

Espectrofotómetros UV-Visible: Interpretación de certificados de calibración

Los espectrofotómetros UV-Visible son fundamentales en el sector farmacéutico, por lo que interpretar correctamente su certificado de calibración es crucial para garantizar mediciones fiables.

EYCO

¿Qué debe incluir un certificado de calibración?

La calibración se efectúa con el propósito de verificar la conformidad de un producto o equipo con ciertas especificaciones predefinidas. Esto implica asegurar que los valores obtenidos de las características del producto o equipo se encuentren dentro de los límites aceptables establecidos según su uso.

Un certificado debe presentar los resultados de manera precisa, clara, objetiva y sin ambigüedades, y ha de incluir:

- Título («Certificado de calibración»).
- Nombre y dirección del laboratorio.
- Lugar en el que se realizan las actividades.
- Identificación única de todos los componentes del certificado.
- Nombre e información de contacto del cliente.
- Identificación del método utilizado.
- Fechas de ejecución de la actividad del laboratorio.
- Fecha de emisión.
- Declaración acerca de que los resultados se relacionen solamente con los ítems sometidos a calibración.
- Resultados con las unidades de medición.
- Adiciones, desviaciones o exclusiones del método.
- Identificación de las personas que autorizan el certificado.
- Identificación clara cuando los resultados provengan de proveedores externos.
- Utilización adecuada de la marca ENAC en el certificado.
- Incertidumbre de medición del resultado.
- Condiciones en las que se han hecho las calibraciones.
- Declaración que identifique cómo las mediciones son trazables metrológicamente.
- Resultados antes y después de ajuste o reparación si están disponibles.



Figura 1. Espectrofotómetro UV-Vis

- Puede incluir recomendaciones sobre el intervalo de calibración, si el cliente lo indica.

Corrección/Error/Exactitud

Para comprender el rendimiento del equipo, es esencial conocer las correcciones asociadas a cada magnitud de medida. La corrección representa la discrepancia entre el valor medido por el equipo y el valor certificado de los estándares de referencia utilizados. Es fundamental para ajustar las lecturas obtenidas durante el uso regular del equipo.

Incertidumbre

La incertidumbre es la falta de exactitud o precisión absolutas debido a una variedad de factores.

Abarca todas las posibles fuentes de error que influyen en la calibración, y su valor se determina mediante fórmulas específicas de cálculo. En los certificados de calibración, generalmente se indica la incertidumbre expandida, que se obtiene

multiplicando la incertidumbre típica de la medición por un factor de cobertura, denotado como «k=2». Este factor, aplicado en una distribución normal, corresponde a una probabilidad de cobertura de aproximadamente el 95%.

Longitud de onda

Los espectrofotómetros UV-Vis identifican y cuantifican sustancias mediante la emisión de luz a distintas longitudes de onda. Como cada compuesto posee un espectro de absorción característico, la medición de la absorbancia permite determinar concentraciones analíticas precisas.

En un certificado de calibración, los datos de longitud de onda muestran información de la corrección del equipo. Ésta es la diferencia entre el valor certificado y el valor medido, y tiene asociada una incertidumbre (figura 2):

$$C = (V_{\text{cert}} - V_{\text{m}}) \pm U$$

Para la calibración de la longitud de onda se utilizan patrones que tienen picos de ab-

Resultados: Longitud de onda Results: Wavelength				
Patrón Standard	Valor medio obtenido (nm) Measured value	Valor de referencia (nm) Reference value	Corrección ² (nm) Correction	Incertidumbre expandida (±nm) Expanded Uncertainty
EL10-1.1	279,00	279,35	0,35	0,61
	361,00	360,85	-0,15	0,61
	453,00	453,55	0,55	0,61
	536,00	536,45	0,45	0,61
	637,00	637,65	0,65	0,61

Figura 3.

Resultados: Luz Dispersa Results: Scattered light			
Patrón Standard	λ(nm)	Valor medio obtenido (Abs) Measured value	Valor de referencia (Abs) Reference value
EL35	340	3,0	>2.0
	370	3,0	>2.0

Figura 4.

