

MEDICIONES Y ERRORES

Lupo M., Rigalli A

Uno de los principales desafíos de un laboratorio es producir un resultado confiable, creíble, reproducible y repetible. Veamos cada uno de estos importantes calificativos de un resultado.

Confiable: el resultado obtenido debe ser utilizado por otros y por nosotros sin ningún tipo de duda, fundado en una buena aplicación de la tecnología, la metodología y los controles de calidad. La confiabilidad del resultado surge del control extremo de equivocaciones, errores aleatorios y errores sistemáticos. Las equivocaciones o accidentes pueden anticiparse y evitarse, sin embargo, los errores aleatorios pueden disminuirse, pero nunca hacerlos desaparecer. Por su parte, los errores sistemáticos pueden ponerse en evidencia y eliminarse casi por completo.

Creíble: esta característica de un resultado surge en general de una trayectoria de trabajo prolija, que ha superado la mirada crítica de otros, que ha sido discutida a fondo y que los resultados producidos para otros han sido bienvenidos y aceptados.

Repetible: un resultado es repetible si en un mismo día o en el mismo laboratorio, la medición da valores similares.

Reproducible un resultado se dice que es reproducible si al realizar la misma medición en días distintos o en diferentes laboratorios, se obtienen valores similares.

Los resultados de un laboratorio se generan a partir de un proceso de medición.

Medición

El proceso de medición consiste en la comparación del valor de una propiedad de una muestra con un patrón (utilizando un instrumento). La medición indica la relación entre la magnitud de la muestra y la del patrón utilizado. Por ejemplo si un fémur (que es nuestra muestra) pesa 3.1g, indica que su masa es 3.1 veces mayor que 1g (el patrón con el que se compara: en las balanzas del laboratorio). Muchas veces como ocurre en este caso no vemos el patrón de medición, pero está implícito en el instrumento utilizado.

Tipos de mediciones

Hay dos tipos de mediciones

Medición directa

Una medición directa es aquella medición en que se obtiene el valor luego de medir algo con un instrumento. Por ejemplo medir una longitud con una regla, una masa con una balanza, un volumen con una pipeta, etc.

Ejemplo

- 2.5ml
- 0.15g
- 11.12mm

Medición indirecta

Una medición indirecta es aquella que se obtiene por cálculo a partir de otras mediciones directas. Por ejemplo la densidad, que se obtiene del cociente entre una masa y un volumen, ambos medidos de manera directa. Son medidas indirectas la rigidez ósea (cociente entre fuerza y desplazamiento), el módulo de Young (cociente entre tensión y deformación), el área (largo por ancho). También es una medida indirecta el cálculo de la concentración medida por espectrofotometría, ya que lo que se mide es la absorbancia y luego a partir de ésta por un cálculo se obtiene la concentración.

Ejemplo

Si medimos una hoja de papel que tiene 10cm de ancho por 20cm de largo, su área es $10 \times 20 = 200 \text{cm}^2$.

Errores

El error es una parte del proceso de medición, que puede disminuirse pero no anular. No se debe confundir al error de medición con la equivocación. La equivocación es un mal manejo de los instrumentos de medición, un descuido, una mala aplicación del proceso de medición por desconocimiento, desidia o intensión.

Tipos de errores

Los errores se pueden clasificar desde diferente punto de vista. Veamos algunas clasificaciones.

De acuerdo a su forma de cálculo y significado podemos clasificar a los errores en : absoluto y relativo.

Error absoluto

El error absoluto (EA), es la diferencia entre el valor real y el valor medido de una determinada magnitud.

$$EA = \text{valor medido} - \text{valor real}$$

El valor real es siempre un número desconocido y al que deseamos aproximarnos a través de nuestro proceso de medición. Por esta razón el EA absoluto no lo podemos calcular de la manera indicada en el párrafo anterior. El EA se considera igual a la menor división de la escala del instrumento de medición. Por ejemplo una regla milimetrada se puede considerar que tiene un error absoluto de 0.1cm o 1mm. Una balanza cuya pantalla muestra por ejemplo un valor 2.125g al encenderla tiene un error de apreciación o absoluto sería 0.001g o 1mg.

Error relativo

El error relativo (ER) es el cociente entre el error absoluto y el valor de la medición realizada.

$$ER = \frac{EA}{\text{valor medido}}$$

En el caso del error relativo porcentual (ER%) es el error relativo multiplicado por 100.

$$ER = \frac{EA}{\text{valor medido}} * 100$$

El error relativo es menor cuanto menor es la apreciación del instrumento y mayor la medición realizada. Con respecto a la apreciación del instrumento es importante recalcar que una menor apreciación se interpreta como un instrumento que mide con mayor cantidad de cifras significativas. Por ejemplo si tenemos una balanza que muestra en el visor valores como 3.41g y otra muestra 3.4135g. La segunda tiene menor apreciación porque es capaz de medir con más cifras significativas.

