

01158



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO

---

---

**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO  
EN INGENIERÍA**

**FACULTAD DE QUÍMICA**

**METROLOGÍA APLICADA PARA EL ASEGURAMIENTO DE LA  
CALIDAD EN MÉTODOS DE ENSAYO**

**TESIS  
PARA OPTAR POR EL GRADO DE**

**MAESTRO EN INGENIERÍA  
INGENIERÍA DE SISTEMAS  
SISTEMAS DE CALIDAD**

**PRESENTA**

**ALEJANDRO BARRAGÁN OCAÑA**



**DIRECTOR DE TESIS: M. EN C. MARIA DE LOS ANGELES OLVERA TREVIÑO**

**AÑO: 2004**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**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.

**ESTA TESIS NO SALE  
DE LA BIBLIOTECA**

BIOL. FRANCISCO J. INCERA UGALDE.  
Jefe de la Unidad de Administración del Posgrado.  
Presente.

Me es grato informarle que el alumno ALEJANDRO BARRAGAN OCAÑA presentará próximamente su examen para obtener el grado de Maestría en Ingeniería Campo de Conocimiento Ingeniería de Sistemas Campo Disciplinario Sistemas de Calidad (Clave 4039), con la tesis "METROLOGIA APLICADA PARA EL ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD EN METODOS DE ENSAYO", ante el siguiente jurado:

Presidente: Dr. Julio Ricardo Landgrave Romero  
Vocal: Dr. Sergio Estrada Orihuela (CIV)  
Secretario: M. en C. María del Rocio Cassaigne Hernández (FQ)  
Primer Suplente: M. en C. Socorro Alpizar Ramos (FQ)  
Segundo Suplente: M. en C. José Sámano Castillo (CIC)

Sin otro particular de momento, aprovecho la ocasión para enviarle un cordial saludo.

Atentamente  
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"  
Ciudad Universitaria, D. F., 18 de febrero de 2004.

El Coordinador

DR. WILFRIDO RIVERA GOMEZ FRANCO

C.c.p. Integrantes del Jurado.  
C.c.p. Departamento de Control Escolar de la Facultad de Química.  
C.c.p. Interesado.  
\*ggm.

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.

NOMBRE: Alejandro Barragán Ocaña

FECHA: 03/ marzo 05

MA: 

FACULTAD DE QUÍMICA  
MAESTRÍA Y DOCTORADO EN INGENIERÍA

BIOL. FRANCISCO J. INCERA UGALDE  
JEFE DE LA UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN  
DEL POSGRADO  
U N A M

PRESENTE

Distinguido Biol. Francisco J. Incera Ugalde:

Me permito informarle que después de haber revisado la tesis titulada:

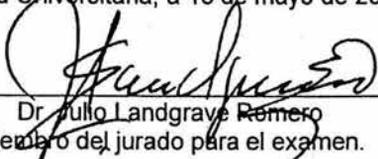
METROLOGÍA APLICADA PARA EL ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD EN  
MÉTODOS DE ENSAYO

que presenta el C. Q.F.B. ALEJANDRO BARRAGÁN OCAÑA, considero que cumple con los requisitos que solicita el programa de posgrado en Ingeniería y otorgo mi voto aprobatorio para que pueda proceder a presentar el examen oral y obtener el grado de MAESTRO EN INGENIERÍA – INGENIERÍA DE SISTEMAS (SISTEMAS DE CALIDAD).

Sin más por el momento, aprovecho la ocasión para enviarle un cordial saludo.

Atentamente

Ciudad Universitaria, a 18 de mayo de 2004



---

Dr. Julio Landgrave Romero  
Miembro del jurado para el examen.

FACULTAD DE QUÍMICA  
MAESTRÍA Y DOCTORADO EN INGENIERÍA

BIOL. FRANCISCO J. INCERA UGALDE  
JEFE DE LA UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN  
DEL POSGRADO  
U N A M

PRESENTE

Distinguido Biol. Francisco J. Incera Ugalde:

Me permito informarle que después de haber revisado la tesis titulada:

METROLOGÍA APLICADA PARA EL ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD EN  
MÉTODOS DE ENSAYO

que presenta el C. Q.F.B. ALEJANDRO BARRAGÁN OCAÑA, considero que cumple con los requisitos que solicita el programa de posgrado en Ingeniería y otorgo mi voto aprobatorio para que pueda proceder a presentar el examen oral y obtener el grado de MAESTRO EN INGENIERÍA – INGENIERÍA DE SISTEMAS (SISTEMAS DE CALIDAD).

Sin más por el momento, aprovecho la ocasión para enviarle un cordial saludo.

Atentamente

Ciudad Universitaria, a 18 de mayo de 2004



---

Dr. Sergio Estrada Orihuela  
Miembro del jurado para el examen.

FACULTAD DE QUÍMICA  
MAESTRÍA Y DOCTORADO EN INGENIERÍA

BIOL. FRANCISCO J. INCERA UGALDE  
JEFE DE LA UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN  
DEL POSGRADO  
U N A M

PRESENTE

Distinguido Biol. Francisco J. Incera Ugalde:

Me permito informarle que después de haber revisado la tesis titulada:

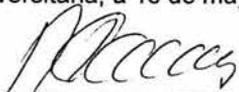
METROLOGÍA APLICADA PARA EL ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD EN  
MÉTODOS DE ENSAYO

que presenta el C. Q.F.B. ALEJANDRO BARRAGÁN OCAÑA, considero que cumple con los requisitos que solicita el programa de posgrado en Ingeniería y otorgo mi voto aprobatorio para que pueda proceder a presentar el examen oral y obtener el grado de MAESTRO EN INGENIERÍA – INGENIERÍA DE SISTEMAS (SISTEMAS DE CALIDAD).

Sin más por el momento, aprovecho la ocasión para enviarle un cordial saludo.

Atentamente

Ciudad Universitaria, a 18 de mayo de 2004



---

M. en C. Rocío Cassaigne Hernández  
Miembro del jurado para el examen.

FACULTAD DE QUÍMICA  
MAESTRÍA Y DOCTORADO EN INGENIERÍA

BIOL. FRANCISCO J. INCERA UGALDE  
JEFE DE LA UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN  
DEL POSGRADO  
U N A M

PRESENTE

Distinguido Biol. Francisco J. Incera Ugalde:

Me permito informarle que después de haber revisado la tesis titulada:

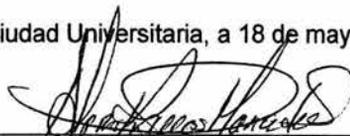
METROLOGÍA APLICADA PARA EL ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD EN  
MÉTODOS DE ENSAYO

que presenta el C. Q.F.B. ALEJANDRO BARRAGÁN OCAÑA, considero que cumple con los requisitos que solicita el programa de posgrado en Ingeniería y otorgo mi voto aprobatorio para que pueda proceder a presentar el examen oral y obtener el grado de MAESTRO EN INGENIERÍA – INGENIERÍA DE SISTEMAS (SISTEMAS DE CALIDAD).

Sin más por el momento, aprovecho la ocasión para enviarle un cordial saludo.

Atentamente

Ciudad Universitaria, a 18 de mayo de 2004



---

M. en C. Socorro Alpizar Ramos  
Miembro del jurado para el examen.

FACULTAD DE QUÍMICA  
MAESTRÍA Y DOCTORADO EN INGENIERÍA

BIOL. FRANCISCO J. INCERA UGÁLDE  
JEFE DE LA UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN  
DEL POSGRADO  
U N A M

PRESENTE

Distinguido Biol. Francisco J. Incera Ugalde:

Me permito informarle que después de haber revisado la tesis titulada:

METROLOGÍA APLICADA PARA EL ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD EN  
MÉTODOS DE ENSAYO

que presenta el C. Q.F.B. ALEJANDRO BARRAGÁN OCAÑA, considero que cumple con los requisitos que solicita el programa de posgrado en Ingeniería y otorgo mi voto aprobatorio para que pueda proceder a presentar el examen oral y obtener el grado de MAESTRO EN INGENIERÍA – INGENIERÍA DE SISTEMAS (SISTEMAS DE CALIDAD).

Sin más por el momento, aprovecho la ocasión para enviarle un cordial saludo.

Atentamente

Ciudad Universitaria, a 18 de mayo de 2004

---

M. en C. José Samano Castillo  
Miembro del jurado para el examen.

## **AGRADECIMIENTOS:**

### **A la maestra Ángeles:**

Por todo el tiempo dedicado al desarrollo de esta tesis, por el conocimiento que ha dejado en mí como parte de mi formación profesional, y por ser en todo momento una excelente persona.

### **A la UNAM:**

Por permitirme cursar, mis estudios de Posgrado en esta casa de estudios, así como también por el apoyo económico que se me otorgó para poder llevarlos a cabo.

### **Al CONACYT:**

Por el apoyo económico que se me otorgó para poder llevar a cabo mis estudios de Posgrado, y darme la oportunidad de continuar preparándome para tener un mejor desarrollo profesional en el futuro.

### **A todos mis maestros del Posgrado:**

Gracias por el valioso conocimiento que han dejado en mí, para poder ser un mejor profesional en esta área del conocimiento.

## **DEDICATORIAS:**

### **A mi madre, a tía Julieta, a tía Angélica y a tío Jorge (†):**

Gracias por su apoyo incondicional en esta importante etapa de mi vida. Y gracias a ti tío, porque donde quiera que estés, yo se que siempre me cuidas.

### **A Brenda:**

Por tu amor, apoyo y comprensión, gracias, porque sin ti el significado de este trabajo no sería el mismo. Te amo.

### **A Aloncito y a Cinthy:**

Gracias por ser mis hermanos, y estar a mi lado. Los quiero mucho.

### **A mi tía Lety, a mi papá Alfredo, a mi tío Manuel y a todos mis primos y primas:**

Porque saben lo importantes que son para mí.

### **A los que ya no están (†):**

Se que siempre están conmigo, y aunque ya no están físicamente los recuerdo en todo momento con cariño y respeto

### **A mis amigos Armando Esquivel y José Luis Gutiérrez:**

Gracias por el apoyo que siempre me brindaron.

## CONTENIDO

	Página
<b>RESUMEN</b>	10
<b>INTRODUCCIÓN</b>	11
<b>I.- ANTECEDENTES</b>	14
I.1.- Aseguramiento de la calidad	14
I.2.- Método de ensayo	14
I.3.- Aseguramiento de la calidad en métodos de ensayo	16
I.4.- La Metrología en el aseguramiento de la calidad en métodos de ensayo	16
I.5.- Normatividad en el aseguramiento de mediciones	17
I.6.- Los avances de la metrología de frontera y de vanguardia, como sustento del avance científico y tecnológico contemporáneo	19
I.7.- Importancia de la Metrología Química	20
I.7.- Un método de ensayo en particular "Determinación de ácido ascórbico"	21
I.9.- Principales características del ácido ascórbico	22
I.10.- Determinación de ácido ascórbico	25
I.11.- Revisión del método empleado	26
<b>I.12.-HIPÓTESIS</b>	28
<b>I.13.-OBJETIVO GENERAL</b>	28
<b>I.14.-OBJETIVOS ESPECÍFICOS</b>	28
<b>II.- ASEGURAMIENTO DE LA MEDICIÓN PARA ÁCIDO ASCÓRBICO UN MÉTODO DE ENSAYO(EN JUGOS) ISO 10012</b>	30
<b>II.1.-Control del proceso administrativo (Sistema de calidad)</b>	30
II.1.1.- Requisitos generales	30
II.1.2.- Administración de la responsabilidad	32
II.1.3.- Administración de los Recursos	35

<b>II.2.- Confirmación metrológica (Control de los instrumentos)</b>	52
II.2.1.- Realización del sistema de control de la medición	52
II.2.2. - Análisis del sistema de control de la medición y mejoramiento	66
<b>III.- TRAZABILIDAD DE LA MEDICIÓN PARA ÁCIDO ASCÓRBICO</b>	71
III.1.-Antecedentes	71
III.1.1.-Principios de trazabilidad	72
III.1.1.1.-Métodos, medidas y resultados	72
III.1.1.2.-Escala de medición, estándares y unidades	72
III.1.2.- Trazabilidad	73
III.1.2.1- La Definición Internacional	73
III.1.2.2- Sistema internacional de Cantidades y Unidades (SI)	73
III.1.3.- Establecimiento de la trazabilidad	74
III.1.3.1.- Actividades esenciales en el estableciendo de la trazabilidad	74
III.1.3.2- Especificación de la medición e incertidumbre requerida	75
III.1.3.3- Escoger un método conveniente	76
III.1.3.4- Validación	77
III.1.4.- Importancia de diferentes cantidades de influencia	78
III.1.5.- Química analítica y metrología	79
III.1.6.- Selección y aplicación de estándares apropiados de referencia	80
III.1.7.- Los materiales de referencia	80
III.1.7.1.- Elaboración de materiales de referencia	80
III.1.7.2.- Selección y fabricación	81
III.1.7.3.- Homogeneidad y estabilidad	81
III.1.7.4.- Proceso de certificación	82
III.1.7.5.- Aplicación de los materiales de referencia	83

III.1.7.6.- Clasificación	83
III.1.7.7.- Material de referencia (RM)	83
III.1.7.8.- Materiales de referencia certificados (CRM)	84
III.8.- Estimación de la incertidumbre	84
III.9.-Trazabilidad a una escala común	85
III.10.-Trazabilidad y el Centro Nacional de Metrología	85
<b>III.2.-Identificación de la fuente de trazabilidad de los resultados obtenidos en la determinación de Ácido Ascórbico</b>	<b>86</b>
III.2.1.-Etapa I	87
III.2.2.-Etapa II	87
III.2.3.-Etapa III	87
III.2.4.-Etapa IV	88
III.2.5.-Etapa V	88
III.2.6.-Etapa VI	88
III.2.7.-Etapa VII	89
III.2.8.-Etapa VIII	89
III.2.9.-Etapa IX	89
III.2.10.-Etapa X	90
III.2.11.-Etapa XI	93
<b>IV.- PROGRAMA DE VALIDACIÓN PARA LA MEDICIÓN DE ÁCIDO ASCÓRBICO</b>	<b>95</b>
IV.1.1.- Método de validación	95
IV.1.2.-Papel del método de validación	95
IV.1.3.- Necesidad de la validación del método	96
IV.1.3.1.-Importancia de la Medición Analítica	96
IV.1.4.- Validación de los métodos	96

IV.1.4.1.- Forma en que un método debe ser validado	97
IV.1.4.2.-Decidir qué grado de validación se requiere	98
IV.1.4.3.-El Requerimiento Analítico	99
IV.1.4.4.-Desarrollo del Método	101
IV.1.4.5.-Los diferentes parámetros de desempeño de un método y qué es lo que muestran estos	101
IV.1.4.5.1.-Límite de Detección	101
IV.1.4.5.2.-Límite de cuantificación	103
IV.1.4.5.3.-Precisión	104
<b>IV.2.-Realización programa de validación para la medición de ácido ascórbico</b>	<b>107</b>
IV.2.1-Precisión	107
IV.2.2.-Limite de detección	108
IV.2.3.-Limite de cuantificación	108
<b>V.- EVALUACIÓN DE LA INCERTIDUMBRE DE ACUERDO A LA GUM PARA LA MEDICIÓN DE ÁCIDO ASCÓRBICO</b>	<b>111</b>
V.1.1-Definiciones	111
V.1.1.1.-El Mensurando	111
V.1.1.2.-Principio de medición	111
V.1.1.3.-Método de medición	111
V.1.1.4.-Procedimiento de medición	112
V.1.2.-Modelo físico	112
V.1.3.-Modelo matemático	112
V.1.4.-Identificación de las fuentes de incertidumbre	113
V.1.5.-Cuantificación	114
V.1.6.-Distribuciones de probabilidad	114
V.1.7.-Combinación	115

V.1.8.-Correlación	116
V.1.9.-Incertidumbre expandida	116
V.1.10.-Diagrama para la estimación de incertidumbres de medición	118
<b>V.2.-Cuantificación de la incertidumbre</b>	<b>119</b>
V.2.1.-Introducción	119
V.2.2.-Paso 1:	119
V.2.2.1.-Especificación	119
V.2.2.2.-Procedimiento	119
V.2.2.3.-Cálculo	122
V.2.3.-Paso 2:	125
V.2.3.1.-Identificación y análisis de las fuentes de incertidumbre	125
V.2.4.-Paso 3:	126
V.2.4.1.-Cuantificación de la incertidumbre de los componentes	126
V.2.5.-Paso 4:	143
V.2.5.1.-Cálculo de las derivadas parciales	143
V.2.6.-Paso 5:	146
V.2.6.1.-Cálculo de la incertidumbre estándar combinada	146
V.2.6.2.-Cálculo de la incertidumbre expandida	146
<b>CONCLUSIONES</b>	<b>148</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>151</b>
<b>GLOSARIO</b>	<b>154</b>
<b>ANEXOS</b>	<b>155</b>
Formato 1	156
Formato 2	158
Formato 3	160

Formato 4	163
Formato 5	165
Formato 6	166
Formato 7	167
Formato 8	169
Formato 9	171
Formato 10	172
Formato 11	173
Formato 12	178
Certificado 1	180
Certificado 2	181
Certificado 3	182
Certificado 4	183
Resultado de la medición del jugo	184
Resultados de la medición de la solución estándar	185

### INDICE DE TABLAS

Tabla 1: Contenido en vitamina C en 100 gramos de diversos alimentos (frutas)	24
Tabla 2: Contenido en vitamina C en 100 gramos de diversos alimentos (verduras)	25
Tabla 3: Ingestión diaria de vitamina C recomendada por El INN Salvador Zubirán (adultos)	31
Tabla 4: Ingestión diaria de vitamina C recomendada por El INN Salvador Zubirán (niños de 0 a 5 meses)	31
Tabla 5: Ingestión diaria de vitamina C recomendada por El INN Salvador Zubirán (niños de 6 a 11 meses)	31

Tabla 6: Ingestión diaria de vitamina C recomendada por El INN Salvador Subirán (niños de 1 a 3 años)	31
Tabla 7: Requerimientos metrológicos para jugos	31
Tabla 8: Cantidades y unidades en medición química	74
Tabla 9: Listado de instrumentos de medición directa	88
Tabla 10: Listado de instrumentos que miden magnitudes diferentes a la magnitud base del S.I	88
Tabla 11: Trazabilidad de los instrumentos listados en la etapa V	89
Tabla 12: Límite de detección (referencia rápida)	102
Tabla 13: Límite de detección-medidas cualitativas (referencia rápida)	103
Tabla 14: Límite de cuantificación (referencia rápida)	104
Tabla 15: Precisión-repetibilidad y precisión de repetibilidad (referencia rápida)	105
Tabla 16: Medición de ácido ascórbico (mg/mL)	107
Tabla 17: Tabla de límite de detección en la medición de ácido ascórbico	108
Tabla 18: Tabla de límite de cuantificación en la medición de ácido ascórbico	108
Tabla 19: Resultados de la medición de ácido ascórbico	122
Tabla 20: Valores e incertidumbres de la titulación	123,144

## INDICE DE FIGURAS

Figura 1: Ácido ascórbico	22
Figura 2: Ácido dehidroascórbico	22
Figura 3: Ácido dicetogulónico	23
Figura 4: Organigrama propuesto para el laboratorio de ensayo	32
Figura 5: Sistema de aseguramiento en la determinación de ácido ascórbico para el Método Oficial de la AOAC 967.21	33
Figura 6: Mejora continua del sistema de gestión de la calidad	69

Figura 7: Selección desarrollo y evaluación de métodos	100
Figura 8: Diagrama para la estimación de incertidumbres de medición	118
Figura 9: Procedimiento para la determinación de ácido ascórbico	121
Figura 10: Diagrama de causa y efecto	124

#### **OTROS**

Modelo 1: Modelo matemático para el calculo de la incertidumbre combinada para el Método Oficial de la AOAC 967.21	146
Gráfica 1: Fuentes de incertidumbre en la determinación de ácido ascórbico por el Método Oficial de la AOAC 967.21	147

## RESUMEN

En la presente tesis se aborda el área alimentaria (Jugos) de la industria química. Para el desarrollo de este trabajo se tomó como ejemplo, la medición de ácido ascórbico en preparaciones de vitaminas y jugos, para poder ejemplificar y comprender todos los requerimientos metrológicos dentro de un laboratorio de ensayo. Para ello fue necesario analizar cada una de las etapas del proceso donde se hace uso de la metrología. Para poder cumplir con este objetivo, nos auxiliaremos en la norma 10012, y ejemplificaremos mediante el desarrollo de la aplicación práctica del Método Oficial de la AOAC 967.21 para determinar ácido ascórbico, el cual es un método titulométrico. La incertidumbre y trazabilidad son estudiados y aplicados para controlar la variabilidad del proceso en el método de ensayo, así como también la realización de un programa de validación para demostrar que el método es apto para el propósito previsto.

Lo anterior nos permite demostrar la importancia de la implantación de un sistema del control de la medición en un método de ensayo, para poder tener medidas repetibles y trazables, y asegurar así que nuestras mediciones han sido realizadas con calidad.

## INTRODUCCIÓN

La metrología juega un papel muy importante dentro de los métodos de ensayo, ya que nos ayuda a: planear, con la determinación de metas, objetivos y métodos, ejecutar por medio de, la instrumentación de métodos, verificar, en la medición los resultados obtenidos y a actuar, mediante la implementación de acciones correctivas cuando no se alcanzan los resultados esperados. De aquí que la metrología forme parte del ciclo de la mejora continua de la administración de la calidad. En una organización tal como los laboratorios de ensayo.

En este caso, se abordan dos áreas de la industria química, la alimentaria (jugos) y la farmacéutica (preparaciones de vitaminas), pues los resultados que éstas desarrollan en la parte de análisis químicos permiten desde el aseguramiento de la calidad de nuestros alimentos, hasta el control de la calidad de las materias primas en los procesos de manufactura en toda la industria [28]. La calidad de estas medidas depende, en gran parte, de la visión global de un laboratorio, ya sea al exterior o al interior de la empresa.

Para el desarrollo de esta tesis se tomará como ejemplo la medición de ácido ascórbico en preparaciones de vitaminas y jugos, para poder ejemplificar y comprender todos los requerimientos metrológicos dentro de un laboratorio de ensayo. Para ello, es necesario analizar cada una de las etapas del proceso, donde se hace uso de la metrología. Para poder cumplir con este objetivo, se ejemplifica mediante el desarrollo de la aplicación práctica del "Método Oficial de la AOAC 967.21 para determinar, ácido ascórbico en preparaciones de vitaminas y jugos 2,6-Dicloroindofenol" el cual es de carácter titulométrico, en el laboratorio de Metrología de la Facultad de Química.

Como suele suceder en la industria alimentaria y farmacéutica, la correcta medición de diversos conceptos va a afectar dentro de distintas áreas. Así mismo la correcta calibración en los equipos involucrados afectará en la calidad global de estas industrias. El desgaste de los componentes y los cambios de temperatura, entre otros factores perjudican poco a poco las funciones de los equipos. Por lo que los ensayos y las medidas comienzan a perder confiabilidad y la calidad del producto decrece.

Esta situación, no puede ser eludida, pero sí detectada, corregida y continuamente mejorada, a través de un sistema de control de la medición como el que propone la norma ISO 10012, o su equivalente mexicana NMX-CC-017/1:1995 IMNC. La correcta calibración de los equipos y el uso de sustancias y materiales de referencia adecuados, proporcionan la seguridad de que los productos o servicios que se ofrecen reúnen las especificaciones requeridas. La presente tesis resalta la importancia del aseguramiento de la calidad en la realización de mediciones confiables en métodos de ensayo.

Se presentan como antecedentes el estado actual mundial en cuanto al aseguramiento de la calidad, por medio de normas internacionales, así como el método de ensayo correspondiente. Se discute la base en que se deben

desarrollar los laboratorios de métodos de ensayo, para el aseguramiento de la medición, plasmado en la guía ISO 10012.

En todos los sistemas de calidad se incluye un elemento que ayuda a garantizar la calidad del producto, la metrología. Por lo tanto los conceptos metroológicos tales como incertidumbre y trazabilidad, se estudian y aplican para controlar la variabilidad del proceso en el método de ensayo.

Finalmente, se realizó un programa de validación, del Método Oficial de la AOAC 967.21, para demostrar que el método es apto para el propósito previsto y que los resultados tienen una incertidumbre aceptable.

La validación nos dará la confirmación del cumplimiento de los requisitos particulares del Método Oficial de la AOAC 967.21, Ácido Ascórbico en Preparaciones de Vitaminas y Jugos 2,6-Dicloroindofenol Método Titulométrico, por medio de un examen y aporte de evidencia objetiva.

En los resultados de la parte práctica de los capítulos del segundo al quinto de esta tesis se presentan figuras de aplicación y guías de las normas para el uso eficiente y adecuado de los recursos metroológicos para el aseguramiento de la calidad en la medición del método de ensayo citado anteriormente.

Con el trabajo desarrollado es posible demostrar la importancia que tiene la implantación de un sistema de control de la medición en un método de ensayo, así como establecer medidas repetibles y trazables, para asegurar que las mediciones han sido realizadas con calidad.

**CAPITULO 1**

**ANTECEDENTES**

## I. ANTECEDENTES

### I.1.- Aseguramiento de la calidad

El aseguramiento de la calidad es definido por la norma NMX-CC-9000-2000 (ISO 9000:2000) como la parte de la gestión de la calidad orientada a proporcionar confianza en que se cumplirán los requisitos de la calidad, y definiendo a su vez a la gestión de la calidad, como aquellas actividades coordinadas para controlar una organización en lo relativo a la calidad, entendiéndose calidad como el grado en que un conjunto de características inherentes cumple con los requisitos [14]. Cabe mencionar que es importante citar textualmente la definición de aseguramiento de calidad y aquellas palabras que están involucradas en su definición como gestión de la calidad y calidad, ya que en el desarrollo de esta tesis serán términos que ocuparemos con frecuencia para poder entender el aseguramiento de la calidad en las mediciones, conforme a la norma ISO 10012.

### I.2.- Método de ensayo

Un ensayo se define como la operación técnica que consiste en determinar una o varias características o la prestación de un producto, material, equipo, organismo, fenómeno físico, proceso o servicio dado, según un modo operativo especificado. Por tanto, el ensayo se hace mediante una sucesión de operaciones definidas de forma convencional por un modo operativo que puede haber sido redactado colectivamente (es el caso de una norma) o bien, redactado por un laboratorio. Para expresar el resultado del ensayo, se utiliza el término característica.

Una característica sólo tiene sentido con respecto al método de ensayo empleado. Por ejemplo, para un ensayo de dureza de un material, el método va a definir la forma del penetrador, la fuerza aplicada, la velocidad de aplicación de la fuerza y la característica medida: la dimensión de la huella.

La obtención de resultados reproducibles está condicionada por la necesidad de una definición, cuanto más detallada mejor, del método de ensayo, que es, por naturaleza, convencional.

Cabe destacar que en muchos casos los términos que corresponden a las características se forman con el sufijo "idad": estanqueidad, solubilidad, durabilidad, etc.

El carácter convencional o consensual no se puede reducir a un enfoque puramente científico. En algunos casos, la característica puede ser "homogénea" con el mensurando, como, por ejemplo, una longitud, en el caso de un ensayo de deformación. Por su dependencia frente al método de ensayo,

es necesario identificar y considerar los factores de influencia que se controlan mediante el método (por ejemplo, una temperatura de referencia).

Con frecuencia, un laboratorio que realiza ensayos aplicando un método concreto dispone de informes acerca de la calidad de dicho método. Estas informaciones se expresan en términos de veracidad y precisión.

En efecto, si se entiende que un resultado de ensayo es el producto de un proceso asociado al método implantado, queda entonces claro que la calidad del proceso de producción ejerce una influencia directa sobre la calidad del producto. Por tanto, es natural considerar que las informaciones disponibles en el método de ensayo (su precisión) permitan estimar la calidad del resultado (su incertidumbre).

Por tanto, resulta fundamental disponer de un procedimiento de estimación de la incertidumbre que utilice de forma óptima lo que se conoce del método de ensayo. Se puede estimar la incertidumbre sin hacer ensayos específicos o análisis estadísticos específicos, si se dispone de una estimación pertinente de la precisión.

Se reduce así el problema de la estimación de la incertidumbre de un resultado de ensayo, al problema de la estimación de la precisión del método de ensayo. Así, es posible estimar una incertidumbre sin coste añadido, lo que responde a la preocupación general de no incrementar el coste de la calidad [1].

Para realizar estos ensayos pueden existir muchas alternativas diferentes para algunos análisis y obviamente no es posible citar todos ellos en detalle. Entre los principales se han publicado procedimientos de referencia, reconocidos internacionalmente por organismos tales como ISO, IUPAC, Código Alimentario y la AOAC, entre otros.

Como en otros campos del análisis, la disponibilidad de buenos métodos es indispensable para obtener resultados correctos. No es exagerado enfatizar la gran importancia que tiene la limpieza de la mesa de trabajo y la atención meticulosa a los detalles en cada etapa. Los buenos resultados analíticos dependen también de la cuidadosa preparación de la muestra y un análisis preciso es de poco valor si los resultados no pueden interpretarse significativamente. Por tanto, es importante que los trabajadores del laboratorio tengan una apreciación realista de los fundamentos del muestreo, de la estadística y de los criterios de calidad, así como una comprensión del significado de los datos obtenidos.

Algunos de los problemas en el análisis de alimentos provienen del hecho de que muchos de los ingredientes usados en la manufactura de alimentos compuestos son alimentos ellos mismos, de origen biológico y de composición química muy variada. Por ejemplo, la harina usada en la fabricación del pan, pasteles y galletas puede prepararse por varios procedimientos de molienda de diversas variedades de trigo. Por consiguiente, la composición del producto fabricado puede variar ampliamente, dependiendo

de la composición de los ingredientes naturales o preparados. Las dificultades se presentan cuando el análisis del producto final se considera a fin de establecer la cantidad del ingrediente natural usado en su manufactura, por ejemplo, el contenido de tomate en una salsa, el de jugo de fruta en una bebida o el de cacao en el chocolate. Esto sólo puede alcanzarse mediante el análisis del producto final para determinar un componente importante del ingrediente natural que no sea aportado significativamente por otros ingredientes usados en el producto manufacturado. Sin embargo, la variación natural en la concentración del componente indicador seleccionado del ingrediente, dificulta la selección del medio más adecuado o de valor mínimo que se usará en el cálculo [7].

### **1.3.- Aseguramiento de la calidad en métodos de ensayo**

La norma ISO 17025 contiene todos los requisitos que los laboratorios de ensayos y de calibración tienen que cumplir si desean demostrar que operan un sistema de calidad, que son técnicamente competentes y que son capaces de generar resultados técnicamente válidos.

Como ya se había mencionado, el seguimiento de los requisitos extendidos en ISO 10012 facilitarán el cumplimiento con los requisitos para mediciones y procedimientos de control de la medición en otros estándares, como es el caso de la norma ISO 17025, sin pretender ser un suplente para los requisitos de la misma.

El incremento en la utilización de los sistemas de calidad generalmente ha aumentado la necesidad de asegurar que los laboratorios que forman parte de organizaciones grandes o que ofrecen otros servicios, pueden operar un sistema de calidad que cumpla con la distinta normatividad existente para este caso.

La aceptación de los resultados de ensayo y de calibración se facilitaría si los laboratorios cumplen con la norma ISO 17025 y si obtienen la acreditación de los organismos que otorgan su reconocimiento.

El uso de esta norma facilitará la cooperación entre laboratorios y otros organismos para ayudar en el intercambio de información y experiencia, así como en la armonización de normas y procedimientos que ayuden en el aseguramiento de la calidad en los métodos de ensayo [17].

### **1.4.- La Metrología en el aseguramiento de la calidad en métodos de ensayo**

En muchas ocasiones, las evaluaciones de desempeño para productos y servicios están especificadas bajo normas internacionales, lo que también aplica a los métodos de ensayo a ser utilizados para verificar la conformidad

con estas normas. Con el propósito de que los procesos de producción sean aceptados internacionalmente, las exigencias sobre las cuales se fundamentan las normas de calidad, demandan una transformación vigente que no permita asegurar y evaluar nuestros procesos.

En todos los sistemas de calidad se incluye un elemento que ayuda a garantizar la calidad del producto en los distintos tipos de industrias, la metrología. De esta manera los conceptos metroológicos tales como incertidumbre y trazabilidad requieren ser estudiados y aplicados para controlar la variabilidad del proceso productivo y en consecuencia la del producto.

Para poder tener una visión completa de los requerimientos metrologicos de un laboratorio de ensayo, es necesario analizar cada una de las etapas del proceso donde se hace uso de la metrología.

Con objeto de dar congruencia al sistema del control de la medición, es de vital importancia que el responsable del control del equipo de medición, sea también el responsable del laboratorio de metrología interno (sea este laboratorio físico o virtual) y en este laboratorio se deben resguardar y utilizar para la calibración de instrumentos, los patrones de medición del laboratorio.

El responsable del sistema del control de la medición, también debe tener la capacidad de supervisar las actividades metroológicas desarrolladas a lo largo y ancho del laboratorio, así como administrar la relación con los proveedores de servicios de calibración externos, contando con evaluación de su capacidad técnica y sus registros de actuación.

El establecimiento de la trazabilidad interna de las mediciones disminuirá sensiblemente los costos de los servicios de calibración externos, limitándose este tipo de calibración a los patrones de referencia y a las sustancias y/o materiales de referencia de cada una de las magnitudes bajo control y de acuerdo a los lapsos de confirmación metroológica que nuestra experiencia documentada nos permitirá ir optimizando [10].

### **I.5.- Normatividad en el aseguramiento de mediciones**

La ISO 10012 es una norma que incluye los requerimientos y una guía para implementar un sistema de control de mediciones y pueda ser útil en perfeccionar las actividades de medición y la calidad de los productos ya que cubre los siguientes aspectos:

#### **i) Requisitos generales:**

En este punto el sistema de control de medición para la determinación de ácido ascórbico por el método oficial de la AOAC 967.21 asegurará que los requerimientos metroológicos específicos sean satisfechos.

#### **ii) Manejo de la responsabilidad:**

El manejo de la responsabilidad de la función metrológica para la determinación de ácido ascórbico por el método oficial de la AOAC 967.21 será definida por el laboratorio. La dirección del laboratorio garantizará la disponibilidad de los recursos y personal necesarios para establecer y mantener la función metrológica en la determinación de ácido ascórbico a través de este método.

iii) Administración de los recursos:

La dirección de la función metrológica definirá y documentará las responsabilidades de todo el personal asignado para la operación y control del sistema de medición para la determinación de ácido ascórbico por el método oficial de la AOAC 967.21.

Los procesos del sistema de aseguramiento en la determinación de Ácido Ascórbico para el Método Oficial de la AOAC 967.21.21 serán documentados y validados a la extensión necesaria garantizando una implementación adecuada, consistencia de aplicación, y validez de los resultados de medición.

Los nuevos procesos o cambios de procedimientos documentados serán autorizados y controlados. Los procedimientos serán corrientes, disponibles y proveídos cuando se requieran.

Todo el equipo de medición necesario para satisfacer requerimientos metrologicos específicos para la determinación de ácido ascórbico por el método oficial de la AOAC 967.21 estará disponible e identificado en el registro del sistema de aseguramiento en la determinación de Ácido Ascórbico para el Método Oficial de la AOAC 967. 21. El equipo de medición será confirmado y usado en un ambiente que esté controlado a las extensiones necesarias garantizando resultados de mediciones válidas. El equipo de medición usado para controlar y registrar la influencia de cantidades será incluido en el sistema de control de la medición para la determinación de ácido ascórbico por el método oficial de la AOAC 967.21.

La dirección de la función metrológica definirá y documentará los requerimientos para productos y servicios que sean proveídos por proveedores para el sistema de control de la medición para la determinación de ácido ascórbico por el método oficial de la AOAC 967.21. Los proveedores serán evaluados y seleccionados con base en su habilidad para conocer los requerimientos de documentación. El criterio para la selección, monitoreo y evaluación serán definidos y documentados a los resultados registrados. Los registros de los productos o servicios empleados serán proveídos por los proveedores.

iv) Realización del sistema de control de la medición:

El sistema de control de la medición establecerá los elementos o la interacción de elementos necesarios para el logro de la confirmación

metrología y un continuo control de los procesos de medición para la determinación de ácido ascórbico por el método oficial de la AOAC 967.21.

v) Análisis del sistema de control de la medición y mejoramiento

El Análisis del sistema de control de la medición y mejoramiento para la determinación de ácido ascórbico por el método oficial de la AOAC 967.21 será llevado a cabo mediante auditorías del sistema, monitoreo y análisis de los procesos de medición para poder llevar a cabo acciones correctivas que nos lleven al continuo mejoramiento del sistema de control de la medición para la determinación de ácido ascórbico por el método oficial de la AOAC 967.21 [8].

Lo anterior nos permite enfatizar que si un sistema de medición en un método de ensayo, no proporciona medidas repetibles y trazables, de nada sirve a un laboratorio tener el mejor personal, los mejores equipos y las condiciones más apropiadas.

El aseguramiento de la calidad en las mediciones de laboratorios de ensayo, va más allá de evaluar la trazabilidad y la incertidumbre de las mediciones. De acuerdo a lo anteriormente planteado debemos implantar un sistema de control de la medición tan amplio como sea necesario para asegurar (mediante un conjunto de operaciones) que nuestras mediciones han sido realizadas con calidad y que cada uno de los elementos del sistema del control de la medición están conformes con los requisitos necesarios para su uso intencionado [10].

#### **1.6.- Los avances de la metrología de frontera y de vanguardia, como sustento del avance científico y tecnológico contemporáneo**

Los avances científicos en metrología de frontera y de vanguardia se han venido desarrollando de manera más acelerada en los últimos años, medidas que antes eran imposibles de desarrollarse hoy ya lo son gracias al continuo interés de los científicos por entrar en detalle en cosas tan grandes como las distancias que existen entre las distintas galaxias en nuestro universo en su interés por determinar que tan lejos están estas de nosotros, han permitido que la metrología empiece a avanzar a pasos agigantados por este lado de la ciencia.

Por otra parte, en el extremo contrario se encuentra la metrología de lo más pequeño o sea la nanometrología que está conduciendo prospectivamente a una nueva revolución industrial. En el marco de un estudio estratégico iniciado por el CIPM, acerca de los requerimientos técnicos futuros en metrología, se muestra la influencia que tendrá la nanotecnología en los Institutos Nacionales de Metrología. Según el campo de aplicación, se comenzó a desarrollar una nanoelectrónica, nanobiología, o nanoquímica, como ramas de la nanotecnología.

Entre los desafíos más tangibles se incluye la construcción altamente eficiente de nuevos materiales y moléculas átomo por átomo, pudiendo ser concebidos para poseer propiedades únicas, como ser extremadamente resistentes y livianos al mismo tiempo. Esto podría dar lugar, por ejemplo, a la fabricación de vehículos de bajísimo consumo. Nuevas drogas y agentes de contraste podrían ser diseñados a escala nanométrica, con capacidad de penetrar en el cuerpo humano hasta los lugares de más difícil acceso, para identificar células y tumores, pudiendo modificar o destruir selectivamente tejidos. Ya es previsible el desarrollo de nuevas sustancias para eliminar los más minúsculos contaminantes del aire y del agua. La compactación de información a escala atómica conducirá a una nueva tecnología informática. Otras aplicaciones de más largo alcance se orientan a copiar la forma como actúa la naturaleza para autoreproducir estructuras, con consecuencias revolucionarias para la agricultura.

Algunos Institutos Nacionales de Metrología se ocuparon del desarrollo de estos "nanostandards" y continúan los desarrollos de estructuras tridimensionales de geometría controlada con trazabilidad hasta redes cristalinas, en el ámbito de la metrología dimensional, o de la metrología mecánica.

