

# ESTIMACIÓN DE INCERTIDUMBRE PARA MEDICIÓN DE Zn POR ESPECTROFOTOMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA-FLAMA.

Hilda Rivas. Pilar Fernández.  
 Instituto de Geografía-UNAM  
 Circuito de la Investigación Científica s/n  
 Tel.: 5 6 22 4336 Fax: 5 6 22 4352 hilda@igg.unam.mx

**Resumen:** Las mediciones analíticas tienen una incertidumbre asociada que debe calcularse para darle al resultado de la medición un carácter de alta confiabilidad, debido a que este cálculo implica el trabajar con métodos bien definidos en donde las fuentes han sido ya bien identificadas y se cuenta con una cadena de trazabilidad generada a partir del uso de materiales certificados.

## 1. INTRODUCCIÓN

El objetivo de este trabajo es presentar un ejemplo de cálculo de incertidumbre con base en la Guía técnica sobre trazabilidad e incertidumbre en las mediciones analíticas que emplean las técnicas de Espectrofotometría de Absorción Atómica (EAA) y de Emisión Atómica con Plasma Acoplado Inductivamente [1].

En muchos casos de análisis químicos, el mensurando puede ser la concentración de un analito, el cual se obtiene mediante una curva de calibración, que en EAA generalmente es una línea recta.

$$\gamma_{x_i} = \frac{\alpha - b_0}{b_1} \quad (1)$$

Donde:

- $\alpha$  = absorbancia
- $b_0$  = ordenada al origen de la curva de calibración
- $b_1$  = pendiente de la curva de calibración
- $\gamma_{x_i}$  = concentración de masa (mg/L) de  $X_i$ , resultado de la curva de calibración

El resultado de la medición no es un valor puntual aislado, es un valor que lleva implícito una incertidumbre como resultado de todos los pasos que se siguieron y de los materiales usados a lo largo del método, como por ejemplo, la incertidumbre de los matraces y pipetas utilizados, material de referencia, balanzas, etc.

El valor de incertidumbre no puede ser usado para corregir la medición de un valor. La incertidumbre de un resultado de medición nunca debe ser interpretada como representante del error mismo [2].

En el proceso de estimación de incertidumbre es importante:

- Tener un método validado apropiado para el analito a determinar.
- Identificar las posibles fuentes de incertidumbre, para lo cual, el uso del diagrama de causa y efecto, conocido como diagrama Ishikawa o diagrama espina de pescado, es de mucha utilidad (Fig. 1).
- Cuantificar los componentes de incertidumbre asociados con cada fuente potencial de incertidumbre identificada.
- Calcular la incertidumbre combinada.

Para cuantificar la masa y calcular la incertidumbre asociada se utilizaron las ecuaciones descritas en la Guía técnica [1], mismas que se resumen a continuación.

El cálculo involucrado en la medición de una concentración de masa de cualquier elemento químico esta dado por:

$$\gamma_{X_i} = \gamma_{(x-B)} \cdot fd_1 \cdot fd_2 \quad (2)$$

Donde:

- $\gamma_{X_i}$  = concentración de masa del mesurando obtenida a partir de la aplicación de un método de medición
- $\gamma_{(x-B)}$  = concentración de masa del mesurando obtenida a través de la curva de calibración
- $fd_1 \dots fd_n$  = factor de dilución aplicado a la muestra; puede haber tantas "n" diluciones como sean necesarias

La incertidumbre estándar de la concentración de masa del elemento químico a medir " $\gamma$ ", mediante la respuesta del instrumento " $\alpha$ " se calcula como:

$$u_{(\gamma_x)} = \frac{s}{b_1} \sqrt{\frac{1}{p} + \frac{1}{n} + \frac{(\gamma_{(x)i} - \bar{\gamma}_{MRC})^2}{s_{xx}}} \quad (3)$$

Donde:

- $u_{(\gamma_x)}$  = Incertidumbre del mesurando obtenida por el instrumento calibrado
- $s$  = desviación estándar residual del cálculo de regresión lineal
- $b_1$  = pendiente de la recta
- $p$  = número de réplicas de la muestra en estudio
- $n$  = número de disoluciones (puntos) empleados en la curva de calibración multiplicado por el número de réplicas (lecturas) de cada disolución (punto), total de datos (ij)
- $\gamma_{(x)i}$  = concentración de masa (mg/L) en estudio
- $\bar{\gamma}_{MRC}$  = promedio de las concentraciones de masa de las disoluciones empleadas en la curva de calibración
- $s_{xx}$  = suma de cuadrados de los residuales de las concentraciones obtenidas

