la ecuación (3.5) da un valor de 4.7, Minitab tomaría 4 grados de libertad y Excel tomaría 5.

EJEMPLO 3.3.3

Los datos de la siguiente tabla proporcionan la concentración de tiol (mM) en el lisado sanguíneo de dos grupos de voluntarios, siendo el primer grupo «normal» y el segundo sufriendo artritis reumatoide.

Normal	1.84, 1.92, 1.94, 1.92, 1.85, 1.91, 2.07
Reumatoide	2.81, 4.06, 3.62, 3.27, 3.27, 3.76

(Banford, J. C., Brown, D. H., McConnell, A. A., McNeil, C. J., Smith, W. E., Hazelton R. A. and Sturrock, R. D. 1983. *Analyst* 107:195)

La hipótesis nula adoptada es que la concentración media de tiol es la misma para los dos grupos.

El lector puede comprobar que:

$$n_1 = 7 \quad \bar{x}_1 = 1.921 \quad s_1 = 0.076$$

$$n_2 = 6 \quad \bar{x}_2 = 3.465 \quad s_2 = 0.440$$

Sustituyendo en la ecuación (3.4) resulta $t = -8.48$ y de la ecuación (3.5) se obtiene 5.3, que es redondeado a 5. El valor crítico es $t_5 = 4.03$ ($P = 0.01$), de manera que se rechaza la hipótesis nula: existe suficiente evidencia para decir que la concentración media de tiol difiere entre los grupos.

El resultado de realizar este cálculo utilizando Minitab (donde la opción por defecto es el contraste sin varianza conjunta) se muestra a continuación.

Two sample t-test and confidence interval

Two sample T for Normal vs Rheumatoid

	N	Mean	StDev	SE Mean
Normal	7	1.9214	0.0756	0.029
Rheumato	6	3.465	0.440	0.18

95% CI for mu Normal - mu Rheumato: (-2.012, -1.08)

T-Test mu Normal = mu Rheumato (vs not =): T = -8.48

P = 0.0004 DF = 5

Esto confirma los valores anteriores y también proporciona la información de que $P(|t| > 8.48) = 0.0004$. Esta probabilidad es extremadamente baja: el resultado es de hecho significativo al nivel $P = 0.001$.

3.4. El contraste t para datos emparejados

A menudo se compararan dos métodos de análisis estudiando muestras de ensayo que contienen sustancialmente diferentes cantidades de analito. Por ejemplo, la Tabla 3.1 proporciona los resultados de la determinación de la concentración de paracetamol (% m/m) en pastillas por dos métodos diferentes. Se analizaron diez pastillas de diez lotes diferentes para ver si diferían los resultados obtenidos por los dos métodos.

Como siempre existe variación entre las medidas debida al error aleatorio de la medida. Además, las diferencias entre las tabletas y entre los métodos pueden contribuir también a la variación entre las medidas. Esto último es lo que interesa en este ejemplo: se desea saber si los métodos producen resultados significativamente diferentes. El contraste para comparar dos medias (Sección 3.3) no es apropiado en este caso porque no separa la variación debida al método de la que resulta de la variación entre las pastillas: se dice que los dos efectos se «confunden». Esta dificultad se soslaya observando la diferencia, d , entre cada par de resultados dados por los dos métodos. Si no existen diferencias entre los dos métodos, entonces estas diferencias se obtienen de una población con media $\mu_d = 0$. Para probar la hipótesis nula, se prueba si \bar{d} difiere significativamente de cero utilizando el estadístico t .

Tabla 3.1. Ejemplo de datos emparejados.

Lote	Ensayo espectrométrico UV	Espectroscopía de reflectancia en el infrarrojo cercano
1	84.63	83.15
2	84.38	83.72
3	84.08	83.84
4	84.41	84.20
5	83.82	83.92
6	83.55	84.16
7	83.92	84.02
8	83.69	83.60
9	84.06	84.13
10	84.03	84.24

(Trafford, A. D., Jee, R. D., Moffat, A. C. and Graham, P. 1999. *Analyst* 124:163.)

Para contrastar si n resultados emparejados se extraen de la misma población, es decir, $H_0: \mu_d = 0$, se calcula el estadístico t :

$$t = \bar{d} / \sqrt{n}/s_d \quad (3.6)$$

donde \bar{d} y s_d son la media y desviación estándar, respectivamente, de d , la diferencia entre los valores que forman cada par.

El número de grados de libertad de t es $n - 1$.

EJEMPLO 3.4.1

Contrátese si existe diferencia significativa entre los resultados obtenidos por los dos métodos de la Tabla 3.1.

Las diferencias entre los pares de valores (restando el segundo valor del primero) son:

$$\begin{array}{ccccccc} +1.48, & +0.66, & +0.24, & +0.21, & -0.10, & -0.61, & -0.10, \\ & & & & +0.09, & -0.07, & -0.21 \end{array}$$

Estos valores tienen media, $\bar{d} = 0.159$ y desviación estándar, $s_d = 0.570$. Sustituyendo en la ecuación (3.6), con $n = 10$, el valor de $t = 0.88$. El valor crítico es $t_g = 2.26$ ($P = 0.05$). Puesto que el valor calculado de $|t|$ es menor que éste, no se rechaza la hipótesis nula: los métodos no proporcionan resultados significativamente diferentes para la concentración de paracetamol.

De nuevo este cálculo se puede realizar con computadora, dando el resultado que $P(|t| \geq 0.882) = 0.40$. Ya que esta probabilidad es mayor que 0.05, se llega a las mismas conclusiones: los dos métodos no difieren significativamente al nivel $P = 0.05$.

Los contrastes por parejas descritos anteriormente no requieren que las precisiones de los dos métodos sean iguales, sino que suponen que las diferencias, d , están distribuidas normalmente. En efecto, esto exige que cada conjunto de medidas se distribuya normalmente y que la precisión y sesgo

(si acaso) de cada método sean constantes en el intervalo de valores en que se realizaron las medidas. Los datos pueden constar de medidas individuales, como en el Ejemplo 3.4.1, o de medias de medidas repetidas. Sin embargo, es necesario que se realice el mismo número de medidas sobre cada muestra por el primer método y análogamente por el segundo método: es decir, n medidas de cada muestra por el método 1 y m por el método 2, donde m y n no tienen porque ser iguales.

Hay diferentes circunstancias por las cuales puede ser necesario o deseable diseñar un experimento, de manera que cada muestra sea analizada por cada uno de los dos métodos, proporcionando resultados que están emparejados de forma natural. Algunos ejemplos son:

1. La cantidad de muestra disponible a examen es suficiente para sólo una determinación por cada método.
2. Las muestras a examen pueden presentarse durante un extenso período de tiempo por lo que es necesario eliminar los efectos de las variaciones en condiciones ambientales como temperatura, presión, etc.
3. Los métodos se van a comparar utilizando una amplia variedad de muestras de diferente procedencia y posiblemente con concentraciones muy distintas (véase el próximo párrafo).

Ya que los métodos analíticos se aplican habitualmente sobre un amplio intervalo de concentraciones, a menudo se compara un método nuevo con otro estándar mediante el análisis de muestras donde la concentración del analito puede variar a lo largo de varias potencias de diez. En este caso es inadecuado utilizar el contraste t por parejas ya que su validez se apoya en el supuesto de que cualquier error, ya sea aleatorio o sistemático, es independiente de la concentración. Este supuesto puede no ser cierto cuando se manejan amplios intervalos de concentración. Un método alternativo en dichos casos es la regresión lineal (véase la Sección 5.9) aunque esta aproximación también presenta dificultades.

3.5. Contrastes de una y dos colas

Los métodos que se han analizado hasta el momento en este capítulo se refieren al contraste de la diferencia entre dos medias en cualquier dirección. Por ejemplo, el método descrito en la Sección 3.2 contrasta si existe diferencia significativa entre el resultado experimental y el valor conocido para el material de referencia, sin tener en cuenta el signo de la diferencia. En muchas situaciones de este tipo el analista no tiene una idea preconcebida, previa a las mediciones experimentales, en cuanto a si la diferencia entre la media experimental y el valor de referencia será positiva o negativa. Así pues, el contraste utilizado debe cubrir cualquier posibilidad. Dicho contraste se denomina **de dos colas** (o **bilateral**). Sin embargo, en algunos casos, puede ser apropiado otro tipo de contraste diferente. Considérese, por ejemplo, un experimento en el que se espera aumentar la velocidad de reacción añadiendo un catalizador. En este caso, es evidente que antes de empezar el experimento el único resultado que interesa es si la nueva velocidad es mayor que la anterior y, por tanto, sólo es necesario contrastar un aumento.

Este tipo de contraste se llama **de una cola** (o **unilateral**). Para un valor dado de n y un nivel de probabilidad concreto, el valor crítico para un contraste unilateral difiere del de un contraste bilateral. En una prueba unilateral para un incremento, el valor crítico de t (en lugar de $|t|$) para $P = 0.05$ es aquel que es superado con una probabilidad del 5 %. Puesto que la distribución muestral de la media se supone que es simétrica, esta probabilidad es el doble de la probabilidad que es relevante en el contraste bilateral. De esta forma para encontrar el valor adecuado para el contraste de una cola se busca en la columna de $P = 0.10$ en la Tabla A.2. De manera similar, para un contraste de una cola al nivel $P = 0.01$, se emplea la columna 0.02. Si se tratase de una disminución, el valor crítico de t será de la misma magnitud pero con signo negativo. Si el contraste se lleva a cabo con la computadora, será necesario indicar si se requiere un contraste uni o bilateral.

EJEMPLO 3.5.1

Se sospecha que un método de valoración ácido-base tiene un error de indicador significativo y, por tanto, tiende a dar resultados con un error sistemático positivo (es decir, sesgo positivo). Para comprobar esto se utiliza una disolución exactamente 0.1 M de ácido para valorar 25.00 ml de otra disolución exactamente 0.1 M de una base, con los siguientes resultados (ml):

25.06 25.18 24.87 25.51 25.34 25.41

Contrastar la existencia de sesgo positivo en estos resultados.

De estos datos se tiene:

$$\text{media} = 25.228 \text{ ml}; \text{desviación estándar} = 0.238 \text{ ml}$$

Adoptando la hipótesis nula de que no hay ningún sesgo, es decir, $H_0: \mu = 25.00$, utilizando la Ecuación (3.1) resulta:

$$t = (25.228 - 25.00) \times \sqrt{6}/0.238 = 2.35$$

De la Tabla A.2 el valor crítico es $t_5 = 2.02$ ($P = 0.05$, contraste de una cola). Puesto que el valor observado de t es mayor que éste se rechaza la hipótesis nula y hay evidencia de sesgo positivo.

Utilizando una computadora resulta que $P(t \geq 2.35) = 0.033$. Ya que este valor es menor que 0.05, el resultado es, como antes, significativo al nivel $P = 0.05$.

Es interesante observar que si en el ejemplo anterior se hubiera hecho un contraste de dos colas (para el que el valor crítico de $t_5 = 2.57$), ¡no se habría rechazado la hipótesis nula! La explicación de este hecho, aparentemente contradictorio, reside en que la decisión de realizar un contraste de una o dos colas depende del grado de conocimiento previo, ya que en este caso se sospechaba o esperaba sesgo positivo. Obviamente es esencial que la decisión sobre si el contraste es de una o dos colas se tome antes de realizar el experimento, y no después, cuando los resultados podrían prejuzgar la elección. En general se encontrarán más situaciones en las que se empleen contrastes de dos colas que de una cola. Se identificarán con facilidad aquellas circunstancias relativamente raras en las que sea necesario emplear contrastes de una cola.

3.6. El contraste *F* para la comparación de desviaciones estándar

Los contrastes de significación descritos hasta ahora se utilizan para comparar medias y, por tanto, para detectar errores sistemáticos. En muchos casos es también importante comparar las desviaciones estándar, es decir, los errores aleatorios de dos conjuntos de datos. Esta comparación, como en el caso de los contrastes de medias, puede tomar dos formas. Se puede pretender probar si el Método A es más preciso que el Método B (es decir, un contraste de una cola) o si los Métodos A y B difieren en su precisión (es decir, un contraste de dos colas). Por ejemplo, si quisieramos contrastar si un método analítico nuevo es más preciso que un método patrón deberíamos utilizar el contraste de una cola: si quisieramos contrastar si dos desviaciones estándar difieren significativamente (por ejemplo, antes de aplicar el contraste *t*; véase la Sección 3.3 anterior) sería adecuado un contraste de dos colas.

El contraste *F* considera la razón de las dos varianzas muestrales, es decir, la razón de los cuadrados de las desviaciones estándar, s_1^2/s_2^2 .

Para probar si es significativa la diferencia entre dos varianzas muestrales, esto es, para probar $H_0: \sigma_1^2 = \sigma_2^2$, se calcula el estadístico *F*:

$$F = s_1^2/s_2^2 \quad (3.7)$$

donde 1 y 2 se disponen en la ecuación de modo que *F* sea siempre ≥ 1 .

El número de grados de libertad del numerador y denominador son $n_1 - 1$ y $n_2 - 2$, respectivamente.

El contraste supone que las poblaciones de donde se extraen las muestras son normales.

Si la hipótesis nula es verdadera entonces la relación de varianzas debería ser próxima a 1. Las diferencias respecto de 1 se deben a variaciones aleatorias, pero si la diferencia es demasiado grande no se podrá achacar a esta causa. Si el valor calculado de *F* supera un cierto valor crítico (obtenido de las tablas) entonces se rechaza la hipótesis nula. Este valor crítico de *F* depende del tamaño de las dos muestras, del nivel de significación y del tipo de contraste realizado. Los valores para $P = 0.05$ vienen dados en el Apéndice 2 de la Tabla A.3 para un contraste de una cola y en la Tabla A.4 para un contraste de dos colas; el uso de estas tablas se aclara en los siguientes ejemplos.

EJEMPLO 3.6.1

Se comparó un método propuesto para la determinación de la demanda química de oxígeno en aguas residuales con otro método patrón (sales de mercurio). Los siguientes resultados fueron obtenidos para una muestra de aguas residuales:

	Media ($mg\ l^{-1}$)	Desviación estándar ($mg\ l^{-1}$)
Método patrón	72	3.31
Método propuesto	72	1.51

Para cada método se realizaron ocho determinaciones.
(Ballinger, D., Lloyd, A. and Morrish, A. 1982. *Analyst* 107:1047)

¿Es la precisión del método propuesto significativamente más grande que la del método estándar?

Se debe decidir si la varianza del método patrón es significativamente mayor que la del método propuesto. F viene dado por la razón de varianzas:

$$F = \frac{3.31^2}{1.51^2} = 4.8$$

Este es el caso donde se debe utilizar el contraste de una cola, ya que sólo nos interesa si el método propuesto es más preciso que el método patrón. En la Tabla A.3 el número de grados de libertad del denominador viene dado en la columna de la izquierda y el número de grados de libertad del numerador en la parte superior. Las dos muestras contienen ocho valores, por tanto el número de grados de libertad es 7 en cada caso. El valor crítico de es $F_{7,7} = 3.787$ ($P = 0.05$), donde los subíndices indican el número de grados de libertad del numerador y denominador, respectivamente. Ya que el valor calculado de F (4.8) excede a éste, la varianza del método patrón es significativamente mayor que la del método propuesto a un nivel de probabilidad del 5%, es decir, el método propuesto es más preciso.

EJEMPLO 3.6.2

En el Ejemplo 3.3.1 se supuso que las varianzas de los dos métodos para determinar cromo en hierba de centeno no diferían significativamente. Este supuesto se puede contrastar ahora. Las desviaciones estándar eran 0.28 y 0.31 (cada una obtenida de cinco medidas de un ejemplar de una planta determinada). Calculando F de forma que sea mayor que 1, se tiene:

$$F = \frac{0.31^2}{0.28^2} = 1.23$$

Sin embargo en este caso, no hay, de antemano, ninguna razón para esperar que la varianza de un método deba ser mayor que la del otro, resultando por ello adecuado un contraste de dos colas. Los valores críticos que proporciona la Tabla A.3 son los valores que F supera con una probabilidad de 0.05, suponiendo que tienen que ser mayores que 1. En un contraste de dos colas, la razón entre una varianza y otra podría ser mayor o menor que 1, pero si F se calcula de manera que sea siempre mayor que 1, entonces la probabilidad de que supere el valor crítico dado en la Tabla A.3 será el doble. Por ello, estos valores críticos no son apropiados para un contraste de dos colas y en su lugar se emplea la Tabla A.4. De esta tabla, tomando 4 como el número de grados de libertad de numerador y denominador, el valor crítico es $F_{4,4} = 9.605$. El valor calculado es menor que éste, por tanto no hay diferencia significativa entre las dos varianzas a un nivel del 5%.

Como en el caso del contraste t , se pueden emplear otros niveles de significación en el contraste F y los valores críticos se encuentran en las tablas listadas en la bibliografía al final del Capítulo 1. Hay que tener cuidado en la elección de la Tabla correcta dependiendo de si es un contraste de una o dos colas: para un $\alpha\%$ de nivel de significación, se utilizan los $2\alpha\%$ puntos de la distribución F para un contraste de una cola, mientras que para un contraste de dos colas se utilizan los puntos $\alpha\%$. Si se utiliza una computadora será posible obtener un valor de P . Hay que tener presente que Excel

sólo lleva a cabo contraste F de una cola, siendo necesario introducir la muestra con la varianza más grande como primera muestra. Minitab no proporciona un contraste F para comparar las varianzas de dos muestras.

3.7. Datos anómalos

Es muy frecuente encontrarse con la situación en que uno (o posiblemente más) de los resultados que se obtienen de un conjunto de medidas difiera del resto de forma inexplicable. Por esta razón estas medidas se denominan resultados anómalos («outliers»). En algunos casos, un resultado anómalo puede atribuirse a un error humano. Por ejemplo, si se obtienen los siguientes resultados en una valoración:

12.12, 12.15, 12.13, 13.14, 12.12 ml

entonces es casi seguro que el cuarto valor corresponda a un error en la escritura y que debería leerse 12.14. Sin embargo, incluso cuando los datos que son obviamente erróneos hayan sido eliminados o corregidos, todavía quedan datos que pudieran ser anómalos. ¿Deberíamos conservarlos, o deberíamos buscar algún procedimiento para comprobar estadísticamente si deben ser rechazados o no? Obviamente, los valores finales de la media y la desviación estándar dependerán de si los datos anómalos han sido rechazados o no. Puesto que la discusión sobre la precisión y la exactitud de un método depende de estos valores finales, tiene que quedar claro siempre si los datos anómalos han sido rechazados y, si es así, por qué.

El **contraste de Dixon** (a veces llamado **contraste Q**) es un contraste popular para datos anómalos debido a que el cálculo es simple. Para pequeñas muestras (tamaños de 3 a 7) el contraste evalúa una medida sospechosa comparando la diferencia entre ella y la medida más próxima en tamaño, con el intervalo de las medidas. (Para muestras más grandes la forma del contraste se modifica ligeramente. Al final del capítulo se proporciona una referencia que contiene detalles adicionales.)

Para usar el contraste de Dixon para un valor anómalo, esto es, para probar H_0 : todas las medidas proceden de la misma población, se calcula el estadístico Q :

$$Q = \frac{|\text{valor sospechoso} - \text{valor más cercano}|}{(\text{valor más grande} - \text{valor más pequeño})} \quad (3.8)$$

Este contraste es válido para tamaños de muestra de 3 a 7 y supone que la población es normal.

Los valores críticos de Q para $P = 0.05$ se encuentran en la Tabla A.5. Si el valor de Q calculado supera el valor crítico, se rechaza el valor sospechoso. Los valores dados son para un contraste de dos colas, el cual es apropiado cuando no se conoce de antemano el extremo al que puede darse el valor anómalo.

EJEMPLO 3.7.1

Se obtuvieron los siguientes valores para la concentración de nitrito (mg l^{-1}) en una muestra de agua de río:

$$0.403, \quad 0.410, \quad 0.401, \quad 0.380$$

La última medida es sospechosa, ¿debería ser rechazada?

Se tiene que:

$$Q = |0.380 - 0.401| / (0.410 - 0.380) = 0.021 / 0.03 = 0.7$$

De la Tabla A.5, para un tamaño de muestra de 4, el valor crítico de la Q es 0.831 ($P = 0.05$). Ya que el valor calculado de la Q no lo supera, debe aceptarse que la medida sospechosa no es una observación anómala.

En una situación ideal, habría que tomar nuevas medidas cuando aparezca un valor sospechoso, especialmente si inicialmente sólo se han tomado unos pocos valores. Esto puede aclarar si debería rechazarse o no el valor sospechoso, y si se mantuviera, también reduciría en cierta medida su efecto sobre la media y la desviación estándar.

EJEMPLO 3.7.2

Si se añaden tres nuevas medidas a las dadas en el ejemplo anterior, quedaría:

$$0.403, \quad 0.410, \quad 0.401, \quad 0.380, \quad 0.400, \quad 0.413, \quad 0.411$$

¿Se debería aún mantener 0.380?

El valor de la Q calculado es ahora:

$$Q = |0.380 - 0.400| / (0.413 - 0.380) = 0.606$$

El valor crítico de la Q para un tamaño muestral 7 es 0.570, por lo que se rechaza que la medida sospechosa no sea anómala al nivel de significación del 5%.

Otro contraste utilizado frecuentemente para datos anómalos es el **contraste de Grubbs**, que compara la desviación entre el valor sospechoso y la media muestral, con la desviación estándar de la muestra. Este contraste lo recomienda ISO preferentemente al de Dixon.

Para usar el contraste de Grubbs para un valor anómalo, esto es, para probar H_0 : todas las medidas proceden de la misma población, se calcula el estadístico G :

$$G = |\text{valor sospechoso} - \bar{x}| / s \quad (3.9)$$

donde s se calcula incluyendo el valor sospechoso.

El contraste supone que la población es normal.

Los valores críticos de G para $P = 0.05$ se encuentran en la Tabla A.6. Si el valor de G calculado supera al valor crítico, se rechaza la hipótesis de que el dato sospechoso no es anómalo.

EJEMPLO 3.7.3

Aplicar el contraste de Grubbs a los datos del ejemplo anterior.

Los siete valores tienen $\bar{x} = 0.4026$ y $s = 0.01121$

$$G = |0.380 - 0.4026| / 0.01121 = 2.016$$

El valor crítico ($P = 0.05$) es 2.02. A diferencia del contraste de Dixon, el valor sospechoso 0.380 no se rechaza: estos resultados contradictorios no son infrecuentes en contrastes de datos anómalos.

Es importante tener en cuenta que para un nivel de significación del 5 % hay todavía un 5 % de riesgo, o 1 de cada 20, de rechazar incorrectamente el valor sospechoso. Esto puede tener un efecto considerable a la hora de estimar la precisión de un experimento. Por ejemplo, para los 7 valores de la concentración de nitrito dados anteriormente, la desviación estándar es 0.0112 mg l^{-1} , pero cuando se rechaza el valor sospechoso la desviación estándar se convierte en 0.0056 mg l^{-1} , es decir, la precisión parece haber mejorado en un factor de 2.

El ejemplo anterior aclara la importancia de ser cauto al rechazar datos anómalos. Cuando las medidas se repiten sólo unas pocas veces (lo que es normal en un trabajo analítico), el rechazo de un valor origina una gran variación sobre la media y sobre la desviación estándar. En concreto, el hecho de tomar tres medidas y rechazar la que difiere más de las otras dos debe evitarse. Se puede demostrar que se obtiene una estimación más fiable de la media, en promedio, utilizando el valor que está en medio de los tres que utilizando la media de los dos que no fueron rechazados.

Si un conjunto de datos contiene dos o más resultados sospechosos, al decidir si se justifica el rechazo, surgen otras complicaciones. La Figura 3.1 ilustra en forma de diagrama de puntos dos ejemplos de tales dificultades. En la Figura 3.1 (a) hay dos resultados (2.9 y 3.1), los cuales son altamente sospechosos al compararlos con la media de los datos, incluso si Q fuese calculado de forma no crítica utilizando la ecuación (3.8) se obtendría:

$$Q = (3.1 - 2.9) / (3.1 - 2) = 0.18$$

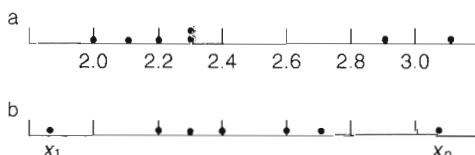


Figura 3.1. Diagrama de puntos para ilustrar el problema del manejo de datos anómalos: (a) cuando existen dos datos sospechosos en el extremo superior de los datos de la muestra; y (b) cuando existen dos datos sospechosos uno en cada extremo de los datos.

valor que no es significativo ($P = 0.05$). Claramente el posible valor anómalo 3.1 ha sido **enmascarado** por el otro valor anómalo posible, 2.9, dando un valor de Q pequeño. Una situación diferente se muestra en la Figura 3.1 (b), donde los dos datos sospechosos están en lugares opuestos del conjunto de datos. Esto trae consigo un valor grande para el intervalo. Como resultado Q es pequeño y, por tanto, no significativo. Las extensiones del contraste de Grubbs proporcionan contrastes para parejas de datos anómalos. Entre las referencias al final de este capítulo se pueden encontrar detalles adicionales relacionados con datos anómalos múltiples.

Los contrastes de datos anómalos descritos anteriormente suponen que las muestras proceden de una distribución normal. Es importante señalar que un resultado que parece ser un valor anómalo suponiendo una población con distribución normal, puede que no sea un valor anómalo si la muestra procede realmente de (por ejemplo) una distribución log-normal (Sección 2.3). Por tanto, los contrastes descritos no se deberían emplear si se sospecha que la población pueda no tener una distribución normal. Esta dificultad, junto con otras que surgen en el caso de datos anómalos múltiples, explican el uso creciente de los métodos estadísticos no paramétricos y robustos descritos en el Capítulo 6. Estos últimos son insensibles a datos extremos, o al menos tienen poco peso en los cálculos, evitándose el problema de si se rechazan o no los datos anómalos.

3.8. Análisis de la varianza

En la Sección 3.3 se describió un método para comparar dos medias y contrastar si diferían significativamente. En el trabajo analítico se suelen presentar a menudo comparaciones en las que intervienen más de dos medias. Algunas situaciones posibles de este tipo son: comparar la concentración media de proteína en solución para muestras almacenadas en condiciones diferentes; comparar los resultados medios obtenidos de la concentración de un analito utilizando diferentes métodos; y comparar la media de los resultados en una valoración obtenidos por diferentes operadores usando los mismos aparatos. En todos estos ejemplos hay dos posibles fuentes de variación. La primera, que siempre está presente, es debida al error aleatorio en la medida. Esto se discutió con detalle en el capítulo anterior: este tipo de error provoca el que se obtenga un resultado diferente, cada vez que se repite una medida bajo las mismas condiciones. La segunda fuente de variación posible se debe a lo que se conoce como **factor controlado o de efecto fijo**. Para los ejemplos anteriores los factores de control son, respectivamente, las condiciones bajo las cuales se almacenó la disolución, el método de análisis empleado, y los operadores que realizaron la valoración. El análisis de la varianza (abreviado con frecuencia como **ANOVA**) es una técnica estadística muy potente que se utiliza para separar y estimar las diferentes causas de variación. Para los ejemplos concretos anteriores, se puede utilizar para separar la variación debida al error aleatorio de cualquier otra variación que venga provocada al cambiar el factor de control. De este modo se puede contrastar si una alteración del factor de control conduce a diferencias significativas entre los valores medios obtenidos.

También se pueden emplear las técnicas ANOVA en situaciones donde hay más de una fuente de variación aleatoria. Por ejemplo, considérese la pureza del cloruro sódico contenido en un barril. Las muestras se toman, elegidas al azar, de diferentes partes del barril, y se realizan análisis repetidos de las muestras. Además del error aleatorio en la medida de la pureza, habrá también diferencias en la pureza de las muestras tomadas de distintas partes del barril. Puesto que las muestras se eligieron al azar, esta variación será aleatoria y a veces se conoce como **factor de efecto aleatorio**. Nuevamente, se puede utilizar ANOVA para separar y estimar las fuentes de variación. Ambos tipos de análisis estadísticos descritos anteriormente, es decir, donde hay un factor, ya sea controlado o aleatorio, además del error aleatorio de las medidas, se conocen como ANOVA de un factor. Los procedimientos aritméticos son similares en los casos del factor de efecto fijo y aleatorio: ejemplos del primer caso se presentan en este capítulo y del segundo en el próximo, donde el muestreo se trata con más detalle. Situaciones más complejas en las que existen dos o más factores, posiblemente interactuando entre sí, se consideran en el Capítulo 7.

3.9. Comparación de varias medias

La Tabla 3.2 muestra los resultados obtenidos en una investigación sobre la estabilidad de un reactivo fluorescente bajo diferentes condiciones de almacenamiento. Los valores proporcionados son las señales de fluorescencia (en unidades arbitrarias) de soluciones diluidas de la misma concentración. Se tomaron tres medidas sobre cada muestra. La tabla muestra que los valores medios de las cuatro muestras son diferentes. Sin embargo, se sabe que debido al error aleatorio, incluso si el valor verdadero que se quiere medir no ha variado, la media muestral puede variar de una muestra a otra. El método **ANOVA** contrasta si la diferencia entre las medias muestrales es demasiado grande para explicarse mediante errores aleatorios.

La Figura 3.2 muestra un diagrama de puntos comparando los resultados obtenidos en diferentes condiciones. Esto sugiere que existe poca diferencia entre las condiciones A y B, si bien las condiciones de C y D difieren de las de A y B y entre sí.

El problema se puede generalizar al caso de considerar h muestras, cada una con n elementos, como se expone en la Tabla 3.3 donde x_{ij} es la j -ésima medida de la i -ésima muestra. Las medias de las muestras son $\bar{x}_1, \bar{x}_2, \dots, \bar{x}_h$ y la media de todos los valores agrupados juntos es \bar{x} . La hipótesis nula adop-

Tabla 3.2. Fluorescencia de soluciones almacenadas en diferentes condiciones.

Condiciones	Medidas repetidas	Media
A: preparada recientemente	102, 100, 101	101
B: almacenada una hora en la oscuridad	101, 101, 104	102
C: almacenada una hora con luz tenue	97, 95, 99	97
D: almacenada una hora con luz brillante	90, 92, 94	92
		Media global: 98

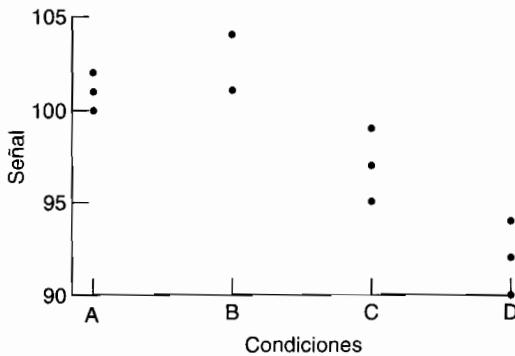


Figura 3.2. Diagrama de puntos de los resultados de la Tabla 3.2.

Tabla 3.3. Generalización de la Tabla 3.2.

	Media						
Muestra 1	x_{11}	x_{12}	\dots	x_{1j}	\dots	x_{1n}	\bar{x}_1
Muestra 2	x_{21}	x_{22}	\dots	x_{2j}	\dots	x_{2n}	\bar{x}_2
	\vdots	\vdots		\vdots		\vdots	\vdots
Muestra i	x_{i1}	x_{i2}	\dots	x_{ij}	\dots	x_{in}	\bar{x}_i
	\vdots	\vdots		\vdots		\vdots	\vdots
Muestra h	x_{h1}	x_{h2}	\dots	x_{hj}	\dots	x_{hn}	\bar{x}_h
Media global = \bar{x}							

tada es que todas las muestras se extraen de una población con media μ y varianza σ_0^2 . Bajo esta hipótesis, σ_0^2 se puede estimar de dos formas, una estudia la variación *dentro* de muestras y la otra la variación *entre* muestras.

1. Variación dentro de muestras

Para cada muestra se puede calcular una varianza utilizando la fórmula:

$$\sum (x_i - \bar{x})^2 / (n - 1) \quad [\text{véase la ecuación (2.2)}]$$

Usando los valores de la Tabla 3.2 se tiene:

$$\text{Varianza de la Muestra A} = \frac{(102 - 101)^2 + (100 - 101)^2 + (101 - 101)^2}{(3 - 1)} = 1$$

$$\text{Varianza de la Muestra B} = \frac{(101 - 102)^2 + (101 - 102)^2 + (104 - 102)^2}{(3 - 1)} = 3$$

De manera similar se puede demostrar que las muestras C y D tienen ambas varianzas de 4.

Promediando estos valores resulta:

$$\text{Estimación dentro de muestras de } \sigma_0^2 = (1 + 3 + 4 + 4) / 4 = 3$$

Esta estimación tiene 8 grados de libertad: la estimación de cada muestra tiene 2 grados de libertad y hay 4 muestras. Constátese el hecho de que esta estimación no depende de las medias de las muestras: por ejemplo, si todas las medidas de la muestra A se incrementarán en 4 unidades, no variaría la estimación de σ_0^2 .

La fórmula general para la estimación de σ_0^2 dentro de muestras es:

$$\text{Estimación dentro de muestras de } \sigma_0^2 = \sum_i \sum_j (x_{ij} - \bar{x}_i)^2 / h(n - 1) \quad (3.10)$$

El sumatorio sobre j y la división por $(n - 1)$ proporciona varianza de cada muestra; el sumatorio sobre i y la división por h promedia estas varianzas muestrales. La expresión de la ecuación (3.10) se denomina un **cuadrado medio** (CM), puesto que conlleva una suma de términos cuadráticos (SC) dividida por el número de grados de libertad. Ya que en este caso el número de grados de libertad es 8 y el cuadrado medio es 3, la suma de los términos cuadráticos es $3 \times 8 = 24$.

2. Variación entre muestras

Si todas las muestras se extraen de una población cuya varianza es σ_0^2 , entonces sus medias proceden de una población con varianza σ_0^2/n (véase la distribución muestral de la media, Sección 2.5). Así pues, si la hipótesis nula es verdadera, la varianza de las medias de las muestras proporciona una estimación de σ_0^2/n . De la Tabla 3.2:

$$\text{Varianza de la media muestral} =$$

$$= \frac{(101 - 98)^2 + (102 - 98)^2 + (97 - 98)^2 + (92 - 98)^2}{(4 - 1)} \\ = 62/3$$

De manera que la estimación de σ_0^2 es $(\frac{62}{3}) \times 3 = 62$. Esta estimación tiene 3 grados de libertad ya que se ha calculado a partir de cuatro medias muestrales. Nótese que esta estimación de σ_0^2 no depende de la variabilidad dentro de cada muestra, ya que se calcula a partir de medias muestrales.

Sin embargo si, por ejemplo, la media de la muestra D cambiase, entonces esta estimación de σ_0^2 también cambiaría.

En general se tiene:

$$\text{Estimación de } \sigma_0^2 \text{ entre muestras} = n \sum_i (\bar{x}_i - \bar{x})^2 / (h - 1) \quad (3.11)$$

que al ser un «cuadrado medio» supone dividir una suma de términos cuadráticos entre el número de grados de libertad. En este caso el número de grados de libertad es 3 y el cuadrado medio 62, por lo que la suma de los términos cuadráticos es $3 \times 62 = 186$.

Resumiendo los cálculos realizados hasta aquí:

Cuadrado medio dentro de las muestras = 3 con 8 g.l.

Cuadrado medio entre muestras = 62 con 3 g.l.

Si la hipótesis nula es correcta, estas dos estimaciones de σ_0^2 no deberían diferir significativamente. Si es incorrecta, la estimación entre muestras de σ_0^2 será mayor que la estimación dentro de las muestras debido a la variación

entre muestras. Para contrastar si la estimación entre muestras es significativamente más grande se utiliza un contraste F de una cola (Sección 3.6):

$$F = 62/3 = 20.7$$

(Recuérdese que se utiliza cada *cuadrado* medio, de ahí que no sea necesario elevar al cuadrado posteriormente.) De la Tabla A.3 el valor crítico de F es 4.066 ($P = 0.05$). Puesto que el valor calculado de F es mayor que éste, se rechaza la hipótesis nula: las medias muestrales difieren significativamente.

Un resultado significativo en un ANOVA de un factor se puede alcanzar por varias razones diferentes: por ejemplo, que una media pueda diferir de todas las demás, que todas las medias puedan diferir entre sí, que las medias puedan estar en dos grupos distintos, etc. Una forma sencilla para explicar un resultado significativo es colocar las medias en orden creciente y comparar la diferencia entre los valores adyacentes con una cantidad llamada **la mínima diferencia significativa**. Esta viene dada por:

$$s \sqrt{\left(\frac{2}{n}\right)} \times t_{h(n-1)}$$

donde s es la estimación dentro de muestras de σ_0 y $h(n-1)$ es el número de grados de libertad de esta estimación. Para el ejemplo anterior, las medias muestrales ordenadas en orden creciente de tamaño son:

$$\bar{x}_D = 92 \quad \bar{x}_C = 97 \quad \bar{x}_A = 101 \quad \bar{x}_B = 102$$

y la mínima diferencia significativa es $\sqrt{3} \times \sqrt{2/3} \times 2.306$ ($P = 0.05$), dando 3.26. Al comparar este valor con las diferencias entre las medias, sugiere que las condiciones de D y C dan resultados que difieren significativamente entre sí y también difieren de los resultados obtenidos en las condiciones A y B. Sin embargo, los resultados obtenidos en las condiciones A y B no difieren significativamente entre sí. Esto confirma lo que se sugirió mediante el diagrama de puntos de la Figura 3.2 e indica que lo que afecta a la fluorescencia es la exposición a la luz.

El método de la mínima diferencia significativa descrito anteriormente no es totalmente riguroso: se demuestra que conduce a demasiadas diferencias significativas. Sin embargo, es un contraste de ejecución simple cuando el ANOVA indica que hay diferencias significativas entre las medias. Otros métodos más rigurosos se describen en la bibliografía al final de este capítulo.

3.10. La aritmética de los cálculos ANOVA

En el cálculo ANOVA anterior se estimó σ_0^2 de dos formas distintas. Si la hipótesis nula fuese verdadera, σ_0^2 también podría estimarse de una tercera forma tratando los datos como si fuera una muestra grande. Esto implicaría sumar los cuadrados de las desviaciones a la media total:

$$\sum_i \sum_j (x_{ij} - \bar{x})^2 = 4^2 + 2^2 + 3^2 + 3^2 + 3^2 + 6^2 + 1^2 + 3^2 + 1^2 + 1^2 + 8^2 + 6^2 + 4^2 \\ = 210$$

y dividir por el número de grados de libertad, $12 - 1 = 11$.

Este método de estimar σ_0^2 no se utiliza en el análisis debido a que la estimación depende de las dos variaciones: dentro y entre muestras. Sin embargo, existe una relación algebraica exacta entre esta variación total y las fuentes de variación que contribuyen a ella. Esto, especialmente en los cálculos más complicados de ANOVA, conduce a una simplificación del trabajo aritmético. En la Tabla 3.4 se muestra la relación entre las fuentes de variación y también se resumen las sumas de cuadrados y los grados de libertad. Se observará que los valores de la variación total, dados en la última fila de la tabla, son la suma de los valores de las dos primeras filas tanto para la suma de cuadrados como para los grados de libertad. Esta propiedad aditiva se mantiene para todos los cálculos ANOVA descritos en este libro.

Tabla 3.4. Resumen de sumas de cuadrados y grados de libertad.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad
Entre muestras	$n \sum_i (\bar{x}_i - \bar{\bar{x}})^2 = 186$	$h - 1 = 3$
Dentro de muestras	$\sum_i \sum_j (x_{ij} - \bar{x}_i)^2 = 24$	$h(n - 1) = 8$
Total	$\sum_i \sum_j (x_{ij} - \bar{\bar{x}})^2 = 210$	$hn - 1 = 11$

De la misma forma que en el cálculo de la varianza, hay fórmulas que simplifican el cálculo de las sumas de cuadrados individuales. Estas fórmulas se resumen a continuación:

Un ANOVA de un factor contrasta la existencia de diferencias significativas entre medias cuando están presentes más de dos muestras. Las fórmulas utilizadas son:

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad
Entre muestras	$\sum_i T_i^2/n - T^2/N$	$h - 1$
Dentro de muestras	por diferencia	por diferencia
Total	$\sum_i \sum_j x_{ij}^2 - T^2/N$	$N - 1$

donde $N = nh$ = Número total de medidas.

T_i = Suma de las medidas en la i -ésima muestra.

T = Suma de todas las medidas, gran total.

El estadístico del contraste es $F = \text{Cuadrado medio entre muestras/Cuadrado medio dentro de muestras}$ y el valor crítico es $F_{h-1, N-h}$.

Estas formulas pueden ilustrarse repitiendo los cálculos ANOVA para los datos de la Tabla 3.2. Los cálculos completos se exponen después.

Para hacer más claros los principios en los que se apoya el método ANOVA de un factor, los cálculos se han descrito con detalle. En la práctica, dichos cálculos se hacen en una computadora. Tanto Minitab como Excel

EJEMPLO 3.10.1

Probar si las muestras de la Tabla 3.2 se han extraído de poblaciones con igual media.

El cálculo de los cuadrados de la media se expone más abajo. A todos los valores de la Tabla 3.2 se les ha restado 100, lo que simplifica considerablemente la aritmética. Nótese que esto no afecta ni a la estimación de la varianza entre muestras ni a la estimación de la varianza dentro de muestras, ya que se ha restado la misma cantidad de cada valor.

			T_i	T_i^2
A	2	0	1	3
B	1	1	4	6
C	-3	-5	-1	-9
D	-10	-8	-6	-24

$$T = -24$$

$$\sum_i T_i^2 = 702$$

$$n = 3, h = 4, N = 12, \sum_i \sum_j x_{ij}^2 = 258$$

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio
Entre muestras	$702/3 - (-24)^2/12 = 186$	3	$186/3 = 62$
Dentro de muestras	por diferencia = 24	8	$24/8 = 3$
Total	$258 - (-24)^2/12 = 210$	11	
	$F = 62/3 = 20.7$		

El valor crítico $F_{3,8} = 4.066$ ($P = 0.05$). Ya que el valor calculado es mayor que éste se rechaza la hipótesis nula: la media muestral difiere significativamente.

tienen una opción que realiza el ANOVA de un factor y, como ejemplo, la salida proporcionada por Excel se muestra a continuación, utilizando los valores originales.

Anova: de factor único**RESUMEN**

Grupos	Frecuencia	Suma	Promedio	Varianza
A	3	303	101	1
B	3	306	102	3
C	3	291	97	4
D	3	276	92	4

ANOVA

Fuente de variación	SC	gl	CM	F	Valor de P F crit
Entre grupos	186	3	62	20.66667	0.0004
Dentro de grupos	24	8	3		4.06618
Total	210	11			

En este capítulo, se han establecido ciertos supuestos al realizar los cálculos de ANOVA. El primero consiste en que la varianza del error aleatorio no está afectada por el tratamiento utilizado. Este supuesto está implícito en la combinación de varianzas dentro de muestras para calcular una estimación global de la varianza del error. Al hacer esto, se está suponiendo lo que se conoce como la **homogeneidad de la varianza**. En el ejemplo concreto expuesto anteriormente, donde se realizan todas las medidas de la misma manera, se esperaría homogeneidad de la varianza. Entre las referencias que aparecen al final de este capítulo se proporcionan métodos para comprobar esta propiedad.

Un segundo supuesto consiste en que la variación incontrolada es aleatoria. Éste no sería el caso si, por ejemplo, existiera algún factor incontrolado, tal como un cambio en la temperatura, que produjese una tendencia en los resultados a lo largo de un período de tiempo. El efecto de tales factores incontrolados puede superarse en gran medida mediante técnicas de aleatorización y de bloques que se analizan en el Capítulo 7.

Se verá que una parte importante de ANOVA consiste en la aplicación del contraste *F*. El uso de este contraste (véase la Sección 3.6) simplemente para comparar las varianzas de dos muestras depende de si las muestras han sido extraídas de una población normal. Sin embargo, afortunadamente, el contraste *F* cuando se aplicó en ANOVA no es demasiado sensible a las desviaciones de la normalidad de la distribución.

3.11. El contraste chi-cuadrado

En los contrastes de significación descritos hasta ahora en este capítulo, los datos han tomado la forma de observaciones que, aparte de cualquier redondeo, se han medido en una escala continua. En contraposición, esta sección trata con *frecuencias*, es decir, el número de veces que ocurre un suceso dado. Por ejemplo, la Tabla 2.2 proporciona las frecuencias de los diferentes valores obtenidos para la concentración de ion nitrato cuando se realizaron 50 medidas en una muestra. Como se estudió en el Capítulo 2, se supone que estas medidas se extraen de una población que se distribuye normalmente. El **contraste chi-cuadrado** se podría utilizar para contrastar si las frecuencias observadas difieren significativamente de las que cabría esperar con esta hipótesis nula.

Para probar si las frecuencias observadas, O_i , concuerdan con las esperadas, E_i , de acuerdo con alguna hipótesis nula, se calcula el estadístico X^2 :

$$X^2 = \sum_i \frac{(O_i - E_i)^2}{E_i} \quad (3.12)$$

Puesto que el cálculo requerido para probar la normalidad utilizando este estadístico es relativamente complicado, no será descrito aquí. (Una referencia de un ejemplo ilustrativo desarrollado con detalle se proporciona al final del capítulo.) El principio del contraste chi-cuadrado se comprende mejor a través del siguiente ejemplo.

EJEMPLO 3.11.1

A continuación se muestra el número de roturas en el material de vidrio de cuatro trabajadores de un laboratorio a lo largo de un período de tiempo. ¿Hay alguna evidencia de que los trabajadores difieren en su habilidad?

Número de roturas: 24, 17, 11, 9

Adoptando como hipótesis nula que no hay diferencias en cuanto a su habilidad. Suponiendo que los trabajadores utilizan el laboratorio el mismo tiempo, se esperaría, a partir de la hipótesis nula, el mismo número de roturas por cada trabajador. Puesto que el número total de roturas es 61, el número de roturas esperado por trabajador es $61/4 = 15.25$. Obviamente, en la práctica no es posible que haya un número entero de roturas: este número corresponde a un concepto matemático. La distribución «igual» más próxima y manejable desde un punto de vista práctico es 15, 15, 15, 16, en algún orden determinado. La pregunta a responder es si las diferencias entre las frecuencias observadas y esperadas es tan grande que deba rechazarse la hipótesis nula. Considerando una serie de lanzamientos de un dado se puede entender mejor el que existan ciertas diferencias entre los dos conjuntos de frecuencias: sería muy sorprendente, por ejemplo, si en 30 lanzamientos aparecieran con la misma frecuencia los números 1, 2, 3, etc. El cálculo de χ^2 , se muestra a continuación.

<i>Frecuencia observada, O</i>	<i>Frecuencia esperada, E</i>	$O - E$	$(O - E)^2/E$
24	15.25	8.75	5.020
17	15.25	1.75	0.201
11	15.25	-4.25	1.184
9	15.25	-6.25	2.561
TOTALES	61	0	$\chi^2 = 8.966$

Nótese que el total de la columna $O-E$ es siempre cero, con lo cual se dispone de una forma útil de verificar los cálculos.

Si χ^2 supera un cierto valor crítico, se rechazada la hipótesis nula. El valor crítico depende, como en otros contrastes de significación, del nivel de significación del contraste y del número de grados de libertad. El número de grados de libertad es, en un ejemplo de este tipo, uno menos que el número de clases utilizadas, es decir, $4 - 1 = 3$ en este caso. Los valores críticos de χ^2 para $P = 0.05$ vienen dados en la Tabla A.7. Para 3 grados de libertad, el valor crítico es 7.81. Puesto que el valor calculado es mayor que éste, se rechaza la hipótesis nula a un nivel de significación del 5%: se ha encontrado evidencia de que los trabajadores difieren significativamente en su habilidad.

El cálculo de χ^2 sugiere que se obtenga un resultado significativo debido al alto número de roturas realizadas por el primer trabajador. Para estudiar esto posteriormente, se pueden realizar otros contrastes chi-cuadrado adicionales. Uno de ellos contrasta si el segundo, tercero y cuarto trabajador difieren significativamente entre sí: en este caso, cada frecuencia esperada es $(17 + 11 + 9)/3$. (Nótese el hecho de que el contraste t no puede aplicarse aquí, ya que se manejan frecuencias y no variables continuas.) Otros contrastes que permiten analizar si el primer trabajador difiere del resto, es tomar a los tres restantes como un grupo. En este caso hay dos clases: las roturas hechas por el primer trabajador con una frecuencia esperada de 15.25 y el total de roturas correspondiente a los otros tres: con una frecuencia esperada de $15.25 \times 3 = 45.75$. En estos casos, donde hay sólo dos grupos y,

por tanto, un grado de libertad, se debe aplicar un ajuste conocido como **la corrección de Yates**. Esto implica sustituir $O - E$ por $|O - E| - 0.5$. Por ejemplo, si $O - E = -4.5$, $|O - E| = 4.5$ y $|O - E| - 0.5 = 4$. Estos contrastes adicionales se exponen como un ejercicio al final de este Capítulo.

En general, el contraste chi-cuadrado debería utilizarse solamente si el número total de observaciones es 50 o más y las frecuencias individuales esperadas no son menores que 5. Ésta no es una regla rígida: al final del capítulo se cita una referencia que profundiza en este punto. Otras aplicaciones del contraste chi-cuadrado se describen también en esta referencia.

3.12. El contraste de la normalidad de una distribución

Como se ha recalcado en este capítulo, muchos contrastes estadísticos suponen que los datos utilizados proceden de una población normal. En la sección anterior se mencionó un método para contrastar este supuesto, utilizando el contraste chi-cuadrado. Por desgracia, este método sólo se puede utilizar si hay 50 o más datos. En el trabajo experimental lo normal es tener pocos datos. Una forma visual simple de comprobar si un grupo de datos procede de una población normal es representar una **curva de frecuencias acumuladas** en un papel gráfico especial denominado **papel de probabilidad normal**. Este método se explica mejor por medio de un ejemplo.

EJEMPLO 3.12.1

Utilizar papel de probabilidad normal para contrastar si los valores siguientes proceden de una población normal:

109, 89, 99, 99, 107, 111, 86, 74, 115, 107, 134, 113, 110, 88, 104

Tabla 3.5. Datos para el ejemplo de papel de probabilidad normal.

Medida	Frecuencia acumulada	% de Frecuencia acumulada
74	1	6.25
86	2	12.50
88	3	18.75
89	4	25.00
99	6	37.50
104	7	43.75
107	9	56.25
109	10	62.50
110	11	68.75
111	12	75.00
113	13	81.25
115	14	87.50
134	15	93.75

La Tabla 3.5 muestra los datos ordenados en orden creciente. En la segunda columna aparecen las frecuencias acumuladas en cada medida, es decir, el número de medidas menores

o iguales que dicha medida. La tercera columna recoge la frecuencia acumulada en porcentaje. Este porcentaje se ha calculado utilizando la fórmula:

$$\% \text{ frecuencia acumulada} = 100 \times \text{frecuencia acumulada} / (n + 1)$$

donde n es el número total de medidas. (Se usa un divisor $n + 1$ en vez de n de manera que el porcentaje frecuencia acumulada del 50% cae en la mitad de la serie de datos, en este caso a la octava medida.) Si los datos proceden de una distribución normal, la gráfica que representa la frecuencia acumulada frente a las medidas tendrá forma de curva en S como se muestra en la Figura 3.3.

El papel de probabilidad normal tiene una escala no lineal en el eje del porcentaje de frecuencia acumulada, lo que convierte la curva en forma de S en una línea recta. Los datos de la tabla anterior, representados en dicho papel aparecen en la Figura 3.4: los puntos se sitúan aproximadamente sobre una línea recta, confirmando la hipótesis que los datos proceden de una distribución normal.

Minitab proporcionará directamente un diagrama de probabilidad normal. Existe la posibilidad de elegir tres algoritmos diferentes para calcular las frecuencias acumulativas de la Tabla 3.5. El algoritmo anteriormente utilizado se conoce como el método de Herd-Johnson.

Un método para contrastar la normalidad es utilizar una cantidad que mida cuánto se aproximan los puntos representados en el papel de probabilidad normal a una recta. El cálculo de esta cantidad, el coeficiente de correlación, r , se describe en un capítulo posterior (Sección 5.3). Una referencia bibliográfica para el uso de r al contrastar la normalidad se expone al final de este capítulo. Esta referencia también proporciona una perspectiva de los diferentes contrastes de normalidad. La Sección 6.12 describe otro método, el método de Kolmogorov-Smirnov, que, entre otras aplicaciones se puede emplear para contrastar la normalidad. En esa sección aparece un ejemplo desarrollado.

3.13. Conclusiones a partir de los contrastes de significación

En esta sección se profundizará más en lo referente a las conclusiones que se pueden extraer de un contraste de significación. Como se explicó en la

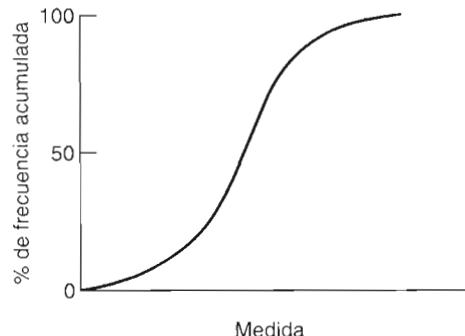


Figura 3.3. La curva de frecuencias acumuladas de una distribución normal.

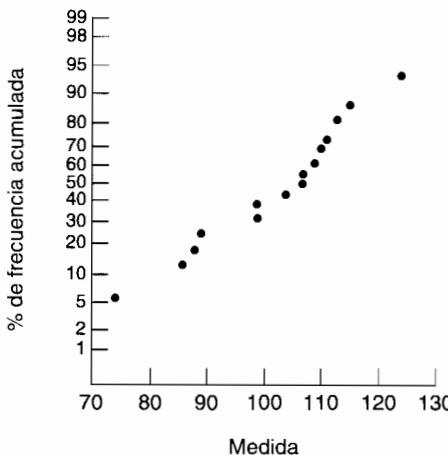


Figura 3.4. Representación de probabilidad normal para el ejemplo de la Sección 3.12.

Sección 3.2, un contraste de significación, por ejemplo, al nivel $P = 0.05$ supone un riesgo del 5 % de que se rechazará una hipótesis nula *incluso aunque sea verdadera*. A este tipo de error se le denomina **error de Tipo I**. El riesgo de tal error se puede reducir al alterar el nivel de significación del contraste a $P = 0.01$ o incluso a $P = 0.001$. Sin embargo, éste no es el único tipo de error posible: es posible también mantener una hipótesis nula aun cuando sea falsa. Este es el denominado **error de Tipo II**. Para calcular la probabilidad de este tipo de error es necesario postular una alternativa a la hipótesis nula, conocida como **hipótesis alternativa, H_1** .

Considérese un producto químico del cual se piensa que contiene el 3 % de fósforo por pesada. Se tiene la impresión de que esta proporción se ha incrementado y para contrastar esto se ha analizado la composición empleando un método estándar con una desviación estándar conocida del 0.036 %. Supóngase que se toman cuatro medidas y se realiza un contraste de significación al nivel $P = 0.05$. Es necesario que dicho contraste sea de una cola, ya que sólo interesa un incremento. La hipótesis nula es:

$$H_0: \mu = 3,0\%$$

La línea continua de la Figura 3.5 indica la distribución muestral de la media si H_0 fuese verdadera. Esta distribución muestral tiene una media 3.0 y una desviación estándar (es decir, error estándar de la media) $\sigma/n = 0.03/\sqrt{4} \%$. Si la media muestral cae por encima del valor crítico indicado, \bar{x}_c , la hipótesis nula se rechaza. Por tanto, la región sombreada, con área 0.05, representa la probabilidad de un error de Tipo I. Supongamos que tenemos la hipótesis alternativa:

$$H_1: \mu = 3.05\%$$

La línea punteada de la Figura 3.5 muestra la distribución muestral de la media si la hipótesis alternativa fuese verdadera. *Incluso si este fuese el caso*, se aceptará la hipótesis nula si la media muestral cae por debajo de \bar{x}_c .

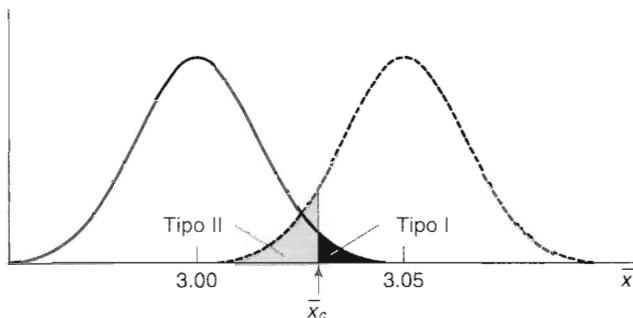


Figura 3.5. Errores de Tipo I y II.

La probabilidad de este error de Tipo II se representa por el área rayada. El diagrama pone de manifiesto la interdependencia de los dos tipos de error. Por ejemplo, si se cambia el nivel de significación a $P = 0.01$ para reducir un riesgo de un error de Tipo I, \bar{x}_c aumentará y el riesgo de un error de Tipo II aumentará también. Recíprocamente, una disminución en el riesgo de un error de Tipo II sólo puede lograrse a expensas de un incremento en la probabilidad de un error de Tipo I. El único camino por el que pueden reducirse ambos errores (para una hipótesis alternativa dada) es aumentar el tamaño de la muestra. El efecto de incrementar n hasta 9, por ejemplo, se ilustra en la Figura 3.6: la disminución resultante en el error típico de la media produce una disminución de ambos tipos de error, para un valor dado de \bar{x}_c .

La probabilidad de que una hipótesis nula falsa se rechace se denomina la **potencia** de un contraste. Esto es, la potencia de un contraste es $(1 - \text{probabilidad de un error de Tipo II})$. En el ejemplo expuesto es función de la media especificada en la hipótesis alternativa. Esto depende también del tamaño de muestra, el nivel de significación del contraste, y si el contraste es de una o dos colas. En aquellas circunstancias donde se dispone de dos o más contrastes para contrastar la misma hipótesis, puede ser útil comparar las potencias de los contrastes con el fin de decidir cuál es el más adecuado.

Los errores de tipo I y II son también relevantes cuando se aplican secuencialmente contrastes de significación. Un ejemplo de esta situación es la

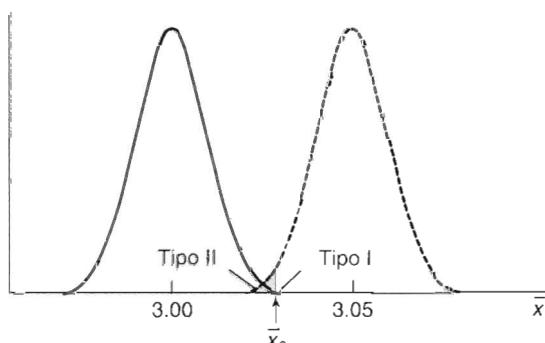


Figura 3.6. Errores de Tipo I y II al aumentar el tamaño de muestra.

aplicación del contraste t a la diferencia entre dos medias, después de utilizar en primer lugar el contraste F para decidir si se pueden juntar o no las varianzas de las muestras (véanse las Secciones 3.3 y 3.6). Los dos errores de Tipo I y II pueden surgir del contraste F inicial, y si ocurre alguno de ellos querrá decir que los niveles de significación establecidos para el subsiguiente contraste t son incorrectos, debido a la forma incorrecta en que el contraste t ha sido aplicado.

Este ejemplo ha vuelto a poner de manifiesto la conclusión general de que los contrastes de significación no dan respuestas indiscutibles: más bien ayudan a la interpretación de los datos experimentales al dar las probabilidades de que ciertas conclusiones sean válidas.

Bibliografía

- Barnett, V. and Lewis, T. 1994. *Outliers in Statistical Data*. 3rd Edn. Wiley, Chichester. (Un tratamiento muy completo de la filosofía del rechazo de datos anómalos y los contrastes empleados.)
- Box, G. E. P., Hunter, W. G. and Hunter, J. S. 1978. *Statistics for Experimenters*, Wiley, New York. (Proporciona más detalles sobre los contrastes entre medias en el ANOVA.)
- Campbell, R. C. 1989. *Statistics for Biologists*. 3rd Edn. Cambridge University Press, Cambridge. (Proporciona contrastes de la homogeneidad de varianzas y de normalidad.)
- Crawshaw, J. and Chambers, J. 1997. *A Concise Course in A-Level Statistics*. 3rd Edn. Stanley Thornes, Cheltenham. (Da ejemplos del contraste chi-cuadrado para la normalidad.)
- Davies O. L. and Goldsmith P. L. 1984. *Statistical Methods in Research and Production*. 4th Edn. Longman, London. (Proporciona más detalles acerca de los errores de Tipo I y II y otras aplicaciones del contraste chi-cuadrado.)
- Filliben, J. J. 1975. *Technometrics* 17:111. (Describe el uso de r al contrastar la normalidad, y estudia otros contrastes de normalidad.)
- Kleinbaum, D. G., Kupper, L. L. and Muller, K. E. 1988. *Applied Regression Analysis and Other Multivariate Methods*. 2nd Edn. PWS —Kent Publishing, Boston. (Proporciona detalles adicionales de contrastes para diferencias significativas entre medias con posterioridad a un ANOVA.)
- Kowalski, B. R. (ed.). 1977. *Chemometrics: Theory and Application*, American Chemical Society, Washington. (El Capítulo 11 describe contrastes de normalidad y discute el efecto de la no normalidad sobre los contrastes paramétricos.)
- Sokat, R. R. and Rohlf, F. J. 1994. *Biometry*. 3rd Edn. Freeman, New York (Da información detallada de los contrastes de la homogeneidad de varianzas.)

1. Utilizando una gráfica de probabilidad normal, contrastar si el siguiente conjunto de datos podría haber sido obtenido de una población normal:

11.68, 11.12, 8.92, 8.82, 10.31, 11.88, 9.84, 11.69, 9.53, 10.30, 9.17, 10.04, 10.65, 10.91, 10.32, 8.71, 9.83, 8.90, 10.40

2. Para evaluar un método espectrofotométrico para determinar titanio, se aplicó el método a muestras de aleaciones conteniendo diferentes cantidades certificadas de titanio. Los resultados (% Ti) se muestran a continuación.

Muestra	Valor certificado	Media	Desviación estándar
1	0.496	0.482	0.0257
2	0.995	1.009	0.0248
3	1.493	1.505	0.0287
4	1.990	2.002	0.0212

Para cada aleación se realizaron 8 determinaciones repetidas.

(Qiu Xing-chu y Zhu Ying-quen. 1983. *Analyst* 108:641)

Para cada aleación, contrastar si el valor medio difiere significativamente del valor certificado.

3. Para los datos del Ejemplo 3.3.3, relativos a la concentración de un tiol en el lisado sanguíneo.
- Verificar que 2.07 no es un dato anómalo para el grupo «normal».
 - Demostrar que las varianzas de los dos grupos difieren significativamente.
4. Los siguientes datos proporcionan la recuperación de bromuro adicionado a muestras con contenido vegetal, medido mediante un método cromatográfico gas-líquido. La cantidad de bromuro potásico añadido a cada tipo de vegetal fue la misma.

Tomate	777	790	759	790	770	758	764	$\mu\text{g g}^{-1}$
Pepino	782	773	778	765	789	797	782	$\mu\text{g g}^{-1}$

(Roughan, J. A., Roughan, P. A. and Wilkins, J. P. G. 1983. *Analyst* 108:742)

- Contrastar si la recuperación en los dos vegetales tiene varianzas que difieran significativamente.
 - Contrastar si las tasas de recuperación medias difieren significativamente.
5. Los siguientes resultados muestran el porcentaje del agua intersticial total recuperada al centrifugar muestras de piedra arenisca tomadas a diferentes profundidades.

<i>Profundidad de la muestra (m)</i>	<i>Agua recuperada (%)</i>					
7	33.3	33.3	35.7	38.1	31.0	33.3
8	43.6	45.2	47.7	45.4	43.8	46.5
16	73.2	68.7	73.6	70.9	72.5	74.5
23	72.5	70.4	65.2	66.7	77.6	69.8

(Wheatstone, K. G. and Getsthorpe, D. 1982. *Analyst* 107:731)

Demostrar que el porcentaje de agua recuperada difiere significativamente a diferentes profundidades. Utilizar el método de la diferencia significativa menor descrito en la Sección 3.9 para encontrar las causas de este resultado significativo.

6. La siguiente tabla proporciona la concentración de norepinefrina (μmol por g de creatinina) en la orina de voluntarios sanos de veinte años.

Machos	0.48	0.36	0.20	0.55	0.45	0.46	0.47	0.23
Hembras	0.35	0.37	0.27	0.29				

(Yamaguchi, M., Ishida, J. and Yoshimura, M. 1998. *Analyst* 123:307)

¿Existe evidencia que la concentración de norepinefrina difiera entre sexos?

7. Al leer en una bureta 0.01 ml, un analista tiene que estimar la cifra final. La siguiente tabla de frecuencias proporciona las últimas cifras de 50 lecturas. Realizar un contraste de significación adecuado para determinar si se prefieren algunos dígitos a otros.

Dígito	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Frecuencia	1	6	4	5	3	11	2	8	3	7

8. La siguiente tabla proporciona otros resultados del trabajo citado en el Ejemplo 3.3.1 (Sahuquillo, A., Rubio, R. and Rauret, G. 1999. *Analyst* 124:1) en el que fueron comparados por dos métodos diferentes los resultados de la determinación de cromo en materiales orgánicos.

Agujas de pino:	Método 1	media = 2.15	d.e. = 0.26
	Método 2	media = 2.45	d.e. = 0.14
Hojas de haya:	Método 1	media = 5.12	d.e. = 0.80
	Método 2	media = 7.27	d.e. = 0.44
Planta acuática:	Método 1	media = 23.08	d.e. = 2.63
	Método 2	media = 32.01	d.e. = 4.66

En cada caso la media es el promedio de 5 valores.

Para cada material probar si la media de los resultados obtenidos por los dos métodos difiere significativamente.

9. Los datos dados en el ejemplo de la Sección 3.11, para el número de roturas realizadas por cuatro trabajadores diferentes, se reproducen a continuación.

Probar si:

- (a) El número de roturas del primer trabajador difiere significativamente de las de los otros tres trabajadores.
- (b) El segundo, tercero y cuarto trabajadores difieren significativamente en la falta de cuidado de cada uno de los otros.
10. Un nuevo procedimiento enzimático de análisis por inyección en flujo para determinar peróxido de hidrógeno en agua fue comparado con un método volumétrico redox convencional con permanganato potásico aplicando ambos métodos a muestras de peróxido de uso farmacéutico. La siguiente tabla proporciona la cantidad de peróxido de hidrógeno, en mg ml^{-1}). Cada valor es la media de cuatro réplicas.

Muestra n. ^o	Método enzimático	Método del permanganato
1	31.1	32.6
2	29.6	31.0
3	31.0	30.3

(da Cruz Vieira, I and Fatibello-Filho, O. 1998. *Analyst* 123:1809)

Probar si los resultados obtenidos por ambos métodos difieren significativamente.

11. Seis analistas realizan seis determinaciones cada uno del contenido del mismo lote de pastillas. Los resultados se muestran a continuación:

Analista	Contenido de paracetamol (% m/m)						
A	84.32	84.51	84.63	84.61	84.64	84.51	
B	84.24	84.25	84.41	84.13	84.00	84.30	
C	84.29	84.40	84.68	84.28	84.40	84.36	
D	84.14	84.22	84.02	84.48	84.27	84.33	
E	84.50	83.88	84.49	83.91	84.11	84.06	
F	84.70	84.17	84.11	84.36	84.61	83.81	

(Trafford, A. D., Jee, R. D., Moffat, A. C. and Graham P. 1999. *Analyst* 124:163)

Probar si existe alguna diferencia significativa entre las medias obtenidas por los seis analistas.

12. Las siguientes cifras se refieren a la concentración de albúmina, en g l^{-1} , en el suero sanguíneo de 16 adultos sanos:

37, 39, 37, 42, 39, 45, 42, 39, 44, 40, 39, 45, 47, 47, 43, 41

(Foote, J. W. and Delves, H. T. 1983. *Analyst* 108:492)

Las ocho primeras cifras corresponden a hombres y las segundas ocho cifras a mujeres. Probar si la concentración media para hombres y mujeres difiere significativamente.

13. Se comparó un nuevo método espectroscópico de absorción atómica de llama para determinar antimonio en la atmósfera con el método colorimétrico recomendado. Para muestras de atmósfera urbana, se obtuvieron los siguientes resultados:

Muestra n. ^o	Antimonio encontrado (mg m^{-3})	
	Método nuevo	Método estándar
1	22.2	25.0
2	19.2	19.5
3	15.7	16.6
4	20.4	21.3
5	19.6	20.7
6	15.7	16.8

(Castillo, J. R., Lanaja, J., Martinez, M. C. y Aznárez, J. 1982. *Analyst* 107:1488.)

¿Difieren significativamente los resultados obtenidos por los dos métodos?

14. Para la situación descrita en la Sección 3.13 ($H_0: \mu = 3.0\%$, $H_1 = 3.05\%$, $\sigma = 0.036\%$) calcular el tamaño mínimo de muestra requerido para hacer que las probabilidades de error de Tipo I y II sean a lo sumo iguales a 0.01.

La calidad de las medidas analíticas

4.1. Introducción

La química analítica, como se vio en el Capítulo 1, es una ciencia de la medida aplicada, en la que predominan los estudios cuantitativos, siendo esenciales, por tanto, las estimaciones de errores inevitables. En casi todas las aplicaciones del análisis los resultados obtenidos se suministran a un cliente o usuario, y es necesario que estos usuarios se encuentren satisfechos tanto como sea posible con la **calidad** (adecuación al objetivo) de las medidas. Esto tiene muchas implicaciones importantes para la práctica analítica. En primer lugar, cualquier evaluación de los errores de medida debe tener en cuenta el proceso analítico global: incluyendo las etapas de muestreo, que a menudo contribuyen al error global muy significativamente. En segundo lugar, las características de los análisis cometidos en cada laboratorio deben ser comprobados internamente de forma regular, normalmente aplicándolos a materiales de referencia o estándar. En tercer lugar, en muchas áreas de aplicación se deben comparar los resultados de diferentes laboratorios entre sí, de manera que los usuarios puedan estar satisfechos de que el funcionamiento de los laboratorios cumple con normativas, regulaciones y otros requerimientos. Finalmente, los resultados analíticos se deben suministrar con una estimación realista de su incertidumbre, es decir, el intervalo dentro del cual está ubicado el verdadero valor de la cantidad que es medida. Éstos son los temas principales que se analizan en este capítulo. Los métodos estadísticos utilizados en dichas áreas son, en principio, muy simples, basándose muchos de ellos en técnicas descritas en los Capítulos 2 y 3. Sin embargo, uno de los principales desarrollos en las ciencias analíticas de los últimos años ha sido su aplicación cada vez más frecuente y mejorada, propiciando una gran mejora en la calidad y aceptabilidad de muchos resultados analíticos. Además, algunos de los métodos analizados tienen amplias aplicaciones. Por ejemplo, los principios empleados para controlar el funcionamiento de un único análisis en un único laboratorio durante un período de tiempo se pueden aplicar también al seguimiento de un proceso industrial.

Muchos análisis dependen de muestras químicas para proporcionarnos información sobre un objeto global. Por tanto, si no se consideran con cuidado las etapas de muestreo de un análisis, puede ser que los métodos estadísticos considerados en este libro no sean válidos, ya que las muestras estudiadas pueden no representar apropiadamente al conjunto objeto de estudio. Por ejemplo, no es posible analizar todo el agua de un río para analizar un contaminante tóxico, y no es posible analizar una cisterna de un camión lleno de leche para ver si contiene una hormona esteroide prohibida. En otros casos tiene que utilizarse una pequeña cantidad de muestra debido a que el método es destructivo y se quiere conservar el material restante. Así pues, en cada caso la muestra estudiada debe tomarse de manera que asegure en lo posible que sea verdaderamente representativa del objeto total.

Para aclarar algunos aspectos del muestreo considérese la situación en la que se disponga de un gran lote de pastillas y que se desee obtener una estimación del peso medio de una pastilla. En vez de pesar todas las pastillas, se toman unas pocas (supongamos diez) y se pesa cada una. En este ejemplo el lote de tabletas forma la población y las diez pastillas pesadas constituye una muestra de esta población (véase la Sección 2.2). Si la muestra se va a utilizar para deducir las propiedades de la población, entonces se denomina estadísticamente **muestra aleatoria**, es decir, una muestra tomada de tal modo que todos los miembros de la población tienen la misma posibilidad de estar incluidos en ella. Sólo entonces serán válidas las ecuaciones como la (2.9), que proporciona los límites de confianza de la media. Debe considerarse que el término «aleatorio» tiene, en sentido estadístico, un significado diferente de «casual». Aunque en la práctica un analista pudiera diseminar las pastillas sobre una mesa e intentar tomar una muestra de diez de una manera casual, dicho método podría ocultar un sesgo inconsciente. El mejor modo de obtener una muestra aleatoria es mediante el uso de una tabla de números aleatorios. A cada elemento de la población se le asigna un número de tal manera que todos los números tienen el mismo número de dígitos, por ejemplo 001, 002, 003, etc. Entonces los números aleatorios se leen de una tabla de números aleatorios (véase la Tabla A.8), partiendo de un punto arbitrario que proporcione, por ejemplo, 964, 173, etc.; y los números correspondientes de la población constituirán la muestra. Un procedimiento alternativo (y mucho más simple) que se utiliza algunas veces es el de seleccionar los elementos de una población a intervalos regulares, por ejemplo, tomar una de cada cien pastillas de una línea de producción. Este método no es completamente satisfactorio ya que podría existir una periodicidad coincidente en el peso de las pastillas: la importancia de la aleatoriedad de la muestra es evidente. De nuevo, si las últimas pastillas tomadas hubieran sufrido una disminución gradual de peso durante la producción del lote, entonces esta muestra proporcionaría un valor completamente erróneo para el peso medio del lote completo.