Sin embargo, la nanotecnología se hace presente en prácticamente todas las ramas de la metrología, en la óptica, en los láseres, en la química, en la electricidad, en la electrónica, etc. [9, 29].

De aquí se desprende la importancia del desarrollo de medidas cada vez más grandes y pequeñas en la actividad científica, ya que el continuo desarrollo de estas seguirá representando un fuerte sustento para el avance en la ciencia y tecnología contemporánea en beneficio de la humanidad.

### **1.7.-Importancia de la Metrología química**

La metrología es el campo del conocimiento relativo a las mediciones, siendo sus principales temas de estudio las unidades de medida y sus patrones, la medición, los instrumentos de medición y aquellas cualidades referidas a la ejecución de las mediciones. De acuerdo con esto se puede decir que la metrología en química es el campo del conocimiento relativo a las mediciones químicas [3].

En el mundo industrializado son numerosos los aspectos de la vida que dependen de las medidas. La complejidad creciente de las técnicas modernas va acompañada de continuas demandas de más exactitud, mayor rango e intervalo y mayor diversidad de patrones en los dominios más variados. El desarrollo y mejora de esos patrones es de importancia, tanto a nivel internacional como nacional, para la ciencia, el comercio y la industria.

La Investigación Científica en el campo de la Metrología actual tiene los objetivos siguientes:

-Desarrollar las bases científicas y técnicas para las medidas futuras, realizando investigación fundamental y aplicada.

-Desarrollar, mejorar y mantener los patrones nacionales y las técnicas de medida de las Magnitudes Fundamentales y Derivadas.

-Participar en las intercomparaciones internacionales que garantizan el acuerdo internacional y la trazabilidad.

-Diseminar estos patrones, proveyendo de un servicio de medidas a las instituciones o personas que necesiten calibraciones del más alto nivel.

Por lo que se refiere a la metrología legal esta tiene los siguientes objetivos:

-Supone la base del desarrollo metrológico.

-Regula y controla la actividad metrológica, asociada a organizaciones reconocidas por el gobierno de cada país.

Y finalmente mencionaremos los objetivos que tiene la metrología aplicada:

-Brinda trazabilidad en las mediciones.

-Supone un medio para el progreso tecnológico.

-Busca mayor precisión en las aplicaciones de medida.

En México al igual que en muchos países del mundo cada día se realizan miles de mediciones químicas y físicas. Y debido a que los requerimientos para tener éxito en el comercio mundial en cuanto a evaluaciones de conformidad, normatividad, estándares y materiales de referencia son cada vez mayores, los laboratorios deberán contar con un soporte Metrológico que garantice el cumplimiento de estas exigencias. Ya que el poder brindar resultados más confiables de los análisis químicos que permiten el aseguramiento de la calidad de nuestros alimentos, medicamentos y diversos tipos de insumos desde el control de la calidad de las materias primas hasta en los procesos de manufactura en todo el país.

#### **1.8.- Un método de ensayo en particular, la determinación de ácido ascórbico**

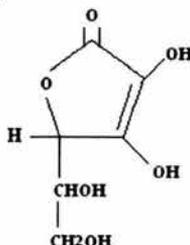
Anteriormente ya hemos hablado de lo que es un método de ensayo y el aseguramiento de la calidad, así cómo también la metrología participa en el aseguramiento de esta, sin embargo hablar de manera general de estos temas no dejan una idea muy clara de cómo podemos conjuntar estas áreas dentro de problemas reales que se viven en la vida cotidiana de cualquier industria que

lleve a cabo la realización de métodos de ensayo, y que sin lugar a dudas tiene que ser llevado en la práctica, para poder garantizar la calidad en la realización de estos métodos de ensayo. Por lo que a continuación se desarrollarán todos los puntos involucrados para poder llevar a cabo este aseguramiento de la calidad, en un método de ensayo en particular "La determinación de ácido ascórbico", y poder aterrizar así toda esta serie de puntos, en un ejemplo claro que nos ayude a comprender todo aquello que es necesario en cualquier método de ensayo para poder alcanzar este fin.

### 1.9.- Principales características del ácido ascórbico

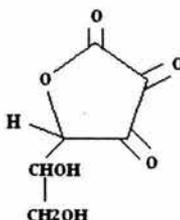
El ácido L-ascórbico (AA) es conocido también como vitamina C. Su composición química fue descubierta en 1932 por los químicos Szent-Gyorgy y Svirbely, en Hungría. Sus propiedades físicas/químicas son como sigue: solubilidad acuosa= 0.3 g/mL, punto función = 190-192 °C, potencial redox=  $E^0 = 0.166 \text{ V}$  a pH 4,  $pK_a = 4.17$ ,  $pK_{a2} = 11.57$ , y absorción máxima 245 nm (ácido) y 265 nm (neutral). El ácido Ascórbico se oxida rápidamente a ácido dehidroascórbico (DHAA) por oxígeno, y iones de metal en los medios alcalinos y ácidos. El ácido Dehidroascorbico puede además ser oxidado a ácido dicetogulónico [21].

Las estructuras de estos 3 compuestos se muestran a continuación:



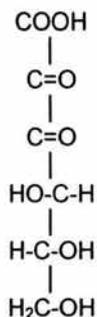
**Figura 1:** Ácido Ascórbico

Fuente: Pachla et al.: Review of ascorbic acid methodology, J. Assoc. Off. Anal. Chem. (Vol.68, No.1, 1985).



**Figura 2:** Ácido Dehidroascórbico

Fuente: Pachla et al.: Review of ascorbic acid methodology, J. Assoc. Off. Anal. Chem. (Vol.68, No.1, 1985).



**Figura 3:** Ácido Diketogulónico

Fuente: Pachla et al.: Review of ascorbic acid methodology, J. Assoc. Off. Anal. Chem. (Vol.68, No.1, 1985).

El AA existe naturalmente en frutas y hortalizas y, en menor extensión, en los tejidos animales y en los productos derivados de los mismos. En la naturaleza está presente casi exclusivamente en la forma reducida de ácido L-ascórbico (es decir, AA). La concentración de DHAA en los alimentos es, casi siempre, sustancialmente más baja que la de AA y depende de las velocidades de oxidación del ascorbato y de la hidrólisis del DHAA a ácido 2,3-diketogulónico. En ciertos tejidos animales existen actividades deshidroascorbato reductasa y ascorbato radical libre reductasa. Se cree que estas enzimas protegen a la vitamina mediante reciclado, contribuyendo a que existan bajas concentraciones de DHAA. Una cantidad significativa, aunque se desconoce su cuantía, de la fracción DHAA de los alimentos y del material biológico parece que se debe a un efecto analítico que se origina por oxidación del AA a DHAA durante la preparación de las muestras para su análisis. La inestabilidad del DHAA complica más dichos análisis.

El AA puede añadirse a los alimentos como ácido no disociado o como sal sódica neutralizada (ascorbato sódico). La conjugación del AA con compuestos hidrófobos y confiere un carácter liposoluble. Los ésteres de los ácidos grasos, como el palmitato de ascorbilo y los acetales de ácido ascórbico son liposolubles y pueden proporcionar un efecto antioxidante directo en los entornos lipídicos.

La oxidación del AA puede ocurrir en dos procesos de transferencia de un electrón o como una reacción única de dos electrones sin detección del intermediario semihidroascorbato. En las oxidaciones de un electrón, el primer paso implica la transferencia de un electrón formándose el radical libre ácido semideshidroascórbico. La pérdida de un electrón adicional rinde ácido deshidroascórbico, el cual es muy inestable debido a la sensibilidad a la hidrólisis del puente de lactona. Dicha hidrólisis, que irreversiblemente forma ácido 2,3-diketogulónico, es responsable de la pérdida de la actividad vitamina "C".

El AA es muy sensible a la oxidación, especialmente cuando la reacción está catalizada por iones metálicos, como  $\text{Cu}^{2+}$ , y  $\text{Fe}^{3+}$ . Asimismo, el calor y la

luz aceleran el proceso. En tanto que factores como el pH, la concentración de oxígeno y la actividad del agua, influyen poderosamente en la velocidad de la reacción. Como la hidrólisis del DHAA se produce muy fácilmente, la oxidación del DHAA constituye un aspecto esencial y una de ponderación de la velocidad de degradación oxidativa de la vitamina "C".

Las principales fuentes de AA de la dieta son las Frutas, hortalizas, zumos y alimentos fortificados (por ej., cereales de desayuno). Se ha observado en sujetos humanos que la biodisponibilidad del AA del brécol, gajos de naranja y zumo de naranja es equivalente a la de las tabletas comerciales de la vitamina. La biodisponibilidad del AA del brécol crudo es de un 20% más baja que la del cocido, lo que puede deberse a una incompleta masticación y/o digestión. La diferencia relativamente escasa entre la biodisponibilidad del AA del brécol y de otras hortalizas crudas en relación con sus formas cocidas puede tener escaso significado nutricional. A la luz de revisiones recientes de la bibliografía puede concluirse que el AA de la mayoría de las frutas y hortalizas esta disponible en grandes cantidades para el hombre [20].

**CONTENIDO EN VITAMINA C (expresado en miligramos) EN 100 GRAMOS DE DIVERSOS ALIMENTOS**

**Frutas**

	mg		mg
Acitindias	300	Moras	14
Acerolas	275	Albaricoques	12
Limón (Corteza)	150	Plátanos	10
Limón (Jugo)	54	Melocotones	9
Grosellas	130	Membrillos	8
Pomelos	85	Cerezas	7
Fresas	80	Melones	6.5
Naranjas	62	Castañas	6
Naranjas (Corteza)	90	Peras	5
Naranjas (Jugo)	50	Uvas	4
Piña (Ananás)	45	Manzanas	3.5
Limas	40	Nueces, avellanas	3.5
Frambuesas	28	Pasas	1
Mandarinas	25	Almendras	0.5
Arándanos	16	Ciruelas pasas	0.5

**Tabla 1**

**Fuente:** Ediciones CEDEL, Diccionario de los alimentos, segunda edición, Edita mexicana, S.A.; México 1984.

## Verduras, hortalizas

	mg		mg
Berros	200	Espinacas	42
Perejil	190	Achicorias	40
Pimientos	170	Cardos	39
Acedera	125	Espárragos	36
Cebolletas	120	Tomates	30
Hojas de rábano	115	Guisantes tiernos	26
Diente de león	100	Patatas tiernas	25
Col de bruselas	70	Cebollas	24
Coliflor	68	Endivias	14
Brécol	65	Lechugas	8
Col	55	Zanahorias	4

**Tabla 2**

Fuente: Ediciones CEDEL, Diccionario de los alimentos, segunda edición, Edita mexicana, S.A.; México 1984.

### I.10.- Determinación de ácido ascórbico

Dentro de la década pasada, numerosas publicaciones han aparecido describiendo los análisis del ácido ascórbico en productos alimentarios, farmacéuticos, y en muestras biológicas [21].

Existen muchos procedimientos para la determinación de AA en los alimentos; la elección de un método analítico apropiado es esencial para obtener resultados precisos. El ácido ascórbico absorbe fuertemente la luz UV ( $\lambda_{\max} \approx 245$  nm) pero hay que excluir el análisis espectrofotométrico directo debido a que en los alimentos existen otros muchos cromóforos. El DHAA absorbe débilmente a su  $\lambda_{\max} \approx 300$  nm. Los procedimientos analíticos tradicionales incluyen una titulación redox de la muestra con un colorante, como el 2,6-diclorofenolindofenol, durante la cual, la oxidación del AA va acompañada de la reducción del indicador redox a su forma incolora. Una limitación de este proceder es la interferencia de otros agentes reductores y la falta de respuesta del DHAA. El análisis secuencial de la muestra antes y después de la saturación con gas  $H_2S$  o el tratamiento con un reactivo tiol para reducir el DHAA a ácido L-ascórbico permite la determinación del ácido ascórbico total de la muestra. La medida del DHAA por diferencia no tiene la precisión del análisis directo.

Un procedimiento alternativo implica la condensación del DHAA (formado en la muestra mediante la oxidación controlada del ácido L-ascórbico) con diversos reactivos carbonilo. El tratamiento directo con fenilhidracina para formar un derivado detectable espectrofotométricamente, el ascorbil-bis-fenilhidracina, permite la medida simple de una disolución pura de L-AA.

Muchos compuestos carbonilo de los alimentos interferirán con este proceder. Un método similar implica la reacción del DHAA con o-fenilendiamina que forma un producto de condensación tricíclico, muy fluorescente. Aunque éste es más específico y sensible que el método de la fenilhidracina, también está expuesto a la interferencia con ciertos dicarbonilos de los alimentos. Los alimentos que contienen ácido iso-ascórbico no pueden analizarse, para conocer su contenido en vitamina C, por el método de titulación redox o el de condensación con reactivos carbonilo porque estos métodos responden a este compuesto nutritivamente inactivo.

Muchos métodos HPLC, muy sensibles, permiten una determinación confiable del total de ácido ascórbico (antes y después del tratamiento con agentes reductores) y con algunos de ellos se puede medir directamente el ácido L-ascórbico y el DHAA. La conjunción de una separación cromatográfica con la detección espectrofotométrica, fluorométrica o electroquímica hace que los análisis HPLC sean mucho más específicos que los tradicionales métodos de titulación redox. Se ha informado que los métodos HPLC permiten la determinación simultánea de los ácidos ascórbico e isoascórbico así como sus formas dehidro. Se ha descrito un método basado en cromatografía de gases-espectrometría de masas pero la intensa preparación de la muestra que requiere es una desventaja considerable de dicho procedimiento [20].

#### **1.11.- Revisión del método empleado (2,6 Dicloroindofenol)**

El reactivo estándar redox usado para el análisis de ácido ascórbico en una variedad de tipos de muestra es el 2,6-dicloroindofenol (DCIP). Las soluciones del reactivo son azules en un pH neutral y rosa en ácido. La estequiometría de la reacción redox fue propuesta primero por Tillmans [21]. La reacción es rápida y es de primer orden con respecto a cada reactante. La segunda constante de proporción de orden global fue dependiente del pH con un valor óptimo de  $56.5 \times 10^3$  L/mole/s en el pH bajo.

La primera aplicación de 2,6-dicloroindofenol para análisis ácido ascórbico fue reportado en 1932 por Tillmans et al [21]. Después de numerosas modificaciones, el método aun consiste en supervisar la absorbancia de DCIP a 518 nm antes y después de la adición de la muestra. Hoffman et al [21], ha automatizado el procedimiento de DCIP y usado este para determinar la concentración de ácido ascórbico en jugos de naranja y toronja. Su método era impropio para el análisis de limones debido a la alta acidez de la muestra. La turbiedad de la muestra fue minimizada directamente por la diálisis del ácido ascórbico de la muestra directamente dentro de la solución DCIP fluida. Otra versión automatizada introducida por Egberg y colaboradores [21] fue aplicada para el análisis de granos fortificados y bebidas. Este método requirió el paso de una extracción ácido metanólico-metanofosfórico para reducir la turbiedad de las suspensiones coloidales. El límite de detección del método fue de 6 µg/mL y la respuesta fue lineal a 200 µg/mL.

Ha habido interés considerable en determinar las concentraciones de ascorbato para estudios nutricionales y biomédicos. Debido al gran número de muestras en estos estudios, diversas variaciones de la metodología básica han sido desarrolladas. Se han introducido métodos para la lente de catarata, ovárico, y los tejidos linguales; leche infantil; y suero, sangre entera, y saliva. Una versión automatizada, rigurosamente evaluada por investigadores independientes, ha sido escogida como un "método seleccionado" para laboratorios clínicos. Este método produce una respuesta lineal de 2.0 a 20  $\mu\text{g}$  de ácido ascórbico/mL en suero, con una proporción de muestreo máximo de 60/h. Las Interferencias del sulfidros, sulfitos, y trisulfatos y de la oxidación catalítica de ascorbato por hierro (III) y cobre (II) fue minimizada usando un pH 3.5 solución de ácido metafosfórico.

Las limitaciones encontradas con métodos de DCIP resultan de la pobre especificidad e inestabilidad del tinte de DCIP. Muchas moléculas (por ejemplo, fenoles, sulfidrilos y reductonas triosa y iones (hierro, cobre, o sulfito) puede reducir 2,6-dicloroindofenol, y por consiguiente puede interferir.

El intento por minimizar esta predisposición positiva ha incluido el aislamiento cromatográfico del ácido ascórbico y remoción del ión metálico pesado vía precipitación de sal de mercaptido antes de la reacción. Otra manera de mejorar la especificidad involucra seguir la cinética de la reacción entre la vitamina y DCIP. Hiromi y colaboradores [21], usaron la relación lineal entre el aparente primer orden de proporción constante para la reducción del indofenol para determinar la concentración ácido ascórbico. La reacción de exceso de ácido ascórbico con DCIP fue lineal entre 0.5  $\mu\text{m}$  y 50  $\mu\text{m}$  y fue conveniente para el análisis del jugo de naranja. La cisteína y la glutaniona no interfirieron, y la interferencia por la reductona triosa fue minimizada. Recientemente, estos investigadores mejoraron el límite más bajo de detección a 2  $\mu\text{m}$  por la reacción del ácido ascórbico en presencia de exceso de reactivo y usando un procedimiento cinético de detección de flujo. Este método fue aplicado a una variedad de vegetales y frutas y requiere sólo de 1-2 s/muestra. La conveniencia de este tipo de metodología depende de los adelantos en los métodos de detección de flujo y de la necesidad para analizar muchas muestras. Esta metodología podría encontrar aceptación en laboratorios clínicos con analizadores centrífugos [21].

## **I.12 HIPOTESIS**

- Dado que no siempre los controles metrológicos son adecuados para la medición de un compuesto específico, es necesario establecer las especificaciones metrológicas para el caso del ácido ascórbico determinado conforme al Método Oficial de la AOAC 967.21 para reducir así la incertidumbre de la medición y entonces asegurar su calidad.

## **I.13 OBJETIVO GENERAL**

- Realizar un análisis, que demuestre, si los requerimientos de la norma ISO 10012 son los adecuados para llevar a cabo el objetivo general que esta norma persigue, así como también demostrar la importancia de las buenas técnicas de metrología en los sistemas de calidad de métodos de ensayo.

## **I.14 OBJETIVOS ESPECIFICOS**

- Proponer el camino para garantizar el aseguramiento de la medición de ácido ascórbico por el método oficial de la AOAC 967.21, a través del análisis de la ISO 10012.
- Proponer el camino para llevar a cabo la evaluación de la incertidumbre de acuerdo a la GUM y lograr trazabilidad en la determinación de ácido ascórbico por el método oficial de la AOAC 967.21.
- Proponer el camino para la validación de la determinación de ácido ascórbico por el método oficial de la AOAC 967.21, de acuerdo a las actuales recomendaciones internacionales.

## **CAPITULO 2**

# **ASEGURAMIENTO DE LA MEDICIÓN PARA ÁCIDO ASCÓRBICO UN MÉTODO DE ENSAYO (EN JUGOS) ISO 10012**

## II. ASEGURAMIENTO DE LA MEDICIÓN PARA ÁCIDO ASCÓRBICO UN MÉTODO DE ENSAYO (ÁCIDO ASCÓRBICO EN JUGOS)

### ISO 10012

#### Sistema de Aseguramiento en la Determinación de Ácido Ascórbico para el Método Oficial de la AOAC 967.21

El desarrollo de este capítulo está basado en la norma ISO 10012 y en el uso de todos sus numerales para su aplicación a este caso en específico. Sin embargo los puntos 1,2 y 3 no serán desarrollados dentro del capítulo ya que estos están referidos al alcance, las referencias normativas y algunas definiciones. Las cuales pueden consultarse directamente de la norma, por lo que para fines prácticos empezaremos el desarrollo de este capítulo a partir del punto número 4.

#### II.1.1 - Requisitos generales (Numeral 4 de la norma ISO 10012)

*El sistema de aseguramiento en la determinación de Ácido Ascórbico para el Método Oficial de la AOAC 967.21 asegurará que los requerimientos metrologógicos específicos establecidos en el punto 4 de esta norma sean satisfechos.*

*El laboratorio que determine ácido ascórbico a través del método oficial de la AOAC 967.21 especificará los procesos de medición, los cuales estarán sujetos a las estipulaciones de este estándar [8].*

#### Desarrollo:

Para asegurar que el método oficial de la AOAC 967.21 para la determinación de ácido ascórbico sea llevado a cabo con calidad, es decir que la medición de AA sea confiable, es necesario implementar un sistema de aseguramiento de mediciones. Para ello será necesario establecer los requisitos particulares del mensurando, conforme a la "Norma Oficial Mexicana NOM-086-SSA1-1994, Bienes y servicios. Alimentos y bebidas no alcohólicas con modificaciones en su composición". Que en las especificaciones nutrimentales del apartado 7.16 establece lo siguiente:

"Los límites mínimos y máximos permitidos para la adición, fortificación y enriquecimiento de alimentos y bebidas no alcohólicas será del 5 al 100% por porción de la ingestión diaria recomendada (Apéndice normativo B), siempre y cuando el aporte del nutrimento en las condiciones normales o usuales de consumo, no sobrepase la ingestión diaria recomendada".

En el cual el apéndice normativo "B" recomienda para concentraciones de ácido ascórbico lo siguiente:

De la ingestión diaria recomendada establecida por el Instituto Nacional de la Nutrición "SALVADOR ZUBIRAN" [18].

Nutriente	Valores (mg)
Vitamina C	60

**Tabla 3**

De la ingestión diaria recomendada para niños establecida por el Instituto Nacional de la Nutrición "SALVADOR ZUBIRAN"

En niños de 0 a 5 meses cumplidos	
Nutriente	Valores (mg)
Vitamina C	35

**Tabla 4**

En niños de 6 a 11 meses cumplidos	
Nutriente	Valores (mg)
Vitamina C	40

**Tabla 5**

En niños de 6 a 11 meses cumplidos	
Nutriente	Valores (mg)
Vitamina C	40

**Tabla 6**

Adaptación: Norma oficial mexicana NOM-086-SSA1-1994, bienes y servicios. alimentos y bebidas no alcohólicas con modificaciones en su composición. especificaciones nutrimentales.

Por lo que se refiere a las preparaciones farmacéuticas que contienen ácido ascórbico la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos establece como requisito particular que:

"Las tabletas de ácido ascórbico tienen que contener no menos del 90 y no más del 110 por ciento de la cantidad de  $C_6H_8O_6$  indicada en el marbete" [25].

#### Requerimientos metrológicos para jugos

Vitamina "C"	Valores (mg)
Adultos	3-60
niños de 0 a 5 meses cumplidos	1.75-35
En niños de 6 a 11 meses cumplidos	2-40
En niños de 6 a 11 meses cumplidos	2-40

**Tabla 7**

Basado en: Norma oficial mexicana NOM-086-SSA1-1994, bienes y servicios. alimentos y bebidas no alcohólicas con modificaciones en su composición. especificaciones nutrimentales.

## II.1.2.- Administración de la responsabilidad (Numeral 5 de la norma ISO 10012)

La responsabilidad de la función metrológica para la determinación de ácido ascórbico a través del método oficial de la AOAC 967.21 será definida por el laboratorio. La dirección del laboratorio garantizará la disponibilidad de los recursos necesarios para establecer y mantener la función metrológica en la determinación de ácido ascórbico a través de este método [8].

### Desarrollo:

La función metrológica puede ser distribuida a través del laboratorio que realice las determinaciones de ácido ascórbico y será definida por el director del laboratorio y se basa en el siguiente diagrama para poder cumplir con todas las áreas necesarias para garantizar una medición con calidad de acuerdo a la recomendación de la norma ISO 10012:2000.

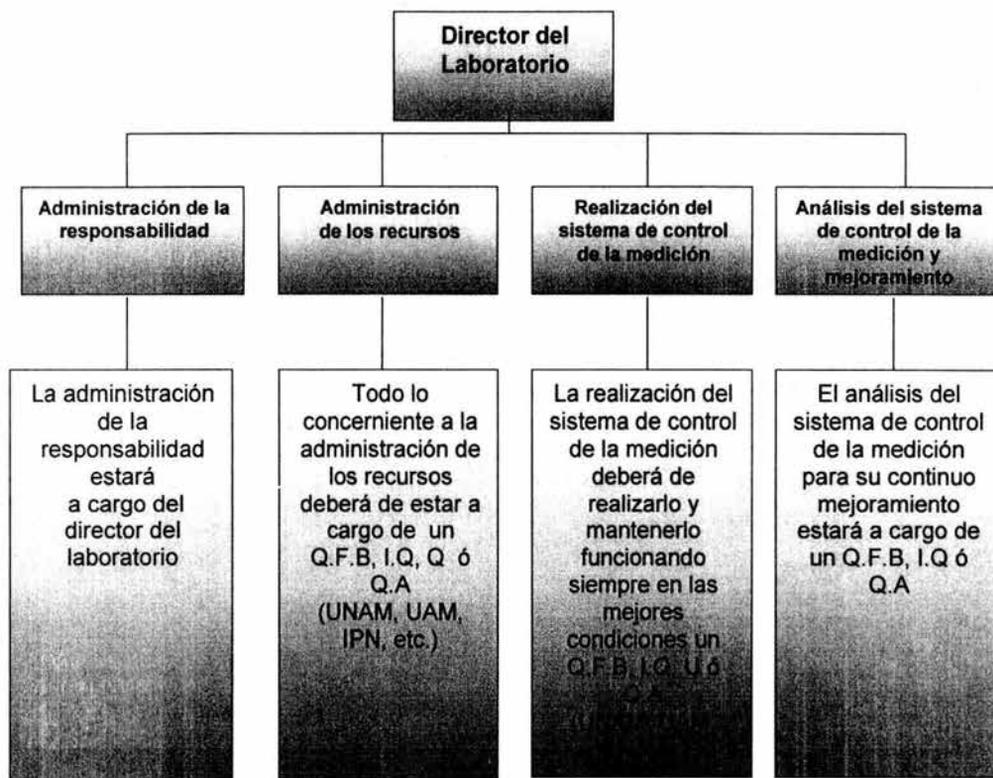


Figura 4

Adaptación de: ISO 10012: 2003, Measurement management systems—Requirements for measurement processes and measuring equipment.

El personal anteriormente mencionado en el organigrama deberá de demostrar capacidad técnica conforme a los requisitos establecidos en el desarrollo del punto 6.1.1 de esta norma, y poder garantizar así un correcto desarrollo en cada punto que nos exige la presente norma.

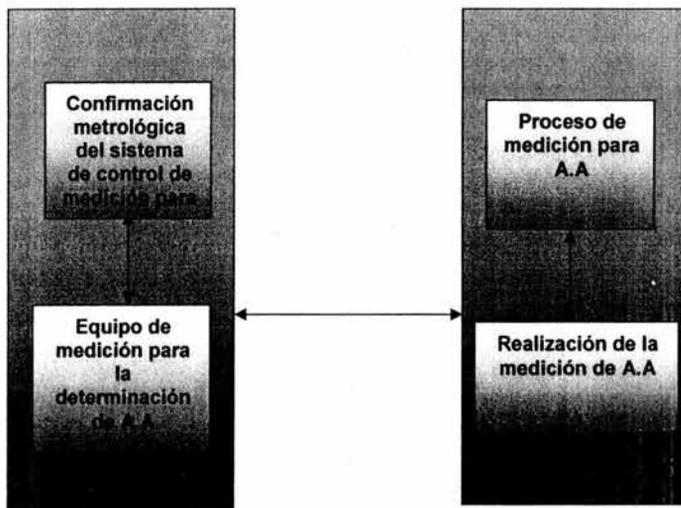
### **Sistema de control de la medición (Numeral 5.1 de la norma ISO 10012)**

*El manejo de la función metrológica para la determinación de ácido ascórbico por el método oficial de la AOAC 967.21 establecerá, documentará, mantendrá y continuamente mejorará la efectividad del sistema de control de la medición. Los cambios al sistema serán de acuerdo con los requerimientos del laboratorio. Cuando se decida el alcance y extensión del sistema, los riesgos y consecuencias del fracaso, para cumplir de acuerdo a los requerimientos metrológicos que serán tomados en el informe.*

*El sistema de aseguramiento en la determinación de Ácido Ascórbico para el Método Oficial de la AOAC 967.21, consiste de la confirmación metrológica del equipo de medición y el control de la realización de la designación de los procesos de medición [8].*

**Desarrollo:**

### **Sistema de Aseguramiento en la Determinación de Ácido Ascórbico para el Método Oficial de la AOAC 967.21**



**Figura 5**

Adaptación de: ISO 10012: 2003, Measurement management systems—Requirements for measurement processes and measuring equipment.

## **Requisitos del cliente (Numeral 5.2 de la norma ISO 10012)**

*La dirección de la función metrológica garantizará que las necesidades del cliente para la medición de ácido ascórbico por el método oficial de la AOAC 967.21, así como sus expectativas sean determinadas y convertidas en requerimientos metrológicos. El manejo de la función metrológica garantizará que el sistema de control de medición de ácido ascórbico por el método oficial de la AOAC 967.21 cumpla los requerimientos metrológicos de los clientes, que en este caso corresponden a los valores que necesitamos medir conforme a lo establecido en la norma oficial mexicana NOM-086-SSA1-1994, bienes y servicios. alimentos y bebidas no alcohólicas con modificaciones en su composición. especificaciones nutrimentales. El manejo de la función metrológica podrá demostrar compatibilidad con los requerimientos del cliente.*

### **Desarrollo:**

En este caso los requisitos del cliente deberán estar apegados a las especificaciones señaladas en el punto 4 de esta norma, ya que es competencia de la S.S.A a través de la NOM-086-SSA1-1994 y la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos establecer los requerimientos legales y regulatorios para el establecimiento de las concentraciones de A.A permitidas en jugos y preparaciones farmacéuticas.

## **Objetivos de calidad (Numeral 5.3 de la norma ISO 10012)**

*La dirección de la función metrológica definirá y establecerá los objetivos de calidad para el sistema de aseguramiento en la determinación de Ácido Ascórbico para el Método Oficial de la AOAC 967.21. El objetivo de la ejecución del criterio y procedimientos para los procesos de medición de ácido ascórbico por el método oficial de la AOAC 967.21, y su control deberán ser definidos por el personal del laboratorio, como los que a continuación se citan.*

### **Desarrollo:**

Los objetivos de calidad deberán ser determinados con base en las expectativas de cada laboratorio que realice mediciones de ácido ascórbico por el método oficial de la AOAC 967.21, aquí sólo se citan algunos ejemplos.

a) Mejorar la competencia técnica del personal involucrado en la medición de ácido ascórbico por el método oficial de la AOAC 967.21.

b) Detectar equipo que no cumpla con las confirmaciones metrológicas para su pronta reparación o sustitución.

c) Empezar a resolver inmediatamente las no conformidades que arrojen las auditorías hechas al sistema de aseguramiento en la determinación de ácido ascórbico.

#### **Revisión de la dirección (Numeral 5.4 de la norma ISO 10012)**

*La alta dirección del laboratorio garantizará la revisión sistemática del sistema de aseguramiento en la determinación de Ácido Ascórbico para el Método Oficial de la AOAC 967.21 en intervalos planeados, garantizando que estos sean implementados con una continuación efectiva y con la satisfacción de las necesidades. La dirección garantizará los recursos necesarios que sean necesarios para fijar el sistema de aseguramiento en la determinación de Ácido Ascórbico para el Método Oficial de la AOAC 967.21.*

*El plan para la revisión del manejo del sistema de aseguramiento en la determinación de Ácido Ascórbico para el Método Oficial de la AOAC 967.21 deberá de documentarse. Basado sobre los resultados de la medición de ácido ascórbico. La dirección de la función metrológica modificará el sistema si es necesario, de acuerdo a las necesidades de cada laboratorio. Los resultados de todas las revisiones y todas las decisiones tomadas serán anotados.*

#### **Desarrollo:**

El inicio para este proceso de revisión, análisis y mejoramiento del sistema de control de la medición de ácido ascórbico será abordado con amplitud dentro del punto número 8 de la norma ISO 10012 para un mejor desarrollo del mismo.

#### **III.1.3.- Administración de los recursos (Numeral 6 de la norma ISO 10012)**

##### **Recursos humanos (Numeral 6.1 de la norma ISO 10012)**

##### **Asignación del personal (Numeral 6.1.1 de la norma ISO 10012)**

*La dirección de la función metrológica definirá y documentará las responsabilidades de todo el personal asignado para la operación y control del sistema de medición para la determinación de ácido ascórbico por el método oficial de la AOAC 967.21.*

**Desarrollo:**

**Administración de la responsabilidad (Director del laboratorio):**

El responsable de esta área deberá cumplir con los siguientes requisitos y responsabilidades:

**Requisitos:**

- Ser profesional del área química en las siguientes áreas: Químico Farmacéutico Biólogo, Químico, Químico en Alimentos e Ingeniero Químico, etc.

- En todos los casos el profesional seleccionado deberá contar con Título y cédula profesional, reconocido por una institución de nivel superior pública o privada (UNAM, UAM, IPN, etc.).

**Tener experiencia en el área química de un año como mínimo en tareas tales como:**

- Planeación y organización.
- Control de recursos humanos y materiales.
- Experiencia en métodos analíticos.
- Cálculos estadísticos y control de calidad.

Nota: La experiencia deberá ser demostrada por el solicitante a través de documentación comprobatoria que así lo acredite.

**Características tales como:**

- Capacidad analítica.
- Guste trabajar por objetivos.

**Es conveniente que este profesional cuente con cursos que lo capaciten en áreas tales como:**

-Administración.

-Calidad.

-Métodos analíticos.

-Metrología.

**Responsabilidades:**

-Establecer, documentar, mantener y continuamente mejorar la efectividad sistema de aseguramiento en la determinación de Ácido Ascórbico para el Método Oficial de la AOAC 967.21.

-Garantizar la disponibilidad de los recursos necesarios para establecer y mantener la función metrológica.

-Garantizar que las necesidades del cliente para la medición de ácido ascórbico por el método oficial de la AOAC 967, así como sus expectativas sean determinadas y convertidas en requerimientos metrológicos.

-Definir y establecer los objetivos de calidad para el sistema de control de la medición de ácido ascórbico por el método oficial de la AOAC 967.21.

-Garantizar la revisión sistemática del Sistema de aseguramiento en la determinación de Ácido Ascórbico para el Método Oficial de la AOAC 967.21 en intervalos planeados, garantizando que estos sean implementados con una continuación efectiva y con la satisfacción de las necesidades.

**Nota:** El director es el encargado de planear, desarrollar y garantizar que estas actividades sean llevadas a cabo, a través del desarrollo de este sistema, por lo que durante el desarrollo del mismo se mostrara la forma de cómo poder cumplir con dichos objetivos.

**Administración de los recursos (Responsable):**

El responsable de esta área deberá de cumplir con los siguientes requisitos y responsabilidades:

**Requisitos:**

- Ser profesional del área química en las siguientes áreas: Químico Farmacéutico Biólogo, Químico, Químico en Alimentos e Ingeniero Químico, etc.
- En todos los casos el profesional seleccionado deberá contar con Título y cédula profesional, reconocido por una institución de nivel superior pública o privada (UNAM, UAM, IPN, etc.).

**Tener experiencia en el área química de un año como mínimo en tareas tales como:**

- Planeación y organización.
- Administración de recursos humanos y materiales.
- Experiencia en métodos analíticos.
- Manejo de software y desarrollo de formatos.
- Almacenaje y manejo del equipo.
- Control ambiental.
- Seguimiento a proveedores.

Nota: La experiencia deberá ser demostrada por el solicitante a través de documentación comprobatoria que así lo acredite.

**Características tales como:**

- Capacidad analítica.
- Empático.
- Guste trabajar por objetivos.

**Es conveniente que este profesional cuente con cursos que lo capaciten en áreas tales como:**

- Administración.

-Calidad.

-Métodos analíticos.

-Metrología.

**Responsabilidades:**

**Recursos humanos a través de:**

-Asignación del personal de personal para todas las áreas de este sistema conforme a lo establecido en el desarrollo del punto 6.1.1 de esta norma.

-garantizar que el personal involucrado con el sistema de aseguramiento en la determinación de Ácido Ascórbico para el Método Oficial de la AOAC 967.21 sea competente para ejecutar sus tareas asignadas mediante el cumplimiento del punto 6.1.1.

**Información de los recursos a través de:**

-Documentar y validar a la extensión necesaria los procesos utilizados en este sistema, garantizando una implementación adecuada, consistencia de aplicación, y validez de los resultados de medición, como se establece en el desarrollo del punto 6.2.1.

-Documentar, identificar y controlar el software garantizándolo apropiadamente para su uso continuo, como se establece en el desarrollo del punto 6.2.2.

-Establecer y mantener registros de procedimientos para garantizar la identificación, almacenaje, protección, reparación, retención de tiempo y disposición de registros, como se establece en el desarrollo del punto 6.2.3.

-Definir claramente los elementos del sistema para su correcta identificación, como se establece en el desarrollo del punto 6.2.4.

**Recursos materiales a través de:**

-Garantizar que todo el equipo de medición necesario para satisfacer requerimientos metrologicos específicos para la determinación de ácido ascórbico por el método oficial de la AOAC 967.21 estará disponible e identificado en el registro del sistema, como se establece en el desarrollo del punto 6.3.1.

-Establecer, mantener y usar procedimientos de documentación para recibir, manejar, transportar, almacenar y despacho del equipo de medición para la determinación de ácido ascórbico por el método oficial de la AOAC 967.21, en razón de prevenir el abuso, mal uso, daño y cambios en las características metrológicas, como se establece en el desarrollo del punto 6. 3. 2.

-Monitorear y registrar los factores ambientales que afecten las mediciones de ácido ascórbico. Las correcciones serán registradas y aplicadas a los resultados de medición, si es apropiado, como se establece en el desarrollo del punto 6. 3. 3.

**Proveedores a través de:**

-Definir y documentar los requerimientos para productos y servicios que sean proveídos por proveedores para el sistema de aseguramiento en la determinación de Ácido Ascórbico para el Método Oficial de la AOAC 967.21.

**Nota:** El responsable de esta área cumplirá sus obligaciones de acuerdo al desarrollo que se ha elaborado para el cumplimiento de la presente norma en cada uno de sus puntos, aquí sólo se especifica la tarea y se remite al lugar específico para poder realizarla.

**Realización del sistema de control de la medición (Responsable):**

El responsable de esta área deberá cumplir con los siguientes requisitos y responsabilidades:

**Requisitos:**

- Ser profesional del área química en las siguientes áreas: Químico Farmacéutico Biólogo, Químico, Químico en Alimentos e Ingeniero Químico, etc.

- En todos los casos el profesional seleccionado deberá contar con Título y cédula profesional, reconocido por una institución de nivel superior pública o privada (UNAM, UAM, IPN, etc.).

**Tener experiencia en el área química de un año como mínimo en tareas tales como:**

-Metrología.

-Manejo de equipo de medición de laboratorio químico.

-Diseño y planeación de procesos.

-Experiencia en métodos analíticos.

-Manejo de software y desarrollo de formatos.

**Nota:** La experiencia deberá ser demostrada por el solicitante a través de documentación comprobatoria que así lo acredite.

**Características tales como:**

-Capacidad analítica.

-Guste trabajar por objetivos.

**Es conveniente que este profesional cuente con cursos que lo capaciten en áreas tales como:**

- Metrología.

-Calidad.

-Métodos analíticos.

-Informática.

**Responsabilidades:**

**Procesos de confirmación metrológica a través de:**

-Diseñar e implementar la confirmación metrológica para dar seguridad de que las mediciones darán los requerimientos metrológicos para los procesos de medición, como se establece en el desarrollo del punto 7. 1. 1.

-Establecer los métodos usados para determinar o cambiar intervalos de confirmación, y describirlo en procedimientos documentados. Revisarlos y ajustarlos cuando sea necesario; asegurar un rendimiento continuo con los requerimientos metrológicos específicos, como se establece en el desarrollo del punto 7. 1. 2.

