



INSTITUTO NACIONAL DE SILICOSIS
Departamento Técnico

GUÍA TÉCNICA INS:

Métodos de determinación de

PARTÍCULAS y

SÍLICE CRISTALINA RESPIRABLE

**SERVICIO DE LABORATORIO
DEPARTAMENTO TÉCNICO
INSTITUTO NACIONAL DE SILICOSIS**

2ª EDICIÓN

ABRIL 2018



INSTITUTO NACIONAL DE SILICOSIS

GUÍA TÉCNICA

**MÉTODOS DE DETERMINACIÓN DE PARTÍCULAS Y SÍLICE
CRISTALINA RESPIRABLE**



Esta Guía Técnica ha sido editada, en versión digital, por el Departamento Técnico del Instituto Nacional de Silicosis.

Incluye los métodos de determinación de partículas y sílice cristalina respirable utilizados y recomendados por el Instituto Nacional de Silicosis y por la Comisión Nacional de Seguridad Minera. Igualmente, constituye una guía recomendada al amparo de la legislación vigente (Real Decreto 39:1997).

La única versión válida y actualizada de esta guía será la obtenida oficialmente del Instituto Nacional de Silicosis, con copia en formato digital controlada y personalizada. Cualquier otro documento puede resultar inadecuado o contener errores.

AUTORES

Pablo Fernández Rodríguez

Dr. en Química. Jefe de Sección del Laboratorio del Departamento Técnico del Instituto Nacional de Silicosis

Vanesa Díaz Huerta

Dra. en Química. Adjunta del Laboratorio del Departamento Técnico del Instituto Nacional de Silicosis

2ª Edición de la Guía
Oviedo, abril de 2018

CONTENIDO

PRESENTACIÓN	5
CRITERIOS DE USO	6
INS-IT02: MÉTODO DE DETERMINACIÓN GRAVIMÉTRICA DE PARTÍCULAS EN AIRE ...	8
1 OBJETO Y ALCANCE	8
2 DOCUMENTACIÓN DE REFERENCIA	8
3 DESARROLLO	8
3.1 Definiciones	8
3.2 Fundamento del método	11
3.3 Reactivos	11
3.4 Aparatos y material	11
3.5 Procedimiento de análisis	12
3.5.1 Consideraciones previas	12
3.5.2 Limpieza del material	12
3.5.3 Acondicionamiento del filtro	12
3.5.4 Pesada de los filtros previa a la toma de muestra	13
3.5.5 Pesada de los filtros posterior a la toma de muestra	13
3.6 Cálculos y expresión de resultados	13
4 VALIDACIÓN	14
4.1 Documentación de referencia	14
4.2 Criterios de aceptación	14
4.3 Cálculo de incertidumbre	14
4.3.1 Validación del método	15
4.3.1.1. Diseño experimental	15
4.3.1.2. Cálculo del Límite de Detección	16
4.3.1.3. Cálculo del Límite de cuantificación. Confirmación experimental	16
4.3.1.4. Validación en todo el rango de análisis	17
4.3.1.5. Exactitud	17
4.3.1.6. Precisión	18
INS-IT05: MÉTODO DE DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO EN SÍLICE CRISTALINA RESPIRABLE POR IR	19
1 OBJETO Y ALCANCE	19
2 DOCUMENTACIÓN DE REFERENCIA	19
3 DESARROLLO	20
3.1 Definiciones	20
3.2 Fundamento del método	22
3.3 Reactivos	22
3.4 Aparatos y material	22
3.5 Procedimiento de análisis	23
3.5.1 Limpieza del material	23
3.5.2 Preparación de los patrones de calibración	23
3.5.3 Preparación de la recta de calibrado	24
3.5.4 Criterios de aceptación y rechazo en la preparación de la recta de calibrado	24
3.5.5 Preparación de la muestra	25
3.5.6 Determinación del contenido en sílice cristalina de las muestras	25
3.6 Cálculos: Determinación de la concentración de sílice cristalina en aire	26
3.7 Expresión de resultados	26
3.8 Criterios de aceptación y rechazo	26
4 VALIDACIÓN	27
4.1 Documentación de referencia	27
4.2 Validación	27
4.2.1 Criterios de aceptación	28
4.2.2 Preparación del patrón de cuarzo	28

4.2.3	Preparación de las membranas	28
4.2.4	Calcinación de las membranas y preparación de las pastillas	29
4.2.5	Medición de las pastillas	29
4.2.6	Resultados	29
4.2.6.1.	Análisis de varianza	29
4.2.6.2.	Exactitud	30
4.2.6.3.	Repetibilidad	31
4.2.6.4.	Reproducibilidad	32
4.2.7	Cálculo de incertidumbre	32
4.2.8	Características analíticas de la determinación de sílice cristalina por IR con transformada de Fourier	34
4.2.9	Cálculo del límite de cuantificación	35

INS-IT10: MÉTODO DE DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO EN CUARZO ALFA RESPIRABLE Y CRISTOBALITA ALFA RESPIRABLE POR DRX

		36
1	OBJETO Y ALCANCE	36
2	DOCUMENTACIÓN DE REFERENCIA	36
3	DESARROLLO	37
3.1	Definiciones	37
3.2	Fundamento del método	39
3.3	Reactivos	39
3.4	Aparatos y material	39
3.5	Procedimiento de análisis	40
3.5.1	Chequeo de interferencias	40
3.5.2	Preparación de la muestra	40
3.5.3	Preparación de los patrones de la recta de calibrado	41
3.5.4	Control de calidad y criterios de aceptación	42
3.5.5	Medición de muestras	43
3.6	Cálculos: Determinación de la concentración de cuarzo α y cristobalita α en aire ..	45
3.7	Expresión de resultados	46
4	VALIDACIÓN	46
4.1	Documentación de referencia	46
4.2	Validación	47
4.2.1	Criterios de aceptación	47
4.2.2	Preparación de las muestras de validación	48
4.2.3	Calcinación de las membranas y preparación de las muestras	48
4.2.4	Medición de las muestras	48
4.2.5	Resultados para el cuarzo	48
4.2.5.1.	Exactitud	48
4.2.5.2.	Precisión en condiciones de repetibilidad	51
4.2.5.3.	Precisión en condiciones de Reproducibilidad	51
4.2.5.4.	Cálculo de incertidumbre	52
4.2.5.5.	Características analíticas de la determinación de cuarzo α por DRX	55
4.2.6	Resultados para la cristobalita	57
4.2.6.1.	Exactitud	57
4.2.6.2.	Precisión en condiciones de repetibilidad	58
4.2.6.3.	Precisión en condiciones de Reproducibilidad	59
4.2.6.4.	Cálculo de incertidumbre	59
4.2.6.5.	Características analíticas de la determinación de cristobalita α por DRX ..	62

INS-IT23: MÉTODO DE IDENTIFICACIÓN DE SÍLICE CRISTALINA RESPIRABLE EN MUESTRAS CON PRESENCIA DE CARBONATOS POR IR DIRECTAMENTE SOBRE MEMBRANA

		64
1	OBJETO Y ALCANCE	64
2	DOCUMENTACIÓN DE REFERENCIA	64
3	DESARROLLO	65
3.1	Definiciones	65
3.2	Fundamento del método	66
3.3	Reactivos	66
3.4	Aparatos y material	66
3.5	Procedimiento de análisis	67

3.5.1	Análisis cualitativo de sílice cristalina (“screening”) mediante espectrofotometría de IR.....	67
3.6	Expresión de resultados.....	68
3.7	Criterios de aceptación y rechazo.....	68
4	VALIDACIÓN	68
4.1	Documentación de referencia.....	68
4.2	Validación.....	69
4.2.1	Criterios de aceptación	69
4.2.2	Preparación del patrón de cuarzo en una matriz de carbonato.....	69
4.2.3	Resultados	70

INS-IT24: MÉTODO DE DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO EN SÍLICE CRISTALINA RESPIRABLE EN MUESTRAS CON PRESENCIA DE CARBONATOS POR IR

1	OBJETO Y ALCANCE	72
2	DOCUMENTACIÓN DE REFERENCIA.....	72
3	DESARROLLO.....	73
3.1	Definiciones.....	73
3.2	Fundamento del método	75
3.3	Reactivos	75
3.4	Aparatos y material	75
3.5	Procedimiento de análisis	76
3.5.1	Limpieza del material	76
3.5.2	Preparación de los patrones de calibración.....	76
3.5.3	Preparación de la recta de calibrado.....	77
3.5.4	Criterios de aceptación y rechazo en la preparación de la recta de calibrado.....	77
3.5.5	Preparación de la muestra.....	78
3.5.5.1.	Tratamiento ácido	78
3.5.5.2.	Calcinación y preparación de pastilla	78
3.5.6	Determinación del contenido en sílice cristalina de las muestras	78
3.6	Cálculos: Determinación de la concentración de sílice cristalina en aire	79
3.7	Expresión de resultados.....	79
3.8	Criterios de aceptación y rechazo.....	80
4	VALIDACIÓN	80
4.1	Documentación de referencia	80
4.2	Validación.....	81
4.2.1	Criterios de aceptación	81
4.2.2	Preparación del patrón de cuarzo en una matriz de carbonato.....	81
4.2.3	Preparación de las membranas.....	81
4.2.4	Tratamiento ácido de las membranas previo a la calcinación.....	82
4.2.5	Calcinación de las membranas y preparación de las pastillas.....	82
4.2.6	Resultados	82
4.2.6.1.	Análisis de varianza	82
4.2.6.2.	Exactitud	83
4.2.6.3.	Repetibilidad	85
4.2.6.4.	Reproducibilidad	85
4.2.7	Cálculo de incertidumbre	86
4.2.8	Características analíticas de la determinación de sílice cristalina por IR con transformada de Fourier en presencia de carbonatos.....	87
4.2.9	Cálculo del límite de cuantificación.....	88

PRESENTACIÓN

El Laboratorio del Departamento Técnico del Instituto Nacional de Silicosis ha venido analizando durante décadas la práctica totalidad de muestras de exposición laboral a partículas y sílice cristalina respirable, provenientes de empresas sujetas al Reglamento General de Normas Básicas de Seguridad Minera –RGNBSM-, de España. Además, se han llevado a cabo una gran cantidad de análisis de muestras generadas en otros entornos industriales con riesgo por exposición a sílice.

Esta enorme experiencia, junto con los estudios internos desarrollados y la participación en proyectos nacionales e internacionales, se traduce en unos métodos para el análisis de los agentes químicos comentados que garantizan los mejores resultados y la más veraz evaluación del riesgo a que están sometidos los trabajadores. Y ello tanto para análisis de sílice cristalina en su forma más habitual (cuarzo), como ante la necesidad de cuantificar sus otros polimorfos. De hecho, desde el año 2006 estos métodos de determinación de fracción respirable y sílice cristalina respirable están acreditados por la Entidad Nacional de Acreditación (ENAC) conforme a la norma UNE-EN ISO/IEC 17025 “Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración” (nº acreditación 526/LE1120), siendo el primer laboratorio español acreditado para este tipo de ensayos.

Como consecuencia de lo anterior, la Comisión Nacional de Seguridad Minera -CNSM-, reunida en permanente con fecha 22 de noviembre de 2012, adoptó los métodos analíticos del Laboratorio del Departamento Técnico del INS como preferidos o recomendados. En su sesión de igual fecha esta recomendación fue aprobada igualmente por el Pleno de esta Comisión.

Con el fin de garantizar la fiabilidad de los resultados del análisis de muestras, independientemente del laboratorio que realice los mismos, y evitar discrepancias en la valoración de la exposición profesional a partículas y sílice cristalina respirable, el Instituto Nacional de Silicosis editó la Guía Técnica “Métodos de determinación de materia particulada (fracción respirable) y sílice cristalina respirable”. Esta segunda edición se publica como consecuencia de la actualización de los métodos de análisis del Laboratorio del Departamento Técnico del Instituto Nacional de Silicosis.

Esta Guía, además de incluir los métodos recomendados por la Comisión Nacional de Seguridad Minera, se establece al amparo de las capacidades que el Real Decreto 39/1997, de 17 de enero, por el que se aprueba el Reglamento de los Servicios de Prevención, atribuye al Instituto Nacional de Silicosis, a través del apartado 3.b de su artículo 5.

CRITERIOS DE USO

La única versión válida y actualizada de esta Guía será la obtenida oficialmente del Instituto Nacional de Silicosis, con copia controlada y personalizada. Cualquier otro documento puede resultar inadecuado o contener errores.

En esta Guía se recogen los métodos oficiales de análisis del Instituto Nacional de Silicosis para la determinación de materia particulada y sílice cristalina respirable:

INS-IT02:	Método de determinación gravimétrica de partículas en aire.
INS-IT05:	Método de determinación del contenido en sílice cristalina respirable por IR.
INS-IT10:	Método de determinación del contenido en cuarzo alfa respirable y cristobalita alfa respirable por DRX.
INS-IT23:	Método de identificación de sílice cristalina respirable en muestras con presencia de carbonatos por IR directamente sobre membrana.
INS-IT24:	Método de determinación del contenido en sílice cristalina respirable en muestras con presencia de carbonatos por IR.

Para la determinación de sílice cristalina respirable el INS ha desarrollado métodos basados en Espectroscopía de Infrarrojo (INS-IT05, INS-IT23 e INS-IT24) y en Difracción de Rayos X (INS-IT10). La técnica instrumental Difracción de rayos X (DRX) es más adecuada para la identificación y determinación de polimorfos de sílice cristalina (cuarzo, cristobalita o tridimita) que la Espectrofotometría de Infrarrojo con Transformada de Fourier (FTIR), de ahí que en aquellos casos en los que existe la posibilidad de que la muestra contenga algún polimorfo de sílice diferente del cuarzo, la variedad estable a presión y temperatura ambiente, los métodos recomendados son siempre aquellos basados en DRX. No obstante, pueden existir otros minerales que acompañen a la sílice cristalina que en unos casos (sílice amorfa, volframatos, molibdatos, zircón,...) requieran obligatoriamente el empleo de DRX y en otros (silicatos con estructuras tetraédricas similares tipo feldespatos o micas) la aconsejen.

En todo caso, las recomendaciones de cuándo usar unos métodos u otros son las siguientes:

INS-IT10:

- Cuando la materia prima manipulada pueda incluir cristobalita o tridimita: aglomerados de cuarzo, riolita, traquita, sepiolita, bentonita, attapulgita, ...
- Cuando sean fases minerales que interfieran la determinación de sílice cristalina en FTIR: molibdatos o volframatos (tipo wulfenita, wolframita o scheelita), zircón y sílice amorfa (tierra de diatomeas, ...).
- En aquellas circunstancias en las que el material manipulado haya estado sometido a procesos a alta temperatura (> 600 °C).

INS-IT23/INS-IT24:

- Excepto en los casos detallados en el apartado anterior, muestras que contengan algún tipo de carbonato (caliza, dolomía, marga, magnesita y/o mármol). En el caso de que, además de alguna de las sustancias anteriormente indicadas, la muestra contenga arcilla o caolín, no podrá ser sometida al procedimiento INS-IT23 y se analizará directamente según INS-IT24.

INS-IT05:

- En todos los casos no contemplados en los apartados anteriores.

INS-IT02: MÉTODO DE DETERMINACIÓN GRAVIMÉTRICA DE PARTÍCULAS EN AIRE

1 OBJETO Y ALCANCE

El objeto del presente método es describir el equipo y el procedimiento necesarios para la determinación gravimétrica de partículas en aire que hayan sido captadas sobre un filtro.

Este método es de aplicación para la determinación de partículas, siempre que el sistema de muestreo utilice para su captación filtros de PVC de 5 µm de tamaño de poro, y que la determinación de las partículas se realice por el método gravimétrico (determinación másica).

Este método se aplica para determinar masas de partículas entre 0,20 y 5,00 mg.

Este método es totalmente inespecífico, salvo que se conozca la composición exacta de las partículas presentes en el ambiente a evaluar, ya que determina el peso de cualquier sustancia particulada que quede retenida en el filtro.

2 DOCUMENTACIÓN DE REFERENCIA

- UNE-EN ISO/IEC 17025 “Requisitos generales relativos a la competencia de laboratorios de ensayo y calibración”.
- UNE-EN 481 “Atmósferas en puestos de trabajo. Definición de las fracciones por el tamaño de las partículas para la medición de aerosoles”.
- UNE-EN 1540 “Exposición en el lugar de trabajo. Terminología”.
- CGA-ENAC-LEC “Criterios generales para la acreditación de laboratorios de ensayos y calibración según norma UNE EN-ISO/IEC 17025”.
- UNE 81599 “Exposición en el lugar de trabajo. Determinación de partículas en suspensión en el aire (fracciones inhalable, torácica y respirable) en aire. Método gravimétrico”.
- Reglamento General de Normas Básicas de Seguridad Minera e Instrucciones Técnicas Complementarias.

Toda la documentación referenciada lo es en su versión vigente más actual.

3 DESARROLLO

3.1 DEFINICIONES

Valor límite

Cifra de referencia para la concentración de un agente químico en el aire.

NOTA: Los valores límite están en su mayor parte establecidos para periodos de referencia de 8 horas.

Polvo

Suspensión de materia sólida particulada dispersa en la atmósfera, producida por procesos mecánicos o/y por movimientos de aire.

Aerosol

Partículas en suspensión en el aire y mezcla de gases (y vapores) en la que están en suspensión.

NOTA: Las partículas en suspensión en el aire pueden estar o no en equilibrio con sus propios vapores.

Elemento de retención, sustrato de muestreo, medio de retención o medio de muestreo

Medio en el que se recogen los agentes químicos y/o biológicos en suspensión en el aire para su análisis posterior.

NOTA: Los filtros, las espumas de poliuretano y el conjunto filtro-portafiltro de algunos muestreadores son algunos ejemplos de elementos de retención para partículas en suspensión en el aire.

Fracciones relacionadas con la salud

Término genérico para las fracciones de las partículas en suspensión en el aire que penetran hasta las diferentes regiones del tracto respiratorio, es decir, las fracciones inhalable, torácico y respirable.

NOTA: Las fracciones relacionadas con la salud de las partículas en suspensión en el aire están definidas en la norma EN 481.

Fracción inhalable

Fracción en masa de las partículas totales en suspensión en el aire que se inhala a través de la nariz y la boca.

NOTA: La fracción inhalable está definida en la Norma EN 481.

Fracción respirable

Fracción en masa de las partículas inhaladas que penetra hasta las vías respiratorias no ciliadas.

NOTA: La fracción respirable está definida en la Norma EN 481.

Fracción torácica

Fracción en masa de las partículas inhaladas que penetra mas allá de la laringe.

NOTA: La fracción torácica está definida en la Norma EN 481.

Incertidumbre (de medida)

Parámetro asociado al resultado de una medición, que caracteriza la dispersión de los valores que podrían ser razonablemente atribuidos al mensurando.

Incertidumbre analítica

Incertidumbre combinada del método analítico.

NOTA: La incertidumbre analítica engloba las contribuciones de la recuperación analítica y de la variabilidad analítica.

Incertidumbre de muestreo

Incertidumbre combinada del procedimiento de muestreo.

NOTA: La incertidumbre de muestreo engloba, cuando proceda, las contribuciones del volumen de aire muestreado, de la eficacia de muestreo, del almacenamiento de la muestra y, si es aplicable, del transporte.

Límite de cuantificación, LOQ (limit of quantification)

Cantidad menor de un analito que se puede cuantificar con un nivel de confianza dado.

NOTA 1: El límite de cuantificación se puede calcular como diez veces la desviación típica de las medidas de un blanco.

NOTA 2: El valor del LOQ se puede utilizar como un valor umbral para garantizar la exactitud de la medida de una sustancia.

NOTA 3: Con el LOQ determinado en un experimento de evaluación basado en 10 grados de libertad, la estimación de una cantidad al nivel del valor umbral del LOQ tiene una probabilidad del 95 % de situarse dentro de un intervalo definido como ± 31 % alrededor del valor verdadero, con un nivel de confianza del 95 % para la evaluación.

Límite de detección, LOD (limit of detection)

Cantidad menor de un analito que se puede detectar con un nivel de confianza dado.

NOTA 1: El límite de detección se puede calcular como tres veces la desviación típica de las medidas de un blanco. Esto representa una probabilidad del 50 % de que el analito no se detecte estando presente a la concentración del límite de detección.

NOTA 2: El LOD se puede utilizar como un valor umbral para afirmar la presencia de una sustancia con un nivel de confianza dado.

Muestreador de aerosoles, muestreador de partículas (en suspensión en el aire) o muestreador de materia particulada (en suspensión en el aire)

Muestreador que se utiliza para transportar las partículas en suspensión en el aire a un elemento de retención.

NOTA 1: El término de muestreador de aerosoles es el que se utiliza normalmente aunque no está en línea con la definición de aerosol dada en UNE-EN 1540:2012, 2.2.4.

NOTA 2: El transporte puede ser activo o pasivo.

Muestreador de la fracción respirable

Muestreador de aerosoles que se utiliza para recoger la fracción respirable.

Partículas en suspensión en el aire

Materia fina, en estado sólido o líquido, dispersada en el aire.

NOTA: El humo, la niebla y la neblina están constituidas por partículas en suspensión en el aire.

Precisión

Proximidad de acuerdo entre resultados de ensayo/medida independientes obtenidos bajo condiciones estipuladas.

Procedimiento de medida o método de medida

Conjunto de operaciones descritas específicamente para el muestreo y el análisis de los agentes químicos o biológicos en el aire.

NOTA: Un procedimiento de medida normalmente incluye la preparación del muestreo, el muestreo, el transporte y el almacenamiento, la preparación de las muestras para el análisis y el análisis.

Sesgo

Diferencia entre la esperanza matemática de un resultado de ensayo o de medida y el valor verdadero.

NOTA 1: El sesgo es el error no aleatorio total por oposición al error aleatorio. Puede haber uno o más componentes de error no aleatorio que contribuyan al sesgo. Una mayor diferencia sistemática respecto al valor verdadero se refleja como un valor del sesgo mayor.

NOTA 2: En la práctica, el valor de referencia aceptado sustituye al valor verdadero. El valor de referencia aceptado puede ser, por ejemplo, el valor certificado de un material de referencia, la concentración de una atmósfera de ensayo patrón o el valor diana de una comparación interlaboratorios.

Sistema de muestreo

Conjunto de componentes cuya misión es separar la fracción del aerosol de interés (inhalable, torácica o respirable) y recogerla en un determinado elemento de retención. La bomba de muestreo, el muestreador y el elemento de retención forman parte del sistema de muestreo.

Zona respiratoria

Espacio alrededor de la nariz y la boca en el que la respiración tiene lugar.

NOTA: Técnicamente la zona de respiración se refiere a un hemisferio (generalmente aceptado de 30 cm de radio) que se extiende frente a la cara de la persona, centrado en el punto medio de la línea que une las orejas. La base de hemisferio es el plano que pasa por esta línea, la parte superior de la cabeza y la laringe. Esta descripción técnica no se aplica cuando se utilizan equipos de protección respiratoria.

3.2 FUNDAMENTO DEL MÉTODO

El filtro se acondiciona antes de pesarlo durante un mínimo de 18 horas. Esta operación se realiza tanto en la pesada previa a la toma de muestra como en la posterior a la misma.

La diferencia de peso entre ambas pesadas, expresada en miligramos, corresponde a la cantidad de partículas retenida en el filtro, a partir de la cual se obtiene la concentración de partículas expresada en miligramos por metro cúbico de aire.

3.3 REACTIVOS

Durante el análisis, se usarán sólo reactivos de grado analítico.

- Cloruro cálcico como desecante para la cámara de humedad controlada.
- Etanol o 2-propanol para la limpieza del material.

3.4 APARATOS Y MATERIAL

- Balanza analítica: Con una sensibilidad mínima de 0,01 mg.

- Dispositivo para la eliminación de la electricidad estática en los filtros
- Pinzas antiestáticas para manejar los filtros: Pinzas de material metálico, sin estrías en los bordes ni acabadas en punta, excepto en el caso de que la punta sea de silicona o material de plástico.
- Cámara o recinto de humedad controlada donde se colocará el cloruro cálcico para controlar la humedad de la cámara. Se considerarán condiciones normales de humedad aquellas que no superen el 70%. En caso de que la humedad se encuentre por encima de dicho valor no se llevará a cabo análisis alguno.
- Dispositivo electrónico para la medición de temperatura y humedad.

3.5 PROCEDIMIENTO DE ANÁLISIS

3.5.1 Consideraciones previas

El ensayo se realiza en las condiciones normales del área de la sala de balanzas, considerando como tales una humedad no superior al 70% y una temperatura entre 17 y 27 °C. En caso de que no se cumplan dichas condiciones se detendrán los análisis hasta que la temperatura y la humedad se encuentren dentro de los intervalos anteriormente citados. Estos intervalos se considerarán también como adecuados para la cámara de humedad controlada.