En el ejemplo anterior la población está constituida de elementos discretos obvios, que nominalmente son el mismo, o sea, las pastillas. El muestreo de materiales para los que esto no es cierto, como rocas, polvo, gases y líquidos, se denomina **muestreo a granel**. Si un material a granel fuera perfectamente homogéneo entonces sólo se necesitaría una parte pequeña o

incremento de muestra o porción de ensayo para determinar las propiedades del conjunto. En la práctica los materiales a granel no son homogéneos por multitud de razones. Materiales como aleaciones y sedimentos están formados por partículas macroscópicas con diferente composición y puede que no estén uniformemente distribuidas en el conjunto. Los fluidos puede que no sean homogéneos a escala molecular, debido a los gradientes de concentración. Tal falta de homogeneidad se detecta sólo tomando una muestra de prueba de diferentes partes del conjunto. Si fuera posible, esto debería hacerse aleatoriamente considerando el conjunto como una colección de celdas de igual tamaño y seleccionando una muestra de celdas utilizando números aleatorios como se describió anteriormente.

De la muestra aleatoria, puede calcularse la media, \bar{x} , y la varianza, s^2 . Existen dos contribuciones al valor de s^2 : la **varianza muestral**, σ_1^2 , debida a las diferencias entre los elementos de la muestra, por ejemplo, pastillas que tienen diferentes pesos, y la **varianza de la medida**, σ_0^2 , por ejemplo, errores aleatorios en la pesada de cada pastilla. En la sección siguiente se describe cómo pueden separarse y estimarse estas dos contribuciones utilizando el ANOVA. Para materiales a granel la varianza muestral depende del tamaño de los incrementos de muestra relativos a la escala de las no homogeneidades. Cuando el tamaño del incremento de muestra aumenta, las no homogeneidades tienden a ser promediadas, disminuyendo de esta manera la varianza muestral.

4.3. Estimación y separación de varianzas utilizando ANOVA

En la Sección 3.8 se describió el uso de ANOVA de un factor para contrastar las diferencias entre medias cuando existe una posible variación debida a un factor de efecto fijo. En esta sección se considera la situación en donde existe un factor de efecto aleatorio, o sea, variación muestral. El ANOVA de un factor se utiliza entonces para separar y estimar las diferentes fuentes de variación, en vez de contrastar si varias medias muestrales difieren significativamente. La Tabla 4.1 muestra los resultados del ensayo de pureza de un barril de cloruro sódico. Se tomaron cinco incrementos de muestra, A-E, de diferentes partes del barril elegidos al azar, y se realizaron cuatro análisis repetidos sobre cada muestra. Como se explicó anteriormente, hay dos posibles fuentes de variación: la debida al error aleatorio en la medida de la pureza, dada por la varianza en la medida, σ_0^2 , y la debida a las variaciones reales en la pureza del cloruro sódico en diferentes puntos del barril, dada

Tabla 4.1. Ensayo de pureza de cloruro sódico.

Muestra	Pureza (%)	Media
A	98.8, 98.7, 98.9, 98.8	98.8
B	99.3, 98.7, 98.8, 99.2	99.0
C	98.3, 98.5, 98.8, 98.8	98.6
D	98.0, 97.7, 94.4, 97.3	97.6
E	99.3, 99.4, 99.9, 99.4	99.5

por la varianza muestral, σ_1^2 . Puesto que el cuadrado medio dentro de muestras no depende de la media muestral (véase la Sección 3.9) se puede usar para estimar σ_0^2 . El cuadrado medio entre muestras *no se puede* utilizar para estimar directamente σ_1^2 , ya que la variación entre medias muestrales es causada tanto por el error aleatorio en la medida como por las posibles variaciones en la pureza. Se puede demostrar que el cuadrado medio entre muestras proporciona una estimación de $\sigma_0^2 + n\sigma_1^2$ (donde n es el número de medidas repetidas). Sin embargo, antes de realizar una estimación de σ_1^2 , se debería realizar un contraste para ver si difiere significativamente de 0. Esto se realiza comparando los cuadrados medios entre y dentro de muestras: si no difieren significativamente entonces $\sigma_1^2 = 0$ y ambos cuadrados medios estiman σ_0^2 .

La salida del ANOVA de un factor proporcionada por Excel para este ejemplo se muestra a continuación. Los resultados muestran que el cuadrado medio entre muestras es mayor que el cuadrado medio dentro de muestras, y el resultado del contraste F muestra que esta diferencia es sumamente significativa, es decir, que σ_1^2 difiere significativamente de 0. El cuadrado medio entre muestras da el valor 0.0653 como una estimación de σ_0^2 , de manera que se puede estimar σ_1^2 utilizando:

$$\begin{aligned}\sigma_1^2 &= (\text{cuadrado medio entre muestras} - \text{cuadrado medio dentro de muestras})/n \\ &= (1.96 - 0.0653)/4 \\ &= 0.47\end{aligned}$$

Muestra A	Muestra B	Muestra C	Muestra D	Muestra E
98.8	99.3	98.3	98	99.3
98.7	98.7	98.5	97.7	99.4
98.9	98.8	98.8	97.4	99.9
98.8	99.2	98.8	97.3	99.4

Anova de un factor

RESUMEN

Grupos	Frecuencia	Suma	Promedio	Varianza
Muestra A	4	395.2	98.8	0.006667
Muestra B	4	396	99	0.086667
Muestra C	4	394.4	98.6	0.06
Muestra D	4	390.4	97.6	0.1
Muestra E	4	398	99.5	0.073333

Fuente de variación	SC	gl	CM	F	Valor P	F crít
Entre muestras	7.84	4	1.96	30	5.34E-07	3.056
Dentro de muestras	0.98	15	0.0653			
Total	8.82	19				

4.4. Estrategia de muestreo

Si se realiza un análisis de cada uno de los h incrementos de muestra (ejemplo anterior, Sección 4.3), entonces los límites de confianza para la media vienen dados por la ecuación (2.9):

$$\mu = \bar{x} \pm t_{n-1}(s/\sqrt{n}) \quad (4.1)$$

donde \bar{x} es la media de las n medidas y s^2 la varianza de las medidas; s^2 es una estimación de la varianza total, σ^2 , que es la suma de las varianzas muestrales y de medida, es decir, $\sigma_0^2 + \sigma_1^2$ (véase la Sección 2.11), y σ^2/h (que se estima por s^2/h) es la varianza de la media, \bar{x} . Si el valor para cada incremento de muestra es la media de n medidas repetidas, entonces la varianza de la media es $(\sigma_0^2/n + \sigma_1^2)/h = \sigma_0^2/nh + \sigma_1^2/h$. Obviamente, para alcanzar la precisión máxima, se requiere que la varianza de la media sea tan pequeña como sea posible. El término debido a la varianza de medida puede ser reducido bien sea utilizando un método de análisis más preciso o incrementando n , el número de medidas repetidas. Sin embargo, no hay que esforzarse por hacer que la varianza de medida sea menor que un décimo de la varianza muestral, ya que cualquier reducción posterior no mejorará sustancialmente la varianza total (que es la suma de las dos varianzas). Es preferible en su lugar, tomar un número mayor de incrementos de muestra, ya que el intervalo de confianza disminuye cuando aumenta h . Si una muestra preliminar se ha utilizado para estimar s , entonces el tamaño de muestra requerido para lograr un tamaño dado del intervalo de confianza se puede calcular aproximadamente (ver Capítulo 2, Ejercicio 4).

Una estrategia de muestreo posible con materiales a granel es tomar h incrementos de muestra y mezclarlos antes de realizar n medidas repetidas. La varianza de la media de estas medidas repetidas es $\sigma_1^2/n + \sigma_1^2/h$. Esta varianza total se debería comparar con la resultante de analizar n veces cada incremento de muestra y promediar las medias de los incrementos, siendo entonces la varianza $\sigma_0^2/nh + \sigma_1^2/h$ (véase lo anterior). Obviamente la última varianza es la más pequeña, dando por resultado una media con más precisión, aunque se requieren más medidas (nh frente a n). El conocimiento de los valores de σ_0^2 y σ_1^2 de experiencias anteriores, y los costes de muestreo y análisis, se pueden utilizar para calcular el coste de las estrategias de muestreo relativos. En general, se usará el esquema más económico que proporcione el grado de precisión requerido.

Para materiales a granel la varianza muestral depende del tamaño de los incrementos de muestra relativo a la escala de no homogeneidades y disminuye con el aumento del tamaño de los incrementos de muestra. En algunos experimentos puede ser necesario seleccionar un límite superior de la varianza muestral de manera que puedan detectarse cambios en la media. Se pueden tomar medidas preliminares para decidir el tamaño del incremento de muestra mínimo que se requiere para proporcionar un nivel aceptable de varianza muestral.

4.5. Métodos de control de calidad. Introducción

Si un laboratorio ofrece resultados analíticos de una calidad aceptable para sus clientes, y funciona bien en las pruebas de suficiencia (homologación) o en los ensayos de colaboración (véase después), resulta obvio que los resultados obtenidos en ese laboratorio deberían mostrar una consistencia elevada día a día. La comprobación de dicha consistencia es complicada por la existencia de errores aleatorios, de modo que se han desarrollado varias técnicas estadísticas para demostrar si existen o no tendencias dependientes del tiempo en los resultados, asociadas a inevitables errores aleatorios. Se trata de los métodos de **control de calidad**.

Supóngase que un laboratorio utiliza un método cromatográfico para determinar el nivel de un pesticida en fruta. Los resultados se pueden emplear para determinar si un gran lote de fruta es aceptable o no, y su calidad resulta entonces de gran importancia. La eficacia del método se comprobará a intervalos regulares aplicándose, con un número pequeño de análisis repetidos, a un material de referencia estándar (MRE), en el que el nivel de pesticida se encuentre certificado por una autoridad reguladora. Alternativamente se puede usar un estándar interno de control de calidad (ICC) de composición conocida y muy estable. Los estándares MRE o ICC serán probablemente introducidos al azar dentro de la secuencia de materiales analizados por el laboratorio, de manera que los materiales ICC no sean identificados por separado por el personal del laboratorio y sean estudiados utilizando exactamente los mismos procedimientos que los utilizados para las muestras habituales. La concentración conocida del pesticida en los materiales MRE/ICC es el valor objetivo para el análisis, μ_0 . El laboratorio necesita ser capaz de detener y examinar el método analítico si parece que está dando resultados erróneos. Por otra parte, se malgastarán recursos, tiempo y materiales si se interrumpe innecesariamente la secuencia de análisis, de manera que los métodos de control de calidad deberían permitir su uso continuado mientras funcionen satisfactoriamente. Si los valores para las muestras ICC no muestran tendencias dependientes del tiempo significativas, y si los errores aleatorios en las medidas no son demasiado grandes, el proceso analítico está bajo control.

Los métodos de control de calidad son también ampliamente utilizados en el seguimiento de procesos industriales. De nuevo es importante detener un proceso si sus resultados caen fuera de ciertos límites, pero es igualmente importante no parar el proceso si funciona bien. Por ejemplo, los pesos de pastillas de uso farmacéutico procedentes de una línea de producción pueden controlarse tomando pequeñas muestras (véase lo anterior) de pastillas de vez en cuando. Los pesos de las pastillas están sujetos a fluctuaciones en torno al valor objetivo μ_0 debido a errores aleatorios, pero si estos errores aleatorios no son demasiado grandes, y no van acompañados de tendencias que dependan del tiempo, el proceso está bajo control.

4.6. Diagramas de Shewhart para valores medios

En el capítulo 2, se mostró como la media, \bar{x} , de una muestra de medidas podría utilizarse para proporcionar una estimación de la media de la pobla-

ción, μ , y como la desviación estándar de la muestra, s , proporcionaba una estimación de la desviación estándar de la población, σ . Para un tamaño de muestra pequeño, n , los límites de confianza de la media vienen dados por la ecuación (2.9), con el valor de t elegido de acuerdo con el número de grados de libertad ($n - 1$) y el nivel de confianza requerido. Los mismos principios se pueden aplicar al trabajo de control de calidad, pero con una diferencia importante. Sobre un período de tiempo largo, la desviación estándar de la población, σ , del nivel de pesticida en fruta (o, en el segundo ejemplo, de los pesos de las tabletas), llegará a ser conocida por la experiencia. En el trabajo de control de calidad, a σ se le da el nombre de **capacidad del proceso**. La ecuación (2.9) puede sustituirse por la ecuación (2.8) con la estimación de s sustituida por la de σ conocida. En la práctica $z = 1.96$ se redondea a 2 para unos límites de confianza del 95 % y $z = 2.97$ se redondea a 3 para unos límites de confianza del 99.7 %.

$$\text{Para límites de confianza del 95 \% : } \mu = \bar{x} \pm \frac{2\sigma}{\sqrt{n}} \quad (4.2)$$

$$\text{Para límites de confianza del 99.7 \% : } \mu = \bar{x} \pm \frac{3\sigma}{\sqrt{n}} \quad (4.3)$$

Estas ecuaciones se utilizan en la construcción del tipo más común de diagramas de control, un **diagrama de Shewhart** (Figura 4.1). El eje vertical de un diagrama de Shewhart representa la **media del proceso**, \bar{x} , de los va-

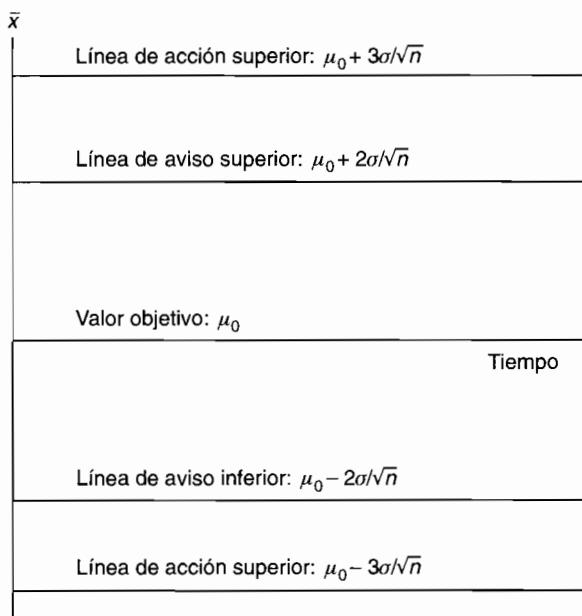


Figura 4.1. Un diagrama de Shewhart para valores medios.

lores medidos, por ejemplo, de la concentración de pesticida en la fruta, y el eje horizontal es un eje de tiempo, de manera que puede representarse la variación de estos valores de \bar{x} con el tiempo. El **valor objetivo**, μ_0 , se marca con una línea horizontal. El diagrama también incluye dos pares de líneas horizontales. Las líneas situadas a $\mu_0 \pm 2\sigma/\sqrt{n}$ se denominan líneas de **aviso o de alerta**, y las situadas a $\mu_0 \pm 3\sigma/\sqrt{n}$ se conocen como **líneas de acción**. El propósito de estas líneas lo indican sus propios nombres. Supóngase que un valor medido de x cae fuera de las líneas de acción. La probabilidad de tal ocurrencia cuando el proceso está bajo control, se sabe que es solamente del 0.3 %, es decir 0.003, de manera que si esto ocurre en la práctica normalmente el proceso se detiene y examina. Existe una probabilidad de aproximadamente el 5 % (0.05) de que un único punto caiga fuera de cualquiera de las líneas de aviso (pero dentro de las líneas de acción) en tanto que el proceso permanece bajo control. Esto sólo no daría lugar a que el proceso se detuviese, pero si *dos puntos sucesivos* caen fuera de la misma línea de aviso, la probabilidad de ocurrir ($P = [0.025]^2 \times 2 = 0.00125$ en total para las dos líneas de aviso) es de nuevo tan baja que el proceso se debe considerar que está fuera de control. Estos dos criterios: un punto fuera de las líneas de acción, o *dos puntos sucesivos* fuera de la misma línea de aviso son los que se aplican de forma habitual en la interpretación de los diagramas de Shewhart. También a menudo se utilizan otros: por ejemplo, la probabilidad de que caigan ocho puntos sucesivos en un lado específico de la línea del valor objetivo es francamente bajo, es decir, $(0.5)^8 = 0.0039$, y tal existencia sugiere de nuevo que el proceso está fuera de control. También se puede predecir la parada de un proceso en los casos donde los valores representados de \bar{x} muestren una tendencia (por ejemplo, seis puntos en sucesión aumentando o disminuyendo, aun cuando los puntos estén dentro de las líneas de aviso), o donde parecen oscilar (por ejemplo, 14 puntos sucesivos, alternando arriba y abajo). Los usuarios de diagramas de control deben establecer claramente todos los criterios que van a utilizar para declarar su proceso fuera de control.

4.7. Diagramas de Shewhart para rangos

Hay dos posibles explicaciones al hecho de que un diagrama de Shewhart para valores medios sugiera que un proceso está fuera de control. La más obvia es que la media del proceso haya cambiado: la detección de estos cambios es la principal razón para utilizar los diagramas de control donde se representan los valores de \bar{x} . Una explicación alternativa es que la media del proceso se ha mantenido en su valor pero que la variación en el proceso ha aumentado, es decir, que las líneas de aviso y acción están demasiado juntas, dando lugar a indicaciones de cambios que de hecho no se han producido. Errores del tipo opuesto son también posibles. Si la variabilidad del proceso ha disminuido (es decir, mejorado), entonces las líneas de aviso y de acción estarán demasiado lejanas entre ellas, quizás permitiendo que no se detecten cambios reales en \bar{x} . Por tanto, se debe controlar la variabilidad del proceso así como su valor medio. Este control tiene también su propio valor intrínseco: la variabilidad de un proceso o un análisis es una medida de su calidad, y en

la situación del laboratorio se encuentra vinculada directamente a la repetibilidad (desviación estándar dentro del laboratorio) del método (ver Capítulo 1).

La variabilidad de un proceso se puede visualizar representando otro diagrama de Shewhart para mostrar el **rango**, R (= valor más grande – valor más pequeño), de cada una de las muestras tomadas. La Figura 4.2 muestra un diagrama de control típico para el rango. El formato general del diagrama es el mismo que el que se ha utilizado al representar los valores medios, con una línea representando el valor objetivo, y también pares de líneas de acción y de aviso. La diferencia más relevante entre los dos diagramas es que los pares de líneas no son simétricos con respecto al valor objetivo para el rango, \bar{R} . El valor de \bar{R} se puede calcular utilizando el valor de σ , y las posiciones de las líneas de aviso y de acción se pueden deducir a partir de \bar{R} , utilizando factores multiplicativos obtenidos de las tablas estadísticas. Estos factores toman valores dependiendo del tamaño de muestra, n . Las ecuaciones relevantes son:

$$\bar{R} = \sigma d_1 \quad (4.4)$$

$$\text{Línea de aviso inferior: } \bar{R}w_1 \quad (4.5)$$

$$\text{Línea de aviso superior: } \bar{R}w_2 \quad (4.6)$$

$$\text{Línea de acción inferior: } \bar{R}a_1 \quad (4.7)$$

$$\text{Línea de acción superior: } \bar{R}a_2 \quad (4.8)$$

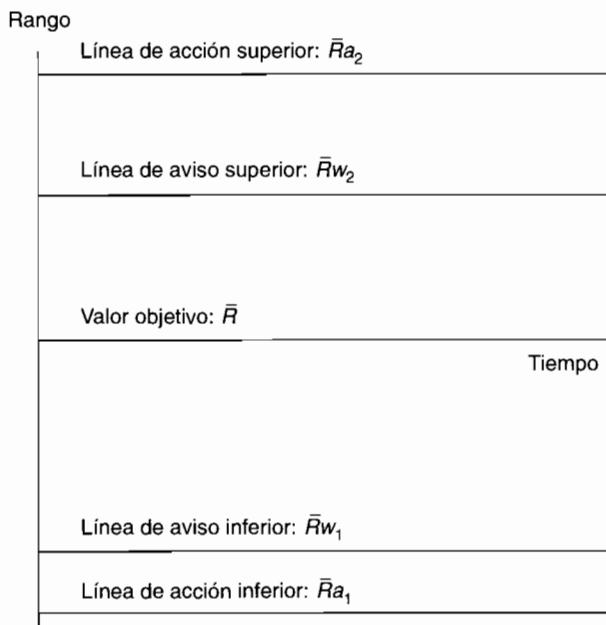


Figura 4.2. Diagrama de Shewhart para el rango.

EJEMPLO 4.7.1

Determine las características de los diagramas de control para la media y el rango en un proceso, siendo el valor objetivo 57, la capacidad del proceso 5 y el tamaño muestral 4.

Para el diagrama de control en que se representan los valores medios, el cálculo es sencillo. Las líneas de aviso se encontrarán en $57 \pm 2 \times 5/\sqrt{4}$, es decir, en 57 ± 5 ; y las líneas de acción estarán en $57 \pm 3 \times 5/\sqrt{4}$, es decir, en 57 ± 7.5 . Este diagrama se muestra en la Figura 4.3.a.

Para el diagrama de control donde se representan los valores del rango, se debe primero calcular \bar{R} utilizando la ecuación (4.4). Esto proporciona $\bar{R} = 5 \times 2.059 = 10.29$, donde el valor de 2.059 se toma de las tablas estadísticas para $n = 4$. (Ver, por ejemplo, la tabla en la colección de Neave, cuyos detalles se proporcionan en la Bibliografía del Capítulo 1.) El valor de \bar{R} se utiliza entonces para determinar las líneas de acción y aviso inferior y superior utilizando las ecuaciones (4.5)-(4.8). Los valores de w_1 , w_2 , a_1 y a_2 para $n = 4$ son 0.29, 1.94, 0.10 y 2.58, respectivamente, proporcionando al multiplicar por 10.29 posiciones para las cuatro líneas de 2.98, 19.96, 1.03 y 26.55, respectivamente. Estas líneas se muestran en la Figura 4.3b.

A veces en la práctica de un diagrama de control para el rango no se representan las líneas de aviso y de acción, ya que una reducción en el rango no suele ser una causa que requiera un análisis detallado. Sin embargo, como ya se ha puesto de manifiesto, la variabilidad de un proceso es una medida de su calidad, y una reducción en \bar{R} representa una mejora en la calidad, cuyas causas pueden ser motivo de investigación. Por tanto, se recomienda la representación de las líneas de aviso y de acción.

4.8. La determinación de la capacidad del proceso

En las secciones anteriores se demostró que si la capacidad del proceso, σ , es conocida, es posible construir diagramas de control tanto para la media muestral como para el rango muestral. Así, es posible distinguir entre una situación donde un proceso se ha salido de control por un desplazamiento en la media del proceso, de una situación en la que la media del proceso no ha cambiado pero se ha producido un aumento no deseado en la variabilidad del proceso. El establecimiento de un valor adecuado para σ es, por tanto, muy importante y dicho valor debería basarse en un número sustancial de medidas. Pero al realizar tales medidas se debe abordar el mismo problema (distinguir un cambio en la media del proceso, de un cambio en la variabilidad del proceso). Si σ se calcula directamente de una larga sucesión de medidas, su valor puede ser sobreestimado por cualquier cambio en la media que ocurra durante esa secuencia, y no se podrían representar diagramas de control adecuados.

La solución a este problema es tomar un gran número de pequeñas muestras, medir el rango, R , para cada una de ellas y, así, determinar \bar{R} . Este procedimiento asegura que se mida sólo la variabilidad inherente del proceso, eliminándose cualquier desviación en los valores medios. Entonces, el valor de \bar{R} se puede utilizar con las ecuaciones (4.5)-(4.8) para determinar las lí-

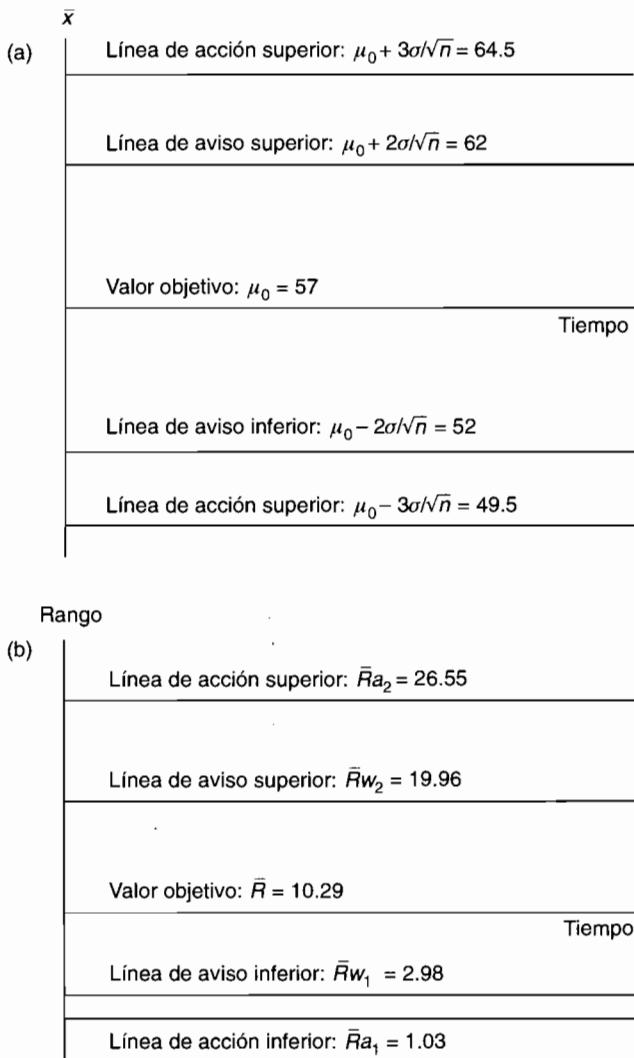


Figura 4.3. (a) Diagrama de Shewhart para valores medios (ejemplo). (b) Diagrama de Shewhart para el rango (ejemplo).

neas de acción y de aviso para el diagrama de control de rangos. Las líneas de acción y de aviso para el diagrama de control para la media se pueden determinar calculando σ mediante la ecuación (4.4) y luego aplicando las ecuaciones (4.2) y (4.3). En la práctica este cálculo en dos etapas no es necesario, al proporcionar muchas tablas estadísticas valores de W y A , lo que da directamente las posiciones de las líneas de acción y de aviso de:

$$\text{Líneas de aviso en } \bar{x} \pm W\bar{R} \quad (4.9)$$

$$\text{Líneas de acción en } \bar{x} \pm A\bar{R} \quad (4.10)$$

Estos métodos se ilustran mediante el siguiente ejemplo.

EJEMPLO 4.8.1

Se ha analizado en un laboratorio un patrón de control de calidad interno con una concentración de analito de 50 mg kg^{-1} , durante 25 días consecutivos tomándose un tamaño de muestra de cuatro cada día. Los resultados se proporcionan en la Tabla 4.2, que está en la forma de hoja de cálculo de Excel. Determinése el valor de \bar{R} y representense los diagramas de control para la media y el rango de los análisis del laboratorio.

Al examinar los resultados se aprecia de manera clara alguna evidencia de que las medias se desvían hacia arriba y hacia abajo durante el período de 25 días en el cual se ha realizado el análisis. Todas las medias muestrales de los días 3-15 inclusive son más grandes que el valor objetivo de 50, mientras que cuatro de las siguientes seis medias están por debajo del valor objetivo, y las últimas cuatro están todas por encima. Éstas son las circunstancias en las que resulta importante estimar σ utilizando el método descrito anteriormente. Utilizando los valores de R en la última columna de datos, resulta que \bar{R} es 4.31. La aplicación de la Ecuación (4.4) estima σ como $4.31/2.059 = 2.09$. La Tabla 4.2 demuestra también que la desviación estándar de las 100 medidas, tratada como una muestra única, es 2.43; porque debido a las desviaciones en la media esto sería una sobreestimación significativa de σ .

Entonces se representa el diagrama de control para la media con la ayuda de las Ecuaciones (4.9) y (4.10) con $W = 0.4760$, $A = 0.7505$, que muestra que las líneas de aviso y acción se encuentran en 50 ± 2.05 y 50 ± 3.23 , respectivamente. La Figura 4.4 muestra el diagrama de control de Excel. De manera similar, las Ecuaciones (4.5)-(4.8) muestran que en el diagrama de control para el rango, las líneas de aviso se encuentran en 1.24 y 8.32 y las líneas de acción en 0.42 y 11.09, respectivamente. (Excel no produce automáticamente diagramas de control para rangos, aunque genera diagramas para desviaciones estándar, que en algunos casos se utilizan en lugar de diagramas de rango.) La Figura 4.4 muestra que este proceso no se encuentra todavía bajo control, cayendo varios puntos fuera de la línea de acción (superior).

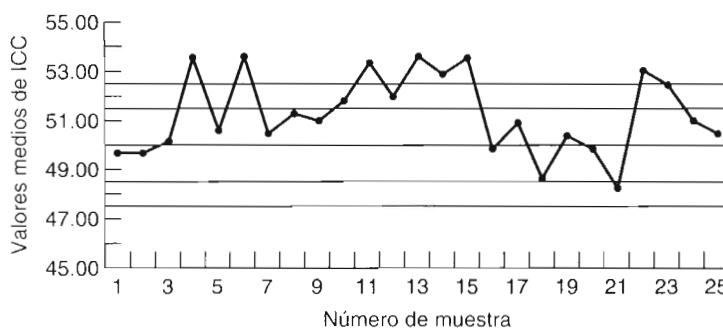


Figura 4.4. Diagrama de Shewhart para medias (datos del ejemplo de la Tabla 4.2).

4.9. Longitud media de rachas: diagramas de sumas acumuladas

Una propiedad importante de un diagrama de control es la rapidez con que se detecta un cambio en la media del proceso. El número promedio de medidas necesarias para detectar cualquier cambio particular en la media del pro-

Tabla 4.2. Hoja de cálculo de Excel (ejemplo).

Número de muestra	Valores de las muestras				Media en el diagrama	Rango
	1	2	3	4		
1	48.8	50.8	51.3	47.9	49.70	3.4
2	48.6	50.6	49.3	50.3	49.70	2.0
3	48.2	51.0	49.3	52.1	50.15	3.9
4	54.8	54.6	50.7	53.9	53.50	4.1
5	49.6	54.2	48.3	50.5	50.65	5.9
6	54.8	54.8	52.3	52.5	53.60	2.5
7	49.0	49.4	52.3	51.3	50.50	3.3
8	52.0	49.4	49.7	53.9	51.25	4.5
9	51.0	52.8	49.7	50.5	51.00	3.1
10	51.2	53.4	52.3	50.3	51.80	3.1
11	52.0	54.2	49.9	57.1	53.30	7.2
12	54.6	53.8	51.5	47.9	51.95	6.7
13	52.0	51.7	53.7	56.8	53.55	5.1
14	50.6	50.9	53.9	56.0	52.85	5.4
15	54.2	54.9	52.7	52.2	53.50	2.7
16	48.0	50.3	47.5	53.4	49.80	5.9
17	47.8	51.9	54.3	49.4	50.85	6.5
18	49.4	46.5	47.7	50.8	48.60	4.3
19	48.0	52.5	47.9	53.0	50.35	5.1
20	48.8	47.7	50.5	52.2	49.80	4.5
21	46.6	48.9	50.1	47.4	48.25	3.5
22	54.6	51.1	51.5	54.6	52.95	3.5
23	52.2	52.5	52.9	51.8	52.35	1.1
24	50.8	51.6	49.1	52.3	50.95	3.2
25	53.0	46.6	53.9	48.1	50.40	7.3
				d.e. = 2.43	Media = 4.31	

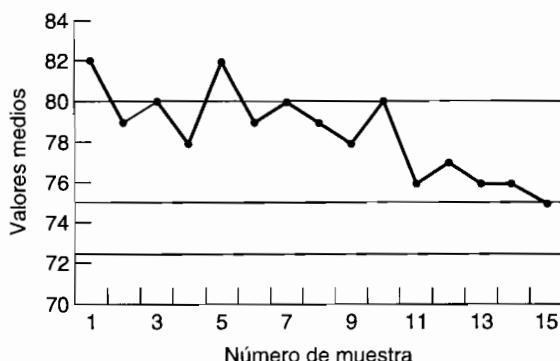
ceso se denomina **longitud media de racha** (LMR). Ya que las posiciones de las líneas de acción y aviso en un diagrama de Shewhart para la media del proceso dependen del valor de σ/\sqrt{n} , el LMR de ese diagrama dependerá del tamaño del cambio en la media comparado con σ/\sqrt{n} . Un cambio grande se detectará con más rapidez que uno pequeño, y el LMR se reducirá utilizando un tamaño muestral más grande, n . Puede demostrarse que si se produce un cambio igual a $1\sigma/\sqrt{n}$ y si sólo se utiliza el criterio de la línea de acción, entonces el LMR es aproximadamente 50, es decir, se medirán aproximadamente 50 muestras antes que un valor caiga fuera de la línea de acción. Si el proceso se detiene cuando dos medidas consecutivas caen fuera de la línea de aviso, entonces el LMR cae a una ca. de 25. Estos valores son bastante grandes: por ejemplo esto sería serio si un laboratorio prosigue con un análisis de un pesticida durante 25 días antes de constatar que el procedimiento había desarrollado un error sistemático. Esto representa una desventaja significativa de los diagramas de Shewhart. Un ejemplo del problema se muestra en la Tabla 4.3, un conjunto de medidas para las cuales el valor objetivo es 80, y σ/\sqrt{n} es 2.5. Cuando la media muestral se representa en un

Tabla 4.3. Ejemplo de datos para cálculos de sumacu.

Número de observación	Media muestral	Media muestral; valor objetivo	Sumacu
1	82	2	2
2	79	-1	1
3	80	0	1
4	78	-2	-1
5	82	2	1
6	79	-1	0
7	80	0	0
8	79	-1	-1
9	78	-2	-3
10	80	0	-3
11	76	-4	-7
12	77	-3	-10
13	76	-4	-14
14	76	-4	-18
15	75	-5	-23

diagrama de Shewhart (Figura 4.5) queda claro que a partir de aproximadamente la séptima observación en adelante puede haber ocurrido un cambio en la media del proceso, sin embargo todos los puntos quedan sobre o dentro de la línea de aviso. (Sólo las líneas inferiores de aviso y de acción se muestran en la figura.)

El LMR puede reducirse significativamente utilizando un tipo de diagrama de control diferente, un diagrama **de sumas acumuladas** o **sumacu** («cusum»). Esta aproximación se ilustra de nuevo con los datos de la Tabla 4.3. El cálculo de la sumacu se muestra en las dos últimas columnas de la tabla, que muestra que la suma de las desviaciones de la media muestral a partir del valor objetivo en adelante se realiza de forma acumulada, prestando cuidadosa atención a los signos de las desviaciones. Si un proceso de fabricación o análisis está bajo control, las desviaciones positivas y negativas del valor objetivo son igualmente probables y la sumacu oscilaría alrededor

**Figura 4.5.** Diagrama de Shewhart para los datos de la Tabla 4.3.

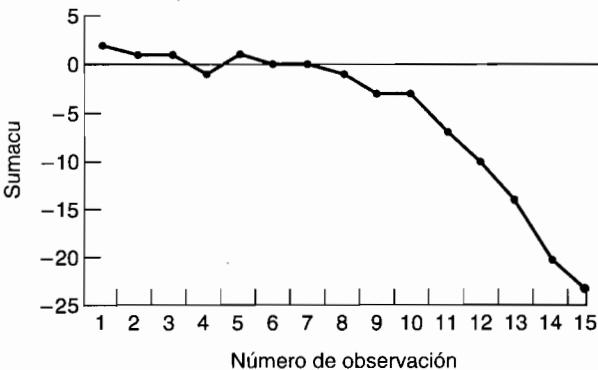


Figura 4.6. Diagrama sumacu de los datos de la Tabla 4.3.

de cero. Si la media del proceso cambia, la sumacu se alejará del cero. En el ejemplo propuesto, la media del proceso parece que cae después de la séptima observación, de manera que la sumacu se hace cada vez más negativa. En la Figura 4.6 se muestra la carta de control resultante.

La adecuada interpretación de los diagramas sumacu, que muestran que ha ocurrido un cambio genuino en la media del proceso requiere un **delimitador V**. El delimitador se graba en una transparencia, y se coloca sobre el diagrama de control con su eje de simetría horizontal y su vértice a una distancia, d a la derecha de la última observación (Figura 4.7). Se dice que el

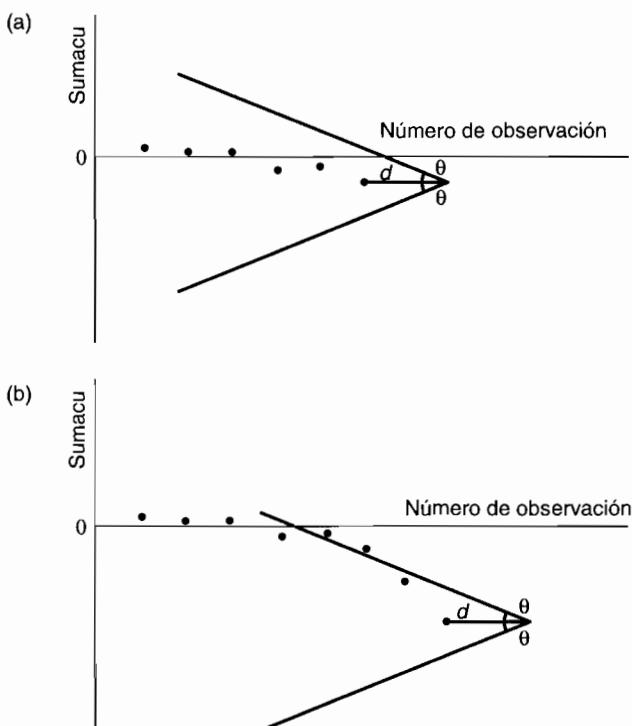


Figura 4.7. (a) Uso de un delimitador V con el proceso bajo control. (b) Uso de un delimitador V con el proceso fuera de control.

proceso está bajo control si todos los valores del diagrama caen dentro de los brazos de la V (Figura 4.7a). El delimitador también se caracteriza por $\operatorname{tg} \theta$, la tangente del semiángulo, θ , entre los brazos de la V. Los valores de d y $\operatorname{tg} \theta$ se eligen de manera que se detecten con rapidez cambios significativos en la media del proceso, no obstante las falsas alarmas son escasas. La unidad de d es la distancia entre las observaciones sucesivas. El valor utilizado de $\operatorname{tg} \theta$ depende claramente de las escalas relativas de los dos ejes en el diagrama: un convenio que se emplea con frecuencia consiste en construir la distancia entre las observaciones sucesivas del eje x igual a $2\sigma/\sqrt{n}$ del eje y . Un delimitador V con $d = 5$ unidades y $\operatorname{tg} \theta = 0.35$ proporciona entonces una LMR de 10 si la media del proceso cambia por $1\sigma/\sqrt{n}$ y sólo 4 si el cambio es $2\sigma/\sqrt{n}$. La LMR para un cambio cero en la media del proceso, es decir, antes de que ocurra una falsa alarma, es aproximadamente 350. Las cifras correspondientes para un diagrama de Shewhart son aproximadamente 25 (para un cambio en la media de $1\sigma/\sqrt{n}$) y 320, de manera que resulta claro que el diagrama sumacu es superior en ambos aspectos. La LMR proporcionada por el diagrama sumacu se puede reducir en torno a 8 (para un cambio de $1\sigma/\sqrt{n}$) utilizando $\operatorname{tg} \theta = 0.30$, pero inevitablemente entonces crece la posibilidad de una falsa alarma, ocurriendo una vez en aproximadamente 120 observaciones.

En resumen, los diagramas sumacu presentan la ventaja de que responden con más rapidez que los diagramas de Shewhart a un cambio en la media del proceso (como muestra claramente la Figura 4.6), sin incrementar las posibilidades de una falsa alarma. El punto donde cambia la pendiente en un diagrama sumacu indica el punto donde ha cambiado la media del proceso, indicando el valor de la pendiente el tamaño del cambio. Naturalmente, si un diagrama sumacu sugiere que ha ocurrido un cambio en la media del proceso se deben comprobar los posibles cambios en σ . Esto se puede hacer utilizando un diagrama de Shewhart, no obstante también se pueden dibujar los diagramas sumacu para rangos. En las referencias al final del capítulo se proporcionan más detalles sobre los usos de los diagramas de control.

4.10. Esquemas de pruebas de suficiencia

La calidad de las medidas analíticas se refuerza a través de dos tipos de esquemas de ensayo, en cada uno de los cuales una serie de laboratorios podrían participar simultáneamente. En el primero de ellos, **esquemas de ensayo de suficiencia (ES)**, se envían partes alícuotas de materiales homogéneos a una serie de laboratorios para que se hagan análisis a intervalos regulares (cada pocas semanas o meses), y se informa sobre los datos resultantes a un organizador central. Cada laboratorio analiza su parte *utilizando su propio método habitual*, y el material circulado se diseña para que las muestras se puedan volver a juntar. Los resultados de todos los análisis circulan entre todos los participantes, beneficiándose de conocer cómo se comparan sus medidas con las demás, cómo sus propias medidas mejoran o se deterioran con el tiempo, y cómo sus propias medidas se comparan con un estándar de calidad interno. En resumen, el objetivo de dichos esquemas es la evaluación de la capacidad de los laboratorios analíticos. Los esquemas ES

se han desarrollado ahora para el uso en un amplio rango de campos de aplicación incluyendo varias áreas de la química clínica, análisis de aguas, diferentes tipos de análisis de comidas y bebidas, análisis forense, etc. La experiencia demuestra que en dichos esquemas surgirán resultados ampliamente divergentes, incluso entre laboratorios experimentados y bien equipados tanto de medios materiales como humanos. En uno de los análisis clínicos más comunes, la determinación de glucosa en sangre al nivel mM, la mayoría de los resultados obtenidos para una única muestra de sangre se aproximan a una distribución normal con valores entre 9.5 y 12.5 mM, un intervalo en sí mismo de rango poco considerable. Pero el rango completo de resultados fue de 6.0 a 14.5 mM, es decir, algunos laboratorios obtuvieron valores casi 2.5 veces los de otros. Resultan obvias las implicaciones de esta discrepancia en el diagnóstico clínico. En áreas de análisis más difíciles los resultados pueden ser tan divergentes que no existe ningún consenso auténtico entre los diferentes laboratorios. Resulta muy evidente la importancia de los esquemas ES a la hora de esclarecer dichas diferencias alarmantes, ayudando a minimizarlas y animando a los laboratorios a comparar su eficacia. Además, han ayudado de manera incuestionable a mejorar la calidad de los resultados analíticos en muchos campos. Aquí nos centramos sólo en la evaluación estadística del diseño y resultado de dichos esquemas, y no en los aspectos administrativos de su organización. De especial importancia son los métodos de evaluación del cumplimiento de los participantes y la necesidad de asegurar que la muestra de la que se extraen las partes alícuotas que circulan sea homogénea.

El método recomendado para verificar la homogeneidad de la muestra conlleva la toma de $n \geq 10$ partes del material de ensayo al azar, homogeneizándolas separadamente si es necesario, tomando dos muestras de ensayo de cada parte, y analizando las $2n$ partes mediante un método cuya desviación estándar bajo condiciones de repetibilidad no sea superior al 30 % de la desviación estándar objetivo (es decir, la reproducibilidad esperada; véase más adelante) del esquema de suficiencia. Si la homogeneidad resulta satisfactoria, el análisis de la varianza de un factor debería entonces demostrar que el cuadrado medio entre muestras no es significativamente mayor que dentro de muestras (véase la Sección 4.3).

Los resultados obtenidos por los laboratorios participantes en un esquema ES se suelen expresar habitualmente como puntuaciones z , donde z viene dado por (véase la Sección 2.2):

$$z = \frac{x - x_a}{\sigma} \quad (4.11)$$

En esta ecuación el valor x es el resultado obtenido por un único laboratorio para un análisis dado; x_a es el valor asignado para el nivel del analito, y σ es el valor objetivo para la desviación estándar de los resultados de ensayo. El valor asignado x_a se obtiene mejor utilizando un material de referencia certificado, si es que hay uno disponible y adecuado para distribuirlo entre los participantes. En algunos casos esto no es posible, y el valor asignado es el

valor medio obtenido mediante un número de laboratorios «expertos» seleccionados. Todavía en otros casos el único valor factible asignado es un consenso obtenido a partir de los resultados de la mayoría o de todos los laboratorios. Esta última situación resulta de interés ya que, cuando muchos laboratorios participan en un esquema ES dado, se está seguro de que aparecerán una serie de datos sospechosos o anómalos en un ensayo individual. (Se debería observar que, aunque muchos esquemas ES proporcionan muestras e informan sobre características de más de un analito, la experiencia demuestra que un laboratorio que puntúa bien en un análisis específico no necesariamente puntúa bien en otros.) Este problema se ve solventado bien por el uso de la *mediana* (véase el Capítulo 6), que es especialmente recomendado para conjuntos de datos pequeños ($n < 10$), una *media robusta* (véase el Capítulo 6), o la *media del recorrido intercuartílico* (véase el Capítulo 6). Todas estas medidas de localización evitan o dirigen los efectos de los resultados dudosos. Se recomienda también que se informe de la *incertidumbre* del valor asignado a los participantes en el ES. Esto también se puede obtener de los resultados de laboratorios expertos: las estimaciones de la incertidumbre se analizan posteriormente con más detalle (Sección 4.12).

El valor objetivo para la desviación estándar, σ , debería circular de antemano entre los participantes ES junto con un resumen del método por el cual se ha establecido. Variará con la concentración de analito, y una aproximación a estimarlo es utilizar una relación funcional entre concentración y desviación estándar. La relación mejor conocida es la trompeta de Horwitz, fechada en 1982, denominada así por su forma. Utilizando muchos resultados de ensayos de colaboración, Horwitz demostró que la desviación estándar relativa de un método variaba con la concentración, c (e.g. mg g^{-1}), de acuerdo a la ecuación empírica y aproximada:

$$\text{DER} = \pm 2^{(1 - 0.5 \log c)} \quad (4.12)$$

Esta ecuación conduce a la curva con forma de trompeta mostrada en la Figura 4.8, que se puede utilizar para derivar valores objetivos de σ para cualquier análisis. Dichos valores objetivos se pueden estimar también del conocimiento previo de las desviaciones estándar normalmente logradas en el análisis en cuestión. Otra aproximación utiliza la falta de ajuste para establecer criterios: si los resultados del análisis, utilizados de forma rutinaria, exigen una cierta precisión para que los datos sean interpretados adecuadamente y de forma útil, esa precisión proporciona el valor aceptable más grande (peor) de σ . Resulta una práctica pobre estimar σ a partir de los resultados de las rondas previas del esquema ES en sí mismo, ya que esto ocultaría cualquier mejora o deterioro en la calidad de los resultados con el tiempo.

Los resultados de una única ronda de un esquema ES se resumen con frecuencia como se muestra en la Figura 4.9. Si los resultados siguen una distribución normal con media x_a y desviación estándar σ , las puntuaciones z serán una muestra de la distribución normal estándar, es decir, una distribución normal con media cero y varianza 1. Por tanto, un laboratorio con un valor $|z| < 2$ se considera por lo general que ha funcionado satisfac-

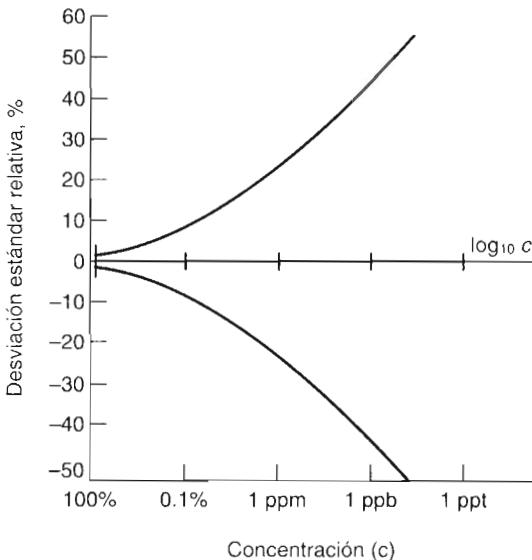


Figura 4.8. La trompeta de Horwitz.

terioramente, un valor de $|z|$ entre 2 y 3 resulta cuestionable, y valores de $|z| > 3$ son inaceptables. Desde luego, incluso los laboratorios con puntuaciones satisfactorias se esforzarán por mejorar sus valores en las rondas posteriores del ES. En la práctica, no es infrecuente encontrar distribuciones de «colas acusadas», es decir, más resultados de los esperados con $|z| > 2$.

Algunos valores se han adjuntado a los métodos de combinar las puntuaciones z . Por ejemplo, los resultados de un laboratorio en un esquema ES único a lo largo de un año se podrían combinar (aunque esto enmascararía cualquier mejora o deterioro en el funcionamiento sobre el año). Si el mismo método analítico se aplica a diferentes concentraciones del mismo analito en cada ronda del mismo esquema ES, nuevamente una puntuación compuesta podría tener un valor limitado. Para este propósito se utilizan dos funciones, la **suma de puntuaciones z rescaladas (SPR)**, y la **suma de puntuaciones z cuadradas (SPC)**, dadas por $SPR = \sum_i z_i / \sqrt{n}$ y $SPC = \sum_i z_i^2$, respectivamente. Cada una de estas funciones tiene desventajas, no recomendándose el uso de las puntuaciones z combinadas.

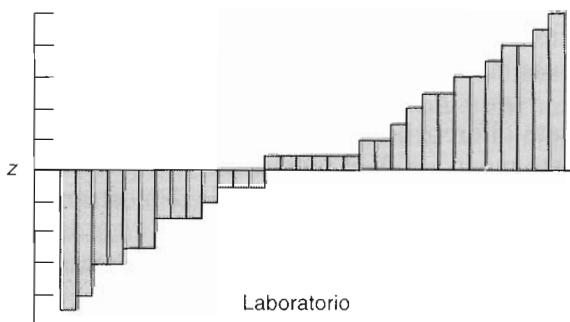


Figura 4.9. Resumen de resultados de una única ronda ES.

4.11. Ensayos de colaboración

Como se ha visto, los esquemas de prueba de habilidad permiten que sea controlada, comparada y quizás mejorada la competencia de los laboratorios. En contraste, un **ensayo de colaboración (EC)** pretende evaluar la precisión de un *método analítico*, y a veces su capacidad para proporcionar resultados libres de sesgo. Consiste normalmente en un único experimento implicando a laboratorios expertos y competitivos, los cuales usan por definición la misma técnica. Los ensayos de colaboración quizás se describen mejor como **estudios de funcionamiento de métodos**.

Un experimento preliminar crucial es el ensayo de «enterza, resistencia o robustez». Como se vio en el Capítulo 1, incluso los experimentos analíticos muy sencillos suponen varios pasos individuales y, quizás, el uso de un cierto número de reactivos. Así, muchos factores experimentales (por ejemplo, temperatura, composición del disolvente, pH, humedad, pureza de reactivos y concentración, etc.) afectarán a los resultados, y es esencial que dichos factores se identifiquen y estudien antes de que se emprenda cualquier ensayo de colaboración. En algunos casos un método resulta ser tan sensible a pequeños cambios en un factor, que en la práctica es difícilísimo de controlar (por ejemplo, reactivos de alta pureza) de modo que el método se rechaza por ser impracticable antes de que se efectúe el EC. En otros casos el ensayo continuará, pero se prevendrá a los colaboradores de aquellos factores que deben ser controlados con más cuidado. Aunque en el Capítulo 7 se expone una discusión más completa del diseño experimental, es importante indicar aquí que puede obtenerse mucha información de un número relativamente pequeño de experimentos. Supóngase que se cree que siete factores experimentales (A-G) podrían afectar a los resultados de un análisis. Estos factores tienen que ser probados con (al menos) dos valores, denominados niveles, para ver si son realmente significativos. Así, si se pensó que la temperatura afectaba al resultado, se deben realizar experimentos preliminares a dos temperaturas (niveles) y comparar los resultados. De manera similar, si la pureza de los reactivos puede ser importante, se deben realizar experimentos con lotes de reactivos de alta y baja pureza. Entonces podría pensarse que serán necesarios 2^7 experimentos preliminares para cubrir todas las combinaciones posibles de siete factores a dos niveles. Sin embargo, en la práctica sólo ocho experimentos proporcionarán información importante. Los dos niveles de los factores se denominan + y -, y la Tabla 4.4 muestra cómo estos niveles están situados en los ocho experimentos, cuyos resultados se denominan y_1 , y_2 , ..., y_8 . El efecto de alterar cada uno de los factores de su nivel alto a su nivel bajo se calcula fácilmente. Así, el efecto de cambiar B de + a - viene dado por $(y_1 + y_2 + y_5 + y_6)/4 - (y_3 + y_4 + y_7 + y_8)/4$.

Cuando las siete diferencias de los factores (A-G) se hayan calculado en su totalidad de este modo, es fácil identificar cualquier factor que tenga un efecto preocupante en los resultados. Se puede demostrar que cualquier diferencia que sea más de dos veces la desviación estándar de medidas repetidas es significativa y debe estudiarse posteriormente. Este simple conjunto de experimentos, técnicamente conocido como **diseño factorial incompleto**, tiene la desventaja que no se pueden detectar las interacciones entre los factores. Este aspecto se analizará en el Capítulo 7.

Tabla 4.4. Ensayo de entereza, resistencia o robustez para siete factores.

Experimento	Factores							Resultado
	A	B	C	D	E	F	G	
1	+	+	+	+	+	+	+	y_1
2	+	+	-	+	-	-	-	y_2
3	+	-	+	-	+	-	-	y_3
4	+	-	-	-	-	+	+	y_4
5	-	+	+	-	-	+	-	y_5
6	-	+	-	-	+	-	+	y_6
7	-	-	+	+	-	-	+	y_7
8	-	-	-	+	+	+	-	y_8

En los últimos años corporaciones internacionales se han movilizado con vistas a un acuerdo acerca de cómo deben realizarse los EC. Al menos 8 laboratorios ($k \geq 8$) deben estar involucrados. Ya que la precisión de un método depende normalmente de la concentración de analito, debería aplicarse con al menos 5 niveles diferentes de analito en la misma matriz de la muestra con medidas duplicadas para cada nivel ($n = 2$). Un requerimiento decisivo de un EC es que se debería distinguir entre la repetibilidad de la desviación estándar, s_r , y la reproducibilidad de la desviación estándar, s_R . A cada nivel de analito éstas están relacionadas por la ecuación:

$$s_R^2 = s_r^2 + s_L^2 \quad (4.13)$$

donde s_L^2 es la varianza debida a las diferencias interlaboratorios, que reflejan diferentes grados de sesgo en diferentes laboratorios. Téngase en cuenta que en este contexto particular, la reproducibilidad se refiere a errores que surgen en diferentes laboratorios y equipamientos, pero utilizando *el mismo* método analítico: ésta es una definición más restringida de reproducibilidad que la utilizada en otros casos. Como se vio en la Sección 4.3, ANOVA de un factor puede utilizarse (con cálculos distintos a cada nivel de concentración utilizada en el EC) para separar las fuentes de variación de la ecuación (4.13). Sin embargo, el uso adecuado de la ecuación involucra dos supuestos: (1) que a cada nivel de concentración la media obtenida en diferentes laboratorios esté distribuida normalmente; y (2) que a cada concentración sea igual la repetitividad de la varianza entre laboratorios. Ambos supuestos son probados utilizando métodos estándar antes de comenzar con los cálculos ANOVA. En la práctica el segundo supuesto, el de la homogeneidad de la varianza, se prueba primero utilizando el método de Cochran. Estrictamente hablando, este contraste se diseña para detectar varianzas anómalas en vez de probar la homogeneidad de la varianza como un conjunto, sin embargo otros métodos más rigurosos para el último propósito son más complejos. El contraste de Cochran calcula C comparando el rango mayor (es decir, la diferencia entre los dos resultados de un mismo laboratorio) con la suma de dichos rangos. (Si $n > 2$ se comparan varianzas en vez de rangos), pero aquí

se supone que cada laboratorio participante hace sólo dos medidas a cada nivel):

$$C = \frac{w_{\max}^2}{\sum_j w_j^2} \quad (4.14)$$

donde j toma valores de 1 a k , el número de laboratorios participantes. El valor de C obtenido se compara con los valores críticos de la Tabla A.15, y la hipótesis nula, es decir, se rechaza que la varianza más grande no sea un valor anómalo, si el valor crítico es mayor que el valor adecuado de k . Cuando se rechaza la hipótesis nula, se descartan los resultados procedentes del laboratorio en cuestión.

Se contrasta entonces el primer supuesto utilizando el contraste de Grubbs (Sección 3.7) el cual se aplica en primer lugar como un contraste simple de valores anómalos, y entonces (puesto que cada laboratorio realiza medidas por duplicado) en forma modificada como un contraste por parejas de valores anómalos. En ambos casos todos los resultados de los laboratorios que producen resultados anómalos son de nuevo excluidos del ensayo, a no ser que esto dé lugar a pérdidas de demasiados datos. Cuando se completan estos test de valores anómalos, se puede proceder con los cálculos ANOVA como en la Sección 4.3.

En muchas circunstancias no es posible llevar a cabo un EC completo como se describió anteriormente, por ejemplo, cuando los materiales de prueba no estén disponibles en el rango de concentraciones adecuado. En tales casos se puede usar un sistema más simple. Éste es el método de **Youden de pares de parejas** o de las dos muestras, en el que a cada laboratorio participante se le envían *dos materiales de composición similar*, X e Y , y se les solicita que realicen una determinación de cada uno. Los resultados se representan como se muestra en la Figura 4.10, representando cada punto como un par de resultados de un único laboratorio. También se determinan los valores medios para los dos materiales, \bar{X} e \bar{Y} , y se dibujan líneas hori-

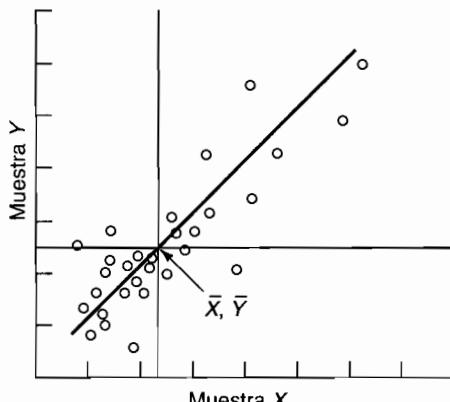


Figura 4.10. Una representación gráfica de Youden para dos muestras.

izontales y verticales a través del punto (\bar{X} , \bar{Y}), este punto divide el diagrama en cuatro cuadrantes. Este diagrama permite evaluar la existencia en el ensayo de errores aleatorios y sesgo. Si sólo existen errores aleatorios, las determinaciones de X e Y pueden dar resultados que son a la vez demasiado altos, a la vez demasiado bajos, X alto e Y bajo, o X bajo e Y alto. Estos cuatro resultados podrían ser aproximadamente iguales, y el número de puntos en cada uno de los cuadrantes sería aproximadamente igual. Sin embargo, si existen errores sistemáticos en el laboratorio, es probable que sus resultados para X e Y sean altos, o bajos. Así, si los errores sistemáticos predominan, muchos de los puntos estarán en los cuadrantes del diagrama superior derecho e inferior izquierdo. Éste es de hecho el resultado obtenido en muchos casos. En el caso imposible de ausencia de errores aleatorios, todos los puntos deberían caer sobre la diagonal de 45° con los ejes del diagrama, de manera que cuando en la práctica tales errores están presentes, la distancia de la perpendicular de un punto desde esa línea proporciona una medida del error aleatorio del laboratorio. Además, la distancia de la intersección de la perpendicular con la línea de 45° al punto (\bar{X} , \bar{Y}) mide el error sistemático del laboratorio. Esta sencilla aproximación a los ensayos de colaboración es por tanto capaz de proporcionar de forma sencilla una buena cantidad de información. La aproximación de Youden tiene la ventaja adicional de que los laboratorios participantes no tienden a suprimir una o más determinaciones repetidas, pudiéndose estudiar muchos materiales sin considerar un gran número de experimentos.

Los diagramas de Youden proporcionan una buena cantidad de información accesible de manera inmediata pero todavía se necesitan métodos de cálculo de varianzas s_R^2 y s_r^2 . El siguiente ejemplo muestra cómo se puede hacer esto de forma sencilla.

EJEMPLO 4.11.1

Se determinaron en nueve laboratorios (1-9) los niveles de plomo (en ng g^{-1}) en dos muestras similares (X e Y) de formulaciones de leche en polvo para niños, utilizando espectro-metría de absorción atómica con horno de grafito. Los resultados fueron:

Muestra	Laboratorios								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
X	35.1	23.0	23.8	25.6	23.7	21.0	23.0	26.5	21.4
Y	33.0	23.2	22.3	24.1	23.6	23.1	21.0	25.6	25.0

Evaluar la variación global entre laboratorios, y sus componentes aleatorios y sistemáticos.

En EC de este tipo existe una diferencia entre las muestras así como entre laboratorios. Por el procedimiento normal, tal situación debería ser tratada por un ANOVA de dos factores (ver Sección 7.4), y esto se hace en algunos casos. Sin embargo, en este ejemplo, hay solamente dos muestras, elegidas deliberadamente con un contenido analítico similar, de manera que es escaso el interés en la evaluación de la diferencia entre ellos. Además se pueden hacer los cálculos por un camino que es numérica y conceptualmente más simple que un ANOVA de dos factores. Al realizar el cálculo se observa que el resultado obtenido

por cada laboratorio para la muestra X puede incluir un error sistemático. El *mismo* error sistemático se incluirá presumiblemente en aquel resultado de laboratorio para la muestra Y . La diferencia $D (= X - Y)$ tendrá por tanto eliminado este error, de manera que el intervalo de los valores de D proporcionarán una estimación de los errores aleatorios o de medida. Similarmente, X e Y pueden acumularse para dar T , cuya variabilidad proporciona una estimación de la variación global de los resultados. La varianza se estima por:

$$s_r^2 = \frac{\sum_i (D_i - \bar{D})^2}{2(n-1)} \quad (4.15)$$

y la varianza global, $s_{\bar{r}}^2$ debida a todas las fuentes de error, se estima por:

$$s_{\bar{r}}^2 = \frac{\sum_i (T_i - \bar{T})^2}{2(n-1)} \quad (4.16)$$

Nótese que cada una de estas ecuaciones incluye un 2 en el denominador. Esto se justifica porque D y T dan las estimaciones de los errores en dos series de resultados, que se restan y suman a D y T respectivamente. Los resultados de este ensayo puede expresarse en una tabla como sigue:

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
X	35.1	23.0	23.8	25.6	23.7	21.0	23.0	26.5	21.4
Y	33.0	23.2	22.3	24.1	23.6	23.1	21.0	25.6	25.0
D	2.1	-0.2	1.5	1.5	0.1	-2.1	2.0	0.9	-3.6
T	68.1	46.2	46.1	49.7	47.3	44.1	44.0	52.1	46.4

La tercera y cuarta filas de la tabla pueden utilizarse para demostrar que $\bar{D} = 0.244$ y $\bar{T} = 49.33$. Las ecuaciones (4.15) y (4.16) muestran que la varianza global y la varianza de las medidas son $(5.296)^2$ y $(1.383)^2$, respectivamente. Pueden ser comparadas como de costumbre utilizando el contraste F , dando $F = 14.67$. El valor crítico, $F_{0.05}$, es $3.44(P = 0.05)$, de manera que la variación entre laboratorios no puede ser debida a errores aleatorios. El componente debido al sesgo, s_L^2 , viene aquí dado por:

$$s_{\bar{r}}^2 = 2s_L^2 + s_r^2 \quad (4.17)$$

Nótese de nuevo la aparición del 2 en la Ecuación (4.17), porque se estudian dos muestras. Es fácil calcular que la estimación de s_L^2 es $(3.615)^2$. La media de todas las medidas es $49.33/2 = 24.665$, de manera que la desviación estándar relativa es $(100 \times 5.296)/24.665 = 21.47\%$. Éste parece ser un valor alto, pero la relación de la trompeta de Horwitz predeciría un valor incluso más alto de ca. 28% a este nivel de concentración. Debería hacerse constar que los posibles valores anómalos no se consideran en el procedimiento de Youden, de manera que la posibilidad de rechazo de los resultados del laboratorio 1 no prospera.

4.12. Incertidumbre

En el Capítulo 1 se aprendió que los procedimientos analíticos se encontrarán afectados tanto por errores aleatorios como por sesgo. En los últimos años un número cada vez mayor de químicos analíticos ha ido reconociendo

la importancia de proporcionar para cada análisis un único número que describa su efecto combinado. La **incertidumbre** de un resultado es un parámetro que describe un intervalo dentro del cual se espera que se encuentre la cantidad medida, teniendo en cuenta todas las fuentes de error. El concepto se encuentra muy asentado en las medidas físicas. Su valor en la química analítica resulta también innegable, aunque ciertas preguntas y controversias permanecen acerca de la facilidad de su interpretación por parte de organismos públicos, asociaciones profesionales y el público profano, así como sobre los mejores métodos para calcularlo. Para expresar la incertidumbre se emplean dos símbolos. La **incertidumbre estándar** (u) expresa el concepto como una desviación estándar. La **incertidumbre expandida** (U) define un *intervalo* que abarca una fracción grande de valores dentro de los cuales caerá la cantidad que se está midiendo y se obtiene multiplicando u por un **factor de cobertura**, k , elegido según el grado de confianza exigido para el rango, es decir, $U = u \times k$. Puesto que u es análoga a una desviación estándar, si k es 2 (éste es el valor por defecto generalmente tomado si no se da otra información), entonces U proporciona aproximadamente una mitad del intervalo de confianza del 95 %.

En principio, se encuentran disponibles dos aproximaciones básicas para estimar la incertidumbre. La aproximación **de abajo hacia arriba** identifica cada etapa separada de un análisis, incluyendo siempre que sea posible fases de muestreo, asigna errores aleatorios y sistemáticos apropiados a cada una de ellas, y luego combina estas componentes utilizando las reglas resumidas en la Sección 2.11 para proporcionar un valor de u global. Sin embargo, por una serie de razones este proceso puede no ser tan simple como parece. El primer problema es que incluso los procesos analíticos simples pueden conllevar muchos pasos experimentales individuales y posibles fuentes de error. Es fácil pasar por alto algunas de estas fuentes y, por tanto, llegar a un valor de incertidumbre muy optimista. Si todas las fuentes de error se *identifican* por completo, entonces el proceso del cálculo global resultará bastante largo. Ejemplos de fuentes de error que se deberían considerar pero que se omiten con facilidad, incluyen sesgo del operador; sesgo del instrumento, incluyendo el transporte de muestra; suposiciones relativas a la pureza del reactivo; uso de aparatos volumétricos a una temperatura diferente de aquella a la que se calibraron; cambios en la composición de la muestra durante el análisis, bien debidos a la contaminación o debidos a la inestabilidad inherente; uso de calculadoras o computadoras con prestaciones inadecuadas o con el modelo estadístico aplicado equivocado, etc. Todos estos factores puede que surjan *además* de los errores aleatorios que inevitablemente ocurren en las medidas repetidas. Mientras que los últimos se pueden estimar directamente mediante medidas repetidas, algunos de los sistemáticos puede que no sean inherentes al experimento, y tengan que ser estimados empleando la experiencia, o la información de los fabricantes del equipo tales como los certificados de calibración o las especificaciones del instrumento.

Otro problema es que, como se demostró en el Capítulo 2, los errores sistemáticos no se prestan inmediatamente por ellos mismos al tratamiento estadístico en la misma forma que los aleatorios. Entonces, ¿cómo se pueden combinar con los errores aleatorios para proporcionar un valor global u ? (Todavía resulta una buena práctica minimizar los errores sistemáticos me-

diante el uso de materiales de referencia y estándar, pero aún se incluirían los errores implicados en ese proceso de corrección en la estimación de la incertidumbre global.) El método habitual de manejar los errores sistemáticos es tratarlos como procedentes de una distribución rectangular. Supóngase, por ejemplo, que un fabricante manifiesta que la pureza de un reactivo es $99.9 \pm 0.1\%$. Esto no significa que la pureza del reactivo en su recipiente varíe aleatoriamente con una desviación estándar del 0.1%: significa que la pureza del reactivo en una única botella se encuentra entre 99.8% y 100%. Esto es, cualquier botella lleva asociado un error sistemático, y no hay razón para suponer que la pureza real se encuentre más próxima al 99.9% que a cualquier otro valor en el rango 99.8–100.0%. En tales casos, la contribución a la incertidumbre estándar se obtiene dividiendo el error por $\sqrt{3}$, dando un valor de $0.1/\sqrt{3} = 0.0577$, y este valor se combina con otras contribuciones como si procediese de una fuente de error aleatorio.

Un problema adicional, cuyo alcance parece que no se ha investigado por completo, es que las reglas para combinar errores proporcionadas en el Capítulo 2 suponen que las fuentes de los errores son *independientes*. En realidad parece muy posible que esto no sea siempre cierto. Por ejemplo, si una serie de experimentos se llevan a cabo durante un período en el cual la temperatura del laboratorio fluctúa, dichas fluctuaciones podrían tener varios efectos, como alterar la capacidad de aparatos volumétricos, causar pérdidas de muestra a través de la volatilidad, afectando a la sensibilidad de detectores ópticos o electroquímicos, etc. Puesto que todos estos errores surgirían de una única fuente, se encontrarían correlacionados, y estrictamente hablando no se podrían combinar empleando fórmulas simples. En dichos casos la incertidumbre real podría ser menor que el valor u calculado sobre la hipótesis de errores independientes.

Globalmente, la aproximación de abajo hacia arriba para las estimaciones de la incertidumbre puede consumir demasiado tiempo para muchos propósitos. Es posible que en algunos laboratorios no sea necesario realizar dichos cálculos muy a menudo, ya que una estimación de la incertidumbre realizada con detalle para un análisis puede servir como modelo para otros análisis a lo largo de un período de tiempo. Pero en otros casos, de manera más obvia cuando están presentes cuestiones legales o de regulación (ver más adelante), esto no será suficiente y una estimación de la incertidumbre se tendrá que proporcionar para cada muestra en conflicto. A pesar de esto, la aproximación de abajo hacia arriba es la que recomiendan actualmente muchas autoridades.

Una aproximación completamente diferente es el método **de arriba hacia abajo**, que busca emplear los resultados de los esquemas de ensayo de suficiencia en una serie de laboratorios (véase la Sección 4.10) para proporcionar estimaciones de las incertidumbres globales de las medidas sin intentar necesariamente identificar cada fuente individual de error. Claramente, el método sólo se aplica en áreas donde se encuentran disponibles los datos de esquemas de suficiencia ejecutados correctamente, aunque el número de dichos esquemas se está extendiendo con rapidez y puede, por tanto, proporcionar una alternativa real a los métodos de abajo hacia arriba en muchos campos. Se puede argumentar que los valores de incertidumbre calculados de esta forma son más realistas que los valores de los métodos de abajo hacia

arriba, y hay un gran ahorro de esfuerzo, ya que los resultados del esquema ES (pruebas de suficiencia) proporcionan directamente estimaciones de la incertidumbre. Por otra parte, los esquemas ES emplean varios métodos analíticos, así que razonablemente se podría decir que la incertidumbre de los resultados de un laboratorio que tiene dilatada experiencia en un único método podrían ser mejores (más pequeños) que los resultados ES sugerirían. De nuevo, los esquemas ES utilizan materiales de una única muestra preparados con gran cuidado. Por tanto, se podrían pasar por alto algunos errores de muestreo que ocurrirían en un análisis genuino.

Estos problemas han conducido a algunos organismos a proponer métodos más simples, explícitamente diseñados para minimizar la carga de trabajo en laboratorios que emplean una serie de procedimientos analíticos. En una de esas aproximaciones los principios básicos son: (1) Los errores sistemáticos no se incluyen en las estimaciones de la incertidumbre, pero se establecen empleando materiales de referencia como es habitual y así se corrigen o eliminan. (2) Se toman al menos 10 medidas replicadas sobre muestras auténticas estables y bien caracterizadas o sobre materiales de referencia. (Esto implica nuevamente que las incertidumbres del muestreo no se incluyan en las estimaciones.) (3) Las incertidumbres se calculan de las desviaciones estándar de las medidas realizadas *en condiciones de reproducibilidad internas*, es decir, con analistas diferentes, utilizando concentraciones diferentes (incluyendo cualquiera que sea relevante a los requerimientos legales), y en todas las matrices relevantes. Estas condiciones se supone que reproducen miméticamente aquellas que se presentan en un laboratorio en las operaciones diarias. Se realiza alguna provisión en aquellas circunstancias en que no se puedan lograr las condiciones de reproducibilidad (por ejemplo, donde las muestras sean intrínsecamente inestables). Este método parece ser muy simple, pero puede ser adecuado: de hecho, puede ser el único método practicable en algunos casos.

Las estimaciones de la incertidumbre son importantes no sólo para cualquiera que haya suministrado una muestra para su análisis y que exija un intervalo de valores donde debería caer la concentración verdadera del analito. También son valiosas para demostrar que un laboratorio tiene la capacidad para realizar análisis de significación legal o estatutaria. Una vez que en un laboratorio dado se conoce un valor de incertidumbre para un análisis concreto, resulta simple interpretar los resultados con relación a tal referencia o a otros límites de especificación. La Figura 4.11 muestra cuatro situaciones posibles, donde se supone que se ha utilizado un factor de cobertura de 2 para determinar U al nivel del 95 % (el intervalo del 95 % se muestra mediante las flechas dobles verticales), y donde se han especificado tanto el límite superior como el inferior para la concentración del analito. Estos límites se indican mediante líneas horizontales.

En el caso A, el intervalo de incertidumbre cae completamente entre los límites superior e inferior especificados, de manera que se ha logrado la conformidad con la especificación. En el caso B, el intervalo al 95 % se extiende más allá del límite superior, de manera que aunque es más verosímil que no haya conformidad, no se puede verificar completamente al nivel del 95 %. En el caso C la conformidad es muy improbable, aunque no imposible, y en el caso D es claro que no lo cumple.

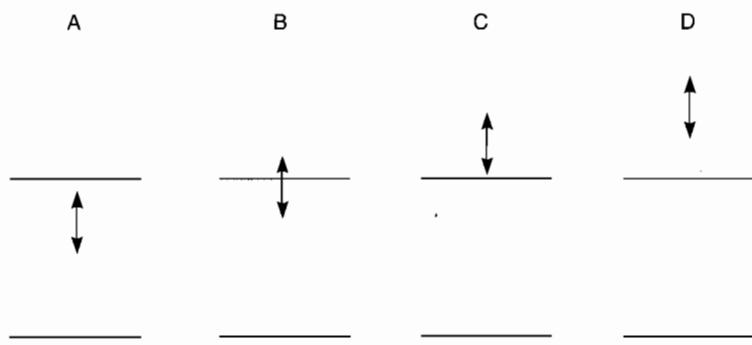


Figura 4.11. El uso de la incertidumbre para contrastar conformidad con los límites de especificación.

