

# ESTIMACIÓN DE LA INCERTIDUMBRE EN LA CUANTIFICACIÓN DE FÓSFORO POR ESPECTROFOTOMETRÍA ULTRAVIOLETA-VISIBLE

## UNCERTAINTY ESTIMATION IN THE PHOSPHORUS QUANTIFICATION BY ULTRAVIOLET-VISIBLE SPECTROPHOTOMETRY

María Guadalupe Cáñez Carrasco\*, Alejandro Monserrat García Alegría

Departamento de Ciencias Químico Biológicas. Universidad de Sonora. Luis Encinas y Rosales s/n. Colonia Centro. Hermosillo, Sonora, México. CP 83000. Tel y fax: (662) 2592163 y 64

### RESUMEN

La incertidumbre es un parámetro no negativo asociado al resultado de una medición, que caracteriza la dispersión de los valores que podrían razonablemente, atribuirse a una magnitud particular sometida a medición (mensurando). El objetivo de este trabajo fue estimar la incertidumbre de un método analítico validado para cuantificar fósforo mediante espectrofotometría UV-Visible. Se establecieron las fuentes de incertidumbre elaborando un diagrama de Ishikawa (causa-efecto). Posteriormente se estimaron las incertidumbres, entre las cuales se encuentra la incertidumbre de la masa considerando la curva de calibración, masa, pureza, masa molar, factor de dilución y la concentración del mensurando. A partir de estos datos se estimó la incertidumbre estándar combinada ( $u_{CP} = 1.506 \text{ mgL}^{-1}$ ), la incertidumbre estándar relativa ( $u_{r_{CP}} = 1.331 \times 10^{-2}$ ) y la incertidumbre expandida ( $U_{CP} = 3.01 \text{ mgL}^{-1}$ ). En el proceso de validación del método analítico se cuantificó la concentración de fósforo en un refresco de cola, por lo que a ese valor se debe agregar el resultado de la incertidumbre expandida ( $U_{CP}$ ). Por lo tanto, el resultado final fue  $113.15 \pm 3.01 \text{ mgL}^{-1}$  de fósforo.

**Palabras clave:** Fósforo, espectrofotometría UV/Vis, incertidumbre expandida, refrescos de cola.

### ABSTRACT

Uncertainty is a non-negative parameter associated with the result of a measurement that characterizes dispersion of the values that could reasonably be attributed to a particular magnitude subjected to measurement (measurand). The objective of this study was to estimate the uncertainty of a validated analytical method to quantify phosphorus in a cola beverage, using UV-Visible spectrophotometry. The sources of uncertainty were estimated with an Ishikawa diagram (cause-effect). Subsequently, the uncertainties were estimated, among which the mass uncertainty is, considering the calibration curve, weight, purity, molar mass, dilution factor and the concentration of the measurand. From these data, the combined standard uncertainty ( $u_{CP} = 1.506 \text{ mgL}^{-1}$ ), the relative standard uncertainty ( $u_{r_{CP}} = 1.331 \times 10^{-2}$ ) and the expanded uncertainty ( $U_{CP} = 3.01 \text{ mgL}^{-1}$ ) were estimated. In the process of validation of the analytical method, the phosphorus concentration in a cola drink was quantified, so that expanded uncertainty ( $U_{CP}$ ) value should

be added to the results. Therefore, the final result was  $113.15 \pm 3.01 \text{ mg L}^{-1}$  of phosphorus.

**Keywords:** Phosphorus, spectrophotometry UV/Vis, expanded uncertainty, cola drink.

### INTRODUCCIÓN

Actualmente hay una necesidad o requerimiento formal, por parte de los laboratorios que realizan mediciones químicas, de implementar medidas que permitan asegurar la capacidad de proporcionar datos con la calidad requerida por los usuarios o clientes. La metrología es la ciencia de la medida cuyos objetivos más importantes son el resultado de la medición y la incertidumbre de medida. Es importante señalar que el resultado de una medición conlleva siempre un error de medida y una incertidumbre, y que por lo tanto son dos conceptos que no se deben confundir. El error de medida es la diferencia entre un valor medido de una magnitud y un valor de referencia, que engloba a los errores de medida sistemáticos y a los errores de medida aleatorios (ISO Guide 99, 2007). En tanto que, la incertidumbre es un "parámetro no negativo asociado al resultado de una medición, que caracteriza la dispersión de los valores que podrían razonablemente, ser atribuidos al mensurando" (NMX-CH-152-IMNC-2005; CENAM-ema, 2008a). Por su parte, mensurando es por definición una "magnitud particular sometida a medición" (CENAM-ema, 2008b) y que se engloba de manera objetiva en el parámetro de incertidumbre.

En relación a esto, la normatividad vigente establece que los métodos validados deben de incluir la estimación de la incertidumbre (CENAM-ema, 2009a; EURACHEM/CITAC, 2012). De tal manera que los resultados obtenidos a partir de la cuantificación de un mensurando deberán estar acompañados de la incertidumbre correspondiente. La estimación de la incertidumbre del resultado final de una medición deberá considerar las contribuciones de incertidumbre significativas y que no se encuentren incluidas en el diseño de la validación, para ello se utiliza de manera elemental, la elaboración de un diagrama de causa-efecto (Diagrama de Ishikawa) que permita visualizar las fuentes de incertidumbre involucradas. Por todos estos antecedentes, el objetivo del presente trabajo de investigación fue estimar la incertidumbre expandida de un método analítico validado para cuantificar fósforo en refrescos de cola, por espectrofotometría UV-Visible.

\*Autor para correspondencia: María Guadalupe Cáñez Carrasco  
Correo electrónico: canez@correom.uson.mx

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Especificación del mensurando

El objetivo de este paso fue describir de manera clara el proceso de medición y al mensurando. En esta etapa se describe la preparación de la muestra, la medición y la relación entre el mensurando y las magnitudes de las cuales depende. Se empleó el método del azul de molibdeno, ya que por ser un método espectrofotométrico, ofrece la sensibilidad adecuada para trabajar con las bajas concentraciones de fósforo presente en las bebidas de cola. El método para cuantificar la concentración de fósforo (P) fue validado recientemente por Cáñez-Carrasco y García-Alegría (2015) y como lo establece la ISO/IEC 17025:2005, una vez validado el método, se procede a la estimación de la incertidumbre.

