

# **Guía Técnica de Trazabilidad Metrológica e Incertidumbre de Medida en las Mediciones Analíticas que Emplean las Técnicas de Cromatografía de Gases (CG) y Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución (CLAR)**

**México, diciembre 2012**

**Derechos reservados ©**

## PRESENTACIÓN

Durante la evaluación de la competencia técnica de los laboratorios de calibración y de ensayo, la demostración de la trazabilidad metrológica y la estimación de la incertidumbre de medida, 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 metrológica y la incertidumbre de medida, la entidad mexicana de acreditación, a. c., solicitó al Centro Nacional de Metrología que encabezara un programa de elaboración de Guías Técnicas de Trazabilidad Metrológica e Incertidumbre de Medida.

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

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

La elaboración de las Guías está vinculada con la responsabilidad que comparten mutuamente los laboratorios acreditados de calibración y de ensayo, de ofrecer servicios con validez técnica en el marco de la evaluación de la conformidad. La calidad de estos servicios se apoya en la confiabilidad y uniformidad de las mediciones, cuyo fundamento está establecido en la trazabilidad metrológica y en la incertidumbre de medida 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 Metrológica e Incertidumbre de Medida 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-EC-17025-IMNC-2006. La consistencia de las Guías con esta norma y con los demás documentos de referencia, permitirá conseguir el propósito de asegurar la confiabilidad de la evaluación de la conformidad por parte de los laboratorios de calibración y ensayo.

Diciembre de 2012

**Dr. Héctor O. Nava Jaimes**

Director General

Centro Nacional de Metrología

**María Isabel López Martínez**

Directora Ejecutiva

entidad mexicana de acreditación, a.c.

## GRUPO DE TRABAJO

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

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.
GUEVARA HERNÁNDEZ Alicia	CENAM
HERNÁNDEZ RIVERA Rosalba	CIDESI
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
SOPORTE TÉCNICO	entidad mexicana de acreditación, a.c.
SOTO GARCÍA Noemí	CÁMARA NACIONAL DE LA INDUSTRIA TEQUILERA
TAPIA HERNÁNDEZ Alfredo Marcos	
USTARAN CERVANTES Juan Ignacio	LABORATORIOS ABC QUÍMICA, INVESTIGACIÓN Y ANÁLISIS, S.A. DE C.V.

## ÍNDICE

PRESENTACIÓN .....	2
GRUPO DE TRABAJO .....	4
1. PROPÓSITO DE LA GUÍA TÉCNICA .....	6
2. ALCANCE DE LA GUÍA TÉCNICA .....	7
3. MENSURANDO .....	8
4. MÉTODO Y/O SISTEMA DE MEDICIÓN .....	10
5. CONFIRMACIÓN METROLÓGICA Y CALIFICACIÓN DE EQUIPOS .....	12
6. TRAZABILIDAD METROLÓGICA .....	16
7. INCERTIDUMBRE DE MEDIDA .....	20
8. VALIDACIÓN DE MÉTODOS .....	22
9. BUENAS PRÁCTICAS DE MEDICIÓN .....	24
10. REFERENCIAS .....	25
11. AGRADECIMIENTOS .....	25
ANEXO 1 DOCUMENTACIÓN DE TRAZABILIDAD METROLÓGICA E INCERTIDUMBRE DE MEDIDA DE CG .....	26
ANEXO 2 GLOSARIO DE TÉRMINOS .....	27
ANEXO 3 EJEMPLO DE CONFIRMACIÓN METROLÓGICA DE UNA BALANZA ANALÍTICA .....	40
ANEXO 4 EJEMPLOS PARA LA CALIFICACIÓN DE EQUIPOS DE INSTRUMENTOS DE MEDICIÓN ANALÍTICA (CEIMA) .....	45
ANEXO 5 EJEMPLO DE ESTIMACIÓN DE INCERTIDUMBRE DE MEDIDA DE LA FRACCIÓN DE MASA DE METANOL .....	52
ANEXO 6 BUENAS PRÁCTICAS DE LABORATORIO (BPL) .....	63
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 metrológica y por un valor estimado de su incertidumbre de medida. 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 medida y materiales de referencia constituyen un elemento fundamental en la tarea de extender la trazabilidad metrológica, 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 metrológica 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 metrológica.

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 Metrológica e Incertidumbre en las Mediciones Analíticas”.

El propósito de esta Guía Técnica es establecer los criterios y requisitos de trazabilidad metrológica e incertidumbre de medida 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 metrológica confiables.

La “Guía Técnica sobre Trazabilidad Metrológica e Incertidumbre de medida 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 metrológica e incertidumbre de la ema. La aportación de criterios técnicos de esta Guía específica sirven de apoyo en la aplicación de la norma NMX-EC-17025-IMNC-2006 [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 metrológica e incertidumbre de medida.

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 metrológica 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 medida de trabajo de los métodos de medición**

Los evaluadores deben verificar que los intervalos de medida de trabajo de los métodos 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 de medida**

Los evaluadores deben verificar la estimación de incertidumbre de medida 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 de medida 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-2006 [2], el laboratorio deberá iniciar su proceso de estimación de incertidumbre de medida en la confirmación del método y tener un plan de implantación de acuerdo al capítulo 4 inciso 4.2.3 de las Políticas Referentes a la Trazabilidad Metrológica e incertidumbre de medida de la ema, para cuantificar todos aquellos componentes de incertidumbre que contribuyan significativamente a la incertidumbre final de medida. 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 Glosario de Términos (Anexo 2).

##### **4.1. Sistema de medida**

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

###### Ejemplo de sistema de medida

Para mediciones 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 Metrológica de las Mediciones Analíticas (Anexo 1) para un método de ensayo que se requiere acreditar.

## 4.2. Método de Medida

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

## 4.3. Procedimiento de medida

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

Nota: Para los métodos propios ver capítulo de validación.

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

Etapa de submuestreo (toma de la muestra para análisis en el laboratorio):

1. Balanza
2. Material volumétrico

Etapa de Preparación de la muestra:

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

Etapa de medida:

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 de medida se detallan en el capítulo 7 de esta Guía Técnica y en la Tabla de Trazabilidad Metrológica de las Mediciones Analíticas (Anexo 1).

El evaluador debe solicitar evidencia de cómo 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 los 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 medida, mediante la comparación de estos requisitos metrológicos y las declaraciones del fabricante.

Es importante que los instrumentos de medida se mantengan bajo control, con la finalidad de evaluar su desempeño y cumplir con los requisitos de la NMX-EC-17025-IMNC-2006[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 medida.

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 evidenció 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 medida. 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 de medida, estabilidad, deriva, resolución, entre otros. Ver en el Anexo 3 un ejemplo específico.

El grupo 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 grupo 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.

Él evaluador debe solicitar evidencia de que 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 medida 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 permitan la verificación sistemática del mismo con referencia a las especificaciones del fabricante.

Adicionalmente 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 objeto de asegurar la vigencia de la confirmación metrológica y que los equipos están dentro de los requerimientos de ésta.

## **5.2. Calificación de Equipos e Instrumentos de Medición Analítica (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, el laboratorio debe seguir 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 diluciones 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 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 su especificación y mantenerse bajo control.

## **6. TRAZABILIDAD METROLÓGICA**

Los aspectos relacionados con la trazabilidad metrológica, son acordes con lo dispuesto en la política vigente de la emα [10].

### **6.1. Trazabilidad metrológica, calibración, patrones y Materiales de Referencia Certificados (MRC)**

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

La trazabilidad metrológica 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 metrológica no impone limitaciones sobre la naturaleza de las referencias determinadas, es conveniente lograr la uniformidad universal de las mismas mediante el uso de las unidades del Sistema Internacional de Unidades, SI, las cuales ya han sido convenidas en el marco de la Convención del Metro. En México, es obligatorio el uso del Sistema General de Unidades de Medida (SGUM) [3], el cual contiene a las unidades del SI.

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

- a. El resultado de la medición cuyo valor es trazable. (La trazabilidad metrológica es hacia el SI, mediante los valores de los MRC con su incertidumbre de medida).
- b. 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)

- c. Cadena ininterrumpida de comparaciones. (Documentar la trazabilidad metrológica donde se evidencie la utilización de MRC trazables al SI)
- d. El valor de la incertidumbre de medida en cada comparación. (La documentación de la trazabilidad metrológica debe contar con los valores y las incertidumbres de medida estimadas en cada comparación)
- e. La referencia al procedimiento de calibración o método de medición química en cada eslabón preferentemente.
- f. 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 metrológica del valor del resultado está establecida a los valores obtenidos mediante el método, por medio de la utilización de MRC en la etapa de cuantificación y trazabilidad metrológica al SI de cada una de las magnitudes que intervienen en el cálculo del valor del mensurando.

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 CRETI, se debe tener trazabilidad metrológica 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 metrológica 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 metrológica de la ema.

Los evaluadores deben solicitar, donde aplique, lo establecido en la Tabla de trazabilidad metrológica 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 metrológica para las mediciones por CG y CLAR.