Aunque ninguna de las aproximaciones para estimar las incertidumbres es ideal, y aunque el término en sí mismo aún provoca controversia (algunos químicos analíticos creen que es demasiado negativo o pesimista en sus implicaciones para el público profano), parece seguro que los cálculos de incertidumbre crecerán en importancia en el futuro.

4.13. Muestreo de aceptación

Las secciones anteriores de este capítulo han demostrado cómo la calidad de los resultados analíticos obtenidos en un laboratorio se puede controlar mediante procedimientos de control de calidad interno y la participación en esquemas de ensayos de suficiencia. También se ha demostrado cómo el concepto de incertidumbre se ha diseñado para ayudar a la interpretación de los resultados analíticos que realizan los clientes, incluyendo las autoridades reguladoras. En esta sección se considera otro problema importante que concierne tanto a los analistas como a sus clientes llamado **muestreo de aceptación**. En los capítulos anteriores se han analizado ya los principios estadísticos simples que intervienen en esta problemática. Supóngase que al fabricante de un producto químico se le exige asegurar que no contenga más de un cierto nivel de una impureza concreta. Esto se llama **nivel de calidad aceptable** (NCA) del producto y viene dado por el símbolo μ_0 . La intención del fabricante para asegurar que este nivel de impureza no sea superado se controla ensayando lotes del producto. Cada ensayo conlleva n partes de ensayo, cuyo nivel medio de impureza es \bar{x} como se ha visto. La variación entre partes, σ , se suele conocer de la experiencia previa. El problema práctico que surge es que, incluso cuando un lote de material fabricado tiene un nivel de impureza de μ_0 , y es, por tanto, satisfactorio, valores de \bar{x} superiores a μ_0 aparecerán en el 50 % de los análisis. Por tanto, el fabricante establece un valor crítico para \bar{x} , dado por el símbolo \bar{x}_0 . El lote será rechazado para un valor de $\bar{x} > \bar{x}_0$. Este valor crítico es mayor que μ_0 , asegurando de este modo que el fabricante se expone sólo a un riesgo pequeño de rechazar un lote satisfactorio.

Al mismo tiempo el cliente desea minimizar el riesgo de aceptar un lote con un nivel medio de impureza superior a μ_0 . Esto se puede lograr fijando un **nivel de calidad de tolerancia** (NCT) acordado, μ_1 , que tenga una pequeña probabilidad de aceptación. El objetivo del muestreo de aceptación es que el valor crítico \bar{x}_0 minimice el riesgo tanto para el cliente como para el fabricante. Al mismo tiempo se desea asegurar que n no sea más grande de lo necesario. Esto se puede conseguir utilizando las propiedades de la distribución en el muestreo de la media, dado que σ es conocida.

Supóngase que el fabricante acepta un riesgo del 5 % de rechazar un lote del producto químico que de hecho sea satisfactorio, es decir, un lote para el cual $\bar{x} > \bar{x}_0$, incluso aunque $\mu = \mu_0$. Entonces se puede escribir:

$$(\bar{x}_0 - \mu_0)/(\sigma/\sqrt{n}) = 1.64 \quad (4.18)$$

El valor 1.64 se puede encontrar en la tabla A.2 (ver también la Sección 2.2). Supóngase también que el cliente está preparado para aceptar un riesgo del 10 % de aceptar un lote con la impureza en el NCT. Entonces se puede escribir de manera similar:

$$(\bar{x}_0 - \mu_1)/(\sigma/\sqrt{n}) = -1.28 \quad (4.19)$$

Puesto que en la práctica los valores de μ_0 y μ_1 se habrán acordado de antemano, las ecuaciones (4.18) y (4.19) proporcionan ecuaciones simultáneas que se pueden resolver para obtener n y \bar{x}_0 .

EJEMPLO 4.13.1

Determine n y \bar{x}_0 para el caso donde el NCA y el NCT son 1.00 g kg^{-1} y 1.05 g kg^{-1} de impureza, respectivamente, los riesgos del fabricante y del cliente son del 5 % y 10%, respectivamente, y σ es 0.05 g kg^{-1} .

La solución a este problema conlleva el uso de las ecuaciones (7.10) y (7.11) con μ_0 y μ_1 tomando los valores de 1.00 y 1.05, respectivamente. Mediante la transformación de estas ecuaciones se puede escribir:

$$n = [(1.64 + 1.28)0.05/(1.05 - 1.00)]^2$$

$$\bar{x}_0 = [(1.64 \times 1.05) + (1.28 \times 1.00)/(1.64 + 1.28)]$$

Estas ecuaciones proporcionan $n = 2.92^2 = 8.53$, que se redondea a un tamaño muestral de 9, y $\bar{x}_0 = 3.002/2.92 = 1.028$. Por tanto, un valor crítico del 1.028% de impureza y tamaño muestral de 9 proporcionará tanto al fabricante como al cliente la seguridad necesaria.

- Lawn, R. E., Thompson, M. and Walker, R. F. 1997. *Proficiency Testing in Analytical Chemistry*, Royal Society of Chemistry, London. (Un claro y actualizado tratado de esquemas ES.)
- Massart, D. L., Vandeginste, B. G. M., Buydens, L. M. C., de Jong, S., Lewi, P. J. and Smeyers-Verbeke, J. 1997. *Handbook of Chemometrics and Qualimetrics, Part A*. Elsevier, Amsterdam. (Extenso tratamiento de muchos tópicos relacionados con la calidad.)
- Montgomery, D. C. 1985. *Introduction to Statistical Quality Control*. Wiley, New York. (Un texto general clásico de la estadística del control de calidad.)
- Pritchard, E. 1995. *Quality in the Analytical Chemistry Laboratory*, Wiley, Chichester. (Introducción clara de los aspectos generales de la calidad, con discusión de la incertidumbre.)
- Wernimont, G. T. and Spendley, W. 1985. *Use of Statistics to Develop and Evaluate Analytical Methods*. AOAC, Arlington, USA. (Constituye la continuación de más relevancia sobre la obra de Youden y Steiner.)
- Youden, W. J. and Steiner, E.H. 1975. *Statistical Manual of the Association of Official Analytical Chemists*. AOAC, Arlington, USA. (Texto clásico con mucho énfasis sobre los ensayos de colaboración.)

Ejercicios

- Se proponen dos esquemas de muestreo para una situación en la que se sabe, de anteriores experiencias, que la varianza muestral es 10 y la varianza de las medidas 4 (en unidades arbitrarias).

- Esquema 1: Tomar cinco incrementos de muestra, mezclarlos y realizar un análisis por duplicado.
- Esquema 2: Tomar tres incrementos de muestra y realizar un análisis por duplicado de cada.

Demostrar que la varianza de la media es la misma para ambos esquemas.

¿Qué relación entre el coste de muestreo y el coste del análisis debe sobrepasarse para que el segundo esquema sea más económico?

- Los datos de la tabla adjunta dan la concentración de albúmina medida en el suero sanguíneo de un adulto. Se tomó una muestra de sangre durante cuatro días consecutivos y se determinó la concentración de albúmina en el suero por triplicado.

Día	Concentraciones de albúmina (normalizada, unidades arbitrarias)		
1	63	61	62
2	57	56	56
3	50	46	46
4	57	54	59

Demostrar que la concentración media para los diferentes días difiere significativamente. Estimar la varianza de la variación día a día (es decir, «la variación muestral»).

3. Para estimar las varianzas de medidas y muestreos se determinó la concentración de halofuginona en hígado de pollo, se tomaron cuatro incrementos de muestra de diferentes partes del hígado y se tomaron medidas por triplicado sobre cada una de ellas. Se obtuvieron los siguientes resultados (mg Kg^{-1}):

Muestra	Medidas repetidas		
A	0.25	0.22	0.23
B	0.22	0.20	0.19
C	0.19	0.21	0.20
D	0.24	0.22	0.22

Verificar que la varianza muestral es significativamente más grande que la varianza de las medidas y estimar ambas varianzas.

Se proponen dos posibles esquemas de muestreo:

Esquema 1: Tomar seis incrementos de muestra, mezclarlos y hacer las medidas por cuadruplicado.

Esquema 2: Tomar tres incrementos de muestra y sobre cada uno hacer las medidas por duplicado.

Calcular la varianza total de la media para cada esquema.

4. Para estimar la capacidad de un proceso, se tomaron medidas sobre seis muestras de tamaño 4, como se muestra en la tabla adjunta (en la práctica se necesitarían al menos 25 de tales muestras). Estimar la capacidad del proceso, s . Si el valor del objetivo es 50, calcular las posiciones de las líneas de acción y de aviso de un diagrama de Shewhart para la media muestral y el rango.

Muestra	Valores			
1	48.8	50.8	51.3	47.9
2	48.6	50.6	49.3	49.7
3	48.2	51.0	49.3	50.3
4	54.8	54.6	50.7	53.9
5	49.6	54.2	48.3	50.5
6	54.8	54.8	52.3	52.5

5. En un ensayo de colaboración, dos muestras muy similares de aceite (A y B) fueron enviadas a 15 laboratorios, cada uno de los cuales realizaron una determinación del nivel de cadmio en cada muestra utilizando la técnica de emisión de plasma por acoplamiento inductivo. Se obtuvieron los siguientes resultados:

<i>Laboratorio</i>	<i>Niveles de Cadmio (ppm)</i>	
	<i>A</i>	<i>B</i>
1	8.8	10.0
2	3.8	4.7
3	10.1	12.1
4	8.0	11.0
5	5.0	4.7
6	5.2	6.4
7	6.7	8.7
8	9.3	9.6
9	6.9	7.5
10	3.2	2.8
11	9.7	10.4
12	7.2	8.3
13	6.5	6.8
14	9.7	7.2
15	5.0	6.0

Dibujar el diagrama de dos muestras con estos datos, y comentar la principal fuente de error en el ensayo de colaboración. Estimar la varianza global, la varianza de la medida y el componente de error sistemático de la varianza de los resultados.

6. El valor objetivo para un análisis particular es 120. Si los ensayos preliminares muestran que las muestras de tamaño 5 dan un valor de 7, establecer los diagramas de Shewhart de la media y del rango para muestras del mismo tamaño.
7. Una muestra de sangre de control de calidad interno, utilizada para probar la exactitud de determinaciones de alcohol en sangre, contiene $80.0 \text{ mg } 100 \text{ ml}^{-1}$ de etanol. Se hicieron medidas sucesivas diarias del nivel de alcohol en la muestra utilizando cuatro réplicas. La precisión (capacidad del proceso) del método es $0.6 \text{ mg } 100 \text{ ml}^{-1}$. Se obtuvieron los siguientes resultados:

<i>Día</i>	<i>Concentración (mg </i> 100 ml^{-1} <i>)</i>
1	79.8
2	80.2
3	79.4
4	80.3
5	80.4
6	80.1
7	80.4
8	80.2
9	80.0
10	79.9
11	79.7
12	79.6
13	79.5

Día	Concentración ($mg\ 100\ ml^{-1}$)
14	79.3
15	79.2
16	79.3
17	79.0
18	79.1
19	79.3
20	79.1

Dibujar el diagrama de Shewhart para la media, el diagrama de cusumadas para estos resultados y comentar los resultados obtenidos.

Métodos de calibración en análisis instrumental: regresión y correlación

5.1. Introducción: análisis instrumental

Las técnicas de análisis clásicas o «química húmeda» como volumetrías y gravimetrías continúan utilizándose en muchos laboratorios y aún se enseñan ampliamente en cursos de Química Analítica. Dichas técnicas suministran excelentes introducciones a la manipulación y otras prácticas requeridas en el trabajo analítico, son ideales para análisis de alta precisión, especialmente cuando están involucrados un pequeño número de muestras, y algunas veces son necesarias para análisis de materiales patrón. Sin embargo, no hay duda que muchos análisis se llevan a cabo en este momento por métodos instrumentales. Técnicas que utilizan espectroscopía de absorción o emisión a varias longitudes de onda, diferentes métodos electroquímicos, espectrometría de masas, cromatografía gaseosa y líquida, métodos radioquímicos y térmicos, probablemente suponen al menos el 90 % de todo el trabajo analítico actual. Hay varias razones para esto.

En primer lugar, los métodos instrumentales pueden realizar análisis que son difíciles o imposibles por los métodos clásicos. Mientras que los métodos clásicos pueden detectar raramente especies químicas a niveles de sub-microgramos, muchos métodos instrumentales son sorprendentemente sensibles. Por ejemplo, en los últimos años se han utilizado métodos de fluorescencia para detectar moléculas orgánicas en volúmenes de disolución muy pequeños. Normalmente sólo es posible determinar un analito de una vez mediante «métodos por vía húmeda», si bien la espectrometría de plasma puede determinar diez o más elementos simultáneamente (y a muy baja concentración). De forma similar, los métodos que combinan la cromatografía líquida de alta resolución con un procedimiento de detección espectroscópica pueden identificar y determinar muchos componentes de mezclas orgánicas complejas en pocos minutos. Aún más, el intervalo de concentración de un método de análisis clásico concreto está usualmente limitado por consideraciones teóricas y prácticas. Así, valoraciones con AEDT pueden ser realiza-

das con éxito con concentraciones de reactivo del orden de 10^{-4} M, sin embargo un límite superior (ca. 0.3 M) está restringido por la solubilidad del AEDT en agua. El intervalo de concentración útil en análisis clásico es generalmente de 2-3 órdenes de magnitud (es decir, potencias de 10). En contraposición, algunos métodos instrumentales son capaces de determinar concentraciones de analito en el intervalo de seis o más órdenes de magnitud: esta característica tiene importantes repercusiones para el tratamiento estadístico de los resultados, como se verá en la próxima sección.

En segundo lugar, para una gran variedad de muestras, el análisis instrumental suele ser más rápido y a menudo más barato que la laboriosidad de los métodos manuales. En análisis clínicos, por ejemplo, se presenta con frecuencia la necesidad de realizar el mismo análisis en una veintena o auncientos de muestras de sangre o suero/plasma sanguíneo cada día. A pesar del alto coste inicial del equipo, tal trabajo se realiza generalmente usando sistemas completamente automatizados. La automatización ha llegado a ser de tal importancia en la química analítica, que la facilidad con que una técnica particular pueda ser automatizada, es la que a menudo determina el que sea o no usada del todo. Un método automático típico ofrece la posibilidad de procesar muestras a la velocidad de 100 por hora o más. El equipo tomará un volumen medido de muestra, la diluirá adecuadamente, provocará una o más reacciones con ella, y determinará y registrará la concentración del analito o un derivado formado en las reacciones. Otras áreas donde el uso de equipamiento automático es decisivo incluyen el control medioambiental y el campo del análisis de los procesos industriales cuyo crecimiento evoluciona con rapidez. En todas estas aplicaciones del análisis automático, surgirán evidentemente problemas especiales de estimación de errores: errores sistemáticos, por ejemplo, deben ser identificados y corregidos tan rápidamente como sea posible.

En último lugar, los modernos instrumentos analíticos están casi siempre interconectados con computadoras personales que proporcionan sofisticados sistemas de control y de almacenamiento, tratamiento (por ejemplo, la presentación de la transformada de Fourier o cálculos de espectros de derivadas) e informes de datos. Tales sistemas pueden también evaluar estadísticamente los resultados, y para comparar espectros y otra información se tienen en cuenta los resultados analíticos y los que existen en librerías de datos. Todos estos recursos se consiguen actualmente utilizando computadoras de bajo coste que operan a grandes velocidades. Otra posibilidad importante es el desarrollo de instrumentos »inteligentes» los cuales incorporan configuraciones automáticas y diagnosis de fallos y pueden realizar procesos de optimización (véase el Capítulo 7).

Los procedimientos estadísticos utilizados en análisis instrumental deben proporcionar siempre información de la precisión y exactitud de las medidas. Deben reflejar además las ventajas técnicas de dichos métodos, especialmente la posibilidad de cubrir un gran intervalo de concentraciones (incluyendo concentraciones muy bajas), y manejar con rapidez muchas muestras. (En este capítulo no se abordarán métodos que faciliten la determinación de más de un analito. Este tópico se comenta en el Capítulo 8.) En la práctica se calculan los resultados y se evalúan los errores de manera que difieran de los utilizados cuando una medida sencilla se repita varias veces.

5.2. Gráficas de calibrado en análisis instrumental

El procedimiento habitual es el siguiente. El analista toma una serie de materiales (normalmente al menos tres o cuatro, y posiblemente algunos más) de los que *se conoce* la concentración de analito. Estos patrones de calibración se miden en el instrumento analítico bajo las mismas condiciones que las utilizadas posteriormente para los materiales de ensayo (es decir, los «desconocidos»). Una vez establecida la gráfica de calibrado, puede obtenerse la concentración de analito por interpolación, como se muestra en la Figura 5.1, en cualquier material de ensayo. Este procedimiento general plantea varias cuestiones estadísticas importantes:

1. ¿Es lineal la línea de calibrado? Si es una curva, ¿qué forma tiene dicha curva?
2. Teniendo en cuenta que cada uno de los puntos de la línea de calibrado está sujeto a errores, ¿cuál es la mejor línea recta (o curva) que pasa por esos puntos?
3. Suponiendo que el calibrado es realmente lineal, ¿cuáles son los errores y límites de confianza de la pendiente y ordenada en el origen de la recta?
4. Cuando el gráfico de calibrado se usa para el análisis de un material de ensayo, ¿cuáles son los errores y límites de confianza de la concentración determinada?
5. ¿Cuál es el *límite de detección* del método? Esto es, ¿cuál es la menor concentración de analito que puede detectarse con un predeterminado nivel de confianza?

Antes de abordar estas cuestiones detalladamente, se deben considerar una serie de aspectos importantes en el trazado de las líneas de calibrado. En primer lugar, resulta habitualmente esencial que los patrones de calibrado cubran el intervalo completo de concentraciones requerido en subsiguientes

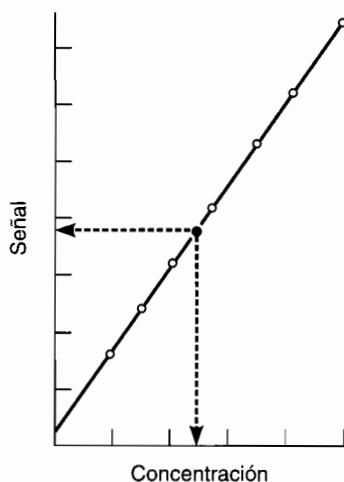


Figura 5.1. Procedimiento de calibración en análisis instrumental: ○ puntos de calibrado; ● muestra de ensayo.

análisis. Con la importante excepción del «método de las adiciones estándar», que es tratado aparte en una sección posterior, la concentración de los materiales de ensayo se determina normalmente por interpolación y *no* por extrapolación. En segundo lugar, es de importancia decisiva incluir el valor de un «blanco» en la curva de calibrado. El blanco no contiene ningún analito adicionado deliberadamente, pero contiene los mismos disolventes, reactivos, etc., que los otros materiales de ensayo, y está sujeto exactamente a la misma secuencia del procedimiento analítico. La señal del instrumento dada por el blanco a veces no será cero. Esta señal está sometida a errores, como los demás puntos del gráfico calibrado, y no tiene sentido, en principio, restar el valor del blanco de los otros valores estándar antes de dibujar la curva de calibrado. Esto es debido a que, como se mostró en el Capítulo 2, cuando se restan dos cantidades, el error en el resultado final no puede obtenerse por simple resta. La resta del valor del blanco de cualquier otra señal del instrumento antes de dibujar el gráfico proporciona una información incorrecta de los errores del proceso de calibración. Finalmente, se debe subrayar que la curva de calibrado se establece siempre con la respuesta del instrumento en el eje vertical (*y*) y la concentración del patrón sobre el eje horizontal (*x*). Esto es debido a que muchos de los procedimientos que se describen en las secciones siguientes *suponen* que todos los errores residen en los valores de *y* y que las concentraciones de los patrones (valores de *x*) se encuentran libres de error. En muchos análisis instrumentales rutinarios este supuesto debe justificarse bien. Los patrones pueden ser preparados con un error de ca. 0.1 % o inferior (véase el Capítulo 1), mientras que las medidas instrumentales pueden tener un coeficiente de variación del 2-3 % o mayor. Por tanto, el error en el eje *x* es de hecho despreciable comparado con el del eje *y*. Sin embargo, con la llegada en los últimos años de algunos instrumentos automáticos de alta precisión con coeficientes de variación del 0.5 % o menores se han cuestionado estos supuestos, y ha llevado a algunos usuarios a preparar sus disoluciones patrón por pesada en lugar de usar la combinación de peso y volumen, que es menos exacta. Esta aproximación pretende asegurar que los errores en el eje *x* son pequeños comparados con los del eje *y*.

Otros supuestos que se hacen habitualmente son que (a) si se realizan varias medidas sobre un material patrón, los valores resultantes de *y* tienen una distribución de errores normal o Gausiana; y (b) que la magnitud de los errores en los valores de *y* es independiente de la concentración de analito. El primero de estos dos supuestos es normalmente razonable, pero el segundo requiere una discusión posterior. Si es cierto, implica que todos los puntos del gráfico deberían tener en los cálculos igual *peso*, es decir, que es igualmente importante que la línea pase cerca de los puntos con valores de *y* altos o bajos. Se dice que tales gráficas de calibrado son *no ponderadas*, y se tratan en las Secciones 5.4-5.8. Sin embargo, en la práctica los errores en el valor de *y* aumentan cuando aumenta la concentración de analito. Esto significa que los puntos de calibración no deben tener un peso igual en los cálculos, de manera que es más importante para la línea que pase por los puntos donde los errores son menores. Estos cálculos *ponderados* se han convertido en la actualidad en algo bastante común a pesar de su complejidad añadida, y se estudian en la Sección 5.10.

En las siguientes secciones, se supondrá que la recta de calibrado toma la forma algebraica:

$$y = a + bx \quad (5.1)$$

donde b es la pendiente de la recta y a su ordenada en el origen. Los puntos individuales sobre la línea se denominarán por (x_1, y_1) , normalmente la lectura del blanco, (x_2, y_2) , $(x_3, y_3) \dots (x_i, y_i) \dots (x_n, y_n)$, es decir, hay n puntos como es habitual. La media de los valores de x se designa por \bar{x} y la media de los valores de y por \bar{y} : la posición (\bar{x}, \bar{y}) se conoce como el «centro de gravedad» de todos los puntos.

5.3. El coeficiente de correlación momento-producto

En esta sección se analiza el primer problema planteado en la sección anterior: ¿es la representación gráfica del calibrado lineal? Para estimar la bondad con que se ajustan los puntos experimentales a una línea recta, se calcula el **coeficiente de correlación momento-producto**, r . Para simplificar, a este dato estadístico se le denomina «coeficiente de correlación» debido a que en las ciencias cuantitativas es con mucho el tipo de coeficiente de correlación más usado. No obstante, en el Capítulo 6 se encontrarán otros tipos de coeficientes de correlación. El valor de r viene dado por:

El coeficiente de correlación momento-producto,

$$r = \frac{\sum_i \{(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})\}}{\left\{ \left[\sum_i (x_i - \bar{x})^2 \right] \left[\sum_i (y_i - \bar{y})^2 \right] \right\}^{1/2}} \quad (5.2)$$

Puede demostrarse que r puede tomar valores en el intervalo $-1 \leq r \leq +1$. Como se indica en la Figura 5.2, un valor de r de -1 describe una correla-

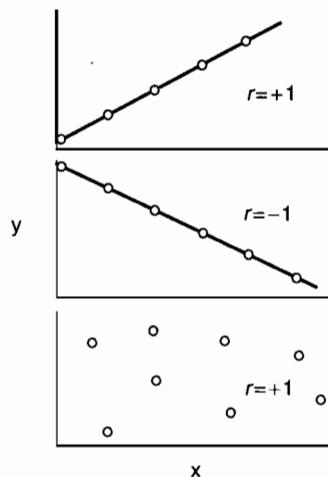


Figura 5.2. El coeficiente de correlación momento-producto, r .

ción negativa perfecta, es decir, todos los puntos experimentales están sobre una recta de pendiente negativa. De manera similar, cuando $r = +1$ se tiene una correlación positiva perfecta, es decir, todos los puntos están exactamente sobre una línea de pendiente positiva. Cuando no existe correlación entre x e y el valor de r es cero. En la práctica analítica, las gráficas de calibrado proporcionan valores numéricos de r mayores que 0.99, y valores de r menores que aproximadamente 0.90 son relativamente poco comunes. Un ejemplo típico de un cálculo de r aclara una serie de aspectos importantes.

EJEMPLO 5.3.1

Se han examinado una serie de soluciones patrón de fluoresceina en un espectrómetro de fluorescencia, y han conducido a las siguientes intensidades de fluorescencia (en unidades arbitrarias):

Intensidades de fluorescencia:	2.1	5.0	9.0	12.6	17.3	21.0	24.7
Concentración, pg ml ⁻¹	0	2	4	6	8	10	12

Determinar el coeficiente de correlación, r .

En la práctica, tales cálculos pueden ser realizados en una calculadora o computadora, junto con otros cálculos que se expondrán posteriormente, pero es importante e instructivo examinar un resultado calculado manualmente. Los datos se presentan en una tabla, como sigue:

x_i	y_i	$x_i - \bar{x}$	$(x_i - \bar{x})^2$	$y_i - \bar{y}$	$(y_i - \bar{y})^2$	$(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})$
0	2.1	-6	36	-11.0	121.00	66.0
2	5.0	-4	16	-8.1	65.61	32.4
4	9.0	-2	4	-4.1	16.81	8.2
6	12.6	0	0	-0.5	0.25	0
8	17.3	2	4	4.2	17.64	8.4
10	21.0	4	16	7.9	62.41	31.6
12	24.7	6	36	11.6	134.56	69.6
Sumas:		42	91.7	0	418.28	216.2

Los números por debajo de la línea al pie de las columnas son en cada caso las sumas de los números de la tabla: nótese que $\sum(x_i - \bar{x})$ y $\sum(y_i - \bar{y})$ son ambas cero. Usando estos totales y la Ecuación (5.2), se tiene que:

$$r = \frac{216.2}{\sqrt{112 \times 418.28}} = \frac{216.2}{216.44} = 0.9989$$

De este ejemplo se extraen dos observaciones. La Figura 5.3 muestra que, aunque varios de los puntos se desvían notablemente de la «mejor» línea recta (calculada utilizando los principios de la siguiente sección), el valor de r es muy cercano a 1. La experiencia muestra que aun con gráficas de calibrado bastante pobres a la vista, aparecen valores correspondientes de r muy altos. En tales casos el numerador y denominador en la Ecuación (5.2) son aproximadamente iguales. Es entonces muy importante realizar el cálculo con un número adecuado de cifras significativas. En el ejemplo dado, des-

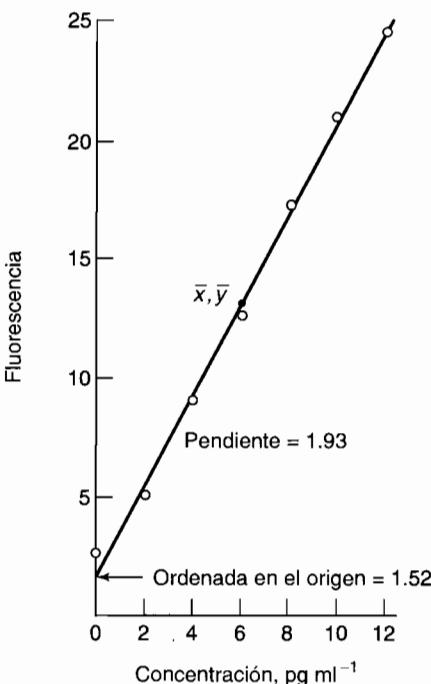


Figura 5.3. Gráfica de calibrado de los datos del Ejemplo 5.3.1.

preciar los números después del punto decimal traería consigo un valor incorrecto de r de exactamente 1, y utilizando solamente una cifra decimal supondría considerar para r el valor incorrecto de 0.9991. Este aspecto es especialmente importante cuando se utiliza una calculadora o computadora para determinar r ; es necesario asegurar que tales herramientas proporcionen cifras suficientes.

Aunque los coeficientes de correlación son simples de calcular, son con facilidad mal interpretados. Debe tenerse siempre en cuenta que el uso de la Ecuación (5.2) generará un valor de r aun cuando los datos muestren de manera patente un carácter no lineal. La Figura 5.4 muestra dos ejemplos en los que un cálculo de r llevaría a conclusiones erróneas. En la Figura 5.4a, los puntos del gráfico de calibrado pertenecen claramente a una curva; esta curva es suficientemente suave, sin embargo, se obtiene un alto coeficiente de correlación cuando se aplica la Ecuación (5.2). La lección que se extrae de este ejemplo es que *siempre* se debe representar la curva de calibrado (en papel milimétrado o en un monitor de computadora); si no es así, se puede deducir erróneamente del cálculo de r una relación de carácter lineal. La Figura 5.4b pone de manifiesto que un coeficiente de correlación cero no significa exactamente que y y x no estén relacionadas; sólo significa que no están *linealmente* relacionados.

Como se ha visto, los valores de r obtenidos en análisis instrumental son normalmente muy altos, de manera que un valor calculado, junto con la propia gráfica de calibrado, suele ser a menudo suficiente para asegurar al analista que de hecho ha obtenido una relación lineal útil. Sin embargo, en

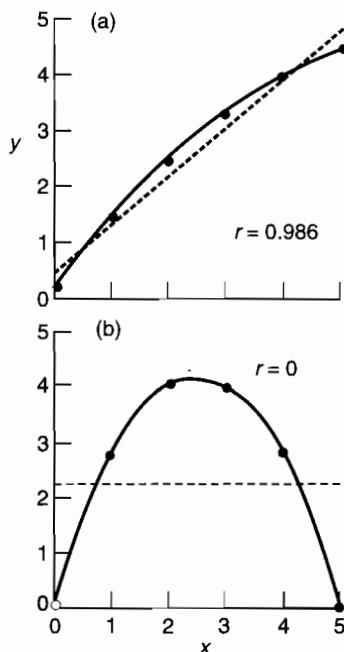


Figura 5.4. Interpretaciones erróneas del coeficiente de correlación, r .

algunas circunstancias, se obtienen valores de r mucho más bajos; dichas situaciones se analizarán posteriormente en la Sección 5.9. En estos casos será necesario emplear un contraste estadístico adecuado para ver si el coeficiente de correlación es realmente significativo, teniendo en cuenta el número de puntos usados en su cálculo. El método más simple de hacer esto es calcular un valor de t (véase el Capítulo 3 para un estudio más completo del contraste t), usando la siguiente ecuación:

Para probar una correlación significativa, es decir, $H_0 =$ correlación cero, calcular

$$t = \frac{|r|\sqrt{n - 2}}{\sqrt{1 - r^2}} \quad (5.3)$$

El valor de t calculado se compara con el valor tabulado al nivel de significación deseado, utilizando un contraste t de *dos colas* y $(n - 2)$ grados de libertad. La hipótesis nula en este caso es que no existe correlación entre x e y . Si el valor calculado de t es mayor que el valor tabulado, se rechaza la hipótesis nula y se concluye en tal caso que existe una correlación significativa. Como se esperaba, cuanto más próximo esté $|r|$ de 1, es decir, cuanto más acusada se haga la relación lineal, se obtienen valores más grandes de t .

5.4. La recta de regresión de y sobre x

En esta sección se supone que existe una relación lineal entre la señal analítica (y) y la concentración (x), y se muestra cómo calcular la «mejor» línea recta a través de los puntos de la gráfica de calibrado, cada uno de los cuales está sujeto a un error experimental. Ya que se ha supuesto que todos los errores se encuentran en y (véase la Sección 5.2), ahora se trata de buscar la recta que minimice las desviaciones en la dirección y , entre los puntos experimentales y los calculados por la línea. Ya que algunas de estas desviaciones serán positivas y algunas negativas (conocidas técnicamente como los **residuos** de y ; ver más adelante), es razonable intentar minimizar **la suma de los cuadrados de los residuos**, debido a que estos cuadrados serán todos positivos. Esto explica el uso frecuente del término **método de los mínimos cuadrados** para este procedimiento. La línea recta buscada se calcula basándose en este principio: como resultado se encuentra que la línea debe pasar por el «centro de gravedad» de los puntos (\bar{x} , \bar{y}).

Se puede demostrar que la recta de mínimos cuadrados viene dada por:

Pendiente de la recta de mínimos cuadrados:

$$b = \frac{\sum_i \{(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})\}}{\sum_i (x_i - \bar{x})^2} \quad (5.4)$$

Ordenada en el origen de la recta de mínimos cuadrados:

$$a = \bar{y} - b\bar{x} \quad (5.5)$$

Nótese que la Ecuación (5.4) contiene algunos de los términos utilizados en la Ecuación (5.2), utilizada previamente para calcular r : esto facilita las operaciones de la calculadora o computadora. La línea determinada por las Ecuaciones (5.4) y (5.5) se conoce como **recta de regresión de y sobre x** , es decir, la recta que indica cómo varía y cuando x se ajusta a los valores elegidos. Es muy importante hacer constar que la recta de regresión de x sobre y no es la misma recta (excepto en el caso muy improbable en que todos los puntos caigan sobre una línea recta, exactamente cuando $r = 1$ ó $r = -1$). La recta de regresión de x sobre y (que también pasa por el centro de gravedad de todos los puntos) supone que todos los errores ocurren en la dirección de x . Si se mantiene rigurosamente el convenio que la señal analítica se representa siempre sobre el eje y y la concentración sobre el eje x , la recta de regresión de y sobre x es la que se debe usar siempre en los experimentos de calibración.

EJEMPLO 5.4.1

Calcular la pendiente y ordenada en el origen de la recta de regresión para los datos expuestos en el ejemplo anterior (véase la Sección 5.3).

En la Sección 5.3 se calculó que, para esta curva de calibrado:

$$\sum_i (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y}) = 216.2; \quad \sum_i (x_i - \bar{x})^2 = 112; \quad \bar{x} = 6; \quad \bar{y} = 13.1$$

Usando las Ecuaciones (5.4) y (5.5) se calcula que

$$b = 216.12/112 = 1.93$$

$$a = 13.1 - (1.93 \times 6) = 13.1 - 11.58 = 1.52$$

La ecuación para la recta de regresión es $y = 1.93x + 1.52$.

Los resultados de la pendiente y ordenada en el origen se dibujan en la Figura 5.3. De nuevo es importante recalcar que las Ecuaciones (5.4) y (5.5) no deben utilizarse mal: darán sólo resultados útiles cuando un estudio previo (cálculo de r y una inspección visual de los puntos) indique que una línea recta es coherente con el experimento que se trata.

Para calcular rectas de regresión pueden usarse también métodos no paramétricos (es decir, métodos que no hacen supuestos acerca de la naturaleza de la distribución de error), y este tema se tratará en el Capítulo 6.

5.5. Errores en la pendiente y ordenada en el origen de la recta de regresión

La recta de regresión calculada en la sección anterior se utilizará en la práctica para estimar la concentración de las muestras de ensayo por interpolación, y quizás también para estimar el límite de detección del procedimiento analítico. Los errores aleatorios en los valores de la pendiente y ordenada en el origen son importantes, considerándose ahora las ecuaciones utilizadas para calcularlos. En primer lugar se debe calcular el estadístico $s_{y/x}$, que estima los errores aleatorios en la dirección y .

$$s_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum_i (y_i - \hat{y}_i)^2}{n - 2}} \quad (5.6)$$

Se comprueba que esta ecuación utiliza los residuos de y , $y_i - \hat{y}_i$, donde los valores de \hat{y}_i son los puntos sobre la recta de regresión calculada correspondientes a los valores individuales de x , es decir, los valores de y «ajustados» (Figura 5.5). El valor de \hat{y}_i para un valor de x dado se calcula rápidamente a partir de la ecuación de regresión. La Ecuación (5.6) es claramente similar a la forma de la ecuación de la desviación estándar de una serie de medidas repetidas [Ecuación (2.2)], pero difiere en que las desviaciones, $(y_i - \bar{y})$, se sustituyen por los residuos, $(y_i - \hat{y}_i)$, conteniendo el denominador el término $(n - 2)$ en vez de $(n - 1)$. En un cálculo de regresión lineal el número de

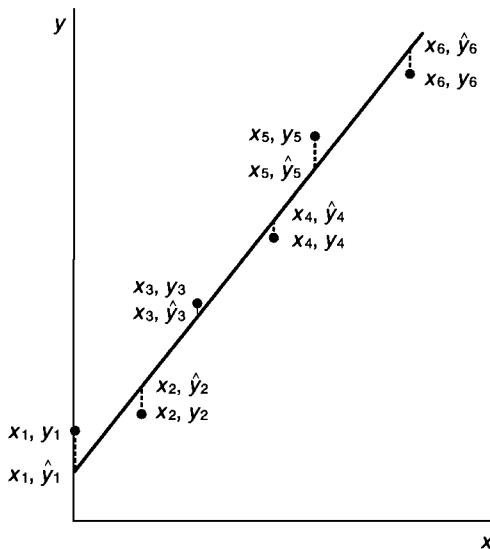


Figura 5.5. Los residuos de y de una regresión lineal.

grados de libertad (véase la Sección 2.7) es $(n - 2)$. Esto refleja el hecho obvio que de dos puntos sólo puede obtenerse una línea recta.

Una vez obtenido un valor de $s_{y/x}$, se puede calcular s_b y s_a , las desviaciones estándar de la pendiente (b) y ordenada en el origen (a). Éstas vienen dadas por:

Desviación estándar de la pendiente:

$$s_b = \frac{s_{y/x}}{\sqrt{\sum_i (x_i - \bar{x})^2}} \quad (5.7)$$

Desviación estándar de la ordenada en el origen:

$$s_a = s_{y/x} \sqrt{\frac{\sum_i x_i^2}{n \sum_i (x_i - \bar{x})^2}} \quad (5.8)$$

Nótese que de nuevo el término $\sum_i (x_i - \bar{x})^2$ aparece en ambas ecuaciones.

Los valores de s_b y s_a se pueden utilizar de la manera usual (véase el Capítulo 2) para estimar los límites de confianza de la pendiente y de la ordenada en el origen. Así pues los límites de confianza de la pendiente vienen dados por $b \pm t_{(n-2)}s_b$, donde el valor de t se obtiene para un nivel de confianza deseado y $(n - 2)$ grados de libertad. Similarmente los límites de confianza para la ordenada en el origen vienen dados por $a \pm t_{(n-2)}s_a$.

EJEMPLO 5.5.1

Calcular la desviación estándar y los límites de confianza para la pendiente y ordenada en el origen de la recta de regresión calculada en la Sección 5.4.

Este cálculo puede que no sea realizable directamente en una calculadora simple, aunque se encuentran disponibles programas de computadora. Aquí se desarrolla el cálculo manualmente, utilizando una tabla estructurada.

x_i	x_i^2	y_i	\hat{y}_i	$ y_i - \hat{y}_i $	$(y_i - \hat{y}_i)^2$
0	0	2.1	1.52	0.58	0.3364
2	4	5.0	5.38	0.38	0.1444
4	16	9.0	9.24	0.24	0.0576
6	36	12.6	13.10	0.50	0.2500
8	64	17.3	16.96	0.34	0.1156
10	100	21.0	20.82	0.18	0.0324
12	144	24.7	24.68	0.02	0.0004

$$\sum_i x_i^2 = 364 \quad \sum_i (y_i - \hat{y}_i)^2 = 0.9368$$

A partir de esta tabla y utilizando la Ecuación (5.6) se obtiene:

$$s_{y/x} = \sqrt{0.9368/5} = \sqrt{0.18736} = 0.4329$$

De la Sección 5.3 se sabe que $\sum_i (x_i - \bar{x})^2 = 112$, y la Ecuación (5.7) puede ser utilizada para mostrar que:

$$s_b = 0.4329 / \sqrt{112} = 0.4329 / 10.58 = 0.0409$$

El valor de t para $(n - 2) = 5$ grados de libertad y un nivel de confianza del 95% es 2.57 (Tabla A.2). Los límites de confianza del 95% para b son, por tanto:

$$b = 1.93 \pm (2.57 \times 0.0409) = 1.93 \pm 0.11$$

La Ecuación (5.8) requiere conocer $\sum_i x_i^2$, calculado de la tabla como 364. Entonces, se puede escribir:

$$s_a = 0.4329 \sqrt{\frac{364}{7 \times 112}} = 0.2950$$

de manera que los límites de confianza al 95% son:

$$a = 1.52 \pm (2.57 \times 0.2950) = 1.52 \pm 0.76$$

En este ejemplo, el número necesario de cifras significativas no es grande, pero es conveniente utilizar siempre el número máximo disponible durante el cálculo, redondeando sólo al final.

En la práctica no hay necesidad de cálculos manuales de estos resultados, que serán claramente tediosos en tareas rutinarias. La aplicación a datos de regresión de un programa con hoja de cálculo se demuestra en la Sección 5.9. Se deberían aprovechar las ventajas extra proporcionadas por programas tales como Minitab, por ejemplo, gráficos de los residuos frente a valores de x o \hat{y} , gráficos de probabilidad normal para los residuos, etc. (Véase también la Sección 5.15.)

5.6. Cálculo de una concentración y su error aleatorio

Una vez que han sido determinadas la pendiente y la ordenada en el origen de la recta de regresión, es fácil calcular la concentración (valor de x) correspondiente a cualquier señal medida en el instrumento (valor de y). Sin embargo, también será necesario estimar el error asociado a la concentración calculada. El cálculo de un valor de x a partir de un valor dado de y utilizando la Ecuación (5.1) conlleva el uso tanto de la pendiente (b) como de la ordenada en el origen (a) y, como se vio en la sección anterior, ambos valores están sujetos a error. Además, la señal del instrumento derivada del material de ensayo también está sujeta a errores aleatorios. Como resultado, la determinación del error global en la concentración correspondiente es extremadamente compleja y muchos profesionales utilizan la siguiente fórmula aproximada:

$$s_{x_0} = \frac{s_{y/x}}{b} \sqrt{1 + \frac{1}{n} + \frac{(y_0 - \bar{y})^2}{b^2 \sum_i (x_i - \bar{x})^2}} \quad (5.9)$$

En esta ecuación, y_0 es el valor experimental de y a partir del cual se determina el valor de la concentración x_0 , s_{x_0} es la desviación estándar estimada de x_0 , y los otros símbolos tienen su significado habitual. En algunos casos un analista puede realizar varias lecturas para obtener el valor de y_0 ; si se dispone de m lecturas, entonces la ecuación para s_{x_0} se convierte en:

$$s_{x_0} = \frac{s_{y/x}}{b} \sqrt{\frac{1}{m} + \frac{1}{n} + \frac{(y_0 - \bar{y})^2}{b^2 \sum_i (x_i - \bar{x})^2}} \quad (5.10)$$

Como se esperaba, la Ecuación (5.10) se reduce a la Ecuación (5.9) si $m = 1$. Los límites de confianza se calculan como $x_0 \pm t_{(n-2)} s_{x_0}$, con $(n-2)$ grados de libertad. De nuevo, un sencillo programa de computadora realizará todos estos cálculos, sin embargo muchas calculadoras no serán adecuadas.

EJEMPLO 5.6.1

Empleando los datos del ejemplo de la Sección 5.3, determinar los valores de x_0 y s_{x_0} y los límites de confianza de x_0 para soluciones con intensidades de fluorescencia 2.9, 13.5 y 23.0 unidades.

Los valores de x_0 se calculan utilizando la ecuación de regresión determinada en la Sección 5.4, $y = 1.93x + 1.52$. Sustituyendo los valores de y_0 2.9, 13.5 y 23.0, se obtienen los valores x_0 de 0.72, 6.21 y 11.3 pg ml^{-1} , respectivamente.

Para obtener los valores de s_{x_0} correspondientes a los valores de x_0 utilizamos la Ecuación (5.9), recordando de las secciones precedentes que $n = 7$, $b = 1.93$, $s_{y/x} = 0.4329$, $\bar{y} = 13.1$, y $\sum (x_i - \bar{x})^2 = 112$. Los valores de y_0 2.9, 13.5 y 23.0 proporcionan valores de s_{x_0} de 0.26, 0.24 y 0.26, respectivamente. Los límites de confianza correspondientes al nivel del 95% ($t_5 = 2.57$) son 0.72 ± 0.68 , 6.21 ± 0.62 , y $11.3 \pm 0.68 \text{ pg ml}^{-1}$, respectivamente.

Este ejemplo aclara un punto importante. Muestra que los límites de confianza son bastante más pequeños (es decir, mejores) para el resultado $y_0 = 13.5$ que para los otros dos valores de y_0 . El análisis de la Ecuación (5.9) confirma que cuando y_0 se aproxima a \bar{y} , el tercer término dentro del paréntesis se aproxima a cero, y s_{x_0} entonces se aproxima a un valor mínimo. La forma general de los límites de confianza para una concentración calculada se muestra en la Figura 5.6. Entonces en la práctica, un experimento de calibración de este tipo proporcionará los resultados más precisos cuando la señal medida en el instrumento corresponda a un punto próximo al centro de gravedad de la recta de regresión.

Si se desea mejorar (es decir, acercar) los límites de confianza en este experimento de calibración, las Ecuaciones (5.9) y (5.10) muestran que se pueden considerar al menos dos aproximaciones. Se puede aumentar n , el número de puntos del calibrado de la recta de regresión, y/o se puede hacer más de una medida de y_0 , usando el valor medio de m de dichas medidas en el cálculo de x_0 . Los resultados de tales procedimientos pueden ser evaluados considerando los tres términos dentro del paréntesis en las dos ecuaciones. En el ejemplo anterior, el término predominante en los tres cálculos es el primero: la unidad. Se sigue que en este caso (y en muchos otros) puede llevarse a cabo una mejora en la precisión midiendo varias veces y_0 y usando la Ecuación (5.10) en lugar de la Ecuación (5.9). Si, por ejemplo, el valor de y_0 de 13.5 hubiese sido calculado como la media de cuatro determinacio-

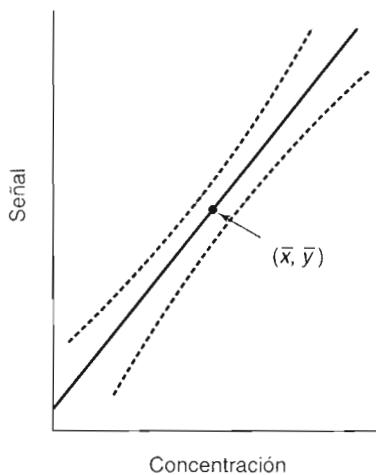


Figura 5.6. Forma general de los límites de confianza para una concentración determinada utilizando una recta de regresión no ponderada.

nes, entonces el valor de s_{x_0} y los límites de confianza habrían sido 0.14 y 6.21 ± 0.36 , respectivamente, indicando ambos resultados una sustancial mejora en la precisión. Por supuesto, realizar muchas medidas repetidas (suponiendo que se dispone de suficiente muestra) genera mucho más trabajo obteniendo un beneficio adicional pequeño: el lector puede verificar que ocho medidas de y_0 producirán un valor de s_{x_0} de 0.12 y límites de confianza de 6.21 ± 0.30 .

El efecto de n , el número de puntos de calibrado, sobre los límites de confianza en la determinación de la concentración es más complejo. Esto se debe a que se ha de tener en cuenta también los cambios que acompañan al valor de t . El uso de un gran número de muestras de calibrado supone la tarea de preparar muchos patrones exactos para sólo incrementar marginalmente la precisión (véanse los efectos de incrementar m , descritos en el párrafo anterior). Por otra parte, no es adecuado usar valores de n pequeños. En tales casos, $1/n$ será más grande, y el número de grados de libertad ($n - 2$) se hará muy pequeño, necesitándose valores muy grandes de t en el cálculo de los límites de confianza. En muchos experimentos, como en el ejemplo dado, aproximadamente seis puntos de calibrado serán suficientes; si es necesario el analista ganará precisión extra repitiendo medidas de y_0 .

5.7. Límites de detección

Como se ha visto, una de las ventajas de utilizar métodos instrumentales de análisis es que son capaces de detectar y determinar cantidades traza y ultra-traza de analito. Estas ventajas han conducido a apreciar la importancia de concentraciones muy bajas de muchos materiales, por ejemplo, en muestras biológicas y medioambientales, contribuyendo de esta manera al desarrollo de otras muchas técnicas en las que el mejor criterio de aplicación con éxito es que posean límites de detección inferiores. Es pues evidente que los métodos estadísticos resultan importantes para la evaluación y comparación de límites de detección. En términos generales, el límite de detección (LOD) de un analito se puede describir como aquella concentración que proporciona una señal en el instrumento (y) significativamente diferente de la señal del «blanco» o «ruido de fondo». Esta descripción proporciona al analista un buen margen de libertad para decidir la definición exacta del límite de detección, basada en una adecuada interpretación de la frase «significativamente diferente». Aún no existe un acuerdo total entre investigadores, editores y asociaciones profesionales y estatutarias sobre este punto. Sin embargo, va en aumento la tendencia a definir el límite de detección como la concentración de analito que proporciona una señal igual a la señal del blanco, y_B , más tres veces la desviación estándar del blanco, s_B :

$$\text{Límite de detección (LOD)} = y_B + 3s_B \quad (5.11)$$

El significado de esta última definición se aclara con más detalle en la Figura 5.7. Un analista estudiando concentraciones traza se enfrenta con dos problemas: es importante informar de la presencia de analito cuando de he-

cho está ausente, pero es igualmente importante informar que está ausente cuando de hecho está presente. (La situación es análoga a la existencia de errores Tipo I y II en los contrastes de significación; véase en la Sección 3.13.) La posibilidad de que ocurra cada uno de estos errores debe minimizarse bajo una definición precisa de un límite de detección. En la figura, la curva A representa la distribución normal de valores medidos de la señal del blanco. Sería posible identificar un punto, $y = P$, hacia el borde superior de esta distribución, y pretender que una señal más grande que ésta fuera improbable para que se debiese al blanco, mientras que una señal menor que P supondría indicar una muestra del blanco. Sin embargo, para que una muestra dé una señal promedio P , el 50 % de las señales observadas será menor que ésta, ya que la señal tendrá una distribución normal (de la misma forma que la del blanco; véase más adelante) prolongando por debajo de P (curva B). La probabilidad de concluir que esta muestra no difiera de la del blanco *cuando de hecho lo hace* es, por tanto, del 50 %. El punto P , que se ha llamado el límite de decisión, es pues insatisfactorio como límite de detección, ya que soluciona el primero de los problemas mencionados antes pero no el segundo. Un punto más adecuado está en $y = Q$ de manera que Q está situado al doble de la distancia que existe entre y_B y P . Se puede demostrar que si $y_B - Q$ es 3.28 veces la desviación estándar del blanco, s_B ; entonces la probabilidad de que ocurra cada uno de los dos tipos de error (indicados por las áreas sombreadas de la Figura 5.7) es sólo del 5 %. Si, como se sugiere en la Ecuación (5.11), la distancia $y_B - Q$ es sólo $3s_B$, la probabilidad de cada error es aproximadamente del 7%: muchos analistas considerarían que ésta es una definición razonable del límite de detección.

Es preciso insistir de nuevo que esta definición de límite de detección es muy arbitraria, y está totalmente abierta a cualquier analista para que proponga una definición alternativa para un propósito concreto. Por ejemplo, existen ocasiones en que un analista está ansioso de evitar a toda costa la posibilidad de dar la ausencia de analito cuando de hecho está presente, pero no es relativamente preocupante el error contrario. Está claro que, aun cuando se cite un límite de detección en un trabajo o informe, debe proporcionarse la definición utilizada para obtenerlo. Se han realizado algunos intentos para definir con posterioridad otro límite, el «límite de cuantifica-

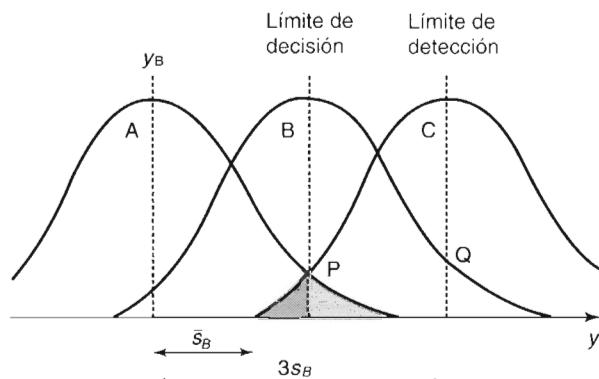


Figura 5.7. Definiciones del límite de decisión y del límite de detección.

ción» (LOQ) (o «límite de determinación»), el cual es considerado como el límite inferior para medidas cuantitativas precisas, como opuesto a la detección cualitativa. Un valor de (LOQ) $y_B + 10s_B$ ha sido sugerido para este límite, si bien no se utiliza profusamente.

Ahora se discute cómo se obtienen en la práctica los términos y_B y s_B cuando se utiliza una recta de regresión para la calibración, tal como se describió en las secciones precedentes. Una suposición básica del método de los mínimos cuadrados no ponderados es que cada punto en la representación gráfica (incluido el punto que representa el blanco o fondo) tiene una variación distribuida normalmente (sólo en la dirección de y) con una desviación estándar estimada por $s_{y/x}$ [Ecuación (5.6)]. Ésta es la justificación para representar las curvas de distribución normal con la misma amplitud que refleja la Figura 5.7. Es, por tanto, adecuado utilizar $s_{y/x}$ en lugar de s_B en la estimación del límite de detección. Es, por supuesto, posible realizar el experimento del blanco varias veces y obtener un valor independiente para s_B , y si son correctos los supuestos mencionados los dos métodos de estimar s_B no diferirán significativamente. Sin embargo, las determinaciones múltiples del blanco consumen mucho tiempo, y el uso de $s_{y/x}$ es muy adecuado en la práctica. El valor de a , la ordenada en el origen calculada, se puede utilizar como una estimación de y_B , la propia señal del blanco; debería ser una estimación más exacta de y_B que el simple valor de la medida del blanco, y_1 .

EJEMPLO 5.7.1

Estimar el límite de detección para la determinación de fluoresceina estudiada en las secciones previas.

Se usa la Ecuación (5.11) con los valores de $y_B (= a)$ y $s_B (= s_{y/x})$ calculados previamente. El valor de y en el límite de detección viene dado por $1.52 + 3 \times 0.4329$, es decir, 2.82. El uso de la ecuación de regresión conduce a un límite de detección de 0.67 pg ml^{-1} . La Figura 5.8 resume todos los cálculos realizados a partir de los datos de la determinación de la fluoresceina.

Es importante evitar la confusión de límite de detección de una técnica con su sensibilidad. Esta fuente de confusión muy habitual surge probablemente debido a que no se aceptan palabras sencillas sinónimas inglesas con «tener un límite de detección bajo». La palabra «sensible» se utiliza generalmente con este propósito, dando lugar a demasiada ambigüedad. La sensibilidad de una técnica se define correctamente como la pendiente de la recta de calibrado y, siempre que la representación sea lineal, puede ser medida en cualquier punto de ella. Por el contrario, el límite de detección de un método se calcula con la ayuda prestada por la zona de la representación cercana al origen, y utiliza tanto la pendiente como la ordenada en el origen.

5.8. El método de las adiciones estándar

Supóngase que se desea determinar la concentración de plata en muestras de deshechos fotográficos por espectrometría de absorción atómica. Utilizando los métodos de las secciones anteriores, se podría llevar a cabo un calibrado

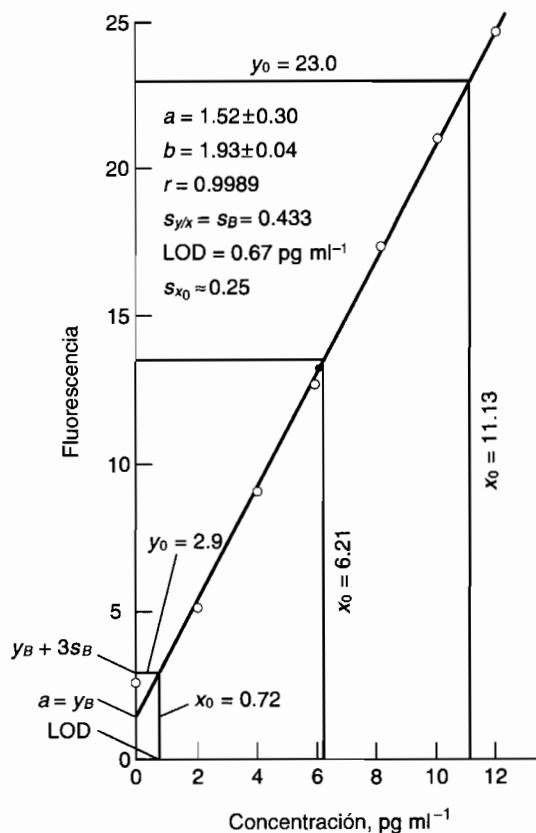


Figura 5.8. Resumen de los cálculos usando los datos del Ejemplo 5.3.1.

con el espectrofotómetro con soluciones acuosas de una sal de plata pura y usar la línea de calibrado resultante para determinar la plata en las muestras de ensayo. Sin embargo, este método sólo es válido si una disolución acuosa pura de plata y una muestra fotográfica de deshecho conteniendo la misma concentración de plata dan los mismos valores de absorbancia. En otras palabras, cuando se usan disoluciones puras para establecer la línea de calibrado se supone que no hay »efectos de matriz», es decir, aumento o disminución de la señal de absorbancia de plata debido a la presencia de otros componentes. Frecuentemente, en muchas áreas del análisis, tal suposición no es válida. Los efectos de matriz ocurren incluso con métodos tales como la espectrometría de plasma que tiene la fama de estar relativamente libre de interferencias.

La primera solución posible a este problema es tomar una muestra de desechos fotográficos que sea similar a la muestra problema, pero libre de plata, y añadirle cantidades conocidas de una sal de plata para formar soluciones patrón. La línea de calibrado se establecerá utilizando una matriz aparentemente adecuada. Sin embargo, en muchos casos, esta aproximación a una *matriz comparable* es imprácticable. No se eliminarán efectos de matriz que difieran en magnitud de una muestra a otra, e incluso puede que no sea posible obtener una muestra de la matriz que no contenga analito; por

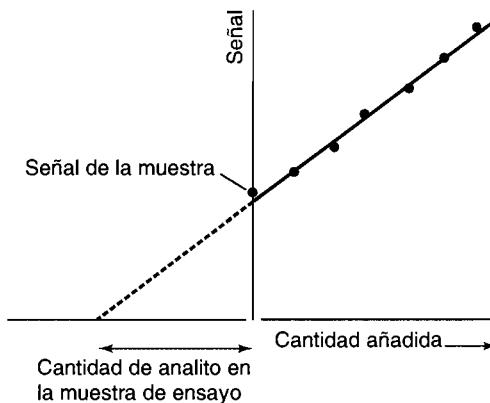


Figura 5.9. El método de las adiciones estándar.

ejemplo, una muestra de residuos fotográficos sin plata, ¡es improbable que exista! La solución a este problema es que todas las medidas analíticas, incluyendo la línea de calibrado, deban ser realizadas de alguna manera *utilizando la propia muestra*. Esto se logra en la práctica usando el **método de las adiciones estándar**. El método es muy utilizado en espectrometría de absorción y emisión atómica y también ha encontrado aplicación en electroquímica y otras muchas áreas. Se toman volúmenes iguales de solución problema, todas salvo una son «adicionadas» separadamente con cantidades conocidas y diferentes del analito, y *todas* se diluyen al mismo volumen. Se determinan las señales en el instrumento para todas estas soluciones y los resultados se representan como se muestra en la Figura 5.9. Como de costumbre, la señal se representa en el eje y , mientras que el eje x se expresa en términos de las cantidades de analito *añadidas* (ya sea como peso absoluto o como concentración). La línea de regresión (no ponderada) se calcula de la manera usual, si bien el espacio ocupado por ella se extrapolará al punto del eje x en que $y = 0$. Este valor negativo sobre el eje x corresponde a la cantidad de analito en la muestra problema. El análisis de la figura muestra que este valor viene dado por a/b , la razón entre la ordenada en el origen y la pendiente de la recta de regresión. Ya que a y b están sujetos a error (Sección 5.5), el valor calculado también lo estará. Sin embargo, en este caso, la cantidad no se predice a partir de un único valor medido de y , de manera que la fórmula de la desviación estándar, s_{x_E} , del valor extrapolado de x (x_E) no es la misma que en la Ecuación (5.9).

$$s_{x_E} = \frac{s_{y/x}}{b} \sqrt{\frac{1}{n} + \frac{\bar{y}^2}{b^2 \sum_i (x_i - \bar{x})^2}} \quad (5.12)$$

Aumentando el valor de n , se mejora de nuevo la precisión de la cantidad estimada: en general, en un experimento de adiciones estándar deberían usarse al menos seis puntos. Además, la precisión se mejora maximizando

$\sum_i (x_i - \bar{x})^2$, de manera que las soluciones de calibrado deberían cubrir, si fuera posible, un intervalo considerable. Los límites de confianza para x_E se determinan, como siempre, como $x_E \pm t_{(n-2)} s_{x_E}$.

EJEMPLO 5.8.1

La concentración de plata en una muestra de deshechos fotográficos fue determinada por espectrometría de absorción atómica con el método de las adiciones estándar. Se obtuvieron los siguientes resultados.

Ag añadida: μg por ml de solución

de muestra original	0	5	10	15	20	25	30
Absorbancia	0.32	0.41	0.52	0.60	0.70	0.77	0.89

Determinar la concentración de plata en la muestra, y obtener los límites de confianza al 95% para esta concentración.

Las Ecuaciones (5.4) y (5.5) conducen a $a = 0.3218$ y $b = 0.0186$. La razón entre estos números proporciona la concentración de plata en la muestra problema de $17.3 \mu\text{g ml}^{-1}$. Los límites de confianza para este resultado se pueden determinar con la ayuda de la Ecuación (5.12). Aquí $s_{y/x}$ es 0.01094, $\bar{y} = 0.6014$, y $\sum (x_i - \bar{x})^2 = 700$. El valor de s_{x_E} es entonces 0.749 y los límites de confianza son $17.3 \pm 2.57 \times 0.749$, es decir, $17.3 \pm 1.9 \mu\text{g ml}^{-1}$.

Aunque es una aproximación elegante al problema común de los «efectos de interferencia de la matriz», el método de las adiciones estándar tiene varias desventajas. La principal es que cada muestra ensayada requiere su propia gráfica de calibrado, en contraste con los experimentos de calibración convencional, donde un gráfico puede proporcionar valores de la concentración de muchas muestras de ensayo. El método de las adiciones estándar puede también utilizar cantidades de muestra más grandes que en otros métodos. En términos estadísticos es un método de extrapolación, y en principio menos preciso que las técnicas de interpolación. En la práctica, la pérdida de precisión no es muy preocupante.

5.9. El uso de rectas de regresión para comparar métodos analíticos

Si un químico analítico desarrolla un método nuevo para la determinación de un analito concreto, el método debe ser validado (entre otras técnicas) aplicándolo a un conjunto de materiales ya estudiados mediante otro procedimiento patrón o reconocido. El interés principal al realizar tal comparación será la identificación de errores sistemáticos: ¿proporciona el nuevo método resultados significativamente más altos o más bajos que el procedimiento establecido? En los casos donde un análisis se repite varias veces sobre un intervalo de concentración muy limitado, tal comparación puede ser hecha usando los contrastes estadísticos descritos en las Secciones 3.3 y 3.4. Tales procedimientos no serán adecuados en análisis instrumental, los cuales son utilizados a menudo en un gran intervalo de concentraciones.

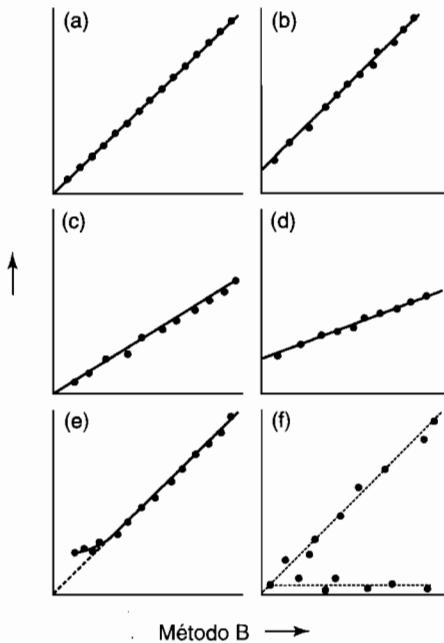


Figura 5.10. El uso de rectas de regresión para comparar dos métodos analíticos: (a) muestra una concordancia perfecta entre los dos métodos para todas las muestras; (b) a (f) ilustran los resultados de varios tipos de errores sistemáticos (véase el texto).

Cuando dos métodos se comparan a diferentes concentraciones de analito, se adopta normalmente el procedimiento que ilustra la Figura 5.10. Uno de los ejes del gráfico de regresión se usa para los resultados obtenidos por el nuevo método, y el otro para los resultados obtenidos aplicando a las mismas muestras el de comparación o referencia. (La razón por la que los ejes deben asignarse a cada método se discute posteriormente.) En estas circunstancias, cada punto del gráfico representa una muestra única analizada por dos métodos distintos. (A veces cada método se aplica solamente una vez a cada muestra problema, mientras que en otros casos se usan medidas repetidas en las comparaciones.) Los métodos de las secciones precedentes se han aplicado para calcular la pendiente (b), la ordenada en el origen (a) y el coeficiente de correlación (r) de la recta de regresión. Queda claro que si cada muestra conduce a un resultado idéntico con ambos métodos analíticos, la recta de regresión tendrá una ordenada en el origen cero, y una pendiente y un coeficiente de correlación de 1 (Figura 5.10a). En la práctica, por supuesto, esto nunca ocurre: incluso estando completamente ausentes los errores sistemáticos, los errores aleatorios aseguran que los dos procedimientos analíticos no darán resultados en exacta concordancia para todas las muestras.

Desviaciones de la situación «ideal» ($a = 0$, $b = r = 1$) pueden ocurrir en una serie de situaciones diferentes. En primer lugar, es posible que la recta de regresión tenga una pendiente de 1, pero no una ordenada en el origen de 0. Esto es, un método de análisis puede conducir a un resultado más alto o más bajo que el otro en una cantidad fija. Tal error podría ocurrir si la señal de fondo de uno de los métodos se hubiera calculado erróneamente

(Figura 5.10b). Una segunda posibilidad es que la pendiente de la recta de regresión sea >1 ó <1 , indicando que puede darse un error sistemático en la pendiente de una de las gráficas de calibrado individuales (Figura 5.10c). Estos dos errores pueden darse simultáneamente (Figura 5.10d). Otros tipos posibles de error sistemático se ponen de manifiesto si la representación gráfica es curva (Figura 5.10e). Problemas de especiación pueden proporcionar resultados sorprendentes (Figura 5.10f). Este tipo de representación gráfica podría surgir si un analito se encuentra en dos formas químicas distintas, en proporciones que varían de muestra a muestra. Uno de los métodos bajo estudio (aquí representado en el eje y) podría detectar sólo una forma del analito, mientras que el segundo método detecta ambas formas.

En la práctica, el analista desea muy a menudo realizar una prueba para contrastar una ordenada en el origen significativamente diferente de cero, y una pendiente significativamente diferente de 1. Tales contrastes se realizan determinando los límites de confianza para a y b , generalmente al 95 % de nivel de significación. El cálculo es muy similar al descrito en la Sección 5.5, y es más sencillo realizarlo utilizando un programa como Excel. Esta hoja de cálculo se aplica al siguiente ejemplo.

EJEMPLO 5.9.1

Se determinó el nivel de ácido fítico en 20 muestras de orina mediante un método catalítico fluorimétrico (CF), y los resultados se compararon con los obtenidos utilizando una técnica extracto-fotométrica (EF) establecida. Se obtuvieron los siguientes datos (todos los resultados, en mg l^{-1} , son medias de medidas triplicadas).

(March, J. G., Simonet, B. M. and Grases, F. 1999. *Analyst* 124:897-900)

Número de muestra	Resultado CF	Resultado EF
1	1.87	1.98
2	2.20	2.31
3	3.15	3.29
4	3.42	3.56
5	1.10	1.23
6	1.41	1.57
7	1.84	2.05
8	0.68	0.66
9	0.27	0.31
10	2.80	2.82
11	0.14	0.13
12	3.20	3.15
13	2.70	2.72
14	2.43	2.31
15	1.78	1.92
16	1.53	1.56
17	0.84	0.94
18	2.21	2.27
19	3.10	3.17
20	2.34	2.36

Esta serie de datos muestra el porqué es inadecuado utilizar el contraste t por parejas, que evalúa en esos casos las diferencias entre pares de resultados (Sección 3.4). El intervalo de concentraciones de ácido fítico (ca. 0.14-3.50 mg l⁻¹) en las muestras de orina es tan amplio que una discrepancia fijada entre los dos métodos será de variación significativa a diferentes concentraciones. Entonces, una diferencia de 0.05 mg l⁻¹ entre las dos técnicas, no sería de gran interés al nivel de ca 3.50 mg l⁻¹, pero sería más molesto en el extremo más bajo del intervalo de concentración.

La Tabla 5.1 muestra el resumen de los resultados de la hoja de cálculo de Excel utilizada para calcular la línea de regresión de los datos anteriores. Los datos CF se han representado en el eje y , y los resultados EF en el x (véase más adelante). Los resultados muestran que el valor de r (llamado por este programa «R múltiple» debido a su potencial aplicación a métodos de regresión múltiple) es 0.9967. La ordenada en el origen es -0.0456, con límites de confianza superior e inferior de -0.1352 y +0.0440: este intervalo incluye el valor ideal de cero. La pendiente de la gráfica, llamada «X variable 1» debido a que b es el coeficiente del término en x en la Ecuación (5.1), es 0.9879, con un intervalo de confianza al 95% de 0.9480 a 1.0279: nuevamente este intervalo incluye el valor del modelo, en este caso 1.0. (Los resultados restantes no se necesitan en este ejemplo, y se discuten en la sección 5.11). La Figura 5.11 muestra la línea de regresión con las características anteriores resumidas.

Tabla 5.1. Salida de Excel para el Ejemplo 5.9.1.

Estadística de la regresión

R múltiple	0.9967
R cuadrado	0.9934
R cuadrado ajustado	0.9930
Error estándar	0.0825
Observaciones	20

ANOVA

	gl	SC	CM	F	Significativa
Regresión	1	18.342	18.342	2695.977	4.61926E-21
Residual	18	0.122	0.007		
Total	19	18.465			

	Coeficientes	Error estándar	Estadístico t	Valor P
Ordenada en el origen	-0.0456	0.0426	-1.070	0.299
X Variable 1	0.9879	0.0190	51.923	4.62E-21
	Inferior al 95%	Superior al 95 %		
Ordenada en el origen	-0.1352	0.0440		
X Variable 1	0.9480	1.0279		

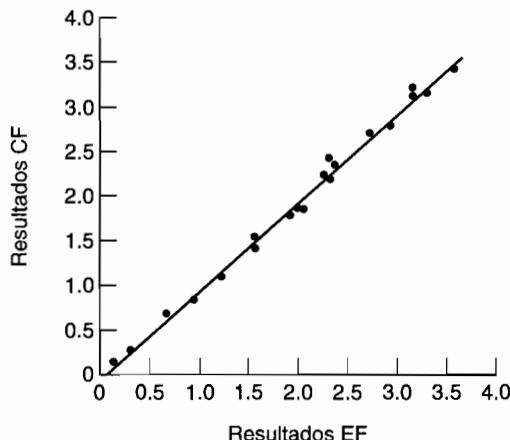


Figura 5.11. Comparación de dos métodos analíticos: datos del Ejemplo 5.9.1.

En relación con este ejemplo pueden mencionarse otros dos aspectos. En primer lugar, la revisión de la literatura de química analítica muestra que los autores se preocupan con frecuencia por los valores del coeficiente de correlación en estudios comparativos. Sin embargo, en este ejemplo, el establecer si ocurren o no errores sistemáticos no juega un papel directo. Incluso si la recta de regresión hubiera sido ligeramente curva, el coeficiente de correlación se podría haber acercado a 1 (véase la anterior Sección 5.3). Esto significa que el cálculo de r tiene menor importancia en el presente contexto que el establecimiento de los límites de confianza para la pendiente y ordenada en el origen. En algunos casos se puede encontrar que el valor de r no se acerca mucho a 1, aun cuando la pendiente y ordenada en el origen no sean significativamente diferentes de 1 y 0, respectivamente. Tal resultado sugeriría muy poca precisión bien sea para uno o ambos métodos bajo estudio. Las precisiones de los dos métodos se pueden determinar y comparar utilizando los métodos de los Capítulos 2 y 3. En la práctica es deseable que esto se haga *antes* de representar la recta de regresión que compara los dos métodos representados; la razón de esto se explica posteriormente. El segundo punto a señalar es que sea deseable comparar los métodos en todo el intervalo de concentraciones, como en el ejemplo expuesto, donde las muestras de orina examinadas contenían concentraciones de ácido fítico que cubrían con suficiente uniformidad el intervalo de interés.

Aunque la aproximación descrita haya sido ampliamente adoptada en estudios comparativos de métodos instrumentales, está abierta a algunas objeciones teóricas. En primer lugar, como se ha recalcado a través de todo el capítulo, la recta de regresión de y sobre x se calcula bajo el supuesto de tener errores despreciables en los valores de x (se supone que todos los errores ocurren en la dirección y). Este supuesto, generalmente válido en la generación de una gráfica de calibrado para un único analito, no se puede justificar cuando la recta de regresión se emplea con propósitos de comparación: se puede tomar como cierto que los errores aleatorios existirán en ambos métodos analíticos, es decir, tanto en la dirección x como en la y . Esto sugiere que no son válidas las ecuaciones utilizadas en el cálculo de la propia

recta de regresión. Sin embargo, los métodos de regresión se siguen utilizando ampliamente, ya que las gráficas que resultan proporcionan información valiosa sobre la naturaleza de cualquier diferencia entre los métodos (Figura 5.10). Además, las simulaciones muestran que la aproximación conduce a resultados sorprendentemente fiables, siempre que el método más preciso se represente en el eje x (ésta es la razón de realizar investigaciones sobre las precisiones de los dos métodos; véase lo expuesto anteriormente), y que se usen un número razonable de puntos (ca. al menos 10) cubriendo uniformemente el intervalo de concentraciones de interés. Ya que los cálculos de los límites de confianza se basan en $n-2$ grados de libertad, es de particular importancia evitar valores pequeños de n . Existen métodos de representación de rectas de regresión en que x e y están sujetos a error, sin embargo en la práctica no se utilizan habitualmente en estudios de comparación debido a su complejidad.

