

GUÍA TÉCNICA SOBRE TRAZABILIDAD E INCERTIDUMBRE EN LAS MEDICIONES ANALÍTICAS QUE EMPLEAN LAS TÉCNICAS DE CROMATOGRAFÍA DE GASES (CG) Y CROMATOGRAFÍA DE LÍQUIDOS DE ALTA RESOLUCIÓN (CLAR)

México, Mayo 2004

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 que encabezara un programa de elaboración de Guías Técnicas de Trazabilidad e Incertidumbre de las Mediciones.

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-2002. 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.

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

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

AUTORES¹

Álvarez Tapia, Rubén, Laboratorio SAS

Carbajal Alarcón Carlos Enrique, CENAM

Cortés Colín, Rocío E.

Garza Ulloa Humberto Jesús, ALS-INDEQUIM, S.A. de C.V.

Hernández Rivera Rosalba.- CIDESI

López García Ma. Cristina, CENAM

Montante L. Miriam E.- CFPPNL, Laboratorio Central Regional de Monterrey

Muraira Martínez Lucía M, CFPPNL, Laboratorio Central Regional de Monterrey

Pérez Castorena Alejandro, CENAM

Pérez Urquiza Melina, CENAM

Rosas García, Eva.- EMA

Soto García Noemí.- Cámara Nacional de la Industria Tequilera

Tapia Hernández, Alfredo M.

Ustaran Cervantes, Juan Ignacio.- Laboratorios ABC Química, Investigación y Análisis, S.A. DE C.V.

¹ El nombre de los autores aparece en estricto orden alfabético.

ÍNDICE

	página
PRESENTACIÓN.....	2
AUTORES.....	4
ÍNDICE.....	5
1. PROPÓSITO DE LA GUÍA TÉCNICA.....	7
2. ALCANCE DE LA GUÍA TÉCNICA.....	8
2.1 Cromatografía.....	8
3. MENSURANDO.....	9
3.1 Intervalo de trabajo de los métodos de medición.....	10
3.2 Incertidumbre	10
4. MÉTODO Y/O SISTEMA DE MEDICIÓN.....	11
4.1 Sistema de Medición.....	11
4.2 Método de Medición.....	11
4.3 Procedimiento de Medición.....	12
4.4 Competencia Técnica del Analista.....	13
5. CONFIRMACIÓN METROLÓGICA Y CALIFACACIÓN DE EQUIPOS.....	13
5.1 Confirmación Metrológica (CM).....	14
5.2 Calificación de Equipos e Instrumentos de Medición Analítica (CEIMA).....	15
5.3 Casos particulares.....	16
6. TRAZABILIDAD DE LA MEDICIÓN.....	16
6.1 Trazabilidad, calibración, patrones y Materiales de Referencia Certificados (MRC).....	16
7. INCERTIDUMBRE DE MEDICIÓN.....	20
8. VALIDACIÓN DE MÉTODOS.....	22
9. BUENAS PRÁCTICAS DE LABORATORIO.....	24
10. BIBLIOGRAFÍA.....	24

11. ANEXOS	26
Anexo 1 Tabla de trazabilidad e incertidumbre de CG	26
Anexo 2 Glosario de Términos.....	27
Anexo 3. Ejemplo de Proceso de Confirmación Metrológica de una Balanza Analítica	41
Anexo 4. Ejemplo para la Calificación de Equipos de Instrumentos de Medición Analítico (CEIMA)....	46
4.1 Ejemplo para la Calificación de Cromatógrafo de Gases para la determinación de compuestos organoclorados.....	46
4.2 Ejemplo para la Calificación de Cromatógrafo de Líquidos de Alta Resolución (CLAR)	49
4.2.1 Ejemplo de Calificación de Diseño (CD) para CLAR-UV	50
Anexo 5. Ejemplo Estimación de la incertidumbre de medición de la fracción de masa de metanol.....	52
Anexo 6. Buenas Prácticas de Laboratorio (BPL)	64
Anexo 7. Información adicional sobre las técnicas de CG y CLAR	66

1. PROPÓSITO DE LA GUÍA TÉCNICA

Las medidas o resultados de medición, son caracterizados por su trazabilidad y por un valor estimado de su incertidumbre. La confiabilidad del resultado de una medición es el factor de mayor importancia para la toma de decisiones de los usuarios de este resultado.

En el marco de la evaluación de la conformidad, se entiende que el resultado de un ensayo es una declaración de conformidad o no conformidad con el requisito establecido por una norma.

Este resultado puede estar soportado por:

- a) el examen directo de un atributo;
- b) la conclusión sobre un atributo a partir de resultados de medición; o,
- c) la realización directa de mediciones.

El ejercicio de la calibración de instrumentos, patrones de medición y materiales de referencia constituyen un elemento fundamental en la tarea de extender la trazabilidad de las mediciones, que inicia en los patrones nacionales de medida para llegar a múltiples usuarios. En las actividades de la evaluación de la conformidad, los Institutos Nacionales de Metrología, los Laboratorios Primarios y los Laboratorios acreditados de calibración tienen la responsabilidad de extender la trazabilidad de las mediciones a otros usuarios. Por su parte, los laboratorios acreditados de ensayos, apoyándose en la confiabilidad de las mediciones, son responsables de la evaluación de la conformidad de productos y servicios respecto de normas y documentos de referencia, asegurando de esta manera, la diseminación de la trazabilidad de las mediciones.

Con el objetivo de que la evaluación de la conformidad sea realizada por estos laboratorios con un mismo nivel de rigor técnico, se ha considerado elaborar la documentación que permita homologar este nivel. Estos documentos se han llamado “Guías Técnicas sobre Trazabilidad e Incertidumbre en las Mediciones Analíticas”.

El **propósito** de esta Guía Técnica es establecer los criterios y requisitos de trazabilidad e incertidumbre en la aplicación de las técnicas de medición de Cromatografía de Gases (GC) y Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución (CLAR), para lograr medidas con incertidumbre de medición y trazabilidad confiables.

La “Guía Técnica sobre Trazabilidad e Incertidumbre en las Mediciones Analíticas que emplean las técnicas de Cromatografía de Gases (GC) y Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución (CLAR)” no reemplaza ni total, ni parcialmente, a los documentos de referencia en que se fundamentan las políticas de trazabilidad e incertidumbre de la **ema**. La aportación de criterios técnicos de esta Guía específica sirven de apoyo en la aplicación de la norma NMX-17025-IMNC-2000 [2] La consistencia de esta Guía con esta norma y con

los demás documentos de referencia, apoyan a conseguir el propósito de asegurar la confiabilidad de la evaluación de la conformidad por parte de los laboratorios de ensayo, en lo concerniente a trazabilidad e incertidumbre.

Los criterios descritos en esta Guía Técnica serán aplicados por:

- a) Los evaluadores de laboratorios de ensayos que participan en el proceso de evaluación y acreditación de la Entidad Mexicana de Acreditación, A.C.
- b) Los laboratorios de ensayo acreditados en procesos de continuación a la acreditación inicial (Renovación de la Acreditación).
- c) Los laboratorios de ensayos en preparación para ser acreditados.
- d) Los interesados en iniciar un laboratorio de ensayos.

2. ALCANCE DE LA GUÍA TÉCNICA

Esta Guía Técnica es aplicable para las técnicas de medición de Cromatografía de Gases (GC) y Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución (CLAR), las cuales se describen a continuación.

2.1 Cromatografía.

La cromatografía es una técnica de separación con aplicación directa principalmente a compuestos orgánicos y en algunos casos a compuestos inorgánicos. La separación cromatográfica está fundamentada en el continuo y selectivo equilibrio de los componentes de una mezcla entre una fase estacionaria y una fase móvil.

La mezcla a ser separada es introducida en la fase móvil que es inducida a moverse a través de la fase estacionaria contenida dentro de una columna. Los componentes de la mezcla se separan debido a su diferente afinidad por la fase estacionaria, lo cual provoca que se transporten a diferentes velocidades en la fase móvil.

El estado físico y composición de la fase estacionaria y de la fase móvil pueden ser muy variables, así como los mecanismos de separación de los cuales la partición, adsorción, intercambio iónico y exclusión por tamaño son ejemplos de las diferentes posibilidades.

A la salida de la columna, los componentes separados podrán ser detectados por medio de un dispositivo llamado Detector que ve los cambios en la composición de la fase móvil, de tal manera que si la fase móvil llega con algún componente diferente, este es detectado, dependiendo de las características del sistema de detección.

El sistema de medición entrega una diferencia en el voltaje del detector llamada respuesta, la cual está en función de la concentración del componente. Se obtiene en forma de picos, al conjunto de picos se le llama cromatograma.

La cuantificación se realiza cuando se comparan las respuestas de componentes de concentración conocida contra los componentes en la muestra desconocida, ya sea en forma directa o por medio de una curva de calibración, obedeciendo a la Ley de Ohm.

$$V = RI$$

La CG y CLAR son los tipos de configuraciones instrumentales cromatográficas con mayor amplitud de aplicaciones.

Ver en el anexo 7 información adicional de CG y CLAR

3. MENSURANDO

Un ejemplo de mensurando que puede ser medido a través de la técnica de Cromatografía de Gases (GC) se describen en la Tabla de Trazabilidad de las Mediciones Analíticas, Anexo 1.

Los evaluadores deben solicitar a los laboratorios la identificación clara y precisa del (los) mensurando(s) sujeto(s) al alcance de la acreditación, incluidos en los Métodos de Medición que utilizan las Técnicas de Medición objeto de esta guía, empleando el formato de la tabla del Anexo 1.

En la elaboración de los informes de resultados de ensayo, en caso de que los métodos de ensayo o los clientes requieran la expresión del mensurando en unidades diferentes a las del SI, se debe reportar el resultado en las Unidades SI[3] y a su vez en las unidades equivalentes como parte del Informe de Resultados

Por ejemplo, X mg/kg (Y ppm)

Para mayor información ver capítulo I, artículos 5 y 6 de la Ley Federal sobre Metrología y Normalización (LFMN) y NOM-008-SCFI-2002.

Ver Glosario de Términos, Anexo 2 para las definiciones correspondientes.

3.1 Intervalo de trabajo de los métodos de medición

Los evaluadores deben verificar que los intervalos de trabajo de los métodos de medición que emplean las técnicas de Cromatografía de Gases (CG) y Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución (CLAR) estén documentados con evidencia de su determinación en la validación del método (parcial o total) y estos deben ser coherentes con la aplicación del resultado del ensayo (ver Anexo 2, Glosario de Términos para definición del término de validación).

El intervalo de trabajo de los métodos de medición debe tomar en cuenta los límites máximos permisibles o las especificaciones de la norma a la que se evalúe su conformidad, las especificaciones de procesos que se estén evaluando o los requerimientos de los clientes del laboratorio, los cuales idealmente deben estar en la sección media del intervalo de trabajo.

Por ejemplo, para Metanol por CG en Bebidas alcohólicas (NOM-142-SSA1-1995/B.5) el límite máximo es de 300 mg/100 mL de alcohol anhidro, el intervalo de trabajo ideal es de 100 mg/100 mL a 1000 mg/100 mL; para lactosa por CLAR en leche deslactosada (NOM-155-SCFI-2003/8.6) el límite máximo es de 10 g/L, el intervalo de trabajo ideal es de 1 a 50 g/L.

3.2 Incertidumbre

Los evaluadores deben verificar la estimación de incertidumbre de los métodos de medición que emplean las técnicas de Cromatografía de Gases (CG) y Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución (CLAR), solicitando la documentación que proporcione evidencia de la estimación de incertidumbre por parte del laboratorio, en base a lo estipulado en el capítulo 7 de esta Guía Técnica.

Para el caso de las acreditaciones iniciales, ampliaciones o actualizaciones de métodos de ensayo ó renovaciones hacia la NMX-EC-17025-IMNC-2000[2], el laboratorio deberá iniciar su proceso de estimación de incertidumbre en la validación parcial del método y tener un plan de implantación de acuerdo al capítulo 4 inciso 4.2.3 de las Políticas Referentes a la Trazabilidad e incertidumbre de mediciones de la ema, para cuantificar todos aquellos componentes de incertidumbre que contribuyan significativamente a la incertidumbre final de la medición. Esto último debe ser realizado según el punto 7 de esta guía.

4. MÉTODO Y/O SISTEMA DE MEDICIÓN

Ver definiciones de estos conceptos en el capítulo de Glosario de Términos (Anexo 2).

4.1 Sistema de Medición

El evaluador debe solicitar una descripción suficiente de los componentes del sistema de medición que empleen la técnica de CG y CLAR, y que influyan sobre la trazabilidad y el valor de la incertidumbre de la medición

Ejemplos de Sistema de medición.

Para medición de alcoholes:

- Cromatógrafo de gases con detector de ionización de flama (CG/DIF)
- Columna cromatográfica Polietilenglicol-20M
- Balanza analítica; calibrada
- Material volumétrico; calibrado
- Materiales de referencia certificados

Para medición de aflatoxinas

- Cromatógrafo de líquidos con detector de arreglo de diodos (CLAR/DAD)
- Columna cromatográfica de fase reversa de octadecil siloxano
- Pipetas volumétricas; calibradas
- Balanza analítica; calibrada
- Materiales de referencia certificados

Ver ejemplo en la tabla de Trazabilidad de las Mediciones Analíticas (Anexo 1) para los métodos de ensayo que se requieren acreditar.

4.2 Método de Medición

Ver definiciones de estos conceptos en el capítulo de Glosario de Términos (Anexo 2).

4.3 Procedimiento de medición

El evaluador debe verificar que los procedimientos de medición (procedimientos internos, instructivos, protocolos, entre otros.) estén conformes con las especificaciones de desempeño de los métodos de medición del alcance de la acreditación.

Nota: Para los métodos propios ver el capítulo de validación.

Los aspectos más comunes del procedimiento de medición que tienen efecto en la trazabilidad y en la incertidumbre en la técnica de Cromatografía de Gases (CG) y Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución (CLAR) son:

Eta pa de sub muestreo (tom a de la m uestra para análisis en el laboratorio)

1. Balanza
2. Material volumétrico

Eta pa de Preparación de la m uestra:

3. Control de Temperatura Ambiental, en caso aplicable, de acuerdo a los disolventes a utilizar.
4. Reactivos adecuados (ausencia de interferencias)
5. Método de separación, concentración y/o derivatización
6. Material volumétrico

Eta pa de medición:

7. MRC
8. Controles de calidad, en caso aplicable (Blancos, muestras de control de calidad, duplicadas, adicionadas, entre otros).
9. Curva de calibración (material volumétrico, algoritmo empleado en la calibración)
10. Confirmación metrológica de balanzas y demás instrumentos en donde aplique (Ver capítulo 5 de esta Guía).
11. Calificación de equipos e instrumentos de medición analítica (CEIMA) donde aplique (Ver capítulo 5 de esta Guía).

Las magnitudes de influencia y las fuentes de incertidumbre se detallan en el capítulo 7 de esta Guía Técnica y en la Tabla de Trazabilidad de las Mediciones Analíticas (Anexo 1).

El evaluador debe solicitar evidencia de como el laboratorio realiza la evaluación de los blancos de reactivos para determinar si se deben restar de los valores de las muestras o se deben utilizar como criterios de aceptación y rechazo de los lotes analíticos. Dicha interpretación depende del método de ensayo que se utilice y debe estar fundamentado en dicho método o si no está explícito en el método, no se deben restar los blancos de reactivos.

4.4 Competencia Técnica del Analista

El evaluador debe solicitar registros sobre la aptitud técnica (anteriormente llamada Prueba Inicial de Desempeño del Analista) que incluyan al menos datos sobre su sesgo, recuperación, repetibilidad, límite de cuantificación, límite de detección –si aplica al método, recuperación y adicionalmente si es posible, los resultados de su participación en pruebas intralaboratorio o interlaboratorio.

El evaluador debe solicitar al laboratorio los registros que demuestran la competencia técnica de todos y cada uno de los analistas que realizan la medición, los criterios de aceptación y rechazo así como las evidencias de los resultados obtenidos de los analistas, basados en las especificaciones del método. En caso de que el método no cuente con dichas especificaciones los criterios de aceptación y rechazo deberán estar sustentados en una fuente reconocida

5. CONFIRMACIÓN METROLÓGICA Y CALIFICACIÓN DE EQUIPOS

En la práctica, la selección de un instrumento de medición se inicia delimitando su uso previsto y definiendo las características metrológicas requeridas para obtener mediciones confiables. Se selecciona entonces un instrumento de medición, mediante la comparación de estos requisitos metrológicos y las declaraciones del fabricante.

Es importante que los instrumentos de medición se mantengan bajo control, con la finalidad de evaluar su desempeño y cumplir con los requisitos de la NMX-EC-17025-IMNC-2000[2], que requieren a los laboratorios de ensayo la evidencia de que los instrumentos cumplen con el propósito de uso establecido, con un estado de mantenimiento adecuado y calibrados a patrones nacionales o internacionales, esto con la finalidad de demostrar la validez de sus resultados de medición.