A partir de fosfato de potasio monobásico ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) se preparó una disolución madre de  $100 \text{ mgL}^{-1}$  de pentóxido de fósforo ( $\text{P}_2\text{O}_5$ ) y posteriormente se prepararon las disoluciones de trabajo. El mensurando es la concentración de fósforo, la cual depende de la absorbancia de la muestra y de la absorbancia y concentración del patrón de referencia. Se realizaron cinco réplicas con ocho repeticiones cada una, obteniéndose 40 lecturas.

### Identificación y análisis de las fuentes de incertidumbre

El propósito de esta etapa es listar todas las fuentes de incertidumbre para cada una de las magnitudes que afectan el valor del mensurando. Se elaboró un diagrama de causa-efecto (Ishikawa), para mostrar las fuentes potenciales de incertidumbre que podrían contribuir al valor de la incertidumbre asociada al valor medido de la concentración del mensurando (Figura 1).

### Modelo matemático

Para cuantificar la masa y calcular la incertidumbre asociada se utilizaron las ecuaciones descritas en la guía técnica de espectrofotometría UV-Vis (CENAM-ema, 2008b). El cálculo involucrado en la medición de la concentración de masa de fósforo (P) estuvo dado por el siguiente modelo matemático:

$$\gamma_{cp} = \gamma_p * f d_n \quad (1)$$

Donde:

$\gamma_{cp}$  = concentración de masa del mensurando (fósforo, P).

$\gamma_p$  = concentración del mensurando (P) que se mide en el instrumento.

$f d_n$  = factor de dilución con  $n = 1, 2, 3 \dots n$ .

### Cuantificación de los componentes de incertidumbre

Una vez identificadas las fuentes de incertidumbre asociadas a la medición, se estimó la incertidumbre estándar para cada una de las magnitudes de influencia que afectan a cada uno de los componentes de la ecuación 1.

Incetidumbre estándar debida al cálculo de la concentración de fósforo a partir de la curva de calibración

El mensurando fue la concentración de fósforo, que se obtuvo mediante la curva de calibración. El rango de trabajo fue de  $1.2$  a  $8.0 \text{ mgL}^{-1}$  de  $\text{P}_2\text{O}_5$ , realizándose ocho repeticiones para los cinco niveles seleccionados de la curva de calibra-

ción ( $1.2, 1.6, 2.0, 4.0$  y  $8.0 \text{ mgL}^{-1}$ ). Se utilizó la ecuación típica de la línea recta que maneja la técnica de espectrofotometría ultravioleta-visible (Technical Guide, 2005).

$$\alpha = b_1 \gamma_p + b_0 \quad (2)$$

De la ecuación 2 se despejó la componente que corresponde a la concentración de fósforo:

$$\gamma_p = \frac{(\alpha - b_0)}{b_1} \quad (3)$$

Donde:

$\gamma_p$  = concentración de masa del mensurando (P  $\text{mgL}^{-1}$ ) resultado de la curva de calibración.

$\alpha$  = absorbancia.

$b_0$  = ordenada al origen.

$b_1$  = pendiente calculada.

La incertidumbre estándar de la concentración de masa de fósforo mediante la respuesta del instrumento se calculó con la siguiente ecuación:

$$u_{\gamma_p} = \frac{s}{b_1} \sqrt{\frac{1}{\rho} + \frac{1}{n} + \frac{(\gamma_p - \bar{\gamma}_{MR})^2}{S_{xx}}} \quad (4)$$

Donde:

$u_{\gamma_p}$  = incertidumbre del mensurando (P) obtenida por el instrumento calibrado.

$S$  = desviación estándar residual del cálculo de regresión lineal.

$b_1$  = pendiente calculada.

$\rho$  = número de réplicas de la muestra en estudio.

$n$  = número de disoluciones ( $i$ ) empleados en la curva de calibración multiplicado por el número de réplicas ( $j$ ) de cada disolución (total de datos) ( $i*j$ ).

$\gamma_p$  = concentración de P ( $\text{mgL}^{-1}$ ) en el punto medio de la curva de calibración (Cuéllar, 2012).

$\bar{\gamma}_{MR}$  = 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 incertidumbre estándar relativa ( $u_{r\gamma_p}$ ) de la concentración de masa del mensurando a partir de la curva de calibración se obtuvo de la siguiente ecuación:

$$u_{r\gamma_p} = \frac{u_{\gamma_p}}{\gamma_p} \quad (5)$$

Donde:

$u_{r\gamma_p}$  = Incertidumbre estándar relativa de la concentración de la masa del fósforo.

$u_{\gamma_p}$  = Incertidumbre estándar de la concentración de masa del fósforo.

$\gamma_p$  = Concentración de fósforo (mensurando).

### Incetidumbre de la masa del $\text{KH}_2\text{PO}_4$

Se utilizó una balanza analítica marca Vibra modelo AF-R220E 220/0.0001 g (max/DS), previamente calibrada con

un set de masas patrón de laboratorio (0.2, 0.5, 1.0 y 100.0 g) marca Rice Lake, certificadas por la Entidad Mexicana de Acreditación (ema ac). La calibración del material volumétrico y de la balanza analítica se realizó utilizando 10 réplicas y cada una por triplicado (Ruiz-Morer, 2006). Entonces, la incertidumbre de la masa del  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$u_{m_{\text{KH}_2\text{PO}_4}} = \sqrt{(\text{Calibración})^2 + (\text{Repetibilidad})^2} \quad (6)$$

La incertidumbre estándar relativa de la masa del  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  ( $u_{r_{m_{\text{KH}_2\text{PO}_4}}}$ ) se generó de la siguiente ecuación:

$$u_{r_{m_{\text{KH}_2\text{PO}_4}}} = \frac{u_{m_{\text{KH}_2\text{PO}_4}}}{m_{\text{KH}_2\text{PO}_4}} \quad (7)$$