Resultados: Absorbancia Visible Results: Absorbance				
Patrón EL17-2 DR				
λ (nm)	Valor medio obtenido Measured value	Valor de referencia Reference value	Corrección ² Correction	Incertidumbre expandida (±) Expanded Uncertainty
400	0,2440	0,2436	-0,0004	0,0060
420	0,2500	0,2495	-0,0005	0,0060
450	0,2320	0,2325	0,0005	0,0040
500	0,2250	0,2242	-0,0008	0,0040
520	0,2230	0,2225	-0,0005	0,0040
550	0,2190	0,2182	-0,0008	0,0040
600	0,2320	0,2309	-0,0011	0,0040
620	0,2310	0,2293	-0,0017	0,0040
650	0,2360	0,2349	-0,0011	0,0040
700	0,2233	0,2221	-0,0013	0,0040
720	0,2270	0,2252	-0,0018	0,0040
750	0,2450	0,2435	-0,0015	0,0040
800	0,2880	0,2873	-0,0007	0,0040
900	0,3790	0,3804	0,0014	0,0040

Figura 5.

sorbancia en longitudes de onda concretas cuyos valores están certificados. Al medir dichos estándares con el equipo a calibrar, puede detectarse la discrepancia entre los valores de referencia y los valores de los picos de absorbancia obtenidos con el espectrofotómetro. En la corrección, que se presenta junto a su incertidumbre expandida, puede observarse si el equipo es capaz de emitir luz a las longitudes de onda requeridas con la precisión necesaria para cada caso.

En la figura 3, se muestran datos de longitud de onda en un certificado.

Luz difusa

Es la radiación que puede llegar al detector con una longitud de onda no deseada, y puede causar errores de lectura de absorbancia.

Se cuantifica en longitudes de onda donde la absorbancia del patrón de referencia es >2; un valor medido inferior indica que el

detector percibe radiación ajena al haz que atraviesa la muestra.

En la figura 4 se presentan los datos de luz difusa obtenidos en una calibración.

Absorbancia/Escala fotométrica

Es una medida cuantitativa que refleja la capacidad de una sustancia de absorber luz en una longitud de onda específica. Es una magnitud crítica para determinar concentraciones analíticas, verificar la pureza de compuestos y monitorizar reacciones químicas o bioquímicas.

En un certificado de calibración, los datos relativos a la absorbancia proporcionan información sobre la corrección del equipo. La corrección se obtiene de la sustracción entre el valor certificado y el valor medido, con su incertidumbre asociada (figura 5)

La absorbancia puede calibrarse en el rango del equipo mediante patrones de referencia. El certificado presenta los valores medidos por el equipo y los valores certificados asociados a los estándares de referencia para cada longitud de onda. Con ellos se calcula la diferencia entre la lectura del equipo y el valor certificado del patrón ("Corrección").

Bajo aparecen los resultados de absorbancia visible de un certificado (figura 5)

Linealidad fotométrica

Hace referencia a la linealidad de los valores de absorbancia medidos en función de la concentración.

Se evalúa con el coeficiente de correlación (R²) de la curva de calibración absorbancia-concentración. Mediante un ajuste de resultados, se establece la linealidad del equipo. Si es lineal, el comportamiento es uniforme en todo el rango analizado.

El ejemplo muestra resultados de linealidad fotométrica (figuras 6 y 7).

Aceptación/Rechazo de resultados de calibración

Se recomienda establecer una tolerancia dependiendo del uso del equipo. Por ejemplo, si se requiere una precisión de ±0.1 unidades, los criterios deben reflejar dicho margen. Según esta tolerancia, se evalúa si las correcciones e incertidumbres de la calibración son adecuadas mediante diversos

Patrón Standard	λ (nm)	Valor medio obtenido <i>Measured value</i>	Valor de referencia <i>Reference value</i>	Corrección ² <i>Correction</i>	Incertidumbre expandida ($\pm$) <i>Expanded Uncertainty</i>
EL56-1	235	0,0450	0,0437	-0,0013	0,0050
	257	0,0400	0,0391	-0,0009	0,0050
	313	0,0350	0,0351	0,0001	0,0050
	350	0,0330	0,0340	0,0010	0,0050
EL56-2	235	0,4960	0,4942	-0,0018	0,0080
	257	0,5750	0,5744	-0,0006	0,0080
	313	0,1950	0,1931	-0,0019	0,0080
	350	0,4270	0,4275	0,0005	0,0080
EL56-3	235	0,9940	0,9917	-0,0023	0,0080
	257	1,1557	1,1550	-0,001	0,020
	313	0,3890	0,3862	-0,0028	0,0080
	350	0,8547	0,8560	0,0013	0,0080
EL56-4	235	2,0053	2,0050	0,000	0,040
	257	2,3323	2,3370	0,005	0,040
	313	0,7740	0,7737	-0,0003	0,0080
	350	1,7000	1,7140	0,014	0,020

Figura 6.