La presentación de evidencia se realiza mediante los resultados de los procesos de la Confirmación Metrológica (CM)[6] y de la Calificación de Instrumentos Analíticos (CEIMA) [7].

El proceso de CM se aplica a los instrumentos que se emplean en mediciones físicas y que se calibran externamente por medio de laboratorios de calibración acreditados, este proceso evidenciará que el equipo es adecuado para el uso propuesto. El proceso de CEIMA se debe aplicar a todos los instrumentos de medición analítica.

5.1 Confirmación Metrológica (CM)

Las Características Metrológicas del Equipo de Medición (CMEM) son factores que contribuyen a la incertidumbre de la medición. Las CMEM permiten realizar la comparación directa con los Requisitos Metrológicos del Cliente (RMC) para establecer la Confirmación Metrológica (CM).

Los RMC en este sentido se refieren normalmente a los requerimientos del método de ensayo acreditado para satisfacer las necesidades del cliente del laboratorio, en cuanto al desempeño y especificaciones de los equipos a utilizarse.

Ver definiciones correspondientes a la confirmación metrológica en el Glosario de Términos (Anexo 2).

El evaluador debe solicitar la documentación que contenga los requisitos metrológicos del cliente (RMC) considerados en el proceso de CM.

Ejemplo de algunos RMC:

Intervalo de trabajo, sesgo, incertidumbre, estabilidad, deriva, resolución, entre otros.
Ver en el Anexo 3 un ejemplo específico.

El evaluador debe solicitar la documentación que contenga las características metrológicas del equipo de medición (CMEM) consideradas en el proceso de CM.

Ejemplo de documentos que contengan CMEM:

Certificado de calibración, Informe de calibración.

El evaluador debe solicitar los registros de la Verificación Metrológica.

El evaluador debe solicitar las evidencias y documentos usados para determinar los intervalos de CM y verificar que los mismos intervalos de la CM estén basados en los datos obtenidos en el historial de las confirmaciones metrológicas.

Los intervalos de CM deben ser revisados y ajustados a las necesidades de aseguramiento continuo con los RMC. Los intervalos de calibración y de CM pueden ser iguales.

El evaluador debe solicitar evidencia cuando la confirmación metrológica (CM) sea realizada cada vez que el instrumento sea reparado, ajustado o modificado.

En el Anexo 3 se encuentra un ejemplo de confirmación metrológica, incluye el diagrama del proceso de la confirmación metrológica y tablas que muestran los RMC básicos de algunos instrumentos de medición, para realizar el proceso de Confirmación Metrológica.

En el caso de los siguientes componentes de los sistemas de medición empleados en la(s) técnica(s) de esta Guía, el laboratorio:

- ? Debe seguir los lineamientos de la CM, para los termómetros, así como para las balanzas analíticas que se utilicen para pesar muestras y materiales de referencia.
- ? Debe seguir los lineamientos de la CM, para el material volumétrico que se utilice para la preparación de los materiales de referencia (disoluciones de trabajo), salvo que dichas disoluciones sean preparadas gravimétricamente.
- ? Cuando no aplica la calibración del material volumétrico (indicado en el glosario), se deberán solicitar registros de los controles que demuestren la verificación del mismo con referencia a las especificaciones del fabricante.

5.1.1 Adicional a la CM, el evaluador debe solicitar al laboratorio los procedimientos empleados y registros (cartas de control, registros, entre otros) de los controles implementados en los equipos de medición, con el objeto de asegurar la vigencia de la confirmación metrológica y que los equipos estén dentro de los requerimientos de ésta.

5.2 Calificación de Equipos e Instrumentos de Medición (CEIMA)

Ver definición de CEIMA en el Glosario de Términos (Anexo 2).

El evaluador debe solicitar al laboratorio procedimientos ó protocolos de Calificación de Equipo de Instrumentación Analítica (CEIMA), en el cual se incluyan todas las etapas, así como evidencia de su cumplimiento.

En el Anexo 4.1 y 4.2, se presentan ejemplos de CEIMA con tablas de parámetros básicos por etapa de calificación, para CG y CLAR.

El evaluador debe solicitar que los registros del CEIMA se encuentren documentados de acuerdo a las características metrológicas del equipo, ver ejemplos del Anexo 4.1 y 4.2

Adicionalmente el evaluador debe solicitar evidencia de recalificación del equipo en la(s) etapa(s) aplicable(s), en los siguientes casos:

- ? Cambio de localización del equipo.
- ? Interrupción prolongada de los servicios que pueda poner en duda la estabilidad del desempeño del equipo.
- ? Mantenimiento mayor con cambio de partes que afecten la medición (Inyector, Columna, Detector, Sistema de Datos, entre otros).
- ? Modificación de diseño.
- ? Cambio de uso.

Por ejemplo: si se tenía el cromatógrafo de gases calificado para uso de análisis de plaguicidas y actualmente se le emplea para el análisis de Bifenilos policlorados (PCB) en Aceites de Transformador, cambio de niveles de composición próxima a niveles traza.

En el caso de los siguientes componentes de los sistemas de medición que emplean las técnicas que se incluyen en esta Guía, se debe considerar el siguiente lineamiento:

- ? Para los cromatógrafos y sus accesorios, sus sistemas de introducción de muestras y sistemas especiales de extracción, entre otros, se deben seguir los lineamientos del CEIMA [7]

5.3 Casos particulares

El material volumétrico que se utilice en las disoluciones de muestras, debe ser clase A verificado considerando su estado físico y con base a criterios estadísticamente significativos (se deben tener criterios estadísticos para el muestreo de los materiales volumétricos a verificar basados en el número de piezas y el tiempo entre verificaciones).

La verificación contra las especificaciones debe ser realizada por el Laboratorio con un procedimiento técnicamente válido y los registros correspondientes, ésta debe ser realizada antes de ser puesto en servicio y en periodos establecidos durante su vida útil.

Los hornos de microondas, autoclaves, baños termostáticos, cámaras ambientales y sistemas especiales de digestión, deben ser verificados de acuerdo a sus especificaciones y mantenerse bajo control.

6. TRAZABILIDAD DE LA MEDICIÓN

6.1 Trazabilidad, calibración, patrones y Materiales de Referencia Certificados (MRC)

Consultar el Glosario de Términos (Anexo 2) para las definiciones correspondientes.

La trazabilidad del resultado de una medición está relacionada con la disseminación de la unidad correspondiente a la magnitud que se mide. 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. Aún 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, el cual contiene a las unidades del SI.

Los elementos de la trazabilidad en este tipo de mediciones son:

- El resultado de la medición cuyo valor es trazable. (La trazabilidad es hacia el SI, mediante los valores de los MRC con su incertidumbre)
- Las referencias determinadas a patrones nacionales o internacionales. (Los valores de los patrones de trabajo deben ser trazables a valores de los MRC nacionales o internacionales)
- Cadena ininterrumpida de comparaciones. (Contar con una carta de trazabilidad o esquema en que se evidencie la utilización de MRC trazables al SI)
- El valor de la incertidumbre de las mediciones en cada comparación. (La carta de trazabilidad debe contar con los valores y las incertidumbres estimadas en cada comparación)
- La referencia al procedimiento de calibración o método de medición química en cada comparación preferentemente.
- La referencia al organismo responsable de la calibración, de la certificación del material de referencia, de la realización del método de referencia, o del Sistema de medición de referencia, en cada comparación.

Existen algunos mensurandos definidos por mediciones dependientes del método de medición, en tales casos la trazabilidad del valor del resultado esta establecida al método, por medio de la utilización de MRC en la etapa de cuantificación y trazabilidad al SI de cada una de las magnitudes que intervienen en el cálculo del valor del mensurando.

A adicionalmente, se deberá asegurar que el método esté bajo control mediante el uso de materiales de control de calidad, ya sean MRC o MR y la participación continua en pruebas interlaboratorio, si existen.

Por ejemplo en el caso de compuestos orgánicos CRET, se debe tener trazabilidad de las magnitudes de volumen y concentración de masa mediante la calibración de la balanza, y material volumétrico por laboratorios acreditados, y la utilización de MRC para la elaboración de las curvas de calibración, además de llevar a cabo un programa de control de calidad estadístico con Materiales de Control de Calidad, de preferencia certificados y la participación continua en pruebas interlaboratorio, si existen.

El evaluador debe solicitar que los Materiales de Referencia Certificados utilizados en las mediciones que emplean las técnicas de CG y CLAR proporcionen trazabilidad a patrones nacionales certificados por el CENAM, siempre y cuando estén disponibles, o en su defecto a patrones extranjeros con la autorización respectiva de la Dirección General de Normas (DGN), según lo especificado en los Art. 26 de la LFMN, 20 y 24 del Reglamento de la LFMN y la Política de Trazabilidad de la ema.

Los evaluadores deben solicitar, donde aplique, lo establecido en la Tabla de Trazabilidad de las Mediciones Analíticas del Anexo 1, donde se indican los instrumentos y equipos de medición que requieran calibración externa, CM o CEIMA, y las características de los materiales de referencia, así como las formas prácticas de establecer trazabilidad para las mediciones por CG y CLAR.

El evaluador debe revisar los mecanismos que el laboratorio tiene para mantener la trazabilidad, como el uso de patrones, con los propósitos de:

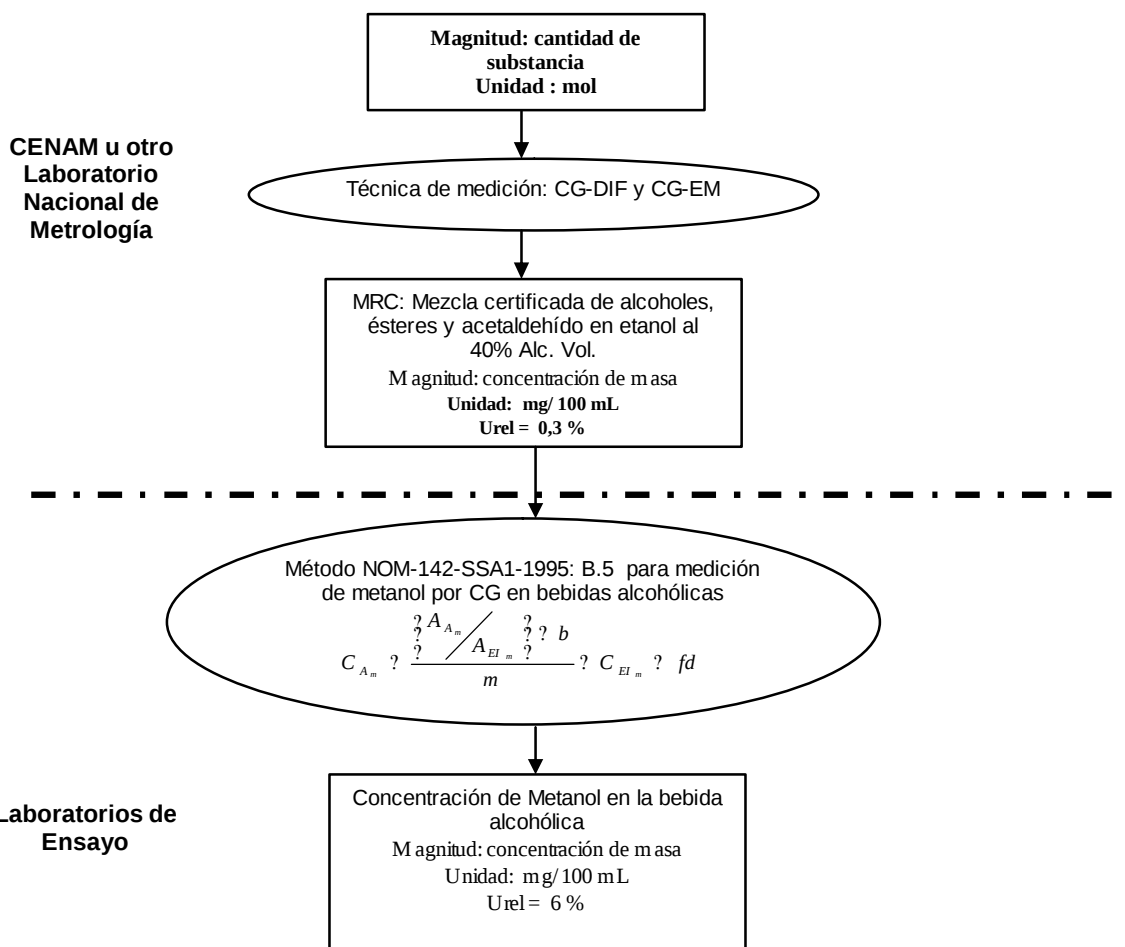
- ? Asegurar el mantenimiento de la trazabilidad de las mediciones mediante la comprobación del estado de la caducidad de los MRC, la CM y la CEIMA de los instrumentos, entre las calibraciones programadas.
- ? Evidenciar mediante criterios estadísticos los periodos de calificación y recalibración de los equipos e instrumentos.

El evaluador debe solicitar:

- ? La demostración de la trazabilidad mediante el examen detallado de los certificados de calibración de los instrumentos de medición y de los materiales de referencia asociados a cada uno de los elementos de la cadena de comparaciones, dichos documentos deben ser expedidos por Laboratorios de Calibración Acreditados en las magnitudes específicas y en el caso de los MRC, deben ser expedidos por el CENAM o por instituciones extranjeras trazables a patrones nacionales de sus respectivos países y con la autorización de la DGN.
- ? La demostración esquemática de la trazabilidad a través de las cartas de trazabilidad de cada uno de los métodos de ensayo dentro del alcance de la acreditación, (en las cuales se muestran en rectángulos: la magnitud, unidades, MRC y la incertidumbre de medición; y en óvalos: el método y el modelo matemático), basadas en los certificados o dictámenes de calibración y de sus MRC, y una tabla donde se especifiquen los analitos cubiertos por el método de ensayo.

Por ejemplo:

Carta de trazabilidad para la medición de metanol por CG/DIF



7. INCERTIDUMBRE DE MEDICIÓN

Consultar el Glosario de Términos Anexo 2 para las definiciones correspondientes.

Los ensayos usualmente tienen el propósito de llevar a cabo la evaluación de la conformidad con requisitos establecidos, mediante la comparación de éstos con los resultados de sus mediciones, esto no los excluye de una declaración de la incertidumbre de medición en los resultados, además de ser una parte indispensable en la expresión de un resultado de medición.

Los resultados de tal evaluación pueden ser: conforme o no conforme.

7.1 Elementos de la incertidumbre de la medición [4]

- ? 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.
- ? La lista de las fuentes de incertidumbres significativas y una descripción, breve y suficiente de las mismas.
- ? 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.
- ? Una tabla con los componentes de incertidumbre que contenga al menos, para cada uno de ellos su 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 y expandida.
- ? Una nota relativa a la distribución de probabilidad del mensurando.
- ? 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.
- ? Una nota de advertencia sobre el propósito único de ilustración de la tabla presentada y sobre la obligación de cada laboratorio a realizar sus propios ensayos y consideraciones sobre la estimación de la incertidumbre de sus mediciones.

De acuerdo a la Política de Trazabilidad e Incertidumbre de la ema, para mediciones por CG y CLAR el laboratorio debe aplicar alguna de las siguientes opciones:

- a) Estimar la incertidumbre con base al punto 4.2.1 considerando las magnitudes de entrada del modelo matemático, cuando el resultado de la medición por CG y CLAR sea generado a partir de un proceso de medición directa.

Ejemplo: Estimación de la incertidumbre de medición de la fracción de masa de metanol, cuya medición se basa en la NOM-142-SSA1-1995.

- b) Estimar la incertidumbre con base a lo establecido en el punto 4.2.2. cuando el mensurando depende del método de ensayo (prueba), es decir, la medición es posterior a una serie de etapas complejas de tratamiento de la muestra.

Ejemplo: Compuestos Orgánicos Semivolátiles por CG/EM en Lixiviados de Residuos Industriales según método USEPA 8270C-1996.

En el ejemplo de Tabla de Trazabilidad de las Mediciones Analíticas (Anexo 1), se presentan algunas fuentes de incertidumbre en la técnica de medición de CG, el evaluador debe revisar el procedimiento que realiza el laboratorio para determinar las principales fuentes de incertidumbre [4] identificadas, las cuáles al menos deben ser las señaladas en la Tabla 7, pero que pueden ser más dependiendo de los métodos específicos contenidos en el alcance de la acreditación.

En el Anexo 5 se encuentran ejemplos de la estimación de Incertidumbre.