### Incertidumbre de la pureza del $\text{KH}_2\text{PO}_4$

Según el proveedor (Fermont), la pureza del  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  que se utilizó fue de  $99.9 \pm 0.5$  %. Esto es químicamente equivalente a la pureza del  $\text{P}_2\text{O}_5$  y del P. No se consideró otra fuente de incertidumbre ya que el procedimiento de secado se realizó de acuerdo con las especificaciones del proveedor. La distribución de los datos de pureza tiene un comportamiento triangular. Así la incertidumbre estándar se obtiene:

$$u_{p_{\text{KH}_2\text{PO}_4}} = \frac{u}{\sqrt{3}} \quad (8)$$

La incertidumbre estándar relativa de la pureza ( $u_{r_{p_{\text{KH}_2\text{PO}_4}}}$ ) se determinó con la siguiente ecuación:

$$u_{r_{p_{\text{KH}_2\text{PO}_4}}} = \frac{u_{p_{\text{KH}_2\text{PO}_4}}}{p_{\text{KH}_2\text{PO}_4}} \quad (9)$$

### Incertidumbre de la masa molar del $\text{KH}_2\text{PO}_4$

La incertidumbre de la masa molar del compuesto se determinó mediante la combinación de la incertidumbre de los pesos atómicos de sus elementos constitutivos (Wieser, 2011). Para calcular la incertidumbre estándar ( $u_x$ ) correspondiente a cada elemento se dividió la incertidumbre reportada ( $u$ ) entre  $\sqrt{3}$ , Tabla1 (CENAM-ema 2008b; Wieser, 2011). Para la incertidumbre estándar combinada del  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  se utilizó la siguiente ecuación:

$$u_{M_{\text{KH}_2\text{PO}_4}} = \sqrt{u_K^2 + u_H^2 + u_P^2 + u_O^2} \quad (10)$$

En tanto que la incertidumbre estándar relativa ( $u_{r_{M_{\text{KH}_2\text{PO}_4}}}$ ) de la masa molar fue:

$$u_{r_{M_{\text{KH}_2\text{PO}_4}}} = \frac{u_{M_{\text{KH}_2\text{PO}_4}}}{M_{\text{KH}_2\text{PO}_4}} \quad (11)$$

### Incertidumbre del volumen del material volumétrico

Este parámetro se evaluó utilizando el método gravimétrico (Ruiz-Morer, 2006), empleando 10 repeticiones por triplicado en cada caso. Para la estimación de la incertidumbre de la medición de  $V_i$  y de  $V_f$  del material volumétrico utilizado, se identificaron tres principales fuentes de incertidumbre que afectan esta medición: tolerancia del material volumé-

trico, repetibilidad del volumen medido por el analista ( $Rep$ ) y efecto de la variación de la temperatura con respecto a la temperatura de calibración del material volumétrico, que se estima a partir del factor de expansión del agua ( $\Delta T$ ).

**Tolerancia.** Se tomó de la especificación del material volumétrico (Tolerancia) correspondiente que proporciona el proveedor y para convertir a incertidumbre estándar se asumió una distribución rectangular dividiendo entre  $\sqrt{6}$  (EURACHEM/CITAC, 2012; Valcan, 2013).

$$u_{Tol} = \frac{\text{Tolerancia}}{\sqrt{6}} \quad (12)$$

**Repetibilidad.** Esta fuente de incertidumbre se estimó realizando 30 mediciones ( $n = 30$ ) de la masa de agua (g) contenida en el volumen asignando del material volumétrico. La repetibilidad se estimó a través del cálculo de la desviación estándar ( $s$ ) de las mediciones de la masa del volumen asignado.

$$u_{Rep} = \frac{s}{\sqrt{n}} \quad (13)$$

**Variación de temperatura.** Es la incertidumbre debido a la diferencia entre la temperatura de especificación ( $20^\circ\text{C}$ ) y la de trabajo ( $25^\circ\text{C}$ ). La variación de temperatura está dentro de los límites de  $\pm 5^\circ\text{C}$  y se trató como una distribución rectangular (EURACHEM/CITAC, 2012; Valcan, 2013).

$$u_{\Delta T} = \frac{V_{mat\ vol} * \Delta T * \text{coeficiente de expansión térmica del agua}}{\sqrt{3}} \quad (14)$$

Por lo anterior, la contribución de los volúmenes se estimó mediante la siguiente ecuación:

$$u_{V_n} = \sqrt{u_{Tol}^2 + u_{Rep}^2 + u_{\Delta T}^2} \quad (15)$$

La estimación de la incertidumbre relativa del  $V_n$  se estimó combinando en forma cuadrática relativa, las tres fuentes de incertidumbres que afectan la medición del volumen de acuerdo a la siguiente expresión:

$$u_{r_{V_n}} = \sqrt{\left(\frac{u_{Tol}}{V_n}\right)^2 + \left(\frac{u_{Rep}}{m_m}\right)^2 + \left(\frac{u_{\Delta T}}{V_n}\right)^2} \quad (16)$$

Donde:

$u_{r_{V_n}}$  = Incertidumbre estándar relativa del volumen.

$V_n$  = Volumen nominal del material volumétrico.

$u_{Tol}$  = Incertidumbre debida a la tolerancia del material.

$u_{Rep}$  = Incertidumbre de la repetibilidad de las pesadas.

$m_m$  = Masa promedio del volumen.

$\Delta T$  = Incertidumbre debido a la diferencia de temperatura.

### Incertidumbre del factor de dilución

El factor de dilución se usó debido a que la concentración de masa ( $\text{mgL}^{-1}$ ) del mensurando fue mayor al intervalo de trabajo del método (EURACHEM/CITAC, 2012). El modelo matemático de una dilución estuvo dado por:

$$fd_n = \frac{V_f}{V_i} \quad (17)$$

Donde:

$f_{dn}$  = Factor de dilución.

$V_f$  = Volumen final (de aforo).

$V_i$  = Volumen inicial (alícuota).