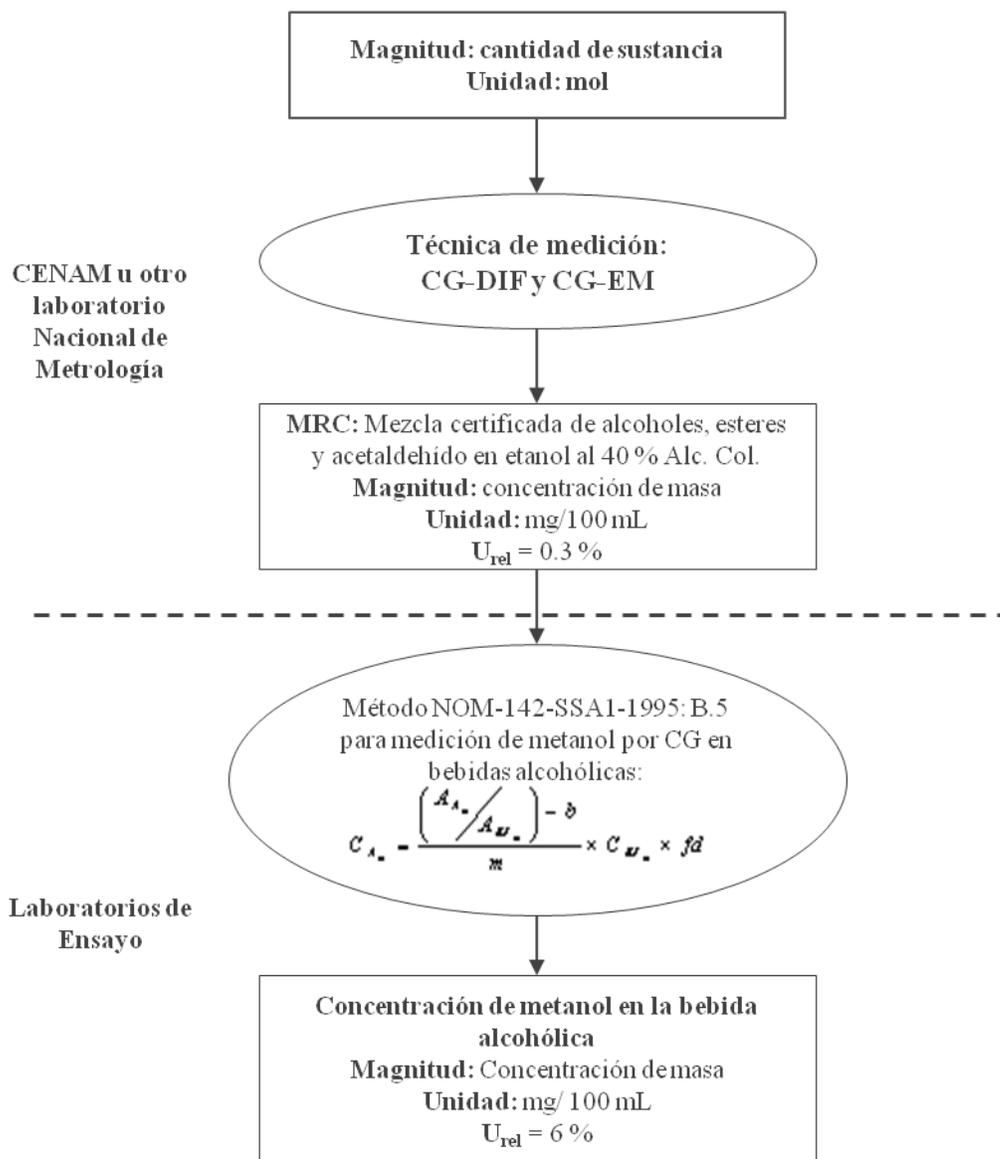
El evaluador debe revisar los mecanismos que el laboratorio tiene para mantener la trazabilidad metrológica, como el uso de patrones, con los propósitos de:

- Asegurar el mantenimiento de la trazabilidad metrológica 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 metrológica mediante el examen detallado de los certificados de calibración de los instrumentos de medida 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 metrológica por ejemplo a través de cartas de trazabilidad metrológica 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 medida; 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.

## EJEMPLO DE LA DOCUMENTACIÓN DE LA TRAZABILIDAD PARA LA MEDICIÓN DE METANOL POR CG/DIF



## 7. INCERTIDUMBRE DE MEDIDA

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 medida 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 medida

- El modelo matemático de la medición, descrito mediante una o varias expresiones matemáticas acompañadas de la nomenclatura correspondiente, y la mención explícita de las hipótesis necesarias para su validez.
- La lista de las fuentes de incertidumbres de medida significativas y una descripción, breve y suficiente de las mismas.
- La mención a fuentes de incertidumbre de medida 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 de medida que contenga al menos, para cada uno de ellos, su variabilidad, la distribución de probabilidad que se le asocie, el coeficiente de sensibilidad y su contribución a la incertidumbre de medida estándar combinada de la medición. La tabla también debe mostrar la incertidumbre de medida estándar combinada y expandida.
- Una nota relativa a la distribución de probabilidad del mensurando.
- Recomendaciones sobre el cálculo y la expresión de la incertidumbre de medida 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 propias pruebas y consideraciones sobre la estimación de la incertidumbre de medida.

De acuerdo con la Política de Trazabilidad [10] e Incertidumbre [11] de la *ema*, para mediciones analíticas, el laboratorio debe aplicar alguna de las siguientes opciones:

- Estimar la incertidumbre de medida 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 medida de la fracción de masa de metanol, cuya medición se basa en la NOM-142-SSA1-1995.

- Estimar la incertidumbre de medida 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.

Ejemplos:

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

En el ejemplo de Tabla de trazabilidad metrológica de las Mediciones Analíticas (Anexo 1), se presentan algunas fuentes de incertidumbre de medida 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 cuales 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 de medida.

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

**Tabla 7 Fuentes de Incertidumbre Medida**

Etapa operativa	Fuentes de incertidumbre de medida	Magnitudes involucradas
1. Submuestreo	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 Analítica (Trazabilidad metrológica)	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 de medida 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 de medida no es significativa puede omitirse 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 medida (de acuerdo al punto 7 de esta guía)

Para el caso de los métodos incluidos en esta guía los parámetros para realizar una confirmación del método 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 medida (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-2006[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 metrológica e incertidumbre de mediciones de la ema, para cuantificar todos aquellos componentes de incertidumbre que contribuyan significativamente a la incertidumbre final de medida. Esto último debe ser realizado según el punto 7 de esta guía.

Nota. En el caso descrito en la sección 7 de incertidumbre de medida 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:

SITUACIÓN	CONFIRMACIÓN DEL MÉTODO O VALIDACIÓN DEL MÉTODO
Desarrollo de un método para un problema en particular	Validación
Existe un método evaluado para aplicarlo en un problema en particular	Validación
Un método establecido, realizar una revisión para incorporar innovaciones	Confirmación del Método o Validación
Un método establecido, extenderlo o adaptarlo a un problema nuevo	Confirmación del Método o Validación
Cuando el control de calidad indica que un método establecido cambia con el tiempo	Confirmación del Método o Validación
Establecer un método en un laboratorio diferente	Confirmación del Método
Establecer un método con diferente instrumentación	Confirmación del Método
Establecer un método con diferente operador	Confirmación del Método

El evaluador debe solicitar al laboratorio la confirmación de todos los métodos, que son empleados en estas técnicas de medición, aún cuando estos sean normalizados.

Para el caso de evidencia de una Confirmación del Método:

- En el caso de realizar una confirmación del método, el grupo 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 confirmación del método.

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 de medida

## **9. BUENAS PRÁCTICAS DE MEDICIÓN**

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 “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. REFERENCIAS

- [1] NMX-Z-055-IMNC-2009, Vocabulario Internacional de Metrología - Conceptos fundamentales y generales, términos asociados (VIM); equivalente al documento ISO/IEC GUIDE 99:2007 y a la tercera edición del VIM.
- [2] NMX-EC-17025-IMNC-2006, 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, 2<sup>nd</sup> Edition, 2000.
- [5] CNM-MRD-PT-008, Manual de Buenas Prácticas de Laboratorio, 2<sup>nd</sup> Edición, 5<sup>a</sup> impresión, septiembre 2002.
- [6] NMX-CC-10012-IMNC-2004, Sistema de gestión de las mediciones - Requisitos para procesos de medición y equipos de medición
- [7] DI-2-PTC-620-RAT-001-2004, Calificación de Equipos de Instrumentos Analíticos, CENAM, abril del 2004.
- [8] CNM-MRD-PT-030, Métodos analíticos adecuados a su propósito. Guía de laboratorio para validación de métodos y tópicos relacionados, CENAM, 1998.
- [9] CENAM, “Buenas Prácticas de Laboratorio en Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución”, febrero 1998.
- [10] MP-CA006, Trazabilidad de las Mediciones - Política de ema vigente.
- [11] MP-CA005, Incertidumbre de Mediciones - Política de ema vigente.

## 11. AGRADECIMIENTOS

Agradecimiento especial a los responsables de la elaboración de esta Guía:

CARBAJAL ALARCÓN Carlos Enrique, CENAM

GARZA ULLOA Humberto Jesús, ALS-Indequim, S.A. de C.V.

