

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE INGENIERÍA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE QUÍMICA**



**INFORME DE SUFICIENCIA PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:**

**LICENCIADO EN QUÍMICA**

**TITULADO:**

**VALIDACIÓN Y ESTIMACIÓN DE LA INCERTIDUMBRE EN  
DETERMINACIÓN DE BIFENILOS POLICLORADOS (PCB) EN ACEITES  
DIELÉCTRICOS POR CROMATOGRAFÍA GASEOSA (GC-ECD)**

**PRESENTADO POR:**

**LUIS LINO ANICAMA CHURA**

**ASESOR:**

**M.Sc. CHRISTIAN JACINTO HERNANDEZ**

**LIMA-PERÚ**

**2014**

## TABLA DE CONTENIDOS

ANTECEDENTES.....	4
RESUMEN.....	5
INTRODUCCIÓN.....	6
<b>CAPÍTULO 1: MARCO TEÓRICO</b>	
I. OBJETIVOS	
1.1. Objetivos general.....	9
1.2. Objetivo Específico.....	9
II. INFORMACIÓN GENERAL.....	10
2.1. Historia.....	10
2.2. Producción y Usos.....	11
2.3. Características.....	13
2.4. Efectos a la Salud y el medio Ambiente.....	17
<b>CAPÍTULO 2: PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL</b>	
III. METODO DE ENSAYO.....	23
3.1. Alcance.....	23
3.2. Resumen del Método.....	24
3.3. Uso y Significancia.....	25
3.4. Interferentes.....	30
3.5. Equipos y Materiales.....	31
3.6. Condiciones de Operación.....	32
3.7. Reactivos.....	34

3.8. Muestreo.....	34
3.9. Almacenamiento.....	35
3.10. Tratamiento de la Muestra.....	38
3.11. Clean-Up.....	39
3.12. Análisis por Cromatografía.....	40

### **CAPÍTULO 3: VALIDACIÓN DEL MÉTODO CROMATOGRÁFICO**

IV. VALIDACIÓN.....	45
4.1. Definición de Parámetro Evaluados.....	45
4.2. Procedimiento de Validación.....	48
4.3. Criterios de Evaluación.....	55
V. RESULTADOS DE LA VALIDACIÓN.....	58
5.1. Resultados de Linealidad.....	58
5.2. Resultados de Precisión.....	64
5.3. Resultados de Veracidad.....	77
5.4. Limite de Detección y Limite de Cuantificación.....	83
5.5. Resultados de Robustez.....	85

### **CAPÍTULO 4: EVALUACIÓN DE LA INCERTIDUMBRE**

VI. ESTIMACIÓN DE LA INCERTIDUMBRE.....	90
6.1. Información Base.....	90
6.2. Procedimiento General.....	90
6.3. Especificación del Mesurando.....	91
6.4. Identificación de las Fuentes de Incertidumbre.....	92

6.5. Estimación de las Incertidumbres Estándares de los componentes de la Incertidumbre.....	92
6.6. Estimación de la Incertidumbre Combinada.....	102
6.7. Incertidumbre Expandida.....	104
6.8. Expresión de la Incertidumbre.....	104
6.9. Resultados.....	105

**CAPITULO 5: RESULTADOS Y CONCLUSIONES**

VII. RESUMEN DE RESULTADOS.....	114
VIII. CONCLUSIONES.....	116
IX. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	120

**ANEXO 1.** Diagrama de proceso de Análisis de PCB en aceite dieléctrico por cromatografía gaseosas (GC-ECD)

**ANEXO2.** Cromatogramas de PCB: Mezcla de arocloros 1016 y 1260.

## ANTECEDENTES

Se han desarrollado Normas Internacionales dirigidas a la determinación de Bifenilos Policlorados en matrices como Agua y Suelo, tales como USEPA 8082, USEPA 8270 y a matrices de aceites dieléctricos ASTM D 4059, las cuales están fundamentalmente dirigidas a la determinación de arocloros (agrupaciones de cogéneros de bifenilos policlorados), siendo en el último caso un método de determinación de PCB por comparación de áreas.

La Dirección General de Salud Ambiental –DIGESA del Ministerio de Salud viene coordinando el Proyecto “Manejo y Disposición Ambientalmente Racional de Bifenilos Policlorados” el cual es ejecutado por la Organización de las Naciones Unidas para el Desarrollo Industrial – ONUDI con el objetivo de establecer prácticas de gestión ambientalmente racional para los PCB y aumentar el retiro y eliminación de equipos y residuos que contengan PCB.

En base a esto el proyecto plantea realizar un inventario de PCB cuantificando la existencia de equipos contaminados con PCB para lo cual se utilizará como instrumento de seguimiento los análisis realizados por laboratorio acreditados y con método de determinación de PCB por cromatografía debidamente validados.

Consecuencia de ello se decide realizar la validación y estimación de la incertidumbre del método de ensayo **“Determinación de Bifenilos Policlorados en aceites dieléctricos por cromatografía de gases”**

## RESUMEN

En el presente trabajo de investigación se desarrolla la validación y estimación de la incertidumbre de bifenilos policlorados en aceites dieléctricos, comenzando con una descripción del analito a determinar mencionando sus características, evolución en el tiempo e implicancia que tiene en la actualidad.

En el capítulo 1 se desarrolla el marco teórico describiendo las características del analito a estudiar.

En el capítulo 2 se desarrolla el método de ensayo, donde se describen el alcance y las especificaciones para que este método sea desarrollado.

En el capítulo 3 se plantean los objetivos en base a la validación así como los parámetros a evaluar para determinar si es o no válida la aplicación del método de ensayo, además se detallan los resultados intermedios y finales del procedimiento de validación, donde se desarrollarán los parámetros de este método. El método de ensayo resultó veraz obteniendo un P-Value mínimo de 0.119. El método resultó preciso obteniendo un RSD de reproducibilidad máximo de 0.243%. El método resultó lineal obteniendo una ecuación lineal con coeficiente de correlación de 0.998. El método resultó robusto con índice de robustez de 0.053, 0.053, 0.055. Se calculó el límite de detección y el límite de cuantificación los cuales resultaron 0.171 y 0.470 mg/Kg respectivamente.

En el capítulo 4 se describe el procedimiento de estimación de la incertidumbre y se procede a calcular la incertidumbre, se dedicó un capítulo entero a este parámetro ya que este es el más complejo de realizar. El resultado de la incertidumbre fue 2.000 mg/Kg  $\pm$  0.707 mg/Kg. Finalmente se agrupan los resultados obtenidos y se describen las conclusiones del informe estudiado.

## INTRODUCCIÓN

Los Bifenilos Policlorados, más conocidos como PCB (por sus siglas en inglés), han demostrado, más que otras sustancias, que una vez que estos productos químicos son vertidos al medio ambiente permanecen allí durante generaciones, desde que en 1920 aparecieron por primera vez fueron consideradas de un valor incalculable para instalaciones eléctricas, maquinarias y edificios.

Los productos químicos son prácticamente invisibles y no son algo común con lo que la gente esté advertida al contacto. Pocas generaciones más tarde los PCBs ya se habían extendido en todo el mundo y ahora se pueden hallar tanto en los organismos humanos, como en los animales y los productos alimenticios. Cuando en los años 70 resultó evidente que los PCBs eran un peligro para la salud fueron prohibidos para la mayoría de los países desarrollados. Los PCBs sencillamente no desaparecen, al contrario, continúan causando daños todos los días.

La Dirección General de Salud Ambiental-DIGESA del Ministerio de Salud viene coordinando el Proyecto "Manejo y Disposición Ambientalmente Racional de Bifenilos Policlorados" el cual es ejecutado por la Organización de las Naciones Unidas para el Desarrollo Industrial-ONUUDI con el objetivo de establecer prácticas de gestión ambientalmente racional para los PCBs y aumentar el retiro y eliminación de equipos y residuos que contengan PCBs.

Dado que las diversas aplicaciones de los PCBs sobre procesos industriales y su demostrada toxicidad. Es importante conocer exactamente la concentración de PCBs que se hallan en las diversas fuentes (aceites dieléctricos, pinturas, líquidos refrigerantes, etc.), en el ambiente (agua, suelo), en los residuos, alimentos o matrices biológicas como

leche materna, sangre, etc., para identificar donde están, conocer el daño, evaluar el riesgo y finalmente adoptar decisiones para eliminar, controlar y prevenir el riesgo

La detección de PCBs puede realizarse a partir de diferentes métodos electrométricos utilizando equipos como el L2000DX o métodos colorimétricos utilizando Kits Clor-N-Oil, Clor-N-Soil. Siendo éstos métodos de bajo costo, portátiles y con resultados instantáneos; no obstante, carecen de precisión, son menos confiables pudiendo resultar en falsos negativos o falsos positivos. Sin embargo, la determinación de PCBs por cromatografía gaseosa resulta ideal al ser más precisos y confiables, pudiéndose utilizar detectores como el MS (Detector de Espectrometría de Masas) o ECD (Detector de Captura de Electrones).

Para que un método analítico presente resultados confiables debe someterse previamente a un proceso de validación donde se evaluará diferentes parámetros del método, los cuales deberá cumplir exitosamente. Así mismo el resultado de una determinación de PCBs debe estar acompañado de su respectiva incertidumbre.

Consecuencia de ello desarrollamos en este informe la validación y estimación de la incertidumbre del método de ensayo **"Determinación de Bifenilos Policlorados en aceites dieléctricos por cromatografía de gases"**.



# CAPÍTULO 1 MARCO TEÓRICO

## **I. OBJETIVOS**

### **1.1.OBJETIVO GENERAL.**

Validar el método para la determinación de Bifenilos Policlorados en aceites dieléctricos por Cromatografía Gaseosa con detector de ECD, proporcionando un estimado realista de los parámetros de desempeño del método (veracidad, precisión, incertidumbre, etc.)

### **1.2.OBJETIVOS ESPECÍFICOS.**

- Determinar la linealidad del método.
- Determinar la precisión y veracidad del método de ensayo, calculando los valores de las desviaciones estándar de repetibilidad, reproducibilidad y sesgo del método.
- Determinar la sensibilidad del método hallando los valores del límite de detección y cuantificación.
- Determinar la robustez del método.
- Determinar la incertidumbre del método.

## **II. INFORMACIÓN GENERAL**

Esta información general incluye Historia, Producción y usos, características fisicoquímicas, efectos sobre la salud y el Ambiente, tomando como base la información de la autoridad mundial de la salud, la Organización Mundial de la salud (OMS).

### **2.1. Historia**

Los bifenilos policlorados (PCB) son compuestos sintéticos orgánicos, se descubrieron a finales del siglo XIX y se reconoció pronto su utilidad para la industria, debido a sus propiedades físicas. Se utilizan comercialmente desde 1930 como fluidos dieléctricos e intercambiadores de calor y en otras aplicaciones. Se encuentran ampliamente distribuidos en el ambiente de todo el mundo, son persistentes y se acumulan en la cadena alimentaria.

La exposición humana a los PCB se debe fundamentalmente al consumo de alimentos contaminados, pero también a la inhalación y a la absorción cutánea en los lugares de trabajo. Los PCB se acumulan en el tejido adiposo de los seres humanos y de los animales, causando efectos tóxicos a ambos, particularmente en el caso de exposiciones repetidas. La patología se manifiesta sobre todo en la piel y el hígado, aunque también están expuestos el tracto gastrointestinal, el sistema inmunitario y el sistema nervioso. Los dibenzofuranos policlorados (DFPCs), que se encuentran como contaminantes en mezclas comerciales de PCB, contribuyen de manera significativa a su toxicidad.

Los resultados de los estudios, publicados en el artículo N° TX972397 de la edición 41 de *Toxicological Science*, realizados en roedores indican que algunos compuestos parecidos a los PCB pueden ser carcinógenos y fomentar la carcinogenicidad de otros compuestos químicos. De los datos disponibles de los bifenilos policlorados (PCB) es evidente que, en una situación ideal, sería preferible no tener en absoluto estos compuestos en los alimentos. Sin embargo, en la práctica será imposible alcanzar una reducción o eliminación de PCB en las fuentes alimentarias, ya que esta eliminación o nivel cero significaría la eliminación (o prohibición del consumo) de grandes cantidades de alimentos importantes, como el pescado, e involucrar en casos extremos hasta la imposibilidad de los infantes de alimentarse de la leche materna, dado el contenido de grasas de ésta. [1]

## **2.2. Producción y Usos.**

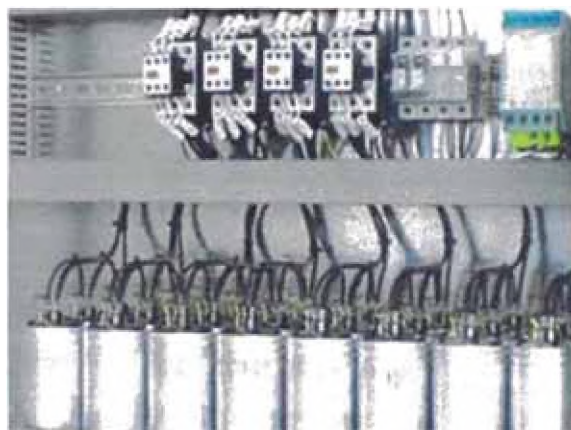
La producción comercial de los PCB comenzó en 1930. Se han utilizado ampliamente en equipos eléctricos y en volúmenes más pequeños como líquido pirorresistente en sistemas de régimen cerrado. Al final de 1980, la producción mundial total de PCB era superior a un millón de toneladas y desde entonces, la producción ha continuado en algunos países. A pesar de la creciente retirada del uso y de las restricciones sobre la producción, en el ambiente sigue habiendo cantidades muy elevadas de estos compuestos, bien en uso o como desecho.

En los últimos años, muchos países industrializados han adoptado medidas para controlar y limitar el flujo de PCB hacia el ambiente. El factor decisivo que ha llevado a estas restricciones ha sido probablemente una recomendación de 1973 de la Organización de Cooperación y Desarrollo Económicos (OCDE), apoyados posteriormente en Organización Mundial de la Salud (OMS) en 1976; Centro

Internacional de Investigaciones sobre el Cáncer (CIIC) en 1978 y OCDE en 1982. Desde entonces, los 24 países miembros de la OCDE han limitado la fabricación, la venta, la importación, la exportación y el uso de PCB, además de establecer un sistema de etiquetado de estos productos. Entre las fuentes actuales de liberación de PCB figuran la volatilización de vertederos (rellenos sanitarios y botaderos) que contienen transformadores, condensadores y otros residuos con PCB, aguas residuales, fangos cloacales, derrames y desechos de dragado, y la eliminación inadecuada (o ilegal) en zonas abiertas. Se puede producir contaminación durante la incineración de desechos industriales y municipales. Se sabe internacionalmente que la mayoría de los incineradores municipales no son eficaces en la destrucción de los PCB. La explosión o el sobrecalentamiento de transformadores y condensadores pueden liberar cantidades significativas de PCB al entorno local.

Los PCB se pueden convertir en dibenzo furanos policlorados (DFPCs) en condiciones pirolíticas. En las condiciones de laboratorio, la máxima producción de DFPCs se obtuvo a temperaturas entre 550°C y 700°C. Así pues, la combustión incontrolada de PCB puede ser una importante fuente de los peligrosos DFPCs. Por lo tanto, se recomienda un cuidadoso control de la destrucción de desechos contaminados con PCB, especialmente en relación con la temperatura de combustión (por encima de los 1 000°C), el tiempo de permanencia y la turbulencia. Otras fuentes señalan que hasta 1989 la producción total mundial de PCB (excluida la Unión Soviética), fue de 1,5 millones de toneladas, lo que significa un promedio de unas 26 000 toneladas al año. Incluso después de que en 1976 se prohibiese en Estados Unidos la fabricación, venta y distribución de PCB, se continuó su producción. Es así como entre 1980 y 1984 la producción mundial se mantuvo en 16 000 toneladas al año y entre 1984 y 1989, en 10 000 toneladas/año. Estos

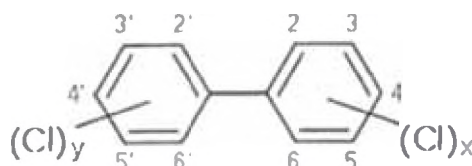
antecedentes unidos a la falta de control existente en nuestro país, hace presumir que pueden existir cantidades significativas de PCB producto de la importación y fabricación de equipos conteniendo el fluido contaminado con PCB. [2]



**Figura N° 1.1 Transformadores-Capacitores**

### 2.3. Características.

Los bifenilos policlorados (PCB) comprenden un total de 209 congéneres o compuestos diferentes que teóricamente existen, su estructura química presenta dos anillos bencénicos unidos entre sí por un enlace carbono-carbono, las cuales pueden presentar diferentes grados de cloración. La fórmula química es  $C_{12}H_{(10-n)}Cl_n$  en donde  $1 \leq n \leq 10$ , o sea que puede contener desde uno hasta diez átomos de cloro y su estructura puede representarse así:



**Figura N° 1.2. Estructura general de los Bifenilos Policlorados**

Los PCB son líquidos oleosos fluidos y resinas transparentes duras, dependiendo del grado de sustitución del cloro en el compuesto químico. Estos compuestos son químicamente estables y han sido utilizados en numerosas aplicaciones en virtud a sus propiedades químicas y físicas. Entre las cuales figuran la resistencia al fuego, baja conductividad eléctrica, baja solubilidad en agua y alta en solventes orgánicos y resistencia a sustancias oxidantes.

#### **2.3.1. Características Fisicoquímicas.**

Dentro de las características fisicoquímicas de los PCB se mencionan su identidad y propiedades fisicoquímicas. En el siguiente cuadro se presentan las principales características.

**TABLA N° 1.1. Propiedades Fisico-Químicas de los PCB**

PARÁMETRO	CARACTERÍSTICAS
Estado Físico	Líquido (Temperatura Ambiente)
Densidad	1,182-1,566 g/mL
Solubilidad en Agua	Baja, entre $1,08 \times 10^{-5}$ y $9,69 \times 10^{-10}$ mol/L
Solubilidad en aceites y Solventes	Alta
Solubilidad en Lípidos	Rápidamente absorbidos por tejidos grasos
Coefficiente de partición $\log K_{ow}$	4,46 – 8,18 (Convenio de Estocolmo establece que una sustancia se considera bioacumulable si el $\log K_{ow} \geq 5$ )
Punto de inflamación	Alto (170-380 °C) (no explosivos)
Presión de vapor	Baja (semivolátiles); forman vapores más pesados que el aire, pero no forman mezclas explosivas con el aire
Constantes de la ley de Henry	$0,3 \times 10^{-4} - 8,97 \times 10^{-4}$ atm m <sup>3</sup> / mol
	Determinada para 20 cogéneres
Constante dieléctrica	Alta (baja conductividad eléctrica)
Estabilidad térmica	Alta resistencia al fuego con temperatura de inflamabilidad elevada. Al calentarse pueden producir dibenzofuranos policlorados.
	No cristalizan a bajas temperaturas, pero se transforman en resinas sólidas.

### 2.3.2. Identidad y propiedades físicas y químicas

Los PCB son mezclas de productos químicos aromáticos, que se obtienen por cloración del bifenilo en presencia de un catalizador adecuado. Como se mencionó, en teoría existen 209 compuestos análogos, pero sólo 130 tienen probabilidad de ser utilizados en productos comerciales. Además, los PCB



pueden contener dibenzofuranos policlorados (DFPCs) y cuarterfenilos clorados como impurezas. En condiciones normales, estas impurezas son relativamente estables y resistentes a las reacciones químicas. Todos los compuestos afines a los PCB son lipófilos y tienen una solubilidad en agua muy baja. En consecuencia, se introducen fácilmente en la cadena alimentaria y se acumulan en el tejido adiposo.

Según el Manual de entrenamiento para la Destrucción y descontaminación de Tecnologías con PCB y Compuestos Orgánicos Persistentes, las mezclas comerciales de PCB contienen DFPCs en concentraciones que oscilan entre unos pocos mg/kg y 40 mg/kg. En los PCB comerciales no se encuentran dibenzo- p-dioxinas policloradas (DDPCs). Sin embargo, en casos de incendios accidentales y durante la incineración se pueden encontrar DDPCs cuando están mezcladas con otros compuestos clorados, como los clorobencenos utilizados en los transformadores. Las mezclas comerciales de PCB tienen un color que va del amarillo claro al oscuro. No cristalizan, ni siquiera a baja temperatura, sino que se convierten en resinas sólidas. Los PCB son prácticamente piroresistentes, con una temperatura de inflamabilidad bastante elevada. Forman vapores más densos que el aire, pero no dan lugar a mezclas explosivas con éste. Su conductividad eléctrica es muy baja, la térmica es bastante alta y tienen una resistencia muy elevada a la degradación térmica. En condiciones normales, los PCB son químicamente muy estables, pero cuando se calientan pueden producir otros compuestos tóxicos, como los DFPCs. [3]

#### **2.4. Efectos a la Salud y el Medio Ambiente.**

Los PCB al permanecer en el ambiente (persistentes) se transportan en la cadena trófica e ingresan al organismo por consumo de alimentos contaminados y por exposición laboral a través de la piel o de la vía respiratoria. Son probablemente cancerígenos (estudios en animales lo confirman). Después de su absorción circulan por la corriente sanguínea se almacenan (bioacumulan y biomagnifican) en tejidos grasos y en una variedad

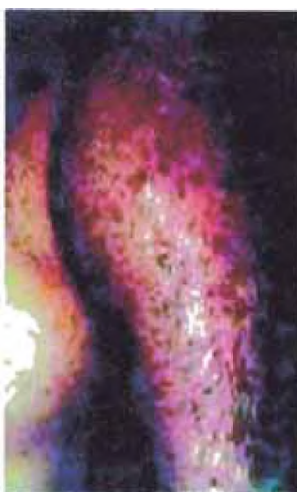
de órganos que incluyen los pulmones, hígado, riñones, glándulas adrenales, cerebro, corazón y la piel, manifestándose principalmente en la piel (cáncer a la piel, cloroacné) y el hígado, pudiendo afectar los sistema nervioso central, reproductivo o endocrino, sistema inmunológico y el tracto gastrointestinal y respiratorio.

En el ambiente se caracterizan por su persistencia al no ser biodegradables por lo que se les ha encontrado en sitios alejados (p.e. zonas polares), donde nunca han sido utilizados. Los derrames, vertidos, incendios o incineración son las principales rutas de ingreso al ambiente, pudiendo generar compuestos más peligrosos como los agentes cancerígenos Dioxinas y Furanos.