Una segunda objeción al utilizar la recta de regresión de y sobre x en la comparación de dos métodos analíticos, como se calculó en las Secciones 5.4 y 5.5, supone también que los errores en los valores de y son *constantes*. Se dice que tales datos son **homocedásticos**. Como se comentó anteriormente, esto significa que todos los puntos tienen igual ponderación cuando se calculan la pendiente y la ordenada en el origen de la línea. Este supuesto es probable que carezca de validez en la práctica. En muchos análisis, los datos son **heterocedásticos**, es decir, la desviación estándar de los valores de y aumenta con la concentración del analito, en vez de tener el mismo valor para todas las concentraciones (véase más adelante). Esta objeción al uso de rectas de regresión no ponderadas se aplica también a las representaciones de calibrado para un único procedimiento analítico. En principio, las líneas de **regresión ponderadas** deben ser utilizadas en su lugar, como se muestra en la siguiente sección.

5.10. Rectas de regresión ponderadas

En esta sección se esbozan las aplicaciones de los métodos de regresión ponderada. Se supone que la recta de regresión ponderada se utiliza para la determinación de un único analito y no para comparar dos métodos distintos. En cualquier análisis de calibración el error aleatorio global del resultado surgió de una combinación de las contribuciones al error de varias etapas del análisis (véase la Sección 2.11). En algunos casos este error global estará controlado por una o más etapas del análisis donde el error aleatorio no es dependiente de la concentración. En algunos casos se esperará que los errores en la curva de calibrado en la dirección y sean aproximadamente igual para todos los puntos (homocedasticidad), y un cálculo de regresión no ponderada es legítimo. En otros casos, los errores serán aproximadamente proporcionales a la concentración del analito (es decir, el error *relativo* será aproximadamente constante), y en algunos más (quizá la situación más común en la práctica) el error en la dirección de y aumentará cuando aumenta x , pero con menos rapidez que la concentración. Ambos tipos de datos heterocedásticos deberían ser tratados mediante métodos de regresión ponderados. Habitualmente un analista sólo puede aprender de la experiencia si son

adequados los métodos ponderados o no ponderados. Las predicciones son difíciles: son abundantes los ejemplos en los que dos métodos aparentemente similares muestran un comportamiento muy diferente frente al error. Los cálculos de regresión ponderados son bastante más complejos que los no ponderados, y requieren más información (o el uso de más supuestos). No obstante, deberían utilizarse cuando se sospeche heterocedasticidad, y en la actualidad se utilizan mucho más que antaño, en parte como resultado de la presión de autoridades reguladoras de la industria farmacéutica y de otros organismos.

La Figura 5.12 muestra la situación que surge cuando el error en un cálculo de regresión es aproximadamente proporcional a la concentración del analito, es decir, las «barras de error» utilizadas para expresar los errores aleatorios en los diferentes puntos del calibrado se alargan a medida que aumenta la concentración. La recta de regresión debe ser calculada para proporcionar una ponderación adicional a aquellos puntos donde las barras de error son más cortas: es más importante para la recta calculada pasar cerca de tales puntos que pasar cerca de los puntos que representan concentraciones más altas con los errores más grandes. Este resultado se logra dando a cada punto una ponderación inversamente proporcional a la varianza correspondiente, s_i^{-2} . (Este procedimiento lógico se aplica a todos los cálculos de regresión ponderados y no sólo a aquellos en que el error en la dirección de y es proporcional a x .) Así pues, si los puntos individuales son denotados por (x_1, y_1) , (x_2, y_2) , etc., como es habitual, y las correspondientes desviaciones estándar son s_1, s_2 , etc., entonces las ponderaciones individuales, w_1, w_2 , etc., vienen dadas por:

$$\text{Ponderaciones: } w_i = \frac{s_i^{-2}}{\sum_i s_i^{-2}/n} \quad (5.13)$$

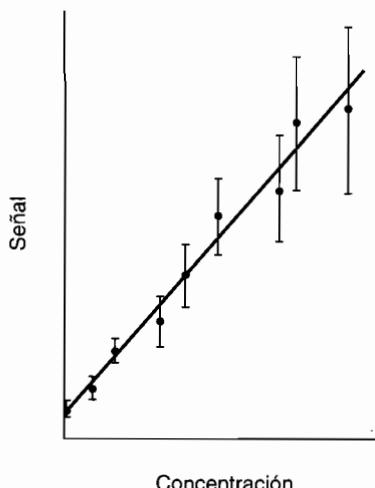


Figura 5.12. La ponderación de errores en un cálculo de regresión.

Se verá que las ponderaciones se han escalado de tal manera que su suma es igual al número de puntos sobre la representación gráfica: esto simplifica los subsiguientes cálculos. La pendiente y la ordenada en el origen de la recta de regresión vienen dadas por:

$$\text{Pendiente ponderada: } b_w = \frac{\sum_i w_i x_i y_i - n \bar{x}_w \bar{y}_w}{\sum_i w_i x_i^2 - n \bar{x}_w^2} \quad (5.14)$$

y por

$$\text{Ordenada en el origen ponderada: } a_w = \bar{y}_w - b \bar{x}_w \quad (5.15)$$

En la Ecuación (5.15), \bar{y}_w y \bar{x}_w representan las coordenadas del *centro de gravedad ponderado*, por el que debe pasar la recta de regresión ponderada. Como se esperaba, estas coordenadas vienen dadas por $\bar{x}_w = \sum_i w_i x_i / n$ y $\bar{y}_w = \sum_i w_i y_i / n$.

EJEMPLO 5.10.1

Calcular las rectas de regresión ponderadas y no ponderadas para los siguientes datos de calibración. Calcular también para cada recta la concentración de las muestras de ensayo con absorbancias de 0.100 y 0.600.

Concentración, $\mu\text{g ml}^{-1}$	0	2	4	6	8	10
Desviación estándar	0.001	0.004	0.010	0.013	0.017	0.022
Absorbancia	0.009	0.158	0.301	0.472	0.577	0.739

La aplicación de las Ecuaciones (5.4) y (5.5) muestra que la pendiente y la ordenada en el origen de la recta de regresión *no ponderada* son, respectivamente, 0.0725 y 0.0133. Las concentraciones correspondientes a las absorbancias de 0.100 y 0.600 son 1.20 y 8.09 $\mu\text{g ml}^{-1}$, respectivamente.

La recta de regresión *ponderada* es algo más tediosa de calcular: a falta de un programa de ordenador adecuado es útil establecer una tabla como sigue.

x_i	y_i	s_i	$1/s_i^2$	w_i	$w_i x_i$	$w_i y_i$	$w_i x_i y_i$	$w_i x_i^2$
0	0.009	0.001	10^6	5.535	0	0.0498	0	0
2	0.158	0.004	62500	0.346	0.692	0.0547	0.1093	1.384
4	0.301	0.010	10000	0.055	0.220	0.0166	0.0662	0.880
6	0.472	0.013	5917	0.033	0.198	0.0156	0.0935	1.188
8	0.577	0.017	3460	0.019	0.152	0.0110	0.0877	1.216
10	0.739	0.022	2066	0.011	0.110	0.0081	0.90813	1.100
Sumas			1083943	5.999	1.372	0.1558	0.4380	5.768

Estos números dan $\bar{y}_w = 0.1558/6 = 0.0260$, y $\bar{x}_w = 1.372/6 = 0.229$. Mediante la Ecuación (5.14), b_w se calcula a partir de

$$b_w = \frac{0.438 - (6 \times 0.229 \times 0.026)}{5.768 - [6 \times (0.229)^2]} = 0.0738$$

de manera que a_w viene dado por $0.0260 - (0.0738 \times 0.229) = 0.0091$.

Estos valores para a_w y b_w pueden ser utilizados para mostrar que los valores de absorbancia de 0.100 y 0.600 corresponden a concentraciones de 1.23 y $8.01 \mu\text{g ml}^{-1}$, respectivamente.

La comparación de los resultados de los cálculos de regresión ponderada y no ponderada resulta muy instructiva. Los efectos del proceso de ponderación son claros. El centro de gravedad ponderado (\bar{x}_w , \bar{y}_w) está mucho más cerca del origen del gráfico que el centro de gravedad no ponderado (\bar{x} , \bar{y}), y la ponderación dada a los puntos más próximos al origen (en particular al primer punto (0, 0.009), que tiene el menor de todos los errores) asegura que la recta de regresión ponderada tiene una ordenada en el origen muy cercana a este punto. La pendiente y la ordenada en el origen de la recta ponderada son notablemente similares a los de la recta no ponderada, sin embargo, los resultados de los dos métodos proporcionan valores muy similares de las concentraciones de las muestras con absorbancias de 0.100 y 0.600. No debe suponerse que esos valores similares surgen simplemente debido a que en este ejemplo los puntos experimentales se ajustan muy bien a una línea recta. En la práctica, las rectas de regresión ponderada y no ponderada obtenidas de una serie de datos experimentales tienen pendientes y ordenadas en el origen similares, incluso si resulta sustancial la dispersión de los puntos respecto de la recta.

Como conclusión podría pensarse que los cálculos de regresión ponderada son poco recomendables. Requieren más información (en la forma de calcular las estimaciones de la desviación estándar en varios puntos sobre la representación gráfica) y son más complejos de ejecutar, sin embargo parece que proporcionan datos que son muy similares a los obtenidos a partir del método de regresión no ponderada. Tales consideraciones pueden responder al hecho habitual en la práctica de despreciar los cálculos de regresión ponderada. Si bien un químico analítico que utiliza métodos instrumentales no emplea cálculos de regresión simplemente para determinar la pendiente y la ordenada en el origen del gráfico de calibrado y las concentraciones de muestras de ensayo. También necesita obtener estimaciones de los errores o límites de confianza de las concentraciones y es en este contexto en el que el método de regresión ponderada proporciona resultados mucho más reales. En la Sección 5.6 se utilizó la Ecuación (5.9) para estimar la desviación estándar (s_{x_0}) y de aquí los límites de confianza de una concentración calculada utilizando un único valor de y , y una recta de regresión no ponderada. La aplicación de esta ecuación a los datos en el ejemplo anterior muestra que los límites de confianza no ponderados para las soluciones que poseen absorbancias de 0.100 y 0.600 son 1.20 ± 0.65 y $8.09 \pm 0.63 \mu\text{g ml}^{-1}$, respectivamente. Como en el ejemplo de la Sección 5.6, estos intervalos de confianza

son muy similares. Sin embargo, en el ejemplo presente, tal resultado no es completamente real. Los datos experimentales muestran que los errores de los valores y observados aumentan cuando aumentan los propios valores de y , situación esperada para un método que tenga una desviación estándar relativa aproximadamente constante. Se podría esperar que este incremento en s_i con el incremento de y podría también reflejarse en los límites de confianza de las concentraciones determinadas: los límites de confianza para la solución con una absorbancia de 0.600 deberían ser mucho más grandes (es decir, peores) que los de la solución con absorbancia de 0.100.

En los cálculos de regresión ponderados, la desviación estándar de una predicción sobre la concentración viene dada por:

$$s_{x_{0w}} = \frac{s_{(y/x)w}}{b} \sqrt{\frac{1}{w_0} + \frac{1}{n} + \frac{(y_0 - \bar{y}_w)^2}{b^2 \left(\sum_i w_i x_i^2 - n \bar{x}_w^2 \right)}} \quad (5.16)$$

En esta ecuación, $s_{(y/x)w}$ viene dada por:

$$s_{(y/x)w} = \sqrt{\frac{\sum_i w_i (y_i - \hat{y}_i)^2}{n - 2}} \quad (5.17)$$

y w_0 es una ponderación adecuada del valor de y_0 . Las Ecuaciones (5.16) y (5.17) son claramente similares en la forma a las Ecuaciones (5.9) y (5.6). La Ecuación (5.16) confirma que los puntos cercanos al origen, donde las ponderaciones son más altas, y los puntos cercanos al centro de gravedad, donde $(y_0 - \bar{y}_w)$ es pequeño, tendrán los límites de confianza más estrechos de todos (Figura 5.13). La principal diferencia entre las Ecuaciones (5.9) y (5.16) es el término $1/w_0$ en la Ecuación (5.16). Ya que w_0 disminuye bruscamente a medida que aumenta y , este término, como se esperaba, asegura que los límites de confianza aumenten cuando aumenta y_0 .

La aplicación de la Ecuación (5.16) a los datos del ejemplo anterior muestra que las soluciones problema con absorbancias de 0.100 y 0.600 presenten límites de confianza para las concentraciones calculadas de 1.23 ± 12 y $8.01 \pm 0.72 \mu\text{g ml}^{-1}$, respectivamente. Las amplitudes de estos intervalos de confianza son proporcionales a las absorbancias observadas de las dos soluciones. Además, el intervalo de confianza para la muestra menos concentrada de las dos es más pequeño que en los cálculos de regresión no ponderados, mientras que para la muestra más concentrada es cierto lo contrario. Todos estos resultados concuerdan mucho más con la realidad del experimento de calibración que con los resultados de los cálculos de regresión no ponderada.

Además, los métodos de regresión ponderados pueden ser esenciales cuando se obtiene una línea de calibrado por transformaciones algebraicas de una representación intrínsecamente curva (véase la Sección 5.13). En la

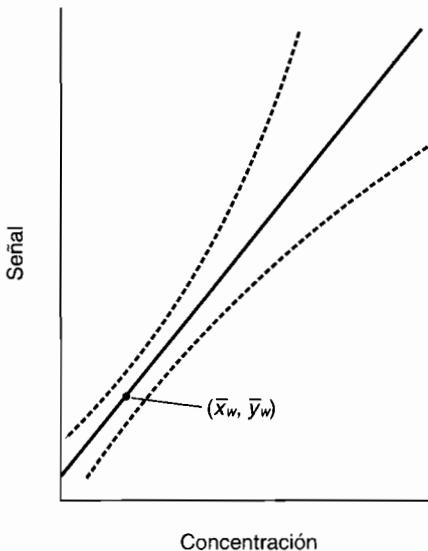


Figura 5.13. Forma general de los límites de confianza para una concentración determinada utilizando una recta de regresión ponderada.

actualidad existen programas de computadora para cálculos de regresión ponderados, fundamentalmente a través de paquetes informáticos de estadística muy avanzados, y esto debería fomentar el mayor uso de este método.

5.11. Intersección de dos líneas rectas

Una serie de problemas en la ciencia analítica se resuelven representando dos gráficos de líneas rectas de los datos experimentales y determinando el punto de su intersección. Ejemplos habituales incluyen valoraciones potenciométricas y conductimétricas, la determinación de la composición de complejos metálicos tipo quelato, y estudios de interacciones proteína-ligando y de enlace bioespecífico similares. Si se conocen las ecuaciones de las dos líneas rectas (no ponderadas), $y_1 = a_1 + b_1 x_1$ e $y_2 = a_2 + b_2 x_2$ (con n_1 y n_2 puntos, respectivamente), entonces se demuestra con facilidad que el valor de x de su intersección, x_I , viene dado por:

$$\text{Punto de intersección: } x_I = \frac{\Delta a}{\Delta b} \quad (5.18)$$

donde $\Delta a = a_1 - a_2$ y $\Delta b = b_2 - b_1$. Los límites de confianza para este valor de x_I vienen dados por las dos raíces de la siguiente ecuación cuadrática:

$$x_I^2(\Delta b^2 - t^2 s_{\Delta b}^2) - 2x_I(\Delta a \Delta b - t^2 s_{\Delta a \Delta b}) + (\Delta a^2 - t^2 s_{\Delta a}^2) = 0 \quad (5.19)$$

El valor de t utilizado en esta ecuación se elige al nivel P apropiado y con $n_1 + n_2 - 4$ grados de libertad. Las desviaciones estándar en la Ecuación (5.19) se calculan sobre la hipótesis de que los valores para las dos líneas, $s_{(y/x)1}$ y $s_{(y/x)2}$, sean suficientemente similares para ser juntados utilizando una ecuación análoga a la Ecuación (3.3):

$$s_{(y/x)p}^2 = \frac{(n_1 - 2)s_{(y/x)1}^2 + (n_2 - 2)s_{(y/x)2}^2}{n_1 + n_2 - 4} \quad (5.20)$$

Después de este proceso de agrupamiento se puede escribir:

$$s_{\Delta b}^2 = s_{(y/x)p}^2 \left\{ \frac{1}{\sum_i (x_{i1} - \bar{x}_1)^2} + \frac{1}{\sum_i (x_{i2} - \bar{x}_2)^2} \right\} \quad (5.21)$$

$$s_{\Delta a}^2 = s_{(y/x)p}^2 \left\{ \frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} + \frac{\bar{x}_1^2}{\sum_i (x_{i1} - \bar{x}_1)^2} + \frac{\bar{x}_2^2}{\sum_i (x_{i2} - \bar{x}_2)^2} \right\} \quad (5.22)$$

$$s_{\Delta a \Delta b}^2 = s_{(y/x)p}^2 \left\{ \frac{\bar{x}_1}{\sum_i (x_{i1} - \bar{x}_1)^2} + \frac{\bar{x}_2}{\sum_i (x_{i2} - \bar{x}_2)^2} \right\} \quad (5.23)$$

Estas ecuaciones parecen extraordinariamente complejas, pero si se utiliza una hoja de cálculo como Excel para obtener las ecuaciones de las dos líneas, el punto de intersección se puede determinar de una vez. Entonces, se pueden juntar los valores $x_{y/x}$, calcular los valores $s_{\Delta a}^2$, etc., y encontrar los límites de confianza utilizando las prestaciones de resolución de ecuaciones del programa.

5.12. ANOVA y los cálculos de regresión

Cuando se utiliza el criterio de mínimos cuadrados para determinar la mejor línea recta que pasa por un único conjunto de puntos hay una solución única, de manera que los cálculos implicados son relativamente directos. Sin embargo, cuando un gráfico de calibrado curvo se calcula utilizando el mismo criterio, éste ya no es el caso: una curva de mínimos cuadrados se podría describir por funciones polinómicas ($y = a + bx + cx^2 + \dots$) conteniendo diferentes números de términos, una función exponencial o logarítmica, o en otras formas. Por tanto, se necesita un método que ayude a elegir la mejor forma de representar una curva de entre las muchas que hay disponibles. El análisis de la varianza (ANOVA) proporciona dicho método en todos los casos donde se mantenga la hipótesis de que los errores ocurren sólo en la dirección de y . En tales situaciones en un gráfico de calibración hay dos fuentes de la variación en la dirección de y . La primera es la variación *debida a*

la regresión, es decir, debida a la relación entre la señal del instrumento, y , y la concentración del analito, x . La segunda es el error experimental aleatorio en los valores de y , que se denomina la variación *sobre la regresión*. Como se ha visto en el Capítulo 3, ANOVA es un método potente para separar dos fuentes de variación en tales situaciones. En los problemas de regresión, el promedio de los valores de y de los puntos de calibración, \bar{y} , es importante al definir estas fuentes de variación. Los valores individuales de y_i difieren de \bar{y} por las dos razones dadas anteriormente. ANOVA se aplica para separar las dos fuentes de variación utilizando la relación en que la suma de cuadrados total (SC) sobre \bar{y} es igual a la SC debida a la regresión más la SC sobre la regresión:

Sumas de cuadrados aditivas:

$$\sum_i (y_i - \bar{y})^2 = \sum_i (\hat{y}_i - \bar{y})^2 + \sum_i (y_i - \hat{y}_i)^2 \quad (5.24)$$

La suma de cuadrados total, es decir, la parte izquierda de la Ecuación (5.24), queda claramente fijada una vez que se han determinado los valores experimentales. Una línea que ajuste estos puntos experimentales con proximidad se obtendrá cuando la variación *debida a la regresión* (el primer término de la parte derecha de la Ecuación (5.24)) sea tan grande como sea posible. La variación sobre la regresión (también llamada la *SC residual*, ya que cada componente del término del lado derecho de la ecuación es un único *residuo*) debería ser tan pequeña como fuera posible. El método es muy general y se puede aplicar a problemas de regresión lineal así como a regresión no lineal. La Tabla 5.1 mostró la salida Excel para un gráfico lineal utilizado para comparar dos métodos analíticos, incluyendo una tabla ANOVA en la forma usual. Como es habitual, el número total de grados de libertad (19) es uno menos que el número de medidas (20), ya que los residuos suman cero. Para un gráfico de línea recta se tiene que determinar sólo un coeficiente (b) para un término que también contenga x , ya que el número de grados de libertad debido a la regresión es 1. Por tanto, hay $\gamma(n - 2) = 18$ grados de libertad para la variación residual. Los valores de los cuadrados medios (CM) se determinan como en los ejemplos ANOVA previos, y el contraste F se aplica a los dos cuadrados medios como es habitual. El valor F obtenido es muy grande, ya que hay una relación obvia entre x e y , de manera que el CM de la regresión es mucho más grande que el CM residual.

La salida Excel también incluye «múltiple R», que como se ha comentado previamente es en este caso igual al coeficiente de correlación, r , el error estándar ($= s_{y/x}$), y los términos adicionales «R square» (R cuadrado) y «adjusted R square» (R cuadrado ajustado), usualmente abreviado por R'^2 . Los dos últimos estadísticos son proporcionados por Excel como decimales, pero a menudo se expresan en su lugar como porcentajes. Se definen como sigue:

$$R^2 = \text{SC debida a la regresión}/\text{SC total} = 1 - (\text{SC residual}/\text{SC total}) \quad (5.25)$$

$$R'^2 = 1 - (\text{CM residual}/\text{CM total}) \quad (5.26)$$

En el caso del gráfico de una línea recta, R^2 es igual a r^2 , el cuadrado del coeficiente de correlación, es decir el cuadrado de «multiple R». Las aplicaciones de R^2 y R'^2 a problemas de ajuste de curvas serán analizadas más adelante.

5.13. Los métodos de regresión no lineal. Introducción

En muchos métodos de análisis instrumental la respuesta del instrumento es proporcional a la concentración de analito en intervalos de concentración sustanciales. Los cálculos simplificados estimulan a los analistas a tomar precauciones experimentales para lograr tal linealidad. Ejemplos de tales precauciones incluyen tanto el control de la anchura de las líneas de emisión de una lámpara de cátodo hueco en espectrometría de absorción atómica, como el tamaño y posición del portamuestras para minimizar los efectos de filtro interno en espectrofluorimetría molecular. Sin embargo, muchos métodos analíticos (por ejemplo, inmunoensayos y ensayos similares de unión competitiva *competitive binding*) producen gráficas de calibrado que son intrínsecamente curvas. Es particularmente habitual la situación en que la gráfica de calibrado es lineal (o aproximadamente lineal) a bajas concentraciones de analito, curvándose a niveles de analito más grandes. Cuando se obtienen gráficas de calibrado curvas, se necesitan respuestas a las preguntas formuladas en la Sección 5.2, si bien las preguntas plantearán problemas estadísticos mucho más interesantes que en el caso de experimentos de calibración lineal.

La primera pregunta a examen es: ¿cómo se detecta la curvatura en un gráfico de calibrado? Esto es, ¿cómo se distingue entre un gráfico que se ajusta mejor a una línea recta y otro que se ajusta mejor a una curva poco pronunciada? Puesto que el grado de curvatura puede ser pequeño, y/o sucede sólo en parte del gráfico, ésta no es una pregunta directa. Además, a pesar del amplio uso del coeficiente de correlación momento-producto (r) para contrastar la bondad del ajuste de gráficas lineales adecuadas, es de poco valor al contrastar la curvatura: se ha visto (Sección 5.3) que las líneas con una curvatura obvia pueden incluso dar valores de r muy elevados. Naturalmente un analista esperaría que algún contraste de curvatura se pudiera aplicar con bastante facilidad en el trabajo cotidiano sin cálculos extensos. Algunos de tales contrastes existen y están basados en la utilización de los residuos de y de los gráficos de calibrado.

Como se ha visto (Sección 5.5) un residuo de y , $y_i - \hat{y}_i$, representa la diferencia entre un valor experimental de y y el valor calculado \hat{y} a partir de la recta de regresión para el mismo valor de x . Si es apropiado un gráfico de calibrado lineal, y si los errores aleatorios en los valores de y están distribuidos normalmente, los residuos en sí mismos deberían estar distribuidos normalmente en torno al valor cero. Si esto no es cierto en la práctica, entonces se debe sospechar que la recta de regresión ajustada no es la correcta. En el ejemplo resuelto en la Sección 5.5, los residuos y obtenidos fueron +0.58, -0.38, -0.24, -0.50, +0.34, +0.18 y +0.02. Estos valores suman cero (teniendo en cuenta los posibles errores de redondeo, esto debe ser siempre

cierto), y aproximadamente están distribuidos simétricamente en torno a 0. Aunque es imposible que sea cierto, especialmente con un número pequeño de puntos, que esos residuos estén normalmente distribuidos, ciertamente no existe evidencia en contra en este caso, es decir, no hay evidencia para mantener un gráfico de calibrado no lineal. Como se ha comentado anteriormente Minitab y otros paquetes estadísticos proporcionan amplia información, incluyendo salidas gráficas, sobre los tamaños y distribución de los residuos.

Se sugiere una segunda prueba de la inspección de los *signos* de los residuos anteriormente expuestos. Si nos trasladamos a lo largo del gráfico de calibrado, es decir, cuando aumenta x , se esperará que existan residuos positivos y negativos en orden aleatorio si los datos están bien ajustados a una línea recta. Si, al contrario, se intenta ajustar una línea recta a una serie de puntos que caen realmente sobre una curva, entonces los signos de los residuos ya no tendrán un orden aleatorio, sino que se producirán *sucesiones* de valores positivos y negativos. Examinando de nuevo los residuos expuestos anteriormente se encuentra que el orden de los signos es + - - - + + +. Para contrastar si estas sucesiones de residuos + y - indican la necesidad de una línea de regresión no lineal, es necesario conocer la probabilidad de que tal ordenamiento pudiera ocurrir por casualidad. Tales cálculos se describen en el próximo capítulo. Desafortunadamente el pequeño número de puntos hace muy probable que éstas y otras secuencias pudieran realmente ocurrir por casualidad, de manera que cualquier conclusión que se extraiga debe ser tratada con precaución. La elección entre métodos de regresión lineales y no lineales se lleva a cabo probablemente mejor utilizando las técnicas de ajuste de curvas esbozadas en la próxima sección.

En la situación en que un gráfico de calibrado sea lineal sobre una parte de su intervalo y curvado en otra, resulta de gran importancia tratar de establecer el intervalo sobre el que se puede asumir linealidad. Aproximaciones posibles a este problema se esbozan en el siguiente ejemplo.

EJEMPLO 5.13.1

Analizar el intervalo de calibración lineal de los siguientes experimentos de fluorescencia.

Intensidad de fluorescencia	0.1	8.0	15.7	24.2	31.5	33.0
Concentración, $\mu\text{g ml}^{-1}$	0	2	4	6	8	10

El análisis de los datos muestra que la parte del gráfico cerca del origen se adapta bastante bien a una línea recta con una ordenada en el origen próxima a cero y una pendiente próxima a cuatro. La fluorescencia de la solución patrón de $10 \mu\text{g ml}^{-1}$ teniendo en cuenta estas bases es claramente inferior a la esperada, y existe alguna posibilidad de que la desviación de la linealidad afecte también al estándar de $8 \mu\text{g ml}^{-1}$. Primeramente se aplican cálculos de regresión lineal (no ponderada) a todos los datos. De la aplicación de los métodos de las Secciones 5.3 y 5.4 se obtienen los resultados $a = 1.357$, $b = 3.479$ y $r = 0.9878$. Téngase de nuevo en cuenta que el valor alto de r puede ser engañoso, aunque se use en sentido comparativo (véase más adelante). Los residuos de y en este caso son -1.257 , -0.314 , $+0.429$, $+1.971$, $+2.314$ y -3.143 , con la suma de los cuadrados de los residuos igual a 20.981. La tendencia en los valores de los residuos sugiere que el último valor de la tabla está probablemente fuera del intervalo lineal.

Se confirman las sospechas aplicando las ecuaciones de regresión lineal solamente a los cinco primeros puntos. Esto proporciona $a = 0.100$, $b = 3.950$ y $r = 0.9998$. La pendiente y la ordenada en el origen están mucho más cerca a los valores esperados para la parte del gráfico más próxima al origen, y el valor de r es mayor que en el primer cálculo. Los residuos de los primeros cinco puntos de esta segunda ecuación de regresión son 0, 0, -0.2, +0.4 y -0.2, con una suma de cuadrados de sólo 0.24. El uso de la segunda ecuación de regresión muestra que la fluorescencia esperada de un patrón de $10 \mu\text{g ml}^{-1}$ es 39.6, es decir, el residuo es -6.6. El uso del contraste t (Capítulo 3) mostraría que este último residuo es significativamente más grande que el promedio de los otros residuos: alternativamente se podría aplicar un contraste (Sección 3.7) para demostrar que es un «dato anómalo» entre los residuos (véase también la Sección 5.15 más adelante). En este ejemplo, dichos cálculos son tediosos: el enorme residuo del último punto, unido a los residuos muy bajos de los otros cinco puntos y a la muy reducida suma de los cuadrados, confirma que el intervalo lineal del método no llega más allá de $10 \mu\text{g ml}^{-1}$. Habiendo establecido que el último punto puede excluirse del intervalo de linealidad, se puede repetir el proceso para estudiar el punto (8, 31.5). Se puede realizar esto calculando la recta de regresión sólo para los cuatro primeros puntos de la tabla, con los resultados $a = 0$, $b = 4.00$, $r = 0.9998$. El valor del coeficiente de correlación sugiere que esta línea se ajusta bastante bien a los puntos de la línea anterior, en la que se usaban cinco puntos. Los residuos para este tercer cálculo son +0.1, 0, -0.3, y +0.2, con una suma de cuadrados de 0.14. Con esta línea de calibrado el residuo y para la solución de $8 \mu\text{g ml}^{-1}$ es -0.5: este valor es más grande que los otros residuos pero probablemente no en una cantidad significativa. De este modo se puede concluir que es razonablemente seguro incluir el punto (8, 31.5) dentro del intervalo lineal del método. Al tomar una decisión marginal de este tipo, el químico analítico tendrá en cuenta la exactitud requerida de sus resultados, y el valor reducido de un método para el que el intervalo de calibración es muy corto. Los cálculos descritos anteriormente se resumen en la Figura 5.14.

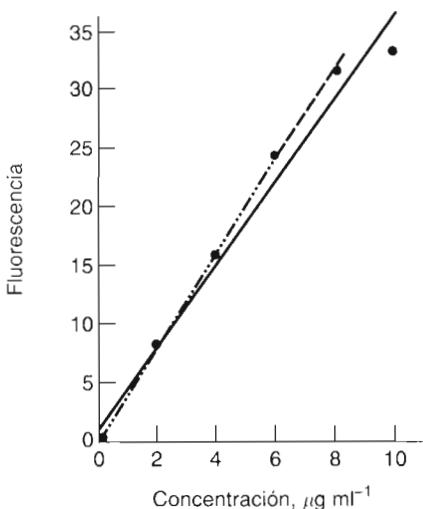


Figura 5.14. Regresión no lineal: identificación del intervalo de linealidad. Se usan los datos del Ejemplo 5.13.1; se muestran las líneas de regresión lineal no ponderadas a través de todos los puntos (—), a través de sólo los cinco primeros puntos (---), y a través de sólo los cuatro primeros puntos (····).

Una vez que se ha tomado la decisión de que una serie de puntos de calibrado no se ajustan satisfactoriamente a una línea recta, el analista puede jugar otra carta antes de resignarse a los complejos cálculos de regresión no lineal. Se pueden *transformar* los datos de manera que una relación no lineal cambie a otra lineal. Tales transformaciones se aplican regularmente a los resultados de ciertos métodos analíticos. Por ejemplo, los paquetes informáticos modernos para la interpretación de datos de inmunoensayos ofrecen frecuentemente una opción de transformaciones: métodos comúnmente utilizados incluyen representar $\log y$ y/o $\log x$ en vez de y y x , o el uso de funciones logit ($\text{logit } x = \ln[x/(1-x)]$). Es importante señalar que las transformaciones pueden afectar también a la naturaleza de los errores en diferentes puntos de las representaciones del calibrado. Supóngase, por ejemplo, que en un conjunto de datos de la forma $y = px^q$, las magnitudes de los errores aleatorios en y son independientes de x . Cualquier transformación de los datos en forma lineal al tomar logaritmos generará datos cuyos errores en $\log y$ *no* son independientes de $\log x$. En este y en cualquier otro caso donde sea conocida la forma esperada de la ecuación a partir de consideraciones teóricas o de experiencia de mucho tiempo, es posible aplicar ecuaciones de regresión *ponderadas* (Sección 5.10) a los datos transformados. Se puede demostrar que, si los datos de la forma general $y = f(x)$ se transforman en la ecuación lineal $Y = BX + A$, el factor de ponderación, w , utilizado en las Ecuaciones (5.14)-(5.17) se obtiene de la relación:

$$w_i = \left\{ \frac{1}{dY_i/dy_i} \right\}^2 \quad (5.27)$$

Desgraciadamente, no existen muchos casos en química analítica en que se conozca con certeza la forma matemática exacta de una ecuación de regresión no lineal (véase más adelante), de modo que esta aproximación es de valor restringido.

También debería considerarse que, a diferencia de la situación descrita en el párrafo anterior, los resultados se pueden transformar para generar datos que pueden ser tratados por métodos *no ponderados*. Datos de la forma $y = bx$, con errores en la dirección y claramente dependientes de x a veces están sujetos a transformaciones log-log: los errores en $\log y$ tienen entonces una variación sensiblemente menor con $\log x$, de manera que los datos transformados pueden ser estudiados por ecuaciones de regresión no ponderadas.

5.14. El ajuste de curvas

A la vista de las dificultades que surgen al transformar los datos, y de la creciente facilidad con que pueden calcularse las curvas para ajustar una serie de puntos de calibración, los métodos de regresión curvilinea son en la actualidad relativamente comunes en la química analítica. Es muy importante señalar que las curvas de calibrado encontradas en la práctica resultan a menudo de la superposición de dos o más fenómenos físicos o químicos. Así, en espectrometría de fluorescencia molecular, representaciones de la señal vs. concentración pueden ser aproximadamente lineales en disoluciones muy diluidas, pero a altas concentraciones exhibirán curvatura creciente (negati-

va) debida a: (a) el tipo de óptica utilizada (efectos de filtro interno), (b) interacciones moleculares (por ejemplo, atenuación, formación de escimeros), y (c) a la carencia de supuestos algebraicos sobre los que se pronostique una representación lineal. Los efectos (a)-(c) son independientes entre si, de manera que en la práctica pueden aparecer curvas de diferente forma. Este ejemplo muestra porqué las curvas de calibrado con forma conocida y previsible se encuentran rara vez en el trabajo analítico (véase lo anterior). Así pues, el analista *a priori* tiene escasa noción sobre cuál de los muchos tipos de ecuaciones que generan representaciones en forma de curva debería utilizarse para ajustar en un caso particular los datos de calibración. En la práctica, mucha de la estrategia más común consiste en ajustar una curva que sea un polinomio en x , es decir, $y = a + bx + cx^2 + dx^3 + \dots$. Entonces los problemas matemáticos a resolver son: (i) ¿cuántos términos deben incluirse en el polinomio?, y (ii) ¿qué valores deben asignarse a los coeficientes a, b , etc.? Los paquetes de software informático que abordan estos problemas son normalmente iterativos: en primer lugar ajustan una línea recta a los datos, luego una curva cuadrática, después una curva cúbica, y así sucesivamente, presentando al usuario la información necesaria para decidir cual de estas ecuaciones es la más adecuada. En la práctica, las ecuaciones cuadráticas o cúbicas se ajustan a menudo satisfactoriamente a los datos: polinomios con muchos términos carecen casi siempre de significado físico y no mejoran significativamente los resultados analíticos. En cualquier caso, si una representación tiene n puntos de calibrado, el polinomio mayor permitido es el de orden $n - 1$.

Para decidir si (por ejemplo) una curva cuadrática o cúbica es la que mejor se ajusta a un conjunto de puntos de calibración, se pueden utilizar los métodos ANOVA, introducidos en la Sección 5.12. Los programas de ANOVA generan valores de R^2 , **el coeficiente de determinación**. La Ecuación (5.25) muestra que, cuando se mejora el ajuste de mínimos cuadrados de una curva (o línea recta) a los puntos de los datos, el valor de R^2 se aproximará a 1 (o el 100%). Podría parecer que bastaría con solo calcular los valores de R^2 para ecuaciones lineales, cuadráticas, cúbicas, etc., finalizando la búsqueda cuando no se aumente el valor de R^2 . Desgraciadamente, la incorporación de otro término al polinomio hace que aumente siempre el valor de R^2 , aunque sólo sea en cantidad pequeña. Entonces los programas de ANOVA proporcionan valores de R^2 (« R^2 ajustado») (Ecuación 5.26) la cual utiliza cuadrados medios (CM) en lugar de sumas de cuadrados. El uso de R^2 tiene en cuenta que el número de grados de libertad de los residuos en la regresión polinómica (dado por $[n - k - 1]$ donde k es el número de términos de la ecuación de regresión que contiene una función de x) cambia cuando cambia el orden del polinomio. Como se muestra en el siguiente ejemplo, R^2 es siempre más pequeño que R^2 .

EJEMPLO 5.14.1

En un análisis instrumental se obtuvieron los siguientes datos (unidades arbitrarias).

Concentración	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Señal	0.2	3.6	7.5	11.5	15.0	17.0	20.4	22.7	25.9	27.6	30.2

Ajustar un polinomio adecuado a estos resultados, y utilizarlo para estimar las concentraciones correspondientes a una señal de 5, 16 y 27 unidades.

Hasta un análisis superficial de los datos sugiere que el gráfico de calibrado debería ser una curva, pero resulta instructivo no obstante calcular la línea recta de mínimos cuadrados a través de los puntos utilizando el método descrito en la Sección 5.4. Esta línea responde a la ecuación $y = 2.991x + 1.555$. La tabla ANOVA para los datos tiene la forma siguiente:

Fuente de variación	Suma de cuadrados	g.l.	Cuadrado medio
Regresión	984.009	1	984.009
Residual	9.500	9	1.056
Total	993.509	10	99.351

Como ya se ha observado el número de grados de libertad (g.l.) para la variación debida a la regresión es igual al número de términos (k) en la ecuación de regresión que contiene x , x^2 , etc. Para una línea recta, k es 1. Hay sólo una restricción en el cálculo (a saber que la suma de los residuos es cero, véase lo anterior), de manera que el número total de grados de libertad es $n - 1$. Por tanto, el número de grados de libertad asignados a los residuos es $(n - k - 1) = (n - 2)$, en este caso. De la tabla ANOVA, R^2 viene dado por $984.009/993.509 = 0.99044$, es decir, 99.044%. Una ecuación que explica alrededor del 99% de la relación entre x e y parece muy satisfactoria pero, como también sucede con el coeficiente de correlación, r , se deben tomar precauciones a la hora de interpretar valores absolutos de R^2 : en breve resultará claro que una curva cuadrática proporciona un ajuste para los datos mucho mejor. Se puede también calcular el valor R^2 de la Ecuación (5.26): viene dado por $(1 - [1.056/99.351]) = 0.98937$, es decir, 98.937%.

Como siempre un examen de los residuos habitualmente proporciona información valiosa sobre el éxito de una ecuación de calibrado. En este caso los residuos son como siguen

x	x_i	\hat{y}_i	Residuo y
0	0.2	1.0	-1.4
1	3.6	4.5	-0.9
2	7.5	7.5	0
3	11.5	10.5	1.0
4	15.0	13.5	1.5
5	17.0	16.5	0.5
6	20.4	19.5	0.9
7	22.7	22.5	0.2
8	25.9	25.5	0.4
9	27.6	28.5	-0.9
10	30.2	31.5	-1.3

En esta tabla, por simplicidad se han redondeado a un decimal los números en las dos columnas de la derecha. La tendencia en los signos y magnitudes de los residuos, que son negativos a valores bajos de x , pasan a un máximo positivo, y luego vuelven a valores negativos, señala de que una línea recta no es un ajuste adecuado para los datos.

Cuando los datos se ajustan mediante una curva de forma cuadrática la ecuación resulta ser $y = 0.086 + 3.970x - 0.098x^2$, y la tabla ANOVA toma la forma:

Fuente de variación	Suma de cuadrados	g.l.	Cuadrado medio
Regresión	992.233	2	494.116
Residual	1.276	8	0.160
Total	993.509	10	99.351

Nótese que el número de grados de libertad para las fuentes de variación de la regresión y residual han cambiado ahora de acuerdo con las reglas descritas anteriormente, pero que la variación total es naturalmente la misma como en la primera tabla ANOVA. Aquí R^2 es $992.233/993.509 = 0.99872$, es decir, 99.872%. Esta cifra es considerablemente más grande que el valor de 99.044% obtenido del gráfico lineal, y el valor R^2 es también más grande en $(1 - [0.160/99.351]) = 0.99839$, es decir, 99.839%. Cuando se calculan los residuos y , sus signos (en orden creciente de valores x) son + - - + + - + - +. No hay ninguna tendencia obvia aquí, así que por encima de cualquier consideración se debe preferir el ajuste cuadrático al lineal.

Por último se repiten los cálculos para un ajuste cúbico. Aquí la ecuación que mejor se ajusta es $y = -0.040 + 4.170x - 0.150x^2 + 0.0035x^3$. El coeficiente cúbico es muy pequeño, de manera que resulta cuestionable si esta ecuación es un ajuste significativamente mejor que el cuadrático. El valor R^2 es, inevitablemente, ligeramente más grande que el de la curva cuadrática (99.879% en comparación con 99.872%), pero el valor de R^2 es ligeramente *inferior* que el valor cuadrático en 99.827%. El orden de los signos de los residuos es el mismo como en el ajuste cuadrático. Ya que no hay ninguna ventaja en incluir términos innecesarios, se puede aceptar que un ajuste cuadrático es satisfactorio en este caso.

Cuando las ecuaciones anteriores se utilizan para estimar las concentraciones correspondientes a señales del instrumento de 5, 16 y 27 unidades, los resultados (valores x en unidades arbitrarias) son:

	Lineal	Cuadrático	Cúbico
$y = 5$	1.15	1.28	1.27
$y = 16$	4.83	4.51	4.50
$y = 27$	8.51	8.61	8.62

Como se esperaba, las diferencias entre las concentraciones calculadas de las ecuaciones cuadráticas y cúbicas son insignificantes, de manera que se utiliza la ecuación cuadrática por simplicidad.

Se señaló al comenzar esta sección que las representaciones de calibrado no lineales son a menudo el resultado de la existencia de un número de fenómenos físico-químicos y/o matemáticos, de manera que es sensato suponer que no pueden esperarse funciones matemáticas sencillas que describan la curva de calibrado de forma satisfactoria. Parece por tanto lógico intentar ajustar los puntos a una curva con varias secciones unidas cuya forma matemática pueda ser diferente. Ésta es la aproximación utilizada con notable frecuencia en la actualidad a través de la aplicación de **funciones a trozos «splines»**. Las «splines» cúbicas son las más usadas en la práctica, es decir, la curva final se construye con un conjunto de secciones unidas. Estas secciones deben formar claramente una curva continua en sus uniones («nudos»), de manera que las dos primeras derivadas de cualquier curva en cualquier nudo deben ser iguales. Se han utilizado varios métodos para estimar el número de nudos y las ecuaciones de las curvas que los unen: estas técnicas son demasiado avanzadas para considerarse detalladamente en este momento, pero muchos paquetes estadísticos comerciales pueden actualmente proporcionar tales opciones. La aproximación de las funciones de splin se ha aplicado con éxito a una variedad de métodos analíticos tales como la cromatografía, gas-líquido, los inmunoensayos de competencia de

ligando y métodos similares basados en receptores, y la espectrometría de emisión atómica.

Es legítimo preguntar, en el caso de un gráfico de calibrado cuya curvatura no sea demasiado severa, si se podría aceptar la idea de splin en su más simple acepción, y dibujar la curva como una serie de líneas rectas uniendo puntos sucesivos. El método, por supuesto, no es totalmente riguroso, y no proporcionaría información sobre la precisión con que pueden determinarse los valores de x . Sin embargo, su valor como método sencillo de análisis inicial de datos (AID) (véase el Capítulo 6) es adecuado para aplicarlo a los datos del ejemplo anterior. Este método de interpolación lineal entre puntos sucesivos, para valores de y de 5, 16 y 27, proporciona valores de x de 1.36, 4.50 y 8.65 unidades, respectivamente. La comparación de estos resultados, especialmente los dos últimos, con los de la tabla anterior muestra que serían completamente aceptables para muchos propósitos.

5.15. Datos anómalos en la regresión

En esta sección se retoma un problema ya analizado en el Capítulo 3, la aparición de datos anómalos entre nuestras observaciones. Este tipo de resultados surgen inevitablemente en los experimentos de calibración, exactamente como aparecen en las medidas replicadas, pero resulta más complicado tratar con ellos en la estadística de la regresión. Una dificultad es que, aunque en un experimento de calibración se supone que los valores y_i individuales son independientes unos de otros, los residuos ($y_i - \hat{y}_i$) no son independientes unos de otros ya que su suma es siempre cero. Por tanto, no resulta habitualmente aceptable tomar los residuos como si fueran un conjunto convencional de medidas repetidas, y aplicar (por ejemplo) un contraste Q para identificar cualquier observación anómala. (Si el número de valores de y_i es grande, una condición que no se encuentra por lo general en el trabajo analítico, esta prohibición se puede flexibilizar.)

Entonces, ¿cómo se identifican las observaciones anómalas en un experimento de calibración típico? En primer lugar, se observa que, en los casos donde haya ocurrido un error obvio como un error de transcripción o un funcionamiento deficiente del instrumento, resulta natural y permitido rechazar la medida resultante (y, si es posible, repetirla). Si hay medidas sospechosas para las que no hay ninguna fuente de error obvia, se debe volver a un estudio de los residuos. Muchos programas de computadora que manejan datos de regresión proporcionan rutinas de diagnóstico de los residuos (véase lo anterior). Algunas de éstas son simples, incluyendo gráficos de los residuos frente a los valores y_i individuales (Figura 5.15). Dichos gráficos se esperaría que mostraran que, si se utilizase el modelo correcto de calibración, los residuos permanecerían aproximadamente uniformes en el tamaño a medida que crece y_i , distribuyéndose normalmente alrededor de cero. La figura también ilustra casos donde los errores en la dirección de y crecen con y_i (Sección 5.10), y donde se ha utilizado la ecuación de regresión equivocada (Secciones 5.11 y 5.12). De manera similar, se pueden representar los residuos de y frente al tiempo si se sospecha una deriva del instrumento o cual-

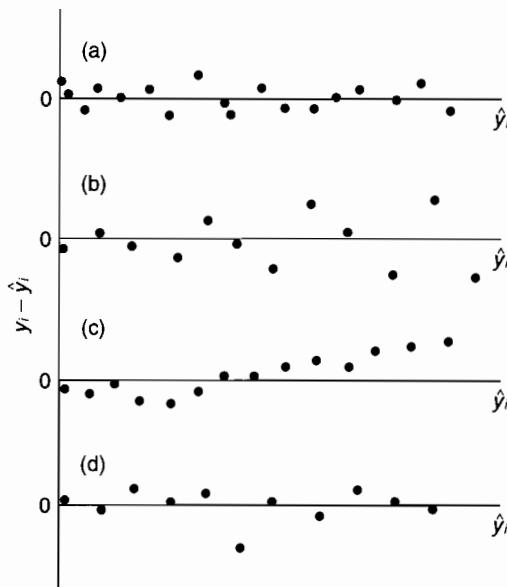


Figura 5.15. Gráficos de residuos en el diagnóstico de la regresión: (a) distribución satisfactoria de los residuos; (b) los residuos tienden a crecer a medida que crece y_i , sugiriendo que sería adecuado un gráfico de regresión ponderado; (c) los residuos muestran una tendencia, primero resultan ser negativos, luego pasan a través de cero y, por último, se hacen cada vez más positivos a medida que crece y_i , sugiriendo que se debería representar una curva (diferente); y (d) un gráfico satisfactorio, excepto que podría ser un dato anómalo.

quier otro efecto dependiente del tiempo. Estos gráficos revelan de manera muy clara valores sospechosos, pero no proporcionan criterios que se puedan utilizar inmediatamente para rechazarlos o aceptarlos. Además, resultan de un valor limitado en muchos experimentos de química analítica, donde el número de puntos de calibrado es a menudo pequeño.

Para identificar posibles datos anómalos mediante programas de computadora se han utilizado algunos criterios numéricos simples. Algunos paquetes «resaltan» los puntos de calibrado donde el residuo de y es más de dos veces (o algún otro múltiplo) el valor de $s_{y/x}$. Se han desarrollado varios métodos más avanzados, de los cuales el mejor conocido es la estimación para cada punto de la **distancia de Cook**, que se propuso por primera vez en 1977. Este estadístico se proporciona en diferentes programas estadísticos avanzados, aunque una comprensión completa de su significado exige un conocimiento del álgebra matricial. La distancia de Cook es un ejemplo de una *función de influencia*, es decir, mide el efecto que tendría sobre los coeficientes de regresión a y b el rechazar el citado punto de calibración.

Por último, se observa que, exactamente como ocurría en el tratamiento de los datos anómalos en las medidas replicadas, los métodos robustos y no paramétricos pueden resultar muy efectivos al manejar datos anómalos en la regresión: los métodos robustos de regresión se han hecho muy populares en los últimos años. Estos tópicos se abordarán en el próximo capítulo.

- Draper, N. R. and Smith, H. 1998. *Applied Regression Analysis*. 3rd Edn. Wiley, New York. (Un trabajo clásico con extensa cobertura de muchos aspectos de los problemas de la regresión y correlación.)
- Edwards, A. L. 1984. *An Introduction to Linear Regression and Correlation*. 2nd Edn. W. H. Freeman, New York. (Tratado escrito con claridad, con una buena introducción al álgebra matricial.)
- Kleinbaum, D. G., Kupper, L. L. and Muller, K. E. 1988. *Applied Regression Analysis and Other Multivariate Methods*. 2nd Edn. PSW-Kent, Boston. (Otro clásico en su campo con un buen tratamiento de la diagnosis de la regresión.)
- Mark, H. 1991. *Principles and Practice of Spectroscopic Calibration*. Wiley, New York. (Una explicación clara de los principios. El fuerte énfasis sobre datos espectroscópicos del IR-cercano no es una desventaja significativa.)
- Noggle, J. H. 1993. *Practical Curve-Fitting and Data Analysis*. Ellis Horwood-PTR Prentice Hall, New Jersey. (Se proporcionan con este libro programas y ficheros de datos, y todos los ejemplos son de química.)
- Orvis, W. J. 1996. *Excel for Scientists and Engineers*. 2nd Edn. Sybex, Alameda, California. (Uno de los numerosos libros que dan guías claras sobre el uso de Excel en cálculos estadísticos.)
- Snedecor, G. W. and Cochran, W. G. 1989. *Statistical Methods*. 8th Edn. Iowa State University, USA. (Aporta una excelente cantidad de procedimientos de regresión y correlación.)

Ejercicios

- En un laboratorio provisto de equipamiento polarográfico se tomaron seis muestras de polvo a varias distancias del polarógrafo y se determinó el contenido de mercurio de cada muestra. Se obtuvieron los siguientes resultados.

Distancia al polarógrafo, m	1.4	3.8	7.5	10.2	11.7	15.0
Concentración de mercurio, ng g ⁻¹	2.4	2.5	1.3	1.3	0.7	1.2

Examinar la posibilidad de que la contaminación por mercurio proceda del polarógrafo.

- La respuesta de un ensayo colorimétrico para glucosa se controló con la ayuda de soluciones patrón de glucosa. Determinar el coeficiente de correlación a partir de los siguientes datos, comentando el resultado.

Glucosa, mM	0	2	4	6	8	10
Absorbancia	0.002	0.150	0.294	0.434	0.570	0.704

3. Se obtuvieron los siguientes resultados al analizar un conjunto de soluciones patrón de plata por espectrometría de absorción atómica.

Concentración, ng ml ⁻¹	0	5	10	15	20	25	30
Absorbancia	0.003	0.127	0.251	0.390	0.498	0.625	0.763

Determinar la pendiente y ordenada en el origen de la línea de calibrado, y sus límites de confianza.

4. Utilizando los datos del ejercicio 3, estimar los límites de confianza para las concentraciones de plata en: (a) una muestra que proporciona una absorbancia de 0.456 en una única determinación, y (b) una muestra dando valores de absorbancia de 0.308, 0.314, 0.347 y 0.312 en cuatro análisis distintos.
5. Estimar el límite de detección del análisis de plata de los datos del ejercicio 3.
6. Se determinó el contenido de oro de una muestra concentrada de agua de mar por espectrometría de absorción atómica con el método de las adiciones estándar. Los resultados obtenidos fueron los siguientes:

Oro añadido, ng por

ml de muestra

concentrada	0	10	20	30	40	50	60	70
Absorbancia	0.257	0.314	0.364	0.413	0.468	0.528	0.574	0.635

Estimar la concentración del oro en el agua de mar concentrada y determinar los límites de confianza para esta concentración.

7. La fluorescencia de un conjunto de soluciones ácidas de quinina fue determinada cinco veces. Los resultados se exponen a continuación:

Concentración, ng ml ⁻¹	0	10	20	30	40	50
Intensidad de fluorescencia (unidades arbitrarias)	4	22	44	60	75	104
	3	20	46	63	81	109
	4	21	45	60	79	107
	5	22	44	63	78	101
	4	21	44	63	77	105

Determinar las pendientes y ordenadas en el origen de las rectas de regresión no ponderada y ponderada. Calcular, utilizando ambas rectas de regresión, los límites de confianza para la concentración de las disoluciones con intensidades de fluorescencia de 15 y 90 unidades.

8. Una determinación de sulfuro procedente de sulfato reducido por bacterias con un electrodo selectivo de iones (ESI) fue comparada con una determinación gravimétrica. Los resultados obtenidos se expresaron en miligramos de sulfuro.

Muestra:	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Sulfuro (Método ESI):	108	12	152	3	106	11	128	12	160	128
Sulfuro (Gravimetría):	105	16	113	0	108	11	141	11	182	118

Comentar la conveniencia del método ESI para esta determinación de sulfuro.

(Al-Hitti, I. K., Moody, G. J. and Thomas, J. D. R. 1983. *Analyst* 108:43)

9. En la determinación de plomo en solución acuosa por espectrometría de absorción atómica con atomización en cámara de grafito, se obtuvieron los siguientes resultados.

Concentración de plomo, ng ml ⁻¹	10	25	50	100	200	300	
Absorbancia		0.05	0.17	0.32	0.60	1.07	1.40

Examinar el intervalo de calibración lineal de este experimento.

(Basado en Giri, S. K., Shields, C. K., Littlejohn D. and Ottaway, J. M. 1983. *Analyst* 108:244)

10. En un estudio del complejo formado entre los iones del europio (III) y el ácido piridin-2,6-dicarboxílico (APDC), se determinaron los valores de absorbancia de disoluciones contenido diferentes concentraciones de APDC-Eu, con los resultados siguientes:

Absorbancia	0.008	0.014	0.024	0.034	0.042	0.050	0.055	0.065
APDC: Eu	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0	1.2	1.4	1.6
Absorbancia	0.068	0.076	0.077	0.073	0.066	0.063	0.058	
APDC: Eu	1.8	2.0	2.4	2.8	3.2	3.6	4.0	

Utilizar estos datos para determinar las pendientes y ordenadas en el origen de dos rectas diferentes. Estimar su punto de intersección y su desviación estándar, determinando entonces la composición del complejo DPA-Eu formado.

(Basado en Arnaud, N., Vaquer, E. and Georges, J. 1998. *Analyst* 123:261)

11. En un experimento para determinar taninos hidrolizables en plantas mediante espectroscopía de absorción se obtuvieron los datos siguientes:

Absorbancia	0.084	0.183	0.326	0.464	0.643
Concentración, mg ml ⁻¹	0.123	0.288	0.562	0.921	1.420

Utilizar un programa de hoja de cálculo o de estadística para calcular una relación cuadrática entre la absorbancia y la concentración. Utilizando valores de R^2 y R'^2 , comentar si los datos podrían describirse mejor mediante una ecuación cúbica.

(Basado en Willis, R. B. and Allen, P. R. 1998. *Analyst* 123:435)

12. Se obtuvieron los resultados siguientes en un experimento para determinar espermina mediante cromatografía de capa fina de alta resolución de uno de sus derivados fluorescentes.

Intensidad de fluorescencia	36	69	184	235	269	301	327	
Espermina, ng		6	18	30	45	60	70	90

Determinar la mejor curva de calibración polinomial a través de estos puntos.

(Basado en Linares, R. M., Ayala, J. H., Afonso, A. M. and Gonzalez, V. 1998. *Analyst* 123:725)

Métodos no paramétricos y robustos

6.1. Introducción

Todos los contrastes estadísticos desarrollados en los capítulos anteriores suponen que los datos que se examinan siguen la distribución normal (Gaussiana). Algun apoyo a este supuesto lo proporciona el teorema del límite central, que demuestra que la distribución en el muestreo de la media puede ser aproximadamente normal incluso si la población de partida tiene una distribución muy diferente. Sin embargo, el teorema en realidad no es válido para conjuntos de datos muy pequeños (a menudo sólo tres o cuatro lecturas) utilizados frecuentemente en el trabajo analítico.

Existen otras razones de interés en métodos que no requieren suponer datos distribuidos según una ley normal. Algunos conjuntos de datos de interés para los químicos analíticos ciertamente presentan distribuciones diferentes. Por ejemplo (véase el Capítulo 2), las concentraciones de anticuerpos en el suero sanguíneo de un grupo de personas diferentes puede expresarse aproximadamente como una distribución log-normal: dichos resultados se obtienen con frecuencia cuando se realiza una medida concreta sobre cada elemento de un grupo humano o de animales. Aún más interesante resulta el comprobar que hay una evidencia creciente de que, incluso cuando se toman medidas repetidas sobre un único material de ensayo, la distribución de los resultados puede a veces ser simétrica pero no normal: los datos incluyen más resultados alejados de la media de los esperados. Tales distribuciones con **colas acusadas** se pueden considerar como distribuciones normales con la inclusión de resultados anómalos (véase el Capítulo 3) que proceden de errores crasos. Alternativamente, los datos con colas acusadas pueden proceder de la superposición de dos distribuciones normales con el mismo valor medio, pero con una distribución que tiene una desviación estándar significativamente más grande que la otra. Esto podría surgir

158 si, por ejemplo, las medidas se realizan por más de un individuo o utilizando más de un equipo.

Este capítulo introduce dos grupos de contraste estadísticos para el manejo de datos que pueden no estar distribuidos normalmente. Los métodos que no suponen una forma específica de la distribución de donde se toman los datos se denominan métodos **no paramétricos** o **de distribución libre**. Muchos de ellos tienen la ventaja adicional en cuanto a que los cálculos se simplifican enormemente: con conjuntos de datos pequeños algunos contrastes se pueden realizar mentalmente. El segundo grupo de métodos, cuyo uso ha ganado muchos enteros en los últimos años, está basado en la creencia de que el fundamento de la distribución de la población puede realmente ser normal (o tener otra forma bien definida), pero si se tienen en cuenta datos como los anómalos, esta distribución puede distorsionarse. Estas técnicas **robustas** serán apropiadas en los casos de las distribuciones con colas acusadas como las descritas anteriormente. Difieren de los métodos no paramétricos en otro aspecto: a menudo suponen cálculos iterativos que serían muy lentos o complejos sin una computadora, y su aumento en popularidad se debe en gran parte a la disponibilidad de computadoras personales.

6.2. La mediana: análisis inicial de los datos

En los capítulos anteriores se ha utilizado la media aritmética o promedio como la «medida de tendencia central» o »medida de localización» de un conjunto de resultados. Esto es bastante lógico cuando se supone la distribución normal (simétrica), sin embargo en estadística no paramétrica se utiliza habitualmente en su lugar la **mediana**. Para calcular la mediana de n observaciones, se ordenan en orden creciente: en el caso improbable que sea muy grande el número de observaciones, este proceso de ordenación puede realizarse rápidamente con programas que disponen la mayoría de las computadoras.

La mediana es el valor de la observación que ocupa el lugar $(n + 1)/2$ si n es impar; y la media de las observaciones que ocupan los lugares $n/2$ y $(n/2 + 1)$ si n es par.

La determinación de la mediana de un conjunto de resultados experimentales requiere habitualmente pocos cálculos o incluso ninguno. Además, en muchos casos puede ser una medida de la tendencia central más realista que la media aritmética.

EJEMPLO 6.2.1

Determíñese la media y la mediana para los cuatro valores siguientes de una volumetría:

25.01, 25.04, 25.06, 25.21 ml

Es fácil calcular que la media de estas cuatro observaciones es 25.08 ml y que la mediana es 25.05 ml (en este caso el promedio de los valores segundo y tercero, ya que las obser-

vaciones se encuentran ordenadas numéricamente). La media es mayor que cualquiera de los tres valores más próximos entre sí (25.01, 25.04 y 25.06 ml) y de este modo puede ser una medida de la tendencia central menos real que la mediana. En lugar de calcular la mediana se podrían utilizar los métodos del Capítulo 3 para contrastar el valor 25.21 como un posible resultado anómalo, y calcular la media de acuerdo con el resultado obtenido, pero esta aproximación supondría que los datos proceden de una población normal.

Este sencillo ejemplo ilustra una propiedad valiosa de la mediana: ésta se ve afectada por los resultados anómalos. Los límites de confianza (véase el Capítulo 2) para la mediana se pueden estimar con la ayuda de la distribución binomial. Este cálculo se puede realizar incluso cuando el número de medidas sea pequeño, pero no es habitualmente requerido en química analítica, donde la mediana se utiliza generalmente sólo como una estimación rápida de un promedio. Para más información se remite al lector a la bibliografía.

En estadística no paramétrica la medida habitual de la dispersión (que sustituye a la desviación estándar) es el **recorrido (o intervalo) intercuartílico**. Como se ha visto, la mediana divide la muestra de medidas en dos mitades iguales: si cada una de estas mitades se divide posteriormente en otras dos mitades los puntos de división se denominan **cuartiles inferior y superior**. Al hacer este cálculo se usan varios convenios diferentes y de nuevo se remite al lector interesado a la bibliografía. El intervalo intercuartílico no es muy utilizado en el trabajo analítico, sin embargo varios contrastes estadísticos se pueden realizar sobre él.

La mediana y el recorrido intercuartílico de un conjunto de medidas son precisamente dos estadísticos que caracterizan fundamentalmente al **análisis inicial de datos (AID)** también llamado **análisis exploratorio de datos (AED)**. Éste es un aspecto de la estadística que ha ganado mucha popularidad en los últimos años. Una razón para ello es la capacidad de las computadoras modernas y programas específicos de presentar datos casi instantáneamente en un amplio rango de formatos gráficos: como se verá, tales representaciones gráficas constituyen un elemento importante del AID. Un segundo elemento en el aumento de la importancia del AID es la creciente aceptación de la estadística como un sujeto práctico y pragmático no necesariamente restringido al uso de técnicas cuya solidez teórica es incuestionable: algunos métodos AID parecen casi toscos en sus principios, pero no obstante resultan muy valiosos.

La principal ventaja de los métodos AID es la posibilidad de indicar que existen otros métodos estadísticos más apropiados para un conjunto dado de datos.

Algunas técnicas sencillas de presentación gráfica simples son de ayuda inmediata. Ya se ha comentado (véanse los Capítulos 1 y 3) el uso de **gráficas de punto** para ilustrar conjuntos pequeños de datos. Estas representaciones ayudan en la identificación visual de resultados anómalos y otras características poco usuales de los datos. El siguiente ejemplo ilustra mejor su valor.

EJEMPLO 6.2.2

En un experimento para determinar si los iones Pb^{2+} interfieren con la determinación enzimática de glucosa en varios alimentos, se trataron nueve alimentos con una solución de $Pb(II)$ 0.1 mM, mientras que otros cuatro (grupo de control) no se trataron. Se midieron para cada alimento las velocidades (en unidades arbitrarias) de reacción catalizada por enzimas y se corrigieron para las diferentes cantidades de glucosa que se sabe están presentes. Los resultados fueron:

Alimentos tratados	21	1	4	26	2	27	11	24	21
Controles	22	22	32	23					

Coméntese estos datos:

Los datos, escritos en dos filas como antecede, no aportan de inmediato demasiado significado, y un analista poco reflexivo podría proceder enseguida a realizar un contraste t (Capítulo 3), o quizás uno de los contrastes no paramétricos que se describen posteriormente, para ver si los dos conjuntos de resultados son significativamente diferentes. Sin embargo, cuando los datos se presentan como dos diagramas de puntos, o como un único diagrama con los dos conjuntos de datos escritos con símbolos diferentes, es manifiesto que los resultados, aunque interesantes, son tan inconclusos que, sin medidas adicionales, poco puede deducirse de ellos (Figura 6.1).

Las medianas de los dos conjuntos de resultados son similares: 21 para los alimentos tratados y 22.5 para los controles. Pero el intervalo de velocidades de reacción para los materiales tratados con $Pb(II)$ es enorme, con los resultados manifiestamente ubicados al menos en dos grupos: cinco alimentos parecen no estar afectados por el plomo (quizás porque en estos casos el $Pb(II)$ esté complejado por otros componentes distintos de la enzima), mientras que otros tres muestran un gran efecto de inhibición (es decir, la velocidad de reacción ha disminuido mucho), y otro se ubica de alguna manera entre estos dos extremos. Un problema adicional consiste en que uno de los resultados del grupo de control es claramente diferente del resto, y se podría considerar como un resultado anómalo (Capítulo 3). En estas circunstancias parece muy improbable que un contraste de significación convencional vaya a revelar información químicamente útil: el uso del método AID más simple nos ha conducido de la desconsideración de los contrastes de significación (como ocurre a menudo) hacia más medidas experimentales.

Otra técnica sencilla de representación de datos, de gran valor cuando se estudian muestras más grandes, es el gráfico de **cajas y bigotes**. En su versión normal dicho gráfico consta de un rectángulo (la caja) con dos líneas (los bigotes) que se extienden desde los bordes opuestos de la caja, y otra línea adicional dentro de la caja, cruzándola en paralelo a los mismos bordes. Los extremos de los bigotes indican el recorrido de los datos, los bordes de

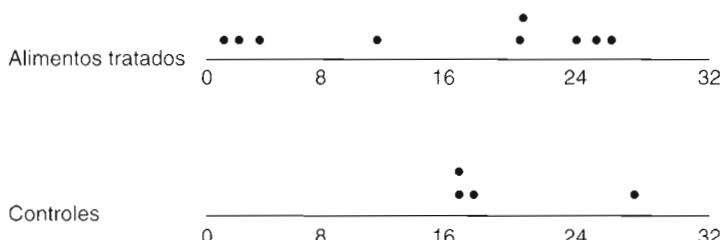


Figura 6.1. Diagrama de puntos del Ejemplo 6.2.2.

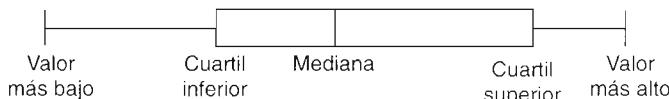


Figura 6.2. Gráfico de cajas y bigotes.

la caja a partir de los cuales salen fuera los trazos representan las cuartiles superior e inferior, y la línea que cruza la caja representa la mediana de los datos (Figura 6.2).

El gráfico de cajas y bigotes, acompañado de una escala numérica, es una representación gráfica del **resumen de los cinco números**, es decir, el conjunto de datos se describe por sus extremos, su cuartila inferior, la superior y su mediana. El gráfico muestra de un vistazo la variabilidad y la simetría de los datos.

Algunos programas de computadora resaltan la presentación de los datos identificando separadamente posibles valores anómalos. En dichos casos los datos anómalos se definen a menudo como los datos puntuales que son más bajos que la cuartila inferior, o que son más altos que la cuartila superior, en más de 1.5 veces el recorrido intercuartílico. Los bigotes entonces sólo se extienden a los límites superior e inferior o **vallas** y los datos anómalos se muestran como puntos por separado. (Estos refinamientos no se muestran en la Figura 6.2.)

EJEMPLO 6.2.3

Se encontró que los niveles de una proteína del plasma sanguíneo en 20 hombres y 20 mujeres ($\text{mg } 100 \text{ ml}^{-1}$) eran:

Hombres	3	2	1	4	3	2	9	13	11	3
	18	2	4	6	2	1	8	5	1	14
Mujeres	6	5	2	1	7	2	2	11	2	1
	1	3	11	3	2	3	2	1	4	8

¿Qué información puede obtenerse sobre las diferencias entre los niveles de esta proteína en hombres y mujeres?

Como en el ejemplo anterior, los datos presentados aportan muy poco, pero el uso de dos gráficos de cajas o del resumen de los cinco datos resulta muy reveladora. Los cinco datos resumidos son:

	Mín.	Cuartil inferior	Mediana	Cuartil superior	Máx.
Hombres	1	2	3.5	8.5	18
Mujeres	1	2	2.5	5.5	11

Se deja que el lector demuestre como simple ejercicio de dibujo que (a) las distribuciones resultan muy asimétricas tanto para hombres como para mujeres, de manera que los métodos estadísticos que suponen una distribución normal no son apropiados (como se ha visto esto es a menudo cierto cuando se realiza una única medida sobre un determinado número de sujetos *distintos*, en particular cuando son organismos vivos); (b) las concentra-

ciones de la mediana para hombres y mujeres son similares; y (c) el recorrido de valores es considerablemente más grande para los hombres que para las mujeres. Las conclusiones sugieren que se podría aplicar el contraste de Siegel-Tukey (véase la Sección 6.6) para ver si la mayor variación de los niveles de proteína entre hombres es significativa.

Tabla 6.1. Niveles de pp-DDT en 30 muestras de judías blancas (mg Kg^{-1}).

0.03	0.05	0.08	0.08	0.10	0.11	0.18	0.19	0.20	0.20
0.22	0.22	0.23	0.29	0.30	0.32	0.34	0.40	0.47	0.48
0.55	0.56	0.58	0.64	0.66	0.78	0.78	0.86	0.89	0.96

Aunque es habitual para los analistas manejar conjuntos de datos relativamente pequeños, existen ocasiones en que tienen que examinarse grandes conjuntos de medidas. Ejemplos de ello tienen lugar en áreas del análisis clínico y medioambiental, donde en muchos casos se producen grandes variaciones naturales en los niveles de analito. La Tabla 6.1 muestra, en orden numérico, los niveles de un pesticida en 30 muestras de judías blancas. Los valores individuales cubren el intervalo de 0.03 a 0.96 mg Kg^{-1} y podrían expresarse en forma de histograma. Esto mostraría que, por ejemplo, hay cuatro valores en el intervalo 0-0.095 mg Kg^{-1} , cuatro en el intervalo 0.095-0.195 mg Kg^{-1} , y así sucesivamente. Sin embargo, un método AID mejor utiliza un diagrama de **tallo-hojas**, como se muestra en la Figura 6.3.

La columna de números que aparece a la izquierda (el tallo) muestra el primer dígito significativo de cada medida, mientras que los números restantes en cada fila (las hojas) proporcionan el segundo dígito significativo. La longitud de las filas corresponde entonces a las longitudes de las barras del histograma correspondiente, pero la ventaja del diagrama tallo-hojas es que mantiene el valor de cada medida. Las hojas utilizan sólo números enteros, de manera que siempre debe darse alguna indicación de la escala utilizada. En este caso para proporcionar esta información se utiliza una clave. Así lo hace el paquete de software Minitab con los diagramas tallo-hojas.

En resumen, los métodos AID son sencillos, manejados con gran rapidez por las computadoras personales, y muy valiosos al indicar características de los datos que no son claras en la inspección inicial. Son de ayuda al decidir los contrastes de significación más adecuados u otros procedimientos estadísticos que se adoptan en tareas posteriores, sugiriendo incluso otras veces que la estadística no tiene otro papel que desempeñar hasta que no se obtengan más datos.

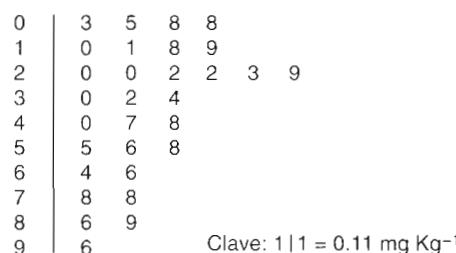


Figura 6.3. Diagrama tallo-hojas para los datos de la Tabla 6.1.

Por supuesto, pueden ampliarse al área de la calibración y otras técnicas de regresión: el tosco método de representar una gráfica de calibrado curva sugirió al final del capítulo anterior que se puede considerar como una aproximación AID. En los libros de Chatfield, y de Velleman y Hoaglin, listados en la bibliografía al final de este capítulo se describen numerosas técnicas.

6.3. El contraste de los signos

El contraste de los signos es uno de los métodos no paramétricos más simples y se empieza a estudiar a principios del siglo XVIII. Se puede utilizar de diferentes formas, la más simple se ilustra con el siguiente ejemplo.

EJEMPLO 6.3.1

Un preparado farmacéutico exige tener un contenido mediano del 8% de un constituyente concreto. En la práctica se encontraron lotes que contenían 7.3, 7.1, 7.9, 9.1, 8.0, 7.1, 6.8 y 7.3% del constituyente. ¿Concuerdan estos resultados con las exigencias del fabricante?