GUEVARA HERNÁNDEZ Alicia, CENAM

PÉREZ CASTORENA Alejandro, CENAM

PÉREZ URQUIZA Melina, CENAM

## ANEXO 1 Documentación de trazabilidad metrológica e incertidumbre de medida de CG.

No (1)	NOMBRE DE LA PRUEBA (2)	SUBCOMITÉ (3)	MATRIZ (4)	MENSURANDO			REFERENCIA		TÉCNICA DE MEDICIÓN - TÉCNICA ANALÍTICA (10)
				ANALITO, COMPUESTO O 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 8270 C	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 de la magnitud de interés, 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.
- (10) Nombre de la técnica de medición o técnica analítica utilizada para realizar la medición de la magnitud correspondiente.

SISTEMA DE MEDICIÓN (11)	INSTRUMENTO Y/O MATERIAL VOLUMÉTRICO CALIBRADO (12)	VALIDACIÓN DE MÉTODO DE MEDICIÓN (13)	CEIMA y/o CONFIRMACIÓN METROLÓGICA (14)	TRAZABILIDAD METROLÓGICA (15)			ESTIMACIÓN DE LA INCERTIDUMBRE DE MEDIDA (16)	OBSERVACIONES
				INSTRUMENTO	MÉTODO DE REFERENCIA	MRC O PATRÓN DE REFERENCIA		
Cromatografo Gases con detector selectivo de masa (CG/EM)		si	CEIMA		X	Si	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					

- (11) Nombre del instrumento o sistemas instrumentales de medición que se utilizan para efectuar la medición de cada magnitud.
- (12) Nombre del instrumento y/o material volumétrico calibrado
- (13) Indicar si requiere validación
- (14) Instrumento o Equipo que requiere CEIMA o CM
- (15) Forma de establecer trazabilidad metrológica
- (16) Indicar si requiere estimar incertidumbre de medida

## 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 Metrológica e Incertidumbre de Medida, 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.	Trascripción 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:** Conjunto de operaciones realizadas sobre un sistema de medida para que proporcione indicaciones prescritas correspondientes a valores dados de la magnitud a medir.

[VIM - 3.11, NMX-Z-055-IMNC-2009]

**CADENA DE MEDICIÓN:** Serie de elementos de un sistema de medida que constituye la trayectoria de la señal, desde el sensor hasta el elemento de salida.

[VIM 3.10, NMX-Z-055-IMNC-2009]

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

[VIM 2.39, NMX-Z-055-IMNC-2009]

*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 metrológica 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 cual 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, dígame 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 metrológicos del uso previsto del equipo, así como cualquier sellado y etiquetado requerido.*

*NOTA 2: La confirmación metrológica 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 metrológicos normalmente difieren de los requisitos para el producto y no están especificados en éstos.*

*CRITERIO: El proceso de confirmación metrológica 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 metrológica e Incertidumbre se aplican a este tipo de métodos de prueba (ensayos).*

**INCERTIDUMBRE DE MEDIDA:** Parámetro no negativo que caracteriza la dispersión de los valores atribuidos a un mensurando a partir de la información que se utiliza.

**INSTRUMENTO DE MEDIDA (O MEDICIÓN):** Dispositivo utilizado para realizar mediciones, solo o asociado a uno o varios dispositivos suplementarios.

[VIM 3.1, NMX-Z-055-IMNC-2009]

**INTERVALO DE MEDIDA 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:*

$$xL = xbl + ksbl$$

*Donde  $xbl$  es la media de las mediciones del blanco y  $sbl$  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:** Propiedad de un fenómeno, cuerpo o sustancia, que puede expresarse cuantitativamente mediante un número y una referencia.

[VIM 1.1, NMX Z-055-IMNC-2009]

**MATERIAL DE REFERENCIA:** Material suficientemente homogéneo y estable con respecto a propiedades especificadas, establecido como apto para su uso previsto en una medición o en un examen de propiedades cualitativas.

[VIM 5.13, NMX-Z-055-IMNC-2009]

*CRITERIO: cuando se requiere demostrar trazabilidad metrológica, 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:** trazabilidad metrológica material de referencia acompañado por la documentación emitida por un organismo autorizado, que proporciona uno o varios valores de propiedades especificadas, con incertidumbres y trazabilidad metrológica asociadas, empleando procedimientos válidos.

[VIM 5.14, NMX Z-055 IMNC 2009]

*CRITERIO: Existen 2 tipos de MRC, los que se utilizan para elaborar curvas de calibración y dar trazabilidad metrológica 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 metrológica 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 que se desea medir.

[VIM 2.3, NMX Z-055 IMNC 2009; ISO 34]

*CRITERIO: Para mayor claridad en mediciones analíticas, 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:** Proceso que consiste en obtener experimentalmente uno o varios valores que pueden atribuirse razonablemente a una magnitud.

[VIM 2.1, NMX Z-055 IMNC 2009]

**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 metrológica e incertidumbre.*

**MÉTODO DE MEDIDA (MEDICIÓN):** Descripción genérica de la secuencia lógica de operaciones utilizadas en una medición.

*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 2.5, NMX Z-055 IMNC 2.5]

**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 DE MEDIDA:** Realización de la definición de una magnitud dada, con un valor determinado y una incertidumbre de medida asociada, tomada como referencia.

[VIM 5.1, NMX Z-055 IMNC 2009]

*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 MEDIDA (MEDICION):** Fenómeno que sirve como base de una medición.

[VIM 2.4, NMX Z-055 IMNC 2009]

*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 MEDIDA (MEDICIÓN):** Descripción detallada de una medición conforme a uno o más principios de medida y a un método de medida dado, basado en un modelo de medida y que incluye los cálculos necesarios para obtener un resultado de medida.

[VIM 2.6, NMX Z-055 IMNC 2009]

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

**RECUPERACION (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.*

**CONDICIÓN DE REPETIBILIDAD DE UNA MEDICIÓN:** Condición de medición, dentro de un conjunto de condiciones que incluye el mismo procedimiento de medida, los mismos operadores, el mismo sistema de medida, las mismas condiciones de operación y el mismo lugar, así como mediciones repetidas del mismo objeto o de un objeto similar en un periodo corto de tiempo.

[VIM 2.20, NMX-Z-055-IMNC-2009]

*1 La repetibilidad se puede expresar cuantitativamente con la ayuda de las características de la dispersión de los resultados.*

**CONDICIÓN DE REPRODUCIBILIDAD:** Condición de medición, dentro de un conjunto de condiciones que incluye diferentes lugares, operadores, sistemas de medida y mediciones repetidas de los mismos objetos u objetos similares.

[VIM 2.24, NMX-Z-055-IMNC-2009]

#### 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 MEDIDA:** Conjunto de uno o más instrumentos de medida y, frecuentemente, otros dispositivos, incluyendo reactivos e insumos varios, ensamblados y adaptados para proporcionar valores medidos dentro de intervalos especificados, para magnitudes de naturalezas dadas

[VIM 3.2, NMX-Z-055-IMNC-2009]

*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 metrológica del valor del mensurando.*

**TRAZABILIDAD METROLÓGICA:** Propiedad de un resultado de medida por la cual el resultado puede relacionarse con una referencia mediante una cadena ininterrumpida y documentada de calibraciones, cada una de las cuales contribuye a la incertidumbre de medida.

[VIM 2.41, NMX-Z-055-IMNC-2009]

#### NOTAS

- i. *Este concepto se expresa frecuentemente por el adjetivo trazable.*
- ii. *La cadena ininterrumpida de comparaciones es llamada cadena de trazabilidad metrológica.*

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

[NMX EC 17025 IMNC 2006]

**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 metrológica 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 2006, NMX CC 10012 IMNC 2004 y ISO 8402.*

## ANEXO 3 EJEMPLO DE CONFIRMACIÓN METROLÓGICA DE 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 0.01 mg, una repetibilidad de 0.03 mg y una incertidumbre de medida de 0.04 mg. También requiere que los RMC sean consistentes en intervalos de 20 en 20 g.

Tabla 1

<b>RMC</b>	
Intervalo de trabajo	(20 – 200) g
Incertidumbre	$\leq 0.000\ 40$ g
Repetibilidad	$\leq 0.000\ 03$ 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 0.01 mg, una repetibilidad  $\leq 0.025$  mg, linealidad  $\leq 0.1$  mg.

Tabla 2

<b>Especificaciones</b>	
Intervalo de trabajo	(0 – 210 )g
Incertidumbre	$\leq 0.000\ 1$ g
Repetibilidad	$\leq 0.000\ 025$ 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).

### Confirmación metrológica

Una vez que se tienen los datos de la calibración, se realiza la confirmación 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	Confirmación metrológica
Intervalo de trabajo	(20 – 200) g	(20 – 200 )g	Cumple
Incertidumbre	$\leq 0.000 40$ g	Máximo 0.000 15 g	Cumple
Repetibilidad	$\leq 0.000 03$ g	Máxima 0.000 04 g	No cumple
Resolución	0.000 01 g	0.00001 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 (E)

*Prueba de carga excéntrica:* Variación máxima de lectura obtenida en la prueba de carga excéntrica.