Ejemplo:

Si medimos una masa de 2.1g con una balanza de apreciación 0.01g, el error relativo de la medida es

$$ER = \frac{0.01}{2.1} * 100 = 0.48 \%$$

Ejercicio

Busque un instrumento (preferentemente uno que use para medir en sus tareas). Investigue cual es su error de apreciación (apreciación o error absoluto) y calcule el ER% que cometería al hacer una medición. Aun fuera de un laboratorio puede hallar instrumentos de medición: una regla, una jarra para medir masas o volúmenes de alimentos, un velocímetro de un automóvil, el surtidor de combustible de un automóvil o su reloj, por nombrar algunos. De acuerdo al origen del error se los puede clasificar en aleatorios y sistemáticos. Estos errores son los que debemos controlar y medir en nuestras determinaciones y que tendrán impacto directo sobre la precisión y exactitud de una medición.

Errores aleatorios

Los errores aleatorios surgen de variables que intervienen en el proceso de medición y que en muchos casos son incontrolables o impredecibles:

- cambios en voltaje eléctrico.
- humedad ambiente.
- presión atmosférica.
- temperatura ambiente.
- lavado del material.
- calidad del agua destilada.

Los errores aleatorios pueden producir mediciones de mayor o menor valor que el valor real de la medición y normalmente es el resultado de múltiples factores como los enumerados anteriormente.

Errores sistemáticos

Los errores sistemáticos pueden surgir del funcionamiento de instrumentos, de partes del equipamiento de medición y del propio operador. En general cambian el valor de una medición en más o en menos respecto del valor real.

Son algunos :

- filtro sucio que no deja pasar la luz adecuadamente.
- envejecimiento de sistema de medida analógicos.
- envejecimiento de lámparas.
- balanza descalibrada.
- testigos en mal estado.
- cambio de soluciones de diferentes kits de medición.
- mal uso de los topes de la micropipetas.
- errores de paralaje al medir un instrumento.
- mal manejo de unidades de medida.

Dentro de los errores sistemáticos pueden existir los errores conocidos también como sesgo. Puede ocurrir que al medir una variable, el conocimiento previo de los grupos induzca a inclinar los valores hacia un lado en particular. Por ejemplo, si medimos una solución que es ácida y el pH que mide el pHmetro va descendiendo, tendremos tendencia a esperar más tiempo para la medida. En cambio si sabemos que una solución debe ser más alcalina, la lectura la haremos en menor tiempo, intentando tener un valor más elevado. El trabajo a ciegas es recomendable para evitar este tipo de error o bien como en el caso mencionado, fijar un tiempo de lectura y cumplido ese tiempo tomar el número, aun cuando todavía esté variando.

Control de calidad

Algunos conceptos

- Al realizar una medición aun con el mayor de los cuidados siempre existirá error.
- Los errores aleatorios pueden generar un valor mayor o menor que el real.
- Los errores sistemáticos producen un error en la medición que siempre subestima o sobrestima el valor real.
- Los errores aleatorios pueden minimizarse con buenas prácticas de trabajo, protocolos estandarizados y atención.
- Los errores sistemáticos deben ser descubiertos y corregidos. Una vez corregidos desaparecen o bien se hacen insignificantes.
- Tanto o más importante es minimizar el error, como conocer el valor de dicho error.
- Los errores aleatorios pueden estimarse por el coeficiente de variación (CV %).
- El error sistemático se evalúa utilizando el valor de las unidades de desvío estándar (UDS) de una medición de espécimen de valor conocido.
- Otros controles de calidad que se puede utilizar, dependiendo la medición, son los parámetros de las curvas de calibración, ensayos de adición - recuperación y correlaciones entre variables medidas en una misma muestra.

Coeficiente de variación

El coeficiente de variación nos da una idea de los errores aleatorios de la medición y para poder calcularlo se debe hacer cada medición por duplicado. En el proceso se obtendrán dos valores que llamaremos: x_1 y x_2 . El coeficiente de variación se calcula con la siguiente expresión

$$CV\% = \frac{\text{valor absoluto}(x_1 - x_2)}{\text{media}(x_1 : x_2) * 1.41} * 100$$

En general aceptamos una medición si el CV% es menor o igual al 10%, aunque puede cambiarse esta regla para algunos tipos de mediciones si la metodología lo requiere. Si el CV% de una muestra supera el 10% se debe repetir la medición.

Ejemplo:

Supongamos una medida directa de pH. Si tenemos una solución en la que queremos medir el pH debemos hacer dos mediciones de la misma solución.

Así, obtendremos dos medidas

pH1= 5.40

pH2= 5.10

Con dichos valores calculamos la media, que llamaremos pHm

pHm= (5.40+5.10)/2= 5.25

Con estos valores calculamos el coeficiente de variación con la fórmula del coeficiente de variación

$$CV\% = \frac{\text{valor absoluto}(pH1 - pH2) * 100}{(pHm * 1.41)}$$

reemplazando los valores obtenemos

$$CV\% = \frac{\text{valor absoluto}(pH1 - pH2) * 100}{(pHm * 1.41)} = \frac{(5.40 - 5.10) * 100}{(5.25 * 1.41)} = 4.05\%$$

para este ejemplo el CV% = 4.05%. La medición es aceptada, ya que el CV% es inferior al 10%. El valor que se informa es pH= 5.25 y si se desea se puede indicar el CV% de la medición, que en general redondeamos hacia el número entero superior. En este caso sería 5% de error. La regla para informar el error puede variar según la técnica y el laboratorio.