-Mantener la información relevante para la confirmación del estatus del equipo de medición para la determinación de ácido ascórbico por el método oficial de

la AOAC 967.21 fácilmente disponible para el usuario, incluyendo algunas limitaciones o requerimientos especiales, como se establece en el desarrollo del punto 7. 1. 3.

-Dar acceso a los dispositivos de ajuste sobre la confirmación del equipo de medición en el cual el ambiente afecta el funcionamiento, tendrá que ser cerrado o de otra manera salvaguardado para prevenir cambios no autorizados, como se establece en el desarrollo del punto 7. 1. 4.

-Sustentar las confirmaciones a través de registros atestiguados para las condiciones bajo las cuales los resultados fueron obtenidos, como se establece en el desarrollo del punto 7. 1. 5.

#### **Proceso de medición a través de:**

-Determinar los requerimientos metrológicos en base al cliente, organización, y requerimientos regulatorios y legales, como se establece en el desarrollo del punto 7. 2. 1.

-Identificar y cuantificar las características de ejecución requeridas para la proposición de uso de los procesos de medición para la determinación de ácido ascórbico por el método oficial de la AOAC 967.21 y sujetos a monitoreo y/o control, como se establece en el desarrollo del punto 7. 2. 2.

-Remover de servicio por segregación o identificación por prominente etiquetado o señalamiento, la confirmación de no conformidad y la preparación de un reporte de no conformidad, algún artículo de equipo de confirmación de medición del que se presume un mal funcionamiento, como se establece en el desarrollo del punto 7. 2. 3.

-Mantener los registros que demuestren rendimiento con los requerimientos de procesos de medición para la determinación de ácido ascórbico por el método oficial de la AOAC 967.21, como se establece en el desarrollo del punto 7. 2. 4.

#### **Realización de la medición a través de:**

-Estimar por cada proceso de medición cubierto por el sistema de aseguramiento en la determinación de Ácido Ascórbico para el Método Oficial de la AOAC 967.21. su incertidumbre y registrarla, como se establece en el desarrollo del punto 7. 3. 1.

-Garantizar que todas las mediciones utilizadas en este método sean trazables a través de estándares nacionales de laboratorio por el SI de unidades de medición, o a constantes naturales cuyo valor este en términos del SI que sea conocido y recomendado por la conferencia general de pesos y medidas, como se establece en el desarrollo del punto 7. 3. 2.

**Nota:** El responsable de esta área cumplirá sus obligaciones de acuerdo al desarrollo que se ha elaborado para el cumplimiento de la presente norma en cada uno de sus puntos, aquí sólo se especifica la tarea y se remite al lugar específico para poder realizarla.

**Análisis del sistema de control de la medición y mejoramiento (Responsable):**

El responsable de esta área deberá cumplir con los siguientes requisitos y responsabilidades:

**Requisitos:**

- Ser profesional del área química en las siguientes áreas: Químico Farmacéutico Biólogo, Químico, Químico en Alimentos e Ingeniero Químico, etc.
- En todos los casos el profesional seleccionado deberá contar con Título y cédula profesional, reconocido por una institución de nivel superior pública o privada (UNAM, UAM, IPN, etc.).

**Tener experiencia en el área química de un año como mínimo en tareas tales como:**

- Auditorías.
- Metrología.
- Manejo de equipo de medición de laboratorio químico.
- Diseño y planeación de procesos.
- Experiencia en métodos analíticos.

Nota: La experiencia deberá ser demostrada por el solicitante a través de documentación comprobatoria que así lo acredite.

**Características tales como:**

- Capacidad analítica.
- Empático.
- Guste trabajar por objetivos.

**Es conveniente que este profesional cuente con cursos que lo capaciten en áreas tales como:**

- Auditorías.
- Metrología.
- Calidad.
- Métodos analíticos.
- Informática.

**Responsabilidades:**

**Auditoría del sistema de control de la medición a través de:**

-Planear auditorías del sistema de aseguramiento en la determinación de Ácido Ascórbico para el Método Oficial de la AOAC 967.21garantizando que este sea continuamente implantado efectivamente y de acuerdo con los requerimientos. Las auditorías serán conducidas por otro personal que sea representante de la actividad a ser auditada, y que los resultados de las auditorías sean reportados a la dirección del laboratorio, como se establece en el desarrollo del punto 8. 1.

**Monitoreo de los procesos de medición a través de:**

-Monitorear los procesos de medición de acuerdo con los procedimientos documentados y en intervalos establecidos, como se establece en el desarrollo del punto 8. 2.

-Los elementos del proceso para el análisis se identificarán y limitarán por los elementos establecidos, como se establece en el desarrollo del punto 8. 2. 1.

-Cuando un parámetro relevante proceso de medición de ácido ascórbico es encontrado excediendo límites especificados, o cuando la secuencia de inspecciones muestren un inaceptable modelo se deberán tomar acciones correctivas, como se establece en el desarrollo del punto 8. 2. 2.

**Mejoramiento a través de:**

-planear y manejar el continuo mejoramiento del sistema de aseguramiento en la determinación de Ácido Ascórbico para el Método Oficial de la AOAC 967.21, como se establece en el desarrollo del punto 8. 3.

**Nota:** El responsable de esta área cumplirá sus obligaciones de acuerdo al desarrollo que se ha elaborado para el cumplimiento de la presente norma en cada uno de sus puntos, aquí sólo se especifica la tarea y se remite al lugar específico para poder realizarla.

### **Competencia y capacitación (Numeral 6.1.2 de la norma ISO 10012)**

*La dirección de la función metrológica garantizará que el personal involucrado con el sistema de aseguramiento en la determinación de Ácido Ascórbico para el Método Oficial de la AOAC 967.21 sea competente para ejecutar sus tareas asignadas. Algunas habilidades especializadas requerirán ser documentadas. La dirección del laboratorio garantizará que el entrenamiento es a condición de que la dirección identifique las necesidades. Y que la efectividad del entrenamiento sea evaluada y documentado. El personal que participe en la determinación de ácido ascórbico por el método oficial de la AOAC 967.21 será enterado de la extensión de sus responsabilidades y obligaciones, y el impacto de sus actividades sobre la efectividad del sistema de aseguramiento en la determinación de Ácido Ascórbico para el Método Oficial de la AOAC 967.21.21 y la calidad del producto.*

#### **Desarrollo:**

La preparación del personal para la realización de las diversas tareas de cada elemento que compone este sistema se garantiza a través del cumplimiento de todos los requisitos del desarrollo del punto 6.1.1.

Si de alguna forma se llegara a detectar la necesidad de capacitación de alguno de estos profesionistas, esta deberá ser impartida por alguna institución reconocida en este campo, entre las cuales se encuentran:

- CENAM
- EMA
- IMNC
- UNAM
- IPN

O cualquier otra que tenga un reconocido prestigio en el área como las anteriormente citadas.

Sobre el aviso para comunicar al personal que participa en este sistema, de la extensión de sus responsabilidades y obligaciones, y el impacto de sus actividades sobre la efectividad del sistema de aseguramiento en la determinación de Ácido Ascórbico para el Método Oficial de la AOAC 967.21.21 y la calidad del producto, se realizará mediante una circular que se encuentra en la parte de anexos, en los formatos número 1, 2, 3 y 4 y que deberán de ser entregadas al responsable de cada área.

## **Procedimientos (Numeral 6.2.1 de la norma ISO 10012)**

*Los procesos del sistema de aseguramiento en la determinación de Ácido Ascórbico para el Método Oficial de la AOAC 967.21.21 serán documentados y validados a la extensión necesaria garantizando una implementación adecuada, consistencia de aplicación, y validez de los resultados de medición.*

*Los nuevos procesos o cambios de procedimientos documentados serán autorizados y controlados. Los procedimientos serán corrientes, disponibles y proveídos cuando se requieran.*

### **Desarrollo:**

Por la extensión de la parte de validación de los procesos del sistema de aseguramiento en la determinación de Ácido Ascórbico para el Método Oficial de la AOAC 967.21.21 esta será desarrollada con mayor amplitud en un capítulo completo de la presente tesis.

Esta parte se desarrollará con base en el procedimiento técnico basado en método oficial de la AOAC 967.21 Ácido ascórbico en preparaciones de vitaminas y jugos<sup>2</sup>, 6-Dicloroindofenol método titulométrico de la siguiente fuente:

Patricia Cunnif, Official methods of analysis of AOAC international, sixteenth edition, volume II, published by AOAC international, USA 1995.

## **Software (Numeral 6.2.2 de la norma ISO 10012)**

*El software usado en los procesos de medición y cálculos de resultados para la determinación de ácido ascórbico por el método oficial de la AOAC 967.21 será documentado, identificado y controlado garantizando apropiadamente para su uso continuo. El software y algunas revisiones a este, serán probadas y/o validadas antes de su uso, aprobado para su uso, y conservación.*

### **Desarrollo:**

El software que se ocupará como herramienta auxiliar en la determinación de ácido ascórbico, en lo que se refiere a la documentación, validación, identificación y control de los procesos para la determinación de ácido ascórbico por el método oficial de la AOAC 967.21, será una hoja de cálculo como Excel u otra que presente una compatibilidad similar a ésta.

En este programa se desarrollarán todos los formatos concernientes a la documentación, validación, identificación y control de los procesos para la determinación de ácido ascórbico por el método oficial de la AOAC 967.21 así como la hoja de cálculo que realice todos los cálculos necesarios para la cuantificación de ácido ascórbico y la incertidumbre en la muestra a ser analizada. Dichos formatos y hojas de cálculo son desarrollados en los siguientes puntos de esta norma.

### **Registros (Numeral 6.2.3 de la norma ISO 10012)**

*Los registros contienen información requerida para la operación del sistema de control de la medición para la determinación de ácido ascórbico por el método oficial de la AOAC 967.21 que será establecido y mantenido. Un procedimiento documentado garantizará la identificación, almacenaje, protección, reparación, retención de tiempo y disposición de registros.*

#### **Desarrollo:**

Todos los registros en papel para la operación de este sistema deberán ser almacenados por duplicado en ubicaciones distantes y un tercero en documento electrónico.

En el primer tipo de registro se seguirán los siguientes pasos:

- a) Una de las copias en papel será almacenada en un estante cerrado con llave.
- b) La segunda deberá de estar disponible en una carpeta para su consulta.
- c) El tercer documento deberá de ser capturado en formato electrónico y almacenado en un dispositivo de almacenaje electrónico (Disco duro, CD, Disquete).
- d) Como se ha visto, este sistema está dividido en cinco partes por lo que en el encabezado del documento se deberá incluir el siguiente código como lo sugiere la norma en la parte superior del documento para su correcta identificación como a continuación se describe:

-Para lo concerniente a requisitos generales anteceder con el número 4 y su subíndice correspondiente si lo hay.

-Para lo concerniente a la administración de la responsabilidad anteceder con el número 5 y su subíndice correspondiente si lo hay.

-Para lo concerniente a la administración de los recursos anteceder con el número 6 y su subíndice correspondiente si lo hay.

-Para lo concerniente a la realización del sistema de control de la medición anteceder con el número 7 y su subíndice correspondiente si lo hay.

-Para lo concerniente al análisis del sistema de control de la medición y mejoramiento anteceder con el número 8 y su subíndice correspondiente si lo hay.

e) Posterior a este número se anexará la fecha de elaboración o modificación del mismo de la siguiente manera dd/mm/aa.

f) Se incluirán 3 iniciales las cuales corresponderán al primer nombre de la persona, la del apellido paterno y materno.

g) Finalmente el código a manera de ejemplo deberá quedar de la siguiente forma:

**6.1.1.21/08/03.A.B.O**

h) Para su almacenaje se deberán crear 10 archivos de papel y 5 electrónicos, con la sub-clasificación 4, 5, 6, 7 y 8 para 2 juegos de 5 en papel y uno en electrónico. Los documentos serán almacenados conforme al primer número y su subíndice si lo hay y posteriormente a su fecha de elaboración en orden cronológico.

i) Los registros que conciernen a la determinación de ácido ascórbico deberán de mantenerse a lo largo de todo un año, no existe especificación legal alguna para la retención de estos registros de un tiempo específico, por lo que el tiempo que aquí se escogió se considera adecuado. Sobre los documentos que conforman al sistema u otros que se deriven de éste, se tendrán que conservar hasta el final de la vida de este sistema o hasta por un año posterior a la suplantación del mismo por alguna norma que sustituya a la ISO 10012.

#### **Identificación (Numeral 6.2.4 de la norma ISO 10012)**

*Los elementos del proceso del sistema de aseguramiento en la determinación de Ácido Ascórbico para el Método Oficial de la AOAC 967. 21 deben ser claramente definidos, individualmente o colectivamente, allí debe ser una identificación del estatus de confirmación del equipo. Instrumentos o equipo confirmado para usarse sólo en procesos particulares de medición o procesos que serán claramente identificados o de otra manera controlado para prevenir el uso no autorizado.*

#### **Desarrollo:**

El material o equipo de medición para ácido ascórbico en el que no sea calibrado, pero que ha sido confirmado para su uso en el proceso de medición, deberá ser etiquetado de la siguiente manera:

- Nombre, marca del instrumento y serie.
- Número de inventario.
- Alcance y división mínima.
- Fecha de confirmación (dd/mm/aa).
- Insertar la leyenda “**Confirmado para su uso**”

Todo el equipo sin confirmar será distinguido del que ya lo está por la ausencia de esta etiqueta.

### **Recursos materiales (Numeral 6.3 de la norma ISO 10012)**

#### **Equipo de medición (Numeral 6.3.1 de la norma ISO 10012)**

*Todo el equipo de medición necesario para satisfacer requerimientos metrologicos específicos para la determinación de ácido ascórbico por el método oficial de la AOAC 967.21 estará disponible e identificado en el registro del sistema de aseguramiento en la determinación de Ácido Ascórbico para el Método Oficial de la AOAC 967. 21. El equipo de medición será confirmado y usado en un ambiente que esté controlado a las extensiones necesarias garantizando resultados de mediciones válidas. El equipo de medición usado para controlar y registrar la influencia de cantidades será incluido en el sistema de control de la medición para la determinación de ácido ascórbico por el método oficial de la AOAC 967.21.*

#### **Desarrollo:**

Todo el equipo de medición para la determinación de ácido ascórbico por el método oficial de la AOAC 967.21 deberá ser confirmado ya que todas sus partes son importantes dentro de este proceso y todas las partes que lo conforman repercutirán de manera final en nuestra medición.

Esta confirmación deberá ser realizada en cumplimiento al desarrollo del punto 7.1.3 de esta norma; en caso de no cumplir con alguna de la características exigidas en este punto, el equipo ó instrumentos para la medición de ácido ascórbico no podrán ser confirmados y no deberán ser etiquetados hasta el cumplimiento íntegro de todos los requisitos exigidos para su confirmación.

### **Almacenaje y manejo del equipo de medición (Numeral 6.3.2 de la norma ISO 10012)**

*La dirección de la función metrológica establecerá, mantendrá y usará procedimientos de documentación para recibir, manejar, transportar, almacenar y despachar el equipo de medición para la determinación de ácido ascórbico por el método oficial de la AOAC 967.21, en razón de prevenir el abuso, mal uso, daño y cambios en las características metrológicas. Los procedimientos siempre deberán estar para la disposición del equipo de medición, removido del sistema de control de la medición para la determinación de ácido ascórbico por el método oficial de la AOAC 967.21.*

#### **Desarrollo:**

-Para manejar y transportar el material de medición de ácido ascórbico se deberá tener cuidado de no romper, fracturar o raspar este material, ya que en su mayoría está elaborado de vidrio y cualquier imprevisto podría alterar la incertidumbre dada en la calibración de dicho equipo, así mismo se debe garantizar que su manejo se haga de acuerdo a las condiciones ambientales para su calibración.

-Para recibir, despachar y almacenar este equipo se deberá anotar el estado en que se recibe y como se almacena. Tal como se describe en los formatos número 5, 6 y 7 respectivamente en la parte de anexos, garantizando que el material de vidrio para la medición de ácido ascórbico no esté roto, fracturado o raspado, así como también garantizar que las condiciones ambientales de almacenaje estén dentro de los intervalos que se encuentran registrados en la hoja de calibración del instrumento para así garantizar no existan alteraciones al equipo calibrado.

### **Condiciones ambientales (Numeral 6.3.3 de la norma ISO 10012)**

*Las condiciones ambientales necesarias para la correcta operación de los procesos de medición para la determinación de ácido ascórbico por el método oficial de la AOAC 967.21 cubiertos por el sistema de control de la medición para la determinación de ácido ascórbico por el método oficial de la AOAC 967.21 serán documentados.*

*Los factores ambientales que afecten las mediciones serán monitoreados y registrados. Las correcciones serán registradas y aplicadas a los resultados de medición, si es apropiado.*

**Rango de las condiciones ambientales dentro del laboratorio en el que fueron calibrados los instrumentos de medición:**

-Temperatura ambiente: 18 °C a 24 °C

-Humedad: 40 % a 60 %

-Presión mm de Hg: 585

**Desarrollo:**

En la técnica utilizada para la medición de ácido ascórbico no se menciona ninguna condición ambiental que repercuta en la realización de la medición, por lo que no se consideran relevantes, y sólo se tendrá que respetar el intervalo de temperatura en la calibración de los instrumentos de medición para evitar alteraciones en la incertidumbre.

**Proveedores (Numeral 6.4 de la norma ISO 10012)**

*La dirección de la función metrológica definirá y documentará los requerimientos para productos y servicios que sean proveídos por proveedores para el sistema de control de la medición para la determinación de ácido ascórbico por el método oficial de la AOAC 967.21. Los proveedores serán evaluados y seleccionados con base en su habilidad para conocer los requerimientos de documentación. El criterio para la selección, monitoreo y evaluación serán definidos y documentados a los resultados registrados. Los registros de los productos o servicios proveídos serán suministrados por los distribuidores.*

**Desarrollo:**

En caso de que la dirección metrológica del laboratorio decida utilizar un proveedor para la calibración, el proveedor deberá demostrar competencia técnica para el estándar en laboratorios tal como ISO/IEC 17025, mediante el documento en que así lo acredite. Procurando que los productos y servicios requieran verificación a los requerimientos específicos.

## **II.2.1.- Realización del sistema de control de la medición (Numeral 7 de la norma ISO 10012)**

### **Procesos de confirmación metrológica (Numeral 7.1 de la norma ISO 10012)**

#### **Confirmación metrológica (Numeral 7.1.1 de la norma ISO 10012)**

*La confirmación metrológica será diseñada e implementada para dar la seguridad de que las mediciones vayan a dar los requerimientos metrológicos para los procesos de medición. Para cada confirmación, las características del equipo de medición para la determinación de ácido ascórbico por el método oficial de la AOAC 967.21 será comparado contra los requerimientos metrológicos.*

#### **Desarrollo:**

Las incertidumbres del equipo de medición están señaladas en los informes de calibración, anexos a esta tesis. Estas incertidumbres son permisibles debido a que caen dentro de la tolerancia del instrumento reportada por el proveedor, y el laboratorio que las emite está acreditado en las áreas necesarias para la calibración de dichos instrumentos ante la Entidad Mexicana de Acreditación.

Por lo que se refiere a la incertidumbre de este método en forma global, su incertidumbre es calculada en el capítulo 5 por separado debido a la amplitud que implica el desarrollo del mismo.

#### **Intervalos de confirmación (Numeral 7.1.2 de la norma ISO 10012)**

*Los métodos usados para determinar o cambiar intervalos de confirmación serán descritos en procedimientos documentados. Los intervalos de confirmación serán regularmente revisados y ajustados cuando sea necesario asegurar un rendimiento continuo con los requerimientos metrologicos específicos.*

#### **Desarrollo:**

Los intervalos de confirmación y calibración de instrumentos y equipo para la medición para la determinación de ácido ascórbico bajo este método deberán realizarse cuando menos cada seis meses, para asegurarnos que los

instrumentos y equipo de medición trabaja bien entre calibraciones. Por lo que después de una calibración es necesario llevar a cabo una confirmación, y si el equipo se descompone tendrá que ser llevado a mantenimiento, y después enviado a calibrar nuevamente, y si es necesario se llevará a cabo una confirmación.

Sin embargo también será conveniente ir llevando un registro histórico con base en los resultados obtenidos en las calibraciones de los instrumentos y equipo para la medición de ácido ascórbico por este método. Como se indica en el punto 7.1.5 (Registro de los procesos de confirmación) y poder observar el desgaste que sufren dichos instrumentos y equipo. Y determinar de mejor manera los intervalos de confirmación y modificarlos si así fuese necesario.

### **Características del equipo (Numeral 7.1.3 de la norma ISO 10012)**

*La información relevante para la confirmación del estatus del equipo de medición para la determinación de ácido ascórbico por el método oficial de la AOAC 967.21 será fácilmente disponible para el usuario, incluyendo algunas limitaciones o requerimientos especiales.*

*Las características del equipo de medición para la determinación de ácido ascórbico por el método oficial de la AOAC 967.21 serán apropiadas para que este sea propuesto en su uso.*

#### **Desarrollo:**

Se empleó:

- Parrilla eléctrica con termoagitación.
- Barra magnética.
- 3 Matraces Erlenmeyer de 50 mL marca Kimax Tipo 1, clase 1. Intervalo graduado de 20 a 50 mL. Subdivisión 10 mL.
- 1 Pipeta volumétrica de vidrio de 100 mL Clase A, con una tolerancia de  $\pm 0.08$  mL, marca Pirex.
- 1 Pipeta volumétrica de vidrio de 50 mL Clase A, con una tolerancia de  $\pm 0.05$  mL, marca Pirex.
- Tapones de corcho para tapar las soluciones.
- Bureta de vidrio de 50 mL Clase A, con división mínima de 0.1 mL, y una tolerancia de  $\pm 0.10$  mL, marca Pirex. (Con reporte de calibración).
- Soporte Universal.

- 2 Pinzas para bureta.
- Recipiente contenedor de vidrio color ámbar.
- Desecador de vidrio (Tipo Soda Lime).
- Balanza analítica clase especial I, con una división mínima de 0.0001 g. una incertidumbre aceptada no mayor a 0.0003 g.
- Matraz volumétrico de 50 mL Clase A, con una tolerancia de  $\pm 0.05$  mL, marca Pirex.
- Matraz volumétrico de 200 mL Clase A, con una tolerancia de  $\pm 0.10$  mL, marca Pirex.
- Matraz volumétrico de 250 mL Clase A, con una tolerancia de  $\pm 0.12$  mL, marca Pirex.
- Matraz volumétrico de 500 mL Clase A, con una tolerancia de  $\pm 0.20$  mL, marca Pirex.
- Pipeta de vidrio de 10 mL Clase A. Subdivisión de 0.1 mL y con una tolerancia de  $\pm 0.01$  mL, marca Pirex. (Con reporte de calibración).

#### **Control de ajuste del equipo (Numeral 7.1.4 de la norma ISO 10012)**

*El acceso a los dispositivos de ajuste sobre la confirmación del equipo de medición para la determinación de ácido ascórbico por el método oficial de la AOAC 967.21, en el cual el ambiente afecte su funcionamiento, será cerrado o de otra manera salvaguardado para prevenir cambios no autorizados. El sellado o salvaguardado será diseñado y localizado de tal forma que las intromisiones serán detectadas.*

*El procedimiento en el proceso de confirmación incluirá las acciones a ser tomadas cuando los sellos ó salvaguardas cuando sean encontrados dañados ó rotos.*

#### **Desarrollo:**

En este caso el único equipo que necesita ajuste es la balanza, por lo que se requiere antes de su uso ajustarla a cero con el ajuste automático (según el instructivo del proveedor).

## **Registro de los procesos de confirmación (Numeral 7.1.5 de la norma ISO 10012)**

*Las confirmaciones serán sustentadas por los registros atestiguados para las condiciones bajo las cuales los resultados fueron obtenidos. Cada registro será aprobado, fechado y foliado por una persona autorizada para atestiguar el cumplimiento de los resultados.*

*La organización de los registros de todo lo relevante al equipo de medición cubierto por los procesos de confirmación será mantenida. Estos registros demostrarán que cada noticia del equipo de medición para la determinación de ácido ascórbico por el método oficial de la AOAC 967.21 satisface los requerimientos metrologicos especificados dentro de los procesos de confirmación para este equipo. La certificación de calibración o reportes y otra información relevante (por ejemplo, registros de ajustes y reparación) estarán disponibles.*

*Los registros de información para la determinación de ácido ascórbico por el método oficial de la AOAC 967.21 incluirán, como es apropiado:*

- a) La descripción e identificación única de la manufactura del equipo, tipo, número de serie, etc.*
- b) La fecha (s) sobre las cuales la confirmación fue realizada y completada.*
- c) El resultado de la confirmación.*
- d) El intervalo de confirmación asignado.*
- e) Identificación del procedimiento de confirmación.*
- f) La designación del error máximo permisible.*
- g) Las condiciones ambientales relevantes y un informe acerca de algunas correcciones necesarias.*
- h) La incertidumbre envuelta en la calibración del equipo y su efecto acumulativo.*
- i) Detalles de algunos mantenimientos tales como ajustes, reparaciones o modificaciones llevadas fuera.*
- j) Algunas limitaciones de uso.*
- k) Identificación de la persona (s) que realice (n) la confirmación.*
- l) Identificación de la persona (s) responsable (s) para el cumplimiento del registro de la información.*

*m) identificación única (tales como los números de serie) de alguna certificación de calibración y otros documentos relevantes.*

*n) La trazabilidad de los resultados de calibración.*

*o) Los requerimientos para la proposición de uso.*

*p) Los requerimientos de incertidumbre de la medición.*

*q) Los resultados de la calibración obtenidos después, y donde requiere, antes de algún ajuste o reparación.*

#### **Desarrollo:**

En una hoja de cálculo se asentarán todos los registros los resultados de la calibración del equipo para la determinación de ácido ascórbico por el método oficial de la AOAC 967.21 como se muestra en el formato número 9 de la parte de anexos y deberán ser registrados en la base de datos que estará incluida en el software, así como la trazabilidad de todas las mediciones podrán ser demostradas y la calibración de las mediciones podrán ser reproducidas bajo condiciones cerradas a las condiciones originales, donde una segunda o tercera parte lleva a cabo la calibración, el sistema de confirmación para la determinación de ácido ascórbico por el método oficial de la AOAC 967.21 garantizará que el segundo o tercer grupo son competentes para hacer este.

Sobre estos registros de calibraciones de los instrumentos de medición se emplearán técnicas estadísticas como la media, la desviación estándar, etc. para poder evaluar el comportamiento de la incertidumbre a lo largo de toda la vida del instrumento.

El responsable de la realización del sistema de control de la medición es la persona autorizada para generar, corregir, emitir y borrar tales registros.

La retención de estos registros dependerá de las disposiciones oficiales y legales que se desprendan de la aplicación de este método, los registros concernientes al estándar de medición podrían ser retenidos indefinidamente.

## Proceso de medición (Numeral 7.2 de la norma ISO 10012)

### METODO OFICIAL DE LA AOAC 967.21 ACIDO ASCORBICO EN PREPARACIONES DE VITAMINAS Y JUGOS 2,6-Dicloroindofenol método titulométrico Primera acción 1967 Ultima acción 1968

(Aplicable para determinación de ácido ascórbico reducido. No aplica para jugos altamente coloreados o en presencia de hierro Fe, estaño Sn, cobre Cu, SO<sub>2</sub>, sulfito, o trisulfato. Ver nota.)

#### A. Principio

El ácido ascórbico se reduce en presencia de un indicador de oxidación-reducción, 2,6-Dicloroindofenol, para una solución incolora. En el último punto, el exceso no reduce la tinción y es rosada en una solución ácida. La vitamina es extraída y se realiza una titulación en presencia de una solución HPO<sub>3</sub> - CH<sub>3</sub>COOH o HPO<sub>3</sub> - CH<sub>3</sub>COOH - H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> para mantener una acidez adecuada para la reacción y evitar así una autooxidación del ácido ascórbico.

#### B. Reactivos

(a) Extracción de las soluciones.- (1) Solución ácido metafosfórico-ácido-acético.- Disolver con agitación, 15g de HPO<sub>3</sub> en perlas o de una barra pulverizada recientemente en 40 mL de CH<sub>3</sub>COOH y 200 mL de agua. Diluir para ca a 500 mL, y filtrar rápidamente a través de papel filtro dentro de un matraz de vidrio tapado. (HPO<sub>3</sub> cambia lentamente a H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, pero si se refrigera, la solución se mantiene satisfactoriamente por 7-10 días). (2) Solución ácido metafosfórico—ácido acético-ácido sulfúrico.- Proceder como en el punto (1) excepto por el uso de una solución 0.3 N de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> en lugar de agua.

(b) Solución estándar de ácido ascórbico.- 1 mg/mL pesar exactamente 50 mg de un estándar de referencia USP de ácido ascórbico que haya sido puesto en un desecador lejos de los rayos directos del sol. Transferir a un matraz volumétrico de 50 mL. Diluir a volumen inmediatamente antes de usarse con la solución de HPO<sub>3</sub> - CH<sub>3</sub>COOH, (a) (1).

(c) Solución estándar de indofenol.- Disolver 50 mg de 2,6-dicloroindofenol Na sal (Eastman Kodak Co. No. 3463), que ha sido puesto en un desecador por encima del reactivo para desecar (soda lime), en 50 mL de agua a la cual se le han agregado 42 mg de NaHCO<sub>3</sub>; agitando vigorosamente, y cuando el tinte se disuelva, diluir a 200 mL con agua. Filtrar a través de papel filtro dentro de un recipiente contenedor de vidrio color ámbar. Mantener tapado, fuera de la luz solar, y guardado en el refrigerador. (La descomposición de productos que se lleva a cabo en el punto final que ocurre indistintamente en algunos lotes de tintura de indofenol y también se desarrolla con tiempo en una solución común.

Agregar 5.0 mL del extracto de la solución contaminada con exceso de ácido ascórbico a 15 mL del reactivo de tinción. Si la solución es reducida no es incolora prácticamente, descártela y prepare una nueva solución normal. Si la tintura seca, es una falla, obtenga un nuevo repuesto.)

Transfiera 3 alícuotas de 2.0 mL de solución estándar de ácido ascórbico a cada matraz erlenmeyer de 50 mL que contienen 5 mL de solución  $\text{HPO}_3 - \text{CH}_3\text{COOH}$ , (a) (1). Titule rápidamente con una solución de indofenol con una bureta de 50 mL hasta que ligeramente pero bien definido persista un color rosado  $\geq 5$  s. (Cada exposición debería requerir ca 15 mL de solución de indofenol, y las titulaciones deberán verificarse dentro de 0.1 mL.) Similarmente titule 3 blancos compuestos de 7.0 mL de una solución  $\text{HPO}_3 - \text{CH}_3\text{COOH}$ , (a) (1), mas un volumen de agua ca igual al volumen de la solución de indofenol usada en titulaciones directas. Después sub-divide el promedio de los blancos (usualmente ca 0.1 mL) de exposiciones estandarizadas, calcule y exprese la concentración de la solución de indofenol como mg de ácido ascórbico equivalentes a 1.0 mL de reactivo. Preparar diariamente la solución estandarizada de indofenol con una solución estándar fresca de ácido ascórbico.

(d) Indicador de pH azul de timol.-0.04%. Disuelva 0.1 g de indicador por trituración en un mortero con 10.75 mL de una solución 0.02N de NaOH y diluir a 250 mL con agua. Rango de transición: 1.2 (rojo) – 2.8 (amarillo).

### **C. Examen preliminar para apreciar la cantidad de sustancias básicas**

Pulverice una muestra representativa o ponga el contenido de una cápsula y agregue 25 mL de ca solución  $\text{HPO}_3 - \text{CH}_3\text{COOH}$ , (a) (1). Examina el pH por goteo de indicador pH azul de timol usando un recipiente para la tinción. (Un pH  $>1.2$  indica cantidades apreciables de sustancias básicas.) Para preparaciones líquidas, diluir una muestra representativa ca dos-pliegues con solución  $\text{HPO}_3 - \text{CH}_3\text{COOH}$ , (a) (1), antes de probar con el indicador.

### **D. Preparación de la solución muestra de ensayo**

(a) Para el secado de materiales que contienen cantidades no apreciables de sustancias básicas.- Pulverice la muestra mediante un molido suave, agregando solución de  $\text{HPO}_3 - \text{CH}_3\text{COOH}$ , (a) (1), y triturar hasta que la muestra este en suspensión. Diluir con una solución de  $\text{HPO}_3 - \text{CH}_3\text{COOH}$ , (a) (1), a medida de volumen. Designe este volumen como V mL. (Use 10 mL de extracto de solución ca/g de muestra seca. La solución final deberá contener 10-100 mg de ácido ascórbico/100mL.)

(b) Para el secado de materiales que contengan cantidades apreciables de sustancias básicas.- Pulverice la muestra mediante un molido suave, agregue solución de  $\text{HPO}_3 - \text{CH}_3\text{COOH} - \text{H}_2\text{SO}_4$ , (a) (2), Ajustar pH a ca 1.2, y triturar hasta que la muestra este en suspensión. Diluir con solución de  $\text{HPO}_3 - \text{CH}_3\text{COOH}$ , (a) (1), a medida de volumen. Designe este volumen como V mL. (Use 10 mL de extracto de solución ca/g de muestra seca. La solución final deberá contener 10-100 mg de ácido ascórbico/100mL.)

(c) Para materiales líquidos.- Tomar una cantidad de la muestra que contenga ca 100 mg de ácido ascórbico. Si aprecia cantidades de sustancias básicas que estén presentes, ajustar el pH a ca 1.2 con una solución de  $\text{HPO}_3 - \text{CH}_3\text{COOH} - \text{H}_2\text{SO}_4$ , (a) (2). Diluir con solución de  $\text{HPO}_3 - \text{CH}_3\text{COOH}$ , (a) (1), a medida de volumen conteniendo 10-100 mg de ácido ascórbico/100mL. Designe este volumen como V mL.

(d) Para jugos de frutas y vegetales.- Mezcle a fondo por agitación para asegurar una muestra uniforme, y filtrar a través de un papel de algodón o rápido. Prepare los jugos frescos apretando bien la pulpa de la fruta y filtrando. Jugos rápidos de frutas cítricas por aparatos comerciales y filtrar. Agregar alícuotas de 100 mL de jugo preparado a volúmenes iguales de solución  $\text{HPO}_3 - \text{CH}_3\text{COOH}$ , (a) (1). Designe el volumen total como V mL. Mezclar y filtrar a través de un papel rápido doblado (Eaton-Dikeman No.195, 18.5 cm, o equivalente).

### E. Determinación

Titule 3 muestras alícuotas que cada una contenga ca 2 mg de ácido ascórbico y realice determinaciones blanco para corrección de titulaciones como en 967.21B (c), usando volúmenes convenientes de solución de  $\text{HPO}_3 - \text{CH}_3\text{COOH}$ , (a) (1), y  $\text{H}_2\text{O}$ . Si ca 2 mg de ácido ascórbico esta contenido en la muestra alícuota < 7 mL, agregar solución de  $\text{HPO}_3 - \text{CH}_3\text{COOH}$  para dar 7 mL para titulación.

$$\text{Mg de ácido ascórbico/g, tableta, mL, etc.} = (X-B) \times (F/E) \times (V/Y)$$

Donde X= Promedio en mL para la titulación de la muestra, B= Promedio en mL para la titulación de la muestra blanco, F= mg de ácido ascórbico equivalentes a 1.0 mL de solución estándar de indofenol, E= Número de mg, tabletas, mL, etc. de ensayo, V= Volumen inicial de la muestra de ensayo y Y= Volumen de la muestra alícuota titulada.

Nota: Los productos que contienen Hierro Fe, Estaño Sn, y Cobre Cu dan valores en exceso de su contenido real de ácido ascórbico para este método. Siguiendo esta simple prueba para determinar en todo caso esa reducción de iones que están presentes en tales cantidades como para invalidar la prueba: Agregar 2 gotas de una solución acuosa al 0.05% de azul de metileno a 10 mL de una muestra fresca preparada (1+1) de solución muestra reactivo  $\text{HPO}_3 - \text{CH}_3\text{COOH}$  y mezcle. La desaparición del color del azul de metileno en 5-10 s indica la presencia de sustancias que interfieren. El Estaño Sn no se muestra en esta prueba y debería ser probado como a continuación se muestra: En otros 10 mL de solución muestra a la cual han sido agregados 10 mL de HCl (1+3), agregar 5 gotas de una solución acuosa de carmín índigo y mezclar. La desaparición de color en 5-10 s indica la presencia de estaño Sn u otra sustancia que esta interfiriendo [22].

**Referencias:** J.Biol.Chem. **103**, 687(1933); **112**,625(1936); **116**, 409. 563 (1936); **126**, 771 (1938). Biochem. J. **27**, 580 (1933); **30**, 2273(1936); **36**,115 (1942). Physiol. Rev. **16**, 238(1936). J. Am. Med. Assoc. **111**, 1290 (1938). Biochemical Z. **301**, 229(1939). JAOAC **27**, 537(1944); **28**, 559 (1945); **29**, 69 (1946); **30**, 673 (1947); **32**, 479 (1949); **50**, 798 (1967).

CAS-50-81-7 (ácido ascórbico)

### **Proceso de diseño y planeación (Numeral 7.2.1 de la norma ISO 10012)**

*Los requerimientos metrológicos serán determinados en base a las necesidades del cliente, organización, y requerimientos regulatorios y legales. Los procesos de medición para la determinación de ácido ascórbico por el método oficial de la AOAC 967.21 designados para conocer estos requerimientos específicos serán documentados y, si es necesario, de acuerdo con el cliente.*

*Los procesos de medición necesariamente demuestran el cumplimiento de los requerimientos del producto.*

*Estos serán, determinados, planeados, validados, implementados, y controlados. Las cantidades que influyen para el cumplimiento de los requisitos del proceso de medición para la determinación de ácido ascórbico por el método oficial de la AOAC 967.21 serán identificadas.*

### **Desarrollo:**

Los procesos de medición para la determinación de ácido ascórbico a través del método oficial de la AOAC 967.21 serán validados mediante la determinación de precisión, límite de detección y cuantificación del método. Sin embargo por la amplitud del tema este será abordado en el capítulo 4 por separado.

Esta validación garantizará una prevención de errores para garantizar la puntual detección de deficiencias y acciones correctivas oportunas.

El impacto de cantidades de influencia sobre el proceso de medición de ácido ascórbico por el método oficial de la AOAC 967.21 debe ser cuantificado, ya que como anteriormente se había señalado esta técnica no aplica para jugos altamente coloreados o en presencia de hierro Fe, estaño Sn, cobre Cu, SO<sub>2</sub>, sulfito, o trisulfato. Como se indica en la nota al final de la técnica que se encuentra desarrollada en el punto 7.2.

## **Realización del proceso (Numeral 7.2.2 de la norma ISO 10012)**

*Las características de ejecución requeridas para la proposición de uso de los procesos de medición para la determinación de ácido ascórbico por el método oficial de la AOAC 967.21 serán identificados y cuantificados, y sujetos a monitoreo y/o control.*

### **Desarrollo:**

Las características del quipo de medición para ácido ascórbico por el método oficial de la AOAC 967.21, serán evaluadas a través de la medición de la incertidumbre, que es desarrollada en el capítulo 5 de esta tesis, la estabilidad y el error máximo permisible que son desarrollados en el capítulo cuarto de esta tesis.

El proceso de medición de ácido ascórbico no requiere corrección de datos, debido a las condiciones ambientales ya que la técnica y la revisión del método no revelan alguna condición ambiental que pudiera afectar directamente la medición de ácido ascórbico.