Resolución	Carga	Variación máxima
0.01 mg	100 g	0.00003 g

*Pruebas de repetibilidad:*

Resolución	Carga	Repetibilidad
0.01 mg	100g	0.00001 g
0.01 mg	200g	0.00002 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.

**Confirmación metrológica**

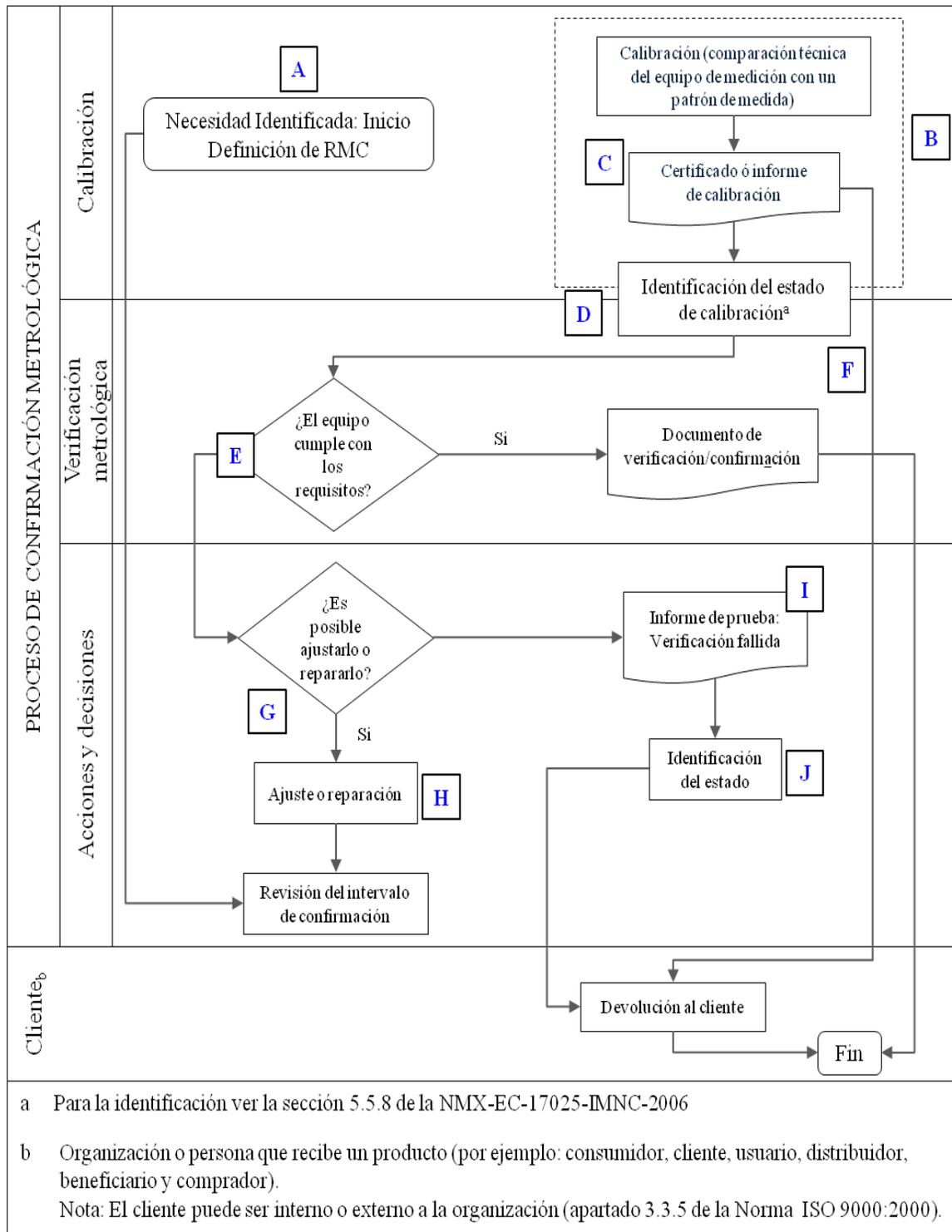
Se comparan las CMEM y los RMC (E).

Tabla 6

	RMC	CMEM	Verificación metrológica
Intervalo de trabajo	(20 – 200) g	(20 – 200 )g	Cumple
Incertidumbre	$\leq 0.000\ 40$ g	Máximo 0.000 15 g	Cumple
Repetibilidad	$\leq 0.000\ 03$ g	Máxima 0.000 02 g	Cumple
Resolución	0.000 01 g	0.00001 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.

Fig. 1 DIAGRAMA DEL PROCESO DE CONFIRMACIÓN METROLÓGICA



## ANEXO 4 EJEMPLOS 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

		CI		
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		X		

Configuración solicitada del Instrumento de Medición y documentos relacionados.				
Comprobación de Especificaciones del Instrumento de Medición. Alcances en función del detector y de los accesorios de introducción de muestras adquiridos.		<b>X</b>	<b>X</b>	
Caída de presión (psi)			<b>X</b>	
Exactitud de Flujo (mL/min)			<b>X</b>	
Ruido del detector			<b>X</b>	
Precisión (DER, Áreas)			<b>X</b>	<b>X</b>
Precisión (DER, t <sub>R</sub> )			<b>X</b>	<b>X</b>
Respuesta del Detector (No. Cuentas)			<b>X</b>	<b>X</b>
Representación Estadística del Desempeño de la aplicación del Instrumento de Medición (Muestras de Control de Calidad)				<b>X</b>
Desempeño de Columna Analítica	<b>X</b>		<b>X</b>	<b>X</b>

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 - $\mu$ 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 comunicación LAN ínter construida, control de inyector automático protección de memoria por fallas de poder	Cumple ( <b>X</b> ) 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 ( <b>X</b> ) No cumple ( )
	Operación a 120V, 60 Hz	Opera a 120V/60 Hz.	Cumple ( <b>X</b> )

			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 ( <b>X</b> ) No cumple ( )
	Intervalo de 0-100 psi	Capacidad de programación de las funciones de flujo y/o presión de 0 a 100 psi.	Cumple ( <b>X</b> ) No cumple ( )
		sistema de ahorro de gas de arrastre (Gas saver)	Cumple ( <b>X</b> ) 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 ( <b>X</b> ) No cumple ( )
	Intervalo de temperatura hasta 350 °C	Intervalo de temperatura hasta 400 °C,	Cumple ( <b>X</b> ) No cumple ( )
		Control neumático electrónico	Cumple ( <b>X</b> ) No cumple ( )
		Con velocidad de muestreo variable de 5 a 50 Hz	Cumple ( <b>X</b> ) 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 ( <b>X</b> ) 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 ( <b>X</b> ) No cumple ( )

#### 4.1.2. Ejemplo de Calificación de Instalación (CI) para CG- $\mu$ DCE

Magnitud	Especificación Funcional	Resultado	Calificación de Instalación (CI)
Temperatura ambiental	5 a 40°C	20 a 27 °C	Cumple ( <b>X</b> ) No cumple ( )
Humedad Relativa	50 a 80 %	50 a 60 %	Cumple ( <b>X</b> ) No cumple ( )
Tensión eléctrica	120 V $\pm$ 5%	118 a 122 V	Cumple ( <b>X</b> ) No cumple ( )
Frecuencia	48 a 66 Hz	60 Hz	Cumple ( <b>X</b> ) No cumple ( )
Fración 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 ( <b>X</b> ) No cumple ( )

#### 4.1.3. Ejemplo de Calificación Operacional (CO) para CG- $\mu$ 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 ( <b>X</b> ) No cumple ( )

Flujos del Detector (DIF)	Gas auxiliar $25 \pm 2.5$ mL/min	23 mL/min	Cumple ( <b>X</b> ) No cumple ( )
Ruido del detector	Señal inicial $\leq 1\ 000$ Hz	110 Hz	Cumple ( <b>X</b> ) No cumple ( )
	Ruido de ASTM $\leq 1,0$ Hz	0.08 Hz	Cumple ( <b>X</b> ) No cumple ( )
	Drift $\leq  15 $ Hz	9,0 Hz	Cumple ( <b>X</b> ) No cumple ( )

#### 4.1.4. Ejemplo de Calificación de Desempeño (C de D) para CG- $\mu$ 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 ( <b>X</b> ) No cumple ( )
Tiempo de retención (Usando un MRC)	Lindano Desviación estándar < a 3%	0.01%	Cumple ( <b>X</b> ) No cumple ( )

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





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 ±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 0,000 1 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

	<b>Especificación Operacional</b>	<b>Resultado</b>	<b>Calificación Operacional (CO)</b>
Exactitud de la longitud de onda (Usando un MRC de cafeína)	272 nm ± 1.5 nm	273 nm	Cumple ( <b>X</b> ) No cumple ( )
Volumen de inyección (Método gravimétrico)	El error aceptado es de 0.3 %	0.25%	Cumple ( <b>X</b> ) 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 ( <b>X</b> ) No cumple ( )
	Para 1.0 mL/min de 0.968 a 1.032 mL/min	0.996 mL/min	Cumple ( <b>X</b> ) No cumple ( )
	Para 5.0 mL/min de 4.94 a 5.06 mL/min	4.967 mL/min	Cumple ( <b>X</b> ) No cumple ( )

