



PERÚ

Ministerio
de Salud

Dirección General
de Salud Ambiental

CURSO – TALLER
DETERMINACION DE PCB EN ACEITES DIELECTRICOS POR CROMATOGRAFIA
DE GASES

**Validación del método en el laboratorio de la DIGESA.
Estimación de incertidumbre**

PLAN DE VALIDACIÓN PARA EL PROCEDIMIENTO ENSAYO

**DETERMINACIÓN DE PCB ACEITES
DIELECTRICOS CON REFERENCIA AL
ASTM D4059-00(2010)**

OBJETIVO: PLAN DE VALIDACIÓN PARA EL PROCEDIMIENTO ENSAYO

Demostrar que la técnica analítica correspondiente al método de ensayo para la determinación de bifenilos policlorados (PCBs) como Arocloros en Aceites Dieléctricos modificado en lo referido al soporte de la columna, dimensiones de la columna, cumple con los lineamientos de la Norma ASTM D4059 - 00.(2010).

Alcance

Comprende todas las actividades relacionadas con la ejecución de la Determinación de bifenilos policlorados (PCBs) en aceite dieléctricos por cromatografía gaseosa con detector de captura de electrones (GC-ECD).

AROCLORES 1242,1254 y 1260, en las cuales se pretende aplicar el método de ensayo.

La técnica analítica seleccionada es un método instrumental aplicable a aceites dieléctricos por lo que debe evaluarse si dicho método es aplicable a la matriz mencionada.

El método

- 0.1 g de aceite aislante en un cartucho con florisil de 0.5 g previamente acondicionado (130 °C por toda la noche),
 - elución con 5 mL de hexano o isoctano
 - la fracción resultante se inyecta 1 uL al cromatógrafo de gases.
-
- La cuantificación de esta técnica requiere una comparación de pico por pico del cromatograma de una muestra desconocida con la de las muestras estándar Aroclor arocloros (1242, 1254, y 1260) obtenidas bajo condiciones idénticas.

IDENTIFICACION Y VERIFICACION DE EQUIPOS, MATERIALES Y REACTIVOS

MATERIALES DE PRUEBA.

Material	Lote	Fecha de Expiración	Observaciones
Aceite dieléctrico libre de PCBs (aceite de transformador)	LB91836V	Abril/ 2015	Color ámbar

IDENTIFICACION Y VERIFICACION DE EQUIPOS, MATERIALES Y REACTIVOS

ESTÁNDARES y MATERIALES DE REFERENCIA

Para curva

Estándar	Lote	Fecha Expiración	Pureza	Fuente
AROCLOR 1242 500 ug/g	A071329	Diciembre 2016	99%	RESTEK
AROCLOR 1254 500 ug/g	AO88520	Agosto 2018	100%	RESTEK
AROCLOR 1260 500 ug/g	A092033	Febrero 2019	99%	RESTEK

IDENTIFICACION Y VERIFICACION DE EQUIPOS, MATERIALES Y REACTIVOS

Para evaluación de incertidumbre:

Estándar	Lote	Fecha Expiración	Conc. (ug/g)	Fuente
AROCLOR 1242 (bajo)	210051234	Mayo 24/2020	50.05	AccuStandard
AROCLOR 1254 (bajo)	211031061	Marzo 4/2021	50.10	AccuStandard
AROCLOR 1260 (bajos)	B9010070	Enero 8/2019	50.0	AccuStandard

IDENTIFICACION Y VERIFICACION DE EQUIPOS, MATERIALES Y REACTIVOS

Precisión y Veracidad

Estándar	Lote	Fecha Expiración	Conc. ,ug/g	Fuente
AROCLOR 1242 (altos)	209061210	Junio 15/2019	503.6	AccuStandard
AROCLOR 1254 (altos)	B3070253	Julio 28/2013	500	AccuStandard
AROCLOR 1260 (altos)	211081042	Agosto 4/2021	506.2	AccuStandard

IDENTIFICACION Y VERIFICACION DE EQUIPOS, MATERIALES Y REACTIVOS

INSTRUMENTOS ANALITICOS



PLAN DE VALIDACIÓN PARA EL PROCEDIMIENTO ENSAYO

Parámetros de desempeño

PLAN DE VALIDACIÓN PARA EL PROCEDIMIENTO ENSAYO

1) Selectividad/especificidad

2) Precisión: repetibilidad,
precisión intermedia

3) Veracidad

4) Linealidad

5) Rango de trabajo

6) Límite de cuantificación y de detección

7) Robustez

8) Incertidumbre

1. Especificidad y Selectividad

La Selectividad, analito e impurezas conocidas, precursores sintéticos, metabolitos, o productos de degradación.

La Especificidad, diferenciar el analito entre varias sustancias en la muestra .

Para Selectividad

Aplicación:

