



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

58
29

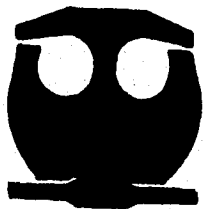
“ OPERACIÓN Y CALIBRACIÓN DE
MATERIAL VOLUMETRICO DE VIDRIO Y
PIPETAS AUTOMÁTICAS DE UN
LABORATORIO ANALÍTICO EN LA
INDUSTRIA FARMACÉUTICA ”.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA

P R E S E N T A

DORIAN PATRICIA HEREDIA OROZCO



MÉXICO, D. F.

1996

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.


JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE	PROFRA. ISaura LUISA CARRERA GARCÍA
VOCAL	PROFRA. MARÍA TERESA BUENTELLO RODRÍGUEZ
SECRETARIO	PROFRA. CONSUELO ARELLANO BORJAS
1er. SUPLENTE	PROFRA. NORMA TRINIDAD GONZÁLEZ MONZÓN
2do. SUPLENTE	PROFR. JOSÉ DE JESÚS GARCÍA VALDÉS

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

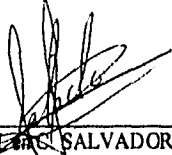
APLICACIONES FARMACÉUTICAS, S.A. DE C.V.

ASESOR:



Q.F.B. ISaura LUISA CARRERA GARCÍA

SUPERVISOR TÉCNICO:



MARCOS SALVADOR SALADO CARBAJAL

SUSTENTANTE:



SRITA. DORIAN PATRICIA HEREDIA OROZCO

DEDICATORIAS

A MIS PADRES:

**AMPARO OROZCO ROMERO
MANUEL HEREDIA GONZÁLEZ**

Quienes siempre me han dado lo mejor de sí mismos
y han sido el motivo que me ha impulsado a alcanzar
esta meta.

Gracias por su amor y su estímulo.

A MI HERMANA:

ALMA NORA

Mi mejor amiga,
mi apoyo y mi fortaleza.

A MIS HERMANOS:

**MANUEL
DANTE WILFRIDO
MARCO ANTONIO
CARLOS Y MARCIA
HUGO Y XÓCHITL**

Por su ejemplo y su apoyo incondicional.

A MIS SOBRINOS:

**CHRISTIAN ISRAEL
EDGAR EMANUEL**

Con mucho cariño y deseos de que
siempre alcancen sus metas.

A MIGUEL

Quien ha hecho suyo mi sueño y mi ilusión,
que me ha enseñado el verdadero significado del amor
y me ha brindado su ayuda incondicional.

A SALVADOR

Con admiración y sincero
agradecimiento por su interés,
su paciencia y sobre todo por su
amistad.

A MIS AMIGOS:

Alejandra, Ana María, Araceli, Carmen, Clara, Grace, Lourdes,
María de Jesús, Marisela, Martha Mireya, Mercedes, Olivia,
Patricia A., Patricia B., Patricia G., Rocío, Alfredo, Arturo, Carlos,
Luis, Miguel, Rubén y Salvador.

Por todo lo que hemos compartido.

GRACIAS A TI SEÑOR DIOS

**Que has sido mi guía y mi luz
y ahora me das la oportunidad
de ver hecho realidad este sueño
y compartirlo con mis seres más
queridos.**

AGRADECIMIENTOS

Con respeto y orgullo a la UNAM y a la Facultad de Química

Con inmensa gratitud a mi asesora, Q.F.B. Isaura L. Carrera, por confiar en mí y brindarme su ayuda.

A los miembros del jurado por dedicar parte de su tiempo en la revisión de este trabajo.

Al personal de Aplicaciones Farmacéuticas S.A. de C.V. en especial a:

Sr. Jean Claude Savoir
Q.F.B. Martha Enríquez López
Q.F.B. Araceli Cabrera Hernández

Por su apoyo y las facilidades prestadas para la realización de este trabajo.

Al personal del Centro A.F. de Estudios Tecnológicos en especial a:

M. en C. María Teresa Francisco
M. en C. Salvador Salado Carbajal

Por sus consejos y orientación.

A la Q.F.B. Marisela Resendiz A. y al Ing. Miguel Vázquez C. por su estímulo y constante apoyo.

Mil gracias a todas aquellas personas que de una u otra forma contribuyeron al desarrollo y conclusión de este trabajo.

**"Y ES QUE PARA ALCANZAR AQUELLO QUE MÁS QUIERAS,
DEBERÁS APRENDER A VENCERTE A TÍ MISMO,
PORQUE LOS OBSTÁCULOS MÁS DIFÍCILES QUE TENDRÁS
EN LA VIDA SON LOS QUE CREAS CON TU PROPIA MENTE".**

DI VAD NA-UJH

INDICE

CONTENIDO	PÁGINA
CAPÍTULO 1	
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO 2	
GENERALIDADES	3
2.1 Antecedentes Históricos	3
2.2 Definición de Conceptos	4
2.2.1 Metrología	4
2.2.2 Medición	5
2.2.3 Exactitud de Medición	5
2.2.4 Precisión o Repetibilidad de Mediciones	5
2.2.5 Reproducibilidad de Mediciones	5
2.2.6 Calibración	6
2.2.7 Recipiente Volumétrico	6
2.2.8 Recipiente Volumétrico Aforado	7
2.2.9 Recipiente Volumétrico Graduado	7
2.2.10 Volumen Nominal	7
2.2.11 Volumen Convencionalmente Verdadero	7
2.2.12 Volumen a Contener	7
2.2.13 Volumen a Entregar	7
2.2.14 Líquido de Prueba	7
2.2.15 Marca de Aforo o de Calibración	7
2.2.16 Tolerancia	8
2.2.17 Sistema Internacional de Unidades	8
2.2.18 Unidades de Medida de Volumen	8
2.3 Características Generales y Clasificación de Recipientes Volumétricos	8
2.4 Normas Relacionadas a la Calibración de Material Volumétrico	12
2.5 Fundamento de la Calibración Gravimétrica de Material Volumétrico	13
CAPÍTULO 3	
OBJETIVOS	19
3.1 Objetivo General	19
3.2 Objetivos Específicos	19

CAPÍTULO 4	
MÉTODOS Y CONSIDERACIONES GENERALES PREVIAS A LA CALIBRACIÓN DE MATRACES VOLUMÉTRICOS Y PIPETAS AUTOMÁTICAS	21
4.1 Procedimiento de Limpieza del Material de Vidrio	21
4.2 Lectura y Ajuste del Menisco	25
4.2.1 Ajuste del Menisco a la Cara Superior de la Línea de Aforo	25
4.2.2 Ajuste del Menisco a la Mitad del Plano de la Línea de Aforo	26
4.2.3 Ajuste del Estrangulamiento del Menisco a la Línea de Aforo	28
4.3 Técnicas de Operación de Pipetas Automáticas	29
4.3.1 Pipeteo de Avance o Normal	29
4.3.2 Pipeteo Reverso	32
4.3.3 Preenjuague (Modo Normal)	34
4.3.4 Posicionamiento del Volumen Residual (Modo Reverso)	34
4.4 Procedimiento Estándar de Operación para Uso y Calibración de "Matraces Volumétricos para Contener"	35
4.5 Procedimiento Estándar de Operación para Uso y Calibración de Pipetas Automáticas	40
CAPÍTULO 5	
PARTE EXPERIMENTAL	44
5.1 Instrumentos, Material y Reactivos	44
5.1.1 Instrumentos	44
5.1.2 Material	45
5.1.3 Reactivos	46
5.2 Desarrollo del Método de Calibración de Matraces Volumétricos	46
5.3 Desarrollo del Método de Calibración de Pipetas Automáticas	48
CAPÍTULO 6	
RESULTADOS	50
CAPÍTULO 7	
CONCLUSIONES	72
ANEXOS	74
BIBLIOGRAFÍA	77

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

En la actualidad se han generado cambios económicos y comerciales importantes en nuestro país, uno de ellos es la inevitable apertura de nuestro mercado y la oportunidad de competir con nuestros productos en los mercados internacionales.

En los actuales Programas de Aseguramiento de Calidad existe un criterio muy importante para garantizar la calidad de un producto a través de mediciones confiables que es conocido como Metrología. El contar con un Aseguramiento Metrológico nos permite demostrar fácilmente la calidad de un producto porque la podemos medir (1, 2, 3).

Con base en lo anterior y teniendo como fundamento **Normas Nacionales e Internacionales:** Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (F.E.U.M.), Ley General de Salud, Ley Federal sobre Metrología y Normalización, Normas de Control de Calidad de la Dirección General de Normas (D.G.N.), "United States Pharmacopeia" (U.S.P.), "International Organization of Standardization" (I.S.O.), "Code of Federal Regulations" (C.F.R.), "American National Standards Institute" / "American Society for Quality Control" (ANSI/ ASQC), "American Society for Testing and Materials" (A.S.T.M.), todo Laboratorio competente debe tener control sobre sus equipos e instrumentos, debiendo asegurar que éstos, ya sean automáticos, mecánicos o electrónicos, usados en la generación, medición o evaluación de datos, sean los adecuados según su capacidad y uso, además de conservar esa característica durante toda su vida útil. Estos equipos deben ser utilizados, calibrados y verificados de acuerdo a Procedimientos Estándar de Operación (PEO), los cuales deben ser lo suficientemente detallados para aplicarse en rutinas de inspección, operación, limpieza, mantenimiento, prueba y calibración del instrumento o equipo (3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10).

Bajo estas premisas y tomando en cuenta que el material para medir volúmenes como es el Material Volumétrico de Vidrio (Matraces Volumétricos) y Pipetas Automáticas son parte esencial del material involucrado en el análisis cuantitativo se considera importante su calibración.

Es muy común que el Químico o Técnico analista consideren como verdadero el volumen medido a la marca de matraces y pipetas sin haber determinado su confiabilidad, sin embargo, aún cuando el material volumétrico está clasificado de acuerdo a sus características de exactitud, es importante obtenerlo con certificado de calibración o calibrarlo nuevo y durante su uso para asegurar la continuidad de la validez de sus mediciones, que es precisamente el objetivo de su calibración.

Existen varios factores que pueden influir en la exactitud y precisión de una medición volumétrica, entre ellos la temperatura, el método de lectura, la limpieza del material, la habilidad del operador, las condiciones ambientales, etc. El propósito de este trabajo es describir un Procedimiento Estándar de Operación para Uso y Calibración del Material Volumétrico de Vidrio (Matraces Volumétricos) y Pipetas Automáticas que se utilizan de manera rutinaria dentro de un laboratorio analítico en la Industria Farmacéutica.

El principio de Calibración aplicado en este trabajo es el gravimétrico que se basa en la determinación de la masa de agua purificada que puede contener o entregar un recipiente y la conversión de este valor al volumen verdadero a la temperatura estándar de 20°C mediante la aplicación de ecuaciones adecuadas y tablas estándar. Es por lo tanto fundamental que los instrumentos involucrados en la calibración gravimétrica como son balanzas y termómetros estén calibrados y cumplan con sus características de operación.

CAPÍTULO 2

GENERALIDADES

2.1. ANTECEDENTES HISTÓRICOS

La historia demuestra que el volumen es una magnitud tan vieja como la civilización misma ya que ha formado parte de la medición de cantidades importantes en el comercio.

El agua, la leche, los jugos, los vinos y los granos eran motivo de controversia tanto cuando se empleaban para pagar el esfuerzo de una larga jornada de trabajo como cuando se exigían como pago por una injusta disposición.

En la antigüedad cuando el hombre era la medida del Universo, las mediciones de volumen no podían realizarse antropométricamente, es decir que para estimar una cantidad de líquido tenían que valerse de algo más que la concavidad de la palma de las dos manos unidas. El líquido por sus características, se escapaba de su control, por lo que las ideas para poder medirlo debían evolucionar. Fue así como se pensó en la construcción de contenedores que habrían de servir de medidas de volumen, la cual se hizo con los materiales de los que se disponía, pero éstos no tardaron en ser falsificados por el hombre en su afán de obtener ventajas ilícitas, así como tampoco resistieron el paso del tiempo, el efecto de la humedad, los roedores y el mal uso, quedando al poco tiempo inservibles. Además con mucha frecuencia eran robados, por ello se pensó que para garantizar su permanencia deberían ser difíciles de transportar por lo que fueron esculpidos en piedra, fundidos en metales pesados y encadenados a las paredes de los castillos y ayuntamientos.

Para evitar la falsificación de ellos, se determinó su fabricación con metales caros y acabados artísticos, sin embargo el advenimiento del Sistema Métrico marcó la desaparición de estos patrones y de las prácticas injustas que los acompañaban (11).

En este nuevo sistema metroológico apareció la unidad de volumen que es el litro (L) el cual se definió como el volumen ocupado por una masa de 1 kilogramo (kg) de agua pura a la temperatura de su densidad máxima (3.98°C) y 1 atmósfera de presión (11).

El mililitro (mL) es definido como la milésima parte de un litro (L) y es ampliamente usado en los casos en donde el litro representa un volumen inconvenientemente grande (12).

Otra unidad de volumen que es aceptada es el centímetro cúbico (cm³), aunque éste y el mililitro son usadas indistintamente sin efecto en la mayoría de las situaciones, estas unidades no son estrictamente idénticas. Sin embargo para fines de calibración del material volumétrico se usa el mililitro (13, 14, 15, 16, 17).

En la actualidad se piensa que los procedimientos de fabricación de los instrumentos de medida usados en volumetría son lo suficientemente buenos para asegurar la exactitud de los volúmenes indicados, sin embargo es conveniente someter los instrumentos a calibración, sobre todo después de largos periodos de uso (15, 17).

2.2. DEFINICIÓN DE CONCEPTOS

2.2.1. **Metrología:** Ciencia de la medición. La Metrología incluye todos los aspectos, tanto teóricos como prácticos que se relacionan con las mediciones, cualquiera que sea su nivel de exactitud y en cualquier campo de la ciencia y la tecnología (18, 19).

2.2.2. **Medición :** Conjunto de operaciones que tienen por objeto determinar el valor de una magnitud. La medición es la asignación de números a objetos materiales, que representan las relaciones existentes entre ellas, con respecto a propiedades particulares (2, 18, 19).

2.2.3. **Exactitud de Medición :** Proximidad de concordancia entre el resultado de una medición y el valor convencionalmente verdadero de la magnitud medida (18, 19).

2.2.4. **Precisión o repetibilidad de mediciones:** Proximidad de concordancia entre los resultados de mediciones sucesivas, efectuadas con la aplicación de la totalidad de las condiciones siguientes:

- mismo método de medición
- mismo observador
- mismo instrumento de medición
- mismo lugar
- mismas condiciones de uso
- repetición en periodos cortos de tiempo

NOTA: La repetibilidad puede expresarse cuantitativamente como una característica de la dispersión de los resultados (18, 19).