Las principales fuentes de incertidumbre identificadas en las mediciones incluidas en esta guía son:

Tabla 7 Fuentes de Incertidumbre

Etapas operativas	Fuentes de incertidumbre	Magnitudes involucradas
1. Sub muestreo	Toma de muestra	Volumen y/o Masa
2. Método de preparación de la muestra	Secado, Extracción, Derivatización, Eliminación de Interferencias, pre-concentración	Masa Volumen
3. Calibración de la Medición Analítica (Trazabilidad)	MRC, Disoluciones involucradas	Volumen y/o masa, concentración de masa del MRC
4. Medición	Repetibilidad y reproducibilidad	Concentración de masa

Cuando se disponga de un estudio de precisión del método (mediante el uso de Material de control de calidad, MCC) el cual ya incluye la incertidumbre correspondiente a las etapas 1, 2 y 4, se deberá estimar adicionalmente la fuente señalada en la etapa 3.

Si el laboratorio demuestra que alguna de las fuentes de incertidumbre no es significativa puede no ser considerada en su evaluación.

8. VALIDACIÓN DE MÉTODOS

Consultar el Glosario de Términos Anexo 2, para su definición.

La validación examina las características de desempeño de un método para identificar y establecer cualquier limitación que pueda esperarse del método cuando se aplique a un tipo específico de muestras[8].

Los parámetros recomendados para la validación de un método de ensayo que incluye mediciones por CG y CLAR son:

1. Recuperación
2. Sensibilidad
3. Selectividad
4. Robustez
5. Límite de detección
6. Límite de cuantificación
7. Intervalo lineal y de trabajo
8. Reproducibilidad
9. Repetibilidad
10. Sesgo (En algunos casos evaluado a partir de la recuperación)
11. Incertidumbre (de acuerdo al punto 7 de esta guía)

Para el caso de los métodos incluidos en esta Guía, los parámetros para realizar una validación parcial son los siguientes:

1. Recuperación
2. Límite de detección
3. Límite de cuantificación
4. Intervalo lineal y de trabajo
5. Reproducibilidad (medición durante al menos tres días)
6. Repetibilidad
7. Sesgo (En algunos casos evaluado a partir de la recuperación)
8. Incertidumbre (de acuerdo al punto 7 de esta guía)

Para el caso de las acreditaciones iniciales, renovaciones, ampliaciones o actualizaciones de métodos de ensayo en la NMX-EC-17025-IMNC-2000[2], el laboratorio deberá iniciar su proceso de estimación de incertidumbre en la validación parcial del método y tener un plan de implantación de acuerdo al capítulo 4 inciso 4.2.3 de las Políticas Referentes a la Trazabilidad e incertidumbre de mediciones de la ema, para cuantificar todos aquellos componentes de incertidumbre que contribuyan significativamente a la incertidumbre final de la medición. Esto último debe ser realizado según el punto 7 de esta guía.

Nota. En el caso descrito en la sección 7 de incertidumbre inciso b se asume que el sesgo asociado al método de medición es cero.

En la tabla 8 se resumen los requisitos que el evaluador deberá solicitar respecto a la validación de los métodos de ensayo a acreditar:

Tabla 8 Requisitos de la Validación

SITUACIÓN	GRADO DE VALIDACIÓN O REVALIDACIÓN REQUERIDA
Desarrollo de un método para un problema en particular	Completo
Existe un método evaluado para aplicarlo en un problema en particular	Completo
Un método establecido, realizar una revisión para incorporar innovaciones	Parcial o completo
Un método establecido, extenderlo o adaptarlo a un problema nuevo	Parcial o completo
Cuando el control de calidad indica que un método establecido cambia con el tiempo	Parcial o completo
Establecer un método en un laboratorio diferente	Parcial
Establecer un método con diferente instrumentación	Parcial
Establecer un método con diferente operador	Parcial

El evaluador debe solicitar al laboratorio la validación de todos los métodos (ya sea parcial o completa), que son empleados en estas técnicas de medición, aún cuando estos sean normalizados.

Para el caso de evidencia de una Validación Parcial:

- ? En el caso de realizar una validación parcial, el evaluador deberá solicitar al laboratorio la documentación analítica y los registros que la sustenten.

- ? Para el caso donde se midan concentraciones cercanas al límite de detección se deben solicitar todos los parámetros listados para validación parcial.

Nota: En el caso donde no se mida a nivel de trazas el límite de cuantificación y el límite de detección no son requisitos.

Para todos los casos se deberá referir al Capítulo 7 de esta Guía, para la estimación de incertidumbre.

9. BUENAS PRÁCTICAS DE LABORATORIO

El evaluador debe solicitar que las Buenas Prácticas de Laboratorio que sigue en su operación el laboratorio se encuentren documentadas, las cuales deben tenerlas referidas y aplicadas dentro de su sistema de calidad (ver Anexo 6)

Una referencia útil es la publicación técnica de “Manual de Buenas Prácticas de Laboratorio” del CENAM [5].

Otra referencia a considerar es la publicación técnica de “Buenas Prácticas de Laboratorio en Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución” del CENAM [9].

10. BIBLIOGRAFÍA

- [1] NMX-Z-055:1996 IMNC Metrología – Vocabulario de términos fundamentales y generales, equivalente al documento International Vocabulary of Basic and General Terms in Metrology, BIPM, IEC, IFCC, ISO, IUPAC, IUPAP, OIML, 1993.
- [2] NMX-EC-17025-IMNC-2000 (ISO/IEC 17025:1999) Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración.
- [3] NOM-008-SCFI 2002 Sistema General de Unidades de Medida.
- [4] Eurachem-Citac “Guide Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement” 2nd. Edition, 2000.
- [5] Manual de Buenas Prácticas de Laboratorio, CENAM, CNM-MRD-PT008, 2nd. Edición, 5ª impresión, septiembre 2002.

-
- [6] PROY NMX CC 10012 IMNC 2003 (ISO 10012-2002) “Sistemas de Gestión de Mediciones, -Requisitos para Procesos de Medición y Equipos de Medición”
 - [7] Calificación de Calificación de Equipo de Instrumentos Analíticos, DI-2-PTC-620-RAT-001-2004, CENAM, abril del 2004.
 - [8] Métodos analíticos adecuados a su propósito. Guía de laboratorio para validación de métodos y tópicos relacionados. CNM-MRD-PT-030, CENAM, 1998.
 - [9] CENAM, “Buenas Prácticas de Laboratorio en Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución”, febrero 1998.

11. ANEXOS

ANEXO 1 TABLA DE TRAZABILIDAD E INCERTIDUMBRE DE CG

No. (1)	NOMBRE DE LA PRUEBA (2)	SUBCOMITÉ (3)	MATRIZ (4)	MENSURANDO			REFERENCIA		TÉCNICA DE MEDICIÓN - TÉCNICA ANALÍTICA (10)
				ANALITO, COMPUESTO Ó PARÁMETRO (5)	MAGNITUD (6)	UNIDADES (7)	NORMA (8)	DOCUMENTO (9)	
1	Medición de hexaclorobenceno en suelo	Ambiente Laboral, Residuos y Fuentes Fijas	suelo	hexaclorobenceno	concentración de masa	mg/L		Método EPA 8270C	Cromatografía de gases
				Sólidos Totales	masa del estándar interno en la muestra	g			gravimetría
					masa de la disolución de estándar interno	g			gravimetría
					Masa de la muestra	g			gravimetría

- (1) Número consecutivo
- (2) Nombre de la prueba
- (3) Nombre del subcomité
- (4) Especificar la matriz en la cual se encuentra el analito o compuesto. Por ejemplo: Leche, suelo, agua, aceite, cerámica, etc.
- (5) Nombre del analito o compuesto.
- (6) Indicar en las filas: el nombre de la magnitud de interés, nombre de aquellas magnitudes que son medidas para determinar el valor del mensurando, nombre de aquellas magnitudes de influencia que participan en la prueba. Usar tantas filas como sea necesario.
- (7) Unidades correspondientes al valor del mensurando, a aquellas magnitudes que son medidas para determinar el valor del mensurando, a aquellas magnitudes de influencia que participan en la prueba.
- (8) Norma(s) en la que se basa la medición de la magnitud correspondiente.
- (9) Nombre del (los) documento(s) (procedimiento interno, método de referencia nacional o internacional), en el que se basa la medición de la magnitud correspondiente.

Nombre de la técnica de medición o técnica analítica utilizada para realizar la medición de la magnitud correspondiente

SISTEMA DE MEDICIÓN	INSTRUMENTO Y/O MATERIAL VOLUMÉTRICO CALIBRADO	VALIDACIÓN DE MÉTODO DE MEDICIÓN	CEIMA y/o CONFIRMACIÓN METROLÓGICA	TRAZABILIDAD			ESTIMACIÓN DE LA INCERTIDUMBRE	OBSERVACIONES
				INSTRUMENTO	MÉTODO DE REFERENCIA	MRCs o Patrón de Referencia		
Cromatografo Gases con Detector selectivo de masa (CG/EM),		Si	CEIMA			X	Si	La medición se lleva a cabo con curva de calibración y con un estándar interno
	Balanza analítica		CM					
	Balanza analítica		CM					
	Balanza analítica		CM					

ANEXO 2 GLOSARIO DE TÉRMINOS

En las reuniones y talleres realizadas en las instalaciones del CENAM para la elaboración de las Guías Técnicas de Trazabilidad e Incertidumbre, entre los integrantes de los Grupos de Trabajo del CENAM y la ema, se acordó incluir los criterios de interpretación a las definiciones que se utilizarían en las Guías Técnicas con el objeto de tener más claridad y uniformizar los conceptos entre los evaluadores que las aplicarán.

Debido a la importancia de poder distinguir adecuadamente las relaciones y diferencias entre los conceptos de métodos de medición, métodos de ensayo (prueba), procedimientos de medición, procedimiento de ensayo (prueba), procedimiento interno, protocolo, entre otros, se elaboró la siguiente tabla de interpretación:

DOCUMENTO	DEFINICIÓN	¿Qué solicita el evaluador?
Ensayo (Prueba)	Operación técnica que consiste en la determinación de una o más características o desempeño de un producto, material, equipo, organismo, fenómeno físico, proceso o servicio dado, de acuerdo a un procedimiento especificado.	Este no se localiza en ningún documento, el evaluador no lo debe solicitar.
Método de ensayo (prueba)	Procedimiento técnico específico para desarrollar un ensayo (prueba).	El evaluador lo debe solicitar como documento de referencia, (generalmente una norma, indicado en el alcance de la acreditación) para compararlo con el procedimiento interno.
Método de medición	Secuencia lógica de operaciones, <u>descrita genéricamente</u> , usada en la realización de mediciones	Se encuentra descrito generalmente dentro del documento de referencia. El evaluador no lo debe solicitar.
Procedimiento de medición	Conjunto de operaciones, <u>descritas específicamente</u> , usadas en la realización de <u>mediciones particulares</u> de acuerdo a un método dado.	Se encuentra descrito específicamente dentro del procedimiento interno.
Procedimiento Interno, PNT, Instructivo Técnico, Protocolo interno, entre otros.	Transcripción específica para las condiciones del laboratorio de lo establecido en el método de ensayo (prueba).	Este documento lo debe solicitar el evaluador para compararlo con el método de ensayo (prueba) y evaluarlo en sitio.

AJUSTE: Operación de llevar un instrumento de medición a un estado de funcionamiento adecuado para su uso.

[VIM 4.30, NM X Z 055 IMNC 1996]

CADENA DE MEDICIÓN: Serie de elementos de un instrumento de medición o de un sistema de medición, que constituye la trayectoria desde la entrada hasta la salida de la señal de medición.

[VIM 4.4, NM X Z 055 IMNC 1996]

EJEMPLO: en una medición de espectrometría de absorción atómica incluye el nebulizador, el quemador, el control de gases de la flama, el monocromador, el fotomultiplicador y el voltímetro o el transductor de la salida de la señal para la computadora personal.

CALIBRACIÓN: Conjunto de operaciones que establecen en condiciones especificadas, la relación entre los valores de las magnitudes indicadas por un instrumento de medición o un sistema de medición o los valores representados por una medida materializada o material de referencia, y los valores correspondientes de la magnitud realizada por los patrones.

[VIM 6.11, NM X Z 055 IMNC 1996]

CRITERIO: El término calibración se utilizará en dos aplicaciones diferentes: En lo que respecta a la calibración en las mediciones físicas, la calibración de los instrumentos de medición deberá ser realizada por Laboratorios de Calibración Acreditados. En lo que respecta a la calibración en las mediciones analíticas, la realizarán los Laboratorios de Ensayo empleando Materiales de Referencia Certificados.

En las mediciones químicas se establece la trazabilidad a cantidad de sustancia a través de la curva de calibración, en la cuál se establece la relación entre la señal del instrumento de medición y la concentración del mensurando por medio de los Materiales de los Referencia Certificados.

Respecto a la calibración del material volumétrico, termómetros u otros instrumentos de medición (manómetros, higrómetros, etc.), se deberá exigir su calibración, realizada por Laboratorios de Calibración Acreditados, sólo si su influencia en la incertidumbre de la medición es significativa, lo cuál deberá demostrarse documentalmente. En estos casos, el laboratorio debe tener evidencias de la verificación periódica de la calibración de sus instrumentos o materiales, de acuerdo a su uso.

Los casos en los que no se requiere la calibración de material volumétrico, termómetros u otros instrumentos, por no ser ésta significativa en la incertidumbre de la medición, aún así, el laboratorio deberá mostrar evidencias de la verificación, según las especificaciones del fabricante, antes de su uso y periódicamente, de acuerdo a su uso.

NOTA: Debido a que la calibración de instrumentos de mediciones físicas no incluyen operaciones de ajuste, el laboratorio debe tener establecidos criterios de aceptación y rechazo documentados para saber si los instrumentos están dentro de las características metrológicas originales y que son adecuadas para cumplir con los requisitos metrológicos del uso propuesto. En el caso de mediciones químicas lo anterior no aplica, ya que la mayoría de los instrumentos de medición química requieren una optimización de la señal de respuesta y esto se logra efectuando diferentes ajustes, dígase posición del nebulizador, flujos de gas, alineación de lámparas, temperatura de flama, selección de eluyentes, etc., siguiendo las recomendaciones correspondientes a cada técnica de acuerdo al manual del instrumento.

CALIFICACIÓN DE EQUIPOS E INSTRUMENTOS DE MEDICIÓN ANALÍTICA (CEIMA): Proceso general que asegura que un instrumento es apropiado para el uso propuesto y que su desempeño está de acuerdo a las especificaciones establecidas por el usuario y el proveedor.

[Calificación de Equipo de Instrumentos Analíticos, DI-2-PTC-620-RAT-001-2004, CENAM, abril del 2004]

NOTA: La CEIMA se compone de los siguientes procesos, la Calificación de diseño (CD), Calificación de instalación (CI), Calificación de operación (CO) y Calificación de desempeño (C de D).

CALIFICACIÓN DEL DISEÑO (CD): Cubre todos los procedimientos previos a la instalación del sistema en el ambiente seleccionado. La CD define las especificaciones operacionales y funcionales del instrumento y detalla las decisiones deliberadas en la selección del proveedor.

CALIFICACIÓN DE INSTALACIÓN (CI): Cubre todos los procedimientos relacionados a la instalación del instrumento en el ambiente seleccionado. La CI establece que el instrumento se recibió como se diseñó y se especificó, que este instrumento fue adecuadamente instalado en el ambiente seleccionado, y que este ambiente es apropiado para la operación y uso del instrumento.

CALIFICACIÓN DE OPERACIÓN (CO): Es el proceso en donde se demuestra que un instrumento funcionará de acuerdo a su especificación operacional en el ambiente seleccionado.

CALIFICACIÓN DE DESEMPEÑO (C DE D): Es definida como el proceso en donde se demuestra que un instrumento se desempeña consistentemente de acuerdo a una especificación apropiada para su uso rutinario.

CARACTERÍSTICA METROLÓGICA: Característica identificable que puede influir en los resultados de la medición.

NOTA 1: Los equipos de medición generalmente tienen varias características metrológicas.

NOTA 2: Las características metrológicas pueden ser el objeto de la calibración.

CRITERIO: Este término se refiere a resultados de calibración.

Ref [6]

CONFIRMACIÓN METROLÓGICA: Conjunto de operaciones requeridas para asegurarse de que el equipo de medición es conforme a los requisitos correspondientes a su uso previsto.

NOTA 1: La confirmación metrológica generalmente incluye la calibración y verificación, cualquier ajuste o reparación necesario, y la subsiguiente recalibración,

la comparación con los requisitos metroológicos del uso previsto del equipo, así como cualquier sellado y etiquetado requerido.

NOTA 2: La confirmación metroológica no se logra hasta que se haya demostrado y documentado la adecuación del equipo de medición para el uso previsto.

NOTA 3: Los requisitos para el uso previsto incluyen consideraciones tales como alcance, resolución y error máximo permitido.

NOTA 4: Los requisitos metroológicos normalmente difieren de los requisitos para el producto y no están especificados en éstos.

