

USO DIDÁCTICO DE UNA MACRO DE EXCEL PARA ESTIMACIÓN DE LA INCERTIDUMBRE EN UNA PRÁCTICA SOBRE MEDIDA DE NIVELES DE OZONO EN EL AIRE AMBIENTE

Eduardo Pinilla-Gil¹, Maria Cerrato-Alvarez^{1,2}, Samuel Frutos-Puerto¹,
Juan J. Hidalgo-Barquero¹, M. Rosario Palomo-Marín¹

¹Dep. de Química Analítica, Univ. de Extremadura, Av. de Elvas, s/n. 06006 Badajoz, España

²Dep. de Química Física y Analítica, Univ. de Oviedo, C/ Julián Clavería, 8, 33006, Oviedo

1. Introducción

Los analizadores portátiles de bajo coste son una herramienta de importancia creciente en diferentes contextos analíticos como el análisis clínico o el análisis ambiental. Su aplicabilidad real para resolver problemas analíticos depende de que se pueda demostrar objetivamente la validez de sus resultados en condiciones reales de operación. Por lo que resulta esencial que los estudiantes de grado adquieran competencias para la evaluación de la fiabilidad analítica de este tipo de analizadores, e interioricen la importancia de verificar si su incertidumbre se encuentra dentro de los rangos permitidos en cada campo de aplicación.

En la asignatura "Calidad y Regulación en los Laboratorios" que se imparte desde el área de Química Analítica como optativa en el grado de Biotecnología de la Universidad de Extremadura, hemos incorporado una actividad práctica con el objetivo de que los estudiantes aprendan a evaluar la validez de un analizador de bajo coste que permite monitorizar la concentración de ozono en el aire ambiente, regulada por la normativa europea para la protección de la salud humana y del medio ambiente frente a la contaminación atmosférica (Directiva 2008/50/CE). Los estudiantes estiman algunas contribuciones a la incertidumbre global del analizador mediante medidas frente a un analizador de referencia, y comparan la incertidumbre con el límite máximo estipulado por la normativa, además de calcular otros parámetros de validación recogidos en las normas de la US-EPA [1]. Para ello se evalúa estadísticamente el conjunto de pares de datos (concentraciones medias horarias) obtenidos en paralelo por el analizador de bajo coste y por el analizador de referencia.

La estimación de incertidumbres, basada en un documento de referencia de la Unión Europea para la demostración de la equivalencia de métodos de monitorización de aire ambiente [2], presenta una notable complejidad de cálculo, por lo que hemos desarrollado una herramienta estadística, implementada en una macro de Excel, que proporciona una interfaz gráfica que facilita su aplicación. La interfaz oculta los cálculos y funciones,

mostrando únicamente los parámetros configurables y los resultados de la validación. No obstante, las ecuaciones de cálculo pueden revelarse fácilmente en la hoja Excel subyacente, con fines didácticos. Se presentan los resultados obtenidos tras la realización de la práctica por parte de un grupo de estudiantes que ha cursado la asignatura durante el curso 2022/2023, específicamente el diseño y ejecución de la campaña experimental de medidas de campo e interpretación de los resultados con la herramienta informática, así como una valoración de la eficacia didáctica de esta práctica.

2. Objetivos

En general, esta práctica permite a los estudiantes reforzar su experiencia en conceptos básicos de desarrollo de métodos analíticos y adquirir experiencia en la validación e interpretación de los resultados de laboratorio. Al finalizar la práctica, el alumno debe haber conseguido los siguientes resultados de aprendizaje:

1. Montar un experimento de medida de niveles de ozono troposférico en condiciones de campo, ubicando un analizador portátil para medidas en paralelo con un analizador de referencia.
2. Calcular las concentraciones medias horarias de ozono en el aire ambiente proporcionadas por el analizador portátil (conversión de ppbv a $\mu\text{g m}^{-3}$), y por el analizador de referencia, y representar sus series temporales.
3. Calcular parámetros de calidad del analizador portátil según las especificaciones europeas y de la US-EPA, empleando una macro Excel como ayuda para el cálculo de la incertidumbre generada por la falta de ajuste de sus resultados frente al analizador de referencia.
5. Valorar críticamente la calidad analítica del analizador portátil utilizando las directrices europeas y de la US-EPA para la validación de un método de análisis de la contaminación atmosférica operando en condiciones de campo.

