

# UNIVERSIDAD NACIONAL DE INGENIERIA

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA PROFESIONAL DE QUIMICA



INFORME DE SUFICIENCIA

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

LICENCIADO EN QUÍMICA

Titulado:

**“VALIDACIÓN DEL MÉTODO PARA LA DETERMINACIÓN DE  
AMINAS AROMÁTICAS DERIVADAS DE COLORANTES AZOICOS  
EN MATERIALES TEXTILES MEDIANTE CROMATOGRFÍA DE  
GASES – ESPECTROMETRÍA DE MASAS”**

**AUTOR: JOSÉ LUIS PÉREZ CHAMILCO**

**ASESOR: Mg. CHRISTIAN JACINTO**

**LIMA - PERU**

**2013**

## **AGRADECIMIENTO**

A mi asesor el Mg. Christian Jacinto por su orientación y guía en el presente trabajo.

A los profesores de la Escuela de Química por su dedicación, enseñanzas y consejos a lo largo de la carrera, sin duda una experiencia invaluable.

A mi familia y amigos por su apoyo constante.

# INDICE

<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>RESUMEN</b> .....	3
<b>OBJETIVOS</b> .....	4
<b>CAPITULO 1: MARCO TEORICO</b>	
1.1. Sustancias Químicas Peligrosas en la Industria Textil .....	6
1.2. Normativa Internacional .....	7
1.3. Toxicología de las Sustancias Peligrosas .....	8
1.4. Colorantes Azoicos .....	8
1.5. Toxicología y Reducción de Colorantes Azoicos .....	9
1.6. Técnicas Analítica: Cromatografía de Gases – Espectrometría de Masas .....	10
1.6.1. Esquema de un cromatógrafo de gases .....	10
1.6.2. Gas Portador o Fase Móvil.....	10
1.6.3. Puerto de Inyección .....	11
1.6.4. Columnas Cromatográficas.....	13
1.6.5. Detectores .....	15
1.7. Validación de Métodos de ensayo.....	18
1.7.1. Planificación de la Validación .....	18
1.7.2. Criterios para la Revalidación.....	20
1.7.3. Informe de Validación .....	20
1.8. Parámetros de Validación .....	21
1.8.1. Intervalo de Trabajo y Linealidad .....	21
1.8.2. Límite de detección del Método.....	22
1.8.3. Límite de Cuantificación del Método.....	23
1.8.4. Sensibilidad del Método .....	23

1.8.5. Precisión – Repetibilidad y Reproducibilidad .....	24
1.8.6. Veracidad (Sesgo) .....	26
1.8.7. Selectividad .....	26
1.8.8. Robustez.....	27
1.8.9. Incertidumbre de la Medición .....	28
1.9. Atipicidad y Consistencia .....	33
1.9.1. Evaluación de la Atipicidad .....	33
1.9.2. Evaluación de la Consistencia.....	34
1.10. Aseguramiento de Calidad de un Método de Ensayo.....	36
1.10.1. Blanco de Reactivo del Laboratorio.....	37
1.10.2. Análisis de Duplicados .....	37
1.10.3. Análisis de Material de Referencia .....	38

## **CAPITULO 2: PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL.**

2.1. Alcance del Método de Ensayo .....	40
2.2. Procedimiento Experimental .....	40
2.2.1. Equipos y Materiales.....	40
2.2.2. Solventes y Reactivos.....	40
2.2.3. Estándares Internos .....	41
2.2.4. Estándares de Calibración .....	41
2.3. Preparación de Estándares.....	42
2.4. Preparación de Reactivos .....	42
2.5. Condiciones Ambientales.....	43
2.6. Condiciones de Seguridad .....	43
2.7. Diagrama de Flujo del Proceso Experimental.....	44

### **CAPITULO 3: OPTIMIZACIÓN DE LA TÉCNICA ANALITICA.**

3.1. Alcance del Método de Ensayo .....	47
3.2. Identificación de las aminas aromáticas (Modo SCAN) .....	47
3.3. Cuantificación de las aminas aromáticas (Modo SIM) .....	51
3.4. Influencia de la Gradiente de Temperatura .....	52
3.5. Influencia de la Partición de la Inyección.....	53
3.6. Espectro de Masas .....	54

### **CAPITULO 4: VALIDACION DEL MÉTODO DE AMINAS AROMÁTICAS.**

4.1. Evaluación del Intervalo de Trabajo del Método .....	56
4.2. Evaluación de la Linealidad del método .....	57
4.3. Evaluación del Límite de Detección y Cuantificación del Método .....	59
4.4. Evaluación de la Sensibilidad del Método .....	60
4.5. Evaluación de la Precisión – Repetibilidad y Reproducibilidad del Método.....	62
4.6. Evaluación de la Veracidad del Método .....	66
4.7. Evaluación de la Selectividad del Método .....	67
4.8. Evaluación de la Robustez del Método .....	69
4.9. Incertidumbre de la Medición del Método.....	70
4.9.1. Especificación del Mensurando.....	70
4.9.2. Modelo Matemático.....	70
4.9.3. Identificación de las Fuentes de Incertidumbre.....	71
4.9.4. Diagrama de Magnitudes de Influencia .....	71
4.9.5. Estimación de la Incertidumbre Estándar .....	72
4.9.6. Estimación de la Incertidumbre Combinada .....	73
4.9.7. Estimación de la Incertidumbre Expandida.....	73
4.9.8. Representación Gráfica de Magnitudes de Influencia.....	76

## **CAPITULO 5: ASEGURAMIENTO DE CALIDAD DEL ENSAYO DE AMINAS AROMÁTICAS.**

5.1. Evaluación del Blanco de Proceso .....	78
5.2. Evaluación de Duplicados .....	79
5.3. Evaluación del Material de Referencia .....	80
5.4. Gráficos de Control .....	81
5.5. Criterios de Control de Calidad Inicial .....	82
5.6. Criterios de Control de Calidad Mediante Gráficos de Control.....	82
<b>CONCLUSIONES</b> .....	<b>86</b>
<b>REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA</b> .....	<b>88</b>

# INDICE DE FIGURAS

## CAPITULO 1: MARCO TEÓRICO.

<i>Figura N°1.1: Formación de aminas aromáticas a partir de la reducción de grupos azoicos</i> .....	9
<i>Figura N°1.2: Esquema de un cromatógrafo de gases</i> .....	10
<i>Figura N°1.3: Altura de platos teóricos (H) en función de la velocidad de los gases</i> .....	11
<i>Figura N°1.4: Esquema de una inyección con reparto o modo split</i> .....	12
<i>Figura N°1.5: Etapas de una inyección sin reparto o modo splitless</i> .....	12
<i>Figura N°1.6: Fuerza de las interacciones en una fase estacionaria</i> .....	13
<i>Figura N°1.7: Sección transversal de las columnas capilares</i> .....	14
<i>Figura N°1.8: Esquema de un detector de Masas</i> .....	16
<i>Figura N°1.9: Análisis con un detector de masas</i> .....	17
<i>Figura N°1.10: Diseño de la prueba de Youden &amp; Steiner</i> .....	27

## CAPITULO 3: OPTIMIZACIÓN DE LA TÉCNICA ANALÍTICA.

<i>Figura N°3.1: Cromatograma en modo SCAN</i> .....	47
<i>Figura N°3.2: Comparación de espectro de masas de la anilina con biblioteca NIST</i> .....	48
<i>Figura N°3.3: Cromatograma en modo SCAN / SIM</i> .....	52
<i>Figura N°3.4: Gradiente - 15°C/min</i> .....	52
<i>Figura N°3.5: Gradiente 10°C/min</i> .....	53
<i>Figura N°3.6: Inyección Split 15:1</i> .....	53
<i>Figura N°3.7: Inyección Split 30:1</i> .....	54
<i>Figura N°3.8: Espectro de masas de la o-Toluidina</i> .....	54

## CAPITULO 4: VALIDACION DEL MÉTODO DE AMINAS AROMÁTICAS.

<i>Figura N°4.1: Curva de calibración de la anilina</i> .....	58
---	----

<i>Figura N°4.2: Gráfico de residuales de la anilina .....</i>	<i>58</i>
<i>Figura N°4.3: Grafico de control de r<sup>2</sup> de la anilina .....</i>	<i>60</i>
<i>Figura N°4.4: Diagrama de magnitudes de influencia .....</i>	<i>72</i>
<i>Figura N°4.5: Representación de magnitudes de influencia de la anilina .....</i>	<i>76</i>

## **CAPITULO 5: ASEGURAMIENTO DE CALIDAD DEL ENSAYO DE AMINAS AROMÁTICAS.**

<i>Figura N°5.1: Gráfico de control de blancos de proceso .....</i>	<i>81</i>
<i>Figura N°5.2: Gráfico de control de duplicados.....</i>	<i>81</i>

# INDICE DE TABLAS

## CAPITULO 1: MARCO TEÓRICO.

<i>Tabla N°1.1: Aplicaciones de las sustancias nocivas en la industria textil</i> .....	6
<i>Tabla N°1.2: Valores Límites según OEKO-TEX Standard 100</i> .....	7
<i>Tabla N°1.3: Consecuencias de los contaminantes</i> .....	8
<i>Tabla N°1.4: Parámetros de validación para un método cromatográfico</i> .....	18
<i>Tabla N°1.5: Actividades involucradas a la implementación de un ensayo analítico</i> .....	19
<i>Tabla N°1.6: Planificación de la ejecución de los parámetros de validación</i> .....	19
<i>Tabla N°1.7: Criterios de aseguramiento de calidad</i> .....	36

## CAPITULO 2: PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL.

<i>Tabla N°2.1: Preparación de estándares</i> .....	42
---	----

## CAPITULO 3: OPTIMIZACIÓN DE LA TÉCNICA ANALÍTICA.

<i>Tabla N°3.1: Condiciones Cromatográficas</i> .....	47
<i>Tabla N°3.2: Lista de aminas aromáticas y sus iones cuantificadores</i> .....	49

## CAPITULO 4: VALIDACION DEL MÉTODO DE AMINAS AROMÁTICAS.

<i>Tabla N°4.1: Curva de calibración de aminas aromáticas</i> .....	56
<i>Tabla N°4.2: Prueba t - Student para evaluación de linealidad – (t tabulada<sub>95%</sub> = 2.776)</i> .....	57
<i>Tabla N°4.3: Límites de detección del método y cuantificación por amina aromática</i> .....	59
<i>Tabla N°4.4: Sensibilidad del ensayo de aminas aromáticas</i> .....	61
<i>Tabla N°4.5: Evaluación de atipicidad (C tabulado<sub>5%</sub> = 0.967 y G tabulado<sub>5%</sub> = 1.155)</i> .....	62
<i>Tabla N°4.6: Evaluación de consistencia (h tabulado<sub>1%</sub> = 1.15 y k tabulado<sub>1%</sub> = 1.71)</i> .....	63
<i>Tabla N°4.7: Precisión de repetibilidad y reproducibilidad según la ISO-5725</i> .....	65

<i>Tabla N°4.8: Prueba t para la evaluación de la veracidad (t tablas<sub>95%</sub> = 2.26) .....</i>	<i>66</i>
<i>Tabla N°4.9: Prueba t - Student para evaluación de selectividad – (t tabulada = 2.26) .....</i>	<i>68</i>
<i>Tabla N°4.10: Prueba de Youden &amp; Steiner para evaluar la robustez .....</i>	<i>69</i>
<i>Tabla N°4.11: Identificación de variables con posible influencia en los resultados .....</i>	<i>70</i>
<i>Tabla N°4.12: Incertidumbre estándar de la masa .....</i>	<i>72</i>
<i>Tabla N°4.13: Incertidumbre estándar del Volumen.....</i>	<i>73</i>
<i>Tabla N°4.14. Incertidumbre estándar de la concentración y repetibilidad por niveles.....</i>	<i>74</i>
<i>Tabla N°4.15: Incertidumbre expandida por niveles y por amina aromática .....</i>	<i>75</i>

## **CAPITULO 5: ASEGURAMIENTO DE CALIDAD DEL ENSAYO DE AMINAS AROMÁTICAS.**

<i>Tabla N°5.1: Límites de control de blancos de proceso (LRB).....</i>	<i>78</i>
<i>Tabla N°5.2: Carta R - Límites de control de precisión – duplicados.....</i>	<i>79</i>
<i>Tabla N°5.3: Límites de control de recuperación - blanco fortificado.....</i>	<i>80</i>
<i>Tabla N°5.4: Criterios de control a partir de los resultados de la validación .....</i>	<i>83</i>
<i>Tabla N°5.5: Criterios de control a partir de los gráficos de control.....</i>	<i>84</i>

# INTRODUCCIÓN

En nuestro país, según el Ministerio de la Producción en el 2012 el sector textil representó el 11% del Producto bruto interno (PBI) manufacturero y el 1.6% del PBI global. Así como el 32% del total de las exportaciones manufacturadas. Por ello, la importancia de este sector y está conformado generalmente por la industria de confecciones, tejido, hilandería, tintorería y lavandería.

En la actualidad no contamos con leyes y/o normativas que prohíban o limiten el uso de ciertas sustancias peligrosas en el sector textil para la protección de los consumidores locales, debido a esto los productos que ingresan del extranjero casi sin ningún control de calidad muchas veces respaldados por tratados de libre comercio desiguales y de la misma forma no existen restricciones con los artículos textiles producidos internamente.

La figura cambia cuando se trata de exportaciones, pues América del Norte, la mayoría de países de la Unión Europea y algunos países de Asia que son los potenciales clientes exigen numerosos controles y los correspondientes certificados de conformidad de los productos, debido a que sus autoridades locales así lo exigen como protección de la salud de sus respectivas poblaciones.

El problema no es que se nos exija cumplir ciertos requerimientos para comercializar con otros países, sino la poca importancia que las autoridades locales le otorgan al tema y la poca protección hablando de términos comerciales para nuestros exportadores en todos los sectores.

Establecer valores límites para sustancias nocivas utilizadas en el sector textil aún estamos distantes comparándonos solo con países de nuestro continente como Brasil, Argentina o Chile.

En la mayoría de casos el problema se agudiza con la falta de información a los consumidores sobre el peligro potencial de estas sustancias o la divulgación de las publicaciones científicas. Por ello, uno de los objetivos del presente trabajo es fomentar y concientizar la protección del consumidor en cuanto al uso, aplicaciones y consecuencias de dichas sustancias teniendo como referencia los requerimientos de la Unión Europea.

## **DIRECTIVA RELATIVA A LOS COLORANTES AZOICOS [2]**

Según la Directiva 2002/61/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, por la que se modifica la Directiva 76/769/CEE del Consejo, y limita la comercialización y el uso de determinadas sustancias y preparados peligrosos entre los cuales se encuentran los colorantes azoicos en textiles.

En ella se especifica la prohibición, en cuanto a la utilización de colorantes azoicos peligrosos, así como de la comercialización de algunos artículos textiles y de cuero teñidos a base de esas sustancias que están en contacto con la piel, por el riesgo potencial de producir cáncer.

En lo que se refiere a los productos textiles no podrán ser comercializados, si se detecta en ellos alguna de las aminas aromáticas en una concentración superior a los 20 ppm, esto según la normativa europea Oeko-tex o el equivalente en castellano textiles ecológicos [3].

Los artículos textiles y de cuero que contienen determinados tintes azoicos tienen capacidad para liberar determinadas arilaminas que pueden resultar cancerígenas. Con el fin de proteger la salud humana, debe prohibirse su uso y la puesta en el mercado de algunos artículos teñidos a base de los mismos.

## **NORMATIVA RELATIVA A LOS COLORANTES AZOICOS**

*UNE-EN 14362/1-2:2004: "Método para la determinación de ciertas aminas aromáticas derivadas de colorantes azoicos". Parte 1: "Detección del uso de ciertos colorantes azoicos accesibles sin extracción". Parte 2: "Detección del uso de ciertos colorantes azoicos accesibles mediante extracción de fibra" [1]*

La norma describe un procedimiento para detectar el uso de ciertos colorantes azoicos que no pueden utilizarse en la fabricación o tratamiento de ciertos artículos fabricados con fibras textiles siendo, la primera parte de la norma, especialmente pensada para los textiles de compuestos de celulosa y fibras proteínicas mientras, la segunda parte, para artículos fabricados con fibras sintéticas teñidas con colorantes extraíbles.

## RESUMEN

La implementación del método para la determinación de aminas aromáticas derivadas de colorantes azoicos en materiales textiles mediante cromatografía de gases – espectrometría de masas en un laboratorio de ensayo abarcó desde la planificación de las actividades hasta la presentación del estudio de validación del método y como consecuencia del mismo los criterios de aseguramiento de calidad necesarios para asegurar resultados confiables y de esta forma cumplir con los lineamientos de la ISO/IEC 17025: 2005 – “Requisitos generales para la competencia de laboratorios de ensayo y/o calibración” y los requerimientos del ente acreditador en nuestro país el INDECOPI, que a la fecha ya es reconocido internacionalmente.

En el marco teórico se explicara brevemente en que consiste la técnica de cromatografía de gases acoplada con la espectrometría de masas, de la misma forma se presentaran algunas de las sustancias nocivas en el sector textil y sus consecuencias y por último lo que concierne a la implementación y la validación del método de ensayo.

En la parte experimental, se presentan los resultados de los parámetros de validación, los criterios de aseguramiento de calidad resultantes y las respectivas conclusiones del estudio de validación.

El intervalo de trabajo del método para todas las aminas va desde 1.0 mg/L a 10 mg/L, demostrando linealidad en este intervalo. El límite de detección del método abarca valores desde 0.2468 mg/L hasta 0.2612 mg/L entre las aminas y el de cuantificación desde 0.4748 hasta 0.5016 en las mismas.

La precisión y la incertidumbre fueron evaluadas en tres niveles de concentración a medida que aumenta la concentración evaluada disminuye el coeficiente de variación (precisión) y la incertidumbre.

En todos los niveles tenemos menos de 5% de variación para la precisión de repetibilidad y reproducibilidad. La veracidad se evaluó en tres niveles demostrando que el sesgo del laboratorio no es significativo en los análisis.

La selectividad y la robustez fueron evaluadas demostrando que el método es selectivo y robusto.

Por último, se establecieron controles de calidad como parte del aseguramiento de calidad comparando los obtenidos de la validación con los resultantes del monitoreo de datos mediante gráficos de control permitiendo acotar más los rangos de aceptación de cada control de calidad.

## **OBJETIVOS GENERAL**

- Implementar el método para la determinación de aminas aromáticas por cromatografía de gases – espectrometría de masas de acuerdo a los lineamientos de la NTP-ISO/IEC 17025: 2006.

## **OBJETIVOS ESPECIFICOS**

- Sustentar la restricción de algunas sustancias químicas peligrosas haciendo énfasis en el uso de colorantes azoicos en materiales textiles.
- Demostrar la capacidad del laboratorio para realizar el ensayo analítico mediante el estudio de validación.
- Evaluar los parámetros de validación requeridos mediante pruebas estadísticas de fuentes reconocidas.
- Establecer criterios de aseguramiento de calidad que permitan mantener bajo control los resultados emitidos para este método de ensayo.

# **CAPITULO 1: MARCO TEÓRICO**

## 1.1. SUSTANCIAS QUIMICAS PELIGROSAS EN LA INDUSTRIA TEXTIL

La industria textil utiliza en sus diversos procesos, productos químicos que según su concentración en dicho producto pueden poner en riesgo la salud de los seres vivos en: artículos textiles y en las aguas residuales que generan los procesos textiles.

En productos terminados el riesgo de contaminación siempre será mayor en bebés y niños pequeños que tienden a poner los objetos en su boca como: prendas, zapatos, juguetes, cunas, alfombras, etc. En adultos el riesgo es por contacto directo con el objeto. Es por esta razón que las tolerancias o valores límites para niños siempre es más estricta que para en artículos textiles destinados a un público adulto.

Entre los compuestos químicos utilizados en la industria textil nocivos para la salud de las personas y los ecosistemas que tienen interrelación con las aguas residuales tenemos los presentados en la *tabla N°1.1: Aplicaciones de las sustancias nocivas en la industria textil.*

**Tabla N°1.1: Aplicaciones de las sustancias nocivas en la industria textil**

CONTAMINANTE	FUENTE	APLICACIÓN
Esteres Ftalatos	Los ftalatos se usan generalmente como ablandadores del PVC (Cloruro de polivinilo)	Se usan como insumo en la fabricación de cuero sintético, en artículos textiles plastificado y en la resina de plastisoles para estampado
Arlaminas liberadas	Los colorantes azoicos pueden reducirse en el organismo liberando sus derivadas arlaminas	Los colorantes se utilizan en teñido de tejidos de fibra natural, artificial y/o sintética y cuero
Alquilfenoles y alquilfenoles etoxilados	Tensioactivos no iónicos en base a alquilfenoles etoxilados siendo el principal los nonilfenoles etoxilados	Se usan como detergente en los procesos de lavado y teñido
Compuestos orgánicos del estaño	Tienen propiedades antibacteriales y fungicidas (eliminación de hongos)	Se utiliza para prevenir malos olores en artículos textiles (calcetines, buzos) y de cuero (zapatos) provocados por la transpiración
Retardantes de llama	Los retardantes de llama bromados mejoran la resistencia al fuego	Los bifenilos polibromados son aplicados a fibras sintéticas o polímeros para prevenir incendios.
Fenoles clorados	Estos compuestos tienen propiedades biocidas	El Pentaclorofenol se utiliza para preservar artículos textiles como pesticida

## 1.2. NORMATIVA INTERNACIONAL [3]

Según el país o la región se han establecido diferentes límites de control de los potenciales contaminantes químicos. Uno de los más importantes es la Asociación Internacional de Investigación y Ensayo en el campo de la Ecología Textil, que mediante el documento OEKO-TEX Standard 100, establecen valores límites para los compuestos peligrosos en la industria textil.

En la *tabla N°1.2: Valores Límites según OEKO-TEX Standard 100*, podemos apreciar además de los valores límites por contaminante las diferentes categorías por tipo de producto.

**Tabla N°1.2: Valores Límites según OEKO-TEX Standard 100**

Sustancias Químicas Peligrosos	Clase de producto			
	I – Artículos para bebe	II – Artículos en contacto directo con la piel	III – Artículos sin contacto directo con la piel	IV – Artículos de decoración
<b>Ftalatos (%w/w)</b>				
DINP, DNOP, DEHP, DIDP, BBP, DBP, DIBP, DHP, DMEP, DPP (suma)	0.1	-	-	-
DEHP, BBP, DBP, DIBP, DHP, DMEP, DPP (suma)	-	0.1	0.1	0.1
<b>Colorantes Azoicos (mg/Kg)</b>				
Arlaminas Liberadas (individual)	20.0	20.0	20.0	20.0
<b>Tensioactivos, residuos de agentes humectantes (mg/Kg)</b>				
OP, NP (suma)	50.0	50.0	50.0	50.0
OP, NP, OP(EO) <sub>1,2</sub> , NP(EO) <sub>1,3</sub> (suma)	500.0	500.0	500.0	500.0
<b>Compuestos Orgánicos del Estaño (mg/Kg)</b>				
TBT, TPhT	0.5	1.0	1.0	1.0
DBT, DOT	1.0	2.0	2.0	2.0
<b>Productos Retardantes de Llama</b>				
PBB, TRIS, TEPA, pentaBDE, octaBDE, DecaBDE, HBCDC, TCEP	No utilizar			
<b>Fenoles Clorados (mg/Kg)</b>				
PCP	0.05	0.5	0.5	0.5
TeCP - (suma)	0.05	0.5	0.5	0.5

### 1.3. TOXICOLOGIA DE LAS SUSTANCIAS PELIGROSAS [3]

Como se mencionó anteriormente las consecuencias de estos contaminantes se incrementan cuando estos son altamente volátiles, bioacumulables en los organismos y no son biodegradables en el medioambiente. La dosis, el tiempo de exposición y la forma de contacto son factores que influyen en la toxicidad. En la *tabla N°1.3: Consecuencias de los contaminantes*, se resume algunas consecuencias de estos contaminantes.