CRITERIO: El proceso de confirmación metroológica se debe aplicar solo a los instrumentos que se utilizan en mediciones físicas tales como b balanzas analíticas, termómetros, manómetros, hidrómetros, picnómetros, sonómetros, luxómetros, cronómetros y flujómetros, entre otros.

Ref [6]

ENSAYO (PRUEBA): Operación técnica que consiste en la determinación de una o más características o desempeño de un producto, material, equipo, organismo, fenómeno físico, proceso o servicio dado.

[Guía ISO/IEC 2, NMX-Z-109-IMNC-1996]

CRITERIO: Las Pruebas (ensayos) pueden ser cualitativas o cuantitativas, pueden también ser la determinación de las características de desempeño de un proceso o servicio, sin embargo, en lo relativo a las pruebas analíticas cuantitativas, la prueba (ensayo) incluye siempre un Método de Medición y por lo mismo, los conceptos de Trazabilidad e Incertidumbre se aplican a este tipo de métodos de prueba (ensayos).

INCERTIDUMBRE DE MEDICIÓN: Parámetro asociado al resultado de una medición que caracteriza la dispersión de los valores que podrían razonablemente ser atribuidos al mensurando.

INSTRUMENTO DE MEDICIÓN: Dispositivo destinado a ser utilizado para hacer mediciones, solo o asociado a uno o varios dispositivos anexos.

[VIM 4.1, NMX Z 055 IMNC 1996]

INTERVALO DE TRABAJO: En análisis cuantitativo, el intervalo de trabajo es obtenido a través de la medición de muestras con diferente concentración del analito, y seleccionando el intervalo de concentración que proporciona un nivel de incertidumbre aceptable.

NOTA 1: Dentro del intervalo de trabajo puede existir un intervalo de respuesta lineal. Dentro de éste intervalo lineal de respuesta habrá una relación lineal con la concentración del analito.

NOTA 2: El intervalo de trabajo es generalmente más amplio que el intervalo lineal y puede establecerse durante la evaluación del intervalo de trabajo.

NOTA 3: El intervalo de trabajo se refiere al intervalo de valores de concentración en las disoluciones que se miden realmente y no a la concentración en la muestra original.

[CITAC/EURACHEM ‘Guide to Quality in Analytical Chemistry’; EURACHEM ‘The Fitness for Purpose of Analytical Methods’]

LÍMITE DE DETECCIÓN: La menor concentración del analito en una muestra que puede detectarse, pero no necesariamente cuantificarse bajo las condiciones establecidas de la prueba.

[NATA Tech Note #13, EURACHEM “The fitness for Purpose of Analytical Methods” 1998]

LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN: Es la concentración más baja del analito que puede determinarse con un nivel de incertidumbre aceptable.

NOTA: Debe establecerse empleando materiales de referencia o muestras apropiadas.

Este límite, generalmente es el punto más bajo de la curva de calibración (excluyendo el blanco). No debe ser determinado extrapolando la curva de calibración.

Algunas convenciones toman el límite de cuantificación como 5, 6 o 10 veces la desviación estándar de la medición del blanco:

$$x_L = x_{bl} + k s_{bl}$$

Donde x_{bl} es la media de las mediciones del blanco y s_{bl} la desviación estándar de las mediciones del blanco, y k es un factor numérico elegido de acuerdo al nivel de confianza deseado, siendo $k = 5, 6$ ó 10 .

[CITAC/EURACHEM ‘Guide to Quality in Analytical Chemistry’]

LINEALIDAD: Define la habilidad del método para obtener resultados proporcionales a la concentración del analito en la prueba.

Nota: Se infiere que el intervalo lineal es el intervalo de concentraciones del analito sobre las cuales el método proporciona resultados de pruebas proporcionales a la concentración del analito.

[AOAC – PVMC; EURACHEM “ The fitness for Purpose of Analytical Methods”
1998]

MAGNITUD: Atributo de un fenómeno, cuerpo o sustancia que puede ser diferenciado cualitativamente y determinado cuantitativamente.

[VIM 1.1, NMX Z-055 IMNC 1996]

MATERIAL DE REFERENCIA: Material o sustancia en el cuál uno o más valores de sus propiedades son suficientemente homogéneos y bien definidos, para ser utilizadas para la calibración de aparatos, la evaluación de un método de medición o para asignar valores a los materiales.

[VIM 6.13, NMX Z-055 IMNC 1996]

CRITERIO: cuando se requiere demostrar trazabilidad, la calibración de instrumentos empleados en las mediciones físicas deberá ser realizado por Laboratorios de Calibración Acreditados. En lo que respecta a la calibración en las mediciones analíticas, la realizarán los Laboratorios de Ensayo empleando Materiales de Referencia Certificados.

MATERIAL DE REFERENCIA CERTIFICADO: Material de referencia acompañado de un certificado, en el cuál uno o más valores de sus propiedades están certificados por un procedimiento que establece trazabilidad a una realización exacta de la unidad en la cuál se expresan los valores de la propiedad y en la que cada valor certificado se acompaña de una incertidumbre con un nivel declarado de confianza.

[VIM 6.14, NMX Z-055 IMNC 1996]

CRITERIO: Existen 2 tipos de MRC, los que se utilizan para elaborar curvas de calibración y dar trazabilidad a las mediciones, los cuales son regularmente en matrices simples y de alta concentración y los MRC para control de calidad los cuales son matrices reales (suelo, agua de mar, sangre humana, hígado de pato, etc.) a la cual se les ha agregado o contienen una(s) sustancia(s) químicas en concentraciones en las que se encuentran en las muestras reales y que regularmente se utilizan para control de calidad o pruebas de aptitud, los valores, incertidumbres, homogeneidad y estabilidad de ambos deben ser determinadas por un laboratorio primario o nacional o un organismo competente aprobado por ellos. Para llevar a cabo los programas de control de calidad el uso principal de los MRC de Control de Calidad es para asegurar

la confiabilidad de sus mediciones con cierta periodicidad, y rutinariamente se pueden utilizar MR para llevar su control estadístico.

Para demostrar trazabilidad en una medición química el laboratorio requiere utilizar MRC para la elaboración de curvas de calibración (o en la ejecución de cualquier otro método de calibración química).

CRITERIO: El certificado de un MRC debe especificar claramente el valor certificado, la incertidumbre correspondiente con un nivel de confianza declarado. El método utilizado para la determinación del valor certificado, analito al que corresponde el valor certificado, matriz, recomendaciones de uso, limitaciones, fecha de caducidad, entre otros

MENSURANDO: Magnitud particular sujeta a medición.

[VIM 26, NMX Z-055 IMNC 1996; ISO 34]

CRITERIO: Para mayor claridad en mediciones analítica, la identificación del mensurando debe ser acompañada por la matriz, el método de prueba y la técnica de medición con que se determina, ya que en muchos casos existen resultados de un mismo mensurando que son diferentes y dependientes del método analítico, por ejemplo calcio soluble en agua residual por la NMX AA 051 SEMARNAT 2001 (AAE) es diferente a calcio soluble en agua potable por volumetría.

MEDICIÓN: Conjunto de operaciones que tienen por objetivo determinar el valor de una magnitud.

[VIM 2.1, NMX Z-055 IMNC 1996]

MÉTODO DE ENSAYO (PRUEBA): Procedimiento técnico específico para desarrollar una prueba (ensayo).

NOTA: Los ensayos (pruebas) pueden ser cualitativos, cuantitativos y la determinación de las características de desempeño de un proceso o servicio.

Los ensayos (pruebas) cuantitativos son métodos de medición (ver definición); algunos de ellos están incluidos dentro de los métodos de ensayo (prueba).

Los ensayos (pruebas) cualitativos no incluyen cuantificaciones de mensurandos, por lo que en éstos no se aplican los conceptos de trazabilidad e incertidumbre.

MÉTODO DE MEDICIÓN: Secuencia lógica de operaciones, descrita genéricamente, usada en la realización de mediciones.

CRITERIO: Para los propósitos de esta Guía, los métodos de prueba en química analítica cuantitativa (ver definición), siempre incluyen un método de medición.

Para los fines de acreditación, el nombre de la identificación del método de medición es el mismo que el empleado para el método de prueba que se quiere acreditar.

[VIM, NMX Z-055 IMNC 1996]

METODO PRIMARIO: Por definición un **método primario** de medición es un método que tiene la más alta calidad metrológica, cuya operación se describe y se entiende completamente, para el cual se tiene una declaración completa de incertidumbre en términos de unidades del SI, y cuyos resultados son, por lo tanto, aceptados sin referencia a un patrón de la misma magnitud que es medida.

[Metrología, 2001, **38**, 289-296]

MÉTODO DE REFERENCIA: es un método ampliamente investigado, que describe clara y exactamente las condiciones y procedimientos necesarios, para la medición de uno o más valores de la propiedad, que han demostrado tener exactitud y precisión de acuerdo con su propósito de uso y que puede, por lo tanto, ser usado para evaluar la exactitud de otros métodos por la misma medición, permitiendo en particular la caracterización de un MR.

[3.10 Guía ISO 30]

CRITERIO: En la ema este término se ha aplicado a los métodos que se acreditan. Desde el punto de vista metrológico y en esta guía el significado es el establecido en esta definición.

PATRÓN: Medida materializada, instrumento de medición, material de referencia o sistema de medición destinado a definir, realizar, conservar o reproducir una unidad o uno o más valores de una magnitud para servir de referencia.

[VIM 6.1, NMX Z-055 IMNC 1996]

CRITERIO: Para los propósitos de esta guía y en lo que se refiere a mediciones químicas (mediciones de cantidad de sustancia), los patrones de medición son Materiales de Referencia Certificados (MRC).

PRINCIPIO DE MEDICIÓN: Es la base científica de una medición, por ejemplo, el efecto termoelectrónico en la medición de temperatura, el efecto Doppler en la medición de velocidad, el efecto Raman en la medición del número de onda de vibraciones moleculares.

[VIM 2.3, NMX Z-055 IMNC 1996]

NOTA: En mediciones químicas se utiliza el concepto de “Técnica analítica” para designar el principio químico o físico en que se fundamenta una medición analítica. Este principio, solo o combinado con otros, se materializa generalmente mediante un instrumento (ejemplos: espectrometría de masas, cromatografía de gases, espectrofotometría de absorción atómica)

PROCEDIMIENTO DE MEDICIÓN: Conjunto de operaciones, descritas específicamente, usadas en la realización de mediciones particulares de acuerdo a un método dado.

[VIM 2.5, NMX Z-055 IMNC 1996]

***CRITERIO:** Estas operaciones están descritas en: procedimientos o instructivos internos del laboratorio. Éstos deben estar basados en el Método de Medición que los laboratorios de ensayo desean acreditar.*

RECUPERACIÓN (RECOBRO): Proporción de la cantidad de analito, presente en la porción de la muestra o adicionado a esta, que es cuantificada por el método de ensayo.

[HARMONISED GUIDELINES FOR THE USE OF RECOVERY INFORMATION IN ANALYTICAL MEASUREMENT 1999]

***CRITERIO:** normalmente se utiliza para evaluar la recuperación en porcentaje (% de recuperación) del analito presente o agregado a una muestra de control de calidad, evalúa la eficiencia de extracción, proceso de preparación o interferencias que pueden existir al aplicar el método de ensayo.*

REPETIBILIDAD (DE LOS RESULTADOS DE MEDICIONES): Proximidad de la concordancia entre los resultados de las mediciones sucesivas del mismo mensurando, con las mediciones realizadas con la aplicación de la totalidad de las siguientes condiciones:

- el mismo procedimiento de medición;
- el mismo observador;
- el mismo instrumento de medición utilizado en las mismas condiciones;
- el mismo lugar;
- la repetición dentro de un período corto de tiempo.
-

[VIM 3.6, NMX Z 055 IMNC 1996]

NOTAS

- 1 A éstas les llama condiciones de repetibilidad.
- 2 La repetibilidad se puede expresar cuantitativamente con la ayuda de las características de la dispersión de los resultados.

REPRODUCIBILIDAD (DE LOS RESULTADOS DE MEDICIONES): Proximidad de la concordancia entre los resultados de las mediciones del mismo mensurando, con las mediciones realizadas haciendo variar las condiciones de medición.

[VIM 3.7, NMX Z 055 IMNC 1996]

NOTAS

- 1 Para que una expresión de la reproducibilidad sea válida, es necesario especificar las condiciones que se hacen variar.
- 2 Las condiciones que se hacen variar pueden ser:
 - el principio de medición;
 - el método de medición;
 - el observador;
 - el instrumento de medición;
 - el patrón de referencia;
 - el lugar
 - las condiciones de uso;
 - el tiempo.
- 3 La repetibilidad puede ser expresada cuantitativamente con la ayuda de las características de la dispersión de los resultados.
- 4 Los resultados considerados aquí son, habitualmente, los resultados corregidos.

REQUISITOS METROLÓGICOS DEL CLIENTE: Los requisitos metrológicos del cliente son aquellos requisitos de medición especificados por el cliente como pertinentes para el proceso de producción del propio cliente.

[NMX-CC-10012-2003]

NOTA 1: El cliente puede ser interno o externo a la organización (apartado 3.3.5 de la Norma ISO 9000:2000).

***CRITERIO:** Este término se refiere a los requisitos explícitos e implícitos definidos en el método de ensayo con respecto al instrumento de medición, como la resolución de un termómetro, la capacidad y sensibilidad de una balanza analítica.*

SISTEMA DE MEDICIÓN: Conjunto completo de instrumentos de medición y otro equipo, acoplados para realizar mediciones específicas.

[VIM 4.5, NMX Z 055 IMNC 1996]

CRITERIO: *Se refiere a todos los equipos e instrumentos de medición, equipo de laboratorio, materiales y reactivos que intervienen en la realización de una medición, por ejemplo:*

Sistema de medición para la determinación de plomo en agua potable consta de:

-  Espectrómetro de absorción atómica
-  Pipetas volumétricas
-  Matraz aforado

Sistema de Medición para la determinación de cadmio en cerámica consta de:

-  Espectrómetro de absorción atómica
-  Balanza
-  Pipetas volumétricas
-  Matraz aforado
-  Termómetro
-  Solución de ácido acético al 4%

ROBUSTEZ: La robustez de un procedimiento analítico, es una medida de su capacidad de permanecer inalterado por pequeñas, pero deliberadas, variaciones en los parámetros del método y proporciona una indicación de su confiabilidad durante su uso normal.

[ICH Q2A, CPMP/ICH/381/95]

SELECTIVIDAD (O ESPECIFICIDAD): La capacidad de un método para determinar exactamente y específicamente el analito de interés en la presencia de otros componentes en la matriz bajo condiciones de prueba establecidas.

[NATA Tech Note #13]

SENSIBILIDAD: El cambio en la respuesta de un instrumento de medición dividido por el correspondiente cambio del estímulo (señal de entrada).

[IUPAC 'Orange' Book]

NOTA: El estímulo puede ser por ejemplo: la cantidad del mensurando presente. La sensibilidad puede depender del valor de estímulo. Aunque esta definición se aplica claramente al instrumento de medición, también puede aplicarse al método analítico en conjunto, tomando en cuenta otros factores como el efecto de los pasos para una concentración.

SESGO: La diferencia entre los resultados de prueba esperados y el valor de referencia aceptado.

[ISO 3534-1]

NOTA: El sesgo es el error sistemático total en contraste con el error aleatorio. Puede existir uno o más componentes del error sistemático que contribuyen al sesgo. Una diferencia sistemática mayor con respecto al valor de referencia aceptado se refleja por un valor de sesgo más grande.'

TITULANTE: Solución que contiene el agente activo con el cual se lleva a cabo la reacción de titulación.

[IUPAC Compendium of Chemical Terminology 2nd Edition (1997)]

CRITERIO: el agente activo se refiere a la sustancia química de concentración conocida, que reacciona con el analito bajo una estequiometría determinada, se utiliza para cuantificar el analito, normalmente los titulantes son parte de la cadena de mediciones para proporcionar la trazabilidad del valor del mensurado.

TRAZABILIDAD: Propiedad del resultado de una medición o del valor de un patrón, tal que ésta pueda ser relacionada con referencias determinadas, generalmente patrones nacionales o internacionales, por medio de una cadena ininterrumpida de comparaciones teniendo todas incertidumbres determinadas

[VIM 4.5, NM X Z 055 IMNC 1996]

NOTAS

- i. El resultado de una medición o el valor de un patrón son los que están relacionados con referencias determinadas
- ii. Este concepto se expresa frecuentemente por el adjetivo trazable.
- iii. La cadena ininterrumpida de comparaciones es llamada cadena de trazabilidad.

VALIDACIÓN: Es la confirmación por examen y la provisión de evidencia objetiva de que se cumplen los requisitos particulares para un uso específico propuesto.