Unidades de desvío estándar

Las unidades de desvío estándar (UDS) son de utilidad para detectar la presencia de errores sistemáticos y se calcula como la diferencia entre el valor de referencia de una muestra llamada quality control y el valor medido

promedio surgido de la medición por duplicado, dividido por el desvío estándar de la medida del control de calidad. La fórmula siguiente expresa este cálculo

$$UDS = \frac{\text{valor medido promedio} - \text{valor del quality control}}{\text{desvío estándar del control de calidad}}$$

En general aceptamos una medición si el UDS se halla en el intervalo [-2,2], aunque dicho rango puede ser modificado con fundamentada decisión. Si el valor de UDS cae fuera del rango mencionado se debe repetir todo el lote de determinaciones y está indicando la presencia de un error sistemático, en especial si el valor de UDS se repite en nuevas mediciones.

Aclaración: a lo largo del texto se utiliza "quality control" o "QC" cuando nos referimos al reactivo que utilizamos para realizar el control de calidad. Por su parte cuando utilicemos la palabra control de calidad, nos referiremos al proceso de realizar pruebas para garantizar una correcta medición.

Ejemplo:

Deseamos medir el pH de una dada solución. Para el proceso contamos con un pHmetro y además disponemos de una solución "quality control" que tiene un valor de pH= 5 y un desvío estándar (SD)= 0.2. A la solución QC la medimos como si fuera una muestra y obtendremos dos valores

$$pH_{1QC} = 5.1$$

$$pH_{2QC} = 5.3$$

sacamos el promedio: $pH_{QC} = 5.2$

calculamos el UDS con la ecuación anterior

$$UDS = \frac{\text{valor medido} - \text{valor del QC}}{SD} = \frac{(5.2 - 5)}{0.2} = 1$$

Un UDS=1 me permite afirmar que el QC está dentro del rango esperado y por lo tanto todo el lote de mediciones es aceptado en base a este criterio. Por supuesto la aceptación final de las mediciones dependerá de todos los controles impuestos.

Ensayo de adición-recuperación

Este control se utiliza para detectar posibles interferencias en la medición, debida a algún componente de la muestra donde se realiza la medición.

Básicamente el ensayo consiste en medir la variable en una muestra. Luego a dicha muestra se le agrega una cantidad conocida de la sustancia a medir y se repite la medición de la variable. Con ambas mediciones se calcula la cantidad

de la sustancia en la muestra y en la muestra más la adición. Restando el primer valor al segundo nos dará la cantidad adicionada. Si a este valor lo dividimos por el valor adicionado y lo multiplicamos por 100 obtenemos el porcentaje de recuperación (R), el que debe hallarse entre 90-110%, dependiendo las exigencias impuestas en cada técnica

Ejemplo

A continuación veremos un ejemplo sencillo en que evaluemos el CV%, la UDS y R.

La medición consiste en obtener la masa de un dado cuerpo. Para ello disponemos de una balanza que es capaz de medir miligramos, un QC que en este caso consiste en una pesa calibrada cuyo peso conocemos con exactitud (1.213g, en este caso) y su desvío estándar tiene el valor 0.005g. En este caso utilizaremos este mismo QC para el ensayo de adición-recuperación.

Para realizar la medición en primer lugar se pesó el QC, por duplicado, obteniendo los siguientes valores:

$$QC1 = 1.214g$$

$$QC2 = 1.208g$$

Luego se colocó el cuerpo sobre la balanza, proceso que repetimos dos veces obteniendo los valores de masas:

$$m1 = 25.518g$$

$$m2 = 25.508g$$

y finalmente se peso el cuerpo simultáneamente con el QC, obteniéndose los siguientes valores

$$A1 = 26.730$$

$$A2 = 26.720$$

Calculo de la masa

$$m = \frac{m1 + m2}{2} = \frac{25.518 + 25.508}{2} = 25.513g$$

Cálculo de las UDS

Se calcula en primer lugar la media del valor del QC

$$Qc = \frac{QC1 + QC2}{2} = \frac{1.214 + 1.208}{2} = 1.211$$

Calcular UDS

$$UDS = \frac{\text{valor medido} - \text{valor del QC}}{SD} = \frac{(1.211 - 1.213)}{0.005} = -0.4$$

Cálculo del CV%

$$CV\% = \frac{\text{valor absoluto } (m1 - m2) * 100}{(m * 1.41)} = \frac{(25.518 - 25.508) * 100}{(25.513 * 1.41)} = 0.0277\%$$

Cálculo de la adición recuperación

Se calcula la media de la masa medida más la adición

$$A = \frac{A1 + A2}{2} = \frac{26.730 + 26.720}{2} = 26.725 \text{ g}$$

Calcular recuperación

$$R = \frac{A - m}{A} * 100 = \frac{26.725 - 25.513}{1.213} * 100 = 99.92\%$$

Expresión del resultado

La masa medida es: 25.513g

CV% = 0.0277%

UDS = -0.4

R = 99.92%

Todo indica un buen proceso de medición, con bajo error aleatorio (respaldado en un CV% menor al 10%), errores sistemáticos bajos (garantizado por un bajo valor de UDS, aunque este valor debe ser analizado en perspectiva de mediciones a lo largo del tiempo) y una recuperación dentro del rango adecuado.

