

## Calibración de Retícula Ocular Micrométrica

José L. Cabrera T., José A. Salas, Juan A. Guardado, José M. Juárez.

Centro Nacional de Metrología  
km 4,5 Carretera a Los Cués, 76246, Querétaro, México.  
jcabrera@cenam.mx

### RESUMEN

Para conseguir decisiones correctas, los resultados de las mediciones tienen que ser confiables. Para un observador, la medición o la calibración pueden parecer una simple acción, en particular cuando son llevadas a cabo en concordancia con un procedimiento dado. Los problemas surgen cuando se hace la estimación de la confiabilidad de los resultados obtenidos. Por esta razón, los resultados de la medición o calibración deben ser trazables y estar acompañados por su incertidumbre, obtenida de acuerdo a un método internacionalmente aceptado. Esto es de particular importancia en el campo de las micromediciones.

### 1. INTRODUCCIÓN

El presente trabajo se describe las bases para llevar a cabo la calibración de una retícula ocular, utilizando como patrón una retícula objetiva, presentando una discusión de la estimación de la incertidumbre asociada con el resultado correspondiente.

La metrología<sup>1</sup> (definida como la ciencia de la medición) ha sido una parte importante de la infraestructura global desde tiempos antiguos. Todos los resultados y decisiones hechas en los campos de la ciencia, tecnología y economía son basados en datos obtenidos por mediciones.

Por ejemplo: En la agricultura por lo regular están presentes diferentes tipos de microorganismos nocivos (esporas de hongos) que enferman los cultivos. Estos microorganismos pueden clasificarse por medio de su morfología y sobre todo por su tamaño, por lo que al ser medidos adecuadamente microscópicamente, se pueden identificar correctamente cada tipo de especie diferente y, por consiguiente, asignarle un fungicida adecuado para cada uno de ellos. El no hacer una medición apropiada, daría como resultado el seleccionar erróneamente un fungicida que no destruiría el microorganismo y entonces, los cultivos del campo mexicano podrían tener más severas consecuencias. El progreso en la ciencia es inconcebible sin mediciones sofisticadas.

Para mejorar la confiabilidad de los resultados de medición, las mediciones deben ser llevadas a cabo por laboratorios competentes, donde son

utilizados equipos de medición calibrados y métodos de medición aceptados. Los resultados de la medición o calibración deben ser trazables y estar acompañados por su incertidumbre, obtenida de acuerdo a un método internacionalmente aceptado.

La calibración esta definida como un conjunto de operaciones que proporcionan la relación entre las indicaciones de un instrumento de medición y los correspondientes valores del mensurando. Si recordamos que la medición es definida como el conjunto de operaciones que tienen el objetivo de determinar un valor de una cantidad, se puede concluir que la calibración es tu tipo especial de medición [1].

### 2. MÉTODO DE CALIBRACIÓN

#### 2.1. Calibración de Retícula Ocular Micrométrica

Pasos a seguir para calibrar una retícula ocular micrométrica [2]:

- Ver a través del ocular y enfocar la imagen de la retícula objetiva usando la combinación de lente objetiva e intermedia deseada.
- Sobreponer la retícula ocular y la retícula objetiva, haciendo coincidir uno de sus extremos de cada una.
- La medición deberá ser consistente, desde el extremo en que coinciden ambas retículas hasta otra subdivisión coincidente, Fig. 1.
- La calibración de la retícula ocular puede ser determinada dividiendo la longitud conocida de la retícula objetiva ( $L_p$ ) entre el número de divisiones coincidente de la retícula ocular ( $\#d_o$ ). Este cálculo da por resultado el valor real de la longitud de cada subdivisión de la retícula ocular ( $VR_{Sub}$ ):

<sup>1</sup> Del griego *metrología*, teoría de proporciones, del *metron*, medición.

$$\frac{L_p(mm)}{\#d_o (subdivisión)} = VR_{Sub} (mm / subdivisión) \cdot (1)$$

Nota: Por supuesto, se debe repetir el procedimiento arriba listado para varias combinaciones de lentes objetivas- intermedias-oculares, ya que no es el mismo valor de VR<sub>Sub</sub> a 50X que a 1000X. Se puede crear una tabla de calibración de la retícula ocular para todas las ampliaciones posibles.