En el Capítulo 3 (Sección 3.2) se demostró que tales problemas se podrían abordar utilizando el contraste t después de calcular la media y la desviación estándar de los datos experimentales. Sin embargo, el contraste t supone que los datos se distribuyen normalmente. El contraste de signos prescinde de tal hipótesis y es mucho más fácil de realizar. Los principios básicos son los mismos que los utilizados en otros contrastes de significación: se establece una hipótesis nula, se determina la probabilidad de obtener los resultados experimentales, y se rechaza la hipótesis nula si esta probabilidad es menor que un cierto nivel crítico. Aquí la hipótesis nula consiste en que los datos procedan de una población con un valor de la mediana del constituyente del 8.0%. A cada valor experimental se le resta a su vez la mediana postulada, y se considera el signo de cada resultado. Se ignoran *por completo* aquellos valores que son iguales a la mediana postulada. En este caso, por tanto, se dispone de siete valores experimentales, seis de ellos son inferiores a la mediana y como resultado se les asigna individualmente el signo menos, y uno más grande que la mediana al que se le asigna el signo más. Para contrastar si esta preponderancia de signos menores es significativa se utiliza la ley binomial. Esta ley establece que la probabilidad de que aparezcan r signos menores entre n signos viene dada por

$$P(r) = {}^nC_r p^r q^{(n-r)} \quad (6.1)$$

donde nC_r indica el número de combinaciones de r elementos de un total de n elementos, p es la probabilidad de que aparezca un signo menor en uno de los resultados y q la probabilidad de que no aparezca un signo menor en uno de los resultados individuales, es decir, $q = 1 - p$. Puesto que la mediana se define de manera que la mitad de los resultados experimentales se sitúa por encima de ella, y la otra mitad por debajo, queda claro que si la mediana es 8.0 en este caso, entonces tanto p como q deberían ser 1/2. Utilizando la Ecuación (6.1) se obtiene que $P(6) = {}^7C_6 \times (1/2)^6 \times (1/2) = 7/128$. De manera similar se puede calcular que la probabilidad de obtener siete signos negativos, $P(7)$, es 1/128. En conjunto, por tanto, la probabilidad de obtener 6 o más signos negativos en nuestro experimento es 8/128. La cuestión sólo consiste en saber si los datos difieren significativamente de la mediana postulada. Por consiguiente, se debe realizar un contraste de dos colas (véase el Capítulo 3), es decir, se debe calcular la probabilidad de obtener seis o más signos idénticos (es decir, ≥ 6 signos más o ≥ 6 signos menores), cuando se toman al azar siete resultados. Esto es claramente $16/128 = 0.125$. Ya que este valor es > 0.05 , el nivel

de probabilidad crítico normalmente utilizado, la hipótesis nula, es decir, que los datos proceden de una población de mediana 8.0, no se puede rechazar. Igual que en el Capítulo 3, es importante observar que no se ha probado que los datos procedan de tal población; sólo se ha concluido que tal hipótesis no se puede rechazar.

Queda claro a partir de este ejemplo que el contraste de los signos conllevará el uso frecuente de la distribución binomial con $p = q = 1/2$. Esta aproximación es tan común en la estadística no paramétrica que la mayoría de las tablas estadísticas incluyen los datos necesarios, permitiendo que tales cálculos se realicen instantáneamente (véase Tabla A.9). Además, en muchas situaciones prácticas, un analista tomará siempre el mismo número de lecturas o muestras y podrá memorizar con facilidad las probabilidades correspondientes a los diversos signos + o -.

El contraste de los signos puede utilizarse también como alternativa no paramétrica al contraste t por parejas (Sección 3.4) para comparar dos grupos de resultados de las mismas muestras. Así, si se examinan diez muestras mediante cada uno de los dos métodos, A y B, se puede contrastar si los dos métodos proporcionan lecturas significativamente diferentes, calculando para cada muestra [(resultado obtenido por el método A) - (resultado obtenido por el método B)]. La hipótesis nula será que los dos métodos no proporcionan resultados significativamente diferentes; en la práctica esto significará de nuevo que la probabilidad de obtener un signo más (o un signo menos) para cada diferencia es 0.5. Ahora se puede comparar el número de signos más o menos realmente obtenidos con la probabilidad que se deriva de la Ecuación (6.1). En los ejercicios del final de este capítulo aparece un ejemplo de esta aplicación del contraste de signos.

Otro uso adicional del contraste de signos es indicar una tendencia. Esta aplicación se ilustra mediante el siguiente ejemplo.

EJEMPLO 6.3.2

El nivel de una hormona en el plasma sanguíneo de un paciente se mide durante diez días a la misma hora cada día. Los datos resultantes son:

Día	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Nivel, ng ml ⁻¹	5.8	7.3	4.9	6.1	5.5	5.5	6.0	4.9	6.0	5.0

¿Existe alguna evidencia que indique una tendencia en la concentración de hormona?

Utilizando métodos paramétricos, sería posible establecer un gráfico de regresión lineal de tales datos y probar si su pendiente difiere significativamente de cero (Capítulo 5). Tal aproximación supondría que los errores se distribuyen normalmente, y que cualquier tendencia que apareciese sería de tipo lineal. La aproximación no paramétrica es de nuevo más sencilla. Los datos se dividen en dos grupos iguales de la siguiente forma:

$$\begin{array}{ccccc} 5.8 & 7.3 & 4.9 & 6.1 & 5.5 \\ 5.5 & 6.0 & 4.9 & 6.0 & 5.0 \end{array}$$

(Si hay un número impar de medidas, se ignora la medida que ocupa la posición central en la secuencia del tiempo.) Al resultado del primer día se le resta el del sexto día, al del

segundo día el del séptimo, etc. Los signos de las diferencias entre los pares de valores en las cinco columnas se determinan de esta manera y resultan ser +, +, 0, +, +. Como es habitual, el valor 0 se ignora, y quedan cuatro resultados, todos ellos positivos. La probabilidad de obtener cuatro signos idénticos en cuatro intentos es claramente $2 \times (1/16) = 0.125$. (Obsérvese que de nuevo se utiliza un contraste de dos colas, ya que la tendencia en el nivel de hormona podría ser ascendente o descendente.) La hipótesis nula, que no existe ninguna tendencia en los resultados, no se puede rechazar de esta forma al nivel de probabilidad $P = 0.05$.

El precio que se paga por la extrema sencillez del contraste de los signos es la pérdida de cierta potencia estadística. El contraste no utiliza toda la información ofrecida por los datos, por esa razón no es nada sorprendente encontrar que proporcione también menos información discriminante. En secciones posteriores se discutirán métodos no paramétricos que utilizan tanto las magnitudes de los resultados individuales como sus signos.

6.4. El contraste de rachas de Wald-Wolfowitz

En algunos casos se puede estar interesado no sólo en si las observaciones generan signos positivos o negativos, sino también en si estos signos aparecen en una secuencia aleatoria. En la Sección 5.11, por ejemplo, se demostró que si una línea recta es un buen ajuste para un conjunto de puntos de calibración, los residuos positivos o negativos ocurrirán más o menos al azar. Por el contrario, al intentar ajustar una línea recta a un conjunto de puntos que de hecho se sitúan en una línea curva, resultarán sucesiones no aleatorias de signos positivos o negativos: podría considerarse, por ejemplo, una sucesión de signos +, seguida de una sucesión de signos -, y luego otra de signos +. Dichas secuencias se conocen técnicamente como **rachas** — el significado de la palabra aquí es el mismo que cuando alguien se refiere a «una racha de mala suerte», o cuando un deportista experimenta «una racha de buenos resultados». En el caso del ajuste de curvas, queda claro que una secuencia no aleatoria de signos + y - conducirá a un número más pequeño de rachas que una aleatoria.

El método de Wald-Wolfowitz contrasta si el número de rachas es suficientemente pequeño para que se rechace la hipótesis nula de una distribución aleatoria de los signos.

El número de rachas en los datos experimentales se compara con los números de la Tabla A.10, que se refieren al nivel de probabilidad $P = 0.05$. En esta tabla se entra utilizando valores apropiados de N , el número de signos +, y M , el número de signos -. Si el número de rachas experimental es *más pequeño* que el valor tabulado, entonces se puede rechazar la hipótesis nula.

EJEMPLO 6.4.1

Para ajustar una recta a un conjunto de 12 puntos de calibración se proponen ecuaciones de regresión lineal. Los signos de los residuos resultantes ordenados por valores de x crecientes son: + + + + - - - - + +. Comente si sería mejor intentar ajustar una curva a los puntos.

Aquí $M = N = 6$, y el número de rachas es tres. La Tabla A.10 muestra que, al nivel $P = 0.05$, el número de rachas si se rechaza la hipótesis nula debe ser < 4 . Así, en este caso se puede rechazar la hipótesis nula, y concluir que la sucesión de signos + y - no es aleatoria. Por tanto, resulta poco satisfactorio intentar ajustar una línea recta a los puntos experimentales, y en su lugar se recomienda una gráfica de regresión no lineal.

El contraste de Wald-Wolfowitz se puede utilizar con resultados cualesquiera que se puedan dividir o convertir en sólo dos categorías. Supóngase, por ejemplo, que se dispone de los tiempos de funcionamiento de 12 lámparas que se han ido colocando sucesivamente en un espectrómetro como fuentes de luz y que son 450, 420, 500, 405, 390, 370, 380, 395, 370, 370, 420 y 430 horas. El tiempo de vida mediano, en este caso el promedio de los tiempos de funcionamiento de las lámparas sexta y séptima cuando los datos están dispuestos en orden creciente, es de 400 horas. Si a todas aquellas lámparas con tiempos de funcionamiento menor que el mediano se les asigna un signo -, y a todas aquellas con tiempos de vida superior un signo +, entonces resulta la siguiente secuencia: + + + + - - - - + +. Ésta es la misma secuencia que la del ejemplo anterior de regresión, donde se demostró que era significativamente no aleatoria. En este caso, las variaciones relevantes que se producen en los tiempos de funcionamiento se pueden explicar en virtud de la procedencia de las lámparas de diferentes fabricantes o de diferentes lotes.

Se puede estar interesado en números inusualmente grandes de rachas cortas, así como en números inusualmente pequeños de rachas grandes. Si se presentan seis signos + y seis signos - en el orden: + - + - + - + - + - + -, se podría sospechar muy claramente que existe una secuencia no aleatoria. La Tabla A.10 muestra que, con $N = M = 6$, un total de 11 o 12 rachas indica que se debería de rechazar la hipótesis nula de orden aleatorio, y sospechar una cierta periodicidad en los datos.

6.5. El contraste de rangos y signos de Wilcoxon

La Sección 6.3 estudiaba el uso del contraste de los signos. Su interés reside en los supuestos mínimos que se hacen sobre los datos experimentales. La población de la que se toma la muestra no se supone que sea normal, ni incluso que sea simétrica. Por otra parte, una cierta desventaja del contraste de signos es que no utiliza toda la información disponible. Sólo es necesario saber si una medida individual es más grande o más pequeña que la mediana: la magnitud de esta desviación no se utiliza con ningún otro objetivo.

En muchos casos un analista tendrá razones para creer que sus medidas se distribuyen *simétricamente* pero no las suficientes para suponer una dis-

tribución normal. Este supuesto de datos simétricos, y la consecuencia de que la media y la mediana de la población sean iguales, permite desarrollar contrastes de significación más potentes. Wilcoxon contribuyó con importantes avances a este respecto, y su contraste de rangos y signos tiene varias aplicaciones. Su mecanismo se ilustra mucho mejor mediante un ejemplo.

EJEMPLO 6.5.1

Se encontró que los niveles de plomo en sangre (en pg ml^{-1}) de siete niños eran 104, 79, 98, 150, 87, 136 y 101. ¿Podrían proceder estos datos de una población que se supone simétrica, con una mediana/media de 95 pg ml^{-1} ?

La concentración de referencia (95) se resta de los valores de los datos dados

$$9, -16, 3, 55, -8, 41, 6$$

En primer lugar y prescindiendo del signo se ordenan estos valores de menor a mayor, resultando:

$$3, 6, 8, 9, 16, 41, 55$$

A continuación se incorporan sus signos (en la práctica estos dos pasos se harán de una vez):

$$3, 6, -8, 9, -16, 41, 55$$

Los números entonces se jerarquizan; en este proceso los números mantienen sus signos pero se les asignan números que indican su orden (o rango), así:

$$1, 2, -3, 4, -5, 6, 7$$

Los rangos positivos suman 20 y los negativos 8. La *menor* de estas cifras (8) se toma como el estadístico del contraste. Si los datos proceden de una población con una mediana de 95 las sumas de los rangos positivos y negativos se esperaría que fuesen aproximadamente iguales; si la mediana de la población fuese muy diferente de 95, la suma de los rangos positivos y negativos sería diferente. La probabilidad de que aparezca una suma concreta en la práctica viene dada por una serie de tablas (véase Tabla A.11). En este contraste se rechaza la hipótesis nula si el valor experimental es *menor o igual* que el valor tabulado, es decir, la situación opuesta de la observada en la mayoría de los contrastes de significación. En este ejemplo, el examen de la Tabla A.11 muestra que, para $n = 7$, el estadístico del contraste debe ser menor o igual que 2 para que la hipótesis nula —que los datos *procedan* de una población con una mediana (media) de 95— se pueda rechazar a un nivel de significación de $P = 0.05$. En este ejemplo, se debe aceptar la hipótesis nula. Como es habitual, se utiliza un contraste de dos colas, aunque quizás haya ocasiones en las que sea más adecuado un contraste de una cola.

Una ventaja importante del contraste de rangos y signos reside en que también se puede utilizar para datos por parejas, ya que se pueden transformar en el tipo de datos dados en el ejemplo anterior. De esta forma se puede utilizar el método de rangos y signos como una alternativa no paramétrica al contraste t por parejas (Sección 3.4).

EJEMPLO 6.5.2

La siguiente tabla proporciona el contenido de cinc determinado por dos métodos diferentes, para ocho muestras de alimentos.

Muestra	Valoración con AEDT	Espectrometría atómica
1	7.2	7.6
2	6.1	6.8
3	5.2	4.6
4	5.9	5.7
5	9.0	9.7
6	8.5	8.7
7	6.6	7.0
8	4.4	4.7

¿Hay evidencia de diferencia sistemática entre los resultados de los dos métodos? La aproximación a este tipo de problemas es muy simple. Si no hay diferencia sistemática entre los dos métodos, entonces es de esperar que las diferencias entre los resultados para cada muestra, es decir, [(resultado de la valoración – resultado de la espectrometría)], se distribuirán simétricamente en torno a cero. Las diferencias con signo son:

$$-0.4, -0.7, 0.6, 0.2, -0.7, -0.2, -0.4, -0.3$$

Colocando estos valores en orden numérico sin tener en cuenta el signo, se tiene:

$$-0.2, 0.2, -0.3, -0.4, -0.4, 0.6, -0.7, -0.7$$

La asignación de rangos de estos resultados presentan una dificultad, la de las *posiciones empatadas*. Hay dos resultados con el valor numérico 0.2, dos con un valor numérico de 0.4, y dos con un valor numérico de 0.7. ¿Cómo se calculan los rangos? Este problema se resuelve asignando posiciones promedio a los valores empatados, con signos adecuados. Por tanto, los rangos resultantes para estos datos es:

$$-1.5, 1.5, -3, -4.5, -4.5, 6, -7.5, -7.5$$

En estos casos, merece la pena verificar si se ha hecho correctamente la ordenación calculando la suma de todos los valores sin tener en cuenta el signo. La suma de los números anteriores es 36, que es la misma que la suma de los ocho primeros números enteros y, por tanto la ordenación es correcta. La suma de los valores positivos es 7.5, y la de los negativos 28.5. Por tanto, el estadístico del contraste toma el valor 7.5. Al mirar la Tabla A.11 se observa que, para $n = 8$, el estadístico del contraste tiene que ser ≤ 3 para que se pueda rechazar la hipótesis nula al nivel de significación $P = 0.05$. En este caso, tiene que aceptarse la hipótesis nula: no hay evidencia de que la mediana (media) de la diferencia sea distinta de cero, y por tanto no hay ninguna evidencia sobre la existencia de diferencia sistemática entre los dos métodos analíticos.

De estos ejemplos se desprende que el contraste de rangos y signos es un método sencillo y valioso. Su limitación principal radica en que no se puede aplicar a conjuntos de datos muy pequeños: para un contraste de dos colas al nivel de significación $P = 0.05$, n tiene que ser al menos 6.

6.6. Contrastes simples para dos muestras independientes

El contraste de rangos con signos que se acaba de exponer es valioso para estudiar conjuntos individuales de medidas y para conjuntos de datos por

parejas que se puedan reducir con facilidad a conjuntos individuales. Sin embargo, en muchos casos es necesario comparar dos muestras independientes que no se puedan reducir a un conjunto único de datos. Dichas muestras pueden contener diferentes números de medidas. Para abordar estos problemas se han propuesto varios contrastes no paramétricos. El más sencillo de comprender y realizar es el **contraste *U* de Mann-Whitney**, cuya ejecución se entiende mejor con un ejemplo.

EJEMPLO 6.6.1

Se analizó una muestra de material fotográfico de desecho mediante espectrometría de absorción atómica para conocer el nivel de plata, proporcionando para cinco determinaciones sucesivas los valores $9.8, 10.2, 10.7, 9.5$ y $10.5 \mu\text{g ml}^{-1}$. Después de recibir un tratamiento químico, se volvieron a analizar por el mismo procedimiento. Los resultados obtenidos para las cinco determinaciones sucesivas fueron los siguientes: $7.7, 9.7, 8.0, 9.9$ y $9.0 \mu\text{g ml}^{-1}$. ¿Hay alguna evidencia de que el tratamiento traiga consigo una reducción significativa en los niveles de plata?

El procedimiento de Mann-Whitney implica encontrar el número de resultados en una muestra que supera a cada uno de los valores en la otra muestra.

En este ejemplo, se tiene la impresión de que la concentración de plata de la solución tratada debería ser, si acaso, menor que la de la solución no tratada (es decir, un contraste de una cola es adecuado). De esta forma se espera encontrar que el número de casos en los que una muestra tratada tiene un valor más alto que una muestra no tratada debería ser pequeño. A continuación se lista cada uno de los valores de la muestra no tratada, y se anota en cada caso el número de casos en que los valores para la muestra tratada son mayores.

Muestra no tratada	Valores más grandes en la muestra tratada	Número de valores más grandes
9.8	9.9	1
10.2	—	0
10.7	—	0
9.5	9.7, 9.9	2
10.5	—	0

La suma total de la tercera columna, en este caso 3, es el estadístico del contraste. La Tabla A.12 se utiliza para el contraste-*U* de Mann-Whitney: de nuevo los valores críticos que conducen al rechazo de la hipótesis nula son aquellos que son menores o iguales a los números tabulados. La tabla muestra que para un contraste de una cola al nivel $P = 0.05$, con cinco medidas de cada muestra, el estadístico del contraste debe ser ≤ 4 si tiene que rechazarse la hipótesis nula. En este ejemplo se puede, por tanto, rechazar H_0 : el tratamiento del material que contiene plata reduce probablemente el nivel del metal.

Cuando, como en este ejemplo, los números de medidas son pequeños, el cálculo se puede hacer mentalmente, lo que es una gran ventaja. Si se presentan empates (valores idénticos) en el contraste *U*, a cada empate se le asigna un valor de 0.5 en el cálculo de *U*.

Otro método conveniente que tiene algunas características interesantes es el **contraste rápido de Tukey**. Su uso puede mostrarse utilizando el mismo ejemplo.

El contraste rápido de Tukey incluye calcular el número total de medidas en las dos muestras independientes que no se incluyen en la región de solapamiento de los dos conjuntos de datos.

EJEMPLO 6.6.2

Aplicar el contraste rápido de Tukey a los datos del ejemplo anterior.

Se puede considerar que el contraste consta de dos pasos, aun cuando sólo se disponga de pocos resultados; esos dos pasos se agrupan sin lugar a duda en un único cálculo mental rápido. En el primer paso, se cuenta el número de resultados en el segundo conjunto de datos que son *inferiores a todos los valores del primer conjunto*. Si no existe ningún valor con esa condición el contraste se da por terminado, y se acepta la hipótesis nula de medianas iguales. En el ejemplo que se está analizando, hay tres de esos valores, las lecturas 7.7, 8.0 y 9.0, inferiores al menor valor del primer conjunto (9.5). El contraste continúa con el segundo paso, en el que se cuentan todos los valores del primer conjunto de datos que son *superiores a todos los valores del segundo grupo*. De nuevo, si no existen esos valores el contraste se termina y se acepta la hipótesis nula. Aquí, hay de nuevo tres valores, 10.2, 10.5 y 10.7, que superan al mayor valor del segundo conjunto de datos (9.7). (Esta aproximación contrasta con la del contraste U de Mann-Whitney que identifica los valores *grandes* en la muestra que se esperaría tener la mediana *más pequeña*.) Globalmente, por tanto, hay seis valores que no están dentro del intervalo donde se solapan las dos muestras. Este total (a menudo designado por T) es el estadístico del contraste. El aspecto más interesante y destacado del contraste rápido de Tukey es que normalmente no son necesarias tablas estadísticas para interpretar este resultado. Con tal que en cada muestra el número de lecturas no exceda de 20, y que los dos tamaños muestrales no difieran mucho (condiciones que probablemente serán válidas en muchos experimentos realizados en laboratorios analíticos), los valores críticos de T para un nivel de significación concreto son *independientes del tamaño muestral*. Para un contraste de una cola se puede rechazar la hipótesis nula si $T \geq 6$ (para $P = 0.05$), ≥ 7 ($P = 0.025$), ≥ 10 ($P = 0.005$) y ≥ 14 ($P = 0.0005$). (Para un contraste de dos colas los valores críticos T para $P = 0.05$, 0.025, 0.005 y 0.0005 son 7, 8, 11 y 15, respectivamente.) En el ejemplo que estamos analizando, el valor de T es suficientemente grande para ser significativo a un $P = 0.05$ en un contraste de una cola. Se puede por tanto rechazar la hipótesis nula y concluir que el tratamiento reduce significativamente el contenido de plata del material fotográfico de desecho, lo que concuerda con el contraste U de Mann-Whitney.

Si se producen empates en el contraste rápido de Tukey (es decir, si uno de estos valores en la muestra hipotéticamente más grande es igual al mayor valor de la otra muestra, o si uno de los valores en la muestra «más pequeña» es igual al menor valor de la muestra «más grande»), entonces cada empate se cuenta como 0.5 en el cálculo del valor de T .

Un contraste que está lejanamente relacionado con el método de Mann-Whitney ha sido desarrollado por Siegel y Tukey para comparar la variabilidad de dos conjuntos de resultados, ofreciendo una alternativa genuinamente no paramétrica al contraste- F (véase la Sección 3.6). Los datos procedentes de los dos conjuntos de medidas se juntan y se ordenan por orden creciente del valor numérico, subrayando uno de los conjuntos de resultados para diferenciarlo del otro. Luego se ordenan de una forma ingeniosa: a la

medida más pequeña se le asigna la posición 1, a la medida más grande se le asigna la posición 2, la medida inmediatamente anterior a la más grande lleva la posición 3, la medida inmediatamente posterior a la más pequeña lleva la posición 4, la medida posterior a las dos más pequeñas lleva la posición 5 y así sucesivamente. (Si el número total de medidas es impar se ignora la medida central). Esta *ordenación alterna por pares* produce una situación en la que se asignan posiciones bajas a los resultados bajos y altos, y los resultados centrales reciben posiciones altas. Si un conjunto de datos tiene una variabilidad significativamente mayor que el otro, su suma de rangos debería ser mucho menor, mientras que si la dispersión en los dos conjuntos de resultados es similar, sus sumas de rangos serán también similares. La aplicación de este método utilizando los datos del Ejemplo 6.6.1 proporciona las posiciones siguientes:

Datos	<u>7.7</u>	<u>8.0</u>	<u>9.0</u>	9.5	<u>9.7</u>	9.8	<u>9.9</u>	10.2	10.5	10.7
Posiciones	<u>1</u>	<u>4</u>	<u>5</u>	8	<u>9</u>	10	<u>7</u>	6	3	2

Ahora se calculan dos *sumas de rangos*. La suma de las posiciones correspondientes a valores subrayados (muestras tratadas que contienen plata) es 26 y la suma de rangos de las muestras no tratadas es de 29. En este ejemplo los tamaños muestrales para los dos conjuntos de mediciones son iguales, aunque éste no será siempre el caso. Esto se puede permitir mediante la resta del número $n_i(n_i + 1)/2$ de la suma de rangos, donde los valores de n_i son los tamaños muestrales. En nuestro ejemplo, $n_i = 5$ en cada caso, de manera que debe restarse 15 de cada suma de rangos. El valor menor de los dos resultados es el utilizado en el contraste, y los valores críticos son los mismos que los utilizados en el contraste de Mann-Whitney (Tabla A.12). El estadístico del contraste obtenido en este ejemplo es $(26 - 15) = 11$, mucho mayor que el valor crítico de 2 (para un contraste de dos colas a un nivel de $P = 0.05$). Se acepta la hipótesis nula, en este caso que la variabilidad de los resultados sea similar para los dos conjuntos de datos.

El contraste de Siegel-Tukey junta los datos de las dos muestras con identificación de cada uno, los ordena, aplica la ordenación alterna por pares para generar suma de rangos y teniendo en cuenta los tamaños muestrales, proporciona un estadístico del contraste que puede ser evaluado utilizando las mismas tablas que para el contraste U de Mann-Whitney.

Si se analiza un poco este contraste útil se verá que su validez queda reducida cuando los valores promedios de los dos conjuntos de datos son sustancialmente diferentes. En el caso extremo en que todas las medidas en una muestra sean inferiores a todas las medidas en la otra muestra, las sumas de rangos serán siempre muy parecidas, cualquiera que sea la variabilidad de las dos muestras. Si se teme que este efecto es apreciable, se pueden estimar las medias de las dos muestras, y añadir la diferencia entre las medias a cada una de las medidas del conjunto inferior. Esto eliminará cualquier efecto de-

bido a medias diferentes, mientras que se mantendrá la dispersión de la muestra. Un ejemplo de aplicación de este contraste se proporciona al final del capítulo.

6.7. Contrastes no paramétricos para más de dos muestras

La sección anterior describió contrastes en los que dos muestras estadísticas se compararon entre sí. Sin embargo, los métodos no paramétricos no se encuentran limitados a dos conjuntos de datos: existen métodos que comparan tres o más muestras. Antes de que se expongan dos de estos contrastes, es importante mencionar un peligro que se debe evitar en todas las comparaciones de muchas muestras. Al examinar (por ejemplo) tres conjuntos de medidas para comprobar que sus medianas son o no similares, existe la tentación de comparar únicamente las dos muestras con las medianas mayor y menor. Esta aproximación simplista puede conducir a resultados engañosos. Cuando se toman varias muestras de la *misma población original*, hay casos en que las medianas menor y mayor, consideradas aisladamente, resultan ser significativamente diferentes. Esto es debido a que, a medida que aumenta el número de muestras, la diferencia entre las medianas menor y mayor tenderá a aumentar. La aproximación adecuada es realizar primero un contraste que considere *todas las muestras juntas*: si se demuestra que no todas pueden proceder de la misma población, entonces se pueden realizar contrastes separados para intentar identificar donde se producen las diferencias significativas. Aquí se describen, en términos generales, los principios de dos contrastes no paramétricos para tres o más conjuntos de datos: el lector que desee más información puede consultar los libros mencionados en la bibliografía.

El contraste de Kruskal-Wallis se aplica a la comparación de las medianas de tres o más muestras no emparejadas. (Una generalización del análisis de plata descrito en la sección anterior, con tres muestras de material fotográfico de desecho, una sin tratamiento y las otras dos tratadas por métodos diferentes, proporcionaría un ejemplo donde sería útil el contraste.) Los resultados de tres (o más) muestras se agrupan y se disponen por orden de rangos. Se determina el total de posiciones de los datos de las diferentes muestras: se promedian las posiciones empataidas con el mismo valor, como se expuso anteriormente, aunque se aconseja un procedimiento de corrección especial si hay numerosos empates. Si cada muestra tiene el mismo número de medidas (esto no es una condición del contraste), y si las muestras tienen medianas similares, entonces serán similares la suma total de posiciones en cada muestra, y la suma de sus cuadrados sería mínima. Por ejemplo, si tenemos tres muestras, cada una con cinco medidas, las posiciones irán de la 1 a la 15 y la suma de todas ellas será 120. Si se supone que las tres medianas son muy similares, y que la suma de las posiciones de cada muestra son por tanto iguales a 40. La suma de los cuadrados de estos totales será $40^2 + 40^2 + 40^2 = 4800$. Si las medianas son significativamente diferentes, entonces la suma de las posiciones totales de rangos serán también diferentes unas de otras: supongamos 20, 40 y 60. La suma de los cuadrados de dichos totales será siempre mayor que 4800 ($20^2 + 40^2 + 60^2 = 5600$).

Se puede determinar la probabilidad de obtener cualquier suma de cuadrados utilizando el estadístico **chi-cuadrado** (véase el Capítulo 3). Si uno se refiere a las muestras por A, B, C, etc. (k muestras en total), con un número de medidas n_A , n_B , n_C , etc., y la suma de las posiciones por R_A , R_B , R_C , etc., entonces el valor de χ^2 viene dado por:

$$\chi^2 = \frac{12}{N^2 + N} \left\{ \frac{R_A^2}{n_A} + \frac{R_B^2}{n_B} + \frac{R_C^2}{n_C} + \dots \right\} - 3(N + 1) \quad (6.2)$$

donde $N = n_A + n_B + n_C$, etc. Este valor χ^2 se compara como de costumbre con los valores tabulados. Estos últimos son idénticos a los valores usuales cuando el número total de medidas es mayor que ca. 15, no obstante se utilizan tablas especiales para números de medidas más pequeños. El número de grados de libertad es $k - 1$. Los valores experimentales de χ^2 que superen los valores tabulados permiten rechazar la hipótesis nula (que las medianas de las muestras no sean significativamente diferentes). Como ya se ha indicado, en esta última situación se pueden realizar otros contrastes sobre pares individuales de muestras: de nuevo, los textos que se citan en la bibliografía aportan más detalles.

Ya se ha visto (Secciones 3.4 y 6.3) que cuando se comparan resultados *por parejas*, se pueden utilizar contrastes estadísticos especiales. Estos contrastes se basan en el principio de que cuando dos métodos experimentales que no difieren significativamente se aplican a las mismas muestras químicas, las diferencias entre pares de resultados emparejados similares deberían estar cerca de cero. Este principio se puede extender a tres o más conjuntos de resultados emparejados similares utilizando un contraste no paramétrico ideado en 1937 por Friedman. En química analítica, la principal aplicación del **contraste de Friedman** es la comparación de tres (o más) métodos experimentales aplicados a las mismas muestras químicas. El contraste utiliza de nuevo el estadístico χ^2 , en este caso para calcular las diferencias que aparecen entre los valores de la suma total de posiciones por distintos métodos. El siguiente ejemplo aclara la simplicidad de la aproximación.

EJEMPLO 6.7.1

Se determinaron los niveles de un pesticida en cuatro extractos de planta por (A) cromatografía líquida de alta resolución, (B) cromatografía gas-líquido, y (C) radioinmunoensayo. Se obtuvieron los siguientes resultados (todos en ng ml⁻¹):

Muestra	Método		
	A	B	C
1	4.7	5.8	5.7
2	7.7	7.7	8.5
3	9.0	9.9	9.5
4	2.3	2.0	2.9

¿Difieren significativamente los niveles de pesticida proporcionados por los tres métodos?

Este problema se resuelve sustituyendo los valores de la tabla por sus rangos. En cada fila se asigna la posición 1 al método que da el resultado menor, y la posición 3 a la que da el resultado mayor:

Muestra	Método		
	A	B	C
1	1	3	2
2	1.5	1.5	3
3	1	3	2
4	2	1	3

Es necesario el uso de un valor promedio en el caso de posiciones empatadas en la muestra 2 (véase la Sección 6.5). Las sumas de los rangos para los tres métodos A, B y C son 5.5, 8.5 y 10, respectivamente. Estas sumas totalizarían $nk(k+1)/2$ donde k es el número de métodos (aquí tres) y n el número de muestras (aquí cuatro). Se elevan al cuadrado las sumas de los rangos dando 30.25, 72.25 y 100, respectivamente, y estos cuadrados se suman para dar el estadístico R que en este caso es 202.5. El valor experimental de χ^2 se calcula entonces a partir de:

$$\chi^2 = \frac{12R}{nk(k+1)} - 3nk(k+1) \quad (6.3)$$

que resulta en este caso 2.625. Al nivel $P = 0.05$, y con $k = 3$, los valores críticos de χ^2 son 6.0, 6.5, 6.4, 7.0, 7.1 y 6.2 para $n = 3, 4, 5, 6, 7$ y 8, respectivamente. (Muchos conjuntos de tablas estadísticas proporcionan más datos, y cuando $k > 7$, se pueden utilizar las tablas usuales de χ^2 con $k-1$ grados de libertad.) En este caso, el valor experimental de χ^2 es mucho menor que el valor crítico, y se debe aceptar la hipótesis nula: los tres métodos dan resultados que no difieren significativamente.

El contraste de Friedman podría utilizarse alternativamente en forma inversa: suponiendo que los tres métodos analíticos dan resultados indistinguibles, se podría utilizar el mismo procedimiento para contrastar diferencias entre los cuatro extractos de plantas. En este caso k y n son 4 y 3, respectivamente, pudiendo verificar el lector que R es 270 y que el valor resultante de χ^2 es 9.0. Este valor es mayor que el crítico para $P = 0.05$, $n = 3$, $k = 4$, que es 7.4. Así en esta segunda aplicación del contraste se puede rechazar la hipótesis nula, y afirmar que las cuatro muestras difieren en sus niveles de pesticida. Existen otros contrastes que permiten comparaciones entre pares de muestras seleccionados.

El contraste de Friedman es evidentemente mucho más simple de realizar en la práctica que el método ANOVA (Secciones 3.8-3.10), aunque no tiene la capacidad de este último de estudiar los efectos de interacción (véase el Capítulo 7).

6.8. Correlación ordinal

Los métodos de ordenación se pueden aplicar también a los problemas de correlación. El método del coeficiente de correlación ordinal de Spearman que se va a describir en esta sección es la aplicación más antigua de los métodos de ordenación en estadística, propuesta en 1904. Como otros métodos

de ordenación, es especialmente ventajoso cuando alguno de los dos conjuntos de observaciones en estudio se puede expresar sólo en términos de un orden de posición en lugar de expresarse en unidades cuantitativas. Así, en el siguiente ejemplo, se investiga la posible correlación entre las concentraciones de dióxido de azufre en un conjunto de vinos de mesa y la calidad de su sabor. La calidad del sabor de un vino no se expresa fácilmente en términos cuantitativos, pero es relativamente sencillo ordenarlos mediante un panel de catadores de vino según sus preferencias. Ejemplos de otros atributos que se ordenan con facilidad pero que no se cuantifican fácilmente, incluyen la condición de animales experimentales, la calidad del espacio dedicado al laboratorio, y la eficiencia del personal del laboratorio. Se debería también recordar que si uno o los dos conjuntos de datos bajo estudio fueran cuantitativos, entonces (en contraste con los métodos descritos en el Capítulo 5) no es necesario que se distribuyan normalmente. Como otros estadísticos no paramétricos, el coeficiente de correlación ordinal de Spearman, r_s , es fácil de determinar e interpretar. Esto se muestra en el siguiente ejemplo.

EJEMPLO 6.8.1

Un panel de expertos ordena según sus preferencias siete vinos de mesa diferentes. Al mejor se le asigna la posición 1, al siguiente la 2, y así sucesivamente. El contenido de dióxido de azufre de cada vino (en partes por millón) se determina mediante análisis por inyección en flujo con detección colormétrica. Utilizar los resultados siguientes para determinar si hay relación entre la calidad percibida en el vino y el contenido de dióxido de azufre.

Vino	A	B	C	D	E	F	G
Rango según sabor	1	2	3	4	5	6	7
Contenido de SO ₂	0.9	1.8	1.7	2.9	3.5	3.3	4.7

El primer paso en los cálculos es convertir los valores absolutos de las concentraciones de SO₂ en rangos (si aparecen posiciones empatadas se promedian como se describió en las secciones anteriores):

Vino	A	B	C	D	E	F	G
Rango según sabor	1	2	3	4	5	6	7
Contenido de SO ₂	1	3	2	4	6	5	7

A continuación, se calculan las diferencias, d_i^s entre las dos ordenaciones. Éstas son 0, -1, 1, 0, -1, 1, 0. El coeficiente de correlación, r_s , viene dado por:

$$r_s = 1 - \frac{6 \sum_i d_i^s}{n(n^2 - 1)} \quad (6.4)$$

En este ejemplo, r_s es $1 - (24/336)$, es decir, 0.929. La teoría demuestra que, como el coeficiente de correlación usual, r_s puede variar entre -1 y +1. Cuando $n = 7$, r_s tiene que superar 0.786 si se va a rechazar la hipótesis nula de ausencia de correlación al nivel de significación $P = 0.05$ (Tabla A.13). Aquí, podemos concluir que hay una correlación entre el contenido de SO₂ de los vinos y su calidad percibida. Teniendo en cuenta la forma en que se definen las posiciones, hay una fuerte evidencia de que los niveles de SO₂ más altos originan vinos con peor paladar!

Otro método de correlación ordinal, debido a Kendall, se introdujo en 1938. Pretende tener algunas ventajas teóricas sobre el método de Spearman, pero es más complicado de calcular (especialmente cuando aparecen posiciones empata das) y no se emplea con tanta frecuencia.

6.9. Metodos de regresión no paramétricos

Al analizar detalladamente los métodos de regresión lineales en el capítulo anterior, se hizo hincapié en la hipótesis de distribución normal para los errores en la dirección del eje y , y quedó clara la complejidad de alguno de los métodos de cálculo. Esta complejidad se supera en gran parte al utilizar calculadoras o computadoras, y existen también algunos métodos de aproximación rápidos para ajustar líneas rectas a datos experimentales (véase la Bibliografía). Persiste aún el interés en aproximaciones no paramétricas al problema de ajustar una línea recta a un conjunto de puntos. De los métodos disponibles, quizás el más simple es el **método incompleto de Theil**, denominado de esta forma para distinguirlo de otro procedimiento más completo desarrollado por el mismo autor (el método «completo»).

El **método de Theil** determina la pendiente de la recta de regresión como la mediana de las pendientes calculadas a partir de pares de puntos seleccionados: la ordenada en el origen de la recta es la mediana de los valores de las ordenadas en el origen calculadas a partir de la pendiente y coordenadas de los puntos individuales.

El método supone que un conjunto de puntos (x_1, y_1) , (x_2, y_2) , etc., va a ser ajustado por una recta de la forma $y = a + bx$. El primer paso en los cálculos consiste en ordenar los puntos en orden creciente de x . Si el número de puntos, x , es impar, el punto medio, es decir, el valor mediano de x se elimina: el cálculo siempre exige un número par de puntos. Para cualquier pareja de puntos (x_i, y_i) , (x_j, y_j) donde $x_j > x_i$, la pendiente, b_{ij} , de la línea que une los puntos se puede calcular a partir de:

$$b_{ij} = \frac{(y_j - y_i)}{(x_j - x_i)} \quad (6.5)$$

Se calculan las pendientes b_{ij} para el par de puntos (x_1, y_1) y el punto inmediatamente posterior al valor mediano de la x , para (x_2, y_2) y el segundo punto posterior al valor mediano de la x , y así sucesivamente hasta que se calcule la pendiente para la línea que une el punto inmediatamente anterior a la mediana de x con el último punto. De esta forma, si los datos originales contenían 11 puntos, se estimarían 5 pendientes (el punto mediano se ha omitido). Para ocho puntos originales existirían cuatro estimaciones de la pendiente, y así sucesivamente. Estas estimaciones de la pendiente se disponen en orden ascendente y su mediana es la pendiente estimada de la línea recta. Con este valor de b , los valores a_i de la ordenada en el origen se estiman para cada punto con la ayuda de la ecuación $y = a + bx$. De nuevo las estimaciones de a se disponen en orden ascendente y el valor mediano se elige como la mejor

estimación de la ordenada en el origen de la recta. El método se ilustra con el siguiente ejemplo.

EJEMPLO 6.9.1

Se han obtenido los resultados siguientes en un experimento de calibración para la determinación absorciométrica de un complejo metálico tipo quelato:

Concentración, $\mu\text{g ml}^{-1}$	0	10	20	30	40	50	60	70
Absorbancia	0.04	0.23	0.39	0.59	0.84	0.86	1.24	1.42

Utilizar el método de Theil para estimar la pendiente y la ordenada en el origen de la recta que mejor se ajuste a esos puntos.

En este caso el cálculo se simplifica al tener un número par de observaciones, y debido a que los valores de la x (es decir, las concentraciones) aparecen a intervalos regulares y están ya ordenados. Por tanto, se calculan las estimaciones de la pendiente de los cuatro pares de puntos:

$$b_{15} = (0.84 - 0.04)/40 = 0.0200$$

$$b_{26} = (0.86 - 0.23)/40 = 0.0158$$

$$b_{37} = (1.24 - 0.39)/40 = 0.0212$$

$$b_{48} = (1.42 - 0.59)/40 = 0.0208$$

Ahora se ordenan estas estimaciones de la pendiente, resultando 0.0158, 0.0200, 0.0208, 0.0212. La estimación mediana de la pendiente es, por lo tanto, el promedio entre 0.0200 y 0.0208, es decir, 0.0204. Ahora se utiliza este valor de b para estimar la ordenada en el origen, a . Los ocho valores a_i individuales son:

$$a_1 = 0.04 - (0.0204 \times 0) = +0.040$$

$$a_2 = 0.23 - (0.0204 \times 10) = +0.026$$

$$a_3 = 0.39 - (0.0204 \times 20) = -0.018$$

$$a_4 = 0.59 - (0.0204 \times 30) = -0.022$$

$$a_5 = 0.84 - (0.0204 \times 40) = +0.024$$

$$a_6 = 0.86 - (0.0204 \times 50) = -0.160$$

$$a_7 = 1.24 - (0.0204 \times 60) = +0.016$$

$$a_8 = 1.42 - (0.0204 \times 70) = -0.008$$

Ordenando estas estimaciones de la ordenada en el origen, se tiene $-0.160, -0.022, -0.018, -0.008, +0.016, +0.024, +0.026, +0.040$. La estimación mediana es $+0.004$. Por tanto, la mejor línea recta viene dada por $y = 0.0204x + 0.004$. La recta de «mínimos cuadrados», calculada por los métodos del Capítulo 5, es $y = 0.0195x + 0.019$. La Figura 6.4 muestra que ambas rectas son muy similares cuando se representan. Sin embargo, el método de Theil tiene tres ventajas distintas: no supone que todos los errores están en la dirección de y ; no supone que los errores en la dirección de la x o de la y se distribuyan normalmente; y no se ve afectado por la presencia de resultados anómalos. Este último aspecto queda claramente ilustrado por el punto (50, 0.86) de este ejemplo. Tiene toda la apariencia de ser una observación anómala, pero su valor no afecta, en absoluto, al cálculo de Theil, ya que ni b_{26} ni a_6 afectan directamente a las estimaciones medianas de la pendiente y ordenada en el origen, respectivamente. Sin embargo, en el cálculo de mínimos cuadrados, este punto anómalo tiene tanto peso como los otros. Esto se refleja en los resultados calculados; la línea de mínimos cuadrados pasa más cerca de la observación anómala que la línea no paramétrica.

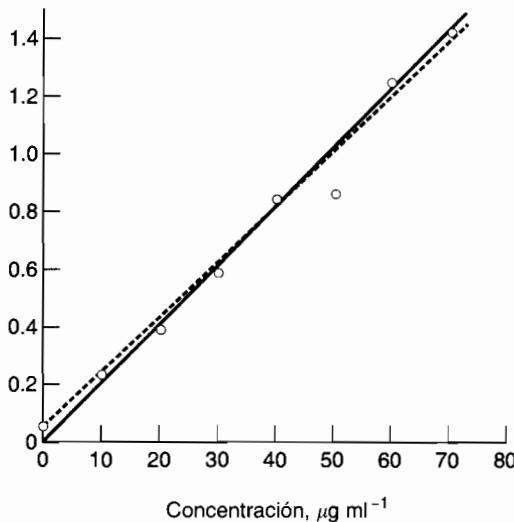


Figura 6.4. Gráfico de la recta de calibrado, calculada por el método de Theil (—) y por el método de mínimos cuadrados del Capítulo 5 (- - -).

A diferencia de la mayoría de los métodos no paramétricos, el método de Theil conlleva cálculos tediosos, de manera que en la práctica se necesita un programa de computadora tal como el de una macro de hoja de cálculo. Téngase en cuenta que también existen otros métodos no paramétricos para ajustar curvas, si bien éstos escapan a los objetivos de este libro.

6.10. Métodos robustos

Al principio de este capítulo se puso de manifiesto que hay una evidencia creciente en las ciencias experimentales sobre la aparición de distribuciones del error *con colas acusadas*. Éstas se pueden considerar como distribuciones normales (Gaussianas) a las que se añade observaciones anómalas que surgen de los errores groseros, o como el resultado de la superposición de varias distribuciones normales con medias similares pero varianzas diferentes. En cualquier caso, y en otras situaciones donde el alejamiento de la distribución normal no sea grande, puede parecer una pérdida de información utilizar métodos no paramétricos, que no hacen ninguna hipótesis en absoluto sobre la distribución subyacente del error. Una aproximación mejor sería desarrollar métodos que no excluyan por completo a resultados sospechosos, pero que *reduzcan el peso* asignado a dichos datos. Ésta es la filosofía que subyace en los métodos robustos que se van a resumir en esta sección y en la siguiente: dichos métodos se pueden aplicar a medidas repetidas y también a datos de regresión/calibración. Se han desarrollado muchos métodos robustos, así que aquí sólo es posible un breve resumen de este campo en desarrollo: se remite al lector a la Bibliografía para fuentes de material adicional.

En todos estos métodos surge un problema obvio. Si se pretende asignar menos peso a la significación de algunas de nuestras medidas, se necesitan

uno o más criterios sobre los que basar dichas decisiones, pero no se pueden utilizar dichos criterios a menos que inicialmente se consideren todos los datos. Este problema se resuelve utilizando métodos *iterativos*: se estima o adivina un valor o valores de inicio para alguna propiedad de nuestros datos, se utilizan dichas estimaciones iniciales con nuestro criterio de ponderación para llegar a una segunda estimación, entonces se vuelven a aplicar nuestros criterios, etc. Dichos métodos son sólo practicables si se dispone de una computadora, aunque debe ponerse de manifiesto que muchos programas estadísticos para computadoras no incluyen procedimientos para métodos robustos.

Hay algunos métodos robustos muy simples que no exigen dichas iteraciones, porque eliminan arbitrariamente, en lugar de ponderar por defecto, una proporción de los datos. Por ejemplo, la **media recortada** para cualquier conjunto de datos se encuentra omitiendo r observaciones de la parte superior e inferior del recorrido de los datos. Este principio se puede aplicar al conjunto de datos de alguno de los ejemplos de la Sección 3.7. Este ejemplo consideró siete medidas replicadas de ion nitrito en agua de río (mg l^{-1}):

$$0.380, \quad 0.400, \quad 0.401, \quad 0.403, \quad 0.410, \quad 0.411, \quad 0.413$$

Por razones de conveniencia los datos se han ordenado en orden numérico: esto enfatiza que la cuestión obvia es si la medida 0.380 es una observación anómala. Si se retiene el número 0.380, la media de las siete medidas es 0.4026, y su desviación estándar es 0.0112. Si, como sugiere el contraste de Dixon (Sección 3.7), se puede rechazar el resultado 0.380 (a $P = 0.05$), entonces la media y la desviación estándar resultan ser 0.4063 y 0.0056, respectivamente. Esto confirma, como se observó en la Sección 3.3, que la media y (especialmente) la desviación estándar son vulnerables a la aparición de observaciones anómalas. Supóngase ahora la omisión de la medida más pequeña (0.380) y la más grande (0.413) de las anteriores, y volvemos a calcular la media. Esto proporciona un número técnicamente conocido como la media recortada al 14.28 %, donde ese porcentaje se calcula como $100r/n$ siendo r el número de medidas de la parte superior e inferior del recorrido de los datos que se han omitido de los n resultados. Esta media recortada es 0.4050, claramente más próxima a la segunda de las dos medias calculadas antes, es decir, la media determinada después del rechazo de la observación anómala. La robustez de esta media recortada es obvia: habría sido la misma, *cualesquiera* que hubieran sido los valores que tomaran el resultado más grande y el más pequeño. Pero esto también ilustra la crudeza del método de la media recortada. ¿Por qué se debería omitir el valor 0.413, excepto por razones de simetría? ¿Es aceptable calcular un estadístico que ignore *por completo* los resultados sospechosos (uno o varios)? ¿Qué porcentaje de los datos se debería eliminar mediante un recorte? (En la práctica es habitual un recorte del 10 al 25 %.) Procedimientos que son superiores a métodos de recorte agresivos son analizados a continuación.

Una estimación robusta simple de la desviación estándar la proporciona el recorrido intercuartílico (RI, véase la Sección 6.2). Para una distribución del error normal, el RI es aproximadamente 1.35σ . Esta relación permite conocer una estimación de la desviación estándar que no se ve afectada por

cualquier valor que tomen la medida más grande o más pequeña. Desgraciadamente, el RI no es un concepto muy significativo para conjuntos de datos muy pequeños. Además, y algo sorprendente, hay varias convenciones diferentes para su cálculo. Para muestras grandes el convenio elegido produce pocas diferencias, pero para muestras pequeñas las diferencias en los valores de RI calculados son grandes, de manera que el RI tiene poca aplicación en química analítica.

Una aproximación más lógica a la estimación robusta se puede basar en el concepto de una **función de distancia**. Supóngase que se tiene una serie de n resultados x_1, \dots, x_n y se desea estimar μ , la media de los resultados «fiables». Normalmente nuestra estimación de μ , indicada por el símbolo $\hat{\mu}$, se obtiene minimizando la suma de cuadrados (SC) $\sum_i (x_i - \mu)^2$. (Esta suma de términos *cuadráticos* es la fuente de la sensibilidad de la media a los errores grandes.) La expresión $(x - \mu)^2$ se considera como una función de distancia, ya que mide la distancia de un punto a μ . Una función de distancia más útil en el presente contexto es $|x - \mu|$. Un método ampliamente utilizado para contrastar medidas para datos con ponderaciones por defecto es comparar $|x - \mu|$ con $c\sigma$ donde c se suele tomar como 1.5 y σ^2 es una estimación robusta de la varianza. Primero se considera la estimación de σ^2 , y luego se analiza el procedimiento de ponderaciones por defecto.

La estimación robusta de la varianza se puede deducir de un estadístico relacionado con la **desviación absoluta respecto a la mediana** (DAM), que se calcula a partir de

$$\text{DAM} = \text{mediana}[|x_i - \text{mediana}(x_i)|] \quad (6.6)$$

DAM es un estadístico extremadamente útil: un método basto para evaluar observaciones extremas (x_0) es rechazarlas si $||x_0 - \text{mediana}(x_i)||/\text{DAM} > 5$. Se puede demostrar que $\text{DAM}/0.6745$ es una estimación robusta útil de σ (llamada $\hat{\sigma}$) que se puede emplear inalterada durante las estimaciones iterativas de $\hat{\mu}$.

EJEMPLO 6.10.1

Estas técnicas se pueden aplicar a las medidas analizadas antes (0.380, 0.400, 0.401, 0.403, 0.410, 0.411, 0.413). Primero es necesario calcular el DAM. La mediana de estos números es 0.403 (es decir, el cuarto de los siete valores ordenados), de manera que las desviaciones individuales (sin tener en cuenta los signos) son 0.023, 0.003, 0.002, 0, 0.007, 0.008, 0.010, y 0.023. El DAM es la mediana de estos siete números, es decir, 0.007, así $\hat{\sigma} = \text{DAM}/0.6745 = 0.007/0.6745 = 0.0104$ y $1.5\hat{\sigma}$ es 0.0156.

Ahora estamos en posición para empezar las estimaciones iterativas de $\hat{\mu}$. Este proceso comienza tomando cualquier estimación razonable para $\hat{\mu}$ y calculando los valores $|x - \hat{\mu}|$ para cada medida. En este ejemplo, supóngase que el valor inicial de $\hat{\mu}$ es la mediana, 0.403. Como se ha visto, las desviaciones individuales de este valor son (en orden numérico, pero despreciando sus signos) 0, 0.002, 0.003, 0.007, 0.008, 0.010 y 0.023. En la primera iteración para $\hat{\mu}$ las medidas originales son retenidas si estas desviaciones a la mediana son ≤ 0.0156 . Esto se aplica a todas las desviaciones listadas excepto a la última. En el caso de que la desviación sea > 0.0156 , el valor original en cuestión se cambia para llegar a ser $\hat{\mu} - \hat{\sigma}$ o $\hat{\mu} + \hat{\sigma}$, dependiendo de si originalmente estaba por debajo o

por encima de la mediana, respectivamente. En el presente ejemplo, el valor 0.380 que proporciona a la desviación grande de 0.023, se ha cambiado a $\hat{\mu} - \hat{\sigma}$, es decir, $0.403 - 0.0156 = 0.3874$.

Por tanto, ahora hay un nuevo conjunto de datos, con la medida 0.380 en el conjunto original habiéndose sustituido por 0.3874. Este nuevo conjunto de números se llama un conjunto de *pseudo-valores* (\tilde{x}), y el cálculo se repite utilizando este nuevo conjunto. El primer paso es calcular la media de los nuevos valores (nótese que aunque el valor inicial de $\hat{\mu}$ se pueda basar en la media o en la mediana o en cualquier otra estimación sensible, los pasos subsiguientes en la iteración siempre utilizan la media): esto proporciona el resultado 0.4036. Las desviaciones individuales de esta nueva estimación de $\hat{\mu}$ son, en orden numérico y sin signos, 0.0006, 0.0026, 0.0036, 0.0064, 0.0074, 0.0094 y 0.0162. Como se esperaba (puesto que sólo una medida era sospechosa en el primer lugar) sólo la última de estas desviaciones supera 0.0156, lo que significa que de nuevo la medida en cuestión es cambiada, de 0.3874 a $(0.4036 - 0.0156) = 0.3880$. El siguiente conjunto de siete valores es por tanto el mismo que el conjunto previo, excepto que el valor 0.3874 se sustituye por 0.3880. La nueva media (valor $\hat{\mu}$) es por tanto 0.4037. Esto resulta tan próximo al valor previo que es claramente innecesario llevar a cabo cualquier iteración posterior: se concluye que una estimación robusta de $\hat{\mu}$ es 0.4037, digamos 0.404. Este ejemplo es el típico en el que hay una convergencia muy rápida de los valores iterados de $\hat{\mu}$.

Este cálculo merece varios comentarios. El primero es que, como tantos procedimientos iterativos, ¡es mucho más tedioso de describir y explicar que de realizar! El segundo punto a observar es que en este ejemplo se ha estimado μ haciendo algunas hipótesis (robustas y razonables) sobre σ . Hay también métodos donde lo opuesto es verdadero, es decir, se obtiene una estimación robusta de la precisión si se conoce un valor medio, e incluso más métodos en los que ambas estimaciones robustas se calculan iterativamente cada una por su lado. Por último conviene recalcar de nuevo que estos métodos robustos no tienen las preocupaciones y ambigüedades de los contrastes de observaciones anómalas. En el ejemplo que se acaba de examinar, el contraste de Dixon (Sección 3.7) sugirió que el valor 0.380 podría ser rechazado como una observación anómala ($P = 0.05$), pero el simple contraste basado en DAM (ver lo anterior) sugirió que no sería así, ya que $\|x_0 - \text{mediana}(x_i)\|/\text{DAM} = \|0.380 - 0.403\|/0.007 = 3.3$ se encuentra muy por debajo del valor crítico aproximado de 5. Tales cuestiones y contradicciones desaparecen en la estadística robusta, donde las observaciones anómalas ni son completamente rechazadas ni aceptadas sin cambios, sino que son aceptadas en una forma modificada o con una ponderación por defecto.

Otra aproximación robusta a los estadísticos de medidas repetidas (y a la regresión) viene proporcionada por la Winsorización. Esto se puede considerar como una variante del método descrito antes. Las medidas que dan las desviaciones más grande y más pequeña de la mediana (o, en regresión, los residuos más grandes) se reducen en importancia moviéndolos de manera que sus desviaciones/residuos sean iguales al siguiente valor más grande (o quizás el tercero más grande) positivo o negativo, respectivamente. La arbitrariedad del procedimiento resulta inferior que en los métodos de recorte, ya que el cambio en el valor de desviación/residuo para cualquier punto «sensible» es pequeño. Dada la disponibilidad de los programas requeridos, éstas y otras técnicas robustas de regresión es seguro que encon-

trarán un uso creciente en química analítica en el futuro. Un área donde su uso ya se ha recomendado es en las comparaciones entre laboratorios (véase el Capítulo 4).

6.11. Métodos de regresión robustos

En las Secciones 5.13 y 6.19 se han expuesto los problemas causados por las posibles observaciones anómalas en los cálculos de regresión, y se ha analizado la problemática del rechazo utilizando un criterio especificado y aproximaciones no paramétricas. Queda claro que las aproximaciones robustas serán valiosas en la estadística de la regresión así como en la estadística de las medidas repetidas, y de hecho, entre los científicos analíticos se ha incrementado el interés por los métodos de regresión robustos. Un resumen de dos de las muchas aproximaciones desarrolladas tiene que ser suficiente.

En la Sección 6.9 se observó que una única medida sospechosa tiene un efecto considerable sobre los valores a y b calculados para una línea recta mediante el método de «mínimos cuadrados» normal, que busca minimizar la suma de los cuadrados de los residuos de y . Esto es debido a que, como en el ejemplo de la determinación de nitrito expuesto anteriormente, el uso de los términos cuadráticos da lugar a que dichos datos sospechosos tengan una gran influencia sobre la suma de cuadrados. Una alternativa clara y obvia consiste en minimizar la media de los residuos cuadráticos, que se encontrará afectada en menor extensión por los residuos grandes. Este método de la **mínima mediana de cuadrados** (MMC) es muy robusto: su *punto de ruptura*, es decir, la proporción de observaciones extremas entre los datos que se pueden tolerar es el 50 %, el valor máximo teórico. (Si la proporción de resultados «sospechosos» supera al 50 % claramente llega a ser imposible distinguirlos de los resultados «fiables».) Las simulaciones utilizando conjuntos de datos, con observaciones extremas incluidas de forma deliberada, muestran un mejor funcionamiento que el obtenido con el método de Theil. El método MMC también funciona bien en casos como el analizado en la Sección 5.11, donde se desea caracterizar la parte de una línea recta de un conjunto de datos que es lineal cerca del origen, pero no lineal a valores más grandes de x e y . Su desventaja es que conlleva un cálculo iterativo que converge bastante lentamente: esto es, se exige a menudo muchas iteraciones antes de que los valores a y b estimados lleguen a ser más o menos constantes.

Otros métodos de regresión robustos se están utilizando crecientemente. El método de **mínimos cuadrados iterativamente reponderados** empieza con una estimación directa por mínimos cuadrados de los parámetros de una recta. Entonces se asignan diferentes pesos a los residuos resultantes, usualmente a través de una aproximación de **doble peso**. Los puntos con residuos muy grandes (por ejemplo, al menos seis veces más grandes que el valor residual mediano) son rechazados, es decir, se le asigna peso cero, mientras que a los puntos con los residuos más pequeños se les asignan pesos que crecen a medida que los residuos se hacen cada vez más pequeños. Se aplica entonces al nuevo conjunto de datos un cálculo de mínimos cuadrados *pon-*

derados (Sección 5.10), y estos pasos se repiten hasta que los valores para a y b convergen a niveles estables. En este método la convergencia suele ser usualmente rápida.

6.12. El contraste de la bondad del ajuste de Kolmogorov

En el Capítulo 3 se discutió el problema estadístico de la «bondad del ajuste». Este problema surge cuando se necesita contrastar la procedencia de una muestra de observaciones de una distribución concreta, como puede ser una distribución normal. El contraste chi-cuadrado es muy adecuado para este propósito cuando los datos se presentan como frecuencias, si bien el contraste no se utiliza normalmente para menos de 50 observaciones, y es difícil de usar con datos continuos. En esta sección se describe el método de Kolmogorov, muy apropiado para contrastar la bondad del ajuste con datos continuos. La ampliación de este método puede aplicarse a la comparación de dos muestras, aunque no se describirá con detalle. Estos métodos modificados fueron descubiertos inicialmente por Smirnov, y al conjunto de estos contrastes se les conoce a menudo como el método de **Kolmogorov-Smirnov**.

El principio de la aproximación de Kolmogorov es muy simple. Compara la curva de frecuencias acumuladas de los datos que se desea contrastar con la curva de frecuencias acumuladas de la distribución propuesta como hipótesis. El concepto de curva de frecuencias acumuladas, y su aplicación asociada con el papel de probabilidad normal, se discutió en el Capítulo 3. Cuando se han trazado las curvas experimental e hipotética, el estadístico del contraste se obtiene encontrando la máxima diferencia vertical entre ambas, y comparando, como de costumbre, este valor con un conjunto de valores tabulados. Si los datos experimentales distan sustancialmente de la distribución esperada, las dos curvas se encontrarán suficientemente separadas en alguna parte del diagrama de frecuencias acumuladas. Sin embargo, si los datos están en gran consonancia con la distribución esperada, las dos curvas nunca se separarán mucho una de otra. En la práctica, el método de Kolmogorov tiene dos aplicaciones habituales (los contrastes de aleatoriedad y los contrastes de normalidad de la distribución) y el funcionamiento de la manera de proceder con este método para la última aplicación se ilustrará con un ejemplo sencillo.

Cuando se utiliza el método de Kolmogorov para contrastar la normalidad de la distribución, lo primero que hay que hacer es transformar los datos originales, que podrían tomar cualquier valor según la media y la desviación estándar, en la **variable normal estándar**, z . Esto se hace utilizando la ecuación:

$$z = \frac{x - \mu}{\sigma} \quad (6.7)$$

en la que cada término tiene su significado habitual. La función de distribución acumulada se proporciona en la Tabla A.1. La Ecuación (6.7) se puede utilizar de dos formas. En algunos casos es necesario contrastar la proceden-

cia de un conjunto de datos de una distribución normal *concreta*, de media y desviación estándar *dada*. En tal caso, se transforman directamente los datos experimentales mediante la Ecuación (6.7) y se realiza el contraste de Kolmogorov. Con más frecuencia, simplemente será necesario contrastar la procedencia de los datos de cualquier distribución normal. En este caso, primero se estiman la media y la desviación estándar, por los métodos simples del Capítulo 2; a continuación se transforman mediante la Ecuación (6.7); y por último se aplica el método de Kolmogorov. Estos dos tipos de contraste se analizan en el ejemplo siguiente.

EJEMPLO 6.12.1

Se realizaron ocho valoraciones, con los resultados 25.13, 25.02, 25.11, 25.07, 25.03, 24.97, 25.14 y 25.09 ml. ¿Podrían dichos resultados proceder de (a) una población normal con media 25.00 ml y desviación estándar 0.05 ml, y (b) de cualquier otra población normal?

(a) En este caso, el primer paso es transformar los valores de x en valores z utilizando la relación $z = (x - 25.00)/0.05$, obtenida de la Ecuación (6.7). Los ocho resultados se transforman en 2.6, 0.4, 2.2, 1.4, 0.6, -0.6, 2.8 y 1.8. Estos valores z se ordenan y representan gráficamente como una función de distribución con un salto de 0.125 (es decir, 1/8) en cada paso. (Obsérvese que éste no es el mismo cálculo que se ilustró en la Sección 3.12). La comparación con la función hipotética de z (Tabla A.1) indica (Figura 6.5) que la diferencia máxima es 0.545 en un valor de z ligeramente inferior a 1.4. Para contrastar este valor se utiliza la Tabla A.14. La tabla muestra que, para $n = 8$ y $P = 0.05$, el valor crítico es 0.288, de modo que se puede rechazar la hipótesis nula: los resultados de las valoraciones probablemente no proceden de una población normal con media 25.00 y desviación estándar 0.05 ml.

(b) En este caso, se estiman la media y la desviación estándar [utilizando las Ecuaciones (2.1) y (2.2)] para 25.07 y 0.059 ml, respectivamente, y el último resultado tiene dos cifras significativas correctas. Los valores de z vienen ahora dados por $z = (x - 25.07)/0.059$, es decir, por 1.02, -0.85, 0.68, 0, -0.68, -1.69, 1.19, 0.34. El diagrama de frecuencias acumuladas difiere de la curva hipotética a lo sumo en 0.125 (en varios puntos). Esta diferencia es mucho más pequeña que el valor crítico de 0.288. Entonces se puede aceptar la hipótesis nula de que los datos proceden de una población normal con media 25.07 y desviación estándar 0.059.

6.13. Conclusiones

Los contrastes robustos y no paramétricos descritos en este capítulo son sólo una pequeña parte de todos los existentes. Los ejemplos expuestos ponen de manifiesto tanto su potencia como su debilidad. En muchos casos su rapidez y conveniencia aventajan, en cierta medida, a los métodos convencionales, y los contrastes no paramétricos no conllevan la hipótesis de una distribución normal. Se adaptan perfectamente al examen preliminar de un pequeño número de medidas, y a realizar cálculos con rapidez (a menudo sin necesidad de tablas) mientras el analista está en el banco de pruebas o en la fábrica. Se pueden utilizar también cuando se estudian tres o más muestras (Sección 6.7). La **potencia** (es decir, la probabilidad de que una hipótesis nula falsa sea rechazada: véase la Sección 3.13) de un método no paramétrico puede

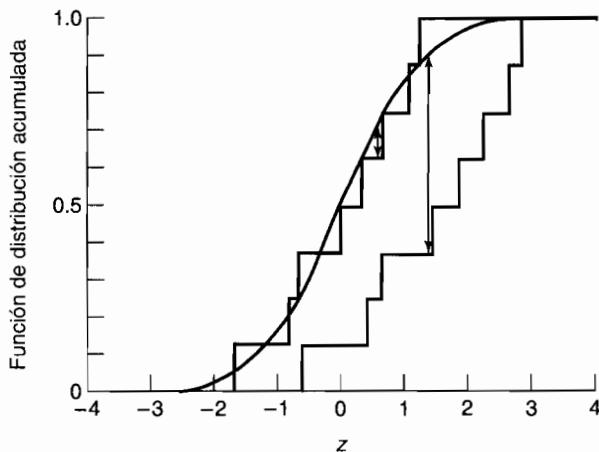


Figura 6.5. El empleo del método de Kolmogorov para contrastar la distribución normal. Las diferencias máximas entre la curva de frecuencias acumuladas teórica y las dos distribuciones contrastadas vienen reflejadas por las flechas (\leftrightarrow).

ser menor que la del correspondiente contraste paramétrico, pero la diferencia es realmente de escasa importancia. Por ejemplo, se han hecho muchas comparaciones de la potencialidad en condiciones diferentes (es decir, distribuciones poblacionales y tamaños muestrales diferentes) del contraste U de Mann-Whitney y del contraste t . El primero opera muy bien en casi todas las circunstancias y es sólo marginalmente menos potente que el contraste t aun cuando los datos procedan de una población normalmente distribuida. Muchos programas para computadoras personales incluyen en la actualidad varios contrastes no paramétricos. Dichos programas permiten evaluar un conjunto concreto de datos con rapidez por dos o más métodos, y parece claro que el interés por estos métodos aumenta en vez de disminuir.

Los métodos robustos normalmente no son tan fáciles de usar, a la vista de la necesidad de cálculos iterativos, pero representan la mejor manera de abordar uno de los problemas más difíciles y comunes de los analistas prácticos, la existencia de resultados sospechosos y anómalos.

Existe una amplia variedad de contrastes de significación (paramétricos, no paramétricos y robustos), y a menudo en la práctica la tarea más difícil es decidir qué método es el más adecuado para un problema concreto. El diagrama del Apéndice 1 está diseñado para tomar tales decisiones con más facilidad, aunque inevitablemente no puedan cubrir todas las posibles situaciones prácticas.

Bibliografía

- Chatfield, C. 1988. *Problem Solving: A Statistician's Guide*. Chapman and Hall, London. (Un libro eminentemente práctico y útil que contiene muchos consejos valiosos: extensos apéndices resumen el conocimiento teórico.)
- Conover, W. J. 1971. *Practical Non-parametric Statistics*. Wiley, New York. (Probablemente el mejor texto general de métodos no paramétricos.)

- Daniel, W. 1978. *Applied Non-parametric Statistics*. Houghton Mifflin, Boston. (Un texto extenso que abarca un amplio rango de métodos no paramétricos con bastante profundidad. Contiene muchos ejemplos.)
- Rousseeuw, P. J. and Leroy, A. M. 1987. *Robust Regresion and Outlier Detection*. John Wiley, New York. (Un libro excelente y de fácil lectura con muchos ejemplos ilustrativos.)
- Sprent, P. 1981. *Quick Statistics*. Penguin Books, London. (Una introducción excelente a los métodos no paramétricos, con explicaciones claras y sin matemáticas, con muchos ejemplos y ejercicios.)
- Sprent, P. 1989. *Applied Non-parametric Statistical Methods*. Chapman and Hall, London. (Cubre a nivel práctico un amplio número de contrastes de significación, con una buena discusión de las técnicas robustas.)
- Velleman, P. F. and Hoaling, D. C. 1991. *Applications, Basics and Computing of Exploratory Data Analysis*. Duxbury Press, Boston. (Una introducción excelente a AID/AED: se incluyen programas de computadora en BASIC y FORTRAN.)

Ejercicios

- Se realizó una valoración cuatro veces, con los resultados: 9.84, 9.91, 9.89, 10.20 ml. Calcular y comentar la mediana y la media de estos resultados.
- El nivel de azufre en lotes de un fuel de avión exigido por el fabricante tiene que estar normalmente distribuido con un valor mediano del 0.10 %. Lotes sucesivos poseen concentraciones de azufre de 0.09, 0.12, 0.10, 0.11, 0.08, 0.17, 0.12, 0.14 y 0.11 %. Use el contraste de signos y el contraste de rangos con signos para verificar las exigencias del fabricante.
- Las concentraciones ($\text{g } 100 \text{ ml}^{-1}$) de inmunoglobulina G en suero sanguíneo de diez donantes se miden por inmunodifusión radial (IDR) y por electroinmunodifusión (EID), con los siguientes resultados:

Donante	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Resultados IDR	1.3	1.5	0.7	0.9	1.0	1.1	0.8	1.8	0.4	1.3
Resultados EID	1.1	1.6	0.5	0.8	0.8	1.0	0.7	1.4	0.4	0.9

¿Son significativamente diferentes los resultados de los dos métodos?

- Se comprueba que diez cámaras de grafito utilizadas sucesivamente en un espectrofotómetro de absorción atómica electrotérmico duraban para 24, 26, 30, 21, 19, 17, 23, 22, 25 y 25 muestras. Contrastar la aleatoriedad de los tiempos de funcionamiento de estas cámaras.
- Los niveles de alcohol encontrados para cinco voluntarios, después de beber tres jarras de cerveza cada uno, fueron de 104, 79, 88, 120 y 90 $\text{mg } 100 \text{ ml}^{-1}$. Otra serie adicional de voluntarios bebieron tres jarras de

cerveza rubia cada uno, y se encontró que los niveles de alcohol en sangre eran de 68, 86, 71, 79, 91 y 66 mg 100 ml^{-1} . Usar el contraste rápido de Tukey o el contraste U de Mann-Whitney para investigar si al beber cerveza rubia se produce un nivel de alcohol en la sangre inferior que al beber la misma cantidad de otro tipo de cerveza. Utilizar el método de Siegel-Tukey para verificar si las variabilidades en estos dos conjuntos de resultados difieren significativamente.

6. Un laboratorio de química universitario posee siete espectrómetros de absorción atómica (A-G). Las encuestas sobre la opinión de los estudiantes de investigación y del personal académico demuestran que el orden de preferencia de los estudiantes en relación a estos instrumentos es B, G, A, D, C, F, E, y que el orden de preferencia del personal académico es G, D, B, E, A, C, F. ¿Se encuentran correlacionadas las opiniones de los estudiantes y del personal académico?
7. Use el método de Theil para calcular la línea de regresión para los datos del Ejercicio 1 del Capítulo 5.
8. Tomando los datos de inmunodifusión radial del anterior Ejercicio 3, emplee el método de Kolmogorov para contrastar la hipótesis de que los niveles de inmunoglobulina G del suero están distribuidos normalmente, con una media de $1.0\text{ g }100\text{ ml}^{-1}$ y una desviación estándar de $0.2\text{ g }100\text{ ml}^{-1}$. ¿Se ajustará mejor cualquier otra distribución normal a los datos?
9. Los niveles de níquel en tres muestras de aceite crudo se determinaron por espectrometría de absorción atómica (seis replicaciones en cada caso), con los siguientes resultados:

Muestra	Medidas (Ni, ppm)					
1	14.2	16.8	15.9	19.1	15.5	16.0
2	14.5	20.0	17.7	18.0	15.4	16.1
3	18.3	20.1	16.9	17.7	17.9	19.3

Usar el método de Kruskal-Wallis para decidir si los niveles de níquel en los tres aceites difieren significativamente.

Diseño de experimentos y optimización

7.1. Introducción

A lo largo de este libro se ha constatado que los métodos estadísticos resultan de innegable valor no solo en el análisis de datos experimentales, sino también en el diseño y optimización de experimentos. Así, muchos experimentos fallan en su propósito debido a que no se planifican y diseñan adecuadamente en un principio, y en ese caso incluso los mejores procedimientos de análisis de datos no pueden compensar la total falta de previsión y planificación. Este capítulo introduce los conceptos básicos del diseño experimental y la optimización, resumiendo los métodos que se deberían considerar y utilizar cuidadosamente antes de que comience cualquier procedimiento experimental nuevo.

En el Capítulo 3 se introdujo la idea de un **factor**, es decir, cualquier aspecto de las condiciones experimentales que influye en el resultado obtenido en un experimento. La Sección 3.9 mostró el ejemplo de la dependencia existente entre una señal de fluorescencia y las condiciones de almacenamiento de una solución. El factor de interés era las condiciones de almacenamiento; en este caso se denomina **factor controlado** ya que el experimentador podría alterarlo a su voluntad. En otro ejemplo de la Sección 4.3, se contrastaba la pureza de la sal de diferentes partes de un tonel, el factor de interés, es decir, la parte del tonel de la que se tomaba la sal se elegía al azar. Por esta razón este factor se denomina **factor incontrolado**. En estos dos ejemplos los factores son **cualitativos** ya que sus posibles «valores» no se pueden ordenar numéricamente. Un factor cuyos valores posibles se **pueden** ordenar numéricamente, por ejemplo, la temperatura, se denomina **cuantitativo**. Los diferentes valores que toma un factor se denominan **niveles** o **tratamientos**.

En los Capítulos 3 y 4 se presentaron estos experimentos como una introducción a los cálculos que aparecen en el análisis de la varianza (ANOVA). No se mencionaron otras condiciones que podrían haber introducido otros

factores que afectasen a los resultados, de manera que no pudieran considerarse otros diseños experimentales. En realidad el experimento de fluorescencia puede modificarse por otros factores tales como la temperatura ambiente, el uso del mismo u otro fluorímetro para cada medida, y las fechas, horarios y personal encargado de realizar las medidas. Cualesquiera de estos factores podría haber influido en los resultados que muestra el comportamiento observado e invalidar la conclusión extraída sobre el efecto de las condiciones de almacenamiento. Queda claro que si se quiere que las conclusiones extraídas de un experimento sean las correctas hay que identificar de antemano los diferentes factores que influyen en el resultado y, si es posible, controlarlos.