Algunas conclusiones sobre los procesos de medición y sus errores. Los errores de medición pueden conducir a mayor trabajo porque puede ocurrir que tenga que repetir todas las determinaciones. Recuerde, si algo le salió mal y trata de arreglar los resultados u ocultar el error:

- tarde o temprano alguien se dará cuenta.
- más temprano que tarde verá que tiene que medirlo nuevamente para arribar a conclusiones valederas. Puede ocurrir que ya las muestras hayan sido descartadas.
- Si el CV% o el UDS le indican que debe realizar nuevamente la medición de una muestra o toda la tanda de determinaciones, acéptelo.
- Antes de repetir la medición de una muestra o toda la tanda de determinaciones, discuta el tema con sus colegas y en lo posible con su director.

Ejercicios:

1) Se realizó la medición de la concentración de glucosa en dos muestras y un QC, sus valores medidos y el CV% fueron:

muestra 1, glucosa= 1.1g/l, CV%= 4.5

muestra 2, glucosa= 1.8g/l, CV%= 17%

UDS= -1

¿Se aceptan las mediciones? ¿Se repite una o las dos?

2) Se midieron dos muestras siguiendo los protocolos habituales. Los valores obtenidos luego de hacer los cálculos fueron:

muestra 1, glucosa= 1.1g/l, CV%= 4.5

muestra 2, glucosa= 1.8g/l, CV%= 0.17%

UDS= -3

¿Se aceptan las mediciones? ¿Se repite una o las dos?

Errores por exceso y defecto

Ya sabemos que al realizar una medición cometemos errores que pueden ser aleatorios y sistemáticos. Los errores aleatorios pueden dar valores mayores o menores que el real y la magnitud de este error la podemos estimar con CV%. Si bien el CV% no controla el error, el análisis de las curvas de CV% nos irá dando pauta si las modificaciones de nuestro comportamiento y habilidades contribuyen a disminuir dicho error. Por ello es necesario que cada operador lleve una tabla de CV% de los QC que utiliza y en la misma gráfica escriba los cambios introducidos o la percepción de ellos que tiene.

Los errores sistemáticos, introducidos por el operador y la metodología utilizada producen habitualmente errores en un mismo sentido. La identificación de estos errores se realiza por los valores de UDS. La ausencia de errores sistemáticos importantes se demuestra a través de valores de UDS que varían alrededor de cero, oscilando entre valores positivos y negativos que no excedan el rango [-2,2]. Los errores sistemáticos se pueden dividir en errores por exceso (cuando dan un valor mayor que lo real y el UDS es positivo) y por defecto (cuando dan un valor menor a lo real y el UDS toma persistentemente valores negativos)

Ejemplos

- Si una pipeta automática tiene un volumen nominal es 10µl, pero al utilizarla coloca 9µl, estaremos cometiendo un error sistemático por defecto.

1 Se acepta el valor del lote de medición ya que UDS está en el rango [-2,2], pero se debe repetir la medición de la muestra 2 ya que el CV% es mayor al 10%

2 Se rechaza todo el lote ya que el valor de UDS no está en el rango [-2,2].

- Si su reloj marca 367 segundos para un determinado evento que dura 365, estará cometiendo un error por exceso.
- Si una balanza electrónica, al prenderla mide el valor 0.2g y no la calibramos colocándola a cero, los valores que midamos tendrán 0.2g más que lo real, cometiendo así un error por exceso.

Es importante conocer que un error aleatorio puede conducir a un error sistemático, por exceso o por defecto. Cada vez que realizamos una medición estamos afectados por los errores aleatorios (que como vimos pueden ser por encima o por debajo del valor real). Supongamos que pesamos una determinada masa de una sustancia para preparar un estándar para una curva de calibración. Si a la hora de pesar, el error aleatorio nos produjo un valor menor, cuando preparemos la solución, este estándar tendrá en realidad menos concentración. Si utilizamos esta solución para hallar la concentración de una muestra, como la solución estándar tiene asignado un valor que es mayor que el real la medición nos dará un error por exceso.

Advertencia: note que un error por defecto en la pesada, es decir la cantidad de masa colocada es menor que lo que la balanza midió nos dará un error por exceso en las mediciones cuando la utilicemos como testigo.

Veamos otro ejemplo que quizás sirva para aclarar. Supongamos que queremos controlar la duración de algún evento, por ejemplo un partido de fútbol que estamos mirando por TV. La medición la haremos con un reloj. Supongamos que dicho reloj "adelanta", es decir cuando realmente han pasado 15 minutos, el reloj nos dirá que pasaron 16 (por ejemplo). Si controlo el primer tiempo con dicho reloj, y no hubo tiempo adicional, cuánto duró este primer tiempo?. Para todo el mundo duró 45 minutos, pero cuánto duró para nosotros? Habrá durado 48 minutos. Es decir que con este reloj si medimos la duración de un tiempo de fútbol, en esta medición cometimos un error por exceso, es decir medimos algo más prolongado que lo real.