En especificación de los procesos de medición para la determinación de ácido ascórbico a través del método oficial de la AOAC 967.21, sería necesario llevar a cabo los siguientes puntos:

a) Medidas que son necesarias para asegurar la calidad de la medición para ácido ascórbico por el método oficial de la AOAC 967.21:

En este caso los requisitos del cliente deberán estar apegados dentro de la especificaciones señaladas en el punto 4 de esta norma, ya que es competencia de la S.S.A a través de la NOM-086-SSA1-1994 y la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos establecer los requerimientos legales y regulatorios para el establecimiento de las concentraciones de A.A permitidas en jugos y preparaciones farmacéuticas, como se especifica en el punto 4 de esta guía.

b) Determinación del método de medición para la cuantificación de ácido ascórbico.

Método oficial de la AOAC 967.21, Ácido Ascórbico en preparaciones de vitaminas y jugos 2,6-dicloroindofenol método Titulométrico, primera acción 1967-última acción 1968.

c) Determinación y definición del equipo requerido para ejecutar los métodos de medición para ácido ascórbico a través del método oficial de la AOAC 967.21.

El que se encuentra establecido en el punto 7.1.3 de esta guía en la parte del desarrollo.

d) Determinación de las habilidades y calificaciones del personal que realiza las mediciones de ácido ascórbico a través del método oficial de la AOAC 967.21.

Las que se establecen en el punto 6.1.1 para el puesto de responsable de la realización del sistema de control de la medición.

e) Aseguramiento de que el método de medición completo para ácido ascórbico por el método oficial de la AOAC 967.21 (equipo, operaciones, cálculos, personal, etc.) ha sido definido.

Se realiza mediante la inspección óptica que se cita en el punto 8.1 referente a la auditoría del sistema de aseguramiento en la determinación de Ácido Ascórbico.

f) Aseguramiento de que el personal asignado puede llevar a cabo e interpretar las mediciones de ácido ascórbico a través del método oficial de la AOAC 967.21 entienda el método (s) de medición definido (s).

Se realiza mediante la inspección óptica que se cita en el punto 8.1 referente a la auditoría del sistema de aseguramiento en la determinación de Ácido Ascórbico.

g) Verificación de que el personal tenga las habilidades requeridas (evaluación y entrenamiento).

Este punto se cumple mediante el cumplimiento de las habilidades que se establecen en el punto 6.1.1 para el puesto de responsable de la realización del sistema de control de la medición.

h) Verificación para que el equipo para la medición de ácido ascórbico por el método oficial de la AOAC 967.21 satisface los requerimientos definidos (validación/verificación).

A través de los resultados que arroje la validación podremos observar que nuestro equipo de medición satisfaga los requerimientos definidos.

i) Verificación del equipo para la medición de ácido ascórbico a través del método oficial de la AOAC 967.21 todavía es capaz de satisfacer los requerimientos en los intervalos planeados (calibración y validación/verificación).

A través de los resultados que arroje la validación podremos observar que nuestro equipo de medición satisfaga los requerimientos definidos.

j) Verificación de que las mediciones para la medición de ácido ascórbico por el método oficial de la AOAC 967.21 están siendo llevadas a cabo correctamente en los intervalos planeados.

A través de los resultados que arroje la validación y el análisis estadístico de nuestras mediciones (Media, desviación estándar y gráficos de control) podremos verificar que las mediciones de ácido ascórbico están siendo llevadas a cabo correctamente en los intervalos planeados.

El proceso de medición de ácido ascórbico ha sido especificado, documentado y validado. La especificación completa del proceso de medición incluye una identificación de todo lo relevante del equipo, procedimientos de medición, software de medición, condiciones de uso, habilidades del operador y todos los otros factores que afecten la confiabilidad del resultado de la medición para la determinación de ácido ascórbico por el método oficial de la AOAC 967.21. El control de los procesos de medición para la determinación de ácido ascórbico a través del método oficial de la AOAC 967.21 será llevado a cabo de conformidad con los procedimientos documentados.

### **Equipo no conforme (Numeral 7.2.3 de la norma ISO 10012)**

*Algún artículo de equipo de confirmación de medición para la determinación de ácido ascórbico a través del método oficial de la AOAC 967.21 que sea sospechoso o conocido que:*

- a) Ha sido dañado.*
- b) Ha sido sobrecargado.*
- c) El mal funcionamiento en tal caso, invalidaría la proposición del uso de este.*
- d) Presentar resultados incorrectos de medición.*
- e) No ser capaz de designar el intervalo de confirmación.*
- f) Ha sido accidentado*
- g) Tiene un daño o sello roto o medida de seguridad rota.*

*Será removido de servicio por segregación o identificación por prominente etiquetado o señalamiento, la confirmación de no conformidad y la preparación de un reporte de no conformidad. Tal equipo no será regresado a servicio hasta que las razones de no conformidad de éste hayan sido eliminadas y sea nuevamente confirmado.*

*Cada vez que haya no conformidad con equipo de medición para la determinación de ácido ascórbico a través del método oficial de la AOAC 967.21 será reparado, ajustado o modificado, es decir el intervalo de confirmación tiene que ser revisado.*

*El equipo de medición para la determinación de ácido ascórbico a través del método oficial de la AOAC 967.21 no conforme, el cual no es regresado para ser propuestas sus características metrológicas, serán claramente marcadas o de otra manera identificadas. La confirmación de tal equipo para otros usos garantizará que el estatus alterado es claramente aparente y que incluye la identificación de algunas limitaciones de uso.*

## **Desarrollo:**

En este caso si el equipo de medición es dañado por ser de vidrio, ajustar es impráctico, reparar o examinar los equipos encontrados para la determinación de ácido ascórbico por el método oficial de la AOAC 967.21 por no ser apropiado se debe cambiar por uno nuevo, según los requisitos establecidos para éste, el cual deberá estar calibrado ante una institución acreditada en el área de volumen como se establece anteriormente. Llenado el formato número 8 para su sustitución y el formato número 7 (ver anexos) para el registro del nuevo instrumento en el almacén.

## **Registros de control de procesos de medición (Numeral 7.2.4 de la norma ISO 10012)**

*La organización mantendrá registros que demuestren rendimiento con los requerimientos de procesos de medición para la determinación de ácido ascórbico a través del método oficial de la AOAC 967.21, incluyendo:*

- a) Una descripción completa del sistema de control de los procesos de medición para la determinación de ácido ascórbico a través del método oficial de la AOAC 967.21 implementado, incluyendo elementos únicos, por ejemplo, operadores, algunos equipos de medición únicos o revisión de estándares usados y las condiciones relevantes de operación.*
- b) Los datos relevantes obtenidos del sistema de control de los procesos de medición para la determinación de ácido ascórbico a través del método oficial de la AOAC 967.21, incluyendo alguna información relevante de incertidumbre de la medición.*
- c) Algunas acciones tomadas como resultado del proceso de control de datos.*
- d) El o los datos sobre los cuales cada actividad de control del proceso de medición para la determinación de ácido ascórbico a través del método oficial de la AOAC 967.21 fue llevado a cabo.*
- e) La identificación de algunas verificaciones relevantes y otros documentos.*
- f) Identificación de la persona responsable para proveer la información para los registros.*
- g) Calificaciones del personal (requeridas y llevadas a cabo).*

## **Desarrollo:**

La realización de estos registros se llevará a cabo mediante el llenado durante la medición del formato 10, que se encuentra en la parte de anexos.

Sólo el responsable de la realización del sistema de control de la medición es la persona autorizada para generar, corregir, emitir y borrar de tales registros.

## **Realización de la medición (Numeral 7.3 de la norma ISO 10012)**

### **Incertidumbre de la medición (Numeral 7.3.1 de la norma ISO 10012)**

*La incertidumbre de la medición será estimada por cada proceso de medición cubierto por el sistema de control de la medición para la determinación de ácido ascórbico por el método oficial de la AOAC 967.21.*

*La estimación de la incertidumbre será registrada. El análisis de las incertidumbres será completado antes de la confirmación del equipo de medición para la determinación de ácido ascórbico por el método oficial de la AOAC 967.21, y la validación del proceso de medición para la determinación de ácido ascórbico por el método oficial de la AOAC 967.21. Todas las fuentes de medición variables serán documentadas.*

## **Desarrollo:**

El cálculo de la incertidumbre ha sido realizado basado en la NMX-EC-CH-140-2000, Guía para la expresión de la incertidumbre (GUM) y por EURACHEM/CITAC Guide CG 4, Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement. Sin embargo debido a la amplitud de este punto, fue necesario desarrollarlo en el capítulo 5 de esta tesis.

### **7.3.2 Trazabilidad (Numeral 7.3.2 de la norma ISO 10012)**

*La dirección de la función metrológica garantizará que todas las mediciones sean trazables a través de estándares nacionales de laboratorio para el SI de unidades de medición, o a constantes naturales cuyo valor esté en términos del SI, sea conocido y recomendado por la conferencia general de pesos y medidas.*

*Donde la trazabilidad a través de estándares nacionales de laboratorio no están disponibles, o el SI de unidades no esté establecido, un estándar de referencia y calibración relacionada o métodos de comparación, los cuales son*

*claramente especificados y mutuamente de acuerdo por todas las partes concernientes, será aplicado.*

*Los registros de trazabilidad de los resultados de medición de ácido ascórbico por el método oficial de la AOAC 967.21 serán mantenidos tanto tiempo como se requiera acerca del sistema de procedimientos para la determinación de ácido ascórbico por el método oficial de la AOAC 967.21, el cliente o para requerimientos regulatorios o legales.*

#### **Desarrollo:**

El desarrollo de la trazabilidad ha sido realizado basado en Guía técnica del área de química para trazabilidad y estimación de la incertidumbre de medición, Políticas y guías técnicas de la entidad mexicana de acreditación, a.c., FOR-TR-005-01 y EURACHEM/CITAC Guide, traceability in chemical measurement, Workshop Draft. Sin embargo, debido a la amplitud de este punto, fue necesario desarrollarlo en el capítulo 3 de esta tesis.

#### **II.2.2.- Análisis del sistema de control de la medición y mejoramiento (Numeral 8 de la norma ISO 10012)**

##### **Auditoría del Sistema de Aseguramiento en la Determinación de Ácido Ascórbico (Numeral 8.1 de la norma ISO 10012)**

*El laboratorio llevará a cabo, o arreglará llevar a cabo, auditorías del sistema de control de la medición para la determinación de ácido ascórbico por el método oficial de la AOAC 967.21 garantizando que este sea continuamente implantado efectivamente y de acuerdo con los requerimientos. Las auditorías serán conducidas por otro personal que sea representante de la actividad a ser auditada, y que los resultados de las auditorías sean reportados a la dirección del laboratorio.*

*Los planes y procedimientos para la auditoría del sistema de aseguramiento en la determinación de Ácido Ascórbico para el Método Oficial de la AOAC 967.21 serán documentados. Basado sobre los resultados de las auditorías y de otros factores relevantes, tales como comentarios de clientes, la organización revisará y modificará el sistema como sea necesario para mejorarlo. Los resultados de todas las auditorías del sistema de aseguramiento en la determinación de Ácido Ascórbico por el Método Oficial de la AOAC 967.21, y todas las acciones correctivas serán registrados. El laboratorio garantizará que todas las acciones que se tomen sean sin retrasos indebidos para eliminar no conformidades detectadas y sus causas.*

## **Desarrollo:**

La auditoría del Sistema de Aseguramiento en la Determinación de Ácido Ascórbico será realizada bajo los lineamientos dispuestos en el formato número 11, que se localiza en la parte de anexos de esta tesis.

## **Monitoreo de los procesos de medición (Numeral 8.2 de la norma ISO 10012)**

*El control de los procesos de medición para la determinación de ácido ascórbico por el método oficial de la AOAC 967.21 será monitoreado de acuerdo con los procedimientos documentados y en intervalos establecidos. El sistema proveerá para la prevención de desviaciones de requerimientos para garantizar la pronta detección de deficiencias y acciones oportunas para su corrección.*

## **Desarrollo:**

El monitoreo de los procesos de medición será incluido dentro de las auditorías del Sistema de Aseguramiento en la Determinación de Ácido Ascórbico y las no conformidades respecto a este punto se expresarán para su correcta solución o mejora.

## **Análisis de los procesos de medición (Numeral 8.2.1 de la norma ISO 10012)**

*Para cada proceso de medición para la determinación de ácido ascórbico por el método oficial de la AOAC 967.21 que esté sujeto a control, los elementos del proceso para el análisis serán identificados y limitados por los elementos establecidos. La elección de los elementos y los límites de control serán de acuerdo con el riesgo de fracaso conforme con los requerimientos especificados. Estos elementos pueden incluir los efectos de operadores, equipo, condiciones ambientales, cantidades influyentes, aplicación del método, etc.*

## **Desarrollo:**

El análisis de los procesos de medición será llevado a cabo por el responsable del análisis del sistema de control de la medición y mejoramiento, mediante los resultados que arroje la auditoría, y se verificará que los requisitos generales están siendo llevados a cabo de manera correcta en base a las especificaciones del cliente y legales. De la misma forma, se analizará si todos

los componentes del Sistema de Aseguramiento en la Determinación de Ácido Ascórbico están funcionando de manera adecuada o si es necesario realizar alguna mejora en ellos.

#### **Acción correctiva para el proceso de medición (Numeral 8.2.2 de la norma ISO 10012)**

*Cuando un parámetro relevante proceso de medición de ácido ascórbico a través del método oficial de la AOAC 967.21 es encontrado excediendo límites especificados, o cuando la secuencia de inspecciones muestren un inaceptable modelo, la acción será tomada llevando el proceso de medición hacia atrás bajo control, o confirmando que los desechos estén bajo control. El criterio para tomar una acción correctiva será documentado.*

#### **Desarrollo:**

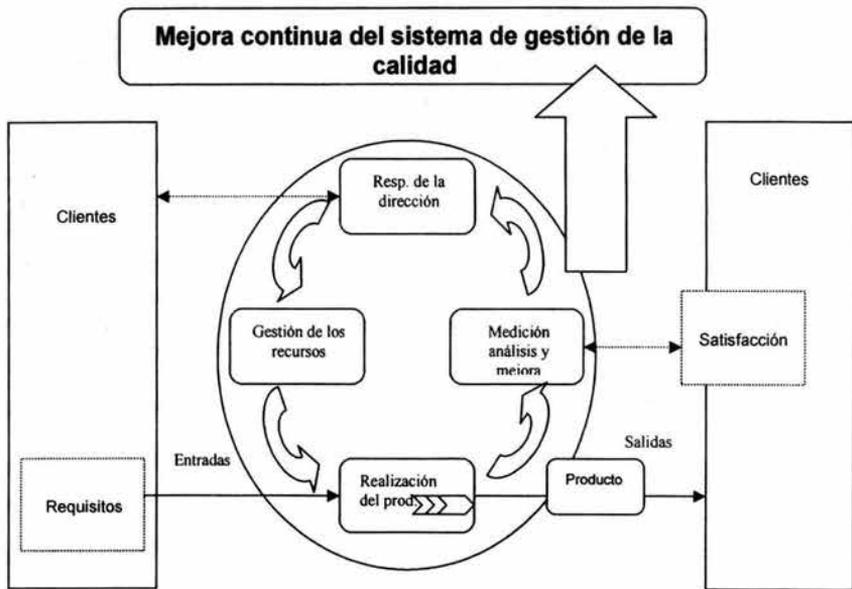
Las acciones correctivas serán registradas y realizadas mediante la elaboración y el cumplimiento del formato número 12 que se muestra en la parte de anexos de esta tesis.

#### **8.3 Mejoramiento (Numeral 8.3 de la norma ISO 10012)**

La función metrológica planeará y manejará el continuo mejoramiento del sistema de control de la medición para la determinación de ácido ascórbico por el método oficial de la AOAC 967.21.

#### **Desarrollo:**

A través del cumplimiento de las no conformidades en nuestro proceso de auditoría del Sistema de Aseguramiento en la Determinación de Ácido Ascórbico y aplicando el modelo de un sistema de gestión de la calidad basado en procesos que se encuentra en la Guía NMX-CC-9001-IMNC-2000, Sistemas de gestión de la calidad-Requisitos.



**Leyenda**

- > Actividades que aportan valor
- > Flujo de información

**Figura 6**

Fuente: NMX-CC-9001-IMNC-2000, Sistemas de gestión de la calidad-Requisitos.

## **CAPITULO 3**

# **TRAZABILIDAD DE LA MEDICIÓN PARA ÁCIDO ASCÓRBICO EN JUGOS**

### III.-TRAZABILIDAD DE LA MEDICIÓN PARA ÁCIDO ASCÓRBICO

#### III.1.-Antecedentes

El incremento en la adopción de estándares y sistemas de calidad de medición, tales como un laboratorio de acreditación contra ISO 17025:1999, o los requerimientos GLP y GMP de la industria farmacéutica. Todos estos estándares enfatizan la necesidad de un personal competente, validado y métodos probados, sistemas de calidad comprensivos, y una trazabilidad apropiada a las referencias de medición.

La trazabilidad es una de las principales herramientas requeridas para la comparación. Mientras que los resultados pueden ser comparados directamente bajo condiciones de repetibilidad, un aprovechamiento más general es necesitado para brindar una significativa comparación de resultados de otras determinaciones hechas en otros tiempos y lugares. Esta "comparación dentro de espacio y tiempo" es rutinariamente lograda por la unión de resultados de mediciones individuales con algo de común, referencia estable o medición estándar. Los resultados pueden ser comparados a través de su relación a esa referencia. Esta estrategia de unión de resultados a una referencia es el término "Trazabilidad".

El vocabulario internacional para metrología (VIM) define trazabilidad como la:

*"Propiedad del resultado de una medición o valor de un estándar por medio del cual este puede ser relacionado a estándares de referencia, usualmente estándares nacionales o internacionales, a través de una cadena ininterrumpida de comparaciones todas teniendo incertidumbres declaradas."*

Esta definición implica una necesidad para un esfuerzo de un nivel nacional e internacional para proveer ampliamente estándares de referencia aceptados, y al nivel del laboratorio individual demostrar la unión necesaria a esos estándares.

Las mediciones individuales y pruebas de laboratorio juegan su parte para un uso cuidadoso de los estándares de referencia apropiados para la calibración y control de sus procesos de medición. En un ambiente regulado cada vez más, como siempre, los laboratorios están bajo muy grandes presiones para demostrar que el uso de estándares de referencia es verdadero para ambos, tanto apropiados como suficientes.

Esto es particularmente cierto en química analítica. Las mediciones químicas típicamente requieren confirmación de identidad como una buena medición de cantidad. Otro desafío es la medición de unas especies en matrices complejas, las cuales influirían en el valor aparente de las especies medidas. Adicionalmente, este no es común para resultados químicos útiles levantados de la medición de especies definidas operacionalmente, por ejemplo, Cadmio extraíble (Algunas veces llamadas mediciones "empíricas").

En tales circunstancias, este no es siempre claro para la identificación de requerimientos para la trazabilidad, o a demostrar que la trazabilidad en lugar es adecuada.

La habilidad de comparar los resultados significativamente donde quiera que estos se originen. Comparablemente es provisto por y entre otras cosas, la trazabilidad a un patrón consistente y determinado acuerdo de unidades y escalas de medición. Para la mayor parte de los resultados en las mediciones químicas el mejor es el brindado por, el SI, ya que es internacionalmente aceptado. Ya que el SI es reconocido y otras unidades serán requeridas, se asumirá que las mediciones serán expresadas en base a esté [24, 31].

El responsable de la metrología en el laboratorio, contará con el documento emitido por EURACHEM (Trazabilidad en mediciones químicas) y la EMA (Guía técnica del área química de trazabilidad y estimación de la incertidumbre de medición) para el establecimiento de la trazabilidad interna. Así como la GUM (Guía para la medición de la incertidumbre) y la guía CG 4 de EURACHEM (Cuantificación de la incertidumbre en mediciones analíticas) para la determinación de la incertidumbre en la medición química.

### **III.1.1.- Principios de trazabilidad**

#### **III.1.1.1.- Métodos, medidas y resultados**

Una medición es una "cantidad sujeta a medición", tal como masa, volumen o concentración. Es críticamente importante que la cantidad sea medida claramente y correctamente definida.

Los métodos de medición son procedimientos que intentan proveer estimaciones de mediciones. Los métodos son desarrollados y documentados, así que ellos brindan estimaciones confiables y para el propósito de este documento va a ser asumido que el método es aceptado como suministro en una estimación adecuada para el propósito en el manual. Y que este incorpora todos los controles y correcciones necesarios.

Los resultados son valores atribuidos a medidas siguiendo medición, usando un método apropiado. Los resultados están en conformidad de estimaciones de medidas. Los resultados tienen propiedades tales como incertidumbre, exactitud, y, y como será mostrada, la trazabilidad [24, 31].

#### **III.1.1.2.- Escalas de medición, estándares y unidades**

Comparaciones significativas entre resultados de mediciones son sólo posibles si los resultados son expresados en las mismas unidades. Esto

actualmente es logrado por conteo de resultados de medición como múltiplo de una unidad dada.

Una escala de medición es simplemente un método aceptado de uso de unidades de medición y define un origen (un punto "cero"). Masa, longitud y concentración son expresados usando escalas de medición lineal con cero en el origen (Ellos son la razón de las escalas) [24, 31].

### **III.1.2.- Trazabilidad**

#### **III.1.2.1.- La Definición Internacional**

Para resultados de mediciones consistentes y útiles resulta, que esto es importante: que una cadena de comparaciones para agregar estándares de referencia, y que las incertidumbres asociadas con esas comparaciones, sean establecidas. Estos principios llevan directamente a la definición de trazabilidad en el Vocabulario Internacional de términos básicos y Generales en Metrología (VIM) [19]:

Trazabilidad: La propiedad del resultado de una medición o el valor de un estándar por medio del cual puede ser relacionado a referencias declaradas, usualmente estándares nacionales o internacionales, a través de una cadena ininterrumpida de comparaciones teniendo todas las incertidumbres declaradas.

La definición establece a la trazabilidad como una propiedad de resultados de medición, es decir, de valores obtenidos por medición. Estrictamente, la frase "identificable a un laboratorio dado" es la taquigrafía para "trazabilidad a un valor de la referencia mantenido por ese laboratorio". Similarmente, "trazable al SI" es la taquigrafía para "trazar a los valores de referencia obtenidos de acuerdo a las realizaciones del SI de unidades" [24, 31].

#### **III.1.2.2.- Sistema internacional de Cantidades y Unidades (SI)**

Las medidas necesitan ser expresadas en unidades de medición convenidas.

El sistema apropiado de unidades para la mayoría de las mediciones químicas es el "Sistema Internacional" (SI). El SI de unidades forma un sistema coherente que se usa casi universalmente en la ciencia y muy ampliamente en el comercio.

El SI define las unidades base para la masa (el kilogramo, Kg), longitud (el metro, m), tiempo (el segundo, s), la temperatura termodinámica (Kelvin, K),

la corriente eléctrica (el Amper, A), la intensidad luminosa (la candela, cd) y cantidad de sustancia (la mole, mol). Este también define muchas unidades derivadas en términos de las unidades base, y una selección de importantes unidades derivadas para la medición química se proporciona en la tabla 1.

Note que la mole es la única unidad base que requiere la calificación futura; esta es esencial para especificar la entidad concernida, es decir, la sustancia específica referida a.

La naturaleza de la sustancia analizada es, por supuesto, importante en todas las mediciones químicas, y en todos los casos son expresadas en moles. En particular, cantidades tales como, fracciones de masa, en mediciones químicas que no son dimensionalmente en que ellas invariablemente se refieren a la fracción de una sustancia como una porción de una mezcla de otras sustancias. La implicación es que para completar apropiadamente la trazabilidad, cada resultado de la medida debe ser trazable a una referencia para la sustancia en particular [24, 31].

<b>cantidad</b>	<b>Unidades</b>
Concentración de una entidad química especificada	mol/kg ; mol/cm <sup>3</sup> ; g/cm <sup>3</sup> ; masa o proporción de volumen
Fracción Molar	mol/mol
Pureza de la sustancia química	mol/kg; proporción de masa
pH	pH (el antilogaritmo de la actividad del ión hidrógeno)
Actividad enzimática	Catalizador (mol s <sup>-1</sup> ) (SI de unidades), U (el umol/min)

**Tabla 8: Cantidades y unidades en medición química**

Fuente: S L R Ellison and Others, Guide traceability in chemical measurement, Workshop Draft, EURACHEM/CITAC, United Kingdom June 2002.

### **III.1.3.- Establecimiento de la trazabilidad**

#### **III.1.3.1.- Actividades esenciales en el estableciendo de la trazabilidad**

Aquí se declara un grupo de actividades que son necesarias para establecer la trazabilidad en un laboratorio de trabajo:

- i) Especificar el mesurado y la incertidumbre aceptable.
- ii) Escogiendo un método apropiado de estimación del valor - es decir, un procedimiento de medición con el cálculo asociado - una ecuación - y condiciones de medición.

iii) Demostrando, a través de la validación, que el cálculo y condiciones de la medición incluyen todas las cantidades que influyen y que significativamente afectan el resultado, o el valor asignado a un estándar.

iv) Identificar la importancia relativa de cada cantidad de influencia.

v) Escoger y aplicar estándares de la referencia apropiados.

vi) Estimar la incertidumbre.

Esta lista necesariamente no implica un orden o prioridad entre las actividades; ellas son todas importantes. Algunas interdependencias también resultarán ocasionalmente en revisiones de decisiones anteriores. El resultado importante es que todos ellos son llevados a cabo adecuadamente para el propósito en mano. Para la consistencia, sin embargo, los párrafos siguientes consideran a su vez cada uno en el orden respectivo [24, 31].

### **III.1.3.2.- Especificación de la medición e incertidumbre requerida**

Una medida significativa requiere la especificación inequívoca del mensurado, o cantidad a ser medida. Para los propósitos de esta guía, un mensurado normalmente se describe adecuadamente en las palabras, pero la atención íntima necesita ser recompensada para algunos resultados específicos. Éstos son:

- Identidad del analito. En las mediciones químicas muy comúnmente se cuantifican particulares especies moleculares o elementales. Será claramente necesario tener cuidado extra, si formas diferentes de un material ocurren y si la diferencia es importante. Por ejemplo, diferentes isótopos, mezclas de isótopos, isotopómeros, enantiómeros, o formas cristalinas necesitarían ser distinguidas.

- Condiciones de medición implícitas. Se espera que la mayoría de los resultados analíticos sean obtenidos bajo condiciones cerradas a temperatura ambiente normal, presión y humedad, es una costumbre común omitir estas condiciones de descripción declaradas del mensurado. En consideración de la trazabilidad, sin embargo, es importante entender exactamente qué condiciones aplican, como esta parte de la forma de la definición formal del mensurado. Donde las condiciones no están especificadas, normalmente es suficiente asumir que el mensurado está definido a 20 centígrados, al nivel del mar.

- Corrección de recuperación. Es muy importante declarar visiblemente si la cantidad de interés es una cantidad de material recuperada de un sustrato, o si esta es la cantidad total que se cree estará presente. Lo anterior normalmente no es correcto para la recuperación analítica. El último podría necesitar estar si la recuperación es significativamente diferente a 100%. Esto es importante porque la corrección por recuperación requiere una medición adicional para

calcular la corrección, y generalmente se agregara a los requerimientos de trazabilidad.

- La especificación en términos de un método. La guía en este documento está inalterada si un mensurando es definido en términos de un procedimiento o no; la definición en términos de un procedimiento simplemente guía a una lista más larga de parámetros fijos. Note, sin embargo, que definir un mensurando en los términos de un procedimiento no restringe el método usado. Una idea inusual, es que en principio es posible usar un procedimiento completamente diferente para realizar las mediciones. Por ejemplo, una técnica espectroscópica completamente puede usarse para estimar el contenido de grasa, la idea de "grasa" es más comúnmente definida en términos de una masa de material extraído bajo las condiciones especificadas. Sin embargo, siempre será necesario demostrar que los procedimientos alternativos proporcionan resultados equivalentes.

Es a menudo conveniente considerar los requerimientos de funcionamiento del método de medición en esta etapa. En consideración de la trazabilidad, la más importante preocupación es la incertidumbre de la medición requerida. Esto es importante porque:

a) La incertidumbre en un resultado no puede ser mejor que la incertidumbre que se levanta de los estándares de la medición en el uso; los requerimientos de la incertidumbre estarán de acuerdo con la influencia de la elección de los estándares de medición.

b) Para una técnica de medición dada, que logra una pequeña incertidumbre global es probable que requerirá un control muy grande. Esto normalmente aumentará el número de variables las cuales necesitan ser controladas [24, 31].

### **III.1.3.3.- Escoger un método conveniente**

Una vez que el mensurando es conocido y entendido, un método de medición es seleccionado, o tal vez desarrollado para el propósito. La elección del método involucra un rango de factores, incluyendo, por ejemplo, los requerimientos reguladores para métodos particulares, requerimientos del cliente, costo, experiencia de métodos diferentes, la disponibilidad de equipo, y crítica de decisiones.

La elección de método es de acuerdo a una cuestión de juicio informada por las necesidades del cliente.

Las cantidades identificadas en la especificación del método son del todo relevantes en la influencia de cantidades para el propósito de establecer la trazabilidad, sujeta a validación como se describe en el siguiente punto [24, 31].

### III.1.3.4.- Validación

La validación es cubierta en detalle en el capítulo cuarto de esta tesis, y una discusión completa no es requerida aquí. Sin embargo, los requisitos principales relacionados a la trazabilidad necesitan ser considerados. Primero, al cumplir su función en conformidad de suficiencia de la especificación del método, la validación del método debe proporcionar una prueba razonable de la ecuación de medición y condiciones. Tiene que ser reconocido que esto no puede ser exhaustivo, y que las consideraciones prácticas podrían limitar la comprobación posible. Pero en un caso ideal, la validación dentro de un solo laboratorio incluirá las siguientes actividades por las razones dadas:

-La Valoración de la selectividad y especificidad, para asegurar que el método responde a especies particulares de interés y no a otras, especies similares.

-Revisar un material de referencia certificado, que demuestre que el método no es significativamente perjudicado por la comparación con valores trazables obtenidos independientemente.

-Revisiones razonables en efectos específicos, probablemente otros efectos, que aquellos incluidos en la especificación del método, que muestran que otros efectos no necesitan ser incluidos.

- Estudios de precisión sobre como ampliar un intervalo de tiempo y grupo de condiciones como una posible razón, qué da otra prueba para la presencia de efectos significantes insospechados.

-Estudios Adicionales sobre fuentes de especificidad y probabilidad de prejuicio, incluyen estudios para impedir y recuperar, las interferencias probables y estudios de reactividad cruzada, que demuestran, de nuevo, que efectos no adicionales son importantes.

-Una revisión de linealidad, para demostrar que las unidades dadas podrían ser calculadas y citarse como una simple proporción como implicación por el uso normal de unidades en los resultados de medición.

Inter comparaciones entre analistas y los laboratorios diferentes, o con otros métodos, pueden también demostrar posibles deficiencias en el método. Si debidamente se trató como prueba para efectos adicionales, éstos, también, agregarán evidencia de la suficiencia de la especificación del método.

La segunda consideración importante en estudios de validación es que tales referencias son usadas para controlar, calibrar y probar el método durante la validación ellos mismos son trazables. Esto es importante para asegurar que los estudios de validación son directamente pertinentes a resultados obtenidos en la rutina.

La validación ha sido identificada como jugador en un papel clave para el establecimiento de la trazabilidad. No es una actividad opcional. Incluso cuando

se adopta un método estándar que ha sido validado y minuciosamente probado, algunos niveles de validación necesariamente permanecen. Normalmente no es necesario repetir el estudio completo de todos posibles o probables efectos; la especificación del método puede ser tomada para estar por completo sin detalladas revisiones adicionales. Pero los métodos analíticos son complejos y consecuentemente propensos al error humano. Es invariablemente necesario que por lo menos se revise que el laboratorio pueda llevar a cabo el método correctamente (comúnmente llamado verificación). Esto es mejor hecho con un apropiado material de referencia certificado. La evidencia de la competencia de las pruebas y otros estudios podrían, depender sobre la naturaleza del ejercicio, también proporcionan evidencias adecuadas de operaciones correctas de un método [24, 31].

### **III.1.4.- Importancia de diferentes cantidades de influencia**

La importancia relativa de diferentes cantidades de influencia resulta importante decidir el grado apropiado de control o calibración. No siempre es necesario establecer una calibración específica para cada cantidad.

En general, la importancia de diferentes cantidades de influencia es dictada por su efecto cuantitativo sobre los resultados de medición. Las cantidades con efecto grande e inmediato sobre los resultados son probablemente importantes. Una segunda cuestión importante es que el probable efecto tome dentro en cuenta las incertidumbres o los posibles errores grandes involucrados. Típicamente, medidas físicas tales como el tiempo, la masa y el volumen son bien controladas y fácilmente medidas comparadas con muchos efectos químicos, particularmente, en niveles traza. Aunque esta situación levanta sola porque una gran cantidad de cuidado ya ha sido dada a medidas físicas, y es muy probable que en la práctica un analista necesitará dar mucha más atención a los efectos químicos que a mediciones físicas intermedias.

Decidir si un efecto necesita ser medido e incluido en provisiones para la trazabilidad, normalmente es suficiente considerar si en el peor caso que razonablemente puede levantarse llevaría a un error significativo en la medición. Si este no fuera, entonces no hay claramente un fuerte argumento para una calibración adicional. Por ejemplo, temperatura ambiente en un laboratorio de trabajo en Inglaterra, es sumamente improbable estar fuera del rango de 10-30 grados centígrados y si tal rango tal no es significativo para cualquier medición dentro del laboratorio, no hay ningún fuerte argumento para la calibración y control de la temperatura del cuarto.

Una incertidumbre formal valora cubrir todos los efectos posibles (y no justamente aquellos conocidos a ser significantes) es claramente una herramienta poderosa excepcionalmente en la decisión de la importancia relativa de los efectos diferentes. Si la incertidumbre asociada con un efecto particular es pequeño comparado a la incertidumbre global, el control adicional es innecesario.

Debe estar claro que a pesar de en la discusión anterior, las condiciones medio ambientales y otras condiciones que no están explícitamente declaradas en la especificación del método, sin embargo podría ejercer un poco de influencia sobre los resultados. No obstante la mayoría de los métodos desarrollados son llevados a cabo bajo condiciones ambientales restringidas relativamente y es raramente posible para pruebas extremas; en cambio, generalmente es asumido que los laboratorios que generalmente operan en aproximadamente las mismas condiciones como aplican en el desarrollo del método. Esto se suma a un requisito no declarado para el control medio ambiente u otras condiciones, y un laboratorio normalmente esperará tomar el debido cuidado en controlar las condiciones de medición. En el contexto de esta guía, la pregunta más importante es que si tal cuidado necesariamente se extiende a la trazabilidad de la medición y control de las condiciones. La evaluación del posible impacto normalmente debe seguir los principios resumidos en el párrafo.

Sin embargo, es común encontrar que las condiciones medio ambientales necesitan tener algo de nivel de control para por lo menos algunas mediciones, de acuerdo con las buenas prácticas para por lo menos supervisar las condiciones con un equipo verificado apropiado [24, 31].

### **III.1.5.- Química analítica y metrología**

La química analítica es una ciencia metrológica, ya que su objetivo fundamental es ofrecer información basada en medidas experimentales.

La necesidad de armonización de técnicas y métodos y de comparabilidad de resultados a nivel nacional e internacional, para conseguir la aceptación mutua de los mismos, es cada vez más importante en el control de la contaminación ambiental y para el control de calidad de los productos agroalimentarios. Asimismo en un número considerable de procesos industriales la fiabilidad del análisis químico es uno de los pilares básicos en que se apoya la demostración de la calidad de los productos. Esta armonización ha de estar basada en la exactitud de las medidas y en la reproducibilidad de las mismas; y para ello se requieren patrones o materiales de referencia que cubran las distintas necesidades y que estén disponibles para todos los usuarios.

Los patrones o materiales de referencia aseguran razonablemente la trazabilidad con el sistema internacional de medidas y, junto con el calibrado correcto de la instrumentación, constituyen pilares fundamentales del aseguramiento de la calidad analítica.

Los principales caminos para asegurar la exactitud de un método analítico son los siguientes:

- a) Por comparación con los resultados de otros laboratorios, realizando estudios de inter-comparación.
- b) Empleando materiales de referencia certificados.

c) Por comparación con otro método, que se considera de referencia.

Estos procedimientos no son independientes entre si en muchas ocasiones, ya que los estudios de inter comparación emplean materiales de referencia cuando están disponibles. Asimismo es frecuente utilizar más de un método o técnica para validar otro [2].

### **III.1.6.- Selección y aplicación de estándares apropiados de referencia**

Asegurarse que todos los valores usados en la ecuación de la medición, y todos los otros valores fijados usados en la medición son trazables, todo esto necesario en la práctica, es establecer procedimientos para la calibración del equipo midiendo o controlando los valores fijos, y para garantizar la calibración, certificación o control de todas las referencias usadas en la medición.

La calibración, junto con los métodos validados, es de acuerdo con la clave a la trazabilidad.

En la práctica, se reconoce que la calibración y los estándares de referencia certificados, no siempre están disponibles, pero siempre es necesario establecer el control suficiente para la apropiada elección de estándares de medición. Hay, sin embargo, muchos tipos diferentes de estándares de la medición, particularmente para mediciones químicas, y hay diferentes circunstancias para su uso [2].

### **III.1.7.- Los materiales de referencia**

#### **III.1.7.1.- Elaboración de materiales de referencia**

Al ser los materiales de referencia el eslabón más importante de la trazabilidad de los resultados analíticos, es evidente la gran importancia que adquiere su disponibilidad. Ello requiere una variedad muy amplia, como corresponde a la gran diversidad de sustancias a determinar, a las matrices en las que se encuentran presentes y a los intervalos de concentración de los analitos. Asimismo requiere entidades expertas en la elaboración de estos materiales, de forma que se asegure su homogeneidad, estabilidad y distribución.

Elaboración de materiales de referencia requiere equipos pluridisciplinarios y medios técnicos que no están al alcance de muchas entidades. Por otra parte, los costes de elaboración son altos y, a pesar del alto precio de estos materiales en el mercado, no es una actividad muy rentable. Por ello existen organizaciones internacionales implicadas directamente en estas tareas, y organizaciones nacionales que promueven y financian en mayor

o menor grado esta actividad, al considerarla importante para los intereses de los respectivos países [2].

### **III.1.7.2.-Selección y fabricación**

Un material de referencia se prepara porque existe una demanda objetiva y real por parte de los laboratorios de los distintos sectores implicados. Igualmente las entidades nacionales e internacionales establecen campañas estratégicas para cubrir campos de creciente interés, atendiendo a la demanda social e industrial. En muchas ocasiones no existen en la práctica materiales de referencia idóneos, y en otras su fabricación resulta extraordinariamente difícil.

En cualquier caso, la preparación de estos materiales ha de cuidar distintos aspectos básicos o propiedades de los mismos, siendo las más importantes las siguientes [2]:

- Disponibilidad suficiente.
- Exactitud muy alta.
- Homogeneidad máxima.
- Estabilidad probada.
- Matriz adecuada a los fines.
- Trazabilidad aceptable.
- Incertidumbre pequeña.

### **III.1.7.3.-Homogeneidad y estabilidad**

En un sentido amplio la homogeneidad implica que no existen diferencias reales de los valores certificados entre las alícuotas del material considerado, en las distintas escalas de su utilización.' Así, para un envase dado (10 a 100 g) la homogeneidad ha de ser óptima; al igual que la homogeneidad entre envases de un mismo lote de fabricación (10 a 100 kg).

En la práctica es imposible la homogeneidad perfecta. Puede considerarse aceptable si las diferencias entre alícuotas son despreciables frente a la precisión de los métodos analíticos empleados.