Los valores máximos y mínimos de humedad y temperatura de la sala de balanzas, así como de la cámara de humedad controlada, se registrarán diariamente.

Las balanzas han de estar conectadas a la red de corriente al menos dos horas antes de su uso.

Se ha de poner especial cuidado en trabajar con la puerta del cuarto de balanzas cerrada para evitar posibles corrientes de aire.

Es recomendable evitar la permanencia prolongada de los filtros de membrana fuera del desecador antes de ser pesado para evitar variaciones significativas en el peso de los mismos.

3.5.2 Limpieza del material

Toda el área próxima a la balanza debe mantenerse libre de polvo antes de comenzar el proceso de pesada.

La pesada se realiza directamente sobre el platillo de la balanza o sobre un vidrio de reloj. Las pinzas para manipular las membranas han de limpiarse cuidadosamente usando etanol o 2-propanol y tejidos no fibrosos desechables.

3.5.3 Acondicionamiento del filtro

Los filtros se colocan en la cámara de humedad controlada para su acondicionamiento antes y después de la toma de muestra, dejándose en reposo un mínimo de 18 horas con el fin de equilibrar la humedad de los filtros con la humedad relativa existente.

3.5.4 Pesada de los filtros previa a la toma de muestra

El proceso de pesada del filtro previo a la toma de muestras se realiza siguiendo los siguientes pasos para todos los filtros:

- Se sacan cuidadosamente los filtros de membrana de su caja o paquete original y se colocan sobre los portafiltros, los cuales se etiquetan debidamente para su identificación inequívoca.
- Los portafiltros se introducen en la cámara de humedad controlada y se mantienen en ella al menos durante 18 horas.
- Los filtros se extraen de la cámara en el mismo momento en que se vayan a pesar.
- Antes de cada pesada individual se comprueba que el platillo de la balanza y el vidrio de reloj estén limpios, y se tara la balanza, aguardando unos instantes hasta estabilización de la lectura del “display” de la misma.
- Se retira cuidadosamente el filtro del portafiltros tomándolo con la pinza.
- Se pasa el filtro a través del dispositivo eliminador de electricidad estática.
- Se deposita el filtro en el centro del platillo de la balanza o sobre un vidrio de reloj previamente tarado.
- Una vez estabilizado se registra la pesada y se determina el peso del filtro P_1 con una aproximación mínima de 0,01 mg.
- Los filtros pesados se colocan de nuevo en los portafiltros.
- Los portafiltros, con los filtros de membrana en su interior, se sellan adecuadamente con una pinza para su transporte previo a la toma de muestra.

3.5.5 Pesada de los filtros posterior a la toma de muestra

Una vez recibidos los filtros de membrana en los portafiltros, se introducen en la cámara de humedad controlada para su acondicionamiento, donde se mantienen por un período de al menos 18 horas.

Posteriormente, se determina el peso P_2 de cada filtro siguiendo el mismo procedimiento descrito en el apartado 3.5.4.

El resultado se expresa con dos cifras decimales.

3.6 CÁLCULOS Y EXPRESIÓN DE RESULTADOS

El peso de partículas, P , en miligramos, retenido en el filtro, se obtiene por diferencia entre las dos pesadas P_2 y P_1 (ver apartados 3.5.4 y 3.5.5). Dicho peso aparece en el “Informe final de ensayo” acompañado de la incertidumbre asociada al método, que está recogida en el Apartado 4.

La concentración de partículas en el aire muestreado se calcula a partir de la cantidad P , mediante la siguiente expresión:

$$c = \frac{P}{V} = \frac{(P_2 - P_1)}{V}$$

donde:

c es la concentración de partículas en aire, en mg/m^3 ;

P es la cantidad de partículas, en mg, obtenida por diferencia entre las pesadas P_1 y P_2 ;

V es el volumen de aire muestreado en m^3 .

El resultado se expresará como concentración de partículas en mg/m^3 y se emplearán dos cifras decimales. En caso de que el peso de partículas sea superior o inferior al rango de análisis (entre 0,20 y 5,00 mg), el resultado se expresará sin incertidumbre alguna y se indicará en el informe de ensayo que dicho resultado se encuentra fuera del intervalo de análisis.

4 VALIDACIÓN

4.1 DOCUMENTACIÓN DE REFERENCIA

- "XVIII Curso Implantación de los equipos instrumentales de análisis en el Sistema de Calidad" (G.S.C. Gabinete de Servicios para la calidad, S.A.L.).
- Guía EURACHEM "Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement". First Edition 1995.
- "Estadística para química analítica", Segunda edición, J.C.Miller, J.N.Miller, Addison-Wesley Iberoamericana 1993; USA.
- IT02 "Método de determinación gravimétrica de partículas en aire".

4.2 CRITERIOS DE ACEPTACIÓN

Los requisitos que debe cumplir el método para considerarlo adecuado son los siguientes:

- Precisión mejor del 15%.
- Exactitud (expresada como error relativo) mejor del 10%.
- Incertidumbre expandida no superior a 0,06 mg.
- Límite de cuantificación no superior a 0,30 mg.
- Rango lineal hasta 5,00 mg.

4.3 CÁLCULO DE INCERTIDUMBRE

Para el cálculo de incertidumbres se adopta el modelo de cálculo de incertidumbres en la medida de masas presentado en el "XVIII Curso Implantación de los equipos instrumentales de análisis en el Sistema de Calidad" y basado en las consideraciones de la Guía Eurachem. (Solución al cálculo de incertidumbre en la medida de masas, Jesús Laso Sánchez, Página 2 de 6, Julio de 2003).

Según este modelo, la incertidumbre asociada a la medida de masas tiene dos componentes fundamentales:

- Una debida a la incertidumbre del patrón que consta de:

■ Incertidumbre de calibración: $U_c = \frac{l}{K}$; esta incertidumbre se obtiene del certificado de calibración de la balanza.

■ Incertidumbre de la deriva entre calibraciones: $U_{der} = \frac{\text{Exact.}}{\sqrt{3}}$; en este caso la calculamos a partir de la exactitud de la balanza enfrentando el equipo con una pesa de 10 mg y estudiando las diferencias. En nuestro caso se seleccionó una pesa de 10 mg tipo E2 y se realizaron 5 medidas observándose los siguientes resultados:

Pesada 1	Pesada 2	Pesada 3	Pesada 4	Pesada 5
9,99	9,98	9,99	9,99	9,99

Donde: $\bar{x} = 9,99$ y $\sigma = 0,01$

Así pues se toma 0,01 como la exactitud de la medida.

- Existe otra incertidumbre debida a la propia balanza en la que se realizan las medidas y que en nuestro caso se debe exclusivamente a la incertidumbre de repetición y viene expresada por la fórmula:

$$U_{rep} = \frac{\text{reproducibilidad}}{\sqrt{3}}$$

donde la reproducibilidad viene dada por el fabricante y en nuestro caso es de 0,015.

Con todo ello, la incertidumbre total de la pesada se expresa como:

$$U_{EXP} = 2 \cdot U_{combinada} = 2 \cdot \sqrt{U_c^2 + U_{der}^2 + U_{rep}^2} = 0,04$$

Así pues, 0,04 mg es la incertidumbre expandida de resultado de la pesada.

4.3.1 Validación del método

Para llevar a cabo la validación del ensayo, se aplicó la estadística según el modelo ANOVA ("Estadística para química analítica", Segunda edición, J.C.Miller, J.N.Miller, Addison-Wesley Iberoamericana 1993; USA). A través de este modelo se pretende demostrar que no hay diferencias significativas en la variabilidad inter e intradía, quedando validada de esta forma la metodología de trabajo propuesta.

4.3.1.1. Diseño experimental

El experimento se diseña pesando durante siete días (4 en una balanza y 3 en otra) diez filtros en blanco del mismo lote y observando las varianzas.

Según el modelo ANOVA propuesto, la variable ensayada es la diferencia de peso de un filtro (blanco) en días distintos: **GR: P2-P1**; el número de filtros en cada ensayo: **n = 10**; el número de ensayos independientes: **K = 7**.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio
Entre muestras	7	6	1
Dentro de muestras	135	63	2
Total	143	69	

Para considerar que no hay diferencias significativas se ha de cumplir que $F_{calculada} \leq F_{tabulada}$.
 F se calcula como la fracción entre el cuadrado medio entre muestras y el cuadrado medio dentro de muestras. De acuerdo con los resultados:

$$F_{0,05(6,63)tabulada} = 2,24$$

$$F_{calculada} = \frac{1}{2} = 0,5 \leq 2,24, \text{ por lo que se puede decir que no hay diferencias significativas}$$

4.3.1.2. Cálculo del Límite de Detección

Para el cálculo del Límite de Detección se empleó el método descrito por M^a Carmen Arroyo Buezo y presentado en el XIV Congreso Mundial sobre Seguridad y Salud en el Trabajo en Madrid del 22 al 26 de Abril de 1996. Según este autor, el Límite de Detección en gravimetría se expresa como:

$$LD_{GR} = 3S_{GR}$$

donde S_{GR} es la desviación estándar de la gravimetría.

De acuerdo con los resultados obtenidos:

$$LD_{GR} = 0,06\text{mg}$$

4.3.1.3. Cálculo del Límite de cuantificación. Confirmación experimental

El límite de cuantificación teórico se expresa como:

$$LC_{GR} = 10S_{GR}$$

donde S_{GR} es la desviación estándar de la gravimetría.

De acuerdo con los resultados obtenidos:

$$LC_{GR} = 0,20\text{mg}$$

Con objeto de confirmar este límite de cuantificación se prepararon 10 membranas de PVC con un depósito teórico de cuarzo de 200 μg (0,20 mg) a partir de una suspensión de cuarzo NIST 1878a en etanol.

Los filtros fueron acondicionados en un armario desecador durante 24 ± 2 horas, tanto antes de su pesada inicial (previo al depósito de cuarzo sobre el filtro) como final.

En la tabla siguiente se indican la media obtenida, la desviación estándar y la reproducibilidad, expresada como desviación estándar relativa:

	Media	σ	% RSD
N=10	0,20	0,01	5,3

A la vista de estos resultados, se confirma experimentalmente el Límite de Cuantificación de 0,20 mg.

4.3.1.4. Validación en todo el rango de análisis

Una vez confirmado el límite de cuantificación, se procedió a extender la validación a un punto medio del intervalo de análisis (2 mg) y al punto más alto (5 mg). Esta validación se llevó a cabo con dos pesas de clase E2 realizando 10 pesadas de cada una de las masas patrón.

Los resultados aparecen recogidos en la siguiente tabla:

Pesada	Pesa de 2 mg	Pesa de 5 mg
1	1,98	5,00
2	2,00	4,98
3	2,00	5,00
4	2,01	4,98
5	1,99	5,01
6	1,99	4,99
7	2,01	5,02
8	2,02	5,00
9	1,98	5,00
10	2,01	4,99
Media	2,00	5,00
Desviación Estándar (σ)	0,01	0,01
Desviación Estándar Relativa (%RSD)	0,7	0,3

Los resultados obtenidos están de acuerdo con la incertidumbre calculada, con lo que el método se considera validado en todo el rango de análisis.

4.3.1.5. Exactitud

La exactitud se define como el grado de concordancia existente entre el resultado del ensayo y un valor aceptado como referencia. La exactitud se calcula de acuerdo al error relativo:

$$E = \frac{|X_{\text{ref}} - X|}{X_{\text{ref}}} \times 100$$

Las exactitudes calculadas para cada uno de los tres niveles de concentración ensayados son las siguientes:

Nivel de concentración (mg)	X_{ref}	X	E (%)
0,20	0,20	0,20	0,0
2,00	2,00	2,00	0,0
5,00	5,00	5,00	0,0

4.3.1.6. Precisión

La reproducibilidad más desfavorable se obtuvo a nivel del Límite de cuantificación, situándose en torno al 5%, mientras que en puntos intermedios y altos del intervalo de análisis se obtuvieron reproducibilidades inferiores al 1%.

INS-IT05: MÉTODO DE DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO EN SÍLICE CRISTALINA RESPIRABLE POR IR

1 OBJETO Y ALCANCE

El presente método describe el procedimiento a seguir y los equipos necesarios para la determinación, en el aire de los lugares de trabajo, de la masa de sílice cristalina respirable mediante espectrofotometría de infrarrojo.

También es aplicable a la determinación de la concentración de sílice cristalina respirable en el aire de los lugares de trabajo.

Se consideran como interferencias todas aquellas sustancias que presenten bandas de absorción en la región correspondiente a la sílice cristalina, cuyos máximos aparecen aproximadamente a 800 cm^{-1} , así como otras sustancias que puedan interferir en la fase de preparación de la muestra. Entre las más habituales se encuentran grafito, sílice amorfa, caolinita, otros silicatos y calcita.

El intervalo de análisis para la determinación de cuarzo por espectrofotometría de infrarrojo va desde el Límite de Cuantificación ($3\mu\text{g}$) hasta $500\mu\text{g}$ de sílice cristalina en la muestra.

Este método es de aplicación para aquellas muestras tomadas sobre filtros de PVC de 5 micras de tamaño de poro, siempre y cuando la muestra no contenga ningún tipo de carbonato.

Este método de análisis es apropiado para la determinación de concentraciones medias de sílice cristalina en la fracción respirable en aire ponderadas en el tiempo, tanto en muestras personales como en lugares fijos. No puede ser utilizado para medir concentraciones instantáneas o fluctuaciones de concentración en períodos cortos de tiempo.

2 DOCUMENTACIÓN DE REFERENCIA

- UNE-EN ISO/IEC 17025: "Requisitos generales relativos a la competencia de laboratorios de ensayo y calibración".
- UNE 81550 "Exposición en el lugar de trabajo. Determinación de sílice cristalina (fracción respirable) en aire. Método de espectrofotometría de infrarrojo".
- UNE-EN 481 "Atmósferas en puestos de trabajo. Definición de las fracciones por el tamaño de las partículas para la medición de aerosoles".
- UNE-EN 1540: "Exposición en el lugar de trabajo. Terminología".
- Reglamento General de Normas Básicas de Seguridad Minera e Instrucciones Técnicas complementarias.
- CGA-ENAC-LEC: "Criterios generales para la acreditación de laboratorios de ensayos y calibración según norma UNE EN-ISO/IEC 17025".

Toda la documentación referenciada lo es en su versión vigente más actual.

3 DESARROLLO

3.1 DEFINICIONES

Valor límite

Cifra de referencia para la concentración de un agente químico en el aire.

NOTA: Los valores límite están en su mayor parte establecidos para periodos de referencia de 8 horas.

Polvo en suspensión en el aire

Materia finamente dividida, en estado sólido, dispersada en el aire

Sílice cristalina respirable

Partículas inhaladas dióxido de silicio cristalizado (presente en la naturaleza en forma de cuarzo, tridimita y cristobalita) que penetran en las vías respiratorias no ciliadas de acuerdo con la norma UNE-EN 481.

Fracción respirable

Fracción en masa de las partículas inhaladas que penetra hasta las vías respiratorias no ciliadas.

NOTA: La fracción respirable está definida en la Norma EN 481.

Muestreador de la fracción respirable

Muestreador de aerosoles que se utiliza para recoger la fracción respirable.

Elemento de retención, sustrato de muestreo, medio de retención o medio de muestreo

Medio en el que se recogen los agentes químicos y/o biológicos en suspensión en el aire para su análisis posterior.

NOTA: Los filtros, las espumas de poliuretano y el conjunto filtro-portafiltro de algunos muestreadores son algunos ejemplos de elementos de retención para partículas en suspensión en el aire.

Sistema de muestreo

Conjunto de componentes cuya misión es separar la fracción del aerosol de interés (inhalable, torácica o respirable) y recogerla en un determinado elemento de retención. La bomba de muestreo, el muestreador y el elemento de retención forman parte del sistema de muestreo.

Zona respiratoria

Espacio alrededor de la nariz y la boca en el que la respiración tiene lugar.

NOTA: Técnicamente la zona de respiración se refiere a un hemisferio (generalmente aceptado de 30 cm de radio) que se extiende frente a la cara de la persona, centrado en el punto medio de la línea que une las orejas. La base de hemisferio es el plano que pasa por esta línea, la parte superior de la cabeza y la laringe. Esta descripción técnica no se aplica cuando se utilizan equipos de protección respiratoria.

Muestra (de aire)

Producto del proceso del muestreo de aire.

NOTA: A menudo se considera que la muestra de aire incluye al elemento de retención además de a los agentes químicos y/o biológicos recogidos. A veces se considera que es una parte de un volumen de aire mayor.

Muestra recogida

Producto del proceso del muestreo de aire que está constituido únicamente por los agentes químicos y/o biológicos.

Incertidumbre (de medida)

Parámetro asociado al resultado de una medición, que caracteriza la dispersión de los valores que podrían ser razonablemente atribuidos al mensurando.

Incertidumbre analítica

Incertidumbre combinada del método analítico.

NOTA: La incertidumbre analítica engloba las contribuciones de la recuperación analítica y de la variabilidad analítica.

Incertidumbre de muestreo

Incertidumbre combinada del procedimiento de muestreo.

NOTA: La incertidumbre de muestreo engloba, cuando proceda, las contribuciones del volumen de aire muestreado, de la eficacia de muestreo, del almacenamiento de la muestra y, si es aplicable, del transporte.

Límite de cuantificación, LOQ (limit of quantification)

Cantidad menor de un analito que se puede cuantificar con un nivel de confianza dado.

NOTA 1: El límite de cuantificación se puede calcular como diez veces la desviación típica de las medidas de un blanco.

NOTA 2: El valor del LOQ se puede utilizar como un valor umbral para garantizar la exactitud de la medida de una sustancia.

NOTA 3: Con el LOQ determinado en un experimento de evaluación basado en 10 grados de libertad, la estimación de una cantidad al nivel del valor umbral del LOQ tiene una probabilidad del 95% de situarse dentro de un intervalo definido como $\pm 31\%$ alrededor del valor verdadero, con un nivel de confianza del 95% para la evaluación.

Límite de detección, LOD (limit of detection)

Cantidad menor de un analito que se puede detectar con un nivel de confianza dado.

NOTA 1: El límite de detección se puede calcular como tres veces la desviación típica de las medidas de un blanco. Esto representa una probabilidad del 50 % de que el analito no se detecte estando presente a la concentración del límite de detección.

NOTA 2: El LOD se puede utilizar como un valor umbral para afirmar la presencia de una sustancia con un nivel de confianza dado.

Precisión

Proximidad de acuerdo entre resultados de ensayo/medida independientes obtenidos bajo condiciones estipuladas.

Procedimiento de medida o método de medida

Conjunto de operaciones descritas específicamente para el muestreo y el análisis de los agentes químicos o biológicos en el aire.

NOTA: Un procedimiento de medida normalmente incluye la preparación del muestreo, el muestreo, el transporte y el almacenamiento, la preparación de las muestras para el análisis y el análisis.

Sesgo

Diferencia entre la esperanza matemática de un resultado de ensayo o de medida y el valor verdadero.

NOTA 1: El sesgo es el error no aleatorio total por oposición al error aleatorio. Puede haber uno o más componentes de error no aleatorio que contribuyan al sesgo. Una mayor diferencia sistemática respecto al valor verdadero se refleja como un valor del sesgo mayor.

NOTA 2: En la práctica, el valor de referencia aceptado sustituye al valor verdadero. El valor de referencia aceptado (véase la definición en la Norma ISO 3534-2) puede ser, por ejemplo, el valor certificado de un material de referencia, la concentración de una atmósfera de ensayo patrón o el valor diana de una comparación interlaboratorios.

3.2 FUNDAMENTO DEL MÉTODO

Se calcina la muestra y se determina el contenido en sílice cristalina del polvo recogido en un espectrofotómetro de infrarrojo.

Se calcula la concentración de sílice cristalina respirable a partir de la cantidad de sílice cristalina determinada y del volumen de aire muestreado.

3.3 REACTIVOS

Durante el análisis, se usarán sólo reactivos de grado analítico.

- Patrón de cuarzo certificado (NIST SRM 1878a): $93,7 \pm 0,21\%$.
- Etanol o 2-propanol.
- Bromuro potásico (KBr) especial para espectrofotometría.

3.4 APARATOS Y MATERIAL

- Horno para calcinación.
 - Temperatura máxima 1150 °C.
 - Sensibilidad 1 °C.
- Estufa para desecación.
 - Temperatura máxima 310 °C.
 - Sensibilidad: 1 °C.
- Espectrofotómetro de infrarrojo con transformada de Fourier.
 - Detector: MIR-TGS 15600-370 cm^{-1} .

- J-stop: 1,58-8,94 mm.
 - Resolución mínima de 4 cm⁻¹.
 - Celda de metano para la realización de corrección AVI.
- Prensa de hasta 10 kg/cm² y accesorios para la preparación de pastillas estándares de 13 mm.
 - Material diverso de laboratorio: crisoles de porcelana con tapa, cápsulas petri y mortero de ágata.
 - Termohigrómetro para la verificación de las condiciones ambientales del ensayo.
 - Temperatura: 0 a 35 °C.
 - Humedad: 10 a 80%.

3.5 PROCEDIMIENTO DE ANÁLISIS

3.5.1 Limpieza del material

Todo el material empleado para la preparación de la pastilla de bromuro potásico debe de limpiarse convenientemente con etanol o 2-propanol antes de su utilización.

3.5.2 Preparación de los patrones de calibración

Se prepara una dilución de cuarzo patrón en KBr en torno al 0,5 %. Para ello se pesan aproximadamente 50 mg de cuarzo y 10 g de KBr en una balanza de sensibilidad 0,01 mg. Se homogeneiza el conjunto en un mortero de ágata y se mantiene en estufa a una temperatura de 130 ± 10 °C durante un mínimo de 4 horas, hasta la preparación de los patrones. El período de validez de esta dilución de cuarzo en KBr es de 2 años, transcurridos los cuales no podrá ser empleada para la preparación de estándares.

A partir de esta dilución se preparan un mínimo de 10 patrones entre el límite de cuantificación (3 µg) y 500 µg. Para ello, se pesan en una balanza analítica de sensibilidad 0,01 mg las correspondientes cantidades y se añade KBr hasta 360 ± 10 mg. El contenido en cuarzo de cada uno viene dado por la fórmula:

$$\mu\text{g}_{\text{Cuarzo}} = 1000 \times \text{Peso}_{\text{Dilución de Cuarzo en KBr}} (\text{mg}) \times \text{Peso}_{\text{Cuarzo NIST}} (\text{mg}) / \text{Peso}_{[\text{cuarzo} + \text{KBr}]} (\text{mg})$$

El conjunto se homogeneiza y se prepara una pastilla de KBr por medio de una prensa hidráulica (aplicando una presión de entre 8 y 10 toneladas durante al menos 1 minuto) y los dispositivos adecuados para obtener pastillas de 13 mm.

Durante la preparación de las pastillas de KBr la temperatura deberá mantenerse entre 17 y 27 °C, y la humedad por debajo del 60%. En caso de no encontrarse dentro de los intervalos citados, no se llevará a cabo la preparación de muestras. Los máximos y mínimos de temperatura y humedad ocurridos durante la preparación de las pastillas deberán ser registrados.

3.5.3 Preparación de la recta de calibrado

Previo a la realización de cualquier medida en los espectrofotómetros FTIR se procederá a llevar a cabo una calibración AVI empleando una celda de metano incluida como filtro interno del propio FTIR.

La corrección AVI es un algoritmo matemático calculado a partir del espectro de metano obtenido experimentalmente y el teórico, lo que permite mejorar la repetibilidad espectral entre diferentes instrumentos, ya que los espectrofotómetros IR, a pesar de usar un láser de referencia, presentan diferencias en la calibración de longitud de onda y perfil instrumental debidas principalmente a cambios en la divergencia del haz y la uniformidad dependiendo de los accesorios de medición de muestra utilizados o por sustitución de componentes.

Se colocan en la ventana del espectrofotómetro las pastillas de los patrones preparados en 3.5.2 y se registra el espectro midiendo la altura del máximo de absorbancia existente en el intervalo $802-794\text{ cm}^{-1}$ de cada muestra, con respecto a una línea de base tomada como la recta tangente entre los dos mínimos del espectro IR existentes a ambos lados del doblete del cuarzo, aproximadamente entre 830 y 675 cm^{-1} .

Los parámetros instrumentales a seleccionar en el software del espectrofotómetro FTIR son:

- Scan number: 1 (patrones); 10 (background y corrección AVI).
- Range: 4000 a 370 cm^{-1} .
- Resolution: 4 cm^{-1} .
- J-Stop image size: $8,94\text{ mm}$.
- Scan speed: $0,20\text{ cm/s}$.
- Corrección AVI.