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

<b>E.</b>	<b>Especificación Funcional</b>	<b>Resultado</b>	<b>Calificación de desempeño (C de D)</b>
Espectro del filtro de Holmio	360-362 nm	361 nm	Cumple ( <b>X</b> ) No cumple ( )
	452.7-454.7 nm	453.7 nm	Cumple ( <b>X</b> ) No cumple ( )
	535.7-537.7 nm	536.7 nm	Cumple ( <b>X</b> ) No cumple ( )
Prueba Oscura	Valor máximo: ≤ 1 200 cuentas	354 6 cuentas	Cumple ( <b>X</b> ) No cumple ( )
	Valor mínimo: > 291 6 cuentas		

## ANEXO 5 EJEMPLO DE ESTIMACIÓN DE INCERTIDUMBRE DE MEDIDA 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).

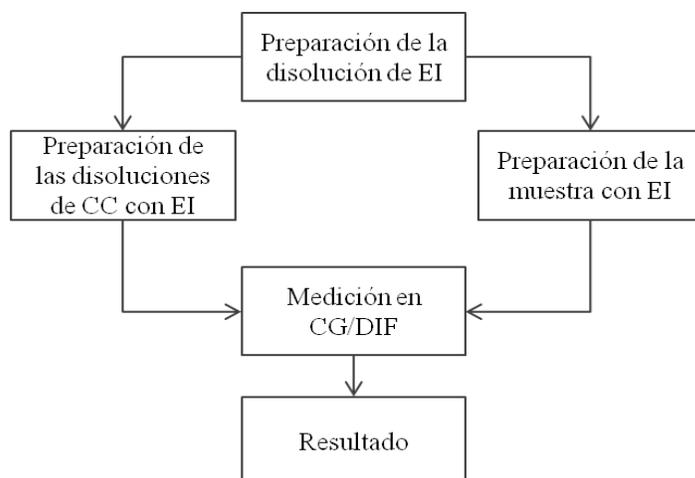
## 2. Procedimiento de medición

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:

- Preparación del Estándar Interno (EI): Se prepara gravimétricamente una disolución madre de 2-Pentanol de 0.08 g/mL de concentración de masa.
- 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.
- 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 0.007 g/mL.
- Medición: Inyección de 1  $\mu\text{L}$  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:

$$C_{A_m} = \left( \frac{\left( \frac{A_{A_m}}{A_{EI_m}} \right) - b}{m} \right) \times C_{EI_m} \times fd \quad (1)$$

Donde:

$A_{A_m}$  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.

$C_{A_m}$  Concentración del compuesto de interés en la muestra.

$m$  pendiente de la regresión lineal

$b$  Ordenada al origen

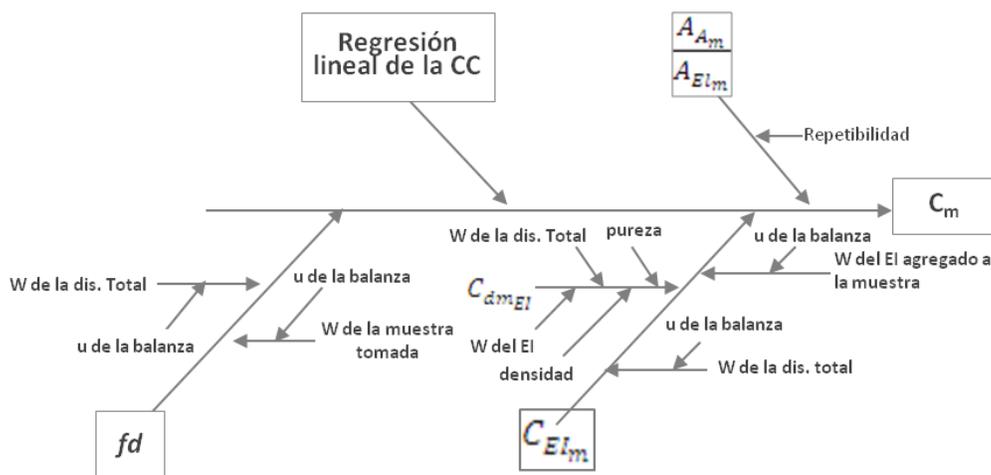
$fd$  Factor de dilución

#### 4. Identificación de las fuentes de incertidumbre de medida

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:



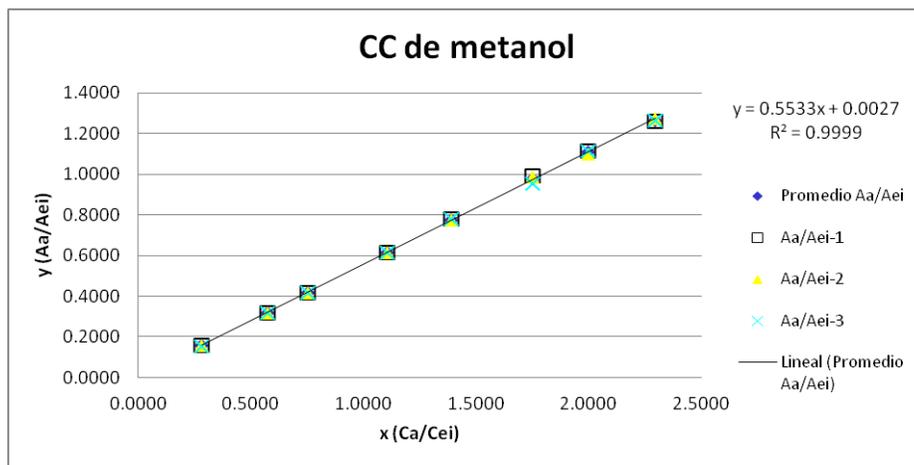
#### 4.1. Incertidumbre debida al modelo matemático de la regresión lineal.

Se construyo 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.



El método de mínimos cuadrados utilizada supone que las incertidumbres de los valores de las disoluciones de calibración, valores del eje de abscisas, son considerablemente más pequeños que las incertidumbres de sus respuestas, valores del eje de ordenadas, por lo que pueden considerarse despreciables tales incertidumbres. La estimación de la incertidumbre asociada al valor interpolado empleando la función de calibración, involucra la variabilidad de los valores de las respuestas de los niveles de concentración de las referencias empleadas en la calibración,  $S$ , el valor de la pendiente,  $b_1$ , el número de réplicas de la muestra,  $p$ , el valor predicho o interpolado de la muestra,  $x_{pred}$ , y el número de puntos de la curva de calibración,  $n$ . La expresión que permite estimar esta incertidumbre se muestra a continuación [1]:

$$var(x_{pred}) = \frac{S^2}{b_1^2} \times \left( \frac{1}{p} + \frac{1}{n} + \frac{(x_{pred} - \bar{x})^2}{(\sum(x_i^2) - (\sum x_i)^2 / n)} \right) \quad (2)$$

Donde:

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

La incertidumbre asociada al valor interpolado empleando la curva de calibración es 0.0002 g/mL.

## 4.2. 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 el inciso a) de la sección 7.1.

4.2.1. Estimación de la incertidumbre de la concentración del estándar interno en la disolución madre.

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

La contracción del EI en la disolución madre involucra la siguiente información: pureza del 2-pentanol, densidad de la disolución de 2-pentanol en etanol y los datos de pesado del proceso de preparación.

- Pureza. Se realizaron 12 mediciones de 2-pentanol en cromatografía de gases con una columna WAX (polietilenglicol enlazado), obteniendo una pureza de 0.986 6 g/mL con desviación estándar de 0.000 3 g/mL.
- Densidad. La densidad de la disolución de 2-pentanol en etanol fue medida con un picnómetro calibrado obteniéndose una densidad de 0.925 5 g/mL e incertidumbre estándar de 0.005 4 g/mL.
- Pesado. Se preparo una disolución de 0.070 8 g/mL de 2-pentanol en etanol; con los siguientes datos de pesado  $W_{2\text{-pentanol}} = 2.084\ 3\ \text{g}$  y  $W_{\text{disolución total}} = 23.537\ 3\ \text{g}$ .

La concentración de la disolución madre se calcula con los datos de los incisos a, b y c; y es la siguiente:

$$C_{dmEI} = \rho_{\text{disolución total}} \times \text{pureza}_{2\text{-pentanol}} \times \frac{W_{2\text{-pentanol}}}{W_{\text{disolución total}}} \quad (3)$$

Donde  $W_{2\text{-pentanol}}$  es la masa del 2-pentanol sin corrección por pureza.

Sustituyendo los valores correspondientes a cada término en la ecuación (3) se obtiene el siguiente valor de concentración de EI.

$$C_{dmEI} = 0.9255 \times 0.9866 \times \frac{2.0843}{23.5373} = 0.0809\ \text{g ml} \quad (4)$$

4.2.1.2. Incertidumbre estándar combinada de la disolución madre del EI.

La incertidumbre combinada del EI de la disolución madre se estima sustituyendo los valores relevantes de incertidumbre, correspondientes al modelo de la ecuación (3), en la expresión correspondiente a la regla 2 de la referencia [1], *relativa a la posibilidad de sumar cuadráticamente las incertidumbres relativas si el modelo es multiplicativo*:

$$u_c(C_{dmEI}) = 0.0809 \times \sqrt{\left(\frac{5.7735 \times 10^{-5}}{2.0843}\right)^2 + \left(\frac{5.7735 \times 10^{-5}}{23.5373}\right)^2 + \left(\frac{0.00156}{0.9255}\right)^2 + \left(\frac{0.0003}{0.9866}\right)^2} \quad (5)$$

$$u_c(C_{dmEI}) = 1.3812 \times 10^{-4}$$

Nota 1. Para la estimación de la incertidumbre de la masa que se pesa se obtiene,  $u_{peso} = u_{balanza}/\sqrt{3} = 0.0001/\sqrt{3} = 5.7735 \times 10^{-5}$ , con el certificado de calibración de la balanza analítica.

