

# **Guía Técnica de Trazabilidad e Incertidumbre en los Servicios de Calibración de Espectrofotómetros UV-Vis**

**México, abril de 2014**

**Derechos reservados ©**

## PRESENTACIÓN

Durante la evaluación de la competencia técnica de los laboratorios de calibración y de ensayo, la demostración de la trazabilidad y la estimación de la incertidumbre de las mediciones, requiere la aplicación de criterios técnicos uniformes y consistentes.

Con el propósito de asegurar la uniformidad y consistencia de los criterios técnicos en la evaluación de la trazabilidad y la incertidumbre de las mediciones, la entidad mexicana de acreditación, a.c., solicitó al Centro Nacional de Metrología (CENAM) que encabezara un programa de elaboración de Guías Técnicas de Trazabilidad e Incertidumbre de las Mediciones.

Los Comités de Evaluación, a través de los Subcomités de los Laboratorios de Calibración y de Ensayo, se incorporan a este programa y su participación está orientada a transmitir sus conocimientos y experiencias técnicas en la puesta en práctica de las Políticas de Trazabilidad y de Incertidumbre establecidas por ema, mediante el consenso de sus grupos técnicos de apoyo. La incorporación de estos conocimientos y experiencias a las Guías, las constituyen en referencias técnicas para usarse en la evaluación de la competencia técnica de los laboratorios de calibración y ensayo.

En este programa, el CENAM se ocupa, entre otras actividades, de coordinar el programa de las Guías Técnicas, proponer criterios técnicos sobre la materia, validar los documentos producidos, procurar que todas las opiniones pertinentes sean apropiadamente consideradas en los documentos, apoyar la elaboración de las Guías con eventos de capacitación, asegurar la consistencia de las Guías con los documentos de referencia indicados al final de este documento.

La elaboración de las Guías está vinculada con la responsabilidad que comparten mutuamente los laboratorios acreditados de calibración y de ensayo, de ofrecer servicios con validez técnica en el marco de la evaluación de la conformidad. La calidad de estos servicios se apoya en la confiabilidad y uniformidad de las mediciones, cuyo fundamento está establecido en la trazabilidad y en la incertidumbre de las mismas. Los que ejercitan la evaluación de la competencia técnica de los laboratorios, así como los que realizan la práctica rutinaria de los servicios acreditados de calibración y ensayo, encontrarán en las Guías una referencia técnica de apoyo para el aseguramiento de las mediciones.

Las Guías Técnicas de Trazabilidad e Incertidumbre de las Mediciones no reemplazan a los documentos de referencia en que se fundamentan las políticas de trazabilidad e incertidumbre de ema. Las Guías aportan criterios técnicos que servirán de apoyo a la aplicación de la norma NMX-17025-IMNC-2006. La consistencia de las Guías con esta norma y con los demás documentos de referencia, permitirá conseguir el propósito de asegurar la confiabilidad de la evaluación de la conformidad por parte de los laboratorios de calibración y ensayo.

Abril, 2014

**Dr. Héctor O. Nava Jaimes**  
Director General  
Centro Nacional de Metrología

**María Isabel López Martínez**  
Directora Ejecutiva  
entidad mexicana de acreditación, a.c.

## GRUPO DE TRABAJO

### QUE PARTICIPÓ EN LA ELABORACIÓN DE ESTA GUÍA TÉCNICA

Araceli Isidro Vargas	EMA, A.C.
Carlos H. Matamoros Garcia	CENAM
Cuauhtémoc Nieto Silva	Centro de Investigaciones en Óptica, A.C.
Francisco Javier Cedillo López	CISSET, S.A. de C.V.
Guillermo Valencia Luna	CENAM
Hugo Roberto Fernández y Pérez	Profesionista Independiente
Jacobo Ramos Percino	Instituto Nacional de Astrofísica, Óptica y Electrónica
Jazmin Carranza Gallardo	Instituto Nacional de Astrofísica, Óptica y Electrónica
Juana Medina Márquez	Instituto Nacional de Astrofísica, Óptica y Electrónica
María Guadalupe Ruiz Vega	Universidad Michoacana de San Nicolás Hidalgo
Martha Alejandra Guerrero Rodríguez	Profesionista Independiente
Ricardo Marín Joya	Laboratorio de Calibración y Calificación, S.A. de C.V.
Rosario del Alma Belman Garrido	Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C.

## ÍNDICE

PRESENTACIÓN .....	2
GRUPO DE TRABAJO .....	3
ÍNDICE .....	4
1. PROPÓSITO DE LA GUÍA TÉCNICA .....	5
2. ALCANCE DE LA GUÍA TÉCNICA.....	5
3. MENSURANDO.....	5
4. MÉTODO Y SISTEMA DE MEDICIÓN .....	7
5. CONFIRMACIÓN METROLÓGICA Y CALIFICACIÓN DE EQUIPOS.....	11
6. TRAZABILIDAD DE LAS MEDICIONES.....	12
7. INCERTIDUMBRE DE MEDICIÓN.....	14
8. VALIDACIÓN DE MÉTODOS DE MEDICIÓN.....	18
9. BUENAS PRÁCTICAS DE MEDICIÓN.....	19
10. REFERENCIAS .....	20

## 1. PROPÓSITO DE LA GUÍA TÉCNICA

El propósito de este documento es establecer los criterios y requisitos que deberán tomarse en cuenta durante la evaluación de la competencia técnica de los laboratorios que calibran espectrofotómetros UV-Vis por el método de comparación directa con materiales de referencia certificados, para lograr servicios de calibración con incertidumbre de medición y trazabilidad confiables.