La homogeneidad es tanto más difícil de obtener cuanto mayores son las cantidades de material de referencia fabricado. Este hecho es muy importante para sustancias que se encuentran a nivel de trazas y ultratrazas y para matrices con tendencia a sufrir procesos de segregación, que conducen a

distintos grados de microheterogeneidad. Por ello es necesario conocer las propiedades de la matriz en relación con los distintos analitos, efectuando acciones de rehomogeneización si fuese necesario, pero teniendo en cuenta las incertidumbres que puede aportar este proceso.

Los esfuerzos de las entidades productoras de materiales de referencia se encuentran con límites imposibles de superar, teniendo en cuenta los niveles de concentración tan bajos que se certifican y la naturaleza de las matrices.

En cuanto a la estabilidad, ha de preverse antes del proceso de fabricación, con objeto de incorporar al mismo aquellas precauciones que eviten problemas de esta naturaleza, incluyendo la adición de agentes estabilizadores si fuese necesario.

Es necesario prever la estabilidad en las condiciones de transporte y almacenamiento. El usuario debe conocer el período de validez del material en cuanto a su estabilidad y en qué condiciones se mantiene.

Son condiciones importantes para la estabilidad la ausencia de reacciones entre los componentes del material de referencia, o entre alguno de éstos y el propio envase, que a de ser de un material adecuado que proteja de los efectos de la luz de los agentes externos. Los envases deben mantener la hermeticidad necesaria.

Las pruebas de estabilidad del fabricante han de ser la base de la información suministrada junto a los valores certificados [2].

#### **III.1.7.4.-Proceso de certificación**

La certificación de los valores de un material de referencia tiene como base su homogeneidad; estabilidad y conocimiento adecuado de la naturaleza de la matriz. La certificación requiere la determinación de los analitos de interés, estableciendo la exactitud y la incertidumbre de los resultados. El contenido tipo de un certificado incluye datos que cubren los siguientes campos:

- Identificación y descripción del material.
- Identificación de la entidad y de las personas que certifican el material, de los laboratorios participantes y de las técnicas y métodos empleados.
- Fecha de certificación.
- Información de estabilidad y conservación. Fecha de caducidad. Instrucciones de empleo.
- Valores certificados, incertidumbres y niveles de confianza.

-Valores no certificados, o certificados con limitaciones.

La certificación ha de apoyarse en dos o más métodos independientes, a ser posible de distinto fundamento físico-químico, que han de ser aplicados por varios laboratorios de reconocida solvencia, preferiblemente laboratorios acreditados o pertenecientes a organizaciones internacionales o gubernamentales.

Las certificaciones emitidas con los resultados de un sólo laboratorio, o con los de varios, pero aplicando el mismo método analítico, no tienen la misma garantía que los conseguidos con el concurso de varios laboratorios y métodos. Este es el procedimiento establecido por la IUPAC [2].

### **III.1.7.5.-Aplicación de los materiales de referencia**

Para asegurar el cumplimiento de las normas, los materiales deben estar debidamente protegidos y guardados, y se deben mantener los registros de su recepción y uso. Para ello puede ser útil configurar una base de datos de los materiales existentes en el laboratorio que sirva de referencia y de inventario actualizado.

El objetivo fundamental de estos materiales es la validación de métodos y el mantenimiento de los mismos bajo control estadístico. No obstante, para esta última función, pueden ser suficientes otros tipos de materiales y, patrones de uso interno en el laboratorio, pero que reúnen las garantías suficientes.

Hay que tener en cuenta que los mayores riesgos que corre un material de referencia se producen durante su manipulación y transformación en procesos exigidos por el propio método analítico.

El laboratorio debe mantenerse bien informado de la existencia de materiales adecuados a los tipos de análisis que realiza y debe disponer de los más importantes para estos fines [2].

### **III.1.7.6.-Clasificación**

Atendiendo a las definiciones de la International Organization for Standardization (ISO) en su guía 30, es posible diferenciar los distintos tipos de materiales de referencia:

### **III.1.7.7.-Material de referencia (RM)**

Es una sustancia o un material que tiene una o varias propiedades suficientemente valoradas y que permite su uso para la calibración de aparatos,

equipos o instrumentos de medida, la validación de métodos analíticos o la asignación de valores a los componentes de un material o producto.

Estos materiales pueden ser sólidos, líquidos o gases en estado puro, o formando parte de mezclas homogéneas. Su aplicación permite la armonización de métodos analíticos y la comparabilidad de resultados [2].

### **III.1.7.8.-Materiales de referencia certificados (CRM)**

Son aquellos materiales de referencia que tienen certificados uno o más valores de algunas de sus propiedades. La certificación sólo será fiable si se ha efectuado con procedimientos validados, aplicados por entidades de competencia reconocida.

Existen otras definiciones de valor más limitado al no tener un consenso tan amplio como las de la ISO, entre ellas cabe citar las siguientes

-Material de referencia interno (IRM).

-Material de referencia externo (ERM).

-Material de referencia estándar (SRM), del "National Institute of Standards and Technology" (NIST), antiguo NBS.

-Sustancia patrón. (La pureza está garantizada por la propia firma comercial).

-Estándar primario. Sustancia de pureza del 99.98 % o mejor.

-Estándar de trabajo. Sustancia de pureza del 99.95 % al 99.98 %.

Para que pueda atribuirse con propiedad la cualidad de material de referencia es necesario que estos materiales no se alteren durante su tiempo de empleo en las condiciones de aplicación establecidas [2].

### **III.1.8.-Estimación de la incertidumbre**

El requisito para la información de incertidumbre sigue de la necesidad de primero asegurar, que las referencias usadas sean suficientemente exactas para el propósito, y segundo, proporcionar información similar para el resultado de la medición. La estimación de incertidumbre se discute en detalle en el capítulo 5.

-Pero el mínimo requerido para medidas útiles es cualquiera que evalúa la contribución de cada valor de referencia de incertidumbre la incertidumbre del resultado de la medición (qué podría contar con la validación para mostrar que cambios dentro de la incertidumbre hace insignificante las diferencias para el

resultado) o si apropiado, cumpliendo con el equipo, calibración y requerimientos de control del método estándar (la norma) en el uso.

- Valorar la incertidumbre total del resultado, incluyendo la influencia de las referencias usadas.

-La confirmación de la incertidumbre total se encuentra al final de los requerimientos de uso [24, 31].

### III.9.-Trazabilidad a una escala común

En química existe un gran número de mediciones cuyos resultados no pueden ser trazables a valores del SI de unidades, por lo cual se hace uso del concepto más empírico de las escalas de medición. Es decir, se deben usar escalas basadas sobre valores de materiales de referencia acordados *a priori*. Esto permite a un analista establecer una curva de calibración a través de las señales o respuestas observadas de un instrumento analítico usado en su proceso de medición, las cuales son convertidas a valores de concentración.

De manera que cualquier resultado de una medición la cual se demuestra ser "trazable" a una escala común, es "comparable" a cualquier otro resultado de medición el cual es "trazable" a la misma escala, es decir, a aquella que se establece por los valores de los mismos materiales de referencia [3, 30].

### III.10.-Trazabilidad y el Centro Nacional de Metrología

El Centro Nacional de Metrología (CENAM) ha adoptado el esquema anterior como medio práctico para alcanzar la trazabilidad en química en todas las aplicaciones que se llevan a cabo en México.

Luego, el establecimiento de la trazabilidad de los resultados de las disseminaciones, es decir, la disseminación de la exactitud de patrones hacia todas las mediciones químicas se puede lograr mediante la aplicación de alguno de los siguientes cuatro mecanismos:

1. Uso de materiales de referencia trazables al SI. En la mayoría de las mediciones, los materiales de referencia certificados trazables al SI son los mejores puntos de referencia disponibles hasta ahora, estos materiales son el medio de lograr mediciones confiables a costos razonables disponibles para una gran población de usuarios.

2. Sistemas de Medición de Referencia. Esta ruta de trazabilidad se basa en el uso de sistemas de medición de referencia cuando no se requieren o no existen materiales de referencia, un ejemplo de esta ruta es un espectrómetro

de UV patrón que sirve como referencia para la medición de ozono en el aire a nivel superficial.

3. Métodos de Referencia. Estos métodos son aplicados por laboratorios competentes y sus mediciones tienen trazabilidad demostrada a unidades del SI.

4. Métodos primarios con trazabilidad directa al mol. Esta ruta se aplica en los casos en los cuales un laboratorio químico es capaz de establecer un vínculo directo entre un problema de medición química o biológica y el SI por medio de un método primario.

De entre ellas, la ruta de trazabilidad más entendida es la de los materiales de referencia. Los materiales de referencia trazables al SI abren la posibilidad de establecer una cadena de trazabilidad completa desde el laboratorio de campo hasta las unidades del SI. Ejemplos de estos materiales de referencia son, ciertas mezclas de gases, sustancias de alta pureza, mezclas isotópicas y otros.

El CENAM como parte importante de sus responsabilidades establecidas en la Ley Federal de Metrología y Normalización, ha desarrollado 113 tipos de materiales de referencia certificados en las categorías de sustancias químicas de alta pureza, soluciones orgánicas, agua, pH, conductividad electrolítica, alimentos, combustibles y minerales, entre otros. Asimismo, con el fin de lograr comparabilidad internacional en mediciones químicas el CENAM ha firmado acuerdos de reconocimiento mutuo del CIPM y participa en comparaciones a diferentes niveles (North American Cooperation in Metrology, NORAMET; Sistema Interamericano de Metrología, SIM y CCQM) con el fin de soportar técnicamente estos acuerdos.

Además, muestra que la trazabilidad implica una relación con autoridades o laboratorios medición de jerarquía metrológica mayor.

Por lo tanto, para lograr la trazabilidad al SI de unidades en la amplia gama de mediciones químicas, se requiere necesariamente la aplicación de algún método primario de medición química como medio de lograr el vínculo directo con las unidades del SI [3, 30].

### **III.2.-Identificación de la fuente de trazabilidad de los resultados obtenidos en la determinación de Ácido Ascórbico**

El procedimiento consiste en 10 etapas, las cuales permiten seguir de manera sistemática una trayectoria que finalmente termina en la identificación de la fuente de la trazabilidad.

Las etapas son las siguientes:

### III.2.1.-Etapa I:

Identificar el título y clave del método empleado en la determinación de ácido ascórbico por el laboratorio de ensayo [5].

**Nombre y clave del método:** Método oficial de la AOAC 967.21, Ácido ascórbico en preparaciones de vitaminas y jugos, 2,6-dicloroindofenol método titulométrico, primera acción 1967-última acción 1968.

### III.2.2.-Etapa II:

Hacer una descripción corta del método empleado en la determinación de ácido ascórbico por el laboratorio de ensayo, e identificar el mesurando y la ecuación o modelo matemático que permite determinar el valor del mesurando [5].

**Descripción corta del método:** (Aplicable para determinación de ácido ascórbico reducido. No aplica para jugos altamente coloreados o en presencia de hierro Fe, estaño Sn, cobre Cu, SO<sub>2</sub>, sulfito, o trisulfato.)

El ácido ascórbico se reduce en presencia de un indicador de oxidación-reducción, 2,6-Dicloroindofenol, para una solución incolora. En el último punto, el exceso no reduce la tinción y es rosada en una solución ácida. La vitamina es extraída y se realiza una titulación en presencia de una solución HPO<sub>3</sub>-CH<sub>3</sub>COOH o HPO<sub>3</sub>-CH<sub>3</sub>COOH-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> para mantener una acidez adecuada para la reacción y evitar así una autooxidación del ácido ascórbico.

**Mesurando:** mg/mL de Ácido ascórbico.

**Fórmula para calcular el mesurando:**

Mg de ácido ascórbico/g, tableta, mL, etc. =  $(X-B)(F/E)(V/Y)$

### III.2.3.-Etapa III:

Identificación de las variables involucradas en la medición: Promedio en mL para la titulación de la muestra, promedio en mL para la titulación de la muestra blanco, mg de ácido ascórbico equivalentes a 1.0 mL de solución estándar de indofenol, número de mL de ensayo, Volumen inicial de la muestra de ensayo (mL) y Volumen de la muestra alícuota titulada (mL).

### III.2.4.-Etapa IV:

Hacer un listado de los instrumentos de medición directa y de los sistemas instrumentales de medición analítica requeridos por el método e identificar la magnitud de base del sistema internacional de unidades que miden: Longitud, masa, tiempo, intensidad luminosa, cantidad de sustancia, intensidad de corriente, temperatura termodinámica; o de magnitudes derivadas: Flujo, volumen, densidad, etc. [5].

Instrumento calibrado:	SI
Balanza especial clase I de 210 g. y división mínima de 0.0001 g.	Masa
Bureta 50 mL	Volumen
Pipeta 10 mL	Volumen
Pipeta Volumétrica 100 mL	Volumen
Pipeta volumétrica 50 mL	Volumen

Tabla 9

### III.2.5.-Etapa V:

Separar del listado anterior todos aquellos que miden magnitudes diferentes a la magnitud de base del SI cantidad de sustancia, mol, en términos de concentración y que requieren ser calibrados en estas magnitudes. (Columna con encabezado "INSTRUMENTO CALIBRADO") [5].

Instrumento calibrado:	SI
Bureta 50 mL	Volumen
Pipeta 10 mL	Volumen
*Pipeta Volumétrica 100 mL	Volumen
*Pipeta volumétrica 50 mL	Volumen

Tabla 10

\*Se utilizó la tolerancia reportada por el proveedor.

### III.2.6.-Etapa VI:

Hacer un listado de las Sustancias Químicas y Materiales de Referencia Certificados que intervienen en el método empleado. De esta lista identificar aquellas que sólo están involucradas en el proceso de preparación y otra lista con aquellas sustancias que intervienen en la cuantificación del mesurando [5].

## **Sustancias Químicas y Materiales de Referencia Certificados:**

### **Preparación:**

-Ninguno.

### **Determinación:**

-Estándar de referencia de Ácido ascórbico (LOT {03131KN}).  
-2,6-dicloroindofenol sal de sodio

### **III.2.7.-Etapa VII:**

Las sustancias y/o MRC que intervienen en la cuantificación del mesurando son aquellas requeridas para:

**Ruta de trazabilidad:** Titular empleando un método volumétrico.

### **III.2.8.-Etapa VIII:**

Investigar que las sustancias y MRC empleados en el punto anterior muestren trazabilidad al SI de mediciones a través de su certificado de material de referencia.

### **Trazabilidad de las sustancias y MRC al SI:**

Esta puede verse en los certificados de análisis de cada uno de los productos (Ácido ascórbico y 2,6-dicloroindofenol sal de sodio) que se encuentra en la parte de anexos de esta tesis.

### **III.2.9.-Etapa IX:**

Investigar la trazabilidad de los resultados obtenidos para los instrumentos listados en la etapa V. (Columna con encabezado "INSTRUMENTO CALIBRADO").

<b>Instrumento</b>	<b>Calibrado</b>
Bureta 50 mL	Instrumento calibrado
Pipeta 10 mL	Instrumento calibrado
*Pipeta Volumétrica 100 mL	Volumen
*Pipeta volumétrica 50 mL	Volumen

**Tabla 11**

-Los instrumentos fueron calibrados en el laboratorio de Metrología de la UNAM el cual tiene trazabilidad en sus mediciones al CENAM.

\*En estos instrumentos se hizo uso de la tolerancia reportada por el proveedor y en ambas pipetas se utilizaron instrumentos de vidrio clase A (aquellos que cumplen con los requerimientos de ASTM, E438 tipo 1, vidrio clase A "Aparatos de laboratorio en vidrio" ("Glasses in laboratory apparatus")).

#### **Trazabilidad de los Instrumentos calibrados:**

Esta puede verse en los informes de calibración de cada uno de los instrumentos que participan en la medición directa (Bureta de 50 mL, pipeta de 10 mL) que se encuentra en la parte de anexos de esta tesis. Los datos de la balanza utilizada pueden ser revisados en los informes de calibración de los instrumentos anteriormente citados. En el caso de las pipetas volumétricas su tolerancia puede ser revisada directamente en el instrumento Pyrex ó en el catalogo de material Pyrex, para material clase A.

#### **III.2.10.-Etapa X:**

La forma de conocer la trazabilidad de los resultados de la medición de magnitudes químicas y de magnitudes físicas, es a través del contenido del certificado del material de referencia o del certificado del aparato o instrumento, respectivamente.

##### **Para magnitudes químicas:**

i) Procedencia del cuerpo certificador y del material de referencia (NIST, BAM, CENAM, LGC, KRIS, etc.).

##### **Para ácido ascórbico:**

-Aldrich

##### **Para 2,6-dicloroindofenol sal de sodio:**

-Fluka

ii) Descripción del material de referencia y uso para el cual fue certificado.

##### **Para ácido ascórbico:**

**Nombre:** L-Ácido Ascórbico

**Sinónimos:** Factor Antiescorbútico, Ácido ascórbico, L-Threoascórbico ácido Vitamina C Hierro (II) sal.

**Número MDL:** MFCD00064328

**Formula Molecular:**  $C_6H_8O_6$

**Peso Molecular:** 176.1  
**Número CAS:** 50-81-7  
**Número MDL:** MFCD00064328  
**Ensayo:** 99+% ≥ 99.0%  
**Número EC:** 2000662  
**BRN:** 84272

**Index Merck:** Merck 13,837.  
**Index Beilstein:** Beil. 18, V, 5, 26.

**Comentarios:**

Reactivo ACS, 99+%, ≥ 99.0%  
[α]<sup>25</sup> +20.5 a +21.5° en H<sub>2</sub>O (lit.)  
*Acta Biochem. Biophys. Hung.* 1987, 22, 167.

Estos derivados inmunoestimulantes juegan un importante rol en la regulación celular [32].

**Para 2,6-dicloroindofenol sal de sodio:**

**Nombre:** 2,6-dicloroindofenol sal de sodio  
**Sinónimos:** DCIP, 2,6-Dicloro-N-(4-hidroxifenil)-1,4-benzoquinonamina sal de sodio. 2,6 - Diclorofenolindofenol sal de sodio hidrato, DPIP.  
**Número MDL:** MFCD00150014  
**Formula Molecular:** C<sub>12</sub>H<sub>6</sub>Cl<sub>2</sub>NNaO<sub>2</sub>  
**Peso Molecular:** 290.1  
**Número CAS:** 620-45-1  
**Grado de pureza:** purum p.a.  
**Ensayo:** ≥ 98.0% (AT, calc. sobre sustancia seca)  
**Numero EC:** 2106404  
**BRN:** 3641229  
**Index Merck:** Merck 13, 3093  
**R&S:** S: 22-24/25

**Comentarios:**

Purum p.a., para la determinación de ácido ascórbico, ≥ 98.0% (AT, Calc. sobre sustancia seca). Sin residuo para la prueba de filtrado (0.5 g en 10 mL H<sub>2</sub>O) [32].

iii) Valor de magnitud certificada y de la incertidumbre asociada a este.

**Para ácido ascórbico:**

-100.29% de pureza en gramos según muestra el análisis del certificado por lo que la incertidumbre asociada a este es considerada como 1.29 % del contenido total en gramos, que representa la diferencia entre la especificación y el resultado del análisis.

**Para 2,6-dicloroindofenol sal de sodio:**

-99.5% de pureza en gramos según muestra el análisis del certificado por lo que la incertidumbre asociada a este es considerada como 0.5 % del contenido total en gramos, que representa la diferencia entre la especificación y el resultado del análisis.

iv) Trazabilidad y periodo de validez del certificado.

**Para ácido ascórbico:**

Octubre del 2003 a Octubre del 2005.

**Para 2,6-dicloroindofenol sal de sodio:**

No especifica.

**Para magnitudes físicas:**

i) Descripción del patrón empleado en la calibración del instrumento o aparato (Para la bureta de 50 mL, la pipeta de 10 mL), en el caso de las pipetas volumétricas su descripción puede ser revisada directamente en el catálogo de material Pyrex, para material clase A.

Datos del agua usada en la calibración de los instrumentos de medición.

**Análisis del agua:**

Industrias Vinícolas Pedro Domecq.

Fecha de emisión: Febrero 11, 2003.

Fecha de Análisis: Febrero 07, 2003.

Cantidad: 500 mL.

Fecha de muestreo: Febrero 07, 2003.

Cliente: Facultad de Química UNAM/Laboratorio de Metrología.

Contacto: M. en C. Ma. De Los Ángeles Olvera.

Referencia: FLAB-047R/297

**Determinación analítica:**

pH a 25 °C: 6.8

Conductividad ( $\mu\text{S}/\text{cm}$  a 25°C): 1.0

Alcalinidad ( $\text{mg}/\text{L}$   $\text{CaCO}_3$ ): 7.0

Dureza ( $\text{mg}/\text{L}$   $\text{CaCO}_3$ ): ND

Cloro residual ( $\text{mg}/\text{L}$ ): 0.02

$\text{SiO}_2$  ( $\text{mg}/\text{L}$ ): ND

Nota: El resultado del análisis sensorial de la muestra indica que es incolora, inodora y libre de partículas.

\*Certificado de acreditamiento ema No. A-104-004/02.

**Datos de la balanza:**

Instrumento: Balanza clase I

Marca: Sartorius

Serie: 5031138

No. Inv: UNAM

Alcance (g): 210

Div. Min (g): 0.0001

Incertidumbre (g): 0.0002  
Fecha de calibración: 18/06/2001  
Informe de Calibración: INC371.T/2001  
Laboratorio: INSCO de México S.A. De C.V.

ii) Valor de la magnitud certificada e incertidumbre asociada indicando nivel de confianza correspondiente.

**Para la bureta de 50 mL:**

Incertidumbre combinada (mL)	0.0050
Incertidumbre expandida (mL)	0.0099
Nivel de confianza k=2	

**Para la pipeta de 10 mL:**

Incertidumbre combinada (mL)	0.0074
Incertidumbre expandida (mL)	0.0147
Nivel de confianza k=2	

**III.2.11.-Etapa XI:**

De la realización de las etapas I a IX, se obtendrá uno de los siguientes resultados:

- a) Hay evidencia suficiente de trazabilidad.
- b) No hay evidencia de trazabilidad.
- c) Falta información de trazabilidad.

**Nota:** Adaptación del documento de la Entidad Mexicana de Acreditación (ema), Guía técnica del área de química para trazabilidad y estimación de la incertidumbre de medición, Políticas y guías técnicas de la entidad mexicana de acreditación, a.c., FOR-TR-005-01.

## **CAPITULO 4**

# **PROGRAMA DE VALIDACIÓN PARA LA MEDICIÓN DE ÁCIDO ASCÓRBICO**

## **IV.-PROGRAMA DE VALIDACIÓN PARA LA MEDICIÓN DE ÁCIDO ASCÓRBICO**

### **IV.1.1.-Método de validación**

ISO define validación como la confirmación por examinación y provisión de evidencia objetiva que los requerimientos particulares para un uso intencionado específico es cumplido [ISO 8402:1994]. Uno puede interpretar esto para el método de validación como estar en el proceso de definición un requisito analítico, y confirmar que el método bajo la consideración tiene las capacidades consistentes que la aplicación requiere. Esta implícito en esto, que será necesario evaluar el desempeño de la capacidad de los métodos. Esto es consistente con la interpretación de la definición de ISO. El juicio de conveniencia del método es importante; en el pasado el método de validación ha tendido a concentrarse sobre los procesos de evaluación de los parámetros de desempeño.

Esto está implícito en el proceso del método de validación que los estudios para determinar los parámetros de desempeño del método son llevados a cabo usando equipo que está dentro de las especificaciones, trabajando correctamente, y calibrando adecuadamente. Igualmente el operador que lleva a cabo los estudios debe ser competente en el campo de trabajo bajo el estudio y tiene que tener suficiente conocimiento relacionado al trabajo para poder tomar decisiones apropiadas de las observaciones hechas con el progreso del estudio.

El método de validación usualmente está considerado muy estrechamente ligado al desarrollo del método, de hecho esto, no es a menudo posible para determinar exactamente donde termina el desarrollo del método y donde comienza la validación. Mucho de la eficiencia de los parámetros del método que están asociados con la validación del método se evalúa de hecho normalmente, por lo menos aproximadamente, como parte del desarrollo del método [6, 31].

### **IV.1.2.-Papel del método de validación**

Un método desarrollado típicamente produce un procedimiento de operación estándar, incorporando un grupo de instrucciones para llevar a cabo una medición, un grupo de condiciones de medición que definen los valores de parámetros que deben mantenerse estables, y una ecuación de la cual el resultado es calculado usando los valores de los parámetros propuestos. De acuerdo con esto se proporciona una ecuación, la cual espera generar resultados consistentes provistos, que las condiciones especificadas son correctamente puestas y estables. La implicación es que si los valores de todos estos parámetros son trazables a referencias estables, los resultados serán consistentes.

Sin embargo, esta expectativa esta invariablemente basada sobre algunas suposiciones; específicamente, linealidad de respuesta, libertad de prejuicio completo, y ausencia de otros efectos significativos. Si aquellas Suposiciones son incorrectas, por ejemplo debido a la presencia de efectos insospechados, los resultados serán no confiables y a menudo incorrectos. La experiencia práctica sólo indica claramente también que los efectos desconocidos son frecuentes y a menudo grandes; tales suposiciones por lo tanto no deberían ir sin desafío.

El papel de validación en el estableciendo de la trazabilidad es de acuerdo con la prueba en todo caso el método es suficientemente bien definido e incorpora todos los requisitos de trazabilidad necesarios.

#### **IV.1.3.-Necesidad de la validación del método**

##### **IV.1.3.1.-Importancia de la Medición Analítica**

Millones de mediciones analíticas son hechas todos los días en los miles de laboratorios alrededor el mundo. Hay razones innumerables para realizar estas medidas, por ejemplo: como una manera de valuar bienes económicos para propósitos comerciales; apoyo en el cuidado de la salud; verificando la calidad de agua para beber; analizando la composición elemental de una aleación para confirmar su conveniencia por el uso de la construcción de aeronaves; el análisis forense de los fluidos del cuerpo en las investigaciones criminales. Virtualmente todos los aspectos de la sociedad están sustentados de alguna manera por mediciones analíticas.

El costo de llevar a cabo estas medidas es alto y costos adicionales se levantan de las decisiones hechas sobre la base de los resultados. Por ejemplo, pruebas que demuestran comida que es inadecuada para el consumo puede resultar en demandas de compensación; pruebas que confirman la presencia de drogas prohibidas podrían resultar en multas y encarcelamiento. Claramente es importante para determinar el resultado correcto y pueda mostrar que este es correcto [6, 31].

##### **IV.1.4.-Validación de los métodos**

Un método debe validarse cuando esto es necesario para verificar que sus parámetros de desempeño son adecuados para el uso en un problema analítico particular. Por ejemplo:

- El desarrollo de un nuevo método para el problema particular;
- La revisión de un método establecido para incorporar las mejoras o extender a un nuevo problema;

- Cuando el control de la calidad indica que un método establecido está cambiando con el tiempo;
- El uso de un método establecido en un laboratorio diferente, o con diferentes analistas o diferente instrumentación;
- Para demostrar la equivalencia entre dos métodos, por ejemplo un nuevo método y un estándar.

La magnitud de validación o revalidación requerida dependerá de la naturaleza de los cambios hechos volviendo a aplicar un método a diferentes laboratorios, instrumentación, operadores, y las circunstancias en las cuales el método va a ser usado. Algunos grados de validación son siempre apropiados incluso cuando use estándares evidentemente caracterizados o métodos publicados [6, 31].

#### **IV.1.4.1.-Forma en que un método debe de ser validado**

El laboratorio que usa un método es responsable de asegurar que se esta validando adecuadamente, y si es necesario llevar a cabo trabajos extensos para complementar los datos existentes. Por ejemplo, donde un método se ha validado por estándares de una organización aprobada, tal como la AOAC Internacional, el usuario normalmente necesitará sólo establecer los datos del desempeño para su propio uso del método.

Mucho ha sido publicado en la literatura acerca de validación de métodos por estudios colaborativos. Hay varios protocolos relacionados con este tipo de validación. Si un método está siendo desarrollado el cual tendrá un uso de gran alcance, quizás como un procedimiento estándar publicado, entonces el estudio colaborativo involucra un grupo de laboratorios, probablemente es la manera principal de llevar a cabo la validación. Sin embargo, esto no es siempre es una opción conveniente para los laboratorios industriales. La aplicación para la cual el método es requerido puede ser esotérica a la magnitud que ningunos otros laboratorios estarían interesados en la colaboración. Aquéllos que podrían estar interesados podrían ser los competidores. Donde es inconveniente o imposible para un laboratorio entrar dentro de un estudio colaborativo, un número de preguntas es reunido:

- ¿Los laboratorios pueden validar los métodos en ellos mismos, y en ese caso, cómo?
- ¿Los métodos que se validarán de esta manera son reconocidos por otros laboratorios?
- ¿Qué clase de reconocimiento puede esperarse para métodos internos usados en un ambiente regulado?

Trabajando inevitablemente en el aislamiento reduce la cantidad de datos de validación para que puedan ser recolectados para un método. Esto

principalmente restringe el tipo de información sobre la comparabilidad Interlaboratorio. Esta información no siempre es requerida así que esto no sería un problema. Si es necesario, esto puede ser factible para conseguir alguna idea de la comparabilidad de resultados de las mediciones de cualquier método dado con otros obtenidos en otra parte por medición de materiales de referencia certificados o por comparación del método contra uno para el cual la validación ha sido llevada a cabo.

Si los métodos validados en un solo laboratorio serán aceptables o no para propósitos regulatorios depende de cubrir algunas pautas del área de medición involucrada. Esto debería ser normalmente posible para conseguir un informe claro de política de un cuerpo regulador apropiado.

La Asociación de Químicos Analíticos Oficial (AOAC Internacional) siempre ha sido un fuerte soporte de ensayos inter laboratorio como la manera principal de validar los métodos. Más recientemente esto se ha introducido como "Programa del Método de verificación Par" para la validación de métodos por laboratorios que trabajamoslos o con otros dos [6, 31].

#### **IV.1.4.2.-Decidir qué grado de validación se requiere**

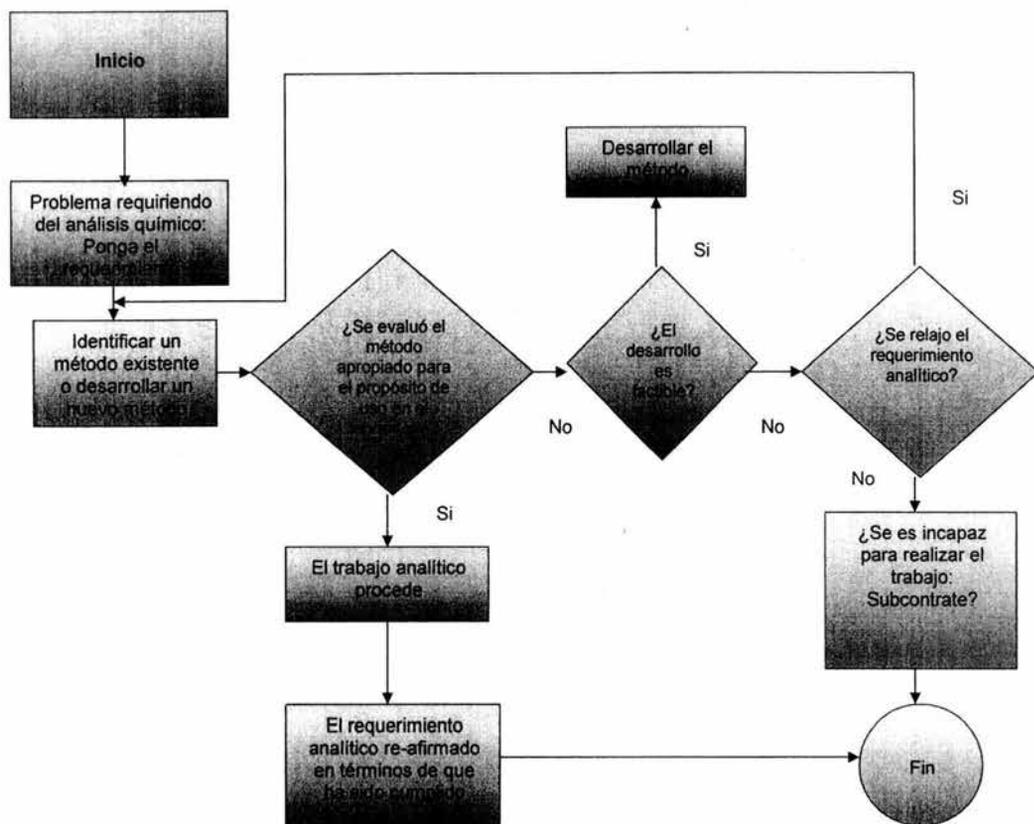
El laboratorio tiene que decidir qué desempeño de los parámetros de actuación de método necesitan ser caracterizados para validar el método. La caracterización del método es un proceso costoso e inevitablemente este podría ser restringido por tiempo y consideraciones del costo. Empezando con una cuidadosa consideración de la especificación analítica proporciona una buena base sobre el plan del proceso de validación, pero es reconocido que en la práctica esto es no siempre posible. El laboratorio debe hacer lo mejor que puede dentro de las restricciones impuestas, tomando en cuenta los requerimientos del cliente, la experiencia existente del método, y la necesidad para la compatibilidad con otros métodos similares ya en uso dentro del laboratorio o usados por otros laboratorios. Algunos parámetros tendrían que ser determinados aproximadamente durante la fase de desarrollo de método. A menudo un conjunto particular de experimentos producirá la información sobre varios parámetros, para que con una planeación cuidadosa el esfuerzo requerido para conseguir la información necesaria pueda ser minimizado.

Las implicaciones de las restricciones discutidas sobre esto son particularmente críticas donde el método no es usado sobre una rutinaria base. La validación de métodos la cual va a ser usada sobre una rutinaria base es un proceso comparativamente sincero. Sin embargo, ¿Debería el mismo proceso de validación ser aplicado a un análisis ad-hoc? Claramente los mismos principios aplican como para una rutina de prueba. Es necesario poder tener un nivel adecuado de confianza en los resultados producidos, por otra parte el trabajo no es un valor hecho. Notablemente el equilibrio entre tiempo y restricción de costos y la necesidad de validar el método son difíciles y en algunas circunstancias sería más apropiado para subcontratar el trabajo a otro laboratorio en dónde esto puede ser realizado sobre una rutinaria base.

Los requerimientos de validación serían especificados en directrices dentro de un sector particular de la medición pertinente para el método y se recomienda donde haya disponibles estos sean seguidos. Por ejemplo la validación para un método para el análisis de comida debe ser consistente con la estrategia de validación usada por la AOAC internacional. Esto asegurará que la terminología de validación particular junto con las estadísticas usadas sea interpretada de una manera consistente dentro del sector pertinente. El reconocimiento oficial de un método puede requerir la caracterización usando un estudio colaborativo. Los requerimientos regulatorios pueden exigir seguir un método particular a la letra aunque el laboratorio considere que este sea erróneo o inexacto. Adicional a la validación será necesaria la confirmación del desempeño satisfactorio del analista [6, 31].

#### **IV.1.4.3.-El Requerimiento Analítico**

Enfrentarse con un problema analítico en particular, idealmente el laboratorio debe estar de acuerdo primeramente con el cliente en un requisito analítico que defina los requisitos de desempeño que un método debe tener que ser conveniente para resolver el problema analítico. En respuesta a este requerimiento, el laboratorio puede evaluar los métodos existentes para la conformidad y si es necesario desarrollar un nuevo método. Este proceso iterativo de desarrollar y evaluar continuamente hasta que el método se juzgue capaz de encontrar el requerimiento; además desarrollar es innecesario y el trabajo analítico puede proceder. Este proceso de evaluación de criterio de la actuación y confirmación de que el método es conveniente, es ilustrado en la siguiente figura, que es el método de validación [6, 31].



**Figura 7: Selección, desarrollo y evaluación de métodos**

Adaptación: EURACHEM Working Group, Guide The Fitness for Purpose of Analytical Methods, A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics, EURACHEM, United Kingdom 1998.

En realidad un requerimiento analítico es de antemano raramente convenido de una manera formal. Más a menudo, si se declara en absoluto, se hará retrospectivamente. Los clientes normalmente definen sus requerimientos en términos de costo y/o tiempo y raramente saben como bien los métodos necesitan desempeño, aunque los requerimientos de desempeño pueden ser especificados los métodos apoyan un requerimiento regulatorio o cumplimiento con una especificación. Normalmente se dejará a la discreción del analista para decidir qué desempeño es requerido para el método y muy a menudo esto significará poner un requisito analítico en la línea con la capacidad conocida del método.

Las restricciones financieras podrían dictar que el desarrollo de un método que satisface un requisito analítico no es económicamente factible en

que caso que la decisión tiene que ser tomada si se relaja el requerimiento a un nivel más loguable o vuelva a pensar la justificación para el análisis [6, 31].

#### **IV.1.4.4.-Desarrollo del Método**

El desarrollo del método puede tomar varias formas. En un extremo, este puede involucrar adaptación a un método existente, haciendo cambios menores para que sea conveniente para una nueva aplicación. Por ejemplo, un método exigido determinar el tolueno en el agua podría ser adaptado de un método establecido para el benceno en el agua. La matriz es la misma, y los dos analitos tienen propiedades ampliamente similares. Es probable que los mismos principios de aislamiento, identificación, y cuantificación que son aplicados para el benceno también puedan ser aplicados para el tolueno. Si, por otro lado, un método es requerido determinar el benceno en la tierra, la adaptación del benceno en el método de agua no puede ser la mejor opción. La adaptación de algún otro método de determinación orgánica en tierra podría ser un mejor punto de partida.

En el otro extremo el químico analítico puede empezar por unas ideas vagas y la especialización y experiencia para inventar un método conveniente. Esto podría involucrar una innovación significativa basada sobre la nueva explotación de propiedades conocidas del analito o mensurando. Esto claramente involucra una gran cantidad de más trabajo, e inicialmente por lo menos un grado de duda acerca de si el método final tendrá el éxito. No es poco frecuente para un método desarrollo involucrar trabajo sobre un número de ideas diferentes simultáneamente y eventualmente seleccionan a un ganador [6, 31].

#### **IV.1.4.5.-Los diferentes parámetros de desempeño de un método y qué es lo que muestran estos**

##### **IV.1.4.5.1.-Limite de Detección**

Donde las medidas son en analito de bajo contenido o niveles de propiedad nivela, por ejemplo en el análisis de trazas, es importante conocer la concentración más baja del analito o valor de propiedad que pueden ser detectada confiadamente por el método. La importancia en la determinación de esto, y los problemas asociados con él, se levanta del hecho que la probabilidad de detección de repentinamente de cero a la unidad como algún principio es cruzado. Los problemas se han investigado estadísticamente en algo de detalle y un rango propuesto de criterio de decisión. La confusión adicional se levanta porque actualmente no hay ningún acuerdo universal sobre la terminología aplicable. Los términos "Limite de detección" o "detección del limite" generalmente no son aceptados aunque ellos son usados en algunos documentos sectoriales. ISO lo usa como un término general "valor mínimo detectable del estado neto variable" que para la química se traduce como

“Concentración neta mínima detectable”. IUPAC es cauto en el uso de “Límite de detección”, prefiriendo “Valor mínimo detectable (verdadero).

Para los propósitos de validación es normalmente suficiente proporcionar una indicación del nivel a que la detección llega a ser problemática. Para este propósito “El blanco + 3s” la aproximación que será suficiente usualmente. Donde el trabajo está en un cumplimiento regulatorio o de la especificación, una aproximación más exacta, es tal como la descrita por IUPAC y varios otros es probablemente es apropiado. Es recomendado que los usuarios citen cualquier convención que ellos han usado cuando declararon un límite de detección.