2.2.5. **Reproducibilidad de Mediciones :** Proximidad de concordancia entre los resultados de las mediciones, en el caso que las mediciones individuales sean efectuadas haciendo variar condiciones, tales como :

- método de medición
- observador
- instrumentos de medición
- lugar
- condiciones de uso
- tiempo

NOTAS:

- 1) Para que una expresión de reproducibilidad sea válida, es necesario especificar las condiciones que se han cambiado.
- 2) La reproducibilidad puede expresarse cuantitativamente como una característica de la dispersión de los resultados (18, 19)

2.2.6. Calibración : Conjunto de operaciones que tiene por finalidad determinar los errores de un instrumento para medir y de ser necesario, otras características metroológicas Por medio de la calibración se establece si el desempeño de un instrumento satisface las especificaciones de diseño con revisiones periódicas para determinar su precisión, exactitud, sensibilidad y reproducibilidad (2, 6).

2.2.7. Recipiente Volumétrico : Es aquél destinado a contener o medir volúmenes determinados de líquidos y dependiendo de su uso y forma, se les denomina: matraz, bureta, pipeta, etc. (13).

- 2.2.8 **Recipiente Volumétrico Aforado :** Es aquél que sólo tiene una línea o marca de graduación que indica la capacidad total a contener del recipiente (13).
- 2.2.9 **Recipiente Volumétrico Graduado :** Es aquél que tiene varias marcas de graduación equidistantes o no y que permite obtener lecturas a diferentes niveles en todo el intervalo de la capacidad total del recipiente (13).
- 2.2.10 **Volumen Nominal :** Es el volumen teórico de la medida volumétrica (20).
- 2.2.11 **Volumen Convencionalmente Verdadero:** Es el volumen real de la medida volumétrica (20).
- 2.2.12 **Volumen a Contener :** Es el volumen del líquido de prueba requerido para llenar la medida volumétrica hasta la marca de aforo o calibración (20).
- 2.2.13 **Volumen a Entregar :** Es el volumen de líquido de prueba, que puede ser vaciado de la medida volumétrica con un tiempo determinado de escurrimiento (20).
- 2.2.14 **Líquido de Prueba :** Es el fluido utilizado para la calibración de un recipiente volumétrico (20).
- 2.2.15 **Marca de aforo o de calibración :** Línea u otra marca sobre el dispositivo indicador que corresponde a uno o más valores definidos de la cantidad medida (20).

- 2.2.16 **Tolerancia :** Es la máxima desviación permitida del valor nominal del utensilio o recipiente (13).
- 2.2.17 **Sistema Internacional de Unidades, SI:** Sistema de Unidades de Medida adoptado y recomendado por la Conferencia General de Pesas y Medidas (CGPM) que es el único legal y de uso obligatorio en los Estados Unidos Mexicanos (2, 19, 21).
- 2.2.18 **Unidades de Medida del Volumen :** Las unidades de medida de volumen que deben ser utilizadas son: el metro cúbico (m^3) y el litro (L), así como sus múltiplos y submúltiplos: centímetro cúbico (cm^3) y mililitro (mL) de acuerdo al Sistema Internacional de Unidades. Aún cuando el centímetro cúbico (cm^3) y el mililitro (mL) no son exactamente iguales ($1,000028 cm^3 = 1 mL$) la diferencia es despreciable en los cálculos que involucren los análisis volumétricos (12, 13, 14, 15, 16, 17, 21, 22).

2.3. CARACTERÍSTICAS GENERALES Y CLASIFICACIÓN DE RECIPIENTES VOLUMÉTRICOS :

Los recipientes volumétricos de vidrio deben cumplir con ciertas especificaciones y requisitos generales de fabricación y exactitud que se encuentran detallados en Normas oficiales (13, 14, 23, 24, 25, 26, 27) y que deben ser cumplidas estrictamente por los fabricantes. Solo por mencionar algunas, se tienen las inscripciones mínimas que deben aparecer en forma clara, permanente y de un tamaño tal que sean legibles en condiciones normales de uso del recipiente y que son: la clase, la capacidad dada en mL o en cm^3 , el tiempo de entrega, la temperatura de calibración ($20^{\circ}C$), su marca de aforo, la tolerancia, el método de uso, es decir si el recipiente se usa para contener (PC(13), TC(15, 23, 28, 29), IN(14, 22)) o

para vaciar o entregar (PV, PE(13), TD(15, 23, 28, 29), EX(14, 22)). Así como una serie de características en las líneas de graduación o aforo, como forma, dimensiones , espacio entre las mismas, longitudes, espesores, etc (13, 14, 22, 23, 24, 25, 26, 27).

Los recipientes volumétricos comerciales se clasifican en varias categorías que dependen básicamente de la tolerancia aceptada para la calibración.

Recipientes Certificados : Los recipientes Certificados son de muy buena calidad en cuanto al material incluido en su construcción y de la más alta exactitud, son calibrados bajo las especificaciones de la Clase A y cada pieza es distribuida con un número de serie y un certificado individual que garantiza su calibración (28).

Recipientes Clase A : Los recipientes Clase A son fabricados con la mismas tolerancias que los recipientes Certificados, pero no se distribuyen con certificado, se apegan a las especificaciones del National Bureau of Standards (NBS) y de American Society for Testing and Materials (ASTM). Cada instrumento debe ser marcado con la letra A que significa que cumple con sus requisitos de construcción y exactitud. Para estos recipientes la especificación relativa al límite de error de calibración es aproximadamente del orden de 0.1 % (13, 23, 24, 28, 29).

Recipientes Clase B : Son conocidos también como grado estudiante. El propósito general de los recipientes Clase B es el mismo que el de los recipientes Clase A, sin embargo son fabricados y calibrados con tolerancias que generalmente corresponden a un límite de error del orden de dos veces el de los recipientes Clase A (13, 23, 24, 28, 29).

Recipientes de Otros Tipos : Existen también algunas especificaciones para otros recipientes de vidrio calibrados, distribuidos por dependencias oficiales o sociedades profesionales. Las tolerancias para éstos y sus especificaciones se encuentran en catálogos específicos en los cuales se detallan las características particulares de cada producto, además de ser indicadas en el recipiente (28).

Los instrumentos de medida más comúnmente empleados en el análisis volumétrico son:

Matraces Volumétricos o Aforados. Estos son recipientes cuya capacidad por lo común es de 5, 10, 25, 50, 100, 200, 250, 500 y 1000 mL. El cuello alargado que los caracteriza deja un espacio suficientemente grande entre la marca de aforo y el tapón, con el objeto de poder mezclar, por inversiones sucesivas del matraz, el líquido en él contenido. Por otra parte, el cuello de estos matraces es relativamente estrecho con el fin de que pequeñas variaciones de volumen, produzcan una diferencia notable en la altura del menisco (17, 30, 31, 32).

Los matraces volumétricos generalmente son calibrados para "contener" el volumen especificado cuando se llenan hasta la línea grabada sobre el cuello. Algunos también son calibrados para vaciar, descargar o "entregar"; aunque éstos se usan rara vez, se distinguen por tener dos líneas de referencia. Si se desea vaciar el volumen establecido, el matraz se llena hasta la línea más alta (17, 32).

Pipetas. Las pipetas son instrumentos que sirven para medir pequeños volúmenes de líquidos; las hay de varias clases, pero las principales son las volumétricas, las automáticas y las graduadas (son de interés en este trabajo las automáticas).

Las pipetas volumétricas son tubos de vidrio con un ensanchamiento central; la parte inferior termina en una boca estrecha de forma aguda; sobre el ensanchamiento se encuentra una marca que define el volumen del instrumento, el cual está comprendido entre esa marca y la parte inferior, cuando el líquido se deja salir (17, 30, 31, 32).

Las pipetas volumétricas más comunes son de las siguientes capacidades: 0,5; 1; 2; 3; 4; 5; 10; 15; 20; 25 y 50 mL.

Las pipetas automáticas son instrumentos que están constituidos por un émbolo que es controlado por un botón y una punta dosificadora desmontable que es colocada en el extremo inferior de la pipeta, tienen como propósito general muestrear y dosificar volúmenes exactos de líquido. Existen de uno o dos componentes (topes), aunque las más comunes son las de dos componentes. Su principio de funcionamiento es por desplazamiento de aire a través del cuerpo de la pipeta con ayuda del émbolo que se coloca en la posición media (primer tope) o en la inferior (segundo tope). Este tipo de pipetas tienen la capacidad de controlar con un simple botón la succión y entrega del líquido y la liberación de la punta dosificadora (34, 35). Algunos autores las consideran adecuadas por sus características de precisión pero no de exactitud (33).

Las repipeteadoras o dosificadoras son instrumentos muy similares a las pipetas automáticas, pero las primeras tienen la capacidad de dosificar varias veces el mismo volumen con una sola carga de líquido, así como dosificar volúmenes diferentes al modificar la posición del ajuste de control con el que cuentan, en combinación con las puntas dosificadoras desmontables, de volumen variable que se les adaptan, **Tabla 2.2.e** (35).

2.4. NORMAS RELACIONADAS A LA CALIBRACIÓN DE MATERIAL VOLUMÉTRICO

Debido a la gran variedad de formas y composiciones del material que se emplea en un laboratorio analítico y por el uso al que se destina, se le debe clasificar, manejar y calibrar adecuadamente para ser utilizado en forma correcta y minimizar los errores en los análisis y pruebas en que interviene.

De acuerdo a la Regulación Sanitaria Nacional (4), y a la Farmacopea de los Estados Unidos de América (USP) (9), entre otros documentos importantes, todo el material empleado en la realización de mediciones debe ser calibrado previo a su uso, empleando métodos oficiales y debe cumplir con los requisitos y características de fabricación y uso que permitan tener el grado de precisión y exactitud requeridas en los análisis volumétricos.

Para la USP las tolerancias de capacidad para recipientes volumétricos deben ser las aceptadas por el "National Bureau of Standards (NBS) (23, 36), la cual concuerda con lo especificado en otros documentos Nacionales e Internacionales tales como la Norma Oficial Mexicana "Utensilios y Recipientes Volumétricos de Vidrio para Laboratorio" **NOM-BB-86** (13), "Laboratory Glassware-Volumetric Glassware-Methods for Use and Testing of Capacity" (Métodos para Uso y Prueba de Capacidad de Material Volumétrico de Vidrio) **ISO 4787** (14), "One-Mark Volumetric Flasks" (Matraces Volumétricos con una Marca) **ISO 1042** (22) "Standard Practice for Calibration of Volumetric Ware" (Práctica para Calibración de Recipientes Volumétricos) **ASTM E 542** (15), "Standard Specification for Laboratory Glass Volumetric Apparatus" (Especificaciones Estándar para Recipientes Volumétricos de Vidrio) **ASTM E694** (24), Guía de Procedimientos Adecuados de Laboratorio Analítico y Guía de Procedimientos Adecuados de Limpieza de Material Analítico de CIPAM (Comité Interinstitucional de Prácticas Adecuadas de Manufactura Farmacéutica) (37, 38).

Es fundamental que los instrumentos involucrados en la calibración de material de vidrio para medir volúmenes como son balanzas y termómetros estén calibrados y cumplan con sus características de operación, esto significa que la balanza debe tener suficiente capacidad y dimensiones adecuadas para pesar el recipiente volumétrico cargado, tomando en cuenta que la sensibilidad de la balanza es un factor limitante en la exactitud de las mediciones. Puede ser usado cualquier tipo de balanza analítica, en cualquier caso debe estar protegida de corrientes de aire y otras perturbaciones y ser calibrada con una exactitud adecuada de acuerdo a su alcance, comúnmente se requieren pesas con tolerancias Clase S-1 de acuerdo a NBS (15).

Las características del termómetro empleado, estarán en función de los requerimientos de exactitud de la calibración volumétrica, sin embargo es evidente que la determinación de temperatura del agua es uno de los factores críticos que influyen en la calibración de material volumétrico, de ahí la conveniencia de emplear un termómetro con división mínima de $0,1^{\circ}\text{C}$ debidamente calibrado (15).

2.5. FUNDAMENTO DE LA CALIBRACIÓN GRAVIMÉTRICA DE MATERIAL VOLUMÉTRICO :

La calibración del Material Volumétrico de acuerdo con los documentos citados anteriormente, consiste en la determinación gravimétrica del volumen de agua purificada empleada como líquido de prueba requerida para llenar el recipiente hasta la marca de aforo (para contener) o la determinación del volumen de agua que puede ser vaciado por el recipiente (para entregar), considerando condiciones específicas de temperatura del líquido de prueba, humedad, presión y temperatura ambientales.

Es importante mencionar que los matraces volumétricos pueden calibrarse mediante la determinación del peso de agua que contienen (método gravimétrico) que es el método de interés en este trabajo o utilizando las ampollas de calibración de Morse-Blalock, este segundo método se recomienda cuando es necesario calibrar un número grande de matraces y consiste en vaciar en un matraz seco el agua contenida en el calibrador Morse-Blalock y observar si el nivel del menisco coincide con la línea de aforo (16,42).

El agua purificada es el líquido de elección para la mayoría de los trabajos de calibración de recipientes volumétricos pues forma un menisco cóncavo como casi todos los líquidos, es económica, inocua y de fácil manejo aunque el mercurio también es útil, particularmente cuando se trata de volúmenes pequeños, ya que no moja las superficies de vidrio y es idéntico el volumen de mercurio contenido por los recipientes al que éstos dejan salir. No obstante el menisco convexo del mercurio da lugar a una pequeña corrección que debe ser aplicada para dar el volumen correspondiente a un líquido que forme un menisco cóncavo. La magnitud de esta corrección depende del diámetro del recipiente y de la marca de aforo, además de que es más caro que el agua y presenta un alto grado de toxicidad por lo que su manejo se hace más complicado (12).

Un aspecto fundamental en el desarrollo de este trabajo es conocer las especificaciones para instrumentos de vidrio empleados en la medición de volúmenes (Matraces Volumétricos) dadas por las fuentes oficiales más importantes y establecer un cuadro comparativo : **Tabla 2.1** (9, 13, 15, 36).

De igual forma se deben conocer las especificaciones de pipetas automáticas de diferentes marcas para poder establecer la comparación con las especificaciones de las pipetas volumétricas de vidrio y elegir así la marca que presente mayor exactitud y satisfaga las necesidades del laboratorio, **Tablas 2.2.a a 2.2.e** (34, 35, 45, 46).