Estos criterios serán aplicados:

- a) por los evaluadores de laboratorios de calibración en el proceso de la acreditación;
- b) por los laboratorios de calibración en preparación para ser acreditados;
- c) por los interesados en iniciar un laboratorio de calibración o calibrar un espectrofotómetros UV-Vis y
- d) en las visitas de vigilancia y renovación de los laboratorios acreditados.

Este documento está destinado a complementar y dar detalles sobre la forma de cumplir los requisitos de trazabilidad e incertidumbre de las mediciones, establecidos en la NMX-EC-17025-IMNC-2006 [1]. En ningún caso debe interpretarse el contenido de este material como sustituto de los requisitos mencionados.

En todos los casos, se mantiene la consideración de que el proceso de evaluación no debe convertirse en un servicio de asesoría y que como tal el evaluado tiene la responsabilidad de mostrar al evaluador que cumple las condiciones para brindar sistemáticamente servicios de calibración técnicamente válidos.

Es posible que haya situaciones en las cuales no sea posible o no sea razonable aplicar de manera estricta los criterios establecidos en este documento, en cuyo caso deberá de discutirse el asunto en el cuerpo colegiado competente, como el comité de evaluación o el subcomité de evaluación.

## 2. ALCANCE DE LA GUÍA TÉCNICA

Este documento comprende los procedimientos de medición, la determinación de la trazabilidad e incertidumbre en la calibración de espectrofotómetros de UV-Vis, cuando se utiliza el método de comparación directa con materiales de referencia certificados (MRC).

## 3. MENSURANDO

Conociendo que el principio de medición de un espectrofotómetro UV-Vis está basado en medir la relación entre la parte de la transmisión regular del flujo transmitido por un material y el flujo incidente en el intervalo de longitud de onda en que trabaja el equipo, la magnitud sujeta a medición en la calibración de espectrofotómetros de UV-Vis son los errores de medición correspondientes para cada una de sus escalas de:

- a) Transmitancia regular espectral  $\tau(\lambda)$  [%]
- b) Absorbancia regular espectral  $\alpha(\lambda)$  [1]

c) Longitud de onda  $\lambda$  [nm]

Calculado como:

$$\text{Error de medición} = \text{Promedio de mediciones} - \text{Valor certificado del MRC}$$

La absorbancia regular espectral de un material de referencia es el proceso físico por el cual la energía radiante que incide sobre una superficie es parcialmente absorbida, sin cambio en la frecuencia y es expresada como la relación del cociente entre la energía radiante incidente y la energía radiante absorbida, según la siguiente expresión:

$$\alpha(\lambda) = \log\left(\frac{1}{\tau}\right)$$

Donde:

$\tau$  es el factor de transmitancia regular espectral [1]

### 3.1. Intervalo típico de medición.

El intervalo de medición está definido por los tipos de MRC que se emplean en la calibración de cada una de las escalas. Para fines de este documento se indican en la tabla 1 los intervalos típicos considerando los MRC que con mayor frecuencia son empleados:

Escala	Tipo de MRC	Intervalo típico de uso
Longitud de Onda	Filtro de Óxido de Holmio	240 nm a 640 nm
	Filtro de Óxido de Didimio	440 nm a 880 nm
Transmitancia regular espectral	Filtros de densidad óptica neutra	1 % a 90 % en un intervalo de 440 nm a 750 nm
Absorbancia regular espectral	Filtros de densidad óptica neutra	0.03 a 2.0 en un intervalo de 440 nm a 750 nm

Tabla 1

Existen otros MRC que pueden ser empleados en una calibración, sin embargo tienen intervalos de trabajo limitados o diferentes a los indicados en la tabla 1; y son útiles para soportar aplicaciones específicas y pueden ser empleados en complemento a los arriba indicados, por ejemplo: Disolución de dicromato de potasio (escala fotométrica), filtros interferenciales (escala de longitud de onda), etc.

### 3.2. Incertidumbre de medición esperada

Los valores de incertidumbre en la medición, se evalúan conforme a los requisitos de la guía para la expresión de incertidumbre en las mediciones [3].

## 4. MÉTODO Y SISTEMA DE MEDICIÓN

Se entiende que el resultado de una medición, el cual incluye la expresión de su incertidumbre, depende de diversos elementos, entre otros de: un sistema de medición, que incluye equipos e instrumentos para medir, materiales de referencia certificados, las condiciones del laboratorio o del sitio donde se realiza la medición, el método de medición que se utiliza y la competencia del personal que efectúa la medición.