El término **diseño experimental** se utiliza habitualmente para describir las etapas de:

1. Identificación de los factores que pueden influir en el resultado de un experimento.
2. Diseño del experimento de modo que se minimicen los efectos de los factores incontrolados.
3. Utilización del análisis estadístico para separar y evaluar los efectos de los diversos factores implicados.

Puesto que son muchos los factores que afectan a los resultados experimentales, pueden necesitarse diseños experimentales ciertamente complejos. La elección de los mejores niveles prácticos de estos factores, es decir, la optimización de las condiciones experimentales, requerirá un estudio detallado. Estos métodos, junto con otros métodos multivariantes que se estudian en el próximo capítulo, se encuadran bajo el término general de **quimiométricos**.

7.2. Aleatorización y formación de bloques

Uno de los supuestos de los cálculos ANOVA de un factor (y otros) es que la variación incontrolada es verdaderamente aleatoria. No obstante, en aquellas medidas realizadas durante un período de tiempo, la variación en un factor incontrolado como la presión, la temperatura, el deterioro de aparatos, etc., puede producir una tendencia en los resultados. El resultado es que los errores en un método debidos a la variación incontrolada no son durante mucho tiempo aleatorios, ya que los errores en medidas sucesivas están *correlacionados*. Esto puede conducir a un error sistemático en los resultados. Afortunadamente este problema se supera sin más que utilizando la técnica de **aleatorización**. Supóngase que se desea comparar el efecto de un único factor, la concentración de ácido perclórico en solución acuosa, a tres niveles diferentes o tratamientos (0.1 M, 0.5 M y 1.0 M) sobre la intensidad de fluorescencia de la quinina (ampliamente utilizada como patrón primario en espectrometría de fluorescencia). Supóngase que se realizan cuatro medidas repetidas de la intensidad para cada uno de los tratamientos, es decir, en cada disolución de ácido perclórico. En lugar de realizar cuatro medidas en ácido 0.1 M, cuatro en ácido 0.5 M y cuatro en ácido 1 M, se realizan 12

medidas en orden aleatorio mediante una tabla de números aleatorios. Para ello se asigna un número a cada una de las repeticiones de cada tratamiento como sigue:

	0.1 M				0.5 M				1 M			
	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12

(Obsérvese que cada número tiene el mismo número de dígitos.) Después de entrar en una tabla de números aleatorios (véase la Tabla A.8) en un punto arbitrario, se leen los pares de dígitos, descartándose los pares de la forma 00, 13-99 y también las repeticiones. Supóngase que como resultado de lo anterior aparece la sucesión 02, 10, 04, 03, 11, 01, 12, 06, 08, 07, 09, 05. Entonces, utilizando los números anteriormente asignados, se realizarían las medidas a los niveles de ácido diferentes en el siguiente orden: 0.1 M, 1 M, 0.1 M, 0.1 M, 1 M, 0.1 M, 0.5 M, 0.5 M, 0.5 M, 1 M, 0.5 M. Este orden aleatorio de medidas asegura que los errores en cada nivel de ácido debidos a factores incontrolados sean aleatorios.

Un inconveniente de la aleatorización completa es que no aprovecha las posibles subdivisiones naturales en el material experimental. Supóngase, por ejemplo, que no se pudiesen llevar a cabo las 12 medidas del ejemplo anterior en el mismo día y se tuvieran que obtener en cuatro días consecutivos. Utilizando el mismo orden de antes resultaría:

Día 1	0.1 M,	1 M,	0.1 M
Día 2	0.1 M,	1 M,	0.1 M
Día 3	1 M,	0.5 M,	0.5 M
Día 4	0.5 M,	1 M,	0.5 M

Con este diseño las medidas que utilizan ácido perclórico 0.1 M, como disolvente de la quinina se llevan a cabo (por azar) los dos primeros días, mientras que las que utilizan perclórico 0.5 M, se realizan los últimos dos días. Si se tuviese la impresión que existe diferencia entre los niveles de estos dos ácidos, no sería posible decir si esta diferencia es auténtica o si está provocada por el efecto de utilizar los dos tratamientos en pares de días diferentes. Un diseño mejor es aquel en el que cada tratamiento se utiliza una vez al día, y el orden de los tratamientos se aleatoriza cada día. Por ejemplo:

Día 1	0.1 M,	1 M,	0.5 M
Día 2	0.1 M,	0.5 M,	1 M
Día 3	1 M,	0.5 M,	0.1 M
Día 4	1 M,	0.1 M,	0.5 M

Un grupo de resultados que contenga una medida para cada tratamiento (aquí, las medidas de cada día) recibe el nombre de **bloque**, de manera que el diseño se llama de **bloques aleatorizados**. Otros diseños que no utilizan en absoluto la aleatorización se consideran en la Sección 7.4.

7.3. ANOVA de dos factores

Cuando a los resultados de un experimento le pueden afectar dos factores, se tiene que emplear el Análisis de la Varianza de dos factores para estudiar sus

Tabla 7.1. Forma general de la tabla del ANOVA de dos factores.

	Tratamiento						Totales de fila
	1	2	...	j	...	c	
Bloque 1	x_{11}	x_{12}	...	x_{1j}	...	x_{1c}	T_1
Bloque 2	x_{21}	x_{22}	...	x_{2j}	...	x_{2c}	T_2
.
Bloque i	x_{i1}	x_{i2}	...	x_{ij}	...	x_{ic}	T_i
.
Bloque r	x_{r1}	x_{r2}		x_{rj}		x_{rc}	T_r
Totales de columna	$T_{.1}$	$T_{.2}$		$T_{.j}$		$T_{.c}$	$T = \text{gran total}$

efectos. En la Tabla 7.1 se muestra la forma del esquema general de este método.

Cada una de las N medidas, x_{ij} , se clasifica bajo los términos **niveles de los tratamientos y bloques**: el último término se introdujo en la sección anterior. (Estos términos han derivado del uso original del ANOVA por R. A. Fisher en experimentos agrícolas, sin embargo son generalmente adoptados.) Utilizando los símbolos convencionales existen c niveles de tratamientos y r bloques, por tanto, $N = cr$. También aparecen los totales por fila (T_1 , T_2 , etc.) y por columna ($T_{.1}$, $T_{.2}$, etc.) y el total global, T , que se necesitan en los cálculos. (Los puntos en los totales de columnas y filas recuerdan que en cada caso sólo se estudia uno de los dos factores.) En la Tabla 7.2 se proporcionan las fórmulas para calcular la variación de las tres fuentes diferentes, o sea, entre tratamientos, entre bloques, y los errores experimentales. Su obtención no se expondrá aquí con detalle: los principios del método son similares a los descritos para el ANOVA de un factor (Sección 3.9) y en la Bibliografía se encuentran textos que proporcionan detalles adicionales.

Como en el ANOVA de un factor, los cálculos se simplifican debido a la aparición repetida del término T^2/N , y por el hecho de obtenerse por diferencia el error residual (experimental aleatorio). Es de resaltar que puede obtenerse una estimación de este error experimental, aun cuando sólo se haga una medida para cada combinación del nivel de tratamiento y bloques (por ejemplo, cada agente quelatante se ensaya sólo una vez cada día en el ejemplo siguiente).

Tabla 7.2. Fórmulas para el ANOVA de dos factores.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad
Entre tratamientos	$\sum T_{.j}^2/r - T^2/N$	$c - 1$
Entre bloques	$\sum T_i^2/c - T^2/N$	$r - 1$
Residual	por diferencia	por diferencia
Total	$\sum \sum x_{ij}^2 - T^2/N$	$N - 1$

EJEMPLO 7.3.1

En un experimento para comparar la eficiencia porcentual de diferentes agentes quelatantes en la extracción de iones metálicos en solución acuosa, se obtuvieron los siguientes resultados:

Día	Agente quelatante			
	A	B	C	D
1	84	80	83	79
2	79	77	80	79
3	83	78	80	78

Cada día se prepara una disolución reciente del ion metálico (con una concentración específica) y se realiza la extracción con cada uno de los agentes quelatantes, tomados en orden aleatorio.

En este experimento el uso de diferentes agentes quelatantes resulta un factor controlado ya que el experimentador elige los agentes quelatantes. El día de la realización del experimento supone un factor incontrolado ya que introduce una variación incontrolada causada por los cambios de la temperatura del laboratorio, presión, etc. y por ligeras diferencias en la concentración de la solución del ion metálico, es decir, el día es un factor aleatorio. En los capítulos anteriores se explicó la manera de utilizar el ANOVA para contrastar el efecto significativo debido a un factor incontrolado o para estimar la varianza de un factor aleatorio. En este experimento, donde se presentan los dos tipos de factores, el ANOVA de dos factores se puede utilizar de las dos maneras: (i) para contrastar si los diferentes agentes quelatantes tienen eficiencias significativamente diferentes, y (ii) para contrastar si la variación día a día es significativamente más grande que la variación debida al error aleatorio de la medida y, si es así, estimar la varianza de esta variación día a día. Como en el ANOVA de dos factores, los cálculos se pueden simplificar restando a cada medida un número arbitrario. La siguiente tabla muestra las medidas una vez que se les ha restado 80 a cada una de ellas.

Bloques	Tratamientos				Totales por fila, T_i	T_i^2
	A	B	C	D		
Día 1	4	0	3	-1	6	36
Día 2	-1	-3	0	-1	-5	25
Día 3	3	-2	0	-2	-1	$1 \sum T_i^2 = 62$
Totales por columna, T_j	6	-5	3	-4	0 = Gran total, T	
$\sum T_j^2 = 86$	36	25	9	16		

Se tiene: $r = 3$, $c = 4$, $N = 12$ y $\sum \sum x_{ij}^2 = 54$.

El cálculo de la tabla ANOVA proporciona los siguientes resultados:

Fuente de variación	Suma de cuadrados	g.l.	Cuadrado medio
Entre tratamientos	$86/3 - 0^2/12 = 28.6667$	3	$28.6667/3 = 9.5556$
Entre bloques	$62/4 - 0^2/12 = 15.5$	2	$15.5/2 = 7.75$
Residual	por diferencia = 9.8333	6	$9.8333/6 = 1.6389$
Total	$54 - 0^2/12 = 54.0$	11	

Es importante resaltar que, debido a que el cuadrado medio residual se obtiene por diferencia, se deben de tomar inicialmente en la tabla muchas cifras significativas para evitar errores significativos en los casos donde sea pequeña esta diferencia calculada.

Es formativo verificar que este cálculo separa de hecho los efectos entre tratamientos y entre bloques. Por ejemplo, si se incrementan todos los valores de un bloque en una cantidad fija y se vuelven a calcular las sumas de cuadrados, se llega a que, mientras se modifica la suma de cuadrados total y entre bloques, la suma de cuadrados residual y entre tratamientos no lo hace.

Si no hay ninguna diferencia entre las eficiencias de los quelatantes ni tampoco día a día, entonces los tres cuadrados medios proporcionan una estimación de σ_0^2 , la varianza de la variación aleatoria debida al error experimental (véase la Sección 3.9). Como en el ANOVA de un factor, el contraste F se utiliza para ver si las estimaciones de la varianza difieren significativamente. Comparando el cuadrado medio entre tratamientos con el cuadrado medio residual resulta:

$$F = 9.5556/1.6389 = 5.83$$

De la Tabla A.3 el valor crítico de $F_{3,6}$ (una cola, $P = 0.05$) es 4.76, de manera que se encuentra que hay una diferencia entre las dos varianzas, es decir, entre la eficiencia de los diferentes agentes quelatantes, al nivel del 5%. Comparando los cuadrados medios residuales y entre bloques (es decir, entre días) resulta:

$$F = 7.75/1.6389 = 4.73$$

Aquí el valor crítico es 5.14, de manera que no hay diferencia significativa entre días. A pesar de ello, el cuadrado medio entre bloques es considerablemente mayor que el cuadrado medio residual y hace que el experimento sea «no bloqueado», de manera que estos dos efectos se combinen en la estimación del error experimental, el experimento no podría probablemente haber sido posible de detectarse si diferentes tratamientos dan resultados significativamente diferentes. Si la diferencia entre días hubiera sido significativa, indicaría que otros factores tales como la temperatura, presión, preparación de la solución, etc., hubieran tenido un cierto efecto. Puede demostrarse que los cuadrados medios entre bloques proporcionan una estimación de $\sigma_0^2 + \sigma_b^2$, donde σ_b^2 es la varianza de la variación aleatoria día a día. Puesto que el cuadrado medio residual proporciona una estimación de σ_0^2 , se puede deducir una estimación de σ_b^2 .

Este ejemplo ilustra claramente la ventaja de considerar con detenimiento el diseño de un experimento antes de que sea realizado. Entre un experimento con bloques y otro sin bloques con el mismo número de medidas en cada uno, el primero es más sensible y produce más información. La sensibilidad del experimento depende del tamaño de la variación aleatoria: ésta es tanto más pequeña cuanto más pequeña sea la diferencia detectable entre los tratamientos. En un experimento sin bloques la variación aleatoria sería más grande ya que incluiría una contribución de la variación día a día, de manera que se reduciría la sensibilidad,

El cálculo del ANOVA realizado anteriormente supone que los efectos de los quelatantes y los días, si existen, son aditivos, pero no interactivos. Este aspecto se discute posteriormente en la Sección 7.5.

7.4. Cuadrados latinos y otros diseños

En algunos diseños experimentales es posible tener en cuenta un factor extra sin que se realice un aumento excesivo del número de experimentos. Un ejemplo sencillo lo proporciona el estudio de los agentes quelatantes de la

sección anterior, donde un factor incontrolado que no se tuvo en cuenta fue el momento del día en el que se tomaban las medidas. La variación sistemática durante el día debida al deterioro de las soluciones o al cambio en la temperatura del laboratorio podría producir una tendencia en los resultados.

En tales casos, cuando existe un *número igual* de bloques y tratamientos (éste no fue el caso del ejemplo anterior) es posible utilizar un diseño experimental que permita la separación de tal factor adicional. Supóngase que los tratamientos se etiquetan como A, B y C, entonces un posible diseño podría ser:

Día 1	A	B	C
Día 2	C	A	B
Día 3	B	C	A

Este diseño de bloques, en el que cada tratamiento aparece una vez en cada fila y una vez en cada columna, recibe el nombre de **cuadrado latino**. Éste permite separar la variación entre tratamientos, entre bloques, entre los momentos del día y los componentes del error experimental aleatorio. Es posible considerar diseños más complejos que eliminan esta restricción de igual número de bloques y tratamientos. Si existen más de tres bloques y tratamientos son obviamente posibles más de un diseño de cuadrados latinos (uno puede elegirse al azar). Los tipos de diseño experimental discutidos hasta aquí se denominan de **clasificación cruzada**, ya que proporcionan las medidas para cada combinación posible de los factores. Sin embargo, en otros casos (por ejemplo, cuando se envían muestras a diferentes laboratorios, y se analizan por dos o más experimentadores en cada laboratorio) los diseños se denominan **anidados** o **jerárquicos**, debido a que los experimentadores no realizan medidas en otros laboratorios que no sean las realizadas en el suyo propio. También son posibles mezclas entre diseños anidados y de clasificación cruzada.

7.5. Interacciones

En el ejemplo de la Sección 7.3 se vio que los cálculos ANOVA de dos factores utilizados suponían que los efectos de los dos factores (agentes quelatantes y días) eran aditivos. Esto significa que si, por ejemplo, sólo se dispone de dos agentes quelatantes, A y B, y se estudian los dos días, los resultados podrían haber sido algo así:

Agentes quelatantes

	A	B
Día 1	80	82
Día 2	77	79

Esto es, utilizando el agente quelatante B en lugar del A se produce un aumento del 2 % en la eficiencia de extracción los dos días, siendo la eficiencia de la extracción del segundo día menor que la del primero en un 3 %, cualquiera que sea el agente quelatante utilizado. En un tipo de tabla sencilla como la mostrada, esto significa que cuando se conocen tres medidas, la

cuarta se puede deducir fácilmente. Supóngase, sin embargo, que la eficiencia de extracción del agente quelatante B el segundo día hubiera sido del 83 % en vez del 79 %. Entonces se concluiría que la diferencia entre los dos agentes depende del día que se realicen las medidas, o que la diferencia entre los resultados de los dos días depende del agente que se use. Esto es, existiría una **interacción** entre los dos factores que afectan a los resultados. Tales interacciones son extremadamente importantes en la práctica: una estimación reciente sugiere que al menos dos tercios de los procesos en la industria química están afectados por interacciones, factores muy opuestos a los aditivos.

Desafortunadamente, cuando la situación se confunde por la presencia de errores aleatorios, la detección de interacciones no es del todo tan sencilla como implican los anteriores ejemplos,. Si se aplica un cálculo de un ANOVA de dos factores a la sencillísima tabla anterior, la suma de cuadrados residual da cero, pero si uno de los valores se modifica esto ya no es así. Con este diseño del experimento no se puede decir si una suma de cuadrados residual distinta de cero es debida a errores aleatorios, a una interacción entre los factores, o a ambos efectos. Para resolver este problema deben repetirse las medidas de cada casilla. La manera de hacer esto es importante: las medidas deben repetirse de manera que todas las fuentes de error aleatorio estén presentes en cada caso. Así pues, si en nuestro ejemplo se ha utilizado material de vidrio diferente u otras partes de equipos en los experimentos con diferentes agentes quelatantes, entonces las medidas repetidas aplicadas a cada agente quelatante cada día deben utilizar también aparatos diferentes. Si se utiliza el mismo equipo para estas repeticiones, se desestimará claramente el error aleatorio de las medidas. Si las repeticiones se realizan adecuadamente, el método que permite separar la suma de los cuadrados de la interacción y el error aleatorio se ilustra mediante el siguiente ejemplo.

EJEMPLO 7.5.1

En un experimento para investigar la validez de una solución como patrón de absorbancia líquido, se calculó el valor de la absorbividad molar, ε , de soluciones con tres concentraciones diferentes a cuatro longitudes de onda diferentes. Se realizaron dos medidas repetidas por cada combinación de concentración y longitud de onda y se aleatorizó el orden en que se hicieron las medidas. Los resultados se muestran en la Tabla 7.3: para simplificar los cálculos, los valores de ε calculados se han dividido por 100.

Tabla 7.3. Valores de absorbividad molar para un posible patrón de absorbancia

Concentración, g/l^{-1}	<i>Longitud de onda, nm</i>			
	240	270	300	350
0.02	94,96	106,108	48,51	78,81
0.04	93,93	106,105	47,48	78,78
0.06	93,94	106,107	49,50	78,79

La Tabla 7.4 muestra el resultado de los cálculos con Minitab para estos resultados. (NB. Al utilizar este programa para los cálculos de ANOVA de dos factores con interacción, es esencial evitar la opción de un modelo aditivo, ya que éste excluiría el efecto deseado de interacción. Excel proporciona también opciones para incluir efectos de interacción en el ANOVA de los factores.) Aquí se explica con más detalle como se obtiene esta tabla ANOVA.

Tabla 7.4. Salida de Minitab para el Ejemplo 7.5.1.

Two-way analysis of variance

Analysis of Variance for Response			
Source	DF	SS	MS
Conc.	2	12.33	6.17
Wavelength	3	11059.50	3686.50
Interaction	6	2.00	0.33
Error	12	16.00	1.33
Total	23	11089.83	

El primer paso en los cálculos es encontrar los totales de celda. Esto se hace en la Tabla 7.5, que también incluye otras cantidades necesarias en los cálculos. Como antes, T_i denota el total de la fila i -ésima, T_j el total de la columna j -ésima y T el gran total.

Tabla 7.5. Totales de celda para los cálculos de ANOVA de dos factores.

	240 nm	270 nm	300 nm	350 nm	T_i	T_i^2
0.02 g l ⁻¹	190	214	99	159	662	438244
0.06 g l ⁻¹	186	211	95	156	648	419904
0.10 g l ⁻¹	187	213	99	157	656	430336
T_j	563	638	293	472	$T = 1966$	
T_j^2	316969	407044	85849	222784		
	$\sum_i T_i^2 = 1032646$			$\sum_i T_i^2 = 1288484$		

Se calculan como antes las sumas de cuadrados entre filas, entre columnas y el total. Cada cálculo, exige el término T^2/nrc (donde n es el número de medidas repetidas en cada celda, en este caso 2, r el número de filas y c el número de columnas). A este término se le denomina a veces **término de corrección**, C . Aquí se tiene:

$$C = T^2/nrc = 1966^2/(2 \times 3 \times 4) = 161048.17$$

Se calculan ahora las sumas de cuadrados:

$$\begin{aligned} \text{Suma de cuadrados entre filas} &= \sum_i T_i^2/nrc - C \\ &= 1288484/(2 \times 4) - 161048.17 \\ &= 12.33 \end{aligned}$$

con $r - 1 = 2$ grados de libertad.

$$\begin{aligned} \text{Suma de cuadrados entre columnas} &= \sum_j T_j^2/nr - C \\ &= 1032646/(2 \times 3) - 161048.17 \\ &= 11059.50 \end{aligned}$$

con $c - 1 = 3$ grados de libertad.

$$\text{Suma de cuadrados total} = \sum x_{ijk}^2 - C$$

donde x_{ijk} es la k -ésima réplica en la i -ésima fila y j -ésima columna, es decir, $\sum x_{ijk}^2$ es la suma de los cuadrados de las medidas individuales que aparecen en la Tabla 7.3.

$$\begin{aligned}\text{Suma de cuadrados total} &= 172138 - 161048.17 \\ &= 11089.83\end{aligned}$$

con $ncr - 1 = 23$ grados de libertad.

La variación debida al error aleatorio (normalmente llamada **variación residual**) se estima a partir de la variación dentro de casillas, es decir, la variación entre repeticiones.

La suma de cuadrados residual = $\sum x_{ijk}^2 - \sum T_{ij}^2/n$, donde T_{ij} es el total para la casilla de la i -ésima fila y j -ésima columna, es decir, la suma de las medidas replicadas en la i -ésima fila y la j -ésima columna.

$$\begin{aligned}\text{Suma de cuadrados residual} &= \sum x_{ijk}^2 - \sum T_{ij}^2/n \\ &= 172138 - 344244/2 \\ &= 16\end{aligned}$$

con $(n - 1)c = 12$ grados de libertad.

La suma de cuadrados de la interacción y sus grados de libertad se pueden obtener ahora por diferencia. Para contrastar si cada una de las fuentes de variación es significativa se comparan dichas fuentes con el cuadrado medio residual.

- Interacción.** Ésta es obviamente no significativa ya que el cuadrado medio de la interacción es menor que el cuadrado medio residual.
- Entre columnas** (es decir, entre longitudes de onda). Ésta es claramente significativa ya que se tiene:

$$F = 3686.502/1.3333 = 2765$$

El valor crítico de $F_{3,12}$ es 3.49 ($P = 0.05$). En este caso se esperaría un resultado significativo ya que la absorbancia depende de la longitud de onda.

- Entre filas** (es decir, entre concentraciones). Se tiene:

$$F = 6.17/1.3333 = 4.63$$

El valor crítico de $F_{2,12}$ es 3.885 ($P = 0.05$), indicando que la variación entre filas es demasiado grande para que se cuente como variación aleatoria. Por tanto, la solución no es adecuada como patrón de absorbancia. La Figura 7.1 muestra el gráfico de la absorbtividad molar frente a la longitud de onda, en la que los valores con la misma concentración están unidos por líneas rectas. Esto aclara los resultados del análisis anterior de la siguiente forma:

- Las líneas son paralelas, indicando que no hay interacción alguna.
- Las líneas no son del todo horizontales, lo que indica que la absorbtividad molar varía con la concentración.
- Las líneas que se encuentran a diferentes alturas en el gráfico, indican que la absorbtividad molar depende de la longitud de onda.

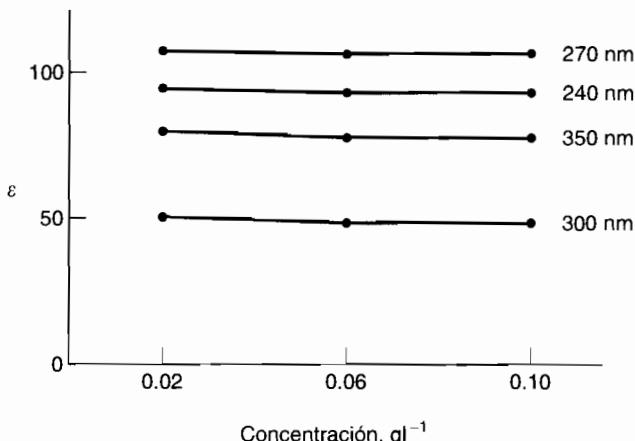


Figura 7.1. Relaciones en el ejemplo del ANOVA de dos factores (Ejemplo 7.5.1).

Las fórmulas utilizadas en los cálculos anteriores se resumen en la Tabla 7.6.

En este experimento los dos factores, es decir, la longitud de onda y la concentración de la solución, son factores controlados. En química analítica una aplicación importante de las técnicas ANOVA es investigar dos o más factores controlados y sus interacciones en experimentos de optimización. Esto se analiza en la Sección 7.7.

Como se comentó en la Sección 4.11, otra aplicación importante de las técnicas ANOVA se encuentra en las investigaciones de precisión y exactitud en los ensayos de colaboración entre laboratorios. En un ejercicio de colaboración a gran escala se envían varios tipos diferentes de muestras a una serie de laboratorios, realizando cada laboratorio una serie de análisis replicados sobre cada muestra. Un análisis matemático de los resultados proporcionaría las sumas de cuadrados siguientes: entre laboratorios, entre muestras, interacción muestra-laboratorio, y residuales. El objetivo de dicho experimento sería contrastar primero si hay interacción entre laboratorio y muestra, es decir, si algunos laboratorios daban resultados inesperadamente altos o bajos para algunas muestras. Esto se hace comparando la suma de cuadrados residual y de interacción. Si no hay ninguna interacción, entonces se podría contrastar si los laboratorios obtuvieron resultados significativamente diferentes, es decir, si existen diferencias sistemáticas entre los labo-

Tabla 7.6. Fórmulas para ANOVA de dos factores con interacción.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad
Entre filas	$\sum_i T_i^2 / nc - C$	$r - 1$
Entre columnas	$\sum_j T_j^2 / nr - C$	$c - 1$
Interacción	por diferencia	por diferencia
Residual	$\sum x_{ijk}^2 - \sum T_i^2 / n$	$rd(n - 1)$
Total	$\sum x_{ijk}^2 - C$	$rcn - 1$

ratorios. Si existiesen, entonces se podría estimar la varianza entre laboratorios. Sin embargo, si *hay* alguna interacción significativa, el contraste sobre diferencias significativas entre laboratorios tiene poca relevancia.

Para que un ANOVA de dos factores sea válido se deben satisfacer las siguientes condiciones (véase también la Sección 3.10):

1. El error aleatorio es el mismo para todas las combinaciones de los niveles de los factores.
2. Los errores aleatorios siguen distribuciones (aproximadamente) normales.

7.6. El diseño factorial frente al de un factor cada vez

Un experimento como el del ejemplo anterior, donde la variable de respuesta (es decir, la absorbividad molar) se mide para todas las combinaciones posibles de los niveles elegidos de los factores recibe el nombre de **diseño factorial completo**. El lector ha podido observar que este diseño del experimento es la antítesis de la aproximación clásica donde la respuesta se investiga para cada factor a través de diferentes etapas, mientras que el resto de los factores se mantienen a un nivel constante. Hay dos razones de peso para utilizar un diseño factorial en lugar de uno clásico en experimentos que contrasten si la respuesta depende del nivel del factor:

1. El experimento factorial detecta y estima cualquier interacción que no puede hacer el experimento de un factor cada vez.
2. Si los efectos de los factores son aditivos, entonces el diseño factorial necesita menos medidas que la aproximación clásica para proporcionar la misma precisión. Esto se puede ver volviendo de nuevo al experimento de absorbividad molar. Allí, las 24 medidas se utilizaban para estimar el efecto de variar la longitud de onda y las *mismas* 24 se utilizaron para estimar el efecto de variar la concentración. En un experimento de un factor cada vez, en primer lugar se habría fijado la concentración y, para obtener la misma precisión para el efecto de variar la longitud de onda, se hubieran necesitado seis medidas a cada longitud de onda, es decir, 24 en total. Después se habría fijado la longitud de onda, realizándose otras 24 medidas bajo concentraciones diferentes, resultando en total 48. En general, para k factores, una aproximación clásica supone k veces tantas medidas como en un diseño factorial con la misma precisión.

7.7. Diseño factorial y optimización

En muchas técnicas analíticas la respuesta del sistema de medida depende de una variedad de factores experimentales bajo el control del operador. Por ejemplo, un ensayo enzimático incluye la medida directa o indirecta de las velocidades de reacción. En un experimento dado la velocidad de reacción dependerá de factores tales como la temperatura, pH, fuerza iónica, composición química de la solución reguladora del pH, concentración de enzima, y así sucesivamente. Para una aplicación concreta será importante establecer los niveles de estos factores para asegurar que (por ejemplo) la velocidad de

reacción sea tan alta como sea posible. El proceso de búsqueda de estos niveles óptimos del factor se conoce como **optimización**. En las siguientes secciones se discuten con detalle varios métodos de optimización. No obstante, antes de comenzar con un proceso de optimización se determinan los factores y las interacciones que afectan de manera importante a la respuesta: es también valioso conocer qué factores tienen escaso o ningún efecto, de manera que no se desperdicien ni tiempo ni otros recursos en experimentos innecesarios.

Tales estudios utilizan un experimento factorial en el que cada factor tenga dos niveles, conocidos habitualmente por «alto» y «bajo». En el caso de una variable cuantitativa los términos «alto» y «bajo» tienen el significado usual. La elección exacta de los niveles se determina principalmente por la experiencia y conocimiento del experimentador y las restricciones físicas del sistema, por ejemplo, en disolución acuosa sólo son practicables temperaturas en el intervalo 0-100 °C. Algunos problemas relacionados con la elección de los niveles se discuten más adelante. Para una variable cualitativa, «alto» y «bajo» se refieren a condiciones diferentes, por ejemplo, la presencia o ausencia de un catalizador, agitación mecánica o magnética, muestras de forma granular o en polvo, etc. Como ya se han considerado experimentos con dos factores con cierto detalle, nos centraremos en uno con tres factores: A, B y C. Esto significa que hay $2 \times 2 \times 2 = 8$ combinaciones posibles de niveles de factores, como se muestra en la tabla siguiente. Un signo más indica que el factor está en el nivel alto y un signo menos que está en el nivel bajo. La primera columna proporciona una notación utilizada a menudo para describir las combinaciones, donde la presencia de la correspondiente letra en minúscula indica que el factor está en el nivel alto y su ausencia que el factor está en el nivel bajo. El número 1 se utiliza para indicar que todos los factores están en el nivel bajo.

Combinación	A	B	C	Respuesta
1	-	-	-	y_1
a	+	-	-	y_2
b	-	+	-	y_3
c	-	-	+	y_4
bc	-	+	+	y_5
ac	+	-	+	y_6
ab	+	+	-	y_7
abc	+	+	+	y_8

El método por el cual se estiman los efectos de los factores y sus interacciones se ilustra mediante el ejemplo siguiente.

EJEMPLO 7.7.1

En un experimento de cromatografía líquida de alta resolución, se investigó la dependencia del parámetro de retención, K' , sobre tres factores. Los factores fueron pH (factor P), la concentración de un contraión (factor T) y la concentración de disolvente orgánico en la fase móvil (factor C). Se utilizaron dos niveles para cada factor y se realizaron dos medidas, una

réplica de la otra, para cada combinación. Las medidas se aleatorizaron. La tabla que se expone a continuación da el valor medio para cada par de réplicas.

	<i>Combinación de niveles del factor</i>	<i>K</i>
1		4.7
p		9.9
t		7.0
c		2.7
pt		15.0
pc		5.3
tc		3.2
ptc		6.0

Efecto de los factores individuales

El efecto de cambiar el nivel de P se puede hallar de la diferencia media en respuesta cuando P cambia del nivel alto al bajo, manteniendo fijos los niveles de C y T. Hay cuatro pares de respuestas que proporcionan una estimación del efecto del nivel de P, como se muestra en la tabla siguiente:

<i>Nivel de C</i>	<i>Nivel de T</i>	<i>Nivel de P</i>	<i>Diferencia</i>
		+	-
-	-	9.9	4.7
+	-	5.3	2.7
-	+	15.0	7.0
+	+	6.0	3.2
Total = 18.6			

Efecto promedio de alterar el nivel de P = $18.6/4 = 4.65$

De forma similar se puede obtener que los efectos promedio de alterar los niveles de T y C son:

Efecto promedio de alterar el nivel de C = -4.85

Efecto promedio de alterar el nivel de T = 2.15

Interacción entre dos factores

Considérese ahora los dos factores P y T. Si no hubiera interacción entre ellos, entonces el cambio en respuesta entre los dos niveles de P debería ser independiente del nivel de T. Las dos primeras cifras de la última columna de la tabla anterior da el cambio en la respuesta cuando P cambia del nivel alto al bajo con T en el nivel bajo. Su promedio es $(5.2 + 2.6)/2 = 3.9$. Las dos últimas cifras en la misma columna proporcionan el efecto de cambiar P cuando T está en el nivel alto. Su media es $(8.0 + 2.8)/2 = 5.4$. Si no hubiera interacción ni error aleatorio (véase Sección 7.5) estas estimaciones del efecto de cambio del nivel P deberían ser iguales. El convenio que se sigue es tomar la mitad de su diferencia con una medida de la interacción:

$$\text{Efecto de interacción PT} = (5.4 - 3.9)/2 = 0.75$$

Es importante darse cuenta que esta cantidad estima el grado en que los efectos de P y T no son aditivos. Igualmente, se podría haber calculado considerando que el cambio en respuesta para los dos niveles de T es independiente del nivel de P.

Las otras interacciones se calculan de manera similar.

$$\text{Efecto de interacción CP} = -1.95$$

$$\text{Efecto de interacción CT} = -1.55$$

Interacción entre tres factores

La interacción PT calculada anteriormente se puede dividir en dos partes con relación al nivel de C. Con C en el nivel bajo, la estimación de la interacción sería $(80 - 5.2)/2 = 1.4$, y con C en el nivel alto sería $(2.8 - 2.6)/2 = 0.1$. Si no hubiera interacción entre los tres factores ni error aleatorio, estas estimaciones de la interacción PT deberían ser iguales. La interacción de los tres factores se estima por la mitad de su diferencia [$= (0.1 - 1.4)/2 = -0.65$]. La interacción de los tres factores mide hasta qué punto el efecto de la interacción PT y el efecto de C no son aditivos: igualmente se podría calcular considerando la diferencia entre las estimaciones de la interacción TC para los niveles bajo y alto de P.

Estos resultados se resumen en la siguiente tabla.

	<i>Efecto</i>
Efecto único (efecto principal)	
P	4.65
T	2.15
C	-4.85
Interacción de dos factores	
TP	0.75
CT	-1.55
CP	-1.95
Interacción de tres factores	
PTC	-0.65

Los cálculos se han presentado con cierto detalle de cara a mostrar con más claridad los principios. Un algoritmo debido a Yates (véase la Bibliografía) simplifica el cálculo.

Para contrastar qué efectos, si existen, son significativos, se puede utilizar el ANOVA (suponiendo que existe homogeneidad de varianzas). Se puede demostrar que en un experimento de dos niveles, como éste, las sumas de cuadrados necesarios se pueden calcular de los efectos estimados utilizando

$$\text{Suma de cuadrados} = N \times (\text{efecto estimado})^2 / 4$$

donde N es el número total de medidas incluyendo las repeticiones. En este caso N es 16 ya que se hicieron dos medidas, una réplica de la otra, por cada combinación de los niveles del factor. Las sumas de cuadrados calculadas se proporcionan a continuación.

<i>Factor (es)</i>	<i>Suma de cuadrados</i>
P	86.49
T	18.49
C	94.09
PT	2.25
TC	9.61
PC	15.21
PCT	1.69

Se puede demostrar que cada suma de cuadrados tiene un grado de libertad y puesto que el cuadrado medio viene dado por

$$\text{Cuadrado medio} = \text{suma de cuadrados} / \text{número de grados de libertad}$$

cada cuadrado medio es simplemente la correspondiente suma de cuadrados. Para contrastar si un efecto es significativo, se compara el cuadrado medio con el cuadrado medio del error (residual). Éste se calcula de las medidas individuales utilizando el método descrito en el ejemplo de absorbtividad molar de la Sección 7.5. En este experimento el cuadrado medio

residual obtenido fue 0.012 con ocho grados de libertad. El contraste de significación, empezando con la interacción de orden más grande, proporciona para la interacción PTC:

$$F = 1.69/0.012 = 141$$

que es obviamente significativa. Si existe interacción entre los tres factores no hay ninguna razón para contrastar si los factores tomados por pares o individualmente son significativos, ya que se tienen que considerar todos los factores en cualquier proceso de optimización. Sólo se debería contrastar la significación de un único factor si no hubiera interacción con otros factores.

Un problema que aparece en un experimento factorial completo como éste es que el número de experimentos requerido crece rápidamente con el número de factores: para k factores en dos niveles con dos réplicas para cada combinación de valores, son necesarios 2^{k-1} experimentos, por ejemplo, para cinco factores, 64 experimentos. Cuando hay más de tres factores es posible una simplificación, suponiendo que sean despreciables las interacciones de orden tres y superiores. Las sumas de cuadrados correspondientes a estas interacciones se pueden entonces combinar para proporcionar una estimación de la suma de cuadrados residual, no siendo necesarias más réplicas. La lógica de esta aproximación es que los efectos de orden más grande son normalmente mucho más pequeños que los efectos principales y que los efectos de interacción entre los dos factores. Si las interacciones de orden superior se pueden suponer insignificantes, una fracción adecuada de todas las posibles combinaciones de los niveles del factor es suficiente para proporcionar una estimación de los efectos principales y de interacción de dos factores. Como se mencionó en la Sección 4.11, dicho diseño experimental se llama **diseño factorial fraccional o incompleto**.

Otro problema al utilizar un diseño factorial para determinar qué factores tienen un efecto significativo sobre la respuesta es que, para factores que son variables continuas, el efecto depende de los niveles alto y bajo utilizados. Si los niveles alto y bajo están excesivamente cerca uno de otro, se puede obtener que el efecto del factor correspondiente no sea significativo a pesar del hecho de que sobre el intervalo posible completo de los niveles del factor, el efecto de ese factor no sea despreciable. Por otra parte, si los niveles se alejan bastante pueden caer a ambos lados de un máximo, y aún así dar lugar a una diferencia en respuesta que no sea significativa.

7.8. Optimización: principios básicos y métodos univariantes

Cuando se han identificado los diferentes factores e interacciones que afectan a los resultados de un experimento, se necesitan métodos separados para determinar la combinación de los niveles del factor que proporcionarán la respuesta óptima. En primer lugar ha de definirse cuidadosamente lo que se entiende por «respuesta óptima» en un procedimiento analítico dado. En algunos casos el objetivo será asegurar que el instrumento de medida proporciona una señal de respuesta *máxima*, por ejemplo, la mayor absorbancia, corriente, intensidad de emisión, etc., posible. Sin embargo, en otros muchos

casos el resultado óptimo de un experimento puede que sea la máxima relación señal-ruido o señal fondo, la mejor resolución (en métodos de separación), o incluso una respuesta mínima (por ejemplo, cuando una señal de interferencia se encuentra bajo estudio). En términos matemáticos, encontrar los máximos y los mínimos son procesos virtualmente idénticos, de manera que el último ejemplo no causa ningún problema adicional. Hay que poner el énfasis en algo obvio como es que el objetivo exacto de un experimento de optimización debe ser definido cuidadosamente de antemano, ya que en la práctica muchos procesos de optimización han fallado simplemente porque el objetivo no se definió con suficiente claridad.

Un buen método de optimización tiene dos cualidades. Produce un conjunto de condiciones experimentales que proporcionan la respuesta máxima, o al menos una respuesta que sea próxima al óptimo; y lo hace así con el número más pequeño posible de etapas experimentales de ensayo. En la práctica la velocidad y la conveniencia del procedimiento de optimización resulta extremadamente importante, pudiendo ser suficiente en algunos casos utilizar un método que alcance de manera razonable un valor próximo al óptimo verdadero en un número pequeño de pasos.

En este contexto se debe observar que incluso la optimización de un único factor presenta algunos problemas interesantes. Supóngase que se desea encontrar el pH óptimo de una reacción catalizada por enzimas dentro de un rango de pH 2-12, siendo el mejor pH aquel cuya velocidad de reacción sea máxima. Cada medida de la velocidad de reacción constituirá un experimento separado, asumiendo en cada caso un tiempo y un esfuerzo significativos y una solución amortiguadora diferente, de manera que resulta especialmente importante conseguir tanta información como sea posible a partir del mínimo número de experimentos. Se sugieren dos aproximaciones. Una es realizar un número fijo de medidas de la velocidad de reacción, por ejemplo, dividiendo el intervalo de pH de interés en una serie de regiones iguales. El segundo método y más lógico es realizar las medidas secuencialmente, de manera que el pH para cada experimento depende de los resultados de los experimentos anteriores.

La Figura 7.2 muestra el resultado de realizar cuatro medidas de la velocidad a valores del pH de 4, 6, 8 y 10. Al considerar estos cuatro resultados se hará una suposición que se mantendrá en buena parte de la discusión de la optimización, es decir, que hay sólo un máximo dentro del rango de los

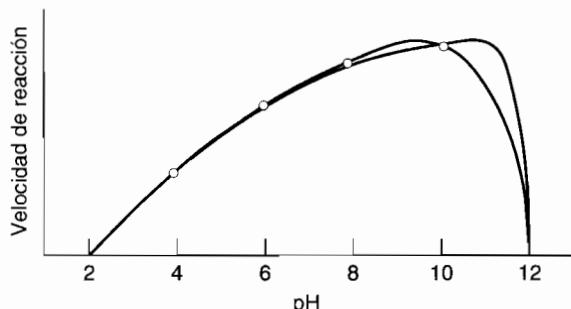


Figura 7.2. Experimento de optimización con niveles del factor igualmente espaciados.

niveles del factor bajo estudio. (Inevitablemente, esto no es siempre cierto y se volverá a este punto más tarde.) Los cuatro puntos sobre el gráfico representan los resultados de los experimentos: la velocidad de reacción más grande se obtiene a pH 10, y la siguiente más alta a pH 8. Pero incluso con la hipótesis de un único máximo es posible dibujar dos tipos de curvas a través de los puntos, es decir, este máximo puede ocurrir entre pH 8 y 10, o entre pH 10 y 12. Por tanto, el resultado de los cuatro experimentos es que, empezando con el rango de pH entre 2 y 12, se concluye que el pH óptimo se encuentra realmente entre 8 y 12, es decir, se ha acortado el intervalo para el óptimo mediante un factor de 4/10. Éste es un ejemplo del resultado general, si se realizan n experimentos utilizando intervalos iguales del nivel del factor, el intervalo para el óptimo se acorta en un factor de $2/(n + 1)$ ó $2/5$ en este caso. ¡Éste no es un resultado muy sorprendente! La debilidad del método se muestra más adelante por el hecho de que, si se deseara definir el pH óptimo dentro de un intervalo de 0.2 unidades, es decir, una reducción de 50 veces el intervalo original de 10 unidades, serían necesarios 99 experimentos, algo que obviamente es imposible.

El principio de la superioridad de la aproximación por pasos se muestra en la Figura 7.3, indicando una relación posible entre la velocidad de reacción y el pH. (Desde luego esta curva no sería conocida de antemano por el experimentador.) Brevemente, el procedimiento es como se indica a continuación. Los dos primeros experimentos se realizan a pH A y B , equidistantes de los extremos del intervalo de pH 2-12. (La elección de los valores de pH para estos primeros experimentos se analiza más adelante.) El experimento B proporcionará la velocidad de reacción más grande, ya que hay sólo un máximo en la curva, pudiéndose rechazar la parte de la curva entre pH 2 y A . El resto del intervalo de pH, entre A y 12, incluye ciertamente el máximo y ya tiene una lectura, B , dentro de él. Se realiza entonces una nueva medida a un pH tal que la diferencia de pH entre C y A sea la misma que entre B y 12. El pH en C proporciona una velocidad de reacción más grande que en B , de manera que ahora se puede rechazar el intervalo entre B y 12, y tomar una nueva medida, D , de manera que las distancias $A-D$ y $C-B$ sean iguales. El resto de medidas utilizan el mismo principio, así que sólo queda por establecer cuántos pasos son necesarios, y dónde deberían estar los puntos de iniciación A y B .

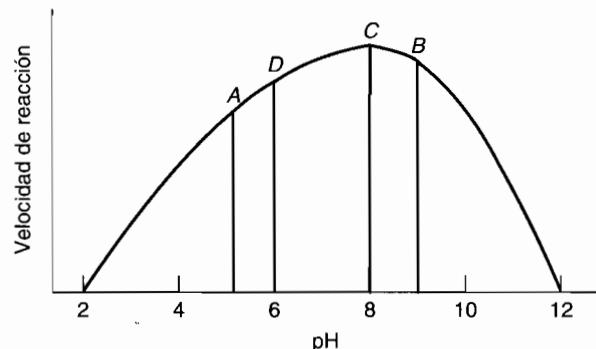


Figura 7.3. Aproximación por etapas a la búsqueda univariante.

En una aproximación las distancias entre los pares de medidas y los extremos de los rangos correspondientes se relacionan con la **serie de Fibonacci**. Esta serie de números, conocida desde el siglo XIII, empieza con 1 y 1 (estos términos se llaman F_0 y F_1), de manera que cada siguiente término es la suma de los dos previos. Así, F_2 , F_3 , etc., son 2, 3, 5, 8, 13, 21, 34, 55, 89, ... Para utilizar esta serie con el objeto de optimizar un único factor en un rango definido, se empieza por decidir **bien** el grado de optimización exigido (lo que automáticamente determina el número de experimentos necesario), o **bien** el número de experimentos que se pueden realizar (lo que directamente proporciona el grado de optimización obtenido). Supóngase que, como antes, se exige que el pH óptimo se conozca dentro de 0.2 unidades, con una reducción de 50 veces el intervalo de pH original de 10 unidades. Entonces se debe tomar el primer número de Fibonacci por encima de 50: éste es 55, F_9 . El subíndice nos indica que serán necesarios nueve experimentos para lograr el resultado deseado. El espacio de los primeros dos puntos, A y B, dentro del intervalo, también viene dado por la serie. Se utiliza F_9 y el elemento de la serie dos por debajo de él, F_7 , para formar la fracción F_7/F_9 , es decir, 21/55. El punto A resulta entonces a pH $(2 + [10 \times 21/55])$, y el punto B a pH $(12 - [10 \times 21/55])$, es decir, 5.8 y 8.2, respectivamente. (El número 10 aparece en estas expresiones porque el rango de pH de interés tiene 10 unidades de ancho.) Una vez que se establecen estos primeros puntos, las posiciones de C, D, etc., se siguen automáticamente por simetría. Es impresionante que el método de búsqueda de Fibonacci logre en sólo nueve experimentos un grado de optimización que exige 99 experimentos utilizando el método de los «intervalos iguales». Se puede demostrar que el método es de hecho el procedimiento de búsqueda univariante más eficiente para un rango dado cuando el grado de optimización se conoce o decide de antemano.

En otros métodos de optimización, no es necesario decidir de antemano el número de experimentos o el grado de optimización necesario. El método de la **Razón aurea** o **Cociente de Oro** es un ejemplo de esta aproximación. El Cociente de Oro es $(1 + \sqrt{5})/2 = 1.618$. Este número tiene la propiedad de que $1.618 = 1 + (1/1.618)$. Los dos primeros puntos en la búsqueda se posicionan dividiendo el rango total (por ejemplo 10 unidades de pH) por 1.618, y en nuestro ejemplo el resultado es que los puntos se colocan a $10/1.618 = 6.18$ unidades de pH de pH 2 y pH 12, es decir, a pH 5.82 y 8.18. Si el último punto proporciona la respuesta podemos estar seguros que el pH óptimo cae entre 5.82 y 12, un intervalo que ya contiene un resultado a pH 8.18. Como en el método de Fibonacci el tercer experimento se realiza entonces a un pH colocado simétricamente, es decir, a un pH $(12 - [8.18 - 5.82]) = 9.64$. (Nótese que, una vez que se establece este tercer pH, $(12 - 8.18)/(12 - 9.64) = 1.618$, se obtiene de nuevo el cociente de oro.) Si este tercer experimento proporciona una respuesta más grande que el experimento al pH de 8.18, entonces resulta aparente que el óptimo no se encuentra en el intervalo de pH 5.82-8.18, de manera que el cuarto experimento se puede realizar a pH 10.54 (porque $[12 - 10.54] = [9.64 - 8.18]$), y así sucesivamente. De nuevo se ve que este método es más eficiente que la aproximación de los «intervalos iguales», después de este cuarto experimento el pH óptimo se situará en un intervalo de 2.36 unidades, es decir, bien entre pH

8.18 y 10.54, o bien entre pH 9.64 y 12. Esto es significativamente mejor, es decir, más corto, que el intervalo de cuatro unidades de pH proporcionado por el método de los intervalos iguales con cuatro experimentos. La iteración se puede continuar hasta que el analista decida que se han realizado suficientes experimentos o que la optimización lograda es en la práctica suficientemente buena. Los métodos del Cociente del Oro y de Fibonacci son similares y de hecho matemáticamente relacionados. Más detalles de los métodos univariantes se proporcionan en los textos que aparecen en la Bibliografía.

Se debe añadir que el éxito de éste y de otros procedimientos de optimización depende de la hipótesis de que los errores aleatorios en las medidas (de las velocidades de reacción en nuestro ejemplo) son significativamente más pequeños que la velocidad de cambio de la respuesta con el nivel del factor (pH). Esta hipótesis es más verosímil que no sea válida cerca del valor óptimo de la respuesta, donde la pendiente de la curva de respuesta es próxima a cero. Esto confirma que en muchos casos prácticos un método de optimización que alcance de manera razonable un valor próximo al óptimo verdadero en un número pequeño de pasos resultará más valioso: intentar refinar el óptimo mediante experimentos extra podría fallar si los errores experimentales proporcionan resultados erróneos.

7.9. Optimización utilizando el método de búsqueda de la variable alterna

Cuando la respuesta de un sistema analítico depende de dos factores que son variables continuas, la relación entre la respuesta y los niveles de los dos factores se puede representar por una superficie tridimensional, como se muestra en la Figura 7.4. Esta superficie se llama **superficie de respuesta**, siendo el objetivo óptimo la cima de la «montaña». Una representación más conveniente es el **diagrama de curvas de nivel** (Figura 7.5). Aquí la respuesta sobre cada curva de nivel es constante, situándose el objetivo óptimo cerca del centro de las curvas de nivel. La forma de las curvas de nivel es, desde luego, desconocida por el investigador, quien desea determinar los niveles óptimos, x_0 e y_0 para los factores X e Y , respectivamente. Un método

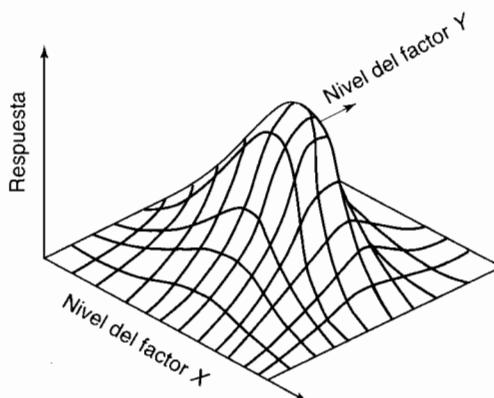


Figura 7.4. Diagrama de las curvas de nivel para una superficie de respuesta con dos factores.

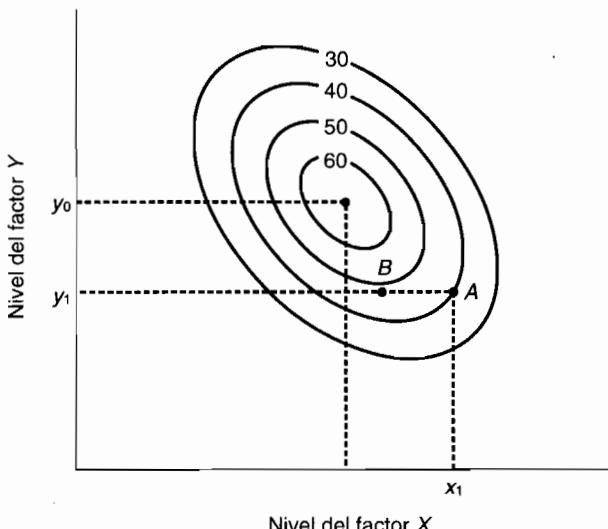


Figura 7.5. Diagrama de las curvas de nivel para una superficie de respuesta con dos factores.

de búsqueda, utilizando el enfoque de un factor cada vez, establecería el nivel inicial de X a un valor fijo de x_1 , por ejemplo, y se variaría el nivel de Y , resultando una respuesta máxima en el punto A donde el nivel de Y fuese y_1 . A continuación, manteniendo el nivel de Y en y_1 , y variando el nivel de X resultaría un máximo en B . Obviamente éste no es el verdadero máximo, ya que la posición obtenida depende del nivel inicial elegido para x_1 . Se puede obtener una respuesta mejor repitiendo el proceso, variando los niveles de X e Y alternativamente. Este método se conoce como el **método de búsqueda de la variable alterna (BVA)** o **método univariante iterativo**. Este método es extremadamente eficiente cuando no existe interacción entre dos factores. En tal caso la superficie de respuesta tiene la forma de la Figura 7.6(a) o (b) y variando X y luego Y sólo una vez conducirá a la máxima respuesta. Sin embargo, si existe interacción entre las dos variables entonces la superficie de respuesta tiene la forma de la Figura 7.6(c) y X e Y deben variarse en vez de una más veces. En algunos casos, no conduciría al máximo verdadero: esto se ilustra en la Figura 7.7 donde, aunque C no es el máximo verdadero, el valor de respuesta disminuye a ambos lados del máximo en las dos direcciones X e Y . Llegando a este punto, con el método de un factor cada vez, se concluiría equivocadamente, por tanto, que representaba la respuesta máxima.

El método BVA se ha utilizado con éxito en algunas áreas de la química analítica. No obstante, se puede aplicar sólo si la respuesta se obtiene continuamente cuando el nivel del factor se altera con facilidad, por ejemplo, en espectrometría cuando se cambian rápidamente la longitud de onda del monocromador o la anchura de la rendija. Si tal seguimiento no es posible entonces se tiene que elegir un tamaño de la variación para el cambio en cada uno de los factores. Un método más sofisticado permitiría cambios en dichos tamaños dependiendo del cambio observado en la respuesta, pero en la práctica se usarían otros métodos de optimización que incluyen pocos experimentos separados.

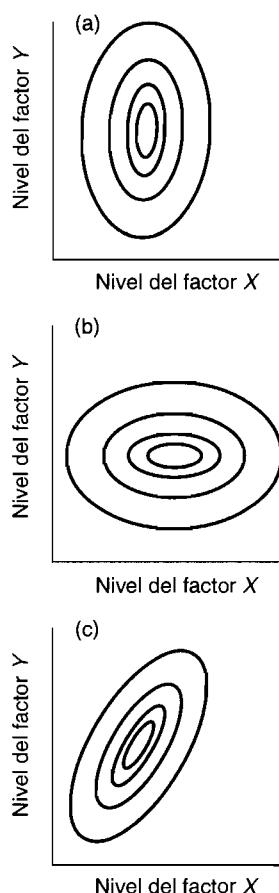


Figura 7.6. · Diagrama de las curvas de nivel simplificadas. (a) y (b) no muestran ninguna interacción $X\text{-}Y$; (c) muestra interacción $X\text{-}Y$ significativa.

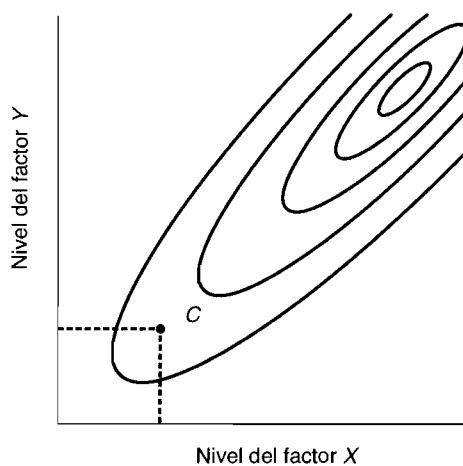


Figura 7.7. Diagrama de curvas de nivel: un caso en el que el método de un factor cada vez no sirve para localizar el máximo.

No cabe duda que existen problemas en la teoría y en la práctica al aplicar la aproximación de un factor cada vez a la optimización, de manera que se han desarrollado otros métodos en un intento de superar estos problemas y minimizar el número de experimentos requeridos. Todos estos métodos pueden aplicarse a cualquier número de factores, si bien la superficie de respuesta no se puede visualizar fácilmente para tres o más factores: la discusión posterior de los métodos de optimización se centrará en gran parte sobre experimentos con dos factores.

7.10. Método de la máxima pendiente

El proceso de optimización se puede visualizar ¡como una persona en una montaña (Figura 7.4) con niebla espesa y que pretende llegar a la cima! En estas circunstancias una aproximación obvia es caminar en la dirección en que el gradiente es de máxima pendiente. Ésta es la base del **método de la máxima pendiente (o del gradiente)**. La Figura 7.8 muestra dos mapas posibles de curvas de nivel. La dirección de máxima pendiente en cualquier punto se encuentra entre los ángulos que hay a la derecha de las curvas de nivel de dicho punto, como se indica por las flechas. Cuando éstas son circulares, dichas flechas apuntarán a la cima, pero cuando sean elipses ya no se cumplirá lo anterior. La forma de las curvas de nivel depende de las escalas elegidas para los ejes: se obtienen los mejores resultados con este método si se toma una escala en los ejes de manera que un cambio de una unidad en cualquier dirección proporciona un cambio aproximadamente igual a la respuesta. El primer paso consiste en realizar un experimento factorial con cada factor a dos niveles. Los niveles se eligen de manera que el diseño forme un cuadrado como el que se muestra en la Figura 7.9. Supóngase, por ejemplo, que el experimento es una reacción catalizada por enzimas en la que la velocidad de reacción, que en este caso es la respuesta, se quiere maximizar respecto al pH (X) y la temperatura (Y). La tabla siguiente proporciona los resultados (velocidad de reacción, medida en unidades arbitrarias) del experimento factorial inicial.

	$pH (X)$	
	6.8	7.0
Temperatura, °C (Y)	20	30
	25	34

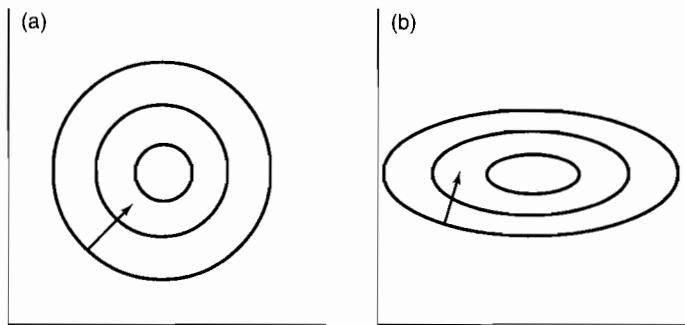


Figura 7.8. Diagrama de curvas de nivel: la flecha en cada diagrama indica el camino de la máxima pendiente. En (a) se dirige aproximadamente al máximo, pero en (b) no.

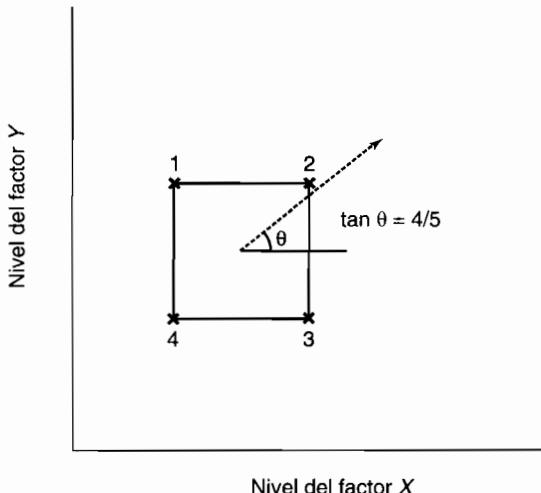


Figura 7.9. Un diseño factorial 2×2 para determinar la dirección de la máxima pendiente, que viene indicada por la línea de trazo discontinuo.

Los efectos de los dos factores se pueden separar según se describió en la Sección 7.7. Escribiendo de nuevo la tabla anterior, con la notación de esta sección, resulta:

Combinación de niveles	Velocidad de reacción
1	30
x	35
y	34
xy	39

$$\text{Efecto medio del cambio en el nivel de } X = [(35 - 30) + (39 - 34)]/2 = 5$$

$$\text{Efecto medio del cambio en el nivel de } Y = [(34 - 30) + (39 - 35)]/2 = 4$$

Los efectos de X e Y indican que en la Figura 7.9 se buscaría la máxima respuesta a la derecha y por encima de la región original. Ya que la variación en la dirección de X es mayor que en la dirección de Y , el incremento a dar en la dirección de X tendría que ser mayor también. Concretando más, los incrementos a dar en las direcciones de X e Y , respectivamente, tendrían que estar en razón de 5 : 4, es decir, en la dirección indicada por la línea de trazo discontinuo de la Figura 7.9.

El paso siguiente en la optimización es realizar otros experimentos en la dirección indicada por la línea discontinua de la Figura 7.10, por ejemplo, en los puntos cuya numeración es 5, 6 y 7. Esto indicaría que el punto 6 es una posición aproximada para el máximo en esta dirección. Entonces se lleva a cabo otro experimento factorial en la región del punto 6 para determinar la nueva dirección de la máxima pendiente.

Este método proporciona una forma satisfactoria de progresar en dirección al máximo, con tal que sobre la región del diseño factorial, las curvas de nivel sean aproximadamente rectas. Esto es equivalente a que la superficie de respuesta sea plana, la cual puede describirse matemáticamente por una combinación de términos lineales en x e y . Al estar más cerca de la

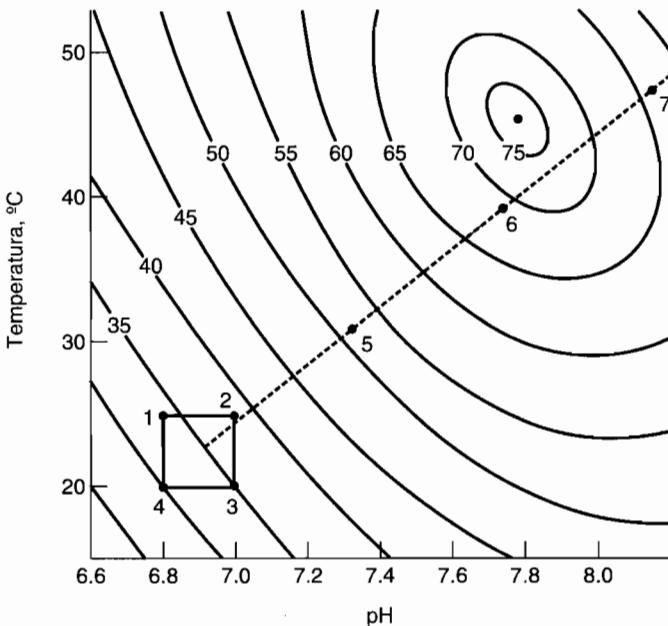


Figura 7.10. Diagrama de curvas de nivel: la dirección inicial de la máxima pendiente se muestra mediante la línea de trazo discontinuo. En los puntos 5, 6 y 7 se realizan nuevos experimentos.

cima se necesitan también términos en xy , x^2 e y^2 . El término xy representa la interacción entre X e Y y se puede estimar utilizando la réplica como se describió en la Sección 7.7. Los términos cuadráticos, que representan la curvatura de la superficie, se pueden estimar comparando la respuesta en el centro del diseño factorial con el promedio de las respuestas en las esquinas. Cuando los efectos de curvatura e interacción se hacen más apreciables en comparación con el error experimental (que se estima mediante replicación) se emplea un diseño factorial más elaborado que permite determinar la forma de la superficie curva y, por tanto, que se determine la posición aproximada del máximo.

Es evidente que el diseño factorial y el método de la máxima pendiente serán muy complicados cuando estén implicados varios factores. La siguiente sección describe otro método de optimización que es conceptualmente mucho más simple.

7.11. Optimización por el método simplex

La optimización simplex se aplica cuando todos los factores son variables continuas. Un **simplex** es una figura geométrica que tiene $k + 1$ vértices cuando se trata de optimizar una respuesta respecto a k factores. Por ejemplo, para dos factores, el simplex será un triángulo. El método de optimización se ilustra mediante la Figura 7.11. El simplex inicial viene definido por los puntos con numeración 1, 2 y 3. En los primeros experimentos se mide la respuesta en cada una de las tres combinaciones de los niveles del factor dadas por los vértices de este triángulo. La peor respuesta se encontraría en

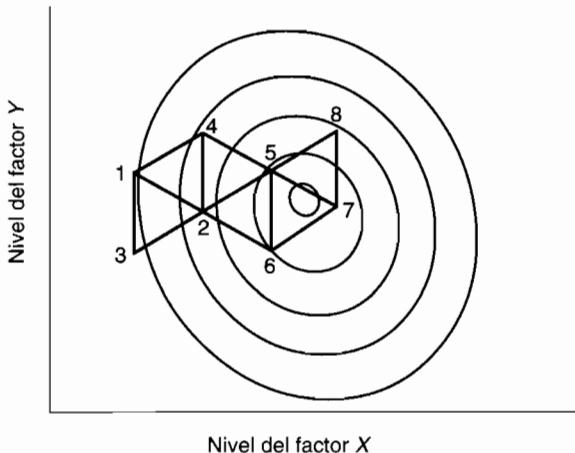


Figura 7.11. Optimización por el método simplex.

el punto 3 y sería lógico concluir que se obtendría una respuesta mejor en el punto simétrico del 3 respecto a la línea que une 1 y 2, es decir, en 4. Se forma un nuevo simplex con los puntos 1, 2 y 4 y se mide la respuesta para la combinación de los niveles del factor dada por 4. (Se puede constatar inmediatamente una ventaja muy importante del método simplex, es decir, que en cada etapa de la optimización, sólo se requiere un único experimento adicional.) Comparando las respuestas para los puntos 1, 2 y 4 se observa ahora que 1 proporciona la peor respuesta. El procedimiento anterior basado en la reflexión sobre una recta se repite de nuevo, con lo cual resulta el simplex definido por los puntos 2, 4 y 5. La continuación de este proceso se muestra en la figura. Se puede ver que no es posible progresar más allá del paso dado, ya que los puntos 6 y 7 dan peor respuesta que 5 y 7.

Para mejorar las prestaciones del método simplex se han propuesto varias modificaciones. Un problema obvio con el método es que, si el simplex inicial es demasiado pequeño, puede que sean necesarios demasiados experimentos para aproximar el óptimo. Si el simplex inicial es demasiado grande, la precisión con que se determina el óptimo será pobre. Este problema se puede superar avanzando hacia el óptimo utilizando un simplex que puede variar en el tamaño del paso según como se compare la respuesta para el nuevo vértice en un simplex con los otros vértices. Por tanto, si el vértice 4 en el ejemplo anterior proporcionó una respuesta significativamente mejor que los vértices 1-3, el nuevo simplex podría ser ampliado en la misma dirección moviendo el vértice 4 dos veces más allá de la línea que une los vértices 1 y 2. Por otra parte, si el vértice original 4 en el ejemplo anterior proporcionó una respuesta más pobre que el vértice 1, entonces probablemente se ha ampliado demasiado el simplex, y el vértice 4 puede moverse hacia atrás de manera que se coloque tan sólo a la mitad de la línea que une los vértices 1 y 2. En otras circunstancias, una reflexión «negativa» podría ser apropiada, es decir, el vértice 4 podría caer dentro del triángulo formado por los vértices 1-3. Cuando se optimizan dos factores, el efecto de estos tamaños de variación variables es que los triángulos que conforman cada sim-

plex no son necesariamente equiláteros. La ventaja de los tamaños de paso variables es que inicialmente el simplex es grande y proporciona un progreso rápido hacia el óptimo. Cerca del óptimo se contraen de manera que permiten encontrar el óptimo de manera más precisa. Cuando haya varios factores bajo estudio, puede ser útil alterar alguno de ellos por un tamaño de paso constante, pero aplicando a otros un tamaño de paso variable.

La posición del nuevo vértice de un simplex se puede localizar en la práctica mediante cálculos en lugar de dibujos esto resulta esencial cuando hay más de dos factores. Los cálculos (utilizando tamaños de paso constantes) se establecen con más facilidad como se muestra en la Tabla 7.7, numerándose las líneas de cálculo como (i)-(v). En este ejemplo hay cinco factores y, por tanto, el simplex tiene seis vértices. La respuesta para el vértice 4 es la más pequeña y en consecuencia se tiene que sustituir este vértice. Las coordenadas del centro de gravedad de los vértices que se *conservan* se calculan sumando las coordenadas de los vértices que se conservan y el resultado se divide por el número de factores, k . El desplazamiento del nuevo punto desde el centro de gravedad viene dado por (iv) = (ii) - (iii), y las coordenadas del nuevo vértice, vértice 7, por (v) = (ii) + (iv). Si el simplex se varía en tamaño entonces los valores en la fila (iv) se multiplican por un factor de escala adecuado.

Una cuestión obvia al utilizar el método simplex es la elección del simplex inicial. Si éste se considera como una figura *regular* de k dimensiones, entonces las posiciones de los vértices para generar tal figura dependerán de las escalas utilizadas para los ejes. Como en el método de la máxima pendiente (o del gradiente), estas escalas se deberían elegir de manera que el cambio de unidad en cada factor proporcione aproximadamente el mismo cambio en la respuesta. Si hay insuficiente información para lograr esto, la diferencia entre el menor y el mayor valor factible de cada factor se puede representar por la misma distancia. El tamaño del simplex inicial no es tan crítico si se puede expandir o contraer según se procede con el método. Se han desarrollado algoritmos que se pueden utilizar para calcular las posiciones iniciales

Tabla 7.7. Ejemplo de optimización por el método simplex.

	Factores					Respuesta
	A	B	C	D	E	
Vértice 1	1.0	3.0	2.0	6.0	5.0	7
Vértice 2	6.0	4.3	9.5	6.9	6.0	8
Vértice 3	2.5	11.5	9.5	6.9	6.0	10
Vértice 4 (rechazado)	2.5	4.3	3.5	6.9	6.0	6
Vértice 5	2.5	4.3	9.5	9.7	6.0	11
Vértice 6	2.5	4.3	9.5	6.9	9.6	9
(i) Suma (excluyendo el vértice 4)	14.50	27.40	40.00	36.40	32.60	
(ii) Suma/ k (excluyendo el vértice 4)	2.90	5.48	8.00	7.28	6.52	
(iii) Vértice rechazado (es decir, 4)	2.50	4.30	3.50	6.90	6.00	
(iv) Desplazamiento = (ii) - (iii)	0.40	1.18	4.50	0.38	0.52	
(v) Vértice 7 = (ii) + (iv)	3.30	6.66	12.50	7.66	7.04	

de los vértices: normalmente se coloca un vértice en los niveles de los factores actualmente aceptados. Este último punto es un recordatorio para el analista que rara vez anda a tientas al comienzo de un proceso de optimización. La experiencia previa le aportará una guía de los valores factibles para los vértices del simplex de partida.

Se puede ver que, en contraste con un diseño factorial, el número de experimentos exigidos en el método simplex no crece rápidamente con el número de factores. Por esta razón, todos los factores que razonablemente pudieran pensarse que tienen relación con la respuesta deberían ser incluidos en la optimización.

Una vez que se ha encontrado un óptimo, el efecto sobre la respuesta cuando un factor se varía mientras los otros se mantienen a sus niveles óptimos se puede a su vez analizar para cada factor (por turnos). Este procedimiento se puede utilizar para verificar la optimización. También indica a qué nivel son importantes para cada factor las desviaciones respecto del nivel óptimo: cuanto más acusado es el pico de respuesta en la región del óptimo, más crítica es la variación en el nivel del factor.

La optimización simplex se ha utilizado con éxito en muchas áreas de la química analítica, por ejemplo, espectrometría de absorción atómica, cromatografía de gases, métodos de análisis colorimétrico, espectrometría de plasma y también con analizadores centrífugos en química clínica. Cuando un instrumento se conecta a una microcomputadora, se pueden utilizar los resultados de la optimización simplex para procurar mejoras en las variables instrumentales.

Ocasionalmente aparecen superficies de respuesta con más de un máximo, como la expuesta en la Figura 7.12. Los métodos de optimización de la variable alterna y simplex pueden entonces localizar un óptimo local tal como el A en lugar del óptimo verdadero B. Una forma de comprobar este punto es empezar el proceso de optimización en una segunda región del espacio del factor y verificar que se obtienen las mismas condiciones óptimas. Otra vez el método simplex es valioso aquí, ya que se minimiza el trabajo extra requerido.

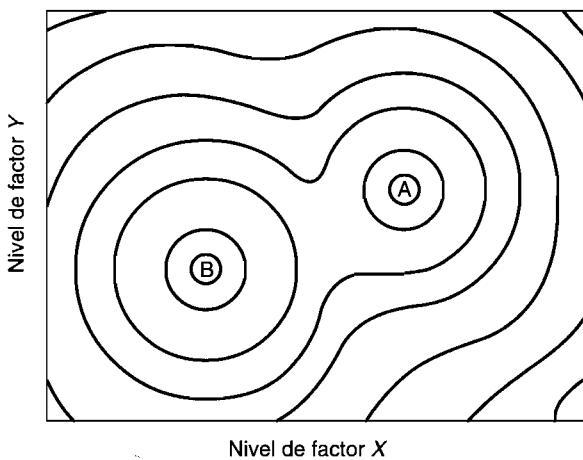


Figura 7.12. Diagrama de curvas de nivel mostrando el óptimo localizado (A) y el óptimo verdadero (B).