La desviación estándar residual  $s$  y la suma de cuadrados de los residuales de las concentraciones obtenidas  $s_{xx}$  se calculan a partir de las siguientes ecuaciones:

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{j=1}^n (\alpha_j - \bar{\alpha})^2}{n - 2}} \quad (4)$$

Donde:

- $s$  = desviación estándar residual del cálculo de regresión lineal
- $\alpha_j$  = las "i" lecturas observadas correspondientes a  $\gamma_{iMRC}$  conocidas con las que se calibró el instrumento
- $\bar{\alpha}$  = las "i" lecturas ajustadas correspondientes a  $\gamma_{iMRC}$  conocidas del instrumento en la curva de calibración
- $n$  = número total de datos (ij)

$$s_{xx} = \sum_{j=1}^n (\gamma_i - \bar{\gamma})^2 \quad (5)$$

Donde:

- $s_{xx}$  = suma de cuadrados de los residuales de las concentraciones obtenidas por la curva de calibración
- $\gamma_i$  = concentración de masa de cada  $i$  disolución de referencia (MRC)

$\bar{\gamma}$  = empleadas en la curva de calibración promedio de las concentraciones de masa de las disoluciones de referencias empleadas en cada uno de los puntos de la curva de calibración

## 2. PARTE EXPERIMENTAL

Los resultados se obtuvieron con un equipo de Espectrofotometría de absorción atómica-(EAA) Varian, SpectrAA-10 plus. Las condiciones utilizadas fueron:

- Flama aire-acetileno,
- Lámpara de cátodo hueco de Zn,
- Longitud de onda de 213.9 nm
- Ancho de ventana de 1.0 nm [3]

Se usó un material de referencia certificado de Zinc (CENAM DMR-61c) para elaborar la curva de calibración y un suelo de referencia (Montana Soil. Moderately Elevated Trace Element Concentrations. NIST Standard Reference Material 2711) para obtener la concentración de masa (mg/Kg) de Zn. Se pesó 0.5 g de suelo y se digirió en un horno de microondas CEM MARSX siguiendo el método EPA 3051[4]. Por cada lote se incluyó un blanco de reactivos (HNO<sub>3</sub> concentrado, Baker, R.A.).

## 3. RESULTADOS

### 3.1 Diagrama de Ishikawa

Las principales fuentes de incertidumbre en la determinación de Zn por EAA se observan en la figura 1.

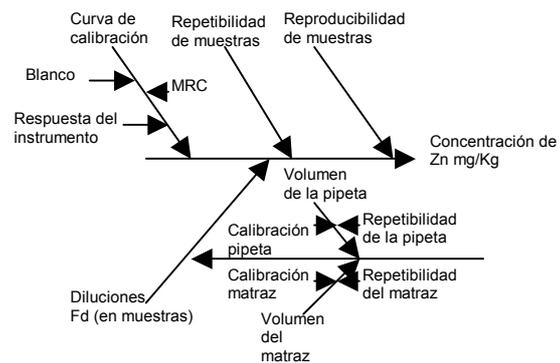


Fig. 1. Diagrama causa-efecto para la medición de Zn, empleando EAA[2].

**3.2 Incertidumbre estándar debida al cálculo de la concentración del analito a partir de una curva de calibración.**

En la tabla 1 y figura 2 se muestran las absorbancias obtenidas de una misma curva de calibración y el gráfico obtenido con el promedio de las absorbancias de la curva.

Cada uno de los puntos de la curva de calibración corresponden a un tipo de distribución normal [2] y a una evaluación tipo A, ya que se obtienen de una serie de mediciones repetidas. El coeficiente de determinación es 0.999, sin embargo al analizar la gráfica de residuales de la curva, no se observan los puntos distribuidos al azar (figura 3).

Tabla 1. Absorbancias de las disoluciones utilizadas en la curva de calibración de Zn.

Conc (mg/L)	Lecturas Abs					Abs prom
0.00	0.000	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001
0.05	0.020	0.020	0.020	0.020	0.020	0.020
0.10	0.045	0.046	0.045	0.045	0.044	0.045
0.25	0.110	0.112	0.112	0.112	0.114	0.112
0.50	0.231	0.231	0.232	0.233	0.231	0.232
1.00	0.437	0.436	0.436	0.435	0.437	0.436

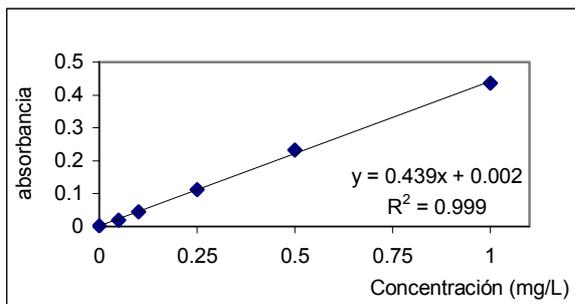


Figura 2. Curva de calibración de Zn.