3. Metodología

La medida de los datos experimentales de concentración de ozono en el aire ambiente se realizó en la unidad de

vigilancia de la calidad del aire ubicada en las instalaciones deportivas del campus universitario de Badajoz (Fig. 1, izquierda). Esta unidad pertenece a la Red Extremeña de Protección e Investigación de la Calidad del Aire (REPICA), operada por la Junta de Extremadura como parte del sistema oficial de vigilancia de la calidad del aire vigente en la Unión Europea. En el interior de la unidad están instalados diferentes analizadores para monitorizar los niveles de diferentes contaminantes atmosféricos regulados. Entre ellos se encuentra el analizador de referencia empleado en esta práctica para la medida continua de los niveles de ozono en el aire ambiente. Se trata de un analizador Thermo modelo 49i, cuyas medidas se basan en la absorción luz ultravioleta a una longitud de onda de 254 nm. Este analizador está bajo un programa de calibración y mantenimiento periódico, de acuerdo con los procedimientos estándar de operación de la red REPICA, que cumplen los requisitos de la normativa europea. Los datos del analizador de referencia se envían automáticamente al centro de control y proceso de datos de la red REPICA, de cuya base de datos fueron capturados por los estudiantes en forma de valores medios horarios ($\mu\text{g m}^{-3}$). Los estudiantes instalaron en el interior de la unidad de vigilancia de la calidad del aire un analizador portátil de bajo coste 2B Technologies modelo 202, basado en el mismo principio de funcionamiento Fig. 1, derecha), para medir en paralelo con el analizador de referencia desde el 17 hasta el 23 de marzo de 2023. Los datos del analizador portátil se almacenan en un ordenador portátil conectado por USB, en forma de valores medios horarios (ppbv).

permite aplicar algunos aspectos de la Guía Europea para la demostración de la equivalencia de un analizador candidato frente a un analizador de referencia estándar [2]. En el caso concreto de esta práctica, el único factor que se calcula es la incertidumbre debida a la falta de ajuste entre las medidas del analizador candidato y las medidas del analizador de referencia, obtenidas en condiciones de campo.

Para la evaluación de la incertidumbre debida a la falta de comparabilidad entre el analizador candidato y el analizador de referencia, se supone que la relación entre las mediciones obtenidas por el analizador candidato (y) y las mediciones obtenidas por el analizador de referencia (x) se describe mediante una relación lineal que idealmente tendría pendiente 1 y ordenada en el origen 0 (Ec. 1).

$$y_i = a + bx_i \quad (1)$$

La bondad de la correlación lineal se evalúa mediante la técnica de regresión ortogonal (también conocida como regresión de Deming), que aplica un tratamiento simétrico de ambas variables, es decir, tiene en cuenta que los errores de medición están presentes tanto en x como en y . Según este planteamiento, el cuadrado de la incertidumbre del analizador candidato ($u_{CR}^2(y_i)$) en función de la concentración (x_i) se calcula a partir de la Ec. 2:

$$u_{CR}^2(y_i) = \frac{RSS}{(n-2)} - u^2(x_i) + [a + (b - 1)x_i]^2 \quad (2)$$

Donde a es la ordenada en el origen de la regresión ortogonal, b es la pendiente de la regresión ortogonal, n es el número de resultados de mediciones paralelas obtenidas del analizador candidato y del analizador de referencia, $u(x_i)$ es la incertidumbre estándar del analizador de referencia (se obtiene de las especificaciones del analizador o de las mediciones experimentales con dos analizadores de referencia en paralelo) y RSS es la suma de los residuos (relativos o absolutos) resultantes de la regresión ortogonal. Si los residuos absolutos son constantes, se calculan mediante la Ec. 3.

$$RSS = \sum_{i=1}^n (y_i - a - bx_i)^2 \quad (3)$$

cuando $(y_i - a - bx_i)^2$ es cte.