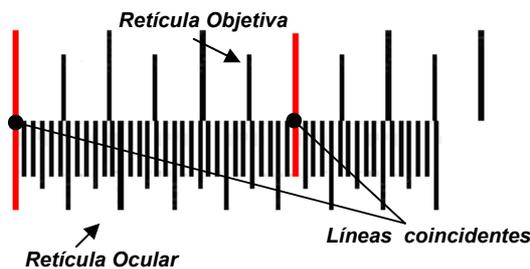


Fig. 1. Líneas coincidentes.

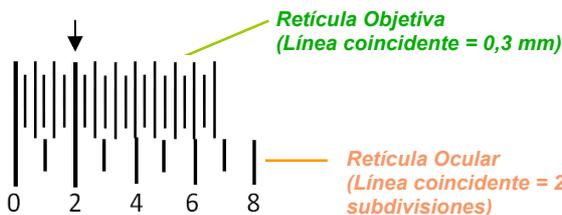


Fig. 2. Alineación de las líneas de retícula ocular y objetiva.

**Ejemplo A: Calibración de Retícula Ocular a la ampliación de cuatrocientos aumentos (400X)**

Para una configuración dada de lentes<sup>2</sup> en un microscopio óptico (ocular de 10X y objetivo de 40X), se determina la longitud por valor de división de un ocular micrométrico. La línea de la retícula objetiva (vista a 400X) fue alineada con la línea de la retícula ocular, Fig. 2.

<sup>2</sup> Para un microscopio compuesto, la ampliación total (M<sub>t</sub>) de una imagen vista a través del lente ocular es el producto de la ampliación de la lente objetiva (M<sub>o</sub>), la ampliación del lente ocular (M<sub>e</sub>) y, si esta presente, la ampliación del sistema de aumento u otro sistema de lentes intermedios (M<sub>i</sub>). Se puede expresar la ampliación total por medio de la siguiente ecuación: M<sub>t</sub> = (M<sub>o</sub>)(M<sub>e</sub>)(M<sub>i</sub>). Ejemplo 1: Para un microscopio configurado con un lente objetivo de 10X, un lente ocular de 10X y una lente intermedia de 1,25X, la ampliación total observada a través del ocular puede calcularse mediante: M<sub>t</sub> = (10X)(10X)(1,25X) = 125X.

Dos (2) subdivisiones de la retícula ocular (#d<sub>o</sub> = 2 subdivisiones) coinciden con la distancia conocida de 0,3 mm con respecto a la retícula objetiva (L<sub>p</sub> = 0,3 mm). La longitud por unidad de división (VR<sub>Sub</sub>) puede ser calculada como sigue:

$$VR_{Sub} = \frac{L_p}{\#d_o} = \frac{0,3 mm}{2 subdivisiones} = 0,15 mm / subdivisión \cdot (2)$$

Esto significa que cada subdivisión nominal de la Retícula Ocular vale 0,15 mm vista con un lente objetivo de 40X.

Nota: Para convertir el valor de milímetros (mm) a micrómetros (µm) realizar el siguiente cálculo:

$$\frac{0,3 mm}{2 subdivisiones} \left( \frac{1000 \mu m}{1 mm} \right) = 150 \mu m / subdivisión \cdot (3)$$

**2.2. La corrección y su Incertidumbre**

El método más ampliamente empleado para calibrar instrumentos de medición es el método directo [1], que implica que la cantidad reproducida por un patrón de medición P es medida por el instrumento de medición a ser calibrado (IMC), Fig. 3.

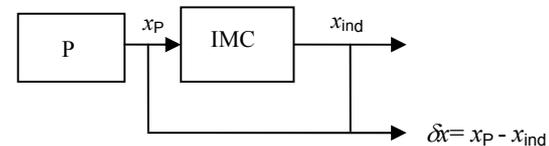


Fig. 3. Diagrama esquemático del método directo.