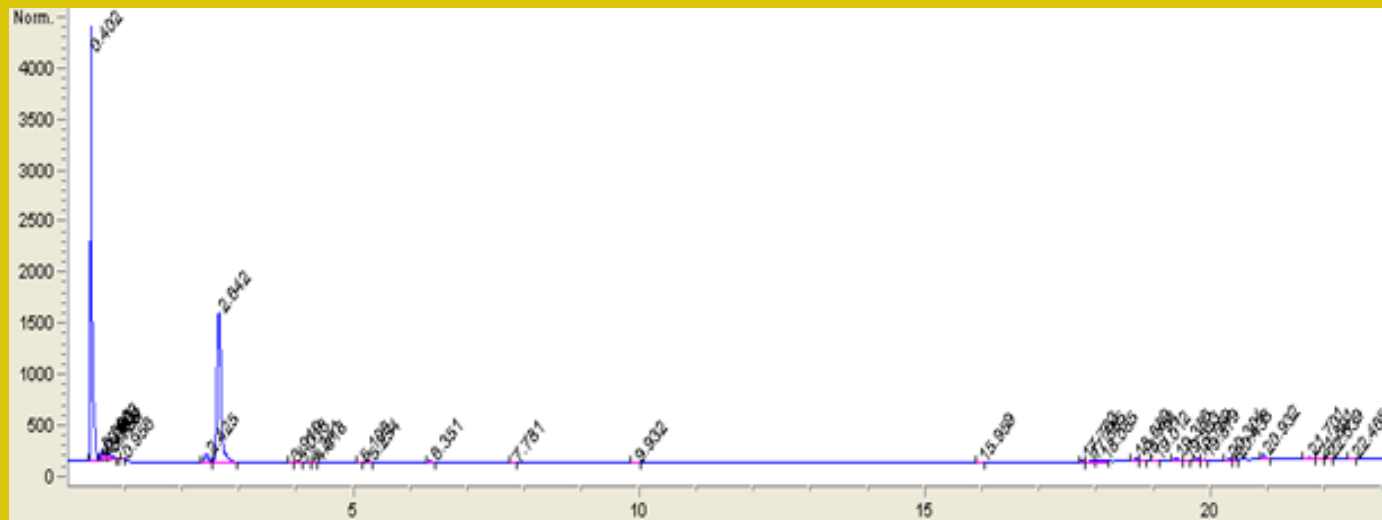
Leer un blanco reactivo (hexano o isooctano), un blanco matriz (aceite dieléctrico) exento de PCBs y comparar las dos lecturas de estos cromatogramas.

Para Especificidad

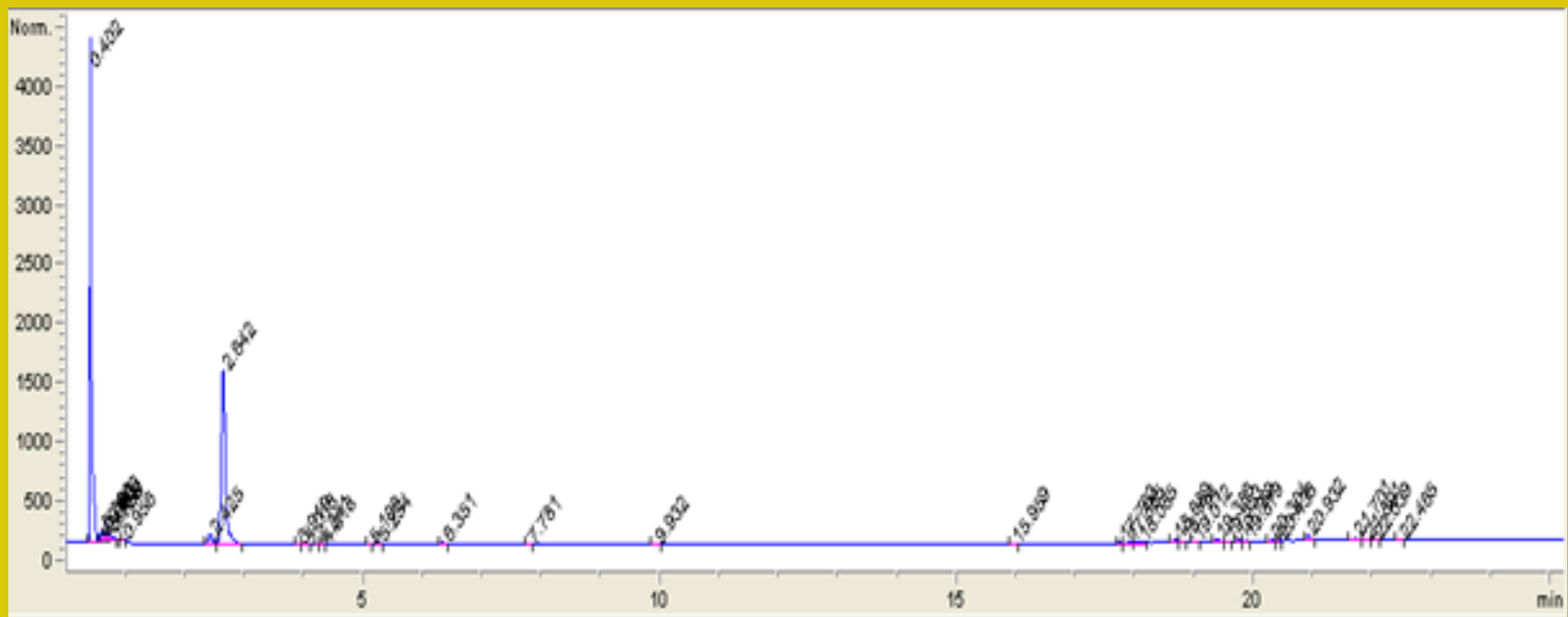
Aplicación:

Leer los tres estándares de AROCLOR en isooctano por separado por GC de masas e identificar los picos determinantes de AROCLORES. Hacer un mínimo de siete corridas.