### 4.1. Método de medición

*Calibración:* Operación que bajo condiciones especificadas establece, en una primera etapa, una relación entre los valores y sus incertidumbres de medida asociadas obtenidas a partir de los patrones de medida, y las correspondientes indicaciones con sus incertidumbres asociadas y, en una segunda etapa, utiliza esta información para establecer una relación que permita obtener un resultado de medida a partir de una indicación. [2]

El método de comparación directa es usado para la calibración de un espectrofotómetro UV-Vis, y consiste en conocer la diferencia entre el resultado de una medición realizada por el instrumento para cada una de sus escalas, transmitancia regular espectral, absorbancia regular espectral o longitud de onda, y el valor de referencia de un MRC.

### 4.2. Procedimiento de medición

#### 4.2.1. Escala fotométrica evaluada en unidades de absorbancia / transmitancia:

La calibración de las escalas de absorbancia y transmitancia regular espectral debe ser realizada empleando filtros de densidad óptica neutra.

Los niveles fotométricos a evaluar para las escalas o la cantidad de filtros a emplear estarán definidos por los MRC con los que cuenta el laboratorio, debiendo utilizar como mínimo 3 niveles que cubran al menos la región visible de 440 nm a 750 nm y que permitan al usuario del espectrofotómetro modelar una curva de ajuste de error fotométrico adecuada para cada longitud de onda evaluada. Estos niveles deberán ser lo más uniformemente distribuidos para cubrir el mayor intervalo de medida de las escalas. A menos que el cliente solicite por escrito un número menor de niveles o un intervalo de longitud de onda específico de acuerdo a su aplicación.

- a) Asegurar las condiciones para la calibración:
  - a.1. Condiciones ambientales para uso de los MRC.
  - a.2. Que el porta-celdas del compartimiento de muestras del espectrofotómetro es compatible con la forma y dimensiones de los MRC a emplear, en caso contrario realizar pruebas que validen el uso de los MRC.  
En caso de no cumplir alguna de ellas suspender calibración.

- b) Establecer el modo de lectura del instrumento de acuerdo a las recomendaciones del manual de operación del fabricante.
- c) Ajustar el máximo o mínimo de radiación para cada punto de calibración, dependiendo del diseño del espectrofotómetro, de acuerdo al manual de operación del fabricante.
- d) Las mediciones de los MRC deben ser contra una celda de referencia (para el caso de filtros de densidad óptica neutra: celda sin filtro).
- e) Realizar al menos 3 series de mediciones de cada uno de los MRC para transmitancia o absorbancia a las longitudes de onda certificadas.
- f) Registrar las condiciones ambientales (temperatura, humedad) de la calibración.

#### **4.2.2. Escala longitud de onda evaluada en nanómetros (nm):**

La calibración de las escalas de longitud de onda debe ser realizada empleando MRC que tengan bandas características de absorción o transmisión, en los que se ha identificado con incertidumbre apropiada la ubicación del máximo o mínimo de las(s) banda(s).

El laboratorio, con base en los MRC con los que cuente, lo indicado en su procedimiento documentado y las especificaciones del instrumento a calibrar, debe definir los MRC y puntos de medición apropiados para cubrir la escala o intervalo de trabajo donde se requiere la calibración.

- a) Determinar el ancho de banda espectral (ABE) a calibrar en función de las especificaciones del instrumento bajo calibración (IBC) o del autorizado por escrito con el cliente.
- b) Establecer el modo de lectura del instrumento de acuerdo a las recomendaciones del manual de operación del fabricante.
- c) Ajustar el máximo o mínimo de radiación para cada punto de calibración, dependiendo del diseño del espectrofotómetro, de acuerdo al manual de operación del fabricante.
- d) Las mediciones de los MRC deben ser de acuerdo a lo referido en el certificado (por ejemplo, para el caso de la disolución de óxido de holmio en celda sellada la referencia es contra el aire, no se requiere celda de referencia).
- e) Realizar al menos 3 series de mediciones del MRC, identificando los picos de longitud de onda para las bandas características certificadas para el ABE seleccionado.
- f) Registrar las condiciones ambientales.

#### **4.4. Materiales de Referencia Certificados (MRC) y equipos auxiliares**

##### **4.4.1. Patrón**

Los materiales de referencia certificados (MRC) son filtros ópticos que poseen propiedades acordes al uso propuesto. A continuación se describen brevemente las propiedades de los MRC que con mayor frecuencia son empleados.



ESCALA FOTOMÉTRICA	ESCALA DE LONGITUD DE ONDA
Filtros de densidad óptica neutra	Filtro de óxido de holmio Filtro de óxido de didimio

#### 4.4.1.1. Filtro de óxido de Holmio.

Se emplea para calibrar la escala de longitud de onda. Este material típicamente se le puede encontrar en dos presentaciones, en matriz de vidrio y en disolución. Presenta 14 bandas primarias de absorción en la región UV-Vis de 240 nm a 640 nm cuando se mide con un ABE de 1 nm, sin embargo, la cantidad de bandas pueden variar dependiendo del ABE con el que se le certifique y la composición del sustrato.

