



Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.



Facultad de Químico Farmacobiología.

TESIS

Para obtener el título de Licenciado en Químico Farmacobiología.

Interpolación para materiales de referencia
en mediciones de lectores de microplacas de ELISA

Presenta:

Cecilia Flores Clemente.

Asesores:

M.C. Gabino Estevez Delgado.

D.C. Maria Guadalupe Ruiz Vega.

Sinodales:

M. C. Lorena Cabrera Navarro.

Q. F. B. Lillian Bribiesca Rodríguez.

D. C. Joaquín Estevez Delgado.

Morelia Michoacán, Junio 2010

Interpolación para materiales de referencia en mediciones de lectores de micro placas de ELISA

Al que medió la vida.

A mis amados padres; Josefina y Faustino.

A mis hermanas y abuelos.

A mi comunidad Indígena de San Lorenzo.

mindošinka ini ukua:

Imani nengarini intskuka tsipikua.

Juchatatichani nengani ji šani uekok'a.

Juchiti pipitichani ka tata k'erichani.

Juchari irietani San Lorezu.

AGRADECIMIENTOS

A Dios por todo.

A mis padres Josefina y Faustino por su cariño, dedicación, entrega y apoyo incondicional.

A mis hermanas Teresa y María de Lourdes, por estar siempre conmigo.

A mis abuelos Carolina, Anselmo, Maximina y Miguel por su motivación y entusiasmo.

A la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo por dejarme formar parte de sus alumnos.

Gracias a la Facultad de Químico Farmacobiología, por haberme permitido formar parte de ella.

Al personal del Laboratorio de Biofísica del Instituto de Física y Matemáticas por haberme facilitado el material necesario para desarrollar este trabajo de investigación.

A mis asesores M. C. Gabino Estevez Delgado y D. C. María Guadalupe Ruiz Vega, por dirigir este trabajo de tesis. De manera especial gracias al M C. Gabino por dedicarme parte de su valioso tiempo, por su apoyo, comprensión, paciencia y amistad.

A mis sinodales; D. C. Joaquín Estevez Delgado, M. C. Lorena Cabrera Navarro y Q.F.B. Lillian Bribiesca Rodriguez, por el tiempo que me dedicaron en la revisión, por sus importantes aportaciones a este trabajo de tesis.

Al Ing. Eduardo Ochoa por haberme brindado el material y la asesoría para el desarrollo de la parte filosófica de este trabajo.

A la Q.F.B. Alma Rosa García Ríos, por su apoyo y amistad.

A todos mis maestros y maestras, aún conservo sus consejos y la enseñanza científica y humanista que me otorgaron, y sobre todo gracias por su amistad.

Gracias a todos ellos porque sin su ayuda no sería posible la realización de este trabajo de investigación.

INDICE

Contenido	Pág.
Resumen.....	1
Introducción.....	3
Capítulo I	
1.1 Hipótesis.....	5
1.2 Objetivos.....	6
1.3 Variables.....	7
1.4 Delimitación del tema.....	8
Capítulo II	
2.1 Marco Histórico.....	10
2.1.1 Antecedentes de la normalización.....	11
2.1.2 Evolución de las primeras normas.....	13
2.1.3 Antecedentes de la Norma NMX-EC-17025-IMNC-2006 (Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración).....	14
2.2 Marco Filosófico.....	14
2.2.1 Filosofía de la existencia.....	15
2.2.2 Filosofía de la verdad.....	15
2.2.3 Filosofía de la ciencia.....	15
2.2.4 Filosofía de la causa efecto.....	16
2.2.5 Filosofía de Ernest Mach.....	16
2.2.6 Filosofía de la medición.....	16
2.2.7 Filosofía de la indeterminación de Heisenberg.....	16

2.3 Marco Legislativo.....	17
2.3.1 Estructura general de la ISO.....	17
2.3.2 Derechos y obligaciones para los organismos participantes.....	18
2.3.3 Organismos Internaciones de Normalización.....	19
2.3.4 Normatividad en México.....	20
2.3.5 Acerca de la NMX-EC-17025-IMNC-2006.....	21
2.4 Marco Teórico.....	21
2.4.1 Medición.....	21
2.4.2 Pruebas de ELISA.....	24
2.4.3 Análisis espectroquímico.....	26
2.4.4 Materiales de Referencia (MR).....	37
2.4.5 La incertidumbre.....	40
2.4.6 Métodos y pruebas para la caracterización de un espectrofotómetro.....	50
2.4.7 Algoritmos.....	57
Capítulo III	
3.1 Materiales y equipo.....	62
3.2 Métodos.....	62
Capítulo IV	
4.1 Resultados.....	65
Capítulo V	
5.1 Análisis de datos.....	79
Capítulo VI	
6.1 Conclusiones.....	85
Visión.....	87

Trabajo a futuro.....	88
Anexo A.....	89
Glosario.....	92
Bibliografía.....	95

RESUMEN

La calidad es una de las formas de mejorar las diferentes actividades del ser humano, es por ello, que en los últimos años ha cobrado gran importancia en el mercado mundial, volviéndose así, en una de las exigencias para la competencia y la sobrevivencia de las empresas u organizaciones de cualquier índole. No solo las grandes empresas se enfrentan a esta situación, sino también los laboratorios de ensayo y calibración, los laboratorios clínicos, las industrias, en fin, todas las actividades que generen productos o servicios que sean destinados al público.

Por lo anterior, es necesario contar con un sistema de gestión de calidad que nos permita garantizar la confiabilidad de los resultados, los productos o servicios, entre otros, que son ofrecidos por un determinado organismo, que satisfaga las necesidades del organismo y la normatividad aplicable.

En el presente trabajo, se asignan valores a los intervalos para Materiales de Referencia Certificados (MRC) utilizados en la calibración de lectores de microplacas de ELISA (Enzyme Linked Immunoabsorbent Assay), que no han sido reportados en su certificado de calibración, por medio de algoritmos de interpolación de Lagrange y Newton. Para ello, se utilizan las absorbancias de cada uno de los MRC a siete diferentes longitudes de onda correspondientes. Posteriormente, se obtienen las ecuaciones por cada algoritmo de interpolación para cada MRC y finalmente por medio de un análisis de varianza (ANOVA), se comparan los valores obtenidos por las ecuaciones determinadas y los valores reportados en el certificado de calibración, observándose con un nivel de significancia de 0,05 que no se muestra diferencia significativa, por lo que se satisface la hipótesis planteada en el presente trabajo. Así tampoco muestran diferencia significativa entre los valores obtenidos por las ecuaciones determinadas por el algoritmo de Lagrange y los calculados por las ecuaciones obtenidas por el algoritmo de Newton.

Es importante mencionar que con esto, se deja a consideración de cada Laboratorio que desee implementar este procedimiento, el utilizarlo, ya que se requiere de su validación según lo establece la norma NMX-EC-17025-IMNC-2006 en el apartado 5.4 de los requisitos técnicos para la competencia de los laboratorios de ensayo y de calibración. Este método no es exclusivo de este tipo de instrumentos de análisis, ya que se

puede utilizar en muchas áreas de la ciencia y en varios equipos de laboratorio que cumplan con las características cualitativas expuestas en este trabajo.

INTRODUCCIÓN

La utilización de instrumentos de análisis, se ha convertido en uno de los pilares fundamentales en las diferentes áreas de la ciencia, como son: la Biología, la Química, la Bioquímica, la Física, entre otros, de ahí la importancia de conocer su principio de medición y las características que la definen, no solo para utilizarlos de manera adecuada sino para determinar la incertidumbre con la cual éstos realizan las mediciones. La comunidad afectada, por ello, se enfrenta a un grave problema, ya que no solo se trata de realizar las mediciones, sino de garantizar que éstas sean trazables al Sistema Internacional de Unidades (SI).

En los últimos años, se han establecido normas nacionales e internacionales que permiten realizar las mediciones con un buen acercamiento entre los resultados que se obtienen y los establecidos como convencionalmente verdaderos. Algunas de las formas para lograr lo anterior, es mediante la calibración de equipos e instrumentos de medición, así como la utilización de patrones o materiales de referencia certificados, los cuales tienen trazabilidad a magnitudes correspondientes al SI, garantizando por consiguiente la trazabilidad de las mediciones. Los materiales de referencia han cobrado por lo tanto, gran importancia, sin embargo, se tiene la desventaja de que son elevadamente costosos, lo que repercute en la economía de los laboratorios que los requieren y de manera indirecta afecta los costos de los servicios que ofrecen éstos laboratorios, en particular los laboratorios de ensayo y calibración. Es por ello, que nos hemos interesado en la realización de un procedimiento que nos permita obtener la medición en las longitudes de onda que no han sido reportados por los certificados de calibración de los MRC, utilizados para la calibración de lectores de micro placas de ELISA, específicamente, por medio de algoritmos de interpolación de Newton y Lagrange. De esta manera se aportará a la satisfacción de la alta demanda de calidad exigida a los laboratorios, facilitando el cumplimiento de la normatividad aplicada a estas dependencias, así como la satisfacción del propio sistema de gestión de la calidad establecida en cada organismo en particular.

CAPÍTULO I

El mantener los equipos en condiciones verificables permite, por un lado, darle certidumbre a las mediciones y productos que las empresas generan y por otro lado el dar crédito a lo planteado en las normas aplicables a ellas y que se ve reflejado en la calidad de lo generado y en el propio sistema de la calidad. Debido a los costos de los servicios de mantenimiento, calibración de equipo o certificación de materiales de referencia que los laboratorios requieren, los costos de los servicios o productos se elevan. Particularmente, el caso de los laboratorios secundarios, al prestar los servicios de calibración y certificación de materiales de referencia, a su vez, requieren de la trazabilidad adecuada. Sin embargo, este tipo de servicios puede resultar considerablemente costoso. Siendo, en algunos casos, un gran espectro de posibilidades de servicios que las empresas demandan, resulta aun más costoso dar servicios a toda la demanda, porque ello necesariamente requiere de garantizar la trazabilidad.

Por lo anterior, surge el interés de obtener un procedimiento, que nos permita garantizar la trazabilidad sobre materiales de referencia en los intervalos de valores obtenidos que aún no han sido reportados en el certificado de calibración.

En éste capítulo, se aborda lo concerniente al planteamiento de la obtención de valores de calibración no reportados para lectores de microplacas de ELISA específicamente, aunque hay que resaltar, que el procedimiento desarrollado se puede extender a otros equipos o materiales que presenten las mismas características cualitativas que el analizado en éste trabajo.

1.1. HIPÓTESIS

Dado que se puede asignar una incertidumbre a los materiales por caracterizar, de manera directa sobre los valores en los que el Centro Nacional de Metrología (CENAM) calibra el espectrofotómetro Cary 5 000 o caracterizar los materiales de referencia del laboratorio, se puede asignar valores sobre estos, sin embargo, cuando los valores a medir no son estos, se plantea lo siguiente:

“Se puede asignar valores a las mediciones de micro placas de ELISA mediante la interpolación de Lagrange y Newton, en intervalos de valores reportados que no han sido caracterizados”.

La hipótesis anterior nos permitirá cumplir con ciertos objetivos de este trabajo de investigación, las cuales trataremos en el siguiente punto.

1.2. OBJETIVOS

Este trabajo de investigación se realiza teniendo un objetivo general y un objetivo específico, los cuales se enuncian enseguida:

1.2.1. OBJETIVO GENERAL

Construir un procedimiento de interpolación, para analizar valores de calibración en lectores de microplacas de ELISA cuyos valores no se han reportado en el certificado de calibración de los materiales de referencia certificados utilizados en la calibración de éstos equipos de laboratorio.

1.2.2. OBJETIVO ESPECÍFICO

Analizar el método de interpolación de Newton y Lagrange y aplicarle a los valores reportados en el certificado de calibración, para obtener aquellos valores que no han sido reportados.

Los objetivos que permiten la realización de esta investigación, son afectados por variables que influyen en la naturaleza del problema en estudio, los cuales se tratan en el próximo apartado.

1.3. VARIABLES

En todo fenómeno de la naturaleza, se observa la presencia de una o más variables que lo afectan ya sea directa o indirectamente, teniendo una considerable repercusión en él, por lo que, para poder entender y comprender mejor dichos fenómenos es necesario identificar las variables que los afectan. Por lo tanto, identificaremos las variables que repercuten en nuestro problema de estudio y de esta manera realizar una buena manipulación de ellas. Enseguida se enlistan las variables dependientes y las variables independientes de nuestra investigación.

1.3.1. VARIABLES DEPENDIENTES.

Las variables dependientes que afectan de manera directa los resultados de nuestra investigación son las siguientes:

- Certificado de calibración.
- Calidad de los datos.
- Instrumento de medición.
- Incertidumbre de la medición.
- Materiales de referencia.
- Calibración del instrumento de medición.
- Condiciones ambientales y de operación del laboratorio.
- Personal Técnico.

1.3.2. VARIABLES INDEPENDIENTES.

Las variables que influyen de manera independiente a nuestro problema de estudio son las siguientes:

- Norma ISO 17025.

Las variables presentes en nuestro problema de estudio lo convierten en un tema amplio y por lo cual, es necesario limitar nuestro tema, el cual se trata en el siguiente punto.

1.4. DELIMITACIÓN DEL TEMA

Nuestro tema de investigación abarca un campo amplio, ya que trata de un tema primordial para los laboratorios de ensayo y calibración, debido a la gran demanda de calidad exigida en el mercado, sin embargo, nos enfocaremos en la construcción de un procedimiento que nos permita obtener, por medio de la interpolación de Newton y Lagrange, valores que no han sido reportados en el certificado de calibración para la calibración de lectores de micro placas de ELISA, lo que representa una gran ventaja económica para los laboratorios que utilizan este instrumento.

Este trabajo se realizó en el Laboratorio de Biofísica del Instituto de Física y Matemáticas de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo durante los meses de septiembre a noviembre, con una duración de cuatro horas diarias. Se utilizan los valores de absorbancia reportados en el certificado de calibración del Espectrofotómetro Cary 5000 de la región UV-vis correspondiente a siete Materiales de Referencia Certificados cada una a seis longitudes de onda diferentes entre 440 nm a 750 nm, con dichos valores se obtienen las ecuaciones de interpolación con los algoritmos de interpolación de Lagrange y Newton

Si se logra satisfacer la hipótesis y cumplir con los objetivos establecidos, este trabajo permitirá a los laboratorios que utilizan lectores de micro placas de ELISA, no solo cumplir con la normatividad correspondiente, sino además satisfacer su política de calidad y de esta manera contribuir en la obtención de resultados confiables que serán reflejados de alguna manera en un diagnóstico correcto a los pacientes, para el caso de los laboratorios clínicos que utilizan estos instrumentos.

Sin embargo, es importante señalar que se requiere por parte del laboratorio que emplea interpolación considerar validar los resultados a fin de considerarlo como un método apropiado para el laboratorio.

CAPÍTULO II

Marco referencial

La necesidad de sustentar el conocimiento con base científica y filosófica, hace posible la elaboración del siguiente capítulo. En el se estudian aspectos en torno a los lectores de microplacas de ELISA y la normatividad establecida para laboratorios que cuentan con sistemas de gestión de calidad técnicos y administrativos.

Éste capítulo, se encuentra dividido en cuatro grandes partes como son: el marco histórico, en el cual, se analiza la evolución que ha tenido la calidad a lo largo del tiempo, con el fin de conocer los acontecimientos más sobresalientes que han repercutido para que la calidad se entienda como la conocemos actualmente; el marco filosófico, que ha hecho posible la elaboración y utilización de los instrumentos de medición, el marco legal, que rige a los laboratorios, en particular los de ensayo y calibración, tanto de carácter nacional como internacional, el marco teórico, el cual abarca desde las propiedades de la luz, análisis espectro químico, lectores de microplacas de ELISA, características de los espectrofotómetros, materiales de referencia, cálculo de la incertidumbre en las mediciones, caracterización de los instrumentos de medición espectrofotométricos, y de manera especial los algoritmos matemáticos que nos permitirán la elaboración de este trabajo de investigación.

2.1. Marco Histórico

El hombre ha utilizado su ingenio, creatividad, experiencia, inteligencia, conocimiento, filosofía, etc., para mejorar constantemente su forma de vida, implementando para ello procedimientos, normas, métodos, entre otros, que le permitan conseguirlo. Tal es el caso de la implementación de sistemas de gestión de la calidad, cuya filosofía se basa en el Kaizen, el cual establece que *hay que buscar el camino que nos permita un armonioso paso y utilización de la energía* [1]; reflejándose esta última en las distintas oportunidades de mejora continua que utilizan actualmente los organismos certificados o acreditados bajo una determinada normatividad, y no solo en ella, sino también cobra importancia a nivel de satisfacción personal al realizar las actividades cotidianas con mayor calidad.

La calidad ha evolucionado a través del tiempo, esto se observa en las diferentes épocas que han marcado su desarrollo. En la época artesanal el concepto de calidad se entiende como la realización de un trabajo aun si los precios son elevados, satisfacer el orgullo del artesano y el darle gusto al cliente. Sin embargo, en la época de la industrialización, la calidad pasa a ser la producción elevada, sin tomar en cuenta si el trabajo estaba hecho correctamente, debido a la gran demanda de productos [2]. En cambio, en la época de la Segunda Guerra Mundial a raíz de los problemas que se tenía en el armamento utilizado por la Industria Militar Norteamericana, se estableció un cambio sumamente importante en el concepto de la calidad, ya que no solo importaba la cantidad de los productos elaborados, sino que además garantizaran su adecuada y correcta utilidad, por tanto, la calidad se concebía como la garantía de generar armamento con la mayor producción, eficacia y eficiencia sin importar su costo [3], pero ya en la posguerra se dividen dos concepciones de la calidad, por una parte, la forma en la que Japón lo concebía (hacer las cosas bien a la primera) y por otra, como lo interpretaba el resto de los países (concepto de la industrialización), por la elevada demanda de producción para reconstituir los daños a causa de la guerra [2].

No cabe duda que la calidad se ha globalizado en los últimos tiempos y que los organismos que venden productos o servicios tienen la necesidad de satisfacer las exigencias del mercado para poder sobrevivir y competir con otros organismos. En la actualidad la calidad deja de ser un lujo para pasar a ser un derecho exigido por la sociedad. [2]

2.1.1. Antecedentes de la normalización.

Varios acontecimientos del ser humano desde la antigüedad, sugieren que la normatividad inicia junto con la humanidad, así por ejemplo se sabe que desde la antigüedad, los pueblos egipcios establecían módulos de medición para ladrillos y piedras. Sin embargo, la Revolución Industrial (XIX) es la que da origen a la normatividad con base científica y sistemática, aunque el impulso definitivo fue establecido por la Primera Guerra Mundial, al recurrir a la industria privada para abastecer a la Industria Militar, a la cual ya se le exigían ciertas especificaciones para poder vender sus productos. [4]

Después de la Primera Guerra Mundial, las barreras políticas caen y se inicia una nueva era en la comercialización nacional. La economía se expandió y creció el inter-

cambio comercial, las empresas empezaron a establecer como única salida, al mercado de exportación, de las frecuentes crisis de los mercados nacionales, dando origen de esta manera a la necesidad de regular las relaciones comerciales. [5]

Debido a los acontecimientos anteriores, el 22 de diciembre de 1917 los ingenieros alemanes Naubaus y Hellmich integraron el primer organismo de normalización conocido como NADI (Normen Ausschuss der Deutschen Industrie), que posteriormente en 1975 se denominó DIN (Deutscher Industrie Normen). En 1918 se constituye en Francia el AFNOR (Asociación Francesa de Normalización) y en 1919 en Inglaterra se constituye la BSI (British Standards Institution). Sin embargo, se fundó en Londres (1926) la ISA (International Federation of the National Standardization Association) que en 1947 fue sustituido por la ISO con sede en Ginebra. [4]

Aunque la palabra ISO (International Organization for Standardization) es un acrónimo, también es un término derivado del griego “ISOS” que significa “Igual” [7, 6]. La ISO está constituida por más de 153 países miembros y ha elaborado más de 11 000 normas, empezó a ser reconocida por la comunidad después de publicar las normas ISO 9 000. Las normas ISO son de cumplimiento voluntario, aunque actualmente son exigidos internacionalmente [8].

Es necesario señalar algunos de los acontecimientos sobresalientes que han dado lugar a la normatividad, que se conoce hoy en día, los cuales se enlistan a continuación [8]:

- 1900 Inspección como actividad.
- 1930 Muestreo estadístico.
- 1950 Prácticas de aseguramiento de calidad en las empresas.
- 1970 Idem a nivel nacional.
- 1979 Normas para el aseguramiento de la calidad, BS 5 750.
- 1987 Basadas en la BS 5 750 se editan las normas ISO serie 9 000.
- 1994 Se realiza una revisión de las normas base.
- 2000 Se realiza la última revisión de las normas base.

2.1.2. Evolución de las primeras normas.

Con el fin de entender la normatividad actual es necesario conocer la evolución de las primeras normas de la calidad, para lo cual hacemos hincapié a las normas ISO 9000.

La necesidad de unificar el idioma de la calidad y permitir una sana relación comercial entre las naciones, así como la regulación de las actividades de comercio que garantizaran la calidad, tanto de productos como de servicios intercambiados en el mercado, hace posible la elaboración de las normas ISO 9000. [5]

En 1987 aparece la primera edición de las normas ISO 9001, ISO 9002 e ISO 9003, posteriormente, en 1994 se revisan éstas y se publica la segunda edición con vigencia del 14 de diciembre de 2003, aunque en el año 2000 se revisaron y fueron sustituidas por la ISO 9001:2000, el cual hizo hincapié a la efectividad del sistema de calidad y al mejoramiento del trabajo de las organizaciones, dicha norma fue sometida a revisión en el 2008 y se publicó la cuarta edición el 15 de noviembre del mismo año, sin embargo, esta edición no contiene nuevos requisitos sólo los aclara debido a la experiencia observada durante ocho años y señala cambios para mejorar la relación entre el sistema de calidad y el medio ambiente. [8]

Actualmente las normas ISO enfocan a la calidad como un sistema basado en procesos donde se desarrolla, implementa y mejora la eficacia de un sistema de la calidad, con el fin de satisfacer las necesidades del cliente al cumplir con los requerimientos establecidos en ella. Tal como se muestra en la figura 2,1. [9]

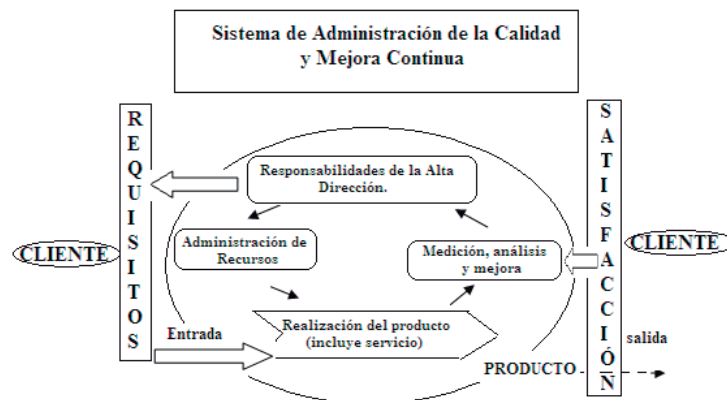


Figura 2,1. Sistema de Gestión de la Calidad. [8]

2.1.3. Antecedentes de la Norma NMX-EC-17025-IMNC-2006 (Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración).

La primera edición de esta norma fue realizada como consecuencia de la experiencia adquirida después de la implantación de las normas NMX-EC-025-IMNC y de la EN 45001, a las cuales reemplaza. Dicha norma hacía referencia a las normas NMX-CC-003-1995-IMNC y NMX-CC-004-1995-IMNC. Estas normas han sido reemplazadas por la norma NMX-CC-9001-IMNC-2000, lo que hizo necesario alinear la norma NMX-EC-17025-IMNC. Las modificaciones realizadas a esta segunda edición han sido por referencia de la NMX-CC-9001-IMNC-2000. [10]

2.2. Marco Filosófico

Gracias a la percepción de las cosas por medio de los sentidos, experiencia, inteligencia, capacidad de análisis e inducción, ya sea con la ayuda de un instrumento o de manera natural, el hombre ha podido hacer ciencia y filosofía. Estos son los medios por los cuales el ser humano se ha valido para entender y explicar los fenómenos de la naturaleza y más aún la explicación de su misma presencia. Se sabe que antes del siglo XVII, la ciencia y la filosofía se entendían como una misma cosa, sin embargo, ahora se conciben como dos conceptos diferentes, aunque de cualquier forma ambos conforman el conocimiento, el cual, ha permitido a la humanidad comprender y entender mejor el universo y mejorar cada día su forma de vida.