La recta de calibrado se construirá empleando un ajuste por mínimos cuadrados forzando a la recta a pasar por el origen.

3.5.4 Criterios de aceptación y rechazo en la preparación de la recta de calibrado

- La precisión de la pendiente de la recta de calibrado (C_m) debe ser superior al 98%.

$$C_m = (1 - S_m/m) \times 100$$

donde:

S_m : desviación estándar de la pendiente

m : pendiente

- El coeficiente de correlación (R) debe ser superior a $0,998$.

$$R = \frac{\sum(X_i - X_m)(Y_i - Y_m)}{\sqrt{\sum(X_i - X_m)^2(Y_i - Y_m)^2}}$$

donde:

X_i : Concentraciones de los patrones.

Y_i : Absorbancias de los patrones.

X_m : Media de los valores de patrones.

Y_m : Media de las absorbancias.

En caso de no cumplirse alguna de las condiciones anteriores se procederá a preparar nuevos estándares de calibración. Si persiste el problema, se procederá a preparar una nueva suspensión de cuarzo en KBr.

- ❑ Los residuales (diferencia entre el valor de respuesta obtenido y el valor real) de los patrones de calibración deben ser inferiores al 15% del contenido en microgramos del patrón. Se desecharán aquellos patrones de calibración que no cumplan esta condición.

3.5.5 Preparación de la muestra

Se introducen los filtros de membrana, una vez pesados, en crisoles, y se calcinan a una temperatura de $770 \pm 40^\circ\text{C}$, durante al menos 60 minutos. La temperatura de 770°C en la mufla se obtendrá teniendo en cuenta el certificado de calibración del equipo, aplicando la corrección media obtenida en la calibración externa, según la ecuación: **Indicación de temperatura (consigna del regulador) + Corrección media = 770°C .**

Tras la calcinación, se mezcla el residuo con 360 ± 10 mg de KBr, el cual se ha mantenido en la estufa a una temperatura de 130 ± 10 °C durante un mínimo de 4 horas.

Se homogeneiza el conjunto, y se prepara la pastilla empleando la prensa hidráulica (aplicando una presión de entre 8 y 10 toneladas durante al menos 1 minuto) y los dispositivos adecuados para obtener una pastilla de 13 mm.

Durante la preparación de las pastillas de KBr la temperatura deberá mantenerse entre 17 y 27 °C, y la humedad por debajo del 60%. En caso de no encontrarse dentro de los intervalos citados, no se llevará a cabo la preparación de muestras. Los máximos y mínimos de temperatura y humedad ocurridos durante la preparación de las pastillas deberán ser registrados.

3.5.6 Determinación del contenido en sílice cristalina de las muestras

Previo a la realización de cualquier medida en los espectrofotómetros FTIR se procederá a llevar a cabo una calibración AVI empleando una celda de metano incluida como filtro interno del propio FTIR.

Se colocan en la ventana del espectrofotómetro las pastillas de las muestras preparadas en 3.5.5 y se registra el espectro midiendo la altura del máximo de absorbancia existente en el intervalo $802\text{-}794\text{ cm}^{-1}$ de cada muestra, con respecto a una línea de base tomada como la recta tangente entre los dos mínimos del espectro IR existentes a ambos lados del doblete del cuarzo, aproximadamente entre 830 y 675 cm^{-1} , de la misma forma que la indicada en los patrones.

Los parámetros instrumentales a seleccionar en el software del espectrofotómetro FTIR son:

- ❑ Scan number: 1 (muestra); 10 (background y corrección AVI).
- ❑ Range: 4000 a 370 cm^{-1} .
- ❑ Resolution: 4 cm^{-1} .
- ❑ J-Stop image size: 8,94 mm.
- ❑ Scan speed: 0,20 cm/s.
- ❑ Corrección AVI.

Se determina el contenido de sílice cristalina mediante interpolación de la altura del máximo de absorbancia en la curva de calibración.

En aquellos casos en los que se observe una saturación de la señal del detector, fundamentalmente debido a la cantidad de materia particulada retenida sobre el soporte de muestreo, se podrá llevar a cabo una dilución de la misma, tomando una alícuota de la pastilla originalmente preparada.

3.6 CÁLCULOS: DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE SÍLICE CRISTALINA EN AIRE

La concentración de sílice cristalina en el volumen de aire muestreado, mg/m^3 (SiO_2), se obtiene dividiendo el peso de sílice cristalina, P_q (mg), extraído de la medida en el infrarrojo, entre el volumen de aire muestreado V (m^3).

$$\text{mg/m}^3(\text{SiO}_2) = \frac{P_q}{V}$$

El resultado se expresará como concentración de sílice cristalina en mg/m^3 y se emplearán tres cifras decimales.

3.7 EXPRESIÓN DE RESULTADOS

El resultado se dará siempre como un número acompañado de una incertidumbre. Esta incertidumbre es la incertidumbre asociada al método y aparece recogida en el Apartado 4.

El contenido de sílice cristalina, en microgramos, y su correspondiente incertidumbre, aparece recogido en el “Informe final de ensayo”, y se expresa sin ninguna cifra decimal.

En el caso de que el peso de sílice cristalina P_q sea superior o inferior al rango de análisis (entre 3 y 500 μg), el resultado se expresará sin incertidumbre alguna y se indicará en el informe de ensayo que dicho resultado se encuentra fuera del intervalo de análisis.

La concentración de sílice cristalina en el aire muestreado, en mg/m^3 , aparece recogido en el “Informe final de ensayo” y se expresa con tres cifras decimales. Cuando el Departamento Técnico del INS lleve a cabo la toma de muestras el resultado se dará acompañado de su incertidumbre. En caso de que el peso de sílice cristalina P_q sea superior o inferior al rango de análisis (entre 3 y 500 μg), el resultado se expresará sin incertidumbre alguna y se indicará en el informe de ensayo que dicho resultado se encuentra fuera del intervalo de análisis.

3.8 CRITERIOS DE ACEPTACIÓN Y RECHAZO

Cada vez que se analice un lote de muestras se procederá a medir dos muestras de control de depósito conocido, a nivel de límite de cuantificación y nivel medio. Las muestras de control se prepararán de manera similar a los patrones de calibración empleando una suspensión diferente a la utilizada para la elaboración de la recta de calibrado. El periodo de

validez de dichas muestras será de 6 meses, transcurridos los cuales no podrán ser utilizadas para la verificación de rectas de calibrado.

Para las muestras de control se calculará el valor z (Vz) de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$Vz = \frac{(X - X_{ref})}{\sigma_p}$$

donde:

X: es la masa de cuarzo obtenida experimentalmente.

X_{ref}: es el valor de referencia o depósito teórico.

σ_p : es la desviación típica correspondiente al valor de referencia calculada en función de la precisión obtenida en la validación del método y recogida en el Apartado 4.

El Vz debe ser, en valor absoluto, igual o inferior a 2. En caso contrario se verificará empleando otra muestra de control del mismo o similar depósito y si el resultado obtenido tampoco cumpliera los requisitos establecidos, se procederá a la preparación y posterior medición de nuevos estándares de calibración.

4 VALIDACIÓN

4.1 DOCUMENTACIÓN DE REFERENCIA

- “XVIII Curso Implantación de los equipos instrumentales de análisis en el Sistema de Calidad” (G.S.C. Gabinete de Servicios para la calidad, S.A.L.).
- Guía EURACHEM “Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement”. First Edition 1995.
- “Estadística para química analítica”, Segunda edición, J.C.Miller, J.N.Miller, Addison-Wesley Iberoamericana 1993; USA.
- Norma UNE 82009 “Exactitud (veracidad y precisión) de resultados y métodos de medición” Parte 1 (Septiembre 1998), Parte 2, 3, 4, 5 y 6 (Junio 1999).
- G-ENAC-09 Rev. 1 Julio 2005 “Guía para la expresión de la incertidumbre en los ensayos cuantitativos”.
- IT05 “Método de determinación de sílice cristalina respirable por IR”.

4.2 VALIDACIÓN

Para la validación del método se llevó a cabo un estudio preparando sesenta membranas y sometiéndolas al proceso completo (calcinación, preparación de las pastillas y medición) durante cuatro días distintos y por parte de diferentes operadores con el fin de estudiar no sólo la repetibilidad sino también la reproducibilidad del método. Para ello se prepararon membranas con cuarzo procedente del patrón NIST SRM 1878a recomendado por la norma UNE 81550 “Atmósferas en el lugar de trabajo. Determinación de la materia particulada (fracción respirable) con contenido en sílice cristalina en aire. Método gravimétrico/espectrofotometría de infrarrojo”.

4.2.1 Criterios de aceptación

Los requisitos que debe cumplir el método para considerarlo adecuado son los siguientes:

- Exactitud (expresada como error relativo) mejor del 20% hasta un nivel de depósito teórico de 20 µg y del 10% en el resto del intervalo.
- Precisión expresada como desviación estándar relativa (%RSD) debe ser igual o inferior al 35% hasta un nivel de depósito teórico de 20 µg y al 20% en el resto del intervalo.
- Incertidumbre expandida inferior al 35% del resultado del análisis en el intervalo 51-500 µg, del 50% en el intervalo 10-50 µg y del 70% para resultados inferiores a 10 µg.
- Límite de cuantificación no superior a 20 µg.
- Rango lineal hasta 500 microgramos.

4.2.2 Preparación del patrón de cuarzo

Se pesan cantidades apropiadas de cuarzo NIST 1878a y se suspenden en 2-propanol en un matraz con ayuda de un equipo de ultrasonidos.

La suspensión se somete a la acción de los ultrasonidos todos los días antes de preparar las membranas por un período de 60 minutos para asegurar la homogeneidad de la misma.

Las suspensiones se almacenan en un congelador a temperaturas comprendidas entre -30 y -10°C.

4.2.3 Preparación de las membranas.

Diariamente, a partir del patrón de cuarzo en 2-propanol se preparan cinco membranas con contenido en cuarzo de 3 microgramos, cinco membranas con un contenido de cuarzo de 243 microgramos y otras 5 membranas con un depósito teórico de 484 microgramos. Para ello se sigue la siguiente secuencia de operaciones:

- Se monta la torre de filtración de 15 ml con una conexión a la línea de vacío.
- Se coloca una membrana de PVC donde se retendrá la SiO₂ y se asegura una correcta fijación de las distintas partes de la torre de filtración para evitar fugas del material.
- Se humedece la membrana con 2-propanol.
- Se conecta el vacío y se ajusta para que la aspiración no sea demasiado fuerte.
- Se añaden la alícuota de la disolución patrón de cuarzo en 2-propanol.
- Se lava la torre de filtración repetidas veces con 2-propanol con el fin de evitar que el patrón se quede retenido en las paredes de la misma
- Una vez aspirada toda la disolución se mantiene el vacío durante unos minutos hasta asegurar una correcta sequedad de la membrana.
- Se extrae la membrana de PVC cuidadosamente con unas pinzas apropiadas.
- Se lava el material y se repite el proceso para la preparación de las restantes membranas.

En total se prepararon 60 membranas durante cuatro días.

4.2.4 Calcinación de las membranas y preparación de las pastillas

Una vez preparadas las membranas, se calcinan en crisoles de porcelana en mufla a 800°C. La calcinación se lleva a cabo durante una hora. Tras dejar enfriar los crisoles, se añaden 360±10 mg de KBr y se homogeneiza adecuadamente. Finalmente se preparan las pastillas para el análisis por FTIR con el empleo de una prensa hidráulica trabajando a 9 toneladas durante al menos un minuto.

4.2.5 Medición de las pastillas

Las medidas se realizan en las mismas condiciones instrumentales que las empleadas en los análisis de rutina.

4.2.6 Resultados

4.2.6.1. Análisis de varianza

Se llevó a cabo un análisis ANOVA de un factor para comprobar que los resultados obtenidos durante los días para los dos operadores en cada nivel de concentración ensayado no eran significativamente diferentes.

□ NIVEL DE CONCENTRACIÓN: 3 µg

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Operador 1	10	30	3	0,2222
Operador 2	10	31	3,1	0,7667

Origen de variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0,05	1	0,05	0,1011	0,7541	4,4139
Dentro de grupos	8,90	18	0,4944			
Total	8,95	19				

□ NIVEL DE CONCENTRACIÓN: 243 µg

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Operador 1	10	2441	244,1	26,7667
Operador 2	10	2424	242,4	29,3778

Origen de variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	14,45	1	14,45	0,5147	0,4823	4,4139
Dentro de grupos	505,30	18	28,0722			
Total	519,75	19				

□ NIVEL DE CONCENTRACIÓN: 484 µg

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Operador 1	10	4818	481,8	49,0667
Operador 2	10	4796	479,6	32,9333

Origen de variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	24,20	1	24,2	0,5902	0,4523	4,4139
Dentro de grupos	738,00	18	41			
Total	762,20	19				

Según lo recogido en las tablas anteriores se deduce que no existen diferencias significativas entre los resultados obtenidos por los dos operadores en cada nivel de concentración ensayado.

4.2.6.2. Exactitud

El primer paso es calcular el Índice de compatibilidad para demostrar que no hay diferencias significativas entre el valor del patrón y el obtenido con nuestro método:

$$IC = \frac{|X_{ref} - X|}{\sqrt{(u_{VM})^2 + \left(\frac{S}{\sqrt{n}}\right)^2}} \leq 2$$

donde:

X_{ref} es el valor de referencia en µg.

X es el valor medio resultante de la validación en µg.

u_{VM} es la incertidumbre combinada del valor de referencia en µg.

S es la desviación típica de los valores medios obtenidos cada día en µg.

n es el número de series realizadas en condiciones de repetibilidad.

La incertidumbre combinada del valor de referencia viene dada por la siguiente expresión:

$$u_{VM} = X_{ref} \times \sqrt{\left(\frac{U_{MR}/k}{X_{MR}}\right)^2 + \left(\frac{u_B}{P_{MR}}\right)^2 + \left(\frac{u_M}{V_M}\right)^2 + \left(\frac{u_p}{V_p}\right)^2}$$

donde:

$U_{MR} = 0,105 \%$ (Incertidumbre expandida del patrón NIST SRM 1878a).

k es el factor de cobertura indicado en el certificado del patrón NIST.

X_{MR} es la pureza certificada del material de referencia en %.

u_B es la incertidumbre combinada de la balanza en mg.

P_{MR} es el peso en mg de patrón NIST SRM 1878a tomado para preparar la suspensión con la que se dopan las membranas.

U_M es la Incertidumbre combinada (en ml) del matraz en el que se prepara la suspensión de cuarzo.

V_M es el volumen en ml del matraz en el que se prepara la suspensión de cuarzo.

U_p es la incertidumbre combinada (en ml) de la pipeta con la que se coge la alícuota de la suspensión con la que se dopa el filtro.

V_p es el volumen en ml de la pipeta empleada para dopar el filtro.

En la siguiente tabla se muestran los índices de compatibilidad obtenidos para cada uno de los niveles de concentración ensayados:

Nivel de concentración (μg)	X_{ref}	X	u_{VM}	S	IC
3	3	3	0,02	0,3	0,4
243	243	243	0,3	3,0	0,2
484	484	481	0,6	2,4	1,6

Para los tres niveles de concentración ensayados se cumple que el $IC \leq 2$ por lo que no existen diferencias significativas.

La exactitud se define como el grado de concordancia existente entre el resultado del ensayo y un valor aceptado como referencia. La exactitud se calcula de acuerdo al error relativo:

$$E = \frac{|X_{\text{ref}} - X|}{X_{\text{ref}}} \times 100$$

Las exactitudes calculadas para cada uno de los tres niveles de concentración ensayados son las siguientes:

Nivel de concentración (μg)	X_{ref}	X	E (%)
3	3	3	0,0
243	243	243	0,0
484	484	481	0,7

4.2.6.3. Repetibilidad

La repetibilidad se define como la precisión obtenida bajo condiciones en las que los resultados de una medición se obtienen con el mismo método, sobre idénticas muestras, en el mismo laboratorio, por el mismo operador, y utilizando los mismos equipos de medición, durante un corto intervalo de tiempo.

La repetibilidad se expresa como desviación estándar relativa:

$$\%RSD_r = \frac{S_r}{\bar{X}} \cdot 100$$

donde S_r es la desviación estándar de los resultados en condiciones de repetibilidad y \bar{X} es el valor medio obtenido en cada nivel ensayado.

Las repetibilidades obtenidas se recogen en la siguiente tabla:

Nivel de concentración (µg)	S _r	REPETIBILIDAD
3	0,6	20,0
243	4,8	2,0
484	6,3	1,3

4.2.6.4. Reproducibilidad

La reproducibilidad se define como la precisión obtenida bajo condiciones en las que los resultados de una medición se obtienen con el mismo método, sobre idénticas muestras, en laboratorios diferentes, con operadores distintos, y utilizando equipos diferentes. Para la validación se varió el operador y los días.

La reproducibilidad se expresa como desviación estándar relativa:

$$\%RSD_R = \frac{S_R}{\bar{X}} \cdot 100$$

donde S_R es la desviación estándar de los resultados en condiciones de reproducibilidad y \bar{X} es el valor medio obtenido en cada nivel ensayado.

Las reproducibilidades obtenidas se recogen en la siguiente tabla:

Nivel de concentración (µg)	S _R	REPRODUCIBILIDAD
3	0,3	10,0
243	3,0	1,2
484	2,3	0,5

4.2.7 Cálculo de incertidumbre

Para el cálculo de incertidumbre se adopta el modelo de caja negra considerado como el más adecuado para los ensayos de tipo químico como el que nos ocupa ("XVIII Curso Implantación de los equipos instrumentales de análisis en el Sistema de Calidad". Introducción al Cálculo de incertidumbre, Jesús Laso Sánchez, Página 17 de 33, Julio de 2003).

Para el cálculo de la incertidumbre en la determinación del peso de cuarzo:

$$U_{P_{SiO_2}} = K \cdot u_{combinada} \quad (\text{Tomaremos } K=2)$$

$$U_{P_{SiO_2}} = 2 \cdot \sqrt{u_{VM}^2 + \left(\frac{S_R}{\sqrt{n}}\right)^2 + \left(\frac{S_r}{\sqrt{n_M}}\right)^2 + \left(\frac{C}{\sqrt{3}}\right)^2}$$

donde:

U_{VM} es la incertidumbre combinada del valor de referencia.

$\left(\frac{S_R}{\sqrt{n}}\right)$ es la incertidumbre debida a la determinación del valor medio, donde S_R es la desviación estándar obtenida en condiciones de reproducibilidad y n el número de ensayos realizados en dichas condiciones.

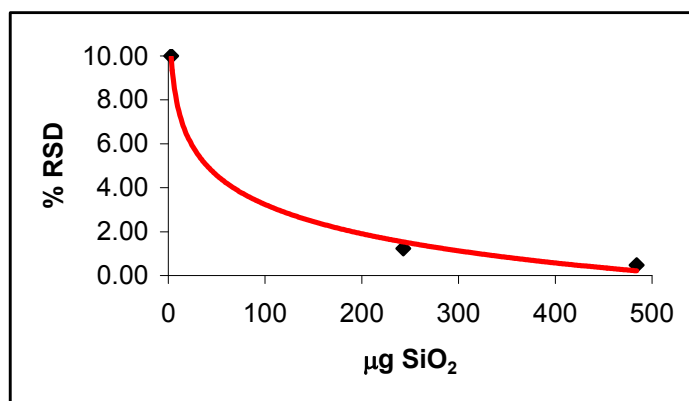
$\left(\frac{S_r}{\sqrt{n_M}}\right)$ es la incertidumbre debida a la realización de la medida cada vez. Como se trata de un ensayo destructivo n_M será siempre igual a 1 y S_r es el promedio de las desviaciones estándar obtenidas en condiciones de repetibilidad.

$\left(\frac{C}{\sqrt{3}}\right)$ es un factor debido a la corrección, donde $C = X_{ref} - X$. Si $IC \leq 2$ no hace falta tenerlo en cuenta

Para cada uno de los tres niveles de concentración ensayados las incertidumbres obtenidas han sido las siguientes:

Nivel de concentración (μg)	u_{VM}	S_R	S_r	$U_{P_{SiO_2}}$
3	0,02	0,3	0,6	2
243	0,3	3,0	4,8	14
484	0,6	2,4	6,4	18

Si se representa la precisión, expresada como desviación estándar relativa, $\%RSD = 100 \times \frac{S_R}{X_{ref}}$, se observa que no es constante, sino que depende del nivel de concentración de sílice cristalina.



Se escogió como incertidumbre expandida (para un factor de cobertura de $k = 2$) de la determinación de sílice cristalina mediante espectroscopía de infrarrojo, una incertidumbre relativa dada por la curva:

$$U_{P_{SiO_2}} = 1,2432 \cdot x^{0,436}$$

donde $U_{P_{\text{SiO}_2}}$ es la incertidumbre relativa y X es la masa de sílice cristalina determinada.

Dicha curva es la que mejor se adapta a las incertidumbres obtenidas ($r = 0,9997$) para los distintos niveles de concentración ensayados.

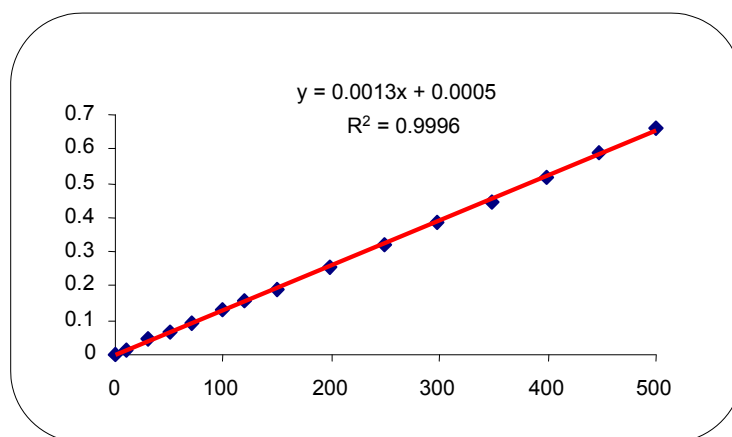
4.2.8 Características analíticas de la determinación de sílice cristalina por IR con transformada de Fourier

Se preparó una recta de calibrado de 15 patrones a partir de una dilución de cuarzo (NIST SRM 1878a) en KBr utilizando una balanza analítica de sensibilidad 0,01 mg. Se homogeneizaron adecuadamente en crisoles de porcelana y finalmente se preparan las pastillas para el análisis por FTIR con el empleo de una prensa hidráulica trabajando a 9 toneladas durante 5 minutos.

Cada pastilla se mide una sola vez y realizando un único barrido, en las mismas condiciones que las empleadas en los análisis de rutina, entre 4000 y 370 cm^{-1} y seleccionando los siguientes parámetros instrumentales:

- Resolution: 4 cm^{-1} .
- Apodization: Strong.
- Phase correction: Magnitude.
- J-Stop image size: 8,94 mm.
- Scan speed: 0,20 cm/s.
- Supresión de $\text{CO}_2/\text{H}_2\text{O}$.

La recta de calibrado con su ecuación y coeficiente de regresión correspondientes se muestran a continuación:



- Límite de detección (LD): se calcula como aquella concentración de cuarzo (μg) que proporciona una señal (y): $y = y_{\text{blanco}} + 3\sigma_{\text{Blanco}}$

donde:

y_{blanco} es la señal del blanco, pudiendo tomar como tal la media de 10 medidas de un blanco

σ_{blanco} es la desviación típica del blanco. Se puede tomar como tal la desviación típica de 10 medidas de un blanco

Para el cálculo del límite de detección se calcinaron 10 filtros en blanco y se prepararon las correspondientes pastillas de KBr. La media de las señales de los 10 blancos fue $y_{\text{blanco}} = 0,0001$, con una desviación estándar $\sigma_{\text{blanco}} = 0,0002$

Así pues: $LD = 1 \mu\text{g}$

- Intervalo de linealidad: desde límite detección hasta $500 \mu\text{g}$
- Desviación estándar de la recta de calibrado: $S_{y/x} = 0,0046$
- Desviación estándar de la pendiente: $S_b = 7,3 \cdot 10^{-6}$
- Límites de confianza de la pendiente al 95%: $b = 0,0013 \pm 0,00002$
- Desviación estándar de la ordenada en el origen: $S_a = 0,0019$
- Límites de confianza de la ordenada en el origen al 95%: $a = 0,0005 \pm 0,0040$
- Precisión de la pendiente: $C_m = 99,4\%$
- Coeficiente de correlación: $R = 0,9998$
- Ordenada en el origen: $0,0005$
- Residuales $< 15\%$

De acuerdo a los criterios de aceptación y rechazo la recta de calibrado se considera adecuada.