Son calificados por la IARC (Internatina Agency for Research on Cancer) en el Grupo 2 A, al ser Probable Carcinógeno para el hombre. Muchas de las características que hacen a los PCB ideales para aplicaciones industriales crean problemas cuando se relaciona con el ambiente. Como otros hidrocarburos clorados, los PCB se asocian con componentes orgánicos del suelo, sedimentos y tejido graso, o con sistemas acuáticos con carbón orgánico disuelto.



**Figura N° 1.3. Cloroacné.**



**Figura N° 1.4. Efectos de PCB en la piel.**

#### **2.4.1. Transporte, distribución y transformación en el medio ambiente**

Los PCB se encuentran en la atmósfera principalmente en fase de vapor; la tendencia a adsorberse sobre partículas aumenta con el grado de cloración. La distribución prácticamente universal de los PCB parece indicar que los transporta el aire. En la actualidad, la principal fuente de exposición en el

ambiente parece ser la redistribución de los PCB que previamente se han introducido en él. Dicha redistribución se deriva de su volatilización del suelo y el agua para pasar a la atmósfera, con el posterior transporte por el aire y la eliminación de la atmósfera mediante sedimentación húmeda o seca (de los PCB unidos a partículas), para luego volver a volatilizarse. Su concentración en las precipitaciones oscila entre 0,001 y 0,25 µg/litro. Dado que los ritmos de volatilización y degradación de los PCB varían según los compuestos, esta redistribución produce una alteración en la composición de las mezclas de PCB presentes en el ambiente.

En el agua, los PCB se adsorben en los sedimentos y otra materia orgánica; los datos experimentales y de supervisión han puesto de manifiesto que las concentraciones de PCB en los sedimentos y en la materia en suspensión son más elevadas que en las masas de agua correspondientes. Una fuerte adsorción en el sedimento, especialmente en el caso de PCB con un grado elevado de cloración, disminuye la tasa de volatilización. Sobre la base de su solubilidad en agua y los coeficientes de reparto n-octanol-agua, los compuestos del grupo del PCB menos clorados se adsorberán con menos fuerza que los isómeros con más átomos de cloro. Aunque la adsorción puede inmovilizar los PCB en el medio acuático durante períodos relativamente largos, se ha demostrado que la liberación a la masa del agua se produce tanto por vía abiótica como biótica. Por consiguiente, las importantes cantidades de PCB en los sedimentos acuáticos pueden actuar como sumideros del ambiente y como depósito de estos compuestos para los organismos. Se ha estimado que la mayor parte de los PCB presentes en el ambiente está en el sedimento acuático.

La baja solubilidad y la fuerte adsorción de los PCB en las partículas del suelo limitan la lixiviación; los compuestos con menor grado de cloración tienen una tendencia mayor a la lixiviación que los más clorados. La degradación de los PCB en el ambiente depende del grado de cloración del bifenilo.

En general, la persistencia de los isómeros de PCB aumenta con el grado de cloración. En la atmósfera, el proceso de transformación predominante puede ser la reacción en fase de vapor de los PCB con radicales hidroxilos (formados fotoquímicamente por la luz solar). La semivida estimada de esta reacción en la atmósfera oscila entre unos 10 días para el monocloro bifenilo y año y medio para el heptaclorobifenilo. En el medio acuático, la hidrólisis y la oxidación no degradan de manera significativa los PCB. La fotólisis parece ser el único proceso abiótico de degradación viable en el agua; sin embargo, los datos experimentales disponibles no son suficientes para establecer su proporción o importancia en el ambiente.

Los microorganismos degradan los Bifenilos monoclorados, diclorados y triclorados de manera relativamente rápida y más lentamente los bifenilos tetraclorados, mientras que los bifenilos con mayor grado de cloración son resistentes a la biodegradación. La posición de los átomos de cloro en el anillo bifenilo parece ser importante para determinar la tasa de biodegradación. Esta se da con preferencia en los compuestos que contienen átomos de cloro en posiciones -para. Los compuestos más clorados experimentan una transformación anaerobia, mediante una de cloración reductora, para dar PCB con menos átomos de cloro, que pueden luego continuar la biodegradación

mediante procesos aerobios. El grado de bioacumulación en el tejido adiposo depende de varios factores: la duración y el nivel de la exposición, la estructura química del compuesto y la posición y modelo de la sustitución. En general, se acumulan más fácilmente los compuestos con mayor número de sustituyentes de cloro. Los factores de bioconcentración de distintos PCB determinados experimentalmente en las especies acuáticas (peces, camarones, ostras) varían entre 200 y 70 000 o más. En mar abierto, hay bioacumulación de PCB en los niveles tróficos más elevados, con una mayor proporción de los bifenilos más clorados en los depredadores que ocupan un lugar más alto en la escala. [4]

# CAPÍTULO 2 PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

### **III. MÉTODO DE ENSAYO**

#### **3.1. ALCANCE**

Este método de ensayo abarca desde la recolección del aceites dieléctrico hasta la determinación por cromatografía gaseosa de compuestos Bifenilos Policlorados (PCBs) y es aplicable para la determinación de Bifenilos Policlorados en Aceites Dieléctricos.

**3.1.1.** Este método describe una determinación cuantitativa de la concentración de Bifenilos Policlorados (PCBs) en aceites dieléctricos por cromatografía de gases. También es aplicado para la determinación de PCBs conocidos como askareles utilizados en aceites dieléctricos.

**3.1.2.** La mezcla de PCBs conocidos como arocloros fueron usados en la formulación de askareles (aceite especial tipo viscoso, usado como aislante y refrigerante, en transformadores, banco de condensadores, sistemas de control eléctrico y electricidad) con contenido de PCBs manufacturados en los Estados Unidos. Este método puede ser aplicado para la determinación de PCBs en aceites dieléctricos con arocloros individuales o mezcla de arocloros. Esta técnica no puede ser aplicada para la determinación de PCBs de otras fuentes de contaminación.

**3.1.3.** La veracidad y precisión de este método sólo para concentraciones de PCBs en aceites dieléctricos. El uso de este método no ha sido demostrados para todos los fluidos aislantes. Algunos líquidos aislantes, como los hidrocarburos halogenados, interfieren con la determinación PCBs y no pueden ser analizados sin un pre tratamiento de la muestra.

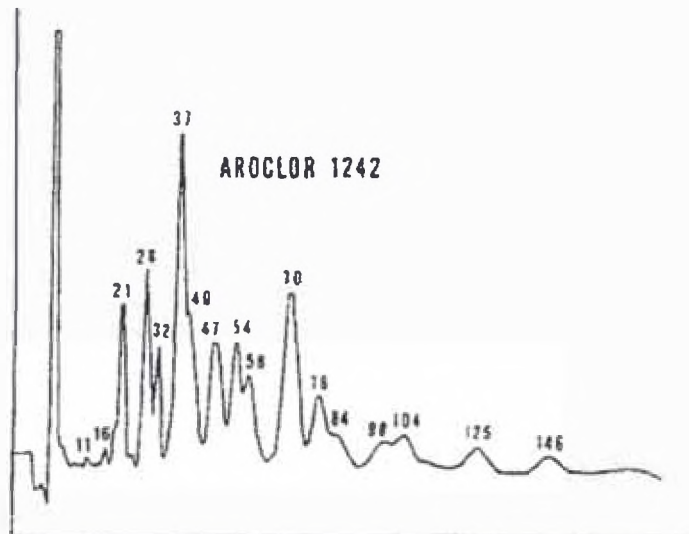


**3.1.4.** Las unidades establecidas en el SI serán consideradas en este método de determinación.

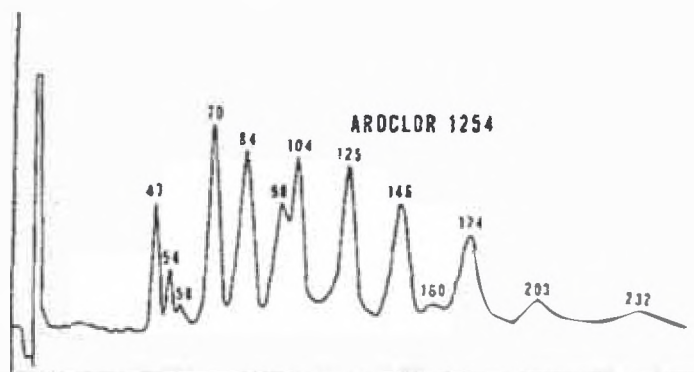
**3.1.5.** Este método no brinda lineamientos para los temas relacionados con la seguridad, salud y medio ambiente. Es responsabilidad del usuario de este método establecer las medidas a tomar para proteger su seguridad, su salud y al medio ambiente.

### **3.2. RESUMEN DEL METODO**

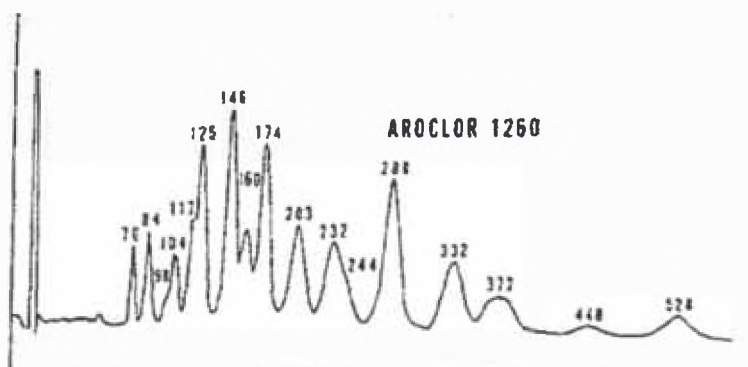
La muestra de aceite (0.1 – 0.2 g) es diluida en un solvente orgánico (5mL – 10mL). La solución es tratada por un procedimiento de remoción de sustancias interferentes después del cual una pequeña porción de la solución resultante es inyectada en una columna cromatográfica. Los componentes son separados en su paso por la columna y son cuantificados finalmente con el uso de un detector de captura de electrones y registrado como un cromatograma. La cuantificación se realiza a través de la comparación con cromatogramas de un estándar conocido de uno o más estándares de aroclor, obtenidos bajo las mismas condiciones de análisis.



**Figura N° 1.5:** Columna 3% OV-1, Carrier: Nitrogen at 60 mL/min, Column temperature: 170 °C



**Figura N°1.6:** Columna 3% OV-1, Carrier: Nitrogen at 60 mL/min, Column temperature: 170 °C



**Figura 1.7:** Columna 3% OV-1, Carrier: Nitrogen at 60 mL/min, Column temperature: 170 °C

### **3.3. USO Y SIGNIFICANCIA**

**3.3.1.** Las regulaciones del gobierno de los Estados Unidos ordenan que los aparatos eléctricos y los aceites dieléctricos que contengan PCBs deban ser recolectados y dispuestos a través de procedimientos de disposición específicos. Dependerá de la concentración de PCBs en el aparato para que este pueda ser conservado o dispuesto. Los resultados de los métodos analíticos pueden ser determinantes al elegir el correcto procedimiento de recolección y disposición

**3.3.2.** La cuantificación en esta técnica requiere de una comparación pico por pico del cromatograma de un espécimen desconocido de una muestra cualquiera con un aroclor estándar de concentración conocida analizado bajo las mismas condiciones que la muestra. La concentración de PCBs producida por cada pico deberá ser conocida independientemente.

**3.3.3.** La técnica descrita fue basada en la información de cromatogramas de arocloros 1242, 1254 y 1260 obtenido del uso de columnas cromatográficas empacadas y condiciones de operación específica. Los cromatogramas más importantes son reproducidos en la Figura 1, Figura 2 y Figura 3 para columnas empacadas en condiciones de horno isotérmicas. Cada pico es identificado por su tiempo de retención relativo a un estándar. La caracterización y cuantificación de cada pico ha sido determinado a través de una espectrómetro de masas y son dados en las tabla 1, tabla 2 y tabla 3. Otras condiciones cromatográficas, y en particular, otras columnas cromatográficas, pueden ofrecer diferentes separaciones.

**3.3.4.** Diferentes isómeros de PCBs con el mismo número de cloros sustituidos pueden causar sustancialmente diferencias en las respuestas ante un

Detector de Captura de Electrones. La mezcla de PCBs conteniendo las mismas cantidades de PCBs, con diferente relación de isómeros puede dar diferencias en los cromatogramas. Esta técnica es efectiva sólo cuando la mezcla de los estándares de PCBs y los encontrados en la muestra están relacionadas. Los arocloros 1260, 1242 y 1254 son los estándares adecuados ya que estos han sido utilizados en la mayoría de contaminantes de aceites dieléctricos. [6]

**TABLA N° 2.1. Composición del Aroclor 1242**

RRT <sup>A</sup>	Mean Weight, %	Relative Standard Deviation <sup>B</sup>	Number of Chlorines <sup>C</sup>
11	1.1	35.7	1
16	2.9	4.2	2
21	11.3	3	2
28	11	5	2 } 25%
			3 } 75%
32	6.1	4.7	3
37	11.5	5.7	3
40	11.1	6.2	3
47	8.8	4.3	4
54	6.8	2.9	3 } 33%
			4 } 67%
58	5.6	3.3	4
70	10.3	2.8	4 } 90%
			5 } 10%
78	3.6	4.2	4
84	2.7	9.7	5
98	1.5	9.4	5
104	2.3	16.4	5
125	1.6	20.4	5 } 85%
			6 } 15%
146	1	19.9	5 } 75%
			6 } 25%
Total	98.5		

<sup>A</sup>Tiempo de retención relativo al p,p'DDE=100 medido desde la primera aparición del solvente.

<sup>B</sup>Desviación estándar de seis resultados como un porcentaje de la media (coeficiente de variación).

<sup>C</sup>Datos extraídos del GC-MS picos conteniendo mezcla de isómeros son agrupado.

**TABLA N° 2.2. Composición del Aroclor 1254**

RRT <sup>A</sup>	Mean Weight, %	Relative Standard Deviation <sup>B</sup>	Number of Chlorines <sup>C</sup>
47	6.2	3.7	4
54	2.9	2.6	4
58	1.4	2.8	4
70	13.2	2.7	4 } 25%
			5 } 75%
84	17.3	1.9	5
98	7.5	5.3	5
104	13.6	3.8	5
125	15.0	2.4	5 } 70%
			6 } 30%
146	10.4	2.7	5 } 30%
			6 } 70%
160	1.3	8.4	6
174	8.4	5.5	6
203	1.8	18.6	6
232	1.0	26.1	7
Total	100.0		

<sup>A</sup>Tiempo de retención relativo al p,p'DDE=100 medido desde la primera aparición del solvente.

<sup>B</sup>Desviación estándar de seis resultados como un porcentaje de la media (coeficiente de variación).

<sup>C</sup>Datos extraídos del GC-MS picos conteniendo mezcla de isómeros son agrupados.

**TABLA N° 2.3. Composición del Aroclor 1260**

RRT <sup>A</sup>	Mean Weight, %	Relative Standard Deviation <sup>B</sup>	Number of Chlorines <sup>C</sup>
70	2.7	6.3	5
84	4.7	1.6	5
98	3.8	3.5	5 } 60% <sup>E</sup>
104			6 } 40%
117	3.3	6.7	6
125	12.3	3.3	5 } 15%
			6 } 85%
146	14.1	3.6	6
160	4.9	2.2	6 } 50%
			7 } 50%
174	12.4	2.7	6
203	9.3	4.0	6 } 10%
			7 } 90%
232	9.8	3.4	6 } 10% <sup>E</sup>
244			7 } 90%
280	11.0	2.4	7
332	4.2	5.0	8
372	4.0	8.6	8
448	0.6	25.3	8
528	1.5	10.2	8
Total	98.6		

<sup>A</sup>Tiempo de retención relativo al p,p'DDE=100 medido desde la primera aparición del solvente.

<sup>B</sup>Desviación estándar de seis resultados como un porcentaje de la media (coeficiente de variación).

<sup>C</sup>Datos extraídos del GC-MS picos conteniendo mezcla de isómeros son agrupados.

<sup>D</sup>Composición determinada en el centro del pico 104

<sup>E</sup>Composición determinada en el centro del pico 232

### **3.4. INTERFERENTES**

**3.4.1.** El detector de captura de electrones responde a otros compuestos que contienen cloro y de la misma forma a otros compuestos que contienen elementos electrofílicos tales como los halógenos, nitrógenos, oxígenos y sulfuros. Estos compuestos pueden resultar en picos con tiempo de retención comparables a los de los PCBs. Los interferentes más comunes como los pesticidas organoclorados, los ésteres de ftalato pueden ser removidos con tratamiento de pre-análisis. Los cromatogramas de cada compuesto analizado deben ser cuidadosamente comparados con los del estándar. Los resultados de un análisis son sospechosos si más grande o inusual es el tamaño del pico identificado. La adquisición de la data y tratamiento por integradores y otro medio instrumental puede producir la inclusión de interferencias no reconocidas en la cuantificación de resultados. Es importante la examinación visual de expertos en cromatogramas para obtener resultados con mayor exactitud.

**3.4.2.** La sensibilidad del detector de captura de electrones es reducida para los aceites minerales. La misma cantidad de aceite debe pasar a través del detector en la calibración y en el análisis para garantizar una comparación significativa en la cuantificación. La muestra, las diluciones estándares y los volúmenes de inyección deben ser cuidadosamente seleccionados en este método para eliminar los interferentes en el aceite.

**3.4.3.** La sensibilidad de los detectores de captura de electrones no es afectada significativamente por los líquidos de silicona. Evaluar la necesidad para la correspondiente matriz sin el procedimiento antes descrito.

El oxígeno residual en el gas carrier puede reaccionar con los analitos para dar productos oxidados como dioxinas y furanos, los que serán detectados por el ECD. Hay que ser cuidadoso y asegurarse de la pureza del gas carrier.

El uso de un filtro de oxígeno y una trampa de humedad en el gas carrier es útil para extender el tiempo de vida de la columna cromatográfica y del detector.

El triclorobenceno (TCB) es encontrado usualmente junto con los PCBs en los aceites dieléctricos y generan una respuesta en el detector de captura de electrones. Este aparece antes que el primer pico de los Bifenilos Policlorados en la mayoría de los casos y no debe ser considerado en el análisis. Esporádicamente pueden estar presentes altas concentraciones de TCB y pueden sesgar los picos en el cromatograma de PCB.

Los componentes de los aceites minerales de altos pesos moleculares pueden presentar tiempos de retención más grandes en una columna cromatográfica, resultando en picos "fantasmas". Estas condiciones interfieren con una determinación y cuantificación exacta además que modifican el límite de detección del método. Cuando se identifique este tipo de contaminación de la columna se debe correr solvente en la columna cromatográfica a altas temperaturas las veces que sea necesaria hasta que la línea base regrese a su señal natural. [5]

### **3.5. EQUIPOS Y MATERIALES**

**3.5.1.** Cromatógrafo de Gases Perkin Elmer Clarus 500, equipado con control de temperatura en el horno con exactitud de 1°C y puerto de inyección.



- 3.5.2.** Computador, medio para grabar los cromatogramas preferiblemente para integrar picos. Un muestreador de inyección automático puede ser útil.
- 3.5.3.** Inyector, construido de acero inoxidable equipado con adecuados adaptadores para permitir la inyección directa a la columna, inyección Split/Splitless toda la superficie del vidrio debe ser forrado con vidrio.
- 3.5.4.** Las columnas capilares de sílice fundida revestidas de un polímero pueden ser efectivamente utilizadas en un inyector de columna empacada con una cámara de vaporización de vidrio.
- 3.5.5.** Columna, hecha de vidrio o sílice fundida, empacada con un polímero (de preferencia de polimetilxiloxano), una precolumna puede ser usada para extender el tiempo de vida útil de la columna cromatográfica.
- 3.5.6.** Pipetas y matraces aforados calibrados para realizar diluciones.
- 3.5.7.** Microjeringas de vidrio de alta exactitud graduados en 0,1uL.
- 3.5.8.** Viales de vidrio con tapas de politetrafluoroetileno.
- 3.5.9.** Balanza analítica o hidrómetro capaz de medir densidades de aproximadamente 0,9 g/mL.

### **3.6. CONDICIONES DE OPERACIÓN**

Las características difieren de acuerdo a la selección del Cromatógrafo y de la columna a utilizar. Las condiciones de operación particulares deben ser escogidas de tal forma que den las separaciones mostradas en la figura 1, figura 2 y figura 3 para los arocloros 1242, 1254 y 1260. Los tiempos de retención de los picos pueden ser determinados en relación al 1,1 Bis (4-Clorofenil) etano (p,p'-DDE) para identificar los picos individuales con aquellos mostrados en los cromatogramas y listados en las tablas. Los rangos generales de temperaturas y velocidades de flujo

con los cuales separaciones satisfactorias han sido obtenidas son listados a continuación.

**3.6.1. Temperatura de la columna.** Temperatura isotermas entre 165 y 200°C que ha sido encontrado aceptable en el uso de columnas empacadas. La temperatura programada de los hornos entre 165 y 300°C para mejorar la resolución y reducir el tiempo de retención y análisis.

**3.6.2. Temperatura del detector.** Control de temperatura isoterma que se encuentra por encima de la máxima temperatura del horno. Una temperatura aceptable se encuentra usualmente entre 280 y 400°C. Siga las instrucciones del fabricante del Cromatógrafo para evitar superar la máxima temperatura permitida del material radioactivo.

**3.6.3. Temperatura del puerto de inyección.** En el puerto de inyección se encuentra ubicada la cámara de vaporización (liner) donde la temperatura ideal es usualmente la correspondiente a aproximadamente 50°C más que el punto de ebullición del componente menos volátil a estudiar.

**3.6.4. Gas Carrier.** Debe ser utilizado un gas inerte por ejemplo una mezcla de Argón (95%) / Metano (5%) Ultrapuro o nitrógeno que debe ser utilizado para columnas capilares o empacadas. El desempeño óptimo de las columnas capilares es conseguido con el uso de gases móviles inertes ultrapuros. De ser necesario debe usarse un dispositivo que remueva el oxígeno y el vapor de agua de la fase móvil para optimizar la sensibilidad del detector.

**3.6.5. Velocidad de Flujo.** Las velocidades de flujo en la columna son de 8 a 60 mL/min si es usado un detector. Cuando el hidrógeno y helio son usados

como gas carrier, el flujo en el detector para la lectura debe ser de dos a tres veces para obtener una buena sensibilidad.