Ahora si con este mismo reloj por ejemplo cargo agua en un bidón a través de una canilla que emite un litro por minuto. La carga del bidón la hago controlando exactamente 16 minutos, cuántos litros tendrá el bidón? Si la canilla emite 1litro/minuto, teóricamente el bidón debería tener 16 litros, pero en realidad, cuando mi reloj dice que pasaron 16 minutos en la realidad pasaron 15min y por lo tanto el bidón tendrá 15 litros, cuando yo creo que tiene 16 litros.

Conclusiones:

- Un instrumento que tenga un error por exceso puede producir errores por exceso o por defecto en otras magnitudes.

- Los errores aleatorios pueden conducir a errores sistemáticos, por exceso o defecto, que luego incidirán sobre otras mediciones de manera de producir errores sistemáticos que podrán ser por exceso o defecto y así sucesivamente.
- Los errores aleatorios tienen mayor impacto cuando la medición es utilizada para una medición posterior. Por ejemplo como dijimos: pesar algo para luego utilizarlo como testigo o QC de una determinación.

Dado que los errores que afectan una medición son numerosos, los errores sistemáticos pueden sumarse o en algunos casos restarse y hasta anularse. Acá es donde juega la suerte del laboratorista. Veamos.

Supongamos que queremos preparar una solución estándar de 2000ppm es decir 2000mg/l. Para preparar una solución utilizaremos una balanza para pesar los 2000mg y algún elemento volumétrico para medir el volumen de 1litro
 Posibilidad 1: la balanza comete un error por defecto del 5%, es decir cuando me marque 2000mg, en realidad ha pesado 1900mg. Por otra parte si utilicé un probeta que tiene un error por defecto del 5%, es decir cuando creo que coloqué 1000ml (1l), en realidad he colocado 950ml. Por lo tanto cuanto vale la concentración real? $1900\text{mg} / 0.950\text{l} = 2000\text{ppm}$

El error por defecto de un instrumento, fue compensado por el error por defecto del otro. Pero veamos otra posibilidad. No siempre tendremos la suerte del laboratorista anterior.

Posibilidad 2: la balanza comete un error por defecto del 5 %, es decir cuando me marque 2000mg, en realidad ha pesado 1900mg. Por otra parte si utilicé un probeta que tiene un error por exceso del 5%, es decir cuando creo que coloqué 1000ml, en realidad he colocado 1050ml. Por lo tanto cuanto vale la concentración real? $1900\text{mg} / 1.05\text{l} = 1809\text{ppm}$. La concentración real de la solución es menor que lo que creo. Pero, ¿Cuál es la concentración que utilizará el operador?. Obviamente, 2000ppm.

Cuando mida una concentración desconocida utilizando este estándar todo me dará más grande que lo real, es decir cometeré siempre errores sistemáticos por exceso. Informaré siempre valores más grandes que los reales.

Ejercicio

³⁾ Suponga que las soluciones estándar no tienen error o bien se han compensado y que los errores aleatorios son mínimos, pero el QC ha sido preparado de manera que el valor medio calculado en base a mediciones es más grande que lo que realmente tiene. Los valores de UDS obtenidos serán positivos o negativos?

Recuerde que muchas veces (y afortunadamente) los errores por exceso y defecto son menores que los aleatorios y por ello no nos afectan demasiado en nuestro trabajo. Pero, como hacemos para que ellos sean pequeños? Pues bien, fácil. Teniendo instrumentos bien calibrados, controlando periódicamente su uso y estando alerta a la hora de medir.

Cuales son los principales momentos en que se pueden originar estos errores?

- Preparación de las soluciones para una curva de calibración.
- Preparación de una solución QC.
- Cambio de un instrumento de medición.

Es recomendable no cambiar todo a la vez.

Propagación de errores

Conocemos que toda medición está asociada a errores y que estos errores pueden minimizarse con buenas prácticas de trabajo. Muchos de los errores aleatorios dependen de nuestra habilidad en el trabajo y otros dependen de las condiciones de experimentación. Aun cuando no podamos controlarlos los errores introducidos por variables ambientales, estacionales o experimentales pueden evaluarse a través de ensayos estadísticos que los involucren en el estudio.

Por ejemplo si prevemos que los resultados de nuestro experimento puede ser influenciados por la estación del año, la temperatura ambiente, el lote de agua destilada, el lote de reactivos utilizados, la camada de animales, etc., estas variables pueden incluirse como variables del experimento y realizarse un análisis de la variancia que nos permitirá evaluar si realmente es correcto nuestro presentimiento. Veremos el análisis mencionados en capítulos posteriores

El conocimiento del error siempre es importante, siendo clave tenerlo en cuenta para evaluar la magnitud del efecto de nuestros tratamientos. Por ejemplo si la medición de una variable tiene un CV% de 8%, podría ser considerada una buena medición, según criterios estándar manejados en nuestro laboratorio. Sin embargo, si la modificación en un 4% de la variable en un individuo determina un cambio biológico importante, es claro que no podremos considerar 8% como aceptable.