En este caso, el patrón de medición P puede ser una Retícula Objetiva y el IMC una Retícula Ocular. La calibración implica que el valor x<sub>p</sub> del patrón de medición y la indicación x<sub>ind</sub> del instrumento de medición a ser calibrado son obtenidos. La indicación actual x<sub>ind</sub> tiene que ser corregida por efectos que pudieran tener influencia en él y para hacer que corresponda con condiciones para las cuales la calibración será establecida como válida, por ejemplo, una temperatura de referencia establecida. Por lo tanto, la indicación corregida (reducida) x<sub>ind-c</sub> es:

$$x_{ind-c} = x_{ind} + \sum_{i=1}^{N-2} \delta x_i \quad (4)$$

Donde δx<sub>i</sub> es la corrección debida al enésimo factor de influencia del total de N-2 factores considerados, esto es δx<sub>ind</sub> = x<sub>ind-c</sub> - x<sub>ind</sub> = ∑<sub>i=1</sub><sup>N-2</sup> δx<sub>i</sub>. El valor N-2 es

seleccionado porque en la Ec. (4) se asume que hay  $N$  cantidades de entrada en conjunto. Por consiguiente, la corrección  $\delta x = x_P - x_{ind-c}$  toma la forma:

$$\delta x = x_P - x_{ind} - \sum_{i=1}^{N-2} \delta x_i . \quad (5)$$

Debe notarse que en muchos casos el mejor estimado de  $\delta x_i$  es cero. Sin embargo, aún tales términos necesitan ser incluidos en la Ec. (5), porque ellos contribuyen a la incertidumbre de  $\delta x$ .

El modelo directo de calibración es usado, por ejemplo para calibración de verniers, micrómetros, voltímetros y ohmetros, también como para todos los instrumentos de calibración y dispositivos de prueba cuando el patrón de medición es un material de referencia.

### 2.2.1. La Corrección de $x_P$

El estimado  $x_P$  del valor del patrón, usado en la Ec. (5) puede a menudo ser expresado como  $x_P = x_{P, nom} + \delta x_P$ , donde  $x_{P, nom}$  es el valor nominal (indicado) del patrón y  $\delta x_P$  es la corrección del valor nominal obtenido de la calibración del patrón. Ver el siguiente ejemplo:

#### Ejemplo B: Valor estimado corregido de la Réticula Objetiva

En el certificado de la Réticula Objetiva del ejemplo A, el valor nominal ( $x_{P, nom}$ ) para la línea que coincide (con la línea de la Réticula Ocular) es de 0,3 mm ( $x_{P, nom} = 300 \mu\text{m}$ ). La desviación correspondiente a esa línea ( $\delta x_P$ ) es de 0,000 2 mm ( $\delta x_P = 0,2 \mu\text{m}$ ), por lo que la distancia conocida corregida ( $L_{P\text{corregida}}$ ) será:

$$L_{P\text{corregida}} = x_{P, nom} + \delta x_P \\ L_{P\text{corregida}} = 0,3 \text{ mm} + 0,0002 \text{ mm} = 0,3002 \text{ mm} . \quad (6)$$

### 2.2.2. Expresión General de la Corrección $\delta x$

En muchos casos, las contribuciones restantes para la corrección de un instrumento de medición pueden juntarse en dos términos, uno concerniente a la contribución del instrumento para ser calibrado y el otro concerniente a efectos ambientales. El modelo general de calibración dado por la Ec. (5) puede entonces ser expresado como:

$$\delta x = (x_{P, nom} + \delta x_P - x_{ind}) - \delta x_{obj} - \delta x_{amb} , \quad (7)$$

donde  $x_{ind}$  es la indicación del instrumento de medición a ser calibrado,  $\delta x_{obj}$  es la corrección de la

indicación  $x_{ind}$  debida a todos los efectos causados por la medición del instrumento a ser calibrado,  $\delta x_{amb}$  es la corrección de la indicación  $x_{ind}$  debida a todos los efectos ambientales a ser considerados.