<b>Límite de Detección (LoD) Referencia Rápida</b>	
<b>Que analizar</b>	<b>Qué calcular del dato</b>
a) 10 mediciones de la muestra blanco independientes para cada una.	La desviación estándar de la muestra “s” de a) Valores de la muestra blanco, o b) Valores de la muestra blanco reforzada.
b) 10 muestras blanco reforzadas independientes en la más baja medición de la concentración aceptable.	Expresa LoD como la concentración del analito correspondiente a, a) El valor medio de la muestra blanco + 3s o b) 0+3s.
Este acercamiento asume que un signo más de 3s sobre la muestra el valor de la muestra blanco sólo tendría que levantarse del blanco mucho menor del 1% del tiempo, y por consiguiente probablemente se habrá levantado de algo más, tal como el mensurando. Aproximación a) sólo es útil donde el espacio en blanco de la muestra da una desviación estándar non-cero. Conseguir una muestra blanco de verdad puede ser difícil.	
c) 10 muestras blanco reforzadas en la más baja medición de la concentración aceptable para cada una.	Desviación estándar de la muestra “s” o de los valores de la muestras blanco reforzadas.
LoD expresa como la concentración del analito corresponde para el valor de la muestra blanco +4.65s (derivada de la prueba de hipótesis).	
“La concentración aceptable más baja” es tomada por ser la concentración más baja para que un grado aceptable de incertidumbre que puede ser alcanzada. Se asume una práctica normal de evaluar la muestra y blanco separadamente y la corrección para el blanco por substracción de la concentración del analito que corresponde al blanco señalado de la concentración correspondiente para la muestra señalada.	

Si las medidas son hechas bajo condiciones de repetibilidad, esto también da una medida de la precisión de la repetibilidad.

**Tabla 12**

Nota que es probable que la media y la desviación estándar de la muestra blanco sean dependientes sobre la matriz de la muestra blanco. El límite de detección será por consiguiente la matriz dependiente. Similarmente, dónde el tal criterio sea usado para las decisiones críticas, los valores de precisión pertinentes, necesitarán ser re-determinados regularmente en la línea con el actual desempeño de operación.

Para las medidas cualitativas, probablemente hay lo que será un umbral de la concentración debajo del cual la especificidad llega a ser inestable. El umbral podría variar si el experimento se repite en otro tiempo con reactivos diferentes, reforzamiento, materiales punta, etc. [6, 31].

<b>Límite de Detección (LoD) - Medidas Cualitativas - Referencia Rápida</b>	
<b>Que analizar</b>	<b>Que calcular de los datos</b>
La muestra blanco punta con el analito en un rango de niveles de concentración. En cada nivel de concentración, será necesario medir aproximadamente 10 replicas independientes de las replicas en los varios niveles en que debería aleatorizarse.	Una curva de la respuesta de % de resultados positivos (o negativos) contra la concentración será construida de la cual será posible determinar, por la inspección, la concentración del umbral en la que la prueba llega a ser inestable.

**Tabla 13**

#### **IV.1.4.5.2.-Límite de cuantificación**

El límite de cuantificación (LoQ) es estrictamente la concentración más baja de analito que puede ser determinada con un nivel aceptable de repetibilidad de precisión y veracidad. También se define por las varias convenciones para ser la concentración del analito que corresponde al valor de la muestra blanco más 5, 6 o 10 desviaciones normales de la media del blanco. También algunas veces es conocido como "Límite de determinación". LoQ es un valor indicativo y normalmente no debe usarse en la toma de una decisión.

Nota ni LoD ni LoQ representan niveles en los cuales la cuantificación es imposible. Simplemente es que el tamaño de las incertidumbres asociadas de comparabilidad adecuada con el resultado actual en la región del LoD [6, 31].

<b>Límite de Cuantificación (LoQ) -Referencia Rápida</b>	
<b>Que analizar</b>	<b>Que calcular de los datos</b>
<p>a) 10 muestras blanco independientes medidas cada vez.</p> <p>Conseguir una muestra blanco verdadera puede ser difícil.</p>	<p>La desviación estándar de la muestra 's' del valor de la muestra blanco.</p> <p>LoQ expresa como la concentración del analito corresponde al valor de la muestra blanco más o: i) 5s, ii) 6s, iii) 10s</p>
<p>b) Refuerce alícuotas de una muestra blanco en varias concentraciones de analito cerradas para el LoD.</p> <p>Mida, una vez cada uno, 10 replicas independientes en cada nivel de concentración.</p>	<p>Calcule la desviación estándar 's' del valor del analito en cada concentración. Trace 's' contra la concentración y ponga asignado un valor para el LoQ por inspección.</p> <p>LoQ se expresa como la concentración del analito más baja con la cual puede ser determinado con un nivel aceptable de incertidumbre.</p>
<p>Normalmente LoQ forma parte del estudio para determinar el rango de trabajo. No debe ser determinado por la extrapolación debajo de la concentración más baja del blanco reforzado.</p> <p>Si las medidas son hechas bajo condiciones de repetibilidad, una medida de la precisión de la repetibilidad en esta concentración también es obtenida.</p>	

**Tabla 14**

#### **IV.1.4.5.1-Precisión**

La precisión es normalmente determinada para circunstancias específicas que en la práctica pueden ser muy variadas. Las dos medidas de precisión más comunes son la repetibilidad y la reproducibilidad. Ellas representan las dos medidas extremas de precisión que puede obtenerse. Repetibilidad (la precisión esperada más pequeña) dará una idea de la clase de variabilidad por ser esperada cuando un método es realizado por un solo analista sobre una pieza de equipo encima de una escala de tiempo corta, por ejemplo la clase de variabilidad que puede ser esperada entre los resultados cuando una muestra es analizada en duplicado. Si una muestra será analizada por un número de laboratorios para los propósitos comparativos entonces una

más significativa medida de precisión para usar es la reproducibilidad (ésta es más grande medición de precisión normalmente encontrada, aunque esto formalmente excluye la variación con respecto a tiempo). Esto podría ser que alguna medida intermedia es la más útil en casos particulares; por ejemplo la medición de la precisión entre los analistas diferentes, encima de escalas de tiempo extendidas, dentro de un solo laboratorio. Esto algunas veces es conocido como 'precisión intermedia', pero las condiciones exactas deben declararse. La precisión es usualmente declarada en términos de desviación estándar o desviación estándar relativa. Ambas la repetibilidad y la reproducibilidad son generalmente dependientes sobre la concentración del analito, y así será determinado en un número de concentraciones y si es pertinente, la relación entre la precisión y concentración del analito debe ser establecida. La desviación estándar relativa podría ser más útil en este caso porque la concentración se ha factorizado fuera y así es grandemente constante encima del rango de interés proporcionado esto también no es bueno.

Nota estas declaraciones de precisión relacionan al análisis cuantitativo. El análisis cualitativo puede ser tratado de una manera ligeramente diferente. El análisis cualitativo es eficazmente una medida del si/no en un umbral dado de la concentración del analito. Para la precisión de los métodos cualitativos no puede ser expresado como una desviación estándar o desviación estándar relativa, pero podría expresarse como una proporción verdadera y falsa positiva (y negativa). Estas proporciones serán determinadas en un número de concentraciones, debajo de, en y sobre el nivel del umbral. Los datos de la comparación de un método confirmatorio deben ser usados si tal método apropiado está disponible. Si tal un método apropiado no esta disponible muestras blanco reforzadas y no reforzadas borran pueden ser analizadas preferiblemente.

% Falsos positivos =  $\frac{\text{Falsos positivos}}{\text{total negativos conocidos}} \times 100$

% Falsos negativos =  $\frac{\text{Falsos negativos}}{\text{total positivos conocidos}} \times 100$

Nota que los químicos analíticos biólogos y microbiólogos tratan los falsos positivos y falsos negativos ligeramente diferentemente, usando la selectividad de las condiciones y especificidad en cierto modo eso choca con el uso químico.

<b>Precisión-Repetibilidad y Precisión de Reproducibilidad -Referencia Rápida</b>			
<b>Análisis</b>	<b>Repeticiones Independientes</b>	<b>Que calcular de los datos</b>	<b>Comentarios</b>
Estándares, materiales de referencia, blancos muestra reforzados en varias concentraciones en el rango de trabajo.			

a) Mismo analista, equipo, laboratorio, escala de tiempo corta.	10	Determine la desviación estándar (s) en cada concentración.	Determine desviación estándar de la repetibilidad en cada concentración.
b) Diferentes analistas, equipo, mismo laboratorio, escala de tiempo extensa.	10	Determine la desviación estándar (s) en cada concentración.	Determine Inter.-laboratorio desviación estándar de la reproducibilidad en cada concentración.
c) Diferentes analistas, equipo, laboratorios, escala de tiempo extensa.	10	Determine la desviación estándar (s) en cada concentración.	Requiere de estudio colaborativo.

**Tabla 15**

Para repetibilidad desviación estándar  $\sigma_r$  o  $s_r$  es útil calcular el límite de repetibilidad 'r' que le permite al analista decidir si la diferencia entre los análisis duplicados de una muestra, determinada bajo las condiciones de repetibilidad, es significativa.

Para reproducibilidad desviación estándar  $\sigma_R$  o  $s_R$  es útil calcular el límite de reproducibilidad 'R' que le permite al analista decidir si la diferencia entre los análisis del duplicado de una muestra, determinada bajo las condiciones de la reproducibilidad, es significativa.

Sin embargo cabe señalar que la precisión para este ejemplo no se obtuvo a través de repetibilidad y reproducibilidad como lo pide Eurachem y la ISO 5725, sino más bien a través de la obtención de un coeficiente de variación que se describe claramente en el ejemplo y que es usado en el área de química analítica [6, 31].

## IV.2.-REALIZACIÓN PROGRAMA DE VALIDACIÓN PARA LA MEDICIÓN DE ÁCIDO ASCÓRBICO

### IV.2.1.-Precisión

Evaluación de la precisión de un sistema de medición cuya propiedad medida es la medición de A.A en la muestra [12].

#### Medición de A.A mg/mL

0.992
0.988
0.988
0.99
0.988
0.992
0.988
0.99
0.992
0.99

Tabla 16

Formulas:

$$\bar{y} = \frac{\sum y}{n}$$

$$s = \sqrt{\frac{n(\sum y^2) - (\sum y)^2}{n(n-1)}}$$

$$CV = \frac{s}{\bar{y}} * 100$$

Cálculos:

$$\sum y = 0.992 + 0.988 + \dots + 0.990 = 9.898$$

$$\sum y^2 = 0.992^2 + 0.988^2 + \dots + 0.990^2 = 9.797$$

$$n = 10$$

$$\bar{y} = \frac{9.898}{10} = 0.9898$$

$$s = \sqrt{\frac{10 \times 9.797 - 9.898^2}{10 \times (10 - 1)}}$$

Resultado:

$$CV = \frac{0.00175119}{0.9898} * 100 = 0.1769\%$$

0:1769 % no excede el coeficiente de variación de 1.5% por lo tanto la prueba es correcta.

#### IV.2.2.-Límite de detección

Blancos	mg/mL de A.A
1	0.990
2	0.986
3	0.986
4	0.988
5	0.986
6	0.990
7	0.986
8	0.988
9	0.990
10	0.988

Tabla 17

-Promedio: 0.9898

-LD=0.9898+3(0.00175119)= 0.9950 mg/L

-S= 0.00175119

-k=3 según guía de EURACHEM

-k=4,5 según pruebas de hipótesis

-Los blancos son independientes.

#### Algunos blancos reales:

-son difíciles de obtener, hay que adicionar a la menor concentración apreciable medidos cada uno una vez.

#### IV.2.3.-Limite de cuantificación

Blancos	mg/mL de A.A
1	0.990
2	0.986
3	0.986
4	0.988
5	0.986
6	0.990
7	0.986
8	0.988
9	0.990
10	0.988

Tabla 18

Promedio: 0.9898

S : 0.00175119

LQ= 6. (0.00175119)= 0.0105 mg/L **[6, 31]**.

## **CAPITULO 5**

# **EVALUACIÓN DE LA INCERTIDUMBRE DE ACUERDO A LA GUM PARA LA MEDICIÓN DE ÁCIDO ASCÓRBICO**

## **V.-EVALUACIÓN DE LA INCERTIDUMBRE DE ACUERDO A LA GUM PARA LA MEDICIÓN DE ÁCIDO ASCÓRBICO**

### **V.1.1.-Definiciones:**

#### **V.1.1.1.-Mensurando**

El propósito de una medición es determinar el valor de una magnitud, llamada el mensurando, que de acuerdo al VIM, es el atributo sujeto a medición de un fenómeno, cuerpo o sustancia que puede ser distinguido cualitativamente y determinado cuantitativamente. La definición del mensurando es vital para obtener buenos resultados de la medición. En no pocas ocasiones se mide algo distinto al propósito original. La imperfección natural de la realización de las mediciones, hace imposible conocer con certeza absoluta el valor verdadero de una magnitud: Toda medición lleva implícita una incertidumbre, que de acuerdo al VIM, es un parámetro que caracteriza la dispersión de los valores que pueden ser atribuidos razonablemente al mensurando.

Una definición completa del mensurando incluye especificaciones sobre las magnitudes de entrada relevantes. El resultado de una medición incluye la mejor estimación del valor del mensurando y una estimación de la incertidumbre sobre ese valor. La incertidumbre se compone de contribuciones de diversas fuentes, algunas de ellas descritas por las magnitudes de entrada respectivas. Algunas contribuciones son inevitables por la definición del propio mensurando, mientras otras pueden depender del principio de medición, del método y del procedimiento seleccionados para la medición [26, 30].

#### **V.1.1.2.-Principio de medición**

El principio de medición es el fundamento científico usado para realizar una medición. El conocimiento del principio de medición permite al metrologo dominar la medición, esto es, modificarla, diseñar otra, evaluar su conveniencia, etc., además es indispensable para estimar la incertidumbre de la medición [26, 30].

#### **V.1.1.3.-Método de medición**

El método de medición una secuencia lógica, descritas genéricamente y usadas en la representación de las mediciones [26, 30].

#### **V.1.1.4.-Procedimiento de medición**

Serie de operaciones, descritas específicamente, usadas en la representación de una medición en particular de acuerdo a un método dado.

El principio, el método y el procedimiento de medición son determinantes en el valor de la incertidumbre de la medición. Un conocimiento insuficiente de ellos muy probablemente conducirá a una estimación equivocada, o incompleta en el mejor de los casos, de la incertidumbre de la medición [26, 30].

#### **V.1.2.-Modelo físico**

Pretender estudiar el proceso de medición de manera exacta y completa está usualmente fuera de las actividades rutinarias del metrólogo, más aún, es el propósito de la investigación científica, cuya solución pocas veces se vislumbra. Por lo tanto, es necesaria la simplificación del fenómeno o de la situación real conservando las características más relevantes para el propósito pretendido, mediante la construcción de un modelo para la medición.

Un modelo físico de la medición consiste en el conjunto de suposiciones sobre el propio mensurando y las variables físicas o químicas relevantes para la medición. Estas suposiciones usualmente incluyen:

- a) Relaciones fenomenológicas entre variables.
- b) consideraciones sobre el fenómeno como conservación de cantidades, comportamiento temporal, comportamiento espacial, simetrías.
- c) consideraciones sobre propiedades de la sustancia como homogeneidad e isotropía.

Una medición física, por simple que sea, tiene asociado un modelo que sólo aproxima el proceso real [26, 30].

#### **V.1.3.-Modelo matemático**

El modelo físico se representa por un modelo descrito con lenguaje matemático. El modelo matemático supone aproximaciones originadas por la representación imperfecta o limitada de las relaciones entre las variables involucradas.

Considerando a la medición como un proceso, se identifican magnitudes de entrada denotadas por el conjunto  $\{X_i\}$  expresión en la cual el índice  $i$  toma valores entre 1 y el número de magnitudes de entrada  $N$ .

La relación entre las magnitudes de entrada y el mensurando  $Y$  como la magnitud de salida se representa como una función  $Y = f(\{X_i\}) = f(X_1, X_2, \dots, X_N)$  representada por una tabla de valores correspondientes, una gráfica o una ecuación, en cuyo caso y para los fines de este documento se hará referencia a una relación funcional.

Se denota con  $x_i$  al mejor estimado de las magnitudes de entrada  $X_i$ . Los valores de las magnitudes de entrada pueden ser resultados de mediciones recientes realizadas por el usuario o tomados de fuentes como certificados, literatura, manuales, etc.

El mejor estimado del valor del mensurando es el resultado de calcular el valor de la función  $f$  evaluada en el mejor estimado de cada magnitud de entrada,  $y = f(x_1, x_2, \dots, x_N)$ .

En algunas ocasiones se toma el mejor estimado de  $Y$  como el promedio de varios valores  $y_j$  del mensurando obtenidos a partir de diversos conjuntos de valores  $\{X_{ij}\}_j$  de las magnitudes de entrada [26, 30].

#### **V.1.4.-Identificación de las fuentes de incertidumbre**

Una vez determinados el mensurando, el principio, el método y el procedimiento de medición, se identifican las posibles fuentes de incertidumbre.

Estas provienen de los diversos factores involucrados en la medición, por ejemplo:

- Los resultados de la calibración del instrumento.
- La incertidumbre del patrón o del material de referencia.
- La repetibilidad de las lecturas.
- La reproducibilidad de las mediciones por cambio de observadores, instrumentos u otros elementos.
- Características del propio instrumento, como resolución, histéresis, deriva, etc.
- Variaciones de las condiciones ambientales.
- La definición del propio mensurando.
- El modelo particular de la medición;
- Variaciones en las magnitudes de influencia.

No es recomendable desechar alguna de las fuentes de incertidumbre por la suposición de que es poco significativa sin una cuantificación previa de su

contribución, comparada con las demás, apoyadas en mediciones. Es preferible la inclusión de un exceso de fuentes que ignorar algunas entre las cuales pudiera descartarse alguna importante. No obstante, siempre estarán presentes efectos que la experiencia, conocimientos y actitud crítica del metrologo permitirán calificar como irrelevantes después de las debidas consideraciones [26, 30].

### **V.1.5.-Cuantificación**

La incertidumbre de un resultado de media consta generalmente de varios componentes, las cuales pueden agruparse en dos categorías según la forma en que se estime su valor numérico:

A: Aquellas que se evalúan por métodos estadísticos.

B: Aquellas que se evalúan por otros métodos.

Los componentes de la categoría A se caracterizan por medio de varianzas estimadas  $S_i^2$  (o desviaciones típicas estimadas  $S_i$  y el número de grados de libertad  $V_i$ . Cuando sea necesario se darán covarianzas.

Los componentes de la categoría B deben de caracterizarse por medio de varianzas estimadas  $U_j^2$ , las cuales pueden considerarse como aproximaciones a varianzas, cuya existencia se presupone. Las cantidades  $U_j^2$  pueden tratarse como varianzas y las  $U_j$  como desviaciones típicas. Si es el caso, las covarianzas se tratarán de forma similar.

### **V.1.6.-Distribuciones de probabilidad**

La cuantificación de una fuente de incertidumbre incluye la asignación de un valor y la determinación de la distribución a la cual se refiere este valor. Las distribuciones que aparecen más frecuentemente son:

#### **a) Distribución normal**

Los resultados de una medición repetida afectada por una o más magnitudes de influencia que varían aleatoriamente, generalmente siguen en buena aproximación una distribución normal. También la incertidumbre indicada en certificados de calibración se refiere generalmente a una distribución normal.

#### **b) Distribución rectangular**

En una distribución rectangular cada valor en un intervalo dado tiene la misma probabilidad, o sea la función de densidad de probabilidad es constante en este intervalo.

Ejemplos típicos son la resolución de un instrumento digital o la información técnica sobre tolerancias de un instrumento. En general, cuando exclusivamente hay conocimiento de los límites superior e inferior del intervalo de variabilidad de la magnitud de entrada, lo más conservador es suponer una distribución rectangular.

#### c) Distribución triangular

Si además del conocimiento de los límites superior e inferior hay evidencia de que la probabilidad es más alta para valores en el centro del intervalo y se reduce hacia los límites, puede ser más adecuado basar la estimación de la incertidumbre en una distribución triangular. Por ejemplo, en un baño termostático, que se utiliza para medir la densidad de un líquido, la temperatura puede tener una ligera deriva. Si se mide la temperatura antes y después de la medición de la densidad (resultando en  $T_1 + T_2$ ), se puede suponer para el momento de la medición de la densidad una temperatura de  $(T_1 + T_2)/2$  con una distribución triangular entre  $T_1$  y  $T_2$ .

#### d) Otras distribuciones

Pueden encontrarse también distribuciones como la U, en la cual los extremos del intervalo presentan los valores con probabilidad máxima, típicamente cuando hay comportamientos oscilatorios subyacentes. También se encuentran distribuciones triangulares con el valor máximo en un extremo como en las asociadas a "errores de coseno" [26, 30].

### V.1.7.-Combinación

El resultado de la combinación de las contribuciones de todas las fuentes es la incertidumbre estándar combinada  $U_c(y)$ , la cual contiene toda la información esencial sobre la incertidumbre del mensurando Y.

La contribución  $U_i(y)$  de cada fuente a la incertidumbre combinada depende de la incertidumbre estándar  $U(x_i)$  de la propia fuente y del impacto de la fuente sobre el mensurando. Es posible encontrar que una pequeña variación de alguna de las magnitudes de influencia tenga un impacto importante en el mensurando, y viceversa.

Se determina  $U_i(y)$  por el producto de  $U(x_i)$  y su coeficiente de sensibilidad  $C_i$  (o factor de sensibilidad) [26, 30]:

$$U_i(y) = C_i U(x_i)$$
$$U(c)^2 = \sum_{i=1}^n \left(\frac{\partial f}{\partial x_i}\right)^2 U(x_i)^2$$

### V.1.8.-Correlación

A menudo los resultados de mediciones de dos magnitudes de entrada están ligados, ya sea porque existe una tercera magnitud que influye sobre ambas, porque se usa el mismo instrumento para medir o el mismo patrón para calibrar, o por alguna otra razón [26, 30].

$$U(c)^2 = \sum_{i=1}^n \left(\frac{\partial f}{\partial x_i}\right)^2 U_{x_i}^2 + 2 \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^n \left(\frac{\partial f}{\partial x_i}\right) \left(\frac{\partial f}{\partial x_j}\right) U(x_i, x_j)$$

$$r(x_i, x_j) = \frac{U(x_i, x_j)}{U(x_i)U(x_j)}$$

$$r = \frac{S(x_i, x_j)}{S(x_i)S(x_j)}$$

$$S(x_i, x_j) = \frac{1}{n(n-1)} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})(x_j - \bar{x})$$

$$S(x_i) = \frac{1}{n-1} \sum (x_i - \bar{y})^2$$

$$S(x_j) = \frac{1}{n-1} \sum (x_j - \bar{y})^2$$

### V.1.9.-Incertidumbre expandida

La incertidumbre expandida es una magnitud que define un intervalo en torno al resultado de una medición, y que se espera entrar una fracción importante de la distribución de valores que podrían ser atribuidos razonablemente al mensurando.

Generalmente se desea una probabilidad mayor, lo que se obtiene expandiendo el intervalo de incertidumbre por un factor  $k$ , llamado factor de cobertura. El resultado se llama incertidumbre expandida  $U$ .

$$U = k.u_c$$

La incertidumbre expandida  $U$  indica entonces un intervalo que representa una fracción  $p$  de los valores que puede probablemente tomar el mensurando. El valor de  $p$  es llamado el nivel de confianza y puede ser elegido a conveniencia. En el medio industrial, a menudo se elige el nivel de confianza de manera tal que corresponda a un factor de cobertura como un número entero de desviaciones estándar en una distribución normal. *Por ejemplo, en una distribución normal,  $k=1$  corresponde a  $p=68,27\%$ ,  $k=2$  a  $p=95,45\%$ . En una distribución rectangular  $p=57,7\%$  si  $k=1$  [26, 30].*

V.1.10.-Diagrama para la estimación de incertidumbres de medición

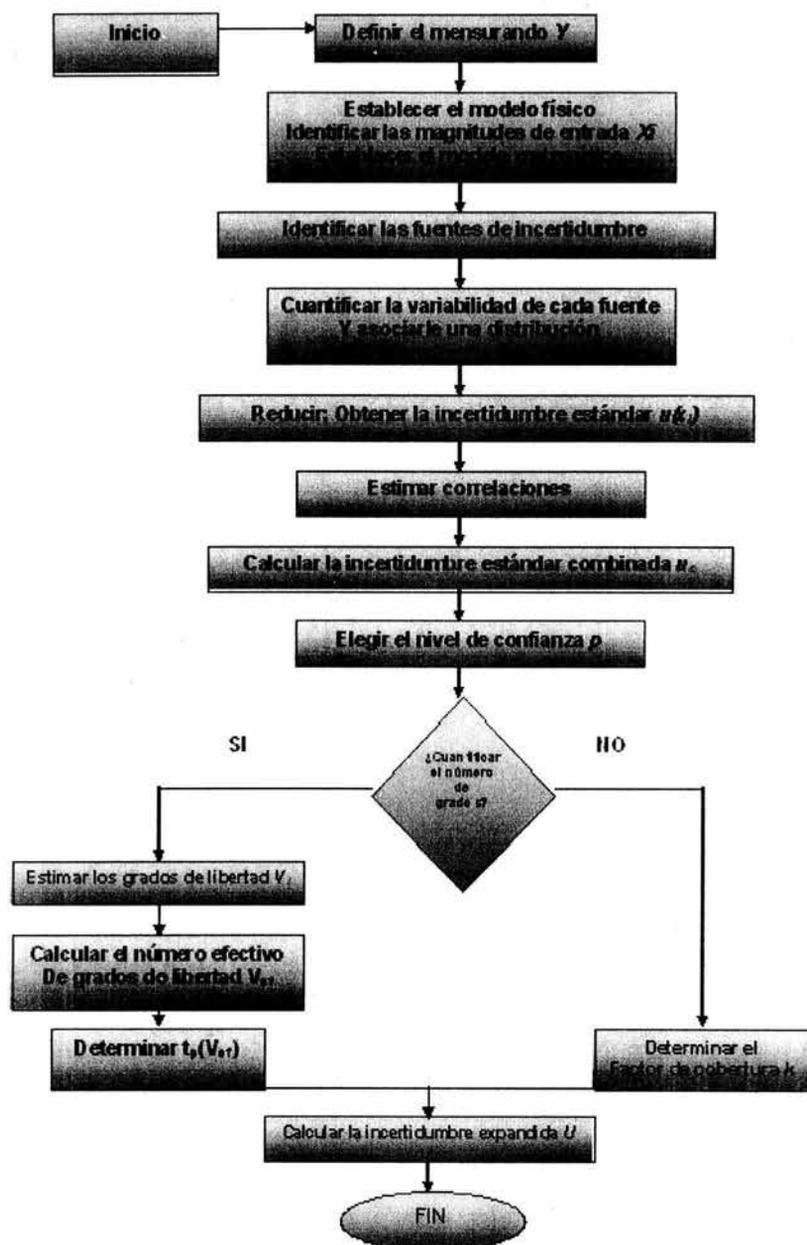


Figura 8

Adaptación: Wolfgang A. Schmid y Rubén J. Lazos Martínez, Guía para estimar la incertidumbre de la medición, CENAM, México 2000.

## V.2.-Cuantificación de la incertidumbre

**METODO OFICIAL DE LA AOAC 967.21, ACIDO ASCORBICO EN PREPARACIONES DE VITAMINAS Y JUGOS, 2,6-Dicloroindofenol método titulométrico Primera acción 1967-Ultima acción 1968.**

### V.2.1.-Introducción

En este ejemplo se discute una secuencia de experimentos para determinar la concentración de mg de ácido ascórbico en una muestra dada. Además, un número de aspectos especiales de la técnica de titulación son resaltados. El ácido ascórbico se reduce en presencia de un indicador de oxidación-reducción, 2,6-Dicloroindofenol, para una solución incolora. En el último punto, el exceso no reduce la tinción y es rosada en una solución ácida. La vitamina es extraída y se realiza una titulación en presencia de una solución  $\text{HPO}_3\text{-CH}_3\text{COOH}$  o  $\text{HPO}_3\text{-CH}_3\text{COOH-H}_2\text{SO}_4$  para mantener una acidez adecuada para la reacción y evitar así una autooxidación del ácido ascórbico. Sabiendo que la cantidad de la solución de indofenol como mg de ácido ascórbico es equivalente a 1.0 mL de reactivo. Esta evaluación nos da la incertidumbre de la medición en términos del SI de unidades de medición, como lo indica la Ley Federal de Metrología [13, 27]. Cabe mencionar que el desarrollo de esta parte del capítulo está basado en el documento emitido por EURACHEM, para la cuantificación de la incertidumbre en mediciones analíticas [23, 31] y apoyado por la NMX-EC-CH-140-2000, Guía para la expresión de la incertidumbre [16].

### V.2.2.-Paso 1:

#### V.2.2.1.-Especificación

Una descripción detallada del procedimiento de medición está dada en el primer paso. Esto compone una lista de los pasos de medición y una declaración matemática del mesurando.

#### V.2.2.2.-Procedimiento

La determinación de la concentración de ácido ascórbico en una muestra dada consiste de las siguientes etapas (ver también figura 1).

i) Se prepara una solución ácido metafosfórico-ácido-acético, disolviendo con agitación, 15g de  $\text{HPO}_3$  en perlas o de una barra pulverizada recientemente en 40 mL de  $\text{CH}_3\text{COOH}$  y 200 mL de agua. Diluir para ca a 500 mL, y filtrar rápidamente a través de papel filtro dentro de un matraz de vidrio tapado.

(HPO<sub>3</sub> cambia lentamente a H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, pero si se refrigera, la solución se mantiene satisfactoriamente por 7-10 días).

ii) Se prepara la solución estándar de ácido ascórbico pesando 1 mg/mL exactamente 50 mg de un estándar de referencia USP de ácido ascórbico que haya sido puesto en un desecador lejos de los rayos directos del sol. Transferir a un matraz volumétrico de 50 mL. Diluir a volumen inmediatamente antes de usarse con la solución de HPO<sub>3</sub>-CH<sub>3</sub>COOH.

iii) Preparar la solución estándar de indofenol disolviendo 50 mg de 2,6-dicloroindofenol Na sal (Eastman Kodak Co. No. 3463), que ha sido puesto en un desecador por encima del reactivo para desecar en un recipiente de vidrio tipo soda lime, en 50 mL de agua a la cual se le han agregado 42 mg de NaHCO<sub>3</sub>; agitando vigorosamente, y cuando el tinte se disuelva, diluir a 200 mL con agua. Filtrar a través de papel filtro dentro de un recipiente contenedor de vidrio color ámbar. Mantener tapado, fuera de la luz solar, y guardado en el refrigerador.

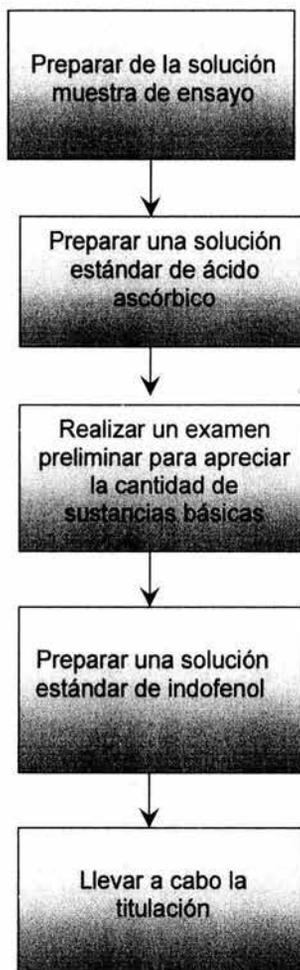
iv) Transfiera 3 alícuotas de 2.0 mL de solución estándar de ácido ascórbico a cada matraz erlenmeyer de 50 mL que contienen 5 mL de solución HPO<sub>3</sub>-CH<sub>3</sub>COOH, (a) (1). Titule rápidamente con una solución de indofenol con una bureta de 50 mL hasta que ligeramente pero bien definido persista un color rosado  $\geq$  5 s. (Cada exposición debería requerir ca 15 mL de solución de indofenol, y las titulaciones deberán verificarse dentro de 0.1 mL.) Similarmente titule 3 blancos compuestos de 7.0 mL de una solución HPO<sub>3</sub>-CH<sub>3</sub>COOH, (a) (1), mas un volumen de agua ca igual al volumen de la solución de indofenol usada en titulaciones directas. Después sub-divide el promedio de los blancos (usualmente ca 0.1 mL) de exposiciones estandarizadas, calcule y exprese la concentración de la solución de indofenol como mg de ácido ascórbico equivalentes a 1.0 mL de reactivo.

v) Preparar un indicador de pH azul de timol al 0.04%, disolviendo 0.1 g de indicador por trituración en un mortero con 10.75 mL de una solución 0.02N de NaOH y diluir a 250 mL con agua. Rango de transición: 1.2 (rojo) – 2.8 (amarillo).

vi) Realizar un examen preliminar para apreciar la cantidad de sustancias básicas, pulverizando una muestra representativa o ponga el contenido de una cápsula y agregue 25 mL de ca solución HPO<sub>3</sub>-CH<sub>3</sub>COOH, (a) (1). Examina el pH por goteo de indicador pH azul de timol usando un recipiente para la tinción. (Un pH >1.2 indica cantidades apreciables de sustancias básicas.)

vii) Preparación de la muestra de ensayo, Mezcle a fondo por agitación para asegurar una muestra uniforme, y filtrar a través de un papel de algodón o rápido. Prepare los jugos frescos apretando bien la pulpa de la fruta y filtrando. Jugos rápidos de frutas cítricas por aparatos comerciales y filtrar. Agregar alícuotas  $\geq$  100 mL de jugo preparado a volúmenes iguales de solución HPO<sub>3</sub>-CH<sub>3</sub>COOH, (a) (1). Designe el volumen total como V mL. Mezclar y filtrar a través de un papel rápido doblado (Eaton-Dikeman No.195, 18.5 cm, o equivalente).

viii) Para la determinación Título 3 muestras alícuotas que cada una contenga ca 2 mg de ácido ascórbico y realice determinaciones blanco para corrección de titulaciones como en 967.21B (c), usando volúmenes convenientes de solución de  $\text{HPO}_3\text{-CH}_3\text{COOH}$ , (a) (1), y  $\text{H}_2\text{O}$ . Si ca 2 mg de ácido ascórbico esta contenido en la muestra alícuota < 7 mL, agregar solución de  $\text{HPO}_3\text{-CH}_3\text{COOH}$  para dar 7 mL para titulación.



**Figura 9**

Adaptación: S L R Ellison and Others, Guide CG 4, Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement, EURACHEM/CITAC, second edition, United Kingdom 2000.

### V.2.2.3.-Calculo

El mesurando es la concentración de ácido ascórbico,  $C_{AA}$ . Esta depende de las siguientes variables, promedio en mL para la titulación de la muestra, promedio en mL para la titulación de la muestra blanco, mg de ácido ascórbico equivalentes a 1.0 mL de solución estándar de indofenol, número de mg, tabletas, mL, etc. de ensayo, volumen inicial de la muestra de ensayo y volumen de la muestra alícuota titulada.

$$C_{AA} = (X-B) (F/E) (V/Y)$$

Donde

X: Promedio en mL para la titulación de la muestra.

B: Promedio en mL para la titulación de la muestra blanco.

F: mg de ácido ascórbico equivalentes a 1.0 mL de solución estándar de indofenol.

E: Número de mg, tabletas, mL, etc. de ensayo.

V: Volumen inicial de la muestra de ensayo.

Y: Volumen de la muestra alícuota titulada.

$C_{AA}$  : Concentración de ácido ascórbico.

La siguiente tabla presenta los resultados de la medición, de acuerdo a valores obtenidos en el laboratorio.

#### Resultados de la medición de ácido ascórbico

<b>X: Promedio en mL para la titulación de la muestra.</b>	1,77
<b>B: Promedio en mL para la titulación de la muestra blanco.</b>	0,1
<b>F: mg de ácido ascórbico equivalentes a 1.0 mL de solución estándar de indofenol.</b>	0,122
<b>E: Número de mL de ensayo.</b>	250
<b>V: Volumen inicial de la muestra de ensayo (mL).</b>	250
<b>Y: Volumen de la muestra alícuota titulada (mL).</b>	50

Tabla 19

### Valores e incertidumbres de la titulación

	Descripción	Valor	Incertidumbre estándar U	Coefficiente de sensibilidad
X	Promedio en mL para la titulación de la muestra.	1,77	$U_x = 0,0527$	0.0024
B	Promedio en mL para la titulación de la muestra blanco.	0,1	$U_B = 0,0290$	-0.0024
F	mg de ácido ascórbico equivalentes a 1.0 mL de solución estándar de indofenol.	0,122	$U_F = 0,0004$	0.0334
E	Número de mL de ensayo.	250,2	$U_E = 0.0656$	$-1.6 \times 10^{-5}$
V	Volumen inicial de la muestra de ensayo (mL).	250,2	$U_V = 0.0656$	$1.6 \times 10^{-5}$
Y	Volumen de la muestra alícuota titulada (mL).	50,1	$U_Y = 0.027$	$-8.1 \times 10^{-5}$

**Tabla 20**



la cual esta compuesta por la incertidumbre informada en la calibración de la bureta, la temperatura y la resolución del instrumento.

-  $U_F$  (Incertidumbre de los mg de ácido ascórbico equivalentes a 1.0 mL de solución estándar de indofenol): esta formada por 3 incertidumbres combinadas tipo B. La incertidumbre de los mL de solución estándar de indofenol ( $U_{mLSEI}$ ), esta formada por la incertidumbre de la masa y el volumen de esta solución. La incertidumbre de la masa esta formada por la incertidumbre de la pureza del compuesto y la de la balanza que se utilizo para pesarlo. La incertidumbre del volumen esta formada por la tolerancia del matraz y la incertidumbre de la temperatura. La incertidumbre de los mg de A.A ( $U_{mgA.A}$ ), esta formada por la incertidumbre de la masa y el volumen de esta solución. La incertidumbre de la masa esta formada por la incertidumbre de la pureza del compuesto y la de la balanza que se utilizo para pesarlo. La incertidumbre del volumen esta formada por la tolerancia del matraz y la incertidumbre de la temperatura. Y finalmente la incertidumbre del volumen de titulación ( $U_{VT}$ ), esta formada por la incertidumbre de calibración del instrumento, la de la temperatura y la de la resolución del instrumento.

-  $U_E$  (Incertidumbre del número de mL de ensayo): Esta formada por 3 incertidumbres tipo B, la incertidumbre de la pipeta 1 ( $U_{P1}$ ), la cual esta formada por la tolerancia del matraz y la incertidumbre de la temperatura. Y así mismo es para la pipeta 2 ( $P_2$ ) y la pipeta 3 ( $P_3$ ).

-  $U_V$  (Incertidumbre del volumen inicial de la muestra de ensayo (mL)): Esta formada por 3 incertidumbres tipo B, la incertidumbre de la pipeta 1 ( $U_{P1}$ ), la cual esta formada por la tolerancia del matraz y la incertidumbre de la temperatura. Y así mismo es para la pipeta 2 ( $P_2$ ) y la pipeta 3 ( $P_3$ ).

-  $U_Y$  (Incertidumbre del volumen de la muestra alícuota titulada (mL)): Esta formada por 1 incertidumbre tipo B, la incertidumbre de la pipeta 1 ( $U_{P1}$ ), la cual esta formada por la tolerancia del matraz y la incertidumbre de la temperatura.

### **V.2.3.-Paso 2:**

#### **V.2.3.1.-Identificación y análisis de las fuentes de incertidumbre**

Las diferentes fuentes de incertidumbre y su influencia sobre el mensurando son mejor analizados primero por visualización de estos en un diagrama de causa y efecto (Figura 2).

Las influencias en los parámetros X, B, F, E, V e Y se muestran en el diagrama de causa y efecto y se discutirán y se desarrollaran individualmente más a detalle en la sección 3.

### V.2.4.-Paso 3:

#### V.2.4.1.-Cuantificación de la incertidumbre de los componentes

El objetivo de este paso es la cuantificación de cada fuente de incertidumbre analizada en el paso 2.