#### 4.4.1.2. Filtro de óxido de didimio.

Al igual que el filtro de óxido de Holmio, se emplea para calibrar la escala de longitud de onda. Se puede encontrar en matriz de vidrio y en disolución. Presenta 15 bandas de absorción en la región Vis-NIR, de 440 nm a 880 nm, cuando se encuentra en matriz de vidrio y se mide con un ABE de 1 nm, sin embargo la cantidad de bandas pueden variar dependiendo del ABE con el que se le certifique y la composición del sustrato.

#### 4.4.1.3. Filtros de densidad óptica neutra.

Estos filtros son empleados para calibrar la escala de transmitancia y absorbancia. Con base en el principio que origina el fenómeno se pueden encontrar dos tipos de materiales: los filtros ópticos absorbivos, también llamados filtros grises, y los filtros ópticos reflectivos, también llamados filtros de depósito de metal en cuarzo. Estos materiales poseen una transmitancia espectral neutra para una región del espectro; por lo general los filtros absorbivos se emplean de 440 nm a 750 nm y los filtros reflectivos de 225 nm a 750 nm.

Nota: Existen otros MRC complementarios que no son descritos aquí. El uso, características e intervalos de trabajo estarán descritos en los certificados y procedimientos correspondientes.

### 4.4.2. Transporte y manejo de los MRC

Para asegurar y mantener las propiedades certificadas de los MRC deberán contar con los siguientes cuidados en el transporte y manejo:

- Evitar el deterioro o daño en su superficie, como ralladuras o contaminación de grasas y aceites en sus caras.
- Protegerse del polvo y humedad.

Para lo cual es necesario:

- Transportar los MRC en un contenedor el cual evite contacto entre las caras de los MRC.
- En su manejo, usar guantes libres de polvos y fibras, y manipularlos por su montura o soporte (en el caso de contar con éste) evitando tocar las caras de uso del filtro óptico.
- Cuando no se encuentren en uso los MRC deberán ser colocados en su contenedor.

#### **4.4.3. Equipos auxiliares**

Termómetro.

El termómetro para medir la temperatura de las condiciones ambientales debe contar con calibración vigente por un laboratorio acreditado, y resolución de 1 °C o mejor.

Higrómetro.

El higrómetro debe contar con calibración vigente por un laboratorio acreditado, con una resolución de 1 % o mejor.

#### **4.3. Competencia técnica del personal.**

El personal encargado de realizar las calibraciones deberá contar por lo menos con un nivel académico técnico, además de demostrar que cuenta con los siguientes elementos:

- Conocer los procedimientos internos del laboratorio tales como: procedimiento de calibración, procedimiento de uso, manejo, transporte y almacenamiento de los MRC.
- Tener conocimiento sobre la técnica de espectrofotometría de absorción UV-Vis.
- Configurar, operar y obtener la lectura del instrumento en cuestión.
- Interpretar las especificaciones del fabricante del espectrofotómetro.
- Interpretar y usar los resultados del informe de calibración del espectrofotómetro.
- Conocer la información de la certificación de los MRC y saber aplicar correcciones a las mediciones realizadas durante la calibración del espectrofotómetro.
- Conocer el procedimiento de estimación de incertidumbre.
- Conocer la metodología y aplicación de la estimación de la incertidumbre de la medición conforme a la norma NMX-CH-140-IMNC-2002.
- Conocer las normas y disposiciones relacionadas con el tema.

El personal que autoriza los informes y supervisa los cálculos también deberá contar con los conocimientos y habilidades requeridos para el personal que realiza las calibraciones.

En la tabla 2 se presenta una relación de los materiales de referencia certificados en propiedades ópticas que, de acuerdo a la información disponible actualmente, cumplen con el criterio de estabilidad para ser considerados medidas materializadas, susceptibles de ser calibrados con la periodicidad apropiada, conforme a sus condiciones de uso, conservación y manipulación.

Magnitud	Material	Periodo de calibración
Longitud de onda	Filtro óptico de vidrio de óxido de holmio	2 años
	Disolución de óxido de holmio en celda sellada	2 años
	Filtro óptico de vidrio de óxido de didimio	2 años
	Disolución de óxido de didimio en celda sellada	2 años
	Filtro interferencial	1 año
	Disolución de perclorato de samario en celda sellada	2 años
	Disolución de tolueno en hexano en celda sellada	1 año
	Vapor de benceno en celda sellada	1 año
	Holmio en spectralon	1 año
Transmitancia / absorbancia regular espectral	Filtros de densidad óptica neutra absortivos	1 año
	Filtros de densidad óptica neutra de metal en cuarzo	1 año
	Filtros de corte (para evaluación de luz extraviada) de matriz de vidrio	1 año
	Disoluciones de dicromato de potasio en celda sellada	1 año
	Disolución de cloruro de potasio en celda sellada	1 año
	Disolución de yoduro de sodio en celda sellada	1 año
	Disolución de yoduro de potasio en celda sellada	1 año
	Disolución de cloruro de sodio en celda sellada	1 año
	Disolución de carbonato de litio en celda sellada	1 año
	Disolución de nitrato de sodio en celda sellada	1 año
Vidrio y plásticos transparentes de color	1 año	

Tabla 2

## 5. CONFIRMACIÓN METROLÓGICA Y CALIFICACIÓN DE EQUIPOS

Debido a que la calibración de un espectrofotómetro se realiza utilizando materiales de referencia certificados (MRC), estos deben de cumplir con:

- Un certificado de caracterización o informe de calibración del MRC.
- Un programa de calibración del MRC.
- Un programa de verificación del MRC (para llevar a cabo la verificación es necesario contar con un instrumento calibrado).
- La primera medición será en cuanto se implemente el sistema de calidad en el laboratorio o cuando llegan los MRC de recién adquisición.