TABLA 2.1

TABLA COMPARATIVA DE LAS ESPECIFICACIONES DE MATERIAL VOLUMÉTRICO (MATRACES Y PIPETAS VOLUMÉTRICAS) DE ACUERDO A DIFERENTES NORMAS

MATRAZ VOLUMÉTRICO

CAPACIDAD	NORMA MEXICANA		U.S.P.		N.B.S.		A.S.T.M.		
	EXACTITUD	REPRODUCIBILIDAD	EXACTITUD	REPRODUCIBILIDAD	EXACTITUD	REPRODUCIBILIDAD	EXACTITUD	REPRODUCIBILIDAD	
mL	mL	mL	mL (%)	mL	pl cont.	pl entreg.	mL	mL	mL
5	0,02	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	0,02	N/D
10	0,02	0,005	0,02 (0,2)	N/D	0,02 mL	0,04 mL	0,005	0,02	0,005
25	0,03	0,005	0,03 (0,12)	N/D	0,03 mL	0,05 mL	0,005	0,03	0,005
50	0,05	0,007	0,05 (0,10)	N/D	0,05 mL	0,10 mL	0,007	0,05	0,007
100	0,08	0,011	0,08 (0,08)	N/D	0,08 mL	0,15 mL	0,011	0,08	0,011
200	0,10	0,014	N/D	N/D	0,10 mL	0,20 mL	0,014	0,10	0,014
250	0,12	0,017	0,12 (0,05)	N/D	N/D	N/D	0,017	0,12	0,017
500	0,20	0,021	N/D	N/D	0,15 mL	0,30 mL	0,021	0,20	0,021
1000	0,30	0,042	N/D	N/D	0,30 mL	0,50 mL	0,042	0,30	0,042

PIPETA VOLUMÉTRICA

CAPACIDAD	NORMA MEXICANA		U.S.P.		N.B.S.		A.S.T.M.		
	EXACTITUD	REPRODUCIBILIDAD	EXACTITUD	REPRODUCIBILIDAD	EXACTITUD	REPRODUCIBILIDAD	EXACTITUD	REPRODUCIBILIDAD	
mL	mL	mL	mL (%)	mL	mL	mL	mL	mL	mL
1	0,005	0,002	0,005 (0,50)	N/D	N/D	N/D	0,002	0,005	0,002
2	0,005	0,002	0,005 (0,30)	N/D	0,01	0,005	0,002	0,005	0,002
3	0,01	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	0,01	N/D
4	0,01	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	0,01	N/D
5	0,01	0,002	0,01 (0,20)	N/D	0,02	0,01	0,002	0,01	0,002
10	0,02	0,003	0,02 (0,20)	N/D	0,03	0,02	0,003	0,02	0,003
20	0,03	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	N/D	0,03	N/D
25	0,03	0,005	0,03 (0,12)	N/D	N/D	N/D	0,005	0,03	0,005
50	0,05	0,007	0,05 (0,10)	N/D	0,08	0,05	0,007	0,05	0,007

N/D = No Disponible

TODOS LOS RECIPIENTES SON CLASE A

MÉTODO: DETERMINACIÓN DE LA MASA DE AGUA CONTENIDA O ENTREGADA POR UN RECIPIENTE

TABLAS DE ESPECIFICACIONES DE PIPETAS AUTOMÁTICAS.

TABLA 2.2.a

PIPETA AUTOMÁTICA MARCA "A" DE VOLUMEN FIJO				
VOLUMEN DE PRUEBA	EXACTITUD		PRECISIÓN	
μL	%	μL	%	μL
1	2,5	0,03	1,8	0,02
2	2,0	0,04	1,2	0,02
5	1,5	0,08	0,8	0,04
10	1,0	0,10	0,5	0,05
20	0,8	0,16	0,3	0,06
50	0,7	0,35	0,3	0,15
100-2500	0,8	0,60	0,2	0,20

TABLA 2.2.b

PIPETA AUTOMÁTICA MARCA "B" DE VOLUMEN VARIABLE				
VOLUMEN DE PRUEBA	EXACTITUD		PRECISIÓN	
μL	%	μL	%	μL
2 - 10	x	0,20	x	0,07
10 - 50	x	0,60	x	0,10
40 - 200	x	0,60	x	0,50
200 - 1000	x	8,00	x	2,50
1000 - 2000	x	30,00	x	8,00
2001 - 3000	x	45,00	x	10,00
3001 - 5000	x	50,00	x	18,00

TABLA 2.2.c

PIPETA AUTOMÁTICA MARCA "C" DE VOLUMEN VARIABLE			
VOLUMEN DE PRUEBA	INTERVALO DE MEDICIÓN	EXACTITUD	
μL	μL	mg	%
2	0,5 - 10,0	1,8 - 2,2	10,0
20	5 - 40	19,7 - 20,3	1,5
100	40 - 200	99,0 - 101,0	1,0
500	200-1000	495,0 - 505,0	1,0
2000	1000-5000	1980,0 - 2020,0	1,0

TABLA 2.2.d

PIPETA AUTOMÁTICA MARCA "A" DE VOLUMEN VARIABLE					
VOLUMEN DE PRUEBA	EXACTITUD		PRECISIÓN		INTERVALO DE MEDICIÓN
	μL	%	μL	%	
0,5	3,0	0,03	2,8	0,01	0,5 - 10
1,0	2,5	0,03	1,8	0,02	
5,0	1,5	0,08	0,8	0,04	
10,0	1,0	0,10	0,4	0,04	
2	6,0	0,12	5,0	0,10	2 - 20
10	1,2	0,12	0,6	0,06	
20	0,8	0,16	0,3	0,06	
10	2,0	0,20	0,5	0,05	10 - 100
20	1,2	0,24	0,3	0,06	
50	0,6	0,30	0,3	0,15	
100	0,7	0,70	0,2	0,20	
50	1,0	0,50	0,3	0,15	50 - 250
100	0,9	0,90	0,3	0,30	
200	0,6	1,20	0,2	0,40	
250	0,6	1,50	0,2	0,50	
200	0,8	1,60	0,3	0,60	100 - 1000
500	0,6	3,00	0,2	1,00	
1000	0,6	6,00	0,2	2,00	
500	1,0	5,00	0,2	1,00	500 - 2500
1000	0,8	8,00	0,2	2,00	
2000	0,7	14,0	0,2	4,00	
2500	0,6	15,0	0,2	5,00	

TABLA 2.2.c

ESPECIFICACIONES PARA REPIPETEADORA MARCA "A"							
VOLUMEN DE PUNTA		0,5 mL	1,25 mL	2,5 mL	5,0 mL	12,5 mL	50,0 mL
EXACTITUD		± 1,5 %	± 1,2 %	± 1,0 %	± 0,8 %	± 0,7 %	± 1,0 %
ERROR DE REPETIBILIDAD		± 1,0 ± 0,6 %	± 0,8 ± 0,5 %	± 0,6 ± 0,4 %	± 0,5 ± 0,2 %	± 0,5 ± 0,2 %	± 0,5 %
AJUSTE DEL CONTROL	NÚMERO MÁXIMO DE PIPETEOS	VOLUMEN POR PIPETEO	VOLUMEN POR PIPETEO	VOLUMEN POR PIPETEO	VOLUMEN POR PIPETEO	VOLUMEN POR PIPETEO	VOLUMEN POR PIPETEO
		µL	µL	µL	µL	µL	mL
1	48	10	25	50	100	250	1
2	23	20	50	100	200	500	2
3	15	30	75	150	300	750	3
4	11	40	100	200	400	1000	4
5	8	50	125	250	500	1250	5

CAPÍTULO 3

OBJETIVOS:

3.1 OBJETIVO GENERAL :

- Describir los Procedimientos Estándar de Operación para Uso y Calibración de Matraces Volumétricos y Pipetas Automáticas que permitan evaluar sus características de exactitud .

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS :

- Realizar un estudio comparativo de las especificaciones de exactitud de Matraces Volumétricos, establecidas por diferentes fuentes oficiales como son las Farmacopeas (FEUM y USP) así como Normas Nacionales e Internacionales.
- Establecer la manera correcta de aforo (colocación del menisco).
- Determinar si existen diferencias significativas, en los dos criterios de cálculo de volumen de Matraces Volumétricos, sugeridos por fuentes oficiales.

- Calibrar Matraces Volumétricos de 5, 10, 25, 50 y 100 mL.
- Comparar las especificaciones de exactitud de Pipetas Automáticas establecidas por sus fabricantes.
- Calibrar Pipetas Automáticas de diferentes marcas ("A", "B" y "C") para evaluar su exactitud y la conveniencia de su utilización.

CAPÍTULO 4

MÉTODOS Y CONSIDERACIONES GENERALES PREVIAS A LA CALIBRACIÓN DE MATRACES VOLUMÉTRICOS Y PIPETAS AUTOMÁTICAS.

4.1. PROCEDIMIENTO DE LIMPIEZA DEL MATERIAL DE VIDRIO.

La limpieza del material utilizado en los métodos analíticos ha sido siempre motivo de gran inquietud por la importancia que tiene para la confiabilidad y exactitud de los resultados obtenidos en los análisis ya que la presencia de residuos de grasa o de otro tipo pueden provocar un escurrimiento incompleto o deformación del menisco, falseando con ello las lecturas (13, 14, 15, 17, 22, 36, 38, 39).

En la realización de este trabajo se emplearon matraces volumétricos nuevos, con lo que se evitó la influencia de factores negativos ocasionados por mal uso o una inadecuada limpieza que pudieran alterar los resultados, sin embargo, aún en este caso es necesario garantizar su limpieza como paso previo a la calibración siguiendo las indicaciones que a continuación se describen.

- 4.1.1. Enjuagar el material inmediatamente después de haberlo utilizado, para facilitar su limpieza.

- 4.1.2. Lavar el material de vidrio con una solución acuosa de detergente no abrasivo (existen a la venta varias marcas con características especiales para este fin) y con la ayuda de un escobillón remover cualquier residuo adherido a las paredes del recipiente, tener mucho cuidado de no rayarlo o maltratarlo con el alambre del escobillón.
- 4.1.3. Enjuagar el recipiente con agua corriente hasta que se remuevan las trazas de detergente y finalmente enjuagar con agua purificada.

Un método para determinar la presencia de trazas de detergente en un recipiente consiste en hacer reaccionar una solución de azul de metileno con una muestra de agua purificada con la que previamente se ha enjuagado el recipiente. Se forma una sal azul soluble en cloroformo, cuya intensidad de color es directamente proporcional a su concentración, la cual se mide en un espectrofotómetro determinando el valor de absorbancia a una longitud de onda de 650 o 655 nm (40).

Se sabe que un recipiente está limpio cuando el agua se adhiere a la superficie del vidrio en una película continua.

- 4.1.4. Cuando un recipiente tiene grasa se puede enjuagar con agua caliente o con algún disolvente orgánico como: alcohol etílico, éter, acetona o cloroformo, después lavar con una solución acuosa caliente de detergente, enjuagar abundantemente con agua corriente y finalmente con agua purificada.

- 4.1.5. Si las paredes del recipiente no están suficientemente limpias después del tratamiento anterior, puede recurrirse al uso de soluciones ácidas, alcalinas u oxidantes, siempre tomando las debidas precauciones (38).

Las soluciones ácidas pueden ser : Ácido Sulfúrico concentrado o diluido (10-20 % v/v), Ácido Clorhídrico concentrado o diluido (10-20 % v/v), Ácido Nítrico concentrado o diluido (10-20 % v/v), Ácido Cítrico diluido (20-30 % p/v), o Mezcla Sulfitrica formada por partes iguales de Ácido Sulfúrico y Ácido Nítrico Concentrado (38).

Las soluciones alcalinas pueden ser : Hidróxido de Sodio diluido (10-20 % p/v), Carbonato de Sodio diluido (10-20 % p/v), o solución hidroalcohólica de Hidróxido de Potasio (10-20 % p/v). **Es importante evitar el uso de estas soluciones a temperaturas elevadas y períodos largos pues atacan de manera importante al vidrio (38).**

Dentro de las soluciones oxidantes se encuentran: Mezcla Crómica (9, 28, 29), Mezcla de solución hidroalcohólica de Hidróxido de Potasio y Peróxido de Hidrógeno (10%), mezcla de partes iguales de solución saturada de Dicromato de Potasio y Ácido Sulfúrico, mezcla de partes iguales de 30 g/L de solución de Permanganato de Potasio y una solución de Hidróxido de Sodio 1M (38).

NOTA : Estas soluciones son extremadamente agresivas, por lo que es necesario tomar ciertas precauciones para evitar su inhalación y el contacto con la piel, las mucosas y los ojos. Se recomienda el uso de caretas, guantes,

mandiles de hule y trabajar siempre bajo campanas de extracción de gases .

- 4.1.6. La elección de cualquiera de las mezclas mencionadas anteriormente está en función del tipo de contaminante y se debe considerar que las mezclas ácidas u oxidantes deben permanecer en el recipiente durante varias horas.
- 4.1.7. Posteriormente enjuagar vigorosamente los recipientes con agua corriente y finalmente con agua purificada, de manera que las paredes queden completamente limpias, de no ser así, repetir el procedimiento anterior.
- 4.1.8. Si el recipiente está marcado "para contener", enjuagarlo adicionalmente con alcohol etílico y secarlo a temperatura ambiente con aire limpio. Se puede utilizar aire seco comprimido o parrillas de secado (como medida de seguridad es recomendable que los recipientes volumétricos de vidrio borosilicato no sean calentados a temperaturas superiores a los 150 °C, ya que se pueden producir alteraciones significativas de volumen) (15). Algunos fabricantes de recipientes volumétricos recomiendan usar éstos solo dentro de un intervalo de temperatura de -10 a 80 °C y no colocar nunca directamente sobre parrillas de calentamiento (28, 29).
- 4.1.9. Finalmente cubrir la boca del material limpio y seco que no se use frecuentemente con su tapón o con papel aluminio y almacenarlo en estantes cerrados.

4.2. LECTURA Y AJUSTE DEL MENISCO

Los resultados obtenidos con los recipientes volumétricos dependen no solamente de la exactitud con que éstos son calibrados sino también de su técnica de uso, por eso en la medida de lo posible el usuario debe manipular estos instrumentos exactamente de la misma forma en que lo hace el fabricante durante la calibración (28, 29).

La superficie del menisco no es plana, es cóncava (en la mayoría de los líquidos) o convexa (en el caso del mercurio) es decir, que su punto más bajo o más alto debe formar una tangente con la superficie de la línea de aforo, por lo que es importante aplicar el mismo criterio durante el uso del recipiente y su calibración (28, 29).

