

EL ANÁLISIS DE LA VARIANZA (ANOVA)

2. Estimación de componentes de varianza

Alicia Maroto, Ricard Boqué

Grupo de Quimiometría y Cualimetría
Universitat Rovira i Virgili
C/ Marcel·lí Domingo, s/n (Campus Sescelades)
43007-Tarragona

En el artículo anterior [Boqué, 2004] introdujimos el análisis de la varianza (ANOVA) y mostramos un ejemplo de su aplicación a la comparación de múltiples columnas de datos. En este capítulo nos ocupamos de una segunda aplicación de gran interés analítico: la estimación de los componentes de variación de un procedimiento analítico.

Estimación de componentes de varianza

Supongamos que queremos evaluar la variabilidad debida al muestreo y a los tratamientos previos en un determinado procedimiento analítico, por ejemplo, la determinación de clenbuterol en hígado (puede encontrarse una breve descripción del método en [Maroto, 2003]). De esta forma, podríamos utilizar esta información para saber cuánto afectan el muestreo y los tratamientos previos a nuestros resultados. A continuación, y en función de su efecto, podríamos plantearnos modificar la etapa de muestreo o la de tratamientos previos con el fin de disminuir dicha variabilidad. Ahora bien, ¿cómo podemos calcular esta variabilidad? Un ANOVA de dos factores nos proporciona la herramienta adecuada para calcular dichas fuentes de variabilidad en términos de varianza.

Para llevar a cabo este ANOVA, es necesario realizar el diseño experimental propuesto en la Figura 1. Este diseño experimental es un diseño anidado, donde se toman como factores de variación el muestreo, los tratamientos previos y la medida instrumental por HPLC. En la práctica, aplicar este diseño es sencillo. En este ejemplo concreto, se tomaron 6 muestras del hígado de un animal al que se le había suministrado clenbuterol. Después de homogeneizar las muestras, cada

muestra se dividió en dos submuestras. A cada una de estas submuestras se le realizaron los tratamientos previos (centrifugación y extracción) de forma independiente. Finalmente, se realizó por duplicado la determinación cromatográfica de cada uno de los extractos obtenidos durante los tratamientos previos.

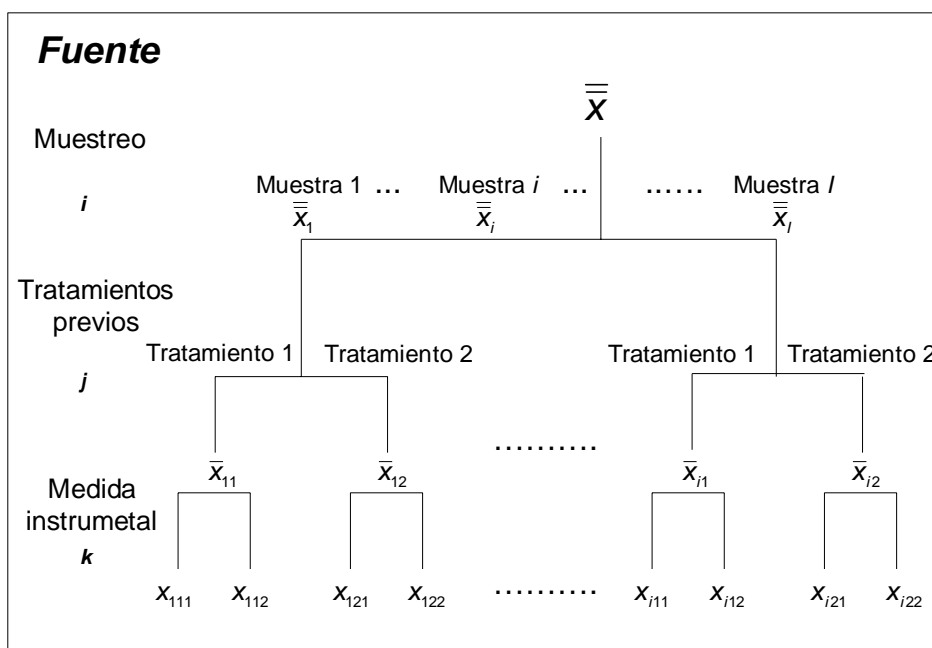


Figura 1. Diseño experimental para calcular las varianzas del muestreo, tratamientos previos y de la medida instrumental a partir de un ANOVA de dos factores.

La Tabla 1 muestra los resultados obtenidos al seguir el diseño experimental de la Figura 1. A partir de estos resultados debe realizarse un ANOVA de dos factores para calcular las varianzas asociadas al muestreo, a los pretratamientos y a la medida instrumental del método. El tipo de precisión asociada a la medida instrumental obtenida a partir del ANOVA dependerá de cómo se hayan analizado los extractos por duplicado. En nuestro ejemplo, los duplicados se analizaron en condiciones de repetibilidad. Por tanto, a partir del ANOVA obtendremos la varianza asociada a la repetibilidad de la determinación cromatográfica. Sin embargo, si hubiésemos querido obtener a partir del ANOVA la varianza asociada a la precisión intermedia de la determinación cromatográfica, tendríamos que haber analizado los duplicados en condiciones intermedias (es decir, en diferentes días, con diferentes analistas, diferentes calibrados, etc.).

Tabla 1. Resultados obtenidos al seguir el diseño de la Figura 1 para la determinación de clenbuterol en hígado (concentraciones expresadas en $\mu\text{g}/\text{kg}$).