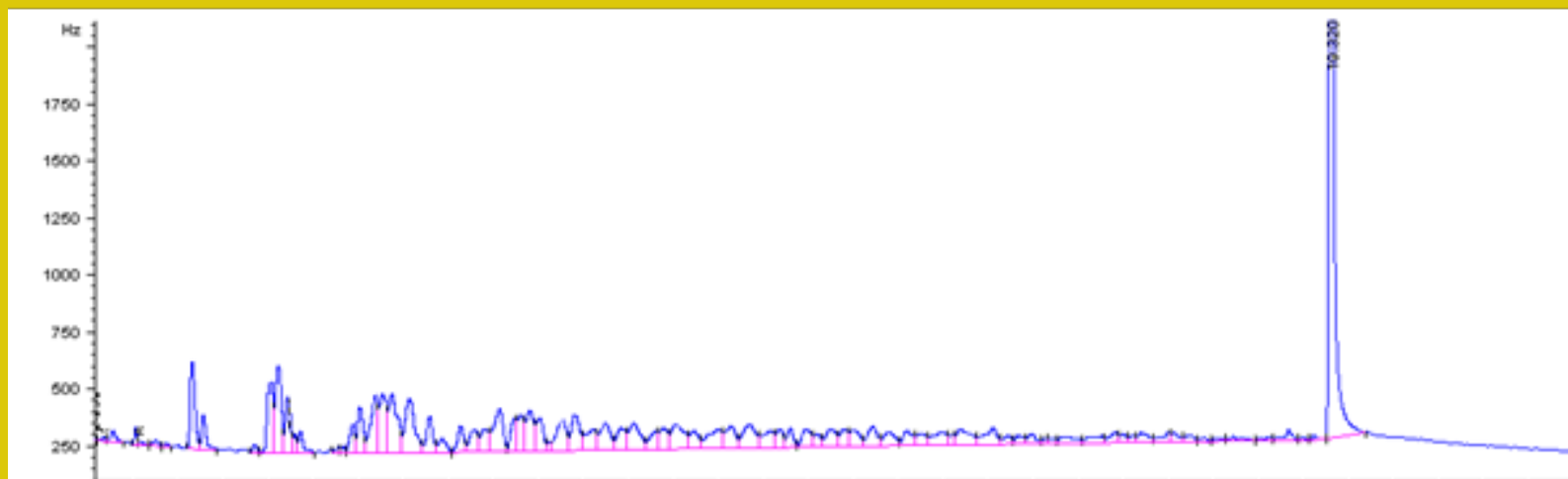
Solvente-isooctano



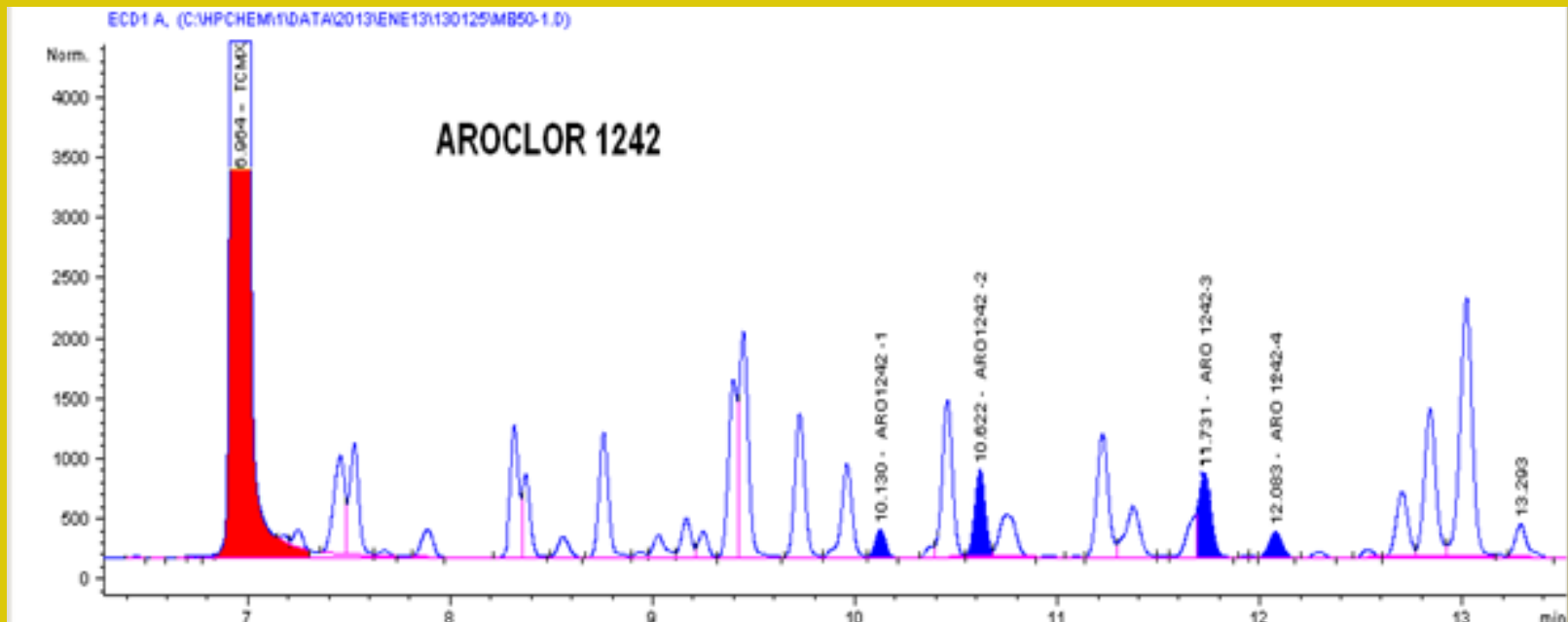
Matriz: aceite



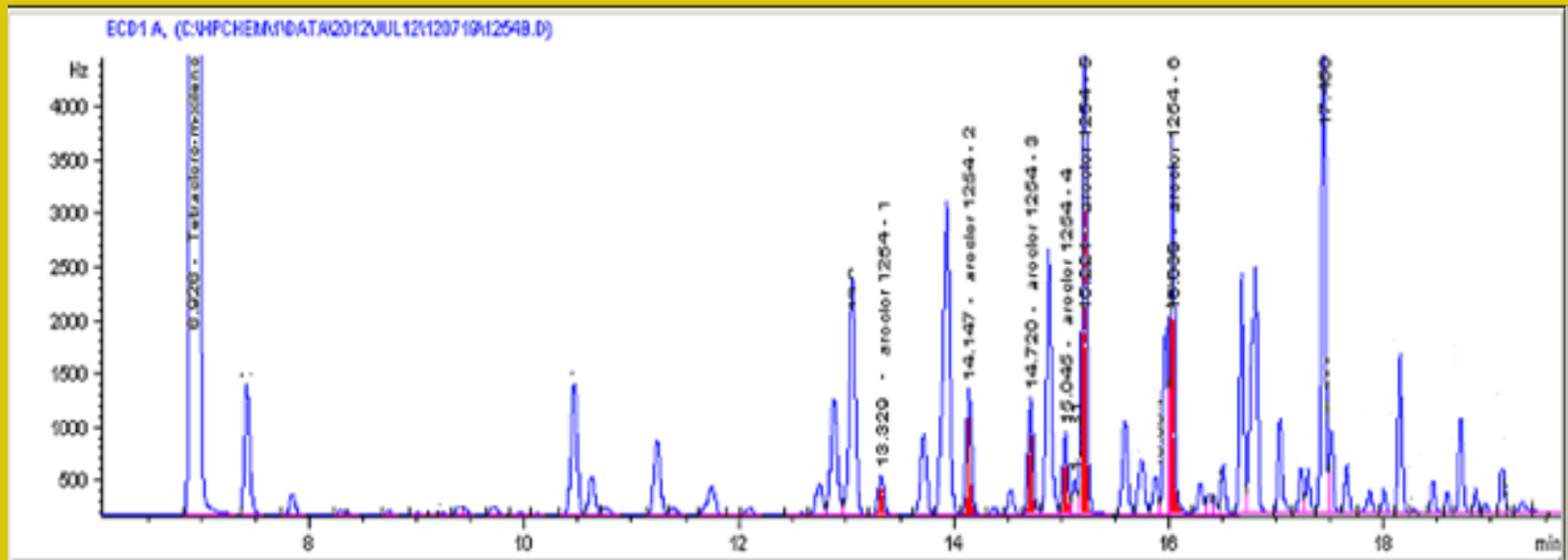
Muestra real



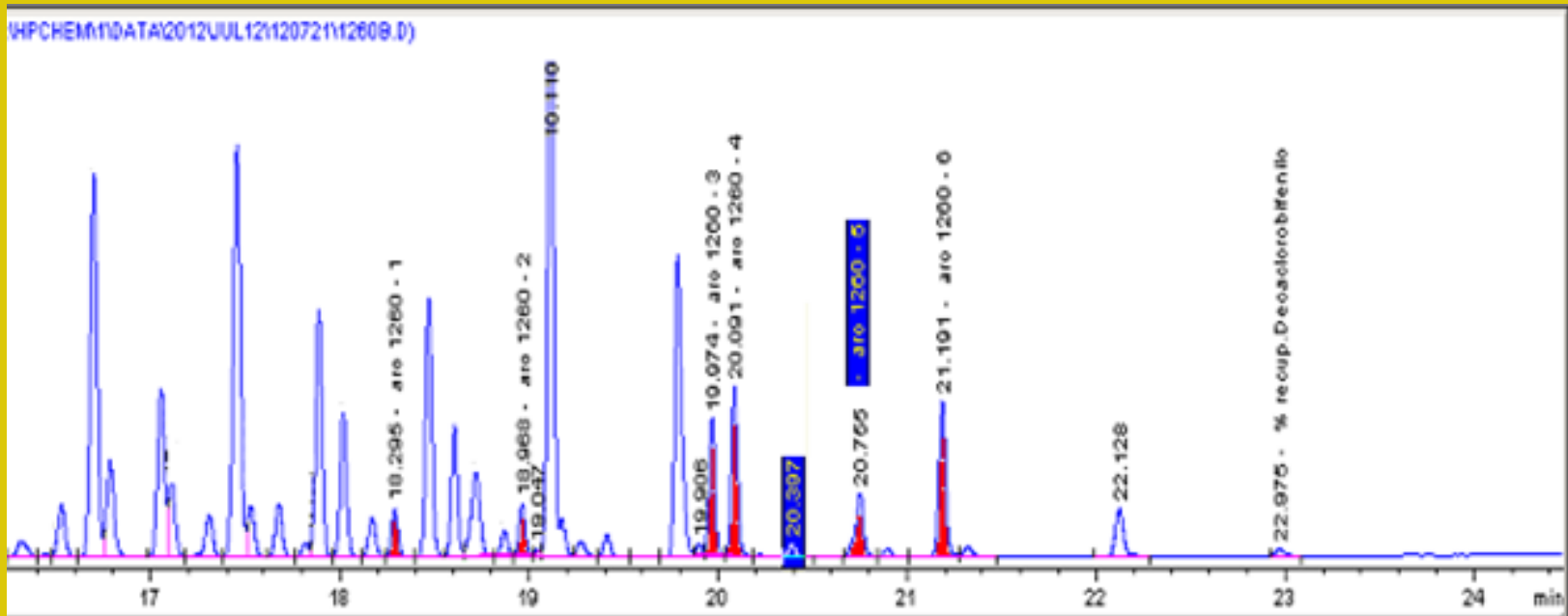
PCB: 1242



PCB: 1254



PCB: 1260



Selectividad

No hay interferencia en comparación del blanco de solvente con el blanco matriz (aceite dieléctrico libre de PCB), pero si hay picos interferentes en los minutos iniciales del 1242, por lo que se escoge a partir del minuto 10.

No hay interferencia alguna para los arocloros 1254, y 1260.

Especificidad

El Detector de captura de electrones es específico para todos los organohalogenados. Se está ejecutando igual al método ASTM D4059-00 (2010).

2. Precisión: repetibilidad, precisión intermedia

-Desviación estándar de repetibilidad y la desviación estándar de reproducibilidad por análisis simple de varianza.