4.2.1 Ajuste del menisco a la cara superior de la línea de aforo

El método más común para el ajuste o fijación del menisco cóncavo consiste en llevar su punto más bajo a la cara superior de la línea de aforo, (es decir que la línea de aforo forma una tangente horizontal con el punto más bajo del menisco) haciendo la observación de frente y exactamente en el mismo plano de la línea de aforo (Figura 4.1).

Para facilitar la observación del punto más bajo del menisco es conveniente colocar atrás del matraz una pantalla luminosa y un collar de algún material oscuro 1 mm abajo de la línea de aforo (puede ser un collar de hule negro, abierto en uno de sus lados y de un tamaño tal que pueda sujetarse firmemente al recipiente que está en calibración, o bien una cartulina blanca cuya mitad inferior está pintada de negro) esto da un perfil oscuro y claramente visible que facilita la fijación del menisco (13, 14, 15, 22, 28, 36).

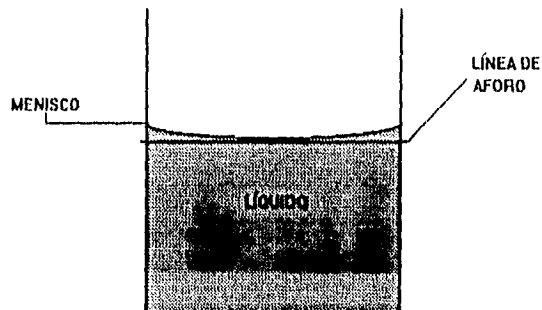


FIGURA 4.1

4.2.2 Ajuste del menisco a la mitad del plano de la línea de aforo (centro de la elipse)

Otro método para ajustar el menisco y que se aplica cuando la línea de aforo se extiende completamente alrededor del cuello del matraz, consiste en colocar el punto más bajo del menisco a la mitad del plano de la línea de aforo (13, 15, 28, 36). Esta posición del menisco se obtiene observando ligeramente por debajo de la línea de aforo, lo cual permite ver una elipse formada por dicha línea en la parte frontal y la posterior del tubo, la colocación del menisco se hace en la parte media de la elipse (Figuras 4.2 y 4.2.A).

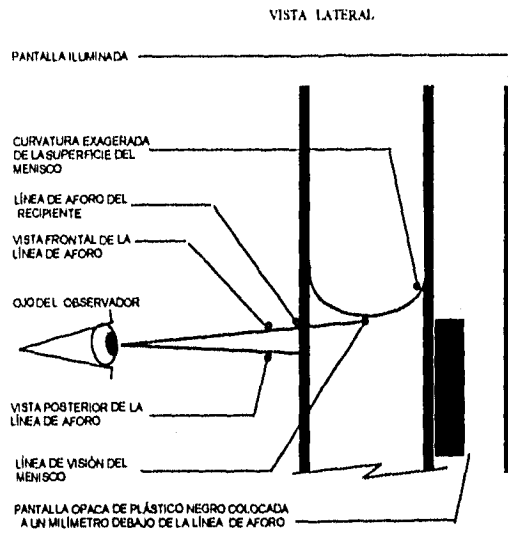


FIGURA 4.2

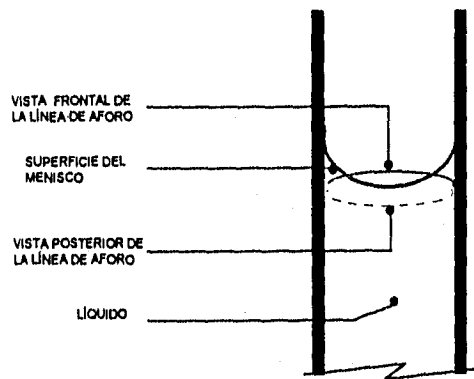


FIGURA 4.2.A

4.2.3 Ajuste del menisco al punto de estrangulamiento.

Un tercer método es el aplicado en el material de vidrio que presenta una banda o franja longitudinal de contraste que tiene como propósito facilitar la observación y colocación del menisco, pues a la altura del mismo la banda de contraste se percibe cortada formando dos pequeños conos unidos por el vértice (**estrangulamiento**), de manera que la colocación del menisco se hace en el punto de contacto de los dos conos, el cual, si el observador está colocado de frente y a la misma altura de la línea de aforo, se percibe con claridad; en esta forma se elimina el error por paralaje sin necesidad de usar otro aditamento (**Figura 4.3**).

Este último método es citado en la bibliografía general de análisis cuantitativo (17, 30, 31, 32) en la que aparece indicado para buretas, sin embargo, actualmente se aplica también en matraces volumétricos por lo que es importante determinar su exactitud y la conveniencia de su aplicación.

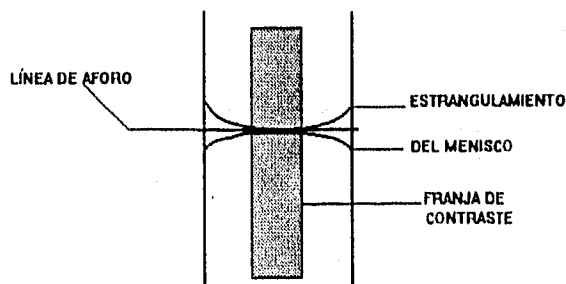


FIGURA 4.3

4.3 TÉCNICAS DE OPERACIÓN DE PIPETAS AUTOMÁTICAS.

Las pipetas automáticas cuentan con un botón de control que mueve el émbolo al primero o al segundo tope con lo que se selecciona la función a realizar. Las técnicas de operación de pipetas automáticas más conocidas son la de Pipeteo de Avance o Normal y la de Pipeteo Reverso (41), que se describen a continuación.

- 4.3.1 Pipeteo de Avance o Normal.** Esta técnica se emplea en líquidos de baja viscosidad, similar a la del agua y/o cuando los volúmenes a medir son mayores a 20 μL . Consiste en succionar un volumen exacto de líquido presionando el botón de control hasta el primer tope (posición media), dejarlo regresar lentamente hasta su posición original (superior) y entregar el líquido succionado mediante presión del botón de control hasta el segundo tope (posición inferior), para permitir después que regrese nuevamente a su posición original, **Figura 4.4.** (41)

PIPETEO DE AVANCE O NORMAL

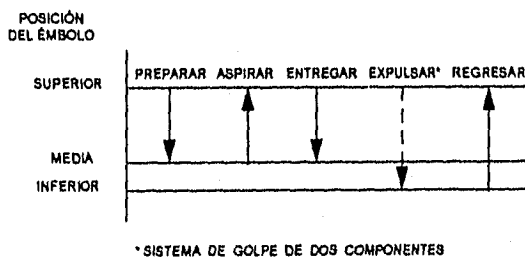


FIGURA 4.4

La precisión en el uso repetido del pipeteo normal depende del completo escurrimiento del líquido succionado.

Al aplicar la técnica de pipeteo normal deben tenerse en cuenta las siguientes indicaciones :

Preparación. La pipeta debe estar a la misma temperatura del medio ambiente. La selección del volumen y la colocación de las puntas deben hacerse de acuerdo a las recomendaciones del fabricante.

Aspiración. Sostener el instrumento en posición vertical o según lo indicado por el fabricante, **Figura 4.5.**

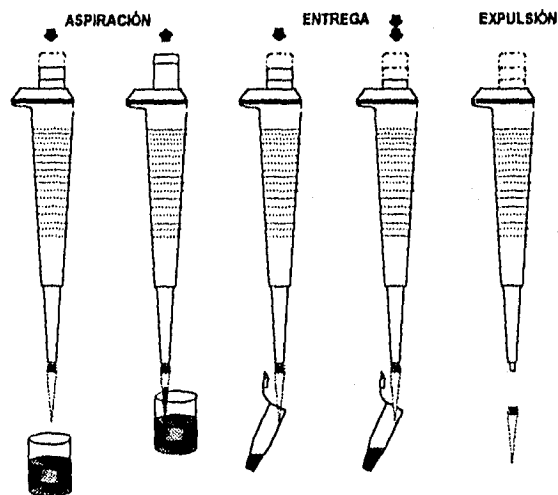


FIGURA 4.5

En el caso de sistemas de golpe de dos componentes (dos topes), presionar el botón de control suavemente hasta el tope intermedio.

En el caso de sistemas de golpe de un componente (un tope) presionar el botón de control suavemente hasta el tope del fondo.

Sumergir la punta de la pipeta en el líquido que va a ser pipeteado y mantenerla a las siguientes profundidades de acuerdo al volumen pipeteado:

Volumen (μL)	Profundidad de Inmersión (mm)
1 a 100	2 a 3
101 a 1000	2 a 4
1001 a 10000	3 a 6

Permitir que el botón de control regrese a su posición original, lenta y suavemente.

Retirar la punta de la pipeta del centro de la superficie del líquido mediante un movimiento ascendente suave o deslizando por la pared interna del recipiente.

Secar la pipeta o su punta solamente si hay gotas externas. Debe evitarse el contacto con el orificio de la pipeta o su punta, especialmente con material absorbente, ya que se puede eliminar parte del líquido pipeteado.

Entrega. Colocar la pipeta o su punta en un ángulo de 10 a 45° o como indique el fabricante contra la pared interna del recipiente receptor.

Para sistemas de golpe de dos componentes presionar suavemente el botón de control hasta el tope intermedio. Esperar un segundo y presionar el botón de control al tope inferior a la vez que la pipeta o su punta es retirada deslizando por la pared interna o con un movimiento ascendente suave.

Permitir que el botón de control regrese a su posición original.

4.3.2 Pipeteo Reverso. Esta técnica se aplica a líquidos cuya viscosidad es mayor a la del agua o cuando el volumen a medir es muy pequeño (menor a 20 μL). Consiste en succionar un volumen exacto de líquido presionando el botón de control hasta el segundo tope, dejarlo regresar lentamente hasta su posición original y entregar el líquido succionado mediante presión del botón de control hasta el primer tope, **Figura 4.6.**

Preparación. La preparación se realiza exactamente igual que en el pipeteo normal.

Aspiración. La aspiración se realiza de manera muy similar a como se hace en el pipeteo normal, con la diferencia de que el botón de control es presionado hasta el tope del fondo antes de sumergir la punta de la pipeta en el líquido, **Figura 4.6.**

Entrega. Colocar la pipeta o su punta en un ángulo de 10 a 45° contra la pared interna del recipiente que recibe o de acuerdo a las indicaciones del fabricante.

Presionar el botón de control lentamente hasta la posición intermedia, después de esperar de uno a tres segundos, retirar la punta de la pipeta de la pared interna del recipiente que recibe.

En caso de que la punta de la pipeta vaya a ser reusada, permitir que el botón de control permanezca en el tope intermedio para subsecuentes inmersiones del siguiente ciclo de pipeteo. En caso de que la punta de la pipeta vaya a ser cambiada, permitir que el botón de control regrese a la posición del tope superior.

Algunas pipetas incluyen una posición auxiliar, para la expulsión de la punta que es adicional a los topes de fondo y superior mencionados anteriormente.

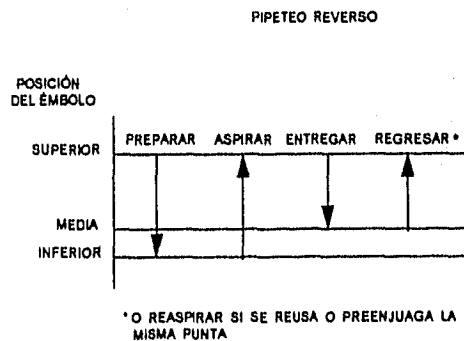


FIGURA 4.6

4.3.3 Preenjuague (Modo Normal)

El preenjuague consiste en precubrir o prehumectar la pared interna de la punta con el mismo líquido que es pipeteado y no es más que la duplicación del movimiento exacto del ciclo de pipeteo normal, excepto que el líquido es vaciado nuevamente en el recipiente original o mejor aún es desechado.

El preenjuague en el modo normal es ventajoso cuando se reusa la pipeta o su punta para subsecuentes e inmediatos pipeteos (es aplicable para el mismo líquido y el mismo volumen) y se recomienda especialmente cuando se miden volúmenes por debajo de 20 μL .

El preenjuague también puede ser empleado al pipetear líquidos diferentes, en cuyo caso es necesario cambiar la punta de la pipeta con cada cambio de líquido, lo que la hace una técnica lenta, por lo que su aplicación solo se recomienda para líquidos especialmente difíciles de manejar. La necesidad de preenjuagar también está relacionada a las propiedades de superficie de la punta de la pipeta y a las características físicas de los líquidos.

4.3.4 Posicionamiento del Volumen Residual o Preenjuague (Modo Reverso).

El posicionamiento del volumen residual para el modo reverso es el equivalente funcional del preenjuague para el modo normal. Consiste en la duplicación del movimiento exacto de un ciclo de pipeteo del modo reverso, excepto que el líquido es regresado al recipiente original, o mejor aún es descartado y el botón de control permanece en la posición del tope intermedio, para introducir la punta nuevamente al líquido a muestrear, mientras que el botón de control regresa suavemente a la posición del tope superior.

4.4 PROCEDIMIENTO ESTÁNDAR DE OPERACIÓN PARA USO Y CALIBRACIÓN DE "MATRACES VOLUMÉTRICOS PARA CONTENER".

- 4.4.1 Elaborar formato de registro de calibración (ver ANEXO 1).
- 4.4.2 Dejar equilibrar a temperatura ambiente durante dos o tres horas todo el material involucrado en la calibración de los matraces volumétricos.
- 4.4.3. En una balanza calibrada y de capacidad suficiente, determinar el peso del recipiente vacío incluyendo su tapón. **Utilizar en todas las operaciones guantes de algodón para evitar el contacto de las manos con los recipientes en calibración.**
- 4.4.4 Con la ayuda de un embudo de tamaño apropiado depositar el agua purificada al matraz hasta un punto ligeramente abajo de la línea de aforo, tener cuidado de que el agua no toque la parte esmerilada del recipiente y girar el embudo de manera que humedezca uniformemente el cuello.
- 4.4.5 Retirar el embudo y esperar de uno a dos minutos para que el agua escurra completamente por las paredes del recipiente, a continuación completar el aforo fijando el menisco como se muestra en la **Figura 4.1**, tapar el matraz para evitar la evaporación y con ello la pérdida de peso.