- Para materiales que se usan y mantienen bajo condiciones ambientales controladas de laboratorio o las indicadas por el fabricante, las verificaciones se llevarán a cabo al menos 2 veces durante el primer año de la fecha de certificación, posteriormente, con esta información se establecerá la frecuencia que asegure un seguimiento adecuado.
- Es pertinente mantener un seguimiento del estado de los MRC para garantizar que los resultados de las calibraciones son confiables, particularmente cuando los MRC salen frecuentemente de las instalaciones permanentes del laboratorio para los servicios realizados en campo.

## **6. TRAZABILIDAD DE LAS MEDICIONES**

Los aspectos relacionados con la trazabilidad de las medidas tienen que ser acordes con lo dispuesto en la política vigente de la ema [6].

La trazabilidad de los materiales de referencia y equipos de medición debe ser respecto a laboratorios acreditados por la ema, institutos nacionales de metrología, signatarios del acuerdo de reconocimiento mutuo del CIPM o laboratorios extranjeros acreditados por entidades firmantes de los ARM de ILAC.

### **6.1. Trazabilidad, calibración y patrón**

*Trazabilidad metrológica:* Propiedad de un resultado de medida por la cual el resultado pueda relacionarse con una referencia mediante una cadena ininterrumpida y documentada de calibraciones cada una de las cuales contribuye a la incertidumbre de medida. [2]

*Patrón:* Realización de la definición de una magnitud dada, con un valor determinado y una incertidumbre de medida asociada, tomada como referencia. [2]

Un material de referencia certificado, también, es un patrón de medición.

*Verificación:* Aportación de evidencia objetiva de que un elemento satisface los requisitos especificados. [2]

Para mantener la trazabilidad de los MRC es necesario efectuar la confirmación metrológica de los mismos.

### **6.2. Utilidad de la trazabilidad**

La trazabilidad es la propiedad de las mediciones que permite hacer comparaciones entre ellas, por lo que es indispensable para construir la confianza en las mismas. Cabe subrayar que sólo tienen sentido las comparaciones entre medidas asociadas a una misma magnitud.

La trazabilidad de una medición está relacionada con la disseminación de la unidad correspondiente a esa medición. La expresión del valor de una magnitud incluye la referencia a una unidad de medida, la cual ha sido elegida por acuerdo, y por tanto, las medidas de la misma magnitud deben estar

referidas a la misma unidad. Aun cuando la definición de trazabilidad no impone limitaciones sobre la naturaleza de las referencias determinadas, es conveniente lograr la uniformidad universal de las mismas mediante el uso de las unidades del Sistema Internacional de Unidades, SI, las cuales ya han sido convenidas en el marco de la Convención del Metro. En México, es obligatorio el uso del Sistema General de Unidades de Medida [4], el cual contiene a las unidades del SI.

La definición de cada una de las unidades del SI puede llevarse a la práctica mediante el uso de algún instrumento, artefacto o sistema de medición, lo cual de hecho, es la realización física de la unidad de medida. Un patrón nacional de medida se establece mediante la realización física de una unidad de medición, con la característica de que mantiene, tanto la menor incertidumbre de medición en una nación, cuanto la comparabilidad con patrones nacionales de otros países. El patrón nacional constituye el primer eslabón de la cadena de trazabilidad en una nación. Estas realizaciones están usualmente bajo la responsabilidad de los institutos nacionales de metrología, quienes diseminan las unidades de medición al siguiente eslabón en la cadena de trazabilidad. Las calibraciones de instrumentos o patrones de medición constituyen los eslabones de la cadena de trazabilidad.

Las magnitudes derivadas tienen trazabilidad originada en más de una referencia determinada, en cuyo caso aparecen varias cadenas de trazabilidad que parten de las unidades base que componen la unidad derivada, y se encuentran en un punto de concurrencia que eventualmente conecta a las medidas bajo examen. Nuevamente, las cadenas pueden estar constituidas por calibraciones o por la aplicación apropiada de los métodos correspondientes.

### **6.3. Elementos de la trazabilidad**

Los criterios relativos a la trazabilidad de las medidas deben atender los elementos siguientes:

- el resultado de las mediciones cuya trazabilidad se desea mostrar;
- las referencias determinadas, preferentemente patrones nacionales o internacionales;
- cadena de comparaciones, es decir conjunto de calibraciones que conecta el resultado de la medición con las referencias determinadas;
- el valor de la incertidumbre de las mediciones, de preferencia, en cada eslabón;
- la referencia al procedimiento de calibración, de ser posible, en cada eslabón;
- la referencia al organismo responsable de la calibración en cada eslabón.