7.12. El revenido simulado

Recientemente se ha prestado mucho interés en la aplicación de métodos de cálculo que mimetizan procesos naturales: se les conoce colectivamente como métodos **de computación naturales**. Las redes neuronales (véase el Capítulo 8) se aplican actualmente en química analítica con mucha frecuencia, y en el área de optimización del **revenido simulado** (RS) se han encontrado algunas aplicaciones recientes. El revenido o recocido es un proceso mediante el cual una sal fundida u otro material se enfriá lentamente bajo condiciones controladas a un estado de baja energía. En principio, todo el sistema estará en equilibrio durante todo el proceso de revenido, pero en la práctica se producen procesos aleatorios que dan como resultado *incrementos* energéticos de corta vida y/o locales. Cuando un proceso análogo se aplica a un problema de optimización, el algoritmo utilizado permite acceder a posiciones en el espacio del factor que proporcionan una respuesta *más pobre* que la posición anterior. El resultado es tal que, a diferencia de los métodos BVA y simplex, conduce casi inevitablemente a la identificación de un óptimo que está más próximo al punto de partida. Los métodos RS pueden manejar cualquier óptimo local que exista, e identificar con éxito el verdadero óptimo global.

En términos generales, el método opera como sigue. El primer paso consiste en identificar, ya sea al azar o por experiencia, valores de partida para los niveles de los k factores. Estos valores proporcionan una respuesta inicial, R_1 . En el segundo paso, se añade un vector al azar a los valores de partida, obtenido utilizando k números aleatorios, generándose un nuevo conjunto de condiciones experimentales: éstas dan lugar a una nueva respuesta, R_2 . Como en otros métodos de optimización, si R_2 origina una respuesta mejor que R_1 , que es un buen resultado, se repite el paso de la adición al azar. Sin embargo, la característica crucial del método, es *que aun siendo R_2 una respuesta peor que R_1 , se acepta con tal que no sea mucho peor*. (Obviamente, para tomar esta decisión tienen que aplicarse reglas numéricas.) Eventualmente, se puede dar una situación en la que una respuesta se rechace y, por ejemplo, se rechacen también cinco alternativas generadas al azar al proporcionar respuestas más pobres no aceptables. En tal situación se supone que la respuesta anterior fue la óptima. Los métodos RS han sido aplicados en las espectroscopías UV-visible e IR cercano, encontrándose que en algunos casos son superiores a los métodos simplex.

Bibliografía

- Gardner, W. P. 1997. *Statistical Analysis Methods for Chemists; A Software Based Approach*. Royal Society of Chemistry, Cambridge. (Tratamiento extenso de los diseños experimentales en muchas ramas de la química.).
- Massart, D. L., Vandeginste, B. G. M., Buydens, L. M. C., De Jong, S., Lewi, P. J. and Smeyers-Verbeke, M. 1997. *Handbook of Chemometrics and Qualimetrics, Part A*. Elsevier, Amsterdam. (Buena cobertura general de la optimización y el diseño experimental.)

Morgan, E. 1991. *Chemometrics: Experimental Design*. Wiley, Chichester. (Introducción clara a los diseños factoriales.)

Otto, M. 1999. *Chemometrics; Statistics and Computer Applications in Analytical Chemistry*. Wiley-VCH, Weinheim. (Un tratamiento excelente de muchos tópicos cubiertos en los Capítulos 7 y 8 de este libro).

Ejercicios

- Se prepararon cuatro disoluciones patrón, conteniendo cada una un 16 % de cloruro (mediante pesada). Para analizar cada disolución patrón se emplearon tres métodos de valoración, cada uno con una forma diferente de determinar el punto final. El orden de los experimentos fue aleatorizado. Los resultados del cloruro encontrado (% w/w) se muestran a continuación:

Solución	Método		
	A	B	C
1	16.03	16.13	16.09
2	16.05	16.13	16.15
3	16.02	15.94	16.12
4	16.12	15.97	16.10

Comprobar si existen diferencias significativas entre (a) la concentración de cloruro en las diferentes soluciones y (b) los resultados obtenidos por los diferentes métodos.

- Se evaluó un nuevo método de extracción asistido por microondas para la recuperación de 2-clorofenol de muestras de suelos aplicándolo a cinco suelos diferentes durante tres días. Los porcentajes de recuperación obtenidos fueron:

Suelo	Día		
	1	2	3
1	67	69	82
2	78	66	76
3	78	73	75
4	70	69	87
5	69	71	80

Determinar si existen diferencias significativas en el porcentaje de recuperación (a) entre suelos, y/o entre días.

(Datos adaptados de Egizabal, A., Zuloaga, O., Etxebarria, N., Fernández, L. A. Madariaga, J. M. 1988. *Analyst* 123:1679)

- En estudios con un método fluorimétrico para la determinación del surfactante aniónico dodecil sulfato sódico (SDS) se estudiaron los efectos de interferencia de cuatro compuestos orgánicos para tres relaciones mоляres diferentes SDS: compuesto. Los porcentajes de recuperación de SDS encontrados fueron:

<i>Compuesto Orgánico</i>	<i>Relaciones molares</i>		
	<i>1:1</i>	<i>1:2</i>	<i>1:3</i>
Ácido 2,3-naftaleno dicarboxílico	91	84	83
Ácido tánico	103	104	104
Fenol	95	90	94
Difenilamina	119	162	222

Determinar si la recuperación de SDS depende de la presencia de los compuestos orgánicos y/o de la relación molar en que están presentes. ¿Cómo se modificaría el experimento para probar si están presentes efectos de interacción?

(Recalde Ruiz, D. L., Carvalho Torres, A. L., Andrés García, E. Díaz García, M. E. 1988. *Analyst* 123:2257)

4. Las disoluciones de mercurio guardadas en matraces de polipropileno pierden contenido por combinación con trazas de estaño del polímero. Se midió la absorbancia de una solución acuosa patrón de mercurio almacenada en dichos matraces, para dos niveles de los siguientes factores:

<i>Factor</i>	<i>Bajo</i>	<i>Alto</i>
A – Agitación del matraz	Ausente	Presente
C – Limpieza del matraz	Una vez	Dos veces
T – Tiempo de permanencia	1 hora	18 horas

Se obtuvieron los resultados siguientes. Calcular los efectos principales y de interacción.

<i>Combinación de los niveles de factores</i>	<i>Absorbancia</i>
1	0.099
a	0.084
c	0.097
t	0.076
ac	0.082
ta	0.049
tc	0.080
atc	0.051

(Adaptado de Kuldvere, A., 1982. *Analyst* 107:179)

5. En un experimento de colaboración entre laboratorios para la determinación de arsénico en carbón, se enviaron muestras de carbón de tres regiones diferentes a tres laboratorios. Cada laboratorio realizó un análisis por duplicado de cada muestra obteniéndose los resultados que se muestran a continuación (medidos en μgg^{-1}).

<i>Muestra</i>	<i>Laboratorio</i>		
	<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>
A	5.1, 5.1	5.3, 5.4	5.3, 5.1
B	5.8, 5.4	5.4, 5.9	5.2, 5.5
C	6.5, 6.1	6.6, 6.7	6.5, 6.4

Comprobar que no existe interacción significativa laboratorio-muestra y contrastar las diferencias significativas entre laboratorios.

6. Se sabe que el pH óptimo en una reacción catalizada por enzimas cae entre 5 y 9. Determinar los valores de pH a los que deben realizarse los dos primeros experimentos en un proceso de optimización en las siguientes circunstancias:
 - (a) El número de experimentos y el grado de optimización que se necesita no son predeterminados.
 - (b) El pH óptimo que se necesita sea conocido en un intervalo máximo de 0.1 unidades de pH.
 - (c) Sólo se pueden realizar seis experimentos.
¿Cuál es el grado de optimización obtenido en (c)?
7. Si se encuentra que la respuesta en el vértice 7 en el ejemplo de la optimización simplex (págs. 213-216) es 12, ¿qué vértice debería rechazarse al formular el nuevo simplex y cuáles son las coordenadas del nuevo vértice?

Análisis multivariante

8.1. Introducción

Los métodos modernos de análisis automático facilitan la recogida de grandes cantidades de datos. Por ejemplo, en química clínica es una tarea cotidiana la determinación de muchos analitos en cada muestra de sangre, orina, etc. Una serie de métodos espectroscópicos y cromatográficos pueden proporcionar datos analíticos sobre muchos componentes de una única muestra. Situaciones como éstas, en que se miden varias variables para cada muestra, proporcionan **datos multivariantes**. En química analítica estos datos se emplean, entre otras cosas, para la discriminación, por ejemplo, para determinar si un vertido de aceite procede de una fuente concreta mediante el análisis del espectro de fluorescencia. Otro uso es la clasificación, por ejemplo, dividiendo en grupos las fases estacionarias con propiedades similares empleadas en cromatografía gas-líquido estudiando el comportamiento respecto a la retención de una variedad de solutos con propiedades químicas diferentes. En cada caso, sería posible comparar muestras considerando cada variable cada vez, pero las computadoras modernas permiten métodos de procesado más sofisticados en los que todas las variables se consideran simultáneamente.

Cada muestra, o para generalizar, cada objeto se caracteriza por un conjunto de medidas. Cuando sólo se miden dos variables esta información se puede representar gráficamente, como se muestra en la Figura 8.1, donde las coordenadas del punto dan los valores que toman las dos variables. El punto también se puede definir mediante un vector, llamado **vector de datos**, uniendo el origen con el punto. Los objetos que tengan propiedades similares tendrán vectores de datos similares, es decir, caerán unos cerca de otros en el espacio definido por las variables. Cada uno de esos grupos se llama un **conglomerado** («cluster»).

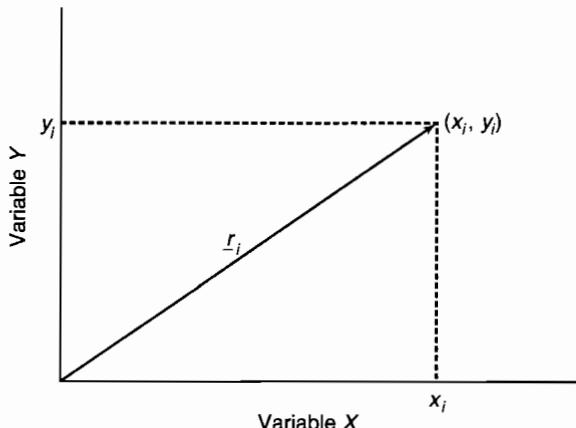


Figura 8.1. Diagrama para ilustrar un vector de datos, r_i . Los valores que toman las variables X e Y son x_i e y_i , respectivamente.

En el caso de tres variables la representación gráfica resulta menos sencilla, siendo inviable para cuatro o más: es aquí donde el análisis por computadora resulta especialmente valioso a la hora de encontrar pautas y relaciones. El álgebra matricial resulta necesaria para describir los métodos del análisis multivariante de manera completa. Sin embargo, no se intentará nada de esto en este capítulo. El objetivo es proporcionar una perspectiva del propósito y la potencia de los métodos multivariantes. Se emplearán conjuntos de datos sencillos para ilustrar los métodos y se describirán algunas aplicaciones prácticas.

8.2. Análisis inicial

La Tabla 8.1 muestra un ejemplo de algunos datos multivariantes. Proporciona las intensidades relativas de emisión de fluorescencia a cuatro longitudes de onda diferentes (300, 350, 400, 450 nm) para 12 compuestos, A-L. La intensidad de emisión a la longitud de onda de máxima fluorescencia sería 100, en cada uno de los casos. Como un primer paso, puede resultar útil calcular la media y la desviación típica para cada variable. Estas medidas también aparecen en la tabla.

Además, puesto que tenemos más de una variable, es posible calcular un coeficiente de correlación momento-producto (Pearson) para cada par de variables. Estos coeficientes aparecen resumidos en la **matriz de correlación** de la Tabla 8.2, obtenida con Minitab.

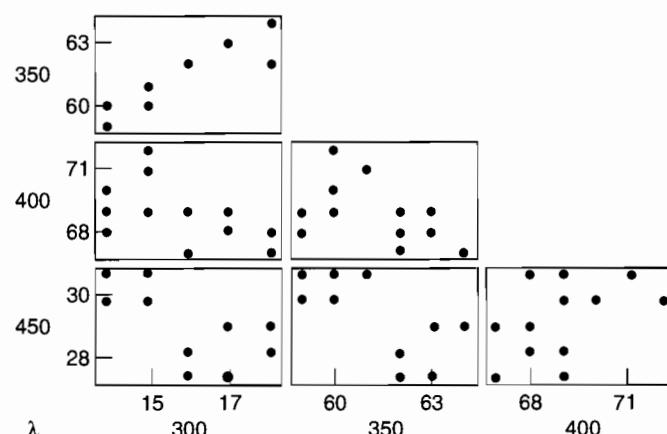
Esto muestra que, por ejemplo, el coeficiente de correlación para las intensidades a 300 y 350 nm es 0.914. Las relaciones entre pares de variables se puede ilustrar mediante un **gráfico draftsman** como se muestra en la Figura 8.2. Se trata de una representación que proporciona diagramas de dispersión para cada par de variables. Tanto la matriz de correlación como los diagramas de dispersión indican que existe correlación entre algunos pares de variables.

Tabla 8.1. La intensidad del espectro de fluorescencia a cuatro longitudes de onda diferentes para una serie de compuestos.

Compuesto	Longitud de onda (nm)			
	300	350	400	450
A	16	62	67	27
B	15	60	69	31
C	14	59	68	31
D	15	61	71	31
E	14	60	70	30
F	14	59	69	30
G	17	63	68	29
H	16	62	69	28
I	15	60	72	30
J	17	63	69	27
K	18	62	68	28
L	18	64	67	29
Media	15.75	61.25	68.92	29.25
Desviación estándar	1.485	1.658	1.505	1.485

Tabla 8.2. La matriz de correlación para los datos de la Tabla 8.1.**Correlaciones (Pearson)**

	300	350	450
350	0.914		
400	-0.498	-0.464	
450	-0.670	-0.692	0.458

**Figura 8.2.** Gráfico draftsman para los datos de la Tabla 8.1.

8.3. Análisis de componentes principales

Un problema que aparece en el análisis multivariante es que el volumen bruto de los datos puede dificultar el reconocimiento de pautas («pattern recognition») y relaciones. Por ejemplo, un espectro se caracteriza habitualmente por varios cientos de medidas de intensidad en lugar de sólo por cuatro como en la Tabla 8.1, conteniendo en este caso la matriz de correlación cientos de valores. Por tanto, el objetivo de muchos métodos del análisis multivariante es la reducción de los datos. Con mucha frecuencia se presenta cierta correlación entre las variables, como ocurre con los datos de la Tabla 8.1, de manera que algo de la información resulta redundante. El **análisis de componentes principales (ACP)** es una técnica para reducir la cantidad de datos cuando está presente la correlación. Resulta obvio afirmar que no es una técnica útil cuando las variables no están correlacionadas.

La idea que se encuentra detrás del ACP es encontrar **componentes principales** Z_1, Z_2, \dots, Z_n que sean combinaciones lineales de las variables originales X_1, X_2, \dots, X_n , que describen cada muestra, es decir,

$$Z_1 = a_{11}X_1 + a_{12}X_2 + a_{13}X_3 + \dots + a_{1n}X_n$$

$$Z_2 = a_{21}X_1 + a_{22}X_2 + a_{23}X_3 + \dots + a_{2n}X_n$$

etc.

Por ejemplo, para los datos de la Tabla 8.1 habría cuatro componentes principales Z_1, Z_2, Z_3 y Z_4 , cada una de las cuales sería una combinación lineal de X_1, X_2, X_3 y X_4 , las intensidades de fluorescencia a las longitudes de onda proporcionadas. Los coeficientes a_{11}, a_{12} , etc., se eligen de manera que las nuevas variables, a diferencia de las variables originales, no se encuentren correlacionadas unas con otras. La generación de un nuevo conjunto de variables de esta forma puede parecer un ejercicio con poco sentido puesto que se obtienen n nuevas variables en lugar de las n originales, y en consecuencia no hay ninguna reducción en el conjunto de datos. Sin embargo, las componentes principales también se eligen de manera que la primera componente principal (CP1), Z_1 , recoge la mayor parte de la variación que hay en el conjunto de datos, la segunda (CP2), Z_2 , recoge la siguiente mayor parte de la variación y así sucesivamente. Por consiguiente, cuando haya correlación significativa el número de CPs útiles será mucho menor que el número de variables originales.

La Figura 8.3 aclara el método cuando sólo hay dos variables y, por tanto, sólo dos componentes principales. En la Figura 8.3a las componentes principales se muestran mediante líneas de trazos suspensivos. Las componentes principales forman ángulos rectos unas con otras, propiedad conocida como **ortogonalidad**. La Figura 8.3b muestra los puntos referidos a estos dos nuevos ejes y también la proyección de los puntos sobre CP1 y CP2. Se puede ver que en este ejemplo Z_1 recoge la mayor parte de la variación y así sería posible reducir la cantidad de datos a manejar trabajando con Z_1 en una dimensión en lugar de trabajar en dos dimensiones con X_1 y X_2 . (En la práctica, no sería necesario utilizar ACP cuando haya sólo dos variables, ya que tales datos son relativamente fáciles de manejar.)

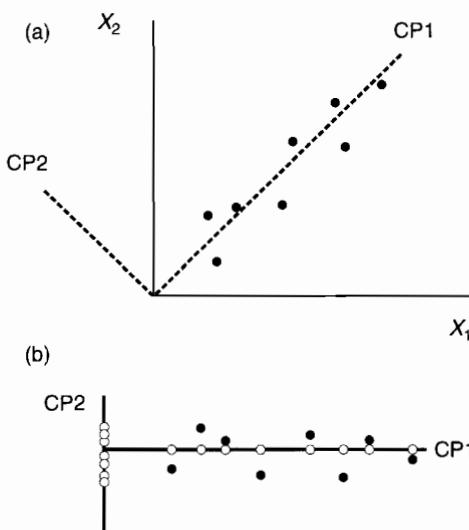


Figura 8.3. (a) Diagrama que ilustra las dos componentes principales, CP1 y CP2, para las dos variables, X_1 y X_2 . (b) Puntos referidos a los ejes de las componentes principales. ● indica puntos de datos, ○ su proyección sobre los ejes.

La Figura 8.3 muestra que el ACP es equivalente a una rotación de los ejes originales, de tal manera que CP1 se encuentra en la dirección de la máxima variación, pero manteniendo el ángulo entre los ejes. Con más de dos variables no resulta posible ilustrar el método gráficamente pero de nuevo se puede pensar en el ACP como una rotación de los ejes de tal manera que CP1 se encuentra en la dirección de máxima variación, CP2 se encuentra en la dirección de la siguiente mayor variación y así sucesivamente. A menudo resulta que entre CP1 y CP2 recogen la mayor parte de la variación en el conjunto de datos. Como resultado los datos se pueden representar en sólo dos dimensiones en lugar de las n originales.

Una decisión que se ha de tomar antes de llevar a cabo un ACP es si emplear los datos originales o primero estandarizar cada variable a media cero y varianza unidad. Si las variables no se estandarizan y una variable tiene una varianza mucho más grande, entonces esta variable controlará la primera componente principal. La estandarización evita esto haciendo que todas las variables tengan el mismo peso: en el desarrollo que sigue se supondrá que los datos se han estandarizado.

En términos matemáticos las componentes principales son los autovectores o vectores propios de la matriz de correlación y la técnica para encontrar estos autovectores se llama análisis propio. A cada componente principal (es decir, autovector) le corresponde un autovalor que proporciona la cantidad de varianza en el conjunto de datos que se encuentra explicada por esa componente principal. Para datos estandarizados cada una de las variables originales tiene una desviación estándar, y por tanto una varianza, de 1. Así, la varianza total del conjunto de datos y la suma de los autovalores son ambos iguales al número de variables.

EJEMPLO 8.3.1

Realícese un análisis de componentes principales de los datos de la Tabla 8.1.

Esto se puede hacer utilizando una variedad de paquetes informáticos (por ejemplo, Minitab, SAS, The Unscrambler, ...). La salida impresa que aparece a continuación se obtuvo con Minitab.

Principal Component Analysis**Eigenanalysis of the Correlation Matrix**

Eigenvalue	2.8807	0.6453	0.3897	0.0844
Proportion	0.720	0.161	0.097	0.021
Cumulative	0.720	0.881	0.979	1.000
Variable	PC1	PC2	PC3	PC4
300	0.547	-0.238	-0.395	0.699
350	0.546	-0.299	-0.324	-0.712
400	-0.400	-0.913	0.073	0.043
450	-0.493	0.145	-0.856	-0.049

En este ejemplo hay cuatro variables y así la suma de las varianzas para los datos (ahora estandarizados) es 4. La primera línea etiquetada «eigenvalue» («autovalor») muestra cómo esta varianza se comparte entre las cuatro componentes principales, teniendo PC1 una varianza de 2,8807, PC2 de 0,6453, y así sucesivamente. Nótese que, como se esperaría, PC1 tiene la varianza más grande, PC2 la siguiente más alta, y así sucesivamente. Las componentes principales con un autovalor mayor que 1 contribuyen más a la varianza que las variables originales. La suma de las varianzas de las cuatro componentes principales es 4 (descartando los errores de redondeo). De nuevo esto es lo que se esperaría puesto que entre todas las componentes principales deben explicar toda la variación en el conjunto de datos. La segunda línea de la tabla (etiquetada «proportion») da la proporción de la varianza explicada por cada componente principal. La línea siguiente muestra la proporción acumulada. Informa, por ejemplo, de que entre PC1 y PC2 recogen el 88,1% de la variación.

La mitad inferior de la tabla proporciona los coeficientes de las componentes principales. (Los coeficientes se encuentran en una escala de modo que la longitud de un vector de datos no se vea alterada por el cambio en las variables. El signo del primer coeficiente de la primera componente principal se elige, arbitrariamente, para que sea positivo.) Por ejemplo, la primera componente principal es $Z_1 = 0.547X_1 + 0.546X_2 - 0.400X_3 - 0.493X_4$ donde X_1, X_2, X_3 y X_4 son las intensidades relativas estandarizadas a 300, 350, 400 y 450 nm, respectivamente. Cada variable original se estandariza restando la media a esa variable y luego dividiendo por la correspondiente desviación estándar (obtenida de la Tabla 8.1). Así, para el compuesto A,

$$\begin{aligned}
 Z_1 &= 0.547 \times \frac{(16 - 15.75)}{1.485} + 0.546 \times \frac{(62 - 61.25)}{1.658} - 0.400 \times \frac{(67 - 68.92)}{1.505} \\
 &\quad - 0.493 \times \frac{(27 - 29.25)}{1.485} \\
 &= 1.60
 \end{aligned}$$

A veces este valor se conoce como una «puntuación» para PC1. La Figura 8.4 representa las puntuaciones de las dos primeras componentes principales, calculadas de esta manera, para los compuestos A-L. Este diagrama revela que los compuestos caen en dos grupos distintos, un hecho que no resulta nada claro en los datos originales.

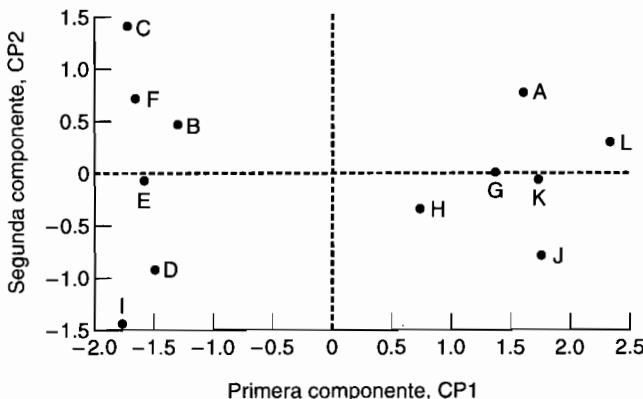


Figura 8.4. Las puntuaciones de las dos primeras componentes principales para los datos de la Tabla 8.1.

La Tabla 8.3 muestra los datos originales reordenados de manera que compuestos con espectros similares se agrupan juntos. Las diferencias entre los dos grupos son ahora aparentes. Hay una diferencia a las cuatro longitudes de onda, y las magnitudes de estas diferencias son similares. Esto corresponde al hecho de que los coeficientes para la primera componente principal son similares en tamaño. El grupo superior en la Tabla 8.3 tiene intensidades más altas que el grupo inferior a 300 y 350 nm y lo opuesto es verdadero a 400 y 450 nm. Esto corresponde al hecho de que los primeros dos coeficientes de Z_1 tienen el signo opuesto a los dos segundos. Una vez que se han identificado dos o más grupos utilizando ACP, resulta posible explicar las diferencias entre ellos en términos de estructura química. A veces puede ser posible proporcionar una interpretación física a las componentes principales.

Tabla 8.3. Los datos de la Tabla 8.1 ordenados de nuevo, de manera que los compuestos con espectros similares se agrupan juntos.

Compuesto	Longitud de onda (nm)			
	300	350	400	450
A	16	62	67	27
G	17	63	68	29
H	16	62	69	28
J	17	63	69	27
K	18	62	68	28
L	18	64	67	29
B	15	60	69	31
C	14	59	68	31
D	15	61	71	31
E	14	60	70	30
F	14	59	69	30
I	15	60	72	30

Por esta razón, a veces las componentes principales son denominadas como **variables latentes** (es decir, ocultas).

En este ejemplo los valores de los coeficientes muestran que cada una de las variables contribuye a CP1 y al menos tres de ellas contribuyen a CP2. En otros casos, se encuentra que algunas variables no contribuyen significativamente incluso a CP1. Un beneficio importante del ACP es que entonces dichas variables se pueden rechazar.

El ACP es en primer lugar un método matemático para la reducción de datos y no supone que los datos tengan ninguna distribución concreta. Se ha visto como el ACP se puede utilizar para reducir la dimensionalidad de un conjunto de datos y cómo puede, por tanto, revelar conglomerados. Se ha utilizado, por ejemplo, sobre los resultados de espectroscopia de transformadas de Fourier a fin de revelar diferencias entre cabello de diferentes grupos raciales y para clasificar diferentes tipos de fibra de algodón. En otro ejemplo se midieron las concentraciones de una serie de clorobifenilos en muestras de una variedad de mamíferos marinos. Un ACP de los resultados reveló diferencias entre las especies, diferencias entre hombres y mujeres, y diferencias entre individuos jóvenes y adultos. También encuentra el ACP aplicación en la regresión múltiple (véase la Sección 8.8).

8.4. Análisis de conglomerados

Aunque el ACP puede revelar grupos de objetos similares, no siempre resulta eficiente al hacerlo. La Figura 8.5 muestra una situación en la que la primera componente principal no proporciona una buena separación entre dos grupos. En esta sección se vuelven a tratar métodos cuyo propósito explícito es la búsqueda de grupos.

El **análisis de conglomerados** («análisis cluster») es un método para dividir un grupo de objetos en una serie de clases de manera que los objetos similares se encuentren en la misma clase. Como en el ACP, los grupos no se suelen conocer antes de realizar el análisis matemático y no se realiza ningún supuesto sobre la distribución de las variables. El análisis de conglomerados busca objetos que se encuentren próximos en el espacio de las varia-

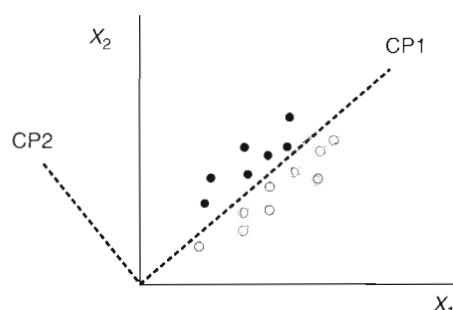


Figura 8.5. Una situación en la que la primera componente principal no proporciona una buena separación entre dos grupos.

bles. La distancia, d , entre dos puntos en un espacio n -dimensional con coordenadas (x_1, x_2, \dots, x_n) y (y_1, y_2, \dots, y_n) se calcula habitualmente a través de la **distancia Euclídea** definida por:

$$d = \sqrt{(x_1 - y_1)^2 + (x_2 - y_2)^2 + \dots + (x_n - y_n)^2}$$

Por ejemplo, la distancia entre los compuestos E y F de la Tabla 8.3 (si se utilizan las variables no estandarizadas) viene dada por:

$$d = \sqrt{(14 - 14)^2 + (60 - 59)^2 + (70 - 69)^2 + (30 - 39)^2} = \sqrt{2}$$

Como en el ACP, se ha de tomar la decisión de si se estandarizan o no los datos. La estandarización de los datos significará que todas las variables se miden en una escala común de manera que una variable no domina a las otras.

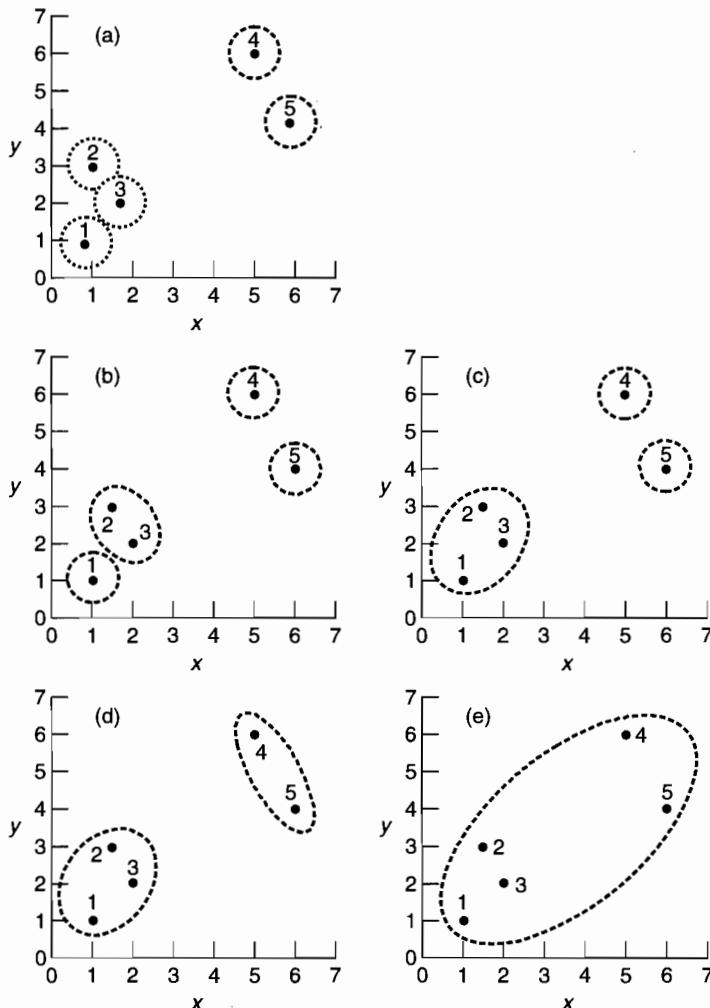


Figura 8.6. Etapas en la formación de conglomerados: las líneas a trazos suspensivos representan a los conglomerados.

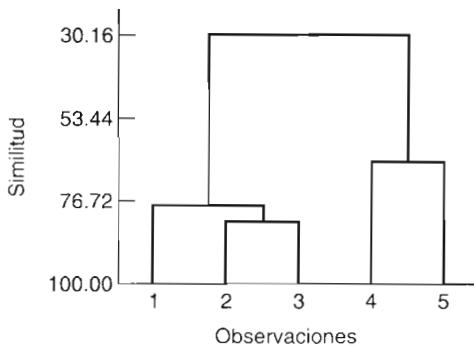


Figura 8.7. Un dendrograma ilustrando las etapas de la formación de conglomerados para la Figura 8.6.

Hay una serie de métodos para la búsqueda de clusters. Un método empieza considerando que cada objeto forma un «conglomerado» de tamaño uno y compara las distancias entre éstos. Los dos puntos que se encuentren más próximos se unen para formar uno nuevo. Las distancias entre los conglomerados se comparan de nuevo y se combinan los dos conglomerados que se encuentren más próximos. Este procedimiento se repite y, si se continua indefinidamente, agruparía todos los puntos juntos. Existe una amplia gama de formas de calcular la distancia entre dos conglomerados que contengan más de un miembro. El más simple conceptualmente consiste en tomar la distancia entre dos conglomerados como la distancia entre los elementos o puntos más próximos de los mismos. Esto se conoce como el **método de vinculación simple o del vecino más próximo**, ilustrándose en la Figura 8.6. Las sucesivas etapas de la agrupación se pueden mostrar sobre un **dendrograma** como el de la Figura 8.7. El eje vertical puede mostrar o la distancia, d_{ij} , entre dos puntos i y j cuando se unen o alternativamente la similitud, s_{ij} , definida por $s_{ij} = 100(1 - d_{ij}/d_{\max})$ donde d_{\max} es la máxima separación entre cualquier par de puntos. La etapa en la que se detiene la formación de los grupos, que determina el número de conglomerados en la clasificación final, es una cuestión que queda al juicio de la persona que realiza el análisis.

EJEMPLO 8.4.1

Aplíquese el método de vinculación simple a los datos (no estandarizados) de la Tabla 8.1.

Utilizando Minitab se obtuvo la salida siguiente. Con dicho programa de computadora las vinculaciones continúan hasta que sólo haya un conglomerado, a menos que el usuario especifique otra cosa.

El dendrograma de la Figura 8.8 ilustra las fases de la vinculación. La escala vertical proporciona la distancia entre los dos grupos en el momento en que se combinaron. La tabla anterior muestra que los dos primeros puntos que se unieron fueron 5 (compuesto E) y 6

Hierarchical Cluster Analysis of Observations

Euclidean Distance, Single Linkage

Amalgamation Steps

Step	Number of clusters	Similarity level	Distance level	Clusters joined	New cluster	Number of Obs in new cluster
1	11	80.20	1.414	5 6	5	2
2	10	80.20	1.414	3 5	3	3
3	9	75.75	1.732	7 12	7	2
4	8	75.75	1.732	7 11	7	3
5	7	75.75	1.732	8 10	8	2
6	6	75.75	1.732	4 9	4	2
7	5	75.75	1.732	2 3	2	4
8	4	71.99	2.000	7 8	7	5
9	3	71.99	2.000	2 4	2	6
10	2	68.69	2.236	1 7	1	6
11	1	49.51	3.606	1 2	1	12

(compuesto F) con una separación de 1.414 ($= \sqrt{2}$ como se calculó antes). El lector puede verificar que la distancia entre C y F también es $\sqrt{2}$ de manera que la siguiente etapa es unir el punto 3 al conglomerado formado por los puntos 5 y 6. El proceso continúa hasta que todos los puntos se encuentren en un conglomerado. No obstante, si «cortásemos el árbol», es decir, detuviéramos la agrupación en el momento que indica la línea de puntos suspensivos de la Figura 8.8, este análisis sugeriría que los compuestos A-L caen en dos grupos distintos. No resulta sorprendente que los grupos contengan los mismos elementos que en la aplicación del ACP.

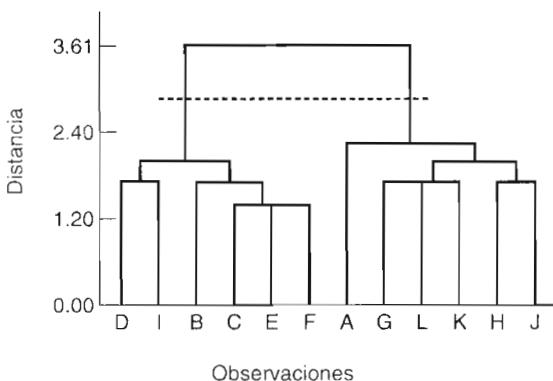


Figura 8.8. Un dendrograma para los datos de la Tabla 8.1.

El método de análisis de conglomerados que se acaba de describir es **jerárquico**, lo que significa que una vez que se ha asignado un objeto a un grupo el proceso no se puede invertir. En los métodos no jerárquicos se tiene justamente lo contrario. Uno de dichos métodos es el **método de k-medias** que se encuentra disponible, por ejemplo, en Minitab. Empieza por dividir los

puntos en k conglomerados o alternativamente por elegir k «puntos de semilla». Entonces cada individuo se asigna al conglomerado (o punto de semilla) cuyo centroide se encuentre más próximo. Cuando un conglomerado pierde o gana un punto se vuelve a calcular la posición del centroide. El proceso continúa hasta que cada punto se encuentre en el conglomerado cuyo centro sea el más próximo.

Este método tiene la desventaja de que el agrupamiento final refleja la elección de los conglomerados o puntos de semilla. Otra desventaja es que el valor de k se tiene que elegir de antemano. Se han sugerido muchos métodos para decidir el mejor valor de k , pero ninguno de ellos resulta realmente satisfactorio.

El análisis de conglomerados se ha utilizado para clasificar la multitud de fases empleadas en cromatografía gas-líquido. Se puede entonces seleccionar un conjunto más pequeño tomando una fase de cada conglomerado: esto proporciona un rango de fases estacionarias, cada una con características de separación distintivas. Otra aplicación es la clasificación de antibióticos en términos de su actividad frente a diferentes tipos de bacterias a fin de aclarar la relación entre actividad biológica y estructura molecular. Otra aplicación reciente del análisis de conglomerados es la clasificación de vinagres de vino sobre la base de una variedad de constituyentes orgánicos e inorgánicos.

8.5. El análisis discriminante

Los métodos descritos hasta el momento en este capítulo nos han ayudado a ver si los objetos forman grupos cuando no se espera ningún conocimiento *a priori* de los grupos. Dichos métodos se llaman a veces **reconocimiento de pautas no supervisado**. Ahora nos detendremos en el **reconocimiento de pautas supervisado**. Aquí se empieza con una serie de objetos cuya pertenencia al grupo es conocida, por ejemplo, jugos de manzana extraídos de diferentes variedades de fruta. Estos objetos se llaman a veces **objetos de entrenamiento o aprendizaje**. El objetivo de los métodos de reconocimiento de pautas supervisado es utilizar estos objetos para encontrar una regla para asignar un nuevo objeto de grupo desconocido al grupo correcto.

El punto de partida del **análisis discriminante lineal** (ADL) es encontrar **una función discriminante lineal** (FDL), Y , que sea una combinación lineal de las variables originales X_1 , X_2 , etc.:

$$Y = a_1X_1 + a_2X_2 + \dots + a_nX_n$$

Las n medidas originales para cada objeto se combinan en un único valor de Y , de manera que los datos se han reducido de n dimensiones a una dimensión. Los coeficientes de los términos se eligen de manera que Y refleje la *diferencia* entre los grupos tanto como sea posible: los objetos en el mismo grupo tendrán valores similares de Y y los objetos en grupos diferentes tendrán valores muy diferentes de Y . En consecuencia, la función discriminante lineal (FDL) proporciona un medio de discriminación entre los dos grupos.

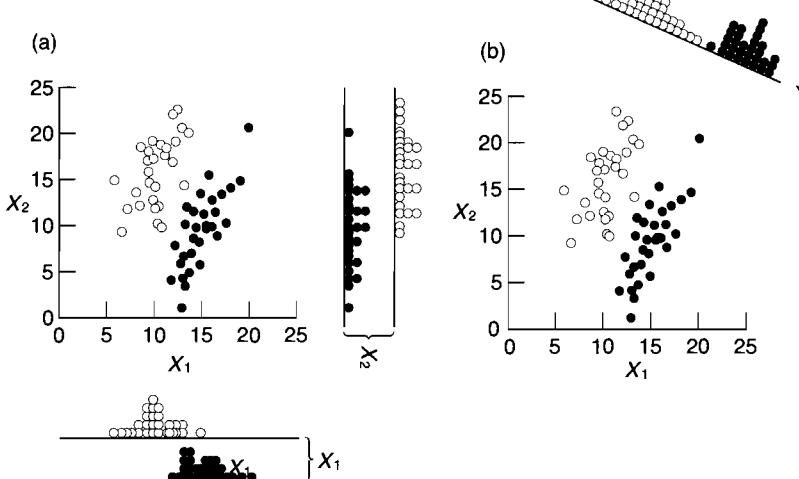


Figura 8.9. (a) Dos grupos y la distribución de cada variable para cada grupo.
 (b) La distribución de la función discriminante lineal para cada grupo.

La situación más simple es aquella en la que hay dos clases y dos variables, X_1 y X_2 , como se ilustra en la Figura 8.9a. Este diagrama también muestra la distribución de las variables individuales para cada grupo en forma de diagramas de puntos. Para ambas variables, hay un considerable solapamiento en las distribuciones para los dos grupos. Se puede demostrar que la FDL para estos datos resulta ser $Y = 0.91X_1 + 0.42X_2$. Esta FDL se muestra en la Figura 8.9b por la línea etiquetada Y y el valor que la función toma para un punto dado viene dado por la proyección del punto sobre esta línea. La Figura 8.9b muestra los gráficos de punto de la FDL, Y , para cada grupo. Se puede ver que no hay ningún solapamiento entre la distribución de Y para los dos grupos. Esto significa que Y es mejor al discriminar entre los grupos que las variables originales.

Un objeto desconocido será clasificado de acuerdo a su valor de Y . Una aproximación inicial basada en el sentido común sería comparar Y con \bar{Y}_1 e \bar{Y}_2 , los valores para la media de Y en los dos grupos. Si Y está más próximo a \bar{Y}_1 que a \bar{Y}_2 , entonces el objeto pertenece al grupo 1, en otro caso pertenece al grupo 2. Para estos datos, $\bar{Y}_1 = 3.15$ e $\bar{Y}_2 = 10.85$. Así, si $Y - 3.15 < 10.85 - Y$, esto es $Y < 7.0$, se clasificará al objeto en el grupo 1, en otro caso se clasificará en el grupo 2. Este método resulta sólo satisfactorio si los dos grupos tienen distribuciones cuya forma sea similar. También, si la experiencia demuestra que un objeto es más verosímil que pertenezca a uno de los grupos que al otro, entonces la regla de decisión tendrá que ser modificada. Algunos programas de computadora como Minitab permiten dicha modificación.

El éxito del ADL al distribuir o asignar un objeto correctamente se puede verificar de varias formas. La más simple es utilizar la regla de clasificación para clasificar cada objeto en el grupo y registrar si la clasificación resultante es correcta. La tabla resumiendo los resultados de este procedimiento a veces se llama **matriz de confusión** (siempre mostrada en Minitab). Este método

suele tender a ser muy optimista ya que el objeto que se clasifica era parte del conjunto que se utilizó para construir la regla. Un método mejor divide los datos originales en dos grupos elegidos al azar. El primer grupo, conocido como el **conjunto de aprendizaje**, se utiliza para encontrar la FDL. Entonces los objetos en el segundo grupo (el **conjunto de contraste**) son asignados utilizando esta función y se obtiene una tasa de éxito. Un tercer método, que utiliza los datos de manera más económica, es una **validación cruzada**, a veces llamada «el método de dejar uno fuera». Como sugiere el último nombre, éste encuentra la FDL con un objeto omitido y verifica si la FDL entonces asigna correctamente al objeto omitido. Entonces el procedimiento se repite una vez para cada objeto y se encuentra nuevamente una tasa de éxito. Este método es una opción de Minitab.

Si la distribución no tiene formas similares, entonces se puede utilizar una modificación del ADL, conocida como **análisis discriminante cuadrático** (ADQ). Este método supone que los dos grupos tienen distribuciones normales multivariantes pero con varianzas diferentes.

Tanto el ADL como el ADQ se pueden extender a la situación donde hay más de dos grupos de objetos. Para evitar reglas de decisión complejas del tipo dado antes ($y - 3.15 < 10.85 - y$, etc.) muchos programas suponen una distribución normal multivariante y encuentran una nueva función para cada grupo, que incluye un término constante. A partir de estas funciones se calcula una puntuación para cada nuevo objeto y el objeto se asigna al grupo cuya puntuación sea la más alta. Esto se ilustra en el siguiente ejemplo.

EJEMPLO 8.5.1

La tabla siguiente proporciona la concentración en g l^{-1} de sucrosa, glucosa, fructosa y sorbitol en zumo de manzana a partir de tres fuentes diferentes: A, B y C. Llevar a cabo un ADL y evaluar el método utilizando validación cruzada.

Variedad	Sucrosa	Glucosa	Fructosa	Sorbitol
A	20	6	40	4.3
A	27	11	49	2.9
A	26	10	47	2.5
A	34	5	47	2.9
A	29	16	40	7.2
B	6	26	49	3.8
B	10	22	47	3.5
B	14	21	51	6.3
B	10	20	49	3.2
B	8	19	49	3.5
C	8	17	55	5.3
C	7	21	59	3.3
C	15	20	68	4.9
C	14	19	74	5.6
C	9	15	57	5.4

Clasifíquese un zumo de manzana con 11, 23, 50 y 3.9 g l^{-1} de sucrosa, glucosa, fructosa y sorbitol, respectivamente.

El análisis siguiente se obtuvo utilizando Minitab.

Discriminant Analysis

Linear Method for Response: Variety

Predictors: Sucrose Glucose Fructose Sorbital

Group	A	B	C
Count	5	5	5

Summary of Classification

Put intoTrue Group....

Group	A	B	C
A	5	0	0
B	0	5	0
C	0	0	5
Total N	5	5	5
N Correct	5	5	5
Proportion	1.000	1.000	1.000

N = 15 N Correct = 15 Proportion Correct = 1.000

Summary of Classification with Cross-validation

Put intoTrue Group....

Group	A	B	C
A	5	0	0
B	0	5	0
C	0	0	5
Total N	5	5	5
N Correct	5	5	5
Proportion	1.000	1.000	1.000

N = 15 N Correct = 15 Proportion Correct = 1.000

Linear Discriminant Function for Group

	A	B	C
Constant	-44.19	-74.24	-114.01
Sucrose	0.39	-1.66	-2.50
Glucose	0.42	1.21	0.54
Fructose	1.46	2.53	3.48
Sorbitol	2.19	3.59	5.48

La parte correspondiente a «summary of classification» (resumen de la clasificación) proporciona la matriz de confusión y muestra una tasa de éxito del 100%. La correspondiente a «summary of classification with cross-validation» (resumen de la clasificación con validación cruzada) también muestra una tasa de éxito del 100%.

Para el nuevo zumo de manzana las puntuaciones discriminantes lineales para cada grupo tienen valores:

$$\text{Grupo A: } -44.19 + 0.39 \times 11 + 0.42 \times 23 + 1.46 \times 50 + 2.19 \times 3.9 = 51.301$$

$$\text{Grupo B: } -74.24 - 1.66 \times 11 + 1.21 \times 23 + 2.53 \times 50 + 3.59 \times 3.9 = 75.831$$

$$\text{Grupo C: } -114.01 - 2.5 \times 11 + 0.54 \times 23 + 3.48 \times 50 + 5.48 \times 3.9 = 66.282$$

La puntuación para el grupo B es la más alta, de manera que el zumo de manzana desconocido se presupone que procede de la fuente B.

A diferencia de los otros procedimientos descritos en este capítulo, la estandarización de las variables no tiene ningún efecto sobre el resultado del análisis discriminante lineal: meramente vuelve a escalar los ejes. No obstante, puede ser útil trabajar con las variables estandarizadas a fin de decidir las variables que son importantes al proporcionar la discriminación entre los grupos. Como una guía general serán aquellas variables que tengan los coeficientes más grandes en las funciones discriminantes lineales. Una vez que estas variables se hayan identificado, se pueden investigar las prestaciones del método con menos variables para ver si aún se puede lograr una discriminación satisfactoria entre los grupos (ver el Ejercicio 1 al final de este capítulo).

Algunas aplicaciones recientes del ADL incluyen la clasificación de aceites vegetales utilizando los datos obtenidos de una lista de sensores de gases y el uso de espectros de resonancia magnética protónica para discriminar entre el tejido ovárico cancerígeno y normal.

Aunque parece que el método anterior analiza todos los grupos simultáneamente, el método es en realidad equivalente a analizar los grupos por parejas. Un método alternativo para más de dos grupos es el **análisis de variables canónicas** (AVC), analizándolos simultáneamente de manera genuina. Éste resulta ser una extensión del ADL que encuentra una serie de **variables canónicas** Y_1 , Y_2 , etc. (que son de nuevo combinaciones lineales de las variables originales). Como con el ADL, Y_1 se elige de tal forma que refleje la diferencia entre los grupos tanto como sea posible. Entonces Y_2 se elige de manera que refleje tanto como sea posible la diferencia restante entre los subgrupos, sujeto a la restricción de que no hay ninguna correlación entre Y_1 e Y_2 , y así sucesivamente. Se podría pensar en el AVC como en un ACP para grupos pero en el que, a diferencia del ACP, los resultados no dependen de la escala, de manera que no es necesario ningún tratamiento previo de los datos.

La siguiente sección describe un método alternativo que se puede utilizar cuando hay dos o más grupos.

8.6. El método de los *K* vecinos más próximos

Éste es un método conceptualmente simple para decidir cómo clasificar un objeto desconocido cuando hay dos o más grupos de objetos de clase conocida. No hace ninguna suposición sobre la distribución en las clases y se puede utilizar cuando los grupos no puedan ser separados por un plano, como se ilustra en la Figura 8.10. En su forma más simple un objeto desconocido es asignado a la clase de su vecino más próximo. Alternativamente, se toman los *K* vecinos más próximos (donde *K* es un entero pequeño) y la pertenencia a la clase se decide por un esquema de voto. Por ejemplo, supuesto que *K* es impar, el objeto desconocido se puede asignar a la clase de la mayoría de sus *K* vecinos más próximos. En versiones más sofisticadas, se pueden asignar pesos diferentes a los vecinos, dependiendo de sus distancias relativas.

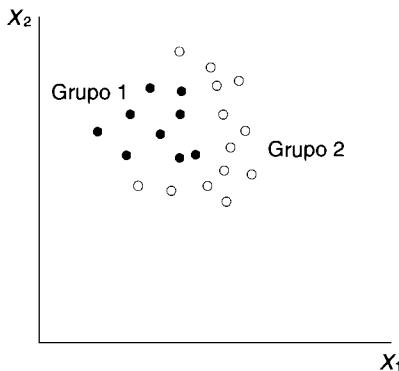


Figura 8.10. Dos grupos que no se pueden separar mediante un plano.

8.7. El modelado de clase disjunta

El énfasis en los métodos descritos en las Secciones 8.5 y 8.6 ha consistido en intentar encontrar un límite o frontera entre dos o más clases, de manera que un objeto desconocido se pueda asignar a la clase correcta. Sin embargo, se puede presentar la situación en la que el objeto desconocido no pertenezca a ninguna de las clases que se están considerando. Por ejemplo, en el Ejemplo 8.5.1 se supuso que el jugo de manzana desconocido procedía de una de las fuentes A, B o C. Sin embargo, pudiera no proceder de ninguna de estas fuentes pero todavía lo habríamos asignado (incorrectamente) a una de ellas. Se necesita una aproximación diferente si se quiere evitar este tipo de error. En lugar de tener una regla que discrimine entre clases, se necesita una regla que nos permita discriminar entre la pertenencia o no a una clase dada. Esto se hace construyendo un modelo separado para cada clase y utilizando el modelo para contrastar si el objeto desconocido pudiera ser un miembro de la clase. Esto se llama **modelado de clase disjunta**. Por ejemplo, si el número de variables es pequeño, cada clase se podría modelar por una distribución normal multivariante. Con más variables, primero es necesario realizar alguna reducción de datos. Uno de esos métodos, llamado **SIMCA (Modelado Independiente Suave de Analogía de Clase)**, construye un modelo de cada clase en términos de las primeras componentes principales para esa clase.

8.8. Regresión múltiple

Volvemos ahora a la situación en la que las variables se pueden dividir en dos grupos: variables respuesta y variables predictoras. La situación en la que se tiene una variable respuesta, y , dependiente de una serie de variables predictoras, x_1, x_2, x_3 , etc., se conoce como **regresión múltiple**. Un ejemplo sería la situación en la que y es un valor de absorbancia de una mezcla de compuestos con concentraciones $x_1, x_2, x_3 \dots$ Las técnicas de regresión lineal

$$y = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + \dots$$

Para realizar la regresión múltiple el número de muestras de calibración debe ser más grande que el número de predictores. Éste es probablemente el caso en la situación dada antes pero puede no ser siempre así como veremos en la Sección 8.11.

Como ocurriría con la regresión univariante, al evaluar el modelo resulta importante un análisis de los residuos. Los residuos deberían estar distribuidos normalmente y aleatoriamente. El desempeño de la predicción se puede validar de una manera similar a la validación de LDA, es decir, bien dividiendo los datos en dos grupos elegidos aleatoriamente, construyendo el modelo con un grupo y luego contrastándolo con el otro, o mediante la utilización de un método de «dejar uno fuera». Un gráfico de los valores predichos frente a los valores medidos proporcionará puntos próximos a una línea recta si el modelo es satisfactorio.

A diferencia de la situación univariante, existe la opción de omitir alguna de las variables predictoras. Se podría, si se quisiera, intentar todas las combinaciones posibles de las variables predictoras y encontrar aquella que prediga y acertadamente con el mínimo número de variables predictoras. El valor ajustado de R^2 (ver Sección 5.14) se puede utilizar para comparar el funcionamiento de los diferentes modelos.

8.9. Regresión sobre componentes principales

Un problema con la regresión múltiple es que las correlaciones entre las variables predictoras pueden conducir a complicaciones matemáticas, que resulten en predicciones no fiables de y . Una forma de sortear esto es realizar un ACP sobre las variables x y luego realizar una regresión de y sobre las componentes principales. Esto se conoce como **regresión sobre componentes principales** (RCP). Puesto que las componentes principales no se encuentran correlacionadas (ver Sección 8.3), el problema de la correlación entre las variables predictoras resulta superado.

RCP resulta también una técnica valiosa cuando el número de variables predictoras originales supera al número de muestras de calibración disponibles. El número de variables predictoras se puede reducir utilizando las primeras componentes principales en lugar de las variables originales. Este método proporcionará resultados satisfactorios con tal que las componentes principales utilizadas recojan entre ellas la mayor parte de la variación en las variables predictoras. Esta técnica se utiliza a menudo en la calibración multivariante (ver Sección 8.12).

8.10. Regresión multivariante

El término **regresión multivariante** se aplica habitualmente a la situación en la que hay una respuesta multivariante. Si hay una variable predictora,

un posible método de análisis sería encontrar una ecuación de regresión relacionando cada una de las variables respuesta, y_i , con la variable predictora. Si existiera más de una variable predictora se realizaría una regresión múltiple de cada y_i sobre las variables predictoras. Alternativamente, se podría realizar primero un ACP sobre las variables predictoras para producir nuevas variables no correlacionadas y luego realizar una regresión múltiple de cada y_i sobre estas componentes principales. Otra posibilidad sería obtener las componentes principales de las variables respuesta y establecer una regresión de éstas sobre las componentes principales de las variables predictoras.

La siguiente sección describe un método que utiliza las correlaciones entre las variables respuesta y predictoras en lugar de aplicar las aproximaciones del ACP a los dos grupos de variables separadamente.

8.11. Regresión sobre mínimos cuadrados parciales

Como la RCP, la **regresión sobre mínimos cuadrados parciales** (regresión MCP) empieza encontrando combinaciones lineales de las variables predictoras. Sin embargo, la forma en que se eligen estas combinaciones resulta diferente. En la RCP las componentes principales se eligen de manera que describan tanto como sea posible la variación en las variables predictoras, al margen de la fuerza de las relaciones entre las variables respuesta y las predictoras. En MCP, a las variables que muestran una alta correlación con las variables respuesta se les asigna un peso extra dado porque serán más efectivas en la predicción. De esta forma se eligen combinaciones lineales de las variables predictoras que estén altamente correlacionadas con las variables respuesta y también expliquen la variación en las variables predictoras. Se suele distinguir entre la situación cuando la respuesta consta de una única variable y aquella cuando la respuesta es multivariante: la primera se llama MCP1, la última MCP2.

8.12. Calibración multivariante

Como se ha notado antes, un ejemplo de la aplicación de la regresión multivariante se encuentra en la determinación de la concentración de los constituyentes de una mezcla de analitos mediante análisispectral. En la aproximación clásica la intensidad, y_i , a cada una de una serie de longitudes de onda estaría relacionada con las concentraciones de los constituyentes mediante una ecuación de la forma $y_i = b_{0i} + b_{1i}x_1 + b_{2i}x_2 + \dots$ donde los coeficientes para cada constituyente dependen de la longitud de onda. Entonces, a partir del espectro medido de un espécimen con composición desconocida (es decir, un ejemplar de ensayo), se podrían estimar las concentraciones de los analitos en este ejemplar. Este método es el análogo multivariante del método univariante descrito en la Sección 5.4. El método requiere conocimiento del espectro de los constituyentes puros y ejemplares de calibración de composición conocida. Supone que no hay otros componentes en los ejemplares que interfieran a los componentes de interés, en el

intervalo de concentración utilizado, y que los componentes de interés no interfieren unos con otros.

En muchos casos las muestras predictoras no contienen otras sustancias más que aquellas de interés y éstas actúan como interferentes. Si éste es el caso, es mejor calibrar con muestras de fuentes similares (que tendrán composición similar) y utilizar **calibración inversa**. Esto significa que la concentración de analito se modela como una función del espectro (es decir, lo contrario del método clásico). La calibración inversa es apropiada ya que la concentración no es una variable controlada. Incluso cuando sea posible preparar muestras de calibración de composición conocida, si las sustancias de interés interfieren unas con otras, entonces las concentraciones de estas sustancias ya no son en efecto variables controladas: en estas circunstancias de nuevo la calibración inversa resulta apropiada. El siguiente ejemplo aclara el método.

EJEMPLO 8.12.1

La tabla siguiente proporciona la absorbancia UV ($\times 100$) registrada a tres longitudes de onda diferentes, A_1 , A_2 y A_3 , de 10 especímenes (A-J) y las concentraciones medidas (mM), c_1 , c_2 , c_3 y c_4 , de cuatro constituyentes de interés.

Espécimen	c_1	c_2	c_3	c_4	A_1	A_2	A_3
A	0.888	0.016	0.014	0.082	91.5	56.1	73.6
B	0.461	0.091	0.243	0.205	93.8	56.3	74.1
C	0.453	0.159	0.233	0.156	93.4	56.4	74.5
D	0.560	0.093	0.085	0.263	92.5	56.7	73.7
E	0.414	0.019	0.279	0.289	94.8	56.5	73.6
F	0.438	0.169	0.137	0.256	93.2	56.8	73.9
G	0.342	0.228	0.196	0.233	93.7	57.0	74.4
H	0.743	0.109	0.006	0.142	91.5	56.8	73.9
I	0.751	0.011	0.148	0.090	92.7	55.7	73.9
J	0.477	0.146	0.063	0.314	92.7	57.7	73.8

Encontrar la ecuación de regresión para predecir c_1 , c_2 , c_3 y c_4 a partir de A_1 , A_2 y A_3 .

La salida que se muestra a continuación se obtuvo utilizando Minitab y proporciona la ecuación de regresión para c_1 .

Regression Analysis

The regression equation is

$$c1 = 31.7 - 0.129 A1 - 0.153 A2 - 0.142 A3$$

Predictor	Coef	StDev	T	P
Constant	31.688	3.999	7.92	0.000
A1	-0.12893	0.01576	-8.18	0.000
A2	-0.15260	0.02863	-5.33	0.002
A3	-0.14214	0.05228	-2.72	0.035

$$S = 0.04664$$

$$R-Sq = 95.5\%$$

$$R-Sq(adj) = 93.2\%$$

Analysis of Variance

Source	DF	SS	MS	F	P
Regression	3	0.275833	0.091944	42.27	0.000
Error	3	0.013051	0.002175		
Total	9	0.288884			

El término constante y los otros tres coeficientes de la ecuación de regresión proporcionan valores significativos de t (llamado « T » en las salidas de Minitab) sugiriendo que los otros tres predictores A_1 , A_2 y A_3 se deberían incluir en la ecuación de regresión. El valor de R^2 (ajustado) proporciona una medida de la habilidad predictiva de la ecuación de regresión. La Figura 8.11 muestra un gráfico de los residuos frente a los valores ajustados: los residuos no muestran ningún patrón concreto. La Figura 8.12 representa los valores pronosticados frente a los valores medidos. Los puntos se encuentran razonablemente próximos a una línea recta con ningún valor anómalo obvio.

Las correspondientes ecuaciones para c_2 , c_3 y c_4 son:

$$\begin{aligned} c_2 &= -14.0 + 0.0179 A_1 + 0.0821 A_2 + 0.106 A_3 \\ c_3 &= -9.84 + 0.0846 A_1 - 0.0454 A_2 + 0.0633 A_3 \\ c_4 &= -4.51 + 0.0846 A_1 + 0.112 A_2 - 0.0834 A_3 \end{aligned}$$

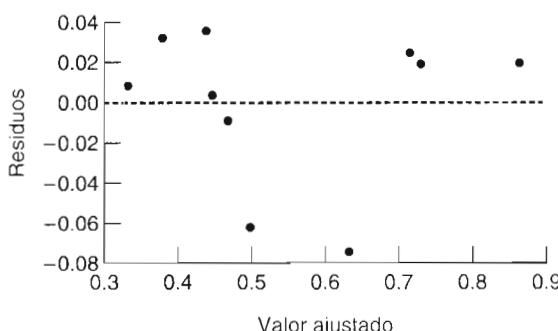


Figura 8.11. Un gráfico de los residuos frente a los valores ajustados para el Ejemplo 8.12.1.

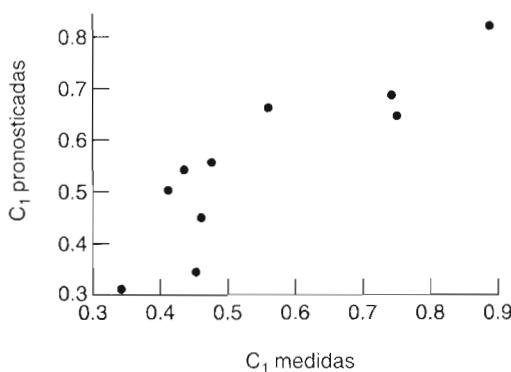


Figura 8.12. Un gráfico de los valores pronosticados frente a los valores medidos para el Ejemplo 8.12.1.

En el Ejemplo 8.12.1 la regresión múltiple fue una técnica adecuada ya que hay sólo tres variables predictoras y, como la matriz de correlación en la Tabla 8.4 muestra, la correlación entre ellas no es muy alta.

Tabla 8.4. Matriz de correlación para las concentraciones en el Ejemplo 8.12.1.

	c1	c2	c3
c2	-0.647		
c3	-0.706	0.094	
c4	-0.776	0.410	0.281

En la práctica, se emplearía un espectro de absorbancia UV conteniendo muchos cientos de medidas, en lugar de medidas de absorbancia a sólo tres longitudes de onda como en este ejemplo. Como resultado el número de variables predictoras es probable que sea mucho más grande que el número de muestras de calibración. Puesto que no es posible llevar a cabo regresión múltiple en estas circunstancias, se debe reducir el número de variables predictoras. Una solución sería utilizar las medidas de intensidad a sólo algunas longitudes de onda, pero esto plantea el problema de decidir cuáles serían las longitudes de onda mejores para elegir. También significaría que una gran cantidad de datos (y la información que ellos contienen) sería descartada. Podría también ser un problema al utilizar la regresión múltiple debido a la correlación entre las variables predictoras. Ambos problemas se pueden superar utilizando RCP o MCP1. Estos métodos reducen el número de variables predictoras a sólo unas pocas y también proporcionan resultados satisfactorios cuando hay correlación entre las variables predictoras. El método preferido en una situación dada dependerá de la naturaleza precisa de los datos: se puede llevar a cabo un análisis mediante cada método y evaluar los resultados a fin de encontrar el método que funciona mejor.

En espectroscopia molecular han surgido muchas aplicaciones recientes de RCP y MCP, donde a menudo surgen espectros de emisión y absorción fuertemente solapados, incluso en mezclas simples. Por ejemplo, se han analizado con éxito un pesticida y sus metabolitos utilizando espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier y una mezcla de fenoles muy similares se resolvió por medio de su espectro de excitación de fluorescencia.

8.13. Redes neuronales artificiales

Ningún capítulo sobre métodos quimiométricos modernos estaría completo sin una mención de las **redes neuronales artificiales** (RNA). En síntesis, éstas intentan imitar el funcionamiento de las neuronas en el cerebro. Dichas redes tienen una serie de capas de neuronas artificiales vinculadas, incluyendo una capa de entrada y otra de salida. Una de estas redes se podría utilizar, por ejemplo, para clasificar muestras en una de varias clases conocidas. La red se entrena utilizando un conjunto (grande) de aprendizaje. Su éxito en la discriminación se puede evaluar empleando un conjunto de contraste.

Las redes neuronales encuentran aplicaciones en muchas otras áreas, por ejemplo, reconocimiento de pautas y calibración. Se han estudiado muchos diseños de red neuronal pero las circunstancias, si las hay, en las que resultan superiores a los otros métodos descritos en este capítulo no están claras.

8.14. Conclusiones

El objetivo de este capítulo ha sido proporcionar una introducción a los métodos del análisis multivariante que se utilizan con más frecuencia en la química analítica. En muchos casos hay que elegir entre diferentes métodos multivariantes que se podrían aplicar al mismo conjunto de datos. Por ejemplo, en análisis de conglomerados se debe elegir entre la aproximación jerárquica y la no jerárquica, y cada una de estas aproximaciones ofrece la posibilidad de elegir entre varios métodos diferentes. En la calibración multivariante se debe elegir entre regresión múltiple, RCP y regresión MCP. Además, se podrían considerar varias aproximaciones en el análisis inicial. Por ejemplo, el análisis de conglomerados y el análisis de componentes principales se podrían utilizar con anterioridad al análisis discriminante lineal, para ver si los objetos que se están analizando forman grupos de manera natural.

Hay muchos otros métodos además de los descritos. Por último, se debe recordar que el análisis multivariante es un campo que se está desarrollando rápidamente con nuevos métodos que se encuentran disponibles a medida que crece la potencia y velocidad de las computadoras personales.

Bibliografía

- Adams, M. J. 1995. *Chemometrics in Analytical Spectroscopy*. The Royal Society of Chemistry, Cambridge. (Una guía tutorial para la aplicación de las técnicas que se encuentran de manera más común al procesar e interpretar datos espectroscópicos analíticos.)
- Chatfield, C. and Collins, A. J. 1980. *An Introduction to Multivariate Analysis*. Chapman & Hall, London. (Proporciona una introducción general al análisis multivariante, con una mezcla de teoría y práctica.)
- Flury, B. and Riedwyl, H. 1988. *Multivariate Statistics: A Practical Approach*. Chapman & Hall, London. (Introduce métodos seleccionados del análisis multivariante a un nivel no técnico, con énfasis sobre los principios básicos que subyacen en el análisis multivariante.)
- Manly, B. F. J. 1994. *Multivariate Statistical Methods: A Primer*. 2nd Edn. Chapman & Hall, London. (Una introducción general al análisis multivariante a un nivel no técnico.)
- Martens, H. and Naes, T. 1989. *Multivariate Calibration*. John Wiley and Sons Ltd, Chichester. (El libro está estructurado para proporcionar una tutoría sobre el uso práctico de las técnicas de calibración multivariante. Compara varios modelos de calibración, aproximaciones de validación y formas para optimizar modelos.)

- Otto, M. 1999. *Chemometrics: Statistics and Computer Applications in Analytical Chemistry*. Wiley-VCH, Weinheim. (Proporciona un tratamiento detallado de los contenidos de este capítulo.)
- Vandeginste, B. G. M., Massart, D. L., Buydens, L. M. C., De Jong, S., Lewi, P. L. and Smeyers-Verbeke, J. 1998. *Handbook of Chemometrics and Qualimetrics: Part B*. Elsevier, Amsterdam. (Un tratado detallado y completo de la aplicación de las técnicas multivariantes en la química analítica.)

Ejercicios

- Para los datos del Ejemplo 8.5.1 realizar un análisis discriminante lineal trabajando con las variables estandarizadas. A continuación identificar las dos variables que resultan más efectivas al discriminar entre los dos grupos. Repetir el análisis discriminante con estas dos variables. Utilizar la tasa de éxito de la clasificación cruzada para comparar la eficiencia empleando dos variables con la correspondiente a utilizar las cuatro variables.
- Los siguientes datos proporcionan la concentración (en mg kg^{-1}) de cuatro elementos encontrados en muestras de arroz. El arroz era de uno de los dos tipos: límpio (P) o sucio (U), pertenecía a una de las dos variedades (A o B) y había crecido en la estación húmeda (W) o en la estación seca (D).

Variedad	Tipo	Estación	P	K	Ni	Mo
A	U	D	3555	2581	0.328	0.535
A	U	D	3535	2421	0.425	0.538
A	U	D	3294	2274	0.263	0.509
A	P	D	1682	1017	0.859	0.494
A	P	D	1593	1032	1.560	0.498
A	P	D	1554	984	1.013	0.478
B	U	D	3593	2791	0.301	0.771
B	U	D	3467	2833	0.384	0.407
B	P	D	2003	1690	0.216	0.728
B	P	D	1323	1327	0.924	0.393
A	U	W	3066	1961	0.256	0.481
A	P	W	1478	813	0.974	0.486
B	U	W	3629	2846	1.131	0.357
B	U	W	3256	2431	0.390	0.644
B	P	W	2041	1796	0.803	0.321
B	P	W	1745	1383	0.324	0.619

(Adaptado de Phuong, T. D., Choung, P. V., Khiem, D. T. y Kokot, S. 1999. *Analyst* 124:553)

- Realícese un análisis de conglomerados. ¿Parece que las muestras se ubican en grupos? ¿Qué característica resulta importante al determinar la pertenencia a un grupo?

- (b) Calcúlese la matriz de correlación. ¿Qué pares de variables aparecen fuertemente correlacionadas? ¿Qué variable(s) muestra(n) poca correlación con las otras variables?
- (c) Realícese un análisis de componentes principales y obténgase un gráfico de puntuaciones. ¿Confirma su análisis del Apartado (a)?
- (d) ¿Es posible identificar la variedad de una muestra de arroz midiendo la concentración de estos cuatro elementos? Responda a esta cuestión realizando un análisis discriminante lineal. Investigue si es necesario medir la concentración de los cuatro elementos para lograr una discriminación satisfactoria.

Soluciones a los ejercicios

(Nota. Aquí se proporciona un esbozo de las soluciones; las soluciones más completas con comentarios están incluidas en el Manual de los Profesores.)

Capítulo 1

1. Los resultados de la media (g l^{-1}) para los laboratorios A-E son: 41.9, 41.9, 43.2, 39.1, 41.5. De aquí: A – preciso, poco sesgo, media exacta; B – precisión pobre, poco sesgo, media exacta pero no muy fiable; C – preciso pero sesgado a valores altos, exactitud pobre; D – precisión pobre, sesgado a valores bajos, pobre exactitud; E – similar a A, pero el último resultado podría ser un «valor anómalo».
2. El laboratorio A aún muestra poco sesgo, pero la precisión es más pobre, reflejando reproducibilidad (es decir, precisión entre días) en vez de repetibilidad (precisión dentro de días).
3. El número de posiciones de enlace debe ser un número entero, obviamente 2 en este caso, de manera que los resultados son precisos, pero sesgados a valores bajos. El sesgo no es importante, ya que pueden darse dos posiciones de enlace.
4. (i) Los niveles de lactato en sangre varían ampliamente en pacientes sanos, de manera que no se necesita ni gran precisión ni gran exactitud.
(ii) Los resultados no sesgados podrían ser cruciales debido a la gran importancia económica del U. (iii) La velocidad del análisis es aquí esencial, de manera que son poco importantes la exactitud y la precisión.
(iv) El objetivo es detectar incluso pequeños cambios con el tiempo, de manera que la precisión es más importante.

5. (i) La muestra podría no ser representativa y/o la reducción de Fe(III) a Fe(II) podría ser incompleta, dando resultados sesgados en cada caso. La completitud de la reducción se podría contrastar utilizando un material patrón. Los errores aleatorios en cada etapa, incluyendo la volumetría, deberían ser pequeños. (ii) Los problemas de muestreo como en (i), y también la extracción incompleta, conduciendo a sesgos (comprobados con patrones). Los errores aleatorios en espectrometría, serán de nuevo relativamente bajos. (iii) Los errores aleatorios en las gravimetrías deberían ser muy pequeños: más significativos serán los problemas químicos tales como la coprecipitación, originando resultados sesgados.

Capítulo 2

- Media = $0.077 \text{ } \mu\text{g ml}^{-1}$, d.e. = $0.007 \text{ } \mu\text{g ml}^{-1}$. DER = 9 %.
- (i) 5.163 ± 0.025 ; (ii) 5.163 ± 0.038 .
- Media = 22.3 ng ml^{-1} , d.e. = 1.4 ng ml^{-1} . DER = 6.2 %, I.C. 99 % = $22.3 \pm 1.4 \text{ ng ml}^{-1}$. Media = 12.83 ng ml^{-1} , d.e. = 0.95 ng ml^{-1} . DER = 7.4 %, I.C. 99 % = $12.8 \pm 1.6 \text{ ng ml}^{-1}$.
- $10.12 \pm 0.18 \text{ ng ml}^{-1}$. Aproximadamente 160.
- $49.5 \pm 1.1 \text{ ng ml}^{-1}$. Sí.
- $10.18 \pm 0.23 \text{ ml}$. Sin evidencia de error sistemático.
- Para el peso de reactivo: d.e. = 0.14 mg, DER = 0.028 % (0.029 %).
Para el volumen de disolvente: DER = 0.02 %.
Para la molaridad: DER = 0.034 % (0.020 %).
Los valores para el reactivo con peso fórmula 392 se dan entre paréntesis.
- d.e. = $0.044 \times 10^{-6} \text{ M}$.

Capítulo 3

- Los puntos caen aproximadamente sobre una línea recta, indicando que los datos se han extraído de una distribución normal.
- $t = 1.54, 1.60, 1.18, 1.60$. Ninguna de las medias difieren significativamente del valor certificado.
- (a) $Q = 0.565$ o $G = 1.97$. No significativo a $P = 0.05$. (b) $F = 34$. Significativo a $P = 0.05$.
- (a) $F = 1.70$. No significativo a $P = 0.05$. (b) $t = \pm 1.28$. No significativo a $P = 0.05$.
- Cuadrado medio entre muestra 2121.9, cuadrado medio dentro de muestra 8.1. $F = 262$. Gran diferencia significativa entre profundida-

des. Excepto el par más profundo, todos los pares de profundidades difieren significativamente unos de otros.