- 4.4.6 Pesar el matraz aforado y registrar su peso. Inmediatamente después determinar la temperatura del agua colocando un termómetro calibrado directamente en el recipiente de prueba si el tamaño de éste lo permite y registrarla.
- 4.4.7 Registrar la temperatura y humedad ambientales y repetir al menos tres veces los puntos 4.4.3 a 4.4.6 para determinar la inexactitud del recipiente en calibración.
- 4.4.8 Calcular el volumen a 20°C de cada uno de los recipientes en calibración, empleando cualquiera de los dos criterios que se presentan a continuación. El primero consiste en aplicar la ecuación (1) que incluye los diferentes factores de influencia en la calibración volumétrica.

$$V_{20} = (M_b - M_c) (Q) (1 / (\delta_A - \delta_a)) (1 - (\delta_a / \delta_B)) (K) \dots \dots \dots (1)$$

M_b = Peso del matraz lleno al aforo

M_c = Peso del matraz vacío

Q = Factor de conversión de masa aparente, se basa en la densidad de las pesas de la balanza (δ_B) y la masa aparente en la cual son ajustadas (D_{20}). δ_B y D_{20} se obtienen por información del fabricante de la balanza y se deben calcular para cada balanza.

$Q = 1,0000000$ para $\delta_B = 8,00$ y $D_{20} = 8,0000$ de acuerdo a la **Tabla 4.1** (13).

$\delta_A =$ Densidad del agua a la temperatura de trabajo

$\delta_a =$ Densidad del aire

$\delta_B =$ Densidad de las pesas de la balanza (información dada por el fabricante). Se considera que la densidad de las pesas de las balanzas actuales es de $8,0 \text{ g/cm}^3$ (14).

$K =$ Factor de expansión térmica basada en la temperatura del agua (T_A), la temperatura nominal (T_{20}) y el coeficiente de expansión del matraz (α).

$$K = (1 - \alpha (T_A - T_{20})) \dots \dots \dots (2)$$

$\alpha =$ $0,000010 \text{ cm}^3 / ^\circ\text{C}$ para vidrio Borosilicato (Tipo I, Clase A) (13, 15)

En la ecuación (1) el primer término es variable, mientras que los cuatro términos restantes se reducen a constantes experimentales o cantidades que pueden ser expresadas en términos de medida de presión barométrica y/o de temperatura medida y que pueden denominarse en conjunto factor " z ", el cual puede obtenerse de la **Tabla 4.2** (15). De esta forma la ecuación (1) se reduce a :

$$V_{20} = (M_b - M_c) z \dots \dots \dots (3)$$

El segundo criterio para el cálculo del volumen a 20°C es más sencillo, más rápido y consiste en la aplicación de la ecuación (3)

TABLA 4.1

VALORES DEL FACTOR DE CONVERSIÓN DE MASA APARENTE : Q

δ_s	Q cuando D20 = 8.0000 g/cm ³	Q cuando D20 = 8.3909 g/cm ³
7,70	1,000058	1,0000128
7,72	1,000054	1,0000124
7,74	1,000050	1,0000120
7,76	1,000046	1,0000116
7,78	1,000042	1,0000112
7,80	1,000038	1,0000108
7,82	1,000035	1,0000104
7,84	1,000031	1,0000101
7,86	1,000027	1,0000097
7,88	1,000023	1,0000093
7,90	1,000019	1,0000089
7,92	1,000015	1,0000085
7,94	1,000011	1,0000081
7,96	1,000008	1,0000077
7,98	1,000004	1,0000074
8,00	1,000000	1,0000070
8,02	0,999996	1,0000066
8,04	0,999993	1,0000062
8,06	0,999989	1,0000059
8,08	0,999985	1,0000055
8,10	0,999981	1,0000051
8,12	0,999978	1,0000048
8,14	0,999974	1,0000044
8,16	0,999971	1,0000040
8,18	0,999967	1,0000037
8,20	0,999963	1,0000033
8,22	0,999960	1,0000030
8,24	0,999956	1,0000026
8,26	0,999953	1,0000023
8,28	0,999949	1,0000019
8,30	0,999946	1,0000018
8,32	0,999942	1,0000012
8,34	0,999939	1,0000009
8,36	0,999935	1,0000005
8,38	0,999932	1,0000002
8,40	0,999929	0,9999980

TABLA 4.2

VALORES DE "Z" PARA USO Y CALIBRACIÓN DEL MATERIAL VOLUMÉTRICO EN FUNCIÓN DE LA TEMPERATURA Y PRESIÓN ATMOSFÉRICA

PRESIÓN BAROMÉTRICA		TEMPERATURA °C													
kPa	mmHg	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28
77,33	580	1,00179	1,00193	1,00208	1,00225	1,00243	1,00262	1,00281	1,00302	1,00324	1,00347	1,00371	1,00396	1,00422	1,00449
79,99	600	1,00182	1,00196	1,00211	1,00228	1,00245	1,00264	1,00283	1,00304	1,00326	1,00349	1,00374	1,00399	1,00424	1,00451
82,66	620	1,00184	1,00199	1,00214	1,00231	1,00248	1,00267	1,00287	1,00308	1,00330	1,00353	1,00377	1,00402	1,00428	1,00455
85,33	640	1,00187	1,00201	1,00216	1,00233	1,00251	1,00270	1,00290	1,00311	1,00333	1,00356	1,00380	1,00405	1,00431	1,00458
87,99	660	1,00189	1,00204	1,00219	1,00236	1,00254	1,00272	1,00292	1,00313	1,00335	1,00358	1,00382	1,00408	1,00433	1,00460
90,66	680	1,00192	1,00207	1,00222	1,00239	1,00256	1,00275	1,00295	1,00316	1,00338	1,00361	1,00385	1,00410	1,00436	1,00463
93,33	700	1,00195	1,00209	1,00225	1,00242	1,00259	1,00278	1,00298	1,00319	1,00341	1,00364	1,00388	1,00413	1,00439	1,00466
95,99	720	1,00198	1,00212	1,00228	1,00245	1,00262	1,00281	1,00301	1,00322	1,00344	1,00367	1,00391	1,00416	1,00442	1,00468
98,66	740	1,00201	1,00215	1,00230	1,00247	1,00265	1,00284	1,00304	1,00324	1,00346	1,00370	1,00393	1,00418	1,00444	1,00471
101,32	760	1,00204	1,00218	1,00233	1,00250	1,00268	1,00286	1,00306	1,00327	1,00349	1,00372	1,00396	1,00421	1,00447	1,00474
103,99	780	1,00207	1,00221	1,00236	1,00253	1,00270	1,00289	1,00309	1,00330	1,00352	1,00375	1,00399	1,00424	1,00450	1,00477
106,66	800	1,00209	1,00224	1,00239	1,00256	1,00273	1,00291	1,00312	1,00333	1,00355	1,00378	1,00402	1,00427	1,00452	1,00479

VALORES DE "Z" CON UNA HUMEDAD RELATIVA DE 50 %

4.5 PROCEDIMIENTO ESTÁNDAR DE OPERACIÓN PARA USO Y CALIBRACIÓN DE PIPETAS AUTOMÁTICAS.

- 4.5.1 Elaborar formato de registro de calibración (ver ANEXO 2 y ANEXO 3).
- 4.5.2 Seleccionar únicamente puntas en buen estado, preferentemente nuevas y recomendadas por el fabricante.
- 4.5.3 Dejar equilibrar a temperatura ambiente durante dos o tres horas todo el material involucrado en la calibración de las pipetas automáticas.
- 4.5.4 Emplear agua purificada como líquido de prueba, determinar su temperatura, tomando en cuenta que la temperatura recomendada es de $21^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$.
- 4.5.5 Seleccionar el volumen a probar en la pipeta que está en calibración y colocar firmemente la punta.
- 4.5.6 De acuerdo a las indicaciones del fabricante presionar el botón controlador de la pipeta hasta el primer tope si es pipeteo normal, o hasta el segundo tope si es pipeteo reverso, mantener la pipeta lo más vertical posible e introducir la punta algunos milímetros (de acuerdo a las indicaciones del fabricante) en el agua para permitir que el botón de control regrese suavemente hasta el tope superior.

- 4.5.7 Sacar la punta de la pipeta, deslizándola por la pared interna del recipiente que contiene el agua purificada y secar con papel cualquier gota de agua adherida a la pared externa de la punta, teniendo cuidado de no acercarse demasiado a la abertura pues se puede eliminar parte del volumen a entregar.
- 4.5.8 Apoyar la punta de la pipeta haciendo un ángulo de 10 a 45° sobre la pared interna de un recipiente adecuado (frasco vial) previamente pesado, depositar lentamente el agua contenida en la pipeta presionando el botón de control inicialmente hasta el primer tope, mantenerlo presionado de uno a tres segundos, presionar hasta el segundo tope para descargar el líquido remanente (pipeteo normal) y retirar la pipeta mediante un deslizamiento ascendente suave por la pared del recipiente. En el caso de pipeteo reverso solo presionar el botón de control hasta el primer tope, retirar la pipeta del recipiente como se indicó antes y descartar el volumen remanente.
- 4.5.9 Tapar el recipiente que contiene el agua depositada, pesar y registrar inmediatamente.
- 4.5.10 Determinar la temperatura del agua purificada y registrarla.
- 4.5.11 Determinar la temperatura y humedad relativa ambientales y registrarlas.
- 4.5.12 Para propósitos de evaluación y control de una pipeta realizar al menos diez determinaciones de volumen para el cálculo de exactitud y precisión. Para probar rápidamente la exactitud de la pipeta son suficientes cuatro determinaciones de volumen (41).

4.5.13 Si el fabricante lo indica, ajustar los valores de peso obtenidos de acuerdo a los cambios en la densidad del agua con respecto a su temperatura, la temperatura ambiental y la presión barométrica (que en conjunto constituyen el factor z).

4.5.14 Calcular la exactitud con el promedio de las determinaciones del volumen entregado por la pipeta, mediante la aplicación de alguna de las siguientes ecuaciones, de acuerdo a las indicaciones del fabricante:

$$\% \text{ error} = \frac{\text{Valor ajustado obtenido} - \text{Valor esperado}}{\text{Valor esperado}} \times 100 \dots\dots\dots(4)$$

o bien :

$$\text{Error} = \text{Valor ajustado obtenido} - \text{Valor esperado} \dots\dots\dots(5)$$

ó :

$$\text{Error} = \text{Valor obtenido} - \text{Valor esperado} \dots\dots\dots(6)$$

4.5.14 Calcular la precisión de las determinaciones del volumen entregado por la pipeta, mediante la aplicación de alguna de las siguientes ecuaciones, de acuerdo a las indicaciones del fabricante:

$$\text{Coeficiente de Variación (c.v.)} = \frac{100s}{\bar{X}} \dots\dots\dots(7)$$

donde:

s = desviación estándar

\bar{X} = promedio de valores observados ajustados

o bien :

$$\text{Desviación estándar} = s = \sqrt{\frac{\sum N_i (X_i - \bar{X})^2}{N - 1}} \dots\dots\dots(8)$$

donde:

N = número de determinaciones

X_i = peso individual de cada determinación

\bar{X} = promedio de determinaciones

CAPÍTULO 5

PARTE EXPERIMENTAL

5.1 INSTRUMENTOS, MATERIAL Y REACTIVOS

5.1.1 Instrumentos :

- Balanza Mettler Modelo AT261 Semimicro de doble intervalo :
 - 0.01 mg - 60 g división mínima 0.01 mg
 - 60 g - 200 g división mínima 0.1 mg

- Termómetro Líquido en vidrio, clasificación ASTM 63 C ERTCO R65576 USA
 - 8 a 32 °C división mínima 0.1°C.

- Higrotermómetro
 - Humedad relativa de 0 a 100 % H.R. división mínima 1 %
 - Temperatura de - 15 a 55 °C división mínima 1 °C

- Barómetro : este instrumento no es necesario si se puede obtener el dato de presión atmosférica del Servicio Meteorológico Nacional ó algún laboratorio autorizado por D.G.N. Debido a que la Presión Atmosférica en la Ciudad de México tiene una variación mínima de ± 2 mm de Hg, para fines de este trabajo se considerará adecuado un valor promedio de 585 mm de Hg.

- Cronómetro

- *Todos estos instrumentos deben ser calibrados previamente a su uso y contar con su certificado de calibración vigente.*

5.1.2 Material :

- Matraces volumétricos de 5, 10, 25, 50 y 100 mL
- Embudo de filtración rápida
- Pantalla luminosa
- Pipeta Pasteur y bulbo de plástico
- Anillo de neopreno
- Guantes de algodón
- Pipetas Automáticas :
 - Marca "A" volumen fijo.
 - Marca "A" volumen variable.
 - Marca "B" volumen variable.
 - Marca "C" volumen variable.
- Repipeteadora : Marca "A" volumen variable.
- Vasos de precipitados de 250 mL

- Frasco Vial (Recipiente pequeño de vidrio, empleado como contenedor de soluciones para análisis por cromatografía de líquidos, o bien para inyectables, dependiendo de su forma y uso se les pueden adaptar un tapón de rosca y un sello o bien un tapón de goma inerte y un casquillo metálico.
- Matraces Volumétricos de 50 y 100 mL.

5.1.3. Reactivos

- Agua purificada

5.2. DESARROLLO DEL MÉTODO DE CALIBRACIÓN DE MATRACES VOLUMÉTRICOS.

El primer paso consistió en realizar un estudio comparativo de las especificaciones reportadas en las diferentes referencias bibliográficas, encontrándose que hay concordancia entre ellas como puede observarse en la **Tabla 2.1**.

Una vez definidas las especificaciones bajo las cuales se rigió el procedimiento de calibración se procedió a la aplicación del mismo, para lo cual se seleccionaron al azar matraces volumétricos de diferentes capacidades, en este caso se trabajó con material volumétrico nuevo para evitar la influencia de posibles fuentes de error ocasionadas por mal uso del mismo o presencia de residuos contaminantes.

A continuación se elaboró un formato de registro de los valores obtenidos (**Anexo 1**) en donde se incluyen además todos los datos generales de los instrumentos involucrados en la calibración de los Matraces Volumétricos así como las condiciones ambientales de trabajo.

El siguiente paso consistió en determinar la manera correcta de aforo, ya que como se mencionó en el punto 4.2 existen tres métodos de colocación del menisco, dos de ellos referidos en normas nacionales e internacionales y el tercero mencionado en bibliografía general de análisis cuantitativo pero que tiene gran difusión y se aplica por tradición en recipientes volumétricos que presentan una banda longitudinal de contraste. Lo anterior se comprobó calibrando cinco matraces volumétricos de 100 mL, primero mediante la colocación del punto más bajo del menisco a la cara superior de la línea de aforo, haciendo la observación de frente y en el mismo plano de la línea de aforo (4.2.1), después se ajustó el menisco en la parte central de la elipse formada al observar por debajo del plano de la línea de aforo (4.2.2), finalmente se calibraron los mismos matraces ajustando el estrangulamiento a la línea de aforo (4.2.3). El cálculo de la inexactitud se realizó usando la fórmula completa, **ecuación 1**.