Por otro lado, para asegurar que la trazabilidad de un resultado de medición o del que el valor de un patrón se mantiene, es indispensable tener un registro de los tiempos de calibración y vigencia de la calibración que garanticen el buen funcionamiento de los equipos y una incertidumbre confiable. La trazabilidad de los patrones y equipos de medición es a patrones nacionales.

## 7. INCERTIDUMBRE DE MEDICIÓN

Los aspectos relacionados con la incertidumbre de las mediciones deben ser acordes con lo dispuesto en la política de la ema al respecto [7].

*Incertidumbre de medida:* Parámetro no negativo que caracteriza la dispersión de los valores atribuidos a un mensurando, a partir de la información que se utiliza. [2]

### 7.1. Elementos de la incertidumbre de la medición

Todo resultado de medición debe ser acompañado de una estimación de su incertidumbre. La expresión de la incertidumbre de medición debe indicar claramente el intervalo de valores atribuibles razonablemente al mensurando, además de una declaración del nivel de confianza  $p$  asociado a ese intervalo, o una indicación con información equivalente como el llamado factor de cobertura  $k$ .

*Nivel de confianza:* Fracción de la distribución de probabilidad caracterizada por el resultado de medición y su incertidumbre. [3]

*Factor de cobertura:* Número mayor que uno por el que se multiplica una incertidumbre típica combinada para obtener una incertidumbre expandida. [2]

La declaración de la incertidumbre de medición es indispensable en los resultados de calibración o en la aplicación de mediciones en los procesos de diseminación de unidades de medida, dado que éstos denotan los eslabones de la cadena de trazabilidad.

En los procedimientos de calibración se deben incluir los siguientes elementos sobre incertidumbre de la medición:

- a) El modelo matemático de la medición, descrito mediante una expresión matemática acompañada de la nomenclatura correspondiente, y la mención explícita de las hipótesis necesarias para su validez.
- b) La lista de las fuentes de incertidumbres significativas y una descripción, breve y suficiente de las mismas.
- c) La mención a fuentes de incertidumbre que típicamente no aportan contribuciones significativas, pero que pueden resultar significativas bajo condiciones que pudieran ocurrir en el transcurso de una medición.
- d) Una tabla con el “presupuesto de incertidumbre” que contenga al menos, para cada fuente de incertidumbre, su variabilidad, la distribución de probabilidad que se le asocie, el coeficiente de sensibilidad y su contribución a la incertidumbre estándar combinada de la medición. La tabla también debe mostrar la incertidumbre estándar combinada, incluyendo las consideraciones a la correlación entre fuentes de incertidumbre.

- e) Una nota relativa a la correlación entre fuentes de incertidumbre.
- f) Una nota relativa a la distribución de probabilidad del mensurando.
- g) Recomendaciones sobre el cálculo y la expresión de la incertidumbre expandida de la medición, incluyendo preferentemente y cuando aplique, los grados de libertad asociados a cada contribución y el número efectivo de grados de libertad.
- h) Una nota de advertencia sobre el propósito único de ilustración de la tabla presentada y sobre la obligación del laboratorio a realizar sus pruebas y consideraciones sobre la estimación de la incertidumbre de cada una de sus mediciones.

## 7.2. Estimación de la incertidumbre de medición

### 7.2.1. Mesurando

El mesurando es el error o diferencia de indicación del instrumento para la escala de longitud de onda y escala fotométrica en espectrofotómetros de UV-Vis.

### 7.2.2. Variables aleatorias involucradas en el proceso de medición.

$$e = f(s, re, p) \quad (1)$$

Donde:

- e*: Error o diferencia de la medición
- s*: es la desviación estándar de la prueba de repetibilidad
- re*: resolución del instrumento.
- p*: Incertidumbre del certificado del material de referencia (MRC)

Para la determinación de incertidumbre se tomarán en cuenta al menos la repetibilidad de las lecturas, la resolución del instrumento y el certificado del material de referencia.

### 7.2.3. Función matemática que describe el proceso de medición

$$e = (\bar{L}_i - L_r) \quad (2)$$

Donde:

- e*: es el error o la diferencia de medición
- $\bar{L}_i$ : Es el promedio de las lecturas del instrumento.
- $L_r$ : Es el valor de referencia

### 7.2.4. Evaluación de la incertidumbre combinada



Se establece la expresión para la estimación de la incertidumbre combinada del mensurando  $u_c(e)$  con base en la relación matemática y contribuciones definidas; y a la ley de propagación de los errores. En este caso no existe correlación entre las variables por lo que la expresión queda como:

$$u_c(e) = \sqrt{\left(\frac{\partial e}{\partial s} \times u(s)\right)^2 + \left(\frac{\partial e}{\partial re} \times u(re)\right)^2 + \left(\frac{\partial e}{\partial p} \times u(p)\right)^2} \quad (3)$$

Como los parámetros que contribuyen a la incertidumbre de la medición están en las mismas unidades y son independientes entre sí los coeficientes de sensibilidad resultan igual a 1.