6. $t = \pm 1.20$. Los sexos no difieren significativamente.
7. $X^2 = 16.8$. Sin evidencia de que algunos dígitos sean preferidos a otros.
8. Pino: $t = \pm 2.27$, no significativo. Haya: $t = \pm 5.27$, significativo a $P = 0.01$. Acuática: $t = \pm 3.73$, significativo a $P = 0.01$.
9. (a) $X^2 = 5.95$. El primer trabajador difiere significativamente de los otros tres. (b) $X^2 = 2.81$. Los últimos tres trabajadores no difieren significativamente de los otros.
10. $t = \pm 1.02$. Los métodos no difieren significativamente.
11. Cuadrado medio entre muestras = 0.1144, cuadrado medio dentro de muestras = 0.0445. $F = 2.57$. Sólo significativo a $P = 0.05$. La menor diferencia significativa (0.25) indica que A difiere de B, D y E.
12. $t = \pm 2.2$. Hombres y mujeres difieren significativamente.
13. $t = \pm 3.4$. Los métodos difieren significativamente.
14. El tamaño mínimo es 12.

Capítulo 4

1. Para el esquema 1: $\sigma^2 = (4/2) + (10/5) = 4$. Para el esquema 2, $\sigma^2 = 4/(2 \times 3) + 10/3 = 4$. Si S es el coste de muestreo y A el coste del análisis, entonces (coste del esquema 1/coste del esquema 2) = $= (5S + 2A)/(3S + 6A)$. Esta relación es > 1 si S/A es > 2 .
2. Los cálculos del ANOVA demuestran que el cuadrado medio de las variaciones entre días y dentro de días son 111 y 3.25, respectivamente. De aquí que $F = 111/3.25 = 34$. El valor crítico de $F_{3,8} = 4.066$ ($P=0.05$), de manera que las concentraciones medias difieren significativamente. La varianza de muestreo viene dada por $(111 - 3.25)/3 = 35.9$.
3. Los cuadrados medios de las variaciones entre muestras y dentro de muestras son 8.31×10^{-4} y 1.75×10^{-4} , respectivamente, por tanto $F = 8.31/1.75 = 4.746$. El valor crítico de $F_{3,8}$ es 4.066 ($P = 0.05$), de manera que el cuadrado medio entre muestras no puede ser explicado sólo por variación de medidas. La última variación, σ_0^2 , se estima como 1.75×10^{-4} . La estimación de la varianza muestral, σ_1^2 , es $([8.36 - 1.75] \times 10^{-4})/3 = 2.19 \times 10^{-4}$. De aquí que la varianza de la media para el esquema 1 sea $0.000175/4 + 0.000219/6 = 0.00008025$, y que la varianza de la media para el esquema 2 sea $(0.000175/[2 \times 3]) + 0.000219/3 = 0.0001022$.
4. Las seis muestras proporcionan seis estimaciones de σ^2 , que tienen un promedio de 3.077. Por tanto, $\sigma = 1.753$. De aquí que las líneas

de acción y de aviso se encuentran a $50 \pm (2 \times 1.753)/\sqrt{4}$ y $50 \pm (3 \times 1.753)/\sqrt{4}$, respectivamente, es decir, a 50 ± 1.75 y 50 ± 2.63 , respectivamente.

5. Las muestras A y B proporcionan valores medios de 7.01 y 7.75 ppm, respectivamente. Utilizando una tabla de valores de D y T (por ejemplo, para el laboratorio 1 son -1.2 y 18.8 , respectivamente), se calcula que $\sigma^2 = 11.027$ y $\sigma_0^2 = 0.793$. Por tanto, $F = 11.027/0.793 = 13.095$, mucho mayor que el valor crítico $F_{14,14}$ de ca. 2.48 ($P = 0.05$), obtenido de la tabla por interpolación. Los errores sistemáticos son entonces significativos, resultando que $\sigma_1^2 = 5.117$.
6. Para el diagrama de Shewart para la media, los valores de W y A que se encuentran en las tablas ($n = 5$) son 0.3768 y 0.5942, respectivamente. De aquí que las líneas de aviso estén en $120 \pm (7 \times 0.3768) = 120 \pm 2.64$, y las líneas de acción en $120 \pm (7 \times 0.5942) = 120 \pm 4.16$. Para el diagrama de rangos, las tablas proporcionan valores de w_1 , w_2 , a_1 y a_2 de 0.3653, 1.8045, 0.1580 y 2.3577, respectivamente, de manera que la línea de aviso inferior está a $7 \times 0.3653 = 2.56$, la línea de aviso superior está a 12.63, y las líneas de acción inferior y superior están en 1.11 y 16.50, respectivamente.
7. Ya que $\sigma = 0.6$ y $n = 4$, las líneas de aviso y de acción para el diagrama de Shewart para la media están en 80 ± 0.6 y 80 ± 0.9 , respectivamente. En esta carta, los puntos para los días 14-16 caen entre las líneas de aviso y de acción y el punto 17 está por debajo de la línea de acción inferior. Por tanto, la carta sugiere que el proceso analítico se ha ido fuera de control aproximadamente el día 14. El diagrama sumacu muestra una tendencia negativa estacionaria desde el día 9 en adelante, sugiriendo que el método se va fuera de control mucho antes.

Capítulo 5

1. Aquí $r = -0.8569$. Este valor sugiere una considerable correlación; la Ec. (5.3) conduce a $t = 3.33$, muy superior al valor crítico ($P = 0.05$) de 2.13. Sin embargo (a) una relación no lineal es más probable, y (b) la correlación no es la causa: la contaminación por Hg puede surgir en cualquier parte.
2. En este caso $r = 0.99982$. Pero el incremento en el valor de y (absorbancia) con x se debe a una ligera cantidad decreciente en cada punto, es decir, ésta es realmente una curva, aunque se cometería poco error al tratarla como una línea recta.
3. Las ecuaciones usuales proporcionan valores de $a = 0.0021$, $b = 0.0252$ y $s_{y/x} = 0.00703$. Entonces se obtiene que $s_a = 0.00479$ y $s_b = 0.000266$. Para convertir los dos últimos valores en intervalos de confianza al 95 % se multiplica por $t = 2.57$, conduciendo a intervalos

- para la ordenada en el origen y la pendiente de 0.0021 ± 0.0123 y 0.0252 ± 0.0007 , respectivamente.
4. (a) Un valor de y de 0.456 corresponde a la concentración de 18.04 ng ml^{-1} . El valor de s_{x_0} es 0.300 de manera que los correspondientes límites de confianza vienen dados por $18.04 \pm (2.57 \times 0.300) = 18.04 \pm 0.77 \text{ ng ml}^{-1}$. (b) El contraste Q demuestra que la lectura de absorbancia 0.347 es una observación anómala rechazable, la media de las tres lecturas que quedan es 0.311, es decir, una concentración de 12.28 ng ml^{-1} . En este caso, con $m = 3$, $s_{x_0} = 0.195$, proporcionando límites de confianza de $12.28 \pm 0.50 \text{ ng ml}^{-1}$.
 5. La absorbancia en el límite de detección viene dada por $a + 3s_{y/x} = 0.0021 + (3 \times 0.00703) = 0.0232$. Este valor corresponde a un valor de x de 0.84 ng ml^{-1} que es el límite de detección.
 6. Aquí $a = 0.2569$ y $b = 0.005349$, de manera que la concentración de Au es $0.2569/0.005349 = 48.0 \text{ ng ml}^{-1}$. El valor de $s_{y/x} = 0.003693$, de manera que s_{x_E} es 0.9179. En este caso $t = 2.45$, de manera que los límites de confianza para la concentración al 95% son $48.03 \pm (2.45 \times 0.9179) = 48.0 \pm 2.2 \text{ ng ml}^{-1}$.
 7. La línea de regresión no ponderada tiene $b = 1.982$ y $a = 2.924$, respectivamente. Las concentraciones correspondientes a intensidades de fluorescencia de 15 y 90 son 6.09 y 43.9 ng ml^{-1} respectivamente. Entonces, $s_{y/x} = 2.991$ y $s_{x_E} = 1.767$. Por tanto, los límites de confianza para las dos concentraciones son 6.09 ± 4.9 y $43.9 \pm 4.9 \text{ ng ml}^{-1}$, respectivamente. La línea de regresión ponderada se calcula a partir de los valores de s para cada punto, en orden creciente 0.71, 0.84, 0.89, 1.64, 2.24, 3.03. Las ponderaciones correspondientes son 2.23, 1.59, 1.42, 0.42, 0.22 y 0.12 (totalizando 6 como se esperaba). La recta de regresión ponderada tiene entonces $b = 1.964$ y $a = 3.483$, de manera que las concentraciones correspondientes a los valores de intensidad de 15 y 90 son 5.87 y 44.1 ng ml^{-1} , respectivamente. Las ponderaciones estimadas para esos dos puntos son 1.8 y 0.18, respectivamente, proporcionando valores de $s_{x_{0w}}$ de 0.906 y 2.716, y límites de confianza de 5.9 ± 2.5 y $44 \pm 7.6 \text{ ng ml}^{-1}$.
 8. Si se representan los resultados ESI en el eje y y los datos gravimétricos en el x , la recta resultante tiene $a = 4.48$ y $b = 0.963$. El valor de $r = 0.970$. Los límites de confianza para a son 4.5 ± 20.1 , incluyendo el cero, y los límites para b son 0.96 ± 0.20 , incluyendo el 1, de manera que no existe evidencia de sesgo entre los dos métodos.
 9. El análisis gráfico sugiere que la representación es lineal hasta $A = 0.7 - 0.8$. La línea que pasa por los seis puntos conducen a un $r = 0.9936$, y residuos de -0.07 , -0.02 , $+0.02$, $+0.06$, $+0.07$, y -0.07 . La tendencia sugiere una curva. La SC de los residuos es 0.0191. Si se omite el último valor, se obtiene que $r = 0.9972$, los resi-

duos son -0.04 , 0 , $+0.02$, $+0.04$, y -0.02 ($SC = 0.0040$). Cálculos similares demuestran que se puede omitir también el quinto punto, con algún coste en el rango del experimento.

10. Las representaciones gráficas de las dos líneas rectas son $y = 0.0014 + 0.0384x$, e $y = 0.1058 - 0.012x$. Éstas se cortan en un valor de x de $(0.1058 - 0.0014)/(0.0384 - [-0.012]) = (0.1044/0.0504) = 2.07$, sugiriendo la formación de un complejo DPA:europio 2:1.
11. El mejor ajuste cuadrático es $y = 0.0165 + 0.600x - 0.113x^2$. Éste proporciona $R^2 = 0.9991$ y $R'^2 = 0.9981$. El ajuste cúbico es $y = -0.00552 + 0.764x - 0.383x^2 + 0.117x^3$. Éste proporciona $R^2 = 0.9999$ y $R'^2 = 0.9997$, de manera que éste es mejor ajuste sin duda.
12. Para una línea recta, un ajuste cuadrático y un ajuste cúbico, los valores de R^2 son 0.9238, 0.9786 y 0.9786, respectivamente, sugiriendo que un ajuste cuadrático será excelente. Esto se confirma mediante los valores de R'^2 , que son 0.9085, 0.9679 y 0.9573 respectivamente, proporcionando el ajuste cuadrático el valor más alto de todos.

Capítulo 6

1. La media = 9.96 ml, la mediana = 9.90 ml. El contraste Q muestra que el valor de 10.20 no se puede omitir ($P = 0.05$). Si fuera rechazado, la media = 9.88 y la mediana = 9.89. La mediana es insensible a los valores anómalos.
2. El contraste de los signos: comparado con la mediana, los valores proporcionan signos de $- + 0 + - + + +$. De este modo se tienen ocho signos, de los cuales seis son positivos. La probabilidad de seis signos en ocho lecturas es 0.29, es decir, > 0.05 , por tanto se mantiene la hipótesis nula: el contenido mediano de azufre podría ser de 0.10 %. En el contraste de rangos y signos, se desprecia el cero y las diferencias ordenadas son: -0.01 , 0.01 , 0.01 , -0.02 , 0.02 , 0.02 , 0.04 , 0.07 . Por tanto, las posiciones con sus signos son -2 , 2 , 2 , -5 , 5 , 5 , 6 , 7 . El total de posiciones negativas ($-$) es 7, pero a un $P = 0.05$, la región crítica ≤ 3 . Por tanto, se mantiene de nuevo la hipótesis nula.
3. Los resultados (IDR-EID) proporcionan signos de $+ - + + + + + 0 +$. En efecto, se tienen ocho resultados positivos de nueve. $P = 0.04$ para estos resultados, por tanto la hipótesis nula (que los métodos proporcionen resultados indistinguibles) puede rechazarse. En el contraste de rangos y signos, el total de las posiciones negativas ($-$) es 2.5, muy inferior al nivel crítico de 5, de ahí que de nuevo la hipótesis nula deba ser rechazada.
4. Si los valores se colocan en orden ascendente, la mediana es 23.5. Por tanto, los valores individuales tienen los signos $+ + - - - + +$. Esta secuencia tiene tres rachas, pero para $M = N = 3$, el valor crítico

- es 3, con lo cual la hipótesis nula de una sucesión al azar debe ser retenida.
5. Contraste U de Mann-Whitney: se espera que los valores de «cerveza» sean mayores que los de la «cerveza rubia». El número de valores de cerveza rubia que son mayores que los individuales = 4.5 (1 empate). El valor crítico en un contraste de una cola es 5, con lo cual se puede rechazar la hipótesis nula ($P = 0.05$). Contraste rápido de Tukey: el resultado es 5.5, por debajo del valor crítico de 6. Por tanto, los contrastes no son concordantes: son necesarios más datos.
 6. Para los instrumentos A-G, la ordenación de los estudiantes es 3, 1, 5, 4, 7, 6, 2 y la ordenación del personal académico es 5, 3, 6, 2, 4, 7, 1. Por tanto, los valores de d son $-2, -2, -1, 2, 3, -1, 1$, y los valores d^2 son $4, 4, 1, 4, 9, 1, 1$, totalizando 24. Así pues, $r_s = 1 - [(6 \times 24)/(7 \times 48)] = 0.571$. Para $n = 7$ el valor crítico a $P = 0.05$ es 0.786: no hay evidencia de correlación entre las opiniones de los estudiantes y las del personal académico.
 7. Si los valores de x son las distancias y los valores de y los niveles de mercurio, el método de Theil da $a = 2.575$ y $b = -0.125$. (El método de mínimos cuadrados proporciona $a = 2.573$ y $b = -0.122$.)
 8. Para contrastar $\bar{x} = 1.0$ y $\sigma = 0.2$, se escribe que $z = (x - 1.0)/0.2$. Cuando los valores de z resultantes (1.5, 2.5, etc.) se comparan con la función de distribución acumulativa de la distribución normal, la máxima diferencia es +0.335 en $z = 1.5$. El valor crítico es 0.262 ($P = 0.05$), de manera que se rechaza la hipótesis nula. El aspecto de las curvas demuestra que $\bar{x} = 1.0$ es aproximadamente correcto, pero $\sigma = 0.2$ es bajísimo. La media y la desviación estándar estimadas de los datos son 1.08 y 0.41, respectivamente. Cuando se representan los nuevos valores de z (0.54, 1.02, etc.), la máxima diferencia es sólo de 0.11 en $z = 0.54$, por tanto se acepta la hipótesis nula: los datos se ajustan muy bien a esta distribución normal.
 9. Si los niveles de níquel se sustituyen por rangos (se presenta un empate), las sumas de los rangos para las tres muestras son 39, 52.5 y 79.5. (Éstos suman 171, como se esperaba para los 18 valores, ya que $1/2 \times 18/19 = 171$.) El valor correspondiente de $X^2 = 4.97$, menor que el valor crítico de 5.99 ($P = 0.05$, 2 grados de libertad), por tanto se debe mantener la hipótesis nula de ninguna diferencia significativa entre los niveles de níquel en los aceites crudos.

Capítulo 7

1. Éste es un ANOVA de dos factores sin réplica. El cuadrado medio entre filas (es decir, entre soluciones) es 0.00370 (3 g.l.); el cuadrado medio entre columnas (es decir, entre métodos) es 0.0061 (2 g.l.) y el cuadrado medio residual es 0.00470 (6 g.l.). El cuadrado medio entre soluciones es menor que el residual, luego no es significativo. La comparación

- entre los cuadrados medios entre métodos y residual proporciona $F = 0.00601/0.00470 = 1.28$. El valor crítico de $F_{2,6}$ ($P = 0.05$) es 5.14, con lo cual la variación entre métodos no es significativa.
2. De nuevo, un experimento de ANOVA de dos factores sin réplica. Los cuadrados medios entre suelos, entre días y residual son, respectivamente, 4.67 (4 g.l.), 144.8 (2 g.l.) y 26.47 (8 g.l.). El cuadrado medio entre suelos es menor que el residual, luego no hay diferencias significativas entre suelos. La comparación entre los cuadrados medios entre días y residual proporciona $F = 144.8/26.47 = 5.47$. El valor crítico de $F_{2,8}$ es 4.46, con lo cual esta fuente de variación es significativa a un $P = 0.05$. La probabilidad real (Excel) es 0.0318.
 3. Otro experimento de ANOVA de dos factores sin réplica. (La réplica sería necesaria para estudiar posibles efectos de interacción). Los cuadrados medios entre compuestos, entre razones molares y residual son, respectivamente, 4204 (3 g.l.), 584 (2 g.l.) y 706 (6 g.l.). Entonces las razones molares no tienen efecto significativo. La comparación entre los cuadrados medios entre compuestos y residual proporciona $F = 4204/706 = 5.95$. El valor crítico de $F_{3,6}$ es 4.76 ($P = 0.05$), con lo cual esta variación es significativa. (P se proporciona en Excel como 0.0313). El sentido común se debería aplicar a éstos y a todos los demás datos: la difenilamina parece comportarse de forma diferente respecto a los otros tres compuestos.
 4. Los efectos de un único factor son A: -0.0215, C: 0.0005, T: -0.0265. Los efectos de dos factores son AC: -0.0005, CT: 0.0025, AT: -0.0065. El efecto de los tres factores ACT es -0.0005.
 5. Este es un experimento de ANOVA de dos factores con réplica. Los cuadrados medios entre filas, entre columnas, de interacción y de variación residual son, respectivamente, 2.53 (2 g.l.), 0.0939 (2 g.l.), 0.0256 (4 g.l.) y 0.0406 (9 g.l.). El cuadrado medio de interacción es menor que el residual, de manera que las interacciones muestra y laboratorio no son significativas. La comparación de los cuadrados medios entre columnas (es decir, entre laboratorios) y residual proporciona $F = 0.0939/0.0406 = 2.31$. El valor crítico de $F_{2,9}$ es 4.256 ($P = 0.05$), con lo cual la variación entre laboratorios no es significativa.
 6. (a) El cociente de oro se usa para determinar los pHs de partida de la forma $5 + (4/1.618) = 7.47$ y $9 - (4/1.618) = 6.53$. (b) Utilizando la aproximación de Fibonacci para alcanzar en el rango óptimo una reducción de 40 veces, se utilizan los términos F_7 y F_9 (ya que F_9 es el primer término de Fibonacci superior a 40) que proporcionen la relación 21/55. Los pHs de partida son entonces $5 + ([21 \times 4]/55) = 6.53$ y $9 - ([21 \times 4]/55) = 7.47$. Estos valores son los mismos que en (a), lo que demuestra que el método del cociente de oro es una forma que limita la búsqueda de Fibonacci, dando los mismos resultados cuando el grado de optimización conseguido por el último método es alto. (c) Cuando se tienen que realizar seis experimentos el método de Fibonacci

utiliza F_6 y F_4 que generan la fracción 5/13, con lo cual los pHs de partida son $5 + (20/13)$ y $9 - (20/13)$, es decir, 6.54 y 7.46 (de nuevo valores similares). El grado de optimización es $1/F_6$, es decir, 1/13, de manera que el intervalo de pH óptimo se definirá dentro de una envolvente de $4/13 = 0.31$ unidades de pH.

7. El vértice 1 debería ser rechazado. El nuevo vértice 8 tendrá por coordenadas para los factores A-E 5.8, 9.4, 18.1, 9.2, 8.8, respectivamente, expresándose todos los valores con una cifra decimal.

Capítulo 8

1. La salida siguiente se obtuvo utilizando Minitab.

Linear Discriminant Function for Group			
	A	B	C
Constant	-14.538	-2.439	-8.782
Sucrose	15.039	-3.697	-11.342
Glucose	-1.829	2.931	-1.102
Fructose	-9.612	0.363	9.249
Sorbitol	-2.191	-0.229	2.421

Esto sugiere que la sucrosa y la fructosa pueden ser las variables que resultan más efectivas en la discriminación entre variedades.

La tasa de acierto de la clasificación cruzada con estas dos variables es:

Summary of Classification with Cross-validation

Put intoTrue Group....		
Group	A	B	C
A	5	0	0
B	0	5	1
C	0	0	4
Total N	5	5	5
N Correct	5	5	4
Proportion	1.000	1.000	0.800

$$N = 15 \quad N \text{ Correct} = 14 \quad \text{Proportion Correct} = 0.933$$

2. (a) Un dendrograma muestra dos grupos claros con pertenencia a los grupos dependiendo de si el arroz está o no limpio.

(b)

	P	K	Ni
K	0.954		
Ni	-0.531	-0.528	
Mo	0.150	0.117	-0.527

Fuerte correlación positiva entre P y K. Escasa correlación entre Mo y K y entre Mo y P

(c) Llevando a cabo ACP sobre los valores estandarizados resulta:

Eigenanalysis of the Correlation Matrix				
Eigenvalue	2.4884	1.1201	0.3464	0.0451
Proportion	0.622	0.280	0.087	0.011
Cumulative	0.622	0.902	0.989	1.000
Variable	PC1	PC2		
P	0.577	0.340		
K	0.572	0.366		
Ni	-0.509	0.357		
Mo	0.283	-0.789		

Una representación de las puntuaciones muestra dos grupos bastante bien definidos: uno para muestras limpias y otro para muestras sucias.

(d) Los resultados del ADL utilizando los valores estandarizados son:

Summary of Classification with Cross-validation		
Put intoTrue Group....	
Group	A	B
A	7	1
B	1	7
Total N	8	8
N Correct	7	7
Proportion	0.875	0.875
N = 16 N Correct = 14 Proportion Correct = 0.875		
Linear Discriminant Function for Group		
	A	B
Constant	-2.608	-2.608
P	18.016	-18.016
K	-19.319	19.319
Ni	-0.051	0.051
Mo	-1.198	1.198

La discriminación entre variedades es buena (87.5 % de acierto). Los resultados sugieren que P y K son más efectivos en la discriminación entre variedades. Utilizando estos dos elementos se alcanza una tasa de clasificación cruzada de 15/16.

Contrastes de significación estadística utilizados comúnmente

<i>Problema</i>	<i>Contrastes disponible</i>	<i>Ver en Sección</i>	<i>Comentarios</i>
Valores anómalos	1. Contraste de Dixon 2. Contraste de Grubbs	3.7 3.7	Recomendado por ISO
Comparación de media/mediana con valor estándar	3. Contraste <i>t</i> 4. Contraste de signos 5. Contraste de rangos y signos de Wilcoxon	3.2 6.3 6.5	No paramétrico No paramétrico
Comparación de variabilidad de dos conjuntos de datos	6. Contraste <i>F</i> 7. Contraste de Siegel-Tukey	3.6 6.6	Precede al contraste 8 No paramétrico
Comparación de medias/medianas de dos muestras	8. Contraste <i>t</i> 9. Contraste <i>U</i> de Mann-Whitney 10. Contraste rápido de Tukey	3.3 6.6 6.6	No paramétrico No paramétrico
Comparación de dos conjuntos datos emparejados	11. Contraste <i>t</i> de pares 12. Contraste de signos 13. Contraste de rangos y signos de Wilcoxon 14. Gráfico <i>x</i> – <i>y</i>	3.4 6.3 6.5 5.9	Intervalo pequeño de valores No paramétrico No paramétrico Intervalo grande de valores
Comparación de medias/medianas de más de 2 muestras	15. ANOVA 16. Contraste de Kruskal-Wallis	3.9 6.7	Ver índice No paramétrico
Comparación de más de 2 conjuntos de datos emparejados	17. Contraste de Friedman	6.7	No paramétrico
Existencia de una distribución concreta	18. Contraste chi-cuadrado 19. Contraste de Kolmogorov-Smirnov	3.11 6.12	Muestras pequeñas

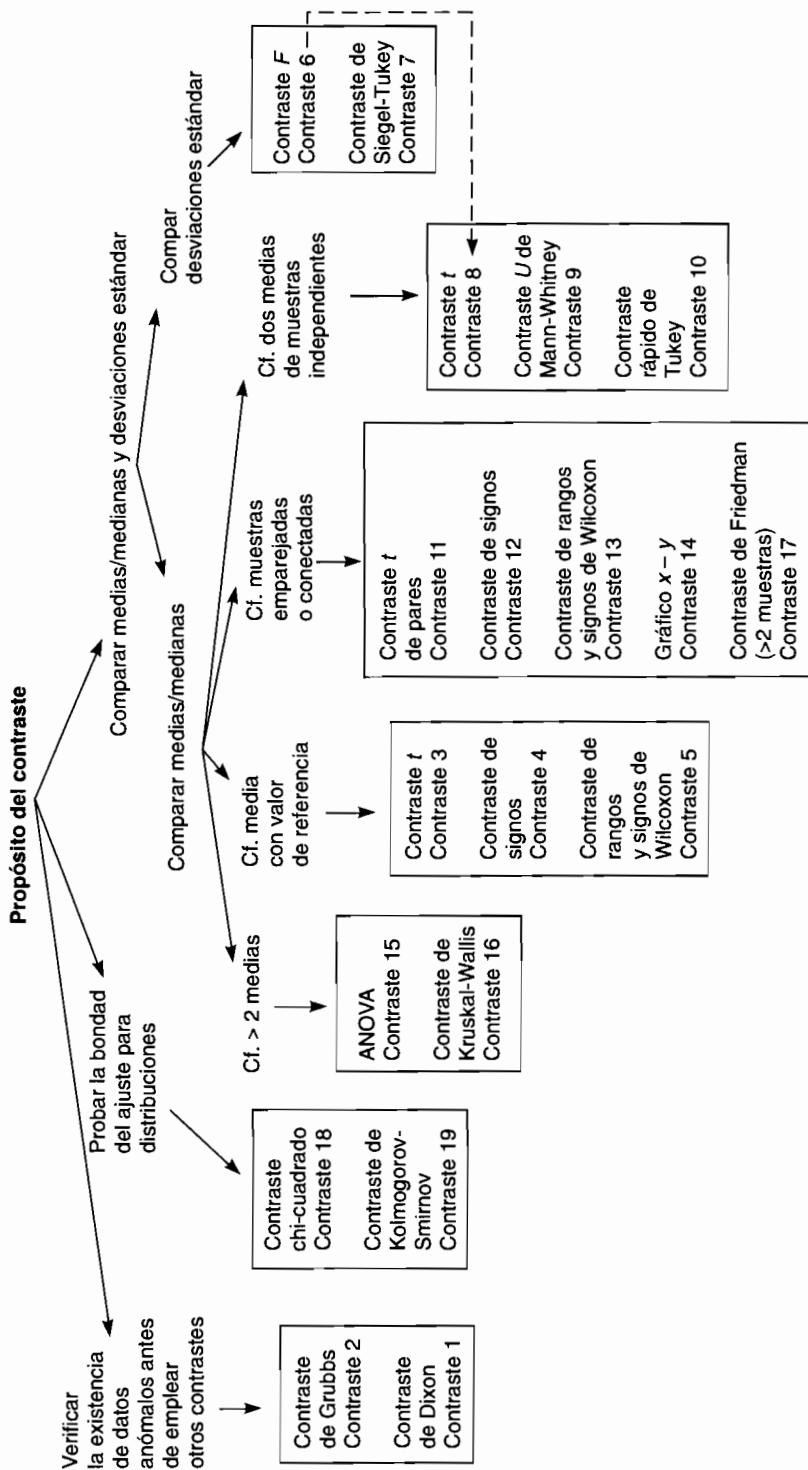


Diagrama de flujo para los contrastes de significación estadística

El diagrama de flujo

El diagrama de flujo está diseñado para utilizarse en combinación con la tabla para ayudar en la elección del contraste de significación adecuado. Se pretende que sólo sea una guía y no debería usarse a ciegas. Esto es, una vez que el diagrama haya indicado qué contraste o contrastes son más adecuados para una situación experimental dada, el analista debe familiarizarse con los principios del contraste seleccionado, las razones para su selección, cualquier limitación sobre su validez, etc. Sólo así se aplicarán adecuadamente los resultados del contraste en todos los casos. Por ejemplo, muchos contrastes no paramétricos no son tan potentes como los paramétricos en las condiciones en que son adecuados los últimos, pero pueden ser más fiables en las situaciones en las que se conocen o sospechan desviaciones serias de la distribución normal.

En el diagrama se utiliza «cf.» como abreviatura de «comparación de». El número del contraste se refiere a la tabla. Los métodos robustos no se han incluido ni en la tabla ni en el diagrama. A pesar de su creciente importancia, aún se aplican habitualmente en mayor grado por investigadores y estadísticos expertos que por la mayor parte del personal de laboratorio, y los paquetes informáticos básicos referidos en el Capítulo 1 no proporcionan un tratamiento muy amplio de tales métodos. Es importante hacer constar que el ANOVA es, con mucho, un método ampliamente utilizado, dependiendo del problema a resolver la forma de su uso exacto: únicamente se proporciona en la tabla la primera referencia del ANOVA de un factor. También se han omitido, por simplicidad, el contraste de Cochran (Sección 4.11) y el método de la menor diferencia significativa (Sección 3.9) utilizado en combinación con el ANOVA, y el contraste de rachas de Wald-Wolfowitz (Sección 6.4). La línea a trazos que relaciona a los contrastes 6 y 8 es un recordatorio de que, estrictamente hablando, se deberá aplicar el contraste F antes que el t para comprobar si son similares las varianzas de dos muestras bajo estudio. Algunos de los contrastes expuestos como «comparación de medias» realmente comparan medianas; esto, en aras de la claridad, también se ha omitido.

Por último, resulta importante hacer constar que además de los contrastes expuestos anteriormente existen muchos contrastes de uso cotidiano, como puede consultarse en la referencia siguiente.

Bibliografía

- Kanji, G. K. 1993. *100 Statistical Tests*. Sage Publications, London.

Tablas estadísticas

Se presentan a continuación tablas para la conveniencia del lector, y para su uso en contrastes estadísticos sencillos, ejemplos y ejercicios descritos en este libro. Están presentadas en un formato que es compatible con las necesidades de los químicos analíticos: en la mayor parte de los casos se ha utilizado el nivel de significación $P = 0.05$ y se supone que el número de medidas disponible es suficientemente pequeña. La mayor parte de estas tablas abreviadas han sido tomadas, con permiso, de *Elementary Statistics Tables*, de Henry R. Neave, publicado por Routledge (Tablas A.2-A.4, A.7, A.8, A.11-A.14). Se remite a estas fuentes al lector que requiera datos estadísticos correspondientes a niveles de significación y/o números de medidas no contemplados en las tablas.

Tabla A.1. La función de distribución (acumulada) normal estándar $F(z)$.

z	0.00	0.01	0.02	0.03	0.04	0.05	0.06	0.07	0.08	0.09
-3.4	0.0003	0.0003	0.0004	0.0004	0.0004	0.0004	0.0004	0.0004	0.0005	0.0005
-3.3	0.0005	0.0005	0.0005	0.0005	0.0006	0.0006	0.0006	0.0006	0.0006	0.0007
-3.2	0.0007	0.0007	0.0007	0.0008	0.0008	0.0008	0.0008	0.0009	0.0009	0.0009
-3.1	0.0010	0.0010	0.0010	0.0011	0.0011	0.0011	0.0012	0.0012	0.0013	0.0013
-3.0	0.0013	0.0014	0.0014	0.0015	0.0015	0.0016	0.0016	0.0017	0.0018	0.0018
-2.9	0.0019	0.0019	0.0020	0.0021	0.0021	0.0022	0.0023	0.0023	0.0024	0.0025
-2.8	0.0026	0.0026	0.0027	0.0028	0.0029	0.0030	0.0031	0.0032	0.0033	0.0034
-2.7	0.0035	0.0036	0.0037	0.0038	0.0039	0.0040	0.0041	0.0043	0.0044	0.0045
-2.6	0.0047	0.0048	0.0049	0.0051	0.0052	0.0054	0.0055	0.0057	0.0059	0.0060
-2.5	0.0062	0.0064	0.0066	0.0068	0.0069	0.0071	0.0073	0.0075	0.0078	0.0080
-2.4	0.0082	0.0084	0.0087	0.0089	0.0091	0.0094	0.0096	0.0099	0.0102	0.0104
-2.3	0.0107	0.0110	0.0113	0.0116	0.0119	0.0122	0.0125	0.0129	0.0132	0.0136
-2.2	0.0139	0.0143	0.0146	0.0150	0.0154	0.0158	0.0162	0.0166	0.0170	0.0174
-2.1	0.0179	0.0183	0.0188	0.0192	0.0197	0.0202	0.0207	0.0212	0.0217	0.0222
-2.0	0.0228	0.0233	0.0239	0.0244	0.0250	0.0256	0.0262	0.0268	0.0274	0.0281

Apéndice 2

<i>z</i>	0.00	0.01	0.02	0.03	0.04	0.05	0.06	0.07	0.08	0.09
-1.9	0.0287	0.0294	0.0301	0.0307	0.0314	0.0322	0.0329	0.0336	0.0344	0.0351
-1.8	0.0359	0.0367	0.0375	0.0384	0.0392	0.0401	0.0409	0.0418	0.0427	0.0436
-1.7	0.0446	0.0455	0.0465	0.0475	0.0485	0.0495	0.0505	0.0516	0.0526	0.0537
-1.6	0.0548	0.0559	0.0571	0.0582	0.0594	0.0606	0.0618	0.0630	0.0643	0.0655
-1.5	0.0668	0.0681	0.0694	0.0708	0.0721	0.0735	0.0749	0.0764	0.0778	0.0793
-1.4	0.0808	0.0823	0.0838	0.0853	0.0869	0.0885	0.0901	0.0918	0.0934	0.0951
-1.3	0.0968	0.0985	0.1003	0.1020	0.1038	0.1056	0.1075	0.1093	0.1112	0.1131
-1.2	0.1151	0.1170	0.1190	0.1210	0.1230	0.1251	0.1271	0.1292	0.1314	0.1335
-1.1	0.1357	0.1379	0.1401	0.1423	0.1446	0.1469	0.1492	0.1515	0.1539	0.1562
-1.0	0.1587	0.1611	0.1635	0.1660	0.1685	0.1711	0.1736	0.1762	0.1788	0.1814
-0.9	0.1841	0.1867	0.1894	0.1922	0.1949	0.1977	0.2005	0.2033	0.2061	0.2090
-0.8	0.2119	0.2148	0.2177	0.2206	0.2236	0.2266	0.2296	0.2327	0.2358	0.2389
-0.7	0.2420	0.2451	0.2483	0.2514	0.2546	0.2578	0.2611	0.2643	0.2676	0.2709
-0.6	0.2743	0.2776	0.2810	0.2843	0.2877	0.2912	0.2946	0.2981	0.3015	0.3050
-0.5	0.3085	0.3121	0.3156	0.3192	0.3228	0.3264	0.3300	0.3336	0.3372	0.3409
-0.4	0.3446	0.3483	0.3520	0.3557	0.3594	0.3632	0.3669	0.3707	0.3745	0.3783
-0.3	0.3821	0.3859	0.3897	0.3936	0.3974	0.4013	0.4052	0.4090	0.4129	0.4168
-0.2	0.4207	0.4247	0.4286	0.4325	0.4364	0.4404	0.4443	0.4483	0.4522	0.4562
-0.1	0.4602	0.4641	0.4681	0.4721	0.4761	0.4801	0.4840	0.4880	0.4920	0.4960
0.0	0.5000	0.5040	0.5080	0.5120	0.5160	0.5199	0.5239	0.5279	0.5319	0.5359
0.1	0.5398	0.5438	0.5478	0.5517	0.5557	0.5596	0.5636	0.5675	0.5714	0.5753
0.2	0.5793	0.5832	0.5871	0.5910	0.5948	0.5987	0.6026	0.6064	0.6103	0.6141
0.3	0.6179	0.6217	0.6255	0.6293	0.6331	0.6368	0.6406	0.6443	0.6480	0.6517
0.4	0.6554	0.6591	0.6628	0.6664	0.6700	0.6736	0.6772	0.6808	0.6844	0.6879
0.5	0.6915	0.6950	0.6965	0.7019	0.7054	0.7088	0.7123	0.7157	0.7190	0.7224
0.6	0.7257	0.7291	0.7324	0.7357	0.7389	0.7422	0.7454	0.7486	0.7517	0.7549
0.7	0.7580	0.7611	0.7642	0.7673	0.7704	0.7734	0.7764	0.7794	0.7823	0.7852
0.8	0.7881	0.7910	0.7939	0.7967	0.7995	0.8023	0.8051	0.8078	0.8106	0.8133
0.9	0.8159	0.8186	0.8212	0.8238	0.8264	0.8289	0.8315	0.8340	0.8365	0.8389
1.0	0.8413	0.8438	0.8461	0.8485	0.8508	0.8531	0.8554	0.8577	0.8599	0.8621
1.1	0.8643	0.8665	0.8686	0.8708	0.8729	0.8749	0.8770	0.8790	0.8810	0.8830
1.2	0.8849	0.8869	0.8888	0.8907	0.8925	0.8944	0.8962	0.8980	0.8997	0.9015
1.3	0.9032	0.9049	0.9066	0.9082	0.9099	0.9115	0.9131	0.9147	0.9162	0.9177
1.4	0.9192	0.9207	0.9222	0.9236	0.9251	0.9265	0.9279	0.9292	0.9306	0.9319
1.5	0.9332	0.9345	0.9357	0.9370	0.9382	0.9394	0.9406	0.9418	0.9429	0.9441
1.6	0.9452	0.9463	0.9474	0.9484	0.9495	0.9505	0.9515	0.9525	0.9535	0.9545
1.7	0.9554	0.9564	0.9573	0.9582	0.9591	0.9599	0.9608	0.9616	0.9625	0.9633
1.8	0.9641	0.9649	0.9656	0.9664	0.9671	0.9678	0.9686	0.9693	0.9699	0.9706
1.9	0.9713	0.9719	0.9726	0.9732	0.9738	0.9744	0.9750	0.9756	0.9761	0.9767
2.0	0.9772	0.9778	0.9783	0.9788	0.9793	0.9798	0.9803	0.9808	0.9812	0.9817
2.1	0.9821	0.9826	0.9830	0.9834	0.9838	0.9842	0.9846	0.9850	0.9854	0.9857
2.2	0.9861	0.9864	0.9868	0.9871	0.9875	0.9878	0.9881	0.9884	0.9887	0.9890
2.3	0.9893	0.9896	0.9898	0.9901	0.9904	0.9906	0.9909	0.9911	0.9913	0.9916
2.4	0.9918	0.9920	0.9922	0.9925	0.9927	0.9929	0.9931	0.9932	0.9934	0.9936
2.5	0.9938	0.9940	0.9941	0.9943	0.9945	0.9946	0.9948	0.9949	0.9951	0.9952

Tabla A.1. Continuación.

<i>z</i>	0.00	0.01	0.02	0.03	0.04	0.05	0.06	0.07	0.08	0.09
2.6	0.9953	0.9955	0.9956	0.9957	0.9959	0.9960	0.9961	0.9962	0.9963	0.9964
2.7	0.9965	0.9966	0.9967	0.9968	0.9969	0.9970	0.9971	0.9972	0.9973	0.9974
2.8	0.9974	0.9975	0.9976	0.9977	0.9977	0.9978	0.9979	0.9979	0.9980	0.9981
2.9	0.9981	0.9982	0.9982	0.9983	0.9984	0.9984	0.9985	0.9985	0.9986	0.9986
3.0	0.9987	0.9987	0.9987	0.9988	0.9988	0.9989	0.9989	0.9989	0.9990	0.9990
3.1.	0.9990	0.9991	0.9991	0.9991	0.9992	0.9992	0.9992	0.9992	0.9993	0.9993
3.2	0.9993	0.9993	0.9994	0.9994	0.9994	0.9994	0.9994	0.9995	0.9995	0.9995
3.3	0.9995	0.9995	0.9995	0.9996	0.9996	0.9996	0.9996	0.9996	0.9996	0.9997
3.4	0.9997	0.9997	0.9997	0.9997	0.9997	0.9997	0.9997	0.9997	0.9997	0.9998

Tabla A.2. La distribución *t*.

<i>Valor de t para un intervalo de confianza de Valor crítico de t para valores de P de número de grados de libertad</i>	90%	95%	98%	99%
	0.10	0.05	0.02	0.01
1	6.31	12.71	31.82	63.66
2	2.92	4.30	6.96	9.92
3	2.35	3.18	4.54	5.84
4	2.13	2.78	3.75	4.60
5	2.02	2.57	3.36	4.03
6	1.94	2.45	3.14	3.71
7	1.89	2.36	3.00	3.50
8	1.86	2.31	2.90	3.36
9	1.83	2.26	2.82	3.25
10	1.81	2.23	2.76	3.17
12	1.78	2.18	2.68	3.05
14	1.76	2.14	2.62	2.98
16	1.75	2.12	2.58	2.92
18	1.73	2.10	2.55	2.88
20	1.72	2.09	2.53	2.85
30	1.70	2.04	2.46	2.75
50	1.68	2.01	2.40	2.68
∞	1.64	1.96	2.33	2.58

Los valores críticos de $|t|$ son adecuados para un contraste de *dos colas*. Para un contraste de *una cola* el valor se toma de la columna para *dos veces* el valor de *P* deseado, es decir, para un contraste de una cola, $P = 0.05$, 5 grados de libertad, el valor crítico se lee de la columna $P = 0.10$ y es igual a 2.02.

Tabla A.3. Valores críticos de F para un contraste de una cola ($P = 0.05$).

v_2	v_1												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12	15	20
1	161.4	199.5	215.7	224.6	230.2	234.0	236.8	238.9	240.5	241.9	243.9	245.9	248.0
2	18.51	19.00	19.16	19.25	19.30	19.33	19.35	19.37	19.38	19.40	19.41	19.43	19.45
3	10.13	9.552	9.277	9.117	9.013	8.941	8.887	8.845	8.812	8.786	8.745	8.703	8.660
4	7.709	6.944	6.591	6.388	6.256	6.163	6.094	6.041	5.999	5.964	5.912	5.858	5.803
5	6.608	5.786	5.409	5.192	5.050	4.950	4.876	4.818	4.772	4.735	4.678	4.619	4.558
6	5.987	5.143	4.757	4.534	4.387	4.284	4.207	4.147	4.099	4.060	4.000	3.938	3.874
7	5.591	4.737	4.347	4.120	3.972	3.866	3.787	3.726	3.677	3.637	3.575	3.511	3.445
8	5.318	4.459	4.066	3.838	3.687	3.581	3.500	3.438	3.388	3.347	3.284	3.218	3.150
9	5.117	4.256	3.863	3.633	3.482	3.374	3.293	3.230	3.179	3.137	3.073	3.006	2.936
10	4.965	4.103	3.708	3.478	3.326	3.217	3.135	3.072	3.020	2.978	2.913	2.845	2.774
11	4.844	3.982	3.587	3.357	3.204	3.095	3.012	2.948	2.896	2.854	2.788	2.719	2.646
12	4.747	3.885	3.490	3.259	3.106	2.996	2.913	2.849	2.796	2.753	2.687	2.617	2.544
13	4.667	3.806	3.411	3.179	3.025	2.915	2.832	2.767	2.714	2.671	2.604	2.533	2.459
14	4.600	3.739	3.344	3.112	2.958	2.848	2.764	2.699	2.646	2.602	2.534	2.463	2.388
15	4.543	3.682	3.287	3.056	2.901	2.790	2.707	2.641	2.588	2.544	2.475	2.403	2.328
16	4.494	3.634	3.239	3.007	2.852	2.741	2.657	2.591	2.538	2.494	2.425	2.352	2.276
17	4.451	3.592	3.197	2.965	2.810	2.699	2.614	2.548	2.494	2.450	2.381	2.308	2.230
18	4.414	3.555	3.160	2.928	2.773	2.661	2.577	2.510	2.456	2.412	2.342	2.269	2.191
19	4.381	3.522	3.127	2.895	2.740	2.628	2.544	2.477	2.423	2.378	2.308	2.234	2.155
20	4.351	3.493	3.098	2.866	2.711	2.599	2.514	2.447	2.393	2.348	2.278	2.203	2.124

v_1 = número de grados de libertad del numerador y v_2 = número de grados de libertad del denominador.

Tabla A.4. Valores críticos de F para un contraste de dos colas ($P = 0.05$).

v_2	v_1												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12	15	20
1	647.8	799.5	864.2	899.6	921.8	937.1	948.2	956.7	963.3	968.6	976.7	984.9	993.1
2	38.51	39.00	39.17	39.25	39.30	39.33	39.36	39.37	39.39	39.40	39.41	39.43	39.45
3	17.44	16.04	15.44	15.10	14.88	14.73	14.62	14.54	14.47	14.42	14.34	14.25	14.17
4	12.22	10.65	9.979	9.605	9.364	9.197	9.074	8.980	8.905	8.844	8.751	8.657	8.560
5	10.01	8.434	7.764	7.388	7.146	6.978	6.853	6.757	6.681	6.619	6.525	6.428	6.329
6	8.813	7.260	6.599	6.227	5.988	5.820	5.695	5.600	5.523	5.461	5.366	5.269	5.168
7	8.073	6.542	5.890	5.523	5.285	5.119	4.995	4.899	4.823	4.761	4.666	4.568	4.467
8	7.571	6.059	5.416	5.053	4.817	4.652	4.529	4.433	4.357	4.295	4.200	4.101	3.999
9	7.209	5.715	5.078	4.718	4.484	4.320	4.197	4.102	4.026	3.964	3.868	3.769	3.667
10	6.937	5.456	4.826	4.468	4.236	4.072	3.950	3.855	3.779	3.717	3.621	3.522	3.419
11	6.724	5.256	4.630	4.275	4.044	3.881	3.759	3.664	3.588	3.526	3.430	3.330	3.226
12	6.554	5.096	4.474	4.121	3.891	3.728	3.607	3.512	3.436	3.374	3.277	3.177	3.073
13	6.414	4.965	4.347	3.996	3.767	3.604	3.483	3.388	3.312	3.250	3.153	3.053	2.948
14	6.298	4.857	4.242	3.892	3.663	3.501	3.380	3.285	3.209	3.147	3.050	2.949	2.844
15	6.200	4.765	4.153	3.804	3.576	3.415	3.293	3.199	3.123	3.060	2.963	2.862	2.756
16	6.115	4.687	4.077	3.729	3.502	3.341	3.219	3.125	3.049	2.986	2.889	2.788	2.681
17	6.042	4.619	4.011	3.665	3.438	3.277	3.156	3.061	2.985	2.922	2.825	2.723	2.616
18	5.978	4.560	3.954	3.608	3.382	3.221	3.100	3.005	2.929	2.866	2.769	2.667	2.559
19	5.922	4.508	3.903	3.559	3.333	3.172	3.051	2.956	2.880	2.817	2.720	2.617	2.509
20	5.871	4.461	3.859	3.515	3.289	3.128	3.007	2.913	2.837	2.774	2.676	2.573	2.464

v_1 = número de grados de libertad del numerador y v_2 = número de grados de libertad del denominador.

Tabla A.5. Valores críticos de Q ($P = 0.05$) para un contraste de dos colas.

Tamaño de muestra	Valor crítico
4	0.831
5	0.717
6	0.621
7	0.570

Tomados de King, E. P. 1958. *J. Am. Statist. Assoc.*, 48:531.

Tabla A.6. Valores críticos de G ($P = 0.05$) para un contraste de dos colas.

<i>Tamaño de muestra</i>	<i>Valor crítico</i>
3	1.155
4	1.481
5	1.715
6	1.887
7	2.020
8	2.126
9	2.215
10	2.290

Tomados de *Outliers in Statistical data*, Vic Barnett and Toby Lewis, 2nd Edition, 1984, John Wiley & Sons Limited.

Tabla A.7. Valores críticos de X^2 ($P = 0.05$).

<i>Número de grados de libertad</i>	<i>Valor crítico</i>
1	3.84
2	5.99
3	7.81
4	9.49
5	11.07
6	12.59
7	14.07
8	15.51
9	16.92
10	18.31

Tabla A.8. Números aleatorios.

02484	88139	31788	35873	63259	99886	20644	41853	41915	02944
83680	56131	12238	68291	95093	07362	74354	13071	77901	63058
37336	63266	18632	79781	09184	83909	77232	57571	25413	82680
04060	46030	23751	61880	40119	88098	75956	85250	05015	99184
62040	01812	46847	79352	42478	71784	65864	84904	48901	17115
96417	63336	88491	73259	21086	51932	32304	45021	61697	73953
42293	29755	24119	62125	33717	20284	55606	33308	51007	68272
31378	35714	00941	53042	99174	30596	67769	59343	53193	19203
27098	38959	49721	69341	40475	55998	87510	55523	15549	32402
66527	73898	66912	76300	52782	29356	35332	52387	29194	21591
61621	52967	40644	91293	80576	67485	88715	45293	59454	76218
18798	99633	32948	49802	40261	35555	76229	00486	64236	74782
36864	66460	87303	13788	04806	31140	75253	79692	47618	20024
10346	28822	51891	04097	98009	58042	67833	23539	37668	16324
20582	49576	91822	63807	99450	18240	70002	75386	26035	21459
12023	82328	54810	64766	58954	76201	78456	98467	34166	84186
48255	20815	51322	04936	33413	43128	21643	90674	98858	26060
92956	09401	58892	59686	10899	89780	57080	82799	70178	40399
87300	04729	57966	95672	49036	24993	69827	67637	09472	63356
69101	21192	00256	81645	48500	73237	95420	98974	36036	21781
22084	03117	96937	86176	80102	48211	61149	71246	19993	79708
28000	44301	40028	88132	07083	50818	09104	92449	27860	90196
41662	20930	32856	91566	64917	18709	79884	44742	18010	11599
91398	16841	51399	82654	00857	21068	94121	39197	27752	67308
46560	00597	84561	42334	06695	26306	16832	63140	13762	15598

Tabla A.9. El contraste de signos.

4	0.063	0.313	0.688						
5	0.031	0.188	0.500						
6	0.016	0.109	0.344	0.656					
7	0.008	0.063	0.227	0.500					
8	0.004	0.035	0.144	0.363	0.637				
9	0.002	0.020	0.090	0.254	0.500				
10	0.001	0.011	0.055	0.172	0.377	0.623			
11	0.001	0.006	0.033	0.113	0.274	0.500			
12	0.000	0.003	0.019	0.073	0.194	0.387	0.613		
13	0.000	0.002	0.011	0.046	0.133	0.290	0.500		
14	0.000	0.001	0.006	0.029	0.090	0.212	0.395	0.605	
15	0.000	0.000	0.004	0.018	0.059	0.151	0.304	0.500	

La tabla utiliza la distribución binomial con $P = 0.5$ para las probabilidades de r éxitos o menos para $n = 4\text{--}15$. Estos valores corresponden a un contraste de signos de una cola y deberían ser duplicados para un contraste de dos colas.

Apéndice 2

<i>N</i>	<i>M</i>	<i>A P = 0.05, el número de rachas es significativo si es:</i>	
		<i>Menor que</i>	<i>Mayor que</i>
2	12-20	3	NA
3	6-14	3	NA
3	15-20	4	NA
4	5-6	3	8
4	7	3	NA
4	8-15	4	NA
4	16-20	5	NA
5	5	3	9
5	6	4	9
5	7-8	4	10
5	9-10	4	NA
5	11-17	5	NA
6	6	4	10
6	7-8	4	11
6	9-12	5	12
6	13-18	6	NA
7	7	4	12
7	8	5	12
7	9	5	13
7	10-12	6	13
8	8	5	13
8	9	6	13
8	10-11	6	14
8	12-15	7	15

Adaptada de Swed, F. S. e Eisenhart, C. 1943. *Ann Math. Statist.*, 14:66.

El contraste no puede ser aplicado a los datos con *N*, *M* más pequeños que los números dados, o para casos marcados con NA.

Tabla A.11. El contraste de rangos y signos de Wilcoxon. Valores críticos para el estadístico del contraste $P = 0.05$.

<i>n</i>	<i>Contraste de una cola</i>	<i>Contraste de dos colas</i>
5	0	NA
6	2	0
7	3	2
8	5	3
9	8	5
10	10	8
11	13	10
12	17	13
13	21	17
14	25	21
15	30	25

La hipótesis nula puede rechazarse cuando el estadístico del contraste sea \leq al valor tabulado. NA indica que el contraste no puede ser aplicado.

Tabla A.12. El contraste de U de Mann-Wihtney. Valores críticos para U o el menor T_1 y T_2 a $P = 0.05$.

<i>n₁</i>	<i>n₂</i>	<i>Contraste de una cola</i>	<i>Contraste de dos colas</i>
3	3	0	NA
3	4	0	NA
3	5	1	0
3	6	2	1
4	4	1	0
4	5	2	1
4	6	3	2
4	7	4	3
5	5	4	2
5	6	5	3
5	7	6	5
6	6	7	5
6	7	8	6
7	7	11	8

La hipótesis nula puede rechazarse cuando U o el valor de T más pequeño sea \leq al valor tabulado. NA indica que el contraste no puede ser aplicado.

Tabla A.13. El coeficiente de correlación ordinal de Spearman. Valores críticos de ρ a $P = 0.05$.

<i>n</i>	<i>Contraste de una cola</i>	<i>Contraste de dos colas</i>
5	0.900	1.000
6	0.829	0.886
7	0.714	0.786
8	0.643	0.738
9	0.600	0.700
10	0.564	0.649
11	0.536	0.618
12	0.504	0.587
13	0.483	0.560
14	0.464	0.538
15	0.446	0.521
16	0.429	0.503
17	0.414	0.488
18	0.401	0.472
19	0.391	0.460
20	0.380	0.447

Tabla A.14. El contraste de normalidad de Kolmogorov. Valores críticos para contrastes de una y dos colas a $P = 0.05$.

<i>n</i>	<i>Contraste de una cola</i>	<i>Contraste de dos colas</i>
3	0.367	0.376
4	0.345	0.375
5	0.319	0.343
6	0.297	0.323
7	0.280	0.304
8	0.265	0.288
9	0.252	0.274
10	0.241	0.262
11	0.231	0.251
12	0.222	0.242
13	0.215	0.234
14	0.208	0.226
15	0.201	0.219
16	0.195	0.213
17	0.190	0.207
18	0.185	0.202
19	0.181	0.197
20	0.176	0.192

Los valores adecuados se comparan con la diferencia máxima entre las curvas de frecuencia acumulada experimental y teórica, tal y como se describe en el texto.

Tabla A.15. Valores críticos para C
($P = 0.05$) para $n = 2$.

<i>k</i>	<i>Valor critico</i>
3	0.967
4	0.906
5	0.841
6	0.781
7	0.727
8	0.680
9	0.638
10	0.602

Índice

A

absorbancia, 13, 39, 177, 196-200, 240-241
ajuste de curvas, 141-142, 149-156, 165, 178
aleatoriedad, 183
aleatorizacióm, 65, 190-191
American Society for Testing and Materials (ASTM), 8
análisis
 automático, 112
 clínico, 112, 162, 216
 complexométrico, 111-112, 169
 cuantitativo, 1
 cuantitativo, 1-3
 de componentes principales, 224-227
 de conglomerados, 228-232, 243
 jerárquico, 231-232
 de la varianza (ANOVA), 58-65, 97, 98,
 174, 189, 191-194, 195-200, 257-259
 aritmética de los cálculos, 62-64
 cuadrado medio residual en, 192-194,
 198-200
 cuadrados medios en, 61-65, 193,
 198-201, 203
 de dos factores, 99, 191-194, 195-200
 de un factor, 58-65, 79-80
 diferencias significativas en, 62
 en cálculos de regresión, 141-143, 241
 mínima diferencia significativa en, 62
 para comparar varias medias, 59-62
 suma de cuadrados en, 61-65,
 192-194, 198-200
supuestos, 65
término de corrección, 197-199
variación dentro de muestras en,
 59-65, 80

variación entre bloques en, 192-194
variación entre columnas en, 198-199
variación entre filas en, 198-199
variación entre muestras en, 59,
 61-65, 80
variación entre tratamientos, 192-194
variación total en, 63-66
de la varianza de un factor (ANOVA),
 véase análisis de la varianza.
de tamaños de partículas, 2
de variables canónicas, 236
discriminante, 232-233
discriminante cuadrático, 234
discriminante lineal, 232-236, 238
enzimático, 15, 205-207, 211-212
exploratorio de datos (AED),
 véase análisis inicial de los datos
 (AID).
gravimétrico, 12, 111
inicial de datos (AID), 5, 17, 150,
 159-164
medioambiental, 162
volumétrico, 3, 8-11, 34, 111-112
analizadores centrífugos, 216
antibióticos, 232
astigmatismo, 12

B

barras de error, 136-137
bases de datos, 17, 112
blanco, 11, 114-115, 126-127
bloques, 65, 190-191, 192-194
bondad del ajuste, 183-185, 257-258
British Standards Institution (BSI), 8, 19

- bureta, 8, 11
 búsqueda de la variable alterna, 208-211, 216-217
- ## C
- calculadoras, 16, 17, 116, 123, 176
 calibración
 inversa, 240-242
 multivariante, 239-240
 calidad, 77
 capacidad del proceso, 83-92
 censado de valores en ensayos de colaboración, 99
 centro
 de gravedad ponderada, 137-139
 de gravedad, de puntos en gráficas de calibrado, 115, 119
 cifras significativas, 33-34, 116, 122
 cociente de oro, 208
 coeficiente
 de correlación momento-producto, 68, 115-118, 131-134, 143, 175, 223
 de correlación múltiple, véase coeficiente de determinación.
 de correlación ordinal de Spearman, 174-176, 257-258, 270
 de correlación, véase coeficiente
 de correlación momento-producto.
 y coeficiente de correlación ordinal de Spearman.
 de determinación, 142-143, 148
 ajustado, 142-143, 148
 de variación, véase desviación estándar relativa.
 colorimetría, 14, 216
 combinaciones lineales
 de errores aleatorios, 36-37
 de errores sistemáticos, 39-40
 comparación de un resultado experimental con otro estándar, 2, 43-45, 52, 163-164, 166-167
 de datos por parejas, 49-51, 167-168, 257-258
 de las desviaciones estándar de dos conjuntos de datos, 53-55, 257-258
 de las medias de dos conjuntos de datos, 3, 45-49, 169-170, 257-258
 de las medias de varios conjuntos de datos, 59-62, 172-174
 computación natural, 217
 concentración de anticuerpos en suero, 27-28, 157
 conglomerados, 221
 conjunto
 de aprendizaje, 234
 de contraste, 234
 contraste
 bilateral (o de dos colas), 51-52, 118
 chi cuadrado, 65-67, 173-175, 183-184, 257-258
- de Cochran, 97, 259
 de dos colas, véase contraste bilateral.
 de entereza, 97-98
 de Friedman, 173-174, 257-258
 de Grubbs, 56-58, 98-99, 257-258, 266
 de Kruskal-Wallis, 172
 de rachas de Wald-Wolfowitz, 165-166, 259, 268
 de rangos y signos de Wilcoxon, 166-168, 169, 257-258, 269
 de rangos y signos, véase contraste rangos y signos de Wilcoxon.
 de Siegel-Tukey, 162, 171, 257-258, 269
 de significación, 17, 43-71, 162-175, 185, 259
 conclusiones de los, 69-71
 problemas en el uso secuencial de los, 71
 de signos, 163-165, 166, 257-258, 267
 de una cola, véase contraste unilateral.
 F, 53-55, 62, 71, 80, 100, 142, 171, 194, 198, 204, 257-259, 264-265
 Q para valores anómalos véase Q de Dixon.
 rápido de Tukey, 170, 257-258
 t, 44-48, 52-53, 55, 66, 118, 145, 160, 163, 185, 257-259, 263
 t por parejas, 49-51, 133, 164, 167, 257-258, 263
 U de Mann-Whitney, 169-171, 185, 257-258, 269
 unilateral (o de una cola), 48, 51-52
 corrección de Yates, 67
 correlación, 16
 ordinal, véase coeficiente de correlación ordinal de Spearman.
 cromatografía
 gas líquido, 111, 150, 173-174, 216, 232
 líquida de alta resolución, 111, 173-174, 201
 cuadrados
 latinos, 195
 medios, en regresión no lineal, 147-149
 cuartil
 inferior, 159-160
 superior, 159, 161
 cuartiles, 160-162
- ## D
- daltonismo, 12
 datos emparejados, 49-51, 173
 delimitador V, 91-92
 dendrograma, 230-233
 desviación
 absoluta respecto a la mediana (DAM), 181-182
 estándar, 16-17, 21-27, 29-35, 36-39, 57, 69-70, 83-84, 93, 96, 157, 179, 183-185

- de la gráfica de calibrado lineal, 120-122, 127, 130
 de la pendiente y ordenada en el origen, 120-122, 127, 130
 estandar relativa (DER), 23, 37-39, 94, 139
determinación
 de albumina en suero, 1, 14, 27
 de cromo en suero, 11-13
 de la concentración por métodos de calibración, 121, 123-125, 137-140
diagnóstico de residuos, 150-151, 241
diagrama
 de puntos suspensivos, 5, 58-59, 159, 160
 de Shewhart, 84-90, 92-93
 de tallo y hoja, 162
 sumacu (suma acumulada), 89-90
diagramas
 de control, 82-92
 de curvas de nivel, 209-217
diseño
 de bloques aleatorizados, 191
 experimental, 11, 13, 15-17, 96, 189-218
 factorial, 200-205, 212-214, 216
 factorial completo, 200
 factorial incompleto, 96, 204
diseños
 anidados, 195
 de clasificación cruzada, 195
 experimentales de un factor cada vez y optimización, 208-210
 factoriales fraccionados, 204
 jerarquizados, 195
distancia
 de Cook, 151
 euclídea, 231
distribución
 binomial, 159-164
 contrastes para la, 65, 67-69, 182-184
 de medidas repetidas, 23-27
 Gaussiana, véase distribución normal
 log-normal, 27-28, 58, 157
 muestral de la media, 29-30, 61, 69-70
 normal, 24-25, 30, 53, 58, 65, 67-69, 97, 126, 157, 164, 166, 178
 distribuciones con colas acusadas, 95, 157, 179
 doble peso, 182

E

- ecuaciones polinómicas en el ajuste de curvas, 141-142, 147
 efecto del filtro interno, en fluorimetría, 143, 146
efectos
 atmosféricos en la pesada, 9
 de la temperatura en análisis volumétrico, 10-11
 de matriz, 128

- enmascaramiento, en el contraste de valores anómalos, 57
 ensayos de colaboración, 14, 96-100
 error estándar de la media (e.e.m.), 30, 70
 errores, véase errores groseros, aleatorios y sistemáticos.
 aleatorios, 3-11, 13-15, 29, 43-51, 99-101
 en cálculos de regresión, 120-124, 129, 139
 de indicador, 10
 de tipo I, en contrastes de significación, 69-71, 126
 de tipo II, en contrastes de significación, 69-71, 126
 en contrastes de significación, 69-70
 groseros, 3, 4, 9, 179
 relativos, 23, 37-39
 sistemáticos, 3-15, 23, 29, 34, 36, 39-40, 43-45, 52, 99-102, 112, 132, 168, 190, 200
espécimen, 29
espectrometría
 de absorción atómica, 11, 14, 35, 129, 143, 168, 216
 de emisión, 104, 128
 de emisión atómica, 150
 de fluorescencia, 37, 59-61, 111, 143, 146-147, 189-190, 222
 de masas, 111
 de plasma, 14, 111, 128, 216
espectroscopía de derivadas, 112
esquemas de pruebas de suficiencia, 15, 92-95, 103, 105
estadístico t, 32-33, 44-45, 71, 81, 263
estandarización, 225, 236
estimación conjunta de la desviación estándar, 45-48, 71, 141
estudios de funcionamiento de métodos, 96-97
exactitud, 5-6, 55, 112, 145
expresiones multiplicativas,
 en la propagación de errores aleatorios, 37
 en la propagación de errores sistemáticos, 40
extracto de ensayo, 29

F

- factor**
 controlado, 58-62, 189, 193
 de cobertura, 101
 incontrolado, véase factor de efecto aleatorio.
factores
 aditivos, en diseño experimental, 195-196, 200
 cualitativos, 189
 cuantitativos, 189

de efecto aleatorio, 59, 79, 189, 193
 de efecto fijo, véase factores controlados que afectan a los resultados.
 experimentales, 16, 96, 198, 200-205, 213
F
 Fibonacci 207
 Fisher, R.A. 192
frecuencia
 acumulada, 67-69
 curva de, 67-69, 183
 en el contraste chi cuadrado, 65-66
 esperada, en el contraste chi cuadrado, 65-67
 observada, 65-67
función
 de distancia, 180
 de distribución acumulativa normal estándar, 26-27, 183-184, 261-263
 de influencia, 151
 discriminante lineal, 232-236
funciones
 a trozos (spline), 149
 generales en la propagación de errores, 38-39
 glucosa sanguínea, 93
 grados de libertad, 32-33, 46-49, 50, 61-65, 83-84, 121, 141, 173-174, 185-190, 198-200
gráfico
 de cajas y bigotes, 161-162
 de dos muestras, véase gráfico de Youden.
 de Youden, 98-100
 draftsman, 222
 gráficos de tanteo, 226-227

H

heterocedasticidad, 135
hipótesis
 alternativa, 69, 70
 nula, 43-45
 histograma, 23, 162
 hojas de cálculo, 17, 122
 homocedasticidad, 135
 homogeneidad de la varianza, 65, 97

I

incertidumbre, 7, 33, 40, 77, 94, 101-104
 estándar, 101-104
 expandida, 101-104
 incremento de muestra, 76-81
 inmunoensayo, 14, 143, 149, 173
 instrumentos inteligentes, 112
 interacciones entre factores, 16, 96, 174, 194-200, 203-206
 intersección de dos líneas rectas, 140-141
 intervalos de confianza de la media, 30-33, 34-36

K

Kendall, 176

L

Laboratory of the Government Chemist, 14
 lámpara de cátodo hueco, 143
límite
 de cuantificación, 126
 de decisión, 126
 de detección, 3, 113, 125-127
 de determinación, 127
 límites de confianza de la media, 17, 30-31, 34-36, 81, 83-89, 160
 en gráficas de calibración lineal, 113, 124-125, 130, 132-135, 139
línea
 de regresión de x sobre y, 119
 de regresión de y sobre x, 119-123, 135
líneas
 de acción, en diagramas de control, 83-90
 de peligro, en diagramas de control, 83-90
 longitud media de racha, 89-92

M

materiales de referencia estándar, 13, 78, 82, 111
 matraz aforado, 8-11
 matrices superpuestas, 128-129
 matriz de confusión, 233
 matriz de correlación, 223
 máxima pendiente, método de optimización, 211-214
 media, 16, 17, 21-27, 29-35, 83-84, 168, 171, 180-181, 183
 aritmética, véase media
 del proceso, 83-92
 geométrica, 28, 35-36
 intervalo de confianza de la, 35-36
 recordada, 179-181
 mediana, 94, 158-172, 176-178, 180-182, 257-258
 de la tendencia central, 158
 medidas de la población, 23-30, 78
método
 de abajo arriba para incertidumbre, 101-102
 de adiciones estándar, 114, 129-131
 de arriba abajo para la incertidumbre, 102
 de Herd-Johnson, 68
 de k medias, 232
 de los K vecinos más próximos (KVP), 236-237
 de los mínimos cuadrados, 18, 119, 147, 177-178, 182

- de Theil para líneas de regresión, 176-178, 182
 de vinculación simple, 230
 univariante iterativo, véase búsqueda de la variable alterna.
- métodos
 de calibración, 3, 8, 13, 17, 111-143, 163, 177-178
 de distribución libre, véase métodos no paramétricos.
 de interpolación en regresión no lineal, 150
 de Kolmogorov-Smirnov, 68, 183-185, 257-258
 de optimización simplex modificados, 215
 de ordenación, 166-167
 de regresión, 114, 135
 de componentes principales, 238, 242-243
 de mínimos cuadrados parciales, 239, 242-243
 lineal, 16, 51, 111-144, 164-165, 182
 múltiple, 237-238
 multivariante, 238-239
 no lineal, 17, 113, 117-118, 143-150
 no paramétricos, 163
 para comparar métodos analíticos, 130-134
 de regresión no ponderados, 111-135
 de regresión ponderados, 114, 135-140, 146
 de transformada de Fourier, 112
 electroquímicos de análisis, 111, 129
 iterativos, 147, 159
 multivariantes, 18, 190, 221-243
 no paramétricos, 18, 58, 120, 151, 158-178, 182, 186, 257-258
 radioquímicos de análisis, 111
 robustos, 58, 151, 157, 178-182, 185, 259
 térmicos de análisis, 111
 univariantes en optimización, 205-208
 microbalanza, 9
 microcomputadoras, 12, 112, 158, 162, 176
 Microsoft Excel, 17, 19, 27, 45, 47-48, 54, 64, 80, 88-89, 132-133, 142
 mínima
 diferencia significativa, en ANOVA, 62
 mediana de cuadrados (MMC), 182
 mínimos
 cuadrados iterativamente reponderados, 182
 cuadrados parciales, véase métodos de regresión.
 Minitab, 17, 19, 27, 45, 49, 55, 68, 122, 144, 162, 197-199, 222, 226, 230-233, 235, 240
 modelado de clase disjunta, 237
 monocromadores, errores sistemáticos debidos a, 12-13
 muestra, 29
 aleatoria, 79-80
 muestreo, 12, 77-79, 103
 a granel, 79
 de aceptación, 104-106
- N**
- Naranja de Metilo, error de indicador debido a, 11
 National Institute for Science and Technology (NIST), 14
 National Physical Laboratory (NPL), 14
 nebulizadores, 27
 nivel
 de calidad aceptable, (NCA) 104-105
 de calidad de tolerancia (NCT), 105
 niveles
 de factores experimentales, 96, 189, 202-206, 214-216
 de significación, 44-45
 nudos en funciones a trozos (spline), 149
- O**
- objetos
 de aprendizaje, 232
 de entrenamiento, 232
 optimización, 15-16
 por el método simplex, 214-217
 ordenación alterna por pares, 171
 ordenada en el origen, en gráficos de calibración lineal, 114, 119, 127-130, 132-135, 176
 Organización internacional de estándares (ISO), 5, 56
 ortogonalidad, 224
- P**
- papel de probabilidad normal, 67-69, 183
 patrón de control de calidad interno (ICC), 82
 pendiente de la gráfica de calibrado lineal, 114, 119-121, 127-135, 176-177
 periodicidad
 de signos + y -, 166
 efectos en el muestreo, 78
 pesada, 7-10
 efectos atmosféricos en la, 8-9
 por diferencia, 7-10, 39-40
 recipiente de, 7
 pipeta, 7-10
 ponderación de datos por defecto, 180
 ponderaciones, de puntos de regresión ponderada, 137-140, 146
 posiciones empatadas, véase rangos empatados.
 potencia de un contraste estadístico, 70-71, 165, 185

precisión, 5, 33, 55, 112, 198
 dentro de rachas, 6
 entre rachas, 6
 presentación de resultados, 33-34
 problemas de especiación, 132
 procesadores de texto, 17
 propagación
 de errores al azar, 36-39
 de errores sistemáticos, 39-41
 pseudovalores, 181
 punto de ruptura, 182
 puntuaciones z , 93-94

Q

Q de Dixon, 55-58, 179, 257, 258, 265
 quimiometría, 16, 190

R

rachas de signos + y -, 144, 165-166, 259, 269
 rango, 85-89
 intercuartílico, 94, 159-161, 179
 reconocimiento de pautas, 232
 redes neuronales, 217, 242
 redondeo de resultados, 33-34, 122
 regla de decisión, 226
 regresión
 curvilinear, véase regresión,
 no lineal
 de componentes principales, véase
 regresión
 repetibilidad, 6, 97
 réplicas, en diseño experimental, 196
 reproducibilidad, 4-6, 97
 residuos
 de y , en gráficas de calibrado, 119, 121, 143-145, 147-151, 165-166, 181-182, 238
 en cálculos de regresión, véase residuos
 de y .
 resumen de los cinco números, 161
 revenido simulado, 216-218

S

secuencias de signos + y -, véase rachas de
 signos + y -.
 sensibilidad, 127
 señal de fondo, véase blanco
 sesgo, 4-6, 52, 97-99
 en el número, 12
 SIMCA, 237
 similaridad en análisis de conglomerados, 230
 sistemas de organización de la información
 del laboratorio (LIMS), 18
 solución de contraste, 29
 splines (funciones a trozos) cúbicos, 150
 suma de cuadrados, en regresión no lineal,
 147-149, 180

sumas de rangos, 171-172
 superficies de respuesta en optimización,
 208-209
 supuestos utilizados en cálculos de
 calibración lineal, 114, 135

T

tabla
 de frecuencias, 23-25, 173
 de números aleatorios, 78, 191, 217, 267
 tendencias, contrastes de significación para,
 164-165
 teorema
 binomial, 163-164
 del límite central, 30, 157
 tolerancias, de material de vidrio y pesas, 8
 transformación logit, 146
 transformaciones, en regresión, 146
 transmitancia, 39
 tratamientos, 190-191
 trompeta de Horwitz, 95, 100

U

Unión internacional de química pura y
 aplicada (IUPAC), 23
 Unscrambler, The, 18
 uso secuencial de contrastes de significación,
 71

V

validación cruzada, 234-235, 238
 valor
 asignado, 94
 objetivo, en diagramas de control, 82-93
 valores
 anómalos, 3, 55-58, 94, 98-99, 158-160,
 179-181, 185
 en la regresión, 150-152, 177-178, 182
 críticos en contrastes estadísticos, 44-45
 de P , 44-45
 de z , 26-27, 31
 vallas, 161
 Vamstat, 18
 variable normal estándar, 26-27, 183-184
 variables latentes, 228
 varianza, 18, 22-23, 36-38, 53-54, 81, 97, 99,
 180, 194, 203
 en la medida, 79-81
 muestral, 79-81
 vector de datos, 221-222
 vidrio volumétrico, 8-11

W

Winsorización, 181

Y

Yates, 67, 203