En realidad, las correcciones indicadas en la Ec. (7) pueden consistir de muchos componentes, siendo 0 (cero) su mejor estimado en muchos casos.

### 2.2.3. Estimación de Incertidumbre de $\delta x$

La incertidumbre estándar  $u(\delta x)$  del estimado  $\delta x$  de la corrección es obtenida de la Ec. (8):

$$u^2(y) = \sum_{i=1}^N u_i^2(y) , \quad (8)$$

como:

$$u(\delta x) = \sqrt{u^2(\delta x_P) + u^2(x_{ind}) + u^2(\delta x_{obj}) + u^2(\delta x_{amb})} \quad (9)$$

donde  $u(\delta x_P)$  es la incertidumbre estándar de la corrección aplicada a la medición del patrón,  $u(x_{ind})$  es la incertidumbre estándar de la indicación del instrumento de medición a ser calibrado,  $u(\delta x_{obj})$  es la incertidumbre estándar de la corrección debida a todos los efectos causados por el instrumento de medición a ser calibrado, y  $u(\delta x_{amb})$  es la incertidumbre estándar de la corrección debida a todos los efectos ambientales a ser considerados.

Se debe notar que no es necesario considerar la incertidumbre del valor nominal  $x_{P, nom}$  del patrón en la Ec. (7) porque su contribución está ya contenida en  $u(\delta x_P)$ .

#### 2.2.3.1. Incertidumbre de $u(\delta x_P)$

La estimación  $u(\delta x_P)$  de la incertidumbre estándar del valor  $x_P$  de la medición del patrón es encontrada del certificado de calibración.

#### Ejemplo C: Incertidumbre del Certificado de Calibración del Patrón

Si la incertidumbre es dada como una incertidumbre expandida  $U(\delta x_P)$  con un nivel de cobertura del 95 % y se asume una distribución normal a ella, la incertidumbre estándar sería  $u(\delta x_P) = U(\delta x_P)/2$ . En el certificado del Ejemplo B, el valor de  $U(\delta x_P)$  es

igual a 0,8 μm, por lo que  $u(\delta x_p) = 0,8 \mu\text{m}/2 = 0,4 \mu\text{m}$ .

**2.2.3.2. Incertidumbre de  $u(x_{ind})$**

La indicación  $x_{ind}$  en la Ec. (7) es a menudo un promedio aritmético de varios mensurandos repetidos. Asumiendo que el proceso de calibración esta bien establecido y bajo control estadístico, ahí puede existir una desviación estándar  $s(x_{ind})$  que describe la dispersión de los resultados. Si este es el caso, la incertidumbre  $u(x_{ind})$  del promedio aritmético  $\bar{x}$  puede ser estimada con la ayuda de la siguiente ecuación:

$$u(x_{ind}) = \frac{s(x_{ind})}{\sqrt{n}}, \tag{10}$$

donde “n” es el número de mediciones llevadas a cabo bajo condiciones de repetibilidad.

**2.2.3.3. Incertidumbre de  $u(\delta x_{obj})$  y  $u(\delta x_{amb})$**

La contribución  $u(\delta x_{obj})$  para la incertidumbre, debida a todos los efectos causados por el instrumento de medición a ser calibrado, depende de la situación actual. A menudo la resolución del dispositivo de la indicación provee la contribución dominante. En este caso, quedaría de la siguiente manera:

$$u(\delta x_{obj}) = \frac{\delta_{indicación}}{2\sqrt{3}}, \tag{11}$$

donde  $\delta_{indicación}$  es la mínima indicación de la Reticula Ocular. La Ec. (11) se establece de esta forma, porque asumimos una distribución rectangular. En otros casos, varias fuentes de incertidumbre tienen que ser consideradas y  $\delta x_{obj}$  tiene que ser asumida como la suma de estas contribuciones.