$$u_c(e) = \sqrt{(u_s)^2 + (u_{re})^2 + (u_p)^2} \quad (4)$$

### 7.2.5. Estimación de la incertidumbre asociada a cada variable

7.2.5.1. Para la estimación de la incertidumbre asociada a la prueba de repetibilidad se utiliza la evaluación de la incertidumbre tipo A. En este caso se efectúan  $n$  mediciones y los grados de libertad a considerar son:  $(n-1)$ . La incertidumbre se evalúa con la siguiente expresión:

$$u_s = \frac{s}{\sqrt{n}} \quad (5)$$

Donde:

$s$ : es la desviación estándar estimada para la prueba de repetibilidad

$n$ : número de repeticiones

7.2.5.2. Para el caso de la resolución del instrumento, se utilizará el método tipo B para la evaluación de la incertidumbre. Se considera en este caso que la probabilidad es la misma para cualquier valor y por ende la distribución es de tipo rectangular y la expresión para evaluar dicha incertidumbre es con 100 grados de libertad:

$$u_{re} = \frac{re}{\sqrt{12}} \quad (6)$$

Donde:

$re$ : representa la resolución del instrumento indicador o sujeto a calibración.

7.2.5.3. Para la incertidumbre estándar del patrón se utiliza el valor informado en el del certificado del MRC para cada punto de medición y teniendo en cuenta el valor del factor de cobertura reportado “ $k$ ”. Por lo tanto la incertidumbre estándar del patrón se evalúa dividiendo su incertidumbre expandida



entre el factor de cobertura. Los grados de libertad se considerarán 200 o lo que reporte el laboratorio que emite el certificado.

$$u_{re} = \frac{U}{k} \quad (7)$$

Donde:

- $U$ : es la incertidumbre expandida del material de referencia certificado (MRC)  
 $k$ : es el factor de cobertura.

#### 7.2.5.4. Factor de cobertura

El factor de cobertura  $k$  es un factor que multiplica a la incertidumbre combinada y está íntimamente ligado al número de grados de libertad de la medición y al nivel de confianza con el que se desea informar el resultado.

La incertidumbre estándar combinada  $u_c$  representa un intervalo centrado en el mejor estimado del mensurando que contiene el valor verdadero con una probabilidad  $p$  de 68 % aproximadamente, bajo la suposición de que los posibles valores del mensurando siguen una distribución normal. Por lo general se desea una probabilidad mayor, lo que se obtiene expandiendo el intervalo de incertidumbre al multiplicarlo por un factor  $k$ , llamado factor de cobertura. El resultado se llama incertidumbre expandida  $U$ .

$$U = k \times u_c \quad (8)$$

#### 7.2.6. Incertidumbre expandida, informe del resultado

La incertidumbre expandida  $U$  indica entonces el intervalo, llamado intervalo de confianza, que representa una fracción  $p$  de los valores que puede probablemente tomar el mensurando. El valor de  $p$  es llamado nivel de confianza y puede ser elegido a conveniencia.

#### 7.2.7. Distribución $t$ de Student.

Es frecuente, que los valores del mensurando sigan una distribución normal. Sin embargo, el mejor estimado del mensurando, la media (obtenida por muestreos de  $n$  mediciones repetidas) dividida entre su desviación estándar, sigue una distribución llamada  $t$  de Student, la cual refleja las limitaciones de la información disponible debidas al número finito de mediciones y el desconocimiento a ciencia cierta de la propia desviación estándar de la distribución normal. Esta distribución coincide con la distribución normal en el límite cuando  $n$  tiende a infinito, pero difiere considerablemente de ella cuando  $n$  es pequeña.

La distribución  $t$  de Student es caracterizada por un parámetro  $\nu$  llamado número de grados de libertad. Considerando lo anterior, es necesario ampliar el intervalo correspondiente al nivel de

confianza  $p$ , por lo que la ecuación (8) se transforma, en donde el factor  $tp$  ( $v$ ) indica los límites del intervalo correspondiente al nivel de confianza  $p$  de la distribución y su valor siempre es mayor o igual que el factor  $k$  (tomado de la distribución normal). Sus valores se encuentran en tablas:

$$U = tp \times u_c \quad (9)$$

La relación entre el factor de cobertura  $k$  y el nivel de confianza  $p$  depende de la distribución de probabilidad del mensurando.

## 8. VALIDACIÓN DE MÉTODOS DE MEDICIÓN

En el documento criterios de aplicación de la norma NMX-EC-17025-IMNC-2006 de ema [9] se establece que para los procedimientos de calibración ya sean normalizados o desarrollados por el laboratorio, éste debe aplicar uno o varios de los incisos siguientes, tomando en cuenta que el fin es demostrar que el método se encuentra validado y que se identificaron y validaron los aspectos que puedan influir sobre la trazabilidad y la incertidumbre de las mediciones:

- Comparación de resultados alcanzados con otros métodos.
- Comparaciones entre laboratorios. Cuando se comparan los resultados obtenidos por uno o más laboratorios externos (preferentemente acreditados) utilizando un método y se analizan por medio de normas o documentos técnicamente válidos.
- Evaluación sistemática de los factores que tienen influencia en los resultados.
- Evaluación de la incertidumbre de los resultados con base en el conocimiento científico de los principios teóricos del método y de la experiencia práctica.