Debido a que todo conocimiento científico se fundamenta en la filosofía que el ser humano ha ido conceptualizando a lo largo de su historia, es importante para nosotros la elaboración de éste apartado en el presente capítulo, con el fin de establecer y comprender los principios filosóficos más sobresalientes que abrieron paso al desarrollo de nuestro trabajo de investigación, como son el concepto filosófico de la existencia, el concepto de la verdad, la filosofía de la ciencia, el principio de Ernest Mach, el principio de la medición y el principio de indeterminación de Heisenberg.

2.2.1. Filosofía de la existencia

Desde que el hombre ha tenido uso de razón, se ha cuestionado acerca de muchos sucesos, fenómenos, hechos, acontecimientos, etc., una de las fundamentales cuestiones con la que se ha enfrentado es acerca de la *existencia*, el cual, no ha podido ser resuelto debido a que su concepto se contrapone a la esencia, y su definición se refiere a la esencia. Sin embargo, para los existencialistas, dicho término significa “el modo de ser del propio hombre”, por lo que, entonces, la existencia es estar presente y relacionarse con su alrededor, mientras que Berkeley dice que “lo único que posee existencia real, es el mundo de las sensaciones”. Lo anterior significa que entonces la existencia es la forma de percibir las cosas. [11]

2.2.2. Filosofía de la verdad

La *verdad* es un concepto utilizado frecuentemente en todos los ámbitos. Sin embargo, no se tiene un concepto bien definido, ya que depende del contexto total e histórico del pensamiento del autor. Se ha observado a lo largo de la historia el interés por conocer y definir la verdad, así Platón y Aristóteles definen lo verdadero como “algo que permanece, lo que no varía, lo que siempre es de la misma manera, es la forma o la idea que se oculta detrás de la apariencia”, sin embargo, Tomás de Aquino lo define como la “adecuación del intelecto a la cosa”, mientras que para Descartes, la verdad es “todo lo que se presenta a la conciencia con una certeza absoluta”. Entonces debido a que nada se puede conocer con toda la certeza, el ser humano no puede conocer la verdad, sólo se aproxima a ella según sus habilidades y herramientas. [12]

2.2.3. Filosofía de la ciencia

Existen varias concepciones acerca de la ciencia, así, Popper establece que la ciencia está en progreso continuo, aunque es revolucionario y no solamente acumulativo, sino también en cierto sentido conservador: una nueva teoría siempre será capaz de explicar plenamente el éxito de su predecesora. Mientras que Descartes y Bacon conciben a la ciencia como una pirámide cuya cúspide se encuentra ocupado por los principios o leyes más generales de la realidad, aunque cada quien expresa su forma de alcanzar dicho conocimiento. Para Bacon, se llega a esa cúspide por medio de inducciones progresivas, basadas en observaciones y experimentos, mientras que para Descartes, el conocimiento científico inicia en la cumbre y de ahí procede hacia abajo, siguiendo el

camino de la deducción, hasta llegar a la base, o sea la naturaleza real. La proposición de Descartes, tiene varias implicaciones filosóficas, una de las cuales es la siguiente: “la certeza en el conocimiento puede alcanzarse a priori, o sea en ausencia de la realidad”. Estos principios han dado origen a la ciencia que hoy en día conocemos. [13]

2.2.4. Filosofía de la causa efecto

Una de las cuestiones que nos hacemos constantemente es porqué suceden así las cosas. “Toda causa tiene su efecto; todo efecto tiene su causa; todo sucede de acuerdo con la Ley; la suerte no es más que el nombre que se le da a una Ley no conocida; hay muchos planos de causalidad, pero nada escapa a la Ley”. De acuerdo a lo anterior todo lo que ocurre, lo hace obedeciendo a distintas Leyes ya sean físicas, químicas, entre otras, dominando las superiores a las inferiores. [14]

2.2.5. Filosofía del principio de Ernest Mach

El principio de Mach establece que “cualquier propiedad de los cuerpos debería determinarse por la influencia del resto del universo”. Este principio es uno de los que más ha aportado a la ciencia, ya que en la mayoría de los experimentos que se realizan en las distintas disciplinas es a través del estudio no de los fenómenos propios sino de las relaciones que establecen con aquellos de los que se encuentran rodeados. [15]

2.2.6. Filosofía de la medición

“Toda medición debe asegurar una adecuada representación del atributo real medido mediante los símbolos o números asignados”. Una representación adecuada ocurre cuando un atributo es coherente con la idea conceptual y esta es aceptada por los expertos. Para realizar una medición se necesita determinar qué entidad medir y qué atributo deseamos caracterizar. Así los datos obtenidos preservarán las relaciones que existen entre las identidades determinadas. [16]

2.2.7. Filosofía de la indeterminación de Heisenberg

El también conocido como Principio de Incertidumbre de Heisenberg. Establece lo siguiente: “es imposible conocer simultáneamente la posición y la velocidad del electrón, y por tanto, es imposible determinar su trayectoria. Cuanto mayor sea la exactitud con que se conozca la posición, mayor será el error en la velocidad y viceversa. Solamente

es posible determinar la probabilidad de que el electrón se encuentra en una región determinada”. Esto significa que, en realidad no se puede conocer un fenómeno tal y como es, debido a que cuando nos acercamos a la realidad de una de sus propiedades nos alejamos del conocimiento de sus otras propiedades, a causa del error. [17]

2.3. Marco Legislativo

Las normas para que se puedan elaborar, conocer, implementar, actualizar y cumplir, necesitan de organismos que las hagan posible, para el caso de las normas de calidad, por ser de carácter internacional compete a la ISO cumplir con esa tarea, posteriormente, a los organismos nacionales, estatales y locales reconocidos, a colaborar con la misma obligación. Por lo anterior, se resalta la importancia de conocer los organismos que regulan las actividades correspondientes en este ámbito, facilitándose así, el cumplimiento de las normas que sean aplicables a los diferentes sectores involucrados.

2.3.1. Estructura general de la ISO

La ISO se encuentra compuesta por tres tipos de miembros [18]:

- Miembros natos: uno por país, recayendo en el organismo nacional más representativo.
- Miembros correspondientes: organismos de países en vías de desarrollo que todavía no poseen un comité nacional de normalización. No toman parte activa en el proceso de normalización pero son informados acerca de los trabajos que les interesen.
- Miembros suscritos: países con reducidas economías a los cuales se les exige el pago de tasas menores que a los miembros correspondientes.

La ISO está conformada por [19]:

- **Asamblea General.**

Se constituye por un grupo de Delegados nombrados por los Organismos Miembros. Esta Asamblea debe reunirse por lo menos cada 3 años y en la sesión tienen derecho a un voto por cada uno de los acuerdos emanados.

- **Consejo.**

Organismo constituido por un Presidente y representantes de los 18 organismos, duran en su cargo 3 años, sus funciones principales son las de vigilar que el trabajo que se realice se lleve a cabo dentro de las disposiciones de los Estatutos y Reglas de Procedimiento de la Organización. Para llevar a cabo en forma eficaz sus funciones, el Consejo ha creado los siguientes órganos:

- ♦ Junta Directiva:

Asesoría al Consejo en todos los asuntos pertenecientes a la organización, coordinación y planeación del trabajo técnico de la ISO. Revisa y aprueba títulos y alcances de Comités Técnicos individuales con el fin de garantizar la mayor coordinación, examina recomendaciones apropiadas al Consejo, recomienda el establecimiento o eliminación de Divisiones Técnicas.

- ♦ Comités Técnicos

Realizan el trabajo técnico. Cada comité puede establecer subcomités (SB) y Grupos de Trabajo (GW) para cubrir sus campos de especialización. A estos se les asignan números siguiendo el orden progresivo en el que fueron creados, empezando por el ISO-TC-1 creado en 1947, hasta el ISO-TC-218 creado en 1998. Al disolverse un Comité Técnico su número no es asignado a otro nuevo comité. A los organismos que deciden participar de forma activa en el trabajo del Comité Técnico se le designa el nombre de Miembros participantes (P) mientras que los países que sólo deseen estar comunicados del trabajo realizado por los comités son registrados como Miembros Observadores (O). La mayor parte del trabajo se realiza por correspondencia y solamente cuando sea justificado se convoca una reunión internacional.

2.3.2. Derechos y obligaciones para los organismos participantes

Los derechos y las obligaciones que aplican a los organismos que integran a la ISO son las siguientes [9]:

Derechos:

- Voz y voto en las reuniones de la Asamblea General.

- Integrar y participar en los Comités Técnicos que se constituyan, para dar cumplimiento a los objetivos de la ISO.
- Recibir los oficiales del Secretariado Central de la ISO.
- Emitir comentarios y observaciones a los documentos técnicos.

Obligaciones:

- Cumplir con las directrices de la ISO/IEC (International Electrotechnical Commission) y con las decisiones que emanan de la Asamblea y el Consejo.
- Asistir a las Reuniones de la Asamblea y del Consejo, si se participa como miembro del último.
- Votar en casos correspondientes, o abstenerse si se desea.
- Pagar la cuota que establezca el Consejo de la ISO.

2.3.3. Organismos Internacionales de Normalización

A continuación se enlistan algunos organismos internacionales de normalización [20, 21]:

- ✓ AENOR (Asociación Española de Normalización y Certificación, única entidad reconocida en España para realizar las tareas de normalización y certificación y para representar a nuestro país en los organismos internacionales, europeos y regionales: ISO, IEC, CEN, CENELEC, ETSI, COMPANT. Su página web ofrece información sobre el proceso de certificación, publicación de nuevas normas, jornadas.
- ✓ AFNOR (Association Francaise de Normalization), organismo responsable de la normalización y certificación en Francia y de representar a dicho país en los organismos internacionales. Ofrece información sobre el proceso normativo en Francia, novedades, publicaciones, así como la posibilidad de comprar en línea la normativa.
- ✓ ANSI (American National Standards Institute), organización nacional de normalización norteamericana, que permite acceder a su propio catálogo de normas y al de diferentes entidades normativas norteamericanas e internacionales.
- ✓ API (American Petroleum Institute) tiene como misión impulsar a la industria del petróleo y del gas natural y para ello elabora normas sobre estas material y da acceso a través de su página a documentos, informaciones y enlaces de interés.

- ✓ ASTM (American Society for Testing and Materials), es un organismo que elabora normas sobre materiales, productos, sistemas y servicios.
- ✓ BSI (British Standard Institution), organismo responsable de la normalización en el Reino Unido.
- ✓ CEN (Comité Europeo de Normalización), reúne información de interés sobre esta materia en Europa.
- ✓ CENELEC (Comité Europeo de Normalización Electrotécnica), es el organismo de normalización europeo para la electrónica.
- ✓ DIN (Deutsches Institut für Normung), instituto alemán para la normalización.
- ✓ ECSS (European Cooperation for Space Standardization), iniciativa establecida para desarrollar un conjunto coherente de normas para ser usadas en todas las actividades espaciales europeas.
- ✓ EPA (Environmental Protection Agency), da acceso a la información y recursos relacionados con el medio ambiente.
- ✓ ETSI (Instituto Europeo de Normas de Telecomunicación), es el organismo europeo de normalización sobre telecomunicaciones.
- ✓ IEC (International Electrotechnical Commission), organismo que elabora normas internacionales sobre electricidad, electrónica y tecnologías relacionadas.
- ✓ ISO (International Organization for Standardization), que permite la búsqueda de las normas certificadas por esta institución.
- ✓ NIST (National Institute of Standards and Technology), organismo que depende de U. S. Commerce Department's Technology Administration, su fin es elaborar normas para aumentar la productividad, facilitar el comercio y elevar la calidad de vida.
- ✓ SAE (Society of Automotive Engineers), elabora normas sobre aeronáutica y automóviles.

2.3.4. Normatividad en México

Inicia el proceso de adecuación a la Normalización Internacional en nuestro país el 26 de enero de 1988 al publicarse la Ley Federal sobre Metrología y Normalización (LFMN), gracias a la apertura de la economía mexicana. Sin embargo, la normatividad mexicana es amplia, y abarca la regulación de las materias concurrentes y las normas oficiales mexicanas así como las normas mexicanas. Los objetivos que pretenden dichas

normas son la legalidad, la sistematicidad y el carácter textual, incrementando de esta manera la calidad de los productos y servicios realizados por los diferentes organismos. [22]

La ISO en México se encuentra formada por varios organismos, con el fin de incorporar al sector privado, gubernamental y educativo a la normatividad correspondiente a la calidad. Entre los organismos nacionales se encuentran: La Dirección General de Planeación y administración (DGPA), la Dirección General de Normas (DGN), las empresas autorizadas para implementar y auditar normas ISO y en el sector educativo se encuentran las instituciones de miembros de la ANUIES (Asociación Nacional de Universidades e Instituciones de Educación superior). [23]

2.3.5. Acerca de la NMX-EC-17025-IMNC-2006

Esta norma establece en el punto 5.5.2 las condiciones en las que deben operar los equipos de ensayo o de calibración, además se especifica que el laboratorio debe de establecer programas de calibración para las magnitudes o valores esenciales de los instrumentos cuando estas propiedades afecten significativamente a los resultados. [10]

2.4 Marco Teórico

En este apartado se revisará el fundamento bibliográfico de temas tales como: la medición, las propiedades de la luz, espectrofotometría, lectores de ELISA, cálculo de incertidumbre en las mediciones, materiales de referencia, caracterización del espectrofotómetro y los algoritmos matemáticos que se utilizarán en este trabajo, con el fin de tener un respaldo teórico y científico al respecto.

2.4.1. Medición

Una de las actividades rutinarias más importantes y delicadas es la medición, del cual parten muchas opiniones, resultados y acciones de manera favorable o desfavorable para un determinado propósito.

Según el Vocabulario Internacional de Metrología (VIM) [24]:

La medición es un “*proceso que consiste en obtener experimentalmente uno o varios valores que pueden atribuirse razonablemente a una magnitud*”.

La magnitud se refiere a las “*propiedades de un fenómeno, cuerpo o sustancia que puede expresarse cuantitativamente mediante un número y una referencia*”.

2.4.1.1. Importancia de realizar una medición.

Según Lord Kelvin, un sujeto se empieza a conocer cuando podemos medirlo y expresarlo en números. La ciencia se ha desarrollado junto con el desarrollo de las medidas, las leyes físicas se han podido determinar dado que se pueden detectar y medir las magnitudes físicas. Es por tanto, la medición, una de las actividades más comunes en las diferentes disciplinas científicas y en las actividades diarias del individuo. [25]

Cabe señalar que no todo se puede medir, ya que existen en la realidad otros fenómenos que hasta ahora no se han podido medir, como es el caso de los sentimientos, por dar un ejemplo.

La medición está determinada por muchos factores, entre ellas, el procedimiento de medición, el método de medición y el sistema de medida utilizado, variando por consecuencia una medición de otra [24]. Sin embargo, la coherencia de la ciencia se fundamenta en que las mediciones de una misma magnitud por procesos diferentes deben de dar resultados aproximadamente iguales [26].

2.4.1.2. Sistema Internacional de Unidades

La necesidad de uniformar y garantizar la equivalencia de mediciones, hace posible el establecimiento de Sistemas de Unidades de Medida. Actualmente se tienen establecidos el Sistema Internacional de Unidades y el Sistema Inglés de Unidades [25]. A continuación solo se abordará del primero por ser de nuestro interés.

El sistema Internacional de Medidas se fundamenta en siete unidades (metro, kilogramo, segundo, Ampere, Kelvin, mol, candela, véase el glosario) de las cuales se pueden derivar otras. [27, 28]

2.4.1.3. Método de medida

El método de medida se define como una “descripción genérica de la secuencia lógica de operaciones utilizadas en una medición”. Existen diferentes métodos de medición entre ellas se encuentran el método de sustitución, método diferencial y método de cero o método directo e indirecto. [29]

2.4.1.4. Ley de propagación de errores

Una función constituida por parámetros experimentales independientes se encuentra asociado a su valor un error, debido al error de medición presente en cada uno de sus parámetros. La ley de propagación de errores se expresa como [28]:

$$\sigma(f) = \Delta f(x_1, \dots, x_n) = \sqrt{\sum_{i=1}^n \left[\frac{\partial f_i}{\partial x_i} \right]_{\bar{x}}^2 \sigma^2(x_i)}$$

(Ec. 1)

Esta ley nos permite conocer la forma en que se propaga el error asociado al valor de una función, al considerar los parámetros experimentales independientes de las cuales se encuentra constituido y que tienen asociado un error de medición.

2.4.1.5. Error en las mediciones

Debido a los diferentes factores que influyen en la medición, no se puede medir una magnitud con certeza, es decir, sin error. El error de medida se define como la “*diferencia entre un valor medido de una magnitud y un valor de referencia*” [24]. Los errores de medida se clasifican en:

- **Errores sistemáticos de medida**

Son “*componentes del error de medida que, en mediciones repetidas, permanece constante o varía de manera predecible*” [24]. Estos errores son difíciles de detectar ya que generalmente son consecuencia de las imperfecciones de las leyes físicas que se emplean como fundamento en la elaboración de los instrumentos de medición o la imperceptibilidad del observador. Pueden tener diferentes orígenes, tales como: errores de calibración de los instrumentos utilizados, errores personales, condiciones experimentales, imperfección de la técnica empleado, entre otros [26].

- **Errores aleatorios de medida**

Se entiende por error aleatorio al “*componente del error de medida que, en mediciones repetidas, varía de manera impredecible*” [24].

2.4.1.6. Validación de la medición

La validación es la “*verificación de que los requisitos especificados son adecuados para un uso previsto*” [2]. Este es llevado a cabo para demostrar que el método de medición es útil y adecuado para realizar la actividad por la cual fue elaborado, además para cumplir con la normatividad establecida en el apartado 5.4.5.2 y 5.4.5.3 de la NMX-EC-17025-IMNC-2006, en las cuales se especifica que un laboratorio debe de validar de manera parcial o total los métodos no normalizados o aquellos que estén normalizados pero son utilizados fuera de las especificaciones de algún parámetro establecido en el método [30].

Los parámetros que se recomiendan para la validación de un método de medición son los siguientes [26]: sensibilidad, selectividad, reproducibilidad, recuperación, repetibilidad, robustez, incertidumbre, límite de cuantificación, sesgo, límite de detección, intervalo de trabajo y ámbito lineal (véase el glosario).

2.4.2. Pruebas de ELISA

La prueba de ELISA por sus siglas en inglés (Enzyme Linked Immunoabsorbent Assay), consiste en hacer reaccionar directa o indirectamente un antígeno que se encuentra inmovilizado en una fase sólida, con un anticuerpo específico, esta reacción forma uno o más compuestos coloridos que son cuantificados por medio de un espectrofotómetro [31], (ver Figura 2,2).

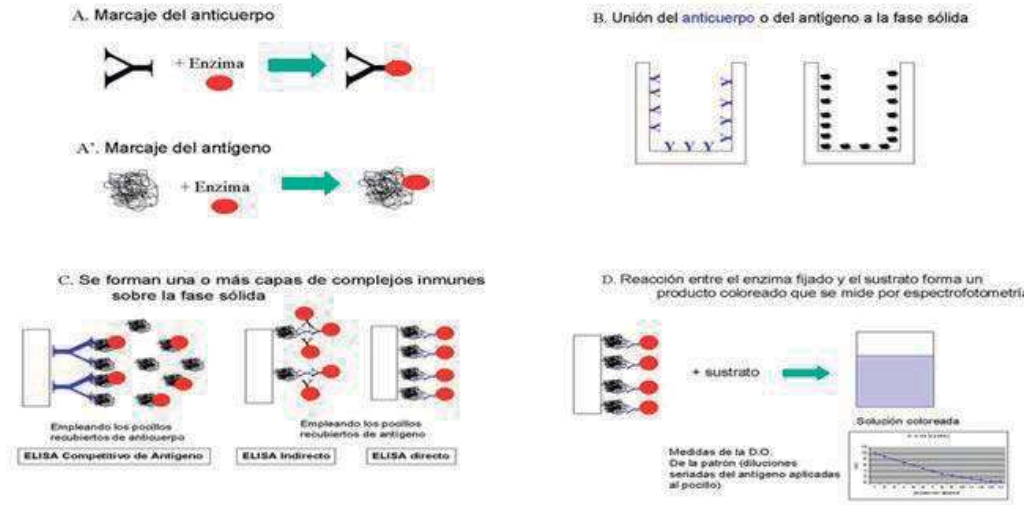


Figura 2,2. Técnica de ELISA. [31]

Esta prueba es una de las herramientas más utilizadas en el campo de las ciencias biológicas, la investigación científica básica y avanzada, la biotecnología, entre otras, por su facilidad de realización, alta sensibilidad de algunas pruebas de ELISA, versatilidad y robustez [32]. Así por ejemplo se emplea en el diagnóstico médico, la industria de alimentos, el estudio y control del medio ambiente, en estudios serológicos, hematológicos, endocrinológicos, oncológicos, en los trasplantes, la medicina forense, la antropología, en la determinación de hormonas y proteínas plasmáticas, antígenos tumorales, drogas, Antígenos y Anticuerpos de microorganismos (hongos, bacterias, virus). Los resultados obtenidos por esta prueba, en el caso de diagnóstico médico, ayudan a la planeación de un buen tratamiento de las enfermedades y patologías en el ser humano. [33]

Es importante señalar que el espectrofotómetro que se utiliza en dicha técnica no es semejante al que se conoce ordinariamente, ya que posee filtros o rejillas que limitan el rango de longitudes de onda solamente a aquellos que se utilizan en la técnica, la cual comprende generalmente un rango entre 400 y 750 nm, además su sistema óptico utiliza la fibra óptica para poder iluminar los pozos de la placa (ver figura 2,3), la iluminación tiene un diámetro de 1 – 3 mm, un sistema de detección que amplifica los resultados haciendo posible su interpretación. En la actualidad los lectores de ELISA tienen microprocesadores que con la ayuda de una computadora permiten la automatización de estos procesos de ensayo. [34]



Figura 2.3. Microplacas de ELISA. [35]

Ya que los lectores de ELISA son espectrofotómetros de radiación UV – visible es necesario conocer sus características desde los generales hasta los particulares, los cuales analizaremos en el siguiente punto como una parte del análisis espectro químico.