**Ejemplo D: Incertidumbre causada por la resolución finita de una indicación de un dispositivo**

Considerando que la resolución es la más pequeña diferencia entre indicaciones que puede ser percibida de manera significativa [3], la componente de la incertidumbre que caracteriza la resolución de la Reticula Ocular será el valor de la mitad de una subdivisión, o sea el valor de  $VR_{Sub}/2$  (ya sea

corregido o no). Tomando el valor de  $VR_{Sub}$  corregido del Ejemplo B, se tiene que:

$$u(\delta x_{obj}) = \frac{VR_{Sub}/2}{2\sqrt{3}} = \frac{0,1501/2}{2\sqrt{3}} = 0,0217 \text{ mm} . \tag{12}$$

Consideraciones similares son validas para la contribución  $u(\delta x_{amb})$  debida a todos los efectos ambientales que tienen que tomarse en cuenta.

**3. RESULTADOS**

a) La calibración de la Reticula Ocular (para cierta amplificación) consiste en determinar el valor de cada subdivisión de la misma, por medio de la Reticula Objetiva, a través del método descrito anteriormente en el punto 2.1. En este caso, el valor de la indicación corregida  $x_{ind-c}$  es igual al valor de cada la indicación más su corrección  $\delta x$ :

$$x_{ind-c} = x_{ind} + \delta x. \tag{13}$$

Considerando que los factores ambientales no contribuyen significativamente con el proceso de calibración ( $\delta x_{amb}$  y  $u(\delta x_{amb}) = 0$ ), además que se consideran uniformemente espaciadas las subdivisiones de la Reticula Ocular y despreciando cualquier otra fuente que afecte el proceso de calibración ( $\delta x_{obj} = 0$ ), se tienen los siguientes datos tomados de los ejemplos:

$$X_P = x_{P, nom} + \delta x_P = L_{Pcorregido} = 0,3002 \text{ mm}, \tag{14}$$

$$VR_{SubCorregido} = \frac{L_{Pcorregida}}{\# d_o} = 0,1501 \text{ mm} / \text{sub}. \tag{15}$$

Si en la Fig. 2 se consideran 2 subdivisiones, entonces el valor de  $x_{ind} = 0,1501 + 0,1501 = 0,3002$  mm,  $\delta x_{amb} = 0$  y  $\delta x_{obj} = 0$ .

Sustituyendo estos valores en la Ec. (7), se tiene que  $\delta x = (0,3002 - 0,3002) - 0 - 0 = 0$ , por lo que de la Ec (11) tenemos que  $x_{ind-c} = 0,1501 \text{ mm} = 150,1 \mu\text{m}$  en la primera subdivisión;  $x_{ind-c} = 0,3002 \text{ mm} = 300,2 \mu\text{m}$  en la segunda subdivisión; y así sucesivamente.

b) Para la estimación de incertidumbre se tienen los siguientes datos:

- $u(\delta x_p) = 0,4 \mu\text{m}$  (ejemplo C)
- $u(x_{ind}) = 0,095 \mu\text{m}$  (dato)

- $u(\delta x_{obj}) = 0,0217\text{mm} = 21,7 \mu\text{m}$  (ejemplo D)
- $u(\delta x_{amb}) = 0$  (dato).

Sustituyendo estos valores en la Ec. (9), se tiene:

$$u(\delta x) = \sqrt{(0,4)^2 + (0,095)^2 + (21,7)^2 + (0)^2} \quad (16)$$

$$= 21,704 \mu\text{m}$$

Por lo tanto, el valor de cada subdivisión tiene una incertidumbre de 43,408  $\mu\text{m}$ , con  $k = 2$ .

#### 4. DISCUSIÓN

##### 4.1. Presentación de los Resultados de Calibración

El resultado inmediato de una medición es la indicación provista por el instrumento de medición. Sin embargo, como hemos visto, este no es el resultado final de una calibración, porque la indicación necesita procesarse con más detalle. En general, los resultados deben ser presentados en un documento separado que es marcado en una manera apropiada. Este es comúnmente llamado certificado de calibración.