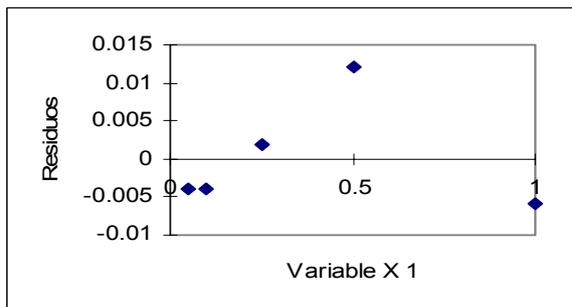


Figura 3. Gráfico de residuales de Zn.

En la tabla 2 se muestran los resultados de:  $b_1$ ,  $b_0$ ,  $\gamma_{(X)_i}$  calculados con la ecuación (1);  $s$  se calculó con la ecuación (4);  $p$ ,  $n$  y  $\gamma_{MRC}$  se usaron en la ecuación (3) para el cálculo de la incertidumbre estándar de la concentración de masa del elemento químico a medir " $\gamma$ ".

Tabla 2. Resultados del cálculo de incertidumbre estándar de la concentración de masa del elemento químico a medir " $\gamma_{xi}$ ".

$b_1 =$	0.439
$b_0 =$	0.002
$s =$	0.0085
$p =$	5
$n =$	25
$\gamma_{(X)_i} =$	1.67 mg/L
$\gamma_{MRC} =$	0.38 mg/L
$S_{xx} =$	3.02
$u(\gamma_{xi}) =$	0.0174

En este ejemplo  $\gamma_{(X)_i}$  es el valor obtenido del MRC del suelo Montana Soil 2711, el valor es mayor al intervalo de trabajo de la curva de calibración por que lleva implícito una dilución, sin multiplicar por el factor de dilución el valor es 0.83 mg/L.

**3.3 Incertidumbre estándar debida al Material de Referencia Certificado CENAM DMR- 61c.**

Para el cálculo de la incertidumbre estándar del MRC utilizado para hacer la curva de calibración se utilizó la ecuación 6, en donde se consideró la incertidumbre que se reporta en el certificado del material de referencia por lo que aquí se hizo una evaluación tipo B, como el certificado del material de referencia incluye el factor de cobertura  $k$  se asume que se trata de una distribución normal [5].

Analito	Conc. (mg/L)	$U_{EXP}$	$k$
Zn	1001.2	7.4	2

$$u_{MRC} = \frac{U_{EXP}}{k} \tag{6}$$

$$u_{MRXC} = 3.7 \text{ mg/L}$$

**3.4 Incertidumbre estándar debida al valor del blanco.**

El cálculo de la incertidumbre del blanco se obtuvo con la ecuación 7 a partir de los resultados obtenidos de una serie de 10 mediciones de un sólo blanco, en este caso se hizo una evaluación que tiene origen estadístico (tipo A ) y una distribución normal.

$$u_{yB} = \frac{s_B}{\sqrt{n}} \quad (7)$$

$$\begin{aligned} s_B &= 0 \\ n &= 10 \\ \sqrt{n} &= 3.16 \\ u_{yB} &= 0 \end{aligned}$$

**3.5 Preparación de los estándares de trabajo.**

En la tabla 3 se muestra cómo a partir del MRC del CENAM, que reporta un valor de concentración de 1001.2 mg/L se preparó un estándar de concentración intermedia de 10 mg/L (fd<sub>1</sub>) y a partir de éste, se preparó el

estándar del punto medio de la curva de calibración (fd<sub>2</sub>).

*Tabla 3. Factores de dilución de la curva de calibración*

fd <sub>1</sub>	10 mg/L	fd <sub>2</sub>	0.5 mg/L
V <sub>1</sub>	100 mL	V <sub>1</sub>	100 mL
V <sub>2</sub>	1 mL	V <sub>2</sub>	5 mL
C <sub>1</sub>	1001.2 mg/L	C <sub>1</sub>	10 mg/L
C <sub>2</sub>	10 mg/L	C <sub>2</sub>	0.5 mg/L

**3.6 Incertidumbre estándar debida al material volumétrico**

En la tabla 4 se presentan tanto los datos obtenidos experimentalmente, como los datos tomados de los certificados de calibración de las pipetas de 1 y 5 mL y de los matraces de 100 mL que se utilizaron en la elaboración de la curva de calibración y cuantificación del MRC 2711.