### **3.7. REACTIVOS**

**3.7.1. Estándares.** Materiales Primarios o materiales de referencia certificados de aroclor 1242, 1254 y 1260.

**3.7.2. Aceite Dieléctrico.** Que no haya sido usado. Para análisis libre de PCB.

**3.7.3. Solvente.** N-Hexano, Heptano o 2,2,4-trimetilpentano (iso-octano) grado pesticida.

**3.7.4. Ácido sulfúrico concentrado para Análisis.**

**3.7.5. Adsorbente para compuestos polares, para impurezas electrofílicas (Florisil)**

### **3.8. MUESTREO**

Los métodos mencionados a continuación, incluye transformadores y tanques o canecas. Debido a las diferentes clases de muestreo y modelos de transformadores, se ponen a consideración los siguientes métodos:

#### **3.8.1. Con Botella**

- a) La toma de muestra con botella consiste en usar la válvula de salida para recoger una muestra representativa del líquido aislante. Para ese efecto, la salida debe purgarse de modo que no aparezcan en la muestra sustancias ajenas al líquido (gases, agua o sólidos suspendidos o sedimentados).
- b) Una vez se ha asegurado que el líquido que sale de la válvula de salida es homogéneo y representativo, entonces puede procederse con la toma de muestra.

- c) Cuando no hay válvula de salida pero se tiene acceso al equipo por la parte superior, pueden llevarse a cabo muestreos superficiales, multinivel o de corrido.

### **3.8.2. Con Jeringa**

- a) La jeringa para muestreo de líquidos aislantes consta de una tubería resistente con una llave de paso que conecta la válvula con una jeringa, preferiblemente de vidrio.
- b) Inicialmente debe purgarse la conexión resistente de modo que la llave de paso permita la salida del líquido pero impida su entrada en la jeringa.
- c) Una vez el líquido es homogéneo y carece de sustancias externas a la muestra (agua, gases o residuos) debe permitirse la entrada del líquido a la jeringa para purgarla. La jeringa debe llenarse sola por la presión propia del líquido, y máximo hasta el 80% de su capacidad total.
- d) Cuando la jeringa esté llena, se ajusta la llave de paso para permitir la eliminación del líquido aislante de purga sin que entre al equipo que se está muestreando.
- e) Terminado este procedimiento de nuevo se llena la jeringa como en el literal c). Su contenido debe almacenarse según la sección las indicaciones de almacenamiento. Esta es una muestra de salida.

### **3.8.3. Con Cilindro de Acero Inoxidable**

- a) Se conecta una tubería transparente, resistente a los PCB, a la salida del equipo. Esta a su vez se conecta a la entrada inferior de un cilindro de acero inoxidable (puesto en posición vertical) cuya salida superior se encuentra conectada a un recipiente de desechos.

- b) En total hay tres llaves de paso que deben abrirse en el siguiente orden: válvula de salida, entrada del cilindro, salida del cilindro. Deben pasar por lo menos dos litros (2 L) del líquido para purgar el montaje.
- c) Una vez el montaje ha sido purgado debe asegurarse que no hay presencia de aire. Para ello se agita el cilindro de modo que cualquier burbuja salga del recipiente.
- d) Las llaves de paso deben cerrarse en el orden inverso en que se abrieron: primero la salida del cilindro, luego su entrada y finalmente la válvula de salida.
- e) Corroborar que en el cilindro no hayan quedado burbujas o algún material foráneo a la muestra. La agitación del cilindro no debería producir ningún sonido.
- f) Desechar la tubería resistente y reasegurar el equipo.
- g) La muestra dentro del cilindro está debidamente almacenada y no necesita re envasarse. Seguir las recomendaciones pertinentes en la sección 6.5. Esta es una muestra de salida.

#### **3.8.4. Con Sonda**

- a) Para este procedimiento debe tenerse acceso al equipo por la parte superior. La sonda debe ser preferiblemente de vidrio. En caso contrario, debe demostrarse que las sondas no interfieren en el análisis y desecharse inmediatamente después de su uso.
- b) La sonda debe ser rígida de modo que pueda definirse con certeza la profundidad a la que se está realizando el muestreo. Esta debe marcarse en la sonda y reportarse.

- c) Tapar con un dedo el orificio superior de la sonda. Sumergir la sonda hasta una profundidad previamente definida.
- d) Retirar el dedo para que el líquido llene la sonda. Una vez se llene al nivel del líquido, tapar de nuevo el orificio superior y sacar la sonda.
- e) Mover la sonda para enjuagar sus paredes internas, evitando entrar en contacto con el líquido interno o externo de la sonda. Desechar el líquido de purga.
- f) Repetir los literales b y c. Una vez llena la sonda disponer el líquido en un recipiente apropiado para su almacenamiento. Este tipo de muestreo permite tomar muestras tubulares multinivel.
- g) A la sonda también puede adaptarse un dispositivo de presión negativa, como una jeringa, que por succión retire una cantidad definida del líquido a muestrear. Este tipo de muestra puede ser puntual de techo, superior, media, inferior, de despeje o de fondo.

La acción de muestrear siguiendo estos métodos debe llevarse a cabo por personal capacitado para ello, con conocimiento técnico certificado y competencias respectivas en seguridad respecto a riesgos ocupacionales, químicos, eléctricos u otro tipo posible.

### **3.9. ALMACENAMIENTO DE LA MUESTRA**

Para preservar la identidad de las muestras obtenidas sin poner en riesgo instalaciones o personal, estas deben almacenarse teniendo en cuenta algunas pautas de seguridad.

La muestra recolectada debe almacenarse en un lugar ventilado, seco y oscuro.

El recipiente que contiene cada muestra debe estar perfectamente sellado, sin fisuras de ningún tipo y con una tapa ajustada con interfase de aluminio que impida el contacto de la tapa con la muestra, y la filtración de ésta a través de las fisuras de la rosca.

Preservar la muestra de la acción del ambiente es muy importante. Debido a que algunos componentes de la matriz podrían ser fotosensibles la muestra debe preservarse de la luz usando contenedores que impidan la entrada de la luz pero permitan ver el contenido del envase (por ejemplo, el vidrio ámbar). No se recomiendan contenedores que no permitan ver el contenido interno del mismo.

Ocurre un efecto similar con el aire, que podría modificar la muestra por oxidación. Para evitarlo el ajuste de la tapa debe ser tan hermético como sea posible.

La muestra es estable a temperatura ambiente y su enfriamiento podría favorecer, en ambientes húmedos, la contaminación de la muestra con agua debido a condensación de la misma sobre el aceite. Un ambiente seco, ventilado y a temperatura ambiente es el apropiado para almacenar las muestras obtenidas. Lo anterior no invalida la posibilidad de llevar la muestra a temperaturas inferiores a los 0°C para separar el agua por congelación, sin embargo este procedimiento se considera preparación de la muestra y no almacenamiento de la misma.

### **3.10. TRATAMIENTO DE LA MUESTRA**

Pesar de 0.1 a 0.2 g de la muestra de aceite en un matraz aforado y diluir en un solvente orgánico que no presente elementos electrofílicos (de preferencia hexano). La dilución debe ser de un mínimo de 1:50. Anotar el peso de la muestra y el volumen de dilución.

Puede ser necesario diluir más muestras conteniendo compuestos de PCBs para asegurar que el detector de captura de electrones cuantifica al analito dentro de su rango de respuesta. Ajustar la relación solvente-aceite en muestras de aceites minerales y proceder de la misma forma con el estándar.

### **3.11. CLEAN-UP**

#### **3.11.1. Tratamiento con un adsorbente.**

Agregue aproximadamente 0.25 g de florisil en un vial de vidrio limpio, agrega la solución diluida de aceite con hexano en el vial y sella el vial con su tapa. Agita vigorosamente. Permita que el adsorbente actúe sobre los interferentes electrofílicos y finalmente decante la solución en otro vial. Use esta solución para el análisis.

#### **3.11.2. Tratamiento con ácido.**

Cuidadosamente agregue un volumen (2.5mL – 5mL) de ácido sulfúrico concentrado aproximadamente igual a la mitad del volumen de la muestra diluida en un vial de vidrio limpio. Vierta la solución orgánica en el vial y cierre el vial con su tapa. Agite vigorosamente. Permita que la fase de ácido sulfúrico se separe de la fase orgánica y decante la parte superior en un segundo vial. Use esta solución para el análisis.

Ha sido demostrado que el tratamiento con ácido puede ser efectivo para muestras de siliconas y para la mayoría de aceites minerales. La agitación por 10 minutos, seguido por un tiempo de separación de 15 minutos puede permitir que las fases se separen en el vial eficientemente. La separación de la fase orgánica de la fase ácida puede ser mejorada con el uso de una



centrifuga. Tratamiento con un adsorbente seguido de un tratamiento con ácido es muy efectivo sobre los aceites minerales.

### **3.12. ANÁLISIS POR CROMATOGRAFÍA**

#### **3.12.1. Inyección.**

La inyección directa debe contener de 1 a 5 uL de la solución orgánica, para esto se debe utilizar una microjeringa que debe presentar una capacidad de como mínimo el doble del volumen a inyectar. La inyección se debe realizar previo lavado de jeringa con el solvente utilizado y evitando que en la inyección se produzcan burbujas.

La inyección se hace a través de una septa de goma para evitar la fuga de gas del puerto de inyección. En el puerto de inyección estará la cámara de vaporización (comercialmente conocido como liner) donde se producirá la vaporización a aproximadamente 250 °C.

#### **3.12.2. Condiciones del Cromatógrafo.**

Este método permite que el analista escoja entre la configuración de una columna simple o una columna dual en el puerto de inyección. Puede ser usada tanto una columna capilar de diámetro ancho o angosto. El laboratorio también puede usar otras columnas capilares o columnas de otras dimensiones que permitan la calidad necesaria en los análisis de PCBs.

##### **a) Análisis en columna simple.**

El método de análisis por cromatografía en columna capilar con detector de ECD permite al analista la opción de usar columnas capilares de diámetro interno de 0.25 mm - 0.32 mm (diámetro delgado) o de 0.53 mm (diámetro grueso). Las columnas de diámetro delgado generalmente

ofrecen mejores resoluciones que las columnas de diámetro grueso, aunque las columnas de diámetro delgado tienen una capacidad menor para la muestra. Como resultado las columnas de diámetro delgado tienen un mejor desempeño con las muestras relativamente limpias o con extractos de muestras que han sido preparados con uno o más procesos de clean-up. Mientras que las columnas capilares de diámetro grueso pueden ser usadas para muestras más complejas.

**b) Análisis en una columna dual.**

Es recomendable el uso de columnas duales capilares tubulares revestidas con sílice fundida de 30m x 0.53mm ID de diferentes polaridades, así, separará mejor a los diferentes analitos. Las columnas pueden estar unidas por un puerto de inyección y separadas por diferentes detectores de captura de electrones.

Programación de la temperatura y velocidad de flujo del Cromatógrafo:

La Tabla N° 2.4 sugiere condiciones de operación del Cromatógrafo para el análisis de PCBs como arocloros en análisis con columna simple usando columnas capilares de diámetro grueso y delgado. La Tabla N° 2.5 sugiere condiciones de operación para el Cromatógrafo en columnas duales. [7]

**Tabla N°2.4. Condiciones de operación para análisis de PCB en columnas simples**

<b>Narrow-bore columns</b>	
Narrow-bore Column 1 - 30-m x 0.25 or 0.32-mm ID fused-silica capillary column chemically bonded with SE-54 (DB-5 or equivalent), 1 µm film thickness.	
Carrier gas (He)	16 psi
Injector temperature	225° C
Detector temperature	300° C
Initial temperature	100° C, hold 2 minutes
Temperature program	100° C to 160° C at 15° C/min, followed by 160° C to 270° C at 5° C/min
Final temperature	270° C
Narrow-bore Column 2 - 30-m x 0.25-mm ID fused-silica capillary column chemically bonded with 35 percent phenyl methylpolysiloxane (DB-608, SPB-608, or equivalent) 25 µm coating thickness, 1 µm film thickness	
Carrier gas (N <sub>2</sub> )	20 psi
Injector temperature	225° C
Detector temperature	300° C
Initial temperature	160° C, hold 2 minutes
Temperature program	160° C to 290° C at 5° C/min
Final temperature	290° C, hold 1 min
<b>Wide-bore columns</b>	
Wide-bore Column 1 - 30-m x 0.53-mm ID fused-silica capillary column chemically bonded with 35 percent phenyl methylpolysiloxane (DB-608, SPB-608, RTx-35, or equivalent), 0.5 µm or 0.83 µm film thickness.	
Wide-bore Column 2 - 30-m x 0.53-mm ID fused-silica capillary column chemically bonded with 14% cyanopropylmethylpolysiloxane (DB-1701, or equivalent), 1.0 µm film thickness.	
Carrier gas (He)	5-7 mL/minute
Makeup gas (argon/methane [P-5 or P-10] or N <sub>2</sub> )	30 mL/min
Injector temperature	250° C
Detector temperature	290° C
Initial temperature	150° C, hold 0.5 minute
Temperature program	150° C to 270° C at 5° C/min
Final temperature	270° C, hold 10 min

---

Wide-bore Columns (continued)

Wide-bore Column 3 - 30-m x 0.53-mm ID fused-silica capillary column chemically bonded with SE-54 (DB-5, SPB-5, RTx-5, or equivalent), 1.5 µm film thickness.

Carrier gas (He)	6 mL/minute
Makeup gas (argon/methane [P-5 or P-10] or N <sub>2</sub> )	30 mL/min
Injector temperature	205°C
Detector temperature	290°C
Initial temperature	140°C, hold 2 min
Temperature program	140°C to 240°C at 10°C/min, hold 5 minutes at 240°C, 240°C to 265°C at 5°C/min
Final temperature	265°C, hold 18 min

---

**Tabla N°2.5. Condiciones de operación para análisis de pcbs en columnas duales**

---

Column 1 - DB-1701 or equivalent, 30-m x 0.53-mm ID, 1.0 µm film thickness.

Column 2 - DB-5 or equivalent, 30-m x 0.53-mm ID, 1.5 µm film thickness.

Carrier gas (He) flow rate	6 mL/min
Makeup gas (N <sub>2</sub> ) flow rate	20 mL/min
Temperature program	0.5 min hold 150°C to 190°C, at 12°C/min, 2 min hold 190°C to 275°C, at 4°C/min, 10 min hold
Injector temperature	250°C
Detector temperature	320°C
Injection volume	2 µL
Solvent	Hexane
Type of injector	Flash vaporization
Detector type	Dual ECD
Range	10
Attenuation	64 (DB-1701)/64 (DB-5)
Type of splitter	J&W Scientific press-fit Y-shaped inlet splitter

---

CAPÍTULO 3  
VALIDACIÓN DEL  
MÉTODO  
CROMATOGRÁFICO

## IV. VALIDACIÓN.

### 4.1. DEFINICIÓN DE PARÁMETROS EVALUADOS

En el ensayo de validación de este método se considerarán los siguientes parámetros:

Linealidad

Precisión

Veracidad

Límite de detección y cuantificación

Robustez

Incertidumbre

**a) Linealidad.-** La linealidad se refiere a la proporcionalidad entre las concentraciones del analito y su respuesta. Este paso es necesario si se va a trabajar con un solo estándar en las determinaciones de rutina. Para su determinación se prepara al menos una serie de al menos 5 diluciones de un estándar, comprendiendo los ámbitos estimados de trabajo con exceso de al menos 50% sobre el límite superior y un defecto de 50% debajo del límite inferior. Estos puntos se analizan al menos por duplicado y se determina la curva de regresión.

**b) Precisión del método.-** La proximidad de coincidencia entre resultados de ensayo independientes obtenidos en condiciones estipuladas (ISO 5725-1). La precisión está relacionada con la dispersión de las medidas alrededor de su valor medio o central y corresponde al grado de concordancia entre ensayos individuales cuando

el método se aplica repetidamente a múltiples alícuotas de una muestra homogénea.

La precisión se aplica matemáticamente como la desviación estándar,  $\sigma$ , estimada analíticamente por  $s$  o más comúnmente como la desviación estándar relativa (RSD).

La precisión del método distingue tres aspectos:

- ✓ Precisión Intermedia
- ✓ Repetibilidad
- ✓ Reproducibilidad

**c) Precisión intermedia.-** Expresa la variación dentro del laboratorio: diversos analistas, diversos equipos, diversos tiempos.

**d) Repetibilidad.-** Precisión bajo condiciones de repetibilidad (ISO 5725-1)

**e) Condiciones de Repetibilidad.-** Condiciones bajo las que se obtienen resultados independientes, con el mismo método sobre idénticas muestras, en el mismo laboratorio, por el mismo operador, utilizando los mismos equipos de medición, durante un corto intervalo de tiempo.

**f) Reproducibilidad o Validación por Pares.-** Precisión bajo condiciones de reproducibilidad (ISO 5725-1)

**g) Condiciones de Reproducibilidad.-** Condiciones bajo las cuales los resultados se obtienen con el mismo método, sobre muestras idénticas, en laboratorio diferentes, con operadores distintos y usando equipos diferentes (ISO 5725-1).

**h) Exactitud.-** Grado de concordancia existente entre el resultado de un ensayo y un valor aceptado de referencia. El término exactitud cuando se aplica a un conjunto de resultados de mediciones implica la combinación de los componentes aleatorios y de un error sistemático común o de un componente del sesgo.

**i) Veracidad.-** Grado de coincidencia entre el valor medido obtenido a partir de una serie de resultados y un valor de referencia aceptado. Este parámetro se evalúa en base a la prueba estadística t-01 muestras (t-Student)

$$\text{Exactitud} = \text{Veracidad} + \text{Precisión} \dots \dots \dots (1)$$

**j) Límite de detección.-** El límite de detección corresponde a la menor concentración del analito que puede detectarse, pero no necesariamente cuantificarse en una muestra y se expresa en unidades de concentración. El límite de detección tiene una incertidumbre aproximada de 100%.

**k) Límite de Cuantificación.-** El límite de cuantificación corresponde a la menor concentración del analito que puede determinarse con precisión y veracidad razonables y se expresa también en unidades de concentración. El límite de cuantificación tiene una incertidumbre aproximada de 30%.

**l) Robustez del método.-** Es la medida de la resistencia de un método al cambio de respuesta cuando se introducen pequeñas variaciones en el procedimiento. La robustez de un procedimiento analítico es una medida de su capacidad de no ser



afectado por pequeñas pero deliberadas variaciones con parámetros del método y proporciona una variación de su confiabilidad durante su uso normal.

**m) Incertidumbre.-** Intervalo dentro del cual se espera encontrar el valor verdadero de aquello que se mide. Se trata de decidir si dos dvalores obtenidos como consecuencia de medias repetidas son iguales o diferentes entre si. La incertidumbre es un intervalo y engloba tanto errores aleatorios como sistemáticos.  
[8,9]

## 4.2. PROCEDIMIENTO DE VALIDACIÓN

### 4.2.1. DISEÑO DE LOS PARÁMETROS DE LA VALIDACIÓN Y EVALUACIÓN ESTADÍSTICA

#### 4.2.1.1. Diseño del ensayo para determinar linealidad del método

**Tabla N° 3.1. Concentraciones para curva de calibración**

Concentraciones	Repeticiones
0.5	4
0.8	4
1.0	4
2.0	4
2.5	4
3.0	4
5.0	4

Para preparar la curva de calibración se utilizará un material de referencia certificado de PCB en aceite dieléctrico.

- ✓ El rango de ensayo se ha establecido en base al rango lineal del detector de ECD
- ✓ El diseño del experimento corresponde a la siguiente ecuación:

$$Y_i = \beta_0 + \beta_1 X_i + e_i \dots \dots \dots (2)$$

Donde:

$\beta_0$  = Coeficiente de intersección paramétrico

$\beta_1$  = Coeficiente de regresión paramétrico

$e_1$  = error residual o aleatorio

Evaluación estadística:

- ✓ Se empleará el paquete estadístico MINITAB para evaluar el modelo de regresión.
- ✓ La evaluación estadística comprende en hallar la ecuación de regresión, el coeficiente de correlación y los intervalos de confianza para el intercepto y la pendiente.
- ✓ Verificar con el test de normalidad la aproximación a la distribución normal (Test de Anderson-Darling, Pvalue > 0.05) y homogeneidad de varianzas de los residuales. El residual se define como la respuesta medida en cada punto de la curva y la calculada a partir de la ecuación de la curva. Se establecerán pruebas de hipótesis

para verificar si el modelo de regresión es aceptable (Pvalue < 0.05)  
y si el modelo es lineal (Pvalue > 0.05).

- ✓ Otra alternativa para evaluar el ajuste lineal es a través del cálculo del índice de linealidad con la siguiente fórmula:

$$IC = \left(1 - \frac{S_{b_1}}{b_1}\right) \dots \dots \dots (3)$$

Donde:

IC = Índice de linealidad

S<sub>b1</sub> = Error estándar de la pendiente

B<sub>1</sub> = Pendiente

**Criterio de decisión:** Si IC > 0.95 el modelo es lineal

- ✓ Se empleará el estadístico t de student para evaluar el coeficiente de correlación (r). En este caso la hipótesis nula (H<sub>0</sub>) es la no correlación entre X e Y. Si t calculado es mayor que t(α=0.05; n-2 g.l.), entonces se rechaza la hipótesis nula de la no correlación, siendo la correlación significativa a un nivel de confianza del 5%.

La fórmula del cálculo para el estadístico de t es el siguiente:

$$t_{calculado} = \frac{|r|}{\sqrt{(1-r^2)}} \sqrt{n-2} \dots \dots \dots (4)$$

Dónde:

r = Coeficiente de correlación

n = Número de datos

r<sup>2</sup> = Coeficiente de determinación

#### 4.2.1.2. Diseño de ensayo para determinar la precisión del método

**Tabla 3.2. Concentraciones a evaluar por analista (mg/Kg)**

MUESTRA	ANALISTAS		
	Analista 1	Analista 2	Analista 3
1	0.5	0.5	0.5
2	2.0	2.0	2.0
3	5.0	5.0	5.0

Se emplearán 3 niveles de concentración, preparados siguiendo el mismo procedimiento de análisis.

#### Evaluación estadística

- ✓ Se empleará el diseño de la Norma ISO 5725-2
- ✓ Se verificarán los supuestos de distribución normal con el test de normalidad de residual del ANOVA y prueba de homogeneidad de varianzas con el software MINITAB.