[NM X EC 17025 IMNC 2000]

VALIDACIÓN DE MÉTODO: Es el proceso de establecer las características de desempeño y limitaciones de un método de medición y la identificación de aquellas influencias que pueden modificar estas características y a qué grado lo afectan.

NOTA: ¿Qué analitos puede determinar el método?, ¿En qué matrices, en la presencia de qué interferencias? Dentro de estas condiciones que niveles de incertidumbre pueden alcanzarse.

[EURACHEM "The fitness for Purpose of Analytical Methods" 1998]

VALOR DE BLANCO (EN MEDICIÓN): Una lectura o resultado originado por la matriz, reactivos y cualquier sesgo residual, en un proceso o instrumento de medición que contribuye al valor obtenido de una magnitud en el procedimiento de medición analítica.

[IUPAC Compendium of Chemical Terminology 2nd Edition (1997)]

VERIFICACIÓN: Existen varias definiciones que se aplican a éste término:

La Ley Federal sobre Metrología y Normalización tiene la siguiente definición: La constatación ocular o comprobación mediante muestreo y análisis de laboratorio acreditado, del cumplimiento de las normas. Asimismo indica en su glosario que las Unidades de verificación son las personas físicas o morales que hayan sido acreditadas para realizar actos de verificación por la Secretaría en coordinación con las dependencias competentes.

La Política de Trazabilidad de la ema indica en el inciso 3.2.4 que los laboratorios de calibración y/o ensayo acreditados por **ema** no pueden realizar actividades de unidades de verificación si no cuentan con la acreditación y aprobación correspondiente.

La Guía ISO 8402 define verificación como: Confirmación por examen y la provisión de evidencia objetiva de que se cumplen los requisitos especificados.

En el contexto de la Confirmación Metrológica se indica que los laboratorios de ensayo y calibración deben realizar el proceso de “Verificación Metrológica”.

CRITERIO: En el contexto de la confirmación metrológica, la confirmación por examen consiste en la comparación directa entre las características metrológicas del equipo de medición y los requisitos metrológicos del cliente, esto se denomina verificación. Ver Guías ISO 9000 e ISO 10012.

Los laboratorios de ensayo no realizan actividades de verificación en el sentido descrito en la LFMN (las responsables son las Unidades de Verificación), realizan actividades de comprobación que son comúnmente denominadas como de verificación en las NMX EC 17025 IMNC 2000, NMX CC 10012 IMNC 2004 y ISO 8402.

ANEXO 3 EJEMPLO DEL PROCESO DE CONFIRMACIÓN METROLÓGICA PARA UNA BALANZA ANALÍTICA

Requisitos metrológicos del cliente (RMC)

El proceso de confirmación metrológica inicia con la identificación de requisitos metrológicos del cliente (**RMC**) (A), por ejemplo: el cliente requiere hacer mediciones de masa en un intervalo de trabajo de 30 - 180 g; por lo tanto, la balanza analítica debe ser capaz de medir en el intervalo de 20 – 200 g.

Adicionalmente a esto, requiere medir con una con una resolución de 0,01mg, una repetibilidad de 0,03 mg y una incertidumbre de 0,04 mg. También requiere que los RMC sean consistentes en intervalos de 20 en 20 g.

Tabla 1

RMC	
Intervalo de trabajo	(20 – 200) g
Incertidumbre	$\leq 0,000\ 40\text{ g}$
Repetibilidad	$\leq 0,000\ 03\text{ g}$
Resolución	0,000 01 g

Especificaciones del proveedor.

La persona encargada de hacer la compra de la balanza analítica encuentra que en el mercado puede adquirir una balanza con las siguientes especificaciones del equipo: alcance nominal de 210 g con resolución de 0,01mg, una repetibilidad $\leq 0,025\text{ mg}$, linealidad $\leq 0,1\text{ mg}$.

Tabla 2

Especificaciones	
Intervalo de trabajo	(0 – 210)g
Incertidumbre	$< 0,000\ 1\text{ g}$
Repetibilidad	$< 0,000\ 025\text{ g}$
Resolución	0,000 01 g

Características metrológicas del equipo de medición (CMEM)

El equipo adquirido es enviado a calibración solicitando que la **calibración** (B) sea realizada en el intervalo de trabajo de 20 a 200 g y en intervalos de 20 g.

Producto de la calibración se obtienen las características metrológicas del equipo de medición (**CMEM**). A continuación se muestra el ejemplo de lo que se emite en un certificado o informe de calibración para una balanza analítica (C).

Prueba de carga excéntrica:

Variación máxima de lectura obtenida en la prueba de carga excéntrica.

Resolución	Carga	Variación máxima
0,02 mg	100 g	0,16 mg

Pruebas de repetibilidad:

Resolución	Carga	Repetibilidad
0,01 mg	100g	0,000 01 g
0,01 mg	200g	0,000 04 g

Prueba de linealidad: (intervalo de 0 a 200 g)

Tabla 3

Carga nominal (g)	Corrección (g)	Incertidumbre (g)
20	- 0,000 06	0,000 08
40	-0,000 12	0,000 09
60	-0,000 20	0,000 09
80	-0,000 25	0,000 11
100	-0,000 29	0,000 09
120	-0,000 32	0,000 11
140	-0,000 36	0,000 12
160	-0,000 37	0,000 12
180	-0,000 36	0,000 15
200	-0,000 34	0,000 12

Enseguida se procede a realizar la identificación del estado de la calibración (D)

Verificación metrológica

Una vez que se tienen los datos de la calibración, se realiza la verificación metrológica, la cual consiste en comparar las características metrológicas del equipo de medición, CMEM, y los requisitos metrológicos del cliente, RMC (E).

Ejemplo:

Tabla 4

	RMC	CMEM	Verificación
Intervalo de trabajo	(20 – 200) g	(20 – 200)g	Cumple

Incertidumbre	$\leq 0,000\ 40\ \text{g}$	Máximo 0,000 15 g	Cumple
Repetibilidad	$\leq 0,000\ 03\ \text{g}$	Máximo 0,000 04 g	No cumple
Resolución	0,000 01 g	0,000 01 g	Cumple

Derivado de la verificación metrológica anterior, se tiene que la repetibilidad no cumple los RMC, esto se documenta, se debe investigar si es posible realizar un ajuste a la balanza (G). Si es posible realizarlo se envía a ajuste (H), si no es posible se debe emitir un informe de verificación fallida (I) y se identifica para indicar el estado del equipo (J).

Una vez realizado el ajuste, la balanza es calibrada nuevamente (B) obteniéndose las siguientes CMEM:

Resultado de la Calibración (C)

Prueba de carga excéntrica:

Variación máxima de lectura obtenida en la prueba de carga excéntrica.

Resolución	Carga	Variación máxima
0,01 mg	100 g	0,000 03 g

Pruebas de repetibilidad:

Resolución	Carga	Repetibilidad
0,01 mg	100g	0,000 01 g
0,01 mg	200g	0,000 02 g

Prueba de linealidad: (intervalo de 0 a 200 g)

Tabla 5

Carga nominal (g)	Corrección (g)	Incertidumbre (g)
20	- 0,000 06	0,000 08
40	-0,000 12	0,000 09
60	-0,000 20	0,000 09
80	-0,000 25	0,000 11
100	-0,000 29	0,000 09
120	-0,000 32	0,000 11
140	-0,000 36	0,000 12
160	-0,000 37	0,000 12
180	-0,000 36	0,000 15
200	-0,000 34	0,000 12

Una vez obtenidos los datos de la calibración se realiza nuevamente la verificación metrológica.

Verificación metrológica

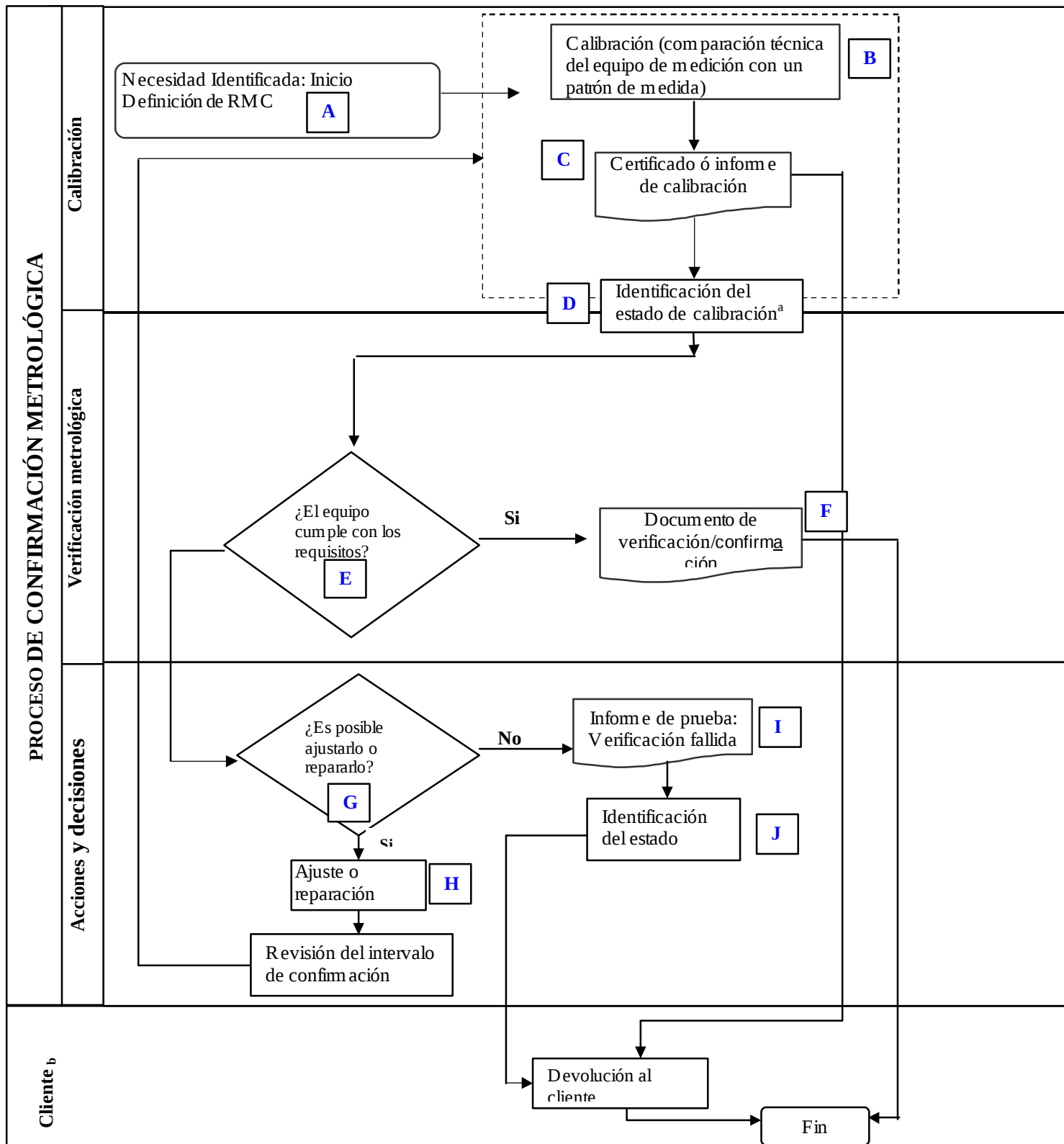
Se comparan las CMEM y los RMC (E).

Tabla 6

	RMC	CMEM	Verificación metrológica
Intervalo de trabajo	(20 – 200) g	(20 – 200)g	Cumple
Incertidumbre	$\leq 0,000\ 40\ \text{g}$	Máximo 0,000 15 g	Cumple
Repetibilidad	$\leq 0,000\ 03\ \text{g}$	Máxima 0,000 02 g	Cumple
Resolución	0,000 01 g	0,000 01 g	Cumple

Como resultado de la verificación metrológica, se concluye que las CMEM cumplen los RMC, se documenta la Confirmación Metrológica (F), se realiza la identificación del estado de calibración (D) y se concluye que la balanza puede ser utilizada para el propósito para el cual fue confirmada.

DIAGRAMA DEL PROCESO DE CONFIRMACIÓN METROLÓGICA



^a Para la identificación ver la sección 5.5.8 de la NM X-EC-17025-IMNC-2000.

^b Organización o persona que recibe un producto (por ejemplo: consumidor, cliente, usuario, distribuidor, beneficiario y comprador).

Nota: El cliente puede ser interno o externo a la organización (apartado 3.3.5 de la Norma ISO 9000:2000).

ANEXO 4 EJEMPLO PARA LA CALIFICACIÓN DE EQUIPOS DE INSTRUMENTOS DE MEDICIÓN ANALÍTICA (CEIMA)

4.1 Ejemplo para la Calificación de Cromatógrafo de Gases para la determinación de compuestos organoclorados

REQUISITO	CALIFICACIÓN DE DISEÑO CD	CALIFICACIÓN DE INSTALACION CI	CALIFICACIÓN OPERACIONAL CO	CALIFICACIÓN DE DESEMPEÑO C de D
Configuración del Instrumento de Medición (Módulos y sus características, Hardware, Software, Consumibles, ...)	X			
Especificaciones técnicas	X			
Condiciones Físicas y Ambientales Apropriadas		X		
Recepción completa de Configuración solicitada del Instrumento de Medición y documentos relacionados.		X		
Comprobación de Especificaciones del Instrumento de Medición. Alcances en función del detector y de los accesorios de introducción de muestras adquiridos.		X	X	
Caída de presión (psi)			X	
Exactitud de Flujo (mL/min)			X	
Ruido del detector			X	
Precisión (DER, Áreas)			X	X
Precisión (DER, t_R)			X	X
Respuesta del Detector (No. Cuentas)			X	X
Representación Estadística del Desempeño de la aplicación del Instrumento de Medición (Muestras de Control de Calidad)				X
Desempeño de Columna Analítica	X		X	X

Nota: Los requisitos incluidos se presentan de manera de ejemplo y no como únicas opciones.

4.1.1 Ejemplo de Calificación de Diseño (CD) para CG - μ DCE

Configuración del Instrumento de Medición (IM)	Especificación Funcional	Especificación Proveedor Seleccionado	Calificación de Diseño (CD)
Cromatógrafo de Gases	Cromatógrafo de gases con EPC, microprocesador teclado funcional, con pantalla alfanumérica	Cromatógrafo de gases (2 inyectores, teclado funcional con pantalla alfanumérica de 4 líneas de 20 caracteres cada una, programación del tiempo de corrida y activación de métodos con unicación LAN interconstruida, control de inyector automático protección de memoria por fallas de poder	Cumple (X) No cumple ()
	Control de Temperatura, en cinco zonas	Programación de temperatura en el horno de columnas en 6 rampas, control de calentamiento en 6 zonas adicionales al horno	Cumple (X) No cumple ()
	Operación a 120V, 60 Hz	Opera a 120V/60 Hz.	Cumple (X) No cumple ()
Inyector	Puerto de inyección empacado con EPC y purga de septum. Puerto de inyección capilar con Split/Splitless con EPC.	Puerto de inyección para columnas empacadas y capilares Split/Splitless con control neumático electrónico (EPC).	Cumple (X) No cumple ()
	Intervalo de 0-100 psi	Capacidad de programación de las funciones de flujo y/o presión de 0 a 100 psi.	Cumple (X) No cumple ()
		sistema de ahorro de gas de arrastre (Gas saver)	Cumple (X) No cumple ()
Detector	Detector de Captura de Electrones con make-up con límite de detección de Lindano al menos de 15 fg/s	Detector de captura de electrones propósito general con micro celda, con un límite de detección menor a 8 fg/s	Cumple (X) No cumple ()
	Intervalo de temperatura hasta 350 °C	Intervalo de temperatura hasta 400 °C,	Cumple (X) No cumple ()
		Control neumático electrónico	Cumple (X) No cumple ()
		Con velocidad de muestreo variable de 5 a 50 Hz	Cumple (X) No cumple ()
Muestreador Automático	Inyector y muestreador automático para 100 muestras	Muestreador/Inyector automático con capacidad de 100 muestras en viales de 2 mL y con muestra prioritaria.	Cumple (X) No cumple ()
	Con acceso para control de temperatura a través de un recirculador de agua	Con acceso para control de temperatura a través de un recirculador de agua	Cumple (X) No cumple ()

4.1.2 Ejemplo de Calificación de Instalación (CI) para CG- μ DCE

Magnitud	Especificación Funcional	Resultado	Calificación de Instalación (CI)	
Temperatura ambiental	5 a 40°C	20 a 27 °C	Cumple (X)	No cumple ()
Humedad Relativa	50 a 80 %	50 a 60 %	Cumple (X)	No cumple ()
Tensión eléctrica	120 V $\pm$ 5%	118 a 122 V	Cumple (X)	No cumple ()
Frecuencia	48 a 66 Hz	60 Hz	Cumple (X)	No cumple ()
Fracción de masa	Helio 0,999 995 g/g Argón/Metano 0,999 995 g/g	Helio 0,999 995 g/g Argón/Metano 0,999 995 g/g	Cumple (X)	No cumple ()