2.4.3. Análisis espectroquímico

Una de las actividades más recurrentes en diferentes áreas de la ciencia es el análisis cualitativo y cuantitativo de diferentes muestras. Para ello, el ser humano ha elaborado diferentes técnicas, métodos, procedimientos, instrumentos y equipos, para facilitar y garantizar la calidad en dicha tarea. Una de las técnicas más utilizadas es el análisis espectroquímico; así por ejemplo en el campo de la química clínica se utiliza el espectrofotómetro de radiación Uv – Visible para cuantificar diversas biomoléculas (metabolitos, anticuerpos, et.), de una muestra biológica o producto de alguna prueba (como el caso de la prueba de ELISA) y con ella establecer un diagnóstico sobre la salud de un paciente [27].

Por lo anterior, estudiaremos lo correspondiente al análisis espectroquímico, ya que es de nuestro interés particular.

El análisis espectroquímico se fundamenta en el principio básico de las propiedades de la luz y de las reacciones químicas que ocurren entre las moléculas de una muestra.

2.4.3.1. Propiedades de la luz

Uno de los avances más importantes en la ciencia, fue el descubrimiento de las propiedades de onda y partícula de la luz. Aparecen grandes personajes de la ciencia en su investigación, como es el caso de Newton, en su teoría corpuscular de la luz, la cual

intentaba explicar los fenómenos de refracción y reflexión de la luz, también aparecen los pioneros de la teoría ondulatoria de la luz, Robert Hooke y Christian Huygens, ellos explicaron la refracción haciendo suposición de que la luz se propagaba más rápido en el aire que en el vidrio o el agua. Newton rechazó la teoría ondulatoria y debido a su gran reputación, su teoría corpuscular de la luz fue aceptada por más de un siglo. [36]

En 1801 Thomas Young observó que dos haces luminosos pueden iluminar menos que cada uno por separado y demuestra este hecho paradójico con la teoría ondulatoria de la luz. Para ello, realiza un experimento que consistía en una pantalla negra a la cual perforó dos agujeros pequeños muy próximos entre ellos, y observó que al acercarlo al ojo la luz de un lejano foco aparece en forma de anillos alternándose entre brillantes y oscuros. [37]

Después de varios sucesos importantes en torno al estudio de las propiedades de la luz tales como: la comprobación de la inexistencia del éter demostrado por Michelson y Morley en 1887, la creación de la teoría electrónica por Lorentz en 1896, la explicación de Albert Einstein sobre el efecto fotoeléctrico, el establecimiento de la teoría de los cuantos por Max Planck en 1909, surge la mecánica cuántica que pudo explicar el comportamiento dual onda partícula de la luz. [38]

2.4.3.1.1 Propiedades ondulatorias de la Luz

Para entender los fenómenos de la radiación electromagnética tales como: la reflexión, refracción interferencia y difracción es necesario presentarla como una onda sinusoidal perpendicular a campos magnéticos y eléctricos como se muestra en la Figura 2.4. El campo eléctrico se presenta como un vector cuya longitud es proporcional a la fuerza del campo. La dirección en la que oscila el campo es perpendicular a la dirección en que se propaga la radiación. [39]

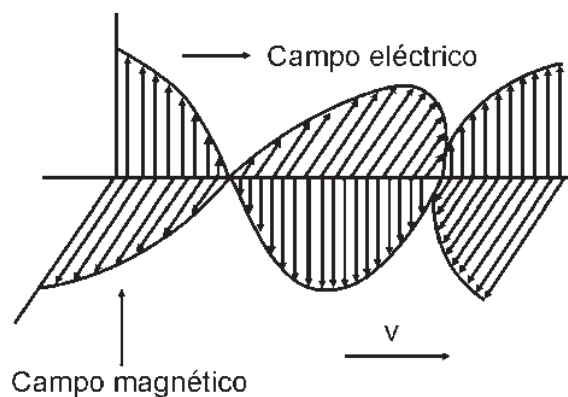


Figura 2.4. Campo electromagnético. El campo eléctrico oscila en forma perpendicular a su propagación y el campo magnético es perpendicular al campo eléctrico. [40]

La amplitud de la onda sinusoidal se define como la longitud del vector del campo eléctrico en su punto máximo, Figura 2.5. El periodo p de la onda se define como el tiempo necesario para el paso de los sucesivos máximos o mínimos por un punto fijo del espacio. La frecuencia ν es el número de oscilaciones del vector del campo por unidad de tiempo. La longitud de onda λ es la distancia lineal entre un punto máximo o mínimo de la onda. [39]

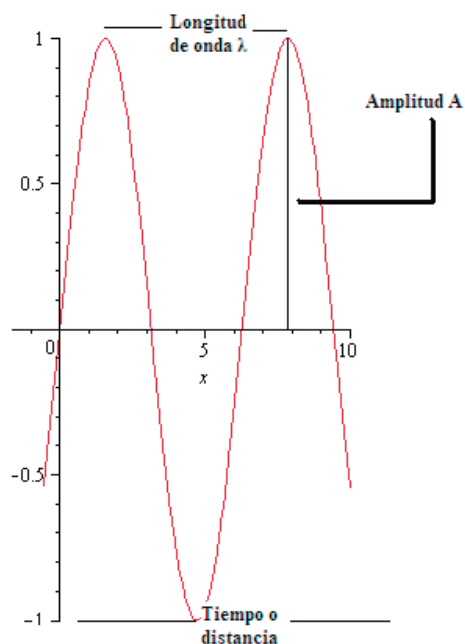


Figura 2.5. Oscilaciones del campo eléctrico. [39]

La frecuencia de una onda electromagnética es dada por la fuente de radiación y no varía al atravesar un medio, sin embargo, la velocidad de la onda es determinada por la composición del medio que atraviesa y de su frecuencia. [39]

$$v = \nu \lambda$$

(Ec. 2)

donde v es la velocidad de propagación, ν es la frecuencia y λ la longitud de onda.

2.4.3.1.1.1 Velocidad de la luz

La máxima velocidad que se conoce hasta el momento, es la de la luz en el vacío ($2,99792 \times 10^8$ m/s), ya que en cualquier otro medio las interacciones que se dan a lugar entre los campos eléctrico y magnético de la materia con respecto al de la luz hacen que su velocidad disminuya. [41]

2.4.3.1.1.2 Potencia e intensidad de la luz

La potencia P de la radiación es la energía (Watts) de un haz que llega a un área determinada por unidad de tiempo. Es la potencia de la radiación por unidad de ángulo sólido. Ambas son proporcionales al cuadrado de la amplitud del campo eléctrico. [39]

2.4.3.1.1.3 Medio de propagación

La luz como onda electromagnética no necesita un medio para propagarse e incluso se propaga en el vacío. [41]

2.4.3.1.2 Propiedades de partícula de la luz

Como se mencionó en el apartado anterior, la luz además de tener propiedades de onda también posee a la vez propiedades de partícula. Para que se demostrara la teoría corpuscular de la luz, se tuvo la necesidad de realizar experimentos, uno de los primeros fue el del efecto fotoeléctrico, el cual consiste en hacer incidir una fuente luminosa de intensidad suficiente para arrancar los electrones de la superficie de un metal, dichos electrones son captados por una placa colectora y es medido con un amperímetro, este fenómeno se expresa de la siguiente manera [37]:

$$\frac{1}{2}mv_{max}^2 = E - W$$

(Ec. 3)

donde m es la masa del electrón, v la velocidad del electrón, E la energía, W el trabajo de extracción.

Un segundo experimento realizado es la radiación del cuerpo negro el cual, permitió que Max Planck supusiera que la radiación en el orificio era absorbida y emitida por osciladores atómicos de las paredes de la cavidad. Dichos osciladores tenían dos características únicas:

- Sus energías están dadas por: $E = nhf$ $n = 0, 1, 2, 3, 4, \dots$ donde E es la energía, f es la frecuencia y h la constante de Planck.
- Emiten energía en cantidades discretas o cuantificada y no continuas, correspondientes a un cambio de una unidad de n dada por [37]:

$$E_{n+1} - E_n = (n + 1)hf - nhf = hf$$

(Ec. 4)

En muchos fenómenos de la radiación electromagnética es necesario considerarla como una partícula o fotón. La energía de un fotón se puede relacionar por su longitud, frecuencia y número de onda como [39]:

$$E = hv = \frac{hc}{\lambda} = hc\bar{\nu}$$

(Ec. 5)

Siendo h la constante de Planck ($6,63 \times 10^{-34}$ J s), λ la longitud de onda, $\bar{\nu}$ el número de onda, v la frecuencia, y E la energía del fotón. Es importante observar que el $\bar{\nu}$ y la frecuencia son directamente proporcionales a la E del fotón. La energía de un haz de fotones es proporcional al número de fotones por segundo.

La interacción que tiene un haz de luz con la superficie de un metal está dada por los choques entre fotones y electrones. Al ocurrir el choque, el fotón desaparece y le cede toda su energía al electrón. Cuando un electrón es emitido por una superficie recibe energía por un solo fotón. Al aumentar la intensidad de la luz sólo se aumenta la

emisión del número de electrones con la misma absorción de energía de cada electrón [36].

La energía cinética máxima para que se desprenda un electrón de la superficie de un metal está dada por [36]:

$$E_{c_{máx}} = \left(\frac{1}{2}mv^2\right)_{máx} = hf - \phi$$

(Ec. 6)

Siendo ϕ la energía mínima necesaria para que se desprenda el electrón de la superficie metálica y es característica de un metal en particular, $E_{c_{máx}}$ la energía cinética máxima de los electrones emitidos, f la frecuencia, h la constante de Planck, m la masa del electrón, v la velocidad del electrón. [36]

2.4.3.2. Interacción de la radiación y la materia

2.4.3.2.1. Espectro electromagnético.

El espectro electromagnético es un conjunto continuo de ondas electromagnéticas que se encuentran ordenadas en función de la longitud de onda y por consiguiente del nivel de energía [42] (ver Figura 2.6).

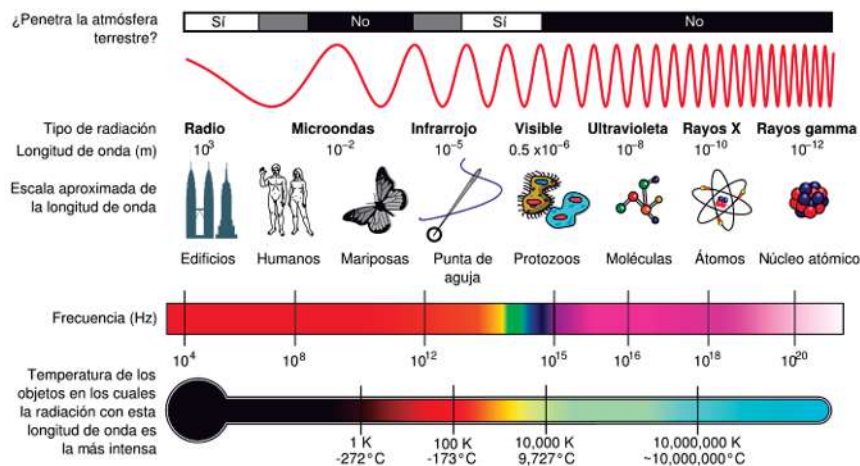


Figura 2.6. Espectro electromagnético [43].

2.4.3.3. Espectroscopia

El conocimiento de las propiedades de la luz y de la materia hace posible la utilización de las mismas para la elaboración de instrumentos tecnológicos que permitan resolver problemas de tipo analítico ya sea cuantitativo o cualitativo.

Las interacciones que ocurren entre la materia y la energía electromagnética, se pueden describir gracias a que los modelos de explicación que existen sobre la materia se fundamentan en las características ondulatorias de las partículas que la componen. [38]

La espectroscopia hace uso de las interacciones de la radiación electromagnética con la materia para obtener información de moléculas o sustancia estudiada en particular. Ya que el analito inicialmente posee la energía en su estado basal, la espectroscopia utiliza energía en forma de calor, electricidad, luz, partículas o sometiéndola a reacción química para estimular la materia a analizar, dicha estimulación provoca una transición de algunas especies del analito a un estado de energía excitado. La radiación emitida del analito al regresar a su estado de energía basal o absorbida para obtener el estado de energía excitado es medida con el fin de adquirir información acerca del analito. Los resultados se representan por gráficos de la radiación (espectro) en función de la frecuencia o longitud de onda. [39]

Por lo anterior, la espectroscopia se divide en espectroscopia de absorción y espectroscopia de emisión. Es importante mencionar, que de acuerdo a la longitud de onda que utilizan los espectrofotómetros también se clasifican en: espectroscopias de rayos X y cristalografía de rayos X, espectroscopia de luz visible, espectroscopia de luz ultravioleta, espectroscopia de resonancia magnética nuclear, entre otras [41]. Sin embargo, de acuerdo a nuestro tema de interés nos enfocaremos únicamente a la espectroscopia ultravioleta visible, la cual se trata en el punto 2.4.3.3.5.2.

2.4.3.3.1. Absorción de la luz

Cada especie molecular es capaz de absorber su propia frecuencia característica electromagnética, como se describe en la figura 2.7. Dicho proceso al incidir una radiación electromagnética en la materia disminuye su intensidad ya que se transfiere energía a las moléculas de ésta. Por tanto, el rayo incidente es atenuado por la absorción de la energía de acuerdo a la Ley de la absorción (Ley de Beer). [39]

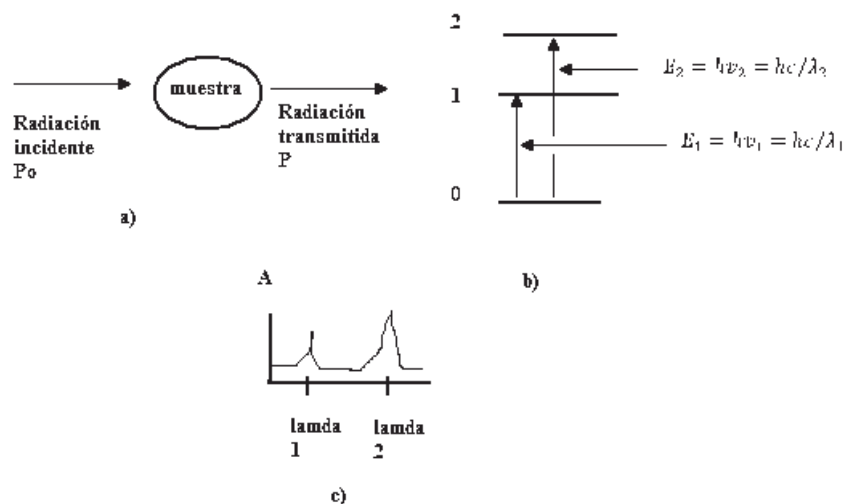


Figura 2.7. Métodos de Absorción. El analito puede absorber parte de la energía radiante incidente P_0 y se transmite un haz de menor energía radiante P . Para que pueda haber absorción, la energía del rayo incidente debe corresponder a uno de los niveles de energía mostrados en b). En c) se ilustra el espectro de absorción del analito [35].

Las medidas de la absorción de la luz se encuentran sujetas a dos leyes, la Ley de Lambert y la Ley de Beer. [44]

2.4.3.3.1.1. Ley de Lambert.

Cuando un rayo de luz monocromática pasa a través de un medio absorbente, su intensidad disminuye exponencialmente a medida que la longitud del medio absorbente aumenta [45] ver figura 2.8.

$$I_1 = I_0 \cdot 10^{-Kl} \quad (\text{Ec. 7})$$

$$\log \frac{I_0}{I_1} = Kl \quad (\text{Ec. 8})$$

Donde I_1 es la intensidad de la luz transmitida, I_0 es la intensidad de la luz incidente, K el coeficiente de extinción de la sustancia en general sin estar en disolución, y la l el espesor de la capa.

2.4.3.3.1.2. Ley de Beer

Cuando un rayo de luz monocromática pasa a través de un medio absorbente su intensidad disminuye exponencialmente a medida que aumenta la concentración de la sustancia absorbente en el medio [45].

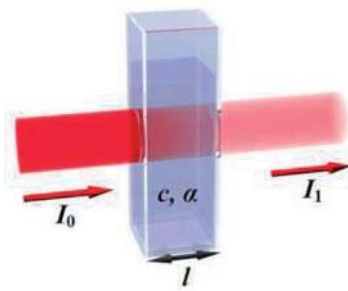


Figura 2.8. Ley de Beer [45].

$$I_1 = I_0 \cdot 10^{-Kc}$$

(Ec. 9)

$$\log \frac{I_0}{I_1} = Kc$$

(Ec. 10)

Donde I_1 es la intensidad de la luz transmitida, I_0 es la intensidad de la luz incidente, K el coeficiente de extinción de la sustancia en general sin estar en disolución, y c la concentración de la muestra.

Las Leyes anteriores se unen para formar la Ley de Lambert y Beer, el cual establece:

$$I_1 = I_0 \cdot 10^{-\epsilon cl}$$

(Ec. 11)

Donde ϵ es el coeficiente de extinción molar, c la concentración de la muestra y l el espesor de la capa.

Enseguida consideraremos dos conceptos sumamente importantes, como son la absorbancia y la transmitancia.

La absorbancia A es la capacidad que tiene una muestra de absorber la energía radiante, la cual presenta la siguiente relación [46]:

$$A = \log \frac{I_0}{I_1}$$

(Ec. 12)

La transmitancia T es el cociente de las intensidades (generalmente se expresa en porcentajes) y se relaciona íntimamente con la absorbencia. Su expresión matemática es la siguiente [44]:

$$\%T = \frac{I_1}{I_0} \times 100$$

(Ec. 13)

$$A = \log \frac{I_0}{I_1}$$

(Ec. 14)

Entonces:

$$A = -\log \left(\frac{1}{T} \right) = 2 - \log \%T$$

(Ec. 15)

2.4.3.3.1.2.1 Limitaciones de la Ley de Beer

La Ley de Beer describe solamente el comportamiento de la absorción en soluciones diluidas. Ya que a concentraciones mayores de 0,01 M, el espacio entre los iones o moléculas disminuye afectando la distribución de carga de las partículas vecinas. Lo anterior provoca que existan desviaciones en la linealidad de la relación de la absorbancia y la concentración. Este mismo fenómeno se observa en soluciones diluidas de sustancias absorbentes como los electrolitos. Entre las causas más importantes que hacen que la Ley de Beer sea desviada, se encuentran las reacciones químicas del analito con el disolvente y el instrumento mismo o su incorrecta manipulación. [39]

2.4.3.3.1.3. Espectros de absorción

Se emplean para la identificación de sustancias o confirmar su identidad entre otras aplicaciones. [44]

2.4.3.3.1.4. Transiciones moleculares debido a la absorción

Las moléculas experimentan tres tipos de transiciones: transición electrónica, transición por vibración y transición por rotación. Dichas transiciones se dan como consecuencia de la absorción de la energía de la radiación con la cual tenga contacto la molécula. [39]

2.4.3.3.1.5 Instrumentos para las mediciones de absorción

Ya que el análisis espectrofotométrico se basa en la interacción de la energía radiante con las moléculas de la materia, es necesario utilizar instrumentos que midan estas interacciones, los cuales permitan cuantificar y utilizar determinadas propiedades de la materia para identificar o describirla [44]. Los instrumentos que se utilizan para lo anterior son los espectrofotómetros, los cuales se describen enseguida.

2.4.3.3.5.1. Componentes de los espectrofotómetros.

Los principales componentes de los espectrofotómetros son los siguientes (ver figura 2.9):

a) Fuentes de radiación.

La fuente debe generar un haz que pueda ser detectado y medido. Su voltaje debe ser estable en periodos considerables. Las fuentes espectroscópicas se clasifican de dos formas: **fuentes continuas**; su intensidad varía de manera gradual en función de la longitud de onda, como ejemplo señalamos la lámpara de tungsteno, la cual emite radiación entre 320 y 2 500 nm; y **fuentes de líneas**, emite un número de bandas restringido y abarca un margen de longitudes de onda muy cortos, como ejemplo tenemos al arco de mercurio. [39 y 47]

b) Monocromador. Para la selección de la longitud de onda que se requiere, se utilizan los monocromadores, los cuales se encargan de desdoblar la luz en haces monocromáticas [44], estos dispositivos confieren sensibilidad al instrumento y disminuyen las desviaciones de la ley de Beer. Existen instrumentos que utilizan filtros para aislar la banda de longitud de onda deseada, otros utilizan espectró-

grafos para dispersar o desdoblar las longitudes de onda con el fin de detectarlas. La longitud de onda transmitida, para poder medirse es detectada por un detector, el cual, el empleado en estos instrumentos es un transductor, estos convierten las señales de la intensidad de luz en señales eléctricas. [39]

- c) Detector fotométrico y registrador: el primero traduce la señal de luz en electricidad. La luz recibida provoca el desplazamiento de electrones en el metal del transductor, dicho transporte de electrones es directamente proporcional a la intensidad de la luz recibida. El registrador mide la señal del detector y la compara para generar una medida de escala determinada. [38]

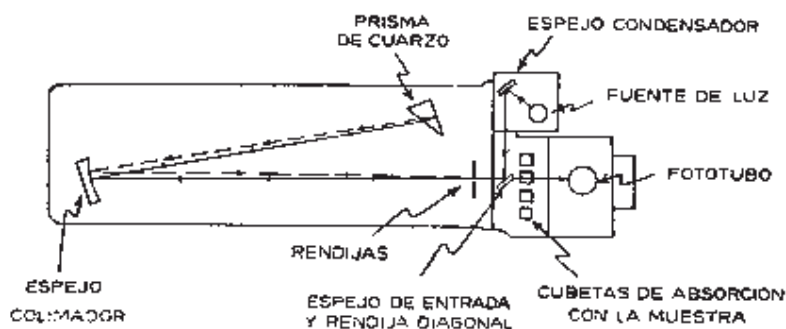


Figura 2.9. Partes más comunes de un espectrofotómetro [48].

2.4.3.3.5.2 Fotómetros y espectrofotómetros de UV – visible.

Estos instrumentos operan en la región ultravioleta-visible, utilizan ya sea un monocromador o un policromador junto con un transductor, un filtro para la selección de onda, pueden ser de haz sencillo o de doble haz y se utilizan para medir absorbancias. [39]

Para la calibración de los instrumentos anteriores se utilizan materiales de referencia, las cuales se definen en el siguiente punto.