El documento debe únicamente identificar el laboratorio en cuestión, el instrumento de medición calibrado y el organismo o persona que ha ordenado la calibración. El método de calibración y las condiciones bajo las cuales la calibración fue llevada a cabo deben establecerse.

El documento debe también contener al menos una declaración general de la trazabilidad del laboratorio para las mediciones concernidas. Es una buena práctica evitar juicios subjetivos, tales como, por ejemplo, concernientes a la conveniencia del instrumento calibrado para un propósito dado, o declarar recomendaciones de intervalos de recalibración, si el cliente "no ha solicitado explícitamente" tener este tipo de información incluida en el documento. Un caso típico es la inclusión de una declaración de conformidad. El documento debe ser firmado por una persona apropiadamente nombrada.

Los resultados deben ser presentados en una forma concisa pero lucida y bien ordenada. En general, una presentación en forma de tabla es preferida. Algunas veces es de gran ayuda soportar las tablas con gráficas, pero una presentación solamente gráfica debe ser evitada. Si se incluye una curva de calibración o curva de corrección, la ecuación de

regresión usada debe ser presentada, así como la información de cómo fue obtenida.

Es esencial hacer evidente si la cantidad presentada es un error estimado de la indicación del instrumento calibrado, o una corrección con la intención de compensar el error. Algunas veces es aconsejable presentar tanto las indicaciones del instrumento y el valor del patrón utilizado (apropiadamente corregido para reducirlos a condiciones establecidas en el método de calibración) y sus diferencias.

Los resultados de calibración deben siempre estar acompañados por una declaración de incertidumbre de las mediciones asociadas a ellas. Es habitual establecer la incertidumbre de los resultados de la calibración como una incertidumbre expandida correspondiente a una probabilidad de cobertura. En muchos casos, es razonable asumir que la distribución de probabilidad de la cantidad estimada es aproximadamente normal. Sin embargo, el uso indiscriminado de un factor de cobertura de  $k=2$  para una probabilidad de cobertura del 95 % debe ser evitada.

Se debe tener especial atención en el redondeo de los resultados de calibración, para facilitar el uso sensato del instrumento de medición calibrado. En algunos casos, esto implica que los resultados deben ser redondeados a lo más, al dígito que corresponda a la resolución del instrumento.

Para laboratorios de calibración acreditados, requerimientos mandatarios usualmente aplican con referencia a los certificados de calibración emitidos por ellos. En la mayoría de los casos, la acreditación esta basada en requerimientos dispuestos en la ISO/IEC 17025 y por consiguiente, laboratorios de calibración acreditados bajo los lineamientos de ésta, tienen que satisfacer los requerimientos de los certificados de calibración establecidos en éste documento.

#### 5. CONCLUSIONES

La calibración de una Retícula Ocular puede parecer una simple acción, en particular cuando se lleva a cabo en concordancia con el procedimiento descrito en la referencia [2]. Sin embargo, hacer la estimación de la confiabilidad de los resultados obtenidos es más complicado, pero no imposible.

Todos los esfuerzos para obtener un estimado valido de la calibración y su incertidumbre asociada,

pueden resultar ser inútiles, si se torna evidente que el resultado no es trazable.

En conclusión, la trazabilidad es una propiedad del resultado de una medición y por consiguiente, el uso de un instrumento de medición calibrado trazable es una condición necesaria para conseguir trazabilidad.

### **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco la participación de los coautores y al Comité Técnico del Simposio de Metrología 2008 por su apoyo continuo con sus observaciones y comentarios durante la preparación de este artículo.

### **REFERENCIAS**

- [1] Rein Laaneots, Olev Mathiesen, *An Introduction to Metrology*, Estonia: TUT Press, pp. 217-237, (2006).
- [2] ASTM (American Society for Testing and Materials) Standards: E 1951 -02, *Standard Guide for Calibrating Reticles and Light Microscope Magnifications*.
- [3] ISO (International Organization for Standardization): Vocabulario Internacional de términos básicos y generales en metrología VIM (publicada por ISO en nombre de BIPM, IEC, IFCC, IUPAC y OIML). Segunda edición.