Después de establecida la manera correcta de aforo, se elaboró una hoja de cálculo para determinar la inexactitud de los matraces calibrados, en la que se usaron los diferentes factores de corrección sugeridos en normas (NBS, ASTM, ISO y NOM).

Posteriormente se elaboró otra hoja de cálculo para determinar la inexactitud de los matraces, pero obtenida de manera directa aplicando el **factor " z "** de tablas (NBS, ASTM, NOM), **ecuación 3**.

Se estableció una comparación entre ambos métodos de cálculo y no se encontraron diferencias significativas, por lo que el método recomendado es el de aplicación del factor **"z"**.

Finalmente se calibraron cinco matraces volumétricos de cada una de las siguientes capacidades: 5, 10, 25, 50 y 100 mL para conocer las características de exactitud de los mismos y determinar la facilidad de aplicación del procedimiento de calibración elegido.

5.3 DESARROLLO DEL MÉTODO DE CALIBRACIÓN PARA PIPETAS AUTOMÁTICAS.

El primer paso consistió en seleccionar las marcas de pipetas más comúnmente empleadas, de acuerdo a sus características y técnicas de operación. En seguida se analizaron las especificaciones de cada una de ellas, así como las indicaciones de los fabricantes para con base en ello describir el Procedimiento Estándar de Operación (PEO) para calibración y uso.

Se elaboraron dos formatos de registro de los valores obtenidos de la calibración de pipetas automáticas, con un volumen de prueba recomendado (Anexo 2) y con dos volúmenes de prueba (Anexo 3) en donde se incluyen además las condiciones ambientales y los datos generales de todos los instrumentos involucrados en la calibración.

Así mismo se elaboraron hojas de cálculo para determinar la inexactitud de las pipetas calibradas de acuerdo a las indicaciones del fabricante. Cabe señalar que actualmente se puede encontrar a la venta un Set de Calibración (Sistema Computarizado) que permite realizar los cálculos y emitir la documentación pertinente de los instrumentos sometidos a calibración, sin embargo, esto implica un gasto adicional que no todas las compañías están en posibilidad de hacer.

A continuación se procedió a la aplicación del PEO, se probaron con la misma pipeta las dos técnicas mencionadas de pipeteo (4.3.1 y 4.3.2) con la finalidad de establecer la diferencia existente entre ambas.

CAPÍTULO 6

RESULTADOS

En la Tabla 6.1 se muestra una hoja de cálculo para determinar la inexactitud de un Matraz Volumétrico de 100 mL. El ajuste del menisco se hizo colocando su punto más bajo a la línea de aforo, observando en el mismo plano. Se consideró para el cálculo primero la aplicación de la fórmula completa (ecuación 1) y después el factor "z" (ecuación 3).

Los resultados obtenidos muestran que no hay una diferencia significativa entre la aplicación del factor "z" y la aplicación de la fórmula completa para el cálculo de la inexactitud del matraz en estudio, con base en esto y tomando en cuenta la sencillez y rapidez de la aplicación del factor "z" se decidió aplicarlo en las demás determinaciones de este trabajo.

En la Tabla 6.2 se presenta un estudio comparativo de los resultados obtenidos de la calibración de cinco matraces volumétricos de 100 mL que presentan banda longitudinal de contraste, haciendo el ajuste del punto más bajo del menisco a la línea de aforo, a la mitad del plano de la línea de aforo (centro de la elipse) y al estrangulamiento. Los cálculos se realizaron a partir del volumen promedio obtenido de cuatro determinaciones para cada matraz.

Los resultados muestran que el método de ajuste del menisco a la cara superior de la línea de aforo es el más conveniente, a diferencia del método de ajuste a la mitad del plano de la línea de aforo (centro de la elipse) que presenta mucha variación y del método de ajuste al estrangulamiento en donde se obtienen resultados fuera de especificaciones.

En la Tabla 6.3 se presenta la comparación del cálculo de la inexactitud de matraces volumétricos de 100 mL, con ajuste del menisco en su punto más bajo a la línea de aforo, empleando la fórmula completa y el factor "z".

Al igual que en la Tabla 6.1 se observa que no hay diferencia significativa en los resultados obtenidos por uno u otro método.

Las Tablas 6.4, 6.5, 6.6 y 6.7 muestran los resultados obtenidos de matraces volumétricos de 50, 25, 10 y 5 mL respectivamente. En todos los casos se establece la comparación entre el cálculo de inexactitud empleando la fórmula completa y aplicando el factor "z".

La Tabla 6.8 es un ejemplo de hoja de cálculo para determinar la inexactitud de una Pipeta Automática marca "A" de volumen fijo cuya técnica de pipeteo es Normal. Se observa que al seguir las instrucciones del fabricante se obtienen resultados dentro de especificaciones.

La Tabla 6.9 es un ejemplo de hoja de cálculo para determinar la inexactitud de una Pipeta Automática marca "A", calibrada mediante la técnica de pipeteo Reverso, en este caso se observa que los resultados obtenidos también se encuentran dentro de especificaciones, sin embargo en la Tabla 6.10 se observa que para este caso en particular el pipeteo normal (recomendado por el fabricante) es más conveniente pues se obtienen resultados más exactos.

La Tabla 6.11 es un ejemplo de hoja de cálculo para la determinación de la inexactitud de una Pipeta Automática marca "B" probada mediante pipeteo Reverso.

La Tabla 6.12 es un ejemplo de hoja de cálculo para determinar la inexactitud de una Pipeta Automática marca "B" probada mediante pipeteo Normal.

En la Tabla 6.13 se presenta la comparación de los resultados obtenidos con una Pipeta Automática marca "B" aplicando las técnicas de pipeteo Normal y Reverso. En este caso la técnica recomendada por el fabricante es de pipeteo reverso, en la tabla se observa que al aplicar esta técnica, la pipeta cumple con especificaciones, mientras que al aplicar la técnica de pipeteo normal los resultados se encuentran fuera de especificaciones.

La Tabla 6.14 es un ejemplo de hoja de cálculo para determinar la inexactitud de una Pipeta Automática marca "C" probada mediante pipeteo Normal.

Las Tablas 6.15 a 6.21 son ejemplos de hojas de cálculo para determinar la inexactitud de una Repipeteadora marca "A". Los resultados muestran que este instrumento es bastante confiable pues cumple con especificaciones en todos los volúmenes probados.

TABLA 6.1

EJEMPLO DE HOJA DE CÁLCULO PARA DETERMINAR LA INEXACTITUD DE UN MATRAZ
VOLUMÉTRICO DE 100 mL.
AJUSTE DEL MENISCO A LA LÍNEA DE AFORO.

A) USANDO LA FÓRMULA COMPLETA

DATOS

VARIABLES	LECTURA 1	LECTURA 2	LECTURA 3	LECTURA 4
PESO MATRAZ VACÍO (Mc) : (g)	74,9968	74,9968	74,9968	74,9968
PESO MATRAZ LLENO (Mb) : (g)	174,6390	174,6535	174,6875	174,6342
TEMPERATURA AMBIENTE : (°C)	24,0	24,0	24,0	24,0
TEMPERATURA AGUA : (°C)	22,1	22,4	21,5	22,7
PRESIÓN ATMOSFÉRICA : (mm Hg)	585	585	585	585
ALFA :	0,00001	0,00001	0,00001	0,00001
DENSIDAD PESAS :	8,00	8,00	8,00	8,00
DENSIDAD AIRE :	0,0009091	0,0009091	0,0009091	0,0009091
DENSIDAD AGUA :	0,997746	0,997877	0,997881	0,997807
FACTOR Q	1,0000000	1,0000000	1,0000000	1,0000000

CÁLCULOS

Mb - Mc	99,6422	99,6567	99,6907	99,6374		
FACTOR K :	0,999979	0,999978	0,999985	0,999973	ESTADÍSTICOS:	
FACTOR Z	1,003038075	1,003104469	1,002908271	1,00317194	PROMEDIO (mL)	DES.V. STD.
V20 :	99,94462044	99,96808418	99,98082758	99,96344382	99,98	0,01
INEXACTITUD :	0,055079581	0,033915847	0,019372454	0,046556182	0,04	0,01

B) USANDO EL FACTOR Z

DATOS

VARIABLES	LECTURA 1	LECTURA 2	LECTURA 3	LECTURA 4
TEMPERATURA CONSIDERADA : (°C)	22,0	22,0	22,0	23,0
FACTOR Z :	1,00302	1,00302	1,00302	1,00324
PESO MATRAZ VACÍO (Mc) : (g)	74,9968	74,9968	74,9968	74,9968
PESO MATRAZ LLENO (Mb) : (g)	174,6390	174,6535	174,6875	174,6342
PRESIÓN ATMOS. CONSIDERADA : (mm Hg)	580	580	580	580

CÁLCULOS

Mb - Mc :	99,6422	99,6567	99,6907	99,6374	ESTADÍSTICOS:	
V20 :	99,94311944	99,96706323	99,99176591	99,96022518	PROMEDIO (mL)	DES.V. STD.
INEXACTITUD :	0,056690556	0,042336766	0,006234066	0,039774824	99,98	0,02

LÍMITE ESPECIFICADO (mL) : ± 0,06

TABLA 6.2

COMPARACIÓN DE LA INEXACTITUD DE MATRACES VOLUMÉTRICOS DE 100 mL
USANDO LAS TRES DIFERENTES FORMAS DE AFORO.

No. MATRAZ	FORMA DE AFORO								
	A LA LÍNEA DE AFORO			AL CENTRO DE LA ELIPSE			AL ESTRANGULAMIENTO		
	VOLUMEN PROMEDIO	INEXACTITUD	CONFORMIDAD CON LA ESPECIFICACIÓN	VOLUMEN PROMEDIO	INEXACTITUD	CONFORMIDAD CON LA ESPECIFICACIÓN	VOLUMEN PROMEDIO	INEXACTITUD	CONFORMIDAD CON LA ESPECIFICACIÓN
1	99,96	0,04	CUMPLE	99,94	0,06	CUMPLE	99,83	0,17	NO CUMPLE
2	99,92	0,08	CUMPLE	99,92	0,08	CUMPLE	99,81	0,19	NO CUMPLE
3	100,00	0,00	CUMPLE	100,0	0,00	CUMPLE	99,86	0,14	NO CUMPLE
4	100,05	-0,05	CUMPLE	99,97	0,03	CUMPLE	99,94	0,06	CUMPLE
5	99,95	0,05	CUMPLE	99,95	0,05	CUMPLE	99,85	0,15	NO CUMPLE

LÍMITE ESPECIFICADO (mL): $\pm 0,08$

VOLUMEN PROMEDIO OBTENIDO A PARTIR DE CUATRO DETERMINACIONES.

TABLA 6.3

COMPARACIÓN DE LA INEXACTITUD DE MATRACES VOLUMÉTRICOS DE 100 mL
CON AJUSTE DEL MENISCO A LA LÍNEA DE AFORO,
USANDO LAS DIFERENTES FORMAS DE CÁLCULO.

FORMA DE CÁLCULO						
No. MATRAZ	USANDO LA FÓRMULA COMPLETA			USANDO EL FACTOR "2"		
	VOLUMEN PROMEDIO (mL)	INEXACTITUD (mL)	CONFORMIDAD CON ESPECIFICACIÓN	VOLUMEN PROMEDIO (mL)	INEXACTITUD (mL)	CONFORMIDAD CON ESPECIFICACIÓN
1	99,98	0,04	CUMPLE	99,98	0,04	CUMPLE
2	99,92	0,08	CUMPLE	99,92	0,08	CUMPLE
3	100,00	0,00	CUMPLE	100,01	-0,01	CUMPLE
4	100,05	-0,05	CUMPLE	100,08	-0,08	CUMPLE
5	99,95	0,05	CUMPLE	99,95	0,04	CUMPLE

LÍMITE ESPECIFICADO (mL): $\pm 0,08$
VOLUMEN PROMEDIO OBTENIDO A PARTIR DE CUATRO DETERMINACIONES.

TABLA 6.4

COMPARACIÓN DE LA INEXACTITUD DE MATRACES VOLUMÉTRICOS DE 50 mL
CON AJUSTE DEL MENISCO A LA LÍNEA DE AFORO,
USANDO LAS DIFERENTES FORMAS DE CÁLCULO.

FORMA DE CÁLCULO						
No. MATRAZ	USANDO LA FÓRMULA COMPLETA			USANDO EL FACTOR "2"		
	VOLUMEN PROMEDIO (mL)	INEXACTITUD (mL)	CONFORMIDAD CON ESPECIFICACIÓN	VOLUMEN PROMEDIO (mL)	INEXACTITUD (mL)	CONFORMIDAD CON ESPECIFICACIÓN
1	49,98	0,04	CUMPLE	49,98	0,04	CUMPLE
2	49,99	0,01	CUMPLE	49,99	0,01	CUMPLE
3	49,98	0,05	CUMPLE	49,95	0,05	CUMPLE
4	49,98	0,05	CUMPLE	49,95	0,05	CUMPLE
5	49,95	0,04	CUMPLE	49,95	0,04	CUMPLE

LÍMITE ESPECIFICADO (mL): $\pm 0,05$
VOLUMEN PROMEDIO OBTENIDO A PARTIR DE CINCO DETERMINACIONES.

TABLA 6.6

COMPARACIÓN DE LA INEXACTITUD DE MATRACES VOLUMÉTRICOS DE 25 mL
CON AJUSTE DEL MENISCO A LA LÍNEA DE AFORO,
USANDO LAS DIFERENTES FORMAS DE CÁLCULO.

FORMA DE CÁLCULO						
No. MATRAZ	USANDO LA FÓRMULA COMPLETA			USANDO EL FACTOR "Z"		
	VOLUMEN PROMEDIO (mL)	INEXACTITUD (mL)	CONFORMIDAD CON ESPECIFICACIÓN	VOLUMEN PROMEDIO (mL)	INEXACTITUD (mL)	CONFORMIDAD CON ESPECIFICACIÓN
1	24,99	0,01	CUMPLE	24,99	0,01	CUMPLE
2	25,00	0,00	CUMPLE	25,00	0,00	CUMPLE
3	24,99	0,01	CUMPLE	24,99	0,01	CUMPLE
4	24,96	0,04	NO CUMPLE	24,96	0,04	NO CUMPLE
5	24,99	0,01	CUMPLE	24,99	0,01	CUMPLE

LÍMITE ESPECIFICADO (mL) : $\pm 0,03$
VOLUMEN PROMEDIO OBTENIDO A PARTIR DE CINCO DETERMINACIONES.

TABLA 6.7

COMPARACIÓN DE LA INEXACTITUD DE MATRACES VOLUMÉTRICOS DE 10 mL
CON AJUSTE DEL MENISCO A LA LÍNEA DE AFORO,
USANDO LAS DIFERENTES FORMAS DE CÁLCULO.