4.2.9 Cálculo del límite de cuantificación.

El límite de cuantificación teórico se calcula como aquella concentración de cuarzo (μg) que proporciona una señal (y): $y = y_{\text{blanco}} + 10\sigma_{\text{Blanco}}$

donde:

y_{blanco} es la señal del blanco, pudiendo tomar como tal la media de 10 medidas de un blanco

σ_{blanco} es la desviación típica del blanco. Se puede tomar como tal la desviación típica de 10 medidas de un blanco

Según los resultados obtenidos: $LC = 3 \mu\text{g}$

La confirmación experimental de este límite de cuantificación se llevó a cabo utilizando este nivel de concentración como uno de los tres niveles ensayados para el cálculo de exactitud, repetibilidad, reproducibilidad e incertidumbre.

INS-IT10: MÉTODO DE DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO EN CUARZO ALFA RESPIRABLE Y CRISTOBALITA ALFA RESPIRABLE POR DRX

1 OBJETO Y ALCANCE

El presente método tiene por objeto describir el procedimiento a seguir y los equipos necesarios para la determinación, en el aire de los lugares de trabajo, de la masa de cuarzo α respirable y cristobalita α respirable mediante Difracción de Rayos X (DRX).

También es aplicable a la determinación de la concentración de cuarzo α respirable y cristobalita α respirable en el aire de los lugares de trabajo.

Se consideran como interferencias todas aquellas sustancias que presenten líneas de difracción en la región correspondiente al cuarzo α , cuyos máximos aparecen aproximadamente a 26,66°; 20,86° y 50,14° de 2θ , y cristobalita α , con máximos a 22,05°, 31,50° y 36,10° de 2θ , así como otras sustancias que puedan interferir en la fase de preparación de la muestra (calcita).

El intervalo de análisis para la determinación de cuarzo α y cristobalita α por difracción de rayos X va desde el Límite de Cuantificación (10 μg) hasta 500 μg de polimorfo de sílice cristalina en la muestra.

Este método es de aplicación para aquellas muestras tomadas sobre filtros de PVC de 5 μm de tamaño de poro.

Este método de análisis es apropiado para la determinación de concentraciones medias de la fracción respirable en aire ponderadas en el tiempo y su contenido porcentual en cuarzo α y cristobalita α , tanto en muestras personales como en lugares fijos. No puede ser utilizado para medir concentraciones instantáneas o fluctuaciones de concentración en períodos cortos de tiempo.

2 DOCUMENTACIÓN DE REFERENCIA

- ❑ UNE-EN ISO/IEC 17025: "Requisitos generales relativos a la competencia de laboratorios de ensayo y calibración".
- ❑ UNE-EN 481 "Atmósferas en puestos de trabajo. Definición de las fracciones por el tamaño de las partículas para la medición de aerosoles".
- ❑ UNE-EN 1540: "Exposición en el lugar de trabajo. Terminología".
- ❑ CGA-ENAC-LEC: "Criterios generales para la acreditación de laboratorios de ensayos y calibración según norma UNE EN-ISO/IEC 17025".
- ❑ NIOSH Manual of Analytical Methods (NMAM), Fourth Edition: "Silica, Crystalline, by XRD", Method 7500.

Toda la documentación referenciada lo es en su versión vigente más actual.

3 DESARROLLO

3.1 DEFINICIONES

Valor límite

Cifra de referencia para la concentración de un agente químico en el aire.

NOTA: Los valores límite están en su mayor parte establecidos para periodos de referencia de 8 horas.

Polvo en suspensión en el aire

Materia finamente dividida, en estado sólido, dispersada en el aire

Sílice cristalina respirable

Partículas inhaladas dióxido de silicio cristalizado (presente en la naturaleza en forma de cuarzo, tridimita y cristobalita) que penetran en las vías respiratorias no ciliadas de acuerdo con la norma UNE-EN 481.

Fracción respirable

Fracción en masa de las partículas inhaladas que penetra hasta las vías respiratorias no ciliadas.

NOTA: La fracción respirable está definida en la Norma EN 481.

Muestreador de la fracción respirable

Muestreador de aerosoles que se utiliza para recoger la fracción respirable.

Elemento de retención, sustrato de muestreo, medio de retención o medio de muestreo

Medio en el que se recogen los agentes químicos y/o biológicos en suspensión en el aire para su análisis posterior.

NOTA: Los filtros, las espumas de poliuretano y el conjunto filtro-portafiltro de algunos muestreadores son algunos ejemplos de elementos de retención para partículas en suspensión en el aire.

Sistema de muestreo

Conjunto de componentes cuya misión es separar la fracción del aerosol de interés (inhalable, torácica o respirable) y recogerla en un determinado elemento de retención. La bomba de muestreo, el muestreador y el elemento de retención forman parte del sistema de muestreo.

Zona respiratoria

Espacio alrededor de la nariz y la boca en el que la respiración tiene lugar.

NOTA: Técnicamente la zona de respiración se refiere a un hemisferio (generalmente aceptado de 30 cm de radio) que se extiende frente a la cara de la persona, centrado en el punto medio de la línea que une las orejas. La base de hemisferio es el plano que pasa por esta línea, la parte superior de la cabeza y la laringe. Esta descripción técnica no se aplica cuando se utilizan equipos de protección respiratoria.

Muestra (de aire)

Producto del proceso del muestreo de aire.

NOTA: A menudo se considera que la muestra de aire incluye al elemento de retención además de a los agentes químicos y/o biológicos recogidos. A veces se considera que es una parte de un volumen de aire mayor.

Muestra recogida

Producto del proceso del muestreo de aire que está constituido únicamente por los agentes químicos y/o biológicos.

Incertidumbre (de medida)

Parámetro asociado al resultado de una medición, que caracteriza la dispersión de los valores que podrían ser razonablemente atribuidos al mensurando.

Incertidumbre analítica

Incertidumbre combinada del método analítico.

NOTA: La incertidumbre analítica engloba las contribuciones de la recuperación analítica y de la variabilidad analítica.

Incertidumbre de muestreo

Incertidumbre combinada del procedimiento de muestreo.

NOTA: La incertidumbre de muestreo engloba, cuando proceda, las contribuciones del volumen de aire muestreado, de la eficacia de muestreo, del almacenamiento de la muestra y, si es aplicable, del transporte.

Límite de cuantificación, LOQ (limit of quantification)

Cantidad menor de un analito que se puede cuantificar con un nivel de confianza dado.

NOTA 1: El límite de cuantificación se puede calcular como diez veces la desviación típica de las medidas de un blanco.

NOTA 2: El valor del LOQ se puede utilizar como un valor umbral para garantizar la exactitud de la medida de una sustancia.

NOTA 3: Con el LOQ determinado en un experimento de evaluación basado en 10 grados de libertad, la estimación de una cantidad al nivel del valor umbral del LOQ tiene una probabilidad del 95% de situarse dentro de un intervalo definido como $\pm 31\%$ alrededor del valor verdadero, con un nivel de confianza del 95% para la evaluación.

Límite de detección, LOD (limit of detection)

Cantidad menor de un analito que se puede detectar con un nivel de confianza dado.

NOTA 1: El límite de detección se puede calcular como tres veces la desviación típica de las medidas de un blanco. Esto representa una probabilidad del 50% de que el analito no se detecte estando presente a la concentración del límite de detección.

NOTA 2: El LOD se puede utilizar como un valor umbral para afirmar la presencia de una sustancia con un nivel de confianza dado.

Precisión

Proximidad de acuerdo entre resultados de ensayo/medida independientes obtenidos bajo condiciones estipuladas.

Procedimiento de medida o método de medida

Conjunto de operaciones descritas específicamente para el muestreo y el análisis de los agentes químicos o biológicos en el aire.

NOTA: Un procedimiento de medida normalmente incluye la preparación del muestreo, el muestreo, el transporte y el almacenamiento, la preparación de las muestras para el análisis y el análisis.

Sesgo

Diferencia entre la esperanza matemática de un resultado de ensayo o de medida y el valor verdadero.

NOTA 1: El sesgo es el error no aleatorio total por oposición al error aleatorio. Puede haber uno o más componentes de error no aleatorio que contribuyan al sesgo. Una mayor diferencia sistemática respecto al valor verdadero se refleja como un valor del sesgo mayor.

NOTA 2: En la práctica, el valor de referencia aceptado sustituye al valor verdadero. El valor de referencia aceptado (véase la definición en la Norma ISO 3534-2) puede ser, por ejemplo, el valor certificado de un material de referencia, la concentración de una atmósfera de ensayo patrón o el valor diana de una comparación interlaboratorios.

3.2 FUNDAMENTO DEL MÉTODO

Se calcina la muestra y se determina el contenido en cuarzo α y/o cristobalita α del polvo recogido en un difractómetro de rayos X.

3.3 REACTIVOS

Durante el análisis, se usarán sólo reactivos de grado analítico.

- Patrón de cuarzo α certificado (NIST SRM 1878a): $93,7 \pm 0,21\%$.
- Patrón de cristobalita certificado (NIST SRM 1879a): $88,2 \pm 0,4\%$.
- 2-propanol o etanol.

3.4 APARATOS Y MATERIAL

- Horno para calcinación.
 - Temperatura máxima 1150 °C.
 - Sensibilidad 1 °C.
- Material diverso de laboratorio: crisoles de porcelana con tapa.
- Filtros de membrana de PVC de 25 mm de diámetro y 5 micras de tamaño de poro.
- Difractómetro de rayos X.
 - Geometría Bragg-Brentano.
 - Tubo Cu LFF.
 - $0,0001^\circ 2\theta$ de reproducibilidad.
 - Rendijas Soller de $0,04^\circ$ en ópticas de haz incidente y difractado.

- Máscara de 15 mm de altura en haz incidente.
 - Rendijas anti-scatter de 2° en óptica de haz incidente.
 - Filtro de Ni.
 - Spinner.
 - Detector basado en tecnología RTMS.
- Muestra monitor de silicio para la corrección de factor de deriva instrumental y chequeo angular.
 - Soporte para filtros de 25 mm de diámetro.
 - Equipos de filtración a vacío para filtros de 25 mm de diámetro.
 - Baño de ultrasonidos.
 - Matraces de 0,5 y 1l clase A.
 - Pipetas graduadas de clase A de diferentes volúmenes, o bien pipetas de puntas desechables.
 - Tubos de poliestireno de 10 ml.
 - Placa calefactora con agitación magnética.

3.5 PROCEDIMIENTO DE ANÁLISIS

Antes de proceder a la medición de cualquier tipo de muestra se llevará a cabo un calentamiento del tubo de DRX, una vez encendido el equipo, si el equipo ha estado apagado durante un período de tiempo superior a 4 días.

3.5.1 Chequeo de interferencias

La muestra se deposita sobre una membrana de PVC según lo indicado en el epígrafe 3.5.2 y se monta sobre un soporte de difracción de rayos X.

Se hace un difractograma de la muestra entre 5° y 70° de 2θ para determinar la presencia de cuarzo α, cristobalita α e interferencias, empleando un tamaño de paso de 0,01° de 2θ y un tiempo de 10 segundos por paso, y una “active length” máxima. Los picos de difracción esperados para el cuarzo α y la cristobalita α son:

Mineral	Principal	Secundario	Terciario	Cuaternario
Cuarzo α	26,66° de 2θ	20,86° de 2θ	50,14° de 2θ	59,96° de 2θ
Cristobalita α	22,05° de 2θ	36,20° de 2θ	31,54° de 2θ	28,52° de 2θ

La cuantificación del cuarzo α y/o cristobalita α se llevará a cabo seleccionando el pico más sensible libre de interferencias.

3.5.2 Preparación de la muestra

Se introducen los filtros de membrana, una vez pesados, en crisoles, y se calcinan a una temperatura de 770 ± 40 °C, durante al menos 60 minutos. La temperatura de 770°C en la mufla se obtendrá teniendo en cuenta el certificado de calibración del equipo, aplicando la

corrección media obtenida en la calibración externa, según la ecuación: **Indicación de temperatura (consigna del regulador) + Corrección media = 770°C.**

Tras la calcinación se adicionan varios mililitros de 2-propanol o etanol en el crisol de porcelana y tras unos minutos en el baño de ultrasonidos se transfiere el contenido a un tubo de 10 ml. El crisol se lava varias veces con 2-propanol o etanol, adicionando el lavado al tubo hasta alcanzar un volumen aproximado de 10 ml. El tubo se introduce entonces en el baño de ultrasonidos durante al menos 5 minutos.

Se coloca una membrana de PVC en el aparato de filtración asegurándose de que queda bien fijada y se adicionan unos mililitros de 2-propanol o etanol sin aplicar vacío. Previamente es necesario medir en la membrana en blanco la intensidad del Al (para posteriormente calcular el factor de absorción) y el fondo de la reflexión más intensa del cuarzo (para corregir contribuciones de los portamuestras de aluminio, dado que algunos soportes generan señal en esa posición angular), según lo indicado en el apartado 3.5.5.

Se pasa el contenido del tubo a través de la membrana, lavando en repetidas ocasiones las paredes del sistema para evitar que queden residuos, y evitando lavar cuando el volumen de líquido en el sistema sea inferior a 5 ml (con el vacío en marcha).

Una vez filtrado se mantiene durante unos instantes el vacío funcionando para secar el filtro.

Finalmente se extrae el filtro del dispositivo y se monta sobre el soporte de aluminio de difracción de rayos X.

En el caso de que la muestra contenga algún tipo de carbonato, la presencia de éstos interfiere, al actuar como fundentes, en la determinación de sílice cristalina, por reaccionar con ésta durante la calcinación formando especies silicato (CaSiO_4 , MgSiO_4). En estos casos es preciso eliminar esta interferencia antes de la calcinación llevando a cabo sobre el filtro un tratamiento ácido con HCl diluido, de acuerdo con el siguiente procedimiento:

- Se coloca una membrana de PVC de 47 mm en la torre de filtración.
- Se coloca la membrana con la muestra encima, dejando la cara tomada hacia arriba.
- Se añaden 10 ml de HCl 9% y 10 ml de 2-propanol o etanol.
- Se deja actuar el ácido 10 minutos.
- Una vez pasado ese tiempo se aplica vacío para retirar la mezcla de ácido y alcohol y se hacen varios lavados de la membrana con agua destilada.
- Se introducen ambas membranas en un crisol para su calcinación.

3.5.3 Preparación de los patrones de la recta de calibrado

- Preparar suspensiones de cuarzo α y cristobalita α en etanol o 2-propanol pesando la cantidad adecuada del patrón certificado (NIST SRM 1878a y 1879a respectivamente) en una balanza analítica de sensibilidad 0,01 mg para después transferir a un matraz de 1 l ó 500 ml y enrasar con 2-propanol o etanol.
- Suspender el cuarzo α y/o la cristobalita α en alcohol con un baño de ultrasonidos durante 20 minutos.

- Inmediatamente llevar el matraz al agitador magnético, añadir el imán y esperar hasta alcanzar temperatura ambiente antes de tomar alícuotas de la suspensión.
- Colocar una membrana de PVC en el aparato de filtración asegurándose de que queda bien fijada y adicionar unos mililitros del 2-propanol o etanol sin aplicar vacío.
- Quitar el tapón y tomar una alícuota del centro de los matraces a media altura. El contenido de cuarzo α y/o cristobalita α de cada alícuota viene dado por la fórmula:

$$\mu\text{g}_{\text{SiO}_2} = \frac{V_{\text{alícuota}} (\text{ml}) \times \text{Peso}_{\text{patrónNIST}} (\text{mg}) \times \text{Pureza}_{\text{patrónNIST}}}{V_{\text{matraz}} (\text{l})}$$

- Transferir la alícuota de la pipeta al filtro manteniendo la punta de la pipeta cerca de la membrana pero sin que esté sumergida en la disolución.
- Aplicar vacío a la filtración.
- Mantener el vacío unos instantes tras la filtración completa para facilitar el secado de la membrana de PVC.
- Extraer la membrana de PVC y colocarla sobre un soporte de difracción de rayos X.
- Preparar varios estándares de forma que cubran el rango de trabajo (utilizar al menos diez niveles de concentración).

Analizar los estándares de trabajo junto con las muestras y los blancos según 3.5.5. La recta de calibrado se construirá empleando el método de mínimos cuadrados, forzando a la recta a pasar por el origen.

3.5.4 Control de calidad y criterios de aceptación

- La precisión de la pendiente de la recta de calibrado (C_m) debe ser superior al 95% (pico principal del cuarzo α y/o cristobalita α) o 90% (picos menos sensibles a 20,88 ó 50,14°, y a 36,20 ó 31,54° de 2θ para cuarzo y cristobalita α respectivamente).

$$C_m = (1 - S_m/m) \times 100$$

donde:

S_m : desviación estándar de la pendiente

m: pendiente

- El coeficiente de correlación (R^2) debe ser superior a 0,99.
- Los residuales (diferencia entre el valor de respuesta obtenido y el valor real) de los patrones de calibración deben ser inferiores al 20% del contenido en microgramos del patrón para depósitos iguales o inferiores a 20 μg y al 15% del contenido en microgramos del patrón en el resto de los casos.

En caso de no cumplirse alguna de las condiciones anteriores se procederá a preparar nuevos estándares de calibración. Si persiste el problema, se procederá a preparar una nueva suspensión de cuarzo α o cristobalita α en alcohol. El período de validez de una suspensión de cuarzo α o cristobalita α en alcohol conservada en congelador es de 6 meses.

La recta de calibrado para la realización de cada análisis por Difracción de Rayos X se elaborará con los estándares preparados según 3.5.3, y en principio será válida mientras no

se cambie de tubo de RX. En caso de que se cambie el tubo de RX podrá medirse una nueva recta de calibrado empleando los patrones de calibración preparados y medidos con el tubo anterior, siempre que se emplee como factor de corrección de absorción de radiación el inicialmente obtenido. Cada vez que se analice un lote de muestras se procederá a medir dos muestras de control de depósito conocido, a nivel de límite de cuantificación y nivel medio. Las muestras de control se prepararán de manera similar a los patrones de calibración, pero se utilizará una suspensión diferente a la empleada para la elaboración de aquellos. El periodo de validez de dichas muestras será de 6 meses, transcurridos los cuales no podrán ser utilizadas en la verificación de rectas de calibrado.

Para las muestras de control se calculará el valor z (Vz) de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$Vz = \frac{(X - X_{ref})}{\sigma_p}$$

donde:

X: es la masa de cuarzo/cristobalita obtenida experimentalmente.

X_{ref}: es el valor de referencia o depósito teórico.

σ_p : es la desviación típica correspondiente al valor de referencia calculada en función de la precisión obtenida en la validación del método.

3.5.5 Medición de muestras

Las muestras preparadas según el epígrafe 3.5.2 se introducen en el portamuestras del difractómetro de Rayos X para su análisis y se realizan las siguientes operaciones:

- Medición de la intensidad del patrón de silicio para corregir la deriva instrumental.
- Búsqueda del máximo del pico de cuarzo α y/o cristobalita α
- Determinación de la intensidad de fondo del difractograma para el cuarzo α y/o cristobalita α .
- Determinación de la intensidad neta del pico para el cuarzo α y/o cristobalita α
- Búsqueda del máximo del pico de Al.
- Determinación de la intensidad de fondo del difractograma para el Al.
- Determinación de la intensidad neta de pico para el Al.
- Determinación del factor de corrección de la absorción de la radiación. Debido a la capa de depósito de muestra sobre la misma, se pueden producir diferencias significativas en la señal. Para evitar este efecto se calcula la intensidad de señal del Al del propio soporte de medición con anterioridad y posterioridad al depósito de patrón o muestra sobre el filtro, y estos valores son los empleados para corregir la señal, calculando el factor de corrección de absorción según la ecuación:

$$f(t) = -R \frac{\ln(T)}{1 - T^R}$$

Donde:

$$R = \frac{\sin(\theta_{Al})}{\sin(\theta_{SiO_2})}$$

$T = I_{Al} / I_{Al}^{\circ}$, transmitancia de la muestra.

I_{Al} = intensidad del pico de Al para la membrana con depósito de muestra.

I_{Al}° = intensidad del pico de Al para la membrana en blanco.

- Medición de las señales de las muestras y patrones y cálculo de la concentración de las muestras La señal corregida de muestras y patrones se obtiene multiplicando el valor obtenido por $f(t)$ y, en el caso de que se esté midiendo la reflexión más intensa del cuarzo ($26,66^{\circ}$ de 2θ), restando al resultado la intensidad obtenida para dicha reflexión en la membrana en blanco, es decir, antes de hacer el depósito de muestra. Por interpolación en la recta de calibrado se obtiene la cantidad de cuarzo α y/o cristobalita α , que se expresa en microgramos de cuarzo α y/o cristobalita α sin ninguna cifra decimal.

Con cada lote de muestras analizado se volverán a medir dos de los patrones de calibración a nivel bajo y alto, según lo indicado en el apartado 3.5.4.

En la siguiente Tabla se muestran los parámetros del difractómetro para los diferentes programas de medida.

Programa	Voltaje (kV)	Intensidad (mA)	Ángulo de inicio (° 2θ)	Ángulo de fin (° 2θ)	Tamaño de paso (° 2θ)	Tiempo por paso (s)
Corrección de deriva instrumental y chequeo angular	40	40	27	29	0,021	10
Obtención de la señal de los portamuestras de Al	40	50	37,9	39,3	0,021	50
Cuantificación de cuarzo empleando la reflexión 26,66° 2θ	40	50	26,1	27,3	0,021	200
Cuantificación de cuarzo empleando la reflexión 20,86° 2θ	40	50	20,3	21,5	0,021	820
Cuantificación de cuarzo empleando la reflexión 50,14° 2θ	40	50	49,7	50,75	0,021	820
Cuantificación de cristobalita empleando la reflexión 22,05° 2θ	40	50	21,5	22,7	0,021	200
Cuantificación de cristobalita empleando la reflexión 36,20° 2θ	40	50	35,65	36,85	0,021	820
Cuantificación de cristobalita empleando la reflexión 31,54° 2θ	40	50	31	32,2	0,021	820

3.6 CÁLCULOS: DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE CUARZO α Y CRISTOBALITA α EN AIRE

La concentración de cuarzo α y/o cristobalita α en el volumen de aire muestreado, mg/m³ (Cuarzo α) y/o mg/m³ (Cristobalita α), se obtiene dividiendo el peso de cuarzo α y/o cristobalita α, P_q (mg), extraído de la medida en el difractómetro de rayos X, entre el volumen de aire muestreado V (m³).

$$\text{mg / m}^3 (\text{SiO}_2) = \frac{P_q}{V}$$

El resultado se expresará como concentración de cuarzo α y/o cristobalita α en mg/m^3 y se emplearán tres cifras decimales.

3.7 EXPRESIÓN DE RESULTADOS

El resultado se dará siempre como un número acompañado de una incertidumbre. Esta incertidumbre es la incertidumbre asociada al método, que aparece recogida en el Apartado 4. El contenido de cuarzo α y/o cristobalita α , en microgramos, y su correspondiente incertidumbre, aparece recogido en el “Informe final de ensayo”, y se expresa sin ninguna cifra decimal.

En el caso de que el peso del cuarzo α y/o cristobalita α P_q sea superior o inferior al rango de análisis (entre 10 (pico principal) o 30/50 (pico secundario para cuarzo/cristobalita) o 40/75 (pico terciario de cuarzo/cristobalita α) y 500 μg), el resultado se expresará sin incertidumbre alguna y se indicará en el informe de ensayo que dicho resultado se encuentra fuera del intervalo de análisis.

La concentración de cuarzo α y/o cristobalita α en el aire muestreado, en mg/m^3 , aparece recogido en el “Informe final de ensayo” y se expresa con tres cifras decimales. En caso de que el peso de sílice cristalina P_q sea superior o inferior al rango de análisis (entre 10 (pico principal) o 30/50 (pico secundario para cuarzo/cristobalita) o 40/75 (pico terciario de cuarzo/cristobalita α) y 500 μg), el resultado se expresará sin incertidumbre alguna y se indicará en el informe de ensayo que dicho resultado se encuentra fuera del intervalo de análisis.

4 VALIDACIÓN

4.1 DOCUMENTACIÓN DE REFERENCIA

- “XVIII Curso Implantación de los equipos instrumentales de análisis en el Sistema de Calidad” (G.S.C. Gabinete de Servicios para la calidad, S.A.L.).
- Guía EURACHEM “Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement”. First Edition 1995.
- “Estadística para química analítica”, Segunda edición, J.C.Miller, J.N.Miller, Addison-Wesley Iberoamericana 1993; USA.
- Norma UNE 82009 “Exactitud (veracidad y precisión) de resultados y métodos de medición” Parte 1 (Septiembre 1998), Parte 2, 3, 4, 5 y 6 (Junio 1999).
- G-ENAC-09 Rev. 1 Julio 2005 “Guía para la expresión de la incertidumbre en los ensayos cuantitativos”.
- IT10 “Método de determinación del contenido en cuarzo alfa respirable y cristobalita alfa respirable por DRX”.