#### Evaluación de la incertidumbre de cada magnitud:

##### X: Promedio en mL para la titulación de la muestra

##### i) Incertidumbre tipo $A_X$ :

La incertidumbre de una magnitud de entrada "mL para la titulación de la muestra"  $X_i$  obtenida a partir de observaciones repetidas bajo condiciones de repetibilidad, se estima con base en la dispersión de los resultados individuales.

$$U_{\text{Tipo } AX} = (S(\text{Media}) / \sqrt{n})(T)$$

$$U_{\text{Tipo } AX} = \frac{0.0577}{\sqrt{3}}(1.32) = 0.0440$$

$$k = 1$$

Grados de libertad =  $n-1$  [11]

##### ii) Incertidumbre del volumen $T_M$ :

**Calibración:** La incertidumbre esta informada en la calibración de la bureta como  $(\pm X)$ , y dividida entre 2 que es el factor de cobertura  $K$ , con el cual esta reportada y multiplicada por raíz de 6 por tener una distribución triangular:

$$U_{\text{cal}} = X / 2\sqrt{6}$$

$$U_{\text{cal}} = \frac{0.0099}{2\sqrt{6}} = 0.0020$$

**Temperatura:** La temperatura del laboratorio esta dentro de los limites de ( $\pm X$  °C). Usando una distribución de la temperatura rectangular, dándonos un estándar de la incertidumbre de:

$U_T = \text{mL de la bureta} \times \text{coeficiente de expansión del agua} \times \text{Limite de variación de la Temperatura} / \text{Raíz 3}$

$$U_T = \frac{(1.77 \text{ml})(2.1 \times 10^{-4})(2.3)}{\sqrt{3}} = 0.0005$$

**Coefficiente de expansión del agua:**  $2.1 \times 10^{-4}$

**Resolución:** La resolución del instrumento esta dada por su división mínima , y una distribución rectangular:

$$U_{Res} = DM / 2\sqrt{3}$$

$$U_{Res} = \frac{0.1}{2\sqrt{3}} = 0.0289$$

Por lo que la incertidumbre del volumen de la titulación de la muestra queda dada de la siguiente manera:

$$U_{VolumendeTM} = \sqrt{(U_{Cal})^2 + (U_T)^2 + (U_{RES})^2}$$

$$U_{VolumendeTM} = \sqrt{(0.002)^2 + (0.0005)^2 + (0.0289)^2}$$

$$U_{VolumendeTM} = 0.0290$$

Finalmente la incertidumbre estándar para X queda definida de la siguiente manera:

$$U_X = f(U_{TipoAX}, U_{VolumenTM})$$

$$U_X = \sqrt{(U_{TipoAX})^2 + (U_{VolumenTM})^2}$$

$$U_x = \sqrt{(0.044)^2 + (0.0290)^2}$$

$$U_x = 0.0527$$

**B: Promedio en mL para la titulación de la muestra blanco**

**i) Incertidumbre del volumen TMB:**

**Calibración:** La incertidumbre esta informada en la calibración de la bureta como ( $\pm X$ ), y dividida entre 2 que es el factor de cobertura  $K$ , con el cual esta reportada y multiplicada por raíz de 6 por tener una distribución triangular:

$$U_{Cal} = X/2\sqrt{6}$$

$$U_{Cal} = \frac{0.0099}{2\sqrt{6}} = 0.0020$$

**Temperatura:** La temperatura del laboratorio esta dentro de los limites de ( $\pm X$  °C). Usando una distribución de la temperatura rectangular, dándonos un estándar de la incertidumbre de:

$$U_T = \text{mL de la bureta} \times \text{coeficiente de expansión del agua} \times \text{Limite de variación de la Temperatura} / \text{Raiz 3}$$

$$U_T = \frac{(0.1\text{ml})(2.1 \times 10^{-4})(2.3)}{\sqrt{3}} = 2.8 \times 10^{-5}$$

**Coefficiente de expansión del agua:**  $2.1 \times 10^{-4}$

**Resolución:** La resolución del instrumento esta dada por su división mínima , y una distribución rectangular:

$$U_{Res} = \frac{DM}{2\sqrt{3}}$$

$$U_{Res} = \frac{0.1}{2\sqrt{3}} = 0.0289$$

Finalmente la incertidumbre estándar para B queda definida de la siguiente manera:

$$U_B = f(U_{Cal}, U_T, U_{Res})$$

$$U_B = \sqrt{(U_{Cal})^2 + (U_T)^2 + (U_{RES})^2}$$

$$U_B = \sqrt{(0.002)^2 + (2.8 \times 10^{-5})^2 + (0.0289)^2}$$

$$U_B = 0.0290$$

**F: mg de ácido ascórbico equivalentes a 1.0 mL de solución estándar de indofenol**

En esta parte del cálculo de la incertidumbre de nos basaremos en la siguiente formula para su desarrollo:

$$F = \frac{(mLSEI)(mgA.A)}{VT}$$

Donde:

mLSEI= 1 mL (mililitros de solución estándar de indofenol)

mg.A.A= 1 mg (mg de ácido ascórbico)

VT= 8.2 mL (volumen de titulación de indofenol)

$$U_F = f(uU_{MLSEI}, U_{S.A.A}, U_{VT})$$

$$U_{mg.A.A} = f(U_{Solución\ de\ ácido\ ascórbico})$$

$$U_{Solución\ de\ ácido\ ascórbico} = f(U_{ma.a}, U_V)$$

### i) Incertidumbre de ma.a:

**Pureza del ácido ascórbico:** Es dada en un certificado por el proveedor como ( $X \% \pm X \%$ ). Sin embargo este porcentaje Eurachem lo refiere a la unidad de la siguiente manera: 1 es al 100 % como 0.8% es a 0.008. El cálculo de la incertidumbre es tomado como una distribución rectangular, y así la incertidumbre del estándar es definida de la siguiente manera:

$$U_{\text{pureza}} = X/\sqrt{3}$$

$$U_{\text{pureza}} = \frac{0.008}{\sqrt{3}} = 0.0046$$

\*La pureza del ácido ascórbico esta dada rango del 99.8% de pureza al 99.0 % esperado según se muestra en el certificado expedido por Aldrich [32].

**Balanza:** La incertidumbre esta informada en la calibración de la balanza como  $\pm X$  mg.), y dividida entre 2 que es el factor de cobertura  $K$ , con el cual esta reportada y multiplicada por raíz de 3 por tener una distribución rectangular:

$$U_{\text{cal}} = \frac{X}{2\sqrt{3}}$$

$$U_{\text{cal}} = \frac{0.0002}{2\sqrt{3}} = 5.8 \times 10^{-5}$$

Por lo que la incertidumbre de mga de la muestra queda dada de la siguiente manera:

$$U_{\text{ma.a}} = \sqrt{(u_{\text{pureza}})^2 + (U_{\text{Balanza}})^2}$$

$$U_{\text{ma.a}} = \sqrt{(0.0046)^2 + (5.8 \times 10^{-5})^2}$$

$$U_{\text{ma.a}} = 0.0046$$

## ii) Incertidumbre del volumen:

**Tolerancia:** La tolerancia para el matraz volumétrico marca Kimax de 50 mL, esta informada como  $\pm 0.05$ , y con una distribución aproximadamente triangular:

$$U_{\text{Tot}} = X / \sqrt{6}$$

$$U_{\text{Tot}} = \frac{0.05}{\sqrt{6}} = 0.0204$$

**Temperatura:** Límites de variación de la temperatura, con una distribución aproximadamente rectangular.

$U_T = \text{mL del matraz volumétrico} \times \text{coeficiente de expansión del agua} \times \text{Limite de variación de la Temperatura} / \text{Raiz 3}$

$$U_T = \frac{(50\text{ml})(2.1 \times 10^{-4})(2.3)}{\sqrt{3}} = 0.0139$$

**Coefficiente de expansión del agua:**  $2.1 \times 10^{-4}$

Por lo que la incertidumbre del volumen de la muestra queda dada de la siguiente manera:

$$U_V = \sqrt{(u_{\text{Matraz}})^2 + (U_{\text{Temp}})^2}$$

$$U_V = \sqrt{(0.0204)^2 + (0.0139)^2}$$

$$U_V = 0.0247$$

## iii) Incertidumbre de mg.A.A:

Por lo que la incertidumbre de la solución de A.A de la muestra queda dada de la siguiente manera:

$$\frac{u_{mg.A.A}}{mg.A.A} = \sqrt{\left(\frac{u_{mga}}{mga}\right)^2 + \left(\frac{U_{ml.}}{mL}\right)^2}$$

$$\frac{u_{mg.A.A}}{mg.A.A} = \sqrt{\left(\frac{0.0046}{50}\right)^2 + \left(\frac{0.0247}{50}\right)^2}$$

$$\frac{u_{mg.A.A}}{mg.A.A} = 0.0005$$

$$U_{mg.A.A} = 0.0005(mg.A.A)$$

$$U_{mg.A.A} = 0.0005$$

$$U_{ml.SEI} = f(U_{Solución})$$

$$U_{Solución} = f(U_{mgl}, U_V)$$

#### iv) Incertidumbre de mgl:

**Pureza del 2-6 dicloro-indofenol:** Es dada en un certificado por el proveedor como (X % ± X %). Sin embargo este porcentaje Eurachem lo refiere a la unidad de la siguiente manera: 1 es al 100 % como 0.5% es a 0.005. El cálculo de la incertidumbre es tomado como una distribución rectangular, y así la incertidumbre del estándar es definida de la siguiente manera:

$$U_{Pureza} = X / \sqrt{3}$$

$$U_{Pureza} = \frac{0.005}{\sqrt{3}} = 0.0029$$

\*La pureza del 2-6 Dicloro-indofenol esta dada rango del 100 % de pureza al 99.5% esperado según se muestra en el certificado expedido por Fluka [32].

**Masa del 2-6 Dicloindofenol:** La incertidumbre esta informada en la calibración de la balanza como  $\pm X$  mg.), y dividida entre 2 que es el factor de cobertura  $K$ , con el cual esta reportada y multiplicada por raíz de 3 por tener una distribución rectangular:

$$U_{cal} = \frac{X}{2\sqrt{3}}$$

$$U_{cal} = \frac{0.0002}{2\sqrt{3}} = 5.8 \times 10^{-5}$$

Por lo que la incertidumbre de  $m_{gl}$  de la muestra queda dada de la siguiente manera:

$$U_{mgl} = \sqrt{(u_{pureza})^2 + (U_{Balanza})^2}$$

$$U_{mgl} = \sqrt{(0.0029)^2 + (5.8 \times 10^{-5})^2}$$

$$U_{mgl} = 0.0029$$

**v) Incertidumbre del volumen:**

**Tolerancia:** La tolerancia para el matraz volumétrico marca Pirex de 200 mL, esta informada como  $\pm 0.1$ , y con una distribución aproximadamente triangular:

$$U_{Tot} = X / \sqrt{6}$$

$$U_{Tot} = \frac{0.1}{\sqrt{6}} = 0.0408$$

**Temperatura:** Limites de variación de la temperatura, con una distribución aproximadamente rectangular.

$U_T = \text{mL del matraz volumétrico} \times \text{coeficiente de expansión del agua} \times \text{Limite de variación de la Temperatura} / \text{Raíz 3}$

$$U_T = \frac{(200ml)(2.1 \times 10^{-4})(2.3)}{\sqrt{3}} = 0.0558$$

**Coefficiente de expansión del agua:  $2.1 \times 10^{-4}$**

Por lo que la incertidumbre del volumen de la muestra queda dada de la siguiente manera:

$$U_V = \sqrt{(u_{Matraz})^2 + (U_{Temp})^2}$$

$$U_V = \sqrt{(0.0408)^2 + (0.0558)^2}$$

$$U_V = 0.0691$$

**vi) Incertidumbre de mLSEI:**

Por lo que la incertidumbre de mLSEI de la muestra queda dada de la siguiente manera:

$$\frac{u_{mLSEI}}{mLSEI} = \sqrt{\left(\frac{u_{mgl}}{mgl}\right)^2 + \left(\frac{U_{ml.}}{mL}\right)^2}$$

$$\frac{u_{mLSEI}}{mLSEI} = \sqrt{\left(\frac{0.0029}{50}\right)^2 + \left(\frac{0.0691}{200}\right)^2}$$

$$\frac{u_{mLSEI}}{mLSEI} = 3.5 \times 10^{-4}$$

$$U_{mLSEI} = 3.5 \times 10^{-4} (mLSEI)$$

$$U_{mLSEI} = 3.5 \times 10^{-4}$$

**vii) Incertidumbre de VT:**

**Calibración:** La incertidumbre esta informada en la calibración de la bureta como ( $\pm X$ ), y dividida entre 2 que es el factor de cobertura  $K$ , con el cual esta reportada y multiplicada por raíz de 6 por tener una distribución triangular:

$$U_{cal} = X / 2\sqrt{6}$$

$$U_{cal} = \frac{0.0099}{2\sqrt{6}} = 0.0020$$

**Temperatura:** La temperatura del laboratorio esta dentro de los limites de ( $\pm X$  °C). Usando una distribución de la temperatura rectangular, dándonos un estándar de la incertidumbre de:

$U_T = \text{mL de la bureta} \times \text{coeficiente de expansión del agua} \times \text{Limite de variación de la Temperatura} / \text{Raíz 3}$
--

$$U_T = \frac{(8.2\text{ml})(2.1 \times 10^{-4})(2.3)}{\sqrt{3}} = 0.0023$$

**Coefficiente de expansión del agua:**  $2.1 \times 10^{-4}$

**Resolución:** La resolución del instrumento esta dada por su división mínima , y una distribución rectangular:

$$U_{Res} = DM / 2\sqrt{3}$$

$$U_{Res} = \frac{0.1}{2\sqrt{3}} = 0.0289$$

Por lo que la incertidumbre del volumen de titulación (VT) queda dada de la siguiente manera:

$$U_{VT} = \sqrt{(U_{cal})^2 + (U_T)^2 + (U_{RES})^2}$$

$$U_{VT} = \sqrt{(0.002)^2 + (0.0023)^2 + (0.0289)^2}$$

$$U_{VT} = 0.0291$$

viii) Cálculo de las derivadas parciales:

$$\frac{\partial F}{\partial mLSEI} = \frac{mgAA}{VT}$$

$$\frac{\partial F}{\partial mLSEI} = \frac{1}{8.2} = 0.1220$$

$$\frac{\partial F}{\partial mgAA} = \frac{mLSEI}{VT}$$

$$\frac{\partial F}{\partial mgAA} = \frac{1}{8.2} = 0.1220$$

$$\frac{\partial F}{\partial VT} = -\frac{mLSEI \times AA}{(VT)^2}$$

$$\frac{\partial F}{\partial VT} = -\frac{-1}{67.24} = -0.0149$$

Finalmente la incertidumbre estándar para F queda definida de la siguiente manera:

$$F = f(mLSEI, mgAA, VT)$$

$$U_F = \sqrt{\left(\frac{\partial F}{\partial mLSEI}\right)^2 U_{mLSEI}^2 + \left(\frac{\partial F}{\partial mgAA}\right)^2 U_{mgAA}^2 + \left(\frac{\partial F}{\partial VT}\right)^2 U_{VT}^2}$$

$$U_F = \sqrt{(0.1220)^2 (3.5 \times 10^{-4})^2 + (0.1220)^2 (0.0005)^2 + (-0.0149)^2 (0.0291)^2}$$

$$U_F = 0.0004$$

### **E: Número de mL de ensayo**

**Tolerancia:** La tolerancia para la pipeta volumétrica marca Pirex de 100 mL, esta informada como  $\pm 0.08$ , y con una distribución aproximadamente triangular:

$$U_{Tol} = X / \sqrt{6}$$

$$U_{Tol} = \frac{0.08}{\sqrt{6}} = 0.0327$$

**Temperatura:** Límites de variación de la temperatura, con una distribución aproximadamente rectangular.

$U_T = \text{mL de la pipeta} \times \text{coeficiente de expansión del agua} \times \text{Límite de variación de la Temperatura} / \text{Raíz 3}$

$$U_T = \frac{(100 \text{ ml})(2.1 \times 10^{-4})(2.3)}{\sqrt{3}} = 0.0279$$

**Coefficiente de expansión del agua:**  $2.1 \times 10^{-4}$

Por lo que la incertidumbre de la pipeta 1 (P1), queda dada de la siguiente manera:

$$U_{P1} = \sqrt{(U_{Tol})^2 + (U_{Temp})^2}$$

$$U_{P1} = \sqrt{(0.0327)^2 + (0.0279)^2}$$

$$U_{P1} = 0.0430$$

**Tolerancia:** La tolerancia para la pipeta volumétrica pirex de 100 mL, esta informada como  $\pm 0.08$ , y con una distribución aproximadamente triangular:

$$U_{Tol} = X / \sqrt{6}$$

$$U_{Tot} = \frac{0.08}{\sqrt{6}} = 0.0327$$

**Temperatura:** Límites de variación de la temperatura, con una distribución aproximadamente rectangular.

$U_T = \text{mL de la pipeta} \times \text{coeficiente de expansión del agua} \times \text{Límite de variación de la Temperatura} / \text{Raíz 3}$

$$U_T = \frac{(100\text{ml})(2.1 \times 10^{-4})(2.3)}{\sqrt{3}} = 0.0279$$

**Coefficiente de expansión del agua:**  $2.1 \times 10^{-4}$

Por lo que la incertidumbre de la pipeta 2 (P2), queda dada de la siguiente manera:

$$U_{P2} = \sqrt{(U_{Tot})^2 + (U_{Temp})^2}$$

$$U_{P2} = \sqrt{(0.0327)^2 + (0.0279)^2}$$

$$U_{P2} = 0.0430$$

**Tolerancia:** La tolerancia para la pipeta volumétrica pirex de 50 mL, esta informada como  $\pm 0.05$ , y con una distribución aproximadamente triangular:

$$U_{Tot} = X / \sqrt{6}$$

$$U_{Tot} = \frac{0.05}{\sqrt{6}} = 0.0204$$

**Temperatura:** Límites de variación de la temperatura, con una distribución aproximadamente rectangular.

$U_T = \text{mL de la pipeta} \times \text{coeficiente de expansión del agua} \times \text{Límite de variación de la Temperatura} / \text{Raíz 3}$

$$U_T = \frac{(50\text{ml})(2.1 \times 10^{-4})(2.3)}{\sqrt{3}} = 0.0139$$

**Coefficiente de expansión del agua:**  $2.1 \times 10^{-4}$

Por lo que la incertidumbre de la pipeta 3 (P3), queda dada de la siguiente manera:

$$U_{P3} = \sqrt{(U_{Tot})^2 + (U_{Temp})^2}$$

$$U_{P3} = \sqrt{(0.0204)^2 + (0.0139)^2}$$

$$U_{P3} = 0.0247$$

Finalmente la incertidumbre estándar para E queda definida de la siguiente manera:

$$U_E = f(U_{P1}, U_{P2}, U_{P3})$$

$$U_E = \sqrt{(U_{P1})^2 + (U_{P2})^2 + (U_{P3})^2}$$

$$U_E = \sqrt{(0.0430)^2 + (0.0430)^2 + (0.0247)^2}$$

$$U_E = 0.0656$$

### **V: Volumen inicial de la muestra de ensayo**

**Tolerancia:** La tolerancia para la pipeta volumétrica pirex de 100 mL, esta informada como  $\pm 0.08$ , y con una distribución aproximadamente triangular:

$$U_{Tot} = X / \sqrt{6}$$

$$U_{Tot} = \frac{0.08}{\sqrt{6}} = 0.0327$$

**Temperatura:** Limites de variación de la temperatura, con una distribución aproximadamente rectangular.

$$U_T = \text{mL de la pipeta} \times \text{coeficiente de expansión del agua} \times \text{Limite de variación de la Temperatura} / \text{Raíz 3}$$

$$U_T = \frac{(100\text{ml})(2.1 \times 10^{-4})(2.3)}{\sqrt{3}} = 0.0279$$

**Coefficiente de expansión del agua:**  $2.1 \times 10^{-4}$

Por lo que la incertidumbre de la pipeta 1 (P1), queda dada de la siguiente manera:

$$U_{P1} = \sqrt{(U_{Tot})^2 + (U_{Temp})^2}$$

$$U_{P1} = \sqrt{(0.0327)^2 + (0.0279)^2}$$

$$U_{P1} = 0.0430$$

**Tolerancia:** La tolerancia para la pipeta volumétrica pirex de 100 mL, esta informada como  $\pm 0.08$ , y con una distribución aproximadamente triangular:

$$U_{Tot} = X / \sqrt{6}$$

$$U_{Tot} = \frac{0.08}{\sqrt{6}} = 0.0327$$

**Temperatura:** Limites de variación de la temperatura, con una distribución aproximadamente rectangular.

$$U_T = \text{mL de la pipeta} \times \text{coeficiente de expansión del agua} \times \text{Limite de variación de la Temperatura} / \text{Raíz 3}$$

$$U_r = \frac{(100ml)(2.1 \times 10^{-4})(2.3)}{\sqrt{3}} = 0.0279$$

**Coefficiente de expansión del agua:**  $2.1 \times 10^{-4}$

Por lo que la incertidumbre de la pipeta 2 (P2), queda dada de la siguiente manera:

$$U_{p2} = \sqrt{(U_{tol})^2 + (U_{Temp})^2}$$

$$U_{p2} = \sqrt{(0.0327)^2 + (0.0279)^2}$$

$$U_{p2} = 0.0430$$

**Tolerancia:** La tolerancia para la pipeta volumétrica pirex de 50 mL, esta informada como  $\pm 0.05$ , y con una distribución aproximadamente triangular:

$$U_{tol} = X / \sqrt{6}$$

$$U_{tol} = \frac{0.05}{\sqrt{6}} = 0.0204$$

**Temperatura:** Limites de variación de la temperatura, con una distribución aproximadamente rectangular.

$U_T = \text{mL de la pipeta} \times \text{coeficiente de expansión del agua} \times \text{Limite de variación de la Temperatura} / \text{Raiz 3}$

$$U_r = \frac{(50ml)(2.1 \times 10^{-4})(2.3)}{\sqrt{3}} = 0.0139$$

**Coefficiente de expansión del agua:**  $2.1 \times 10^{-4}$

Por lo que la incertidumbre de la pipeta 3 (P3), queda dada de la siguiente manera:

$$U_{P3} = \sqrt{(U_{Tot})^2 + (U_{Temp})^2}$$

$$U_{P3} = \sqrt{(0.0204)^2 + (0.0139)^2}$$

$$U_{P3} = 0.0247$$

Finalmente la incertidumbre estándar para E queda definida de la siguiente manera:

$$U_V = f(U_{P1}, U_{P2}, U_{P3})$$

$$U_V = \sqrt{(U_{P1})^2 + (U_{P2})^2 + (U_{P3})^2}$$

$$U_V = \sqrt{(0.0430)^2 + (0.0430)^2 + (0.0247)^2}$$

$$U_V = 0.0656$$

### **Y: Volumen de la muestra alícuota titulada**

**Tolerancia:** La tolerancia para la pipeta volumétrica pirex de 50 mL, esta informada como  $\pm 0.05$ , y con una distribución aproximadamente triangular:

$$U_{Tot} = X / \sqrt{6}$$

$$U_{Tot} = \frac{0.05}{\sqrt{6}} = 0.0204$$

**Temperatura:** Limites de variación de la temperatura, con una distribución aproximadamente rectangular.

$U_T = \text{mL de la pipeta} \times \text{coeficiente de expansión del agua} \times \text{Limite de variación de la Temperatura} / \text{Raíz 3}$
--

$$U_T = \frac{(50ml)(2.1 \times 10^{-4})(2.3)}{\sqrt{3}} = 0.0139$$

**Coefficiente de expansión del agua:**  $2.1 \times 10^{-4}$

Finalmente la incertidumbre estándar para Y queda definida de la siguiente manera:

$$U_Y = f(U_{Tot}, U_{Temp})$$

$$U_Y = \sqrt{(U_{Tot})^2 + (U_{Temp})^2}$$

$$U_Y = \sqrt{(0.0204)^2 + (0.0139)^2}$$

$$U_Y = 0.0247$$

#### **V.2.5.-Paso 4:**

##### **V.2.5.1.-Calculo de las derivadas parciales**

Se realiza el cálculo de cada derivada parcial de cada una de nuestras fuentes de incertidumbre, para el cálculo de la incertidumbre de la concentración de ácido ascórbico.

$$C_{AA} = (X-B) (F/E) (V/Y)$$

#### **Donde**

X: Promedio en mL para la titulación de la muestra.

B: Promedio en mL para la titulación de la muestra blanco.

F: mg de ácido ascórbico equivalentes a 1.0 mL de solución estándar de indofenol.

E: Número de mg, tabletas, mL, etc. de ensayo.

V: Volumen inicial de la muestra de ensayo.

Y: Volumen de la muestra alícuota titulada.

$C_{AA}$  : Concentración de ácido ascórbico.

### Valores e incertidumbres de la titulación

	Descripción	Valor	Incertidumbre estándar U	Coefficiente de sensibilidad
X	Promedio en mL para la titulación de la muestra.	1,77	$U_X = 0,0527$	0,0024
B	Promedio en mL para la titulación de la muestra blanco.	0,1	$U_B = 0,0290$	-0,0024
F	mg de ácido ascórbico equivalentes a 1.0 mL de solución estándar de indofenol.	0,122	$U_F = 0,0004$	0,0334
E	Número de mL de ensayo.	250,2	$U_E = 0,0656$	$-1,6 \times 10^{-5}$
V	Volumen inicial de la muestra de ensayo (mL).	250,2	$U_V = 0,0656$	$1,6 \times 10^{-5}$
Y	Volumen de la muestra alícuota titulada (mL).	50,1	$U_Y = 0,0247$	$-8,1 \times 10^{-5}$

Figura 20

Derivadas parciales:

$$\frac{\partial mgAA}{\partial X} = \left( \frac{F}{E} \right) \left( \frac{V}{Y} \right)$$

$$\frac{\partial mgAA}{\partial X} = \left( \frac{0,122}{250} \right) \left( \frac{250}{50} \right) = 0,0024$$

$$\frac{\partial mgAA}{\partial B} = - \left( \frac{F}{E} \right) \left( \frac{V}{Y} \right)$$

$$\frac{\partial mgAA}{\partial B} = -\left(\frac{0.122}{250}\right)\left(\frac{250}{50}\right) = -0.0024$$

$$\frac{\partial mgAA}{\partial F} = (X - B)\left(\frac{1}{E}\right)\left(\frac{V}{Y}\right)$$

$$\frac{\partial mgAA}{\partial F} = (1.77 - 0.1)\left(\frac{1}{250}\right)\left(\frac{250}{50}\right) = 0.0334$$

$$\frac{\partial mgAA}{\partial E} = (B - X)\left(\frac{F}{E^2}\right)\left(\frac{V}{Y}\right)$$

$$\frac{\partial mgAA}{\partial E} = (0.1 - 1.77)\left(\frac{0.122}{(250)^2}\right)\left(\frac{250}{50}\right) = -1.6 \times 10^{-5}$$

$$\frac{\partial mgAA}{\partial V} = (X - B)\left(\frac{F}{E}\right)\left(\frac{1}{Y}\right)$$

$$\frac{\partial mgAA}{\partial V} = (1.77 - 0.1)\left(\frac{0.122}{250}\right)\left(\frac{1}{50}\right) = 1.6 \times 10^{-5}$$

$$\frac{\partial mgAA}{\partial Y} = (B - X)\left(\frac{F}{E}\right)\left(\frac{V}{Y^2}\right)$$

$$\frac{\partial mgAA}{\partial Y} = (0.1 - 1.77)\left(\frac{0.122}{250}\right)\left(\frac{250}{(50)^2}\right) = -8.1 \times 10^{-5}$$

## V.2.6.-Paso 5:

### V.2.6.1.-Calculo de la incertidumbre estándar combinada

Las incertidumbres asociadas con cada componente están combinadas de acuerdo con el siguiente modelo matemático.

#### Incetidumbre estándar combinada:

$$U_{mgAA} = \sqrt{\left(\frac{\partial mgAA}{\partial X}\right)^2 U_X^2 + \left(\frac{\partial mgAA}{\partial B}\right)^2 U_B^2 + \left(\frac{\partial mgAA}{\partial F}\right)^2 U_F^2 + \left(\frac{\partial mgAA}{\partial E}\right)^2 U_E^2 + \left(\frac{\partial mgAA}{\partial V}\right)^2 U_V^2 + \left(\frac{\partial mgAA}{\partial Y}\right)^2 U_Y^2}$$

$$U_{mgAA} = \sqrt{(0.0024)^2 (0.0527)^2 + (0.0024)^2 (0.0290)^2 + (0.0334)^2 (0.0004)^2 + (1.6 \times 10^{-5})^2 (0.0656)^2 + (1.6 \times 10^{-5})^2 (0.0656)^2 + (-8.1 \times 10^{-5})^2 (0.0247)^2}$$

$$U_{mgAA} = 1.45 \times 10^{-4} \text{ mg / mL}$$

#### V.2.6.2.-Incertidumbre expandida:

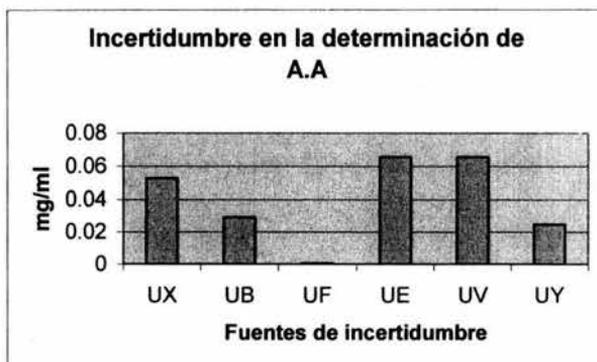
La incertidumbre expandida  $U$  ( $mg_{AA}$ ) es calculada por la multiplicación de la incertidumbre estándar combinada para un factor de cobertura de 2:

$$U (mg_{AA}) = 1.45 \times 10^{-4} \times 2 = 2.9 \times 10^{-4} \text{ mg / mL}$$

La concentración de la muestra es:

$$C_{AA} = (X-B) (F/E) (V/Y)$$

$$C_{AA} = (1.76-0.1) (0.122/250) (250/50) = 0.00407 \pm 2.9 \times 10^{-4} \text{ mg / mL}$$



**Gráfica 1**

## CONCLUSIONES

La importancia que tiene la metrología en nuestros días, ha venido tomando auge, ante la cada vez más evidente necesidad del aseguramiento de la calidad en las mediciones. En la presente tesis se abordó esta problemática con base en un método de ensayo específico: la determinación de ácido ascórbico a través del método oficial de la AOAC 967.21 para determinar ácido ascórbico en preparaciones de vitaminas y jugos 2,6-Dicloroindofenol, el cual es un método titulométrico.

La aplicación del método analítico desarrollado, representa un ejemplo claro de la importancia que tiene el área de la metrología química y de los sistemas de calidad en el aseguramiento de la medición en métodos de ensayo. Así mismo, la tesis muestra el desarrollo de estas dos áreas del conocimiento para la mejora continua de todo aquello que tenga que ver con las mediciones que se llevan a cabo en el área química de la industria.

Se analizó y desarrolló cada una de las partes de este método de ensayo, en las que se hace uso de la metrología, tomando como base la norma ISO 10012, la cual sirvió como guía para la parte del desarrollo del sistema de calidad, la validación, la confirmación metrológica, la trazabilidad e incertidumbre del método.

Analizando cada una de las partes antes referidas, me permitiré dar mi opinión con respecto a cada una de ellas. En lo que concierne al sistema de calidad, éste fue desarrollado con claridad en el capítulo 2 mediante el seguimiento de la norma ISO 10012, a través del control del proceso administrativo, en la cual se contemplan los aspectos de: requisitos generales, la administración de la responsabilidad y la administración de los recursos. Gracias al cumplimiento de esta sección, se logró cubrir con la parte administrativa que todo sistema de calidad debe desarrollar y el cual está descrito de manera muy homogénea en la series ISO; sin embargo, de manera particular, pienso que la norma ISO 10012 está excedida en su parte administrativa, y que sería conveniente una simplificación de la misma para facilitar su desarrollo en el proceso administrativo.

Por otra parte, y por lo que respecta al control de los instrumentos de medición, éste fue desarrollado en la parte de confirmación metrológica de la misma norma ISO 10012, la cual contempla la realización de un sistema de control de la medición, análisis del sistema de control de la medición y una parte para el mejoramiento continuo de dicho sistema. El desarrollo de esta sección nos llevó a cumplir con la parte técnica de la norma. Sin embargo, no fue posible incluir y desarrollar en un solo capítulo todos los demás parámetros para cumplir con su totalidad. Estos por su extensión tuvieron que ser desarrollados en capítulos completos por separado, como fue el caso de incertidumbre, trazabilidad y validación del método oficial 967.21 de la AOAC. Por cierto, al contrario de la parte administrativa en la que se desarrollan y citan sus puntos de manera muy extensa, la parte de estos tres parámetros (incertidumbre, trazabilidad y validación) es mencionada sólo de manera breve,

por lo que considero que en futuras revisiones de esta norma, sería importante desarrollar de manera más amplia y detallada este tipo de parámetros, ya que representan un pilar fundamental para un correcto desarrollo en la confirmación metrológica, en cualquier tipo de medición que deseemos realizar, y por tanto poder contar con un sistema de control de la medición confiable que nos lleve al mejoramiento continuo del mismo.

En el capítulo de trazabilidad fue desarrollado mediante la guía técnica del área de química para trazabilidad y estimación de la incertidumbre de medición, de la Entidad Mexicana de Acreditación (ema), con la cual fue posible mediante el desarrollo y cumplimiento de sus diez pasos obtener trazabilidad para nuestro método de medición. Es importante decir que en este documento, debido a su simplificación y claridad permite cumplir de manera fácil y rápida con todas las exigencias de la ema para dar trazabilidad a la medición del método. Probablemente la parte más difícil fue conseguir los materiales de referencia certificados pues comúnmente muchos de ellos no se han desarrollado; no es fácil conseguirlos, o su costo es muy alto. Sin embargo, es importante que el métrólogo no se cierre la puertas por este tipo de impedimentos y busque alternativas que le ayuden a tener trazabilidad en las mediciones que éste desarrolle día con día en su laboratorio, ya que la trazabilidad dentro de ellas, es un aspecto fundamental para obtener un control adecuado del resultado, así como también una credibilidad en el mismo.

El capítulo de la validación del método fue desarrollado mediante la guía correspondiente al área de validación emitida por Eurachem, gracias a los avances de ésta en el control del proceso de la medición, mediante diferentes parámetros de desempeño del método como su precisión, su límite de detección y cuantificación. Por esto podemos concluir que la parte de validación fue desarrollada en total cumplimiento a los parámetros establecidos por normas internacionales que garantizaron el desarrollo adecuado de la validación del método oficial de la AOAC 967.21.

Respecto al capítulo de incertidumbre, éste fue desarrollado mediante la guía correspondiente al área de incertidumbre emitida por Eurachem y la GUM las cuales junto con el capítulo de trazabilidad, hicieron posible la obtención del control del resultado de medición para nuestro método. En este capítulo se hizo uso de una herramienta importante de la calidad: el Diagrama de Ishikawa o de causa y efecto, pues gracias a éste fue posible determinar, cuáles son las fuentes de incertidumbre que intervienen en el proceso de medición, y que por ende contribuyen a la obtención de la incertidumbre combinada de nuestro método. Después de la determinación de estas fuentes de incertidumbre, cada una de estas fue analizada y determinada de manera individual, para que en su conjunto nos dieran la incertidumbre combinada para el resultado de la medición, pero reportándola como una incertidumbre expandida para aumentar el nivel de cobertura de la incertidumbre global del método oficial de la AOAC 967.21.

Pasando a la segunda parte del objetivo general de esta tesis, el cual consistía en demostrar la importancia de las buenas técnicas de metrología en los sistemas de calidad de métodos de ensayo, se puede afirmar que fue

cumplido mediante el desarrollo de los objetivos específicos, en los que se especifica se propuso el camino para garantizar el aseguramiento de la medición de ácido ascórbico por el método oficial de la AOAC 967.21, a través del análisis de la ISO 10012; se evaluó la incertidumbre de acuerdo a la GUM y se logró trazabilidad en la determinación de ácido ascórbico para el método oficial de la AOAC 967.21, así como también se trazó el camino para la validación de la determinación de ácido ascórbico por el método oficial de la AOAC 967.21 de acuerdo a las actuales recomendaciones Internacionales y mediante el desarrollo de todos los capítulos mencionados anteriormente.

De manera que la hipótesis planteada en un principio resultó ser verdadera, ya que mediante controles metrológicos adecuados es posible asegurar la calidad en un método de ensayo, pues mediante el análisis de estos controles será posible reducir la incertidumbre de nuestra medición, garantizando así que ésta sea llevada a cabo con calidad.

Finalmente, puedo concluir, que el presente trabajo de tesis fue terminado satisfactoriamente y que se alcanzaron todas las expectativas planteadas en un principio para esta tesis, dejando en mi una experiencia plena por participar en el desarrollo y conocimiento de los sistemas de calidad en la metrología química, la cual es un área que necesita seguir siendo estudiada debido a la complejidad y amplitud que esta tiene.

## BIBLIOGRAFÍA

- 1.- Christophe Perruchet y Marc Priel, Estimación de la incertidumbre, Medidas y ensayos, AEONOR, España 2000.
- 2.- Ciemat, Garantía de calidad y control de calidad en química analítica, Serie de ponencias, Editorial CIEMAT, España 1996.
- 3.-Dirección de Metrología de Materiales, Trazabilidad en las mediciones químicas, CENAM, México 2002.
- 4.- Ediciones CEDEL, Diccionario de los alimentos, segunda edición, Edita mexicana, S.A.; México 1984.
5. - Entidad Mexicana de Acreditación (ema), Guía técnica del área de química para trazabilidad y estimación de la incertidumbre de medición, Políticas y guías técnicas de la entidad mexicana de acreditación, a.c., FOR-TR-005-01.
6. - EURACHEM Working Group, Guide The Fitness for Purpose of Analytical Methods, A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics, EURACHEM, United Kingdom 1998.
- 7.- Harold Egan y otros, Análisis químico de alimentos de Pearson, quinta reimpression de la primera, compañía editorial Continental, S.A de C.V, México 1993.
8. - ISO 10012: 2003, Measurement management systems—Requirements for measurement processes and measuring equipment.
9. - J. Valdés, La nanotecnología y el nuevo estudio del CIMP sobre las futuras necesidades en metrología, Simposio de Metrología, CENAM, México 2001.
- 10.- Jorge C. Torres Guzmán y Daniel A. Ramírez Ahedo, Aseguramiento de la calidad en mediciones de fuerza (Memorias de XV seminario Nacional de Metrología), CENAM, México 1999.
- 11.- Juan Manuel Figueroa Estrada, Guía BIPM/ISO para la expresión de la incertidumbre en las mediciones (publicación técnica CNM-MED-PT-002), CENAM, México 1997.
- 12.- Ma. Araceli García y otros, Métodos analíticos, Guía de validación, Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos, A.C, México 2002.
- 13.- México, Ley Federal Sobre Metrología y Normalización, Gernika, México 1991.
- 14.- NMX-CC-9000-IMNC-2000 (ISO 9000:2000) Vocabulario.
- 15.- NMX-CC-9001-IMNC-2000, Sistemas de gestión de la calidad-Requisitos.