#### 4.2.1.3. Diseño de ensayo para determinar veracidad del método

**Tabla N° 3.3. Concentración a evaluar por analista.**

MUESTRA	ANALISTAS		
	Analista 1	Analista 2	Analista 3
1	0.5	0.5	0.5
2	2.0	2.0	2.0
3	5.0	5.0	5.0

Se emplearán tres niveles de concentración, preparados a partir de materiales de referencia certificados en aceites dieléctricos.

**Evaluación estadística**

✓ Se empleará el estadístico t-01 muestra empleando el software MINITAB. Si el Pvalue es > 0.05 entonces no existe diferencia significativa entre el valor promedio y el valor convencionalmente verdadero.

La fórmula de cálculo es la siguiente:

$$t_{Calculado} = \frac{|\bar{x} - \mu_0|}{S_{recup}} \sqrt{n} \dots \dots \dots (5)$$

Donde:

$\bar{x}$  = Valor promedio

$\mu_0$  = Valor convencionalmente verdadero

$S_{recup}$  = Desviación estándar de la recuperación

$n$  = número de datos

**4.2.1.4. Diseño para calcular limite de detección y cuantificación del método**

**Tabla 3.4. Condiciones de evaluación del límite de detección**

Concentración del analito	Repeticiones
0.5 mg/Kg	n = 7 – Día 1
	n = 7 – Día 2
	n = 7 – Día 3

**Evaluación estadística:**

A partir de una concentración tan baja de analito en la que su recuperación está entre 50% y 150%. Se analizará la concentración elegida por 7 réplicas durante 03 días.

El límite de detección (LDD) se calcula de la siguiente manera:

$$LDD = 3.14 s \dots\dots\dots(6)$$

Criterio de aceptación: Si la desviación estándar relativa (RSD) del análisis de las 07 réplicas es menor que 10%, entonces la concentración de la solución empleada para determinar el límite de detección del método para el analito en estudio puede ser inapropiadamente alto para dicha determinación, lo que podría originar, luego de los cálculos, un valor de LDD irreal y muy bajo (EPA 200.7)

Donde:

s = Desviación estándar promedio de los 03 días.

El límite de cuantificación del método (LDC), se calcula de la siguiente manera:

$$LDC = LDD \times \frac{10}{3} \dots\dots\dots(7)$$

#### 4.2.1.5. Diseño para determinar la robustez del método

**Tabla N°3.5. Robustez. Factores y niveles de evaluación**

FACTORES	Niveles de Evaluación		
	Repeticiones	Mínimo	Máximo
Peso de la muestra (g)	2	0,1	0,2
Volumen de Inyección (uL)	2	1	5
Tiempo de Corrida (min)	2	20	30

Se realiza la medición en 03 factores de evaluación los cuales se desarrollarán en dos variaciones por duplicados.

#### Evaluación estadística:

Factores: 3                      Diseño de la Base: 3, 8  
 Corridas: 16                    Réplicas: 2

**Tabla N°3.6. Diseño de evaluación de robustez.**

Corrida	A	B	C	Resultados
1	-	+	+	Y <sub>1</sub>
2	+	-	+	Y <sub>2</sub>
3	+	-	-	Y <sub>3</sub>
4	+	+	+	Y <sub>4</sub>
5	+	+	-	Y <sub>5</sub>
6	+	+	+	Y <sub>6</sub>
7	+	+	-	Y <sub>7</sub>
8	-	+	+	Y <sub>8</sub>
9	-	-	+	Y <sub>9</sub>
10	-	+	-	Y <sub>10</sub>
11	+	-	-	Y <sub>11</sub>
12	-	-	-	Y <sub>12</sub>
13	-	+	-	Y <sub>13</sub>

14	-	-	-	$Y_{14}$
15	+	-	+	$Y_{15}$
16	-	-	+	$Y_{16}$

Variable A: Peso de muestra (g)

Variable B: Volumen de Inyección (uL)

Variable C: Tiempo de Corrida (min)

Los efectos de los factores se calculan de la siguiente forma:

$$Efecto_A = \left| \frac{\sum Y_{A+} - \sum Y_{A-}}{8} \right| \dots \dots \dots (8)$$

$$\left. \begin{aligned} \sum Y_{A+} &= Y_{I+} + Y_{J+} + \dots + Y_{Z+} \\ \sum Y_{A-} &= Y_{I-} + Y_{J-} + \dots + Y_{Z-} \end{aligned} \right\} \dots \dots \dots (9)$$

#### 4.2.2. Diseño para la estimación de la incertidumbre del método

En el presente estudio se evaluará la incertidumbre de la metodología por el método general, según EURACHEM teniendo en cuenta la variación de cada una de las magnitudes de entrada. Esto será descrito en el capítulo 6.

### 4.3. CRITERIOS DE EVALUACIÓN

- a) **Linealidad.**- El mejor indicador del modelo lineal de un método es el coeficiente de correlación r. El valor r=1 indica una línea perfectamente lineal, r=-1 es una línea recta perfectamente lineal de pendiente negativa y r=0 la no correlación entre X e Y. En la práctica para métodos instrumentales debe resultar mayor que 0.995.



**b) Precisión.-** Para la precisión del método resulta apropiadas RSD de 5% a 10% mayores según sean los niveles de concentración a determinar ya que para este caso los niveles.

Horwitz ha desarrollado una ecuación empírica que relaciona la RSD de un método dado con la concentración de un analito en la muestra. La relación hallada es la siguiente:

$$RSD (\%) = 2^{(1-0,5\log C)} \dots\dots\dots(10)$$

Donde:

C = concentración del analito expresada en potencias de 10

Así por ejemplo, si la concentración del analito es de 1 ppm ( $10^{-6}$ ), la RSD será:

$$RSD = 2^4 = 16\%$$

Y si la concentración del analito es 1 ppb ( $10^{-9}$ ), la RSD será:

$$RSD = 2^{5,5} = 45\%$$

Existen estudios que proporcionan la RSD máxima aceptable para un método analítico según diferentes autores, tal como se muestra a continuación en la tabla 3.7.

**Tabla N° 3.7. (\*AOAC Peer Verified method Program, Manual on Polices and Procedures, Arlinton, Virginia, USA, nov, 1993)**

Concentración de analito	%RSD <sub>R</sub> Horwitz	%RSD <sub>R</sub> Thompson	%RSD <sub>R</sub> AOAC*
$10^{-9}$ 1ppb	45,3	22,0	30
$10^{-8}$ 10 ppb	32,0	22,0	21
$10^{-7}$ 100ppb	22,6	22,0	15
$10^{-6}$ 1ppm	16,0	16,0	11
$10^{-5}$ 10ppm	11,3	11,3	7,3
$10^{-4}$ 100ppm	8,0	8,0	5,3
$10^{-3}$ 0.1%	5,7	5,7	3,7
$10^{-2}$ 1%	4,0	4,0	2,7
$10^{-1}$ 10%	2,8	2,8	1,8
‡ 100%	2,0	1,0	1,3

Para el caso del presente estudio la concentración máxima evaluada es de 5ppm por lo tanto según Horwitz el coeficiente de variación para el nivel máximo determinado en el estudio deberá ser menor a  $RSD_{PCBN1} = 2.2193$ ;  $RSD_{PCBN2} = 1.8024$ ;  $RSD_{PCBN3} = 1.5711$

- c) **Veracidad.**- El método de evaluación es con un ensayo de t student donde la t obtenido experimentalmente debe ser menor a la t tabulada para demostrar que no existe diferencia significativa con el valor convencionalmente verdadero o valor de referencia.
- d) **Límite de Detección.**- No hay límite de detección mínimo. Sin embargo un criterio de evaluación para determinar un buen límite de detección es que las recuperaciones obtenidas entre 50% y 150% y además los RSD obtenidos cada día no deben ser inferiores al 10%.
- e) **Límite de Cuantificación.**- El límite de cuantificación debe demostrar una recuperación aceptable del método entre 80-120%.
- f) **Robustez.**- En el caso de este estudio, para decidir si un parámetro o variable tiene influencia significativa sobre el resultado, el valor de P debe ser menor a 0,05, caso contrario será no Significativo el efecto de la variable y por lo tanto se le llamará variable No Robusta.

## V. RESULTADOS DE LA VALIDACIÓN

### 5.1. RESULTADOS DE LA LINEALIDAD DEL MÉTODO

**Tabla N° 4.1. Concentración (mg/Kg) vs. Área**

Concentración	Área
0.5	1539135.145016
0.5	1539135.104659
0.5	1539135.128735
0.5	1539135.126720
0.8	2089693.860853
0.8	2089693.767467
0.8	2089693.865108
0.8	2089693.786770
1.0	2547066.684962
1.0	2547066.395175
1.0	2547066.499633
1.0	2547066.314414
2.0	4500814.866363
2.0	4500815.083387
2.0	4500815.246844
2.0	4500815.075511
2.5	5247882.400220
2.5	5247882.221205
2.5	5247882.276358
2.5	5247882.344584
3.0	6293076.779166
3.0	6293076.826990
3.0	6293076.891761
3.0	6293076.693532
5.0	9638875.024103
5.0	9638874.942841
5.0	9638874.941159
5.0	9638875.285032

**5.1.1. Prueba de Hipótesis para el coeficiente de regresión o pendiente**

H0 (Hipótesis nula):  $\beta_1 = 0$

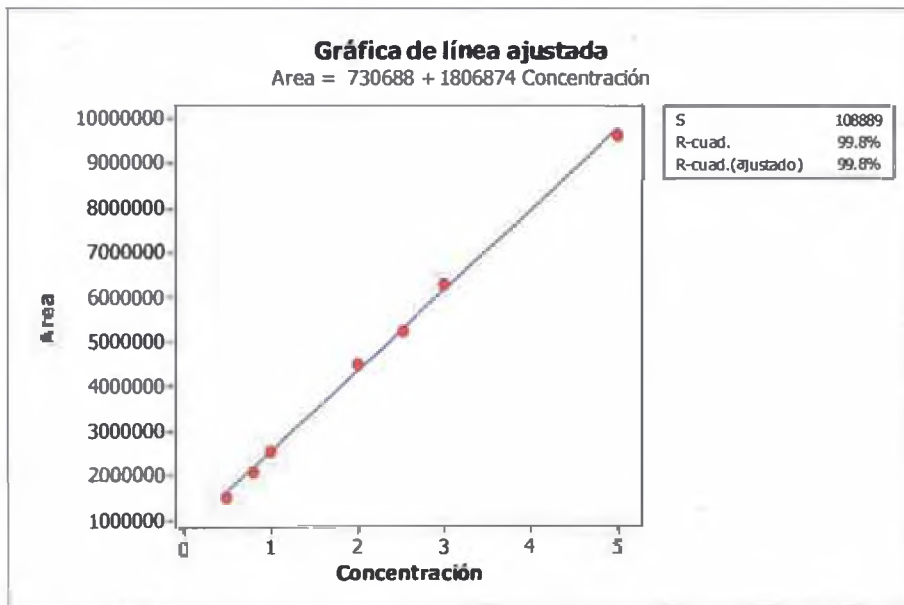
H1 (Hipótesis alterna):  $\beta_1 \neq 0$

Criterio de decisión:  $P\text{value} < 0.05$        $F_c > F_{\text{tabla}}$

La ecuación de regresión es:

Área = 1 806 873.71311 x Concentración + 730,687.67008       $r^2 = 0.99841$

S = 108889    R-cuad. = 99.8%    R-cuad.(ajustado) = 99.8%



**Figura 4.1. Gráfica de Línea Ajustada de Curva de Calibración**

**A) Análisis de varianza**

Fuente	GL	SC	CM	F	P
<b>Regresión</b>	1	1.93910E+14	1.93910E+14	16354.40	0.000
<b>Error residual</b>	26	3.08276E+11	1,1857E+10		
<b>Total</b>	27	1.94218E+14			

Por lo tanto:

- ✓ El valor de P value de regresión es de 0.000 indica que al menos uno de los coeficientes de regresión es significativamente diferente de cero.
- ✓ Como el Pvalue < 0.05, se rechaza la hipótesis nula H0, por lo que existe relación lineal entre la concentración y la respuesta en el rango de estudio.

**B) Coeficiente de correlación con T-student**

H0 (hipótesis nula): No correlación entre concentración CO y absorbancia

$$t_{Calculado} = \frac{|r|}{\sqrt{(1-r^2)}} \sqrt{n-2} \dots \dots \dots (11)$$

$$t_{Calculado} = \frac{|0.99841|}{\sqrt{(1-0.99841^2)}} \sqrt{28-2}$$

$$t_{Calculado} = 90.314$$

$$t_{tabla(\alpha=0.05;n-2 g.l.)} = 1.705 \quad G.L. = n-2 = 26$$

Por lo tanto:

Como  $t_{calculado} \gg t_{tabla}$  ; se rechaza la hipótesis nula de la no correlación, siendo la correlación significativa a un nivel de significancia del 5%, nivel de confianza del 95%.

### 5.1.2. Prueba de hipótesis para el intercepto

H0 (Hipótesis nula):  $\beta_0 = 0$                       Criterio de decisión: Pvalue > 0.05

H1 (hipótesis alterna):  $\beta_0 \neq 0$

La ecuación de regresión es

$$\text{Área} = 1,806,873.71311 \times \text{Concentración} + 730,687.67008 ; r^2 = 0.99841$$

Predictor	Coef	SE Coef	T	P
Constante	730688	36274	20.14	0.000
Concentración	1806874	14129	127.88	0.000

S = 108889    R-cuad. = 99.8%    R-cuad.(ajustado) = 99.8%

Por lo tanto:

- ✓ El Pvalue obtenido para la constante o intercepto < 0.05; entonces se rechaza la hipótesis nula y se concluye que la recta no pasa por el origen.
- ✓ El Pvalue obtenido para la concentración o pendiente es < 0.05, entonces se rechaza la hipótesis nula, por lo que la pendiente es diferente de cero.

### 5.1.3. Verificación de supuestos del modelo de regresión

#### a) Normalidad de los residuales

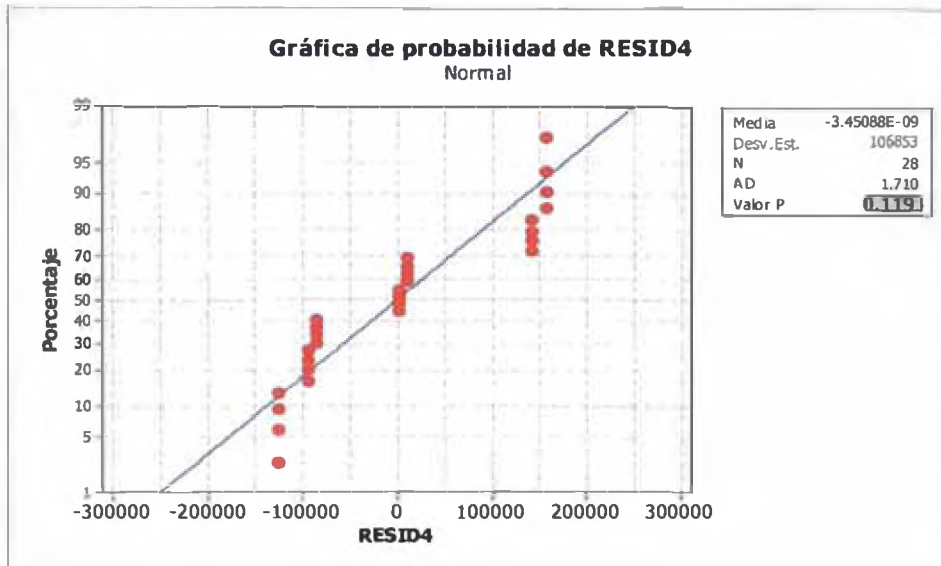


Figura 4.2. Gráfica de Normalidad de Residuales

Criterio de decisión: P value > 0.05

Por lo tanto:

Los datos de los residuales siguen una distribución normal ya que el valor de P obtenido es de 0.119

### 5.1.4. Prueba del Índice de Linealidad para el Ajuste del Modelo Lineal

Se realiza con la siguiente fórmula:

$$IC = \left(1 - \frac{S_{b1}}{b_1}\right) \dots \dots \dots (12)$$

Donde:

IC = Índice de Linealidad

S<sub>b1</sub> = Error estándar de la pendiente

b<sub>1</sub> = Pendiente

**Criterio de decisión:** Si  $IC > 0.95$  el modelo es lineal

**Análisis de regresión: Área vs. Concentración**

La ecuación de regresión es

**Área = 730688 + 1806874\*Concentración**

Predictor	Coef	SE Coef	T	P
Constante	730688	36274	20.14	0.000
Concentración	1806874	14129	127.88	0.000

S = 108889 R-cuad. = 99.8% R-cuad.(ajustado) = 99.8%

$$IC = \left( 1 - \frac{14129}{1806874} \right)$$

$$IC = 0.992180$$

Por lo tanto:

Como IC calculado  $>0.95$ , entonces se concluye que el modelo de regresión se ajusta a una línea recta.

**5.1.5. Cálculos de los Intervalos de Confianza**

a) Intervalo de confianza para el intercepto ( $\beta_0$ )

Area = 730688 + 1806874\*Concentración

Predictor	Coef	SECoef	T	P
Constante	730688	36274	20.14	0.000
Concentración	1806874	14129	127.88	0.000

S = 108889 R-cuad. = 99.8% R-cuad.(ajustado) = 99.8%

$IC (\beta_0) = b_0 \pm t \times S_{b_0}, \quad t(\alpha/2, g.l. n-2) = 2.055 \dots \dots \dots (13)$



$$IC (\beta_0) = 730688 \pm 2.055 (36274) = 730688 \pm 74543$$

$$IC (\beta_0) = (656145, 805231)$$

b) Intervalo de confianza para la pendiente ( $\beta_1$ )

$$IC (\beta_1) = b_1 \pm t \times S_{b1}, \quad t(\alpha/2, g.l. n-2) = 2.055 \dots \dots \dots (14)$$

$$IC (\beta_1) = 1806874 \pm 2.055 (14129) = 1806874 \pm 29035$$

$$IC (B_1) = (1777839 ; 1835909)$$

## 5.2. RESULTADOS DE LA PRECISIÓN

**Tabla N° 4.2. Resultados de precisión del método en tres niveles**

RESULTADOS DE PCB EN ACEITE					
NIVEL 01		NIVEL 02		NIVEL 03	
Analista 1	Analista 2	Analista 1	Analista 2	Analista 1	Analista 2
0.498606	0.499872	2.00642	1.99437	4.99752	5.02656
0.500989	0.500017	2.00019	1.99993	4.99578	5.00088
0.498372	0.498463	2.00276	1.99717	5.01334	4.99720
0.499706	0.501864	1.99800	1.99922	5.00732	4.99836
0.498066	0.498651	2.00219	1.99731	5.00458	4.99612
0.500328	0.499975	2.00506	2.00574	4.98728	4.98952
0.501882	0.500713	1.99462	1.99397	4.97394	4.98240
0.500366	0.501165	2.00581	2.00705	4.99855	4.99902
0.499400	0.499516	2.00149	1.99850	4.98927	5.01398
0.501037	0.499740	2.00332	1.99733	4.99761	4.98848

### 5.2.1. Análisis estadístico de la precisión del método (mg/Kg)

#### a) Nivel 01 (0.5 mg/Kg de PCB)

N° de Ensayos	Analistas	
	Analista 1	Analista 2
1	0.498606	0.499872
2	0.500989	0.500017
3	0.498372	0.498463
4	0.499706	0.501864
5	0.498066	0.498651
6	0.500328	0.499975
7	0.501882	0.500713
8	0.500366	0.501165
9	0.499400	0.499516
10	0.501037	0.499740

Promedios		
General	Analista 1	Analista 2
0.49993	0.49987	0.49999

Varianzas		
General	Analista 1	Analista 2
0.00000128	0.00000161	0.00000109

Desviaciones estándar		
General	Analista 1	Analista 2
0.00113	0.00126	0.00104

Cálculo de repetibilidad y reproducibilidad

T1	9.99873
T2	4.99872
T3	20
T4	200
T5	0.00002

$S_r^2$	0.000001350
$S_L^2$	0.000000007
$S_R^2$	0.000001358

$S_r$	0.001161966
$S_R$	0.001165185

RSD <sub>r</sub>	0.2324
RSD <sub>R</sub>	0.2330

Conc. Analito	0.4999
RSD <sub>HORWITZ</sub>	2.2192

b) Nivel 02 (2.0 mg/Kg de PCB)

N° de Ensayos	Analistas	
	Analista 1	Analista 2
1	2.00642	1.99437
2	2.00019	1.99993
3	2.00276	1.99717
4	1.99800	1.99922
5	2.00219	1.99731
6	2.00506	2.00574
7	1.99462	1.99397

<b>8</b>	2.00581	2.00705
<b>9</b>	2.00149	1.99850
<b>10</b>	2.00332	1.99733

<b>Promedios</b>		
<b>General</b>	<b>Analista 1</b>	<b>Analista 2</b>
2.0005225	2.001986	1.999059

<b>Varianzas</b>		
<b>General</b>	<b>Analista 1</b>	<b>Analista 2</b>
0.00001735	0.00001331	0.00001857

<b>Desviaciones estándar</b>		
<b>General</b>	<b>Analista 1</b>	<b>Analista 2</b>
0.004165635	0.003647995	0.00430878

Cálculo de repetibilidad y reproducibilidad

T1	40.01045
T2	80.0418483
T3	20
T4	200
T5	0.0002869

$S^2_I$	0.000015937
$S^2_L$	0.000004284
$S^2_R$	0.000020220

$S_I$	0.003992083
$S_R$	0.00449671

RSD <sub>r</sub>	0.1995
RSD <sub>R</sub>	0.2247

Conc. Analito	2.0005225
RSD <sub>HORWITZ</sub>	1.8024

c) Nivel 03 (5.0 mg/Kg de PCB)

N° de Ensayos	Analistas	
	Analista 1	Analista 2
1	4.99752	5.02656
2	4.99578	5.00088
3	5.01334	4.99720
4	5.00732	4.99836
5	5.00458	4.99612
6	4.98728	4.98952
7	4.97394	4.98240
8	4.99855	4.99902
9	4.98927	5.01398
10	4.99761	4.98848

Promedios		
General	Analista 1	Analista 2
4.9978855	4.996519	4.999252

Varianzas		
General	Analista 1	Analista 2

0.00013850	0.00012435	0.00016388
------------	------------	------------

Desviaciones estándar		
General	Analista 1	Analista 2
0.01176841	0.011151328	0.012801469

Cálculo de repetibilidad y reproducibilidad

T1	99.95771
T2	499.5772268
T3	20
T4	200
T5	0.0025941

$S_r^2$	0.000144115
$S_L^2$	0.000003735
$S_R^2$	0.000147850

$S_r$	0.012004785
$S_R$	0.0019325

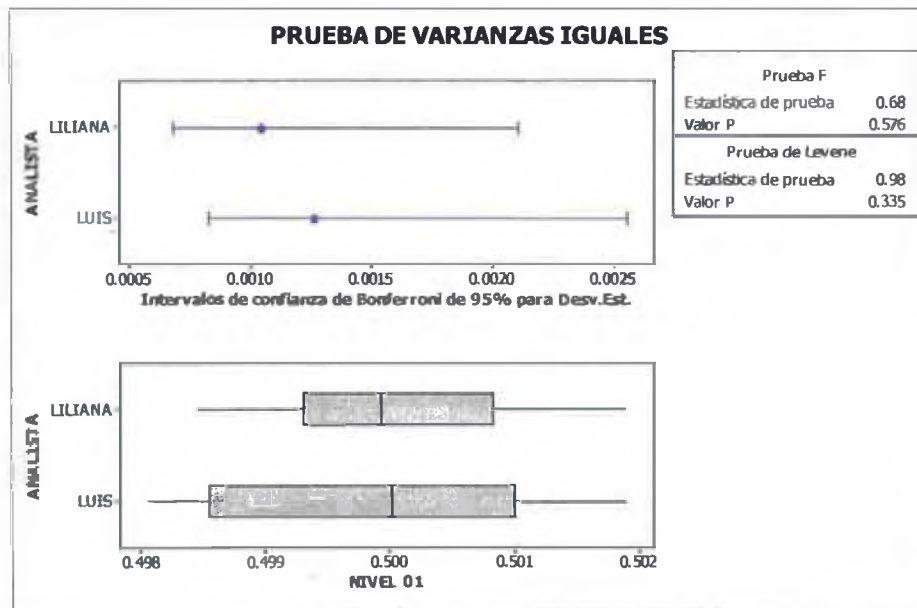
$RSD_r$	0.24019728
$RSD_R$	0.24328968

Conc. Analito	4.9978855
$RSD_{HORWITZ}$	1.571129743

## 5.2.2. Análisis de variabilidad entre analistas para el nivel 01

### a) Prueba de varianzas iguales: NIVEL 01 vs. ANALISTA

ANALISTA	N	Inferior	Desv.Est.	Superior
ANALISTA 1	10	0.0006840	0.0010457	0.0021057
ANALISTA 2	10	0.0008292	0.0012676	0.0025525
<b>Prueba F (distribución normal)</b>				
Estadística de prueba = 0.68, valor p = 0.576				
<b>Prueba de Levene (cualquier distribución continua)</b>				
Estadística de prueba = 0.98, valor p = 0.335				



**Figura 4.3. Gráfica de varianzas iguales Nivel 01**

Por lo tanto:

Como el valor de **P-Value = 0.576** es mayor que el nivel de significancia 0.05, entonces podemos concluir que las varianzas de ambos analistas son estadísticamente iguales para el nivel 01.