4.2 VALIDACIÓN

Para la validación del método, se llevó a cabo un estudio preparando 120 membranas con cuarzo y 120 con cristobalita y sometiéndolas al proceso completo (calcinación, preparación de las membranas y medición) durante cuatro días distintos y diferentes operadores con el fin de estudiar no sólo la repetibilidad sino también la reproducibilidad del método. Para ello se prepararon membranas con cuarzo procedente del patrón NIST SRM 1878a y cristobalita procedente del patrón NIST SRM 1879a.

4.2.1 Criterios de aceptación

Los requisitos que debe cumplir el método para considerarlo adecuado para el análisis de cuarzo son los siguientes:

- Precisión (en condiciones de repetibilidad) expresada como desviación estándar relativa (%RSD_r) igual o inferior al 35% hasta un nivel de depósito teórico de 20 µg y al 20% en el resto del intervalo.
- Precisión (en condiciones de reproducibilidad) expresada como desviación estándar relativa (%RSD_R) igual o inferior al 35% hasta un nivel de depósito teórico de 20 µg y al 20% en el resto del intervalo.
- Exactitud (expresada como error relativo) mejor del 20% hasta un nivel de depósito teórico de 20 µg y del 10% en el resto del intervalo.
- Incertidumbre expandida máxima del 35% del resultado del análisis en el intervalo 51-500 µg y del 50% para resultados iguales o inferiores a 50 µg.
- Límite de cuantificación no superior a 20 microgramos (26,66° de 2θ) y 60 microgramos (20,88 y 50,14° de 2θ).
- Rango lineal hasta 500 microgramos.

Por lo que se refiere al análisis de cristobalita, los requisitos son:

- Precisión (en condiciones de repetibilidad) expresada como desviación estándar relativa (%RSD_r) igual o inferior al 35% hasta un nivel de depósito teórico de 20 µg y al 20% en el resto del intervalo.
- Precisión (en condiciones de reproducibilidad) expresada como desviación estándar relativa (%RSD_R) igual o inferior al 35% hasta un nivel de depósito teórico de 20 µg y al 20% en el resto del intervalo.
- Exactitud (expresada como error relativo) mejor del 20% hasta un nivel de depósito teórico de 20 µg y del 10% en el resto del intervalo.
- Incertidumbre expandida máxima del 35% del resultado del análisis en el intervalo 51-500 µg y del 50% para resultados iguales o inferiores a 50 µg.
- Límite de cuantificación no superior a 20 microgramos (22,05° de 2θ), y 100 microgramos (36,10° de 2θ y 31,50° de 2θ).
- Rango lineal hasta 500 microgramos.

4.2.2 Preparación de las muestras de validación.

Para la validación del análisis de cuarzo se prepararon un total de 120 muestras de 6 niveles de depósito de cuarzo diferentes (aproximadamente 10, 20, 30, 40, 250 y 500 µg, 20 de cada nivel) y para la validación del análisis de cristobalita se prepararon otras 120 muestras de 6 niveles de depósito de cristobalita diferentes (aproximadamente 10, 20, 50, 75, 250 y 500 µg, 20 de cada nivel).

Para la preparación de muestras sobre filtros de PVC se siguió la siguiente secuencia de operaciones:

- Se monta la torre de filtración de 15 ml con una conexión a la línea de vacío.
- Se coloca una membrana de PVC donde se retendrá el cuarzo.
- Se humedece la membrana con 2-propanol.
- Se conecta el vacío y se ajusta para que la aspiración no sea demasiado fuerte.
- Se añaden la alícuota de la disolución patrón de cuarzo en 2-propanol.
- Se lava la torre de filtración repetidas veces con 2-propanol con el fin de evitar que el patrón se quede retenido en las paredes de la misma.
- Una vez aspirada toda la disolución se mantiene el vacío durante unos minutos hasta asegurar una correcta sequedad de la membrana.
- Se extrae la membrana de PVC cuidadosamente con unas pinzas y se introduce en un crisol de porcelana para su posterior calcinación.
- Se lava el material y se repite el proceso para la preparación de las restantes membranas.

4.2.3 Calcinación de las membranas y preparación de las muestras

Una vez preparadas las membranas, se calcinaron en crisoles de porcelana en mufla a 770 ± 40 °C. La calcinación se llevó a cabo durante una hora. La preparación de muestras se realizó según lo indicado en la IT10.

4.2.4 Medición de las muestras

Las membranas con la muestra depositada se miden con el difractómetro de rayos X. Una vez medidas muestras y patrones se calcula la concentración de las primeras.

Las medidas se realizan en las mismas condiciones instrumentales que las empleadas en los análisis de rutina.

4.2.5 Resultados para el cuarzo

4.2.5.1. Exactitud

El primer paso es calcular el Índice de compatibilidad para demostrar que no hay diferencias significativas entre el valor del patrón y el obtenido con el método propuesto:

$$IC = \frac{|X_{\text{ref}} - X|}{\sqrt{(u_{\text{VM}})^2 + \left(\frac{S}{\sqrt{n}}\right)^2}} \leq 2$$

donde:

X_{ref} es el valor de referencia.

X es el valor medio resultante de la validación.

u_{VM} es la incertidumbre combinada del valor de referencia.

S es la desviación típica de los valores medios obtenidos cada día por cada uno de los operadores.

n es el número de series realizadas para cada nivel de concentración.

La incertidumbre combinada del valor de referencia (u_{VM}) viene dada por la siguiente expresión:

$$u_{VM} = X_{ref} \times \sqrt{\left(\frac{U_{MR}/k}{X_{MR}}\right)^2 + \left(\frac{u_B}{P_{MR}}\right)^2 + \left(\frac{u_M}{V_M}\right)^2 + \left(\frac{u_p}{V_p}\right)^2}$$

donde:

$U_{MR} = 0,105\%$ (Incertidumbre expandida del patrón NIST SRM 1878a).

k es el factor de cobertura indicado en el certificado del patrón NIST.

X_{MR} es la pureza certificada del material de referencia en %.

u_B es la incertidumbre combinada de la balanza en mg.

P_{MR} es el peso en mg de patrón NIST SRM 1878a tomado para preparar la suspensión con la que se dopan las membranas.

u_M es la Incertidumbre combinada (en ml) del matraz en el que se prepara la suspensión de cuarzo.

V_M es el volumen en ml del matraz en el que se prepara la suspensión de cuarzo.

u_p es la incertidumbre combinada (en ml) de la pipeta con la que se coge la alícuota de la suspensión con la que se dopa el filtro.

V_p es el volumen en ml de la pipeta empleada para dopar el filtro.

4.2.5.1.1. Determinación de cuarzo α a 26,66° de 2 θ

En la siguiente tabla se muestran los índices de compatibilidad obtenidos para cada uno de los niveles de concentración ensayados:

Nivel de concentración (μg)	X_{ref}	X	u_{VM}	S_R	IC
10	10	10	0,03	2,27	0
20	20	23	0,06	1,49	2,4
253	253	274	0,35	10,79	2,3
506	506	515	0,66	4,15	2,5

Para tres de los niveles de concentración ensayados se cumple que el IC > 2 por lo que existen diferencias significativas y hay que aplicar un factor de corrección en el cálculo de la incertidumbre.

La exactitud se define como el grado de concordancia existente entre el resultado del ensayo y un valor aceptado como referencia. La exactitud se expresa como error relativo:

$$E = \frac{|X_{ref} - X|}{X_{ref}} \times 100$$

Las exactitudes calculadas para cada uno de los tres niveles de concentración ensayados son las siguientes:

Nivel de concentración (μg)	X_{ref}	X	E (%)
10	10	10	0,3
20	20	23	-15,0
253	253	274	-8,3
506	506	515	-1,8

4.2.5.1.2. *Determinación de cuarzo α a 20,88° de 2θ*

En la siguiente tabla se muestran los índices de compatibilidad obtenidos para cada uno de los niveles de concentración ensayados:

Nivel de concentración (μg)	X_{ref}	X	u_{VM}	S_{R}	IC
30	30	29	0,07	1,86	0,6
253	253	259	0,35	14,42	0,5
506	506	508	0,66	9,19	0,3

Para los tres niveles de concentración ensayados se cumple que el $\text{IC} \leq 2$ por lo que no existen diferencias significativas.

Las exactitudes calculadas para cada uno de los tres niveles de concentración ensayados son las siguientes:

Nivel de concentración (μg)	X_{ref}	X	E (%)
30	30	29	3,3
253	253	259	-2,4
506	506	508	-0,4

4.2.5.1.3. *Determinación de cuarzo α a 50,14° de 2θ*

En la siguiente tabla se muestran los índices de compatibilidad obtenidos para cada uno de los niveles de concentración ensayados:

Nivel de concentración (μg)	X_{ref}	X	u_{VM}	S	IC
41	41	42	0,12	1,25	0,9
253	253	263	0,35	8,19	1,4
506	506	500	0,66	10,55	0,7

Para todos los niveles de concentración más bajos ensayados se cumple que el $\text{IC} \leq 2$ por lo que no existen diferencias significativas.

Las exactitudes calculadas para cada uno de los tres niveles de concentración ensayados son las siguientes:

Nivel de concentración (μg)	X_{ref}	X	E (%)
41	41	42	-2,4
253	253	263	-4,0
506	506	500	1,2

4.2.5.2. Precisión en condiciones de repetibilidad

La repetibilidad se define como la precisión obtenida bajo condiciones en las que los resultados de una medición se obtienen con el mismo método, sobre idénticas muestras, en el mismo laboratorio, por el mismo operador, y utilizando los mismos equipos de medición, durante un corto intervalo de tiempo.

La precisión en condiciones de repetibilidad se puede calcular a partir de la siguiente expresión:

$$\%RSD_r = \frac{S_r}{X} \cdot 100$$

donde S_r es la desviación estándar de los resultados en condiciones de repetibilidad.

4.2.5.2.1. Determinación de cuarzo α a 26,66° de 2θ

Las precisiones en condiciones de repetibilidad obtenidas se recogen en la siguiente tabla:

Nivel de concentración (μg)	S_r	RSD_r
10	2,2	22,4
20	1,3	6,6
253	6,0	2,4
506	15,1	3,0

4.2.5.2.2. Determinación de cuarzo α a 20,88° de 2θ

Las precisiones en condiciones de repetibilidad obtenidas se recogen en la siguiente tabla:

Nivel de concentración (μg)	S_r	RSD_r
30	2,5	8,5
253	8,8	3,5
506	19,5	3,9

4.2.5.2.3. Determinación de cuarzo α a 50,14° de 2θ

Las precisiones en condiciones de repetibilidad obtenidas se recogen en la siguiente tabla:

Nivel de concentración (μg)	S_r	RSD_r
41	3,4	8,4
253	9,0	3,6
506	19,1	3,8

4.2.5.3. Precisión en condiciones de Reproducibilidad

La reproducibilidad se define como la precisión obtenida bajo condiciones en las que los resultados de una medición se obtienen con el mismo método, sobre idénticas muestras, en laboratorios diferentes, con operadores distintos, y utilizando equipos diferentes. En esta validación se ha variaron los días y los operadores.

La precisión en condiciones de reproducibilidad se puede calcular a partir de la siguiente expresión:

$$\%RSD_R = \frac{S_R}{\bar{X}} \cdot 100$$

donde S_R es la desviación estándar de los resultados en condiciones de reproducibilidad.

4.2.5.3.1. Determinación de cuarzo α a 26,66° de 2 θ

Las precisiones en condiciones de reproducibilidad obtenidas se recogen en la siguiente tabla:

Nivel de concentración (μg)	S_R	RSD_R
10	2,3	22,7
20	1,5	7,4
253	10,8	4,3
506	4,1	0,8

4.2.5.3.2. Determinación de cuarzo α a 20,88° de 2 θ

Las precisiones en condiciones de reproducibilidad obtenidas se recogen en la siguiente tabla:

Nivel de concentración (μg)	S_R	RSD_R
30	1,9	6,2
253	14,4	5,7
506	9,2	1,8

4.2.5.3.3. Determinación de cuarzo α a 50,14° de 2 θ

Las precisiones en condiciones de reproducibilidad obtenidas se recogen en la siguiente tabla:

Nivel de concentración (μg)	S_R	RSD_R
41	1,3	3,1
253	8,2	3,2
506	10,5	2,1

4.2.5.4. Cálculo de incertidumbre

Para el cálculo de incertidumbre se adopta el modelo de caja negra considerado como el más adecuado para los ensayos de tipo químico como el que nos ocupa ("XVIII Curso Implantación de los equipos instrumentales de análisis en el Sistema de Calidad". Introducción al Cálculo de incertidumbre, Jesús Laso Sánchez, Página 17 de 33, Julio de 2003).

Para el cálculo de la incertidumbre en la determinación del peso de cuarzo α seguiremos el modelo de caja negra mencionado anteriormente

$$U_{P_{\text{SiO}_2}} = K \cdot U_{\text{combinada}} \quad (\text{Tomaremos } K=2)$$

$$U_{P_{\text{SiO}_2}} = 2 \cdot \sqrt{u_{\text{VM}}^2 + \left(\frac{S_R}{\sqrt{n}}\right)^2 + \left(\frac{S_r}{\sqrt{n_r}}\right)^2 + \left(\frac{C}{\sqrt{3}}\right)^2}$$

donde:

u_{VM} es la incertidumbre combinada del valor de referencia.

$\left(\frac{S_R}{\sqrt{n}}\right)$ es la incertidumbre debida a la determinación del valor medio, donde S_R es la desviación estándar obtenida en condiciones de reproducibilidad y n el número de réplicas realizadas en dichas condiciones.

$\left(\frac{S_r}{\sqrt{n_r}}\right)$ es la incertidumbre debida a la realización de la medida cada vez. Como se trata de un ensayo destructivo n_r será siempre igual a 1 y S_r es el promedio de las desviaciones estándar obtenidas en condiciones de repetibilidad.

$\left(\frac{C}{\sqrt{3}}\right)$ es un factor debido a la corrección, donde $C = X_{ref} - X$. Si $IC \leq 2$ no hace falta tenerlo en cuenta

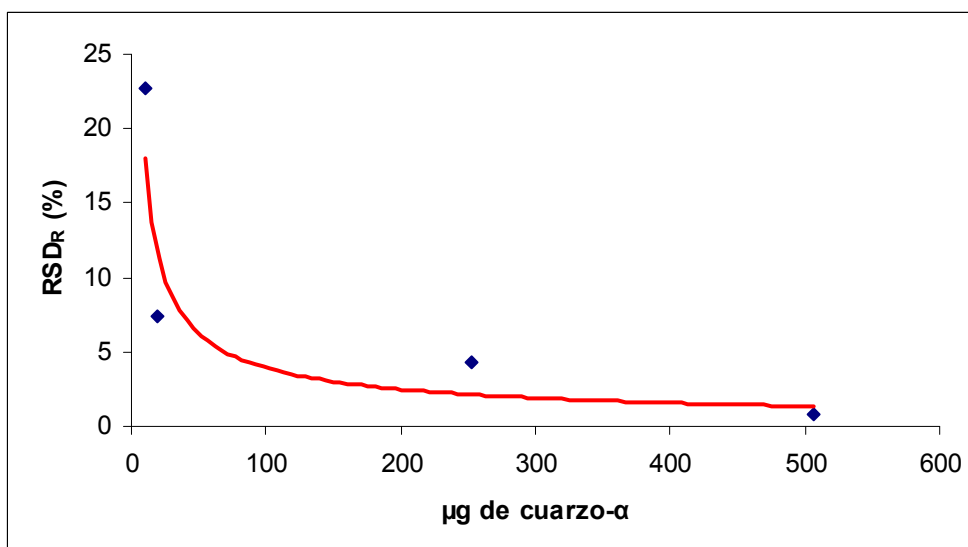
4.2.5.4.1. Determinación de cuarzo α a 26,66° de 2θ

Para cada uno de los tres niveles de concentración ensayados las incertidumbres obtenidas han sido las siguientes:

Nivel de concentración (μg)	u_{VM}	S_R	S_r	$U_{P_{SiO_2}}$
10	0,03	2,3	2,2	4,7
20	0,06	1,5	1,3	5,6
253	0,35	10,8	6,0	34,7
506	0,66	4,1	15,1	44,1

Si se representa la precisión en condiciones de reproducibilidad, $\%RSD_R = 100 \times \frac{S_R}{X_{ref}}$, se

observa que no es constante, sino que depende del nivel de concentración de cuarzo α .



Se escoge como incertidumbre expandida (para un factor de cobertura de $k = 2$) de la determinación de cuarzo α mediante DRX, una incertidumbre relativa dada por la curva:

$$U_{P_{SiO_2}} = 1,0389 \cdot x^{0,6134}$$

donde $U_{P_{SiO_2}}$ es la incertidumbre relativa y x es la masa de cuarzo α determinada. Dicha curva es la que mejor se adapta a las incertidumbres obtenidas ($r^2 = 0,99$) para los distintos niveles de concentración ensayados.

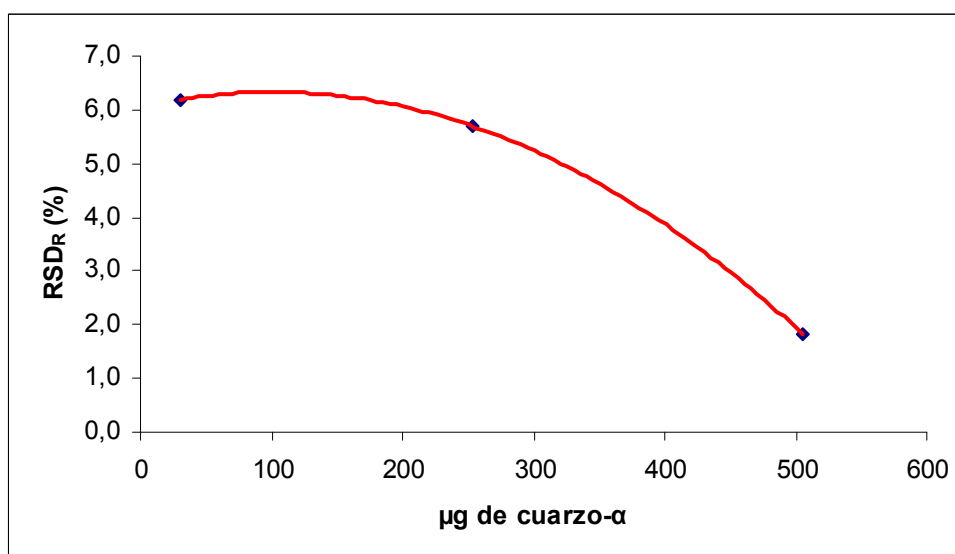
4.2.5.4.2. Determinación de cuarzo α a 20,88° de 2θ

Para cada uno de los tres niveles de concentración ensayados las incertidumbres obtenidas han sido las siguientes:

Nivel de concentración (μg)	u_{VM}	S_R	S_r	$U_{P_{SiO_2}}$
30	0,07	1,9	2,5	7,7
253	0,35	14,42	8,8	34,8
506	0,66	9,19	19,5	56,8

Si se representa la precisión en condiciones de reproducibilidad, $\%RSD_R = 100 \times \frac{S_R}{X_{ref}}$, se

observa que no es constante, sino que depende del nivel de concentración de cuarzo α .



Se escoge como incertidumbre expandida (para un factor de cobertura de $k = 2$) de la determinación de cuarzo α mediante DRX, una incertidumbre relativa dada por la curva:

$$U_{P_{SiO_2}} = 0,707 \cdot x^{0,7043}$$

donde $U_{P_{SiO_2}}$ es la incertidumbre relativa y x es la masa de cuarzo α determinada. Dicha curva es la que mejor se adapta a las incertidumbres obtenidas ($r^2 = 1$) para los distintos niveles de concentración ensayados.

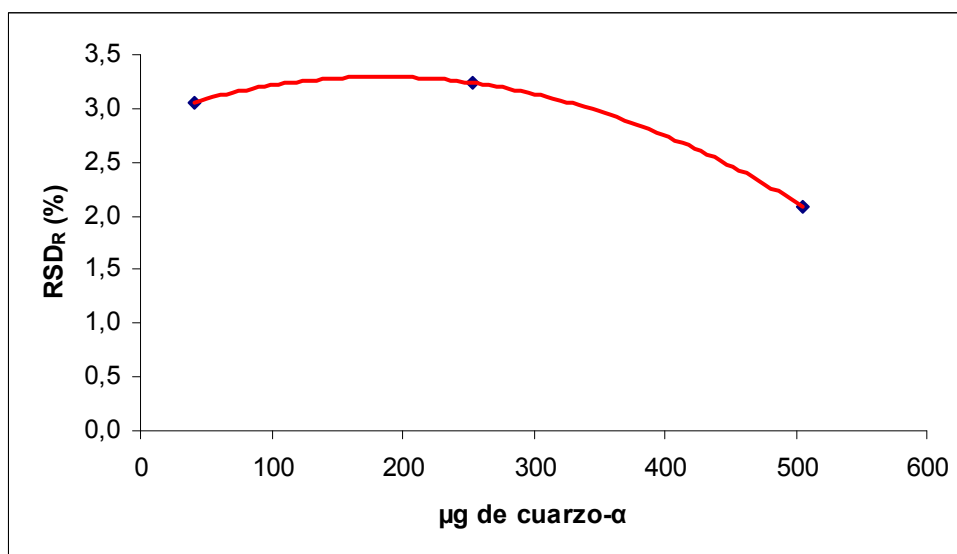
4.2.5.4.3. Determinación de cuarzo α a 50,14° de 2θ

Para cada uno de los tres niveles de concentración ensayados las incertidumbres obtenidas han sido las siguientes:

Nivel de concentración (μg)	u_{VM}	S_R	S_r	$U_{P_{SiO_2}}$
41	0,12	1,25	3,4	9,8
253	0,35	8,19	9,0	28,8
506	0,66	10,55	19,1	56,4

Si se representa la precisión en condiciones de reproducibilidad, $\%RSD_R = 100 \times \frac{S_R}{X_{ref}}$, se

observa que no es constante, sino que depende del nivel de concentración de cuarzo α .



Se escoge como incertidumbre expandida (para un factor de cobertura de $k = 2$) de la determinación de cuarzo α mediante DRX, una incertidumbre relativa dada por la curva:

$$U_{P_{SiO_2}} = 0,1006 \cdot x + 4,846$$

donde $U_{P_{SiO_2}}$ es la incertidumbre relativa y x es la masa de cuarzo α determinada. Dicha curva es la que mejor se adapta a las incertidumbres obtenidas ($r^2 = 0,997$) para los distintos niveles de concentración ensayados.

4.2.5.5. Características analíticas de la determinación de cuarzo α por DRX

4.2.5.5.1. Determinación de cuarzo α a $26,66^\circ$ de 2θ

- Límite de detección (LD): se calcula como aquella concentración de cuarzo (μg) que proporciona una señal (y): $y = y_{\text{blanco}} + 3\sigma_{\text{Blanco}}$

donde:

y_{blanco} es la señal del blanco, pudiendo tomar como tal la media de 10 medidas de un blanco

σ_{blanco} es la desviación típica del blanco. Se puede tomar como tal la desviación típica de 10 medidas de un blanco

Para el cálculo del límite de detección se calcinaron 10 filtros en blanco y se prepararon las correspondientes membranas de PVC. La media de las señales de los 10 blancos fue $y_{\text{blanco}} = 0,14$, con una desviación estándar $\sigma_{\text{blanco}} = 0,30$.

Así pues, $LD = 3 \mu\text{g}$ ya que la pendiente de la recta de calibrado era 0,417.

- Intervalo de linealidad: desde límite detección hasta 500 μg .
- Límite de cuantificación (LC) teórico: se calcula como aquella concentración de cuarzo (μg) que proporciona una señal (y): $y = y_{\text{blanco}} + 10\sigma_{\text{Blanco}}$

donde:

y_{blanco} es la señal del blanco, pudiendo tomar como tal la media de 10 medidas de un blanco

σ_{blanco} es la desviación típica del blanco. Se puede tomar como tal la desviación típica de 10 medidas de un blanco

De acuerdo con los datos obtenidos, teóricamente: $LC = 7 \mu\text{g}$, pero se opta por tomar un límite de cuantificación real de 10 μg una vez confirmado experimentalmente que con un depósito teórico de 10 μg se cumplían los requisitos relativos a la incertidumbre establecidos. La confirmación experimental de este límite de cuantificación se llevó a cabo utilizando este nivel de concentración como uno de los niveles ensayados para el cálculo de exactitud, repetibilidad, reproducibilidad e incertidumbre.