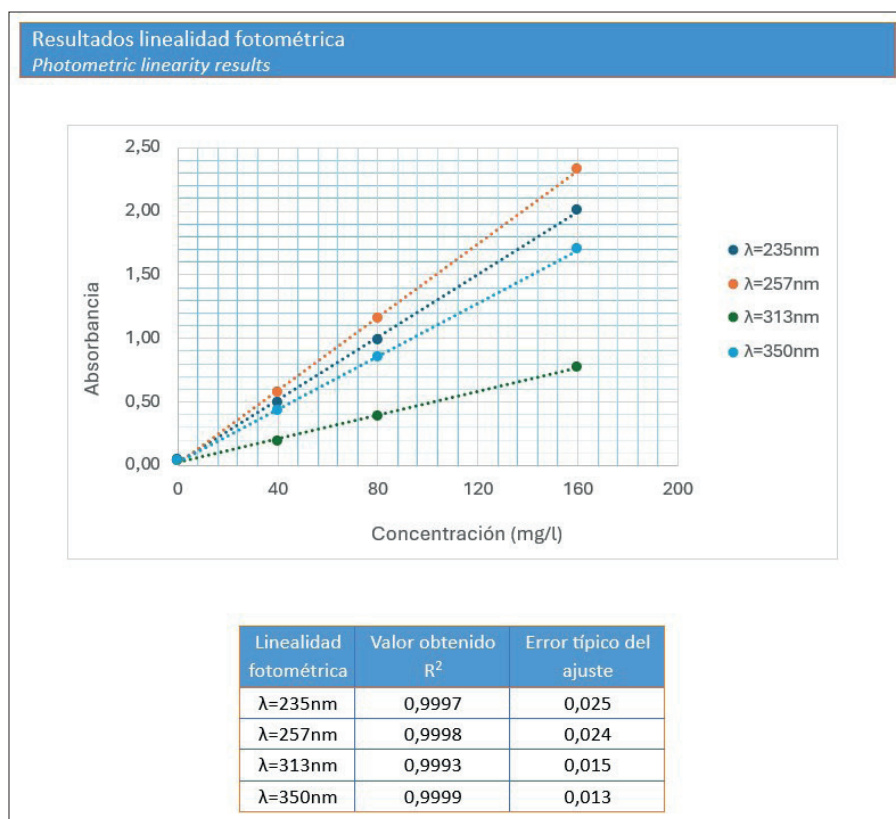


Figura 7.

criterios. Un ejemplo común es: $C+U \leq \text{Tolerancia permitida}$.

Para definir los criterios de aceptación y rechazo de los resultados, pueden considerarse los siguientes aspectos clave según las buenas prácticas metrológicas y estándares internacionales:

1. Compatibilidad con las especificaciones del equipo.
 - Especificaciones del fabricante: Compara la corrección e incertidum-

bre con las especificaciones de precisión y exactitud del fabricante.

- Tolerancia permitida: Define un rango basado en la aplicación específica del equipo. Por ejemplo, si se requiere una precisión de ± 0.5 unidades, los criterios deberían reflejar esta tolerancia.
- 2. Incertidumbre expandida (U).
 - Cálculo de la incertidumbre expandida: La incertidumbre estándar multi-

plicada por un factor de cobertura (k), generalmente 2 para un nivel de confianza del 95%.

- Comparación con la tolerancia: La incertidumbre expandida debe ser pequeña comparada con la tolerancia. Si U supera la tolerancia permitida, el equipo no es confiable para la medida requerida.
- 3. Errores sistemáticos.
 - Corrección aplicada: Analiza si la corrección puede aplicarse consistentemente en mediciones futuras. Si la corrección es demasiado grande, podría indicar que el equipo necesita mantenimiento o recalibración.
- 4. Estabilidad y consistencia.
 - Historial de calibración: Revisa los resultados de calibraciones anteriores para observar tendencias. Un cambio significativo podría indicar problemas con el equipo.
 - Repetibilidad: Asegura que las mediciones sean repetibles bajo las mismas condiciones.
- 5. Impacto en el proceso.
 - Requisitos del proceso: Considera cómo una corrección o incertidumbre afectará tu proceso o producto final. Si una medición errónea tiene consecuencias graves, los criterios deben ser más estrictos.