Por ejemplo si realizamos una medición de la concentración de insulina en sangre de dos grupos de ratas, dicha medición tendrá un error aleatorio y sistemático que estimaremos con los valores de CV% y UDS. Si esos valores son utilizados para realizar un análisis e inferir sobre alguna hipótesis,

terminando allí nuestro experimento y conclusiones, el error no sufrirá propagación.

Pero, si el valor de insulinemia medida se utiliza para calcular el índice HOMA, que resulta de multiplicar el valor de la insulinemia por el de la glucemia y por una constante, el error de la insulina y el de la glucemia influirán sobre el valor del índice mencionado.

Es decir que cuando se realizan operaciones con valores medidos, los errores de la medición realizada se propagarán a los resultados, afectando a estos en algunos casos de manera dramática.

¿Cómo se propagan los errores?

La propagación de errores puede calcularse conociendo los errores absolutos o los relativos de la medición directa. Si la medición indirecta resulta de la suma o resta de las mediciones directas, el error absoluto de la medición se calcula como la suma de los errores absolutos de cada medición.

Supongamos que medimos de manera directa una variable "a" y otra "b", cada una con su error absoluto: EAa y EAb y con ellas calculamos una variable c, con la siguiente fórmula

$$c = a + b$$

El error absoluto de la medición de "c" se calcula con la fórmula

$$EA_c = EA_a + EA_b$$

lo mismo ocurriría si las mediciones de a y b se utilizarán en una resta

$$c = a - b$$

el error absoluto de la medición indirecta de la variable "d", sería la suma de los errores.

$$EA_d = EA_a + EA_b$$

Si la medición indirecta resulta de producto o cociente de las mediciones directas, el error relativo de la medición se calcula como la suma de los errores relativos de cada medición.

Supongamos que medimos de manera directa una variable "a" y otra "b", cada una con su error absoluto EAa y EAb, que nos permite calcular sus errores

relativos ER_a y ER_b . Luego con los valores de a y b calculamos una variable indirecta "c"

$$c = a * b$$

El error relativo de c se calcula con la fórmula

$$ER\%c = ER\%a + ER\%b$$

lo mismo ocurriría si las mediciones de a y b se utilizarán en un cociente

$$d = a / b$$

el error relativo de la medición indirecta sería la suma de los errores relativos .

$$ER\%c = ER\%a + ER\%b$$

Ejemplos

- Supongamos que se pesa un recipiente con una balanza cuya apreciación o error absoluto es 1g, siendo el valor obtenido: 95g. En ese recipiente se coloca luego una sustancia y se pesa nuevamente el recipiente pero ahora con una balanza cuya apreciación es 0.1g, ya que la cantidad colocada es muy pequeña, obteniéndose un valor de 95.4g. ¿Cuántos gramos hemos agregado de la sustancia?

El cálculo parece sencillo, solo tendría que restar el último menos el primer valor de pesada

$$\text{cantidad de sustancia} = 95.4 - 95\text{g} = 0.4\text{g}$$

que error cometimos

Los errores absolutos de las mediciones fueron 1g para la pesada del contenedor y 0.1g para el contenedor más la sustancia.

El error de los 0.4g medidos se propaga como suma de errores ya que el cálculo resultó de una resta de las dos mediciones.

$$\text{error absoluto} = 1 + 0.1 = 1.1\text{g}$$

Qué error relativo estamos cometiendo entonces

$$ER\% = 1.1 * 100 / 0.4\text{g} = 275\%$$

Si los errores de laboratorio los estimamos por el CV% y aceptamos aquellos menores al 10%, evidentemente estamos muy lejos de una buena medición.

¿Cómo corregiría rápidamente este error?

- Supongamos que se preparó una solución con el objetivo que su concentración fuera 10g/l, para ello pesamos 1g con una balanza de apreciación 0.0001g y utilizamos un probeta de 100ml con un error absoluto de 5ml. ¿Qué

error relativo y absoluto cometemos en el valor de la concentración de la solución?

Calculemos!

La concentración surge de dividir la masa por el volumen, como indica la fórmula siguiente.

concentración = masas de soluto en g/ volumen solución en l

para nuestro ejemplo el cálculo numérico sería

concentración = 1g/0.1l = 10g/l

Tal cual lo deseamos. Ahora que error tenemos en este valor?

Como la concentración es el cociente de las mediciones, el error relativo en la concentración será la suma de los errores relativos de las mediciones

$$ER \% \text{ concentración} = ER \% \text{ gramos} + ER \% \text{ litros}$$

expresando los errores relativos

$$\frac{(EA \text{ concentración} * 100)}{\text{concentración}} = \frac{(EA \text{ gramos} * 100)}{\text{gramos}} + \frac{(EA \text{ volumen} * 100)}{\text{volumen}}$$

el error relativo sería

$$ER \% \text{ concentración} = \frac{0.0001 * 100}{1} + \frac{0.005 * 100}{0.1} = 5.01 \%$$