4.1.3 Ejemplo de Calificación Operacional (CO) para CG- μ DCE

Característica	Especificación Operacional	Resultado	Calificación Operacional (CO)	
Fugas en el Inyector	Caída de presión (P_C) < 2 psi (En un período de 2 horas)	$P_{\text{inicial}} - P_{\text{final}} = P_C$ 20 psi – 19.08 psi = 0,02 psi	Cumple (X)	No cumple ()
Flujos del Detector (DIF)	Gas auxiliar 25 $\pm$ 2.5 mL/min	23 mL/min	Cumple (X)	No cumple ()
Ruido del detector	Señal inicial $\leq$ 1 000 Hz	110 Hz	Cumple (X)	No cumple ()
	Ruido de ASTM $\leq$ 1,0 Hz	0,08 Hz	Cumple (X)	No cumple ()
	Drift $\leq$ 15 Hz	9,0 Hz	Cumple (X)	No cumple ()

4.1.4 Ejemplo de Calificación de Desempeño (C de D) para CG- μ DCE

Calificación funcional del DIF con inyección Split-splitless	Especificación Funcional	Resultado	Calificación de desempeño (C de D)	
Cuentas de área (Usando un MRC)	Lindano > 890	9120	Cumple (X)	No cumple ()
Tiempo de retención (Usando un MRC)	Lindano Desviación estándar < a 3%	0,01%	Cumple (X)	No cumple ()

4.2 Ejemplo para la Calificación de Cromatógrafo de Líquidos de Alta Resolución (CLAR)

REQUISITO	CALIFICACIÓN DE DISEÑO CD	CALIFICACIÓN DE INSTALACION CI	CALIFICACIÓN OPERACIONAL CO	CALIFICACIÓN DE DESEMPEÑO C de D
Configuración del Instrumento de Medición (Módulos y sus características, Hardware, Software, Consumibles, ...)	X			
Especificaciones técnicas	X			
Condiciones Físicas y Ambientales Apropriadas		X		
Recepción completa de Configuración solicitada del Instrumento de Medición y documentos relacionados.		X		
Comprobación de Especificaciones del Instrumento de Medición. Alcances en función del detector y de los accesorios de introducción de muestras adquiridos.		X	X	
Exactitud de la longitud de onda			X	
Volumen de inyección			X	
Comprobación de la velocidad de flujo			X	
Espectro del filtro de Holmio				X
Prueba Oscura				X

Nota: Los requisitos incluidos se presentan de manera de ejemplo y no como únicas opciones.

4.2.1 Ejemplo de Calificación de Diseño (CD) PARA CLAR-UV

Configuración del Instrumento de Medición (IM)	Especificación Funcional	Especificación Proveedor Seleccionado	Calificación de Diseño (CD)
Cromatógrafo de Líquidos de alta Resolución	Cromatógrafo de Líquidos con sistema central de control, adquisición, análisis y proceso de datos.	Cromatógrafo de Líquidos con sistema central de control, adquisición, análisis y proceso de datos.	Cumple (X) No cumple ()
	Sistema isocrático y gradiente binario, de suministro de disolventes.	Sistema isocrático y gradiente binario, terciario y cuaternario de suministro de disolventes, incluye unidad de gasificación con helio programable	Cumple (X) No cumple ()
		Con programa de validación del sistema y desarrollo de metodologías	Cumple (X) No cumple ()
Inyector	Sistema auto inyector para 48 muestras	Sistema auto inyector para 48 y 96 muestras	Cumple (X) No cumple ()
	Volumen de inyección de 0,1 - 100 µl	Volumen de inyección de 0,1 - 100 µl con <0,5% de DER en el intervalo de 5-100 µl,	Cumple (X) No cumple ()
Detector	Detector espectrofotométrico UV-visible	Detector espectrofotométrico UV-visible programable, de longitud de onda variable	Cumple (X) No cumple ()
	Intervalo de operación de 190 a 700 nm, con fuente luminosa de deuterio, exactitud de la longitud de onda de ± 1 nm, ancho de banda de 5 nm	Intervalo de operación de 190-700 nm, con fuente luminosa de deuterio, exactitud de la longitud de onda de ± 1 nm, reproducibilidad de la longitud de onda de $\pm 0,1$ nm, ancho de banda de 5 nm, deriva de $1,0E-4$ UA	Cumple (X) No cumple ()
	Intervalo de respuesta 0,0001 a 4 AUFS	Intervalo de respuesta 0,0001 a 4 AUFS	Cumple (X) No cumple ()
	Linealidad de 5% a 2,5 UA	Linealidad de 5% a 2,5 UA	Cumple (X) No cumple ()

4.2.2 Ejemplo de Calificación de Instalación (CI) para CLAR

Magnitud	Especificación Funcional	Resultado	Calificación de Instalación (CI)	
Temperatura ambiental	4 a 40°C	20 a 30 °C	Cumple (X)	No cumple ()
Humedad Relativa	20 a 80 % sin condensación	35 a 50 %	Cumple (X)	No cumple ()
Tensión eléctrica	100 a 240 Vac	180 Vac	Cumple (X)	No cumple ()
Frecuencia	50 a 60 Hz	60 Hz	Cumple (X)	No cumple ()
Consumo de poder	145 VA (nominal)	145 VA	Cumple (X)	No cumple ()

4.2.3 Ejemplo de Calificación Operacional (CO) para CLAR-UV

Característica	Especificación Operacional	Resultado	Calificación Operacional (CO)	
Exactitud de la longitud de onda (Usando un MRC de cafeína)	272 nm $\pm$ 15 nm	273 nm	Cumple (X)	No cumple ()
Volumen de inyección (Método gravimétrico)	El error aceptado es de 0,3 %	0,25%	Cumple (X)	No cumple ()
Comprobación de la velocidad de flujo	Para 0,25 mL/min de 0,220 a 0,281 mL/min	0,253 mL/min	Cumple (X)	No cumple ()
	Para 1,0 mL/min de 0,968 a 1,032 mL/min	0,996 mL/min	Cumple (X)	No cumple ()
	Para 5,0 mL/min de 4,94 a 5,06 mL/min	4,967 mL/min	Cumple (X)	No cumple ()

4.2.4 Ejemplo de Calificación de Desempeño (C de D) para CLAR-UV

	Especificación Funcional	Resultado	Calificación de desempeño (C de D)	
Espectro del filtro de Holmio	360-362 nm	361 nm	Cumple (X)	No cumple ()
	452,7-454,7 nm	453,7 nm	Cumple (X)	No cumple ()
	535,7-537,7 nm	536,7 nm	Cumple (X)	No cumple ()
Prueba Oscura	Valor máximo: $\leq 1\ 200$ cuentas	354 6 cuentas	Cumple (X)	No cumple ()
	Valor mínimo: > 291 6 cuentas			

ANEXO 5 EJEMPLO ESTIMACIÓN DE LA INCERTIDUMBRE DE MEDICIÓN DE LA FRACCIÓN DE MASA DE METANOL

1. Objetivo

Estimación de la incertidumbre de medición de fracción de masa de metanol en una disolución acuosa de etanol. Empleando la técnica de medición de cromatografía de gases con detector de ionización de flama (CG/DIF)

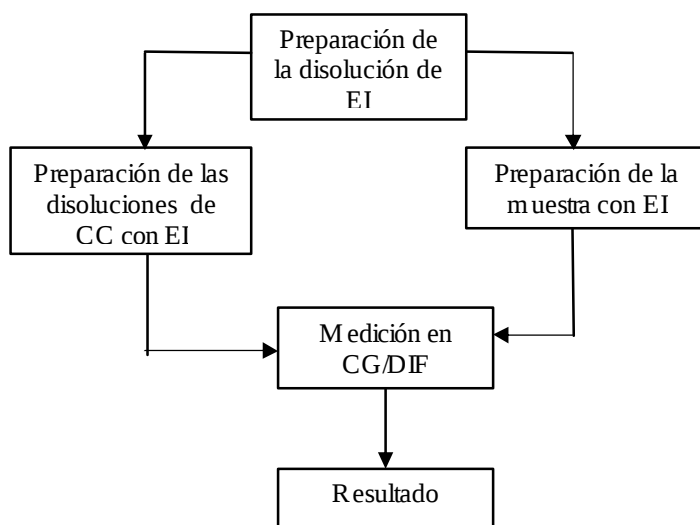
2. Procedimiento de medición.

La medición de fracción de masa de metanol en matriz de etanol, se realiza a través de la medición de las disoluciones de calibración y de la muestra problema, empleando el método de cuantificación de estándar interno y la técnica de medición de cromatografía de gases con detector de ionización de flama (CG/DIF).

Las etapas involucradas en la medición del metanol en una disolución acuosa de etanol son las siguientes:

- a) Preparación del Estándar Interno (EI): Se prepara gravimétricamente una disolución madre de 2-Pentanol de 0,08 g/mL de concentración de masa.
- b) Preparación de las disoluciones para la curva de calibración (CC): Las disoluciones de calibración son preparadas gravimétricamente a partir de compuestos puros, donde la pureza e impurezas son medidas por cromatografía de gases; enseguida se mezclan el EI y las disoluciones de calibración para realizar las mediciones en CG/DIF y obtener los datos para la construcción de la CC.
- c) Preparación de la muestra con el EI: La muestra es preparada gravimétricamente en un vial de 2 mL de capacidad; mezclando 0,9 g de disolución de calibración y 0,09 g de EI para obtener una concentración aproximada de EI de 0,007g/mL.
- d) Medición: Inyección de 1µL en el CG/DIF de cada una de las disoluciones de calibración y de la muestra.

El siguiente diagrama es una representación esquemática de las etapas de medición



3. Mensurando

La concentración de masa de metanol en la disolución acuosa de etanol, expresada como g de metanol por cada mL de etanol acuoso, se calcula por medio de la ecuación de la función de calibración ($y = mx + b$), sustituyendo las igualdades $y = A_A/A_{EI}$ y $x = C_A/C_{EI}$ y reordenando la función de calibración; se obtiene lo siguiente:

$$C_{A_m} = \frac{A_{A_m}}{A_{EI_m}} \cdot \frac{C_{EI_m}}{m} + b \cdot f_d \quad (1)$$

Donde:

A_{Am}	Área bajo la curva (cromatograma) del compuesto de interés en la muestra.
A_{EI_m}	Área bajo la curva (cromatograma) del estándar interno en la muestra.
C_{EI_m}	Concentración del estándar interno en la muestra.
C_{Am}	Concentración del compuesto de interés en la muestra.
m	pendiente de la regresión lineal
b	Ordenada al origen
f_d	Factor de dilución

4. Identificación de las fuentes de incertidumbre.

Las principales fuentes de incertidumbre que se identifican de acuerdo al modelo matemático propuesto son las siguientes:

- a) Incertidumbre debida al modelo matemático de la regresión lineal.
- b) Incertidumbre debida a:
 - i. La concentración de estándar interno en la muestra
 - ii. Las relaciones de área de la muestra
 - iii. El factor de dilución

Éstas se esquematizan en el diagrama de causa-efecto de la figura 1:

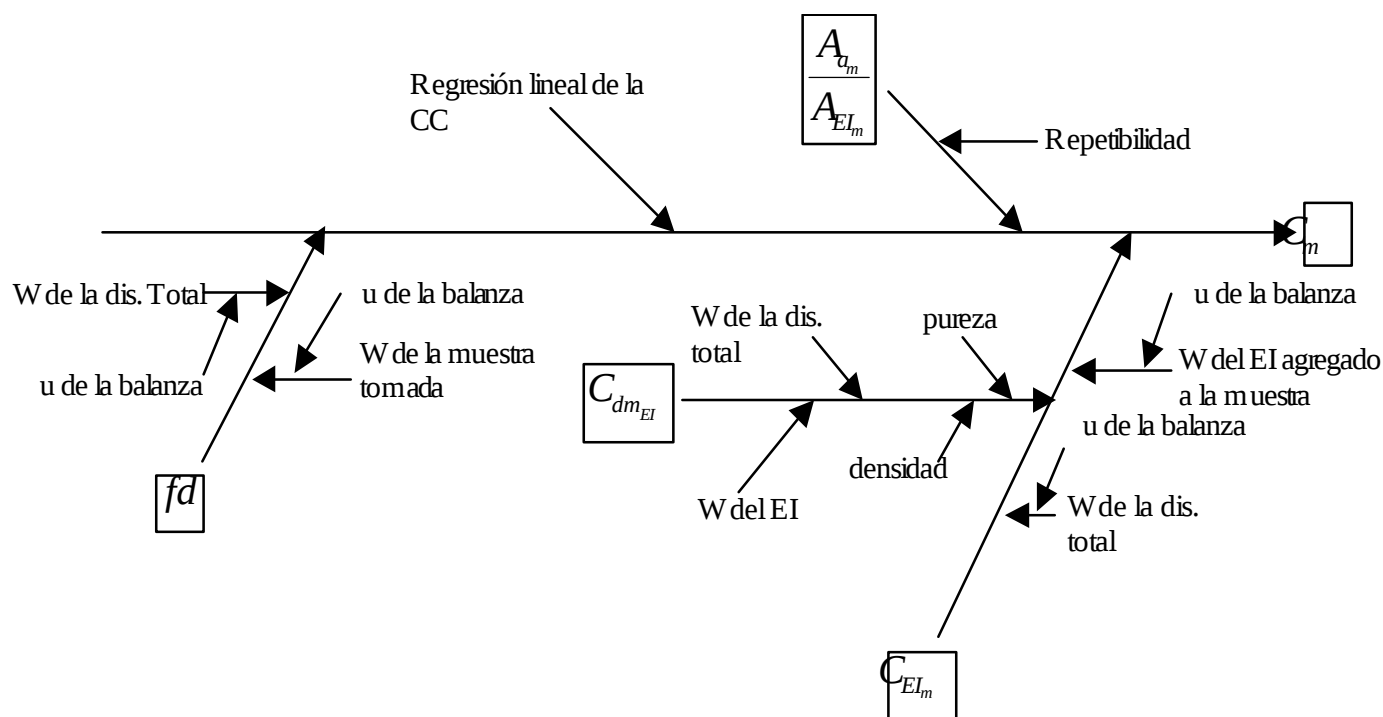


Figura 1

5. Cuantificación de las fuentes de la incertidumbre.

5.1 Incertidumbre debida al modelo matemático de la regresión lineal.

Se construyó una curva de calibración, A_a/A_{ei} vs C_a/C_{ei} , de 8 niveles de concentración (concentraciones de 0,002 g/mL a 0,019 g/mL con una concentración aproximada de EI de 0,007 g/mL en cada uno de los niveles) para la medición de metanol en una muestra problema. En la tabla 5 se muestran los datos (cocientes de áreas y de concentraciones) correspondientes a las disoluciones de calibración con sus respuestas correspondientes, con los cuales se construye la curva de calibración. Las disoluciones de calibración se midieron por triplicado.

Tabla 1

x (C_a/C_{ei})	y (A_a/A_{ei-1})	y (A_a/A_{ei-2})	y (A_a/A_{ei-3})	y (promedio A_a/A_{ei})
2,297 0	1,260 9	1,274 0	1,266 3	1,267 1
2,001 7	1,116 3	1,102 4	1,113 6	1,110 7
1,755 7	0,992 7	0,990 0	0,955 4	0,979 4
1,392 3	0,779 4	0,775 1	0,779 1	0,777 9
1,109 3	0,618 4	0,617 1	0,615 4	0,617 0
0,753 5	0,419 0	0,418 7	0,418 0	0,418 6
0,577 3	0,320 5	0,319 6	0,321 1	0,320 4
0,283 1	0,158 3	0,157 4	0,157 2	0,157 6

En la figura 2, se muestra la curva de calibración obtenida.