**Tabla N°1.3: Consecuencias de los contaminantes**

CONTAMINANTE	CONSECUENCIAS
Esteres Ftalatos	Los ftalatos de menor tamaño como DEHP, DBP, DIBP y el BBP son considerados extremadamente tóxicos por los efectos adversos en la reproducción mostrados en el estudio con animales.
Anilaminas liberadas	Algunos tintes azoicos al degradarse por el uso liberan aminas aromáticas que pueden causar cáncer en contacto con la piel. Una de las aminas restringidas y comprobado como cancerígena es la bencidina.
Alquilfenoles y alquilfenoles etoxilados	Son tóxicos para la vida acuática, persistente en el medio ambiente y bioacumulativos en los tejidos corporales. El nonilfenol es considerado disruptor endocrino y puede provocar la feminización de los peces machos.
Compuestos orgánicos del estaño	Existen evidencias de su persistencia en el medioambiente y de su acumulación en el cuerpo afectando los sistemas inmunológico, neurológico e incluso reproductivo.
Retardantes de llama	La mayoría de compuestos retardantes de llama son químicos persistentes y bioacumulativos en el medioambiente como el Tris - Fosfato de tris (2,3-dibromopropilo). Pueden entrar en la cadena alimenticia donde predominan en los alimentos de origen animal.
Fenoles clorados	El pentaclorofenol es considerado altamente tóxico para los seres humanos y puede afectar muchos órganos como el hígado. Una alta exposición puede provocar elevada temperatura corporal pudiendo provocar incluso la muerte.

### 1.4. COLORANTES AZOICOS

Los colorantes azoicos tiene como grupo funcional principal el doble enlace ( $-N=N-$ ) y esta conjugado por dos anillos aromáticos. El compuesto absorbe radiación electromagnética en el espectro visible y presenta coloración. La estructura química de este tipo de colorantes, se caracteriza por la presencia del grupo azoico como cromóforo, asociado a grupos auxóchromos de tipo amino o hidroxilo [4].

Un colorante se define como todo compuesto que absorbe luz en la región visible y que posee la capacidad de adherirse por sí mismo y con firmeza a un tejido. Deben estar presente sustituyentes polares, como  $-\text{SO}_3\text{Na}$ ,  $-\text{OH}$ ,  $-\text{COOH}$  y  $-\text{NH}_2$  solubles en agua, para que la molécula de colorante se adhiera a la superficie de las fibras polares como el algodón o la lana, las cuales son de naturaleza glucídica o proteica. Otros, son utilizados como indicadores acido-base en las valoraciones o titulaciones de un ácido o una base.

Algunas de las características de los colorantes azoicos son las siguientes [5]:

- Los tonos de color pueden variar modificando los sustituyentes.
- La estabilidad a la luz se ve afectada por los fotones de luz visible y el oxígeno pueden romper el doble enlace de nitrógeno por un mecanismo radicalario decolorando los tejidos.

Para evitar los puntos anteriores en muchos casos se protege el cromóforo mediante:

- Inducir efectos estéricos al incluir grupos voluminosos vecinos.
- Interacciones puente de hidrogeno por la inclusión de sustituyentes con hidrógenos.
- Formación de especies más estables como son los complejos metálicos.

### 1.5. TOXICOLOGÍA Y REDUCCIÓN DE COLORANTES AZOICOS [6]

El grupo azo característico de los colorantes azoicos, es susceptible de reducirse, dando lugar a la formación de aminas aromáticas como se describe en las reacciones de la *Figura N°1.1: Formación de aminas aromáticas a partir de la reducción de grupos azoicos*. Algunas de estas arilaminas aromáticas, tienen un potencial cancerígeno demostrable.

En el caso de producirse la penetración de estos colorantes en nuestro organismo, supongamos a través de la saliva o la transpiración, la reducción a aminas aromáticas, puede tener lugar en el interior del mismo por acción de algunos de nuestros enzimas. De este modo se podría afirmar que aquellos colorantes azo utilizados en la tintura de artículos textiles que contienen en su estructura una amina cancerígena, susceptible de ser liberada, poseen por sí mismos potencial cancerígeno.



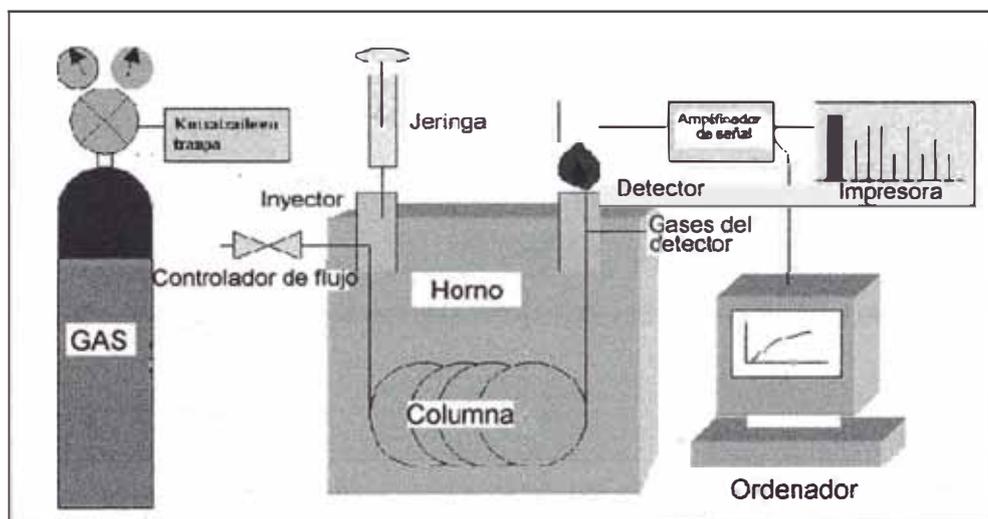
**Figura N°1.1: Formación de aminas aromáticas a partir de la reducción de grupos azoicos**

## 1.6. TÉCNICA ANALÍTICA: CROMATOGRAFÍA DE GASES – ESPECTROMETRÍA DE MASAS

### 1.6.1. ESQUEMA DE UN CROMATÓGRAFO DE GASES [7]

Mediante la cromatografía de gases es posible la determinación de compuestos que presentan volatilidad a temperaturas inferiores a (350-400) °C. Además, a esas temperaturas los analitos han de ser termoestables y no han de degradarse ni perderse parte de los mismos a través de reacciones secundarias.

La composición de los componentes químicos así como su peso molecular suelen ser determinantes para predecir la volatilidad de los compuestos. En la *figura N°1.2: Esquema de un cromatógrafo de gases*, se observan las principales partes de este instrumento.



**Figura N°1.2: Esquema de un cromatógrafo de gases**

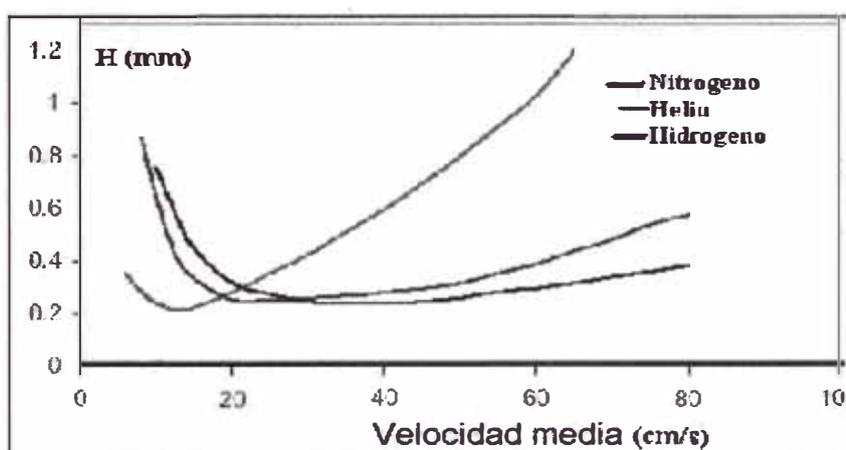
### 1.6.2. GAS PORTADOR O FASE MÓVIL

El gas portador es inerte por lo que no tiene interacción ni con la fase estacionaria ni con los analitos. Los gases más utilizados son los siguientes: helio, nitrógeno e hidrógeno, argón y el dióxido de carbono. Para elegir el gas portador en cromatografía de gases hay que tener en cuenta por lo tanto los siguientes factores: coste, accesibilidad, inercia química, detector y la eficacia para la separación.

Como se observa en la *Figura N°1.3: Altura de platos teóricos en función de la velocidad de los gases portadores*, la mejor eficacia o mayor número de platos teóricos se obtiene con el nitrógeno,

sin embargo se necesitan velocidades de flujo muy bajas, por ello, a pesar de la buena eficacia el tiempo de análisis suele ser muy alto. Por lo tanto, muchas veces se utiliza el helio y el hidrógeno que si bien disminuyen la eficacia hacen que se obtengan tiempos de análisis más adecuados. El inconveniente con el hidrógeno es por su carácter inflamable.

Los gases utilizados en cromatografía de gases tienen que tener una alta pureza (>99.995 %) y antes de ser introducidos al instrumento hay que quitarles la humedad, el oxígeno y los hidrocarburos.



**Figura N°1.3: Altura de platos teóricos (H) en función de la velocidad de los gases.**

### 1.6.3. PUERTO DE INYECCIÓN.

En cromatografía de gases los líquidos son inyectados por medio de jeringas que perforan un disco de goma denominado septum, la jeringa llega hasta un tubo de vidrio silanizado llamado liner que posee el puerto de inyección donde inyecta la muestra.

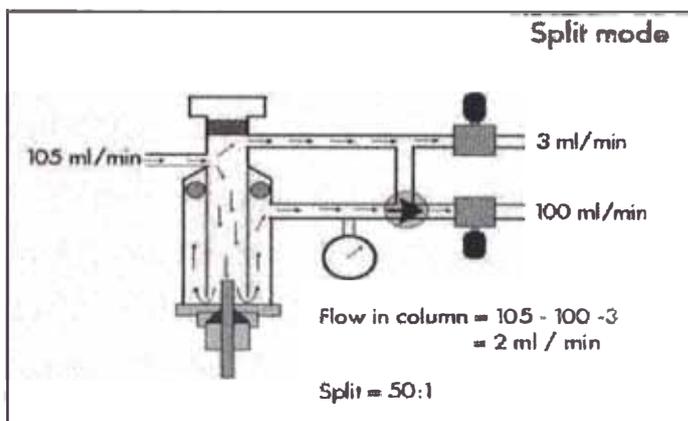
El puerto de inyección debe encontrarse a elevadas temperaturas para asegurar la volatilización de los analitos y mediante el gas portador se transporta la muestra hacia la columna.

En la cromatografía analítica se usan volúmenes de inyección entre (0.1-2)  $\mu$ l. Los inyectores empleados para columnas capilares se pueden usar de dos formas:

#### 1.6.3.1. INYECCIÓN CON REPARTO (MODO SPLIT).

Este modo de inyección se utiliza cuando existen grandes cantidades de analito en la muestra. En el punto de reparto, una parte del vapor se introducirá en la columna y la otra parte es enviada fuera

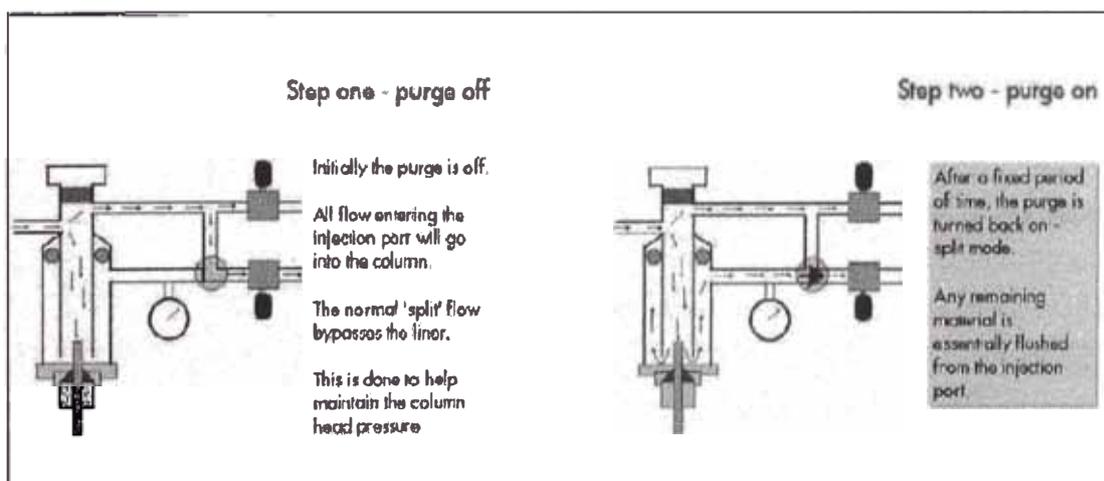
por medio de una válvula como se puede ver en la *figura N°1.4: Esquema de una inyección con reparto o modo split*. A la parte que no se introduce en la columna se le denomina relación de reparto.



**Figura N°1.4: Esquema de una inyección con reparto o modo split**

### 1.6.3.2. INYECCIÓN SIN REPARTO (MODO SPLITLESS)

Este modo es recomendado para el análisis de muestras donde la proporción de analito sea menor al 0.01 %. En este caso la válvula de purga que se mencionó en el otro modo es sellada y el flujo total es dirigido hacia la columna, después de un tiempo determinado se activa el flujo de purga para limpiar el puerto de inyección como se describe en la *figura N°1.5: Etapas de una inyección sin reparto o modo splitless*.



**Figura N°1.5: Etapas de una inyección sin reparto o modo splitless**

## 1.6.4. COLUMNAS CROMATOGRÁFICAS

La columna es el componente más importante de un sistema cromatográfico puesto que en ella se concentran la mayoría de los mecanismos necesarios para la identificación, separación y cuantificación de los componentes de la muestra.

### 1.6.4.1. FASE ESTACIONARIA

La fase estacionaria utilizada en la cromatografía gas-líquido debe de tener las siguientes características: baja volatilidad, estabilidad térmica e inercia química. Hay que tener en cuenta que la fase escogida tiene que tener el poder suficiente como para disolver la muestra para que los compuestos puedan quedar retenidos. En ese sentido, se puede seguir la regla de que "los semejantes son disueltos por los semejantes" donde la palabra "semejante" se refiere a que tengan polaridad parecida.

Para saber cuáles van a ser las interacciones entre el analito y la fase estacionaria se ha resumido en la *Figura N°1.6: Fuerza de las interacciones en una fase estacionaria*, las fases más utilizadas así como sus grupos funcionales característicos.

Grupo funcional	Figura	Fuerzas de dispersión	Dipolo-dipolo	Enlace de H	T <sub>max</sub> (°C)	Analitos
Polisiloxano		Fuertes	-	-	325-350	Hidrocarburos (n-alcanos)
Metil-		Fuertes	-	-	325-350	Hidrocarburos (alcanos, alquenos, aromáticos)
Fenil-		Muy fuertes	-	Débiles	325-350	Hidrocarburos aromáticos
Cianopropilfenil-		Fuertes	Muy fuertes	Intermedios	280-300	Compuestos ligeramente polares (hidrocar. halogenados, bifenilos, éteres...)
Polietilenglicol (PEG)		Fuertes	Fuertes	Intermedios	250-260	Compuestos polares (cetonas, alcoholes, ácidos carboxílicos, aminas...)

**Figura N°1.6 Fuerza de las interacciones en una fase estacionaria**

### 1.6.4.2. COLUMNAS EMPAQUETADAS

Estas columnas presentan longitudes comprendidas entre los (6-10) m y diámetros entre (2-6) mm y se trata de tubos tanto de acero inoxidable como de vidrio. Estos tubos están llenos de partículas finas (0.25-0.15) mm de diámetro y esas partículas hacen la función de soporte sólido puesto que son cubiertas por medio de una fina capa (0.05-1)  $\mu\text{m}$  de líquido no volátil. Las columnas bien empaquetadas pueden tener de 1000 a 2000 platos teóricos

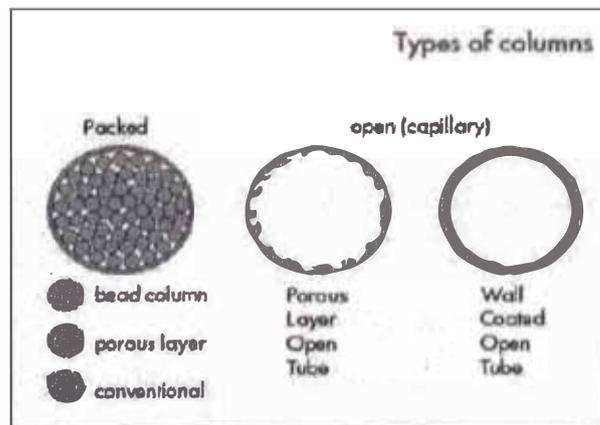
### 1.6.4.3. COLUMNAS CAPILARES

Este tipo de columnas son más estrechas (0.1-0.6 mm) y más largas (10-100 m) que las columnas empaquetadas. Entre las columnas capilares más utilizadas las más importantes se muestran en la *Figura N°1.7: Sección transversal de las columnas capilares:*

- La llamada WCOT (wall coated open tubular) o de pared cubierta.
- La llamada SCOT (support coated open tubular) o de soporte cubierto.
- La llamada PLOT (porous layer open tubular) o de capa porosa.

Estas últimas son, concretamente, las que se utilizan en la cromatografía gas-sólido.

Las columnas WCOT no son más que tubos capilares cuya pared internan aparece cubierta de fase estacionaria. En las columnas SCOT, en cambio, la parte interna del tubo capilar está cubierto por un soporte y a este último se le une la fase estacionaria.



**Figura N°1.7: Sección transversal de las columnas capilares**

Uno de los problemas más extendidos de la cromatografía de gases es la degradación de la fase estacionaria o de la columna, sobre todo a altas temperaturas. El motivo suele ser la rotura del material en la fase estacionaria y la consecuencia más significativa es la tendencia hacia arriba de la línea base a medida que avanza el cromatograma.

### **1.6.5. DETECTORES**

Si se quiere llevar un análisis cualitativo de los componentes de la muestra es necesario un espectrómetro de masas o un detector de infrarrojos. En el caso de estos detectores, los espectros de los compuestos son comparados con espectros almacenados en bibliotecas y de esta forma pueden ser identificados.

Para un análisis cuantitativo, se toman como referencia el área y la altura del pico cromatográfico y se comparan con las áreas que corresponden a los estándares de los analitos puros. En la mayoría de los casos se utilizan calibraciones con estándares internos, bien para llevar a cabo correcciones en el sistema cromatográfico, así como para corregir el cambio de la señal con respecto al tiempo del detector.

#### **1.6.5.1. DETECTOR DE ESPECTRÓMETRO DE MASAS (MSD)**

En la espectrometría de masas, las moléculas gaseosas son ionizadas, son aceleradas en un campo eléctrico y por último son separadas en función de la masa. El proceso tiene la suficiente energía como para romper las moléculas en varios trozos y al gráfico que representa la abundancia isotópica relativa de cada fragmento se le denomina espectro de masas.

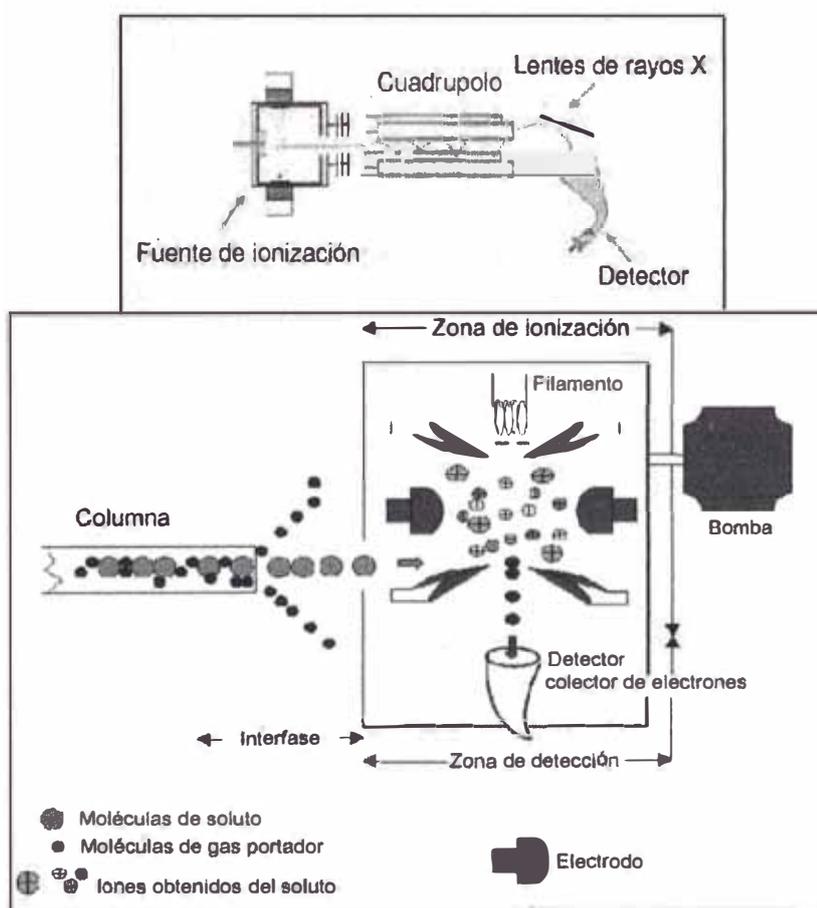
En el espectro de masas se representa la relación  $m/z$  donde  $m$  es la masa del ión en unidades de masa atómica ( $u_{ma}$ ) y  $z$  es la carga del ión. Al fragmento de igual masa a la molécula original ( $M^+$ ) se le denomina ión molecular.

Como muestra la *figura N°1.8: Esquema de un detector de masas*; el espectrómetro de masas se puede, separar en cuatro partes: interfase, fuente de ionización, zona de separación y detector.

La interfase une la columna capilar y la fuente de ionización. Las funciones de la interfase son las siguientes: quitar las moléculas de gas transportador e introducir las moléculas de analito en el espectrómetro de masas.

Las moléculas de analito que llegan a la fuente de ionización son moléculas bombardeadas con electrones de alta energía que provienen del filamento. Normalmente una energía controlada de los electrones de 70 eV suele ser suficiente para provocar la ionización ( $M + e^- \leftrightarrow M^+ + 2 e^-$ ) y garantizar la rotura de la molécula iónica. Los fragmentos obtenidos son llevados al espectrómetro de masas.

Los iones producidos en la fuente de ionización deben de llegar repartidos al detector. Los espectrómetros de masas se basan en distintos medios, entre ellos, los más extendidos son el cuadrupolo, la trampa de iones o el tiempo de vuelo. Al detector solo llegan aquellos iones que tienen una relación  $m/z$  concreta.



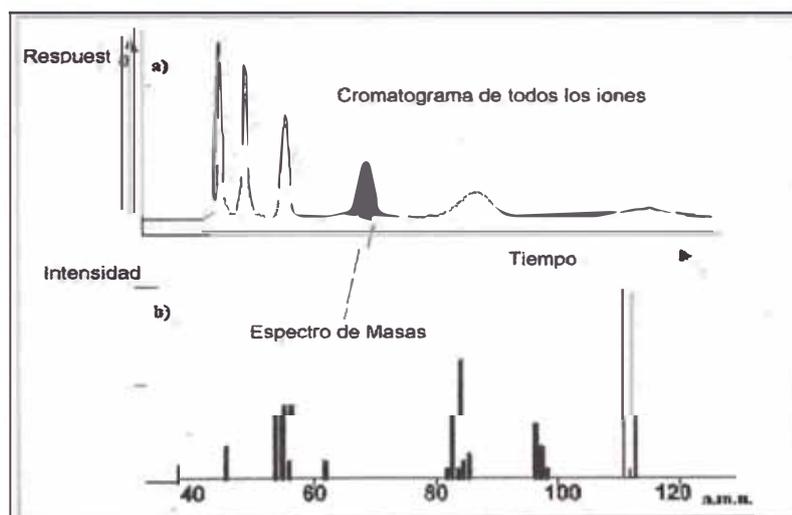
**Figura N°1.8: Esquema de un detector de Masas**

Los iones repartidos en la zona de separación llegan a un detector con forma de embudo. Por medio de este salto de electrones se consigue una amplificación de la señal en la salida del detector.

Representando la señal de todos los iones obtenidos por unidad de tiempo se obtiene el cromatograma, la diferencia con los otros detectores está que en cualquier punto del cromatograma se puede obtener el espectro de masas del compuesto eluído, tal como se muestran en la *figura N°1.9: Análisis con un detector de masas*.

En vez de hacer las medidas en todo el intervalo de la masa molecular también llamado full scan, en el caso del CG-MS entre (40-650) uma, el instrumento puede ser programado para medir masas concretas o masas simples, a esta forma de trabajar se le denomina monitoreo selectivo de iones (SIM). De esta forma se obtienen cromatogramas de menor número de picos y menores límites de detección.

Las características más importantes de los espectros de masas están las siguientes: es un detector universal, trabajando en la forma SIM presenta límites de detección bastante bajos, intervalo lineal del orden de 3 a 4 y los compuestos pueden ser identificados a partir de sus espectros de masas.