FORMA DE CÁLCULO						
No. MATRAZ	USANDO LA FÓRMULA COMPLETA			USANDO EL FACTOR "Z"		
	VOLUMEN PROMEDIO (mL)	INEXACTITUD (mL)	CONFORMIDAD CON ESPECIFICACIÓN	VOLUMEN PROMEDIO (mL)	INEXACTITUD (mL)	CONFORMIDAD CON ESPECIFICACIÓN
1	9,99	0,01	CUMPLE	9,99	0,01	CUMPLE
2	10,00	0,00	CUMPLE	10,00	0,00	CUMPLE
3	10,00	0,00	CUMPLE	10,00	0,00	CUMPLE
4	10,00	0,00	CUMPLE	10,00	0,00	CUMPLE
5	10,01	0,01	CUMPLE	10,01	0,01	CUMPLE

LÍMITE ESPECIFICADO (mL) : $\pm 0,02$
VOLUMEN PROMEDIO OBTENIDO A PARTIR DE CINCO DETERMINACIONES.

TABLA 6.7

COMPARACIÓN DE LA INEXACTITUD DE MATRACES VOLUMÉTRICOS DE 5 mL
CON AJUSTE DEL MENISCO A LA LÍNEA DE AFORO,
USANDO LAS DIFERENTES FORMAS DE CÁLCULO.

FORMA DE CÁLCULO						
No. MATRAZ	USANDO LA FÓRMULA COMPLETA			USANDO EL FACTOR "Z"		
	VOLUMEN PROMEDIO (mL)	INEXACTITUD (mL)	CONFORMIDAD CON ESPECIFICACIÓN	VOLUMEN PROMEDIO (mL)	INEXACTITUD (mL)	CONFORMIDAD CON ESPECIFICACIÓN
1	5,00	0,00	CUMPLE	5,00	0,00	CUMPLE
2	5,01	-0,01	CUMPLE	5,01	-0,01	CUMPLE
3	5,01	-0,01	CUMPLE	5,01	-0,01	CUMPLE
4	5,01	-0,01	CUMPLE	5,01	-0,01	CUMPLE
5	5,01	-0,01	CUMPLE	5,01	-0,01	CUMPLE

LÍMITE ESPECIFICADO (mL): $\pm 0,02$

VOLUMEN PROMEDIO OBTENIDO A PARTIR DE CINCO DETERMINACIONES.

TABLA 6.8

EJEMPLO DE UNA HOJA DE CÁLCULO PARA LA DETERMINACIÓN DE LA INEXACTITUD DE UNA PIPETA AUTOMÁTICA MARCA "A" DE VOLUMEN FIJO

TÉCNICA DE PIPETEO: **NORMAL**

TEMPERATURA DEL AGUA: **22.4 °C** FACTOR Z: **1.00302**

VOLUMEN DE PRUEBA: **1.0000 mL**

No. LECTURA:	PESO DE AGUA ENTREGADA (g)
1	0.9990
2	0.9948
3	0.9977
4	0.9983
5	0.9948
6	0.9998
7	0.9968
8	0.9968
9	0.9983
10	0.9973
11	0.9983
12	0.9970
13	0.9978
14	0.9968
15	0.9981
MECIA	0.9988
DEV. STD.	0.0018
C.V. (%) *	0.18
VOLUMEN (mL)	0.9988
ERROR (%) **	-0.14

LIMITE ESPECIFICADO: PRECISIÓN : < 0.2 %
 EXACTITUD : ± 0.8 %

* PRECISIÓN EXPRESADA COMO COEFICIENTE DE VARIACIÓN (% C.V.)
 ** EXACTITUD EXPRESADA COMO % DE ERROR

DICTAMEN: **CUMPLE CON ESPECIFICACIONES**

TABLA 6.3

EJEMPLO DE UNA HOJA DE CÁLCULO PARA LA DETERMINACIÓN DE LA INEXACTITUD DE UNA PIPETA AUTOMÁTICA MARCA "A" DE VOLUMEN FIJO

TÉCNICA DE PIPETEO: REVERSO

TEMPERATURA DEL AGUA: 22.0 °C FACTOR Z: 1.00302

VOLUMEN DE PRUEBA: 1.0000 mL

No. LECTURA:	PESO DE AGUA ENTREGADA (g)
1	1.0014
2	1.0008
3	1.0004
4	1.0008
5	1.0011
6	1.0008
7	1.0017
8	1.0020
9	1.0003
10	1.0014
11	1.0010
12	1.0001
13	1.0009
14	1.0018
15	1.0023
MEDIA	1.0011
DESV. STD.	0.0008
C.V. (%) *	0.88
VOLUMEN (mL)	1.0041
ERROR (%) **	0.41

LÍMITE ESPECIFICADO: PRECISIÓN : < 0.2 %
EXACTITUD : ± 0.6 %

- * PRECISIÓN EXPRESADA COMO COEFICIENTE DE VARIACIÓN (% C.V.)
- ** EXACTITUD EXPRESADA COMO % DE ERROR

DICTAMEN: **CUMPLE CON ESPECIFICACIONES**

TABLA 6.10

COMPARACIÓN DE LA INEXACTITUD DE UNA PIPETA AUTOMÁTICA MARCA "A" DE VOLUMEN FIJO USANDO LAS DOS DIFERENTES TÉCNICAS DE PIPETEO.

TÉCNICA DE PIPETEO						
No. PRUEBA	NORMAL			REVERSO		
	VOLUMEN AJUSTADO (mL)	INEXACTITUD (%)	CONFORMIDAD CON ESPECIFICACIÓN	VOLUMEN AJUSTADO (mL)	INEXACTITUD (%)	CONFORMIDAD CON ESPECIFICACIÓN
1	0,9998	-0,04	CUMPLE	1,0041	0,41	CUMPLE
2	1,0002	0,02	CUMPLE	1,0046	0,46	CUMPLE
3	0,9995	-0,05	CUMPLE	1,0048	0,48	CUMPLE
4	0,9997	-0,03	CUMPLE	1,0050	0,50	CUMPLE

LÍMITE ESPECIFICADO (%) : $\pm 0,8$
 VOLUMEN PROMEDIO OBTENIDO A PARTIR DE QUINCE DETERMINACIONES.

TABLA 4.11

EJEMPLO DE UNA HOJA DE CÁLCULO PARA LA DETERMINACIÓN DE LA INEXACTITUD DE UNA PIPETA AUTOMÁTICA MARCA "B" DE VOLUMEN VARIABLE

TÉCNICA DE PIPETEO: REVERSO

TEMPERATURA DEL AGUA: 20.0 °C

FACTOR Z: 1.00262

VOLUMEN DE PRUEBA: 1.0000 mL

No. LECTURA:	PESO DE AGUA ENTREGADA (g)
1	0.9983
2	0.9987
3	0.9930
4	0.9988
5	0.9950
6	0.9947
7	0.9933
8	0.9948
9	0.9937
10	0.9959
11	0.9938
12	0.9964
13	0.9942
14	0.9937
15	0.9930
MEDIA	0.9949
DESV. STD.*	0.002
C.V. (%)	0.1613
VOLUMEN (mL)	0.9978
ERROR (mL)**	0.002

LÍMITE ESPECIFICADO:

PRECISIÓN : < 0.0025 mL

EXACTITUD : < 0.008 mL

- * PRECISIÓN EXPRESADA COMO DESVIACIÓN ESTÁNDAR
- ** EXACTITUD EXPRESADA COMO ERROR

DICTAMEN: CUMPLE CON ESPECIFICACIONES

TABLA 8.12

EJEMPLO DE UNA HOJA DE CÁLCULO PARA LA DETERMINACIÓN DE LA INEXACTITUD DE UNA PIPETA AUTOMÁTICA MARCA "B" DE VOLUMEN VARIABLE

TÉCNICA DE PIPETEO: NORMAL

TEMPERATURA DEL AGUA: 20.0°C

FACTOR Z: 1.00282

VOLUMEN DE PRUEBA: 1.0000 ml.

NO. LECTURA:	PESO DE AGUA ENTREGADA (g)
1	0.9996
2	0.9995
3	0.9994
4	0.9991
5	0.9979
6	0.9992
7	0.9995
8	0.9976
9	0.9997
10	0.9997
11	0.9990
12	0.9941
13	0.9937
14	0.9943
15	0.9995
MEDIA	0.9999
DESV. ESTD *	0.002
C.V. (%)	0.1919
VOLUMEN (mL)	0.9994
ERROR **	0.011

LÍMITE ESPECIFICADO: PRECISIÓN : < 0.0026 mL
EXACTITUD : < 0.006 mL

* PRECISIÓN EXPRESADA COMO DESVIACIÓN ESTÁNDAR
** EXACTITUD EXPRESADA COMO ERROR

DICTAMEN: NO CUMPLE CON ESPECIFICACIONES

TABLA 6.13

COMPARACIÓN DE LA INEXACTITUD DE UNA PIPETA AUTOMÁTICA MARCA "B"
USANDO LAS DOS DIFERENTES TÉCNICAS DE PIPETEO.

No. PRUEBA	TÉCNICA DE PIPETEO					
	NORMAL			REVERSO		
	VOLUMEN AJUSTADO (mL)	INEXACTITUD (mL)	CONFORMIDAD CON ESPECIFICACIÓN	VOLUMEN AJUSTADO (mL)	INEXACTITUD (mL)	CONFORMIDAD CON ESPECIFICACIÓN
1	0,9994	0,0106	NO CUMPLE	0,9975	0,0025	CUMPLE
2	0,9998	0,0102	NO CUMPLE	0,9950	0,0005	CUMPLE
3	0,9995	0,0105	NO CUMPLE	0,9985	0,0015	CUMPLE
4	0,9991	0,0109	NO CUMPLE	0,9973	0,0027	CUMPLE

LÍMITE ESPECIFICADO (mL): $\pm 0,006$
VOLUMEN PROMEDIO OBTENIDO A PARTIR DE QUINCE DETERMINACIONES

TABLA 6.14

EJEMPLO DE UNA HOJA DE CÁLCULO PARA LA DETERMINACIÓN DE LA INEXACTITUD DE UNA PIPETA AUTOMÁTICA MARCA "C" DE VOLUMEN VARIABLE

TÉCNICA DE PIPETEO: NORMAL

TEMPERATURA DEL AGUA: 21.0 °C

FACTOR Z: 1.00281

VOLUMEN DE PRUEBA: 9.5000 ml

No. LECTURA:	PESO DE AGUA ENTREGADA (g)
1	0,4675
2	0,4684
3	0,4680
4	0,4672
5	0,4689
6	0,4685
7	0,4682
8	0,4673
9	0,4684
10	0,4677
11	0,4680
12	0,4671
13	0,4685
14	0,4683
15	0,4678
MEDIA	0,4681
ERROR	0,002

LÍMITE ESPECIFICADO:

EXACTITUD : 0,465 - 0,505 g

DICTAMEN:

CUMPLE CON ESPECIFICACIONES

TABLA 6.16

EJEMPLO DE UNA HOJA DE CÁLCULO PARA LA DETERMINACIÓN DE LA INEXACTITUD DE UNA REPPETEDORA MARCA "A"

VOLUMEN DE LA PUNTA: 50 mL

AJUSTE DEL CONTROL: 1

TEMPERATURA DEL AGUA: 20.0 °C FACTOR Z: 1.00282

VOLUMEN DE PRUEBA: 1.0000 mL

No. LECTURA:	PESO DE AGUA ENTREGADA (g)
1	0.9981
2	0.9987
3	0.9992
4	0.9985
5	0.9973
6	0.9970
7	0.9988
8	0.9988
9	0.9989
10	0.9987
11	0.9944
12	0.9988
13	0.9984
14	0.9983
15	0.9971
MEDIA	0.9989
DEV. STD.	0.0012
C.V. (%)*	0.12
VOLUMEN (mL)	0.9988
ERROR (%)**	-0.06

LÍMITE ESPECIFICADO: PRECISIÓN : $\pm 0.5\%$
EXACTITUD $\pm 1.0\%$

* PRECISIÓN EXPRESADA COMO COEFICIENTE DE VARIACIÓN (% C.V.)
** EXACTITUD EXPRESADA COMO % DE ERROR

DICTAMEN: CUMPLE CON ESPECIFICACIONES

TABLA 8.10

EJEMPLO DE UNA HOJA DE CÁLCULO PARA LA DETERMINACIÓN DE LA INEXACTITUD DE UNA REPIPETADORA MARCA "A"

VOLUMEN DE LA PUNTA: 50 mL

AJUSTE DEL CONTROL: 2

TEMPERATURA DEL AGUA: 21.0 °C FACTOR Z: 1.00281

VOLUMEN DE PRUEBA: 2.0000 mL

No. LECTURA:	PESO DE AGUA ENTREGADA (g)
1	1.9970
2	1.9968
3	1.9965
4	1.9914
5	1.9964
6	1.9949
7	1.9963
8	1.9964
9	1.9928
10	1.9961
11	1.9968
12	1.9960
13	1.9967
14	2.0006
15	1.9968
MEDIA	1.9963
DESV. STD.	0.0032
C.V. (%) *	0.166
VOLUMEN (mL)	2.0000
ERROR (%) **	0.04

LÍMITE ESPECIFICADO: PRECISIÓN : $\pm 0.5\%$
EXACTITUD : $\pm 1.0\%$

- * PRECISIÓN EXPRESADA COMO COEFICIENTE DE VARIACIÓN (% C.V.)
** EXACTITUD EXPRESADA COMO % DE ERROR

DICTAMEN: CUMPLE CON ESPECIFICACIONES

TABLA 6.17

EJEMPLO DE UNA HOJA DE CÁLCULO PARA LA DETERMINACIÓN DE LA EXACTITUD DE UNA REPETIDORA MARCA "A"

VOLUMEN DE LA PUNTA: 50 mL

AJUSTE DEL CONTROL: 3

TEMPERATURA DEL AGUA: 21.0 °C FACTOR Z: 1.00281

VOLUMEN DE PRUEBA: 3.0000 mL

No. LECTURA:	PESO DE AGUA ENTREGADA (g)
1	2.9902
2	2.9912
3	2.9992
4	2.9942
5	2.9983
6	2.9909
7	2.9978
8	2.9900
9	2.9958
10	2.9910
11	2.9994
12	2.9908
13	2.9976
14	2.9958
15	2.9937
MEDIA	2.9943
DESV. STD.	0.0034
C.V. (%)*	0.11
VOLUMEN (mL)	3.0028
ERROR (%)**	0.09