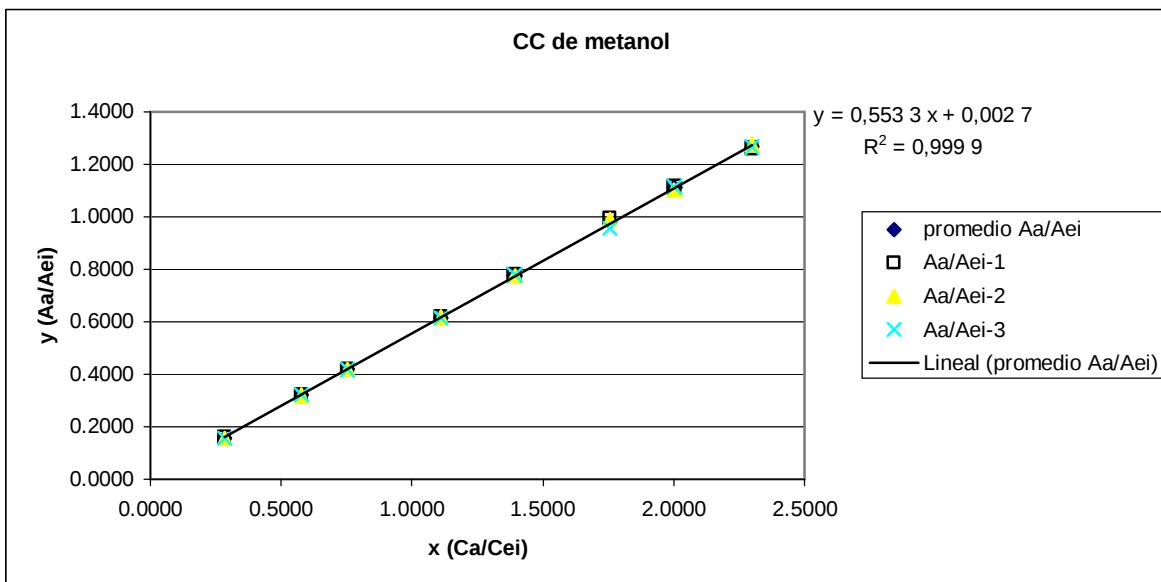


Figura 1

El método de mínimos cuadrados utilizada supone que las incertidumbres de las disoluciones de calibración, valores del eje de abscisas, son considerablemente menores que las incertidumbres de sus respuestas, valores del eje de ordenadas, por lo que se pueden considerar despreciables tales incertidumbres. La estimación de la incertidumbre asociada al valor interpolado empleando la función de calibración, involucra la variación de las respuestas de los niveles de concentración de las referencias empleadas. Donde S , el valor de la desviación estándar de los residuos, n , el número de repeticiones de la muestra, p , el valor predicho interpolado de la muestra, k , el número de puntos de la curva de calibración. La expresión que permite estimar esta incertidumbre se muestra a continuación:

$$u_{x_{pred}} = \frac{S}{b_1} \sqrt{\frac{1}{p} + \frac{1}{n} + \frac{(x_{pred} - \bar{x})^2}{\sum_{i=1}^n x_i^2 - \frac{(\sum_{i=1}^n x_i)^2}{n}}}$$
 (2)

Donde:

b_1	Pendiente de la curva de calibración
n	Número de datos de la calibración
x_i	i -ésimo valor del calibrante
x_{pred}	Valor obtenido con la curva de calibración
$\bar{x}$	Media de los valores $x_1, x_2, \dots, x_n$ de los calibrantes
S	Desviación estándar de los residuales
p	Número de repeticiones de la muestra
$u_{(x_{pred})}$	Varianza del valor obtenido con la curva de calibración

La incertidumbre asociada al valor interpolado empleando la curva de calibración en L.

5.2 Estimación de la incertidumbre estándar combinada debida al EI, áreas y factor de dilución

En esta sección se estima la incertidumbre a las fuentes que se mencionan en la sección 7.1.

5.2.1 Estimación de la incertidumbre estándar combinada del estándar interno en la disolución madre.

5.2.1.1 Cálculo de la concentración del EI en la disolución madre.

La contracción del EI en la disolución madre involucra la siguiente información: densidad de la disolución en etanol y los datos de pesado del procedimiento de preparación.

- a) Pureza. Se realizaron 12 mediciones de 2 cromatografía de gases con columna WAX (polietilenglicol enlazado), obteniendo una pureza de desviación estándar de 0,000 3 g/mL.
- b) Densidad. La densidad de la disolución de 2 etanol fue medida con picnómetro calibrado obteniéndose una densidad de 0,925 5 g/mL estándar de 0,005 4 g/mL.
- c) Pesado. Se preparo una disolución de 2 etanol en etanol; con los siguientes datos de pesado: $W_{2\text{ etanol}} = 2,084\ 3\ \text{g}$ y $W_{\text{disolución total}} = 23,537\ 3\ \text{g}$.

La concentración de la disolución madre se calcula con los datos de los inc siguiente:

$$C_{dm_{EI}} = \frac{W_{2\text{ etanol}} \cdot \text{pureza}_{2\text{ etanol}}}{W_{\text{disolución total}}} \quad (3)$$

Donde $W_{2\text{ etanol}}$ es la masa de 2 etanol sin corrección por pureza.

Sustituyendo los valores correspondientes a cada término en la ecuación siguiente valor de concentración de EI.

$$C_{dm_{EI}} = \frac{2,084\ 3}{23\ 537\ 3} \cdot 0,986\ 7 = 0,08\ 0\ \text{g/mL} \quad (4)$$

5.2.1 Incertidumbre estándar combinada de la disolución madre del EI.

La incertidumbre combinada del EI de la disolución madre se estima sustituyendo los valores de incertidumbre, correspondientes al modelo de la ecuación (4) correspondiente a la regla 2 de la referencia 1d, la posibilidad de sumar cuadráticamente las incertidumbres relativas si el modelo es multiplicativo

$$u_c(C_{dm_{EI}}) = 0,08\ 0 \sqrt{\left(\frac{5,77\ 3 \cdot 10^{-5}}{2,084\ 3}\right)^2 + \left(\frac{5,77\ 3 \cdot 10^{-5}}{23\ 537\ 3}\right)^2 + \left(\frac{0,005\ 6}{0,925\ 5}\right)^2 + \left(\frac{0,000\ 3}{0,986\ 7}\right)^2} \quad (5)$$

$$u_c(C_{dm_{EI}}) = 1,382 \times 10^{-4}$$

Nota 1. Para la estimación de la incertidumbre de la pesa se obtiene, $u_{\text{peso}} = u_{\text{balanza}} / \sqrt{3} = 0,0004 / \sqrt{3} = 2,309 \times 10^{-4}$, con el certificado de calibración de la balanza analítica.

Nota 2. Para la estimación de la incertidumbre de la densidad $u_{\text{densidad}} = u_{\text{estandar de la densidad}} / \sqrt{3} = 0,0054 / \sqrt{3} = 0,0031$ con el informe de medición de la densidad del pentanol.

5.2.1.3 Cálculo de la concentración del EI en la muestra.

La concentración del estándar interno en la muestra, se calcula empleando la siguiente información:

- Los datos de la sección 5.2.1.1 relacionados con la preparación de la disolución madre de EI.
- Datos de pesado. Se agrego una alícuota de EI a la muestra para la concentración de EI en la muestra de 0,0064 g/mL; con los siguientes pesos: $W_{dm_{EI}} = 0,0920$ g y $W_{muestra + EI} = 1,0199$ g.

Sustituyendo (4) y b) en la ecuación (3) se obtiene la concentración del EI en la muestra:

$$C_{EI_m} = C_{dm_{EI}} \times \frac{W_{dm_{EI}}}{W_{muestra + EI}} = 0,0080 \times \frac{0,0920}{1,0199} = 0,00073 \text{ g/mL} \quad (6)$$

5.2.1.4 Estimación de incertidumbre de la concentración del EI en la muestra.

Esta estimación considera como modelo matemático la expresión (6) donde $C_{dm_{EI}}$ es la concentración del EI en la disolución madre, la masa de la disolución madre y la masa de la muestra con EI.

Sustituyendo las incertidumbres asociadas a las magnitudes de entrada de la ecuación (6) correspondiente a la regla dos de la propagación de la incertidumbre, se obtiene la incertidumbre de la concentración del EI en la muestra, considerando la posibilidad de sumar cuadráticamente las incertidumbres relativas si el modelo es multiplicativo:

$$u_c(C_{EI_m}) = 0,0073 \sqrt{\frac{(5,773 \times 10^5)^2}{(0,092)^2} + \frac{(5,773 \times 10^5)^2}{(1,019)^2} + \frac{(1,382 \times 10^4)^2}{(0,080)^2}} \quad (7)$$

$$u_c(C_{EI_m}) = 1,3280 \times 10^5$$

5.2.2. Incertidumbre estándar combinada del factor de dilución.

El cálculo del factor de dilución y su incertidumbre involucra los resultados de la muestra, que es de 0,9279 g, y la masa de la muestra + la masa del EI, cuya es de 1,0199 g.

$$fd = \frac{W_{muestra+EI}}{W_{muestra}} = \frac{1,0199}{0,9279} = 1,0991 \quad (8)$$

Para la estimación de la incertidumbre de dilución se utiliza la regla 2 de la referencia 1, obteniéndose el siguiente resultado:

$$u_c(fd) = 1,0991 \sqrt{\frac{(5,7735 \times 10^5)^2}{(0,9279)^2} + \frac{(5,7735 \times 10^5)^2}{(1,0199)^2}} \quad (9)$$

$$u_c(fd) = 9,2459 \times 10^5$$

5.2.3. Incertidumbre de las relaciones de área de la muestra

Se realizaron tres mediciones independientes de la muestra con estándar interno en un cromatógrafo de gases con detector de ionización de flama (CG/DIF), obteniéndose las áreas para el metanol y para el 2-pentanol.

Tabla 2

	A-1	A-2	A-3
Área de la muestra (metanol)	1 852,544	10867,382	1545,928 83
Área del EI (2-pentanol)	1 885,286	11309,612	1080,254 15

El resultado del cálculo de las relaciones de correspondencia se muestra en la tabla 3.

Tabla 3

	(A _A /A _{EI})1	(A _A /A _{EI})2	(A _A /A _{EI})3	Promedio	Desv. est.
Relación de áreas	0.9826	0.9779	0.9835	0.9813	0.0030

Finalmente la incertidumbre asociada a la medición de la muestra por triplicado se calcula a partir de la desviación estándar experimental de la media:

$$u_{\text{relación áreas}} = \frac{S_{\text{relación áreas}}}{\sqrt{n}} = \frac{0,0030}{\sqrt{3}} = 0,0017 \quad (10)$$

Esta incertidumbre expresada en unidades de concentración es:

$$u_{\text{relación de áreas}} = 0,0017 \times 0,00712410^{25} \text{ g/mL} \quad (11)$$

Es importante mencionar que la estimación de la incertidumbre del valor en la variabilidad debida a la repetibilidad de la relación de áreas muestra un efecto EI.

5.3 Cálculo de la concentración del metanol en la muestra.

La concentración del metanol en la muestra se calcula con la ecuación descrita en este ejemplo, como sigue:

$$C_{A_m} = \frac{C_{A_m}(\text{estimada}) \cdot C_{EI_m} \cdot f_d}{\sum_{i=1}^n \frac{A_i}{A_{EI_i}}} \quad (12)$$

$$C_{A_m} = \frac{0,9813 \cdot 0,00712410^{25} \cdot 1,0991}{0,5533} = 0,0142 \text{ g/mL}$$

C_{A_m}	Concentración de masa del analito en la muestra
$C_{A_m}(\text{estimada})$	Concentración de masa estimada con la curva de calibración
C_{A_m}	Concentración de masa corregida del analito en la muestra
C_{EI_m}	Concentración de masa de EI en la muestra
f_d	Factor de dilución
$\sum_{i=1}^n$	Efecto de la relación de áreas: área muestra / área EI

5.4 Incertidumbre asociada a la concentración de la muestra.

Las incertidumbres asociadas a la concentración (corregida por de factor de dilución, analito en la muestra (modelo de regresión, factor de dilución, EI en la muestra, áreas) se combinan empleando la ecuación 11 y la regla 2 de la referencia 1 a continuación:

$$u_{C_{Am}} = C_{Am} \sqrt{\frac{u(C_{Am} \text{ (modelo de regresión)})^2}{C_{Am}^2} + \frac{u_c(f_d)^2}{f_d^2} + \frac{u_c(C_{EI_m})^2}{C_{EI_m}^2}} \quad (13)$$

$$u_{C_{Am}} = \sqrt{u^2(C_{Am}) + u^2_{f_1}} \quad (14)$$

sustituyendo los resultados valores correspondientes en la ecuación 13 se obtiene la incertidumbre estándar combinada siguiente:

$$u_{C_{muestra}} = 0,0002 \text{ g / mL} \quad (15)$$

En la tabla 4 y figura 3 se muestra el resumen correspondiente a la incertidumbre en la estimación del valor de la concentración corregida de analito.

Tabla 4

Magnitud	v_i	u_i	Tipo de distribución	c_i	$c_i u_i$	$(c_i u_i)^2$
C_{Am} (regresión lineal)	0,0142	0,0002	Normal	1	0,0002	4,00E-08
C_{EI_m}	0,0073	1,33E-05	Normal	1,945205	2,58323E-05	6,67E-10
f_d	1,09919	9,25E-05	Normal	0,01292	1,19444E-05	1,43E-12
C'_{Am}	0,0142	0,0002				

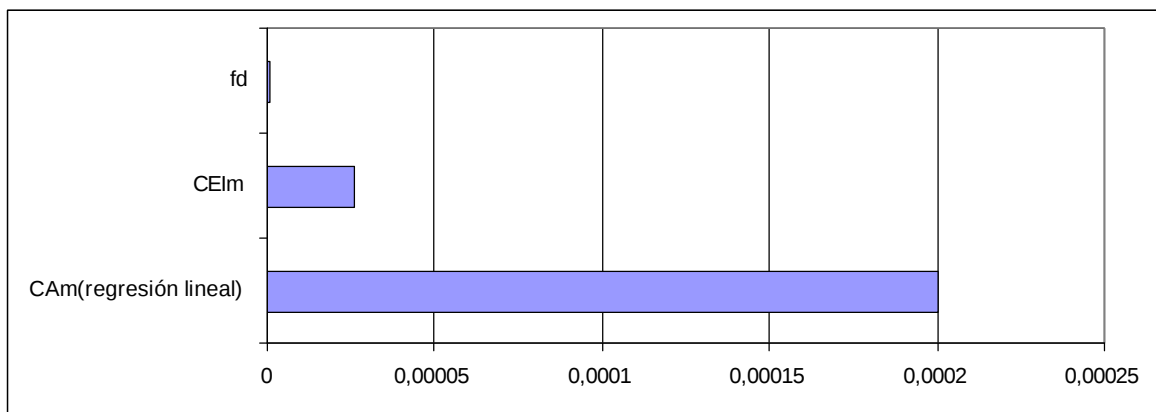


Figura 3

En la tabla 5 y figura 4 se muestra el resumen correspondiente a la estimación de la concentración de masa corregida de una muestra considerando la incertidumbre asociada a la variabilidad de las experimentales, correspondientes a la muestra y al EI.

Tabla 5

Magnitud	v_i	u_i	Tipo de distribución	c_i	$c_i u_i$	$(c_i u_i)^2$
$\hat{C}_{Am}$	0,0142	0,0002	normal	1	2,0166E-04	4,07E-08
$?_1$	0	1,241E-05	Normal	1	1,2410E-05	1,54E-10
C_{Am}	0,0142	0,00020				

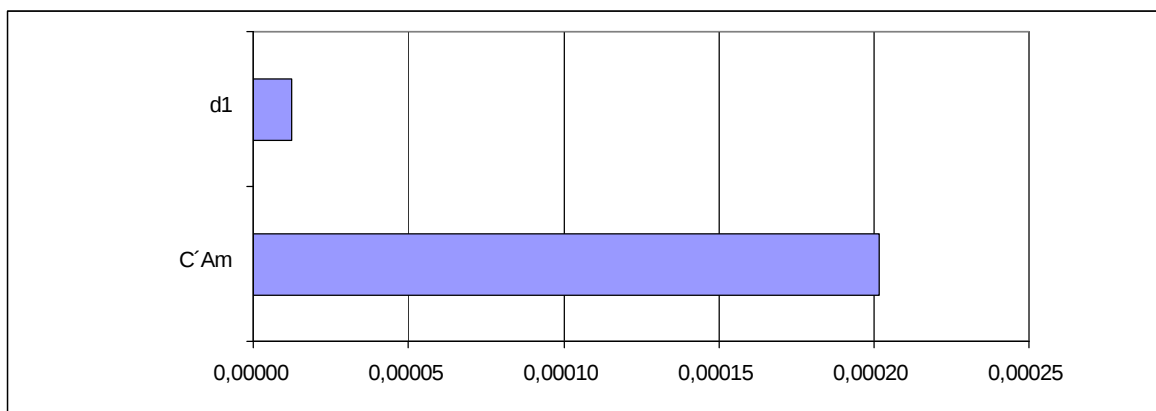


Figura 4

- Para mejor repetibilidad de resultados es conveniente marcar el extremo conectado al suministro de fase móvil y siempre utilizarla en el mismo sentido.

B.1) CG

- En lo posible utilizar precolumnas.
- No sobre calentar las columnas. Usar Temperaturas límites de operación isotérmico y como con rampa, de acuerdo con los datos del proveedor.

B.2) CLAR

- Usar precolumna.
- No sobre presurizar las columnas. Revisar y acatar instrucciones del proveedor.