**Figura N°1.9: Análisis con un detector de masas**

## 1.7. VALIDACIÓN DE MÉTODOS DE ENSAYO [8]

Un método debe ser validado cuando sea necesario verificar que sus parámetros de desempeño son adecuados para el uso en un problema analítico en particular, tales como:

- Métodos desarrollados por el laboratorio para una aplicación específica.
- Métodos normalizados modificados a un nuevo problema o fuera del alcance del mismo.
- Métodos de textos, publicaciones científicas o proporcionados por el fabricante del equipo.

Cuando se usa métodos de referencia normalizados, no es necesario una validación completa del ensayo sino de algunos a este proceso se le denomina validación parcial.

Para un método de ensayo por cromatografía de gases es necesario los parámetros mencionados en la *tabla N°1.4: Parámetros de validación para un método cromatográfico.*

**Tabla N°1.4: Parámetros de validación para un método cromatográfico.**

PARÁMETRO	VALIDACIÓN COMPLETA	VALIDACIÓN PARCIAL
RANGO DE TRABAJO / LINEALIDAD	✓	✓
LIMITE DE DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN	✓	✓
SENSIBILIDAD	✓	✓
PRECISIÓN REPRODUCIBILIDAD	✓	✓
PRECISIÓN REPETIBILIDAD	✓	✓
VERACIDAD (SESGO)	✓	✓
SELECTIVIDAD	✓	
ROBUSTEZ	✓	
INCERTIDUMBRE	✓	✓

### 1.7.1. PLANIFICACIÓN DE LA VALIDACIÓN:

Realizar la implementación y la posterior validación de un método de ensayo nos lleva a organizar una serie de actividades preliminares dependiendo del método a validar, es decir, una planificación que permita evaluar desde los recursos en infraestructura y materiales necesario, la capacitación del personal de manera de cumplir con los requerimientos de la NTP-ISO/IEC 17025: 2006, como se indica en la siguiente *Tabla N°1.5: Actividades involucradas a la implementación de un ensayo analítico.*

**Tabla N°1.5: Actividades involucradas a la implementación de un ensayo analítico.**

ACTIVIDADES	2012									
	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O
Revisión y evaluación del método	X	X								
Instalaciones del laboratorio	X	X	X	X						
Compra de reactivos y solventes		X	X	X	X					
Compra de equipos y materiales		X	X	X	X	X				
Compra de materiales de referencia				X	X	X				
Capacitación del personal				X	X	X	X			
Implementación de documentos						X	X			
Calibración de equipos y material volumétrico						X	X	X		
<b>Validación del método de ensayo</b>							X	X	X	
Auditoría Interna								X	X	
Auditoría de Acreditación									X	X

Por consecuencia la ejecución de los parámetros de validación tiene la siguiente programación como tenemos en la tabla N°1.6: *Planificación de la ejecución de los parámetros de validación.*

**Tabla N°1.6: Planificación de la ejecución de los parámetros de validación.**

PARÁMETRO	2012		
	J	A	S
RANGO DE TRABAJO / LINEALIDAD	✓		
LIMITE DE DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN	✓		
SENSIBILIDAD	✓		
PRECISIÓN REPRODUCIBILIDAD		✓	
PRECISIÓN REPETIBILIDAD		✓	
VERACIDAD (SESGO)		✓	
SELECTIVIDAD			✓
ROBUSTEZ			✓
INCERTIDUMBRE		✓	

### **1.7.2. CRITERIOS PARA LA REVALIDACION**

La revalidación del método se efectuara cuando se modifique alguna variable como puede ser:

- Renovación o cambios en la Instrumentación.
- Variación de las condiciones o ubicación del área de trabajo.
- Ingreso de personal inexperto en el análisis.
- Alteraciones en el procedimiento del método de ensayo.

La revisión de la validación se efectuara anualmente a fin de verificar que el procedimiento analítico continúa cumpliendo con las exigencias del fin para el que se ha propuesto.

### **1.7.3. INFORME DE VALIDACIÓN**

El informe de validación es el documento de presentación con el cual el laboratorio resume todo el proceso de validación y consta de las siguientes partes:

- a) Información General: Entre las más importantes tenemos:
  - Objetivos.
  - Alcance del método propuesto.
  - Norma de Referencia.
  - Modificaciones efectuadas.
  - Equipo de personas involucradas en el estudio.
  - Fecha del estudio y de vigencia de la validación.
- b) Identificación de materiales, reactivos y equipos empleados mencionando sus características principales.
- c) Parámetros de validación: Breve descripción de las pruebas estadísticas empleadas para los parámetros y lo que se desea obtener para cumplir con dichas prueba.
- d) Resultados de los parámetros de validación: Presentación de los resultados finales de las pruebas.
- e) Criterios de aseguramiento de calidad: Resumen de los criterios obtenidos a partir de los resultados de la validación.
- f) Criterios de revalidación.
- g) Frecuencia de revalidación.
- h) Conclusiones.

## 1.8. PARÁMETROS DE VALIDACIÓN

La validación de un método de ensayo involucra el estudio de parámetros descritos a continuación y puede ser necesario evaluar todos o una parte de ellos dependiendo del tipo de método de ensayo con la finalidad de cumplir con el requisito 5.4.5.2 de la NTP ISO/IEC 17025:2006.

### 1.8.1. INTERVALO DE TRABAJO Y LINEALIDAD [9]

En el intervalo de trabajo existe un intervalo lineal en el que la señal de respuesta tiene una relación lineal con la concentración del analito. Normalmente el intervalo de trabajo comienza con el límite de cuantificación.

El intervalo de trabajo se determina analizando al menos 10 puntos de concentraciones distintas del analito de interés. La identificación del límite superior de trabajo se hace de forma visual. Y el límite inferior de trabajo es el límite de cuantificación del método.

El intervalo lineal puede coincidir con el de trabajo o ser más acotado pero se debe comprobar la linealidad en este intervalo mediante dos pruebas:

#### 1.8.1.1. GRÁFICO DE RESIDUALES

La prueba queda sujeta al gráfico de los residuales en el intervalo lineal y a la tendencia sistemática o aleatoria de los puntos.

##### **Criterios de Decisión:**

- Si el gráfico de residuales es aleatoria => Existe linealidad en el intervalo lineal.
- Si el gráfico de residuales es sistemática => No existe linealidad en el intervalo lineal.

#### 1.8.1.2. PRUEBA t STUDENT DEL COEFICIENTE DE REGRESIÓN.

En la prueba se evalúa el coeficiente de correlación mediante la siguiente ecuación:

$$r = \frac{\sum_i \{(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})\}}{\{[\sum_i (x_i - \bar{x})^2][\sum_i (y_i - \bar{y})^2]\}^{1/2}} \quad (1.1)$$

Donde:

$X_i$ : Es la concentración del analito.

$\bar{x}$ : Es el promedio de las concentraciones de los puntos del intervalo lineal.

$Y_i$ : Es la respuesta del pico del analito.

$\bar{y}$ : Es el promedio de las respuestas de los puntos del intervalo lineal.

La prueba estadística empleada es la prueba t de student a un nivel de significancia del 95%.

$$t = \frac{|r| \sqrt{(n-2)}}{\sqrt{(1-r^2)}} \quad (1.2)$$

Donde:

t: Es el valor estadístico t calculado.

n: Es el numero de puntos en el intervalo lineal.

r: Coeficiente de regresión.

Las hipótesis de la prueba son:  $H_0$ : No existe correlación entre X e Y.

$H_1$ : Existe correlación entre X e Y.

#### **Criterios de Decisión:**

- Si t calculado > t tablas; debe rechazarse  $H_0$ .
- Si t calculado < t tablas; se acepta  $H_0$ .

Siendo t tablas, el t student a un nivel del 95% de confianza de dos colas con n-1 grados de libertad.

#### **1.8.2. LÍMITE DE DETECCIÓN DEL MÉTODO [9]**

El límite de detección de un procedimiento analítico es la menor cantidad de analito en una muestra la cual puede ser detectada pero no necesariamente cuantificada con un valor exacto.

Para calcular el LDM se analizan 10 blancos independientes con la mínima concentración aceptable, siendo el límite de detección del método igual a la suma del promedio de los blancos fortificados más 3 veces la desviación estándar de los mismos.

$$LDM = X + 3S \quad (1.3)$$

Donde:

LDM: Limite de detección del método.

X: Promedio de los blancos fortificados.

S: Desviación estándar de los blancos fortificados.

Generalmente los métodos normalizados por cromatografía de gases mencionan los limites de detección que el laboratorio debe estar en capacidad de cumplir. Por otro lado, es recomendable que

los laboratorios puedan demostrar un límite de detección 10 veces menor a la tolerancia de los contaminantes analizados.

#### **Criterios de Decisión:**

Si  $10 * LDM < \text{Tolerancia restringida} \Rightarrow$  Se acepta el valor como límite de detección.

Si  $10 * LDM > \text{Tolerancia restringida} \Rightarrow$  Se rechaza el valor como límite de detección.

#### **1.8.3. LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN DEL MÉTODO [9]**

El límite de cuantificación es la menor concentración de analito que puede ser determinada con un nivel de precisión y veracidad aceptables.

Para calcular el LCM se analizan 10 blancos independientes con la mínima concentración aceptable, siendo el límite de cuantificación del método igual a la suma del promedio de los blancos fortificados más 10 veces la desviación estándar de los mismos.

$$LCM = X + 10S \quad (1.4)$$

Donde:

LCM: Límite de cuantificación del método.

X: Promedio de los blancos fortificados.

S: Desviación estándar de los blancos fortificados.

La aprobación del límite de cuantificación queda sujeta a la evaluación del límite de detección.

#### **1.8.4. SENSIBILIDAD DEL MÉTODO [9]**

Se evalúa mediante la pendiente de la curva de calibración, que es la razón entre concentración y respuesta de los compuestos analizados.

La sensibilidad se determina mediante una carta de control de Shewart [10] con las pendientes de las rectas de calibración, para ello es necesario:

- Recopilar al menos 10 valores de las pendientes de calibrado.
- El coeficiente de regresión debe ser mayor a 0.995.

Establecer los límites de advertencia y control de la siguiente forma:

- Límite de control superior:  $X + 3S$
- Límite de advertencia superior:  $X + 2S$

- Promedio de datos:  $\bar{X}$
- Límite de advertencia inferior:  $\bar{X} - 2S$
- Límite de control inferior:  $\bar{X} - 3S$

Donde: S: Es la desviación estándar de un conjunto de datos.

#### **Criterios de Decisión:**

- Se verifican los límites con al menos 5 datos más de pendientes que se encuentren dentro de los límites de advertencia.
- Los 5 datos no deben tener alguna tendencia sistemática, es decir deben ser aleatorios.

#### **1.8.5. PRECISIÓN - REPETIBILIDAD Y REPRODUCIBILIDAD [11]**

Las medidas de precisión más comunes son la precisión de repetibilidad y la precisión por reproducibilidad. Se diferencian por las condiciones en que son empleadas.

La precisión de repetibilidad está definida como aquella variabilidad mínima cuando se trabaja con un solo analista, con un solo equipo y en un corto intervalo de tiempo. Y la precisión de reproducibilidad como aquella variabilidad cuando se trabaja con diferentes analistas, distintos laboratorios y con periodos de tiempo mayores.

La precisión se calculará de acuerdo a los lineamientos de la ISO 5725-2 mediante una prueba inter-analistas donde se obtiene resultados de distintos analistas en muestras en distintos niveles de concentración. Es necesario calcular para el propósito las varianzas de repetibilidad ( $S_r$ ), reproducibilidad ( $S_R$ ) y entre laboratorios ( $S_L$ ).

La varianza de repetibilidad está definida de la siguiente manera:

$$S_r^2 = \frac{\sum (n - 1) * S_i^2}{\sum (n - 1)} \quad (1.5)$$

Donde:

$S_r$ : Varianza de repetibilidad.

$S_i$ : Es la varianza de un analista i en un nivel de concentración j.

n: Es el número de réplicas de la medición.

La varianza entre laboratorios está definida de la siguiente forma:

$$S_d^2 = \left(\frac{1}{p-1}\right) * \sum n_i * (X_i - \bar{X}_i)^2 \quad (1.6)$$

$$n_j = \left(\frac{1}{p-1}\right) * \left[ \sum n_i - \frac{\sum n_i^2}{\sum n_i} \right] \quad (1.7)$$

$$S_L^2 = \frac{S_d^2 - S_r^2}{n_j} \quad (1.8)$$

Donde:

$S_L$ : Varianza entre laboratorios.

$p$ : Es el número de analistas por nivel de concentración.

$n_i$ : Es el número de réplicas de la medición.

$X_i$ : Concentración en un nivel por analista.

$\bar{x}$ : Promedio de las concentraciones por nivel.

Si debido a efectos aleatorios se obtiene un valor negativo se asume el valor cero [11] para  $S_L$ .

La varianza de reproducibilidad está definida de la siguiente forma:

$$S_R^2 = S_r^2 + S_L^2 \quad (1.9)$$

Donde:

$S_R$ : Varianza de reproducibilidad.

La precisión puede ser expresada en términos del coeficiente de variación de repetibilidad ( $CV_r$ ) y el coeficiente de reproducibilidad ( $CV_R$ ):

$$CV_r = \frac{S_r}{\bar{X}} \cdot 100\% \quad (1.10)$$

$$CV_R = \frac{S_R}{\bar{X}} \cdot 100\% \quad (1.11)$$

### Criterios de Decisión:

- Si el  $CV_r$  es menor al 5% => se acepta el valor de la precisión de repetibilidad.
- Si el  $CV_R$  es menor al 10% => se acepta el valor de la precisión de reproducibilidad.

### 1.8.6. VERACIDAD (SESGO) [9]

La veracidad o el sesgo del método es la comparación entre el promedio de mediciones de un material de valor conocido y el promedio del certificado de dicho material de referencia.

La evaluación de la veracidad consta de realizar 10 mediciones de un material de referencia certificado (MRC) y comparar los promedios mediante la prueba t de student.

$$t = \frac{y - \mu}{s/\sqrt{n}} \quad (1.9)$$

y: Media de los resultados obtenidos.

$\mu$ : Valor del Material de Referencia.

s: Desviación Estándar de los resultados.

n: Números de datos por analista.

#### **Criterios de Decisión:**

- Si el valor de t calculado es  $<$  a t tabulado  $\Rightarrow$  Los promedios son estadísticamente equivalentes.
- Si el valor de t calculado es  $>$  a t tabulado  $\Rightarrow$  Los promedios no son estadísticamente equivalentes.

### 1.8.7. SELECTIVIDAD [9]

La selectividad o especificidad son medidas que garantizan la confiabilidad del método en presencia de interferencias.

Si las interferencias están presentes y no pueden ser separadas del analito o no son conocidas pueden tener efectos negativos en el análisis como los siguientes:

- Distorsionar la señal.
- Suprimir la señal del analito.

La selectividad del método se comprueba:

- Comparando los resultados de los análisis de un material de referencia empleando el procedimiento analítico adicionando una cantidad conocida de un interferente.
- Realizar 10 análisis del material de referencia con cada procedimiento analítico.

- Obtener los datos del valor promedio y la desviación estándar para cada grupo.
- Realizar la comparación de medias mediante la prueba t student presentada en 1.8.6.

Las hipótesis de la prueba son: Ho: El interferente no afecta el resultado.

H1: El interferente afecta el resultado.

**Criterios de Decisión:**

Si t calculado es < a t tablas => Se acepta Ho y el interferente no afecta el resultado.

Si t calculado es > a t tablas => Se rechaza Ho y el interferente afecta el resultado.

**1.8.8. ROBUSTEZ [9]**

En cualquier método analítico habrá ciertas etapas las cuales si no se llevan con suficiente cuidado, tendrán efectos adversos en el desempeño del método y en los resultados.

Estas etapas deben identificarse como parte del desarrollo del método y de ser posible evaluar su influencia mediante pruebas de robustez. Esto involucra hacer variaciones deliberadas al método y evaluar el efecto en el desempeño.

De esta forma se identifica que variables afectan el desempeño del método y en base a ello tomar medidas para controlarlas.

Para la determinación de la robustez emplearemos la prueba de Youden & Steiner quien define un mapa de diseño de trabajo para la evaluación de la robustez de un método de ensayo como el de la figura 1.10: Diseño de la prueba de Youden & Steiner.

Parámetro (Pi)	Máximo valor	Mínimo valor	Ensayo							
			1	2	3	4	5	6	7	8
P1	A	a	A	A	A	A	a	a	a	a
P2	B	b	B	B	b	b	B	B	b	b
P3	C	c	C	c	C	c	C	c	C	c
P4	D	d	D	D	d	d	d	d	D	D
P5	E	e	E	e	E	e	e	E	e	E
P6	F	f	F	f	f	F	F	f	f	F
P7	G	g	G	g	g	G	g	G	G	g
Respuesta			s	t	u	v	w	x	y	z

**Figura 1.10: Diseño de la prueba de Youden & Steiner.**

La prueba consiste en evaluar mediante la diferencia absoluta entre el valor máximo y el valor mínimo para cada variable:

Calculo de las diferencias:

$$A-a: V_A = (s+t+u+v) /4 - (w+x+y+z)/4 \quad (1.10)$$

$$B-b: V_B = (s+t+w+x)/4 - (u+v+y+z)/4 \quad (1.11)$$

$$C-c: V_C = (s+u+w+y)/4 - (t+v+y+z)/4 \quad (1.12)$$

### **Criterios de Decisión:**

Si  $|V_i| < 2.24S_r \Rightarrow$  El efecto no es significativo

Donde:

$V_i$ : Son las diferencias mencionadas en las ecuaciones (1.10), (1.11) y (1.12).

$S_r$ : Es la desviación estándar de repetibilidad.

### **1.8.9. INCERTIDUMBRE DE LA MEDICIÓN [12]**

Existen varias formas de estimar la incertidumbre de la medición para métodos de ensayo pero siempre teniendo en cuenta los requerimientos de la directriz de estimación de la incertidumbre de INDECOPI [13].

#### **1.8.9.1. Mensurando.**

Es la magnitud de medición a determinar indicando cuando sea posible el tipo de matriz y las unidades de concentración que corresponde. Toda medición lleva implícita una incertidumbre, que es un parámetro que caracteriza la dispersión de los valores que pueden ser atribuidos razonablemente al mensurando.

#### **1.8.9.2. Modelo Matemático.**

El modelo matemático es la relación entre las magnitudes de entrada y el mensurando. Y siendo una magnitud de salida se representa por:

$$Y = f(x_i) = f(x_1, x_2, \dots, x_n) \quad (1.13)$$

Siendo  $y_i$  el mejor estimado de la magnitud de entrada  $x_i$ .

### 1.8.9.3. Identificación de las fuentes de incertidumbre.

Éstas provienen de los diversos factores involucrados en la medición como son:

- Los resultados de la calibración del instrumento (certificados de calibración)
- La incertidumbre del patrón o del material de referencia.
- La repetibilidad y la reproducibilidad de las mediciones.
- Características del propio instrumento, como resolución, deriva, etc.
- Variaciones de las condiciones ambientales.

### 1.8.9.4. Estimación de la incertidumbre estándar de las fuentes de incertidumbre.

Se tienen dos tipos de evaluación de la incertidumbre y son las siguientes:

#### a) Evaluación tipo A.

La incertidumbre de una magnitud de entrada  $X_i$  obtenida a partir de  $n$  observaciones repetidas bajo condiciones de repetibilidad, se estima con base en la dispersión de los resultados individuales.

Si  $X_i$  se determina por  $n$  mediciones independientes, resultando en valores  $q_1, q_2, \dots, q_n$ , la mejor estimación de  $x_i$  para el valor de  $X_i$  es la media de los resultados individuales:

$$x_i = \bar{q} = \frac{1}{n} \sum_{j=1}^n q_j \quad (1.14)$$

La dispersión de los resultados de la medición  $q_1, q_2, \dots, q_n$ , para la magnitud de entrada  $X_i$  se expresa por su desviación estándar experimental:

$$s(q) = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{j=1}^n (q_j - \bar{q})^2} \quad (1.15)$$

La incertidumbre estándar  $u(x_i)$  de  $X_i$  se obtiene finalmente mediante el cálculo de la desviación estándar experimental de la media:

$$u(x_i) = s(\bar{q}) = \frac{s(q)}{\sqrt{n}} \quad (1.16)$$

Para una medición que se realiza por un método bien caracterizado y bajo condiciones controladas, es razonable suponer que la dispersión de los  $q_j$  no cambia, se mantiene casi igual para mediciones realizadas en diferentes días, por distintos operadores, etc.; es decir la medición está bajo control estadístico.

Para que la medición este bajo control estadístico, es necesario, comprobar que los datos usados para la estimación de la incertidumbre no incluyan valores atípicos y sean consistentes.

En el siguiente punto de este capítulo: Atipicidad y consistencia, se detalla cómo realizar el cálculo de estas pruebas.

No se puede dar una recomendación general para el número ideal de las  $n$  repeticiones, ya que éste depende de las condiciones y exigencias de cada medición específica, tenemos que considerar que:

- Aumentar  $n$  resulta en una reducción de la incertidumbre por repetibilidad.
- Un valor de  $n$  elevado, aumenta el tiempo de las mediciones.

#### **b) Evaluación tipo B.**

En una evaluación tipo B de la incertidumbre de una magnitud de entrada se usa información externa u obtenida por experiencia. Las fuentes de información pueden ser:

- Certificados de calibración.
- Manuales del instrumento de medición, especificaciones del instrumento.
- Normas o literatura.
- Valores de mediciones anteriores.

#### **c) Distribuciones de Probabilidad.**

La cuantificación de una fuente de incertidumbre incluye la asignación de un valor y la determinación de la distribución a la cual se refiere este valor. Las distribuciones que aparecen más frecuentemente son:

##### **c.1) Distribución normal.**

Cuando se dispone de valores de una incertidumbre expandida ( $U$ ), como los presentados por ejemplo en certificados de calibración, se divide  $U$  entre el factor de cobertura  $k$ , obtenido ya sea directamente o a partir de un nivel de confianza dado:

$$u(x_i) = \frac{U}{k} \quad (1.17)$$

### c.3) Distribución rectangular.

Si la magnitud de entrada  $X_i$  tiene una distribución rectangular con el límite superior  $a_+$  y el límite inferior  $a_-$ , el mejor estimado para el valor de  $X_i$  está dado por:

$$x_i = \frac{a_+ + a_-}{2} \quad (1.18)$$

Y la incertidumbre estándar se calcula por:

$$u(x_i) = \frac{a_+ - a_-}{\sqrt{12}} \quad (1.19)$$

O de la siguiente forma:

$$u(x_i) = \frac{a/2}{\sqrt{3}} \quad (1.20)$$

### c.2) Distribución triangular.

Como en una distribución rectangular, para una magnitud de entrada  $X_i$  que tiene una distribución triangular con los límites  $a_+$  y  $a_-$ , el mejor estimado para el valor de  $X_i$  está dado por:

$$x_i = \frac{a_+ + a_-}{2} \quad (1.21)$$

La incertidumbre estándar se calcula en este caso por:

$$u(x_i) = \frac{a_+ - a_-}{\sqrt{24}} = \frac{a/2}{\sqrt{6}} \quad (1.22)$$

#### 1.8.9.5. Estimación de la Incertidumbre Combinada.

Es el resultado de la combinación de las contribuciones de todas las fuentes es la incertidumbre estándar combinada  $U_c(y)$ . La contribución  $u_i(y)$  de cada fuente a la incertidumbre combinada depende de la incertidumbre estándar  $u(x_i)$  de la propia fuente y del impacto de la fuente sobre el

mensurando. Se determina  $u_i(y)$  por el producto de  $u(x_i)$  y su coeficiente de sensibilidad  $C_i$  (o factor de sensibilidad):

$$u_i(y) = C_i \cdot u(x_i) \quad (1.23)$$

#### 1.8.9.6. Coeficiente de sensibilidad.

El coeficiente de sensibilidad describe qué tan sensible es el mensurando con respecto a variaciones de la magnitud de entrada correspondiente. La determinación del coeficiente de sensibilidad a partir de una relación funcional se realiza de la siguiente forma:

Si el modelo matemático para el mensurando  $Y = f(X_1, X_2, \dots, X_N)$  describe la influencia de la magnitud de entrada  $X_i$  suficientemente bien mediante una relación funcional, el coeficiente de sensibilidad  $C_i$  se calcula por la derivada parcial de  $f$  con respecto a  $X_i$ :

$$C_i = \left. \frac{\partial f(X_1, \dots, X_N)}{\partial X_i} \right|_{X_1=x_1, \dots, X_N=x_N} \quad (1.24)$$

El coeficiente de sensibilidad  $C_i$  es igual para todas las fuentes de incertidumbre relacionadas con la misma magnitud de entrada  $X_i$ .