2.4.4. Materiales de referencia (MR)

Una de las actividades más importantes en un laboratorio de cualquier tipo, es la medición, ya que de ellas dependen los resultados obtenidos, que a la vez repercuten en

la toma de decisiones tales como el control de procesos, compra de algún producto, la verificación del cumplimiento de alguna especificación, cumplimiento de alguna norma, diagnóstico de enfermedades, tratamientos posibles a enfermedades, entre otros, en todos los campos de su aplicación. Es por esto que, la medición se ha considerado como uno de los puntos críticos en la evaluación del desempeño de los laboratorios, los profesionales se han interesado por estudiar los factores que influyen en las mediciones, de los cuales se ha mencionado de una manera especial los Materiales de Referencia Certificados (MRC) ya que se ha demostrado que al utilizarlos permiten garantizar resultados confiables y trazables al SI. [49]

2.4.4.1. Definición de Material de Referencia (MR)

Según el Vocabulario Internacional de Metrología (VIM) un *Material de Referencia* es *aquel material o sustancia en la cual uno o más valores de sus propiedades son suficientemente homogéneos y están bien definidos para permitir utilizarlos para la calibración de un instrumento, la evaluación de un método de medición, o la asignación de valores a los materiales.* [50]

2.5.5.2. Definición de MRC

Según la Guía de la ISO 30:1992 un *Material de Referencia Certificado* es un *material de referencia, acompañado de un certificado, en el cual uno o más valores de sus propiedades están certificados por un procedimiento que establece su trazabilidad con una realización exacta de la unidad en la que se expresan los valores de la propiedad y para la cual cada valor certificado se acompaña de una incertidumbre con la indicación de un nivel de confianza.* [51]

2.4.4.3. Tipos de MRC.

Existen los siguientes tipos de Materiales de Referencia Certificado [52]:

- a) Soluciones patrón y mezclas de gas; generalmente preparadas por métodos gravimétricos a partir de sustancias puras.
- b) Sustancias puras; caracterizadas por la pureza química y/o trazas de impurezas.

- c) Materiales de referencia matriciales; caracterizados por la composición. Están preparadas por matrices de materiales naturales o sintéticos que contengan componentes de interés.
- d) Materiales de referencia fisico-químicos; caracterizados por sus propiedades, como la viscosidad o la densidad óptica.
- e) Objetos de artefactos de referencia; caracterizados por las propiedades funcionales como el gusto, el olor, la dureza y el índice de octano. Incluye especímenes microscópicos.

2.4.4.4. Clasificación de los MRC

De acuerdo al procedimiento y la dificultad de obtención, así como su calidad final se clasifican en [50]:

- Materiales de Referencia primarios
- Materiales de Referencia secundarios
- Materiales de Referencia de trabajo o internos.

Según los procedimientos de análisis se clasifican en [52]:

- Tipo I: aplicación directa de las leyes de la física o parámetros químicos. En esta se realizan los cálculos basados en las leyes físicas o parámetros químicos para obtener el resultado.
- Tipo II: cuantificación por interpolación en una curva de calibración. Cuando las diferencias entre el analito y la calibración es despreciable comparado con la incertidumbre del resultado.
- Tipo III: cuantificación por interpolación en una curva de calibración cuando existe influencia matricial. Se compara el analito con muestras de calibración de contenido conocido.

2.4.4.5. Características de los MRC

Se pueden agrupar en dos categorías [53]:

Requisitos básicos:

- Homogeneidad: que el valor determinado en ella, se pueda aplicar a cualquier muestra dentro de los límites de incertidumbre establecida.

- Estabilidad: debe ser estable en el tiempo especificado y permitir ser transportado.
- Exactitud y Trazabilidad: dar valores con una mejor aproximación al convencionalmente verdadero.

Requisitos adicionales:

- Similitud con la muestra real: la matriz de la referencia debe ser tan parecida con el analito como sea posible.
- Precisión: la incertidumbre que acompaña al certificado debe ser tan pequeño como sea posible.

Los certificados de los materiales de referencia indican la incertidumbre de medición que acompaña al correspondiente material de referencia, ya que este influye en las determinaciones que sean realizadas utilizando dicho material. En el siguiente apartado se describe el cálculo de incertidumbre de las mediciones en forma general.

2.4.5. La Incertidumbre

La naturaleza es perfecta y por ello difícil de entender la realidad y conocer la verdad, una de las repercusiones que esto ocasiona es que el ser humano no ha podido inventar instrumentos de tal precisión que le permitan obtener una información más cercana a la realidad, ya que en sí desconocemos lo que es la verdad. Las mediciones que se realizan diariamente en las diferentes actividades del hombre, encierran en sí una imprecisión a consecuencia de la misma naturaleza de la medición [54]. Sin embargo existen parámetros que hacen que se tenga una concepción de una verdad convencional hacia la cual giran las comparaciones, y por consiguiente es importante qué tan cerca o lejos se encuentra nuestro resultado respecto al valor convencionalmente verdadero y qué tan cierto es el resultado que obtenemos. Para lograr lo anterior se realiza el cálculo de la incertidumbre de la medición ya que toda medición lleva implícita una incertidumbre.

La intención de realizar una medición es determinar el valor de una magnitud conocida como mensurando, el cual, se define como el atributo sujeto a medición de un fenómeno, cuerpo, o sustancia distinguido de otros por sus cualidades y sus medidas. La

identificación del mensurando tiene una relevante importancia ya que de ella depende el correcto cálculo de la incertidumbre. [54]

2.4.5.1. Error e incertidumbre

Ninguna medición realizada es absolutamente precisa, de ahí la importancia de estimar la desviación del valor medido con respecto a la convencionalmente real. La diferencia entre el valor medido y el convencionalmente establecido se conoce como error de la medida y se expresa como [55]:

$$\varepsilon = X_{med} - X_{real}$$

(Ec. 16)

Según el VIM la incertidumbre es un parámetro que caracteriza la dispersión de los valores que pueden ser atribuidos razonablemente al mensurando.

2.4.5.2. Cálculo de la incertidumbre

De acuerdo a lo establecido en la norma NMX-EC- 17 025-IMNC-2006 los laboratorios de ensayo o calibración deben contar con un procedimiento de cálculo de incertidumbre de la medición. [54]

La incertidumbre se compone de diversas fuentes algunas de ellas determinadas por las magnitudes de entrada. Algunas contribuciones pueden ser inevitables mientras que otras pueden depender del método, procedimiento o principio de medición. Aunque también pueden influir en la incertidumbre atributos no cuantificables las cuales hay que evitarlas con actividades que nos permitan. [56]

Es importante mencionar que para el cálculo de la incertidumbre de la medición no existe un solo procedimiento establecido de manera universal, ya que esta dependerá del tipo de medida, del equipo utilizado, principio de medición, personal, en fin de las fuentes de incertidumbre particulares de cada medición. [57]

La Guía para estimar la incertidumbre de la medición establece los siguientes pasos para el Cálculo de Incertidumbre de una medición [54]:

Elaboración de un modelo (físico y matemático) de la medición.

Intentar estudiar el proceso de medición de manera completa y exacta no está a nuestro alcance, por ello, es necesario simplificar dicho proceso considerando para su estudio sólo las características más importantes que nos permitan cumplir con el objetivo pretendido, haciendo uso de los modelos para la medición, tal es el caso del modelo físico, el cual, consiste en traducir la realidad física a una posibilidad de estudiar dicho fenómeno por medio de instrumentos y técnicas matemáticas [57]. El modelo físico se expresa por medio del lenguaje matemático, este modelo estima la aproximación de la representación imperfecta de las relaciones de las variables involucradas en una medición [56].

Al considerar a la medición como un proceso, las magnitudes de entrada se establecen por el conjunto:

$$\{X_i\}$$

Donde i toma valores desde 1 hasta N .

La relación entre las magnitudes de entrada y salida se expresan por la siguiente función:

$$Y = f(\{X_i\}) = f(X_1, X_2, \dots, X_N)$$

(Ec. 17)

Y es un valor escalar aunque puede aplicarse también para vectores y matrices dicho formalismo.

2.4.5.2.1. Identificación de fuentes de incertidumbre y cálculo de la incertidumbre estándar.

Existen varias fuentes de incertidumbre entre los más comunes encontramos [56]:

- La definición del mensurando.
- Método de medición.
- Principio de medición.
- Instrumentos de medición.

- Ambiente de medición.
- Observador o el que realiza la medición.
- Método de cálculo.
- Reproducibilidad.
- Incertidumbre del material de referencia.
- Repetibilidad de las lecturas.
- Resultados de la calibración del instrumento.

Es preferible un exceso de consideraciones de fuentes de incertidumbre que des-
echar alguna que sea importante para el cálculo de incertidumbre [57].

2.4.5.2.2. Cuantificación de las fuentes de incertidumbre.

Las fuentes de incertidumbre se clasifican en dos grandes grupos [57]:

Fuentes de incertidumbre con evaluación Tipo A.

Se realiza mediante técnicas estadísticas [56, 57,58].

Para analizar una serie de datos obtenidos, primeramente nos interesa describir la distribución que presentan dichos datos para ello se realiza un histograma y un polígono de frecuencias. Existen diferentes tipos de distribución de probabilidad, aunque la más estudiada y la más común en la mayoría de los fenómenos físicos presentes en la naturaleza y eventos cotidianos es la distribución normal. [55]

Distribución normal.

Esta distribución fue reconocida por primera vez por el francés Abraham de Moivre (1667-1754). Más tarde Gauss realizó estudios más a fondo y formuló la ecuación de la curva. Los parámetros más importantes que determinan esta distribución son:

La media: resultado de dividir la sumatoria de todos los datos entre el número de estos. Se puede calcular para datos agrupados y para datos no agrupados, según sea el caso. [59]

Para datos no agrupados se tiene la expresión [58]:

$$\bar{X} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n}$$

(Ec. 18)

donde $\bar{X}$ es la media muestral, $\sum_{i=1}^n x_i$ es la suma de los elementos de la muestra y la n es el número de datos de la muestra.

Para datos agrupados [59]:

$$\bar{X} = \frac{\sum_{i=1}^n c_i f}{n}$$

(Ec. 19)

Donde n es el número total de datos, x_i es el dato unitario, f es la frecuencia y c_i es la clase.

La desviación estándar: es la dispersión de los datos con respecto al centro de la distribución [libro de métodos numéricos]. Se expresa como [45]:

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{X})^2}{n - 1}}$$

(Ec. 20)

Características de la distribución normal, ver figura 2.10, [60]:

- Forma. Es una campana simétrica con respecto a su centro, los extremos de la curva son asintóticas con respecto al eje de las abscisas, es unimodal, la media, la moda y la mediana son iguales y se encuentran en el centro de la curva.

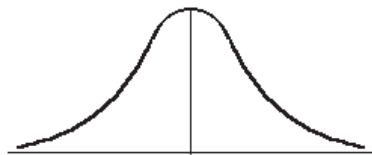


Figura 2.10 Curva de una distribución normal

- Parámetros. El valor esperado es la media y varianza es la desviación estándar.
- Función de densidad.

$$f(x) = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} e^{-\frac{(x-\mu)^2}{2\sigma^2}}$$

(Ec. 21)

donde μ es la media y σ la desviación estándar.

El área bajo la curva es igual a uno, y la repetición de los experimentos hace que la distribución obtenida sea normal, aunque esto tiene una restricción ya que resulta contraproducente en la vida real.

El valor de la incertidumbre estándar $u(x_i)$ de los datos que presentan esta distribución es igual a la desviación estándar experimental de la media y se expresa como [56]:

$$u(x_i) = \sigma(\bar{X}) = \frac{\sigma(X)}{\sqrt{n}} \quad (\text{Ec. 22})$$

Cuando se tiene un buen control estadístico del método, en ese caso, se calcula la incertidumbre estándar utilizando en lugar de la desviación estándar experimental, la desviación estándar.

$$u(x_i) = \frac{\sigma}{\sqrt{n}} \quad (\text{Ec. 23})$$

Distribución rectangular.

Esta distribución se presenta cuando la distribución de probabilidad es uniforme en un cierto intervalo $[a_+, a_-]$, la función de densidad está dada por [61]:

$$f(x) = \frac{1}{a_+ - a_-} \quad \text{si } a_- \leq x \leq a_+ \quad (\text{Ec. 24})$$

La esperanza matemática es $\frac{a_+ + a_-}{2}$, mientras que la varianza es $\frac{(a_+ - a_-)^2}{12}$.

El valor de la incertidumbre se obtiene mediante [56]:

$$u(x_i) = \frac{a_+ - a_-}{\sqrt{12}}$$

(Ec. 25)

O bien por:

$$u(x_i) = \frac{a}{2\sqrt{3}}$$

(Ec. 26)

Los instrumentos digitales presentan esta distribución.

Distribución triangular.

La variable aleatoria que toma valores en el intervalo $[a, a_+]$ presenta un máximo en la mitad de ese intervalo y disminuye de manera lineal en sus extremos hasta llegar a cero [55].

Su función de densidad está dada por [62]:

$$f(x) = \begin{cases} \frac{2(x-a)}{(c-a)(b-a)} & \text{si } a \leq x \leq b \end{cases}$$

(Ec. 27)

$$f(x) = \begin{cases} \frac{2(c-x)}{(c-a)(c-b)} & \text{si } b \leq x \leq c \end{cases}$$

(Ec. 28)

La media es:

$$\mu = \frac{a + b + c}{3}$$

(Ec. 29)

La varianza es:

$$\sigma^2 = \frac{a^2 + b^2 + c^2 + ac - ab - bc}{18}$$

(Ec. 30)

El valor de la incertidumbre se calcula mediante [56]:

$$u(x_i) = \frac{c - a}{\sqrt{24}} = \frac{c - a}{2\sqrt{6}}$$

(Ec. 31)

Evaluación tipo B.

Es determinada por métodos no estadísticos, tales como certificados de calibración, experiencia, datos del instrumento otorgados por el fabricante, en fin, diferentes fuentes de información. [56, 58]

Determinación de incertidumbre estándar combinada.

La incertidumbre estándar combinada se basa en la ley de propagación de incertidumbres, se combinan las incertidumbres estándares tanto de tipo A como de tipo B [55].

La incertidumbre estándar combinada se calcula mediante la expresión [56]:

$$u_c(y) = \sqrt{\sum_{i=1}^N [c_i \cdot u(x_i)]^2} = \sqrt{\sum_{i=1}^N \left[\frac{\partial f}{\partial X_i} \cdot u(x_i) \right]^2}$$

(Ec. 32)

Donde $u(x_i)$ es la incertidumbre estándar de la fuente i , c_i es el coeficiente de sensibilidad.

$$c_i = \left. \frac{\partial f(X_1, X_2, \dots, X_N)}{\partial X_i} \right|_{X_1=x_1 \dots X_N=x_N}$$

(Ec. 33)

2.4.5.2.3. Determinación de la incertidumbre expandida.

Se realiza mediante la expresión [63]:

$$U = k \cdot u_c$$

(Ec. 34)

Donde k es el nivel de confianza, que toma valores generalmente de 2.

Expresión de resultados [56].

Los resultados son expresados con una confianza de 95 % y se reporta de la siguiente manera como:

$$Y = y \pm U$$

(Ec. 35)

El número de cifras significativas es de uno o dos, sin embargo, cuando se necesite una mayor precisión se pueden utilizar tres cifras significativas.

La distribución t Student.

Este estadístico indica la distancia que existe entre la $\bar{x}$ y la μ , expresándola en desviaciones típicas, cuando el tamaño de muestra es pequeño [64].

$$t = \frac{\bar{x} - \mu}{\frac{s}{\sqrt{n}}}$$

(Ec. 36)

La ecuación anterior es la distribución t con $n - 1$ grados de libertad. Donde $\bar{x}$ es la media muestral, la μ es la media poblacional, n el tamaño de muestra y s la desviación estándar típica.

Propiedades de la distribución [65].

- Las curvas son campanas simétricas, con centro en el cero y un solo pico.
- Su dispersión es mayor en comparación a la distribución normal estandarizado.
- Existe mayor probabilidad en las colas de la curva que en el centro, debido a la sustitución de σ por s introduce mayor variación en el estadístico.
- A mayor grado de libertad la curva se aproxima más a una distribución normal.

Grados de libertad.

Se entiende por grados de libertad al número de desviaciones de una muestra que puede determinarse libremente para poder satisfacer que la suma de las desviaciones a la media sea cero, por lo cual el valor $n - 1$ es el que no puede variar libremente ya que este queda determinado por los primeros $n-1$ valores [64].

Cada vez que se establezca un parámetro para calcular un estadístico los grados de libertad se reducen en 1. Por tanto, cuando se consideran k parámetros para un estadístico los grados de libertad están dados por $n - k$, ver figura 2.11, [66]:

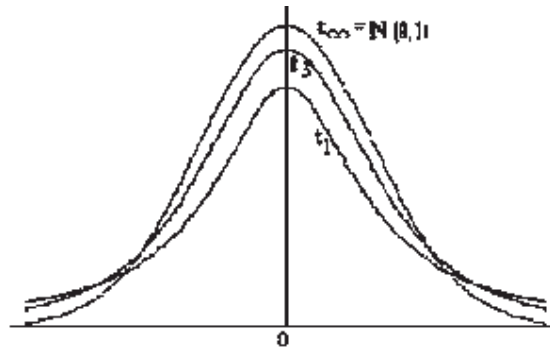


Figura 2.11. Gráfica de curvas de la distribución t dependiendo de los grados de libertad [67].

Grados de libertad = $n - k$

Cálculo del estadístico.

Para determinar el valor del estadístico t, se plantean las hipótesis nula y alternativa, posteriormente se establece el nivel de confianza requerida para la prueba y analiza si se trata de un ensayo de dos colas o de una sola cola para posteriormente obtener los valores críticos con los niveles de confianza requeridos y señalar las zonas de aceptación y rechazo de las hipótesis y finalmente se concluye de acuerdo a los resultados si se acepta o rechaza la hipótesis nula indicando el nivel de confianza utilizado. [65]

Niveles de confianza.

El intervalo de confianza es el rango determinado a partir de una muestra en el que se puede encontrar el valor verdadero de un parámetro con una probabilidad establecida. El intervalo de confianza más utilizado es el 95 %. [68]

El nivel de confianza es la probabilidad de que el valor verdadero de un parámetro se encuentre dentro de un intervalo de confianza y se denota como $1 - \alpha$. Siendo α la probabilidad de equivocarnos en la determinación del valor y se conoce como nivel de significancia. [68]

El cálculo de incertidumbre de las mediciones tiene una gran importancia en todos los métodos, instrumentos, procedimientos que tengan que ver con mediciones. Así en la caracterización de los espectrofotómetros juega un papel muy importante el cálculo de incertidumbre ya que con este parámetro podemos saber qué tan cerca o lejos se está del valor convencionalmente verdadero. En el próximo punto del capítulo se describen los métodos y pruebas para la caracterización del espectrofotómetro.

2.4.6. Métodos y pruebas para la caracterización de un espectrofotómetro

La caracterización es una serie de pruebas y calibraciones con sus respectivos cálculos de incertidumbre, que permite tener la certeza de que las mediciones realizadas por un instrumento se encuentran cerca del valor convencionalmente verdadero. Es tardado por todas las pruebas que se tienen que realizar y por ende costoso [69].

La caracterización de un espectrofotómetro según el procedimiento utilizado por el CENAM (Centro Nacional de Metrología) incluye la calibración de la escala de longitud de onda, la escala fotométrica y la cuantificación de los errores por luz extraviada, ruido fotométrico, estabilidad, linealidad, etc.

La calibración de un espectrofotómetro según el CENAM *consiste en realizar un conjunto de operaciones que tiene como finalidad determinar la magnitud de los errores que comete el instrumento al realizar las mediciones, dichos errores son obtenidos al comparar los resultados de cada medición con los valores certificados de un material de referencia, tomando en cuenta que las mediciones sean realizadas bajo las mismas o similares condiciones y empleando la misma metodología.*

Caracterización de la longitud de onda espectrofotométrica.

Para evaluar la longitud de onda, se utilizan materiales de referencia tales como los filtros de óxido de holmio, óxido de didimio y patrones físicos absolutos (lámpara de descarga de gases nobles), los materiales de referencia utilizados para este fin deben de

tener una banda de absorción estrecha y bien definida, las cuales son seleccionados para localizar las longitudes de onda correspondientes a diferentes velocidades de barrido.

Se utiliza el siguiente procedimiento para la realización de las mediciones.

- Establecer una línea base con el compartimento de muestras vacío para obtener un 100 % de transmisión (transmitancia).
- Establecer el 0 % de transmisión (transmitancia).
- Tomar la lectura 10 veces mínimo del material de referencia.

Las mediciones son realizadas en función de los parámetros que tienen mayor influencia en la medición como son: el ancho de banda espectral y la velocidad de barrido. Se realiza la comparación de los resultados obtenidos con respecto a los reportados del material de referencia y se calculan las diferencias mediante la ecuación:

$$\Delta\lambda = \lambda_{\text{PATRON}} - \lambda_{\text{NIST}} \quad (\text{Ec. 37})$$

Posteriormente se obtienen conclusiones de los resultados obtenidos y se procede al cálculo de la incertidumbre con las siguientes ecuaciones:

$$U_C = \sqrt{\sum \left(\frac{dY}{dX_k} \cdot U_A \right)^2 + U_B^2} \quad (\text{Ec. 38})$$

$$U_{\text{lab}} = [(2S_R)^2 + (U_{\text{cert.NIST}})^2]^{1/2} \quad (\text{Ec. 39})$$

$\text{Error} = \lambda_i - \lambda_{\text{cert.NIST}}$ donde :

$$D_R = \left[\sum (\Delta\lambda_i - \Delta\lambda_{\text{med}})^2 / (n - 1) \right]^{1/2}$$

(Ec. 40)

$$U_A = D_R/n^{1/2}$$

(Ec. 41)

donde $\Delta\lambda_i$ es la diferencia de longitudes de onda, $\Delta\lambda_{\text{med}}$ es el promedio de las diferencias del grupo de mediciones, D es la desviación estándar y n el número de mediciones.

Se evalúan las incertidumbres combinadas y se toma la decisión correspondiente. En caso de ser necesario se establece una ecuación de ajuste.

También se realiza la caracterización de la longitud de onda con la lámpara de mercurio. Para la calibración se utilizan los anchos de banda espectral de 0,1 nm, 1 nm y 3 nm. Para la identificación de los picos máximos se usa un software y los valores obtenidos son comparados con los valores certificados, se calcula la media y su desviación estándar y se determina la incertidumbre. Posteriormente se analizan los resultados y en caso de ser necesario se determinan las ecuaciones de ajuste según corresponda.

Finalmente se caracteriza la longitud de onda con el uso del filtro de óxido de didimio, siguiendo con el mismo procedimiento anterior.

Caracterización de la escala fotométrica.

Este método nos permite conocer la situación en la que se encuentra la escala de absorbencia y transmitancia del equipo con respecto a la referencia, por ello, es posible cuantificar el error con la que se obtienen los resultados, así como la cuantificación de los efectos debidos al ruido y estabilidad fotométrica.

Los materiales de referencia más comúnmente utilizados para calibrar la escala fotométrica son: el filtro 930 d, filtro 1 930 y el filtro 2 031, y los pasos a seguir son los siguientes:

- Establecer la línea base con el comportamiento de muestras vacías para obtener el 100 % de transmisión.
- Establecer el 0 % de transmisión.
- Tomar la lectura del material de referencia 10 veces como mínimo.