*Tabla 4. Resumen de cálculo de incertidumbre de la medición de volumen en material volumétrico.*

V (mL)	Descrip.	s (Repetibilidad) mL	Incertidumbre expandida (U) de la calibración de la pipeta/matraz mL	Incertidumbre estándar (u) de la calibración de la pipeta/matraz, mL	T de calibración °C	T de medición °C	V mL debida a la variac. de T °C
1	pipeta	0.00008	0.0005	0.00025	22.5	22	0.000061
5	pipeta	0.00059	0.0005	0.00025	22.5	22	0.000303
100	matraz	0.00388	0.0060	0.00300	20.0	22	0.024249

En las tablas 5, 6 y 7 se muestra el resumen de cálculo de incertidumbre estándar y relativa para la pipeta de 1 y 5 mL y matraces de 100 mL, respectivamente. En los tres casos el valor de u se obtuvo de una serie de seis repeticiones por lo que corresponden a evaluaciones tipo A y distribución normal.

*Tabla 5. Resumen de cálculo de incertidumbre estándar y relativa para la pipeta de 1 mL.*

Magnitud	v	unidades	u	u/v
Repetibilidad	1	mL	0.00008	0.00008
Var V por T	1	mL	0.00006	0.00006
Calibra*	1	mL	0.00025	0.00025
Volumen**	1	mL	0.00027	0.00027

\*Calibra = Calibración

\*\*Var V por T = Variación de volumen debida a la temperatura

*Tabla 6. Resumen de cálculo de incertidumbre estándar y relativa para la pipeta de 5 mL.*

Magnitud	v	unidades	u	u/v
Repetibilidad	5	mL	0.000588	0.000118
Var V por T	5	mL	0.000303	0.000061
Calibra	5	mL	0.00025	0.00005
Volumen	5	mL	0.00071	0.00014

*Tabla 7. Resumen de cálculo de incertidumbre estándar y relativa para matraces volumétricos de 100 mL.*

Magnitud	v	unidades	u	u/v
Repetibilidad	100	mL	0.003883	0.000039
Var V por T	100	mL	0.024249	0.000242
Calibra	100	mL	0.003	0.00003
Volumen	100	mL	0.024740	0.000247

**3.7 Incertidumbre estándar debida a la disolución del DMR-61c para elaborar las soluciones de la curva de calibración.**

En las tablas 8 y 9 se resumen el cálculo de incertidumbre estándar y relativa para el primer y segundo factor de dilución, respectivamente. Aquí se involucran las incertidumbres del volumen de la pipeta para 1 mL, 5 mL y el volumen del matraz de 100 mL en donde se preparó el estándar. El tipo de distribución del factor de dilución es normal y le corresponde una evaluación tipo A. En la tabla 10 se presenta el resumen del cálculo de incertidumbre estándar y relativa para la concentración de masa en donde se presentan tanto la incertidumbre experimental como la del certificado.

Tabla 8. Cálculo de incertidumbre estándar y relativa para el primer factor de dilución.

Magnitud	v	unidades	u	u/v
V 1	1	mL	0.000270	0.000270
V 100	100	mL	0.024740	0.000247
fd <sub>1</sub>	0.01	mL	0.000004	0.000367

Tabla 9. Cálculo de incertidumbre estándar y relativa para el segundo factor de dilución.

Magnitud	v	unidades	u	u/v
V 1	5	mL	0.000707	0.000141
V 100	100	mL	0.024740	0.000247
fd <sub>2</sub>	0.05	mL	0.000014	0.000285

Tabla 10. Resumen de cálculo de incertidumbre estándar y relativa para la concentración de masa.

Magnitud	v	unidades	u	u/v
γMRC	1001.2	mg/L	3.7	0.0037
fd <sub>1</sub>	0.01		0.000004	0.0004
fd <sub>2</sub>	0.05		0.000014	0.0003
concentración de masa	0.5006	mg/L	0.001865	0.0037

**3.8 Aplicación de la regla 2 [1] Combinación de las u de respuesta del instrumento, el punto medio de la curva, y blanco.**

En la tabla 11 se muestra la respuesta del instrumento para la lectura del MRC Montana Soil 2711; en la tabla 12 se presenta la u de la masa en gramos utilizada del MRC Montana (evaluación tipo A y distribución normal).

Tabla 11. Combinación de las u de respuesta del instrumento, el punto medio de la curva y el blanco.