#### 1.8.9.7. Estimación de Incertidumbre Expandida.

La incertidumbre expandida  $U$  indica entonces un intervalo, llamado intervalo de confianza, que representa una fracción  $p$  de los valores que puede probablemente tomar el mensurando. El valor de  $p$  es llamado el nivel de confianza y puede ser elegido a conveniencia.

Se calculará la incertidumbre expandida  $U$  multiplicando la incertidumbre combinada  $U_c(y)$  por el factor de cobertura  $k$  determinado.

$$U = k \cdot U_c \quad (1.25)$$

El resultado de la medición, indicando el estimado  $y$  el mensurado, se expresara con la incertidumbre final y el factor de cobertura  $k$ , que se corresponde con una probabilidad de aproximadamente 95%.

## 1.9. ATIPICIDAD Y CONSISTENCIA DE DATOS.

La mayoría de pruebas estadísticas requieren comprobar la atipicidad y la consistencia de los datos experimentales antes de realizar la prueba correspondiente al parámetro de validación. Entre los parámetros de validación que necesitan ser evaluadas tenemos: Precisión, Veracidad, Selectividad y la Incertidumbre.

Se utilizarán las siguientes herramientas estadísticas con sus respectivos criterios de decisión de acuerdo al número de analistas y observaciones:

### 1.9.1. EVALUACIÓN DE LA ATIPICIDAD.

Para evaluar la atipicidad tenemos las siguientes pruebas:

#### 1.9.1.1. Prueba de Cochran:

Tiene como finalidad determinar si existen datos atípicos mediante la evaluación de la mayor varianza de un conjunto de datos.

$$C_p = \frac{\max(s_{pi}^2)}{\sum s_{pi}^2} \quad (1.26)$$

Donde:

$C_p$ : Es el valor estadístico de la prueba.

$\max(S_{pi}^2)$ : Varianza máxima dentro del conjunto de datos.

$\sum S_{pi}^2$ : Es la suma de todas las varianzas de los conjuntos de datos.

Para la evaluación se compara el valor de C obtenido con el crítico de tablas al 5% y 1%.

#### Criterios de Decisión:

- Si el estadístico C es menor o igual al valor crítico al 5% es aceptado como correcto.
- Si el estadístico C es mayor al valor crítico al 5% pero menor o igual al valor crítico al 1% es considerado rezagado.
- Si el estadístico C es mayor que el valor crítico al 1% es considerado como valor atípico.

#### 1.9.1.2. Prueba de Grubbs:

Tiene como finalidad determinar la presencia de datos atípicos en los resultados obtenidos por los analistas mediante la comparación de promedios.

$$G = \frac{\text{Max}|(x_p - \bar{x})|}{s} \quad (1.27)$$

Donde:

G: Es el valor estadístico de la prueba.

$X_p$ : Es un valor promedio de los datos de un solo analista.

$\bar{x}$ : Es el promedio de promedios o la gran media del conjunto de datos.

Max |  $(X_p - \bar{x})$  |: Es la máxima diferencia entre uno de los promedios y la gran media.

s: desviación estándar.

Para la evaluación se compara el valor de G obtenido con el crítico de tablas al 5% y 1%.

#### **Criterios de Decisión:**

- Si el estadístico G es menor o igual al valor crítico al 5% es aceptado como correcto.
- Si el estadístico G es mayor al valor crítico al 5% pero menor o igual al valor crítico al 1% es considerado dudoso.
- Si el estadístico G es mayor que el valor crítico al 1% es considerado como valor atípico.

### **1.9.2. EVALUACIÓN DE LA CONSISTENCIA h Y k DE MANDEL.**

Su propósito es probar que los datos son consistentes entre laboratorios y dentro de los laboratorios en varios niveles de concentración. En este caso se usara para probar la consistencia entre analistas y de un analista en particular.

El valor de h representa la consistencia estadística entre analistas, mientras que k representa la consistencia estadística interna de un analista.

#### **1.9.2.1. EVALUACIÓN DEL h DE MANDEL.**

El estadístico de consistencia  $h$  es un indicador de cómo el promedio de los resultados de un analista en particular se compara con el promedio del resto de los analistas y está definido por:

$$h_j = \frac{\bar{y}_j - y_j}{\sqrt{\frac{1}{p_j - 1} \sum_{i=1}^{p_j} (\bar{y}_j - y_j)^2}} \quad (1.28)$$

Donde:

$h_{ij}$ : Valor estadístico de la prueba.

$\overline{y_{ij}}$ : Promedio de los datos de un analista.

$\overline{y_j}$ : Promedio de los promedios de todos los analistas.

$\rho$ : Número de Analistas participantes.

Para la evaluación se compara el h obtenido por cada analista con el h crítico de tablas al nivel de significancia establecido.

### 1.9.2.2. EVALUACIÓN DEL k DE MANDEL:

El estadístico de consistencia  $k$  es un indicador de cómo la desviación estándar de repetibilidad de un analista en particular se compara con el resto de analistas. Está definido por:

$$k_{ij} = \frac{s_{ij} \sqrt{\rho_j}}{\sqrt{\sum s_{ij}^2}} \quad (1.29)$$

Donde:

$k_{ij}$ : Valor estadístico de la prueba.

$s_{ij}$ : Desviación estándar de los resultados de un analista en particular.

$s_{ij}^2$ : Varianza de los resultados de un analista en particular.

$\rho$ : Número de Analistas participantes.

Para la evaluación se compara el k obtenido por cada analista con el k crítico de tablas al nivel de significancia establecido.

En ambos los casos, los valores de h y k deben ser inferiores a los nivel del 1% y 5 %, para considerar que el conjunto de datos es consistente.

#### Criterios de Decisión:

- Si  $h_{calculado} < h_{crítico}$ , entonces el conjunto de valores es consistente entre analistas.
- Si  $k_{calculado} < k_{crítico}$ , entonces el conjunto de valores es consistente dentro de los analistas.

### 1.10. ASEGURAMIENTO DE CALIDAD DE UN MÉTODO DE ENSAYO.

El aseguramiento de calidad de un ensayo es generalmente la consecuencia de los resultados de la validación del método, cuando el estudio cumplió con los objetivos del fin propuesto.

Los criterios de aseguramiento de calidad se implementan con la finalidad de monitorear resultados fuera de control y de esta forma garantizar los resultados emitidos por el laboratorio de ensayos.

Entre los principales controles de calidad de ensayos analíticos tenemos los presentados en la siguiente *tabla N°1.7: Criterios de aseguramiento de calidad*.

**Tabla N°1.7: Criterios de aseguramiento de calidad**

CONTROL DE CALIDAD	CRITERIO	FRECUENCIA
MUESTRAS CIEGAS	Evaluación de la competencia técnica de los analistas	Cada 6 meses
ANALISIS DE DUPLICADOS	Evaluación de la precisión del método	Cada vez que se realiza el ensayo
MATERIALES DE REFERENCIA	Evaluación de la recuperación del método	Cada vez que se realiza el ensayo
MUESTRAS FORTIFICADAS	Evaluación de las interferencias del método	Cada vez que se realiza el ensayo
BLANCOS DE PROCESO	Evaluación de la contaminación cruzada.	Cada vez que se realiza el ensayo
PRUEBAS INTERLABORATORIOS	Evaluación del sesgo del laboratorio	Anualmente

De la tabla anterior desarrollaremos los siguientes criterios de control de calidad: Análisis de duplicados, Materiales de referencia y los blancos de proceso.

La elección de estos tres se debe a que son aplicables a un método de ensayo por cromatografía de gases y también porque son controles dinámicos que nos permiten monitorear los resultados con respecto al tiempo.

Una vez obtenido un número de datos que sean representativos, el laboratorio puede establecer nuevos criterios de control con sus propios resultados.

### 1.10.1. BLANCO DE REACTIVO DEL LABORATORIO (LRB):

Las soluciones blanco reactivo debe seguir todos los pasos del procedimiento analítico evaluando así la posible contribución de agentes contaminantes durante el desarrollo del análisis en sus distintas etapas.

Recopilar datos del LRB para establecer una carta de control del tipo de Shewhart [10]. Los límites de advertencia y control están definidos de la siguiente forma:

- Límite de control superior:  $X + 3S$ .
- Límite de advertencia superior:  $X + 2S$ .
- Promedio de datos:  $X$ .
- Límite de advertencia inferior:  $X - 2S$ .
- Límite de control inferior:  $X - 3S$ .

Donde: S: Es la desviación estándar de un conjunto de datos.

#### **Criterios de Aceptación:**

Criterio de aceptación inicial (numero de datos < 20):

- Los resultados de los blancos de proceso deben ser menores al límite de cuantificación.

Criterio de aceptación de rutina (numero de datos  $\geq 20$ ):

- Los valores de LRB deben estar dentro de los límites de advertencia.

### 1.10.2. ANÁLISIS DE DUPLICADOS.

El análisis de duplicados de la muestra permite evaluar la precisión. Recopilar datos de los duplicados para establecer una carta de control de precisión de tipo R [10]. Los límites de advertencia y control están definidos de la siguiente forma:

- Límite de control superior:  $D4.R$ .
- Límite de advertencia superior:  $R \pm 2/3(D4.R - R)$ .
- Línea central:  $R$ .
- Límite de control inferior:  $D3.R$ .

Donde: D3 y D4: Son valores estadísticos de tablas.

### **Criterios de Aceptación:**

Criterio de aceptación inicial (número de datos < 20):

- Los duplicados deben cumplir con un RPD < 10%.

Criterio de aceptación de rutina (número de datos ≥ 20):

- Los duplicados deben estar por debajo del límite de advertencia superior.

### **1.10.3. ANALISIS DE MATERIAL DE REFERENCIA**

Permite evaluar mediante el análisis de un material de referencia la recuperación. Recopilar datos del material de referencia para establecer una carta de control del tipo de Shewhart [10]. Los límites de advertencia y control están definidos de la siguiente forma:

- Límite de control superior:  $X + 3S$ .
- Límite de advertencia superior:  $X + 2S$ .
- Promedio de datos:  $X$ .
- Límite de advertencia inferior:  $X - 2S$ .
- Límite de control inferior:  $X - 3S$ .

Donde: S: Es la desviación estándar de un conjunto de datos.

### **Criterios de Aceptación:**

Criterio de aceptación inicial (número de datos < 20):

- Los resultados del material de referencia deben estar entre 90% y 110% de recuperación.

Criterio de aceptación de rutina (número de datos ≥ 20):

- Los valores del material de referencia deben estar dentro de los límites de advertencia.

Para los tres controles de presentarse valores fuera de los criterios de aceptación establecidos identificar la causa, corregirla y repetir los ensayos luego de la última verificación aceptable del criterio de control.

# **CAPITULO 2: PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL**

## **2.1. ALCANCE DEL MÉTODO DE ENSAYO**

**2.1.1. DETERMINACION DE AMINAS AROMATICAS DERIVADAS DE COLORANTES AZOICOS SIN EXTRACCION (UNE-EN 14362-1:2004):** Artículos textiles compuestos de fibras de celulosa y fibras proteínicas, como por ejemplo: algodón, viscosa, lana, seda.

**2.1.2. DETERMINACION DE AMINAS AROMATICAS DERIVADAS DE COLORANTES AZOICOS CON EXTRACCION (UNE-EN 14362-2:2004):** Artículos textiles compuestos de fibras sintéticas como por ejemplo: prendas de poliéster.

## **2.2. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL**

### **2.2.1. EQUIPOS Y MATERIALES:**

- Cromatógrafo de Gases – Espectrómetro de Masas (GC-MS): Equipado con columna HP-35MS, Inyector capaz de realizar inyección en modo split y splitless.
- Balanza Analítica: con precisión aproximada de  $\pm 0.5\text{mg}$ .
- Evaporador Rotatorio: Calefacción controlable.
- Baño Termostático: Calefacción Controlable.
- Baño Ultrasónico: Calefacción Controlable.
- Equipo para Reflujo (Consta de un condensador, un balón de reacción, un gancho de material inerte donde reposaran las fibras por donde escurrirá el solvente condensado).
- Manta de calentamiento con temperatura controlable (temperatura controlable hasta  $200^{\circ}\text{C}$ ).
- Estufa de calefacción (temperatura controlable hasta  $200^{\circ}\text{C}$ ).
- Dispensador de agua ultrapura.
- Extractores de Gases.
- Vasos de vidrio hermético con revestimiento PTFE: 20 ml y 50ml.
- Micropipetas: En los rangos de (10-100)  $\mu\text{L}$  y (100-1000)  $\mu\text{L}$ .
- Microjeringas: En los siguientes volúmenes (10, 50, 100 y 500)  $\mu\text{L}$ .
- Columnas de vidrio, de las siguientes dimensiones: diámetro interior (25-30) mm, longitud (140-150) mm y con salida tipo bureta).

### **2.2.2. SOLVENTES Y REACTIVOS:**

- Metano ( $\text{CH}_3\text{OH}$ ): Grado Cromatográfico.
- Acetato de Etilo ( $\text{CH}_3\text{COOC}_2\text{H}_5$ ): Grado Cromatográfico.

- Éter terbutílico ((CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>COCH<sub>3</sub>): Grado Cromatográfico.
- Clorobenceno (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>Cl): Grado Cromatográfico.
- Hidróxido de sodio (NaOH): Grado analítico.
- Citrato de sodio (Na<sub>3</sub>C<sub>3</sub>H<sub>5</sub>O(COO)<sub>3</sub>): Grado analítico.
- Ácido cítrico (H<sub>3</sub>C<sub>3</sub>H<sub>5</sub>O(COO)<sub>3</sub>): Grado analítico.
- Ditionito de sodio (Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>4</sub>): Grado analítico.
- Tierra de Diatomeas: Grado analítico.

**2.2.3. ESTÁNDARES INTERNOS (EI):** Los estándares internos de concentración 1000 mg/L son:

- **EI-1:** Naftaleno-d<sub>8</sub>, grado cromatográfico (CAS N° 1146-65-2).
- **EI-2:** 2, 4,5-Tricloroanilina, grado cromatográfico (CAS N° 636-30-6).
- **EI-3:** 4 - Aminoquinaldina, grado cromatográfico (CAS N° 6628-04-2).
- **EI-4:** Antraceno-d<sub>10</sub>, grado cromatográfico (CAS N° 1719-06-8).

**2.2.4. ESTÁNDARES DE CALIBRACIÓN (EC):** Los estándares de calibración de concentración 1000 mg/L cada uno son:

- **EC-1:** Anilina, grado cromatográfico (CAS N° 62-53-3).
- **EC-2:** o-Toluidina, grado cromatográfico (CAS N° 95-53-4).
- **EC-3:** o-Anisidina, grado cromatográfico (CAS N° 90-04-0).
- **EC-4:** 4-Cloroanilina, grado cromatográfico (CAS N° 106-47-8).
- **EC-5:** p-Cresidina, grado cromatográfico (CAS N° 120-71-8).
- **EC-6:** 2,4,5-Trimettlanilina, grado cromatográfico (CAS N° 137-17-7).
- **EC-7:** 4-cloro-o-toluidina, grado cromatográfico (CAS N° 95-69-2).
- **EC-8:** 4-Metil-m-fenilendiamina, grado cromatográfico (CAS N° 95-80-7).
- **EC-9:** 4-Metoxi-m-fenilendiamina, grado cromatográfico (CAS N° 615-05-4).
- **EC-10:** 2-Naftilamina, grado cromatográfico (CAS N° 91-59-8).
- **EC-11:** 5-Nitro-o-toluidina, grado cromatográfico (CAS N° 99-55-8).
- **EC-12:** 1,4-Fenilenediamina, grado cromatográfico (CAS N° 122-39-4).
- **EC-13:** 4-Aminobifenol, grado cromatográfico (CAS N° 92-67-1).
- **EC-14:** 4-Aminoazobenceno, grado cromatográfico (CAS N° 60-09-3).
- **EC-15:** 4,4'-Oxidianilina, grado cromatográfico (CAS N° 101-80-4).
- **EC-16:** Bencidina, grado cromatográfico (CAS N° 92-87-5).

- **EC-17:** 4,4'-Metilendianilina, grado cromatográfico (CAS N° 101-77-9).
- **EC-18:** Aminoazotolueno, grado cromatográfico (CAS N° 97-56-63).
- **EC-19:** 4,4'-metilendi-o-toluidina, grado cromatográfico (CAS N° 838-88-0).
- **EC-20:** 3,3'-Dimetilbencidina, grado cromatográfico (CAS N° 119-93-7).
- **EC-21:** 4,4'-Tiodianilina, grado cromatográfico (CAS N° 139-65-1).
- **EC-22:** 4,4'-Metilen bis(2-cloroanilina), grado cromatográfico (CAS N° 101-14-4).
- **EC-23:** 3,3'-Diclorobencidina, grado cromatográfico (CAS N° 91-94-1).
- **EC-24:** 3,3'-Dimetoxibencidina, grado cromatográfico (CAS N° 119-90-4).

### 2.3. PREPARACIÓN DE ESTÁNDARES:

- **Estándares Internos:** Se agrega una cantidad puntual de cada estándar interno para obtener una concentración de 5 mg/L en los estándares de calibración, estándares de verificación así como en todas las muestras procesadas.
- **Estándares de calibración:** Se prepararon a partir de las soluciones stock de aminas. La curva de calibración para la determinación de aminas aromáticas consta de 4 puntos además del blanco: 1.0, 2.5, 5.0 y 10.0 mg/L.
- **Estándar de Verificación:** Este estándar de verificación del proceso se preparó a partir de las soluciones stock en una concentración de 5.0 mg/L.

En la tabla N°2.1: *Preparación de estándares*, se detalla de manera más específica este tema.

**Tabla N°2.1: Preparación de estándares.**

Estándar	V. estándar (mL)	V. estándar interno (mL)	Volumen (mL)	Concentración (mg/L)
Blanco de calibración	0.00	0.01 por cada E.I	2.0	0.0
Estándar 1	0.02	0.01 por cada E.I	2.0	1.0
Estándar 2	0.05	0.01 por cada E.I	2.0	2.5
Estándar 3	0.10	0.01 por cada E.I	2.0	5.0
Estándar 4	0.20	0.01 por cada E.I	2.0	10.0
Estándar Verificación	0.10	0.01 por cada E.I	2.0	5.0

### 2.4. PREPARACIÓN DE REACTIVOS:

- Solución Tampón de Hidróxido de Sodio – Citrato de sodio – Ácido Cítrico, pH=6, C=0.06 M (Citrato de sodio – ácido cítrico).

Se pesa 8.265 g de citrato de sodio y 6.237 g de ácido cítrico (considerar los factores estequiométricos), se disuelve en 250 ml y se lleva a un volumen de 500 ml con agua ultrapura. Antes del enrase se lleva a pH 6 con hidróxido de sodio 1M.

- Solución de Ditionito de Sodio ( $\rho=200$  mg/ml)

Se pesa 10 g de ditionito de sodio y disolver en 50 ml. Esta solución debe ser preparada al instante cuando se la necesite.

- Preparación de columnas con tierra de diatomeas

Se rellena la columna de vidrio mencionada en los materiales a utilizar con aproximadamente 20 g de tierra de diatomeas colocando un filtro de aproximadamente un 1g de fibra de vidrio.

## **2.5. CONDICIONES AMBIENTALES**

El Área donde se ubican los equipos como: Cromatógrafo de Gases – Espectrómetro de Masas, Balanza Analítica y reactivos como los solventes orgánicos y los estándares de calibración e internos tienen condiciones ambientales de temperatura y humedad específicas como lo indican los manuales y certificados correspondientes.

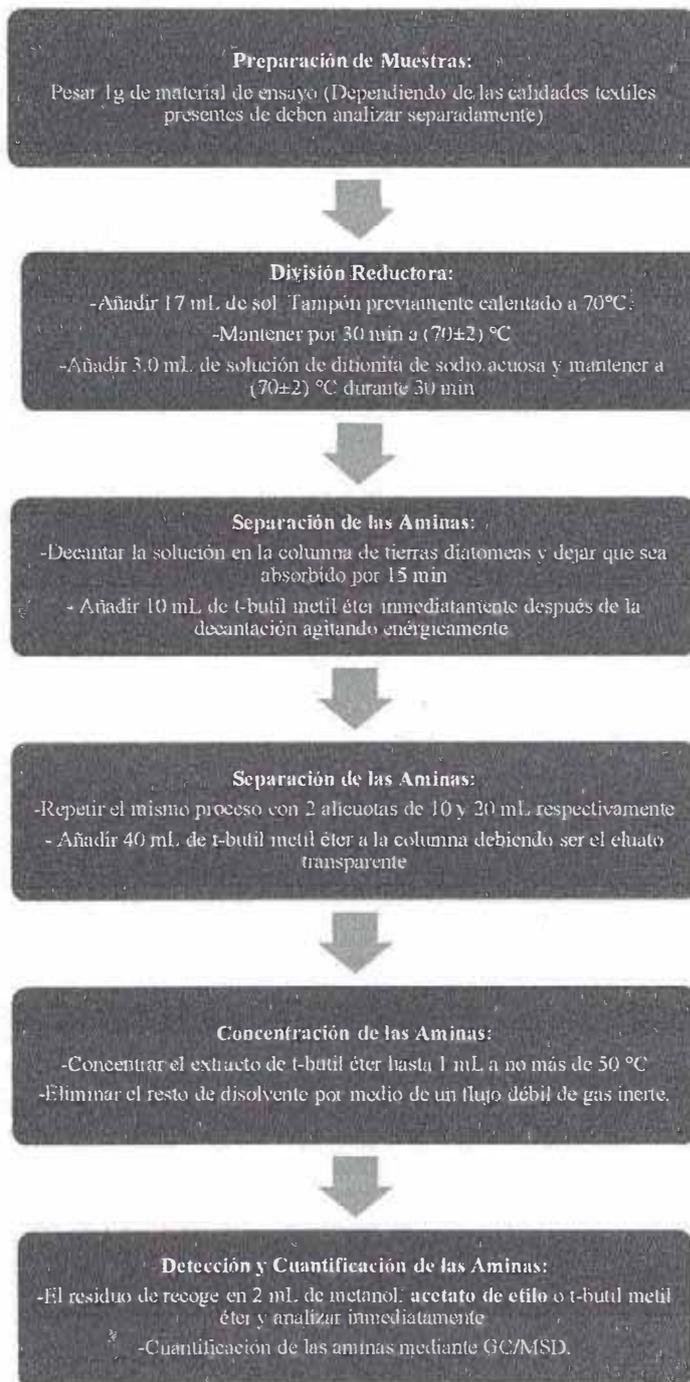
De igual manera las soluciones preparadas a partir de los estándares de calibración y los estándares internos, así como las muestras procesadas tienen que mantenerse a bajas temperaturas para evitar su degradación.