Caracterización de la escala fotométrica con el filtro de 930 d.

El filtro de 930 d, consiste en tres filtros de vidrio de densidad neutra, certificados con valores cercanos al 10, 20 y 30 % de transmitancia a las longitudes de onda de 440, 465, 546,1, 590 y 635 nm. La incertidumbre relativa se encuentra expresada en el certificado del material de referencia así como las condiciones específicas a las que se lleva a cabo la determinación.

Caracterización de la escala fotométrica con el filtro de 1 930 d.

Este material de referencia es complementario del 930 d, consiste en tres filtros de vidrio de densidad neutra del 1, 3 y 50 % y una montura vacía. Se expresa en su certificado la incertidumbre relativa.

Caracterización de la escala fotométrica con el uso del filtro 2 031.

Con este método se obtiene la calibración a longitudes de onda de 250, 280, 340, 360, 400, 465, 500, 546,1, 590 y 635 nm.

El material de referencia consiste en tres filtros de vidrio de densidad neutra certificados individualmente en transmitancia de 10, 30 y 90 % con montura de filtro vacío.

Se realizan los cálculos con las siguientes ecuaciones:

$$r = \frac{S_{(E,R)}}{S_{(E)}} * S_{(R)}$$

(Ec. 42)

Donde r es el coeficiente de correlación de Pearson.

Cuando la $r = 1$, se utilizan las siguientes ecuaciones para calcular la incertidumbre combinada.

$$S_{(E,R)} = \sum (E - \bar{E}) * \frac{R - \bar{R}}{n - 1}$$

(Ec. 43)

$$U_c = \sqrt{\sum \left(\frac{dY}{dX_k} \cdot U_A \right)^2 + U_B^2}$$

(Ec. 44)

$$U_{lab} = [(2S_R)^2 + (U_{cert.NIST})^2]^{1/2}$$

(Ec. 45)

$$Error = T_i - T_{cert.NIST}$$

(Ec. 46)

$$D_R = \left[\sum_{i=1}^n (\Delta T_i - \Delta T_{med})^2 / (n - 1) \right]^{1/2}$$

(Ec. 47)

$$U_A = D_R / n^{1/2}$$

(Ec. 48)

Donde $S_{(E,R)}$ es la covarianza, ΔT_i es la diferencia de los valores de transmisión, ΔT_{med} es el promedio de las diferencias del grupo de mediciones, D la desviación estándar y n el número de mediciones.

Se comparan los resultados obtenidos con los reportados en el certificado de los MR y en caso de ser requerido un ajuste, se calculan las ecuaciones correspondientes.

Pruebas espectrofotométricas.

Linealidad de la escala fotométrica

La linealidad es establecida cuando la señal es directamente proporcional al flujo del rayo incidente. Esta linealidad es determinada con los materiales de referencia 930 d, 1930 d y 203 d, los datos obtenidos se utilizan para corregir la no linealidad de la medición.

La prueba de linealidad se lleva a cabo utilizando un dispositivo de doble apertura, la cual puede tener aperturas de 5 y 2 nm, este dispositivo puede ser colocado en el haz de referencia y de muestra, las aperturas pueden ser abiertas y cerradas de tal forma que permitan tomar las lecturas siguientes:

I (a) Intensidad con una abertura abierta.

I (b) Intensidad con la otra abertura abierta.

I (a + b) Intensidad con ambas aberturas abiertas.

I (a) es aproximadamente igual a I (b).

$$L(a + b) = \left[\frac{I(a + b)}{I(a) + I(b)} \right] - 1$$

(Ec. 49)

Esta ecuación permite obtener las diferencias de la radiación cuando es dividido el haz de incidencia, en caso de ser mucho mayor que el cero se deriva una ecuación de corrección y se aplica.

El método establece que se realicen 10 lecturas teniendo como resultados los promedios de cada medición.

La $I(\overline{a + b})$, $I(\overline{a})$, $I(\overline{b})$, se utiliza para evaluar:

$$L(a + b) = \left[\frac{I(a + b)}{I(a) + I(b)} \right] - 1$$

(Ec. 50)

$$DI(a) = \left[\sum_{i=1}^n (I_i - I(\overline{a}))^2 / (n - 1) \right]^{1/2}$$

(Ec. 51)

$$DI(b) = \left[\sum_{i=1}^n (I_i - I(\overline{b}))^2 / (n - 1) \right]^{1/2}$$

(Ec. 52)

$$DI(a + b) = \left[\sum_{i=1}^n \left(I_i - I(\overline{a + b}) \right)^2 / (n - 1) \right]^{1/2}$$

(Ec. 53)

Siendo D la desviación estándar y la incertidumbre de la linealidad puede ser evaluada como se indica a continuación:

$$U^2 = DI(a)^2 + DI(b)^2 / [I(\bar{a}) + I(\bar{b})]^2$$

(Ec. 54)

En algunos casos por cuestiones de diseño de los espectrofotómetros no se puede determinar la linealidad utilizando el dispositivo de doble apertura y en ese momento, se recurre a otros métodos adicionales como pueden ser: la medición de la absorbencia de soluciones sucesivas de dicromato de potasio a incrementos de concentraciones, o bien, midiendo la absorción aditiva de una serie de filtros.

Ruido fotométrico.

Esta prueba se monitorea como una función del tiempo, que determina la variación del barrido espectral en un intervalo de longitud de onda establecido, el ruido es establecido por filtros de densidad neutra como óxido de holmio, óxido de didimio, entre otros, para determinar el pico máximo y mínimo a lo largo de toda la distribución espectral.

Estabilidad fotométrica.

La prueba se monitorea como una función del tiempo, que determina la variabilidad del valor fotométrico en un tiempo establecido, los valores obtenidos dependen de la lámpara utilizada y se realiza con el compartimento de muestras vacío.

Línea base plana.

La prueba determina las variaciones del valor fotométrico, a lo largo de toda la distribución espectral o el intervalo deseado, con el compartimento de muestras vacío.

Las diferencias entre los picos máximos y mínimos se determinan al intervalo de longitud de onda especificado.

Confirmación del ancho de banda espectral

La prueba consiste en comparar el ancho de banda calculado contra el ancho de banda espectral seleccionado por el instrumento. Para lo anterior se localizan los valores de transmitancia máximo y mínimo de la banda de absorción o emisión, se calcula el promedio de transmitancia y con este valor se localiza el punto de intersección de los límites de banda, y se calcula la diferencia de longitudes de onda del punto medio de la banda y el valor obtenido corresponde al ancho de banda calculado.

Para concluir el capítulo presente a continuación se describen los algoritmos que se utilizarán en el presente trabajo de investigación.

2.4.7. Algoritmos

La interpolación permite calcular los valores intermedios de datos experimentales que no son descritas por una función que los represente. La interpolación por lo anterior es una herramienta matemática de frecuente selección en las ciencias experimentales. Los métodos más conocidos para obtener ecuaciones de interpolación son el Método de Lagrange y el Método de Newton. [70, 71, 72]

2.4.7.1. Interpolación por el método de Lagrange.

Este método debido a Joseph Louis Lagrange consiste en obtener valores intermedios de $n+1$ números de datos experimentales que no tienen una función que los represente. La interpolación por el método de Lagrange utiliza la interpolación polinomial, la cual consiste en determinar el orden del polinomio que ajusta los datos. [70]

La expresión de la interpolación de Lagrange es [71]:

$$f_n(x) = \sum_{i=0}^n L_i(x)f(x_i)$$

(Ec. 55)

Donde n es el grado del polinomio,

$$Li(x) = \prod_{\substack{j=1 \\ j \neq i}}^{n+1} \frac{x - x_j}{x_i - x_j}$$

(Ec.56)

$\prod$ denota el “producto de” es decir [70]:

$$L_i(x) = \frac{(x-x_0)(x-x_1)\dots(x-x_{i-1})(x-x_{i+1})\dots(x-x_n)}{(x_i-x_0)(x_i-x_1)\dots(x_i-x_{i-1})(x_i-x_{i+1})\dots(x_i-x_n)}$$

(Ec. 57)

Por tanto la expresión de Lagrange se transforma en [71]:

$$f_n(x) = \sum_{i=1}^n f(x_i) \prod_{\substack{j=1 \\ j \neq i}}^{n+1} \frac{x - x_j}{x_i - x_j}$$

(Ec. 58)

Así por ejemplo para $n = 1$, $n = 2$, $n = 3$ tenemos [72]:

$$f_1(x) = \frac{x-x_1}{x_0-x_1} f(x_0) + \frac{x-x_0}{x_1-x_0} f(x_1)$$

(Ec. 59)

$$f_2(x) = \frac{(x-x_1)(x-x_2)}{(x_0-x_1)(x_0-x_2)} f(x_0) + \frac{(x-x_0)(x-x_2)}{(x_1-x_0)(x_1-x_2)} f(x_1) + \frac{(x-x_0)(x-x_1)}{(x_2-x_0)(x_2-x_1)} f(x_2)$$

(Ec. 60)

$$\begin{aligned} f_3(x) = & \frac{(x-x_1)(x-x_2)(x-x_3)}{(x_0-x_1)(x_0-x_2)(x_0-x_3)} f(x_0) + \frac{(x-x_0)(x-x_2)(x-x_3)}{(x_1-x_0)(x_1-x_2)(x_1-x_3)} f(x_1) \\ & + \frac{(x-x_0)(x-x_1)(x-x_3)}{(x_2-x_0)(x_2-x_1)(x_2-x_3)} f(x_2) \\ & + \frac{(x-x_0)(x-x_1)(x-x_2)}{(x_3-x_0)(x_3-x_1)(x_3-x_2)} f(x_3) \end{aligned}$$

(Ec. 61)

Y así sucesivamente según el grado del polinomio.

2.4.7.2. Interpolación por el método de Newton.

El método de Newton permite obtener el polinomio de interpolación a partir de un número de puntos dado, utilizando las diferencias divididas de Newton. [70]

La ecuación general para la obtención de la función por este método es la siguiente [71, 72]:

$$f_n(x) = f_0 + f_1(x - x_0) + f_2(x - x_0)(x - x_1) + \dots + f_n(x - x_0)(x - x_1) \dots (x - x_{n-1})$$

(Ec. 62)

Las f_i se obtienen mediante una tabla de diferencias divididas, las cuales se definen de la siguiente forma:

- Diferencia dividida de orden 0:

$$f[x_i] = f_i$$

(Ec. 63)

- Diferencia dividida de orden 1:

$$f[x_i, x_j] = \frac{f_j - f_i}{x_j - x_i}$$

(Ec. 64)

- Diferencia dividida de orden 2:

$$f[x_i, x_j, x_k] = \frac{f[x_j, x_k] - f[x_i, x_j]}{x_k - x_i}$$

(Ec. 65)

Diferencia dividida de orden más alto [60]:

-

$$f[x_1, x_2, \dots, x_\ell] = \frac{f[x_2, x_3, \dots, x_\ell] - f[x_1, x_2, \dots, x_{\ell-1}]}{x_\ell - x_1}$$

(Ec. 66)

CAPÍTULO III

Materiales y método

A través de la experiencia, la observación y la deducción que el hombre ha ido obteniendo a través del tiempo, le ha permitido establecer métodos para realizar actividades que le son necesarias para su desarrollo y sobrevivencia. El término “método” proviene del griego *metá* que significa *camino* y *logos estudio*, por tanto, método es la forma de llevar a cabo una determinada actividad [73]. Por lo anterior, en nuestras actividades diarias nos encontramos con diferentes métodos y en la ciencia no es la excepción, con mayor razón se encuentran presentes diferentes métodos establecidos por diferentes personalidades de la ciencia que nos permiten resolver los problemas con los que nos enfrentamos en la actualidad, así, tenemos entonces diferentes métodos de investigación científica tales como el método inductivo, deductivo, determinístico, probabilístico, inferencial, retrospectivo, entre otros, aunque es importante mencionar que la utilización de un solo método no es exclusivo para la realización de una investigación determinada ya que ella puede abarcar más de un método.

Nosotros en particular utilizamos el método deductivo, debido a que nuestro estudio se basa en la obtención de ecuaciones de interpolación para materiales de referencia certificados utilizados en la calibración de espectrofotómetros UV – visible, a partir de los valores certificados de estos materiales de referencia.

3.1. Materiales y equipo

Los materiales y el equipo utilizados se enuncian a continuación:

- Certificado de calibración del espectrofotómetro Cary 5000.
- Filtros de densidad óptica neutra de 1, 3, 10, 20, 30, 50 y 90% utilizada en la calibración del espectro Cary 5000 como material de referencia.
- Software Maple 12,0.
- Software Microsoft Excel.

3.2. Métodos

Se utiliza para la realización de este trabajo el Certificado de Calibración del Espectrofotómetro de radiación UV- Visible Cary 5000.

El método que se utiliza es el deductivo, ya que se parte de los datos reportados por el certificado de los materiales de referencia utilizados, y con ellos se procede a obtener las ecuaciones por los algoritmos de interpolación de Lagrange y Newton expuestos en el capítulo dos apartado 2.4.7. Aunque el método presentado permite la asignación de valores para micro placas, es importante destacar que este se puede extender a otro tipo de materiales, por lo que no es exclusivo de los materiales ópticos.

En el siguiente capítulo se presentan los resultados obtenidos para posteriormente ser analizados.

CAPÍTULO IV

Presentación de resultados

La importancia de una investigación radica en los resultados ya que a través de ellos se han podido conocer muchos fenómenos que se encuentran presentes tanto en la naturaleza como en la vida del hombre, aunque cabe resaltar que solo se aproxima a la realidad como lo indica el principio de incertidumbre de Heisenberg, ya que la verdad no se puede conocer por la misma naturaleza. La aproximación que se tenga de la realidad depende de la calidad de las mediciones para acercarnos o alejarnos de la verdad convencional determinada por el principio de la medición.

Es por ello que presentamos en el presente capítulo los resultados obtenidos en nuestro trabajo de investigación.

4.1. Resultados

En las tablas correspondientes se exponen los datos reportados obtenidos en la lectura de cada uno de los materiales de referencia certificados. Siendo x_i la longitud de onda a la cual se realiza la medición y $f(x_i)$ la lectura de la absorbancia para x_i .

Las ecuaciones que se muestran a continuación fueron obtenidas utilizando los métodos de Lagrange y Newton descritos en el capítulo dos (Ecuaciones 55 y 62 respectivamente), por medio del software maple 12.0 para cada material de referencia.

Material 1%		
i	x_i	$f(x_i)$
0	440,0	0,0063
1	465,0	0,0065
2	546,1	0,0065
3	590,0	0,0059
4	635,0	0,0057
5	700,0	0,0032
6	750,0	0,0031

Tabla 1

Ecuación obtenida por el método de Lagrange

$$f_6(x) = 29,56950784 - 3,167091795 \times 10^{-1}x + 1,403213557 \times 10^{-3}x^2 \\ - 3,291358202 \times 10^{-6}x^3 + 4,311011626 \times 10^{-9}x^4 - 2,989888626 \\ \times 10^{-12}x^5 + 8,578740865 \times 10^{-16}x^6$$

Ecuación obtenida por el método de Newton

$$f_6(x) = 29,56950793 - 3,167091805 \times 10^{-1}x + 1,403213561 \times 10^{-3}x^2 \\ - 3,291358212 \times 10^{-6}x^3 + 4,311011638 \times 10^{-9}x^4 - 2,989888634 \\ \times 10^{-12}x^5 + 8,578740887 \times 10^{-16}x^6$$

Material 3%		
i	x_i	$f(x_i)$
0	440,0	0,0032
1	465,0	0,0032
2	546,1	0,0033
3	590,0	0,0033
4	635,0	0,0034
5	700,0	0,0021
6	750,0	0,0021

Tabla 2

Ecuación obtenida por el método de Lagrange

$$f_6(x) = 13,41906988 - 1,444406654 \times 10^{-1}x + 6,435932066 \times 10^{-4}x^2 \\ - 1,519031655 \times 10^{-6}x^3 + 2,002865386 \times 10^{-9}x^4 - 1,398651019 \\ \times 10^{-12}x^5 + 4,041001591 \times 10^{-16}x^6$$

Ecuación obtenida por el método de Newton

$$f_6(x) = 13,41906990 - 1,444406655 \times 10^{-1}x + 6,435932073 \times 10^{-4}x^2 \\ - 1,519031656 \times 10^{-6}x^3 + 2,002865388 \times 10^{-9}x^4 - 1,398651020 \\ \times 10^{-12}x^5 + 4,041001594 \times 10^{-16}x^6$$

Material 10%		
i	x_i	$f(x_i)$
1	440,0	0,0020
2	465,0	0,0020
3	546,1	0,0023
4	590,0	0,0022
5	635,0	0,0021
6	700,0	0,0020
7	750,0	0,0019

Tabla 3

Ecuación obtenida por el método de Lagrange

$$f_6(x) = 3,345518485 - 3,420611409 \times 10^{-2}x + 1,445378777 \times 10^{-4}x^2 \\ - 3,230336384 \times 10^{-7}x^3 + 4,029539676 \times 10^{-10}x^4 \\ - 2,661337974 \times 10^{-13}x^5 + 7,273839120 \times 10^{-17}x^6$$

Ecuación obtenida por el método de Newton

$$f_6(x) = 3,345518522 - 3,420611448 \times 10^{-2}x + 1,445378794 \times 10^{-4}x^2 \\ - 3,230336422 \times 10^{-7}x^3 + 4,029539724 \times 10^{-10}x^4 \\ - 2,661338007 \times 10^{-13}x^5 + 7,273839213 \times 10^{-17}x^6$$

Material 20%		
i	x_i	$f(x_i)$
0	440,0	0,0018
1	465,0	0,0018
2	546,1	0,0018
3	590,0	0,0019
4	635,0	0,0018
5	700,0	0,0020
6	750,0	0,0023

Tabla 4

Ecuación obtenida por el método de Lagrange

$$\begin{aligned}f_6(x) = & -6,695753035 + 7,111255967 \times 10^{-2}x - 3,121323057 \times 10^{-4}x^2 \\& + 7,249190154 \times 10^{-7}x^3 - 9,395689281 \times 10^{-10}x^4 \\& + 6,443972104 \times 10^{-13}x^5 - 1,827195364 \times 10^{-16}x^6\end{aligned}$$

Ecuación obtenida por el método de Newton

$$\begin{aligned}f_6(x) = & -6,695753016 + 7,111255947 \times 10^{-2}x - 3,121323048 \times 10^{-4}x^2 \\& + 7,249190134 \times 10^{-7}x^3 - 9,395689255 \times 10^{-10}x^4 \\& + 6,443972086 \times 10^{-13}x^5 - 1,827195359 \times 10^{-16}x^6\end{aligned}$$

Material 30%		
i	x_i	$f(x_i)$
0	440,0	0,0016
1	465,0	0,0016
2	546,1	0,0016
3	590,0	0,0016
4	635,0	0,0017
5	700,0	0,0016
6	750,0	0,0016

Tabla 5

Ecuación obtenida por el método de Lagrange

$$\begin{aligned}f_6(x) = & 3,492843285 - 3,739558445 \times 10^{-2}x + 1,656530391 \times 10^{-4}x^2 \\& - 3,884076306 \times 10^{-7}x^3 + 5,083747836 \times 10^{-10}x^4 \\& - 3,521707495 \times 10^{-13}x^5 + 1,008767292 \times 10^{-16}x^6\end{aligned}$$

Ecuación obtenida por el método de Newton

$$\begin{aligned}f_6(x) = & 3,492843309 - 3,739558469 \times 10^{-2}x + 1,656530402 \times 10^{-4}x^2 \\& - 3,884076332 \times 10^{-7}x^3 + 5,083747869 \times 10^{-10}x^4 \\& - 3,521707518 \times 10^{-13}x^5 + 1,008767299 \times 10^{-16}x^6\end{aligned}$$

Material 50%		
i	x_i	$f(x_i)$
0	440,0	0,0021
1	465,0	0,0018
2	546,1	0,0022
3	590,0	0,0021
4	635,0	0,0020
5	700,0	0,0021
6	750,0	0,0022

Tabla 6

Ecuación obtenida por el método de Lagrange

$$\begin{aligned}
 f_6(x) = & 5,420093983 - 5,426825446 \times 10^{-2}x + 2,245628668 \times 10^{-4}x^2 \\
 & - 4,915753211 \times 10^{-7}x^3 + 6,006266375 \times 10^{-10}x^4 \\
 & - 3,885502595 \times 10^{-13}x^5 + 1,040170421 \times 10^{-16}x^6
 \end{aligned}$$

Ecuación obtenida por el método de Newton

$$\begin{aligned}
 f_6(x) = & 5,420093990 - 5,426825453 \times 10^{-2}x + 2,245628672 \times 10^{-4}x^2 \\
 & - 4,915753219 \times 10^{-7}x^3 + 6,006266385 \times 10^{-10}x^4 \\
 & - 3,885502601 \times 10^{-13}x^5 + 1,040170423 \times 10^{-16}x^6
 \end{aligned}$$

Material 90%		
i	x_i	$f(x_i)$
0	440,0	0,0014
1	465,0	0,0015
2	546,1	0,0014
3	590,0	0,0015
4	635,0	0,0015
5	700,0	0,0014
6	750,0	0,0015

Tabla 7

Ecuación obtenida por el método de Lagrange

$$\begin{aligned}f_6(x) = & -3,682147744 + 3,778345108 \times 10^{-2}x - 1,601168270 \times 10^{-4}x^2 \\& + 3,588526227 \times 10^{-7}x^3 - 4,486599511 \times 10^{-10}x^4 \\& + 2,967518765 \times 10^{-13}x^5 - 8,113886217 \times 10^{-17}x^6\end{aligned}$$

Ecuación obtenida por el método de Newton

$$\begin{aligned}f_6(x) = & -3,682147731 + 3,778345094 \times 10^{-2}x - 1,601168264 \times 10^{-4}x^2 \\& + 3,588526212 \times 10^{-7}x^3 - 4,486599491 \times 10^{-10}x^4 \\& + 2,967518751 \times 10^{-13}x^5 - 8,113886177 \times 10^{-17}x^6\end{aligned}$$

Gráficos de las ecuaciones obtenidas por los métodos de Lagrange y Newton

Interpolación del material de 1% (Ec. por Lagrange)