En el proceso de una dilución se identificaron dos fuentes de incertidumbre, el volumen de la alícuota,  $V_i$  y el volumen de aforo,  $V_f$ . El modelo matemático para el cálculo de la incertidumbre de los factores de dilución fue:

$$u_{fdn} = \sqrt{\sum_1^n (u_{fdn})^2} \quad (18)$$

La incertidumbre estándar relativa derivada del factor de dilución se estimó de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$u_{rfdn} = \sqrt{\sum_1^n \left(\frac{u_{fdn}}{fdn}\right)^2} \quad (19)$$

### Combinación de las fuentes de incertidumbre

La incertidumbre estándar relativa y la combinada son las incertidumbres obtenidas a partir de las incertidumbres estándares individuales asociadas a las magnitudes de entrada del modelo de medición (EURACHEM/CITAC, 2012).

### Estimación de la incertidumbre estándar relativa

La incertidumbre estándar relativa es la incertidumbre obtenida a partir de las incertidumbres estándares individuales considerando la concentración de masa del P a partir de la curva de calibración, la masa del  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , la pureza del  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , la masa molar del  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  y el factor de dilución. La ecuación empleada fue la siguiente:

$$u_{r_{cp}} = \sqrt{\left(\frac{u_{\gamma_P}}{\gamma_P}\right)^2 + \left(\frac{u_{m_{\text{KH}_2\text{PO}_4}}}{m_{\text{KH}_2\text{PO}_4}}\right)^2 + \left(\frac{u_{p_{\text{KH}_2\text{PO}_4}}}{p_{\text{KH}_2\text{PO}_4}}\right)^2 + \left(\frac{u_{M_{\text{KH}_2\text{PO}_4}}}{M_{\text{KH}_2\text{PO}_4}}\right)^2 + \left(\frac{u_{fdn}}{fdn}\right)^2} \quad (20)$$

### Estimación de la incertidumbre estándar combinada

La incertidumbre estándar combinada de la concentración de fósforo se obtuvo a partir de la siguiente ecuación (EURACHEM/CITAC, 2012).

$$u_{C_P} = C_P * u_{r_{cp}} \quad (21)$$

### Estimación de la incertidumbre expandida

La incertidumbre expandida ( $U$ ) se obtuvo multiplicando la incertidumbre estándar combinada (por el factor de cobertura  $k = 2$ , con un nivel de confianza de aproximadamente 95%.

$$U = u_{C_P} * k \quad (22)$$

Finalmente, el resultado de la determinación de la concentración de P en refrescos de cola se expresó en la forma:

$$Y = C_P \pm U \quad (23)$$

Por lo que se deben agregar las unidades correspondientes a la concentración de P, así como de la incertidumbre expandida dentro del rango de  $\pm U$  (Chacón, 2010).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las principales fuentes de incertidumbre en la cuantificación de P por espectrofotometría UV-Vis se muestran en la Figura 1.

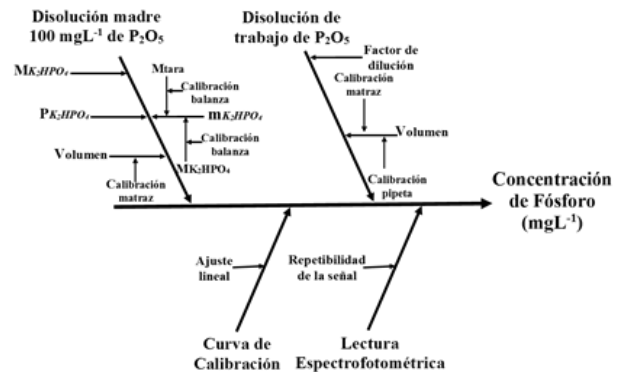


Figura 1. Diagrama causa-efecto de las fuentes de incertidumbre para la cuantificación de P mediante espectrofotometría UV-Vis.

Figure 1. Cause and effect diagram of the sources of uncertainty for quantifying P by UV-Vis spectrophotometry.

### Incertidumbre estándar debida al cálculo de la concentración de fósforo a partir de la curva de calibración

La incertidumbre estándar de la concentración de masa del fósforo mediante la respuesta del instrumento se calculó con la ecuación 4:

$$u_{\gamma_P} = \frac{6.08 \times 10^{-3}}{0.1314} \sqrt{\frac{1}{5} + \frac{1}{25} + \frac{(2.0 - 3.36)^2}{31.84}} = 2.544 \times 10^{-2} \text{ mgL}^{-1}$$

En tanto que la incertidumbre estándar relativa de la concentración de fósforo se obtuvo sustituyendo valores en la ecuación 5:

$$u_{r_{\gamma_P}} = \frac{0.02544}{2.0} = 1.272 \times 10^{-2}$$

### Incertidumbre de la masa del $\text{KH}_2\text{PO}_4$

Se pesaron en promedio 0.01919 g de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ . Cada una de las pesadas estuvo sujeta a la repetibilidad de la balanza y a la incertidumbre de la calibración. Sustituyendo en la ecuación 6 y en la ecuación 7 se obtiene la incertidumbre estándar y la relativa de la masa del P, respectivamente:

$$u_{m_{\text{KH}_2\text{PO}_4}} = \sqrt{(0.00001)^2 + (0.00004)^2} = 4.123 \times 10^{-5} \text{ g}$$

$$u_{r_{m_{\text{KH}_2\text{PO}_4}}} = \frac{4.123 \times 10^{-5}}{0.01919} = 2.149 \times 10^{-3}$$

### Incertidumbre de la pureza del $\text{KH}_2\text{PO}_4$

La pureza de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  fue de  $99.9 \pm 0.5\%$  (Fermont), se consideró como una distribución rectangular. La incertidumbre estándar se obtuvo sustituyendo en la ecuación 8:

$$u_{p_{\text{KH}_2\text{PO}_4}} = \frac{0.005}{\sqrt{3}} = 2.887 \times 10^{-3}$$