- 16.- NMX-EC-CH-140-2000, Guía para la expresión de la incertidumbre.
- 17.- NMX-EC-17025-IMNC-2000 (ISO/IEC 17025:1999) Requisitos generales para la competencia (técnica) de los laboratorios de pruebas (ensayos) y de calibración.
- 18.- Norma oficial mexicana NOM-086-SSA1-1994, bienes y servicios. alimentos y bebidas no alcohólicas con modificaciones en su composición. especificaciones nutrimentales.
- 19.-Organisation International de Métrologie Légale: Internacional Vocabulary of Basic and General Terms in Metrology (Bilingüe Francés-Ingles) V2, 1993.
- 20.-Owen R. Fennema, Química de los alimentos, Editorial ACRIBIA, S.A, 2ª edición, 4ª reimpresión, España 2000.
- 21.-Pachla et al.: Review of ascorbic acid methodology, J. Assoc. Off. Anal. Chem. (Vol.68, No.1, 1985).
22. - Patricia Cunnif, Official methods of analysis of AOAC international, sixteenth edition, volume II, published by AOAC international, USA 1995.
23. - S L R Ellison and Others, Guide CG 4, Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement, EURACHEM/CITAC, second edition, United Kingdom 2000.
24. - S L R Ellison and Others, Guide traceability in chemical measurement, Workshop Draft, EURACHEM/CITAC, United Kingdom June 2002.
- 25.- SSA, Comisión permanente de la farmacopea de Los Estados Unidos Mexicanos, Farmacopea de Los Estados Unidos Mexicanos, séptima edición, México 2000.
- 26.- Wolfgang A, Schmid y Rubén J. Lazos Martínez, Guía para estimar la incertidumbre de la medición, CENAM, México 2000.
- 27.- <http://www.cenam.mx>
- 28.- <http://www.cenam.mx/dmmateriales.asp>
- 29.-<http://www.cenam.mx/publicaciones/descargas/pdf/memorias%20simposio/documentos/simultaneas.htm>
- 30.- <http://www.cenam.mx/publicaciones/gratuitas>
- 31.- <http://www.eurachem.ul.pt>
- 32.- <http://www.sigma-aldrich.com.mx>

# **GLOSARIO**

## GLOSARIO DE ACRÓNIMOS

BIPM: Buró internacional de pesas y medidas.

NIST: Instituto nacional de estándares y tecnología

ISO: Organización internacional para la estandarización.

UIPAC: Unión internacional de Química pura y aplicada.

VAM: Medición analítica válida.

CIPM: Comité internacional de pesas y medidas.

AOAC: Asociación de Químicos analíticos oficial.

# **ANEXOS**

## FORMATO 1

### LOGOTIPO DEL LABORATORIO

Lugar y fecha de elaboración  
Código

### CIRCULAR

Q.F.B ó Q.A ó I.Q NOMBRE DE LA PERSONA  
RESPONSABLE DEL ÁREA DE LA ADMINISTRACIÓN DE LA  
RESPONSABILIDAD  
PRESENTE:

Por medio de la presente le comunico a usted de las responsabilidades que le han sido conferidas, para poder llevar a cabo de manera correcta y oportuna la parte de "**ADMINISTRACIÓN DE LA RESPONSABILIDAD**" que especifica la norma ISO 10012 y que es necesaria en el desarrollo del sistema de aseguramiento en la determinación de ácido ascórbico para el método oficial de la AOAC 967.21.

En la cual seguramente mediante su compromiso y responsabilidad en el desarrollo de la misma, obtendremos óptimos resultados en la implantación de dicho sistema.

A continuación se enlistan las responsabilidades de las cuales usted se empezara a ser cargo a partir de la fecha indicada en este documento:

-Establecer, documentar, mantener y continuamente mejorar la efectividad sistema de Aseguramiento en la Determinación de Ácido Ascórbico para el Método Oficial de la AOAC 967.21.

-Garantizar la disponibilidad de los recursos necesarios para establecer y mantener la función metrológica.

-Garantizar que las necesidades del cliente para la medición de ácido ascórbico a través del método oficial de la AOAC 967, así como sus expectativas sean determinadas y convertidas en requerimientos metrológicos.

-Definir y establecer los objetivos de calidad para el sistema de control de la medición de ácido ascórbico por el método oficial de la AOAC 967.21.

-Garantizar la revisión sistemática del Sistema de Aseguramiento en la Determinación de Ácido Ascórbico para el Método Oficial de la AOAC 967.21 en intervalos planeados, garantizando que estos sean implementados con una continuación efectiva y con la satisfacción de las necesidades.

**Sin más por el momento le envió un cordial saludo**

**ATENTAMENTE**

**\_\_\_\_\_  
Q.F.B ó Q.A ó I.Q NOMBRE DE LA PERSONA  
RESPONSABLE DEL ÁREA DE ADMINISTRACIÓN DE LOS RECURSOS**

## FORMATO 2

### LOGOTIPO DEL LABORATORIO

Lugar y fecha de elaboración  
Código

### CIRCULAR

Q.F.B ó Q.A ó I.Q NOMBRE DE LA PERSONA  
**RESPONSABLE DEL ÁREA DE ADMINISTRACIÓN DE LOS RECURSOS  
PRESENTE:**

Por medio de la presente le comunico a usted de las responsabilidades que le han sido conferidas, para poder llevar a cabo de manera correcta y oportuna la parte de "**ADMINISTRACIÓN DE LOS RECURSOS**" que especifica la norma ISO 10012 y que es necesaria en el desarrollo del sistema de aseguramiento en la determinación de ácido ascórbico para el método oficial de la AOAC 967.21.

En la cual seguramente mediante su compromiso y responsabilidad en el desarrollo de la misma, obtendremos óptimos resultados en la implantación de dicho sistema.

A continuación se enlistan las responsabilidades de las cuales usted se empezara a ser cargo a partir de la fecha indicada en este documento:

#### **Recursos humanos a través de:**

-Asignación del personal de personal para todas las áreas de este sistema conforme a lo establecido en el desarrollo del punto 6.1.1 de esta norma.

-garantizar que el personal involucrado con el sistema de Aseguramiento en la Determinación de Ácido Ascórbico para el Método Oficial de la AOAC 967.21 sea competente para ejecutar sus tareas asignadas mediante el cumplimiento del punto 6.1.1.

#### **Información de los recursos a través de:**

-Documentar y validar a la extensión necesaria los procesos utilizados en este sistema, garantizando una implementación adecuada, consistencia de aplicación, y validez de los resultados de medición, como se establece en el desarrollo del punto 6.2.1.

-Documentar, identificar y controlar el software garantizándolo apropiadamente para su uso continuo, como se establece en el desarrollo del punto 6. 2. 2.

-Establecer y mantener registros de procedimientos para garantizar la identificación, almacenaje, protección, reparación, retención de tiempo y disposición de registros, como se establece en el desarrollo del punto 6. 2. 3.

-Definir claramente los elementos del sistema para su correcta identificación, como se establece en el desarrollo del punto 6. 2. 4.

**Recursos materiales a través de:**

-Garantizar que todo el equipo de medición necesario para satisfacer requerimientos metrologicos especificos para la determinación de ácido ascórbico a través del método oficial de la AOAC 967.21 estará disponible e identificado en el registro del sistema, como se establece en el desarrollo del punto 6. 3. 1.

-Establecer, mantener y usar procedimientos de documentación para recibir, manejar, transportar, almacenar y despacho del equipo de medición para la determinación de ácido ascórbico a través del método oficial de la AOAC 967.21, en razón de prevenir el abuso, mal uso, daño y cambios en las características metrológicas, como se establece en el desarrollo del punto 6. 3. 2.

-Monitorear y registrar los factores ambientales que afecten las mediciones de ácido ascórbico. Las correcciones serán registradas y aplicadas a los resultados de medición, si es apropiado, como se establece en el desarrollo del punto 6. 3. 3.

**Proveedores a través de:**

-Definir y documentar los requerimientos para productos y servicios que sean proveidos por proveedores para el sistema de Aseguramiento en la Determinación de Ácido Ascórbico para el Método Oficial de la AOAC 967.21.

**Sin más por el momento le envió un cordial saludo**

**ATENTAMENTE**

---

**Q.F.B ó Q.A ó I.Q NOMBRE DE LA PERSONA  
RESPONSABLE DEL ÁREA DE ADMINISTRACIÓN DE LOS RECURSOS**

## FORMATO 3

### LOGOTIPO DEL LABORATORIO

Lugar y fecha de elaboración  
Código

### CIRCULAR

Q.F.B ó Q.A ó I.Q NOMBRE DE LA PERSONA  
**RESPONSABLE DEL ÁREA DE REALIZACIÓN DEL SISTEMA DE CONTROL  
DE LA MEDICIÓN**  
**PRESENTE:**

Por medio de la presente le comunico a usted de las responsabilidades que le han sido conferidas, para poder llevar a cabo de manera correcta y oportuna la parte de **"REALIZACIÓN DEL SISTEMA DE CONTROL DE LA MEDICIÓN"** que especifica la norma ISO 10012 y que es necesaria en el desarrollo del sistema de aseguramiento en la determinación de ácido ascórbico para el método oficial de la AOAC 967.21.

En la cual seguramente mediante su compromiso y responsabilidad en el desarrollo de la misma, obtendremos óptimos resultados en la implantación de dicho sistema.

A continuación se enlistan las responsabilidades de las cuales usted se empezara a ser cargo a partir de la fecha indicada en este documento:

#### **Procesos de confirmación metrológica a través de:**

-Diseñar e implementar la confirmación metrológica será para dar seguridad de que las mediciones vayan a dar los requerimientos metrológicos para los procesos de medición, como se establece en el desarrollo del punto 7. 1. 1.

-Establecer los métodos usados para determinar o cambiar intervalos de confirmación, y describirlo en procedimientos documentados. Revisarlos y ajustarlos cuando sea necesario asegurar un rendimiento continuo con los requerimientos metrológicos específicos, como se establece en el desarrollo del punto 7. 1. 2.

-Mantener la información relevante para la confirmación del estatus del equipo de medición para la determinación de ácido ascórbico a través del método oficial de la AOAC 967.21 fácilmente disponible para el usuario, incluyendo

algunas limitaciones o requerimientos especiales, como se establece en el desarrollo del punto 7. 1. 3.

-Dar acceso a los dispositivos de ajuste sobre la confirmación del equipo de medición del cual el ambiente afecta el funcionamiento, será cerrado o de otra manera salvaguardado para prevenir cambios no autorizados, como se establece en el desarrollo del punto 7. 1. 4.

-Sustentar las confirmaciones a través de registros atestiguados para las condiciones de bajo las cuales los resultados fueron obtenidos, como se establece en el desarrollo del punto 7. 1. 5.

#### **Proceso de medición a través de:**

-Determinar los requerimientos metrologicos en base al cliente, organización, y requerimientos regulatorios y legales, como se establece en el desarrollo del punto 7. 2. 1.

-Identificar y cuantificar las características de ejecución requeridas para la proposición de uso de los procesos de medición para la determinación de ácido ascórbico a través del método oficial de la AOAC 967.21 y sujetos a monitoreo y/o control, como se establece en el desarrollo del punto 7. 2. 2.

-Remover de servicio por segregación o identificación por prominente etiquetado o señalamiento, la confirmación de no conformidad y la preparación de un reporte de no conformidad, algún artículo de equipo de confirmación de medición del que se presume un mal funcionamiento, como se establece en el desarrollo del punto 7. 2. 3.

-Mantener los registros que demuestren rendimiento con los requerimientos de procesos de medición para la determinación de ácido ascórbico a través del método oficial de la AOAC 967.21, como se establece en el desarrollo del punto 7. 2. 4.

#### **Realización de la medición a través de:**

-Estimar por cada proceso de medición cubierto por el sistema de Aseguramiento en la Determinación de Ácido Ascórbico para el Método Oficial de la AOAC 967.21 su incertidumbre y registrarla.

-Garantizar que todas las mediciones utilizadas en este método sean trazables a través de estándares nacionales de laboratorio para el SI de unidades de medición, o a constantes naturales cuyo valor este en términos del SI sea conocido y recomendado por la conferencia general de pesos y medidas.

**Sin más por el momento le envió un cordial saludo**

**ATENTAMENTE**

**\_\_\_\_\_  
Q.F.B ó Q.A ó I.Q NOMBRE DE LA PERSONA  
RESPONSABLE DEL ÁREA DE ADMINISTRACIÓN DE LOS RECURSOS**

## FORMATO 4

### LOGOTIPO DEL LABORATORIO

Lugar y fecha de elaboración  
Código

### CIRCULAR

Q.F.B ó Q.A ó I.Q NOMBRE DE LA PERSONA  
**RESPONSABLE DEL ÁREA DE ANÁLISIS DEL SISTEMA DE CONTROL DE  
LA MEDICIÓN Y MEJORAMIENTO**  
PRESENTE:

Por medio de la presente le comunico a usted de las responsabilidades que le han sido conferidas, para poder llevar a cabo de manera correcta y oportuna la parte de **"ANÁLISIS DEL SISTEMA DE CONTROL DE LA MEDICIÓN Y MEJORAMIENTO"** que especifica la norma ISO 10012 y que es necesaria en el desarrollo del sistema de aseguramiento en la determinación de ácido ascórbico para el método oficial de la AOAC 967.21.

En la cual seguramente mediante su compromiso y responsabilidad en el desarrollo de la misma, obtendremos óptimos resultados en la implantación de dicho sistema.

A continuación se enlistan las responsabilidades de las cuales usted se empezara a ser cargo a partir de la fecha indicada en este documento:

#### **Auditoría del sistema de control de la medición a través de:**

-Planear auditorías del sistema de Aseguramiento en la Determinación de Ácido Ascórbico para el Método Oficial de la AOAC 967.21 garantizando que este sea continuamente implantado efectivamente y de acuerdo con los requerimientos. Las auditorías serán conducidas por otro personal que sea representante de la actividad a ser auditada, y que los resultados de las auditorías sean reportados a la dirección del laboratorio, como se establece en el desarrollo del punto 8. 1.

**Monitoreo de los procesos de medición a través de:**

-Monitorear los procesos de medición de acuerdo con los procedimientos documentados y en intervalos establecidos, como se establece en el desarrollo del punto 8. 2.

-Los elementos del proceso para el análisis se identificaran y limitaran por los elementos establecidos, como se establece en el desarrollo del punto 8. 2. 1.

-Cuando un parámetro relevante proceso de medición de ácido ascórbico es encontrado excediendo límites especificados, o cuando la secuencia de inspecciones muestren un inaceptable modelo se deberán tomar acciones correctivas, como se establece en el desarrollo del punto 8. 2. 2.

**Mejoramiento a través de:**

-planear y manejar el continuo mejoramiento del sistema de Aseguramiento en la Determinación de Ácido Ascórbico para el Método Oficial de la AOAC 967.21, como se establece en el desarrollo del punto 8. 3.

**Sin más por el momento le envió un cordial saludo**

**ATENTAMENTE**

---

**Q.F.B ó Q.A ó I.Q NOMBRE DE LA PERSONA  
RESPONSABLE DEL ÁREA DE ADMINISTRACIÓN DE LOS RECURSOS**

**FORMATO 5**

**LOGOTIPO DEL LABORATORIO**

Lugar y fecha de elaboración  
**Código**

**FORMATO PARA LA RECEPCIÓN DE INSTRUMENTOS DE MEDICIÓN**

NOMBRE DEL INSTRUMENTO: \_\_\_\_\_

MARCA DEL INSTRUMENTO: \_\_\_\_\_

NÚMERO DE SERIE: \_\_\_\_\_

NÚMERO DE INVENTARIO: \_\_\_\_\_

ALCANCE Y DIVISIÓN MÍNIMA: \_\_\_\_\_

PERSONA QUE USO EL EQUIPO: \_\_\_\_\_

FECHA DE RECEPCIÓN (DD/MM/AA): \_\_\_\_\_

CONFIRMADO PARA SU USO (SI O NO): \_\_\_\_\_

OBSERVACIONES: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

RESPONSABLE DE LA RECEPCIÓN DEL INSTRUMENTO:

\_\_\_\_\_  
**Q.F.B ó Q.A ó I.Q NOMBRE DE LA PERSONA  
RESPONSABLE DEL ÁREA DE ADMINISTRACIÓN DE LOS RECURSOS**

**FORMATO 6**

**LOGOTIPO DEL LABORATORIO**

Lugar y fecha de elaboración  
**Código**

**FORMATO PARA EL DESPACHO DE INSTRUMENTOS DE MEDICIÓN**

NOMBRE DEL INSTRUMENTO: \_\_\_\_\_

MARCA DEL INSTRUMENTO: \_\_\_\_\_

NÚMERO DE SERIE: \_\_\_\_\_

NÚMERO DE INVENTARIO: \_\_\_\_\_

ALCANCE Y DIVISIÓN MÍNIMA: \_\_\_\_\_

PERSONA QUE USA EL EQUIPO: \_\_\_\_\_

FECHA DE DESPACHO (DD/MM/AA): \_\_\_\_\_

CONFIRMADO PARA SU USO (SI O NO): \_\_\_\_\_

OBSERVACIONES: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

RESPONSABLE DE DESPACHAR EL INSTRUMENTO:

\_\_\_\_\_  
**Q.F.B ó Q.A ó I.Q NOMBRE DE LA PERSONA  
RESPONSABLE DEL ÁREA DE ADMINISTRACIÓN DE LOS RECURSOS**

## FORMATO 7

### LOGOTIPO DEL LABORATORIO

Lugar y fecha de elaboración  
Código

#### FORMATO PARA EL ALMACENAJE DE INSTRUMENTOS DE MEDICIÓN

NOMBRE DEL INSTRUMENTO: \_\_\_\_\_

MARCA DEL INSTRUMENTO: \_\_\_\_\_

NÚMERO DE SERIE: \_\_\_\_\_

NÚMERO DE INVENTARIO: \_\_\_\_\_

ALCANCE Y DIVISIÓN MÍNIMA: \_\_\_\_\_

CONDICIONES AMBIENTALES DEL ALMACEN:

TEMPERATURA: \_\_\_\_\_

PRESIÓN ATMOSFÉRICA: \_\_\_\_\_

HUMEDAD): \_\_\_\_\_

FECHA DE ALMACENAMIENTO (DD/MM/AA): \_\_\_\_\_

CONFIRMADO PARA SU USO (SI O NO): \_\_\_\_\_

OBSERVACIONES: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

---

---

RESPONSABLE DEL ALMACENAMIENTO:

**Q.F.B ó Q.A ó I.Q NOMBRE DE LA PERSONA  
RESPONSABLE DEL ÁREA DE ADMINISTRACIÓN DE LOS RECURSOS**

## FORMATO 8

### LOGOTIPO DEL LABORATORIO

Lugar y fecha de elaboración  
Código

### FORMATO PARA SUSTITUCIÓN DE INSTRUMENTOS DE MEDICIÓN

NOMBRE DEL INSTRUMENTO: \_\_\_\_\_

MARCA DEL INSTRUMENTO: \_\_\_\_\_

NÚMERO DE SERIE: \_\_\_\_\_

NÚMERO DE INVENTARIO: \_\_\_\_\_

ALCANCE Y DIVISIÓN MÍNIMA: \_\_\_\_\_

FECHA DE ELIMINACIÓN (DD/MM/AA): \_\_\_\_\_

MOTIVO DE LA ELIMINACIÓN:

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

#### EQUIPO QUE LO SUSTITUYE

NOMBRE DEL INSTRUMENTO: \_\_\_\_\_

MARCA DEL INSTRUMENTO: \_\_\_\_\_

NÚMERO DE SERIE: \_\_\_\_\_

NÚMERO DE INVENTARIO: \_\_\_\_\_

ALCANCE Y DIVISIÓN MÍNIMA: \_\_\_\_\_

FECHA DE ADQUISICIÓN (DD/MM/AA): \_\_\_\_\_

OBSERVACIONES: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

RESPONSABLE DE LA SUSTITUCIÓN:

\_\_\_\_\_  
**Q.F.B ó Q.A ó I.Q NOMBRE DE LA PERSONA  
RESPONSABLE DEL ÁREA DE ADMINISTRACIÓN DE LOS RECURSOS**





## FORMATO 11

### LOGOTIPO DEL LABORATORIO

Lugar y fecha de elaboración

Código

**AUDITORÍA DEL SISTEMA DE ASEGURAMIENTO EN LA DETERMINACIÓN DE  
ÁCIDO ASCÓRBICO  
ISO 10012**

Fecha de la auditoría: \_\_\_\_\_

No. De auditoría: \_\_\_\_\_

#	Preguntas	C	NC	NA
	<b>Verificar que en el sistema de aseguramiento en la determinación de ácido ascórbico ISO 10012, si se establece lo siguiente:</b>			
	<b>7 Realización del sistema de control de la medición</b> <b>7.1 Procesos de confirmación metrológica</b> <b>7.1.1 Confirmación metrológica</b>			
1	-La confirmación metrológica fue diseñada e implementada para dar seguridad de que las mediciones vayan a dar los requerimientos metrológicos para los procesos de medición de ácido ascórbico.  <b>OBSERVACIONES:</b>			
2	-Para cada confirmación, las características del equipo de medición para la determinación de ácido ascórbico por el método oficial de la AOAC 967.21 fue comparado contra los requerimientos metrologicos.  <b>OBSERVACIONES:</b>			

	<b>7.1.2 Intervalos de confirmación</b>			
3	-Los métodos usados para determinar o cambiar intervalos de confirmación son descritos en procedimientos documentados.  <b>OBSERVACIONES:</b>			
4	-Los intervalos de confirmación serán regularmente revisados y ajustados cuando es necesario asegurar un rendimiento continuo con los requerimientos metrologicos específicos.  <b>OBSERVACIONES:</b>			
	<b>7.1.3 Características del equipo</b>			
5	-La información relevante para la confirmación del estatus del equipo de medición para la determinación de ácido ascórbico por el método oficial de la AOAC 967.21 esta fácilmente disponible para el usuario, incluyendo algunas limitaciones o requerimientos especiales.  <b>OBSERVACIONES:</b>			
6	-Las características del equipo de medición para la determinación de ácido ascórbico por el método oficial de la AOAC 967.21es apropiadas para que este sea propuesto en su uso.  <b>OBSERVACIONES:</b>			
	<b>7.1.4 Control de ajuste del equipo</b>			
7	-El acceso a los dispositivos de ajuste sobre la confirmación del equipo de medición para la determinación de ácido ascórbico por el método oficial de la AOAC 967.21, del cual el ambiente afecta el funcionamiento, esta cerrado o de otra manera salvaguardado para prevenir cambios no autorizados.			

	<b>OBSERVACIONES:</b>			
8	-El sellado o salvaguardado fue diseñado y localizado de tal forma que las intromisiones sean detectadas.  <b>OBSERVACIONES:</b>			
9	-El procedimiento en el proceso de confirmación incluye las acciones a ser tomadas cuando los sellos o salvaguardas estén dañados con fundamento o rotos.  <b>OBSERVACIONES:</b>			
	<b>7.1.5 Registro de los procesos de confirmación</b>			
10	-Las confirmaciones son sustentadas por los registros atestiguados para las condiciones de bajo las cuales los resultados fueron obtenidos.  <b>OBSERVACIONES:</b>			
11	-Cada registro es aprobado, fechado y foliado por una persona autorizada para atestiguar el cumplimiento de los resultados.  <b>OBSERVACIONES:</b>			
12	-La organización de los registros de todo lo relevante al equipo de medición cubierto por los procesos de confirmación es mantenida.  <b>OBSERVACIONES:</b>			

13	<p>-Estos registros demuestran que cada noticia del equipo de medición para la determinación de ácido ascórbico por el método oficial de la AOAC 967.21 satisface los requerimientos metrologicos especificados dentro de los procesos de confirmación para este equipo.</p> <p><b>OBSERVACIONES:</b></p>			
14	<p>-La certificación de calibración o reportes y otra información relevante (por ejemplo, registros de ajustes y reparación) están disponibles.</p> <p><b>OBSERVACIONES:</b></p>			
15	<p>-Los registros de información para la determinación de ácido ascórbico por el método oficial de la AOAC 967.21 incluyen, como es apropiado:</p> <p>a) La descripción e identificación única de la manufactura del equipo, tipo, número de serie, etc.</p> <p>b) La fecha (s) sobre las cuales la confirmación fue realizada y completada.</p> <p>c) El resultado de la confirmación.</p> <p>d) El intervalo de confirmación asignado.</p> <p>e) Identificación del procedimiento de confirmación.</p> <p>f) La designación del error máximo permisible.</p> <p>g) Las condiciones ambientales relevantes y un informe acerca de algunas correcciones necesarias.</p> <p>h) La incertidumbre envuelta en la calibración del equipo y su efecto acumulativo.</p> <p>i) Detalles de algunos mantenimientos tales como ajustes, reparaciones o modificaciones llevadas fuera.</p>			

	<p>j) Algunas limitaciones de uso.</p> <p>k) Identificación de la persona (s) que realice (n) la confirmación.</p> <p>l) Identificación de la persona (s) responsable (s) para el cumplimiento del registro de la información.</p> <p>m) identificación única (tales como los números de serie) de alguna certificación de calibración y otros documentos relevantes.</p> <p>n) La trazabilidad de los resultados de calibración.</p> <p>o) Los requerimientos para la proposición de uso.</p> <p>p) Los requerimientos de incertidumbre de la medición.</p> <p>q) Los resultados de la calibración obtenidos después, y donde requiere, antes de algún ajuste o reparación.</p> <p><b>OBSERVACIONES:</b></p>			
--	---	--	--	--

**OBSERVACIONES GENERALES:**

---



---



---



---



---



---



---



---

**Q.F.B ó Q.A ó I.Q NOMBRE DE LA PERSONA  
AUDITOR**



A  
U  
D  
I  
T  
O  
R

FECHA DE AUDITORÍA DE NO CONFORMIDADES: \_\_\_\_\_

VERIFICACIÓN DE LA ACCIÓN IMPLANTADA

---

---

---

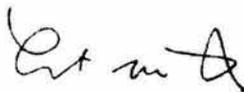
---

\_\_\_\_\_  
NOMBRE Y FIRMA DEL AUDITOR

\_\_\_\_\_  
NOMBRE Y FIRMA DEL DIRECTOR DEL LABORATORIO

TEST	LOT (SAMPLE) RESULTS
Product Name	2,6-Dichloroindophenol sodium salt hydrate
Product Number	88912
CAS Number	620451
Formula	$C_{12}H_6Cl_2NNaO_2$
Formula Weight	290.1
APPEARANCE (COLOUR)	DEEP GREEN
APPEARANCE (FORM)	POWDER
TITRATION (NT) HClO <sub>4</sub> 0.1N	99.5 % (CALCULATED FOR DRY SUBSTANCE)
ASSAY (TLC)	100.0 %
LOSS ON DRYING	12.9 %
INFRARED SPECTRUM	CORRESPONDS
RESIDUE (FILTER TEST)	NO RESIDUE

Fluka guarantees the 'Sales-Specification' values only, non-specified tests may be included as additional information. The current 'Sales-Specifications' sheet is available on request. For further inquiries, please contact our Technical Service. Fluka warrants, that its products conform to the information contained in this and other Fluka publications. Purchaser must determine the suitability of the product for its particular use. See reverse side of invoice for additional terms and conditions of sale. The values given on the 'Certificate of Analysis' are the results determined at the time of analysis.



---

Dr. G. van Look  
Quality Control

TEST	SPECIFICATION	LOT {03131KN} RESULTS
Product Name	L-Ascorbic acid	
Product Number	255564	
CAS Number	50817	
Formula	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>6</sub>	
Formula Weight	176.1	
APPEARANCE	WHITE CRYSTALLINE POWDER	WHITE POWDER
INFRARED SPECTRUM	CONFORMS TO STRUCTURE AND STANDARD AS ILLUSTRATED ON PAGE 702B OF EDITION I, VOLUME 1 OF 'THE ALDRICH LIBRARY OF FT-IR SPECTRA'.	CONFORMS TO STRUCTURE AND STANDARD AS ILLUSTRATED ON PAGE 702B OF EDITION I, VOLUME 1 OF 'THE ALDRICH LIBRARY OF FT-IR SPECTRA'.
TITRATION	99.0% (MINIMUM) (WITH IODINE)	99.8% % (WITH IODINE)
OPTICAL ROTATION	+20.5 TO +21.5 DEGREES (C=10%, H2O)	+20.8 DEGREES (C=10%, H2O)
RESIDUE ON IGNITION	0.1% (MAXIMUM)	0.068 % (800 DEG. C, 15 MINS)
IRON	0.001% (MAXIMUM)	< 0.001%
HEAVY METALS	0.002% (MAXIMUM) (AS PB)	< 0.002%



Ronnie J Martin, Supervisor  
Quality Control

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
 FACULTAD DE QUÍMICA  
 DEPARTAMENTO DE FÍSICA Y QUÍMICA TEÓRICA  
 LABORATORIO DE METROLOGÍA  
 EDIFICIO "A" P.B. LABORATORIO 004 TEL:56 22 37 59  
 ÁREA DE VOLUMEN  
 CALIBRACIÓN DE RECIPIENTES VOLUMÉTRICOS  
 PIPETAS Y BURETAS

F.14.4

<b>NÚMERO DE INFORME DE CALIBRACIÓN:</b>	
Solicitante:	Alejandro Barragán Ocaña
Representante:	Alejandro Barragán Ocaña
e-mail:	alejbarra@lito.pquim.unam.mx
Dirección:	S/D

Fecha de solicitud	15/01/2004
Fecha de calibración	15/01/2004
Teléfono	5622-37-59
Fax	S/N

**DATOS DEL RECIPIENTE CALIBRADO**

Recipiente	BURETA
Marca	KIMAX
Serie	S/N
Alcance	50 ML

Modelo	S/N
Núm. Inv.	S/N
$\Gamma$ (1°C)	0.0000032

**DATOS DE LA BALANZA**

Instrumento	Balanza clase I	Fecha de calibración	18/06/2001
Marca	Sartorius	Serie	50311381
No. Inv.	UNAM	Alcance (g)	210
Div. Min (g)	0.0001	Incertidumbre (g)	0.0002
		Informe de Calibración	INC371.T/2001
		Laboratorio:	INSCO de México S.A. De C.V.

**CONDICIONES AMBIENTALES DURANTE LA CALIBRACIÓN**

Temp. ambiente (°C)	17.3	Humedad (%)	44.2
Incertidumbre (°C)	0.5	Incertidumbre (%)	1.5
Presión (Pa)	103100.0	Temp. Agua (°C)	16.6
Incertidumbre (Pa)	0.0	Incertidumbre (°C)	0.2

VOLUMEN del recipiente calibrado a 20°C (ml)	50.1056
Incertidumbre combinada (mL)	0.0050
Incertidumbre expandida (mL)	0.0099
Nivel de confianza	k=2

Procedimiento utilizado: FQOCT14  
 de acuerdo a la norma NMX-BB-86-1986

Israel Santamaría  
 Elaboró

Angeles Olvera Treviño  
 Revisó y aprobó

ESTE DOCUMENTO NO ES VÁLIDO SI PRESENTA TACHADURAS O ENMENDADURAS  
 NO SE PERMITE LA REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL DE ESTE DOCUMENTO

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
 FACULTAD DE QUÍMICA  
 DEPARTAMENTO DE FÍSICA Y QUÍMICA TEÓRICA  
 LABORATORIO DE METROLOGÍA  
 EDIFICIO "A" P.B. LABORATORIO 004 TEL: 66 22 37 59  
 ÁREA DE VOLUMEN  
 CALIBRACIÓN DE RECIPIENTES VOLUMÉTRICOS  
 PIPETAS Y BURETAS

F.14.4

<b>NÚMERO DE INFORME DE CALIBRACIÓN:</b>	
Solicitante:	Alejandro Barragán Ocaña
Representante:	Alejandro Barragán Ocaña
e-mail:	alejbarraagan@litio.pquim.unam.mx
Dirección:	S/D

Fecha de solicitud	15/01/2004
Fecha de calibración	15/01/2004
Teléfono	5622-37-59
Fax	S/N

**DATOS DEL RECIPIENTE CALIBRADO**

Recipiente	Pipeta
Marca	PYREX
Serie	S/N
Alcance	10 mL

Modelo	No.7085
Núm. Inv.	S/N
$\Gamma$ (1/°C)	0.000032

**DATOS DE LA BALANZA**

Instrumento	Balanza clase I	Fecha de calibración	18/06/2001
Marca	Sartorius	Serie	50311381
No. Inv.	UNAM	Alcance (g)	210
Div. Min (g)	0.0001	Incertidumbre (g)	0.0002
		Informe de Calibración	INC371.T/2001
		Laboratorio:	INSCO de México S.A. De C.V.

**CONDICIONES AMBIENTALES DURANTE LA CALIBRACIÓN**

Temp. ambiente (°C)	16.6	Humedad (%)	50.7
Incertidumbre (°C)	0.5	Incertidumbre (%)	1.5
Presión (Pa)	103100.0	Temp. Agua (°C)	16.0
Incertidumbre (Pa)	0.0	Incertidumbre (°C)	0.1

VOLUMEN del recipiente calibrado a 20°C (ml)	9.9413
Incertidumbre combinada (mL)	0.0074
Incertidumbre expandida (mL)	0.0147
Nivel de confianza	k=2

Procedimiento utilizado: FQOCT14  
 de acuerdo a la norma NMX-BB-86-1986

\_\_\_\_\_  
 Israel Santamaría  
 Elaboró

\_\_\_\_\_  
 Angeles Olvera Treviño  
 Revisó y aprobó

ESTE DOCUMENTO NO ES VÁLIDO SI PRESENTA TACHADURAS O ENMENDADURAS  
 NO SE PERMITE LA REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL DE ESTE DOCUMENTO

FORMATO 10  
LOGOTIPO DEL LABORATORIO  
ÁREA DE VOLUMEN  
REGISTRO PARA LA MEDICIÓN DE ÁCIDO ASCÓRBICO  
CÓDIGO

NÚMERO DE MUESTRA A ANALIZAR:1

México D.F a 11 de Diciembre del 2003

DATOS DE LA MUESTRA:

CONDICIONES AMBIENTALES:

Nombre del producto:	Jugo mixto de Frutas
Marca:	Dos Pinos
Líquido o sólido:	líquido

Presión mm de Hg:	585
Temperatura °C:	17.7
Humedad %:	43.3

VALORACIÓN DE LA SOLUCIÓN ESTANDAR DE A.A:

Número	ml de sol. estándar de ácido ascórbico	ml de sol. $\text{HPO}_3 - \text{CH}_3\text{COOH}$	ml de sol. De Indofenol	Persistencia color $\geq 5s$
1	2	5	16.4	Si
2	2	5	16.5	Si
3	2	5	16.3	Si

VALORACIÓN DEL BLANCO:

Número	ml de sol. $\text{HPO}_3 - \text{CH}_3\text{COOH}$	ml de agua	ml de sol. De Indofenol	Persistencia color $\geq 5s$
1	7	16.4	0.1	Si
2	7	16.4	0.1	Si
3	7	16.4	0.1	Si

MUESTRAS ALICUOTAS:

Número	ml de muestra ya filtrada	ml de sol. $\text{HPO}_3 - \text{CH}_3\text{COOH}$	ml de sol. De Indofenol	Persistencia color $\geq 5s$
1	50	50	1.8	Si
2	50	50	1.8	Si
3	50	50	1.7	Si

APRECIACIÓN DE SUSTANCIAS BÁSICAS:

Preparación de la muestra:

ml de muestra ya filtrada	ml de sol. $\text{HPO}_3 - \text{CH}_3\text{COOH}$
5	5

Instrucciones: Señale con una X cualquiera de las opciones que se muestran a continuación.

Rango de transición: (Rojo)  (Amarillo)

Muestra con sustancias básicas apreciables: (Si)  ó (No)

Muestra a analizar	Resultado en ml	
Promedio en ml. titulación muestra	1.77	X
Promedio para el blanco titulado	0.1	B
Volumen de ensayo (muestra líquida)	250	E
Volumen inicial de la muestra de ensayo	250	V
Volumen de la muestra alícuota titulada	50.0	Y

Muestra a analizar	Resultado en gr	
mg de A.A equivalentes a 1 ml de SEI	0.122	F
Número de mg de ensayo (muestra sol.)		E

Resultado:	0.00407	mg/ml de Ácido ascórbico $\pm$ xmg/ml
Resultado mg de A.A en 250 ml de jugo:	1.019666667	X $\pm$ mg

¿NO SE OBTUVO RESULTADO?

Si X  No

Instrucciones: Señale las causas con una X

- (1) Contenido de Hierro y cobre.
- (2) Contenido de estaño.
- (3) Jugo altamente coloreado.

Nota: Pridda, ronda número 17, muestra de jugo de frutas, material número 17017.

Realizó: \_\_\_\_\_ Revisó: \_\_\_\_\_  
Nombre y firma Nombre y firma

EL DOCUMENTO NO ES VALIDO SI PRESENTA TACHADURAS Y ENMENDADURAS  
ESTE DOCUMENTO NO DEBE DE REPRODUCIRSE

















FORMATO 10  
LOGOTIPO DEL LABORATORIO  
ÁREA DE VOLUMEN  
REGISTRO PARA LA MEDICIÓN DE ÁCIDO ASCÓRBICO  
CÓDIGO

NÚMERO DE MUESTRA A ANALIZAR: 2 (9 de 10)

México D.F a 11 de Diciembre del 2003

DATOS DE LA MUESTRA:

Nombre del producto:	Estandar
Marca:	Ninguna
Líquido o sólido:	líquido

CONDICIONES AMBIENTALES:

Presión mm de Hg:	585
Temperatura °C:	18.3
Humedad %:	40

VALORACIÓN DE LA SOLUCIÓN ESTANDAR DE A.A:

Número	ml de sol. estándar de ácido ascórbico	ml de sol. $\text{HPO}_3 - \text{CH}_2\text{COOH}$	ml de sol. De Indofenol	Persistencia color $\geq 5s$
1	2	5	16.4	Si
2	2	5	16.5	Si
3	2	5	16.3	Si

VALORACIÓN DEL BLANCO:

Número	ml de sol. $\text{HPO}_3 - \text{CH}_2\text{COOH}$	ml de agua	ml de sol. De Indofenol	Persistencia color $\geq 5s$
1	7	16.4	0.1	Si
2	7	16.4	0.1	Si
3	7	16.4	0.1	Si

MUESTRAS ALICUOTAS:

Número	ml de muestra ya filtrada	ml de sol. $\text{HPO}_3 - \text{CH}_2\text{COOH}$	ml de sol. De Indofenol	Persistencia color $\geq 5s$
1	2	5	16.4	Si
2	2	5	16.4	Si
3	2	5	16.3	Si
		Promedio	16.37	

APRECIACIÓN DE SUSTANCIAS BÁSICAS:

Preparación de la muestra:

ml de muestra ya filtrada	ml de sol. $\text{HPO}_3 - \text{CH}_2\text{COOH}$
1	1

Instrucciones. Señale con una X cualquiera de las opciones que se muestran a continuación.

Rango de transición: (Rojo)  (Amarillo)

Muestra con sustancias básicas apreciables: (Si)  (No)

Muestra a analizar	Resultado en ml	
Promedio en ml. titulación muestra	16.4	X
Promedio para el blanco titulado	0.1	B
Número de ml de ensayo	50	E
Volumen inicial de la sol. de ensayo	50	V
Volumen de la muestra alícuota titulada	2.0	Y

Muestra a analizar	Resultado en gr	
mg de A.A. equivalentes a 1 ml de SEI	0.122	F
Número de mg de ensayo (muestra sol.)		E

Resultado:	0.992	mg/ml de Ácido ascórbico
Resultado mg de A.A en 50 ml de solución:	49.61333333	± xmg

¿NO SE OBTUVO RESULTADO?  Si X  No

Instrucciones: Señale las causas con una X.

- (1) Contenido de Hierro y cobre.
- (2) Contenido de estaño.
- (3) Jugo altamente coloreado.

Nota:

Realizó: \_\_\_\_\_ Revisó: \_\_\_\_\_  
Nombre y firma Nombre y firma

EL DOCUMENTO NO ES VALIDO SI PRESENTA TACHADURAS Y ENMENDADURAS  
ESTE DOCUMENTO NO DEBE DE REPRODUCIRSE