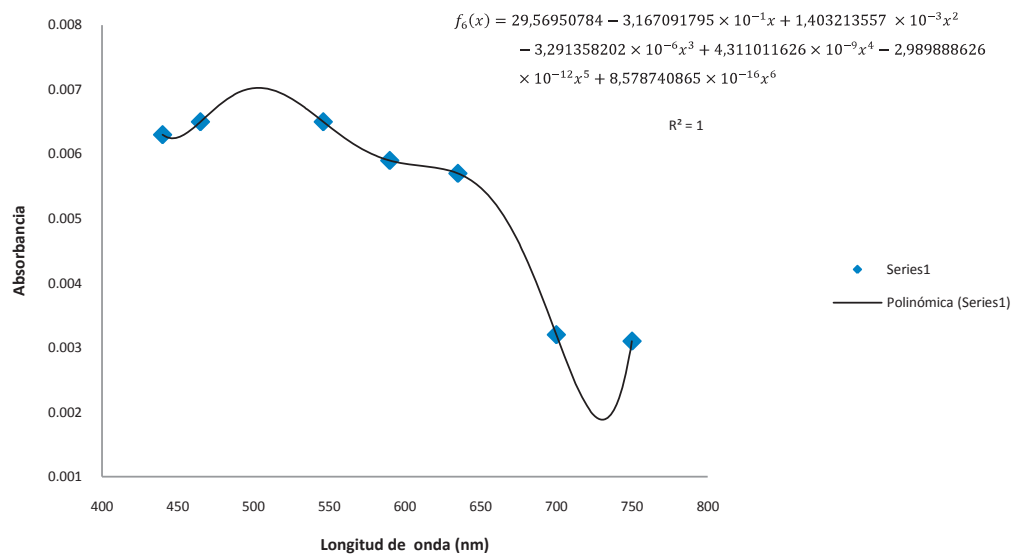


Gráfico 1a

Interpolación del material de 1% (Ec. por Newton)

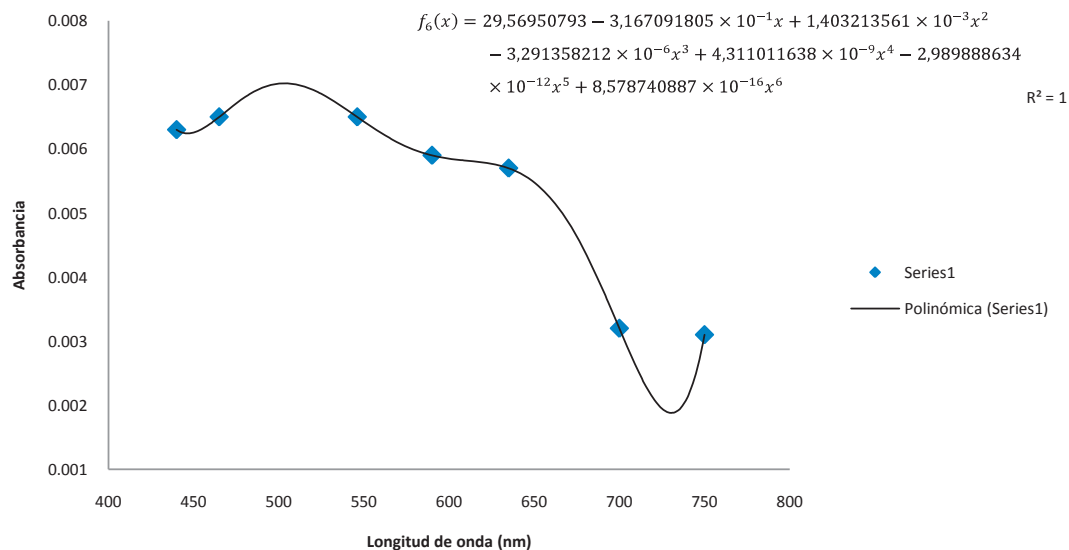


Gráfico 1b

Interpolación del material de 3% (Ec. por Lagrange)

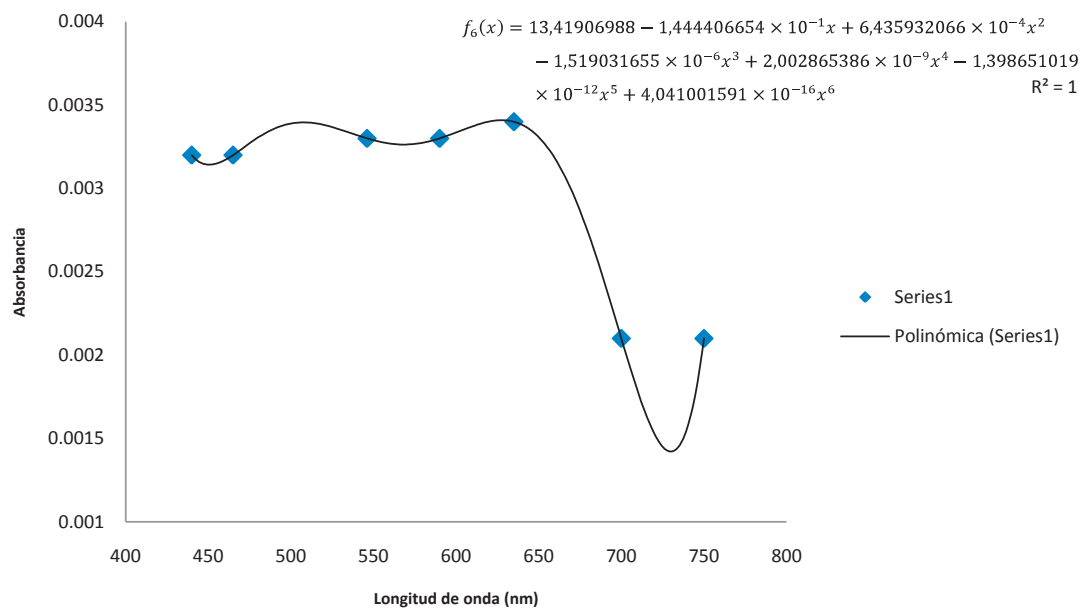


Gráfico 2a

Interpolación del material de 3% (Ec. por Newton)

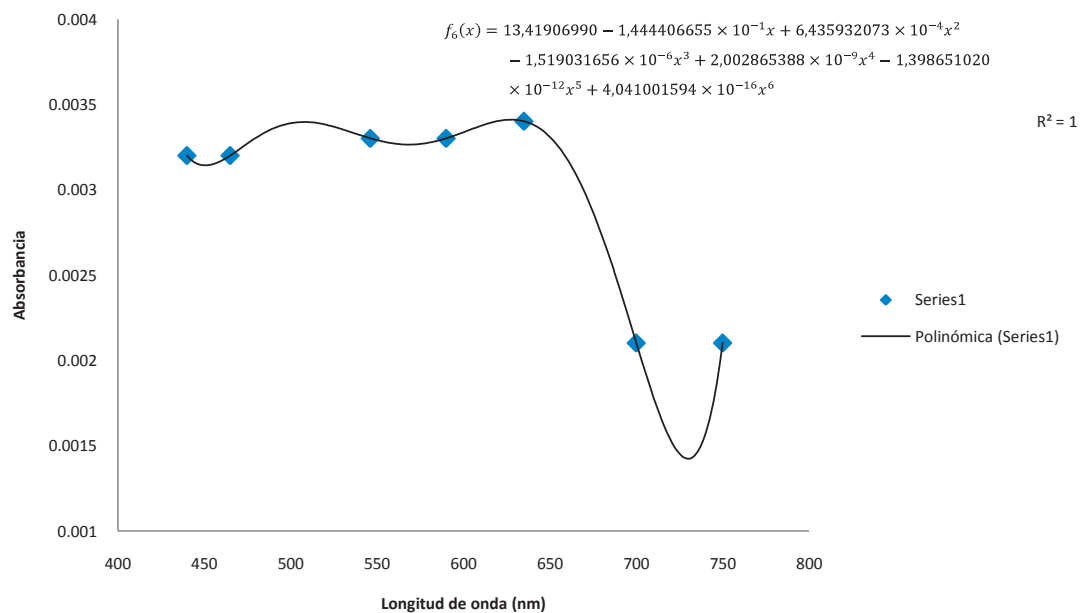


Gráfico 2b

Interpolación del material de 10% (Ec. por Lagrange)

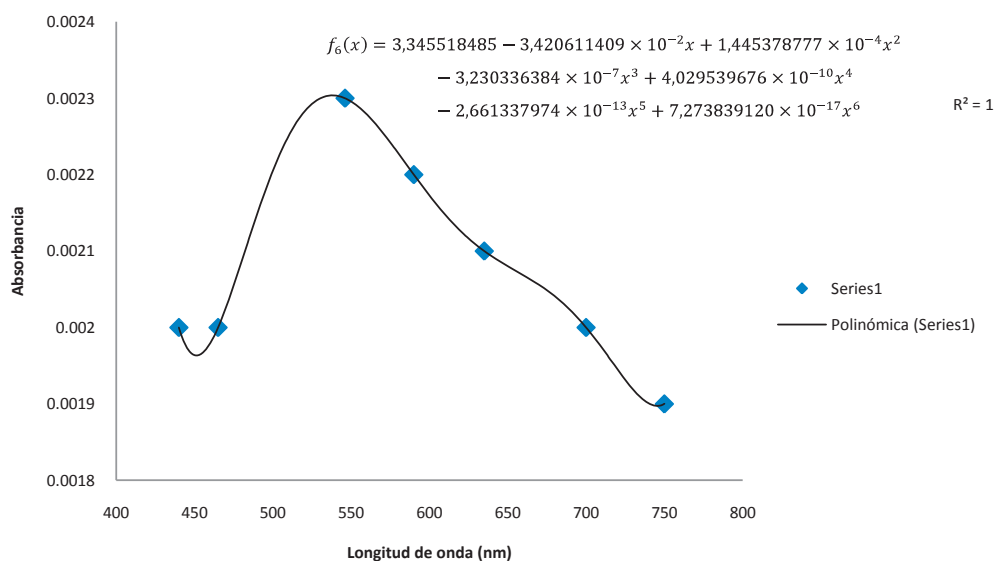


Gráfico 3a

Interpolación del material de 10% (Ec. por Newton)

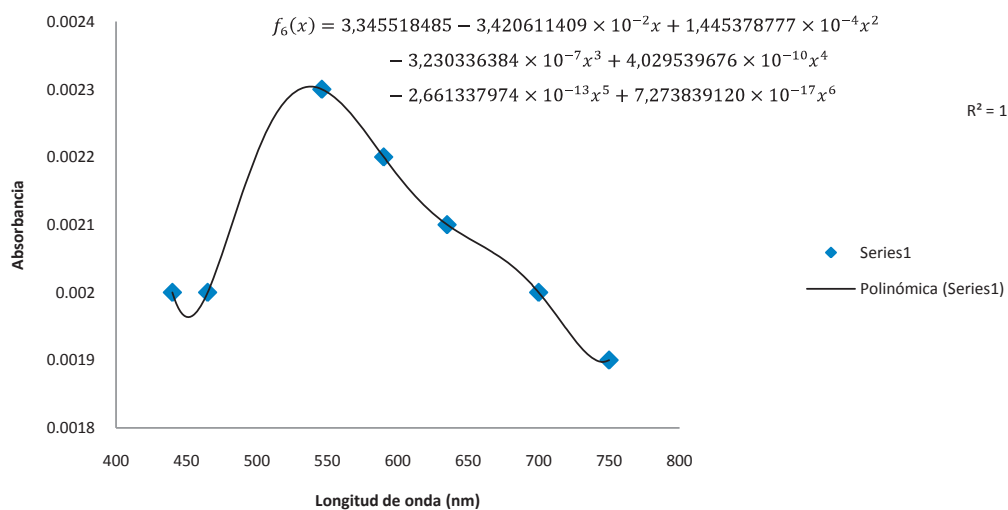


Gráfico 3b

Interpolación del material de 20% (Ec. por Lagrange)

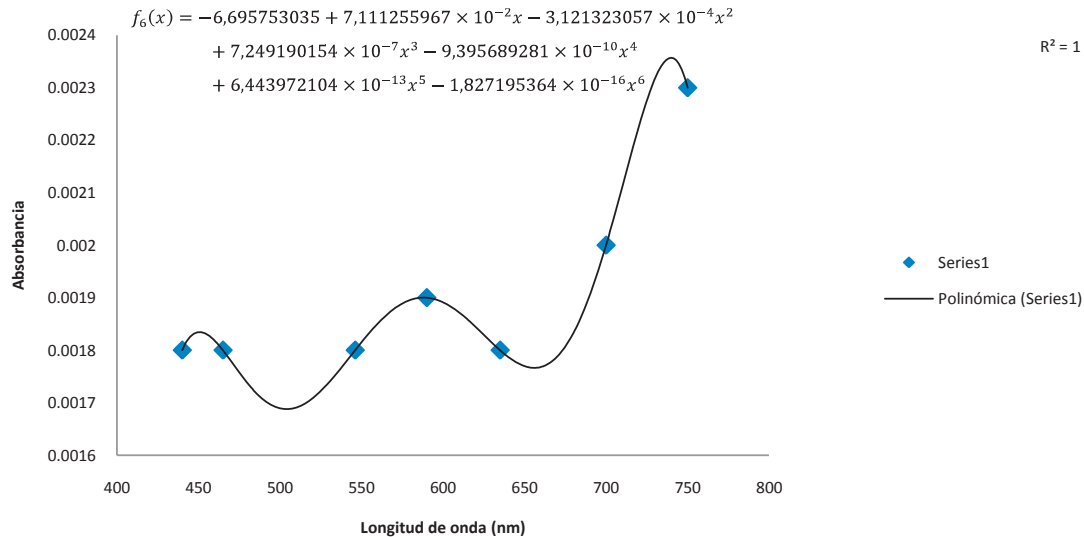


Gráfico 4a

Interpolación del material de 20% (Ec. por Newton)

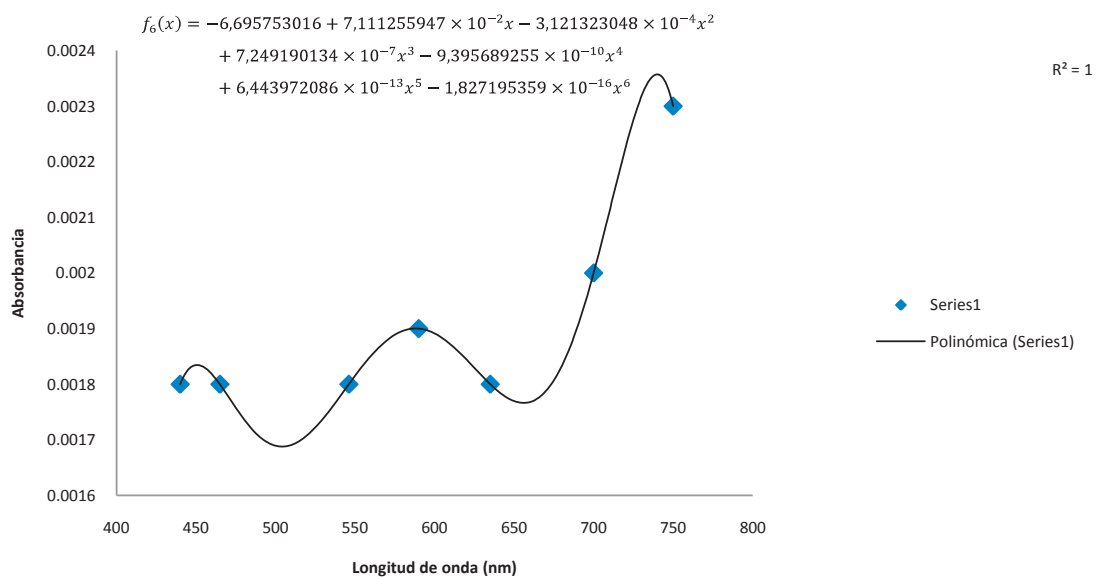


Gráfico 4b

Interpolación del material de 30% (Ec. por Lagrange)

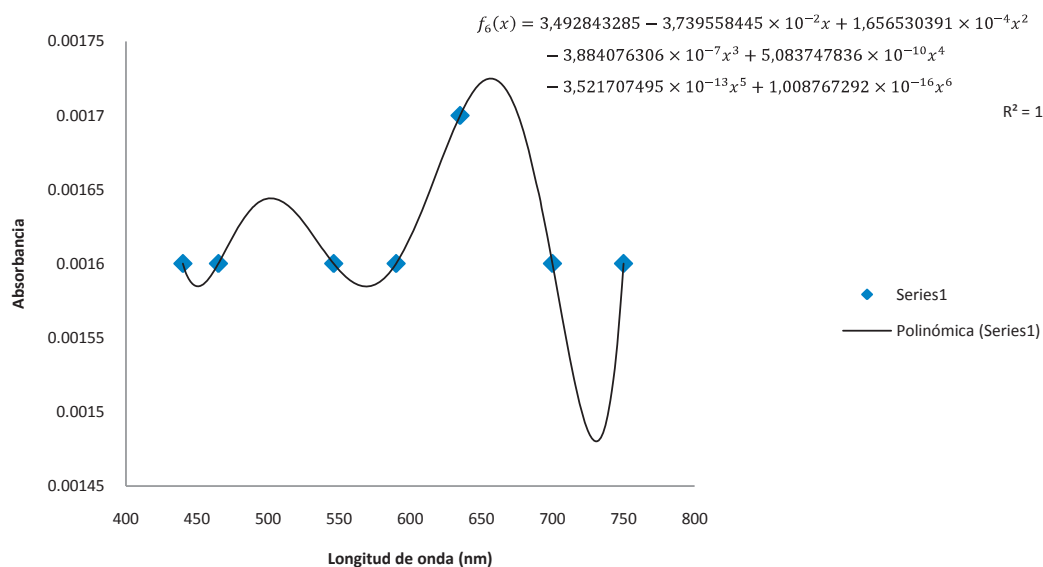


Gráfico 5a

Interpolación del material de 30% (Ec. por Newton)

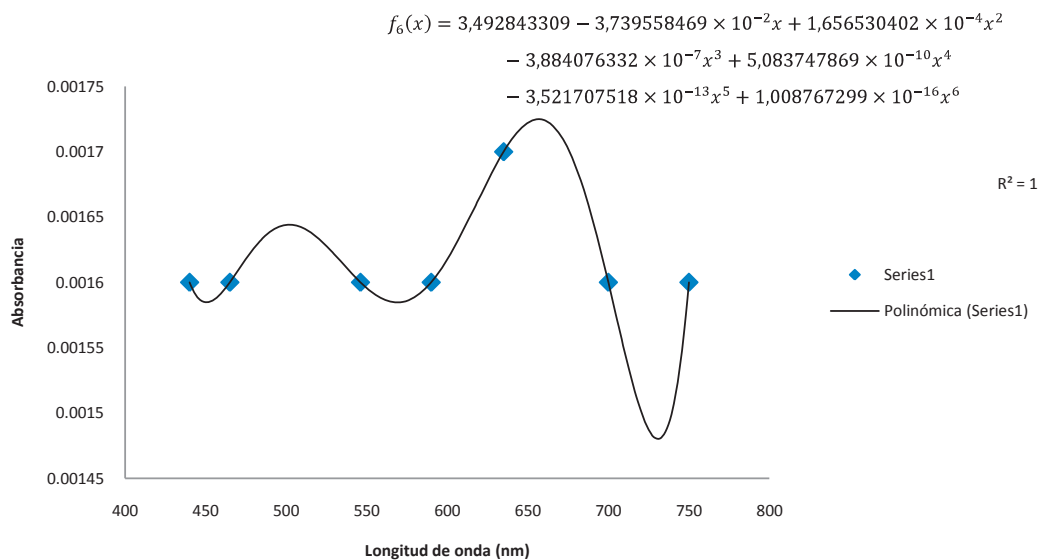


Gráfico 5b

Interpolación del material de 50% (Ec. por Lagrange)

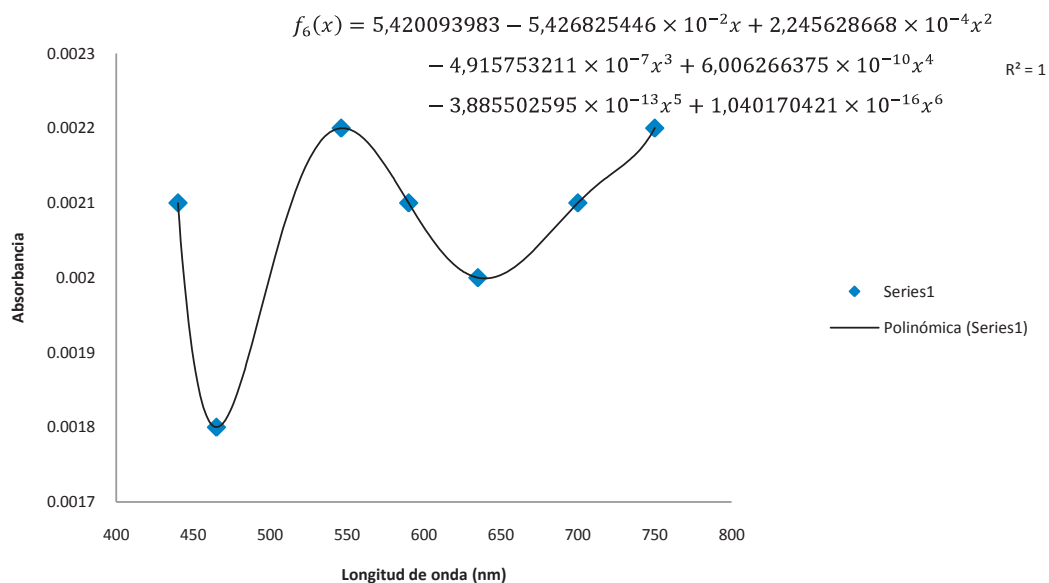


Gráfico 6a

Interpolación del material de 50% (Ec. por Newton)

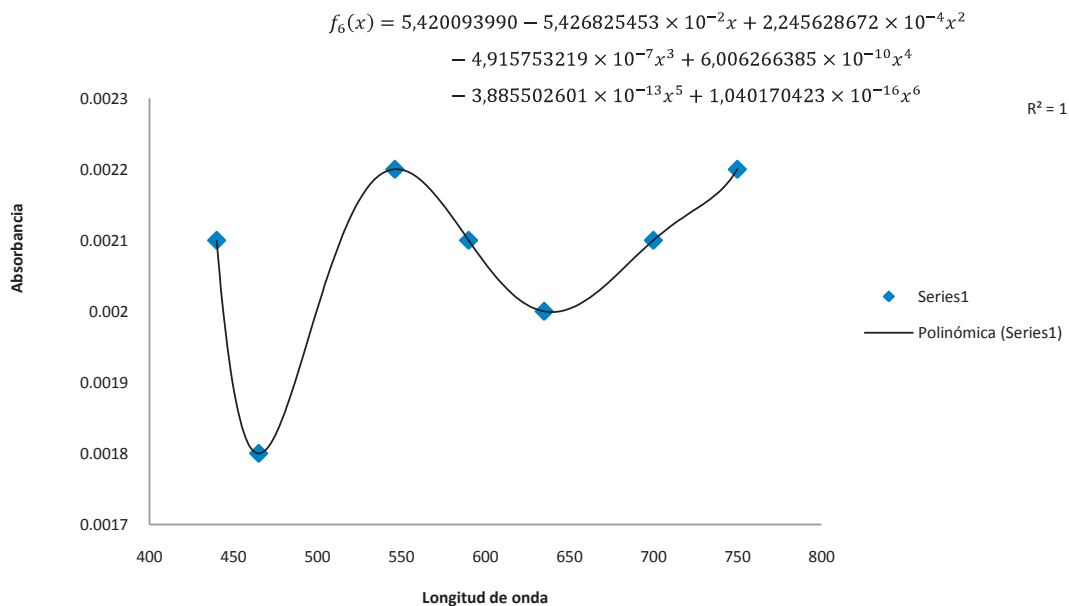


Gráfico 6b

Interpolación del material de 90% (Ec. por Lagrange)