podemos ver ahora el error absoluto de la medición. Volviendo a la ecuación

$$\frac{(EA \text{ concentración} * 100)}{\text{concentración}} = \frac{(EA \text{ gramos} * 100)}{\text{gramos}} + \frac{(EA \text{ volumen} * 100)}{\text{volumen}}$$

como 100 multiplica a todos los términos podemos suprimirlos

$$\frac{EA \text{ concentración}}{\text{concentración}} = \frac{EA \text{ gramos}}{\text{gramos}} + \frac{EA \text{ volumen}}{\text{volumen}}$$

reemplazando los valores

$$\frac{EA \text{ concentración}}{10} = \frac{0.0001}{1} + \frac{0.005}{0.1}$$

podemos calcular el error absoluto de la concentración

$$EA_{concentración} = \left[\frac{0.0001}{1} + \frac{0.005}{0.1} \right] * 10 = 0.501$$

El error absoluto de la concentración es 0.501. En general se expresan con una sola cifra significativa e informando un valor mayor que el calculado. Por ejemplo, en este caso podríamos decir que el error absoluto de la concentración es 1g/l.

Expresión del resultado

Cuando tenemos magnitudes derivadas, el resultado se debe expresar teniendo en cuenta el error absoluto de la medición.

Ejemplo

En un recipiente colocamos 2.31g (que fueron medidos con una balanza de apreciación 0.01g). Luego agregamos 0.822g de otra sustancia (la balanza utilizada tiene una apreciación de 0.001g) y finalmente se agregaron 5.5 g, pesados con una balanza de apreciación 0.1g.

La masa total es: $2.31 + 0.822 + 5.5 = 8.632$

El error absoluto será la suma de los errores: $0.01 + 0.001 + 0.1 = 0.111$

Siempre el error absoluto se expresa con una sola cifra significativa y se incrementa por encima del valor obtenido a la unidad o 5. En este caso podríamos decir que el EA=0.5. Como el error absoluto tiene una sola cifra significativa, el resultado lo expresaremos como masa total: 8.6.

No tiene sentido colocar más decimales, cuando el error está en el primer decimal.

Veamos otro ejemplo. Usted desea calcular la concentración de glucosa en una solución, para ello realiza una curva de calibración obteniendo los siguientes resultados

concentración estándares, g/l	absorbancia
0	0
1	110
2	195
3	315

utilizando el software R, se realiza la curva de calibración y se obtiene (los cálculos y códigos siguientes se incluyen para quienes tengan interés en la utilización de R)

datos ingresado

```

> a (datos)
  x  y
1 0  0
2 1 110
3 2 195
4 3 315
realizamos una regresión lineal entre los valores de x e y
> abs<-lm(y~x,data=a)
pedimos un detalle de este análisis
> summary(abs)
Call:
lm(formula = y ~ x, data = a)
Residuals:
 1  2  3  4
-0.5  6.5 -11.5  5.5
Coefficients:
                Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
(Intercept)    0.500     8.470    0.059  0.95830
x              103.000     4.528   22.749  0.00193 **
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
Residual standard error: 10.12 on 2 degrees of freedom
Multiple R-squared:  0.9962, Adjusted R-squared:  0.9942
F-statistic: 517.5 on 1 and 2 DF, p-value: 0.001927

```

De las tablas anteriores utilizaremos a continuación algunos valores: la pendiente de la recta: 103, cuyo error absoluto es 4.528

Supongamos que midió la absorbancia de una muestra que le dio los valores 203 y 213, al realizarla por duplicado. Tomamos el valor promedio de la medición de absorbancia, que sería 208 y consideramos que el error absoluto es 1, que se desprende del valor de las mediciones realizadas.

¿Cuál es el valor de concentración de glucosa y el error absoluto y relativo?

El valor de concentración surge del siguiente cálculo, que profundizará en capítulos siguientes

concentración = absorbancia muestra/pendiente de la recta = 208/103 = 2.02g/l

El error relativo sería

E% concentración = E% absorbancia + E% pendiente

$$E\% \text{ concentración} = 1 \cdot 100/208 + 4.528 \cdot 100/103 = 4.88\%$$

El error absoluto en la concentración será por lo tanto

$$EA = ER \cdot \text{valor medido}/100 = 4.88 \cdot 2.02/100 = 0.0985$$

que redondeamos a 0.1

Por lo tanto el resultado de la concentración de glucosa será: 2.0g/l, teniendo en cuenta las cifras significativas del EA.

Ejercicios

4) Si en un recipiente se colocan 5ml con una pipeta automática cuya apreciación es 0.05ml, 270 μ l con una micropipeta que mide 100-1000 con apreciación 10 μ l y 24ml con una pipeta y propipeta con apreciación 0.5ml. ¿Cuál es el volumen final y cuál es el error absoluto y relativo de la medición?

Detección de equivocaciones

Las determinaciones de laboratorio pueden estar asociadas a

- Errores: sistemáticos y aleatorios, que ya hemos analizado y como ya sabemos, los errores aleatorios podemos medirlos a través del coeficiente de variación. Por su parte los errores sistemáticos lo podemos controlar con la medida de una solución o muestra "QC" cuya concentración conocemos. Con el valor medido de ésta se calculan las unidades de desvío estándar (UDS). Este valor aceptamos que es bueno si está en el intervalo [-2,2] y oscila aleatoriamente su valor alrededor del cero.
- Equivocaciones: Las equivocaciones por su parte son las más difíciles de detectar. En primer lugar definamos qué es una equivocación. Consideramos una equivocación cuando hay una mala maniobra del investigador en sus procedimientos, uso de instrumento, cálculos o análisis.