## **2.6. CONDICIONES DE SEGURIDAD:**

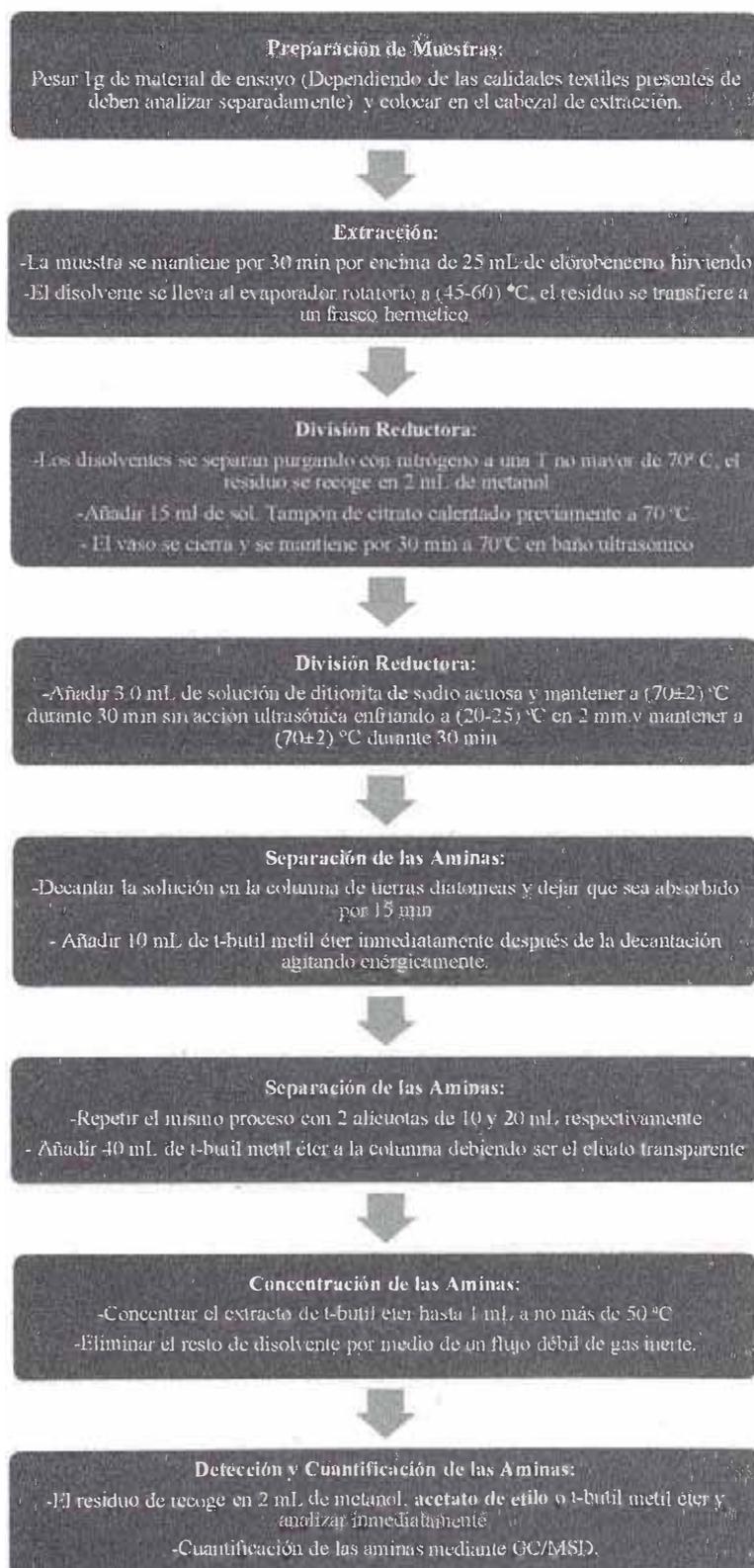
Es indispensable usar guantes, así como respiradores provistos de cartuchos de protección para solventes orgánicos y soluciones de alta pureza de aminas aromáticas que son restringidas por ser potencialmente cancerígeno. Es de carácter obligatorio la manipulación de reactivos y solventes en zonas ventiladas o provistas de campanas extractoras. El uso de materiales silicios como polvo fino (tierra de diatomeas) debe hacerse utilizando el respirador provisto con un filtro especial para partículas pequeñas.

## 2.7. DIAGRAMA DE FLUJO DEL PROCESO EXPERIMENTAL

### 2.7.1. DETERMINACION DE AMINAS AROMATICAS DERIVADAS DE COLORANTES AZOICOS SIN EXTRACCION (UNE-EN 14362-1:2004)



## 2.7.2. DETERMINACION DE AMINAS AROMATICAS DERIVADAS DE COLORANTES AZOICOS CON EXTRACCION (UNE-EN 14362-2:2004)



# **CAPITULO 3:**

# **OPTIMIZACIÓN DE LA**

# **TÉCNICA ANALÍTICA**

### 3.1. CONDICIONES CROMATOGRÁFICAS:

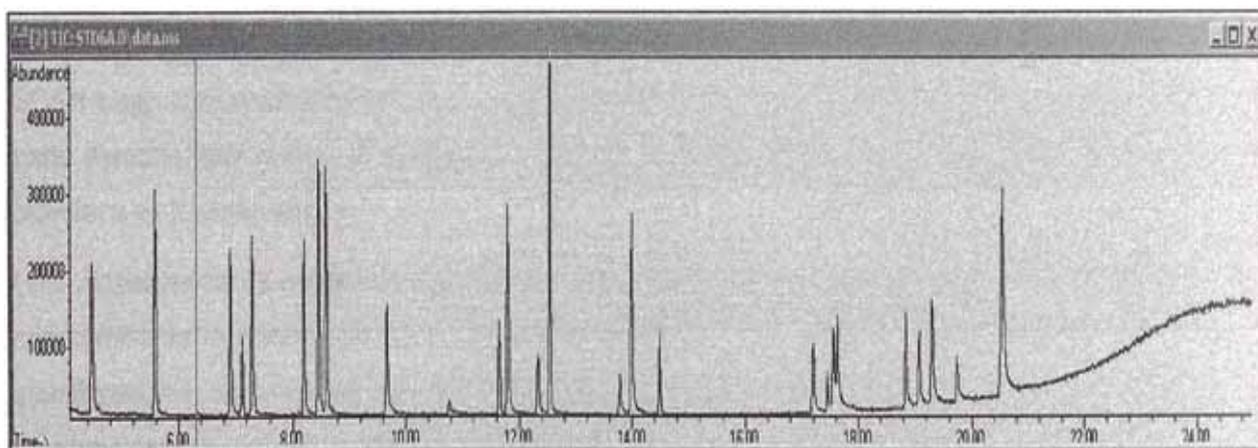
Los métodos UNE-EN-14362-1 y UNE-EN-14362-2: "Determinación de aminas aromáticas derivadas de colorantes azoicos" indican en su Anexo A: "Análisis cromatográfico", las siguientes condiciones y los accesorios necesarios para su aplicación mencionados en la *tabla N°3.1: "Condiciones cromatográficas"*.

**Tabla N°3.1: Condiciones Cromatográficas**

<b>Condiciones Cromatográficas</b>	
Columna capilar	DB-35MS longitud 35m, diámetro interior 0.25mm, espesor 0.25um
Sistema inyector	Dividido o sin dividir (Split o splitless)
Temperatura del inyector	260°C
Gas transportador	Helio (flujo: 1ml/min)
Programa de temperatura	100°C (2 min), 100°C a 310°C (15°C/min), 310°C (2 min)
Volumen de inyección	1.0 uL (división de inyección 1:15)
Detector	Espectrómetro de masas

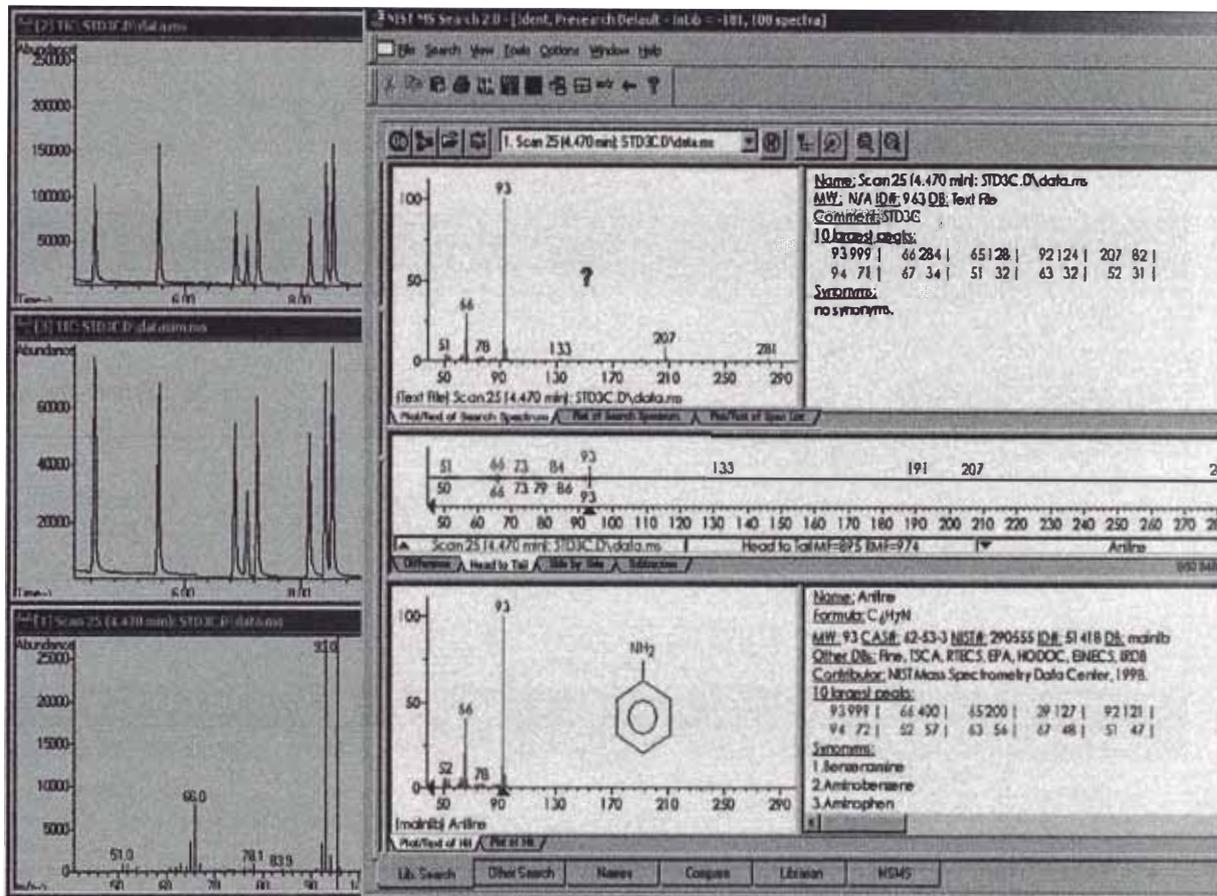
### 3.2. IDENTIFICACIÓN DE LAS AMINAS AROMÁTICAS (MODO SCAN)

Las aminas aromáticas fueron separadas en la columna capilar a las condiciones mencionadas en la tabla anterior, resultando el cromatograma de la *figura N°3.1: Cromatograma en modo SCAN*, en el cual cada pico representa un analito.



**Figura N°3.1: Cromatograma en modo SCAN**

La identificación de los compuestos sus tiempos de retención y por consecuencia el orden de elución se obtuvieron por comparación de su espectro de masas con la biblioteca NIST tal como se aprecia en la *figura N°3.2: Comparación de espectro de masas de la anilina con biblioteca NIST*.

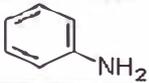
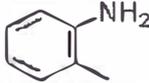
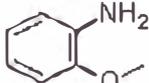
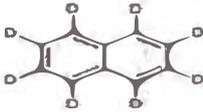
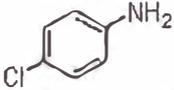
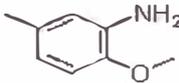
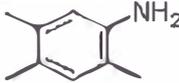
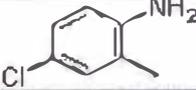
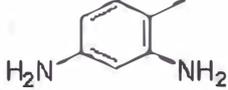


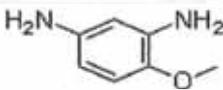
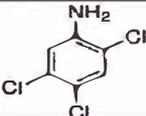
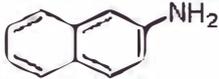
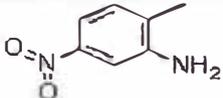
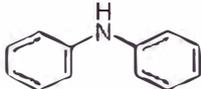
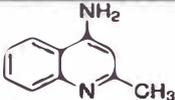
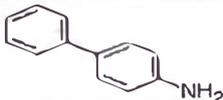
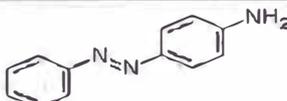
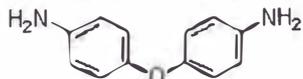
**Figura N°3.2: Comparación de espectro de masas de la anilina con biblioteca NIST**

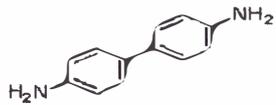
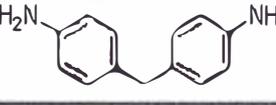
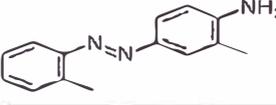
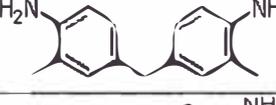
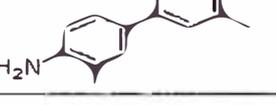
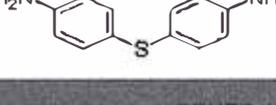
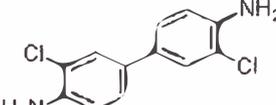
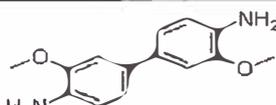
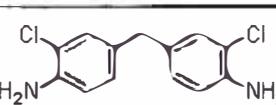
En la figura anterior observamos en la parte izquierda tres partes: primero el cromatograma en modo SCAN luego el cromatograma en modo SIM y por último el espectro de masas del compuesto. En la parte derecha apreciamos la comparación entre el espectro obtenido en la parte superior y el de biblioteca en la parte inferior.

Una consecuencia de conocer el espectro de masa y por ende la correspondiente fragmentación de cada amina es la elaboración de la siguiente *tabla N°3.2: Lista de aminas aromáticas y sus iones cuantificadores*. La información de los iones principales de cada analito fue utilizada para programar el cromatograma en modo SIM, que es la manera con que cuantificaremos las aminas para el estudio de validación del método de ensayo.

**Tabla N°3.2: Lista de aminas aromáticas y sus iones cuantificadores**

GRUPO 1				
Analito	Estructura	N° CAS	t. retención (min)	m/z
Anilina (EC-1)		62-53-3	4.479	93, 66, 51
o-Toluidina (EC-2)		95-53-4	5.590	106, 77, 89
GRUPO 2				
Analito	Estructura	N° CAS	t. retención (min)	m/z
o-Anisidina (EC-3)		90-04-0	6.908	108, 80, 123
Naftaleno D8 (EI-1)		1146-65-2	7.124	136, 108, 54
4-Cloroanilina (EC-4)		106-47-8	7.288	127, 65, 92
GRUPO 3				
Analito	Estructura	N° CAS	t. retención (min)	m/z
p-Cresidina (EC-5)		120-71-8	8.205	122, 137, 94
2,4,5-Trimetil-anilina (EC-6)		137-17-7	8.462	120, 135, 94
4-Cloro-o-toluidina (EC-7)		95-69-2	8.596	141, 106, 77
GRUPO 4				
Analito	Estructura	N° CAS	t. retención (min)	m/z
4-Metil-m-fenilenendiamina (EC-8)		95-80-7	9.666	121, 94, 77
GRUPO 5				
Analito	Estructura	N° CAS	t. retención (min)	m/z

4-Metoxi-m-fenilenendiamina (EC-9)		615-05-4	10.768	123, 138, 95
<b>GRUPO 7</b>				
Analito	Estructura	Nº CAS	t. retención (min)	m/z
2,4,5 tricloroanilina (EI-2)		636-30-6	11.653	195, 124, 97
2-Naftalenamina (EC-10)		91-59-8	11.797	143, 115, 144
<b>GRUPO 8</b>				
Analito	Estructura	Nº CAS	t. retención (min)	m/z
5-Nitro-o-toluidina (EC-11)		99-55-8	12.332	152, 77, 106
Difenilamina (EC-12)		122-39-4	12.538	169, 84, 77
<b>GRUPO 8</b>				
Analito	Estructura	Nº CAS	t. retención (min)	m/z
4-aminoquinaldina (EI-3)		6628-04-2	13.784	158, 130, 116
4-Aminobifenil (EC-13)		92-67-1	13.989	169, 84, 141
Antraceno d10 (EI-4)		1719-06-8	14.483	188, 80, 94
<b>GRUPO 9</b>				
Analito	Estructura	Nº CAS	t. retención (min)	m/z
4-Aminoazobenceno (EC-14)		60-09-3	17.201	92, 197, 120
4,4'-Oxidianilina (EC-15)		101-80-4	17.448	200, 108, 171

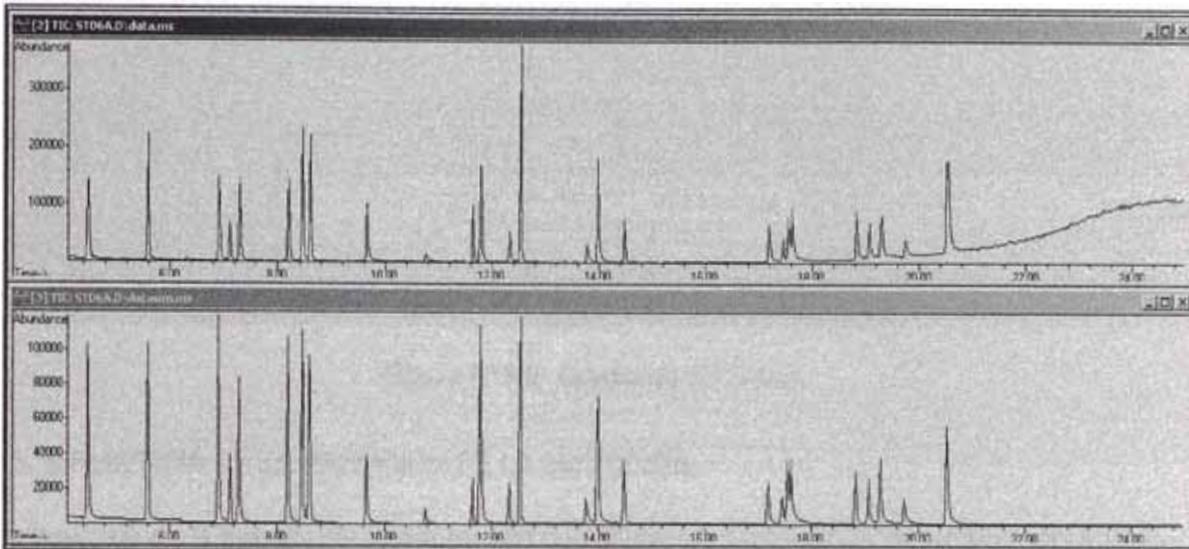
Bencidina (EC-16)		92-87-5	17.551	184, 92, 156
4,4'-Metilenedianilina (EC-17)		101-77-9	17.623	198, 106, 182
<b>GRUPO 10</b>				
<b>Analito</b>	<b>Estructura</b>	<b>N° CAS</b>	<b>t. retención (min)</b>	<b>m/z</b>
Aminoazotolueno (EC-18)		97-56-3	18.837	106, 225, 91
4,4'-metilendi-o-toluidina (EC-19)		838-88-0	19.074	226, 211, 120
3,3'-Dimetilbencidina (EC-20)		119-93-7	19.290	212, 196, 106
4,4'-Tiodianilina (EC-21)		139-65-1	19.743	216, 184, 80
<b>GRUPO 11</b>				
<b>Analito</b>	<b>Estructura</b>	<b>N° CAS</b>	<b>t. retención (min)</b>	<b>m/z</b>
4,4'-Metilén bis(2-cloroanilina) (EC-22)		101-14-4	20.383	231, 266, 140
3,3'-Diclorobencidina (EC-23)		91-94-1	20.384	252, 126, 154
3,3'-Dimetoxibencidina (EC-24)		119-90-4	20.418	244, 201, 229

### 3.3. CUANTIFICACIÓN DE LAS AMINAS AROMÁTICAS (MODO SIM)

El cromatograma en modo SIM, disminuye el ruido de fondo, debido a que solo cuantifican los iones principales, es decir, los de mayor abundancia en la fragmentación para cada amina aromática.

Como se observa en la *figura N°3.3: Cromatograma en modo SCAN/SIM*, la principal diferencia es la disminución de la línea base siendo más pronunciado al final del cromatograma.

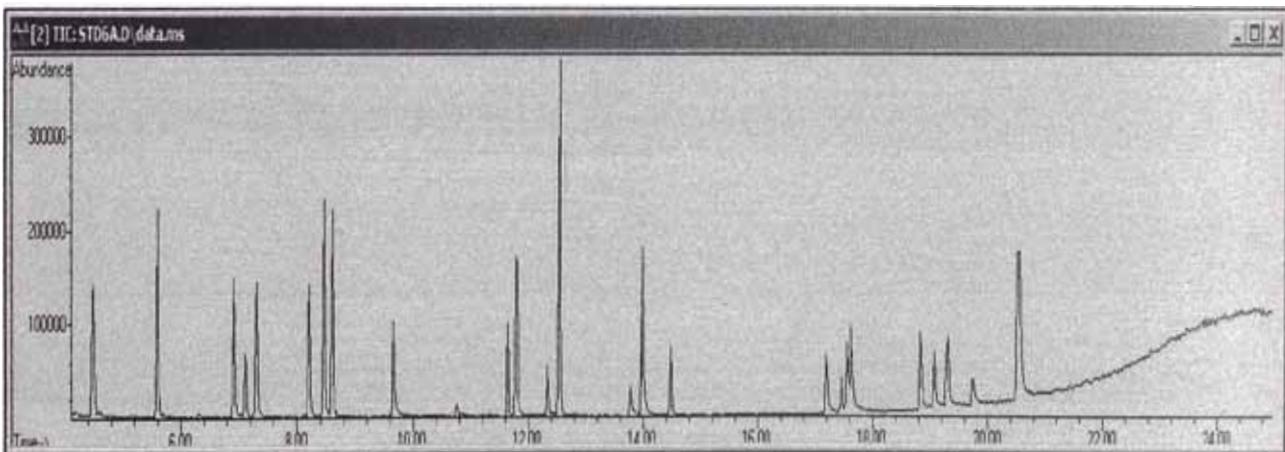
Esta última característica es el fundamento de utilizarla debido a que permite obtener límites de cuantificación más bajos o una mayor sensibilidad.



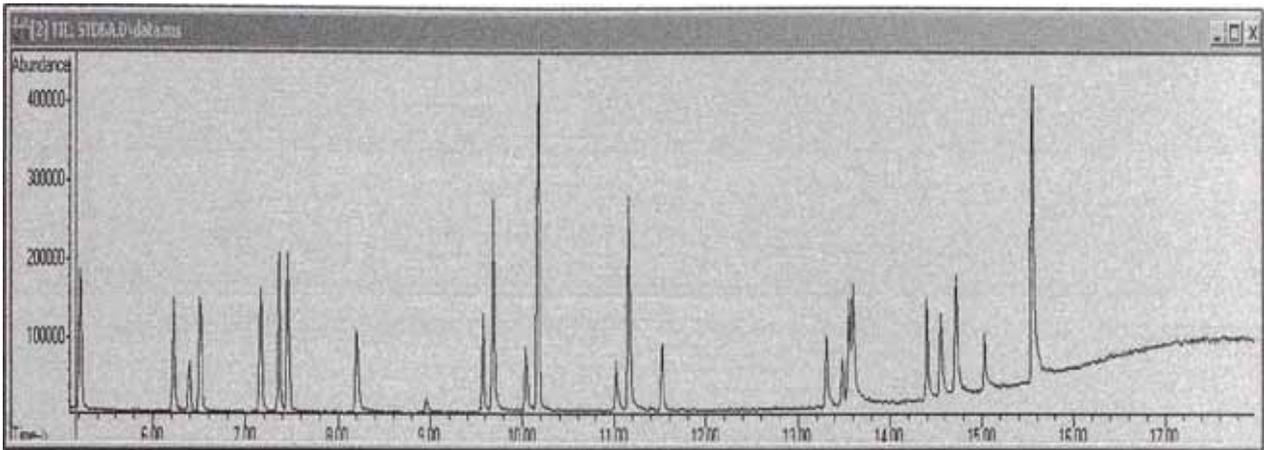
**Figura N°3.3: Cromatograma en modo SCAN / SIM**

### 3.4. INFLUENCIA DE LA GRADIENTE DE TEMPERATURA:

La gradiente es la razón de grados Celsius ( $^{\circ}\text{C}$ ) por minuto y también conocida como rampa de temperatura. Una gradiente elevada permite una elución más rápida de los componentes pero compromete la resolución y una gradiente menor provoca una elución más lenta pero una mejora en la resolución de los picos. Para corroborar tenemos los siguientes cromatogramas comparando los gradientes de temperatura en la *figura N°3.4: Gradiente -  $15^{\circ}\text{C}/\text{min}$*  y en la *figura N°3.5: Gradiente-  $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$* .