Nota 2. Para la estimación de la incertidumbre de la densidad se obtiene,  $u_{densidad} = u_{estandar\ de\ la\ densidad}/\sqrt{3} = (0.0054/2)/\sqrt{3} = 0.00156$ , con el informe de medición de la densidad del 2-pentanol.

#### 4.2.1.3. 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 obtener una concentración de EI en la muestra de 0.006 4 g/mL; con los siguientes datos de masa  $W_{dmEI} = 0,092\ 0\ g$  y  $W_{muestra+EI} = 1.019\ 9\ g$ .

Sustituyendo (4) y b) en la ecuación siguiente se obtiene la concentración del EI en la muestra.

$$C_{EI_m} = C_{dmEI} \times \frac{W_{dmEI}}{W_{muestra+EI}} = (0.0809) \times \frac{0.0920}{1.0199} = 0.0073\ g/mL \quad (6)$$

#### 4.2.1.4. Estimación de incertidumbre de la concentración del EI en la muestra.

Esta estimación considera como modelo matemático la expresión (6) que involucra: 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 (6) en la expresión correspondiente a la regla dos de la referencia [1], *relativa a la posibilidad de sumar cuadráticamente las incertidumbres relativas si el modelo es multiplicativo*:

$$u_c(C_{EI_m}) = 0.0073 \times \sqrt{\left(\frac{5.7735 \times 10^{-5}}{0.0920}\right)^2 + \left(\frac{5.7735 \times 10^{-5}}{1.0199}\right)^2 + \left(\frac{1.3812 \times 10^{-4}}{0.0809}\right)^2} \quad (7)$$

$$u_c(C_{EI_m}) = 1.3280 \times 10^{-5}$$

#### 4.2.2. Incertidumbre estándar combinada del factor de dilución

El cálculo del factor de dilución y su incertidumbre involucra los resultados de pesado de la muestra, que es de 0.927 9 g, y la masa de la muestra + la masa del EI, cuya suma resulta 1.019 9g.

$$fd = \frac{W_{muestra+EI}}{W_{muestra}} = \frac{1.0199}{0.9279} = 1.0991 \quad (8)$$

Para la estimación de la incertidumbre del factor de dilución se utiliza la regla 2 de la referencia [1] nuevamente, obteniéndose el siguiente resultado:

$$u_c(fd) = 1.0991 \sqrt{\left(\frac{5.7735 \times 10^{-5}}{0.09279}\right)^2 + \left(\frac{5.7735 \times 10^{-5}}{1.0199}\right)^2} \quad (9)$$

$$u_c(fd) = 9.2459 \times 10^{-5}$$

#### 4.2.3. Incertidumbre de las relaciones de área de la muestra

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

Tabla 2

	A-1	A-2	A-3
Área de la muestra (metanol)	1 852.540 04	1 867.385 5	2 045.928 83
Área del EI (2-pentanol)	1 885.286 13	1 909.616 7	2 080.2541 5

El resultado del cálculo de las relaciones de área ( $A_A/A_{EI}$ ) correspondientes 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	0.982 6	0.977 9	0.983 5	<b>0.981 3</b>	<b>0.003 0</b>
-------------------	---------	---------	---------	----------------	----------------

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

$$u_{relación\ áreas} = \frac{s_{relación\ áreas}}{\sqrt{n}} = \frac{0.0030}{\sqrt{3}} = 0.0017 \quad (10)$$

Esta incertidumbre expresada en unidades de concentración es:

$$u_{relación\ de\ áreas} = 0.0017 \cdot 0.0073 = 1.241 \times 10^{-5} g/mL \quad (11)$$

Es importante mencionar que la estimación de la incertidumbre del valor interpolado no incluye la variabilidad debida a la repetibilidad de la relación de áreas correspondientes a la muestra y EI.

#### 4.3. Cálculo de la concentración del metanol en la muestra.

La concentración del metanol en la muestra se calcula con la ecuación descrita en el punto 3 de este ejemplo, como sigue:

$$C_{Am} = c_{Am} (estimada) \cdot C_{EI_m} \cdot fd + \delta_1$$

$$C_{Am} = \left( \frac{(0.9813 - 0.0027)}{0.5533} \right) \times 0.0073 \times 1.0991 + \delta_1 \quad (12)$$

$$C_{Am} = C'_{Am} + \delta_1$$

$$C_{Am} = 0.0142 g/mL$$

Donde:

$C_{Am}$	Concentración de masa del analito en la muestra
$c_{Am} (estimada)$	Concentración de masa estimada con la curva de calibración
$C'_{Am}$	Concentración de masa corregida del analito en la muestra
$C_{EI_m}$	Concentración de masa de EI en la muestra
$fd$	Factor de dilución
$\delta_1$	Efecto de la relación de áreas: área muestra / área EI

#### 4.4. Incertidumbre asociada a la concentración de la muestra.

Las incertidumbres asociadas a la concentración (corregida por de factor de dilución y EI) del analito en la muestra (modelo de regresión, factor de dilución, EI en la muestra y relación de

áreas) se combinan empleando la ecuación 11 y la regla 2 de la referencia [1], como se muestra a continuación:

$$u(C'_{Am}) = C'_{Am} \times \sqrt{\left(\frac{u(C'_{Am}(\text{modelo de regresión}))}{C'_{Am}}\right)^2 + \left(\frac{u_c(fd)}{fd}\right)^2 + \left(\frac{u_c(C_{EI_m})}{C_{EI_m}}\right)^2} \quad (13)$$

$$u(C'_{Am}) = \sqrt{u^2(C_{Am}) + u^2\delta_1} \quad (14)$$

Sustituyendo los resultados valores correspondientes en la ecuación 13 se obtiene el valor de incertidumbre estándar combinada siguiente:

$$u_c(\text{muestra}) = 0.0002 \text{ g/mL} \quad (14)$$

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

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	$4.00 \times 10^{-8}$
$C_{EI_m}$	0.0073	$1.33 \times 10^{-5}$	Normal	1.945205479	$2.58323 \times 10^{-5}$	$6.67 \times 10^{-10}$
$fd$	1.09919	$9.25 \times 10^{-5}$	Normal	0.01292	$1.19444 \times 10^{-6}$	$1.43 \times 10^{-12}$
$C'_{Am}$	<b>0.0142</b>	<b>0.0002</b>				

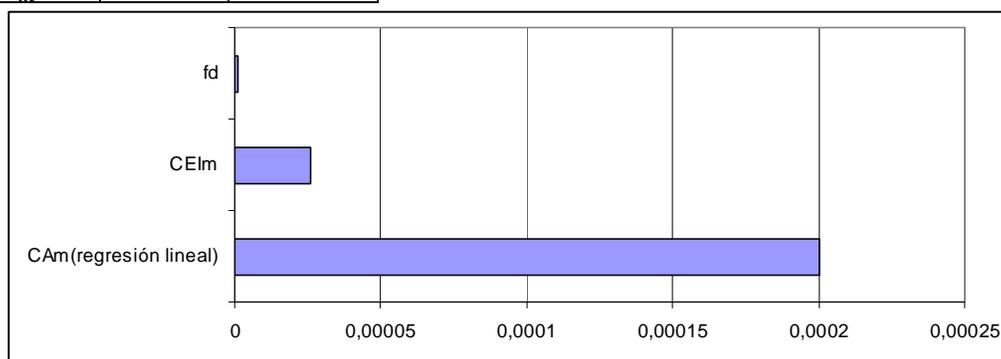


Figura 3

En la tabla 5 y figura 4 se muestran muestra el resumen correspondiente a las contribuciones de incertidumbre en la estimación del valor de la concentración de masa corregida de analito en la muestra considerando la incertidumbre asociada a la variabilidad de las relaciones de área experimentales, correspondientes a la muestra y al EI.