Análisis Simple de la Varianza			
Origen de la varianza	Grados de Libertad (v)	Sumas de diferencias cuadráticas (SDC)	Diferencias cuadráticas medias (DCM=SDC/v)
Entre grupos	V1 =k-1	$SDC_B = \sum_{i=1}^k p(\mu_i - \mu)^2$	$DCM_B = \frac{SDC_B}{k-1}$
Dentro de grupos	V2=n-k	$SDC_W = \sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^p (x_{ij} - \mu_i)^2$	$DCM_W = \frac{SDC_W}{n-k}$
Total	V=n-1	$SDC_T = \sum \sum (x_{ij} - \mu)^2$	$DCM_T = \frac{SDC_T}{n-1}$

-Homogeneidad de valores por medio de la prueba de F.

$$F = \frac{DCM_B}{DCM_W}$$

-Prueba de normalidad por medio (p-value)??

2. Precisión: repetibilidad, precisión intermedia

La desviación estándar de repetibilidad (S_r) es

$$S_r = \sqrt{DCM_W}$$

La desviación estándar de reproducibilidad (S_R) es

$$S_R = \sqrt{S_r^2 + S_L^2}$$

Donde:

$$S_L^2 = \frac{DCM_B - DCM_W}{p}$$

2. Precisión: repetibilidad, precisión intermedia

Muestra	20 ug/g	50 ug/g	100 ug/g	500 ug/g	5000 ug/g
Aroclor 1242	10 ensayos x 2 analistas	10 ensayos x 2 analistas	10 ensayos x 2 analistas	10 ensayos x 2 analistas	10 ensayos x 2 analistas
Aroclor 1254	10 ensayos x 2 analistas	10 ensayos x 2 analistas	10 ensayos x 2 analistas	10 ensayos x 2 analistas	10 ensayos x 2 analistas
Aroclor 1260	10 ensayos x 2 analistas	10 ensayos x 2 analistas	10 ensayos x 2 analistas	10 ensayos x 2 analistas	10 ensayos x 2 analistas

aroclor 1242, concentración de 20 ug/g

Analista1	Analista2			Analista1	Analista2
1242 - 20 ug/g	1242 - 20 ug/g	Sumatoria de diferencias al cuad. grupo 1	Sumatoria de diferencias al cuad. grupo 2	Sumatoria de diferencias con respecto al promedio total	Sumatoria de diferencias con respecto al promedio total
18,88	20,65	0,48	0,11	1,15	0,49
18,01	20,11	2,45	0,05	3,77	0,02
20,93	21,34	1,83	1,03	0,95	1,93
21,19	22,18	2,59	3,41	1,52	4,94
18,96	17,63	0,38	7,31	0,99	5,41
20,16	20,08	0,34	0,06	0,04	0,02
18,25	20,49	1,75	0,03	2,89	0,29
19,45	19,69	0,02	0,41	0,25	0,07
19,54	19,69	0,00	0,41	0,17	0,07
20,39	21,44	0,67	1,23	0,19	2,20
19,58	20,33	10,50	14,04	11,92	15,45
<u>Ci</u>	<u>Ci</u>				
19,95					
<u>C</u>					

2. Precisión: repetibilidad, precisión intermedia

Origen de la varianza	Grado de Libertad	Sumas de diferencias cuadráticas (SDC)	diferencias cuadráticas medias (DCM=SDC/v)	
entre Grupos	2-1=1	2,83	2,833456024	k-1 = 1
dentro de grupo	20-2=18	24,54	1,363300583	n-k = 2
Global	20-1=19	27,37	1,440677185	

desviación estándar de repetibilidad	
Sr	1,16760463
Sr ²	1,36330058
desviación estándar entre los niveles	
SL ²	0,14701554
desviación estándar de la reproducibilidad	
SR	1,2289492

2. Precisión: repetibilidad, precisión intermedia

Se comprobó la repetibilidad (S_r) y reproducibilidad (S_R) entre dos analistas, en los 05 niveles de concentración (20, 50, 100, 500 y 5000 $\mu\text{g/g}$), teniendo en sus valores una distribución normal ($P \text{ value} > 0,05$), y además no teniendo diferencias significativa entre los valores hallados entre los analistas.

3. Evaluación de la Veracidad en los tres niveles de concentración de cada aroclor

Fiola de 5 mL (cod. ID)		IMV-1196	INV-1195	INV-1194
Micropipeta 100 - 1000		M-AO-01	M-AO-01	M-AO-01
Vol de Alicuota (mL)		0,2	0,5	1
Valor Verdadero (ug/g)	1242	20,14	50,36	100,72
Valor Verdadero (ug/g)	1254	20	50	100
Valor Verdadero (ug/g)	1260	20,25	50,62	101,24

3. Evaluación de la Veracidad en los tres niveles de concentración de cada aroclor

Nivel de concentración	% Prom., Recup., de Aroclor 1242	% Prom., Recup., de Aroclor 1254	% Prom., Recup., de Aroclor 1260
Conc. 20 ug/g	97,18	95,15	99,85
Conc. 50 ug/g	100,82	102,83	96,10
Conc. 100 ug/g	96,31	101,29	95,90

3. Evaluación de la Veracidad en los tres niveles de concentración de cada aroclor

Los Criterios de Evaluación de la veracidad concuerdan con los Criterios de la AOAC 19th, Ed. 2012.

% Analito	C	Otras Unidades	% Recuperación
100	1	100	98 – 102
10	0.1	10	98 – 102
1	0.01	1	97 – 103
0.1	0.001	0.1	95 – 105
0.01	0.0001	100 ppm	90 – 107
0.001	0.00001	10 ppm	80 – 110
0.0001	0.000001	1 ppm	80 – 110
0.00001	0.0000001	100 ppb	80 – 110
0.000001	0.00000001	10 ppb	60 – 115
0.0000001	0.000000001	1 ppb	40 – 120

3. Evaluación de la Veracidad en los tres niveles de concentración de cada aroclor

Los Criterios de Evaluación de la veracidad concuerdan con los Criterios de la AOAC 19th, Ed. 2012.