**b) Prueba de homogeneidad de medias:**

T de dos muestras para NIVEL 01

ANALISTA	N	Media	Desv.Est.	Error estándar de la media
ANALISTA 1	10	0.50000	0.00105	0.00033
ANALISTA 2	10	0.49988	0.00127	0.00040

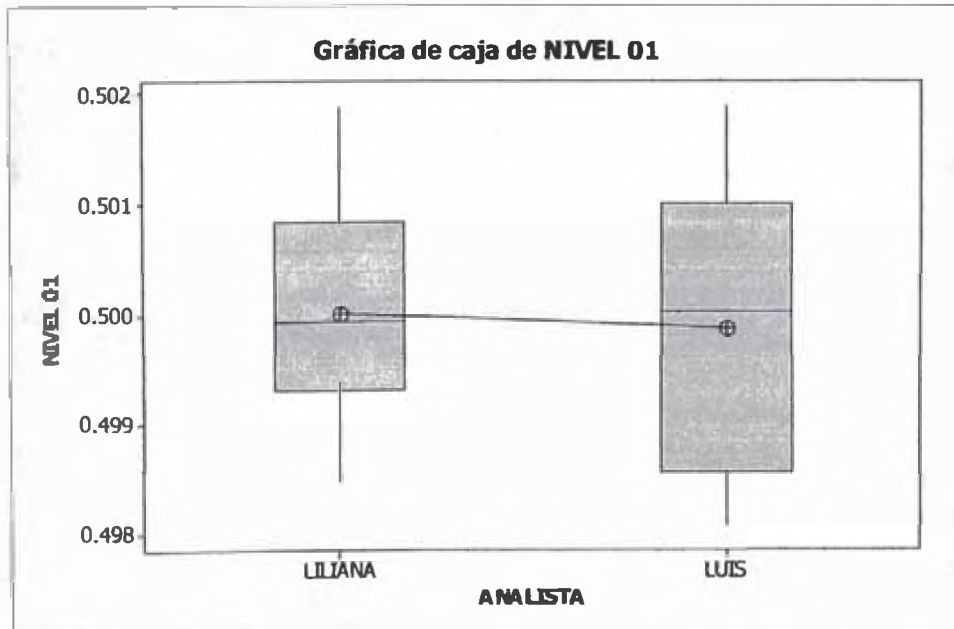
Diferencia =  $\mu$  (ANALISTA 1) -  $\mu$  (ANALISTA 2)

Estimado de la diferencia: 0.000122

IC de 95% para la diferencia: (-0.000969, 0.001214)

Prueba T de diferencia = 0 (vs. no =): Valor T = 0.24 Valor P = 0.816 GL = 18

Ambos utilizan Desv. Est. agrupada = 0.0012



**Figura 4.4. Grafica de Cajas. Análisis de varianzas Nivel 01.**



Por lo tanto:

Como **P-Value = 0.816** es mayor que el nivel de significancia 0.05, entonces podemos concluir que las medias de ambos analistas son estadísticamente iguales para el nivel 01.

### 5.2.3. Análisis de variabilidad entre analistas para el nivel 02

#### a) Prueba de varianzas iguales: NIVEL 02 vs. ANALISTA

Intervalos de confianza de Bonferroni de 95% para desviaciones estándar

ANALISTA	N	Inferior	Desv.Est.	Superior
ANALISTA 1	10	0.0028185	0.0043088	0.0086764
ANALISTA 2	10	0.0023862	0.0036480	0.0073458

Prueba F (distribución normal)

Estadística de prueba = 1.40, valor p = 0.628

Prueba de Levene (cualquier distribución continua)

Estadística de prueba = 0.08, valor p = 0.786

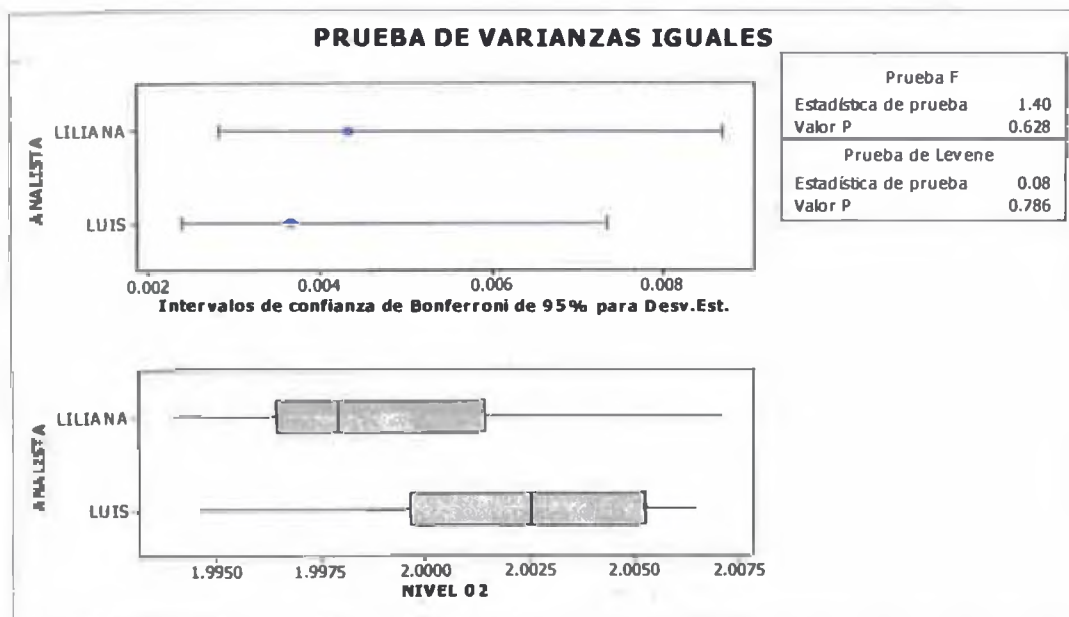
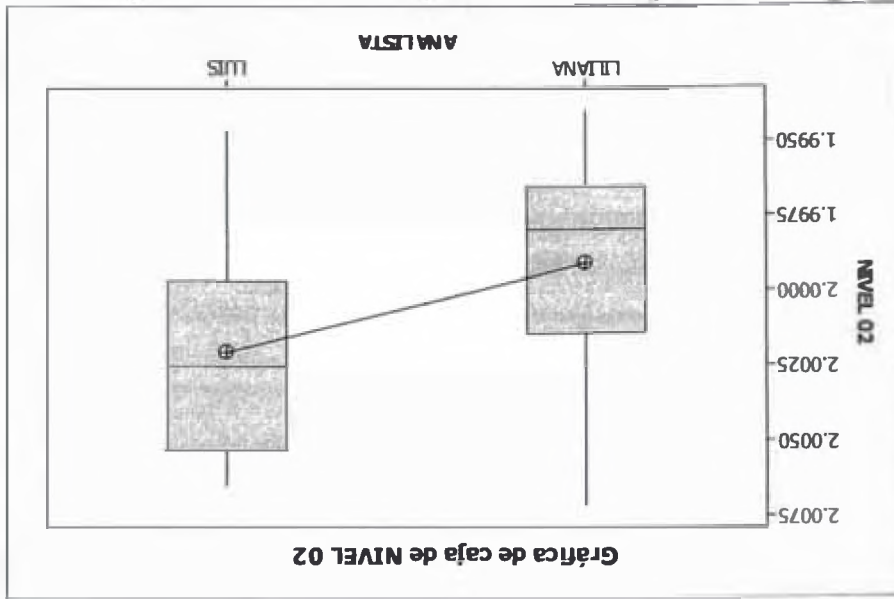


Figura 4.5. Prueba de varianzas entre analistas Nivel 02.

Figura 4.6. Gráfica de cajas de varianza de varianza entre analistas Nivel 02.



Ampos utilizan Desv.Est. agrupada = 0.0040

Prueba T diferencia=0 (vs. no =): Valor T = -1.64 Valor P = 0.118 GL = 18

IC de 95% para la diferencia: (-0.00668, 0.00082)

Estimado de la diferencia: -0.00293

Diferencia = mu (ANALISTA 1) - mu (ANALISTA 2)

ANALISTA	N	Media	Desv.Est.	Error estándar de la media
ANALISTA 1	10	1.99906	0.00431	0.0014
ANALISTA 2	10	2.00199	0.00365	0.0012

Prueba T e IC de dos muestras: NIVEL 02, ANALISTA

b) Prueba de homogeneidad de medias:

estadísticamente iguales para el nivel 02.

0.05, entonces podemos concluir que las varianzas de ambos analistas son  
 Como el valor de **P-Value = 0.628** es mayor que el nivel de significancia

Por lo tanto:

Por lo tanto:

Como **P-Value = 0.118** es mayor que el nivel de significancia 0.05, entonces podemos concluir que las medias de ambos analistas son estadísticamente iguales para el nivel 02.

#### 5.2.4. Análisis de variabilidad entre analistas para el nivel 03

##### a) Prueba de varianzas iguales: NIVEL 03 vs. ANALISTA

Intervalos de confianza de Bonferroni de 95% para desviaciones estándar

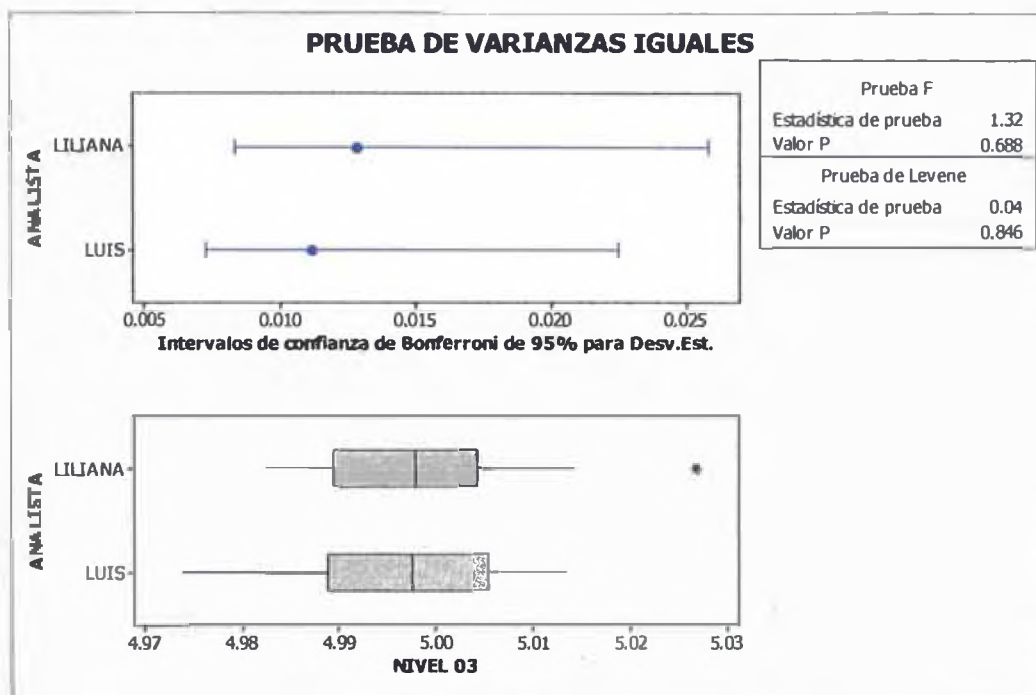
ANALISTA	N	Inferior	Desv.Est.	Superior
ANALISTA 1	10	0.0083737	0.0128015	0.0257777
ANALISTA 2	10	0.0072943	0.0111513	0.0224549

Prueba F (distribución normal)

Estadística de prueba = 1.32, valor p = 0.688

Prueba de Levene (cualquier distribución continua)

Estadística de prueba = 0.04, valor p = 0.846



**Figura 4.7. Prueba de varianzas entre analistas Nivel 03.**

Por lo tanto:

Como el valor de **P-Value = 0.688** es mayor que el nivel de significancia 0.05, entonces podemos concluir que las varianzas de ambos analistas son estadísticamente iguales para el nivel 03.

**b) Prueba de homogeneidad de medias:**

**Prueba T e IC de dos muestras: NIVEL 03, ANALISTA**

T de dos muestras para NIVEL 03

ANALISTA	N	Media	Desv.Est.	media
ANALISTA 1	10	4.9993	0.0128	0.0040
ANALISTA 2	10	4.9965	0.0112	0.0035

Diferencia =  $\mu$  (ANALISTA 1) -  $\mu$  (ANALISTA 2)

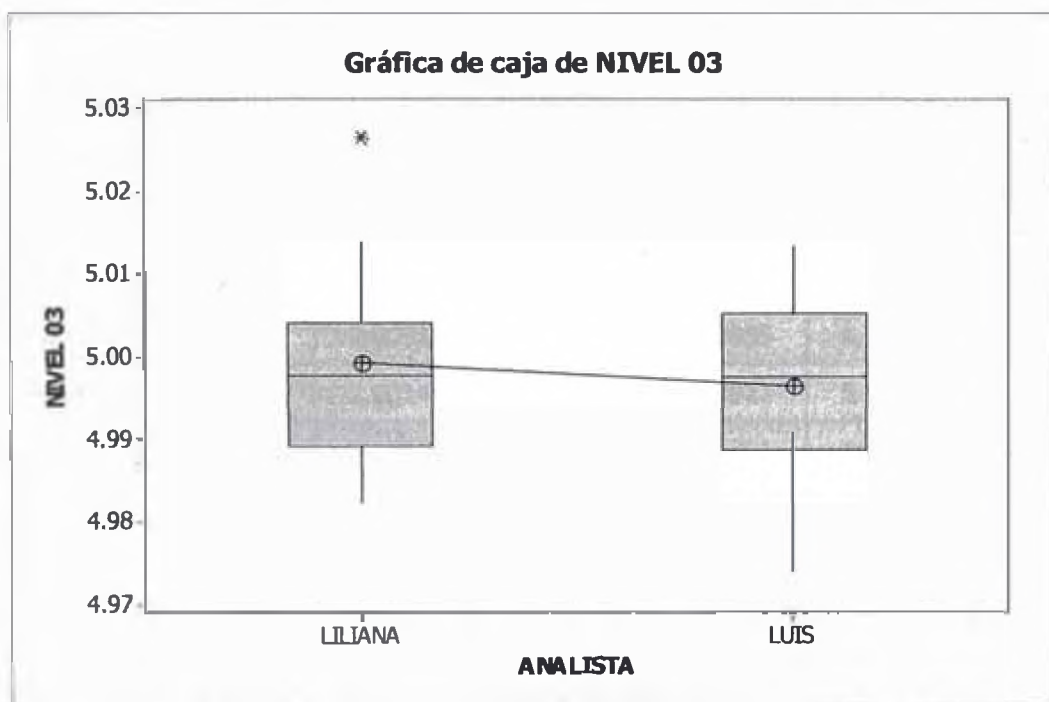
Estimado de la diferencia: 0.00273

IC de 95% para la diferencia: (-0.00855, 0.01401)

Prueba T de diferencia = 0 (vs. no =): Valor T = 0.51 Valor P = 0.617 GL =

18

Ambos utilizan Desv.Est. agrupada = 0.0120



**Figura 4.8. Grafica de cajas de varianzas entre analistas Nivel 03.**

Por lo tanto:

Como **P-Value = 0.617** es mayor que el nivel de significancia 0.05, entonces podemos concluir que las medias de ambos analistas son estadísticamente iguales para el nivel 03.

### 5.3. Resultados de veracidad del método:

**Tabla N° 4.3. Resultados de veracidad del método en tres niveles**

RESULTADOS DE PCB EN ACEITE					
NIVEL 01		NIVEL 02		NIVEL 03	
Analista 1	Analista 2	Analista 1	Analista 2	Analista 1	Analista 2
0.498606	0.499872	2.00642	1.99437	4.99752	5.02656
0.500989	0.500017	2.00019	1.99993	4.99578	5.00088
0.498372	0.498463	2.00276	1.99717	5.01334	4.99720
0.499706	0.501864	1.99800	1.99922	5.00732	4.99836
0.498066	0.498651	2.00219	1.99731	5.00458	4.99612
0.500328	0.499975	2.00506	2.00574	4.98728	4.98952
0.501882	0.500713	1.99462	1.99397	4.97394	4.98240
0.500366	0.501165	2.00581	2.00705	4.99855	4.99902
0.499400	0.499516	2.00149	1.99850	4.98927	5.01398
0.501037	0.499740	2.00332	1.99733	4.99761	4.98848

#### 5.3.1. Análisis Estadístico de la Veracidad del Método

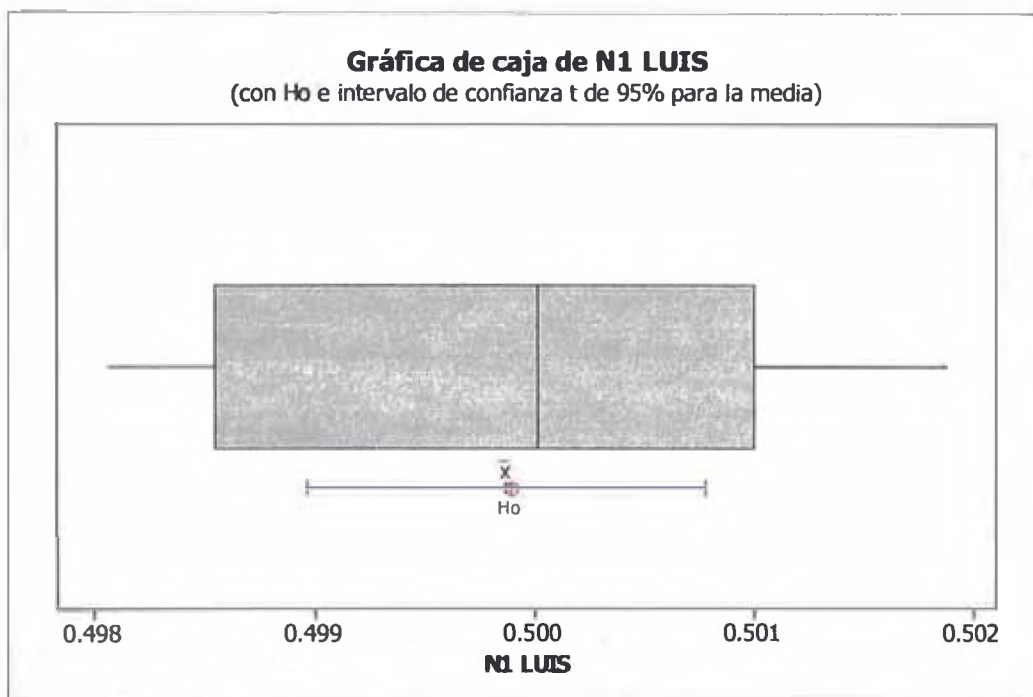
##### a) Nivel 01 (0.5001)

T de una muestra: Analista 1-N01, Analista 2-N01

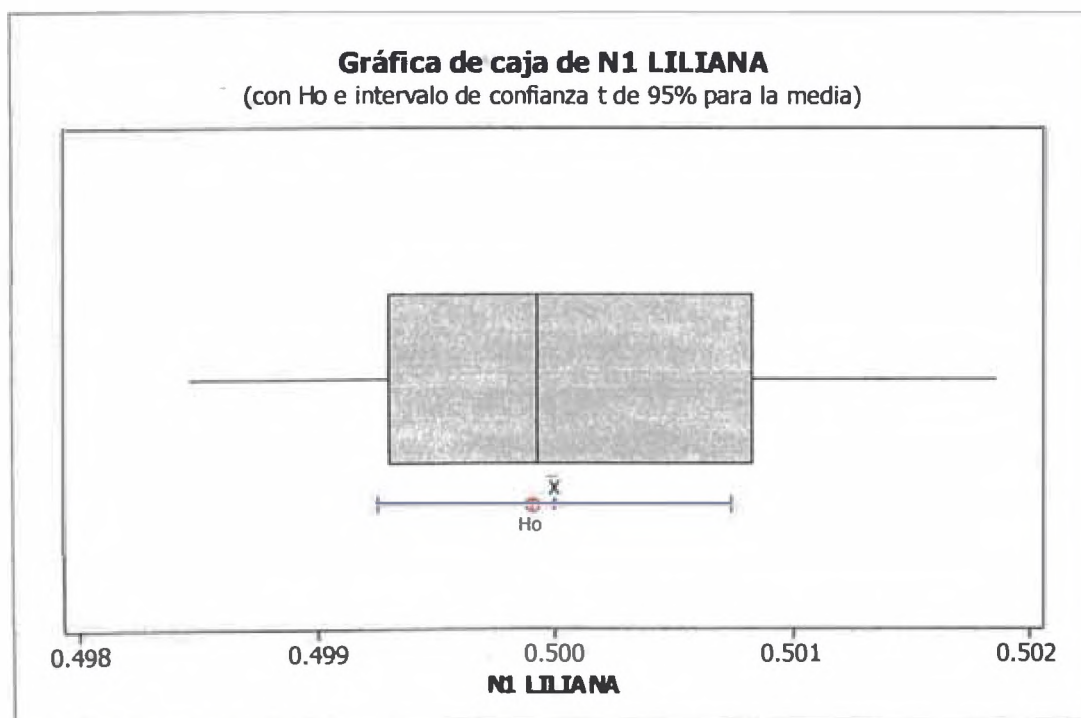
Prueba de  $\mu = 0.4999$  vs.  $\mu \neq 0.4999$

Variable	N	Media	Desv.Est.	Error estándar de la media	IC de 95%	T
N1 ANA1	10	0.499875	0.001268	0.000401	(0.498968, 0.500782)	-0.06
N1 ANA2	10	0.499998	0.001046	0.000331	(0.499250, 0.500746)	0.30

Variable	P
N1 ANA1	0.952
N1 ANA2	0.775



**Figura 4.9. Gráfica de cajas Prueba T-Student. Nivel 01. Luis**



**Figura 4.10. Gráfica de cajas Prueba T-Student. Nivel 01. Liliana**

Por lo tanto:

Los P-Values tanto para el analista Luis (P= 0.952) y Liliana (P= 0.775) son mayores a 0.05. Lo cual significa que las medias de PCB experimentales son estadísticamente iguales al valor convencionalmente verdadero de 0.4999 PCB en aceite dieléctrico, por lo tanto el método utilizado es veraz para el Nivel 01.