Ejemplos:

- El medir pH el electrodo debe estar sumergido hasta cierta profundidad en la solución, si no lo hacemos la medida será errónea, pero no podemos endilgar este error al azar o a algo sistemático, fue nuestra desatención o falta de conocimiento.
- Tengo que hacer una curva de calibración, la hago correctamente en cuanto a la medición, pero cuando cargo los valores, en la tabla me equivoco en la concentración de los testigos utilizados, utilizando números que no son los correspondientes.
- Tengo 10 muestras a las que rotulé mal de manera que el rótulo utilizado no tiene una correspondencia unívoca con las muestras. Las mido, pero luego no

sabré a qué muestra asignarle el valor. Peor, si lo asigno, estaré dando un valor de medición a una muestra que no corresponde.

Si en todos estos casos me di cuenta, perfecto! Repito todo y desaparece la equivocación.

Ahora bien, como se detectan las equivocaciones?

Lamentablemente no existe método eficiente ni seguro para detectar las equivocaciones, más allá de la atención del investigador y su supervisor. Muchas veces pueden pasar desapercibidos aun al ojo del mejor observador.

Entre investigador y supervisor existe una razón confianza/desconfianza (C/D), generada por el trabajo conjunto. Un investigador gana o pierde la confianza del supervisor en función de su trabajo cotidiano. Muchas veces el investigador puede sentirse molesto si su supervisor le dice "muéstreme como calculó los valores", pensando que ya no le tienen confianza o dudan de su habilidad. Cada uno de estos episodios, si pasan sin error aumentan la relación C/D, lo que conduce a que el supervisor cada vez supervise menos. Quienes conocen esto, tratan de mantener la supervisión, sin perder la confianza en el investigador, pero puede conducir a cansancio y desgaste de la relación.

Los seminarios, donde el investigador debe presentar sus resultados y la forma que los obtuvo es una mecanismo menos desgastante y además está a la vista de más personas. Sin embargo, en esta instancia pueden saltar algunos errores, pero no otros como los mencionados por uso de un electrodo, rótulo de muestras, etc.

No parece haber otra solución que la discusión continua de resultados de experimentos "desde el cuaderno hasta la presentación en pantalla de proyección"

Algunos consejos para evitar equivocaciones:

- Si no conoce como pasar de unidades, realizar operaciones matemáticas básicas o la equivalencia entre diferentes unidades, no haga cálculos, solo anote números e indique de donde salieron los mismos. Si no está 100% seguro de qué es lo que mide un instrumento, no lo use. Si no le interesa lo que está haciendo, no lo haga.
- Anotar en el cuaderno los detalles del experimento a medida que se toman los datos. Por ejemplo, tomé la temperatura ambiente y anótela en el momento.
- Si construye una curva de calibración, copie las concentraciones de los contenedores de las muestras.
- Mostrar los resultados obtenidos y el contenido del cuaderno de bitácora lo antes posible al supervisor o superior en la línea de investigación.

- Leer protocolos, prestando atención a volúmenes, temperaturas, y demás condiciones.
- Tener claro en la mente el protocolo a utilizar y aun así leer del mismo.
- Comparar resultados de cada repetición de medición, a través de pendientes de curvas de calibración, valores de pH, voltaje, volúmenes y cualquier medición que le haya dado. Si no coincide o es cercano, cuando debería serlo, discuta con su superior el tema.
- Llevar curvas de CV% y UDS por investigador para cada determinación, observar periódicamente dichas curvas en la detección de cambios. Discuta las curvas con su superior.
- Si no es consciente que lo que está haciendo es importante para la humanidad, la ciencia, el laboratorio o usted, no lo haga. Siempre habrá otro con más entusiasmo y cuidado que usted esperando un sitio en el laboratorio.
- Si nota que su superior le tiene mucha confianza, piense que es usted el que tiene más riesgo que una equivocación tarde más tiempo en descubrirse. Además, si tarda más tiempo en descubrirse, el daño de la misma será mayor. También será mayor su vergüenza si la equivocación fue grosera.
- Insístale a su superior que mire los resultados. Hágale usted preguntas como:
 - ¿Le parece que los testigos utilizados fueron adecuados?
 - ¿Le parece adecuado el valor de R2 de la curva de calibración?
 - ¿Me revisa la ecuación introducida para hacer el cálculo en la planilla?
 Me resultan sospechosos los valores de CV% ya que no siguen el comportamiento de mi curva de CV% ¿Por qué no revisamos juntos la planilla?
- Si su superior no accede a dicho control, siga insistiendo. Si continua el desinterés pueden ocurrir varias cosas:
 - Le tiene demasiada confianza. Recuerde que es lo peor.
 - No tiene interés en sus resultados. Dedíquese a otra cosa o busque otro superior