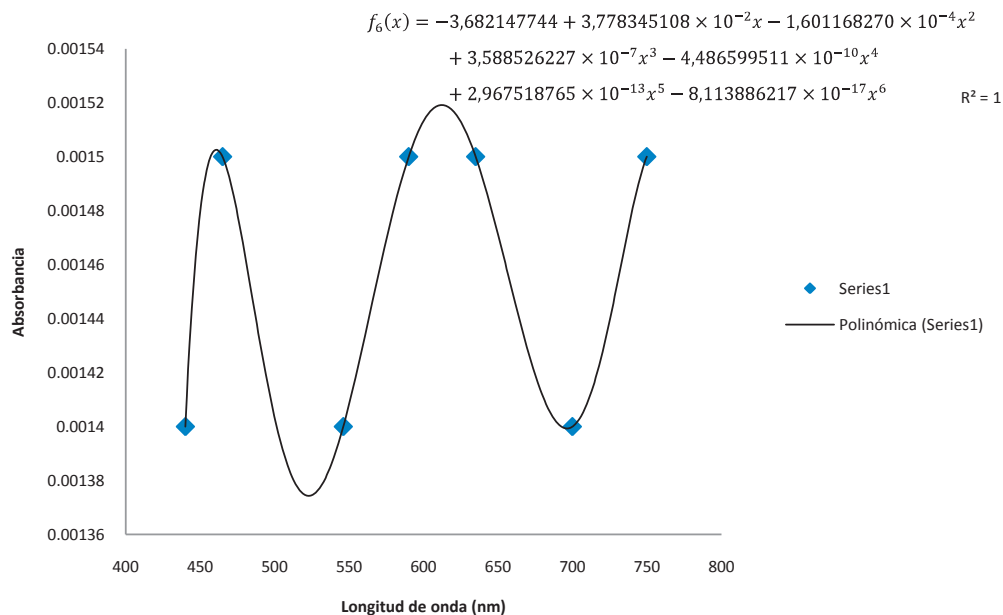


Gráfico 7a

Interpolación del material de 90% (Ec. por Newton)

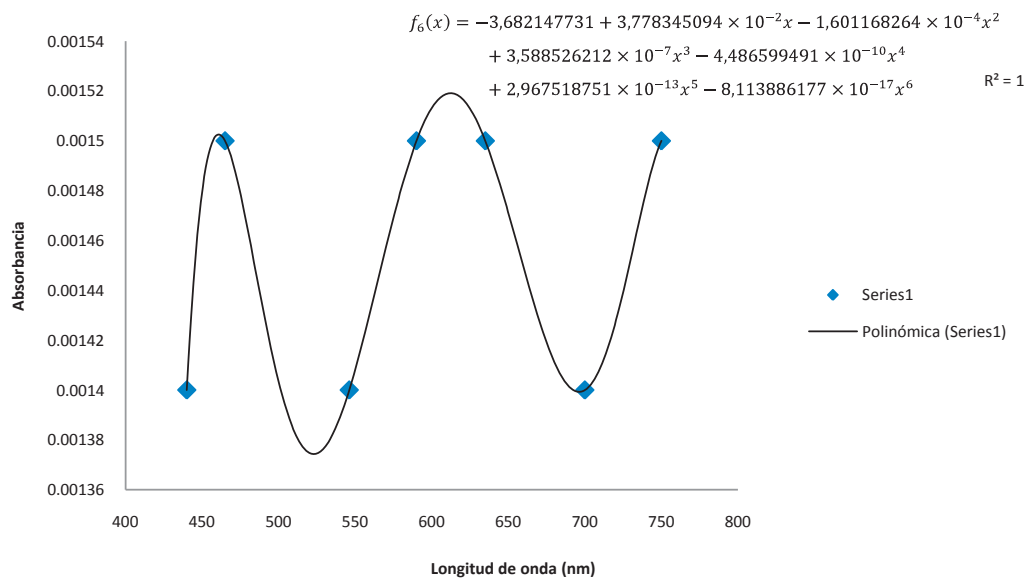


Gráfico 7b

Estos resultados se analizan en el siguiente capítulo.

CAPÍTULO V

Análisis de datos

Una de las etapas más importantes en una investigación científica es el análisis de los datos, el cual significa extraer del comportamiento del fenómeno reflejado en cierta forma en los resultados, para obtener la información pretendida de él, para su mejor comprensión y utilidad del conocimiento obtenido. Por lo anterior, analizaremos los resultados presentados en el capítulo anterior con el fin de conocer el comportamiento de los datos y comparar las ecuaciones obtenidas por los métodos correspondientes de interpolación.

5.1. Análisis de datos

A continuación se realiza una comparación de los datos reportados en el certificado de calibración con respecto a los determinados por los métodos de interpolación mencionados en el capítulo 2.4.7, utilizando un análisis de varianza (ANOVA) como prueba estadística y un nivel de significancia de 0,05 en todos los casos. (Revisar anexo A)

TABLA DE COMPARACIÓN DE VALORES SIN CONSIDERAR RESOLUCIÓN DEL INSTRUMENTO DE MEDICIÓN.				
Tipo de material/Longitud de onda.		Reportado por el certificado de calibración.	Obtenido por el método de Lagrange.	Obtenido por el método de Newton.
Material de 1%	440,0	0,0063	0,00630011	0,00630002
	465,0	0,0065	0,00650012	0,00650002
	546,1	0,0065	0,00650017	0,00650001
	590,0	0,0059	0,00590019	0,00590001
	635,0	0,0057	0,00570022	0,0057
	700,0	0,0032	0,00320027	0,00319998
	750,0	0,0031	0,0031003	0,00309996

Tabla 8

Para el material de 1%, los resultados obtenidos por ambas ecuaciones de interpolación y los reportados en el Certificado de Calibración no muestran diferencia significativa, así también se observa que no hay diferencia significativa entre los resultados obtenidos por uno u otro algoritmo de interpolación. [Revisar tabla 16 del anexo]

TABLA DE COMPARACIÓN DE VALORES SIN CONSIDERAR LA RESOLUCIÓN DEL INSTRUMENTO DE MEDICIÓN.				
Tipo de material/Longitud de onda.		Reportado por el certificado de calibración.	Obtenido por el método de Lagrange.	Obtenido por el método de Newton.
Material de 3%	440,0	0,0032	0,00319993	0,00320053
	465,0	0,0032	0,00319992	0,00320062
	546,1	0,0033	0,00329987	0,00330099
	590,0	0,0033	0,00329983	0,00330124
	635,0	0,0034	0,00339978	0,00340154
	700,0	0,0021	0,0020997	0,00210206
	750,0	0,0021	0,00209962	0,00210252

Tabla 9

En la tabla anterior se observa que para el material de 3%, los resultados obtenidos por las ecuaciones de interpolación mencionada, con respecto a los resultados reportados en el Certificado de Calibración no muestran diferencia significativa al realizar el ANOVA, así también los resultados calculados por la ecuación determinada por el método de interpolación de Lagrange y el de Newton, respectivamente, no muestran diferencia significativa. (Ver tabla 16 del anexo A).

TABLA DE COMPARACIÓN DE VALORES SIN CONSIDERAR RESOLUCIÓN DEL INSTRUMENTO DE MEDICIÓN.				
Tipo de material/Longitud de onda.		Reportado por el certificado de calibración.	Obtenido por el método de Lagrange.	Obtenido por el método de Newton.
Material de 10%	440,0	0,0020	0,002	0,002
	465,0	0,0020	0,002	0,002
	546,1	0,0023	0,0023	0,0023
	590,0	0,0022	0,0022	0,0022
	635,0	0,0021	0,0021	0,0021
	700,0	0,0020	0,0022	0,0022
	750,0	0,0019	0,0019	0,0019

Tabla 10

Después de realizar el ANOVA, entre los valores reportados en el certificado de calibración para el material de 10%, y los valores obtenidos por las ecuaciones de interpolación de Lagrange y Newton, no muestran diferencia significativa. Además se observa que los resultados calculados por las ecuaciones obtenidas por am-

bos métodos de interpolación no existe diferencia significativa (ver tabla 16 del anexo A).

TABLA DE COMPARACIÓN DE VALORES SIN CONSIDERAR RESOLUCIÓN DEL INSTRUMENTO DE MEDICIÓN.				
Tipo de material/Longitud de onda.		Reportado por el certificado de calibración.	Obtenido por el método de Lagrange.	Obtenido por el método de Newton.
Material de 20%	440,0	0,0018	0,0018	0,0018
	465,0	0,0018	0,0018	0,00180001
	546,1	0,0018	0,0018	0,00180001
	590,0	0,0019	0,0019	0,00190001
	635,0	0,0018	0,0018	0,00180001
	700,0	0,0020	0,002	0,00200001
	750,0	0,0023	0,0023	0,00230002

Tabla 11.

Con el ANOVA realizada para el material de 20% utilizando un nivel de significancia del 0,05, se observa que no existe diferencia significativa entre los valores reportados en el certificado de calibración, y los valores obtenidos por las ecuaciones de interpolación obtenidas, tampoco existe diferencia significativa entre los valores calculados por uno u otro método de interpolación (ver tabla 16 del anexo A).

TABLA DE COMPARACIÓN DE VALORES SIN CONSIDERAR RESOLUCIÓN DEL INSTRUMENTO DE MEDICIÓN.				
Tipo de material/Longitud de onda.		Reportado por el certificado de calibración.	Obtenido por el método de Lagrange.	Obtenido por el método de Newton.
Material de 30%	440,0	0,0016	0,00160001	0,00160001
	465,0	0,0016	0,00160001	0,00160001
	546,1	0,0016	0,00160001	0,00160001
	590,0	0,0016	0,00160002	0,00160001
	635,0	0,0017	0,00170002	0,00170001
	700,0	0,0016	0,00160002	0,00160001
	750,0	0,0016	0,00160002	0,00160001

Tabla 12

Los valores reportados en el certificado de calibración para el material de 30% y los valores calculados por las ecuaciones de interpolación obtenidos por ambos métodos de interpolación, no muestran diferencia significativa tras haber realizado el

ANOVA con un nivel de significancia de 0,05, observándose también que no hay diferencia significativa entre los resultados obtenidos por el método de interpolación de Lagrange y los obtenidos por el método de interpolación de Newton (ver tabla 16 del anexo A).

TABLA DE COMPARACIÓN DE VALORES SIN CONSIDERAR RESOLUCIÓN DEL INSTRUMENTO DE MEDICIÓN.				
Tipo de material/Longitud de onda.		Reportado por el certificado de calibración.	Obtenido por el método de Lagrange.	Obtenido por el método de Newton.
Material de 50%	440,0	0,0021	0,0021	0,00210001
	465,0	0,0018	0,0018	0,00180001
	546,1	0,0022	0,00219999	0,0022002
	590,0	0,0021	0,00209999	0,00210002
	635,0	0,0020	0,00199999	0,00200003
	700,0	0,0021	0,00209999	0,00210003
	750,0	0,0022	0,00219999	0,00220004

Tabla 13

Entre los valores calculados por los métodos de interpolación de Lagrange y Newton y los reportados por el certificado de calibración, para el material de 50%, con un intervalo de confianza del 95%, se observa que no existe diferencia significativa entre ambos, como tampoco existe diferencia significativa entre los valores obtenidos por el método de interpolación de Lagrange con respecto al resultado obtenido por el método de Newton (ver tabla 16 del anexo A).

TABLA DE COMPARACIÓN DE VALORES SIN CONSIDERAR RESOLUCIÓN DEL INSTRUMENTO DE MEDICIÓN.				
Tipo de material/Longitud de onda.		Reportado por el certificado de calibración.	Obtenido por el método de Lagrange.	Obtenido por el método de Newton.
Material de 90%	440,0	0,0014	0,0014	0,00139999
	465,0	0,0015	0,0015	0,00149999
	546,1	0,0014	0,0014	0,00139999
	590,0	0,0015	0,0015	0,00149999
	635,0	0,0015	0,0015	0,00149999
	700,0	0,0014	0,0014	0,00139998
	750,0	0,0015	0,0015	0,00149998

Tabla 14

Para el material de 90% se observa con un nivel de significancia de 0,05, por un lado, que los valores calculados por las ecuaciones determinadas por la interpolación

de Lagrange y Newton respecto a los reportados en el certificado de calibración no muestran diferencia significativa, y por otro lado, no hay diferencia significativa entre los valores obtenidos por el método de Lagrange con respecto a los obtenidos por el método de Newton (ver tabla 16 del anexo A).

CAPÍTULO VI

Conclusiones

La importancia de la calibración de los equipos e instrumentos utilizados en un laboratorio de ensayo y calibración o en los laboratorios que cuentan con un sistema de gestión de la calidad, como ya se ha mencionado anteriormente, destaca el papel crucial de los materiales de referencia para un sin número de mediciones que permitan otorgarle la confiabilidad a los resultados obtenidos en ella, convierten a estos materiales en una necesidad básica y por ende cada día con mayor exigencia. Este suceso debido a los costos de estos materiales nos confiere a los interesados de esta área la responsabilidad de buscar procedimientos capaces de resolver esta gran demanda y al mismo tiempo facilitar el servicio.

Por lo anterior, nuestro trabajo de investigación cobra importancia debido a que ya no es necesaria la caracterización con un material de referencia extra en los intervalos de longitudes de onda ya establecidas, puesto que con las ecuaciones obtenidas para cada material se pueden conocer las absorbencias dentro del rango con mucha exactitud. Aunque cabe resaltar que este procedimiento solo es una propuesta que se deja a juicio de las organizaciones involucradas.

6.1. Conclusiones

A continuación se enumeran las conclusiones obtenidas.

- Los métodos de interpolación de Lagrange y Newton, permitieron deducir las ecuaciones que describen las absorbencias de los materiales de referencia certificados para la caracterización de micro placas de ELISA a longitudes de onda entre 440 a 750 nm satisfaciéndose de esta manera la hipótesis planteada en el primer capítulo.
- Es posible calcular las absorbencias de los materiales de referencia utilizados en la caracterización de micro placas de ELISA con las ecuaciones de interpolación obtenidas, a diferentes longitudes de onda (440 – 750nm), como se muestra en las tablas 8 - 14. [74]
- No existe diferencia significativa entre los valores reportados por el certificado de calibración y los obtenidos por las ecuaciones de interpolación de Lagrange y Newton, (Revisar las tablas 8-14).

- Se puede utilizar indistintamente el algoritmo de interpolación de Lagrange o de Newton para este objetivo ya que se ha observado que no existe diferencia significativa entre los valores obtenidos por uno u por otro algoritmo (Ver tabla 16 del anexo).
- Este método no es exclusivo para mediciones en lectores de micro placas de ELISA, ya que se puede utilizar para otros equipos e instrumentos que presenten las características cualitativas que el expuesto en este trabajo.
- Este método permitirá disminuir los costos económicos y en tiempo en la calibración de equipos de medición primordiales en los diferentes laboratorios, permitiendo de esta forma tener mejor calidad en los resultados y servicios ofrecidos a los clientes.

VISIÓN

Controlando las variables dependientes mencionadas en el primer capítulo nos permite satisfacer la hipótesis establecida, sin embargo, existe la posibilidad de que los resultados obtenidos se alteren al modificar dichas variables, es por ello, que el método propuesto tendría que ser validado para poderse aplicar en los laboratorios y posteriormente revalidado por cada laboratorio que lo utilice. La determinación de la incertidumbre para los valores calculados por el método de interpolación, se puede realizar con una buena exactitud utilizando herramientas matemáticas, aunque este tendría que ser comprobado objetivamente con una investigación al respecto, la utilización del procedimiento propuesto se puede extender a otros equipos de análisis, no sólo a los Lectores de micro placas de ELISA, que presenten las mismas características cualitativas que las analizadas en el presente trabajo. La calidad es más costosa mientras más se desconoce de las herramientas que nos pueden servir para mejorar los procedimientos utilizados, sin embargo con nuestro trabajo se abre la posibilidad de buscar nuevas formas que nos faciliten realizar nuestras actividades de Laboratorio con mayor calidad, sin pasar por alto las leyes físicas que gobiernan los fenómenos y procesos de las mediciones. También es importante mencionar que este procedimiento se deja a juicio y consideración de los organismos que pudieran hacer uso de él.

TRABAJO A FUTURO

Al realizar una investigación, se observa que el método, procedimiento, entre otros, que se desarrolla en ella, se puede aplicar de varias formas e incluso en otras disciplinas, sin embargo, por el tiempo determinado que se emplea en ella, solo es posible tener una idea acerca de lo que además de lo realizado se puede obtener, es por ello que nos permitimos enunciar algunas de las propuestas de un seguimiento que puede tener a futuro nuestro tema de investigación.

- Asignar la incertidumbre asociada a los valores de caracterización de microplacas de ELISA determinados por la interpolación de Newton y Lagrange.
- Validación del método de interpolación utilizado en este trabajo.

ANEXO A

Análisis de varianza (ANOVA)

Es una prueba estadística que consiste en un procedimiento aritmético que descompone un total de cuadrados en sus respectivos componentes, cada uno asociado a fuentes de variación reconocida. Se utiliza en el análisis de datos que se miden cuantitativamente para determinar si existe diferencia significativa entre las medias de cada muestra de un grupo de datos, y puede ser para una o varias vías [68]. En nuestro interés para analizar los resultados obtenidos se utiliza el análisis de varianza de un solo factor o de una sola vía.

Así por ejemplo para el material de 90% se tiene:

1.- Estableciendo la Hipótesis nula y alternativa.

a) H_0 : las $\mu_1 = \mu_2$; Hipótesis nula.

b) H_a : las $\mu_1 \neq \mu_2$; Hipótesis alternativa.

Donde μ_1 es la media de los valores reportados por el certificado de calibración, μ_2 es la media de los valores calculados por el método de interpolación de Lagrange.

2.- Tabulando los valores:

Reportado por el certificado de calibración.	Obtenido por el método de Lagrange.
0,0014	0,0014
0,0015	0,0015
0,0014	0,0014
0,0015	0,0015
0,0015	0,0015
0,0014	0,0014
0,0015	0,0015

Tabla 15,1 a

3.- Utilizando el software Excel para realizar el ANOVA con un nivel de significancia de 0,05 tenemos:

Análisis de varianza de un factor

RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Reportado por el certificado de calibración.	7	0,0102	0,00145714	2,8571E-09
Obtenido por el método de Lagrange.	7	0,0102	0,00145714	2,8571E-09

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0	1	0	0	1	4,74722534
Dentro de los grupos	3,4286E-08	12	2,8571E-09			
Total	3,4286E-08	13				

Tabla 15,1 b

4.- Interpretación del resultado obtenido

Como se observa en la tabla 15,1 b, el valor de F calculada es 0 y el F crítico es de 4,7422534 con un nivel de probabilidad de 0,05, por tanto, comparando las F obtenidas se tiene que la F crítica es mayor que la F calculada, lo que significa que se acepta la hipótesis nula y se rechaza la alternativa, es decir no existe diferencia significativa entre los valores obtenidos por el método de interpolación de Lagrange y los valores reportados por el certificado de calibración.

Utilizando el mismo procedimiento descrito, se obtienen los siguientes resultados:

Tipo de material.	Valores reportados en el certificado de calibración y los obtenidos por la ecuación de interpolación de Lagrange.		Valores reportados en el certificado de calibración y los obtenidos por la ecuación de interpolación de Newton.		Valores obtenidos por la ecuación de interpolación de Lagrange y de Newton.	
	F calculada	F crítica	F calculada	F crítica	F calculada	F crítica
1%	5,9802E-08	4,74722534	-1,4894E-15	4,74722534	5,9801E-08	4,74722534
3%	3,8715E-07	4,74722534	1,9195E-05	4,74722534	2,5033E-05	4,74722534
10%	0,14634146	4,74722534	0,14634146	4,74722534	0	4,74722534
20%	0	4,74722534	1,0068E-08	4,74722534	1,0068E-08	4,74722534
30%	6,0497E-07	4,74722534	2,45E-07	4,74722534	7,9996E-08	4,74722534
50%	9,3752E-09	4,74722534	4,3339E-07	4,74722534	5,7025E-07	4,74722534
90%	0	4,74722534	2,025E-07	4,74722534	2,025E-07	4,74722534

Tabla 16. Comparación de los resultados obtenidos en el ANOVA.

GLOSARIO

- **Algoritmo:** instrucciones donde se especifica una secuencia de operaciones para la solución de un problema. [75]
- **Ampere (A):** intensidad de una corriente, que mantenida en dos conductores paralelos, rectilíneos, de longitud infinita de sección circular despreciable colocados a un metro de distancia entre sí en el vacío produciría entre estos conductores una fuerza igual a 2×10^{-7} newton por metro de longitud.
- **Calibración:** *operación que bajo condiciones especificadas establece, en una primera etapa, una relación entre los valores y sus incertidumbres de medida asociadas obtenidas a partir de los patrones de medida, y las correspondientes indicaciones con sus incertidumbres asociadas, y en segunda etapa, utiliza esta información para establecer una relación que permita obtener un resultado de medida a partir de una indicación.* [24]
- **Calidad:** totalidad de las características que determinan la habilidad para satisfacer necesidades determinadas. [76]
- **Candela (cd):** intensidad luminosa, en una dirección dada de una fuente que emite una radiación monocromática de frecuencia 540×10^{12} Hz y cuya intensidad energética en esa dirección es de 1 / 683 watt por esteradián.
- **Estabilidad de un instrumento de medida:** *aptitud de un instrumento de medida para conservar constantes sus características metrológicas a lo largo del tiempo.* [24]
- **Incertidumbre:** *“parámetro no negativo que caracteriza la dispersión de los valores atribuidos a un mensurando, a partir de la información que se utiliza”* [24].
- **Interpolación:** elegir una función de una clase de funciones, tal que, contenga al conjunto de puntos dados de los cuales se busca la función. [77]
- **Intervalo de trabajo y ámbito lineal:** aptitud que posee el método para obtener resultados proporcionales a la concentración del analito.