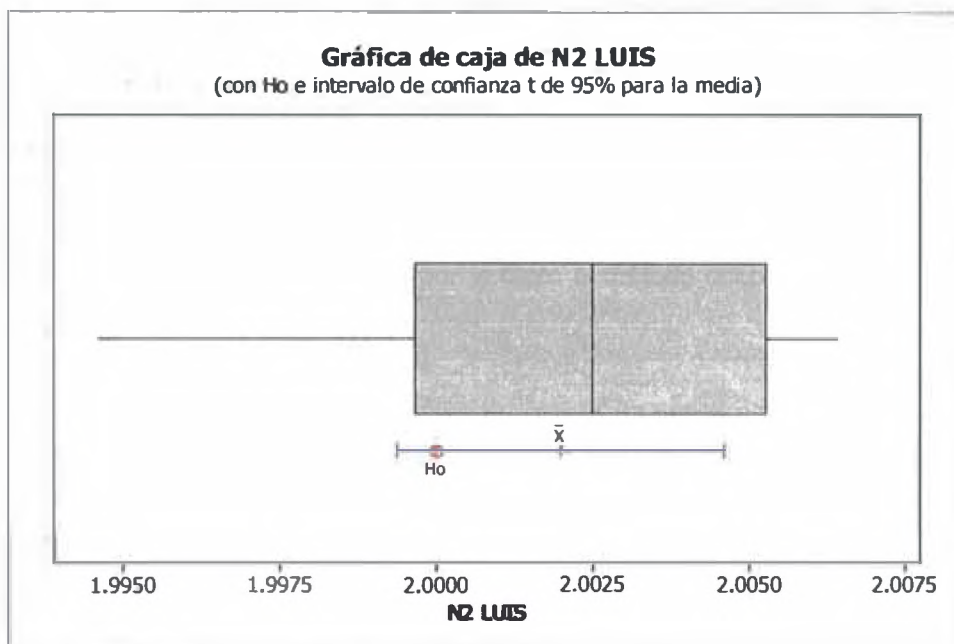
**b) Nivel 02 (2.000)**

Prueba de  $\mu = 2$  vs.  $\mu \neq 2$

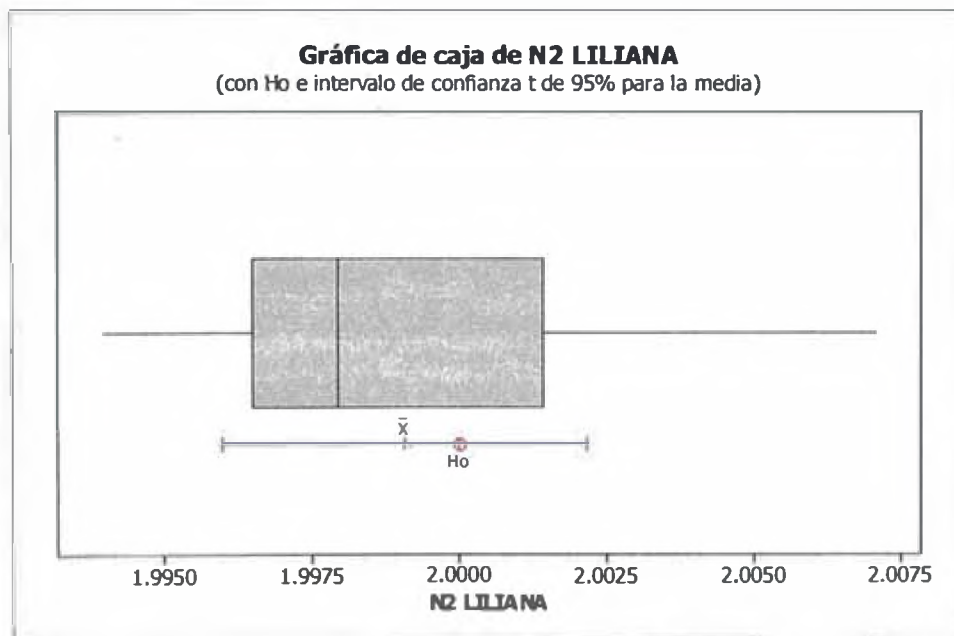
Variable	N	Media	Desv.Est.	Error estándar de la media	IC de 95%	T
N2 ANA1	10	2.00199	0.00365	0.00115	(1.99938, 2.00460)	1.72
N2 ANA2	10	1.99906	0.00431	0.00136	(1.99598, 2.00214)	-0.69

Variable	P
N2 ANA1	0.119
N2 ANA2	0.507





**Figura 4.11. Gráfica de cajas Prueba T-Student. Nivel 02. Luis**



**Figura 4.11. Gráfica de cajas Prueba T-Student. Nivel 02. Luis**

Por lo tanto:

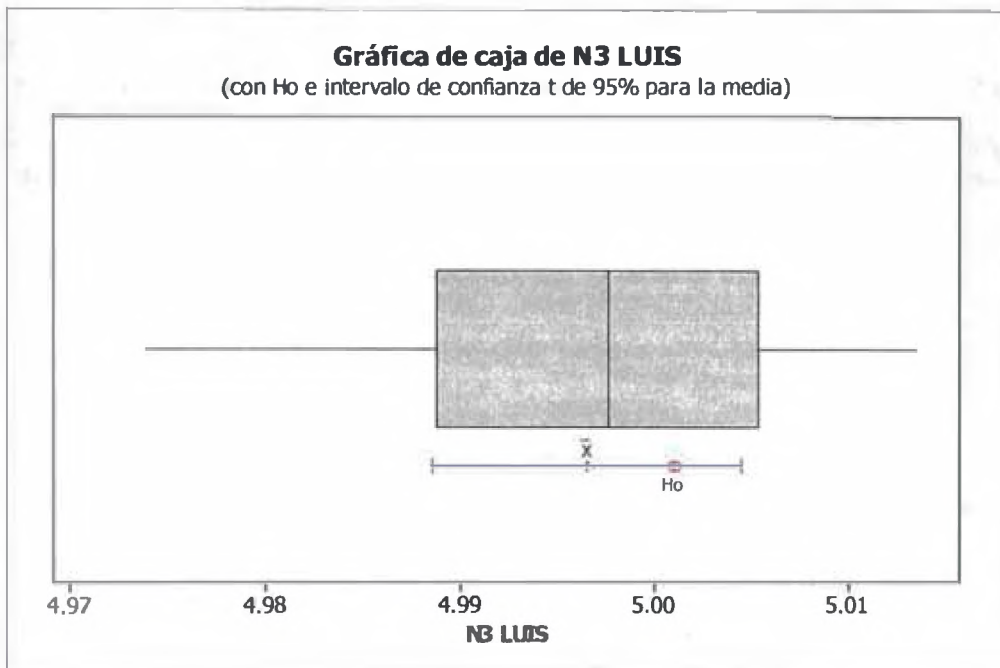
Los P-Values tanto para el analista Luis (P= 0.119) y Liliana (P= 0.507) son mayores a 0.05. Lo cual significa que las medias de PCB experimentales son estadísticamente iguales al valor convencionalmente verdadero de 2.000 PCB en aceite dieléctrico, por lo tanto el método utilizado es veraz para el Nivel 02.

**c) Nivel 03 (5.001)**

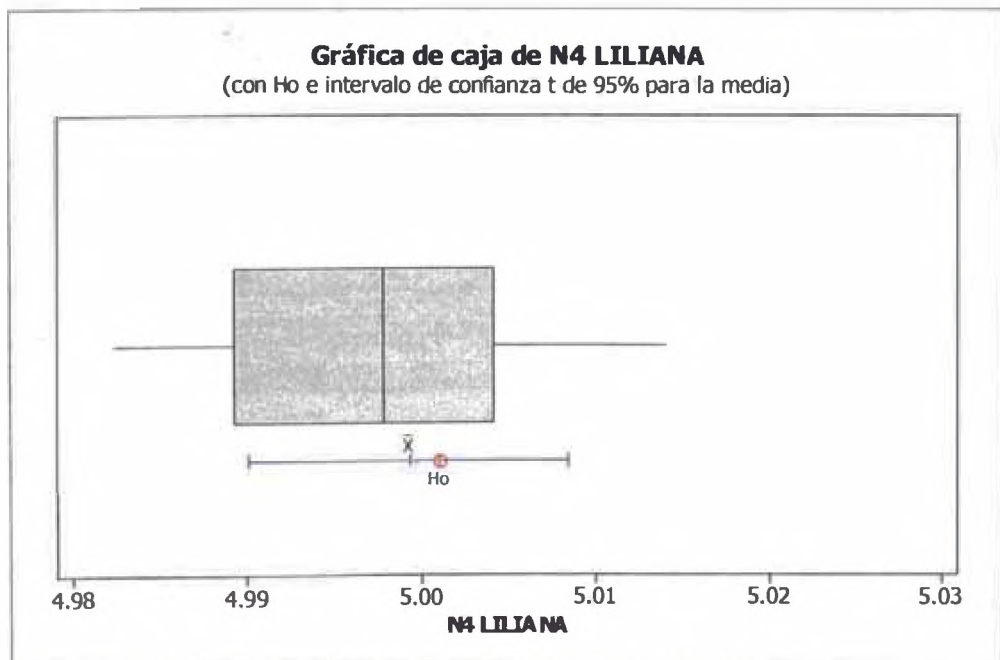
Prueba de  $\mu = 5.001$  vs.  $\mu \neq 5.001$

Variable	N	Media	Desv.Est.	Error estándar de		T
				la media	IC de 95%	
N3 ANA1	10	4.99652	0.01115	0.00353	(4.98854, 5.00450)	-1.27
N4 ANA2	10	4.99925	0.01280	0.00405	(4.99009, 5.00841)	-0.43

Variable	P
N3 ANA1	0.236
N4 ANA2	0.676



**Figura 4.12:** Gráfica de cajas Prueba T-Student. Nivel 03. Luis



**Figura 4.13:** Gráfica de cajas Prueba T-Student. Nivel 03. Liliana

Por lo tanto:

Los P-Values tanto para el analista Luis (P= 0.236) y Liliana (P= 0.676) son mayores a 0.05. Lo cual significa que las medias de PCB experimentales son estadísticamente iguales al valor convencionalmente verdadero de 5.001 PCB en aceite dieléctrico, por lo tanto el método utilizado es veraz para el Nivel 03.

#### 5.4. Límite de Detección y Límite de Cuantificación

**Tabla N°4.4. Resultados de concentración de PCB (mg/Kg) en el menor punto de la curva de calibración.**

Concentración mg/Kg	Concentración mg/Kg	Concentración mg/Kg
0.498606	0.500366	0.498651
0.500989	0.499400	0.499975
0.498372	0.501037	0.500713
0.499706	0.499872	0.501165
0.498066	0.500017	0.499516
0.500328	0.498463	0.499740
0.501882	0.501864	0.499872

**5.4.1. Análisis estadístico de Límite de Detección y Límite de Cuantificación**

	Concentración mg/Kg	Concentración mg/Kg	Concentración mg/Kg
Fecha	09/07/2014	10/07/2014	11/07/2014
1	0.45486118	0.50992317	0.58720448
2	0.46746004	0.53276729	0.56386469
3	0.47813501	0.38379284	0.48903568
4	0.39479261	0.49526936	0.46418499
5	0.43880467	0.48338775	0.45533216
6	0.55377242	0.3871934	0.44229186
7	0.43841897	0.47748424	0.52300245
<b>Promedio</b>	0.46089213	0.46711686	0.50355947
<b>%RSD</b>	10.6166442	12.5553986	11.1315001

<b>PROMEDIO DE LAS DESVIACIONES ESTÁNDAR</b>	0.05454446
<b>LÍMITE DE DETECCIÓN</b>	0.17126961
<b>LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN</b>	0.4708987

## 5.5. Resultados de la Robustez.

**Tabla 4.5. Resultados para evaluación de robustez del método**

Orden Corrida	Muestra (g)	Volumen de inyeccion	tiempo de lectura	PCB
1	0.1	5	25	1.97844
2	0.2	1	25	1.97850
3	0.2	1	15	2.02490
4	0.2	5	25	2.07357
5	0.2	5	15	2.06826
6	0.2	5	25	1.88278
7	0.2	5	15	1.98791
8	0.1	5	25	2.04050
9	0.1	1	25	2.06860
10	0.1	5	15	2.17214
11	0.2	1	15	1.98900
12	0.1	1	15	1.97963
13	0.1	5	15	2.16188
14	0.1	1	15	1.98806
15	0.2	1	25	1.93279
16	0.1	1	25	1.97798

**Donde:**

**Muestra:** Corresponde a la cantidad muestra de aceite dieléctrico en g.

**Volumen de Inyección:** Es la cantidad de extracto orgánico inyectado a la columna del Cromatógrafo en uL.

**Tiempo de Lectura:** Es el tiempo de la elución del analito en la columna del Cromatógrafo.

### 5.5.1. Análisis Estadístico de la Robustez

**Ajuste factorial: PCB (mg/Kg vs. Muestra Volumen de inyección Tiempo de lectura)**

Término	Coef	SE Coef	T	P
Constante	2.01906	0.01511	133.59	0.00
Muestra 0.1	0.02684	0.01511	1.78	0.114
Volumen de i 1	-0.02663	0.01511	-1.76	0.116
tiempo de le 15	0.02741	0.01511	1.81	0.107
Muestra*Volumen de i 0.1 1	-0.01571	0.01511	-1.04	0.329
Muestra*tiempo de le 0.1 15	0.00211	0.01511	0.14	0.892
Volumen de i*tiempo de le 1 15	-0.02445	0.01511	-1.62	0.144
Muestra*Volumen de i*tiempo de le 0.1 1 15	-0.02480	0.01511	-1.64	0.139

S = 0.0604536    R-cuad. = 66.61%    R-cuad.(ajustado) = 37.39%

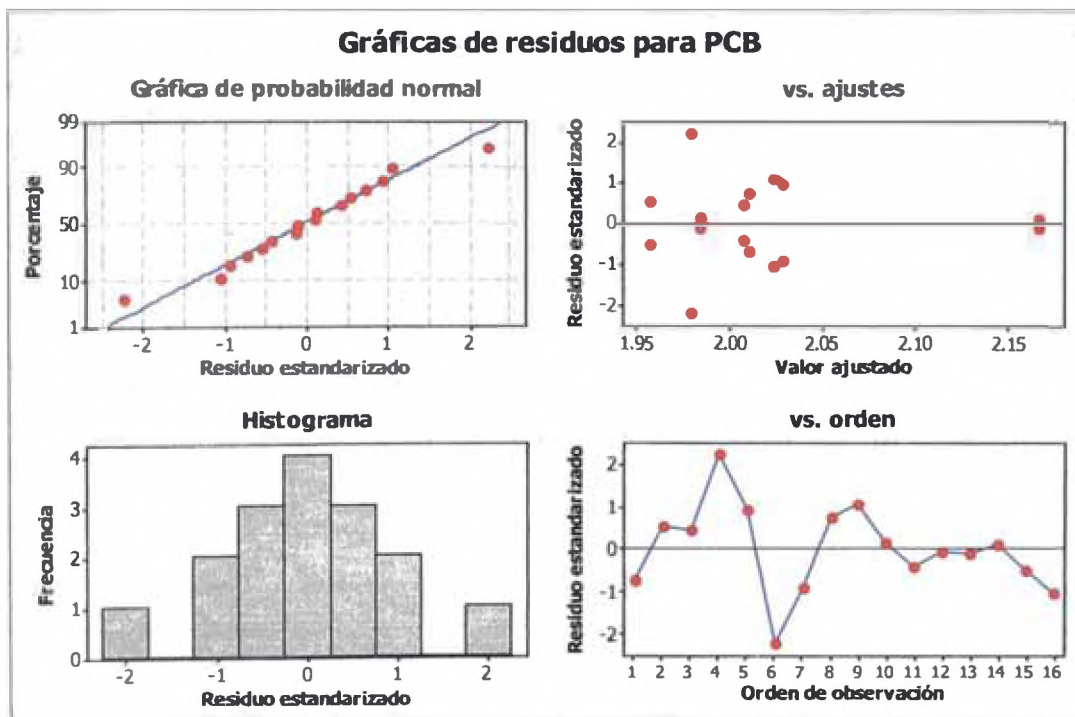
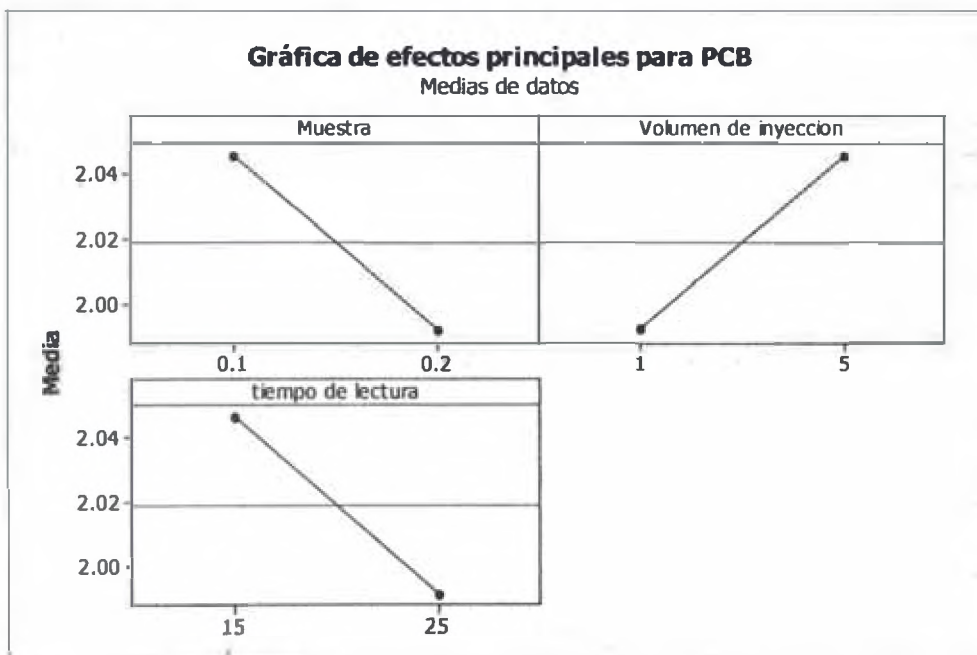


Figura 4.14. Evaluación grafica de robustez.



**Figura 4.15. Gráfica de evaluación de efectos de variables.**

Se puede observar en el gráfico que los efectos tanto de tiempo de Muestras (g), Volumen Temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ), Tiempo de Lectura (min) son significativas ya que los pvalue son mayores a 0.05 como se indica en el cuadro superior. Respecto a las interacciones de dos factores y de tres factores estos no son significativos en la determinación de PCB en aceites dieléctricos ya que los pvalue son mayores a 0.05 según lo indicado en el cuadro de efectos principales.