% Analito	C	Otras Unidades	% Recuperación
100	1	100	98 – 102
10	0.1	10	98 – 102
1	0.01	1	97 – 103
0.1	0.001	0.1	95 – 105
0.01	0.0001	100 ppm	90 – 107
0.001	0.00001	10 ppm	80 – 110
0.0001	0.000001	1 ppm	80 – 110
0.00001	0.0000001	100 ppb	80 – 110
0.000001	0.00000001	10 ppb	60 – 115
0.0000001	0.000000001	1 ppb	40 – 120

4. Linealidad

Evalúa que la función de respuesta del instrumento mantenga una función lineal con la concentración de la muestra correspondiente.

Aplicación:

El intervalo lineal se obtiene analizando 05 soluciones estándares de concentraciones de trabajo y elaborando la curva de calibración áreas versus concentración.

Concentración de mezcla de estándares añadido (ug/mL)	Repeticiones
0.20	03 lecturas
0.40	03 lecturas
1.00	03 lecturas
2.00	03 lecturas
4.00	03 lecturas

- Criterios de aceptación.

Para evaluar la linealidad de la curva de calibración se aplica el criterio de aceptación del coeficiente de correlación $(r) > 0.99$.

La distribución aleatoria de los valores residuales para cada aroclor (Suma de picos característicos) alrededor de la línea recta confirma la linealidad.

4. Linealidad

Aroclor 1242

Picos	R2	R	A	B	Sb	Sa
1242 -1	0.9986	0.99928	266.33	7207.05	157.76	36.54
1242 -2	0.9989	0.9995	517.38	7847.13	147.99	97.47
1242 -3	0.9988	0.9994	705.11	8375.57	166.38	168.04
1242 -4	0.9988	0.9994	225.84	7755.08	49.75	13.81

4. Linealidad

Aroclor 1254

Picos	R2	R	A	B	Sb	Sa
1254 -1	0.9958	0.99788	160.6272	29923.88	1126.45	76.47
1254 -2	0.9986	0.99928	382.8781	30248.74	662.69	141.71
1254 -3	0.9994	0.99968	261.0820	31606.59	41.75	89.55
1254 -4	0.9975	0.99875	250.1109	30379.36	743.95	93.94
1254 -5	0.9989	0.99943	1351.1015	30724.32	464.40	414.78
1254 -6	0.9978	0.99889	1210.3650	31265.27	678.89	469.65

4. Linealidad

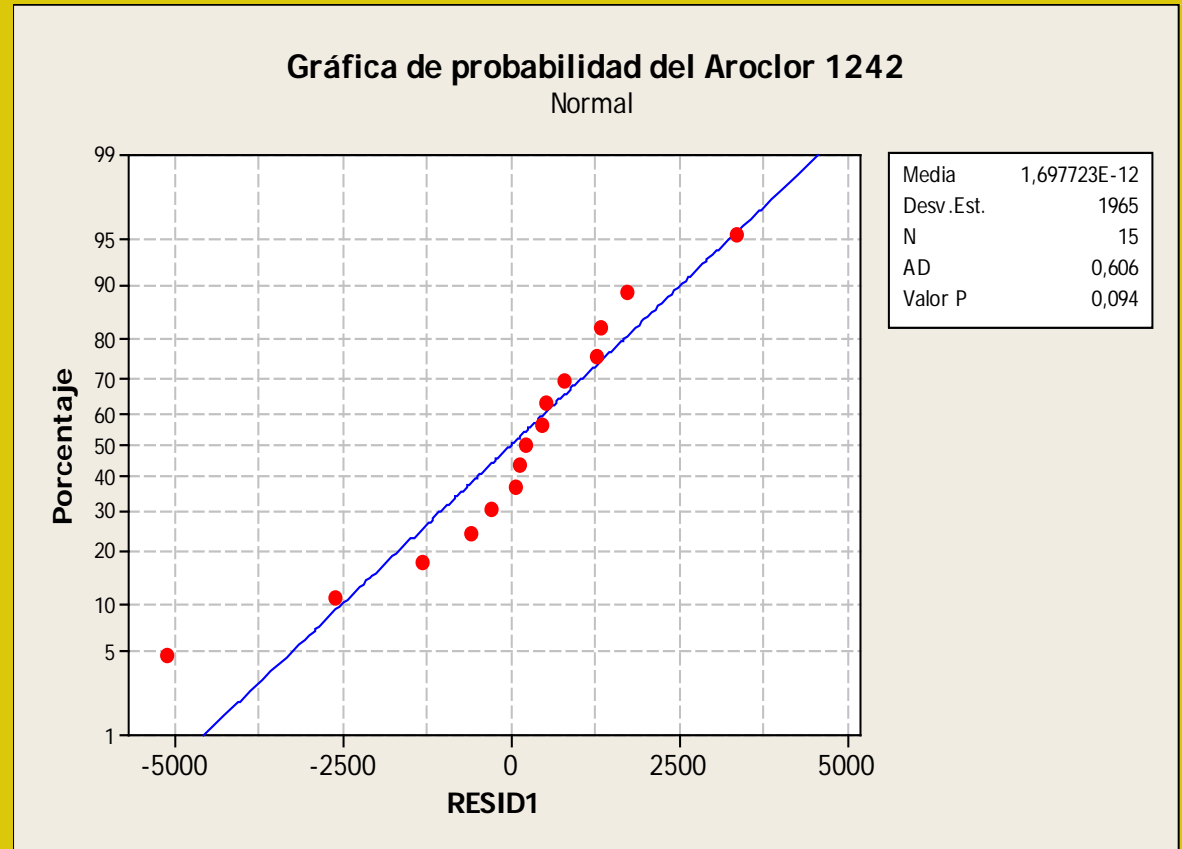
Aroclor 1260

Picos	R2	R	A	B	Sb	Sa
1260 -1	0.9961	0.9981	-106.89	38007.60	1365.14	177.16
1260 -2	0.9999	0.99999	17.56	36995.52	245.04	35.23
1260 -3	0.9998	0.9999	13.57	36960.99	318.03	129.07
1260-4	0.9999	0.99999	221.55	36282.11	158.03	86.86
1260-5	0.9993	0.9996	192.08	36639.45	398.89	100.55
1260-6	0.9998	0.99999	275.65	36000.43	301.36	174.33