En tanto que la incertidumbre estándar relativa de la pureza se determinó a partir de la ecuación 9:

$$u_{rPKH_2PO_4} = \frac{2.887 \times 10^{-3}}{0.999} = 2.890 \times 10^{-3}$$

### Incertidumbre de la masa molar $KH_2PO_4$

En la Tabla 1 se presenta el resumen del cálculo de la incertidumbre estándar de la masa molar del  $KH_2PO_4$ . Esto se obtuvo sustituyendo datos en la ecuación 10. En consecuencia, la masa molar e incertidumbre del  $KH_2PO_4$  fue:

$$M_{KH_2PO_4} = 39.0983 + 2 \times 1.00794 + 30.973762 + 4 \times 15.9994 = 136.085542 \text{ g mol}^{-1}$$

$$u_{M_{KH_2PO_4}} = \sqrt{(5.7737 \times 10^{-5})^2 + (8.0831 \times 10^{-5})^2 + (1.1547 \times 10^{-6})^2 + (6.9284 \times 10^{-4})^2}$$

$$u_{M_{KH_2PO_4}} = 6.9993 \times 10^{-4} \text{ g mol}^{-1}$$

La estimación de la incertidumbre estándar relativa, se determinó con la ecuación 11:

$$u_{rM_{KH_2PO_4}} = \frac{6.9993 \times 10^{-4}}{136.085542} = 5.1433 \times 10^{-6} \text{ g mol}^{-1}$$

### Incertidumbre del volumen del material volumétrico

Se estimó la incertidumbre estándar correspondiente al volumen del material volumétrico. El volumen estuvo sujeto a la influencia de fuentes de incertidumbre como *Tol*, *Rep*,  $\Delta T$ .

### Incertidumbre del matraz volumétrico de 100 mL

*Tolerancia.* La tolerancia del matraz volumétrico de 100 mL es de 0.080 mL (Chacón, 2010), se utilizó la ecuación 12 para obtener la incertidumbre estándar de la tolerancia:

$$u_{tol} = \frac{0.080 \text{ mL}}{\sqrt{6}} = 3.266 \times 10^{-2} \text{ mL}$$

*Repetibilidad.* La repetibilidad se debe a la variabilidad en el aforo; para evaluar este parámetro se usó el método gravimétrico (Ruiz-Morer, 2006) realizándose 30 repeticiones (aforos) y se obtuvo una desviación estándar (*S*) de 0.1894 mL. Esta incertidumbre es tipo A, y la incertidumbre estándar se obtiene utilizando la ecuación 13:

$$u_{Rep} = \frac{1.894 \times 10^{-1}}{\sqrt{30}} = 3.458 \times 10^{-2} \text{ mL}$$

*Variación de temperatura.* Para la estimación de la incertidumbre de la variación de la temperatura se utilizó la ecuación 14. El coeficiente de expansión del agua se tomó de <http://physchem.kfunigraz.ac.at/sm/Service/Water/H2Othermexp.htm>.  $H_2O$  Thermal Expansion Coefficient. [Último acceso: 17 julio 2015].

$$u_{\Delta T} = \frac{100 \times 5 \times 2.1 \times 10^{-4}}{\sqrt{3}} = 6.062 \times 10^{-2} \text{ mL}$$

La incertidumbre estándar combinada  $V_{100 \text{ mL}}$  para se obtuvo sustituyendo en la ecuación 15:

$$u_{V_{100 \text{ mL}}} = \sqrt{(0.03266)^2 + (0.03458)^2 + (0.06062)^2} = 7.705 \times 10^{-2} \text{ mL}$$

**Tabla 1.** Valores de pesos atómicos e incertidumbres del  $KH_2PO_4$  (Wieser, 2011).

**Table 1.** Values of atomic weights and uncertainties of  $KH_2PO_4$  (Wieser, 2011).

| Elemento | Peso Atómico | $u$            | $u_{(x)}$               | $u_{KH_2PO_4}$          |
|----------|--------------|----------------|-------------------------|-------------------------|
| K        | 39.0983      | $\pm 0.0001$   | $5.7737 \times 10^{-5}$ | $5.7737 \times 10^{-5}$ |
| H        | 1.00794      | $\pm 0.00007$  | $4.0416 \times 10^{-5}$ | $8.0831 \times 10^{-5}$ |
| P        | 30.973762    | $\pm 0.000002$ | $1.1547 \times 10^{-6}$ | $1.1247 \times 10^{-6}$ |
| O        | 15.9994      | $\pm 0.0003$   | $1.7321 \times 10^{-4}$ | $6.9284 \times 10^{-4}$ |

La incertidumbre relativa de  $V_{100 \text{ mL}}$  se estimó combinando en forma cuadrática relativa, las tres fuentes de incertidumbres (tolerancia, repetibilidad y variación de temperatura) que afectan la medición del volumen de acuerdo a la ecuación 16:

$$u_{rV_{100 \text{ mL}}} = \sqrt{\left(\frac{3.266 \times 10^{-2}}{100}\right)^2 + \left(\frac{3.458 \times 10^{-2}}{99.721}\right)^2 + \left(\frac{6.062 \times 10^{-2}}{100}\right)^2}$$

$$u_{rV_{100 \text{ mL}}} = 7.705 \times 10^{-4}$$

### Incertidumbre de la pipeta volumétrica de 2 mL

*Tolerancia.* En la especificación del fabricante, la tolerancia para una pipeta volumétrica de 2 mL es de 0.010 mL (Harris, 2006), sustituyendo en la ecuación 12:

$$u_{tol} = \frac{0.010 \text{ mL}}{\sqrt{6}} = 4.083 \times 10^{-3} \text{ mL}$$

*Repetibilidad.* Para estimar la repetibilidad se realizaron 30 repeticiones y se obtuvo una desviación estándar (*S*) de 0.008020 mL. Esta incertidumbre es tipo A, y la incertidumbre estándar se obtiene sustituyendo estos valores en la ecuación 13:

$$u_{Rep} = \frac{8.020 \times 10^{-3} \text{ mL}}{\sqrt{30}} = 1.464 \times 10^{-3} \text{ mL}$$

*Variación de temperatura.* La incertidumbre de la variación de la temperatura para la pipeta de 2 mL, se obtiene a partir de la ecuación 14:

$$u_{\Delta T} = \frac{2 \times 5 \times 2.1 \times 10^{-4}}{\sqrt{3}} = 1.212 \times 10^{-3} \text{ mL}$$

La incertidumbre estándar combinada se obtuvo de acuerdo a ecuación 15.

$$u_{rV_{2 \text{ mL}}} = \sqrt{\left(\frac{4.083 \times 10^{-3}}{2}\right)^2 + \left(\frac{1.464 \times 10^{-3}}{1.9562}\right)^2 + \left(\frac{1.212 \times 10^{-3}}{2}\right)^2} = 2.257 \times 10^{-3}$$

La incertidumbre estándar relativa para la pipeta de 2 mL,  $V_{2 \text{ mL}}$  se obtuvo de acuerdo a la ecuación 16:

$$u_{fd_{50}} = \sqrt{(7.705 \times 10^{-2})^2 + (4.504 \times 10^{-3})^2} = 7.7181 \times 10^{-2}$$

En la Tabla 2 se muestra el resumen del cálculo de la incertidumbre estándar y relativa para el material volumétrico utilizado en el ensayo. El valor de incertidumbre se obtuvo de una serie de 30 repeticiones, por lo que corresponde a una evaluación de Tipo A y distribución normal.