Magnitud	v	unidades	u
respuesta	1.67	mg/L	0.017
dil calibra punto medio	0.5006	mg/L	0.002
blanco	0	mg/L	0
concentración de masa	1.67	mg/L	0.017

Tabla 12. Combinación de las u de la masa en gramos utilizada del MRC Montana Soil 2711.

Magnitud	v	unidades	u
m1 balanza	0.5	g	0.000012
m1 reproduci	0.50003	g	0.000030
m	0.50003	g	0.000032

Tabla 13. Cálculo de incertidumbre estándar y relativa de la concentración de masa del material de referencia certificado.

magnitud	v	unidades	u	u/v
γ(x -B)	1.67	mg/L	0.017500	0.0105
m	0.0005	kg	0.000000	0.0001
Volumen	0.100	L	0.000025	0.0002
concentración de masa	333.98	mg/Kg	3.5	0.0105

k = 2

Incertidumbre experimental calculada usando un factor de cobertura k = 2, para un nivel de confianza de aproximadamente 95 %.

U =	333.98 ± 7 mg/Kg.
Urel =	2 %

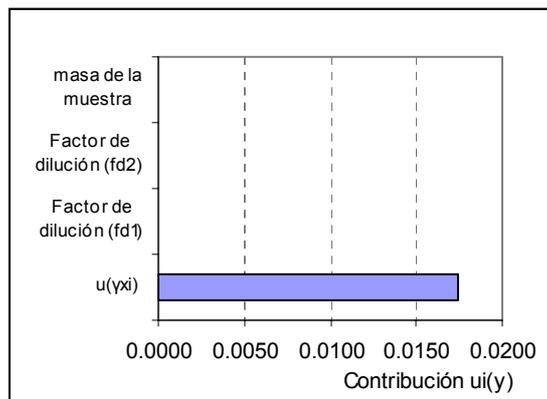


Figura 4. Contribución de incertidumbre en la medición de γZn utilizando EAA.

La estimación de incertidumbre en la medición de γ<sub>Zn</sub> por EAA-Flama se obtuvo del certificado

del Material de Referencia utilizado para preparar la curva de calibración (DMR 61c), del certificado de calibración de la balanza (sartorius R200D), del certificado de calibración del material volumétrico utilizado, del certificado de calibración de las pipetas automáticas utilizadas y de mediciones repetidas realizadas en material volumétrico clase A.

#### 4. DISCUSIÓN

Se cuantificaron las fuentes de incertidumbre señaladas en el diagrama de Ishikawa y se observó que las incertidumbres asociadas al valor del blanco, material de referencia certificado CENAM DMR-61c y Montana Soil 2711, son despreciables (ver figura 4).

Lo mismo aplica para la incertidumbre reportada en el certificado de calibración de la balanza, las pipetas automáticas, matraces volumétricos y termómetros.

En la figura 4 se muestra que la mayor aportación a la incertidumbre es debida a  $u(\gamma_{xi})$ , probablemente por que los residuales de la curva de calibración no se distribuyen al azar lo cual significa que los intervalos con los que se esta trabajando no son del todo lineales.

#### 5. CONCLUSIONES

La estimación de la incertidumbre en las mediciones analíticas es un parámetro necesario de obtener, para darle una mayor confiabilidad a los resultados. Así en este ejemplo el resultado obtenido caracteriza la dispersión del valor medido en el EAA-Flama para el elemento químico Zn.

El trabajar con material de referencia certificado y pipetas, matraces, termómetro y balanzas calibradas contribuyen a una menor incertidumbre en los resultados.

#### REFERENCIAS

- [1] CENAM-ema, GUÍA TÉCNICA SOBRE TRAZABILIDAD E INCERTIDUMBRE EN LAS MEDICIONES ANALÍTICAS QUE EMPLEAN LAS TÉCNICAS DE ESPECTROFOTOMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA Y DE EMISIÓN ATÓMICA CON PLASMA ACOPLADO INDUCTIVAMENTE México, Mayo. 2004, 73 Pág.
- [2] EURACHEM/CITAC Guide. Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement. Second Edition. 2000, 4-27pp.
- [3] Varian. 1989. Flame Atomic Absorption Spectrometry. Analytical Methods.

- [4] Varian, S.A. México. Publication No. 85 100009-00. Varian Australia Pty Ltd. 146 Pág.
- [4] EPA 3051 Microwave Assisted Acid Digestion of Sediments, Sludges, Soils, and Oils Revision 0 September 1994 14 Pág.
- [5] CENAM Certificado de Material de Referencia CNM-MR-620-0554/2004