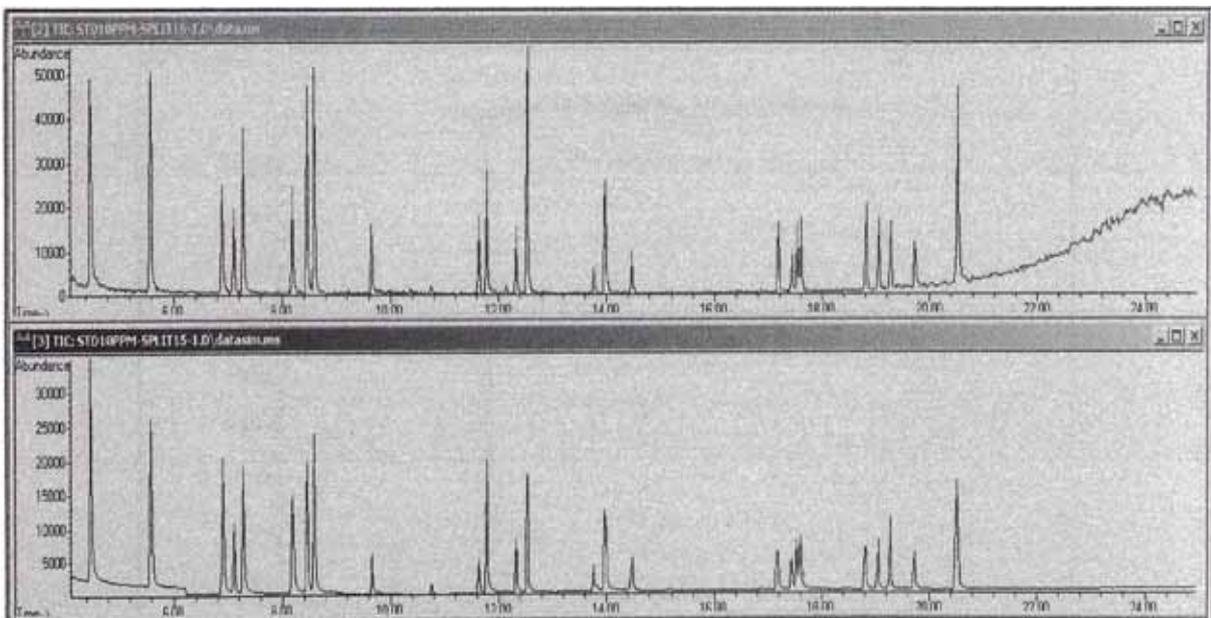
**Figura N°3.4: Gradiente -  $15^{\circ}\text{C}/\text{min}$**



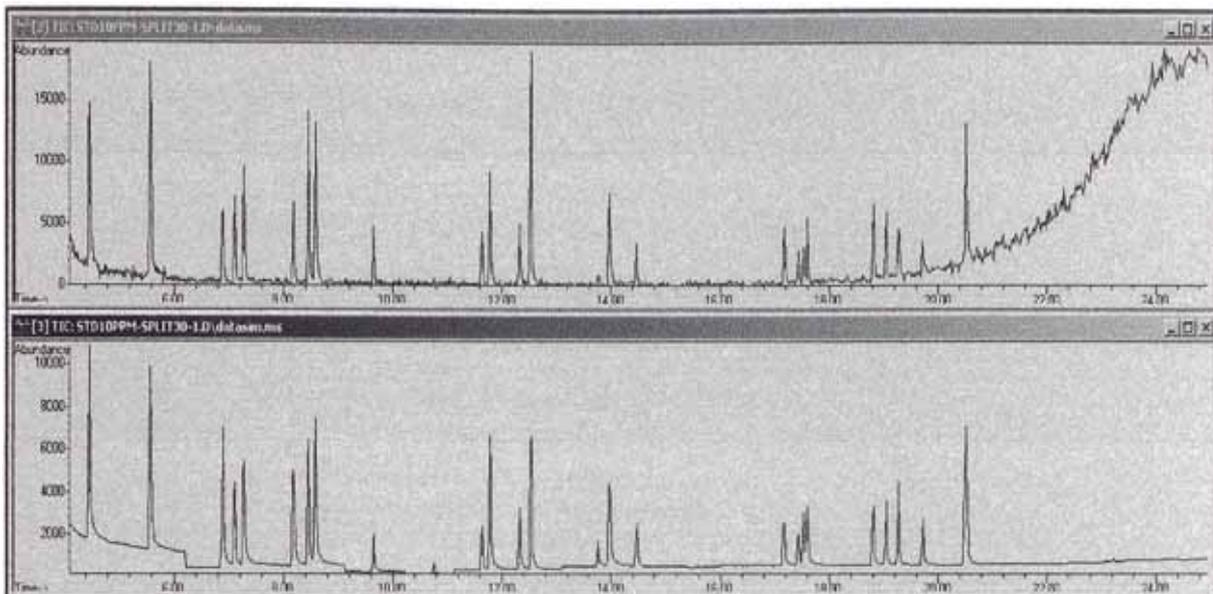
**Figura N°3.5: Gradiente 10°C/min**

### 3.5. INFLUENCIA DE LA PARTICIÓN DE LA INYECCIÓN:

La inyección de la muestra se puede realizar con diferentes proporciones de partición dependiendo de la concentración presente de analito como tenemos en la *figura N°3.6: Inyección split 15:1* y en la *figura N°3.7: Inyección split 30:1*. Comparando ambos cromatogramas podemos afirmar que una mayor partición permite disminuir el ruido de fondo, pero, con la desventaja de perder sensibilidad. Por ello, es necesario obtener un valor de consenso que permita distinguir los picos en el cromatograma y a su vez proporcione una sensibilidad adecuada.



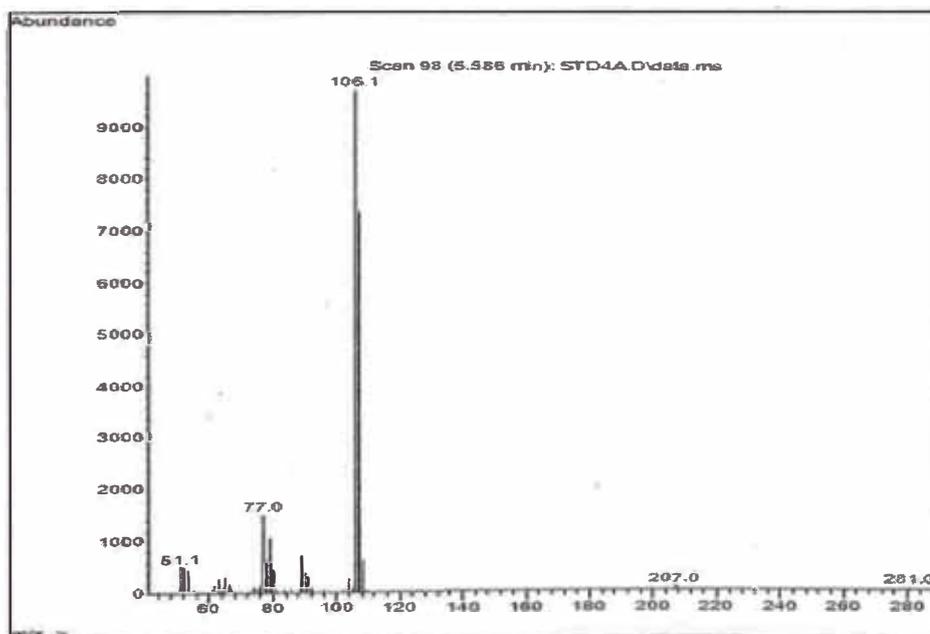
**Figura N°3.6: Inyección Split 15:1**



**Figura N°3.7: Inyección Split 30:1**

### 3.6. ESPECTRO DE MASAS:

El espectro de masas es la consecuencia de la fragmentación de un compuesto por la incidencia energética en la fuente de iones (70eV), la separación y el conteo de iones de la misma relación masa/carga ( $m/z$ ) expresado como abundancia. Como se aprecia en la figura N°3.8: Espectro de masas de la o-Toluidina.



**Figura N°3.8: Espectro de masas de la o-Toluidina**

**CAPITULO 4:**  
**VALIDACIÓN DEL MÉTODO DE**  
**AMINAS AROMÁTICAS**

#### 4.1. EVALUACIÓN DEL INTERVALO DE TRABAJO DEL MÉTODO.

A partir de la evaluación visual del intervalo de trabajo se obtuvieron los resultados mostrados en la tabla N°4.1: Curva de calibración de aminas aromáticas.

**Tabla N°4.1: Curva de calibración de aminas aromáticas.**

Amina Aromática	Concentración (mg/L)				
	0.0	1.0	2.5	5.0	10.0
	Abundancia				
EC-1	0.0009	0.2034	0.5070	0.9799	1.9512
EC-2	0.0008	0.1583	0.4062	0.7835	1.5585
EC-3	0.0006	0.1353	0.3451	0.6638	1.3574
EC-4	0.0008	0.1694	0.3878	0.7483	1.5141
EC-5	0.0007	0.1613	0.4061	0.7707	1.5497
EC-6	0.0007	0.1489	0.3624	0.6933	1.3978
EC-7	0.0007	0.1579	0.3852	0.7430	1.4570
EC-8	0.0003	0.0708	0.1635	0.3129	0.6202
EC-9	0.0002	0.0238	0.0577	0.1090	0.2178
EC-10	0.0008	0.2144	0.5342	1.0542	2.0761
EC-11	0.0005	0.0709	0.1743	0.3381	0.6615
EC-12	0.0009	0.2443	0.6077	1.1886	2.3200
EC-13	0.0009	0.2152	0.5026	1.0037	1.9747
EC-14	0.0005	0.1261	0.3040	0.6084	1.1989
EC-15	0.0004	0.1235	0.2888	0.5730	1.1185
EC-16	0.0006	0.1263	0.3067	0.6103	1.2031
EC-17	0.0007	0.1250	0.2986	0.6118	1.2033
EC-18	0.0004	0.1167	0.2805	0.5513	1.0807
EC-19	0.0003	0.1037	0.2488	0.4848	0.9540
EC-20	0.0005	0.1195	0.2836	0.5586	1.0949
EC-21	0.0002	0.0908	0.2090	0.4259	0.8412
EC-22	0.0002	0.0511	0.1158	0.2368	0.4735
EC-23	0.0005	0.1321	0.3157	0.6233	1.2207
EC-24	0.0002	0.0594	0.1385	0.2811	0.5510

#### 4.2. EVALUACIÓN DE LA LINEALIDAD DEL MÉTODO.

En la evaluación se utilizó la prueba estadística t student y el gráfico de residuales. Los resultados se presentan en la *tabla N°4.2: Prueba t-student para evaluación de linealidad.*

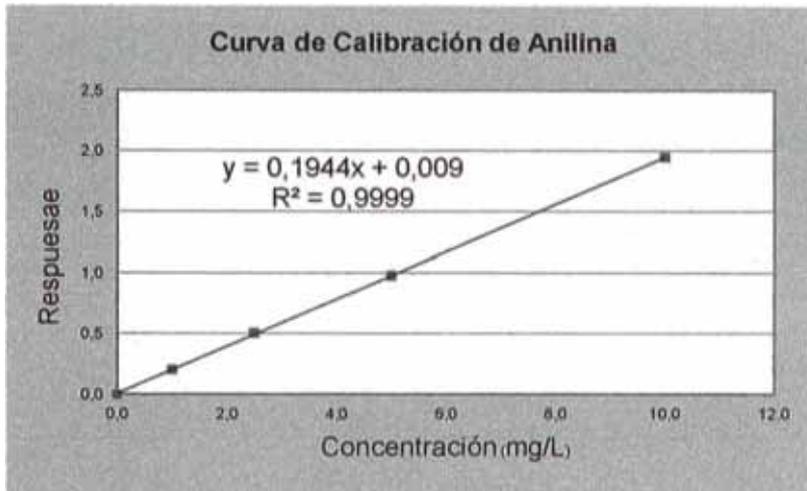
**Tabla N°4.2: Prueba t - Student para evaluación de linealidad – (t tabulada<sub>95%</sub> = 2.776).**

<i>Amina Aromática</i>	<i>Análisis de residuales</i>	<i>Coefficiente de regresión (r)</i>	<i>t Calculado</i>	<i>Prueba t</i>
EC-1	Aleatoria	0.999955	211.8	Satisfactoria
EC-2	Aleatoria	0.999943	187.7	Satisfactoria
EC-3	Aleatoria	0.999902	142.9	Satisfactoria
EC-4	Aleatoria	0.999887	133.1	Satisfactoria
EC-5	Aleatoria	0.999908	147.5	Satisfactoria
EC-6	Aleatoria	0.99925	163.6	Satisfactoria
EC-7	Aleatoria	0.999887	132.8	Satisfactoria
EC-8	Aleatoria	0.999878	128.2	Satisfactoria
EC-9	Aleatoria	0.999880	129.3	Satisfactoria
EC-10	Aleatoria	0.999957	214.8	Satisfactoria
EC-11	Aleatoria	0.999891	135.4	Satisfactoria
EC-12	Aleatoria	0.999890	134.9	Satisfactoria
EC-13	Aleatoria	0.999951	202.1	Satisfactoria
EC-14	Aleatoria	0.999970	256.4	Satisfactoria
EC-15	Aleatoria	0.999903	143.8	Satisfactoria
EC-16	Aleatoria	0.999970	259.5	Satisfactoria
EC-17	Aleatoria	0.999949	197.1	Satisfactoria
EC-18	Aleatoria	0.999926	164.9	Satisfactoria
EC-19	Aleatoria	0.999928	166.7	Satisfactoria
EC-20	Aleatoria	0.999926	164.4	Satisfactoria
EC-21	Aleatoria	0.999946	191.6	Satisfactoria
EC-22	Aleatoria	0.999932	171.8	Satisfactoria
EC-23	Aleatoria	0.999927	165.3	Satisfactoria
EC-24	Aleatoria	0.999932	171.8	Satisfactoria

*Análisis de residuales: Tendencia sistemática o aleatoria.*

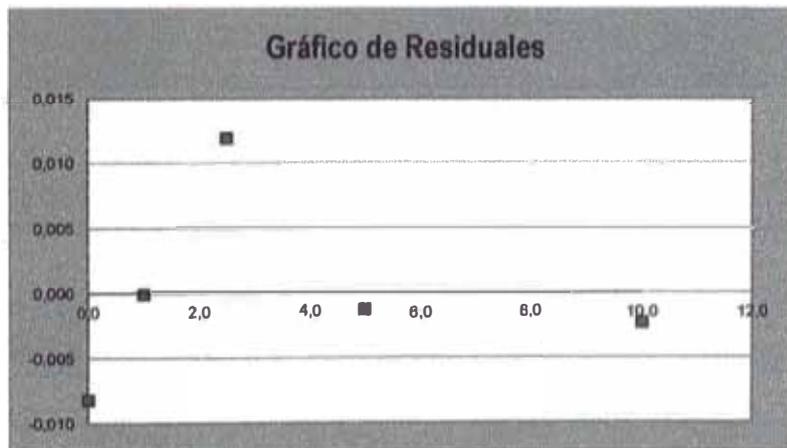
*Prueba t: Aprobación o rechazo de la prueba t.*

En la tabla 4.1 se muestran los puntos de calibración de las aminas aromáticas que conforman el intervalo lineal y en la *figura 4.1: curva de calibración de la anilina* se observa la relación lineal entre la concentración y la respuesta del analito.



**Figura 4.1: Curva de calibración de la anilina.**

La prueba de linealidad se realizó de dos formas: Primero, con el gráfico de residuales como se observa en la *figura 4.2: Gráfico de residuales de la anilina*, donde observamos la distribución aleatoria de los puntos y la confirmación de la prueba.



**Figura 4.2: Gráfico de residuales de la anilina.**

La segunda prueba se basa en la prueba t (ecuación 1.2) dando como resultado para todos los compuestos valores mayores al t tabulado al 95% de confianza rechazando la hipótesis nula confirmando la relación lineal.

### 4.3. EVALUACIÓN DEL LÍMITE DE DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DEL MÉTODO.

La evaluación del límite de detección del método y el de cuantificación presentan los resultados mostrados en la *tabla N°4.3: Límites de detección del método y cuantificación por amina aromática.*

**Tabla N°4.3: Límites de detección del método y cuantificación por amina aromática.**

Amina Aromática	Desviación estándar (mg/L)			LDM (mg/L)	LCM (mg/L)
	Primer día	Segundo día	Tercer día		
EC-1	0.0341	0.0354	0.0313	0.2468	0.4819
EC-2	0.0303	0.0316	0.0339	0.2512	0.4748
EC-3	0.0337	0.0316	0.0362	0.2612	0.4983
EC-4	0.0313	0.0337	0.0327	0.2474	0.4755
EC-5	0.0350	0.0367	0.0306	0.2508	0.4893
EC-6	0.0339	0.0306	0.0375	0.2510	0.4891
EC-7	0.0337	0.0335	0.0340	0.2552	0.4914
EC-8	0.0320	0.0372	0.0348	0.2543	0.4970
EC-9	0.0323	0.0350	0.0363	0.2587	0.5006
EC-10	0.0333	0.0331	0.0347	0.2547	0.4903
EC-11	0.0327	0.0362	0.0340	0.2539	0.4939
EC-12	0.0333	0.0329	0.0331	0.2557	0.4875
EC-13	0.0331	0.0357	0.0320	0.2507	0.4856
EC-14	0.0329	0.0379	0.0327	0.2496	0.4914
EC-15	0.0343	0.0316	0.0333	0.2530	0.4848
EC-16	0.0334	0.0344	0.0327	0.2485	0.4831
EC-17	0.0338	0.0307	0.0374	0.2519	0.4896
EC-18	0.0312	0.0347	0.0338	0.2540	0.4867
EC-19	0.0316	0.0350	0.0338	0.2477	0.4820
EC-20	0.0334	0.0316	0.0350	0.2530	0.4863
EC-21	0.0358	0.0333	0.0348	0.2483	0.4909
EC-22	0.0335	0.0340	0.0330	0.2535	0.4880
EC-23	0.0359	0.0348	0.0352	0.2496	0.4967
EC-24	0.0368	0.0318	0.0392	0.2501	0.5016

LDM: Límite de detección del método, LCM: Límite de cuantificación del método.

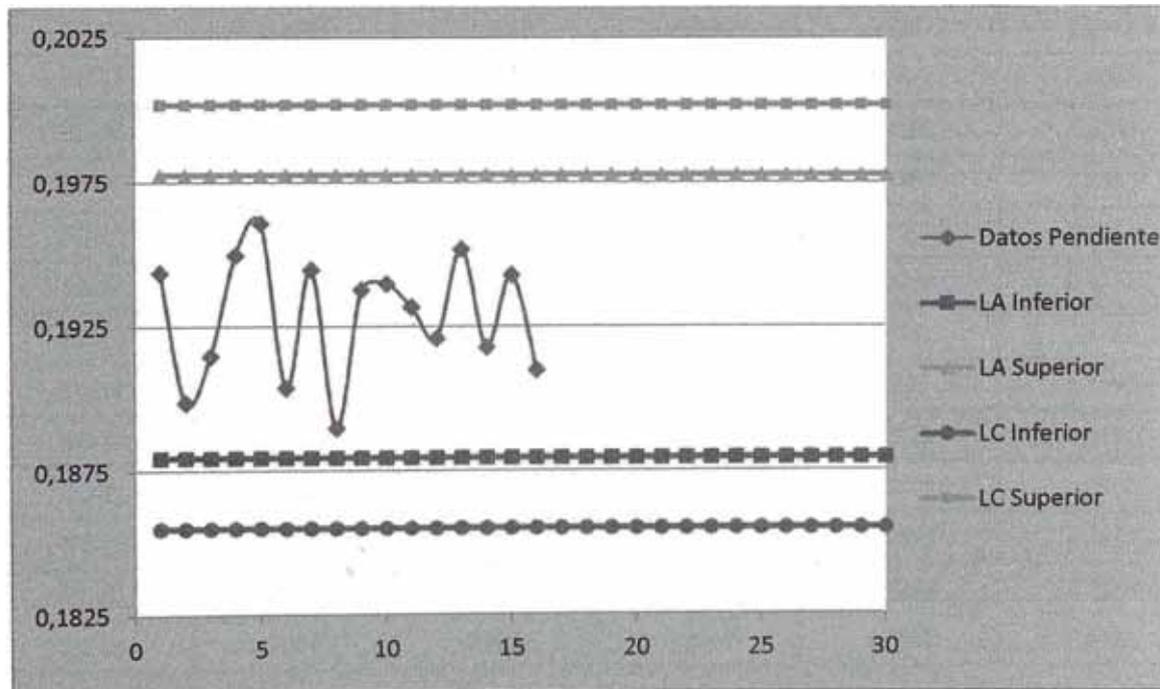
Los métodos instrumentales generalmente necesitan que el límite de detección sea menor a 10 veces la concentración límite permisible para el compuesto correspondiente.

El método de ensayo para la determinación de aminas aromáticas o arilaminas tiene una concentración máxima permisible de 20 mg/Kg por amina individual, es decir, aproximadamente 10 mg/L. En base al párrafo anterior es necesario límites de detección menor a 1 mg/L por amina aromática.

El cálculo de los límites de detección y cuantificación nos proporciona valores para el límite de detección del método que van desde 0.2468 a 0.2612 mg/L y de 0.4748 a 0.5016 mg/L para el límite de cuantificación.

#### 4.4. EVALUACIÓN DE LA SENSIBILIDAD DEL MÉTODO.

La sensibilidad del método se comprobó mediante una carta de control de las pendientes de las curvas de calibración en la *figura N°4.3: Grafico de control de pendientes de la anilina*, observamos como los primeros 10 datos tomados como base establecen los límites de control y los 5 datos siguientes están dentro de dichos límites.



**Figura N°4.3: Grafico de control de pendientes de la anilina.**

Los resultados de los límites de control para la pendiente se presentan en la siguiente tabla N°4.4: Sensibilidad del ensayo de aminas aromáticas.

**Tabla N°4.4: Sensibilidad del ensayo de aminas aromáticas.**

Amina Aromática	Promedio	LI Advertencia	LS Advertencia	LI Acción	LS Acción
	Pendiente de calibración				
EC-1	0.1929	0.1855	0.188	0.1978	0.2002
EC-2	0.155	0.1481	0.1504	0.1602	0.1626
EC-3	0.1358	0.1279	0.1305	0.1404	0.1428
EC-4	0.1509	0.1433	0.1458	0.1555	0.1567
EC-5	0.1536	0.1455	0.1478	0.1584	0.1606
EC-6	0.1381	0.1307	0.1333	0.143	0.1456
EC-7	0.1462	0.1386	0.1412	0.1504	0.1531
EC-8	0.0609	0.0572	0.0585	0.0636	0.0649
EC-9	0.0211	0.0191	0.0198	0.0222	0.0228
EC-10	0.2085	0.2007	0.2032	0.2139	0.2165
EC-11	0.0639	0.0627	0.0616	0.0663	0.0650
EC-12	0.2337	0.2259	0.2284	0.2391	0.2417
EC-13	0.1978	0.1906	0.1927	0.2028	0.2051
EC-14	0.1206	0.1128	0.1153	0.1260	0.1286
EC-15	0.1101	0.1023	0.1048	0.1155	0.1181
EC-16	0.1239	0.1161	0.1186	0.1293	0.1319
EC-17	0.1198	0.1120	0.1145	0.1252	0.1278
EC-18	0.1104	0.1026	0.1051	0.1158	0.1184
EC-19	0.0983	0.0913	0.0937	0.103	0.1054
EC-20	0.1104	0.1026	0.1051	0.1158	0.1184
EC-21	0.0874	0.0805	0.0833	0.0916	0.0942
EC-22	0.0510	0.0498	0.0487	0.0534	0.0521
EC-23	0.1242	0.1164	0.1189	0.1296	0.1322
EC-24	0.0581	0.0569	0.0558	0.0605	0.0592

*Promedio: Línea central.*

*LI Advertencia: Límite de advertencia inferior, LS Advertencia: Límite de advertencia superior.*

*LI Control: Límite de control inferior, LS Control: Límite de control superior.*

#### 4.5. EVALUACIÓN DE LA PRECISIÓN - REPETIBILIDAD Y REPRODUCIBILIDAD DEL MÉTODO.

Previamente a la evaluación de la precisión se determina la atipicidad del conjunto de datos y los resultados se muestran en la tabla N°4.5: Evaluación de atipicidad.

**Tabla N°4.5: Evaluación de atipicidad (C tabulado<sub>5%</sub> = 0.967 y G tabulado<sub>5%</sub> = 1.155).**

<b>Amina Aromática</b>	<b>MP-1 (C)</b>	<b>MP-1 (G)</b>	<b>MP-2 (C)</b>	<b>MP-2 (G)</b>	<b>MP-3 (C)</b>	<b>MP-3 (G)</b>
EC-1	0.604	1.126	0.409	1.044	0.667	1.091
EC-2	0.371	1.060	0.388	1.035	0.590	1.138
EC-3	0.628	1.134	0.430	1.035	0.554	1.091
EC-4	0.495	1.091	0.430	1.072	0.658	1.051
EC-5	0.409	1.091	0.444	1.029	0.424	1.060
EC-6	0.439	1.060	0.445	1.152	0.514	1.035
EC-7	0.379	1.044	0.439	1.000	0.758	1.104
EC-8	0.552	1.000	0.618	1.154	0.552	1.051
EC-9	0.444	1.000	0.405	1.091	0.500	1.051
EC-10	0.556	1.154	0.605	1.134	0.333	1.000
EC-11	0.471	1.141	0.468	1.151	0.333	1.000
EC-12	0.463	1.091	0.605	1.000	0.390	1.060
EC-13	0.552	1.072	0.468	1.153	0.500	1.025
EC-14	0.471	1.091	0.333	1.000	0.679	1.145
EC-15	0.439	1.121	0.514	1.134	0.662	1.121
EC-16	0.463	1.121	0.488	1.091	0.471	1.091
EC-17	0.552	1.121	0.544	1.091	0.439	1.104
EC-18	0.500	1.044	0.605	1.141	0.552	1.067
EC-19	0.658	1.154	0.590	1.044	0.653	1.109
EC-20	0.463	1.060	0.590	1.145	0.552	1.101
EC-21	0.390	1.060	0.390	1.000	0.552	1.131
EC-22	0.390	1.091	0.529	1.140	0.529	1.060
EC-23	0.471	1.060	0.521	1.114	0.529	1.060
EC-24	0.471	1.060	0.458	1.139	0.780	1.044

C: Estadístico de la prueba de Cochran, G: Estadístico de la prueba Grubbs.