4. Linealidad

Aroclor 1242

Conc.	Areas	RESID1	AJUSTES1
0,21	2681,72	-290,27	2971,99
0,21	3044,10	72,11	2971,99
0,21	3190,16	218,17	2971,99
0,41	4548,30	-576,53	5124,83
0,41	5244,95	120,12	5124,83
0,41	5581,24	456,41	5124,83
1,02	9124,96	-1327,73	10452,69
1,02	10974,73	522,04	10452,69
1,02	11258,37	805,68	10452,69
2,22	16462,80	-2621,81	19084,61
2,22	20374,21	1289,60	19084,61
2,22	20416,83	1332,22	19084,61
4,18	30243,49	-5100,37	35343,86
4,18	37075,38	1731,52	35343,86
4,18	38712,71	3368,85	35343,86



El valor P es 0,094, mayor que 0,05, por lo que se concluye que la distribución de datos residuales de las curva de calibración para el aroclor 1242, tienen una distribución normal.

5. Límite de cuantificación y de detección

	1242	1254	1260
S	0,0052	0,0068	0,0031
T 95%,	1,833	1,833	1,833
FACTOR	50,0	50,0	50,0
LDM	0,48 ug/g	0,52 ug/g	0,29 ug/g
LCM	1,2 ug/g	1,6 ug/g	0,7 ug/g

6. Rango de lineal y de trabajo.

- Aroclor 1242 rango lineal de 1.2 a 200 ug/g.
- Aroclor 1254 rango lineal de 1.6 a 200 ug/g.
- Aroclor 1260 rango lineal de 0.8 a 200 ug/g.

- Rango de trabajo
- 50x -----10000 ug/g

7. Robustez

Corrida A B C

1 - - -
 2 + - -
 3 - + -
 4 + + -
 5 - - +
 6 + - +
 7 - + +
 8 + + +
 9 - - -
 10 + - -
 11 - + -
 12 + + -
 13 - - +
 14 + - +
 15 - + +
 16 + + +

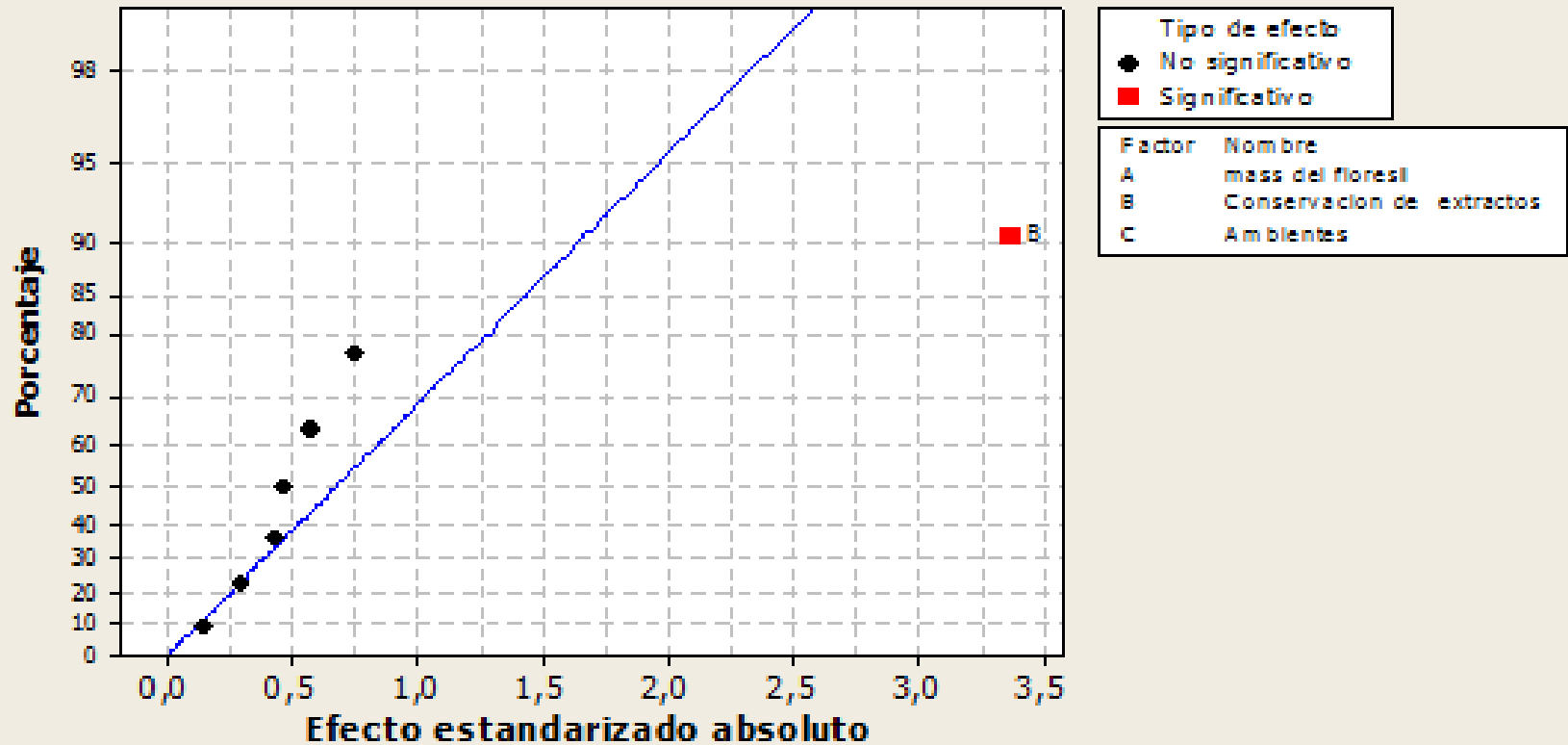
Factores	Niveles de Evaluación		
	Repeticiones	Mínimo	Máximo
Florisil	2	0,4 g	0,5 g
Conservación de extracto	2	3 días	4 días
Ambiente de trabajo	2	Nª 09	Nª 11