Orden Corrida	Muestra (g)	Volumen de inyeccion	Tiempo de lectura	PCB
1	0.1	5	25	1.97844
2	0.2	1	25	1.97850
3	0.2	1	15	2.02490
4	0.2	5	25	2.07357
5	0.2	5	15	2.06826
6	0.2	5	25	1.88278
7	0.2	5	15	1.98791
8	0.1	5	25	2.04050
9	0.1	1	25	2.06860
10	0.1	5	15	2.17214
11	0.2	1	15	1.98900
12	0.1	1	15	1.97963
13	0.1	5	15	2.16188
14	0.1	1	15	1.98806
15	0.2	1	25	1.93279
16	0.1	1	25	1.97798
$\Sigma Y-$	16.367223	15.939474	16.371792	
$\Sigma Y+$	15.937735	16.365485	15.933167	
<b>Efecto</b>	0.053686049	0.053251317	0.054828139	
<b>S<math>\sqrt{2}</math></b>	0.10804686	0.10804686	0.10804686	

Por lo tanto:

**Efecto Peso de la Muestra (g):** Las variaciones del peso de la muestra no son significativas ya que el efecto: 0.05 es menor que el límite para la robustez 0.1.

**Efecto Volumen de inyección (uL):** Las variaciones de volumen de inyección no son significativas ya que el efecto 0.05 es menor que el límite de la robustez 0.1.

**Efecto tiempo de lectura (min):** Las variaciones del tiempo de la lectura no son significativas ya que el efecto 0.05 es menor que el límite de la robustez 0.1.

# CAPÍTULO 4

## EVALUACIÓN DE LA

## INCERTIDUMBRE

## VI. ESTIMACIÓN DE LA INCERTIDUMBRE [8, 9]

Este procedimiento abarca al análisis de multianalitos por cromatografía gaseosa usando Detector de Ionización a la Flama (FID), Detector de Fotoionización (PID), Detector de Captura de Electrones (ECD), Detector de Espectrometría de Masas (MSD).

### 6.1. INFORMACIÓN BASE

- Certificados de Análisis de las Patrones.
- Certificado de conformidad de microjeringa agilent 1mL
- Certificado de conformidad de microjeringa agilent 100uL
- Certificado de fábrica de Fiola 5mL
- Curva de Calibración.
- Certificado de calibración de Balanza Analítica
- Certificado de verificación de GC-2 (ECD)

### 6.2. PROCEDIMIENTO GENERAL:

**Tabla 5.1. Procedimiento de estimación de la incertidumbre**

Pasos	Descripción
1	Especificación del mesurando
2	Identificación de las Fuentes de Incertidumbre
3	Estimación de las Incertidumbres Estándar de los Componentes de la Incertidumbre
4	Estimación de la Incertidumbre Combinada
5	Estimación de la Incertidumbre expandida
6	Expresión de la incertidumbre

### 6.3. ESPECIFICACIÓN DEL MESURANDO:

**Determinación de Compuestos Orgánicos Semi Volátiles por Inyección Directa en Matrices de Aceites Dieléctricos.**

$$C_M = \frac{C_C \times V_C}{W_M} \times F_d \dots \dots \dots (15)$$

Donde:  $C_M$ : Concentración del analito en la muestra (mg/Kg)

$C_C$ : Concentración del analito en la curva de calibración (mg/L)

$V_C$ : Volumen de Concentrado (mL)

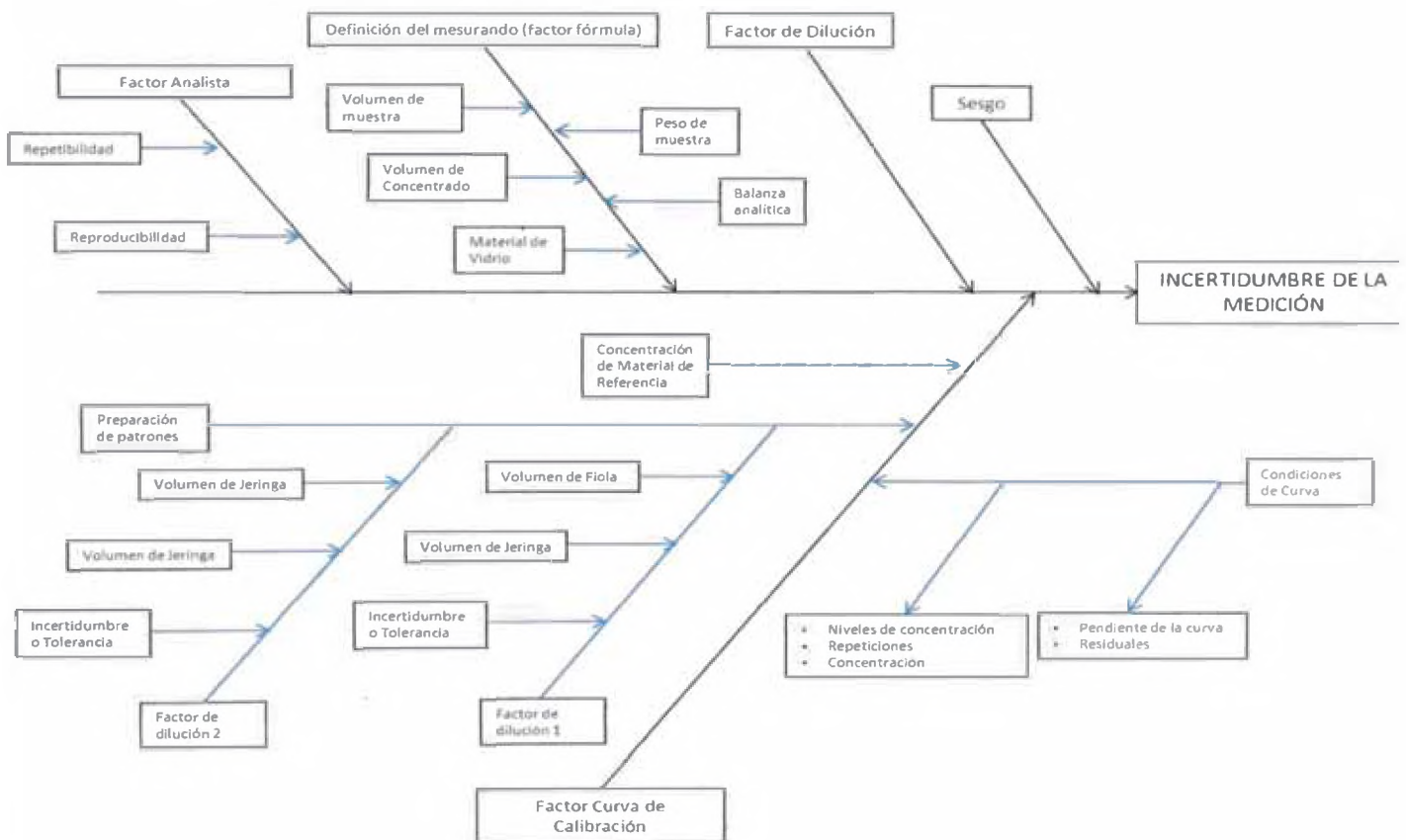
$W_M$ : Peso de Muestra (g)

$F_d$ : Factor de Dilución

De no hacerse dilución a la muestra el factor de dilución será  $F_d = 1$

## 6.4. IDENTIFICACIÓN DE LAS FUENTES DE INCERTIDUMBRE

### DIAGRAMA DE CAUSA EFECTO



## 6.5. ESTIMACIÓN DE LAS INCERTIDUMBRE ESTÁNDAR DE LOS COMPONENTES DE LA INCERTIDUMBRE

### 6.5.1. Curva de Calibración: $U_{(CC)}$

La incertidumbre asociada a la curva de calibración está dada por la contribución de la incertidumbre del instrumento,  $U_{(Inst)}$ , y la incertidumbre de la preparación de los estándares de calibración  $U_{(PrepEst)}$ . Esta se estima a través de la Ley de Propagación de las Incertidumbres.

$$U_{(cc)} = \sqrt{U_{(Inst)}^2 + U_{(Prep Est)}^2} \dots\dots\dots(16)$$

Donde:

$U_{(Inst)}$  = Incertidumbre del Instrumento

$U_{(PrepEst)}$  = Incertidumbre de la Preparación de Estándares

### 6.5.2. Preparación de Estándares de Calibración: $U_{(PrepEst)}$

La incertidumbre asociada a la Preparación de los Estándares de Calibración está dada por la contribución de la incertidumbre del Material de referencia Certificado,  $U_{(MRC)}$ , la preparación de la solución intermedia,  $U_{(Sol Int)}$ , y la preparación de los estándares finales de calibración.

$$\frac{U_{(PrepEst)}}{Y_{(PrepEst)}} = \sqrt{\left(\frac{U_{MRC}}{C_{MRC}}\right)^2 + \left(\frac{U_{SolInt}}{fd_{SolInt}}\right)^2 + \left(\frac{U_{fd1}}{fd_1}\right)^2 + \left(\frac{U_{fd2}}{fd_2}\right)^2 + \left(\frac{U_{fd3}}{fd_3}\right)^2 + \left(\frac{U_{fd4}}{fd_4}\right)^2 + \left(\frac{U_{fd5}}{fd_5}\right)^2} \dots\dots\dots(17)$$

$$Y_{(PrepEst)} = C_{(MRC)} \times fd_{(SolInt)} \times fd_{(1)} \times fd_{(2)} \times fd_{(3)} \times fd_{(4)} \times fd_{(5)} \dots\dots\dots(18)$$

Donde:

$U_{(MRC)}$  = Incertidumbre del Material de Referencia Certificado

$C_{(MRC)}$  = Concentración del Material de Referencia Certificado

$U_{(SolInt)}$  = Incertidumbre de la Solución Intermedia

$fd_{(SolInt)}$  = Factor de Dilución de la preparación de la Solución Intermedia

$U_{fd(1,2,3,\dots,n)}$  = Incertidumbre de la Preparación de los Estándares de Calibración (a partir de la Solución Intermedia) en los "n" niveles de concentración

$fd_{(1,2,3,\dots,n)}$  = Factor de dilución de los "n" niveles de concentración

➤ **Incertidumbre Estándar del Material de Referencia Certificado (MRC):**

Los Certificados de Análisis de los MRC asocian el resultado a una incertidumbre expandida. La Incertidumbre estándar es el resultado del cociente de la Incertidumbre expandida entre el Factor de cobertura.

$$U_{(MRC)} = \frac{U_{(Certificado)}}{U_{(Certificado)}} \dots \dots \dots (19)$$

Donde:

$U_{(Certificado)}$  : Incertidumbre del certificado

**K** : Factor de cobertura, si no se menciona en el certificado entonces  $K=2$ , al 95% de confianza

➤ **Incertidumbre Estándar de preparación de Solución Intermedia:**

La preparación de la solución Intermedia se realiza a partir del MRC

$$\frac{U_{(Sol Int)}}{fd (Sol Int)} = \sqrt{\left(\frac{U_{V1}}{V_1}\right)^2 + \left(\frac{U_{V2}}{V_2}\right)^2} \dots \dots \dots (20)$$

$$fd_{(SolInt)} = \frac{V_1}{V_2} \dots \dots \dots (21)$$

Donde:

**F<sub>d(SolInt)</sub>** : Factor de dilución de Solución Intermedia

**V<sub>1</sub>**: Volumen de Material de Referencia usado

**U<sub>(V1)</sub>**: Incertidumbre asociada a la medición del Volumen 1

**V<sub>2</sub>**: Volumen total de Dilución

**U<sub>(V2)</sub>**: Incertidumbre asociada a la medición del volumen 2

La incertidumbre asociada a la medición de un volumen está relacionada con la incertidumbre (o tolerancia) del material volumétrico que se usa para medir.

Las diluciones del MRC se realizan tomando una alícuota de volumen conocido del MRC con una **Microjeringa** y llevándola a Dilución en un **Matraz Aforado**.

✓ **Incertidumbre de microjeringa:**

Incertidumbre Tipo B, corresponde a una distribución triangular.

$$U(\text{Jeringa}) = \frac{\text{Tolerancia de Fabricante}}{\sqrt{6}} \dots\dots\dots(22)$$

✓ **Incertidumbre de matraz aforado:**

Incertidumbre Tipo B, corresponde a una distribución triangular

$$U(\text{Fiola}) = \frac{\text{Tolerancia de Fabricante}}{\sqrt{6}} \dots\dots\dots(23)$$



➤ **Incertidumbre para preparación de estándares**

La preparación de los estándares de calibración se realiza en “n” niveles de concentración dependiendo del método.

- Para el caso de análisis de Compuestos Orgánicos Semi volátiles las diluciones se hacen con alícuotas conocidas de Solución Intermedia y Solvente Orgánico (Diclorometano o Hexano) medidas en **microjeringas**.
- Para el caso de Compuestos Orgánicos Volátiles las diluciones se realizan midiendo la Solución Intermedia en una **microjeringa** y llevándola a un volumen total con solvente Orgánico (Metanol).

En ambos casos se aplicará la ley de la propagación de las incertidumbres.

$$\frac{U_{V1}}{fd_1} = \sqrt{\left(\frac{U_{Va}}{Va}\right)^2 + \left(\frac{U_{Vb}}{Vb}\right)^2} \dots\dots\dots(24)$$

Donde:

**Fd<sub>(1)</sub>** : Factor de dilución del primer nivel de concentración de la Curva de calibración

**V<sub>a</sub>**: Volumen de Solución Intermedia usado

**U<sub>(V1)</sub>**: Incertidumbre asociada a la medición del Volumen de la Solución Intermedia

**V<sub>2</sub>**: Volumen total (si se usa fiola) o del solvente usado (si se usa jeringa).

**U<sub>(V2)</sub>**: Incertidumbre asociada a la medición del volumen total o del solvente usado.

- Si se prepara estándares de curva de calibración para Compuestos orgánicos semi volátiles usando 2 microjeringas:

El factor de dilución es:

$$fd_n = \frac{V_{j1}}{(V_{j1} + V_{j2})} \dots\dots\dots(25)$$

Se determina la incertidumbre de las jeringas con la siguiente formula:

$$U(Jeringa) = \frac{Tolerancia\ de\ Fabricante}{\sqrt{6}} \dots\dots\dots(26)$$

- Si se prepara estándares de curva de calibración para compuestos orgánicos volátiles usando microjeringa y Fiola:

$$fd_n = \frac{V_j}{V_F} \dots\dots\dots(27)$$

$$U(Jeringa) = \frac{Tolerancia\ de\ Fabricante}{\sqrt{6}}$$

$$U(Fiola) = \frac{Tolerancia\ de\ Fabricante}{\sqrt{6}}$$

**6.5.3. Incertidumbre del proceso de curva de calibración (Instrumento):  $U_{(Inst)}$**

Los datos experimentales obtenidos para la confección de la curva de calibración puede expresarse como:

$$(x_1, y_1); (x_2, y_2); (x_3, y_3); \dots; (x_n, y_n)$$

Donde las  $x_n$  representan las concentraciones de los estándares en la curva de calibración en sus diferentes niveles. Y los  $y_n$  representan las respectivas respuestas del equipo instrumental.

Considerando una curva de comportamiento lineal la expresión matemática para la recta de calibración es:

$$y = a + bx$$

Y se obtiene según la estimación usual de los mínimos cuadrados, de acuerdo con las siguientes fórmulas:

$$b = \frac{\overline{x \cdot y} - \bar{x} \cdot \bar{y}}{S_x^2}; \quad a = \bar{y} - b\bar{x}; \quad \dots\dots\dots(28)$$

donde el símbolo “ $\bar{\phantom{x}}$ ” significa promedio, y se denominará:  $e_i = y_i - a - bx_i$  al i-ésimo residuo respecto de la recta. Esto es, a la diferencia, en dirección del eje, entre el punto (x , y) y la recta de calibración.

La desviación estándar residual dada por la fórmula siguiente:

$$s_e = \sqrt{\frac{\sum e_i^2}{n-2}} \quad \dots\dots\dots(29)$$

Indica si es correcto el modelo lineal para ajustar los datos, y a su vez se cuantifica con (n-2) grados de libertad la incertidumbre asociada a tal ajuste. Siendo “n” el número de niveles de la curva de calibración.

Luego de obtener la recta de calibración, para determinar la concentración de la muestra analizada se mide en forma repetida “m” veces.

Estimándose la incertidumbre asociada mediante la siguiente fórmula:

$$U^2_{(Inst)}(x) = \frac{S_e^2}{b^2} \times \left[ \frac{1}{n} + \frac{1}{m} + \frac{(x-\bar{x})^2}{nS_x^2} \right] \dots\dots\dots(30)$$

Dónde:

**S<sub>e</sub>**: Desviación Estándar de los residuales

**b**: Pendiente de la curva

**n**: Número de niveles de la curva

**m**: Numero de repeticiones de cada nivel

**x**: Variable de concentración

**$\bar{x}$** : Promedio de niveles de concentración

**S<sub>x</sub>**: Desviación Estándar de los niveles de concentración

#### 6.5.4. Factor Analista: U<sub>R</sub>

Para estimar la incertidumbre asociada al analista se realizarán ensayos en condiciones de reproducibilidad (o reproducibilidad intermedia); vale decir, diferentes analistas, en diferentes días, diferentes muestras (de la misma concentración conocida).

La Incertidumbre asociada al analista se define como la Desviación Estándar en condiciones de Reproducibilidad:

$$U_R = S_R \dots\dots\dots(31)$$

La desviación estándar en condiciones de Reproducibilidad se define a través del siguiente modelo matemático:

$$S_R^2 = S_L^2 + S_r^2 \dots\dots\dots(32)$$

**S<sub>r</sub>**: Desviación estándar de Repetibilidad

**S<sub>L</sub>**: Desviación estándar entre los laboratorios (analistas)

Dónde:

$$S_R^2 = \frac{(n_a-1)(S_a^2) + (n_b-1)(S_b^2) + (n_c-1)(S_c^2)}{(n_a-1) + (n_b-1) + (n_c-1)} \dots\dots\dots(33)$$

**S<sub>x</sub>**: Desviación estándar de cada analista (a, b o c)

**n<sub>x</sub>**: Número de ensayos para cada analista

Los ensayos de reproducibilidad serán 30 dividido en 3 analistas, los cuales se analizarán en días distintos.

#### 6.5.5. Factor Sesgo: U<sub>B</sub>

La Incertidumbre relacionada con el sesgo se estima mediante la diferencia del promedio con el valor referencial.

$$U_B = \text{Promedio} - \text{Valor de Referencia} \dots\dots\dots(34)$$

## 6.5.6. Factor Fórmula

### 6.5.6.1. Factor Volumen de Concentrado:

El volumen de concentrado se determina usando un matraz aforado. Para matraces aforados se presenta Incertidumbre tipo B, por lo tanto tenemos una distribución triangular.

$$U_{Fiola} = \frac{\text{Tolerancia del fabricante}}{\sqrt{6}} \dots\dots\dots(35)$$

### 6.5.6.2. Factor Peso de muestra:

El peso de la muestra es determinado usando una balanza analítica calibrada. El certificado de calibración de la balanza analítica presenta la ecuación de la estimación de la incertidumbre expandida para cada masa.

Para estimar la Incertidumbre Estándar debemos dividir la Incertidumbre expandida entre el factor de cobertura mencionado en el certificado. En caso no se mencione el Factor de cobertura se usará K=2 para una distribución normal al 95% de confianza.

$$U_{Peso\ de\ muestra} = \frac{U_{Fórmula\ del\ certificado}}{k} \dots\dots\dots(36)$$

### 6.5.6.3. Factor de dilución:

La componente debida al Factor de Dilución se correlaciona con las contribuciones volumétricas efectuadas en la preparación de la dilución:

$$u(Fd) = \sqrt{\frac{u^2(V_p)}{V_q^2} + \frac{u^2(V_q) \times V_p^2}{V_q^4}} \dots\dots\dots(37)$$

Dónde:

$V_p$  es el volumen de enrase.

$V_q$  es la alicuota.

**NOTA:** Para el caso en que no se haga Dilución final se considerara:  $Fd=1$  y no se considerará la dilución final en la estimación de la Incertidumbre.

## 6.6. ESTIMACIÓN DE LA INCERTIDUMBRE COMBINADA

### 6.6.1. Coeficientes de sensibilidad:

Se calculan como las derivadas parciales de los resultados de medición respecto de cada uno de los componentes de entrada. Teniendo en cuenta que presentamos el factor fórmula, calcularíamos las derivadas parciales respecto de cada variable para así obtener los coeficientes de sensibilidad.

Los coeficientes de sensibilidad de los factores analista y sesgo son iguales a 1.

### Para determinación de compuestos orgánicos Semi Volátiles en aceites:

Se tiene la expresión matemática para la concentración en muestra:

$$C_M = \frac{C_C \times V_C}{W_M} \times F_d \dots\dots\dots(38)$$

A continuación se detallan los coeficientes de sensibilidad para cada variable

$$\frac{\partial C_M}{\partial C_C} = \frac{V_C}{W_M} \times fd \dots \text{Coeficiente de sensibilidad. Curva de Calibración}$$

$$\frac{\partial C_M}{\partial V_C} = \frac{C_C}{W_M} \times fd \dots \text{Coeficiente de sensibilidad. Volumen de concentrado}$$

$$\frac{\partial C_M}{\partial fd} = \frac{C_C \times V_C}{W_M} \dots \text{Coeficiente de sensibilidad del factor de dilución}$$

$$\frac{\partial C_M}{\partial W_M} = -\frac{C_C \times V_C}{W_M^2} \times fd \dots \text{Coeficiente del peso de la muestra}$$

#### **Incertidumbre combinada**

La Incertidumbre combinada se expresa de la siguiente forma:

**Para determinación de compuestos orgánicos Semi Volátiles en aceites**

$$Combinada = \sqrt{\left(\frac{\partial C_M}{\partial W_M} \times U_{W_M}\right)^2 + \left(\frac{\partial C_M}{\partial V_C} \times U_{V_C}\right)^2 + \left(\frac{\partial C_M}{\partial C_C} \times U_{C_C}\right)^2 + \left(\frac{\partial C_M}{\partial C_{PS}} \times U_{PS}\right)^2 + \left(\frac{\partial C_M}{\partial fd} \times U_{fd}\right)^2 + U_R^2 + U_B^2}$$



## 6.7. INCERTIDUMBRE EXPANDIDA

### 6.7.1. Factor de Cobertura: k

Para calcular el factor de cobertura, primero debemos hallar los grados efectivos de libertad "reales" (números enteros),  $v_{eff}$  mediante la siguiente fórmula.

$$v_{eff} = \frac{U_y^4}{\sum_{i=1}^n \frac{c_i^4 u^4}{v_i}}$$

Dónde:

$U_y$ = Incertidumbre Combinada

$C_i$ = Coeficiente de sensibilidad para cada componente de la incertidumbre

$u$ = Incertidumbre de cada componente

$v_i$ = grados de libertad de cada componente

El factor de cobertura se determina por tabla de factor de cobertura en función del número de grados de libertad.