Si los residuos relativos son constantes, se calculan mediante la Ec. 4.

$$RSS = (a + bx_i)^2 \sum_{i=1}^n \left(\frac{y_i}{a + bx_i} - 1 \right)^2 \quad (4)$$



Fig 1. Montaje experimental para medida de concentraciones de ozono en el aire ambiente.

Para la interpretación de los resultados y cálculo de incertidumbres se empleó una herramienta estadística de validación de analizadores en condiciones de campo, desarrollada por nuestro grupo de investigación [3], que

cuando $\left(\frac{y_i}{a+bx_i} - 1\right)^2$ es cte.

La incertidumbre relativa estándar del analizador candidato se calcula mediante la Ec. 5.

$$u_{CR(rel)} = \frac{u_{CR}(y_i)}{y_i} \quad (5)$$

Donde el valor y_i es el valor límite de concentración de ozono que constituye el umbral de información según la Directiva 2008/50/CE, actualmente $180 \mu\text{g m}^{-3}$ (media horaria).

La incertidumbre relativa expandida (en el valor límite) del analizador se calcula según la Ec. 6.

$$U_{CR(rel)} = k \cdot u_{CR} \quad (6)$$

Teniendo en cuenta número de datos experimentales empleados en el cálculo, se puede emplear un factor de cobertura (k) = 2.

Finalmente, la incertidumbre expandida relativa (al valor límite) en tanto por ciento se obtiene multiplicando $U_{CR(rel)}$ por 100. Y este valor se compara con los valores máximos de incertidumbre expandida relativa (al valor límite) aceptables para emplear un analizador de medida de la calidad del aire en Europa, los cuales están publicados en la Directiva 2008/50/CE. En el caso de los analizadores para ozono, la Directiva estipula una incertidumbre expandida relativa máxima del 15 % para medición fija y del 30 % para medición indicativa.

La herramienta estadística (macro de Excel) desarrollada para probar el rendimiento de los analizadores de bajo coste en condiciones de campo, tiene como objetivo facilitar los cálculos necesarios para aplicar los cálculos de incertidumbre descritos en los párrafos anteriores. La herramienta de validación se ha implementado mediante una macro de Excel, que utiliza Visual Basic como lenguaje de programación.

La Fig. 2 muestra la interfaz gráfica de usuario que se carga al iniciar la macro, ocultando al usuario las funciones y cálculos intermedios. Las ecuaciones de funciones Excel que dan soporte al cálculo pueden revelarse fácilmente en la hoja Excel subyacente pulsando en el cuadro "Show background data", lo cual resulta de gran ayuda cuando se utiliza la herramienta con fines didácticos, como en este caso.

La macro permite seleccionar los datos analíticos a validar (contaminantes gaseosos como O_3 , CO y NO_2 ; material particulado como PM_{10} y $\text{PM}_{2,5}$; y datos meteorológicos como temperatura y humedad relativa). Los parámetros de temperatura y humedad relativa se han incluido en la herramienta de validación porque los resultados experimentales medidos para ellos por los analizadores de

bajo coste suelen ajustarse muy bien a los valores de referencia, por lo que sirven como parámetros guía preliminares durante el proceso de validación para comprobar el funcionamiento general de los analizadores, antes de probar las concentraciones de contaminantes atmosféricos, generalmente más difíciles de medir. Tanto los analizadores de bajo coste como las unidades de referencia suelen medir estos parámetros.

La interfaz de usuario solicita introducir la incertidumbre del analizador de referencia. En el caso de esta práctica, el estudiante debe tratar de localizar este dato para el analizador de referencia de ozono, buscando en internet la información técnica disponible. En todo caso, si el usuario no conoce este dato la herramienta sugiere un valor por defecto. La macro también permite modificar los parámetros de regresión Deming (lambda y alfa), que se introducen por defecto.