Muestra	Tratamiento 1		Tratamiento 2	
	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 1	Réplica 2
1	1.22	1.27	1.28	1.31
2	1.28	1.25	1.32	1.36
3	1.16	1.14	1.10	1.08
4	1.35	1.38	1.30	1.32
5	1.22	1.19	1.26	1.24
6	1.18	1.15	1.05	1.09

La Tabla 2 muestra las expresiones que deben utilizarse para calcular el cuadrado de las medias asociado a cada una de las fuentes de variabilidad. Una vez calculados, las varianzas asociadas al muestreo, a los tratamientos previos y a la medida instrumental pueden calcularse fácilmente utilizando las expresiones de la Tabla 3. Existen numerosos paquetes estadísticos que realizan el cálculo del ANOVA y proporcionan el cuadrado de las medias. Por tanto, en la práctica únicamente es necesario aplicar las expresiones de la Tabla 3 para obtener las varianzas.

Tabla 2. Expresiones para calcular los cuadrados de las medias asociados al ANOVA de dos factores. I , J y K son el número de muestras, de tratamientos y de replicados, respectivamente. En nuestro ejemplo, $I = 6$, $J = 2$ y $K = 2$.

Fuente	Cuadrado de las medias	Grados de libertad
Muestreo	$MS_{\text{muestreo}} = \frac{J \cdot K \cdot \sum_{i=1}^I (\bar{x}_i - \bar{x})^2}{I - 1}$	$I - 1$
Tratamientos previos	$MS_{\text{trat}} = \frac{K \cdot \sum_{i=1}^I \sum_{j=1}^J (\bar{x}_{ij} - \bar{x}_i)^2}{I \cdot (J - 1)}$	$I \cdot (J - 1)$
Medida instrumental	$MS_{\text{med}} = \frac{\sum_{i=1}^I \sum_{j=1}^J \sum_{k=1}^K (x_{ijk} - \bar{x}_{ij})^2}{I \cdot J \cdot (K - 1)}$	$I \cdot J \cdot (K - 1)$
TOTAL	$MS_{\text{TOTAL}} = \frac{\sum_{i=1}^I \sum_{j=1}^J \sum_{k=1}^K (x_{ijk} - \bar{x})^2}{I \cdot J \cdot K - 1}$	$I \cdot J \cdot K - 1$

Tabla 3. Expresiones para calcular las varianzas asociadas a cada una de las fuentes de variabilidad de un ANOVA de dos factores.

Fuente	Varianza	Grados de libertad
Muestreo	$S_{\text{muestreo}}^2 = \frac{MS_{\text{muestreo}} - MS_{\text{trat}}}{J \cdot K}$	$I-1$
Tratamientos previos	$S_{\text{trat}}^2 = \frac{MS_{\text{trat}} - MS_{\text{med}}}{K}$	$I \cdot (J-1)$
Medida instrumental	$S_{\text{med}}^2 = MS_{\text{med}}$	$I \cdot J \cdot (K-1)$

La Tabla 4 muestra la suma de las medias y las varianzas asociadas al muestreo, a los pretratamientos y a la repetibilidad de la medida instrumental cromatográfica. A partir de los valores obtenidos, podemos observar que el muestreo es la fuente de variabilidad que más afecta a la determinación de clenbuterol en hígado. Por otro lado, la repetibilidad casi no afecta a los resultados analíticos.

Tabla 4. Cuadrado de las medias y varianzas obtenidas para los resultados de la Tabla 1.

Fuente	Cuadrado de las medias, MS	Varianza	Desviación estándar	Grados de libertad
Muestreo	$3.45 \cdot 10^{-2}$	$7.56 \cdot 10^{-3}$	$8.69 \cdot 10^{-2}$	$6-1=5$
Tratamientos previos	$4.30 \cdot 10^{-3}$	$1.90 \cdot 10^{-3}$	$4.36 \cdot 10^{-2}$	$6 \cdot (2-1)=6$
Medida instrumental	$4.92 \cdot 10^{-4}$	$4.92 \cdot 10^{-4}$	$2.22 \cdot 10^{-2}$	$6 \cdot 2 \cdot (2-1)=12$

Conclusiones

En este artículo hemos visto una de las principales aplicaciones del ANOVA en química analítica: la descomposición de la variabilidad total de un procedimiento analítico en las fuentes de variabilidad parciales más importantes, como son el muestreo, los tratamientos previos y la medida instrumental. Estas varianzas nos permiten determinar qué etapa del procedimiento introduce más incertidumbre en los resultados finales y, además, pueden resultar muy útiles para determinar cuáles son los factores que afectan más a nuestro procedimiento analítico.

Referencias bibliográficas

Ricard Boqué, Alicia Maroto, “El análisis de la varianza (ANOVA). 1. Comparación de múltiples poblaciones”, Técnicas de Laboratorio, 2004, *en prensa*.

Alicia Maroto, Ricard Boqué, Jordi Riu, F. Xavier Rius, “Cálculo de incertidumbre en medidas químicas: análisis cromatográfico”, Técnicas de Laboratorio, 279 (2003) 122-127.

Los autores agradecen todos los comentarios relacionados con los contenidos de este artículo. Pueden dirigirse, mediante mensaje electrónico, a la dirección: quimio@quimica.urv.es.

Una versión en soporte electrónico de este artículo e información suplementaria puede encontrarse en:

<http://www.quimica.urv.es/quimio>