O por la Distribución t inversa del número de grados de libertad con un nivel de significancia de 0.05.

### 6.7.2. Incertidumbre expandida:

La Incertidumbre expandida se resuelve del producto de la incertidumbre combinada ( $U_c$ ) con el factor de cobertura ( $F$ ).

$$U = U_c \times F \quad \dots\dots\dots(41)$$

**6.8. EXPRESIÓN DE LA INCERTIDUMBRE:**

El valor de la incertidumbre será una función de la concentración y se expresa asociada a la concentración.

$$\text{Resultado} = X \pm U_x$$

La incertidumbre asociada al resultado será estimada al 95% de confianza. [10,11]

**6.9. RESULTADOS:**

**6.9.1. Incertidumbre correspondiente al sesgo:**

Nivel 1	Analista 1	Analista 2	Analista 3
1	0.5052	0.4995990	0.4876740
2	0.5052	0.5000610	0.4929120
3	0.5008	0.5025960	0.5011380
4	0.4923	0.4947560	0.5018570
5	0.5006	0.5052320	0.4977900
6	0.4945	0.4987130	0.5082990
7	0.4978	0.5032780	0.4971360
8	0.5032	0.4932170	0.5057810
9	0.4956	0.4940590	0.5020000
10	0.4883	0.4952290	0.4974500
Promedio	0.4983	0.4987	0.4992
Mediana	0.4992	0.4992	0.4995

$$U_{b(1)} = 0.0012588$$

Nivel 2	Analista 1	Analista 2	Analista 3
1	1.9991600	2.0048972	2.0096500
2	2.0086400	2.0204520	1.9981200
3	2.0085700	1.9937604	2.0006700
4	1.9733500	1.9845293	2.0026800
5	1.9884700	2.0030965	1.9992800
6	1.9977100	2.0088786	1.9918900
7	2.0116600	2.0040849	2.0219400
8	2.0057200	1.9889545	1.9913000
9	2.0001600	1.9909555	1.9957200
10	2.0078000	1.9975192	2.0114400
PROMEDIO	2.0001240	1.9997128	2.0022690
MEDIANA	2.0029400	2.0003078	1.9999750

$$U_{B(2)} = 0.0007019$$

Nivel 3	Analista 1	Analista 2	Analista 3
1	5.0288500	4.9949800	5.0435900
2	4.9291900	4.9282900	5.0147200
3	5.0162200	4.9995000	5.1396300
4	5.0983100	5.0710900	5.0147800
5	4.9848900	4.9998000	4.9757300
6	4.9653100	4.9592800	4.9915200
7	4.9960300	4.9423900	4.9308100
8	5.0523800	5.0355200	4.9567300
9	5.0682200	5.0258400	5.0644800
10	4.9920000	5.0132800	4.9675600
PROMEDIO	5.0131400	4.9969970	5.0099550
MEDIAANA	5.0061250	4.9996500	5.0031200

$$U_{B(3)} = 0.0066973$$

A. DETERMINACION DEL SESGO RELATIVO

$$U_{b(1)} = 0.0012588$$

$$U_{b(2)} = 0.0002019$$

$$U_{b(3)} = 0.0066973$$

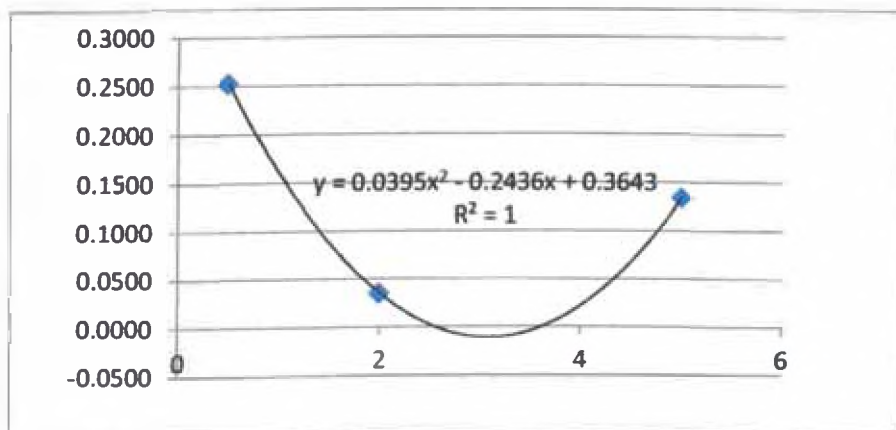
$$Sr = \left[ \frac{U_b \times 100\%}{promedio} \right]$$

→  $Sr(1) = 0.2524\%$

→  $Sr(2) = 0.03508\%$

→  $Sr(3) = 0.13377\%$

nivel	promedio	sesgo relativo
1	0.5	0.2524
2	2	0.0351
3	5	0.1338



CONCENTRACIÓN =

Sr = 0.0351

**U<sub>b</sub> = 0.0007020**

**6.9.2. Incertidumbre correspondiente al Analista:**

**Nivel 01**

S <sup>2</sup> <sub>1</sub>	0.00003203
S <sup>2</sup> <sub>2</sub>	0.00001785
S <sup>2</sup> <sub>3</sub>	0.00003627
n <sub>1</sub>	10
n <sub>2</sub>	10
n <sub>3</sub>	10

S <sup>2</sup> <sub>r</sub>	2.872E-05
S <sub>r</sub>	<b>0.00535906</b>

S <sup>2</sup> <sub>i</sub>	0.0000014
-----------------------------	-----------

**U<sub>R(1)</sub> = 0.0054853**

**Nivel 02**

S <sup>2</sup> <sub>1</sub>	0.00013629
S <sup>2</sup> <sub>2</sub>	0.00011498
S <sup>2</sup> <sub>3</sub>	0.00009170
n <sub>1</sub>	10
n <sub>2</sub>	10
n <sub>3</sub>	10

S <sup>2</sup> <sub>r</sub>	0.00011432
S <sub>r</sub>	<b>0.01069218</b>

S <sup>2</sup> <sub>i</sub>	0.0000021
-----------------------------	-----------

**U<sub>R(2)</sub> = 0.0107896**

**Nivel 03**

$S^2_1$	0.00255076
$S^2_2$	0.00191269
$S^2_3$	0.00370792
$n_1$	10
$n_2$	10
$n_3$	10

$S^2_r$	0.00272379
$S_r$	0.05218992

$S^2_t$	0.0002594
---------	-----------

$$U_{R(3)} = 0.0546185$$

**A. DETERMINACION DE LA REPRODUCIBILIDAD RELATIVA**

$$U_{R(1)} = 0.0054853$$

$$U_{R(2)} = 0.0107896$$

$$U_{R(3)} = 0.0546185$$

$$Rr = \left[ \frac{U_R \times 100\%}{promedio} \right]$$

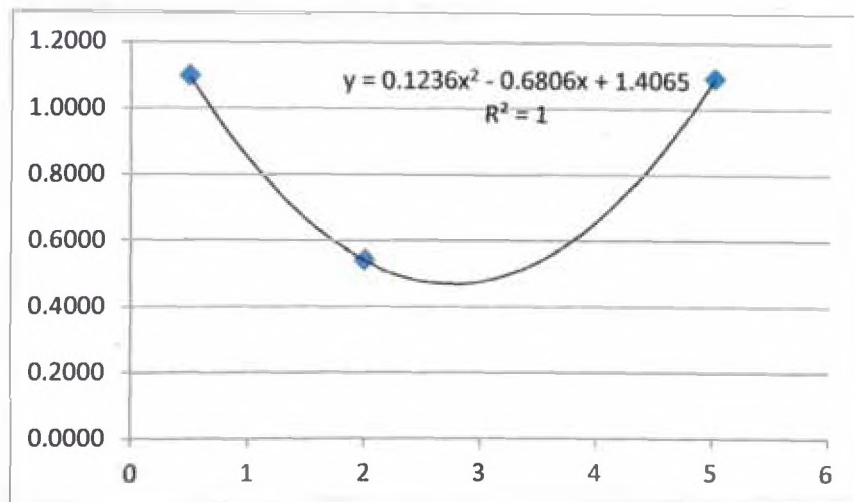
Rr= Reproducibilidad relativo  
 UR= Incertidubre asociada al analista  
 Promedio= Promedio

$$Rr(1) = 1.09705 \%$$

$$Rr(2) = 0.53948 \%$$

$$Rr(3) = 1.09237 \%$$

nivel	promedio	Reproducibilidad relativa
1	0.5	1.0971
2	2	0.5395
3	5	1.0924



$$Rr = 0.5397 \%$$

$$U_R = 0.0107940$$

### 6.9.3. Incertidumbre correspondiente a la Balanza Analítica:

PESO DE MUESTRA (g)  
 INSTRUMENTO DE MEDICION  
 INCERTIDUMBRE EXPANDIDA  
 FACTOR DE COBERTURA (K)  
 INCERTIDUMBRE ESTANDAR ( $V_m$ )

0.1
BALANZA
0.0003
2
0.00015

**6.9.4. Incertidumbre correspondiente al matraz aforado:**

VOLUMEN DE EXTRACTO (mL)	5
INSTRUMENTO DE MEDICION	FIOLA 5mL
TOLERANCIA DEL FABRICANTE	0.025
INCERTIDUMBRE EXPANDIDA	0.025
FACTOR DE COBERTURA (K)	2.44948974
INCERTIDUMBRE ESTANDAR (Vm)	0.01020621

**6.9.5. Incertidumbre correspondiente al factor de dilución:**

Fd	10
Vsolvente	900
Valicuota	100

**ESTIMACION DE LA INCERTIDUMBRE DEL VOLUMEN DEL SOLVENTE**

VOLUMEN DE SOLVENTE (mL)	900
INSTRUMENTO DE MEDICION	JERINGA
INCERTIDUMBRE EXPANDIDA	0
FACTOR DE COBERTURA (K)	2.44948974
INCERTIDUMBRE ESTANDAR (G)	0

**ESTIMACION DE LA INCERTIDUMBRE DEL VOLUMEN ALICUOTA**

VOLUMEN ALICUOTA (VAI)	100
INSTRUMENTO DE MEDICION	JERINGA
INCERTIDUMBRE EXPANDIDA	0
FACTOR DE COBERTURA (K)	2.44948974
INCERTIDUMBRE ESTANDAR (G)	0

FACTORES	VALORES	INCERT.	COEF. SENS.	APORTE
Vsolvente	900	0	0.01	0
Valicuota	100	0	-0.09	0



U <sup>2</sup> Fd	0
Ufd	0

**6.9.6. Incertidumbre correspondiente a la curva de calibración:**

m	1
n	7
Promedio X	2.11428571
S <sup>2</sup> x	2.47
b	1806873.69
S <sup>2</sup> e	1.5414E+10
C	500

Nº	CONCENTRACIÓN	AREA
1	0.5	1539135
2	0.8	2089694
3	1	2547067
4	2	4500815
5	2.5	5247882
6	3	6293077
7	5	9638875

U <sup>2</sup> (c)	0.00002647325
U(c)	0.00514522

Ecuacion de la recta:	Y= a + Cb	
	a =	730687.7
	b =	1806874
	C =	2

**6.9.7. Incertidumbre Combinada:**

FACTORES	VALORES	INCERT.	COEF. SENS.	APORTE	CONTRIBUC.
C	2	0.00514522	50	0.06618313	50.728%
Vc	5	0.01020621	20	0.04166667	31.937%
Fd	1	0	100	0	0.000%
Wm	0.1	0.00015	-1000	0.0225	17.246%
Sesgo		0.000702	1	4.928E-07	0.000%
Analistas		0.010794	1	0.00011651	0.089%

Uc <sup>2</sup> (TPH)	0.13046679
Uc (TPH)	0.36120188

**6.9.8. Incertidumbre Expandida:**

K	1.96
Uc (PCB)	0.3612
U	0.70796
<b>PCB (mg/Kg)</b>	<b>2</b>
<b>LS</b>	<b>2.70796</b>
<b>LI</b>	<b>1.29204</b>

**VII. RESUMEN DE RESULTADOS**

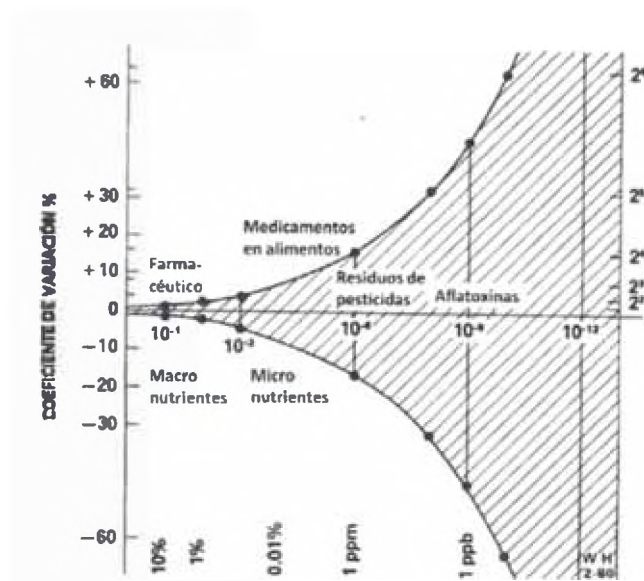
**Tabla N° 6.1. Resumen de resultados de validación**

PARÁMETRO EVALUADO	% RSD EXPERIMENTAL		% RSD TEÓRICO
	%RSD <sub>r</sub>	%RSD <sub>R</sub>	%RSD <sub>HORWITZ</sub>
Precisión del Método	Nivel 01 = 0.2324	Nivel 01 = 0.2330	Nivel 01 = 2.2192
	Nivel 02 = 0.1995	Nivel 02 = 0.2247	Nivel 02 = 1.8024
	Nivel 03 = 0.2402	Nivel 03 = 0.2433	Nivel 03 = 1.5711
Veracidad del Método	Analista 1 (P Value)		Analista 2 (P Value)
	Nivel 01 = 0.952		Nivel 01 = 0.775
	Nivel 02 = 0.119		Nivel 02 = 0.507
	Nivel 03 = 0.236		Nivel 03 = 0.676
Límite de Detección – Límite de Cuantificación	LDD: 0.1713 LDC: 0.4709		
Linealidad del método	$\text{Área} = 1806873,713 \cdot \text{Conc.} + 730687,670$ $r^2 = 0.998$ $\text{IC} (\beta_0) = (656145, 805231)$ $\text{IC} (B_1) = (1777839 ; 1835909)$		
Robustez	<b>Efecto Muestra: 0.053</b> <b>Efecto Volumen de Inyección: 0.053</b> <b>Efecto Tiempo de lectura: 0.055</b>		
Incertidumbre	2.00 mg/Kg ± 0.707 mg/Kg		

## VIII. CONCLUSIONES

**8.1.** La determinación de Bifenilos Policlorados se realizó con el detector de captura de electrones (ECD) y no con un detector de espectrometría de masas ya que este último si bien permite una buena caracterización, presenta límites de detección más altos que el ECD, con lo cual se hace más eficiente la determinación de trazas de bifenilos policlorados con el ECD. Los bifenilos policlorados al presentar especies atómicas de cloro en su estructura se convierten en especies electrofílicas lo que les permite ser sensibles ante el detector de captura de electrones.

**8.2.** El método demostró ser preciso comparando las desviaciones estándar relativas con un valor teórico de Horwitz que determina un máximo de precisión en función de la concentración. La trompeta de Horwitz (Figura 7.1) demuestra que la desviación estándar relativa se comporta de forma inversa a la concentración, de tal forma que si la concentración es más pequeña, más grande será la variación permitida para la desviación estándar relativa. En todos los casos las fuentes de variaciones en los resultados son una combinación de las variaciones producidas por los analistas, los materiales, los equipos, las instalaciones, el procedimientos; los cuales presentan sus propias errores aleatorios así como incertidumbres. En todos los caso el  $RSD_r$  de repetibilidad es menor al  $RSD_R$  de reproducibilidad este comportamiento es normal debido a que las desviaciones serán mayores cuando las condiciones de trabajo sean distintas como en diferentes días, diferentes analistas, etc.



**Figura 7.1. Trompeta de Horwitz.**

**8.3.** En la prueba de veracidad el ANALISTA 1 obtuvo las siguientes desviaciones estándares: 0.0013, 0.0036, 0.0111; mientras que el ANALISTA 2 obtuvo las siguientes desviaciones: 0.0010, 0.0043 y 0.0128; para las concentraciones 0.5 mg/Kg, 2.0mg/Kg y 5mg/Kg respectivamente. Al ser el analito de mayor concentración las desviaciones van creciendo. Notemos que en el segundo y tercer nivel el ANALISTA 1 presenta menor desviación estándar que la ANALISTA 2 esto hace notar que el ANALISTA 1 tiende a ser más preciso que el ANALISTA 2 en estos niveles.

**8.4.** El método demostró ser veraz al comparar los resultados con un valor de referencia aceptado, para esto se utilizó la herramienta del Minitab (t-student) donde los valores de P resultaron mayores que 0.05. Se utilizó la herramienta t-Student ya que la muestra de valores tenía un comportamiento normal y en consecuencia se pueden realizar inferencia estadísticas con el promedio. De no haber presentado nuestro grupo de datos un comportamiento normal se hubiera

tenido que trabajar con la mediana y hubiéramos utilizado otra herramienta estadística: Mann-Whitney. Además que la afirmación de nuestros resultados las hacemos al 95% de confianza.

**8.5.** El límite de detección resultó 0.1713 lo que produce que todos los resultados menores a este valor serán considerados como Menores al límite, este resultado está determinado al 95% de confianza. El alto límite de detección, en comparación a las lecturas normales del ECD es debido a que estamos considerando la lectura total de PCB como aroclor y no la identificación de cogéneres, nos basamos en esto al conocer a priori que la concentración de PCB en su mayoría es la comercializada como arocloros para aceites dieléctricos. El límite de cuantificación 0.4709 nos muestra el mínimo valor que podemos reportar y asegurar al 95% de confianza. En ambos casos era indispensable asegurar que el RSD resultara mayor que el 10% ya que si resultaba menor existía la posibilidad de que el método de determinación de del Límite de detección no sea efectivo

**8.6.** La linealidad del método la cual resultó con un coeficiente de correlación de 0.998 que es mayor que el esperado 0.995, con esto se demuestra que la linealidad se cumple. En este caso la linealidad está relacionado al rango lineal del detector.

**8.7.** Para la robustez se escogieron 3 parámetros de medición que podrían afectar al resultado en el caso particular de hacer pequeñas variaciones. Sin embargo se demostró que el efecto de variación que producen en el resultado no es significativo por lo que tenemos permitido realizar variaciones en estos parámetros entre el máximo y mínimo evaluado.

**8.8.** Se realizó la estimación de la incertidumbre la cual, se calculó a partir de la definición de los componentes de la incertidumbre, su cuantificación como incertidumbres estándares. Dentro de las incertidumbres estándares se observó que los mayores aportantes a la incertidumbre combinada son los efectos

producidos por las incertidumbres correspondientes a la concentración (curva de calibración) y al volumen de concentrado. La incertidumbre de la curva de calibración está relacionada a los residuales que presentan los puntos experimentales de la recta de regresión, mientras que la incertidumbre correspondiente al volumen de concentración es la relacionada a la fiola utilizada y su tolerancia. Si deseáramos disminuir el valor de la incertidumbre deberíamos atacar estos puntos. En el caso de la curva de calibración puede ser preparando de nuevo una curva de calibración o también realizando mantenimiento al equipo, cambiando la columna cromatográfica, de tal forma de disminuir los residuales y aumentar el coeficiente de correlación. En el caso del volumen de concentrado se puede comprar una fiola con una menor tolerancia o también se puede mandar a calibrar la fiola que utilizamos y ya no utilizar la tolerancia como aportante de la incertidumbre sino la incertidumbre de calibración de la fiola que se esperaría fuera menor que su propia tolerancia de fábrica.

- 8.9.** Se validó el método de determinación de Bifenilos Policlorados en Aceites Dieléctricos, demostrando a través de evaluación de veracidad, precisión, linealidad, robustez, Límite de detección y cuantificación es competente para poder aplicarse.
- 8.10.** Se estimó la incertidumbre de medición del método estableciendo los mayores contribuyentes a la incertidumbre.
- 8.11.** El método está apto para su aplicación en el alcance establecido. De realizar algún cambio al método este tiene que ser revalidado, ya sea cambio en el procedimiento, equipos, analistas.

## IX. BIBLIOGRAFÍA

- [1] Mayes, B.A., Mc. Connell, E.E., Neal, B.H., Brunner, M.J., Hamilton, S.B. et al. (1998). Comparative Carcinogenicity in Sprague-Dawley Rats of the Polychlorinated Biphenyl Mixtures Aroclors 1016, 1242, 1254, and 1260. *Journal of Toxicological Sciences*, 41. 62-76.
- [2] Comisión Nacional del Medio Ambiente CONAMA (2001). Diagnóstico Nacional de Contaminantes Orgánicos Persistentes. Primera Edición. Santiago, Chile: Autor.
- [3] Secretariat of the Basel Convention International Environment House (2002). Destruction and Decontamination Technologies for PCBs and Other POPs Wastes, Châtelaine, Suiza: Autor.
- [4] Larry W. R. & Larry G. H. (2001) PCB's: Recent Advances in Environmental Toxicology and Health Effects. Kentucky, USA.
- [5] Mitchell D. E. (1997). Analytical Chemistry of PCBs. Second Edition. USA: CRC Press
- [6] Stanley E. M. (2007) Introducción a la Química Ambiental. Primera Edición. Mexico: Reverté.
- [7] Environmental Protection Agency (2001). Method 8082A Polychlorinated Biphenyls (PCB) by Gas Chromatography. USA: Autor.
- [8] Instituto Nacional de Defensa al Consumidor. (1999) NTP-ISO 5725-1 Exactitud (veracidad y precisión) de los métodos y resultados de medición. Perú: Autor..
- [9] EURACHEM. (1999) The Fitness for Purpose of Analytical Methods: A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics. First Edition. (s.l.)
- [10] Centro Español de Metrología. (2008). Evaluación de datos de medición, Guía para la estimación de la incertidumbre de medida. España.
- [11] EURACHEM (2012). Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement, Third Edition, (s.l.)