4.2.5.5.2. Determinación de cuarzo α a 20,88° de 2θ

- Límite de detección (LD): La media de las señales de los 10 blancos fue $y_{\text{blanco}} = 0,09$, con una desviación estándar $\sigma_{\text{blanco}} = 0,14$. Así pues, $LD = 6 \mu\text{g}$ ya que la pendiente de la recta de calibrado era 0,088.
- Intervalo de linealidad: desde límite detección hasta 500 μg .
- Límite de cuantificación (LC) teórico: De acuerdo con los datos obtenidos, teóricamente: $LC = 17 \mu\text{g}$, pero se opta por tomar un límite de cuantificación real de 30 μg una vez confirmado experimentalmente que con un depósito teórico de 20 μg no se cumplían los requisitos relativos a la incertidumbre y a la precisión en condiciones de repetibilidad establecidos. La confirmación experimental de este límite de cuantificación se llevó a cabo utilizando este nivel de concentración como uno de los tres niveles ensayados para el cálculo de exactitud, repetibilidad, reproducibilidad e incertidumbre.

4.2.5.5.3. Determinación de cuarzo α a 50,14° de 2θ

- Límite de detección (LD): La media de las señales de los 10 blancos fue $y_{\text{blanco}} = 0,02$, con una desviación estándar $\sigma_{\text{blanco}} = 0,04$. Así pues, $LD = 5 \mu\text{g}$ ya que la pendiente de la recta de calibrado era 0,029.
- Intervalo de linealidad: desde límite detección hasta 500 μg .

- Límite de cuantificación (LC) teórico: Según los resultados obtenidos, teóricamente: LC = 15 µg, pero se opta por tomar un límite de cuantificación real de 40 µg una vez confirmado experimentalmente que con depósitos teóricos de 20 y 30 µg no se cumplían los requisitos relativos a la incertidumbre y a la precisión en condiciones de repetibilidad establecidos. La confirmación experimental de este límite de cuantificación se llevó a cabo utilizando este nivel de concentración como uno de los tres niveles ensayados para el cálculo de exactitud, repetibilidad, reproducibilidad e incertidumbre.

4.2.6 Resultados para la cristobalita

4.2.6.1. Exactitud

El primer paso es calcular el Índice de compatibilidad para demostrar que no hay diferencias significativas entre el valor del patrón y el obtenido con nuestro método, tal y como se ha mencionado en el apartado 4.2.5.1.

En el caso de la cristobalita $U_{MR} = 0,200$ (Incertidumbre combinada del patrón NIST SRM 1879a).

4.2.6.1.1. Determinación de cristobalita α a 22,05° de 2θ

En la siguiente tabla se muestran los índices de compatibilidad obtenidos para cada uno de los niveles de concentración ensayados:

Nivel de concentración (µg)	X_{ref}	X	u_{VM}	S_R	IC
10	10	10	0,02	1,12	0,9
19	19	18	0,06	1,57	0,7
228	228	230	0,57	12,53	0,2
456	456	446	1,11	23,38	0,5

Para todos los niveles de concentración ensayados se cumple que el IC ≤ 2 por lo que no existen diferencias significativas y no es necesario aplicar un factor de corrección en el cálculo de la incertidumbre ya que éste se considera despreciable.

Las exactitudes calculadas para cada uno de los tres niveles de concentración ensayados son las siguientes:

Nivel de concentración (µg)	X_{ref}	X	E (%)
10	10	10	3,3
19	19	18	4,6
228	228	230	-0,8
456	456	446	2,2

4.2.6.1.2. Determinación de cristobalita α a 36,10° de 2θ

En la siguiente tabla se muestran los índices de compatibilidad obtenidos para cada uno de los niveles de concentración ensayados:

Nivel de concentración (μg)	X_{ref}	X	u_{VM}	S_{R}	IC
46	46	50	0,13	5,56	0,8
228	228	232	0,57	14,53	0,3
456	456	452	1,11	22,88	0,2

Para todos los niveles de concentración ensayados se cumple que el $\text{IC} \leq 2$ por lo que no existen diferencias significativas y no es necesario aplicar un factor de corrección en el cálculo de la incertidumbre ya que éste se considera despreciable.

Las exactitudes calculadas para cada uno de los tres niveles de concentración ensayados son las siguientes:

Nivel de concentración (μg)	X_{ref}	X	E (%)
46	46	50	-8,7
228	228	232	-1,5
456	456	452	0,9

4.2.6.1.3. Determinación de cristobalita α a $31,50^\circ$ de 2θ

En la siguiente tabla se muestran los índices de compatibilidad obtenidos para cada uno de los niveles de concentración ensayados:

Nivel de concentración (μg)	X_{ref}	X	u_{VM}	S_{R}	IC
75	75	76	0,24	7,33	0,2
228	228	239	0,57	17,01	0,8
456	456	454	1,11	24,36	0,1

Para todos los niveles de concentración ensayados se cumple que el $\text{IC} \leq 2$ por lo que no existen diferencias significativas y no es necesario aplicar un factor de corrección en el cálculo de la incertidumbre ya que éste se considera despreciable.

Las exactitudes calculadas para cada uno de los tres niveles de concentración ensayados son las siguientes:

Nivel de concentración (μg)	X_{ref}	X	E (%)
75	75	76	-1,5
228	228	239	-4,8
456	456	454	0,5

4.2.6.2. Precisión en condiciones de repetibilidad

4.2.6.2.1. Determinación de cristobalita α a $22,05^\circ$ de 2θ

Las precisiones en condiciones de repetibilidad obtenidas se recogen en la siguiente tabla:

Nivel de concentración (μg)	S_{r}	RSD_{r}
10	1,4	13,7
19	1,5	7,8
228	12,0	5,3
456	21,7	4,8

4.2.6.2.2. Determinación de cristobalita α a $36,10^\circ$ de 2θ

Las precisiones en condiciones de repetibilidad obtenidas se recogen en la siguiente tabla:

Nivel de concentración (μg)	S_r	RSD_r
46	5,5	12,0
228	11,5	5,0
456	20,0	4,4

4.2.6.2.3. *Determinación de cristobalita α a $31,50^\circ$ de 2θ*

Las precisiones en condiciones de repetibilidad obtenidas se recogen en la siguiente tabla:

Nivel de concentración (μg)	S_r	RSD_r
75	5,7	7,5
228	12,7	5,6
456	21,3	4,7

4.2.6.3. Precisión en condiciones de Reproducibilidad

4.2.6.3.1. *Determinación de cristobalita α a $22,05^\circ$ de 2θ*

Las precisiones en condiciones de reproducibilidad obtenidas se recogen en la siguiente tabla:

Nivel de concentración (μg)	S_R	RSD_R
10	1,1	11,2
19	1,6	8,2
228	12,5	5,5
456	23,4	5,1

4.2.6.3.2. *Determinación de cristobalita α a $36,10^\circ$ de 2θ*

Las precisiones en condiciones de reproducibilidad obtenidas se recogen en la siguiente tabla:

Nivel de concentración (μg)	S_R	RSD_R
46	5,6	12,2
228	14,4	6,3
456	23,1	5,1

4.2.6.3.3. *Determinación de cristobalita α a $31,50^\circ$ de 2θ*

Las precisiones en condiciones de reproducibilidad obtenidas se recogen en la siguiente tabla:

Nivel de concentración (μg)	S_R	RSD_R
75	7,3	9,8
228	17,0	7,5
456	24,4	5,3

4.2.6.4. Cálculo de incertidumbre

Para el cálculo de la incertidumbre en la determinación del peso de cristobalita α seguiremos el modelo de caja negra mencionado anteriormente.

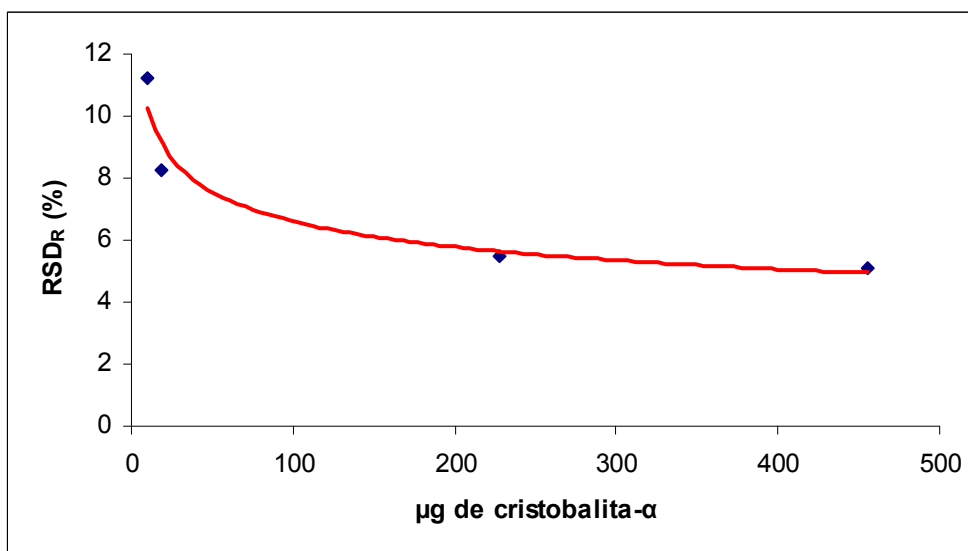
4.2.6.4.1. *Determinación de cristobalita α a 22,05° de 2 θ*

Para cada uno de los tres niveles de concentración ensayados las incertidumbres obtenidas han sido las siguientes:

Nivel de concentración (μg)	u_{VM}	S_R	S_r	$U_{P_{SiO_2}}$
10	0,02	1,1	1,4	2,9
19	0,06	1,57	1,47	4,0
228	0,57	12,53	11,99	32,1
456	1,11	23,38	21,66	58,8

Si se representa la precisión en condiciones de reproducibilidad, $\%RSD_R = 100 \times \frac{S_R}{X_{ref}}$, se

observa que no es constante, sino que depende del nivel de concentración de cristobalita α .



Se escoge como incertidumbre expandida (para un factor de cobertura de $k = 2$) de la determinación de cristobalita α mediante DRX una incertidumbre relativa dada por la curva:

$$U_{P_{SiO_2}} = 0,4198 \cdot x^{0,8021}$$

donde $U_{P_{SiO_2}}$ es la incertidumbre relativa y x es la masa de cristobalita α determinada. Dicha función es la que mejor se adapta a las incertidumbres obtenidas ($r^2 = 0,997$) para los distintos niveles de concentración ensayados.

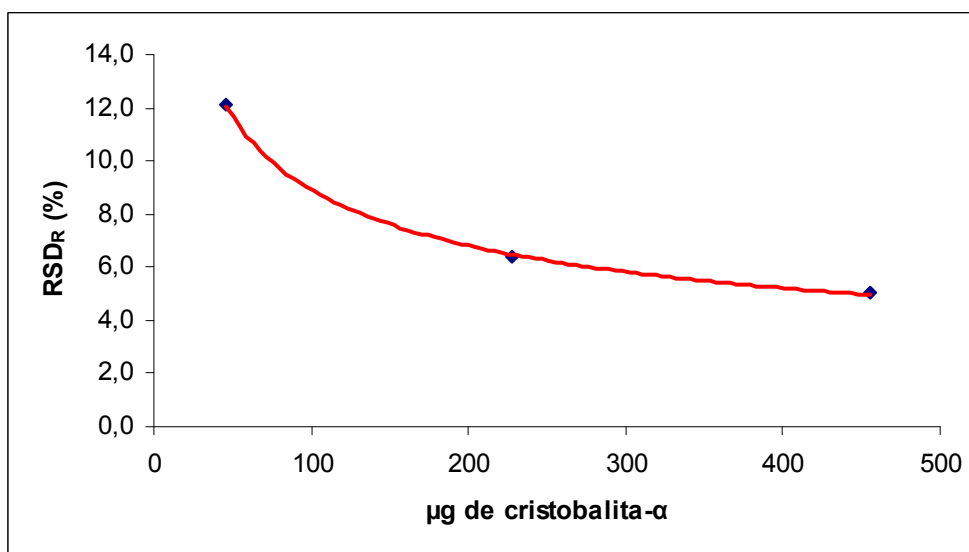
4.2.6.4.2. *Determinación de cristobalita α a 36,10° de 2 θ*

Para cada uno de los tres niveles de concentración ensayados las incertidumbres obtenidas han sido las siguientes:

Nivel de concentración (μg)	u_{VM}	S_R	S_r	$U_{P_{SiO_2}}$
46	0,13	5,56	5,54	14,6
228	0,57	14,53	11,47	33,7
456	1,11	22,88	20,03	55,9

Si se representa la precisión en condiciones de reproducibilidad, $\%RSD_R = 100 \times \frac{S_R}{X_{ref}}$, se

observa que no es constante, sino que depende del nivel de concentración de cristobalita α .



Se escoge como incertidumbre expandida (para un factor de cobertura de $k = 2$) de la determinación de cristobalita α mediante DRX una incertidumbre relativa dada por la recta:

$$U_{P_{SiO_2}} = 0,1004 \cdot x + 10,293$$

donde $U_{P_{SiO_2}}$ es la incertidumbre relativa y X es la masa de cristobalita α determinada. Dicha función es la que mejor se adapta a las incertidumbres obtenidas ($r^2 = 0,9995$) para los distintos niveles de concentración ensayados.

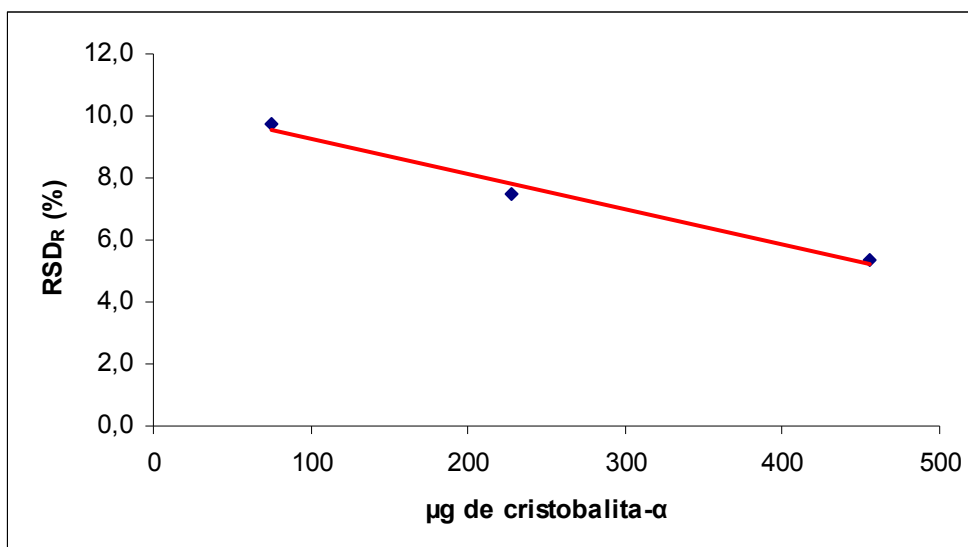
4.2.6.4.3. Determinación de cristobalita α a $31,50^\circ$ de 2θ

Para cada uno de los tres niveles de concentración ensayados las incertidumbres obtenidas han sido las siguientes:

Nivel de concentración (µg)	u_{VM}	S_R	S_r	$U_{P_{SiO_2}}$
75	0,24	7,33	5,66	16,8
228	0,57	17,01	12,73	38,6
456	1,11	24,36	21,28	59,4

Si se representa la precisión en condiciones de reproducibilidad, $\%RSD_R = 100 \times \frac{S_R}{X_{ref}}$, se

observa que no es constante, sino que depende del nivel de concentración de cristobalita α .



Se escoge como incertidumbre expandida (para un factor de cobertura de $k = 2$) de la determinación de cristobalita α mediante DRX una incertidumbre relativa dada por la función:

$$U_{P_{\text{SiO}_2}} = 0,8218 \cdot x^{0,7025}$$

donde $U_{P_{\text{SiO}_2}}$ es la incertidumbre relativa y X es la masa de cristobalita α determinada. Dicha función es la que mejor se adapta a las incertidumbres obtenidas ($r^2 = 0,9978$) para los distintos niveles de concentración ensayados.

4.2.6.5. Características analíticas de la determinación de cristobalita α por DRX

4.2.6.5.1. Determinación de cristobalita α a $22,05^\circ$ de 2θ

- Límite de detección (LD): La media de las señales de los 10 blancos fue $y_{\text{blanco}} = 0,19$, con una desviación estándar $\sigma_{\text{Blanco}} = 0,22$. Así pues, $LD = 2 \mu\text{g}$ ya que la pendiente de la recta de calibrado era 0,387.
- Intervalo de linealidad: desde límite detección hasta $500 \mu\text{g}$.
- Límite de cuantificación (LC) teórico: De acuerdo con los datos obtenidos, teóricamente: $LC = 6 \mu\text{g}$, pero se opta por tomar un límite de cuantificación real de $20 \mu\text{g}$ para lograr que la incertidumbre cumpla los requisitos establecidos por la norma UNE EN 689. La confirmación experimental de este límite de cuantificación se llevó a cabo utilizando este nivel de concentración como uno de los tres niveles ensayados para el cálculo de exactitud, repetibilidad, reproducibilidad e incertidumbre.

4.2.6.5.2. Determinación de cristobalita α a $36,10^\circ$ de 2θ

- Límite de detección (LD): La media de las señales de los 10 blancos fue $y_{\text{blanco}} = 0,07$, con una desviación estándar $\sigma_{\text{Blanco}} = 0,16$. Así pues, $LD = 16 \mu\text{g}$ ya que la pendiente de la recta de calibrado era 0,0329.
- Intervalo de linealidad: desde límite detección hasta $500 \mu\text{g}$.
- Límite de cuantificación (LC) teórico: Según los resultados obtenidos, teóricamente: $LC = 49 \mu\text{g}$. La confirmación experimental de este límite de cuantificación se llevó a cabo

utilizando este nivel de concentración como uno de los tres niveles ensayados para el cálculo de exactitud, repetibilidad, reproducibilidad e incertidumbre.

4.2.6.5.3. *Determinación de cristobalita α a $31,50^\circ$ de 2θ*

- Límite de detección (LD): La media de las señales de los 10 blancos fue $y_{\text{blanco}} = 0,44$, con una desviación estándar $\sigma_{\text{Blanco}} = 0,18$. Así pues, $LD = 39 \mu\text{g}$ ya que la pendiente de la recta de calibrado era 0,025.
- Intervalo de linealidad: desde límite detección hasta 500 μg .
- Límite de cuantificación (LC) teórico: De acuerdo con los resultados obtenidos, teóricamente: $LC = 88 \mu\text{g}$, pero se opta por tomar un límite de cuantificación real de 75 μg ya que de acuerdo con el método MDHS101 del Health and Safety Laboratory esta forma de calcular los límites de cuantificación podría dar lugar a una sobreestimación de los mismos por el hecho de que la recta de calibrado suele tener ordenadas en el origen negativas. La confirmación experimental de este límite de cuantificación se llevó a cabo utilizando este nivel de concentración como uno de los tres niveles ensayados para el cálculo de exactitud, repetibilidad, reproducibilidad e incertidumbre con resultados que cumplen los requisitos establecidos.

INS-IT23: MÉTODO DE IDENTIFICACIÓN DE SÍLICE CRISTALINA RESPIRABLE EN MUESTRAS CON PRESENCIA DE CARBONATOS POR IR DIRECTAMENTE SOBRE MEMBRANA

1 OBJETO Y ALCANCE

El presente método describe el procedimiento a seguir y los equipos necesarios para la identificación, en el aire de los lugares de trabajo, de sílice cristalina respirable en presencia de algún tipo de carbonato. La identificación se lleva a cabo directamente sobre el propio filtro de membrana.

Este método permite identificar la presencia o ausencia de sílice cristalina en la muestra por espectrofotometría de infrarrojo con un Límite de Detección de 3 µg.

Se consideran como interferencias todas aquellas sustancias que presenten bandas de absorción en la región correspondiente a la sílice cristalina, cuyos máximos aparecen aproximadamente a 800 cm⁻¹, así como otras sustancias que puedan interferir en la fase de preparación de la muestra. Entre las más habituales se encuentran sílice amorfa, caolinita y otros silicatos.

La presencia de caolinita produce una interferencia positiva imposible de eliminar sin un tratamiento térmico de la muestra. Por este motivo, este método de trabajo no es de aplicación cuando la caolinita se encuentre acompañando a los carbonatos en la matriz de la muestra. El Laboratorio del Departamento Técnico de Prevención del Instituto Nacional de Silicosis considera que existe caolinita en una muestra cuando en la información remitida por el cliente se indique como materia prima arcilla o caolín, no haciéndose responsable de los errores cometidos como consecuencia de una información incorrecta.

Este método es de aplicación para aquellas muestras tomadas sobre filtros de PVC de 5 µm de tamaño de poro.

En caso de que la membrana venga con polvo desprendido no se llevará a cabo el análisis según este método de trabajo y se realizará directamente su análisis cuantitativo.

2 DOCUMENTACIÓN DE REFERENCIA

- UNE-EN ISO/IEC 17025 “Requisitos generales relativos a la competencia de laboratorios de ensayo y calibración”.
- CGA-ENAC-LEC “Criterios generales para la acreditación de laboratorios de ensayos y calibración según norma UNE EN-ISO/IEC 17025”.
- UNE 81550 “Exposición en el lugar de trabajo. Determinación de sílice cristalina (fracción respirable) en aire. Método de espectrofotometría de infrarrojo”.
- UNE-EN 481 “Atmósferas en puestos de trabajo. Definición de las fracciones por el tamaño de las partículas para la medición de aerosoles”.

- ❑ UNE-EN 1540: “Exposición en el lugar de trabajo. Terminología”.
- ❑ IT02: “Instrucción de trabajo para la determinación gravimétrica de partículas en aire”
- ❑ Reglamento General de Normas Básicas de Seguridad Minera e Instrucciones Técnicas Complementarias.

Toda la documentación referenciada lo es en su versión vigente más actual.

3 DESARROLLO

3.1 DEFINICIONES

Valor límite

Cifra de referencia para la concentración de un agente químico en el aire.

NOTA: Los valores límite están en su mayor parte establecidos para periodos de referencia de 8 horas.

Polvo en suspensión en el aire

Materia finamente dividida, en estado sólido, dispersada en el aire

Sílice cristalina respirable

Partículas inhaladas dióxido de silicio cristalizado (presente en la naturaleza en forma de cuarzo, tridimita y cristobalita) que penetran en las vías respiratorias no ciliadas de acuerdo con la norma UNE-EN 481.

Fracción respirable

Fracción en masa de las partículas inhaladas que penetra hasta las vías respiratorias no ciliadas.

NOTA: La fracción respirable está definida en la Norma EN 481.

Muestreador de la fracción respirable

Muestreador de aerosoles que se utiliza para recoger la fracción respirable.

Elemento de retención, sustrato de muestreo, medio de retención o medio de muestreo

Medio en el que se recogen los agentes químicos y/o biológicos en suspensión en el aire para su análisis posterior.

NOTA: Los filtros, las espumas de poliuretano y el conjunto filtro-portafiltro de algunos muestreadores son algunos ejemplos de elementos de retención para partículas en suspensión en el aire.

Sistema de muestreo

Conjunto de componentes cuya misión es separar la fracción del aerosol de interés (inhalable, torácica o respirable) y recogerla en un determinado elemento de retención. La bomba de muestreo, el muestreador y el elemento de retención forman parte del sistema de muestreo.

Zona respiratoria

Espacio alrededor de la nariz y la boca en el que la respiración tiene lugar.

NOTA: Técnicamente la zona de respiración se refiere a un hemisferio (generalmente aceptado de 30 cm de radio) que se extiende frente a la cara de la persona, centrado en el

punto medio de la línea que une las orejas. La base de hemisferio es el plano que pasa por esta línea, la parte superior de la cabeza y la laringe. Esta descripción técnica no se aplica cuando se utilizan equipos de protección respiratoria.

Muestra (de aire)

Producto del proceso del muestreo de aire.

NOTA: A menudo se considera que la muestra de aire incluye al elemento de retención además de a los agentes químicos y/o biológicos recogidos. A veces se considera que es una parte de un volumen de aire mayor.

Muestra recogida

Producto del proceso del muestreo de aire que está constituido únicamente por los agentes químicos y/o biológicos.

Límite de detección, LOD (limit of detection)

Cantidad menor de un analito que se puede detectar con un nivel de confianza dado.

NOTA 1: El límite de detección se puede calcular como tres veces la desviación típica de las medidas de un blanco. Esto representa una probabilidad del 50% de que el analito no se detecte estando presente a la concentración del límite de detección.