También se determinó la consistencia del conjunto de datos y los resultados se muestran en la tabla N°4.6: Evaluación de la consistencia de los datos.

**Tabla N°4.6: Evaluación de consistencia ( $h$  tabulado<sub>1%</sub> = 1.15 y  $k$  tabulado<sub>1%</sub> = 1.71).**

<b>Amina Aromática</b>	<b>MP-1 (h)</b>	<b>MP-1 (k)</b>	<b>MP-2 (h)</b>	<b>MP-2 (k)</b>	<b>MP-3 (h)</b>	<b>MP-3 (k)</b>
EC-1	1.1263	1.3466	1.0441	1.1078	1.0911	1.4142
EC-2	1.0596	1.0552	1.0349	1.0783	1.1378	1.3306
EC-3	1.1339	1.3728	1.0349	1.1352	1.0911	1.2890
EC-4	1.0911	1.2185	1.0722	1.1352	1.0507	1.4049
EC-5	1.0911	1.1078	1.0289	1.1547	1.0596	1.1275
EC-6	1.0596	1.1471	1.1447	1.1560	1.0349	1.2421
EC-7	1.0441	1.0660	1.0000	1.4171	1.1043	1.5076
EC-8	1.0000	1.2865	1.1487	1.3620	1.0507	1.2865
EC-9	1.0000	1.1547	1.0911	1.1022	1.0507	1.2247
EC-10	1.1447	1.2910	1.1339	1.3472	1.0000	1.0000
EC-11	1.1406	1.1882	1.1477	1.1843	1.0000	1.0000
EC-12	1.0911	1.1785	1.0000	1.3472	1.0596	1.0820
EC-13	1.0722	1.2865	1.1425	1.1843	1.0246	1.2247
EC-14	1.0911	1.1882	1.0000	1.0000	1.1446	1.4275
EC-15	1.1209	1.1471	1.1339	1.2421	1.1209	1.4094
EC-16	1.1209	1.1785	1.0911	1.2099	1.0911	1.1882
EC-17	1.1209	1.2865	1.0911	1.2780	1.1043	1.1471
EC-18	1.0441	1.2247	1.1406	1.3472	1.0675	1.2865
EC-19	1.1447	1.4049	1.0441	1.3306	1.1094	1.4000
EC-20	1.0596	1.1785	1.1481	1.3308	1.1014	1.2865
EC-21	1.0596	1.0820	1.0000	1.0820	1.1305	1.2865
EC-22	1.0911	1.0820	1.1347	1.2603	1.0596	1.2603
EC-23	1.0596	1.1882	1.1138	1.2505	1.0596	1.2603
EC-24	1.0596	1.1882	1.1427	1.1721	1.0441	1.5302

$h$  y  $k$ : Estadísticos de la prueba de consistencia de Mandel.

MP-1 (1 mg/L), MP-2 (5 mg/L) y MP-3 (10 mg/L): Concentración por niveles.

Para determinar la precisión del método se analizaron muestras en tres niveles de concentración que cubran el intervalo de trabajo para todas las aminas aromáticas:

MP-1: (Composición: 95% algodón – 5% spandex) – Fortificación: 1.0 mg/L.

MP-2: (Composición: 50% pima – 50% modal) – Fortificación: 5.0 mg/L.

MP-3: (Composición: 100% algodón) – Fortificación: 10.0 mg/L.

Previamente a la prueba de precisión los datos fueron evaluados para determinar valores atípicos mediante las pruebas de Cochran (ecuación 1.26) y Grubbs (ecuación 1.27). Los resultados como se observan en la tabla N°4.5 fueron satisfactorios comparando los estadísticos C y G calculados con el valor de tablas correspondiente.

Los datos también fueron evaluados para su consistencia mediante la prueba de Mandel (ecuaciones 1.28 y 1.29). Los resultados obtenidos en la tabla N°4.6 fueron aceptados comparando los estadísticos h y k calculados con los valores de tablas correspondiente.

La precisión de repetibilidad y reproducibilidad fue calculada entonces en tres niveles de concentración y es expresada como coeficientes de variación (ecuaciones 1.10 y 1.11).

Los resultados del CV por repetibilidad no exceden al 5% en los tres niveles y el 10% para el CV por reproducibilidad en los tres niveles por amina aromática, como lo indica nuestro criterio de decisión.

Los resultados de la evaluación de precisión de repetibilidad y reproducibilidad del método son mostrados en la *tabla N°4.7: Precisión de repetibilidad y reproducibilidad según la ISO-5725.*

**Tabla N°4.7: Precisión de repetibilidad y reproducibilidad según la ISO-5725.**

Amina Aromática	Coeficiente de Variación (%)					
	MP-1 (CV <sub>i</sub> )	MP-1 (CV <sub>R</sub> )	MP-2 (CV <sub>i</sub> )	MP-2 (CV <sub>R</sub> )	MP-3 (CV <sub>i</sub> )	MP-3 (CV <sub>R</sub> )
EC-1	4.2	4.3	1.3	1.3	0.3	0.3
EC-2	3.8	3.8	1.2	1.2	0.3	0.4
EC-3	3.4	3.4	1.0	1.0	0.3	0.3
EC-4	4.0	4.0	1.0	1.0	0.3	0.3
EC-5	3.7	3.7	0.7	0.7	0.3	0.3
EC-6	3.1	3.1	0.9	0.9	0.3	0.3
EC-7	3.1	3.1	0.6	0.6	0.2	0.3
EC-8	2.1	2.1	0.9	0.9	0.2	0.3
EC-9	2.4	2.6	0.9	0.9	0.3	0.4
EC-10	2.6	2.6	0.7	0.7	0.4	0.4
EC-11	2.4	2.4	0.7	0.7	0.1	0.4
EC-12	2.9	2.9	0.7	0.7	0.3	0.4
EC-13	2.1	2.4	0.7	0.7	0.3	0.4
EC-14	2.5	2.5	0.8	0.8	0.3	0.3
EC-15	2.9	2.9	0.7	0.7	0.4	0.4
EC-16	2.8	2.8	1.1	1.1	0.2	0.3
EC-17	2.0	2.0	0.8	0.8	0.3	0.3
EC-18	2.7	2.7	0.7	0.7	0.2	0.4
EC-19	2.5	2.5	0.6	0.6	0.4	0.4
EC-20	3.0	3.0	0.7	0.7	0.2	0.4
EC-21	2.5	2.5	0.5	0.5	0.2	0.4
EC-22	2.6	2.6	0.7	0.7	0.3	0.3
EC-23	2.3	2.3	0.8	0.8	0.2	0.4
EC-24	2.5	2.5	0.8	0.8	0.4	0.4

CV<sub>i</sub>: Coeficiente de variación de repetibilidad, CV<sub>R</sub>: Coeficiente de variación de reproducibilidad.

#### 4.6. EVALUACIÓN DE LA VERACIDAD DEL MÉTODO.

Los resultados de la evaluación del sesgo del método son presentados en la *tabla N°4.8: Prueba t para la evaluación de la veracidad*.

**Tabla N°4.8: Prueba t para la evaluación de la veracidad ( $t_{tablas_{95\%}} = 2.26$ ).**

Amina Aromática	MP-4 (mg/Kg)		MP-5 (mg/Kg)		MP-6 (mg/Kg)	
	Promedio	t calculado	Promedio	t calculado	Promedio	t calculado
EC-1	2.01	1.25	10.01	1.13	20.04	1.88
EC-2	2.00	0.10	9.99	1.07	19.97	1.39
EC-3	1.99	1.08	10.00	0.36	20.00	0.22
EC-4	2.02	1.62	10.02	1.36	20.03	1.61
EC-5	1.98	1.55	9.96	1.95	19.95	2.01
EC-6	1.99	1.01	10.03	1.65	19.99	0.87
EC-7	2.01	1.34	9.98	1.47	20.02	1.43
EC-8	2.00	0.23	10.01	1.15	20.03	1.67
EC-9	1.99	0.98	10.04	2.02	19.96	1.82
EC-10	2.02	1.67	10.02	1.55	20.03	1.45
EC-11	2.00	0.21	9.97	1.78	19.96	2.03
EC-12	1.99	0.99	10.01	1.01	20.01	0.67
EC-13	1.98	1.53	10.00	0.29	20.03	1.51
EC-14	2.01	0.94	9.96	2.04	20.00	0.16
EC-15	2.00	0.09	10.03	1.67	19.98	0.69
EC-16	2.03	1.98	10.01	0.96	19.97	1.52
EC-17	2.01	1.06	10.02	1.63	20.02	1.27
EC-18	1.98	1.68	10.00	0.25	20.01	0.88
EC-19	1.97	2.09	9.98	1.04	19.99	1.97
EC-20	2.01	1.08	9.97	1.99	20.01	0.65
EC-21	2.02	1.72	10.01	1.03	19.97	1.51
EC-22	1.98	1.59	10.00	0.27	20.00	0.33
EC-23	2.01	0.95	9.98	1.83	20.03	1.52
EC-24	1.97	2.11	10.04	2.12	20.02	1.79

MP-4, MP-5, MP-6: Muestras con diferentes niveles de concentración de analito.

Para determinar la veracidad del método se analizaron tres blancos fortificados con concentraciones diferentes de las aminas aromáticas como se detalla a continuación:

MP-4: Blanco Fortificado: 1.0 mg/L.

MP-5: Blanco Fortificado: 5.0 mg/L.

MP-6: Blanco Fortificado: 10.0 mg/L.

La comprobación de la veracidad se realiza mediante la prueba t (ecuación 1.9). Debido a que los valores t calculada de la tabla N°4.8 son menores que la t de tablas al 95% de confianza entonces la prueba es conforme y no existen diferencias significativas entre el promedio de los resultados y el valor de referencia para cada amina.

#### **4.7. EVALUACIÓN DE LA SELECTIVIDAD DEL MÉTODO.**

La prueba para evaluar la selectividad se realizó en tres niveles de concentración y los resultados se presentan en la *tabla N°4.9: Selectividad del ensayo de aminas aromáticas.*

Para la prueba de selectividad se prepararon los siguientes blancos fortificados con la adición de 2 compuestos para evaluar la especificidad del método:

MP-4I Blanco Fortificado: 1.0 mg/L + 5.0 mg/L de Bencil benzoato + 5.0 mg/L de Di n-octil ftalato.

MP-5I: Blanco Fortificado: 5.0 mg/L + 5.0 mg/L de Bencil benzoato + 10.0 mg/L de Di n-octil ftalato.

MP-6I: Blanco Fortificado: 10.0 mg/L + 10.0 mg/L de Bencil benzoato + 10.0 mg/L de Di n-octil ftalato.

La prueba de selectividad se prueba mediante la prueba t (ecuación 1.9). Debido a que los valores de t calculados son menores que la t de tablas al 95% de confianza entonces la prueba es conforme y no existen diferencias significativas entre el promedio de los resultados y el valor de referencia. Las pruebas indican que el método es selectivo y específico con este tipo de interferentes.

**Tabla N°4.9: Prueba t - Student para evaluación de selectividad – (t tabulada = 2.26).**

Amina Aromática	MP-4I (mg/Kg)		MP-5I (mg/Kg)		MP-6I (mg/Kg)	
	Promedio	t calculado	Promedio	t calculado	Promedio	t calculado
EC-1	2.02	1.76	10.03	1.77	20.04	1.58
EC-2	2.02	2.01	10.03	2.04	20.02	1.01
EC-3	2.02	1.62	10.02	1.19	19.98	0.89
EC-4	2.01	1.27	10.01	0.75	20.01	0.54
EC-5	2.00	0.36	10.02	1.26	20.02	0.97
EC-6	2.01	1.09	10.03	1.98	19.99	0.61
EC-7	2.02	1.71	10.01	0.69	20.04	1.88
EC-8	1.99	1.34	10.00	0.23	20.01	0.49
EC-9	2.00	0.40	9.99	0.57	20.03	1.35
EC-10	2.01	1.18	10.01	0.74	19.98	0.77
EC-11	2.02	1.85	10.02	1.25	20.02	0.89
EC-12	1.99	1.07	9.99	0.86	20.00	0.11
EC-13	2.00	0.32	10.01	0.77	19.98	1.32
EC-14	2.01	0.99	10.03	1.96	20.03	1.44
EC-15	2.02	1.71	10.02	1.28	20.01	0.54
EC-16	2.00	0.32	9.99	0.64	20.03	1.58
EC-17	2.01	1.18	10.01	0.89	19.99	0.62
EC-18	2.01	0.95	10.02	1.35	20.01	0.49
EC-19	2.00	0.36	10.03	1.92	20.02	1.17
EC-20	1.99	1.35	10.01	0.76	19.98	1.36
EC-21	2.02	1.98	9.98	1.47	20.00	0.09
EC-22	2.01	0.98	10.02	1.51	20.03	1.60
EC-23	2.00	0.21	10.03	1.96	20.01	0.55
EC-24	2.02	2.05	10.01	0.69	20.02	1.24

MP-4I, MP-5I, MP-6I: Muestras con diferentes niveles de concentración de analito e interferentes.

#### 4.8. EVALUACIÓN DE LA ROBUSTEZ DEL MÉTODO.

La evaluación de la robustez presenta tres resultados por fuente de variación y los resultados se presentan en la *tabla N°4.10: Prueba de Youden & Steiner para evaluar la robustez.*

**Tabla N°4.10: Prueba de Youden & Steiner para evaluar la robustez.**

Amina Aromática	Diferencia absoluta entre variable máxima y mínima (mg/Kg)			Criterio $2.24 * S_r$
	V1	V2	V3	
C-1	0.0925	0.0150	0.0875	0.1058
EC-2	0.0934	0.0089	0.0914	0.1120
EC-3	0.0907	0.0134	0.0745	0.0993
EC-4	0.0939	0.0173	0.0945	0.1120
EC-5	0.0911	0.0095	0.0831	0.1075
EC-6	0.0923	0.0102	0.0793	0.1058
EC-7	0.0914	0.0119	0.0853	0.1008
EC-8	0.0897	0.0107	0.0941	0.1053
EC-9	0.0917	0.0099	0.0912	0.1070
EC-10	0.0873	0.0128	0.0894	0.1067
EC-11	0.0884	0.0114	0.0872	0.1024
EC-12	0.0918	0.0103	0.0884	0.1048
EC-13	0.0926	0.0162	0.0896	0.1021
EC-14	0.0852	0.0184	0.0861	0.0998
EC-15	0.0835	0.0143	0.0848	0.1028
EC-16	0.0934	0.0085	0.0923	0.1045
EC-17	0.0884	0.0101	0.0862	0.0991
EC-18	0.0921	0.0187	0.0936	0.1049
EC-19	0.0918	0.0213	0.0927	0.1053
EC-20	0.0904	0.0152	0.0903	0.1075
EC-21	0.0926	0.0101	0.0941	0.1072
EC-22	0.0917	0.0175	0.0888	0.1089
EC-23	0.0894	0.0114	0.0910	0.1074
EC-24	0.0931	0.0187	0.0909	0.1108

V1, V2, V3 y V4: Variables que pueden alterar el desempeño del método.

Para la prueba de robustez se identificaron tres variables que pueden influir en el desempeño del método siendo los mostrados en la tabla N°4.11: *Identificación de variables con posible influencia en los resultados.*

**Tabla N°4.11: Identificación de variables con posible influencia en los resultados.**

Variable	Valor	Máximo	Mínimo
V1: Temperatura	70 ± 2	72	68
V2: Tiempo	30 ± 2	32	28
V3: pH	6 ± 0.5	5.5	6.5

El cálculo de las diferencias absolutas se realiza según las ecuaciones 1.10, 1.11, 1.12 y son menores que el criterio establecido para la prueba.

La prueba de robustez según el diseño de Young & Steiner demuestra que las variaciones realizadas a la temperatura, tiempo y pH en nuestro análisis no inferen efectos significativos con el resultado del ensayo.

#### **4.9. INCERTIDUMBRE DE LA MEDICIÓN DEL MÉTODO.**

El cálculo en la estimación de la incertidumbre del método de ensayo se realizó aplicando la directriz de INDECOPI (CRT-acr-09-D-Directriz para la estimación y expresión de la incertidumbre de la medición). De acuerdo al documento mencionado tenemos los siguientes puntos:

##### **4.9.1. Especificación del Mensurado**

Concentración de aminos aromáticas (mg/Kg).

##### **4.9.2. Modelo Matemático**

$$C = \frac{C_o \cdot V}{m} \quad (4.1)$$

Donde:

C: Concentración de amina aromática calculada (mg/Kg).

Co: Concentración de aminos aromáticas en la curva de calibración (mg/L).

V: Volumen de enrase final (ml).

M: Masa de la muestra analizada (g).

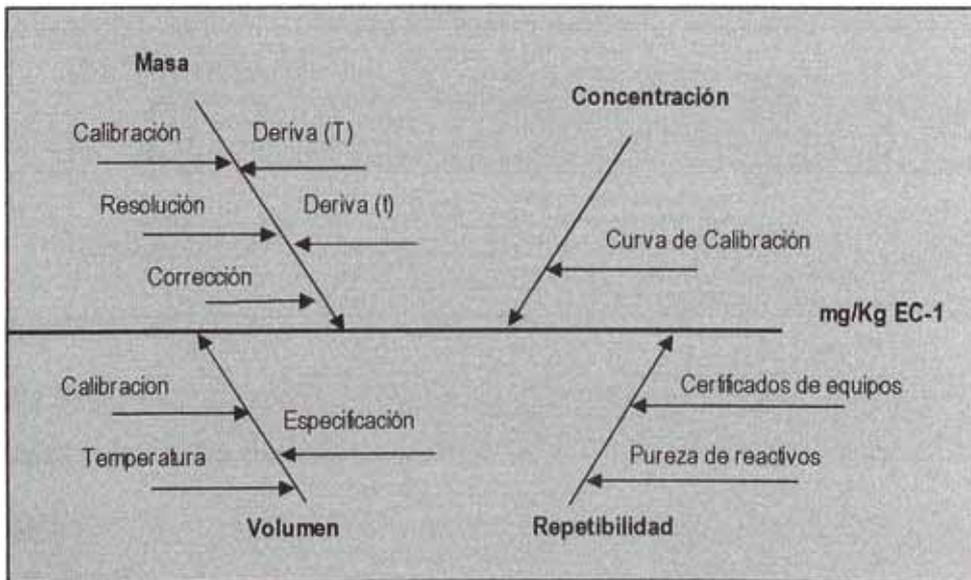
### 4.9.3. Identificación de las fuentes de incertidumbre

El proceso experimental tiene las siguientes fuentes involucradas en la variabilidad del método:

- Pesado de la muestra.
  - Balanza analítica (Magnitud: Masa).
- Reducción de colorantes azoicos a aminas aromáticas.
  - Solución amortiguadora - Citrato de sodio / ácido cítrico/ hidróxido de sodio (Pureza)
  - Temperatura de 70°C y acción ultrasónica por 30 minutos (Certificados).
  - Reactivo: Ditionito de sodio (Pureza).
  - Temperatura de 70°C por 30 minutos en baño termostático (Certificados).
- Separación de aminas aromáticas.
  - Solvente: Terc-butil metil éter (Pureza).
- Enrase a volumen de la muestra.
  - Fiola 2 ml (Magnitud: Volumen).
- Lectura de la muestra por cromatografía de gases – espectrometría de masas.
  - Curva de Calibración en el cromatógrafo de gases – (Magnitud: Concentración).

### 4.9.4. Diagrama de Magnitudes de Influencia

Las magnitudes que influyen en la incertidumbre se presentan en la *figura 4.4: Diagrama de magnitudes de influencia*.



**Figura 4.4: Diagrama de magnitudes de influencia.**

#### 4.9.5. Estimación de la incertidumbre estándar de los componentes de la incertidumbre.

##### 4.9.5.1. Magnitud: Masa (MM) (Balanza Analítica).

- MM-1: Deriva tiempo y temperatura (Incertidumbre – tipo B).
- MM-2: Calibración (Incertidumbre – tipo B).
- MM-3: Resolución (Incertidumbre – tipo B).
- MM-4: Corrección (Incertidumbre – tipo B).

**Tabla N°4.12: Incertidumbre estándar de la masa.**

Magnitud: Masa (g)				
MM-1	MM-2	MM-3	MM-4	Incertidumbre Estándar $u(x)$
Tipo B	Tipo B	Tipo B	Tipo B	
0.00006	0.00007	0.00003	0.00001	0.0001

##### 4.9.5.2. Magnitud: Volumen (MV) (Fiola).

- MV-1: Calibración (Incertidumbre – tipo B).
- MV-2: Temperatura (Incertidumbre – tipo B).
- MV-3: Especificación (Incertidumbre – tipo B).

**Tabla N°4.13: Incertidumbre estándar del Volumen**

Magnitud: Volumen (ml)			
MV-1	MV-2	MV-3	Incertidumbre Estándar $u(x)$
Tipo B	Tipo B	Tipo B	
0.001	0.001	0.004	0.004

##### 4.9.5.3. Magnitud: Concentración (MC) (Curva de calibración en el cromatógrafo de gases)

- MC-1: Influencia de la curva de calibración en los análisis con el cromatógrafo de gases – espectrómetro de masas (Incertidumbre - Tipo A).

Los resultados de esta magnitud para cada amina aromática y por nivel de concentración se presentan en la *tabla N°4.14: Incertidumbre estándar de la concentración y repetibilidad por niveles.*

#### **4.9.5.4. Repetibilidad (MR):**

En esta magnitud adicional se involucran todas las magnitudes que no se encuentran en la ecuación matemática entre las cuales tenemos: Pureza de los reactivos, certificados de calibración de equipos sin contar el cromatógrafo y la influencia de los analistas (Incertidumbre - Tipo A).

Los resultados de esta magnitud para cada amina aromática y por nivel se presentan en la *tabla N°4.14: Incertidumbre estándar de la concentración y repetibilidad por niveles. En la prueba de precisión estos valores ya fueron evaluados su atipicidad y consistencia.*

#### **4.9.6. Estimación de la incertidumbre combinada.**

Los resultados son combinados mediante la suma de todas las incertidumbres estándar utilizando las ecuaciones (1.23) y para calcular los coeficientes de sensibilidad la ecuación (1.24).

#### **4.9.7. Estimación de la incertidumbre expandida**

Para calcular la incertidumbre expandida utilizamos la ecuación (1.25). Los resultados de la incertidumbre expandida al 95% de confianza, para cada amina aromática y por nivel se presentan en la *tabla N°4.15: Incertidumbre expandida por niveles y por amina aromática.*

**Tabla N°4.14. Incertidumbre estándar de la concentración y repetibilidad por niveles.**

<i>Amina Aromática</i>	<i>Magnitud: Repetibilidad (mg/Kg)</i>			<i>Magnitud: Concentración (mg/L)</i>		
	<i>MP-1</i>	<i>MP-2</i>	<i>MP-3</i>	<i>MP-1</i>	<i>MP-2</i>	<i>MP-3</i>
EC-1	0.0389	0.0437	0.0253	0.0414	0.0404	0.0390
EC-2	0.0270	0.0408	0.0294	0.0468	0.0455	0.0440
EC-3	0.0248	0.0356	0.0267	0.0615	0.0598	0.0578
EC-4	0.0280	0.0348	0.0272	0.0659	0.0642	0.0620
EC-5	0.0267	0.0327	0.0270	0.0595	0.0579	0.0559
EC-6	0.0216	0.0278	0.0272	0.0537	0.0523	0.0504
EC-7	0.0246	0.0253	0.0239	0.0661	0.0644	0.0621
EC-8	0.0177	0.0299	0.0260	0.0685	0.0667	0.0644
EC-9	0.0213	0.0330	0.0286	0.0679	0.0661	0.0638
EC-10	0.0174	0.0252	0.0313	0.0409	0.0398	0.0384
EC-11	0.0191	0.0235	0.0306	0.0649	0.0632	0.0610
EC-12	0.0198	0.0235	0.0321	0.0651	0.0634	0.0612
EC-13	0.0203	0.0235	0.0300	0.0434	0.0423	0.0408
EC-14	0.0161	0.0278	0.0233	0.0343	0.0334	0.0322
EC-15	0.0209	0.0237	0.0318	0.0610	0.0594	0.0574
EC-16	0.0204	0.0337	0.0225	0.0338	0.0330	0.0318
EC-17	0.0158	0.0251	0.0270	0.0445	0.0434	0.0419
EC-18	0.0223	0.0260	0.0277	0.0532	0.0518	0.0501
EC-19	0.0161	0.0239	0.0345	0.0527	0.0513	0.0495
EC-20	0.0211	0.0250	0.0280	0.0534	0.0520	0.0502
EC-21	0.0189	0.0229	0.0303	0.0458	0.0446	0.0431
EC-22	0.0174	0.0248	0.0281	0.0511	0.0498	0.0480
EC-23	0.0176	0.0325	0.0296	0.0531	0.0517	0.0499
EC-24	0.0176	0.0270	0.0267	0.0511	0.0498	0.0481

MP-1, MP-2, MP-3: Muestras con diferentes niveles de concentración de analito.