**Tabla 2.** Incertidumbre estándar ( $u_{V_n}$ ) y relativa ( $u_{V_n}/V_n$ ) para el material volumétrico utilizado en las diluciones para la elaboración de la curva de calibración.

**Table 2.** Standard ( $u_{V_n}$ ) and relative ( $u_{V_n}/V_n$ ) uncertainty for the volumetric instruments used in preparing dilutions for the calibration curve.

| Magnitud | V(mL) | $u_{tol}$              | $u_{Rep}$              | $u_{\Delta T}$         | $u_{V_n}$              | $u_{rV_n}$             |
|----------|-------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| Pipeta   | 2     | $4.082 \times 10^{-3}$ | $1.464 \times 10^{-3}$ | $1.212 \times 10^{-3}$ | $4.502 \times 10^{-3}$ | $2.251 \times 10^{-3}$ |
| Matraz   | 100   | $3.266 \times 10^{-2}$ | $3.458 \times 10^{-2}$ | $6.062 \times 10^{-2}$ | $7.705 \times 10^{-2}$ | $7.710 \times 10^{-4}$ |

### Incertidumbre del factor de dilución

A partir del  $KH_2PO_4$  se preparó una disolución madre de  $P_2O_5$  de  $100 \text{ mgL}^{-1}$  y de ahí se preparó el estándar del punto medio ( $2.0 \text{ mgL}^{-1}$ ) de la curva de calibración. El factor de dilución se obtuvo de la ecuación 17 ( $fd = 50$ ). Aquí se involucra la incertidumbre del volumen del matraz volumétrico de 100 mL y la incertidumbre correspondiente al volumen de la pipeta volumétrica de 2 mL, con los cuales se prepararon las diluciones. Sustituyendo en la ecuación 18 se obtiene la incertidumbre estándar del factor de dilución:

$$u_{fd_{50}} = \sqrt{(7.705 \times 10^{-2})^2 + (4.504 \times 10^{-3})^2} = 7.7181 \times 10^{-2}$$

Sustituyendo valores en la ecuación 19 se obtiene la incertidumbre estándar relativa del factor de dilución:

$$u_{rfd_{50}} = \sqrt{\left(\frac{7.7181 \times 10^{-2}}{50}\right)^2} = 1.5436 \times 10^{-3}$$

### Combinación de las fuentes de incertidumbre

La incertidumbre estándar combinada y relativa se obtuvo a partir de las incertidumbres estándares individuales.

### Estimación de la incertidumbre estándar relativa

La incertidumbre estándar relativa se estimó sustituyendo valores en la ecuación 20:

$$u_{r_{cp}} = \sqrt{\left(\frac{2.544 \times 10^{-2}}{2.0}\right)^2 + \left(\frac{4.123 \times 10^{-5}}{0.01919}\right)^2 + \left(\frac{2.887 \times 10^{-3}}{0.999}\right)^2 + \left(\frac{6.9993 \times 10^{-4}}{136.085542}\right)^2 + \left(\frac{7.7181 \times 10^{-2}}{50}\right)^2}$$

$$u_{r_{cp}} = 1.331 \times 10^{-2}$$

### Estimación de la incertidumbre estándar combinada

Por lo tanto la incertidumbre estándar combinada de la concentración de fósforo (mensurando) se obtuvo sustituyendo valores en la ecuación 21:

$$u_{C_p} = 113.15 \text{ mgL}^{-1} * 1.331 \times 10^{-2} = 1.506 \text{ mgL}^{-1}$$

En la Tabla 3 se muestra el resumen de los valores e incertidumbres estimadas en la cuantificación de fósforo (mensurando) por espectrofotometría UV/Vis.

**Tabla 3.** Valores e incertidumbres estimadas en la cuantificación de fósforo (mensurando) por espectrofotometría UV-Vis.

**Table 3.** Values and estimated uncertainties in phosphorus quantification (measurand) by UV-Vis spectrophotometry.

|                | Descripción  | Valor x    | Incertidumbre Estándar $u(x)$ | Incertidumbre estándar relativa $u(x)/x$ |
|----------------|--|------------|-------------------------------|--|
| $Y_p$          | Concentración de P en el punto medio de la curva de la calibración | 2.0        | $2.544 \times 10^{-2}$        | $1.272 \times 10^{-2}$                   |
| $m_{KH_2PO_4}$ | masa   | 0.01919    | $2.149 \times 10^{-3}$        | $2.149 \times 10^{-3}$                   |
| $p_{KH_2PO_4}$ | Pureza   | 0.999      | $2.890 \times 10^{-3}$        | $2.890 \times 10^{-3}$                   |
| $M_{KH_2PO_4}$ | Masa molar   | 136.085542 | $5.143 \times 10^{-6}$        | $5.143 \times 10^{-6}$                   |
| $f_d$          | Factor de dilución   | 50         | $7.7181 \times 10^{-2}$       | $1.544 \times 10^{-1}$                   |
| $C_p$          | Concentración de mensurando en muestra                             | 113.15     | 1.506                         | $1.331 \times 10^{-2}$                   |