Ejemplo de criterios de aceptación y rechazo:

1. Corrección (C) dentro del rango permitido:
 - Aceptar: Si $|C| \leq \text{Tolerancia permitida}$
 - Rechazar: Si $|C| > \text{Tolerancia permitida}$
2. Incertidumbre expandida (U) dentro de un límite aceptable:
 - Aceptar: Si $U \leq \text{Tolerancia permitida}/2$ (u otro factor que se defina)
 - Rechazar: Si $U > \text{Tolerancia permitida}/2$
3. Corrección y su incertidumbre dentro de los límites de aceptabilidad:
 - Aceptar: Si $|C| + U \leq \text{Tolerancia permitida}$
 - Rechazar: Si $|C| + U > \text{Tolerancia permitida}$

Documentación

Es fundamental documentar criterios y resultados. La trazabilidad y la documentación detallada son esenciales para auditorías y para mantener la calidad del proceso.

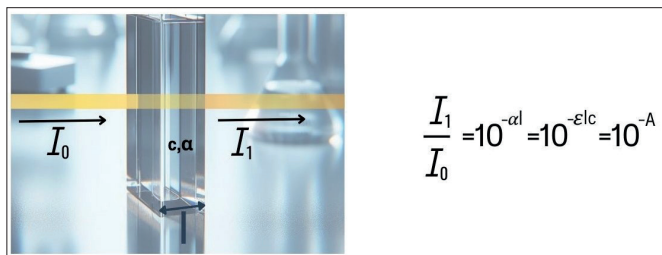


Figura 8. Diagrama de absorción de un haz de luz atravesando una cubeta de longitud

Donde:

I_1 , I_0 son las intensidades saliente e incidente respectivamente
 l es la longitud atravesada por la luz en el medio

$\alpha = \frac{4\pi k \lambda}{\lambda}$ es el coeficiente de absorción

ϵ es el coeficiente de absorción molar o coeficiente de extinción

c es la concentración de la sustancia absorbente en el medio

A es la absorbancia, que también puede expresarse como

$$A = \epsilon c l = \log_{10} \frac{I_0}{I_1}$$

Implementación

Se puede desarrollar un procedimiento operativo estándar (SOP) para evaluar los resultados de calibración, incluyendo estos criterios y un flujo de decisión claro.

Aplicación de la Ley de Lambert-Beer

Aunque la Ley de Lambert-Beer no se aplica para obtener los datos de los certificados de calibración, se emplea para análisis cuantitativos precisos. Esta ley establece que la absorbancia es directamente proporcional a la concentración de la sustancia. Es decir, relaciona la absorción de luz con la actividad óptica, el

paso óptico y la concentración en soluciones homogéneas (figuras 8 y 9).

La curva de calibrado se corresponde con la ley de Lambert-Beer y, a partir de ella, se puede obtener la concentración de las sustancias. Utilizando soluciones de concentración conocida, se puede crear una curva de calibrado que relaciona absorbancias y concentraciones. Esta puede servir de referencia para obtener los valores de concentración del analito a partir de las lecturas del espectrofotómetro.

Una vez establecida la recta de calibrado, se puede determinar la concentración de muestras desconocidas. Al interpolar la absorbancia medida en dicha curva, se obtiene la concen-

tración del analito. Esto permite cuantificaciones rápidas y confiables en soluciones.

Plan de calibración

Para asegurar mediciones precisas y trazables, es fundamental calibrar periódicamente los equipos. El plan de calibración posibilita detectar errores en los instrumentos de producción, identificando cada equipo y definiendo sus intervalos de calibración. Además, se recomiendan controles internos para detectar desviaciones a tiempo. Para calibraciones externas, deben seleccionarse laboratorios acreditados que cumplan los requisitos de la empresa ●

PROSPECTOS FARMACÉUTICOS, COSMÉTICOS, MARKETING y todo tipo de impresos



Calidad CERTIFICADA



Confíe EN NOSOTROS