NOTA 2: El LOD se puede utilizar como un valor umbral para afirmar la presencia de una sustancia con un nivel de confianza dado.

Procedimiento de medida o método de medida

Conjunto de operaciones descritas específicamente para el muestreo y el análisis de los agentes químicos o biológicos en el aire.

NOTA: Un procedimiento de medida normalmente incluye la preparación del muestreo, el muestreo, el transporte y el almacenamiento, la preparación de las muestras para el análisis y el análisis.

3.2 FUNDAMENTO DEL MÉTODO

Se identifica la presencia de sílice cristalina directamente sobre el propio filtro de membrana empleado en la toma de muestra mediante el empleo de un espectrofotómetro de infrarrojo con transformada de Fourier.

3.3 REACTIVOS

En el procedimiento de análisis cualitativo descrito en este método de trabajo no se requiere ningún tipo de reactivo.

3.4 APARATOS Y MATERIAL

- Espectrofotómetro de infrarrojo con transformada de Fourier.
 - Detector: MIR-TGS 15600-370 cm^{-1} .
 - J-stop: 1,58-8,94 mm.
 - Resolución mínima de 4 cm^{-1} .

- Celda de metano para la realización de corrección AVI.
- Soporte de muestra (membrana de PVC de 25 ó 37 mm) para la obtención de espectros IR.

3.5 PROCEDIMIENTO DE ANÁLISIS

3.5.1 Análisis cualitativo de sílice cristalina (“screening”) mediante espectrofotometría de IR

Previo a la realización de cualquier medida en los espectrofotómetros FTIR se procederá a llevar a cabo una calibración AVI empleando una celda de metano incluida como filtro interno del propio FTIR.

Se coloca en la ventana del espectrofotómetro la membrana con muestra sobre un portaobjetos de 25 ó 37 mm y se registra el espectro. Se calcula la diferencia respecto al espectro IR de un filtro en blanco con un peso comprendido en el intervalo “*Peso inicial del filtro con muestra $\pm 0,30$ mg*”. Sobre el espectro diferencia se mide la altura máxima corregida del pico entre 802 y 794 cm^{-1} con respecto a una línea de base tomada como la recta tangente entre los dos mínimos del espectro IR existentes a ambos lados del doblete del SiO_2 , aproximadamente entre 830 y 675 cm^{-1} . Se considera que existe sílice cristalina en la muestra si se cumplen las siguientes condiciones:

- La absorbancia es superior a 3 veces la pendiente de la recta de calibrado empleada para la cuantificación de sílice cristalina en pastillas de KBr. Ejemplo: si la ecuación de la recta de calibrado empleada para la cuantificación de sílice cristalina en pastillas de KBr es $y = 0,0014x$, se considerará positiva la identificación de sílice cuando la altura corregida del pico entre 802 y 794 cm^{-1} sea superior a 0,0042 unidades de absorbancia.
- Se identifican las 2 bandas características de la sílice cristalina con máximos a 798 ± 4 y 780 ± 4 cm^{-1} respectivamente.

En algunas ocasiones, típicamente en muestras con contenidos de SiO_2 por debajo de 10 μg , puede ocurrir que sólo se observe una de las dos bandas de absorción debido a la presencia de pendientes en la línea de base causadas por la dispersión de la radiación IR por la muestra. En estos casos en los que se observa una de las dos bandas de absorción, se llevará a cabo una corrección de línea de base con objeto de comprobar si aparecen ambas bandas de absorción.

Los parámetros instrumentales a seleccionar para la obtención de espectros IR de muestras o blancos son:

- Range: 1000 a 370 cm^{-1} .
- Scan number: 1.
- Resolution: 4 cm^{-1} .
- J-Stop image size: 8,94 mm.
- Scan speed: 0,20 cm/s.
- Corrección AVI.

Como consecuencia del empleo de la corrección AVI los espectros de los blancos serán válidos indefinidamente.

3.6 EXPRESIÓN DE RESULTADOS

El resultado se dará siempre como no detectado o presencia de sílice cristalina, indicando entre paréntesis el límite de detección del método (3 µg). El resultado se recoge en el "Informe final de ensayo". La validación del método puede verse en el Apartado 4.

3.7 CRITERIOS DE ACEPTACIÓN Y RECHAZO

La presencia de sílice cristalina en la muestra se decide cuando la absorbancia obtenida es superior a 3 veces la pendiente de la recta de calibrado empleada para la cuantificación de sílice cristalina en pastillas de KBr (ver apartado 3.5.1). Con objeto de asegurar una correcta calibración del equipo antes de comenzar la realización de cada análisis cada vez que se analice un lote de muestras se procederá a medir dos muestras de control de depósito conocido, a nivel de límite de cuantificación de FTIR y nivel medio.

Las muestras de control se prepararán de manera similar a los patrones de calibración empleando una suspensión diferente a la utilizada para la elaboración de la recta de calibrado. El periodo de validez de dichas muestras será de 6 meses, transcurridos los cuales no podrán ser utilizadas para la verificación de rectas de calibrado.

Para las muestras de control se calculará el valor z (Vz) de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$Vz = \frac{(X - X_{ref})}{\sigma_p}$$

donde:

X: es la masa de cuarzo obtenida experimentalmente.

X_{ref}: es el valor de referencia o depósito teórico.

σ_p: es la desviación típica correspondiente al valor de referencia calculada en función de la precisión obtenida en la validación del método INS-IT05.

El Vz debe ser, en valor absoluto, igual o inferior a 2. En caso contrario se verificará empleando otra muestra de control del mismo o similar depósito y si el resultado obtenido tampoco cumpliera los requisitos establecidos, se procederá a la preparación y posterior medición de nuevos estándares de calibración.

4 VALIDACIÓN

4.1 DOCUMENTACIÓN DE REFERENCIA

- "XVIII Curso Implantación de los equipos instrumentales de análisis en el Sistema de Calidad" (G.S.C. Gabinete de Servicios para la calidad, S.A.L.).
- Guía EURACHEM "Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement". First Edition 1995.

- ❑ “Estadística para química analítica”, Segunda edición, J.C.Miller, J.N.Miller, Addison-Wesley Iberoamericana 1993; USA.
- ❑ Norma UNE 82009 “Exactitud (veracidad y precisión) de resultados y métodos de medición” Parte 1 (Septiembre 1998), Parte 2, 3, 4, 5 y 6 (Junio 1999).
- ❑ G-ENAC-09 Rev. 1 Julio 2005 “Guía para la expresión de la incertidumbre en los ensayos cuantitativos”.
- ❑ IT23 “Método de identificación de sílice cristalina respirable en muestras con presencia de carbonatos por IR directamente sobre membrana”.

4.2 VALIDACIÓN

Para la realización de la validación del método cualitativo se llevó a cabo un estudio preparando diez membranas con un depósito de cuarzo y CaCO_3 y diez membranas “blanco” (sólo con depósito de carbonato). El cuarzo empleado fue el NIST 1878a recomendado por la norma UNE 81550 “Atmósferas en el lugar de trabajo. Determinación de la materia particulada (fracción respirable) con contenido en sílice cristalina en aire. Método gravimétrico/espectrofotometría de infrarrojo”, mientras que el carbonato cálcico fue de la casa Prolabo, calidad de reactivo Normapur.

4.2.1 Criterios de aceptación

Los requisitos que debe cumplir el método para considerarlo adecuado son los siguientes:

- ❑ Sensibilidad >95%.
- ❑ Especificidad >95%.
- ❑ Eficiencia >95%.
- ❑ Límite de detección <10 μg .

4.2.2 Preparación del patrón de cuarzo en una matriz de carbonato

Se pesaron cantidades apropiadas de cuarzo NIST 1878a y se transfirieron a un matraz que se enrasó con 2-propanol. Para poner el cuarzo en suspensión se empleó un equipo de ultrasonidos.

Para preparar la disolución de caliza se pesó el CaCO_3 y se puso en suspensión en 2-propanol con ayuda de un equipo de ultrasonidos.

Las suspensiones se sometieron a la acción de los ultrasonidos antes de preparar las membranas por un período de 20 minutos seguidos de 20 minutos en un agitador magnético para asegurar la homogeneidad de las mismas.

A partir de las disoluciones anteriormente citadas se prepararon 10 membranas de PVC de 37 mm y 5 μm , con un depósito teórico de cuarzo de 3 μg y 500 μg de CaCO_3 . A partir de la disolución de carbonato se prepararon 10 membranas con un depósito teórico de 500 μg de CaCO_3 para emplearlas como “blancos”.

4.2.3 Resultados

La identificación de la sílice cristalina directamente sobre membrana se llevó a cabo según lo indicado en el epígrafe 3.5.1.

Una vez obtenidos los resultados el tratamiento estadístico consiste en establecer una tabla de doble entrada:

		MÉTODO A VALIDAR		
		Muestras +	Muestras -	
REFERENCIA	+	a	b	a+b
	-	c	d	c+d
		a+c	b+d	N

A partir de los valores puede calcularse:

- Sensibilidad = $\frac{a}{a+b} \cdot 100$ porcentaje de positivos reales correctamente asignados.
- Especificidad = $\frac{d}{c+d} \cdot 100$ porcentaje de negativos reales correctamente asignados.
- Falsos positivos = $\frac{c}{a+c} \cdot 100$ porcentaje de positivos detectados incorrectamente asignados.
- Falsos negativos = $\frac{b}{b+d} \cdot 100$ porcentaje de negativos detectados incorrectamente asignados.
- Eficiencia (E) = $\frac{a+d}{n} \cdot 100$ Aciertos respecto de casos totales.

Los resultados obtenidos se presentan en la siguiente tabla:

Membrana	$\mu\text{g SiO}_2$	Absorbancia	Máximo Absorbancia (cm^{-1})
1	3	0,0050	800,77
2	3	0,0063	800,77
3	3	0,0056	801,23
4	3	0,0065	801,12
5	3	0,0075	800,00
6	3	0,0055	800,63
7	3	0,0066	800,31
8	3	0,0082	799,76
9	3	0,0076	801,31
10	3	0,0079	800,99
11	0	0	-
12	0	0,0004	802,00
13	0	0,0007	802,00
14	0	0,0006	802,00
15	0	0,0007	802,00
16	0	0,0008	802,00
17	0	0,0016	802,00
18	0	0,0015	802,00
19	0	0,0006	802,00
20	0	0,0002	802,00

La tabla de doble entrada:

	Muestras +	Muestras -
+	10	0
-	0	10

A partir de los valores puede calcularse:

- Sensibilidad = 100%.
- Especificidad = 100%.
- Falsos positivos = 0.
- Falsos negativos = 0.
- Eficiencia = 100%.

A la vista de los resultados, en los que se han analizado 20 muestras con un porcentaje de aciertos del 100%, se puede concluir que el Límite de Detección de este método de análisis cualitativo es de 3 μg , para un intervalo de confianza del 95%.

INS-IT24: MÉTODO DE DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO EN SÍLICE CRISTALINA RESPIRABLE EN MUESTRAS CON PRESENCIA DE CARBONATOS POR IR

1 OBJETO Y ALCANCE

El presente método de trabajo describe el procedimiento a seguir y los equipos necesarios para la determinación, en el aire de los lugares de trabajo, de la masa de sílice cristalina respirable en presencia de algún tipo de carbonato mediante espectrofotometría de infrarrojo.

También es aplicable a la determinación de la concentración de sílice cristalina (fracción respirable) en el aire de los lugares de trabajo.

Se consideran como interferencias todas aquellas sustancias que presenten bandas de absorción en la región correspondiente a la sílice cristalina, cuyos máximos aparecen aproximadamente a 800 cm^{-1} , así como otras sustancias que puedan interferir en la fase de preparación de la muestra. Entre las más habituales se encuentran grafito, sílice amorfa, caolinita y otros silicatos.

El intervalo de análisis para la determinación de cuarzo por espectrofotometría de infrarrojo va desde el Límite de Cuantificación ($10\mu\text{g}$) hasta $500\mu\text{g}$ de sílice cristalina en la muestra.

Este método es de aplicación para aquellas muestras tomadas sobre filtros de PVC de $5\mu\text{m}$ de tamaño de poro.

Este método de análisis es apropiado para la determinación de concentraciones medias de sílice cristalina en la fracción respirable en aire ponderadas en el tiempo, tanto en muestras personales como en lugares fijos. No puede ser utilizado para medir concentraciones instantáneas o fluctuaciones de concentración en períodos cortos de tiempo.

2 DOCUMENTACIÓN DE REFERENCIA

- UNE-EN ISO/IEC 17025: "Requisitos generales relativos a la competencia de laboratorios de ensayo y calibración".
- CGA-ENAC-LEC: "Criterios generales para la acreditación de laboratorios de ensayos y calibración según norma UNE EN-ISO/IEC 17025".
- UNE 81550 "Exposición en el lugar de trabajo. Determinación de sílice cristalina (fracción respirable) en aire. Método de espectrofotometría de infrarrojo".
- UNE-EN 481 "Atmósferas en puestos de trabajo. Definición de las fracciones por el tamaño de las partículas para la medición de aerosoles".
- UNE-EN 1540: "Exposición en el lugar de trabajo. Terminología".
- Reglamento General de Normas Básicas de Seguridad Minera e Instrucciones Técnicas complementarias.

Toda la documentación referenciada lo es en su versión vigente más actual.

3 DESARROLLO

3.1 DEFINICIONES

Valor límite

Cifra de referencia para la concentración de un agente químico en el aire.

NOTA: Los valores límite están en su mayor parte establecidos para periodos de referencia de 8 horas.

Polvo en suspensión en el aire

Materia finamente dividida, en estado sólido, dispersada en el aire

Sílice cristalina respirable

Partículas inhaladas dióxido de silicio cristalizado (presente en la naturaleza en forma de cuarzo, tridimita y cristobalita) que penetran en las vías respiratorias no ciliadas de acuerdo con la norma UNE-EN 481.

Fracción respirable

Fracción en masa de las partículas inhaladas que penetra hasta las vías respiratorias no ciliadas.

NOTA: La fracción respirable está definida en la Norma EN 481.

Muestreador de la fracción respirable

Muestreador de aerosoles que se utiliza para recoger la fracción respirable.

Elemento de retención, sustrato de muestreo, medio de retención o medio de muestreo

Medio en el que se recogen los agentes químicos y/o biológicos en suspensión en el aire para su análisis posterior.

NOTA: Los filtros, las espumas de poliuretano y el conjunto filtro-portafiltro de algunos muestreadores son algunos ejemplos de elementos de retención para partículas en suspensión en el aire.

Sistema de muestreo

Conjunto de componentes cuya misión es separar la fracción del aerosol de interés (inhalable, torácica o respirable) y recogerla en un determinado elemento de retención. La bomba de muestreo, el muestreador y el elemento de retención forman parte del sistema de muestreo.

Zona respiratoria

Espacio alrededor de la nariz y la boca en el que la respiración tiene lugar.

NOTA: Técnicamente la zona de respiración se refiere a un hemisferio (generalmente aceptado de 30 cm de radio) que se extiende frente a la cara de la persona, centrado en el punto medio de la línea que une las orejas. La base de hemisferio es el plano que pasa por esta línea, la parte superior de la cabeza y la laringe. Esta descripción técnica no se aplica cuando se utilizan equipos de protección respiratoria.

Muestra (de aire)

Producto del proceso del muestreo de aire.

NOTA: A menudo se considera que la muestra de aire incluye al elemento de retención además de a los agentes químicos y/o biológicos recogidos. A veces se considera que es una parte de un volumen de aire mayor.

Muestra recogida

Producto del proceso del muestreo de aire que está constituido únicamente por los agentes químicos y/o biológicos.

Incertidumbre (de medida)

Parámetro asociado al resultado de una medición, que caracteriza la dispersión de los valores que podrían ser razonablemente atribuidos al mensurando.

Incertidumbre analítica

Incertidumbre combinada del método analítico.

NOTA: La incertidumbre analítica engloba las contribuciones de la recuperación analítica y de la variabilidad analítica.

Incertidumbre de muestreo

Incertidumbre combinada del procedimiento de muestreo.

NOTA: La incertidumbre de muestreo engloba, cuando proceda, las contribuciones del volumen de aire muestreado, de la eficacia de muestreo, del almacenamiento de la muestra y, si es aplicable, del transporte.

Límite de cuantificación, LOQ (limit of quantification)

Cantidad menor de un analito que se puede cuantificar con un nivel de confianza dado.

NOTA 1: El límite de cuantificación se puede calcular como diez veces la desviación típica de las medidas de un blanco.

NOTA 2: El valor del LOQ se puede utilizar como un valor umbral para garantizar la exactitud de la medida de una sustancia.

NOTA 3: Con el LOQ determinado en un experimento de evaluación basado en 10 grados de libertad, la estimación de una cantidad al nivel del valor umbral del LOQ tiene una probabilidad del 95% de situarse dentro de un intervalo definido como $\pm 31\%$ alrededor del valor verdadero, con un nivel de confianza del 95% para la evaluación.

Límite de detección, LOD (limit of detection)

Cantidad menor de un analito que se puede detectar con un nivel de confianza dado.

NOTA 1: El límite de detección se puede calcular como tres veces la desviación típica de las medidas de un blanco. Esto representa una probabilidad del 50% de que el analito no se detecte estando presente a la concentración del límite de detección.

NOTA 2: El LOD se puede utilizar como un valor umbral para afirmar la presencia de una sustancia con un nivel de confianza dado.

Precisión

Proximidad de acuerdo entre resultados de ensayo/medida independientes obtenidos bajo condiciones estipuladas.

Procedimiento de medida o método de medida

Conjunto de operaciones descritas específicamente para el muestreo y el análisis de los agentes químicos o biológicos en el aire.

NOTA: Un procedimiento de medida normalmente incluye la preparación del muestreo, el muestreo, el transporte y el almacenamiento, la preparación de las muestras para el análisis y el análisis.

Sesgo

Diferencia entre la esperanza matemática de un resultado de ensayo o de medida y el valor verdadero.

NOTA 1: El sesgo es el error no aleatorio total por oposición al error aleatorio. Puede haber uno o más componentes de error no aleatorio que contribuyan al sesgo. Una mayor diferencia sistemática respecto al valor verdadero se refleja como un valor del sesgo mayor.

NOTA 2: En la práctica, el valor de referencia aceptado sustituye al valor verdadero. El valor de referencia aceptado (véase la definición en la Norma ISO 3534-2) puede ser, por ejemplo, el valor certificado de un material de referencia, la concentración de una atmósfera de ensayo patrón o el valor diana de una comparación interlaboratorios.

3.2 FUNDAMENTO DEL MÉTODO

Se realiza un tratamiento ácido con HCl, se calcina la muestra y se determina el contenido en sílice cristalina del polvo recogido, en un espectrofotómetro de infrarrojo.

Se calcula la concentración de sílice cristalina respirable a partir de la cantidad de sílice cristalina determinada y del volumen de aire muestreado.

3.3 REACTIVOS

Durante el análisis, se usarán sólo reactivos de grado analítico.

- Patrón de cuarzo certificado (NIST SRM 1878a): $93,7 \pm 0,21\%$.
- 2-propanol o etanol.
- HCl.
- KBr especial para espectrofotometría.

3.4 APARATOS Y MATERIAL

- Horno para calcinación.
 - Temperatura máxima 1150 °C.
 - Sensibilidad 1 °C.
- Estufa para desecación.
 - Temperatura máxima 310 °C.
 - Sensibilidad: 1 °C.
- Espectrofotómetro de infrarrojo con transformada de Fourier.
 - Detector: MIR-TGS 15600-370 cm^{-1} .

- J-stop: 1,58-8,94 mm.
 - Resolución mínima de 4 cm⁻¹.
 - Celda de metano para la realización de corrección AVI.
- Cabina de aspiración de gases equipada con filtros adecuados para el trabajo con HCl.
 - Prensa de hasta 10 kg/cm² y accesorios para la preparación de pastillas estándares de 13 mm.
 - Filtros de PVC de 47 mm de diámetro y 5 µm de tamaño de poro para el tratamiento ácido.
 - Material diverso de laboratorio: crisoles de porcelana con tapa, torres de filtración, cápsulas petri y mortero de ágata.
 - Termohigrómetro para la verificación de las condiciones ambientales del ensayo.
 - Temperatura: 0 a 35 °C.
 - Humedad: 10 a 80%.

3.5 PROCEDIMIENTO DE ANÁLISIS

3.5.1 Limpieza del material

Todo el material empleado para la preparación de la pastilla de bromuro potásico debe de limpiarse convenientemente con etanol o 2-propanol antes de su utilización.

3.5.2 Preparación de los patrones de calibración

Se prepara una dilución de cuarzo patrón en KBr en torno al 0,5 %. Para ello se pesan aproximadamente 50 mg de cuarzo y 10 g de KBr en una balanza de sensibilidad 0,01 mg. Se homogeneiza el conjunto en un mortero de ágata y se mantiene en estufa a una temperatura de 130 ± 10 °C durante un mínimo de 4 horas, hasta la preparación de los patrones. El período de validez de esta dilución de cuarzo en KBr es de dos años, transcurridos los cuales no podrá ser empleada para la preparación de estándares.

A partir de esta dilución se preparan un mínimo de 10 patrones entre el límite de cuantificación (10 µg) y 500 µg. Para ello, se pesa en una balanza analítica de sensibilidad 0,01 mg las correspondientes cantidades, y se añade KBr hasta 360 ± 10 mg. El contenido en cuarzo de cada uno viene dado por la fórmula:

$$\mu\text{g}_{\text{Cuarzo}} = 1000 \times \text{Peso}_{\text{Dilución de Cuarzo en KBr}} (\text{mg}) \times \text{Peso}_{\text{Cuarzo NIST}} (\text{mg}) / \text{Peso}_{[\text{cuarzo} + \text{KBr}]} (\text{mg})$$

El conjunto se homogeneiza y se prepara una pastilla de KBr empleando una prensa hidráulica y los dispositivos adecuados para obtener pastillas de 13 mm. Se aplica a la muestra una presión entre 8 y 10 toneladas durante al menos un minuto

Durante la preparación de las pastillas de KBr la temperatura deberá mantenerse entre 17 y 27 °C, y la humedad por debajo del 60%. En caso de no encontrarse dentro de los intervalos citados, no se llevará a cabo la preparación de muestras. Los máximos y mínimos de temperatura y humedad ocurridos durante la preparación de las pastillas deberán ser registrados

3.5.3 Preparación de la recta de calibrado

Previo a la realización de cualquier medida en los espectrofotómetros FTIR se procederá a llevar a cabo una calibración AVI empleando una celda de metano incluida como filtro interno del propio FTIR.

Se colocan en la ventana del espectrofotómetro las pastillas de los patrones preparados en 3.5.2 y se registra el espectro midiendo la altura del máximo de absorbancia existente en el intervalo 802-794 cm^{-1} de cada muestra, con respecto a una línea de base tomada como la recta tangente entre los dos mínimos del espectro IR existentes a ambos lados del doblete del cuarzo, aproximadamente entre 830 y 675 cm^{-1} .

Los parámetros instrumentales a seleccionar en el software del espectrofotómetro FTIR son:

- Scan number: 1 (patrones); 10 (background).
- Range: 4000 a 370 cm^{-1} .
- Resolution: 4 cm^{-1} .
- J-Stop image size: 8,94 mm.
- Scan speed: 0,20 cm/s.
- Corrección AVI.

La recta de calibrado se construirá empleando un ajuste por mínimos cuadrados forzando a la recta a pasar por el origen.

3.5.4 Criterios de aceptación y rechazo en la preparación de la recta de calibrado

- La precisión de la pendiente de la recta de calibrado (C_m) debe ser superior al 98%

$$C_m = (1 - S_m/m) \times 100$$

donde:

S_m : desviación estándar de la pendiente

m : pendiente

- El coeficiente de correlación (R) debe ser superior a 0,998.

$$R = \frac{\sum(X_i - X_m)(Y_i - Y_m)}{\sqrt{\sum(X_i - X_m)^2(Y_i - Y_m)^2}}$$

donde:

X_i : Concentraciones de los patrones.

Y_i : Absorbancias de los patrones.

X_m : Media de los valores de patrones.

Y_m : Media de las absorbancias.

En caso de no cumplirse alguna de las condiciones anteriores se procederá a preparar nuevos estándares de calibración. Si persiste el problema, se procederá a preparar una nueva suspensión de cuarzo en KBr.

- Los residuales (diferencia entre el valor de respuesta obtenido y el valor real) de los patrones de calibración deben ser inferiores al 15% del contenido en microgramos del patrón. Se desecharán aquellos patrones de calibración que no cumplan esta condición.