### Estimación de la incertidumbre expandida

Aunque la incertidumbre estándar combinada puede utilizarse universalmente para expresar la incertidumbre de un resultado de medida, frecuentemente es necesario, en ciertas aplicaciones comerciales, industriales o reglamentarias, o en los campos de la salud o la seguridad, dar una medida de la incertidumbre que defina, alrededor del resultado de medida, un intervalo en el interior del cual pueda esperarse encontrar gran parte de la distribución de valores que podrían ser razonablemente atribuidos al mensurando. Este intervalo lo proporciona la incertidumbre expandida  $U$ , que se obtiene multiplicando la incertidumbre estándar combinada por un factor de cobertura  $k$ , habitualmente entre 2 y 3, elegido en función del nivel de confianza requerido para un intervalo en torno al resultado de la medida. Por lo antes mencionado, sustituyendo en la ecuación 22 se estimó la incertidumbre expandida con un factor de cobertura de 2, que representa un nivel de confianza de aproximadamente el 95% (CENAM-ema, 2009a).

$$U_{C_p} = 1.506 \text{ mgL}^{-1} * 2 = 3.01 \text{ mgL}^{-1}$$

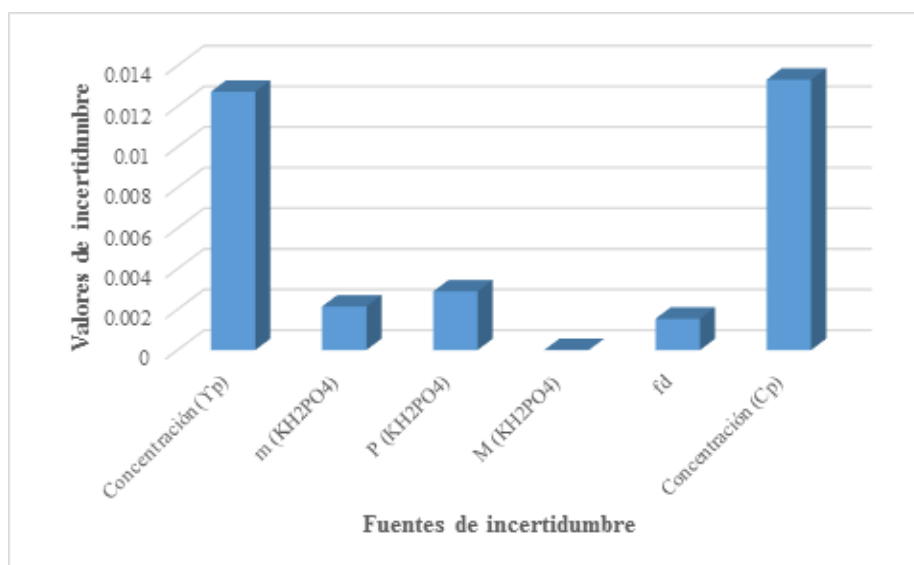
Finalmente, el resultado de la cuantificación de la concentración de fósforo (P) se expresó de acuerdo a la ecuación 23:

$$Y = 113.15 \pm 3.01 \text{ mgL}^{-1}$$

En el proceso de cuantificación de fósforo, pudiera no importar tanto qué técnica o qué metodología se ha utilizado para obtener un valor determinado, lo más importante, en todo caso, será saber si se ha realizado y cumplido con el proceso de validación del método y si a partir de la validación se ha realizado la estimación de la incertidumbre (Kristiansen, 2003; Iyengar, 2007). Ambas situaciones (validación e incertidumbre) deberán haber cumplido un proceso riguroso desde el punto de vista analítico (Vesper y Thienpont, 2009; Farrance y Frenkel, 2012). Para ello siempre será relevante apearse a la normatividad vigente internacional y a las guías que para tal efecto se han elaborado y que aplican independientemente del mensurando que se está evaluando (IUPAC, 2014). De tal manera que el resultado de una medición no es un valor puntual aislado, es un valor que deberá llevar implícito una incertidumbre como resultado de todos los pasos que se siguieron y de los materiales y/o equipos que se utilizaron a lo largo del método (Galbán et al., 2007). Particularmente en el caso de la cuantificación de fósforo mediante espectrofotometría *UV-Vis*, se han realizado procesos de validación del método para cuantificar su concentración en refrescos de cola (Cáñez-Carrasco y García-Alegría, 2015), en hueso (Sabi-

do et al., 2010; Hovde, 2013), en aguas naturales y/o efluentes residuales (Gong et al., 2011; Dimitrova et al., 2013; Ionescu, et al., 2014), en alimentos o granos (Jastrzębska, 2009), entre otros. Independientemente de cual sea el tipo de muestra, en todos y cada uno de los procesos de validación y estimación de la incertidumbre se ha seguido un procedimiento similar al que se utilizó en este trabajo de investigación y los resultados son similares y consistentes a los obtenidos por otros investigadores (Rius, 2007; Rodríguez y Jhovany, 2008).

Con respecto a la contribución de las fuentes de incertidumbre estimadas, en la Figura 2 se puede apreciar que la mayor contribución corresponde a la determinación de la concentración de fósforo obtenido a partir de la curva de calibración y de la determinación de fósforo obtenido de la muestra (refresco de cola), lo que se demuestra que ésta es la operación que es necesario mejorar para aumentar la calidad de los resultados de este ensayo. La masa molar prácticamente no contribuye con incertidumbre, en tanto que la pureza del  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , la masa del  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  y el factor de dilución contribuyen, pero de manera menos significativa. Estos resultados son similares a los obtenidos por EURACHEM/CITAC (2012) y Morales-Ramírez et al., (2012).



**Figura 2.** Contribución gráfica de las fuentes de incertidumbre en la cuantificación de fósforo (mensurando).

**Figure 2.** Graphical contribution of uncertainty sources in phosphorus quantification (measurand).

## CONCLUSIONES

A partir de un método analítico validado para cuantificar fósforo en refrescos de cola, mediante espectrofotometría *UV/Vis*, se establecieron las fuentes de incertidumbre y con ellas se estimó la incertidumbre estándar combinada ( $u_{cp} = 1.506 \text{ mgL}^{-1}$ ), la incertidumbre estándar relativa ( $u_{r, cp} = 1.331 \times 10^{-2}$ ) y la incertidumbre expandida ( $U_{cp} = 3.01 \text{ mgL}^{-1}$ ). Por lo que la concentración de fósforo en refresco de cola se debe de representar de la siguiente manera:  $113.15 \pm 3.01 \text{ mgL}^{-1}$ . Las fuentes de incertidumbre que más contribuyen en este análisis es la determinación de la concentración de fósforo a partir de la curva de calibración y de la muestra.