Tabla 5

Magnitud	$v_i$	$u_i$	Tipo de distribución	$c_i$	$c_i u_i$	$(c_i u_i)^2$
$C'_{Am}$	0.0142	0.0002	Normal	1	$2.0166 \times 10^{-4}$	$4.07 \times 10^{-8}$
$\delta_1$	0	$1.241 \times 10^{-5}$	Normal	1	$1.2410 \times 10^{-5}$	$1.54 \times 10^{-10}$
$C_{Am}$	<b>0.0142</b>	<b>0.0002</b>				

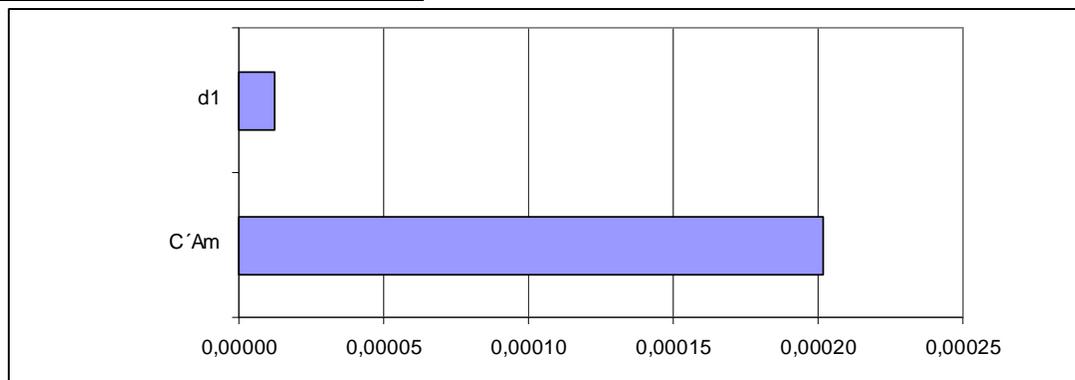


Figura 4

#### 4.5. Incertidumbre expandida

La incertidumbre expandida es estimada con un factor de cobertura igual a 2, que representa un intervalo de confianza de aproximadamente 95%, como sigue:

$$U_{exp} = u_c \times 2 = 0.0002 \times \frac{2g}{mL} = 0.0005g/mL$$

#### 5. Referencias

[1] Eurachem-Citac “Guide Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement” 2nd. Edition, 2000.páginas 26, 74,75 y 106.

## ANEXO 6 BUENAS PRÁCTICAS DE LABORATORIO (BPL)

A continuación se enlistan algunas de las BPL para mediciones CG-CLAR, considerándolas como medidas preventivas a efectuar con el fin de minimizar la obtención de resultados de operación o de mediciones incorrectas, las actividades realizadas deben ser documentadas con el fin de evidenciar su cumplimiento:

### A. Suministro de Fase Móvil

#### A.1. CG

- Al finalizar las labores diarias deben cerrarse las válvulas de los tanques de suministro, y los manómetros.
- Debe cuidarse no agotar al 100% el contenido de los tanques, siguiendo las recomendaciones del proveedor.
- Utilizar pureza de gases adecuada al Instrumento de Medición (IM) y a la aplicación.

#### A.2. CLAR

- Todos los disolventes a usarse como eluentes deben filtrarse a través de filtros de 0.45  $\mu\text{m}$  antes de su uso.
- En el caso de disolventes a utilizarse con detectores UV-Vis, debe de verificarse su absorbancia a las longitudes de onda de la aplicación.
- Se recomienda degasificar los disolventes empleados, mediante agitación, sonicación, vacío, desplazamiento con helio, etc.

### B. Fase estacionaria (Columnas)

#### B.0. CG y CLAR

- Antes de su uso, el laboratorio debe de comprobar y documentar, por su propio personal, el desempeño de las columnas, a condiciones del fabricante.
- Periódicamente es necesario limpiar las columnas de compuestos altamente retenidos, mediante calentamiento a temperatura límite de operación (CG) y / ó lavado con disolventes apropiados (CLAR).
- Para mejor repetibilidad de resultados es conveniente marcar el extremo de la columna 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, tanto 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) y para obtener mejor resolución cromatográfica, la concentración de la MP [no del analito(s) de interés] debe ser tan baja como lo permita la sensibilidad del IM a los analitos de interés. Limpiando las muestras o tomando cantidades pequeñas de muestra
- Hay que poner cuidado especial en las fechas de caducidad de las MP, así como mantenerse en condiciones adecuadas de conservación para minimizar su deterioro físico /químico.

### C.1. CG

- En lo posible, debe evitarse introducir MP con alto contenido de no-volátiles por que se adhieren al puerto de inyección y a la columna, que pueden generar picos fantasma, en caso contrario darle el mantenimiento adecuado y oportuno al inyector, columna y detector.
- En CG Gas-Líquido debe procurarse inyectar el menor volumen posible con el fin de disminuir el efecto del disolvente en el proceso de partición cromatográfica.

### C.2. CLAR

- Debe comprobarse, antes de introducir la MP al IM, 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 introducirla al IM.

## D. Instrumentos de Medición (IM)

### D.0. CG y CLAR

- Las condiciones ambientales como temperatura y humedad deben de ser registradas y controladas tanto para el correcto desempeño de los IM como para cuidar la integridad de disolventes y muestras. Preferentemente de 18 a 28 oC y de 45 a 65% de Humedad Relativa.
- Antes de su uso en una aplicación particular el laboratorio deberá comprobar y documentar, por su propio personal, las pruebas que el proveedor realiza como parte de la instalación y entrega del IM. Los resultados de dichas pruebas, junto con sus criterios de aceptación y rechazo se utilizarán para evidenciar periódicamente, durante el uso rutinario del IM, su buen funcionamiento.

- El personal del laboratorio deberá leer y comprender los Manuales de operación del IM, incluyendo los correspondientes al Software y Hardware proporcionados por el proveedor y evidenciar su entendimiento y aplicación, previo al análisis y reporte de MP.
- Deberá establecerse y dar cumplimiento a un programa de mantenimiento preventivo, tanto interno (reemplazo de consumibles y limpieza básica) como externo dado por personal calificado y autorizado.
- Ya optimizadas las condiciones de operación del IM deberá comprobarse su completo seguimiento con anterioridad a cualquier aplicación específica.
- En forma programada, cada vez que se reinicie el uso de una aplicación y por lote analítico, que no contenga más de 20 MP se deberá comprobar contra especificaciones lo siguiente.
  - a) Limpieza del Proceso Analítico. Mediante el uso de blancos.
  - b) Continuidad de la relación Respuesta contra Concentración. A través de Calibración Continua contra Calibración Inicial del IM.
  - c) Estabilidad del Proceso Analítico. Mediante el uso de Muestras de Control de Calidad (MCC) sometidas al mismo proceso que las MP.
- Deberá asegurarse la trazabilidad metrológica de las mediciones mediante el uso adecuado de MR ó MRC, cuidando su integridad física/química, identificación, conservación y caducidad.
- Al utilizar sistemas de computo para la recolección de resultados de una medición se deberá restringirse adecuadamente 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 :
  - Universales. Responde a la mayoría de los solutos que pasan por él.
  - Específicos ó Selectivos. Exhibe una gran respuesta a un grupo particular de sustancias con un mínimo de respuesta a otras.
- Detectores Destructivos y No destructivos. Esta clasificación, se refiere a sí la muestra es destruida o no, en el proceso de medición.
- Detectores según su Modo de Respuesta:
  - 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 pero es independiente del volumen de la fase móvil requerida para la elusión.
  - Dependiente de la Concentración. Dan una señal proporcional a la cantidad de soluto por unidad de volumen de fase móvil que pasa a través de él.
- Detectores según el proceso de detección, Ionización, Óptico-espectroscópico, Electroquímico, etc.

También aplican algunas de las siguientes características

- *Sensibilidad*. Propiedad de un detector para convertir en respuesta la cantidad de muestra en una señal eléctrica medible.
- *Límite de Detección*. Es la cantidad mínima de una sustancia que produce una señal que es equivalente al doble del nivel de ruido.
- *Ruido*. Es cuantificado por el promedio de la amplitud pico-pico de la señal. El significado de conocer el nivel de ruido de un detector es un factor determinante en la determinación de la cantidad mínima detectable y el límite inferior del intervalo lineal.
- *Linealidad*. Intervalo de masa ó concentración de muestra sobre el cual el detector mantiene una sensibilidad constante sin una desviación arbitraria. El significado práctico de la linealidad del detector es el que le indica al analista la concentración para la cual el detector es confiable. Hay dos límites en la curva de linealidad:
  - El límite de concentración inferior, que es dado por el límite de detección y,

- El límite Superior, definido por un porcentaje de desviación arbitrario de la curva 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 aplicable 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 soportado en un sólido (Cromatografía Gas/Líquido-CGL) donde el proceso de separación es mediante un proceso de partición.
- \* Un sólido (Cromatografía Gas/Sólido-CGS), donde el proceso de separación es mediante un proceso de adsorción.

En CGL la duración y 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 de su solubilidad en la fase líquida estacionaria. La eficiencia de la separación y duración del análisis dependen tanto de las propiedades químicas de la fase estacionaria (naturaleza, composición, propiedades físicas, etc.) como de sus condiciones de contacto físico (longitud, espesor de capa, velocidad lineal, entre otros.) Así como del gas inerte utilizado como fase móvil (helio, nitrógeno e hidrógeno principalmente) y de la temperatura a la cual se lleva a cabo el análisis (isotérmica ó programada).

La configuración instrumental básica consiste de un suministro de fase móvil, un puerto de inyección, 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 a la columna por medio de una jeringa y a través de un sello de hule (septum) situado en el puerto de inyección, el cuál es mantenido a una temperatura mayor que el punto de ebullición del componente menos volátil en la mezcla de muestra, con el fin de asegurar la volatilidad de todos sus componentes. Existen diversos sistemas empleados para la introducción de la muestra al CG, en primera instancia pueden ser manuales ó automatizados y dependiendo también del estado físico de la muestra ya sea sólido en disolución, en estado líquido, vapor o bien un gas, se debe seleccionar el más adecuado, para minimizar pérdidas, el medio de introducción de la muestra puede ser una microjeringa; jeringa ó válvula de muestreo.