C) Mezcla Problema (MP)

C.0) CG y CLAR

- Con el fin de evitar contaminaciones del Instrumento de Medición (IM) para una mejor resolución cromatográfica, la concentración de la MP [no de interés] debe ser tan baja como lo permita la sensibilidad del IM a la MP de interés. Limpiando las muestras o tomando cantidades pequeñas de muestra.
- Hay que poner cuidado especial en las fechas de caducidad de las muestras, mantenerse en condiciones adecuadas de conservación para minimizar cambios físico-químicos.

C.1) CG

- En lo posible, debe evitarse introducir MP con ácidos orgánicos que no se adhieren al puerto de inyección y a la columna, que pueden generar problemas en caso contrario darle el mantenimiento adecuado a la columna y detector.
- En CG cuando debe procurarse inyectar el menor volumen posible para disminuir el efecto del disolvente en el proceso de partición cromatográfica.

C.2) CLAR

- Debe comprobarse, antes de introducir la MP, su compatibilidad con la fase móvil, para prevenir problemas de sobre presiones, o formación de emulsiones.
- La MP debe de filtrarse a través de filtros de 10 µm antes de introducirlos.

D) Instrumentos de Medición (IM)

D.0) CG y CLAR

- Las condiciones ambientales como temperatura y humedad deben de ser controladas tanto para el correcto desempeño de los IM como para la estabilidad de disolventes y muestras. Preferentemente entre 20°C y 25°C y 45% a 65% de Humedad Relativa.
- Antes de su uso en una aplicación particular el laboratorio debe documentar, por su propio personal, las pruebas que el proveedor realiza de la instalación y entrega del IM. Los resultados de dichas pruebas y criterios de aceptación y rechazo se utilizarán para evidenciar periódicamente el uso rutinario del IM, su buen funcionamiento.

- El personal del laboratorio deberá leer y comprender los Manuales IM, incluyendo los correspondientes al Hardware proporcionados por proveedor y evidenciar su entendimiento y aplicación, previo al análisis MP.
- Deberá establecerse y dar cumplimiento a un programa de mantenimiento tanto interno (reemplazo de consumibles a básica) como externo dado personal calificado y autorizado.
- Ya optimizadas las condiciones de operación del IM deberá comprobarse el seguimiento con anterioridad a cualquier aplicación específica.
- En forma programada se reinicie el uso de una aplicación y para el analítico, que no contenga más de 20 MP se deberá comprobar contra lo siguiente.
 - a) Limpieza del Proceso Analítico. Mediante el uso de blancos.
 - b) Continuidad de la relación Respuesta/Concentración. A través de Calibración Continua contra Calibración Inicial del IM.
 - c) Estabilidad del Proceso Analítico. Mediante el uso de Muestras de Calidad (MCC) sometidas al mismo proceso que las MP.
- Deberá asegurarse la validez de las mediciones mediante el uso adecuado de MRC, cuidando su integridad física/química, identificación, conservación.
- Al utilizar sistemas de computo para la recolección de resultados de análisis deberá restringirse el acceso a los mismos por personal no autorizado.

ANEXO 7 INFORMACIÓN ADICIONAL SOBRE LAS TÉCNICAS DE CG y CLAR

Cromatografía

Los detectores pueden ser clasificados en:

- ? Detectores según su Grado de Selectividad :
 - o Universales. Responde a la mayoría de los solutos que pasan por él.
 - o Específicos ó Selectivos. Exhibe una gran respuesta a un grupo de sustancias con un mínimo de respuesta a otras.
- ? Detectores Destructivos y No destructivos. Esta clasificación, se refiere a si la muestra es destruida o no, en el proceso de medición.
- ? Detectores según su Modo de Respuesta:
 - o Dependientes del Flujo Másico. Producen una señal que es proporcional a la cantidad de soluto que pasa a través de él en la unidad de tiempo independiente del volumen de la fase móvil requerida para la elusión.
 - o Dependiente de la Concentración. Dan una señal proporcional a la concentración de soluto por unidad de volumen de fase móvil que pasa a través de él.

- ? Detectores según el proceso de detección, tipos de preparación de muestra, Electroquímico, etc.

También aplican algunas de las siguientes características

- ? **Sensibilidad.** Propiedad de un detector para convertir en respuesta la cantidad en una señal eléctrica medible.
- ? **Límite de Detección** Es la cantidad mínima de una sustancia que produce una señal equivalente al doble del nivel de ruido.
- ? **Ruido.** Es cuantificado por el promedio de la amplitud de la señal. El significado de conocer el nivel de ruido de un detector es un factor de determinación de la cantidad mínima detectable y el límite inferior de la línea de calibración.
- ? **Linealidad.** Intervalo de masa ó concentración de muestra sobre el cual mantiene una sensibilidad constante sin una desviación significativa. El significado práctico de la linealidad del detector es el que le indica al analista la concentración de la muestra que el detector es confiable. Hay dos límites en la curva de linealidad:
 - o El límite de concentración inferior, que es dado por el límite de detección.
 - o El límite Superior, definido por un porcentaje de desviación arbitrario de linealidad, normalmente se toma un 5% de desviación.
- ? **Rango Lineal Dinámico.** Intervalo sobre el cual la sensibilidad del detector es constante.

Cromatografía de Gases (CG)

La Cromatografía de Gases es un tipo de cromatografía instrumental aplicada a compuestos orgánicos volátiles y semivolátiles térmicamente estables, en la que la fase móvil es un gas inerte y la fase estacionaria puede ser:

- * Un líquido adsorbido en un sólido (Cromatografía CG/L) / Líquido en el que el proceso de separación es mediante un proceso de partición.

- * Un sólido (Cromatografía CG/S), donde el proceso de separación es mediante un proceso de adsorción.

En CG/L la eficiencia de un análisis es función de la volatilidad de cada componente de la mezcla a ser separada y analizada y por consiguiente de su presión de vapor y solubilidad en la fase líquida estacionaria. La eficiencia de la separación y dependen tanto de las propiedades químicas de la fase estacionaria (naturaleza y propiedades físicas, etc.) como de sus condiciones de contacto físico (longitud de columna, velocidad lineal, entre otros.) Así como de las propiedades de la fase móvil (helio, nitrógeno e hidrógeno principalmente) y de la temperatura a la cual se lleva a cabo (isotérmica ó programada).

La configuración instrumental básica consiste de un suministro de fase móvil, una columna de separación conteniendo la fase estacionaria, un detector y un sistema de registro y manejo de datos.

En caso de muestras problema en estado líquido, la muestra es introducida al sistema a través de una jeringa y a través de un tubo (septum) situado en el puerto de inyección, el cual es mantenido a una temperatura mayor que el punto de ebullición del componente volátil en la mezcla de muestra, con el fin de asegurar la volatilidad de todos los componentes. Existen diversos sistemas empleados para la introducción de la muestra al sistema. En algunas instancias pueden ser manuales ó automatizados y dependiendo también del tipo de muestra ya sea sólido en disolución, en estado líquido, vapor o bien como un gas, el más adecuado, para minimizar pérdidas, el medio de introducción de la muestra es a través de una microjeringa; jeringa ó válvula de muestreo.

La columna de separación es mantenida bajo control de temperatura con el fin de separar los compuestos con un amplio intervalo de puntos de ebullición. Se comienza a una temperatura inicialmente baja del horno y un incremento posterior de la temperatura con el tiempo con el fin de que eluyan los componentes de mayor punto de ebullición.

El detector se selecciona dependiendo de la naturaleza de los analitos que se van a determinar, como de la sensibilidad y selectividad requerida. Entre los detectores más comúnmente utilizados se encuentran:

- 1. *Detector de Conductividad Térmica.* Mide la diferencia de conductividad térmica del gas portador, ocasionada por la presencia de sustancias eluidas. Responde a casi todos los compuestos orgánicos y es considerado el detector universal.
- 2. *Detector de Ionización de Flama.* Basado en la medida de las variaciones de la corriente de ionización en una flama de hidrógeno debido a la presencia de sustancias eluidas. Responde a casi todos los compuestos orgánicos y es considerado específico para compuestos orgánicos.
- 3. *Detector de Captura de Electrones.* Basado en la electronegatividad de las sustancias eluidas, y su habilidad para formar iones negativos por la captura de electrones. Responde a un rango limitado de compuestos, principalmente a halógenos. Es utilizado para el análisis de plaguicidas y metales de trazas.
- 4. *Detector de fotoionización.* Basado en la ionización selectiva de ciertos compuestos que eluyen de la columna por una lámpara que produce radiación en el ultravioleta (típicamente a 10.0 eV), los iones producidos son medidos y el voltaje resultante es medido y amplificado. Frecuentemente se emplea para el análisis de compuestos aromáticos (BTEX, Gasolina, Hidrocarburos insaturados, poliaromáticos).

- ? *Detector de Nitrógeno-Fósforo.* También llamado *de fotoionización de Flama Alcalina*. Responde a compuestos que tengan nitrógeno ó fósforo en su estructura. Es utilizado en análisis farmacéuticos y ambientales
- ? *Detector de Fotometría de Flama.* Basada en la medida de la intensidad de la emisión de fluorescencia de átomos en las moléculas orgánicas. Responde a compuestos con azufre ó fósforo y es utilizado en análisis ambientales
- ? *Detector de Espectrometría de Masas.* Es un detector que además de información cuantitativa propia información cualitativa, basada en la identificación del compuesto a través de su espectro característico de fragmentación más intenso excepto al gas portador y es utilizado en casi todo tipo de análisis.

Algunas de las especificaciones se muestran en la siguiente tabla, cabe mencionar que estas variaran de acuerdo al fabricante.

Nombre	Ruido	Límite de Detección	Rango Lineal Dinámico	Selectividad
Conductividad Térmica	< 0.057 33 unidades (25 uV/unidad)	400 pg propano/anillo de como gas acarreador	10 ⁵ (± 5 %)	
Ionización de Flama	< 0.038 2 pA	5 pg carbón/seg como propano usando O ₂ como gas acarreador y un quemador con d.i. de 0.29 mm	10 ⁷ (+ 10 %)	
Captura de electrones	< 0.057 33 unidades (5 Hz/unidad)	0.008 pg/seg de lindano	5 x 10 ⁴ con lindano	
Fotoionización		2 pg	10 ⁷	10 a 1 g C insaturado ./ C saturado
Nitrógeno-Fósforo	< 0.076 5 pA	0.4 pg N/seg; 0.2 pg/seg con una mezcla de azobenceno/malation	10 ⁵ ; 10 ⁶	25,000 a 1 g N/g C, 75,000 a 1 g P/g C con una mezcla de azobenceno/malation
Fotométrico de Flama	≤ 5 unidades (150 pA/unidad)	20 pg S/seg, 0.9 pg P/seg con mezcla de dodecanetiol / tributylfosfato	10 ³ S; 10 ⁶ P con mezcla de dodecanetiol / tributylfosfato	10 ⁵ g S/g C, 10 ⁶ g P/g C
Selectivo de Masas (Espectrómetro de Masas)		Para Ionización Electrónica: (IE) Modo Barrido : 1 pg Modo Ion Selectivo: 20 fg 10 ⁶ de Octafluoronaftaleno inyectado en la columna. (*)		

(*) Sensibilidad en barrido con pulso en la alícuota de 1 µL de una disolución de 1 pg/µL de octafluoronaftaleno en isooctano. Inyección splitless pulsado; en una columna 0.25 mm x 30 m. H. Barrido de 2.9 scans/seg. intervalo de 5 segundos. dará una señal/ruido RMS para la señal extraída del ión en m/z 272.0 de al menos 20:1”

Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución (CLAR)

La Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución es un tipo de cromatografía aplicable a compuestos orgánicos volátiles, no volátiles y a iones inorgánicos en la cuál la fase móvil (eluyente) es un líquido y la fase estacionaria puede ser líquida (Cromatografía Líquida de Alta Resolución) o sólida (Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución de Fase Sólida) en la cuál el proceso de separación es mediante el proceso de partición ó un sólido (Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución de Fase Sólida) en la cuál el proceso de separación se lleva a cabo por adsorción, intercambio iónico y exclusión por tamaño.

Hay muchas similitudes entre una configuración instrumental CLAR y una GC. Primero. la fase estacionaria consiste de pequeñas partículas sólidas contenidas en un tubo llamado columna;

Segundo. Hay un dispositivo de inyección a la entrada de la columna a través del cual la mezcla problema es introducida dentro del flujo de la fase móvil;

Tercero. Hay un detector a la salida de la columna que genera una señal eléctrica cuando eluye un analito transportado en la fase móvil.

Cuarto. La señal electrónica es enviada a un sistema de manejo de información que genera una respuesta gráfica.

La configuración instrumental básica consiste de (1) Suministro de fase móvil conformado por una bomba de alta presión con recipientes para los disolventes y un cambio gradual de composición de la fase móvil; (2) Sistema de inyección para introducir la mezcla problema dentro de la línea de alta presión; (3) Columna de tubo de acero inoxidable conteniendo la fase estacionaria; (4), un detector de registro y manejo de datos.

Las bombas deben proveer una presión alta, estable, sin pulsaciones y debe ser capaz de variar la composición del disolvente durante el transcurso de la separación. La mezcla problema es introducida en un dispositivo contenedor de muestra (loop), mediante una jeringa. Cuando el dispositivo es llenado, el inyector introduce la muestra en la corriente del disolvente, la cuál pasa a través de la columna donde la mezcla es separada de acuerdo a los principios de separación (como cromatografía de partición, adsorción, de fases estacionarias quirales, de cromatografía iónica, entre otros).

Dependiendo de la sensibilidad y selectividad requerida se pueden utilizar diferentes tipos de detectores. Entre los más comúnmente utilizados se encuentran:

- 2. *Detector de Índice de Refracción.* Mide el índice de refracción del efluente, ocasionado por la presencia de sustancias eluidas. Por ser su respuesta diferencial, excepto al efluente, utilizado para analizar sustancias que no absorben en el rango de longitud de onda utilizada, como carbohidratos, lípidos y polímeros, entre otros.

- ? *Detector de UV-Visible.* Es el más ampliamente utilizado, su respuesta se fundamenta en la absorbancia que presentan la mayoría de los compuestos a una longitud de onda determinada. Se utiliza para todas aquellas sustancias que tienen enlaces y los compuestos con electrones no enlazados y no compartidos. Por ejemplo, todas las olefinas, todos los aromáticos y los que contienen grupo carbonilo, tiocarbonilo, nitroso y azo.
- ? *Detector de Fluorescencia.* Basado en la propiedad que tienen algunos compuestos de excitarse a una longitud de onda característica y emitir radiación a una longitud de onda diferente. Así todos los compuestos fluorescentes absorben por encima de 200 nm. Los compuestos fluorescentes típicos son sustancias aromáticas por ejemplo, esteroides, los pigmentos de las plantas, las vitaminas, los alcaloides, los sistemas que usan reactivos reastreadores, tales como la fluoresceína y el ftalaldehído (OPA) para el análisis de aminoácidos.
- ? *Detector Electroquímico.* Incluye tanto detectores amperométricos como coulométricos, siendo los últimos más sensibles y ya que reaccionan con el 100% del analito vs el 10% máximo del amperométrico. Entre los compuestos típicos que se analizan incluyen las aminas aromáticas y sus derivados (hidroxilaminas, amidas), los ácidos ascórbico y úrico, y la epinefrina, bencidina, ácido fólico, vitaminas y otros.

Algunas de las especificaciones más importantes para CLAR se muestran en la tabla 1. Estas variarán de acuerdo al fabricante.

Nombre	Ruido	Deriva	Límite de Detección	Linealidad	Exactitud de Longitud de Onda
Índice de Refracción	$\pm 2.5 \times 10^{-6}$ UIR (*), a tiempo de respuesta de 4 s, 3°C, 1 mL/min	200×10^{-6} UIR/h a (*), a tiempo de respuesta de 4 s, 3°C, 1 mL/min H ₂ O			
UV-Visible Con Arreglo de Diodos	$\pm 1.0 \times 10^{-6}$ U A a 254 nm y a 750 nm (**)	2×10^{-3} U A/h a 254 nm (**)		2 U A límite superior	± 1 nm autocalibrado con líneas de deuterio y filtro de óxido de Holmio.
UV-Visible Con Longitud de Onda Variable	$\pm 1.0 \times 10^{-6}$ U A a 254 nm y a 750 nm (**)	2×10^{-3} U A/h a 254 nm (**)		2 U A límite superior	± 1 nm autocalibrado con líneas de deuterio y filtro de óxido de Holmio.
Fluorescencia			10 fg de antraceno ex: 250 nm, em: 400 nm		± 3 nm
Electroquímico	5 pA pico a pico (10 M Ohms, 2 uF) [Detector Coulométrico]				

(*) en acuerdo a ASTM E 1657

(**) en acuerdo a ASTM E 1657

Al igual que en CG, el detector selectivo de masas también puede proporcionar información estructural que ayude a la identificación de algún anali