El botón "Insertar datos y validar" permite al usuario insertar un archivo en formato .xls (extensión de archivo por defecto de Excel) con el conjunto de datos emparejados a analizar (primera columna para los datos de referencia, segunda y tercera columna para los datos de uno o dos analizadores candidato). La versión actual de la herramienta de validación está limitada a 500 filas de datos emparejados. Si los datos de origen contienen más de 500 filas, la herramienta de validación ignora los datos que superan el límite.

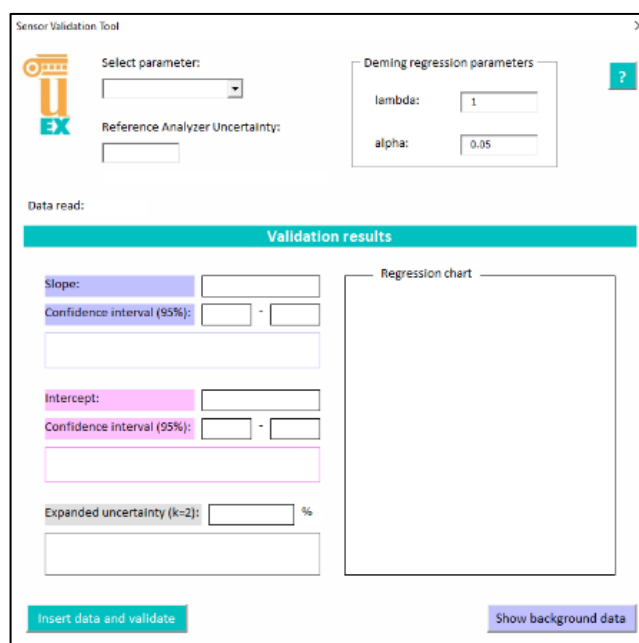


Fig. 2. Interfaz de usuario de la macro de Excel para cálculo de incertidumbres.

Una vez que el usuario inserta el archivo de datos, la herramienta de validación ejecuta el protocolo estadístico y devuelve la información de validación. La herramienta proporciona la pendiente y la ordenada en el origen de la

regresión ortogonal con sus respectivos límites de confianza (95%) y un mensaje de asesoramiento al usuario basado en los límites de confianza calculados (Tabla 1). La interfaz de usuario presenta también el gráfico con la regresión ortogonal, el valor de la incertidumbre, y un mensaje de asesoramiento que informa al usuario hasta qué punto el analizador candidato cumple los requisitos de la Directiva Europea 2008/50/CE sobre la calidad del aire: Si la incertidumbre es inferior al 15 % se califica como buena. Si está entre el 16 y el 30 % se califica como cuestionable, y si es superior al 30 % se califica como fuera de control.

Tabla 1. Consejos para el usuario, basados en los límites de confianza de la regresión ortogonal

Parámetro	Resultado	Mensaje
Pendiente (slope)	The interval marked by the confidence limits contains the value 1	There is no systematic error in the slope (95 % confidence level)
Pendiente (slope)	The interval marked by the confidence limits does not contain the value 1	There is a systematic error in the slope (95 % confidence level)
Ordenada en el origen (intercept)	The interval marked by the confidence limits contains the value 0	There is no systematic error in the intercept (95 % confidence level)
Ordenada en el origen (intercept)	The interval marked by the confidence limits does not contain the value 0	There is a systematic error in the intercept (95 % confidence level)

4. Resultados

En la Fig. 3 se muestran los resultados obtenidos por los estudiantes durante la campaña de medida de niveles de ozono en el aire ambiente. Se recogieron un total de 150 conjuntos de datos pareados (medias horarias de concentración de ozono). La serie temporal de datos pareados se segmentó en varias partes para la realización de los cálculos estadísticos por parte de los estudiantes. A partir de los resultados obtenidos se solicita a los estudiantes la realización de los siguientes trabajos de interpretación de los resultados:

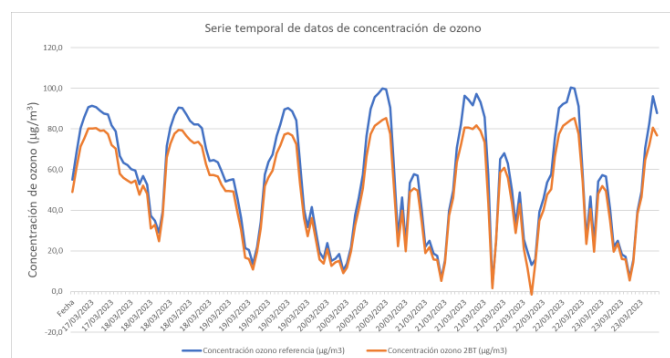


Fig. 3. Serie temporal de concentraciones medias horarias de ozono en el aire ambiente durante el experimento.

- Calcular el error absoluto medio (EAM) y la raíz del error cuadrático medio (RECM) del analizador de bajo coste frente al analizador de referencia. Calcular también los valores de estos errores en % relativo a la media de los valores medidos por el analizador de referencia. Los estudiantes comparan los resultados de RECM con el valor máximo admitido por la US-EPA en su protocolo de validación de analizadores de bajo coste de ozono (5 ppbv).
- Efectuar un análisis de regresión lineal convencional de los datos obtenidos por el analizador de bajo coste frente al analizador de referencia. Los estudiantes comparan los resultados con los valores establecidos por la US-EPA en su protocolo de validación de analizadores de bajo coste de ozono: pendiente $1,0 \pm 0,2$, ordenada en el origen entre -5 y +5 ppbv, y coeficiente de determinación mayor o igual a 0,8.
- Calcular la incertidumbre del analizador portátil de bajo coste, aplicando la macro de Excel descrita en este trabajo. En la Figs. 4 y 5 se muestran dos ejemplos de aplicación de la macro Excel de cálculo de incertidumbres.

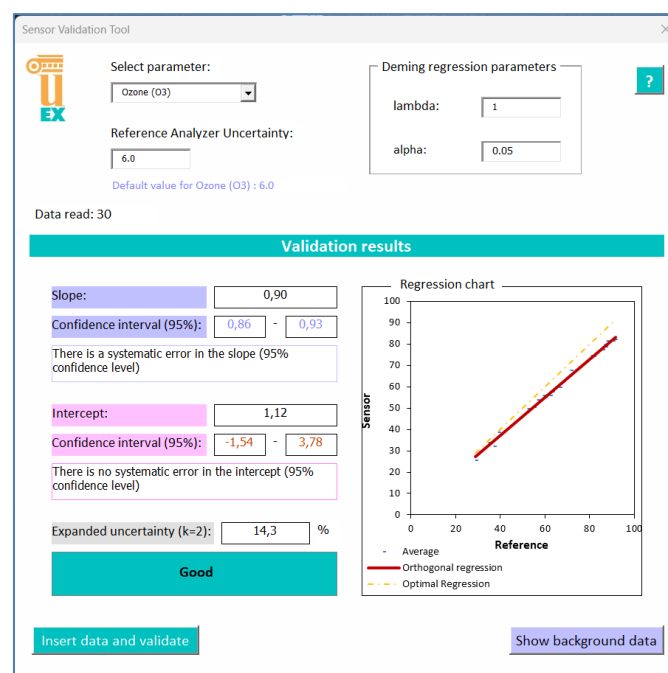


Fig. 4. Resultados de aplicación de la macro Excel para el cálculo de incertidumbre. Estudiante A.

Los estudiantes realizaron la práctica sin especiales dificultades, manifestando que les había resultado fácil e intuitiva la utilización de la macro de Excel para el cálculo de incertidumbres. La interacción con los estudiantes durante la preparación y ejecución de la práctica, y el contenido de los informes de prácticas, nos han mostrado que la herramienta informática desarrollada ha resultado útil para reforzar el conocimiento de los estudiantes sobre

la incertidumbre analítica, mejorando sus competencias relacionadas con la validación de métodos. Actualmente estamos transformando la macro Excel en una aplicación Android con el objetivo de ampliar su aplicabilidad, incluso para su empleo en la educación preuniversitaria, y para el uso por parte de ciudadanos interesados en el empleo de analizadores de bajo coste para la medida de la contaminación atmosférica, en el contexto de programas de ciencia ciudadana.