Por lo que la prueba de validación se puede llevar a cabo calibrando dos o más instrumentos. La estadística a utilizar sería, para el caso de dos instrumentos, la  $F$  de Fisher para determinar que las diferencias en la incertidumbre son o no debidas al azar, y la  $t$  de Student para definir que las diferencias del mejor estimado del error son o no debidas al azar. Para los caso de más de dos instrumentos utilizar el método de error normalizado; dado que los instrumentos serán de diferentes laboratorios se puede establecer como una comparación entre laboratorios.

### 8.1. Criterio del Error Normalizado

Este criterio de aceptación es uno de los más comunes dentro de las comparaciones entre laboratorios.

Para este criterio se requiere un valor de referencia con su correspondiente incertidumbre y se tienen en cuenta las siguientes suposiciones:

- Los errores de los laboratorios respecto al valor de referencia siguen una curva normal.

- Las incertidumbres de los errores, del valor de referencia y de los valores de referencia están expresados con el mismo factor de cobertura, por lo general igual a 2.
- Esto supone que la desviación estándar de la función de distribución de probabilidad de errores es la mitad del denominador del error normalizado.
- La correlación entre los valores de los laboratorios participantes es nula.
- Con frecuencia esta hipótesis no se cumple, en especial cuando los instrumentos de medida son calibrados con el mismo patrón.

Para calcular el error normalizado, se utiliza la ecuación (10).

$$E_n = \frac{x_i - x_{ref}}{\sqrt{U_i^2 + U_{Ref}^2}} \quad (10)$$

Donde:

- $x_i$ : es el estimado del laboratorio .
- $x_{Ref}$ : es el valor de referencia.
- $U_i$ : es la incertidumbre expandida del resultado del laboratorio.
- $U_{Ref}$ : es la incertidumbre expandida del valor de referencia.

El criterio de aceptación se aplica utilizando la ecuación (11).

$$E_n \leq 1 \quad (11)$$

## 9. BUENAS PRÁCTICAS DE MEDICIÓN

### 9.1. Condiciones de medición y calibración

- Registrar las condiciones generales del instrumento antes de calibración (funcionamiento y limpieza).
- Registrar temperatura y humedad relativa durante la calibración.
- No realizar la calibración si las condiciones ambientales están fuera de las condiciones de uso del equipo y MRC.

Los MRC deberán utilizarse de la misma forma en la que se calibraron. Los factores que afectan los resultados de una calibración de un espectrofotómetro UV-Vis son:

- a) Polvo
- b) Condensación de humedad
- c) Mala limpieza del MRC

d) Manipulación inapropiada

## **9.2. Documentos e instrumentos necesarios**

- Procedimiento(s) documentado(s) para la manipulación, almacenamiento y transporte de un MRC.
- Guantes libres de polvos y fibras.
- Aire comprimido o perilla (para eliminar pelusa o partículas estáticas en la superficie de los MRC).
- Estuche apropiado para el resguardo de los MRC.

Para iniciar el proceso de calibración se deben considerar como buenas prácticas de laboratorio el uso de bata y tener las manos limpias, libres de polvo y grasa para el manejo de los MRC.

## **9.3. Materiales de Referencia Certificados (MRC)**

- Tomar los materiales de referencia certificados de su estuche y revisar que la superficie de los mismos se encuentre libre de ralladuras o polvo.
- Los filtros se dejan estabilizar a las condiciones del lugar en donde se encuentra el instrumento. Se sugiere que el tiempo de estabilización sea el mismo tiempo de calentamiento y estabilización de la lámpara y el instrumento.

## **9.4. Espectrofotómetro Ultravioleta-Visible (a calibrar)**

- Verificar que la superficie y el compartimiento en donde se colocan los filtros se encuentren limpios.
- Encender el equipo y la lámpara del instrumento a calibrar, dejar estabilizar.

## **10. REFERENCIAS**

- [1] NMX-EC-17025-IMNC-2006 Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración.
- [2] NMX-Z-055-IMNC-2009 Vocabulario Internacional de Metrología - Conceptos fundamentales y generales, términos asociados (VIM); equivalente al documento ISO/IEC GUIDE 99:2007 y a la tercera edición del VIM.
- [3] NMX-CH-140-IMNC-2002 Guía para la expresión de la incertidumbre de las mediciones; equivalente al documento Guide to the Expression of Uncertainty in Measurement, BIPM, IEC, IFCC, ISO, IUPAC, IUPAP, OIML, 1995.
- [4] NOM-008-SCFI-2002 Sistema General de Unidades de Medida.

- [5] CNM-MRD-PT-030, Métodos analíticos adecuados a su propósito. Guía de laboratorio para validación de métodos y tópicos relacionados. CENAM, 1998.
- [6] MP-CA006, Trazabilidad de las Mediciones - Política de ema vigente.
- [7] MP-CA005, Incertidumbre de Mediciones - Política de ema vigente.
- [8] MP-CA002, Ensayos de Aptitud - Política de ema vigente.
- [9] MP-FE005, Criterios de Aplicación de la Norma NMX-EC-17025-IMNC-2006 / ISO/IEC 17025:2005 - Guía de ema vigente.