La columna de separación es mantenida bajo control de temperatura con el objeto de considerar la separación de compuestos con un amplio intervalo de puntos de ebullición, desde una temperatura inicialmente baja del horno y un incremento posterior de la misma a través del 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 desea medir, así como de la sensibilidad y selectividad requerida. Entre los detectores más comúnmente utilizados se encuentran:

- *Detector de Conductividad Térmica.* Mide la diferencia de conductividad térmica del gas portador, ocasionada por la presencia de sustancias eluidas. Responde a todo excepto al gas portador y es considerado el detector universal.
- *Detector de Ionización de Flama.* Basado en la medida de las variaciones de la corriente de ionización en una flama oxígeno-hidrógeno debido a la presencia de sustancias eluidas. Responde a casi todos los compuestos orgánicos y es considerado el detector específico para compuestos orgánicos.
- *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 libres. Responde a un rango limitado de compuestos, principalmente a halocarburos y es utilizado para el análisis de plaguicidas y herbicidas a nivel de trazas.
- *Detector de fotoionización.* Basado en la ionización selectiva de ciertos compuestos que eluyen de la columna por una lámpara que produce radiación en el espectro UV (típicamente a 10.0 eV), los iones producidos son colectados y el flujo de corriente resultante es medido y amplificado. Frecuentemente se emplea para el análisis de compuestos aromáticos (BTEX, Gasolina, Hidrocarburos insaturados, aromáticos y poliaromáticos),.
- *Detector de Nitrógeno-Fósforo.* También llamado detector de Ionización de Flama Alcalina. Responde a compuestos que tengan nitrógeno ó fósforo en su molécula y es utilizado en análisis farmacéuticos y ambientales.
- *Detector de Fotometría de Flama.* Basada en la medida de la intensidad de la emisión molecular de la fluorescencia de hetero-átomos en las moléculas orgánicas. Responde a compuestos con azufre ó fósforo y es utilizado en análisis ambientales y bioquímicos.
- *Detector de Espectrometría de Masas.* Es un detector que además de información cuantitativa proporciona información cualitativa, basada en la identificación del compuesto a través de su espectro característico de fragmentación másica. Responde a todo excepto al gas portador y es utilizado en casi todo tipo de análisis.

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

Nombre	Ruido	Límite de Detección	Rango Lineal Dinámico	Selectividad
<b>Conductividad Térmica</b>	< 0.057 33 unidades (25 uV/unidad)	400 pg propano/mL usando He como gas acarreador	$10^5 (\pm 5\%)$	
<b>Ionización de Flama</b>	< 0.038 2 pA	5 pg carbón/seg como propano usando N <sub>2</sub> como gas acarreador y un quemador con d.i. de 0.29 mm	$10^7 (\pm 10\%)$ usando N <sub>2</sub> como gas acarreador y un quemador con di de 0.29 mm	
<b>Captura de electrones</b>	< 0.057 33 unidades (5 Hz/unidad)	0.008 pg/seg de lindano	$5 \times 10^4$ con lindano	
<b>Fotoionización</b>		2 pg	$10^7$	10 a 1 g Cinsaturado ./ C saturado
<b>Nitrógeno-Fósforo</b>	< 0.076 5 pA	0.4 pg N/seg; 0.2 pg/seg con una mezcla de azobenceno/malatión	$10^5$ N; $10^5$ P	25,000 a 1 gN/gC, 75,000 a 1 gP/gC con una mezcla de azobenceno/malation
<b>Fotométrico de Flama</b>	$\leq 5$ 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	$10^5$ gS/gC, $10^6$ gP/gC
<b>Selectivo de Masas (Espectrómetro de Masas)</b>		Para Ionización Electrónica: (IE) Modo Barrido : 1 pg Modo Ion Selectivo: 20 fg de Octafluoronaftaleno inyectado en la columna. (*)	$10^6$	

(\*) Sensibilidad en barrido con IE en cuádrupolo: La alicuota de 1  $\mu$ L de una disolución de 1 pg/ $\mu$ L de octafluoronaftaleno en isooctano con una inyección splitless pulsado; en una columna 0.25 mm x 30 m x 0.25  $\mu$ m HP-5MS o equivalente, ... barrido de 2.9 scans/seg, intervalo de 50-300 amu... dará una relación 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 instrumental aplicable a compuestos orgánicos semivolátiles, no volátiles y a iones inorgánicos en solución, en la cual la fase móvil (eluyente) es un líquido y la fase estacionaria puede ser un líquido (Cromatografía Líquido/Líquido-CLL) en la cual el proceso de separación es mediante un proceso de partición ó un sólido (Cromatografía Líquido/Sólido - CLS), en la cual 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 CG:

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 cada vez que eluye un analito transportado en la fase móvil.

Cuarto. La señal electrónica es enviada a un sistema de manejo de información donde cada analito separado genera una respuesta en forma gráfica.

La configuración instrumental básica consiste de (1) Suministro de fase móvil (Eluente), conformado por una bomba de alta presión con recipientes para los disolventes y capacidad para un cambio gradual de composición de la fase móvil con el tiempo, (2) Sistema de inyección para introducir la mezcla problema dentro de la línea de alta presión; (3) Columna, la cuál es un tubo de acero inoxidable conteniendo la fase estacionaria; (4), un detector y (5) un sistema de registro y manejo de datos.

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

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

- *Detector de Índice de Refracción.* Mide el índice de refracción del efluente, ocasionada por la presencia de sustancias eluidas. Por ser su respuesta diferencial responde a todo excepto al efluente, siendo utilizado para analizar sustancias que no absorben en el UV 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 orgánicos a una longitud de onda determinada. Se utiliza para todas aquellas sustancias que tienen uno o más dobles enlaces y los compuestos con electrones no enlazados y no compartidos, como por ejemplo, todas las

olefinas, todos los aromáticos y los compuestos que contienen grupos 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. Casi todos los compuestos fluorescentes absorben por encima de los 400 nm. Los compuestos fluorescentes típicos son sustancias aromáticas polinucleares, los esteroides, los pigmentos de las plantas, las vitaminas, los alcaloides, las catecolaminas y los sistemas que usan reactivos reastreadores , tales como la fluorescamina ó el o-ftaldialdehido (OPA) para el análisis de aminoácidos.
- *Detector Electroquímico.* Incluye tanto detectores amperométricos como coulométricos, siendo los últimos más sensibles y selectivos ya que reaccionan con el 100% del analito vs el 10% máximo del amperométrico. Entre los compuestos típicos que se analizan se incluyen las aminas aromáticas y sus derivados (hidroxilaminas, amidas, quinoniminas), acidos ascórbico y úrico, cisteína, y penicilina, bencidina, ácido fólico, vitamina b6, y otros.

Algunas de las especificaciones más importantes para CLAR se muestran en la siguiente tabla, estas variaran de acuerdo al fabricante.

Nombre	Ruido	Deriva	Límite de Detección	Linealidad	Exactitud de Longitud de Onda
<b>Índice de Refracción</b>	$\pm 2.5 \times 10^{-9}$ UIR (*), a tiempo de respuesta de 4s, 35°C, 1 mL/min H <sub>2</sub> O	$200 \times 10^{-9}$ UIR/h (*), a tiempo de respuesta de 4s, 35°C, 1 mL/min H <sub>2</sub> O			
<b>UV-Visible Con Arreglo de Diodos</b>	$\pm 1.0 \times 10^{-5}$ UA a 254 nm y a 750 nm (**)	$2 \times 10^{-3}$ UA/h a 254 nm (**)		2 UA límite superior	$\pm 1$ nm autocalibrado con líneas de deuterio y filtro de óxido de Holmio
<b>UV-Visible Con Longitud de Onda Variable</b>	$\pm 1.0 \times 10^{-5}$ UA a 254 nm y a 750 nm (**)	$2 \times 10^{-3}$ UA/h a 254 nm (**)		2 UA límite superior	$\pm 1$ nm autocalibrado con líneas de deuterio y filtro de óxido de Holmio.
<b>Fluorescencia</b>			10 fg de antraceno, $\lambda_{ex}$ : 250 nm, $\lambda_{em}$ : 400 nm		$\pm 3$ nm
<b>Electroquímico</b>	5 pA pico a pico (10 MOhms, 2 uF) [Detector Coulométrico]				

(\*) en acuerdo a ASTM E-1303-95

(\*\*) en acuerdo a ASTM E1657-96

Al igual que en CG, el detector selectivo de masas también puede acoplarse a un CLAR para proveer información estructural que ayude a la identificación de algún analito de interés.

#### IDENTIFICACIÓN DE CAMBIOS

INCISO	PÁGINA	CAMBIO(S)
6	17	Se modificó el término “carta de trazabilidad” por “documentación de la trazabilidad”
10	26	Se actualizaron las referencias
Anexo 2	29	Se actualizaron las definiciones
Observaciones:		