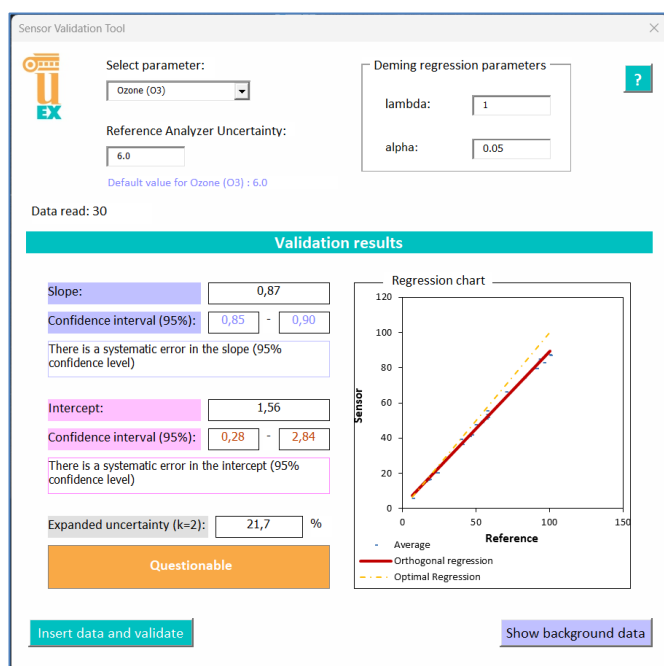


Fig. 5. Resultados de aplicación de la macro Excel para cálculo de incertidumbre. Estudiante B.

5. Conclusiones

El software de cálculo de incertidumbre (macro de Excel) desarrollado en nuestro grupo ha demostrado ser un valioso recurso didáctico para facilitar la comprensión de la incertidumbre analítica, un concepto relativamente difícil de entender para los estudiantes universitarios. El recurso didáctico propuesto facilita el cálculo estadístico, proporcionando un método rápido y sencillo para comprobar la calidad analítica del método utilizado. Dado el bajísimo coste de algunos analizadores de calidad del aire disponibles en el mercado y la amplia disponibilidad de datos de referencia de las unidades estándar de monitorización de la calidad del aire (pertenecientes a las redes oficiales de vigilancia de la calidad del aire), la herramienta informática propuesta puede ser fácilmente implementada como un recurso didáctico en actividades prácticas de las asignaturas de grado relacionadas con la química analítica instrumental.

Agradecimientos

Junta de Extremadura, a través del proyecto IB20081 y de un convenio entre la Universidad de Extremadura y la Red Extremeña de Protección e Investigación de la Calidad del Aire (REPICA) (proyecto 241803FD003), parcialmente financiados por FEDER.

Referencias

- [1] R.M. Duvall, A.L. Clements, G. Hagler, A. Kamal, V. Kilaru, L. Goodman, S. Frederick, K.K. Barkjohn, V. Ian, D. Greene, T. Dye, Performance Testing Protocols, Metrics, and Target Values for Ozone Air Sensors, (2021) 63. https://cfpub.epa.gov/si/si_public_record_Report.cfm?dirEntryId=350784&Lab=CEMM
- [2] P. Perez Ballesta, Demonstration of equivalence of ambient air analytical method guideline on demonstration of equivalence, Publication Office of the European Union, 2008. <https://doi.org/10.2788/63342>
- [3] M. Cerrato-Alvarez, S. Frutos-Puerto, E. Pinilla-Gil, Use of Uncertainty Calculation Software as a Didactic Tool to Improve the Knowledge of Chemistry Students in Analytical Method Validation, J. Chem. Educ. (2023). <https://doi.org/10.1021/acs.jchemed.3c00102>