7. Robustez

Orden	Bloques	masa del florisil	Conservación de extractos	Ambientes	1242(ug/g)	1254(ug/g)	1260(ug/g)
1	1	0,4 g	3 días	Nº 09	47,6	49,9	50,5
2	1	0,5 g	3 días	Nº 09	48,4	50,4	49,7
3	1	0,4 g	4 días	Nº 09	50,5	55,2	50,6
4	1	0,5 g	4 días	Nº 09	54,0	51,5	48,0
5	1	0,4 g	3 días	Nº 11	50,7	50,2	49,4
6	1	0,5 g	3 días	Nº 11	48,9	51,5	52,7
7	1	0,4 g	4 días	Nº 11	50,3	53,9	55,2
8	1	0,5 g	4 días	Nº 11	52,6	55,8	53,4
9	1	0,4 g	3 días	Nº 09	51,0	49,8	49,9
10	1	0,5 g	3 días	Nº 09	48,7	51,3	49,2
11	1	0,4 g	4 días	Nº 09	56,1	56,2	50,3
12	1	0,5 g	4 días	Nº 09	54,3	48,2	48,7
13	1	0,4 g	3 días	Nº 11	51,7	50,5	49,0
14	1	0,5 g	3 días	Nº 11	48,9	51,8	52,9
15	1	0,4 g	4 días	Nº 11	57,9	50,4	53,6
16	1	0,5 g	4 días	Nº 11	55,6	47,8	51,4

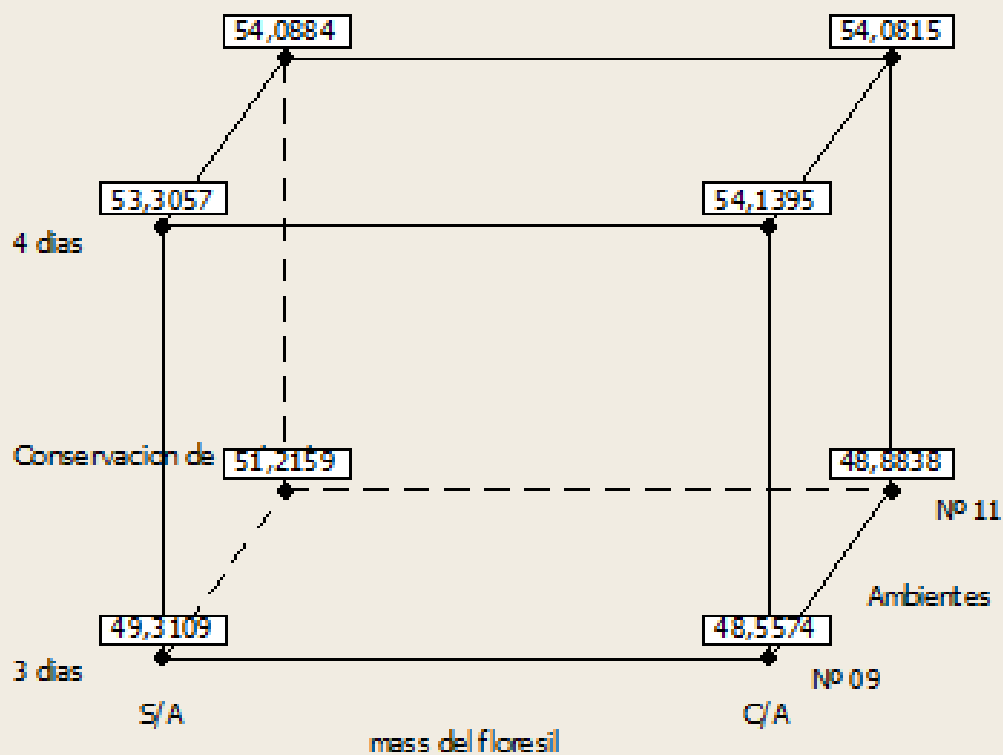
7. Robustez

Gráfica de efectos normales (absolutos) estandarizados
(la respuesta es 1242(ug/g), Alfa = 0.05)



7. Robustez

Gráfica de cubos (medias de los datos) para 1242(ug/g)



8. Incertidumbre

Nivel/aroclor	Aroclor 1242	Aroclor 1254	Aroclor 1260
20 ug/g	20,8 ± 3,0 ug/g	19,4 ± 3,6 ug/g	19,7 ± 2,1 ug/g
50 ug/g	51,8 ± 2,9 ug/g	50,1 ± 3,1 ug/g	49,1 ± 2,1 ug/g
100 ug/g	95,6 ± 3,1 ug/g	105,4 ± 3,4 ug/g	100,4 ± 2,3 ug/g
500 ug/g	500,6 ± 28,4 ug/g	503,8 ± 31,4 ug/g	506,2 ± 19,1 ug/g
5000 ug/g	5006 ± 281 ug/g	5337 ± 312 ug/g	5322 ± 105 ug/g

FIN

- GRACIAS