**Tabla N°4.15: Incertidumbre expandida por niveles y por amina aromática.**

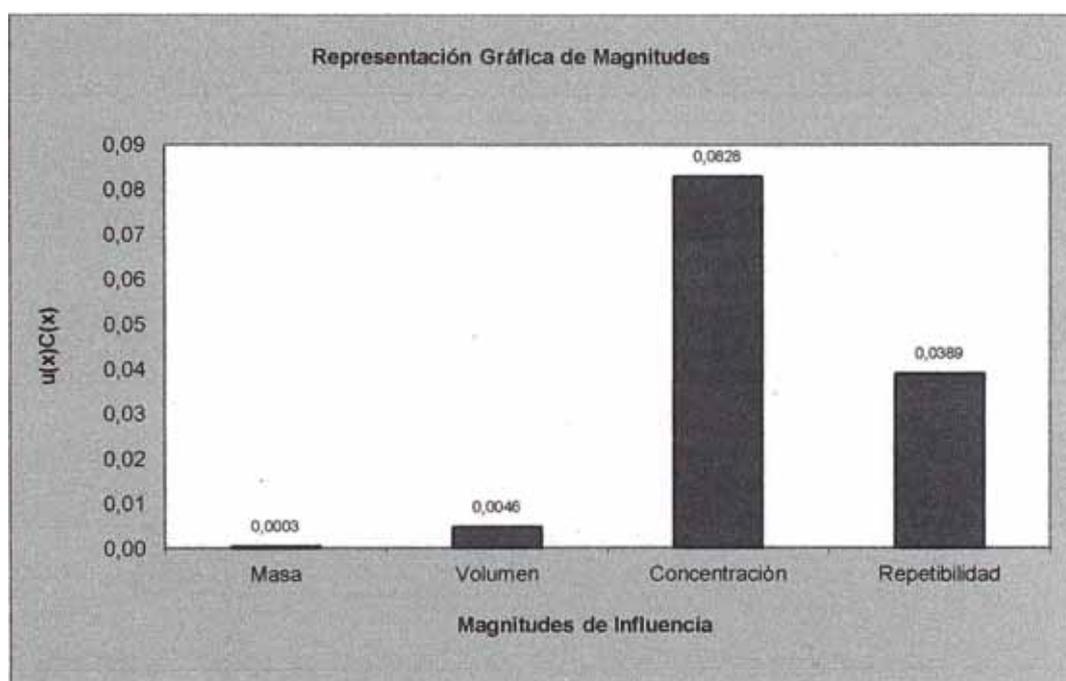
Amina Aromática	Incertidumbre Expandida (mg/Kg)			Incertidumbre Expandida (%)		
	MP-1	MP-2	MP-3	MP-1	MP-2	MP-3
EC-1	0.183	0.189	0.185	8.6	1.9	0.9
EC-2	0.195	0.204	0.205	9.3	2.0	1.0
EC-3	0.251	0.253	0.252	11.8	2.5	1.3
EC-4	0.270	0.269	0.268	12.9	2.7	1.3
EC-5	0.244	0.245	0.246	11.9	2.4	1.2
EC-6	0.219	0.220	0.226	10.7	2.2	1.1
EC-7	0.269	0.266	0.267	12.8	2.6	1.3
EC-8	0.276	0.277	0.277	13.2	2.7	1.4
EC-9	0.275	0.276	0.276	12.8	2.8	1.4
EC-10	0.167	0.172	0.187	8.1	1.7	0.9
EC-11	0.262	0.260	0.266	13.2	2.6	1.3
EC-12	0.263	0.261	0.267	12.8	2.6	1.3
EC-13	0.179	0.181	0.194	8.4	1.8	1.0
EC-14	0.141	0.151	0.162	7.1	1.5	0.8
EC-15	0.248	0.246	0.253	12.1	2.4	1.3
EC-16	0.142	0.154	0.160	6.8	1.5	0.8
EC-17	0.181	0.186	0.196	8.4	1.8	1.0
EC-18	0.218	0.218	0.225	10.4	2.2	1.1
EC-19	0.213	0.215	0.227	10.3	2.1	1.1
EC-20	0.218	0.218	0.226	10.7	2.2	1.1
EC-21	0.187	0.189	0.202	9.0	1.9	1.0
EC-22	0.208	0.210	0.218	10.2	2.1	1.1
EC-23	0.215	0.221	0.226	10.7	2.2	1.1
EC-24	0.208	0.211	0.217	10.5	2.1	1.1

MP-1, MP-2, MP-3: Muestras con diferentes niveles de concentración de analito.

#### 4.9.8. Representación gráfica de magnitudes de influencia.

Los resultados de la incertidumbre son expresados en función de la incertidumbre combinada por magnitud por medio de un gráfico de barras que nos permita evaluar que magnitud influye más en la estimación y de obviar alguna a futuro por su poca significancia tener fundamento.

A continuación en la *figura N°4.5: Representación de magnitudes de influencia de la anilina* presentamos la representación gráfica de la anilina.



**Figura N°4.5: Representación de magnitudes de influencia de la anilina.**

Este gráfico nos permite identificar las magnitudes más influyentes, así también las que son insignificantes comparado con el resto pueden ser descartadas del cálculo a futuro, en nuestro caso sería la magnitud: masa.

La prueba proporciona los siguientes resultados de incertidumbre expandida en %:

Nivel - 1: Desde 6.8% a 13.2%, Nivel - 2: Desde 1.5% a 2.8% y Nivel - 3: Desde 0.8% a 1.4%.

Según los resultados se concluye que a una mayor concentración la incertidumbre disminuye.

**CAPITULO 5:**  
**ASEGURAMIENTO DE**  
**CALIDAD DEL ENSAYO DE**  
**AMINAS AROMÁTICAS**

## 5.1. EVALUACIÓN DEL BLANCO DE PROCESO.

### Carta de Control de blancos de proceso.

La carta de blancos de proceso permite el control de la contaminación inherente al método.

**Tabla N°5.1: Límites de control de blancos de proceso (LRB).**

Amina Aromática	Promedio	LI Advertencia	LS Advertencia	LI Acción	LS Acción
	(mg/L)				
EC-1	0.081	-0.075	0.236	-0.152	0.313
EC-2	0.077	-0.079	0.232	-0.157	0.310
EC-3	0.065	-0.091	0.221	-0.166	0.289
EC-4	0.087	-0.068	0.241	-0.146	0.321
EC-5	0.091	-0.062	0.245	-0.142	0.322
EC-6	0.068	-0.086	0.225	-0.162	0.292
EC-7	0.076	-0.081	0.230	-0.159	0.308
EC-8	0.082	-0.073	0.237	-0.150	0.315
EC-9	0.062	-0.093	0.217	-0.169	0.286
EC-10	0.074	-0.084	0.227	-0.161	0.306
EC-11	0.085	-0.069	0.238	-0.149	0.318
EC-12	0.069	-0.085	0.226	-0.162	0.305
EC-13	0.078	-0.078	0.234	-0.156	0.312
EC-14	0.063	-0.094	0.218	-0.167	0.287
EC-15	0.084	-0.072	0.240	-0.148	0.316
EC-16	0.092	-0.060	0.247	-0.139	0.325
EC-17	0.071	-0.086	0.224	-0.165	0.302
EC-18	0.083	-0.074	0.238	-0.150	0.315
EC-19	0.067	-0.089	0.223	-0.172	0.291
EC-20	0.076	-0.081	0.231	-0.159	0.308
EC-21	0.080	-0.076	0.235	-0.155	0.313
EC-22	0.086	-0.067	0.242	-0.146	0.319
EC-23	0.066	-0.096	0.320	-0.163	0.299
EC-24	0.093	-0.059	0.249	-0.137	0.327

## 5.2. EVALUACIÓN DE DUPLICADOS.

### Carta de Control de Precisión.

La carta de precisión permite definir los límites de control de los duplicados analizados por lote de muestras.

**Tabla N°5.2: Carta R - Límites de control de precisión – duplicados.**

Amina Aromática	Rango Promedio	LS Advertencia	LI Acción	LS Acción
	(mg/Kg)			
EC-1	0.094	0.235	0	0.305
EC-2	0.085	0.213	0	0.278
EC-3	0.101	0.256	0	0.329
EC-4	0.089	0.218	0	0.286
EC-5	0.082	0.206	0	0.274
EC-6	0.103	0.261	0	0.335
EC-7	0.096	0.239	0	0.317
EC-8	0.091	0.224	0	0.296
EC-9	0.085	0.211	0	0.278
EC-10	0.107	0.270	0	0.339
EC-11	0.093	0.225	0	0.298
EC-12	0.086	0.214	0	0.276
EC-13	0.088	0.221	0	0.289
EC-14	0.097	0.245	0	0.325
EC-15	0.086	0.211	0	0.282
EC-16	0.095	0.234	0	0.306
EC-17	0.092	0.217	0	0.284
EC-18	0.108	0.275	0	0.346
EC-19	0.091	0.209	0	0.277
EC-20	0.099	0.261	0	0.338
EC-21	0.104	0.270	0	0.347
EC-22	0.102	0.263	0	0.341
EC-23	0.081	0.202	0	0.266
EC-24	0.095	0.231	0	0.304

### 5.3. EVALUACIÓN DEL MATERIAL DE REFERENCIA.

#### Carta de Control de Recuperación.

La carta de veracidad permite definir los límites de control de los blancos fortificados o materiales de referencia por lote de muestras.

**Tabla Nº5.3: Límites de control de recuperación - blanco fortificado.**

Amina Aromática	Promedio	LI Advertencia	LS Advertencia	LI Acción	LS Acción
	(%)				
EC-1	98.9	92.2	107.5	88.5	112.1
EC-2	99.2	92.6	107.8	88.8	112.2
EC-3	98.5	91.7	107.1	88.0	111.7
EC-4	97.1	90.6	108.7	86.7	110.1
EC-5	97.5	91.1	109.1	87.2	110.5
EC-6	99.2	92.5	107.6	88.7	112.1
EC-7	98.4	91.6	107.2	88.1	111.6
EC-8	99.0	92.4	107.6	88.6	112.0
EC-9	97.4	90.9	109.1	87.0	110.5
EC-10	98.7	91.8	107.3	88.2	111.8
EC-11	97.1	90.5	108.7	86.6	110.0
EC-12	99.4	92.9	108.1	89.1	112.5
EC-13	97.8	91.5	109.6	87.6	111.0
EC-14	99.3	92.7	107.9	89.0	112.4
EC-15	99.1	92.5	107.8	88.7	112.2
EC-16	98.6	91.6	107.2	88.1	111.6
EC-17	97.7	91.3	109.5	87.3	110.8
EC-18	96.8	90.4	108.5	86.5	109.9
EC-19	97.9	91.5	109.8	87.5	111.1
EC-20	96.5	90.2	108.2	86.3	109.6
EC-21	98.1	91.6	106.7	87.7	112.1
EC-22	96.4	90.1	108.0	86.1	109.5
EC-23	98.5	91.4	107.1	87.9	111.5
EC-24	96.6	90.3	108.1	86.3	109.7

#### 5.4. GRAFICOS DE CONTROL.

En la figura N°5.1: Gráfico de control de blancos de proceso y figura N°5.2: Gráfico de control de duplicados tenemos la siguiente información:



Figura N°5.1: Gráfico de control de blancos de proceso.

Para el blanco de reactivos tomaremos el limite de advertencia superior como control para todas las aminas aromáticas.

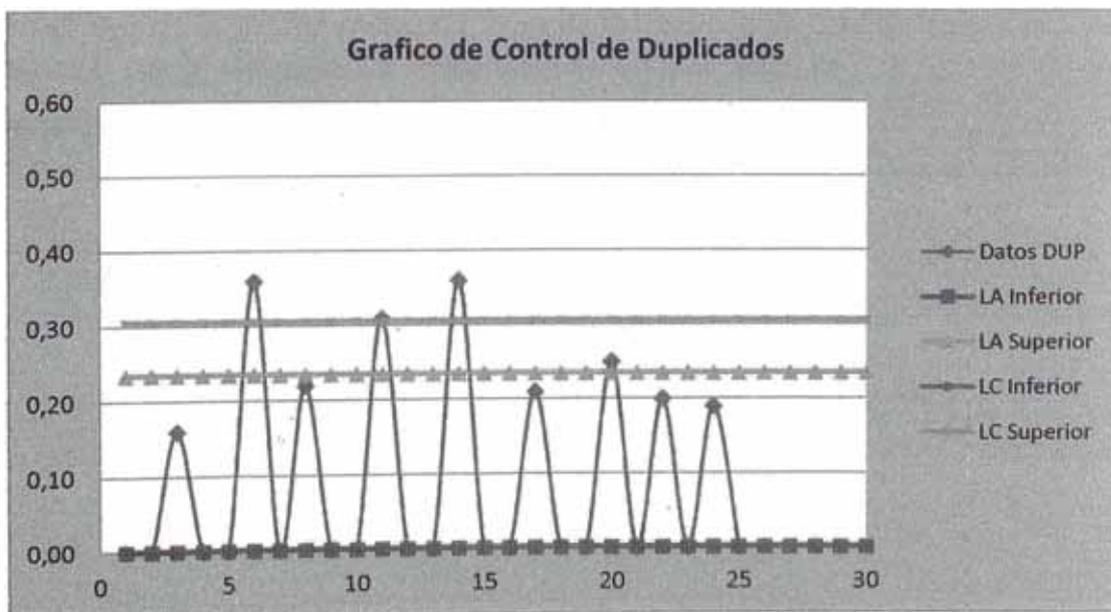


Figura N°5.2: Gráfico de control de duplicados.

Para los duplicados tomaremos el límite control superior como máxima diferencia entre duplicados. Es importante acotar que en la recolección de datos los valores menores al límite fueron declarados como cero y se fortificaron algunas muestras en duplicado para que la carta elaborada sea representativa para todo tipo de muestra.

Por último, en la muestra control para verificar la recuperación que fue analizado escogeremos los límites de advertencia como rango de aceptación del control.

#### **5.5. CRITERIOS DE CONTROL DE CALIDAD INICIAL.**

Los resultados de la validación nos proporcionaron información que permitió definir los siguientes controles de calidad para el método de ensayo para la determinación de aminas aromáticas derivadas de colorantes azoicos como se aprecian en la *tabla N°5.4: Criterios de control a partir de los resultados de la validación*. Esta tabla muestra los controles iniciales para el método después del desarrollo de la validación.

#### **5.6. CRITERIOS DE CONTROL DE CALIDAD MEDIANTE GRÁFICOS DE CONTROL.**

La implementación de nuevos valores de los controles de calidad se hizo respetando los iniciales. Estos fueron elaborados con los propios datos del laboratorio y son presentados en *tabla N°5.5: Criterios de control a partir de gráficos de control*. Esta tabla está elaborada con los datos propios del laboratorio.

Finalmente, con la elaboración de estos controles estamos asegurando la confiabilidad de los resultados del ensayo.

**Tabla N°5.4: Criterios de control a partir de los resultados de la validación.**

Amina Aromática	Criterios de Control			
	Blanco de proceso (mg/L)	Duplicados (mg/Kg)	Material de referencia (mg/Kg)	Coefficiente de regresión
EC-1	< 0.4819 = LCM	RPD < 10%	±10%	>0.9988
EC-2	< 0.4748 = LCM	RPD < 10%	±10%	>0.9990
EC-3	< 0.4983 = LCM	RPD < 10%	±10%	> 0.9989
EC-4	< 0.4755 = LCM	RPD < 10%	±10%	>0.9990
EC-5	< 0.4893= LCM	RPD < 10%	±10%	>0.9989
EC-6	< 0.4891 = LCM	RPD < 10%	±10%	>0.9990
EC-7	< 0.4914 = LCM	RPD < 10%	±10%	>0.9990
EC-8	< 0.4970 = LCM	RPD < 10%	±10%	>0.9989
EC-9	< 0.5006 = LCM	RPD < 10%	±10%	>0.9990
EC-10	< 0.4903 = LCM	RPD < 10%	±10%	>0.9988
EC-11	< 0.4939 = LCM	RPD < 10%	±10%	>0.9989
EC-12	< 0.4875 = LCM	RPD < 10%	±10%	>0.9990
EC-13	< 0.4856 = LCM	RPD < 10%	±10%	>0.9989
EC-14	< 0.4914 = LCM	RPD < 10%	±10%	>0.9989
EC-15	< 0.4848 = LCM	RPD < 10%	±10%	>0.9989
EC-16	< 0.4831 = LCM	RPD < 10%	±10%	>0.9989
EC-17	< 0.4896 = LCM	RPD < 10%	±10%	>0.9990
EC-18	< 0.4867 = LCM	RPD < 10%	±10%	>0.9989
EC-19	< 0.4820 = LCM	RPD < 10%	±10%	>0.9988
EC-20	< 0.4863 = LCM	RPD < 10%	±10%	>0.9990
EC-21	< 0.4909 = LCM	RPD < 10%	±10%	>0.9989
EC-22	< 0.4880 = LCM	RPD < 10%	±10%	>0.9989
EC-23	< 0.4967 = LCM	RPD < 10%	±10%	>0.9989
EC-24	< 0.5016 = LCM	RPD < 10%	±10%	>0.9989

Donde: RPD: Diferencia relativa porcentual es igual al cociente entre la diferencia y el promedio de los datos.

**Tabla Nº5.5: Criterios de control a partir de los gráficos de control.**

Amina Aromática	Criterios de Control				
	Blanco de proceso (mg/L)	Duplicados (mg/Kg)	Material de referencia (mg/Kg)		Coefficiente de regresión
EC-1	<0.236	<0.235	92.2	107.5	>0.9988
EC-2	<0.232	<0.213	92.6	107.8	>0.9990
EC-3	<0.221	<0.256	91.7	107.1	> 0.9989
EC-4	<0.241	<0.218	90.6	108.7	>0.9990
EC-5	<0.245	<0.206	91.1	109.1	>0.9989
EC-6	<0.225	<0.261	92.5	107.6	>0.9990
EC-7	<0.230	<0.239	91.6	107.2	>0.9990
EC-8	<0.237	<0.224	92.4	107.6	>0.9989
EC-9	<0.217	<0.211	90.9	109.1	>0.9990
EC-10	<0.227	<0.270	91.8	107.3	>0.9988
EC-11	<0.238	<0.225	90.5	108.7	>0.9989
EC-12	<0.226	<0.214	92.9	108.1	>0.9990
EC-13	<0.234	<0.221	91.5	109.6	>0.9989
EC-14	<0.218	<0.245	92.7	107.9	>0.9989
EC-15	<0.240	<0.211	92.5	107.8	>0.9989
EC-16	<0.247	<0.234	91.6	107.2	>0.9989
EC-17	<0.224	<0.217	91.3	109.5	>0.9990
EC-18	<0.238	<0.275	90.4	108.5	>0.9989
EC-19	<0.223	<0.209	91.5	109.8	>0.9988
EC-20	<0.231	<0.261	90.2	108.2	>0.9990
EC-21	<0.235	<0.270	91.6	106.7	>0.9989
EC-22	<0.242	<0.263	90.1	108.0	>0.9989
EC-23	<0.320	<0.202	91.4	107.1	>0.9989
EC-24	<0.249	<0.231	90.3	108.1	>0.9989

# CONCLUSIONES

Se implementó el método para la determinación de aminas aromáticas derivadas de colorantes azoicos en materiales textiles mediante cromatografía de gases – espectrometría de masas siguiendo los lineamientos de la NTP ISO/IEC 17025:2006, validando el método y comprobando los parámetros de validación mediante pruebas estadísticas reconocidas y vigentes.

El intervalo de trabajo del método para todas las aminas va desde 1.0 mg/L a 10 mg/L, demostrando linealidad en este intervalo. El límite de detección del método abarca valores desde 0.2468 mg/L hasta 0.2612 mg/L entre las aminas y el de cuantificación desde 0.4748 hasta 0.5016 en las mismas.

La precisión y la incertidumbre fueron evaluadas en tres niveles de concentración a medida que aumenta la concentración evaluada disminuye el coeficiente de variación (precisión) y la incertidumbre.

En todos los niveles tenemos menos de 5% de variación para la precisión de repetibilidad y reproducibilidad. La veracidad se evaluó en tres niveles demostrando que el sesgo del laboratorio no es significativo en los análisis.

La selectividad y la robustez fueron evaluadas demostrando que el método es selectivo y robusto..

Por último, se establecieron controles de calidad como parte del aseguramiento de calidad comparando los obtenidos de la validación con los resultantes del monitoreo de datos mediante gráficos de control permitiendo acotar más los rangos de aceptación de cada control de calidad.

# **REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA**

[1] UNE-EN 14362/1-2:2004: "Método para la determinación de ciertas aminas aromáticas derivadas de colorantes azoicos". Parte 1: "Detección del uso de ciertos colorantes azoicos accesibles sin extracción". Parte 2: "Detección del uso de ciertos colorantes azoicos accesibles mediante extracción de fibra".

[2] Observatorio Industrial del Sector Textil / Confección

[http://www.fedit.com/Spanish/DocumentosInformes/Portal/Publico/DocumentosEInformes/ObservatorioIndustriales/Jornadas%20Difusi%C3%B3n%202008/Textil\\_Parte\\_2.pdf](http://www.fedit.com/Spanish/DocumentosInformes/Portal/Publico/DocumentosEInformes/ObservatorioIndustriales/Jornadas%20Difusi%C3%B3n%202008/Textil_Parte_2.pdf)

[3] Oeko-Text - Standard 100

[https://www.oekotex.com/es/manufacturers/concept/oeko\\_tex\\_standard\\_100/oeko\\_tex\\_standard\\_100.xhtml](https://www.oekotex.com/es/manufacturers/concept/oeko_tex_standard_100/oeko_tex_standard_100.xhtml)

[4] L.G. Wade, Organic Chemistry, 6ªEd.Pearson International, 2005

[5] *Compuestos Orgánicos del Nitrógeno: Aminas, Nitrosoaminas, Compuestos azo y aromáticos.*

[http://objetos.univalle.edu.co/files/Origen\\_importancia\\_estructura\\_propiedades\\_de\\_compuestos\\_organicos.pdf](http://objetos.univalle.edu.co/files/Origen_importancia_estructura_propiedades_de_compuestos_organicos.pdf)

[6] Directiva 2002/61/CE Colorantes Azoicos.

<http://www.textil.org/extranet/inf/Revista8/colorantes.pdf>

[7] Skoog, Holler, Nieman, "Principios de Análisis Instrumental", Quinta Edición, 2001.

[8] *Guía para la Implantación, Validación y Verificación del Desempeño Continuo de un método analítico.* INECC-CCA, (2010). México, paginas 4-8.

[http://www2.inecc.gob.mx/dgcnica/proname/informes/guia\\_implantacion\\_validacion\\_y\\_verificacion\\_de\\_metodos\\_analiticos\\_inecc\\_2013.pdf](http://www2.inecc.gob.mx/dgcnica/proname/informes/guia_implantacion_validacion_y_verificacion_de_metodos_analiticos_inecc_2013.pdf)

[9] EURACHEM Guide: "The fitness for purpose of analytical methods."

[10] ASTM E2587 – "Standard Practice for use of Control Charts in Statistical Process Control".

[11] ISO 5725-2:1994: "Accuracy (trueness and precisión) of measurement methods and results"– Part 2: Basic method for the determination of repeatability and reproducibility of a standard measurement method

[12] EURACHEM / CIITAC Guide: "Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement", Second Edition, 2000.

[13] Directriz para la Estimación y Expresión de la incertidumbre de la medición. Guidelines to the Estimations and Expression of Measurement Uncertainty - CRT-acr-09-D.