- **Kelvin (K):** fracción $1 / 273,16$ de la temperatura termodinámica del punto libre del agua.
- **Kilogramo (Kg):** masa igual a la del prototipo internacional del Kilogramo.
- **Límite de cuantificación:** es la mínima cantidad determinada por un método con una incertidumbre asociada a un nivel de confianza establecida [30].
- **Límite de detección:** “valor medido, obtenido mediante un procedimiento de medida dado, con una probabilidad β de declara erróneamente la ausencia de un constituyente de un material, dada una probabilidad α de declarar erróneamente su presencia” [24].
- **Metro (m):** magnitud de la trayectoria recorrida por la luz en el vacío en un lapso de $1 / 299\,792\,458$ de segundo.
- **Metrología:** ciencia de las mediciones y sus aplicaciones. [24]
- **Mol (mol):** cantidad de materia que contiene tantas unidades elementales como átomos existen en 0,012 kilogramos de carbono 12 (^{12}C).
- **Recuperación:** proporción del analito presente en la muestra que puede ser cuantificada por el método de ensayo [30].
- **Repetibilidad:** “precisión de medida bajo un conjunto de mediciones de repetibilidad”. Una condición de repetibilidad de una medición es una condición de medición, dentro de un conjunto de condiciones que incluye el mismo procedimiento de medida, los mismos operadores, el mismo sistema de medida, las mismas condiciones de operación y el mismo lugar, así como mediciones repetidas del mismo objeto o de un objeto similar en un periodo corto de tiempo [24].
- **Reproducibilidad:** “precisión de medida bajo un conjunto de condiciones de reproducibilidad” una condición de reproducibilidad es una condición de medición, dentro de un conjunto de condiciones que incluye diferentes lugares, operados, sistemas de medida y mediciones repetidas de los mismos objetos u objetos similares [24]. Las condiciones de cambio deberán ser especificados para que tenga validez la expresión de la reproducibilidad [28].
- **Resolución:** mínima variación de la magnitud de medida que da lugar a una variación perceptible de la indicación correspondiente. [24]

- **Robustez:** es la cuantificación de la capacidad que tiene un procedimiento analítico de no ser alterado por pequeñas variaciones en el método, el cual indica su fiabilidad [30].
- **Segundo (s):** duración de 9 192 631 770 periodos de la radiación correspondiente a la transición entre los dos niveles hiperfinos del estado base del átomo de cesio 133.
- **Selectividad:** *“propiedad de un sistema de medida empleando un procedimiento de medida especificado, por la que el sistema proporciona valores medidos para uno o varios mensurandos, que son independientes entre sí o de otras magnitudes existentes en el fenómeno, cuerpo o sustancia en estudio”* [24].
- **Sensibilidad:** *“cociente entre la variación de una indicación de un sistema de medida y la variación correspondiente del valor de la magnitud de medida”* [24].
- **Sesgo:** *“valor estimado de un error sistemático”* [24].
- **Trazabilidad metrológica:** *propiedad de un resultado de medida por la cual el resultado puede relacionarse con una referencia mediante una cadena ininterrumpida y documentada de calibraciones, cada una de las cuales contribuye a la incertidumbre de medida.* [24]

BIBLIOGRAFIA

- [1] Lefcovich Mauricio. Kaizen - La gestión japonesa de la excelencia. [En línea]. [Fecha de consulta: 2010_01_27]. Disponible en <http://www.tuobra.unam.mx/publicadas/040810083831.html>.
- [2] Mi Tecnológico. *EVOLUCIÓN de la calidad*. [En línea]. F. B. R. Evolución de la calidad en el tiempo. [Fecha de consulta: 2009_10_27]. Disponible en <http://www.mitecnologico.com/Main/EvolucionCalidad>.
- [3] Cruz Ramírez, José. *HISTORIA de la Calidad*. [En línea]. [Fecha de consulta: 2009_10_21]. Disponible en <http://www.tecnologiaycalidad.galeon.com/calidad/6.htm>.
- [4] BARTOLOME López Lucas. *NORMALIZACIÓN*. [En línea]. [Fecha de consulta: 2009_10_22]. Disponible en <http://www.dibujotecnico.com/saladeestudios/teoria/normalización/Introduccion/introducción.php>
- [5] TOBÓN Londoño Fabio. Director ejecutivo ICONTEC. *ANTECEDENTES de la normatividad en aseguramiento de la calidad ISO 9000 y las normas ISO 14 000 e ISO 18 000, mitos y realidades*. [En línea]. [Fecha de consulta: 2009_11_10]. Disponible en <http://www.ingenieroambiental.com/4014/antecedentes.pdf>
- [6] GESTIOPOLIS. *¿QUÉ es ISO?* [En línea]. Derechos reservados a Carlos López. [Fecha de consulta: 2009_11_10]. Disponible en <http://www.gestiopolis.com/recursos/experto/catsexp/pagans/ger/49/iso.htm>
- [7] ANTECEDENTES de los organismos mundiales de normalización. [Fecha de consulta: 2009_10_22]. [En línea]. Disponible en www.itescam.edu.mx/principal/sylabus/fpdb/recursos/r6916.DOC
- [8] ORGANIZACIÓN Internacional para la Estandarización (ISO). [En línea]. [Fecha de consulta: 2009_09_12]. Disponible en http://WWW.bahacalifornia.gob.mx/registrocivilbc/iso_informa.2htm
- [9] EVOLUCIÓN de las normas ISO 9000. [En línea]. [Fecha de consulta: 2009_11_09]. Disponible en <http://www.sayce.com.mx/index.php?id=57>
- [10] Norma Mexicana ISO/IEC 17 025:2005 NMX-EC-17 025-IMNC-2006
- [11] AUTOR anónimo. *El existencialismo*. [En línea]. [Fecha de consulta: 2010_01_27]. Disponible en <http://filosofia.idoneos.com/index.php/350148>.

- [12] ACADEMIA de ciencias Luventicus. *Diversas acepciones del concepto de verdad*. [En línea]. [Fecha de publicación: 2003_10_22]. [Fecha de consulta: 2010_01_27]. Publicada en la República Argentina. Disponible en <http://www.luventicus.org/articulos/03A017/index.html>.
- [13] AGÜERO Gustavo [Et al.]. *La Aventura del pensamiento Científico moderno*. [En línea]. Primera edición. México. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo Secretaria de Difusión Cultural y Extensión Universitaria. Año de publicación 2002. [Fecha de consulta 2010_01_27]. Capítulo I Kuhn, Popper y la Historia de la ciencia. Disponible en <http://www.intec.edu.do/biblioteca/pdf/ISO/ISO690-ISO-690-2.pdf>. ISBN 968-7598-63-8.
- [14] PRINCIPIO de causa y efecto. [En línea]. [Fecha de consulta: 2010_01_27]. Disponible en <http://webs.ono.com/rafmursan/Jerarquia.html>.
- [15] ERNEST Mach. [En línea]. [Fecha de consulta: 2010_01_27]. Disponible en library.thinkquest.org/18033/mach2.html.
- [16] FERNANDEZ Sanz Luis. *Teoría de la medición*. [En línea]. [Fecha de publicación: 1998_11_30]. [Fecha de consulta: 2010_01_27]. Disponible en <http://www.sc.ehu.es/jiwdocoj/remis/docs/teoriamedicion.html>.
- [17] CURSOS JAVA. *Principio de Indeterminación de Heisenberg*. [En línea]. [Fecha de publicación: 2004_04_09]. [Fecha de consulta: 2010_01_28]. Disponible en <http://www.ciencia.net/VerArticulo/?idTitulo=Principio%20de%20indeterminaci%F3n%20de%20Heisenberg>.
- [18] ENCICLOPEDIA. *ORGANIZACIÓN Internacional para la normalización*. [En línea]. Actualizado el 2008_05_15. [Fecha de consulta: 2009_12_05]. Disponible en http://enciclopedia.us.es/index.php/Organizaci%C3%B3n_Internacional_para_la_norma_lizaci%B3n.
- [19] SECRETARIA de economía. *LA Organización Internacional de Normalización ISO*. [En línea]. Publicado en México D.F. [fecha de consulta: 2009_12_04]. Disponible en <http://www.economia.gob.mx/?P=516>
- [20] SERVICIO de atención al cliente. *LOS principales organismos internacionales de normalización*. [En línea]. Publicado el 2008_11_25 en Canadá. [Fecha de consulta: 2009_10_27]. Disponible en http://www.termium.gc.ca/didacticiel_tutorial/espanol/lecon5/page5_2_4_s.html#sublink1.

[21] UNIVERSIDAD de Sevilla Biblioteca. BIBLIOTECA de Ingenieros. *Organismos de Normalización*. [Editorial desconocido]. [En línea]. [Fecha de consulta: 2009_10_27]. Disponible en http://bib.us.es/ingenieros/recursos/normas/Organismos_normalizacion-ides-idweb.html

[22] EL sol de México Juan Antonio García Villa. *Normalización en México*. [En línea]. Publicada en México el 2004_01_16 en la página 2. [Fecha de consulta: 2009_11_11]. Disponible en www.itescam.edu.mx/principal/sylabus/fpdb/recursos/r9347.DOC.

[23] INTERNATIONAL Organization for Standarization. *Acerca de ISO*. [En línea]. Editorial desconocido. [Fecha de consulta: 2009_10_20]. Disponible en <http://www.iso.org.mx/iso/public/web/acerca.htm>.

[24] VOCABULARIO Internacional de Metrología. *CONCEPTOS fundamentales y generales, y términos asociados (VIM)*. JCGM 200: 2008. [En línea]. [Fecha de consulta: 2010_01_13]. Disponible en http://www.sim-metrologia.org.br/docs/span_VIM.pdf

[25] RICARDO Martínez Ramírez. Consultor Internacional de la FAO. TALLER Sub-regional sobre Metodología de Muestreo Analítico, Principios de Metrología Científica y Cálculos de Incertidumbre. [En línea]. [Fecha de consulta: 2010_01_13]. Disponible en www.rlc.fao.org/es/inocuidad/codex/rla3014/pdf/muest05.pps.

[26] Autor anónimo. *EL ERROR en las mediciones*. [En línea]. [Fecha de consulta: 2010_01_13]. Disponible en http://www.fing.uncu.edu.ar/catedras/fisica_i/archivos/errores.pdf.

[27] CENTRO Nacional de Metrología. *SISTEMA Internacional de Unidades*. [En línea]. Editado en Querétaro México. [Fecha de consulta: 2010_01_13]. Disponible en <http://www.cenam.gob.mx/siu.aspx>.

[28] FERNANDEZ Ruiz Ramón. SEMINARIO DE Métodos estadístico básicos en el laboratorio. *PROPAGACIÓN de errores en las medidas de laboratorio*. [En línea]. [Fecha de edición: 2004_07_25]. [Fecha de consulta: 2010_01_13]. Disponible en http://www.uam.es/personal_pas/txrf/estadistica/estadis.html#15

[29] CENTRO Nacional de Metrología. HÉCTOR Nava Jaimes. Félix Pezet Sandoval. Ignacio Hernández Gutiérrez. *El Sistema Internacional de Unidades*. [En línea]. [Fecha de consulta: 2010_01_13]. Editado en Querétaro México en Mayo del 2001 Disponible en <http://satori.geociencias.unam.mx/LGM/Unidades-CENAM.pdf>

- [30] VALIDACIÓN de Métodos. Documento de PPT. [En línea]. [Fecha de consulta: 2010_01_13]. Disponible en http://www.suelos.org.ar/adjuntos/validacion_metodos_analiticos.pdf
- [31] REINA Manuel. Métodos en biología celular. *ELISA*. [En línea]. Editorial desconocido. [Fecha de última actualización: 2003_09_15]. [Fecha de consulta: 2009_11_19]. Disponible en <http://www.ub.es/biocel/wbc/tecnicas/elisa.htm>.
- [32] Dra. MARTÍN Cabrejas María Ángeles. *Prácticas de tecnología y caracterización de productos lácteos*. [En línea]. [Fecha de publicación: 2004]. [Fecha de consulta: 2009_12_09]. Disponible en http://web.uam.es/personal_pdi/ciencias/mariamc/lacteos/paractica7.htm
- [33] Dra. Nora Fernández. *ELISA*. [En línea]. Presentación de Power Point. [Fecha de publicación: 2007]. [Fecha de consulta: 2010_05_19]. Disponible en <http://www.higiene.edu.uy/parasito/trabajos/elisa.pdf>
- [34] ORGANIZACIÓN Panamericana de la Salud. Manual de mantenimiento para equipo de laboratorio. *Analizador de ELISA*. [En línea]. [Fecha de publicación 2005]. [Fecha de consulta: 2009_11_24]. Disponible en http://www.paho.org/spanish/ad/ths/ev/lab_manual-mantenimiento.pdf
- [35] BIOGEN,[En línea]. [Fecha de consulta: 2010-06-09]. [Fecha de publicación junio de 2010]. Disponible en <http://www.biogen.es/biogenshop/catalog/images/Labnet/Orbit300-Bandeja4microplacas.jpg>
- [36] TIPLER Mosca. *FÍSICA para la ciencia y la tecnología*. Capítulo 36. *Átomos*. Volumen II. Editorial Reverté. Año 2005. Páginas consultadas 1 093 – 1 113
- [37] J.W. Kane/M. M. Sternheim. *Física*. Editorial reverté. Enero del 2007. 2ª edición.
- [38] *Historia de las ciencias desde la antigüedad hasta nuestros días*. Desiderio Papp/ editorial Andrés bello /1996. Página consultada 211 – 214
- [39] E.J.MEEHAN en *Treatise on Analytical Chemistry*, segunda edición, parte I, volumen 7, capítulos 1-3. P.J. Elving e I. M. Kolthoff (editores), Wiley, Nueva York, 1981; J. D. Ingle Jr. y S. R. Crouch, *Spectrochemical Methods of Analysis*, prentice-Hall, Englewood Cliffs, Nueva Jersey, 1988. J. E. Crooks, *the Spectrum in Chemistry*, Academic Press, Nueva York, 1978.
- [40] *FÍSICA 3* [En línea]. [Fecha de consulta: 2010-06-09]. [Fecha de publicación 2008]. Disponible en http://www.preparatoriaabierta.com.mx/fisica-3/images/fisica_3_Completo_img_341.jpg

- [41] SIMÓN Delgado María Josefa. *La energía de la luz*. [En línea]. [Fecha de consulta: 2009-12-11]. Disponible en <http://www.cubasolar.cu/biblioteca/energia/Energia17/HT ML/articulo10.htm>.
- [42] Mariana Lanzara. *Astro diccionario*. [En línea]. [Fecha de edición: 2009]. [Fecha de consulta: 2009_01_07]. Disponible en http://www.astronomia2009.es/astro diccionario/Espectro_Electromagnetico.html
- [43] UNIVERSO cuántico. *Las ondas de televisión por el espacio*. [En línea]. [Fecha de publicación: 2009_10_06]. Disponible en <http://universocuantico.wordpress.com/2009/10/26/las-ondas-de-television-por-el-espacio/>
- [44] GFDL. *Tipos de espectrometría*. [En línea]. [Fecha de consulta: 2010_01_13]. Disponible en http://www.espectrometria.com/tipos_de_espectrometra.
- [45] INSTRUMENTACIÓN básica en química. [En línea]. [Fecha de publicación: 2009_11_27]. [Fecha de consulta: 2010_04_21]. Disponible en <http://expbasquimicag1-zb-09-10.wikispaces.com/Pr%C3%A1ctica+7>.
- [46] Autor anónimo. *FOTOMETRIA*. [En línea]. [Fecha de consulta: 2010_01_14]. Disponible en www2.uah.es/mapa/Professor%20Sample%20Site/.../Fotometria.doc
- [47] Juárez Castañeda Jorge E, Carranza Gallardo Jazmín. *El concepto de ancho de banda en espectrofotómetros de barrido y una propuesta de su determinación instrumental*. [En línea]. [Fecha de consulta: 2010_01_09]. Disponible en <http://www.cenam.mx/publicaciones/gratuitas/descarga/simposio%202002/doctos/te015.pdf>
- [48] UNIVERSIDAD de Chile. *Refracción molar*. [En línea]. [Fecha de consulta: 2010_04_21]. Disponible en: http://mazinger.sisib.uchile.cl/repositorio/ap/ciencias_quimicas_y_farmaceuticas/ap-fisquim-farm3/c5.2.html
- [49] CENAM. *Programa de Certificación de Materiales de Referencia Trazables al SI*. [En línea]. [Fecha de consulta: 2009_10_21]. Disponible en http://www.cenam.mx/materiales/programa_cert.asp#top.
- [50] CEM (Centro Español de Metrología). López María Teresa (Jefa del Laboratorio de Materiales de Referencia). *Materiales de Referencia*. [En línea]. [Fecha de consulta: 2009_10_21]. Disponible en <http://www.iat.es/simce/html/subidas/descarga/mr.pdf>.
- [51] ENAC. *Glosario de términos*. [En línea]. [Fecha de consulta: 2009_11_11]. Disponible en <http://bioaplicaciones.galeon.com/ENAC/micro/Page15.html>
- [52] SECRETARIA de la economía. *La Organización de la Norma ISO*. [En línea]. [Fecha de consulta: 2010_01_14]. Disponible en <http://www.economia.gob.mx/?P=516>

- [53] LACEMI. *Materiales de referencia*. [En línea]. [Fecha de consulta: 2009_10_21]. [Fecha de publicación: 2008]. Disponible en <http://www.lacemi.cubaindustria.cu/mr.htm>.
- [54] Encuentro Nacional de Metrología Eléctrica, 15 16 y 17 de Junio del 2005. Moreno J. Angel. *Metodología para el Cálculo de Incertidumbre*. [En línea]. [Fecha de consulta: 2009_11_11]. Disponible en http://www.unalmed.edu.co/~infisica/paginas/cursos/paginas_cursos/metrologia/documentos/GUM_CENAM.pdf
- [55] CÁLCULO de incertidumbres y forma de expresar los resultados de las prácticas. [En línea]. [Fecha de consulta: 2010_01_13]. Disponible en www.gae.ucm.es/fisatom/docencia/bio0001/doc/errores.doc
- [56] CENAM. Wolfgang A. Schmid y Ruben J. Lazos Martínez. *Guía para estimar la incertidumbre de la Medición*. [En línea]. [Fecha de publicación: Mayo del 2000]. [Fecha de consulta: 2009_11_11]. Disponible en http://www.unalmed.edu.co/~infisica/paginas/cursos/paginas_cursos/metrologia/documentos/GUM_CENAM.pdf
- [57] UNIVERSIDAD DE RIO CUARTO. Facultad de Ingeniería. Ing. Marcos Felici. Ing. Germán Zamanillo. *Cálculo de la incertidumbre*. [En línea]. [Fecha de consulta: 2010_01_12]
- [58] UNIVERSIDAD de San Carlos de Guatemala. GONZALEZ López Francisco Javier. Estadística e incertidumbre de las mediciones. [En línea]. [Fecha de consulta: 2010_01_13]. Disponible en www.sistemasrlc.com/sitebuildercontent/sitebuilderfiles/14estadistica.ppt
- [59] QUESADA Ibarguen Victor Manuel y Vergara Scmalbach Juan Carlos. *ESTADÍSTICA Básica con aplicaciones en MS Excel*. [En línea]. [Fecha de consulta: 2010_01_13]. Disponible en <http://www.eumed.net/libros/2007a/239/indice.htm>
- [60] AUTOR ANONIMO. *Distribución normal*. [En línea]. [Fecha de consulta: 2010_01_13]. Disponible en <http://www.itchihuahuaui.edu.mx/academico/cb/meg/documentos/1.3.htm>
- [61] UNIVERSIDAD de Málaga. Facultad de medicina. Bioestadística. *Distribución uniforme o rectangular*. [En línea]. [Fecha de consulta: 2010_01_13]. Disponible en <http://www.bioestadistica.uma.es/libro/node77.htm>
- [62] Universidad Nacional de Colombia. *Distribuciones estadísticas de probabilidades continuas*. [En línea]. Editada por la Dirección Nacional de Servicios Académicos Virtuales [Fecha de consulta: 2010_01_13]. Disponible <http://www.virtual.unal.edu.co/cursos/sedes/manizales/4060015/Lecciones/Capitulo%20VI/distribuciones.htm#triangular>

[63] Ing. Laura Sandoval Montaña- Viridiana del Carmen de Luna Bonilla- Virgilio Green Pérez. *Práctica Interpolación Numérica*. Elaborado por Programación avanzada y Métodos Numéricos. [En línea]. [Fecha de consulta: 2009_09_21]. Disponible en http://lcp02.fi-b.unam.mx/Interpolaci_n_numerica.pdf

[64] PÉRTEGA Díaz S. y PITA Fernández S. Métodos paramétricos para la comparación de dos medias. t de Student. [En línea]. Publicada en España. [Fecha de actualización: 2001_01_23]. [Fecha de consulta: 2010_02_09]. Disponible en http://www.fisterra.com/mbe/investiga/t_student/t_student.asp.

[65] INSTITUTO Tecnológico de Chihuahua. Teoría de pequeñas muestras o teoría exacta del muestreo. [En línea]. [Fecha de consulta: 2010_02_09]. Disponible en <http://www.itch.edu.mx/academic/industrial/estadistica1/cap03.html>.

[66] DISTRIBUCIÓN t de Student. [En línea]. [Fecha de consulta: 2010_02_09]. Disponible en <http://www.itchihuahuaui.edu.mx/academico/CB/MEG/documentos/1.8.htm>.

[67] MATERIAL y métodos. [En línea]. [Fecha de consulta: 2010-04-21]. Disponible en http://www.cybertesis.edu.pe/sisbib/2003/vega_es/html/TH.3.html

[68] MATEMATICAS avanzadas y estadística para ciencias e ingenierías por BENJUMEA C Acebedo, DESAMPARADOS Fernández Ternero, MÁRQUEZ García María Del Carmen, NÚÑEZ Valdés Juan, VILCHES Alarcón José A. SECRETARIADO de publicaciones de la Universidad de Sevilla. 2006. Páginas 236-240.

[69] CENTRO NACIONAL DE METROLOGÍA. Métodos y pruebas para la caracterización del espectrofotómetro del CENAM. I.Q. I. Arquímedes Ruiz O. El Marqués, Qro., México. Primera edición, Septiembre, 1996. Segunda Impresión, diciembre, 2002.

[70] M. Valenzuela. *Métodos Numéricos (SC-854). Interpolación*. [En línea]. [Fecha de publicación: 2008_02_26]. [Fecha de consulta: 2009-09-21]. Disponible en <http://www.mty.itesm.mx/dtie/deptos/cb/cb00854-1/Apuntes/interpol.pdf> .Página 4-6

[71] MANTILLA Prada Ignacio. ANÁLISIS numérico. Impreso por Universidad Nacional de Colombia. 2004. Páginas 187-190.

[72] RICHARD L. Burden y J. Douglas Faires. Editorial: Iberoamericana. 1985. Capítulo tres página 93.

[73] MATERIAL y métodos. [En línea]. [Fecha de consulta: 2010-04-21]. Disponible en http://www.cybertesis.edu.pe/sisbib/2003/vega_es/html/TH.3.html

[74] GABINO Estevez Delgado, MARIA GUADALUPE Ruiz Vega y CECILIA Flores Clemente. Interpolación para materiales de referencia en lecturas de lectores de micro-

placas de ELISA. VII encuentro, Participación de la Mujer en la Ciencia. Centro de Investigaciones en Óptica, A. C. Páginas: 4. Fecha de publicación:

[75] UNAM, Definición y descripción de algoritmo. [En línea]. [Fecha de consulta: 2010-04-21]. Disponible en http://www.bibliodgsca.unam.mx/tesis/tes9sarg/sec_4.htm.

[76] TUTORIAL de producción 1. Definición de la calidad. [En línea]. [Fecha de consulta: 2010-04-21]. [Fecha de actualización 1999_07_01]. Disponible en <http://sistemas.itlp.edu.mx/tutoriales/produccion1/acerca.htm>

[77] ESCALANTE Fernández René. [En línea]. Editorial Equinoccio. 2006. Capítulo 4. [Fecha de consulta: 2010_04_21]. Pág. 45. Disponible en <http://books.google.com.mx/books?id=W8ZUc16m770C&pg=PP6&lpg=PP1>