3.5.5 Preparación de la muestra

3.5.5.1. Tratamiento ácido

La presencia de carbonatos en la muestra interfiere, al actuar como fundentes, en la determinación de sílice cristalina, por reaccionar con ésta durante la calcinación, formando especies silicato (CaSiO_4 , MgSiO_4). En estos casos es preciso eliminar esta interferencia llevando a cabo sobre el filtro utilizado un tratamiento ácido con HCl diluido y 2-propanol o etanol, de acuerdo con el siguiente procedimiento:

- Se coloca una membrana de PVC de 47 mm en la torre de filtración.
- Se coloca la membrana con la muestra encima, dejando la cara tomada hacia arriba.
- Se añaden 10 ml de HCl 9% y 10 ml de 2-propanol o etanol.
- Se deja actuar el ácido 10 minutos.
- Una vez pasado ese tiempo se aplica vacío para retirar la mezcla de ácido y alcohol y se hacen varios lavados de la membrana con agua destilada.
- Se introducen ambas membranas en un crisol para su calcinación.

3.5.5.2. Calcinación y preparación de pastilla

Se calcinan a una temperatura de $770 \pm 40^\circ\text{C}$, durante al menos 60 minutos. La temperatura de 770°C en la mufla se obtendrá teniendo en cuenta el certificado de calibración del equipo, aplicando la corrección media obtenida en la calibración externa, según la ecuación: **Indicación de temperatura (consigna del regulador) + Corrección media = 770°C .**

Tras la calcinación, se mezcla el residuo con aproximadamente 360 mg de KBr, el cual se ha mantenido en la estufa a una temperatura de $130 \pm 10^\circ\text{C}$ durante un mínimo de 4 horas.

Se homogeneiza el conjunto, y se prepara la pastilla empleando la prensa hidráulica (aplicando una presión de entre 8 y 10 toneladas durante al menos 1 minuto) y los dispositivos adecuados para obtener una pastilla de 13 mm.

Durante la preparación de las pastillas de KBr la temperatura deberá mantenerse entre 17 y 27°C , y la humedad por debajo del 60%. En caso de no encontrarse dentro de los intervalos citados, no se llevará a cabo la preparación de muestras. Los máximos y mínimos de temperatura y humedad ocurridos durante la preparación de las pastillas deberán ser registrados.

3.5.6 Determinación del contenido en sílice cristalina de las muestras

Previo a la realización de cualquier medida en los espectrofotómetros FTIR se procederá a llevar a cabo una calibración AVI empleando una celda de metano incluida como filtro interno del propio FTIR.

Se colocan en la ventana del espectrofotómetro las pastillas de las muestras preparadas en 3.5.5 y se registra el espectro midiendo la altura del máximo de absorbancia existente en el intervalo $802\text{-}794\text{ cm}^{-1}$ de cada muestra, con respecto a una línea de base tomada como la recta tangente entre los dos mínimos del espectro IR existentes a ambos lados del doblete del cuarzo, aproximadamente entre 830 y 675 cm^{-1} , de la misma forma que la indicada en los patrones.

Los parámetros instrumentales a seleccionar en el software del espectrofotómetro FTIR son:

- Scan number: 1 (muestra); 10 (background).
- Range: 4000 a 370 cm^{-1} .
- Resolution: 4 cm^{-1} .
- J-Stop image size: 8,94 mm.
- Scan speed: 0,20 cm/s.
- Corrección AVI.

Se determina el contenido de sílice cristalina mediante interpolación de la altura del máximo de absorbancia en la curva de calibración.

En aquellos casos en los que se observe una saturación de la señal del detector, fundamentalmente debido a la cantidad de materia particulada retenida sobre el soporte de muestreo, se podrá llevar a cabo una dilución de la misma, tomando una alícuota de la pastilla originalmente preparada.

3.6 CÁLCULOS: DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE SÍLICE CRISTALINA EN AIRE

La concentración de sílice cristalina en el volumen de aire muestreado, mg/m^3 (SiO_2), se obtiene dividiendo el peso de sílice cristalina, P_q (mg), extraído de la medida en el infrarrojo, entre el volumen de aire muestreado V (m^3).

$$\text{mg}/\text{m}^3(\text{SiO}_2) = \frac{P_q}{V}$$

El resultado se expresará como concentración de sílice cristalina en mg/m^3 y se emplearán tres cifras decimales.

3.7 EXPRESIÓN DE RESULTADOS

El resultado se dará siempre como un número acompañado de una incertidumbre. Esta incertidumbre es la incertidumbre asociada al método, que se encuentra recogida en el Apartado 4.

El contenido de sílice cristalina, en microgramos, y su correspondiente incertidumbre, aparece recogido en el “Informe final de ensayo”, y se expresa sin ninguna cifra decimal.

En el caso de que el peso de sílice cristalina P_q sea superior o inferior al rango de análisis (entre 10 y 500 μg), el resultado se expresará sin incertidumbre alguna y se indicará en el informe de ensayo que dicho resultado se encuentra fuera del intervalo de análisis.

La concentración de sílice cristalina en el aire muestreado, en mg/m^3 , aparece recogido en el “Informe final de ensayo” y se expresa con tres cifras decimales. En caso de que el peso de sílice cristalina P_q sea superior o inferior al rango de análisis (entre 10 y 500 μg), el resultado se expresará sin incertidumbre alguna y se indicará en el informe de ensayo que dicho resultado se encuentra fuera del intervalo de análisis.

3.8 CRITERIOS DE ACEPTACIÓN Y RECHAZO

Cada vez que se analice un lote de muestras se procederá a medir dos muestras de control de depósito conocido, a nivel de límite de cuantificación y nivel medio. Dado que la recta de calibrado se emplea también para la determinación de sílice en muestras sin presencia de carbonatos (ensayo INS-IT05), se podrán emplear para verificación muestras de control a nivel del límite de cuantificación del citado procedimiento (3 µg). Las muestras de control se prepararán de manera similar a los patrones de calibración empleando una suspensión diferente a la utilizada para la elaboración de la recta de calibrado. El periodo de validez de dichas muestras será de 6 meses, transcurridos los cuales no podrán ser utilizadas para la verificación de rectas de calibrado.

Para las muestras de control se calculará el valor z (Vz) de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$Vz = \frac{(X - X_{ref})}{\sigma_p}$$

donde:

X: es la masa de cuarzo obtenida experimentalmente.

X_{ref}: es el valor de referencia o depósito teórico.

σ_p: es la desviación típica correspondiente al valor de referencia calculada en función de la precisión obtenida en la validación del método.

El Vz debe ser, en valor absoluto, igual o inferior a 2. En caso contrario se verificará empleando otra muestra de control del mismo o similar depósito y si el resultado obtenido tampoco cumpliera los requisitos establecidos, se procederá a la preparación y posterior medición de nuevos estándares de calibración.

4 VALIDACIÓN

4.1 DOCUMENTACIÓN DE REFERENCIA

- “XVIII Curso Implantación de los equipos instrumentales de análisis en el Sistema de Calidad” (G.S.C. Gabinete de Servicios para la calidad, S.A.L.).
- Guía EURACHEM “Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement”. First Edition 1995.
- “Estadística para química analítica”, Segunda edición, J.C.Miller, J.N.Miller, Addison-Wesley Iberoamericana 1993; USA.
- Norma UNE 82009 “Exactitud (veracidad y precisión) de resultados y métodos de medición” Parte 1 (Septiembre 1998), Parte 2, 3, 4, 5 y 6 (Junio 1999).
- G-ENAC-09 Rev. 1 Julio 2005 “Guía para la expresión de la incertidumbre en los ensayos cuantitativos”.
- IT24 “Método de determinación de sílice cristalina respirable en muestras con presencia de carbonatos por IR”.

4.2 VALIDACIÓN

Para la realización de la validación del método cuantitativo, se llevó a cabo un estudio preparando sesenta membranas sometiénolas al proceso completo (tratamiento ácido, calcinación, preparación de las pastillas y medición) durante cuatro días distintos y diferentes operadores con el fin de estudiar no sólo la repetitividad sino también la reproducibilidad del método. Para ello se prepararon membranas con cuarzo procedente del patrón NIST SRM 1878a recomendado por la norma UNE 81550 "Atmósferas en el lugar de trabajo. Determinación de la materia particulada (fracción respirable) con contenido en sílice cristalina en aire. Método gravimétrico/espectrofotometría de infrarrojo".

4.2.1 Criterios de aceptación

Los requisitos que debe cumplir el método para considerarlo adecuado son los siguientes:

- Exactitud (expresada como error relativo) mejor del 20% hasta un nivel de depósito teórico de 20 µg y del 10% en el resto del intervalo.
- Precisión expresada como desviación estándar relativa (%RSD) debe ser igual o inferior al 35% hasta un nivel de depósito teórico de 20 µg y al 20% en el resto del intervalo.
- Incertidumbre expandida inferior al 35% del resultado del análisis en el intervalo 51-500 µg, del 50% en el intervalo 10-50 µg y del 70% para resultados inferiores a 10 µg.
- Límite de cuantificación no superior a 20 microgramos.
- Rango lineal hasta 500 microgramos.

4.2.2 Preparación del patrón de cuarzo en una matriz de carbonato

Se pesaron cantidades apropiadas de cuarzo NIST 1878a que se transfirieron a matraces donde se suspendieron en 2-propanol con ayuda de un equipo de ultrasonidos.

Para preparar la disolución de caliza, se pesó una cantidad adecuada de CaCO_3 y se llevó a un matraz donde se suspendió en 2-propanol con ayuda de un equipo de ultrasonidos.

Las suspensiones se someten a la acción de los ultrasonidos todos los días antes de preparar las membranas por un período de 20 minutos seguidos de 20 minutos en un agitador magnético para asegurar la homogeneidad de la misma.

Las suspensiones se almacenaron en un congelador a temperaturas comprendidas entre -30 y -10°C .

4.2.3 Preparación de las membranas.

Diariamente, a partir del patrón de cuarzo en 2-propanol se preparan cinco membranas con contenido en cuarzo de 10 microgramos, cinco membranas con un contenido de cuarzo de 224 microgramos y otras 5 membranas con un depósito teórico de 449 microgramos. Para los tres niveles de concentración de cuarzo ensayados las membranas contenían una concentración (%) de cuarzo y CaCO_3 idéntica. Para ello se sigue la siguiente secuencia de operaciones:

- Se monta la torre de filtración triple con una conexión a la línea de vacío.
- Se coloca una membrana PVC donde se retendrá la SiO_2 y se asegura una correcta fijación de las distintas partes de la torre de filtración para evitar fugas del material.

- Se humedece la membrana con 2-propanol.
- Se conecta el vacío y se ajusta para que la aspiración no sea demasiado fuerte.
- Se añade la alícuota de la disolución patrón de cuarzo en 2-propanol.
- Se lava la torre de filtración repetidas veces con 2-propanol con el fin de evitar que el patrón se quede retenido en las paredes de la misma.
- Se añade la alícuota de la disolución CaCO_3 en 2-propanol.
- Se lava la torre de filtración repetidas veces con 2-propanol con el fin de evitar que el patrón se quede retenido en las paredes de la misma.
- Una vez aspirada toda la disolución se mantiene el vacío durante unos minutos hasta asegurar una correcta sequedad de la membrana.
- Se extrae la membrana de PVC cuidadosamente con unas pinzas adecuadas.
- Se lava el material y se repite el proceso para la preparación de las restantes membranas.

En total se prepararon 60 membranas durante cuatro días, 15 por día.

4.2.4 Tratamiento ácido de las membranas previo a la calcinación

Con objeto de evitar la reacción entre la sílice libre y el carbonato que se produciría durante la calcinación de los filtros de membrana en horno de mufla, con anterioridad a la misma se lleva a cabo un tratamiento ácido de los filtros. La secuencia de operaciones es la siguiente:

- Se coloca una membrana de 47 mm en la torre de filtración.
- Se coloca la membrana con la muestra encima, dejando la cara tomada hacia arriba.
- Se añaden 10 ml de HCl 9% y 10 ml de 2-propanol.
- Se deja actuar el ácido 10 minutos.
- Una vez pasado el tiempo, se aplica vacío para retirar la mezcla de ácido y 2-propanol y se hacen varios lavados de la membrana con agua destilada.
- Se introducen ambas membranas en un crisol.

4.2.5 Calcinación de las membranas y preparación de las pastillas

Una vez preparadas las membranas y tratadas con HCl, se calcinan en crisoles de porcelana en mufla a 800°C . La calcinación se lleva a cabo durante una hora. Tras dejar enfriar los crisoles, se añaden 360 mg de KBr y se homogeneiza adecuadamente. Finalmente se preparan las pastillas para el análisis por FTIR con el empleo de una prensa hidráulica trabajando a 9 toneladas durante al menos un minuto.

4.2.6 Resultados

Las medidas se realizan en las mismas condiciones instrumentales que las empleadas en los análisis de rutina según el método IT24.

4.2.6.1. Análisis de varianza

Se llevó a cabo un análisis ANOVA de un factor para comprobar que los resultados obtenidos durante los días para los dos operadores en cada nivel de concentración ensayado no eran significativamente diferentes.

□ NIVEL DE CONCENTRACIÓN: 10 µg

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Operador 1	10	100	10,0	0,6667
Operador 2	10	103	10,3	0,2333

Origen de variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0,45	1	0,4500	1,000	0,3306	4,4139
Dentro de grupos	8,10	18	1,1833			
Total	8,55	19				

□ NIVEL DE CONCENTRACIÓN: 224 µg

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Operador 1	10	2101	210,1	23,8778
Operador 2	10	2136	213,6	46,2667

Origen de variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	61,25	1	61,25	1,7464	0,2029	4,4139
Dentro de grupos	631,30	18	35,0722			
Total	692,55	19				

□ NIVEL DE CONCENTRACIÓN: 449 µg

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Operador 1	10	4172	417,2	71,9556
Operador 2	10	4223	422,3	35,3444

Origen de variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	130,05	1	130,05	0,5902	2,4240	4,4139
Dentro de grupos	965,70	18	53,65			
Total	1095,75	19				

Según lo recogido en las tablas anteriores se deduce que no existen diferencias significativas entre los resultados obtenidos por los dos operadores en cada nivel de concentración ensayado.

4.2.6.2. Exactitud

El primer paso, es calcular el Índice de compatibilidad para demostrar que no hay diferencias significativas entre el valor del patrón y el obtenido con nuestro método:

$$IC = \frac{|X_{ref} - X|}{\sqrt{(u_{VM})^2 + \left(\frac{S}{\sqrt{n}}\right)^2}} \leq 2$$

donde:

X_{ref} es el valor de referencia.

X es el valor medio resultante de la validación.

u_{VM} es la incertidumbre combinada del valor de referencia.

S es la desviación típica de los valores medios obtenidos cada día por cada uno de los operadores.

n es el número de series realizadas en cada nivel de concentración.

La incertidumbre combinada del valor de referencia viene dada por la siguiente expresión:

$$u_{VM} = X_{ref} \times \sqrt{\left(\frac{U_{MR}/k}{X_{MR}}\right)^2 + \left(\frac{u_B}{P_{MR}}\right)^2 + \left(\frac{u_M}{V_M}\right)^2 + \left(\frac{u_p}{V_p}\right)^2}$$

donde:

$U_{MR} = 0,105\%$ (Incertidumbre combinada del patrón NIST SRM 1878a).

k es el factor de cobertura indicado en el certificado del patrón NIST.

X_{MR} es la pureza certificada del material de referencia en %.

u_B es la incertidumbre combinada de la balanza en mg.

P_{MR} es el peso en mg de patrón NIST SRM 1878a tomado para preparar la suspensión con la que se dopan las membranas.

u_M es la Incertidumbre combinada (en ml) del matraz en el que se prepara la suspensión de cuarzo.

V_M es el volumen en ml del matraz en el que se prepara la suspensión de cuarzo.

u_p es la incertidumbre combinada (en ml) de la pipeta con la que se coge la alícuota de la suspensión con la que se dopa el filtro.

V_p es el volumen en ml de la pipeta empleada para dopar el filtro.

En la siguiente tabla se muestran los índices de compatibilidad obtenidos para cada uno de los niveles de concentración ensayados:

Nivel de concentración (µg)	X_{ref}	X	u_{VM}	S	IC
10	10	10	0,03	0,2	1,7
224	224	212	0,29	2,2	12,4
449	449	420	0,53	3,1	20,7

Para los niveles de concentración de 224 y 449 µg se obtiene un $IC > 2$ por lo que existen diferencias significativas que harán necesaria la introducción de un factor de corrección en el posterior cálculo de incertidumbre. Esta diferencia significativa es lógicamente esperable dado que la mayor manipulación de la muestra que el tratamiento ácido implica conduce a la obtención de recuperaciones más bajas que en el caso de no llevar a cabo dicho tratamiento.

La exactitud se define como el grado de concordancia existente entre el resultado del ensayo y un valor aceptado como referencia. La exactitud se calcula de acuerdo al error relativo:

$$E = \frac{|X_{ref} - X|}{X_{ref}} \times 100$$

Las exactitudes calculadas para cada uno de los tres niveles de concentración ensayados son las siguientes:

Nivel de concentración (µg)	X _{ref}	X	E (%)
10	10	10	0,0
224	224	212	5,4
449	449	420	6,5

4.2.6.3. Repetibilidad

La repetibilidad se define como la precisión obtenida bajo condiciones en las que los resultados de una medición se obtienen con el mismo método, sobre idénticas muestras, en el mismo laboratorio, por el mismo operador, y utilizando los mismos equipos de medición, durante un corto intervalo de tiempo.

La repetibilidad se expresa como desviación estándar relativa:

$$\%RSD_r = \frac{S_r}{\bar{X}} \cdot 100$$

donde S_r es la desviación estándar de los resultados en condiciones de repetibilidad y \bar{X} es el valor medio obtenido en cada nivel ensayado.

Las repetibilidades obtenidas se recogen en la siguiente tabla:

Nivel de concentración (µg)	S _r	REPETIBILIDAD
10	1,0	10,0
224	5,7	2,5
449	7,1	1,6

4.2.6.4. Reproducibilidad

La reproducibilidad se define como la precisión obtenida bajo condiciones en las que los resultados de una medición se obtienen con el mismo método, sobre idénticas muestras, en laboratorios diferentes, con operadores distintos, y utilizando equipos diferentes. En esta validación se ha variado el operador y los días.

La reproducibilidad se expresa como desviación estándar relativa:

$$\%RSD_R = \frac{S_R}{\bar{X}} \cdot 100$$

donde S_R es la desviación estándar de los resultados en condiciones de repetibilidad y \bar{X} es el valor medio obtenido en cada nivel ensayado.

Las reproducibilidades obtenidas se recogen en la siguiente tabla:

Nivel de concentración (µg)	S _R	REPRODUCIBILIDAD
-----------------------------	----------------	------------------

10	0,2	2,0
224	2,2	1,0
449	3,1	0,7

4.2.7 Cálculo de incertidumbre

Para el cálculo de incertidumbre se adopta el modelo de caja negra considerado como el más adecuado para los ensayos de tipo químico como el que nos ocupa ("XVIII Curso Implantación de los equipos instrumentales de análisis en el Sistema de Calidad". Introducción al Cálculo de incertidumbre, Jesús Laso Sánchez, Página 17 de 33, Julio de 2003).

Para el cálculo de la incertidumbre en la determinación del peso de cuarzo:

$$U_{P_{SiO_2}} = K \cdot U_{combinada} \quad (\text{Tomaremos } K=2)$$

$$U_{P_{SiO_2}} = 2 \cdot \sqrt{u_{VM}^2 + \left(\frac{S_R}{\sqrt{n}}\right)^2 + \left(\frac{S_r}{\sqrt{n_M}}\right)^2 + \left(\frac{C}{\sqrt{3}}\right)^2}$$

donde:

u_{VM} es la incertidumbre combinada del valor de referencia.

$\left(\frac{S_R}{\sqrt{n}}\right)$ es la incertidumbre debida a la determinación del valor medio, donde S_R es la desviación estándar obtenida en condiciones de reproducibilidad y n el número de réplicas en dichas condiciones.

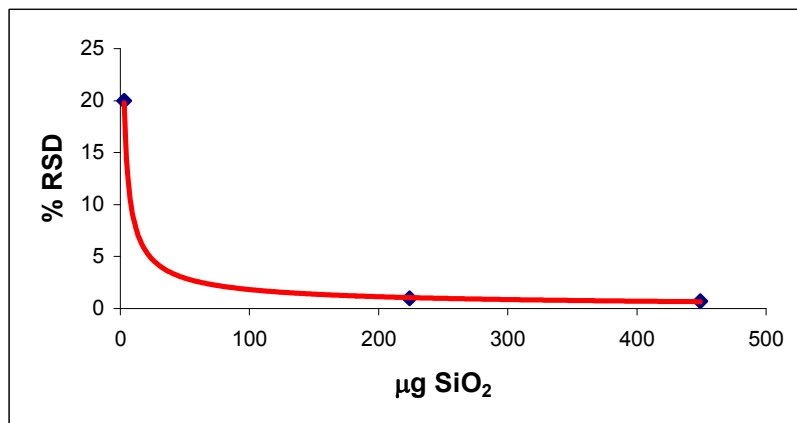
$\left(\frac{S_r}{\sqrt{n_M}}\right)$ es la incertidumbre debida a la realización de la medida cada vez. Como se trata de un ensayo destructivo n_M será siempre igual a 1 y S_r es el promedio de las desviaciones estándar obtenidas en condiciones de repetibilidad.

$\left(\frac{C}{\sqrt{3}}\right)$ es un factor debido a la corrección, donde $C = X_{ref} - X$.

Para cada uno de los tres niveles de concentración ensayados las incertidumbres obtenidas han sido las siguientes:

Nivel de concentración (μg)	u_{VM}	S_R	S_r	$U_{P_{SiO_2}}$
10	0,03	0,2	0,6	2
224	0,29	2,2	5,7	22
449	0,53	3,1	7,1	40

Si se representa la precisión, expresada como desviación estándar relativa, $\%RSD = 100 \times \frac{S_R}{X_{ref}}$, se observa que no es constante, sino que depende del nivel de concentración de sílice cristalina.



Se escogió como incertidumbre expandida (para un factor de cobertura de $k = 2$) de la determinación de sílice cristalina mediante espectroscopía de infrarrojo, una incertidumbre relativa dada por la curva:

$$U_{P_{SiO_2}} = 0,3282 \cdot x^{0,7825}$$

donde $U_{P_{SiO_2}}$ es la incertidumbre relativa y x es la masa de sílice cristalina determinada.

Dicha curva es la que mejor se adapta a las incertidumbres obtenidas ($r = 0,9998$) para los distintos niveles de concentración ensayados.

4.2.8 Características analíticas de la determinación de sílice cristalina por IR con transformada de Fourier en presencia de carbonatos

Dado que la determinación de sílice en presencia de carbonatos requiere un tratamiento ácido de los filtros con anterioridad a su calcinación para el cálculo del límite de detección y cuantificación se emplearon 10 membranas en blanco a las que se sometió al proceso completo: tratamiento ácido, calcinación y preparación de pastillas.

- Límite de detección (LD): se calcula como aquella concentración de cuarzo (μg) que proporciona una señal (y): $y = y_{blanco} + 3\sigma_{blanco}$

donde:

y_{blanco} es la señal del blanco, pudiendo tomar como tal la media de 10 medidas de un blanco

σ_{blanco} es la desviación típica del blanco. Se puede tomar como tal la desviación típica de 10 medidas de un blanco

Para el cálculo del límite de detección se calcinaron 10 filtros en blanco y se prepararon las correspondientes pastillas de KBr. La media de las señales de los 10 blancos fue $y_{blanco} = 0,0002$, con una desviación estándar $\sigma_{blanco} = 0,0001$

Así pues, $LD = 1 \mu g$.

4.2.9 Cálculo del límite de cuantificación.

El límite de cuantificación teórico se calcula como aquella concentración de cuarzo (μg) que proporciona una señal (y): $y = y_{\text{blanco}} + 10\sigma_{\text{Blanco}}$

donde:

y_{blanco} es la señal del blanco, pudiendo tomar como tal la media de 10 medidas de un blanco

σ_{blanco} es la desviación típica del blanco. Se puede tomar como tal la desviación típica de 10 medidas de un blanco

De acuerdo con los datos obtenidos: $LC = 3\mu\text{g}$

No obstante si se escogiese como límite de cuantificación $3\mu\text{g}$, a este nivel de concentración tendríamos una incertidumbre relativa superior al 30%, motivo por el cuál se decidió escoger como límite de cuantificación $10\mu\text{g}$. La confirmación experimental de este límite se llevó a cabo utilizando este nivel de concentración como uno de los tres niveles ensayados para el cálculo de exactitud, repetibilidad, reproducibilidad e incertidumbre.