## REFERENCIAS

- Cáñez-Carrasco, M.G. y García-Alegría, A.M. 2015. Validación de un método analítico para la determinación de fósforo por espectrofotometría ultravioleta-visible. *Biotecnia*, XVII(1): 32-39.
- CENAM-ema. 2008a. Guía para la validación y la verificación de los procedimientos de examen cuantitativos empleados por el laboratorio clínico. México, D.F.
- CENAM-ema. 2008b. Guía técnica sobre trazabilidad e incertidumbre en las mediciones analíticas que emplea la técnica de espectrofotometría de ultravioleta-visible. México, D.F.

- CENAM-ema. 2009a. Guía de trazabilidad metrológica de los valores asignados a los calibradores y material de control empleados por el laboratorio clínico. México, D.F.
- CENAM-ema. 2009b. Guía técnica sobre trazabilidad e incertidumbre en los servicios de calibración de recipientes volumétricos por el método gravimétrico. México, D.F.
- Chacón, S.J. 2010. Prácticas recomendadas para determinar y reportar la incertidumbre de las mediciones en química analítica. Editorial UCR. Primera edición. Costa Rica.
- Cuéllar, G.O.A. 2012. Validación, Determinación de la Trazabilidad y Estimación de la Incertidumbre del Método del Ácido Ascórbico para la Determinación de Fósforo Total y Disponible Total en el Laboratorio de Química Ambiental de la Universidad Tecnológica de Pereira. Tesis de grado. Universidad Tecnológica de Pereira. Colombia.
- Dimitrova, S., Taneva, N., Bojilova, K., Zaharieva, V., Lazarova, S., Koleva, M., Arsov, R. y Venelinov, T. 2013. Comparison of spectrophotometric methods using cuvette tests and national standard methods for analysis of wastewater samples. *International Journal of Water Resources and Environmental Engineering*. 5(8): 482-488.
- [En línea]. Available:<http://physchem.kfunigraz.ac.at/sm/Service/Water/H2OThermexp.htm>. H<sub>2</sub>O Thermal Expansion Coefficient. [Último acceso: 17 julio 2015].
- EURACHEM/CITAC Guide CG 4. 2012. Quantifying uncertainty in analytical measurement. Editor. Ellison, S.L.R. and Williams, A. Third edition. United Kingdom. pp. 1-113.
- Farrance, I. y Frenkel, R. 2012. Uncertainty of measurement: A review of the rules for calculating uncertainty components through functional relationships. *Clin. Biochem*. 33:48-75.
- Galbán, J., de Marcos, S., Sanz, I., Ubide, C. y Zuriarrain, J. 2007. Uncertainty in modern spectrophotometers. An up-to-date view of UV-vis molecular absorption instruments and measurements. *Analytical Chemistry*. 4763-4767.
- Gong, Y., Shen, Z., Hong, Q., Liu, R. y Qian, L. 2011. Parameter uncertainty analysis in watershed total phosphorus modeling using the GLUE methodology. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 142: 246-255.
- Harris, D.C. 2006. Análisis Químico Cuantitativo. Editorial Reverté. Tercera edición. España.
- Hovde, G. 2013. Validation of a methods for analysis soluble of phosphorus by Use of Alkaline Extraction and Spectrophotometric Determination. Nofima. Report 17. 1-22.
- Ionescu, P., Diacu, E. y Radu, V.M. 2014. Evaluation of measurement uncertainty to phosphorus determination by molecular spectrometry in water samples. *U.P.B. Sci. Bull., Series B*. 76(2): 23-32.
- ISO Guide 99. 2007. International vocabulary of metrology. Basic and general concepts and associated terms (IVM).
- IUPAC. 2014. Harmonized guidelines for the use of recovery information in analytical measurement, *Pure and Appl. Chem*. 71:337-34.
- Iyengar, V. 2007. Metrology in physics, chemistry and biology. *Biol. Trace Elem. Res*. 6. 116(1): 1-4.
- Jastrzębska, A. 2009. Modifications of spectrophotometric methods for total phosphorus determination in meat samples. *Chemical Papers*. 63(1): 47-54.
- Kristiansen, J. 2003. The guide to of expression uncertainty in measurement approach for estimating uncertainty: An Appraisal. *Clin. Chem*. 49(11): 1822-1829.
- Morales-Ramírez, A.J., Rangel-Salinas, E., Ramírez-López, A. y Dorantes-Rosales, H.J. 2012. Metodología para el cálculo de la incertidumbre en la determinación de cobre por espectroscopia de absorción atómica. *Av. cien. ing.*: 3(4): 143-155.
- Norma Mexicana. NMX-EC-17025-IMNC-2006 "Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y de calibración", México, D.F.
- Rius, F.X. 2007. Cálculo de la incertidumbre en los resultados analíticos. Cuaderno Tecnológico N° 1 SEGEMAR.
- Rodríguez, A. y Jhovany, E. 2008. Estimación de la incertidumbre de medición en el ensayo de alcalinidad de acuerdo a la Guía GTC 51. *Scientia et Technica*. 15(38): 375-380.
- Ruiz-Morer, R. 2006. Recomendaciones para la calibración de material volumétrico en el laboratorio clínico. *Química Clínica*. 25(2): 104-110.
- Sabido C.C.R., Rosado R.J.G., Castellanos R.A.F., Betancur A.D.A., Chel G.A. y Acereto E.P.O.M. 2010. Adaptación de un micrométodo espectrofotométrico para determinación de fósforo en hueso. *Rev. Latinoamer. Quím*. 38(2): 113-122.
- Technical Guide. 2005. UV/Vis spectrophotometers calibration procedures. International Accreditation New Zealand.
- Vesper, H.W. y Thienpont, L.M. 2009. Traceability in laboratory medicine. *Clin. Chem*. 55(6):1067-1075.
- Valcan, A. 2013. Evaluation of the uncertainty of measurement. *Global journal of science frontier research chemistry*. 13(6): 1-6.
- Wieser, M.E. 2011. Atomic weights of the elements. IUPAC Technical report. *Pure Appl. Chem*. 83(2): 359-396