LÍMITE ESPECIFICADO: PRECISIÓN : ± 0,5 %
EXACTITUD : ± 1,0 %

* PRECISIÓN EXPRESADA COMO COEFICIENTE DE VARIACIÓN (% C.V.)
** EXACTITUD EXPRESADA COMO % DE ERROR

DICTAMEN: CUMPLE CON ESPECIFICACIONES

TABLA #21

EJEMPLO DE UNA HOJA DE CÁLCULO PARA LA DETERMINACIÓN DE LA INEXACTITUD DE UNA REPIPETEADORA MARCA "A"

VOLUMEN DE LA PUNTA: 12,5 mL
 AJUSTE DEL CONTROL: 2
 TEMPERATURA DEL AGUA: 19,7 °C FACTOR Z: 1,00262
 VOLUMEN DE PRUEBA: 0,5000 mL

No. LECTURA:	PESO DE AGUA ENTREGADA (g)
1	0,4932
2	0,4996
3	0,4974
4	0,4999
5	0,4977
6	0,4976
7	0,4999
8	0,4979
9	0,4984
10	0,4941
11	0,4983
12	0,4984
13	0,4983
14	0,4976
15	0,4984
MEDIA	0,4978
DESV. STD.	0,0018
C.V. (%) *	0,36
VOLUMEN (mL)	0,4981
ERROR (%) **	-0,18

LÍMITE ESPECIFICADO: PRECISIÓN : $\pm 0,5$ A $0,2$ %
 EXACTITUD : $\pm 0,7$ %

* PRECISIÓN EXPRESADA COMO COEFICIENTE DE VARIACIÓN (% C.V.)
 ** EXACTITUD EXPRESADA COMO % DE ERROR

DICTAMEN: CUMPLE CON ESPECIFICACIONES

CAPÍTULO 7

CONCLUSIONES

1. Se describió el Procedimiento Estándar de Operación para Uso y Calibración de Matraces Volumétricos y Pipetas Automáticas.
2. Se realizó un estudio comparativo de las especificaciones establecidas por la USP, NBS, ASTM, NORMA MEXICANA, encontrándose que hay concordancia entre ellas.
3. Se determinó con base en los resultados obtenidos que el método de ajuste del punto más bajo del menisco a la cara superior de la línea de aforo es el más sencillo, exacto y preciso. Mientras que el método de fijación del menisco a la mitad del plano de la línea de aforo (centro de la elipse) es un método difícil de aplicar pues se trabaja sobre un plano imaginario y requiere de mucha práctica, por lo que no es conveniente su uso. Finalmente se encontró que con el método de ajuste del estrangulamiento a la línea de aforo se obtienen volúmenes por debajo de lo especificado, además de ser un método que no aparece documentado en normas específicas de calibración de material volumétrico.
4. Se calculó el volumen de matraces volumétricos de diferentes capacidades mediante la aplicación de dos técnicas, en la primera se consideraron los diferentes factores ambientales obtenidos de tablas, en la segunda se consideró el factor "z" equivalente a todos los factores de la primera técnica y se observó que no hay

diferencia significativa en el volumen obtenido por una u otra técnica, por lo que se recomienda calcular el volumen empleando el factor "z", pues es más sencilla y rápida su aplicación.

5. Se realizó un estudio de las especificaciones de algunas marcas de pipetas automáticas, las cuales son muy semejantes entre sí, aún cuando cada fabricante maneja sus tolerancias de acuerdo a las características del instrumento y a la técnica de pipeteo recomendada. Así mismo se observó que las especificaciones para pipetas volumétricas de vidrio y automáticas son muy similares por lo que es equiparable su uso.
6. Se probaron las técnicas de pipeteo reverso y normal recomendadas por los fabricantes de pipetas automáticas. De los resultados obtenidos se desprende que es importante seguir las indicaciones del fabricante para cada marca en particular, pues la técnica de pipeteo es determinante para el cumplimiento de las especificaciones, o la obtención de resultados con mayor exactitud.
7. Finalmente se probó la exactitud de una Repipeteadora, encontrándose que dicho instrumento tiene la capacidad de dosificar volúmenes exactos, con la ventaja de poder hacerlo con una sola carga de líquido.

ANEXO 1

**HOJA DE CALIBRACIÓN DE MATERIAL VOLUMÉTRICO.
(MATRACES VOLUMÉTRICOS)**

FECHA: _____

FOLIO: _____

NOMBRE DEL MATERIAL : _____

CAPACIDAD : _____

CLASE : _____

MARCA : _____

NÚMERO DE IDENTIFICACIÓN : _____

PROCEDIMIENTO : _____

AGUA PURIFICADA LOTE No. : _____

MATERIAL DE REFERENCIA	BALANZA	TERMÓMETRO	HIGROTÉRMÓMETRO
CLAVE DEL INSTRUMENTO			
VIGENCIA DE CALIBRACIÓN			

RESULTADOS OBTENIDOS:

TEMPERATURA AMBIENTE: _____ °C

HUMEDAD RELATIVA: _____ % H.R.

	LECTURA 1	LECTURA 2	LECTURA 3	LECTURA 4
PESO RECIPIENTE VACÍO (M _a) (g)				
PESO RECIPIENTE LLENO (M _b) (g)				
TEMPERATURA AGUA (°C)				

OBSERVACIONES :

REALIZÓ: _____
(NOMBRE Y FIRMA)VO.BO.: _____
(NOMBRE Y FIRMA)

ANEXO 2

HOJA DE CALIBRACIÓN DE PIPETAS AUTOMÁTICAS CON UN VOLUMEN DE PRUEBA

FECHA: _____

FOLIO: _____

NOMBRE DEL MATERIAL : _____

MARCA : _____

INTERVALO DE MEDICIÓN : _____

CLAVE : _____

PROCEDIMIENTO : _____

AGUA PURIFICADA LOTE No. : _____

MATERIAL DE REFERENCIA	BALANZA	TERMÓMETRO	HIGROTÉRMOMETRO
CLAVE DEL INSTRUMENTO			
VIGENCIA DE CALIBRACIÓN			

RESULTADOS OBTENIDOS:

TEMPERATURA AMBIENTE: _____ °C

HUMEDAD RELATIVA: _____ % H.R.

DETERMINACIÓN No.	PESO AGUA DESCARGADA (g)	TEMPERATURA AGUA (°C)	DETERMINACIÓN No.	PESO AGUA DESCARGADA (g)	TEMPERATURA AGUA (°C)
1			9		
2			10		
3			11		
4			12		
5			13		
6			14		
7			15		
8					

OBSERVACIONES : _____

REALIZÓ: _____ (NOMBRE Y FIRMA)

Vo.Bo.: _____ (NOMBRE Y FIRMA)

ANEXO 3

HOJA DE CALIBRACIÓN DE PIPETAS AUTOMÁTICAS CON DOS VOLÚMENES DE PRUEBA

FECHA: _____

FOLIO: _____

NOMBRE DEL MATERIAL : _____

MARCA : _____

INTERVALO DE MEDICIÓN : _____

CLAVE : _____

PROCEDIMIENTO : _____

AGUA PURIFICADA LOTE No. : _____

MATERIAL DE REFERENCIA	BALANZA	TERMÓMETRO	HIGROTÉRMOMETRO
CLAVE DEL INSTRUMENTO			
VIGENCIA DE CALIBRACIÓN			

VOLUMEN DE PRUEBA ALTO: _____ VOLUMEN DE PRUEBA BAJO: _____

RESULTADOS OBTENIDOS:

TEMPERATURA AMBIENTE: _____ °C

HUMEDAD RELATIVA: _____ % H.R.

DETERMINACIÓN No.	PESO AGUA DESCARGADA (g)		TEMPERATURA AGUA (°C)		DETERMINACIÓN No.	PESO AGUA DESCARGADA (g)		TEMPERATURA AGUA (°C)	
	VBAJO	VALTO	VBAJO	VALTO		VBAJO	VALTO	VBAJO	VALTO
1					9				
2					10				
3					11				
4					12				
5					13				
6					14				
7					15				
8									

OBSERVACIONES : _____
_____REALIZÓ: _____ Vo.Bo.: _____
(NOMBRE Y FIRMA) (NOMBRE Y FIRMA)

BIBLIOGRAFÍA

1. Centro Nacional de Metrología. Octavo Seminario Anual de Metrología, 1991.
2. Secretaría de Comercio y Fomento Industrial. Ley Federal sobre Metrología y Normalización, 1992.
3. Norma Oficial Mexicana NOM-CC-6-1990. Sistemas de Calidad, Gestión de la Calidad y Elementos de un Sistema de Calidad. Directrices Generales.
4. Secretaría de Salud. Proyecto de Norma Oficial Mexicana NOM-060-SSA1-1993. "Regulación Sanitaria de Establecimientos de la Industria Químico-Farmacéutica".
5. Secretaría de Salud. Proyecto de Norma Oficial Mexicana NOM-103-SSA1-1994. "Registros de Control de Uso de Instrumentos y Equipos de Control de Calidad para la Industria Químico-Farmacéutica".
6. Secretaría de Salud. Proyecto Norma Oficial Mexicana NOM-05-SSA-1994. "Requisitos Mínimos para la Calibración de Instrumentos que se utilizan en el Laboratorio de Control de Calidad para la Industria Químico Farmacéutica".
7. Centro Nacional de Metrología. Acreditamiento para Laboratorios de Química, Clave del documento CNM-MRDPT004. 1993, 6-7.
8. Sistemas de Metrología - Centro de Investigación en Matemáticas (SIMET-CIMAT). Curso "Introducción a la Metrología y Administración de Laboratorios", 1992.
9. Pharmacopeial Convention, Inc. 1994 ; The United States Pharmacopeia 23 ed., National Formulary 18 ed.; Rockville MD. 1680, 1859-1860.
10. Code of Federal Regulations Food and Drug Administration, 21 Section. Subpart D (58.61, 58.63) y Subpart E (58.81) 1994, 251-252.
11. Asociación Mexicana de Metrología, A.C. ; Revista "De la Metrología" Vol. 4 No. 2, 1994.
12. Skoog Douglas A., West Donald N. Química Analítica. Editorial Mc Graw Hill / Interamericana de México, Cuarta Edición 1992, 589-601.
13. Secretaría de Patrimonio y Fomento Industrial. Norma Oficial Mexicana NOM BB-86-1982. "Utensilios y Recipientes Volumétricos de Vidrio para Laboratorio-Especificaciones".

14. International Organization for Standardization. ISO 4787-1984. "Laboratory Glassware-Volumetric Glassware- Methods for Use and Testing of Capacity".
15. American Society for Testing and Materials. ASTM E 542-94. "Standard Practice for Calibration of Laboratory Volumetric Apparatus".
16. Ayres Gilbert H. Análisis Químico Cuantitativo. Editorial Harla, Segunda Edición 1970 267-278.
17. Orozco Fernando D. Análisis Químico Cuantitativo. Editorial Porrúa, 19ª Edición 1981 166-180.
18. Secretaría de Comercio y Fomento Industrial. Norma Oficial Mexicana de Metrología NOM-Z-55-1986. "Metrología-Vocabulario de Términos Fundamentales y Generales".
19. Pezet Sandoval Félix, Mendoza Illescas Jorge. Centro Nacional de Metrología. Vocabulario Internacional de Términos Fundamentales y Generales de Metrología. Publicación Técnica CNM-MMM-PT-001 1995.
20. Secretaría de Comercio y Fomento Industrial. Norma Oficial Mexicana NOM-CH-49-1984 "Instrumentos de Medición - Medidas Volumétricas Metálicas para Líquidos - Método de Calibración".
21. American Society for Testing and Materials. ASTM E 380-93 "Standard Practice for Use of the International System of Units" (SI), The Modernized Metric System.
22. International Organization for Standardization. ISO 1042-1983. "Laboratory Glassware-One-Mark Volumetric Flasks".
23. National Bureau of Standards Circular 602 "Testing of Glass Apparatus" 1973.
24. American Society for Testing and Materials. ASTM E 694-94 "Standard Specification for Laboratory Glass Volumetric Apparatus".
25. American Society for Testing and Materials. ASTM E 237-94a "Standard Specification for Laboratory Glass Microvolumetric Vessels (Volumetric Flasks and Centrifuge Tubes)"
26. American Society for Testing and Materials. ASTM E 288-94 "Standard Specification for Laboratory Glass Volumetric Flasks".
27. American Society for Testing and Materials. ASTM E 1157-87 (reapproved 1992) " Standard Specification for Sampling and Testing of Reusable Laboratory Glassware".

28. Kimble Science Products. Catalog K88, Second Printing, 1991 7A, 12A, 36A-45A
29. Corning Glassware Catalog 1994/1995 T4-T10
30. Willard Hobart H. , Furman N. Howell, Bricker Clark. Análisis Químico Cuantitativo Editorial Marín S.A., Tercera Edición 1955 97-105.
31. Alexéiev V.N. Análisis Cuantitativo Editorial Mir Moscú 1976 205-216.
32. Fritz James S., Schenk George H. Química Analítica Cuantitativa, Editorial Limusa 1979 635-646.
33. Kenkel John Analytical Chemistry for Technicians, Lewis Publishers, Inc. 1988 71-83.
34. Manual de Instrucciones Pipeta Marca "A" de Volumen Fijo y Volumen Variable.
35. Manual de Instrucciones Repipeteadora Marca "A".
36. National Bureau of Standards "The Calibration of Small Volumetric Laboratory Glassware" 1974.
37. Comisión Interinstitucional de Prácticas Adecuadas de Manufactura Farmacéutica A.C. (CIPAM) "Guía de Procedimientos Adecuados de Laboratorio Analítico" 1989.
38. Comisión Interinstitucional de Prácticas Adecuadas de Manufactura Farmacéutica A.C. (CIPAM) " Guía de Procedimientos Adecuados de Limpieza de Material Analítico" 1991.
39. Secretaría de Salud, Comisión permanente de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, Sexta Edición, 1994 ; México D.F. 19.
40. Secretaría de Patrimonio y Fomento Industrial. Norma Oficial Mexicana NOM-AA-39-1980 "Agua-Determinación de Sustancias Activas al Azul de Metileno (Detergentes)".
41. American Society for Testing and Materials. ASTM E 1154-89 (reapproved 1993) "Standard Specification for Piston or Plunger Operated Volumetric Apparatus".
42. Sistemas de Metrología (SIMET) Curso "Metrología en la Química Analítica" 1994.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

43. American Society for Testing and Materials. ASTM E 29-93a "Standard Practice for Using Significant Digits in Test Data to Determine Conformance with Specifications".
44. American Society for Testing and Materials. ASTM E1293-89 "Standard Specification for Glass Measuring Pipets".
45. Manual de Instrucciones Pipeta Digital Marca "C".
46. Manual de Instrucciones Pipeta Marca "B" .