

Incertidumbre de Medida en la Determinación de la Pureza de Hidrocarburos Policíclicos Aromáticos (HPAS) por Cromatografía a Gas con Detector por Ionización de Llama

Evelyn de F. Guimarães, ^{a,b} Janaína M. R. Caixeiro, ^a Marcus H. C. de la Cruz, ^a André V. Sartori, ^a Aline A. B. da Silva, ^a Cleber Nogueira Borges, ^a José Daniel Figueroa Villar, ^b Valnei Smarçaro da Cunha ^a

^a Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial
Av. Nossa Senhora das Graças, 50 Xerém, 25250-020, Rio de Janeiro, Brasil.
efguimaraes@inmetro.gov.br

^b Instituto Militar de Engenharia
Praça General Tiburcio 80, Praia Vermelha, 22290-270, Rio de Janeiro, Brasil.

RESUMEN

La determinación de la pureza de sustancias orgánicas es imprescindible para la producción y certificación de materiales de referencia con confiabilidad y rastreo. Existen varios métodos descritos en la literatura para determinar la pureza de sustancias orgánicas. En este trabajo, fueron implementadas metodologías analíticas para determinar la pureza de cinco HPAs (benzo[a]pireno, fenantreno, fluoranteno, benzo[ghi]perileno y benzo[a]antraceno), por cromatografía de gases con detector por ionización de llama (GC/DIF). La incertidumbre fue determinada con base en ISO GUM. El porcentual de pureza fue de 98,7 % a 99,6 % e incertidumbre de 0,07 % a 0,26 %, en un nivel de confianza del 95 %.

1. INTRODUCCIÓN

Los HPAs se encuentran en el agua, en el suelo y en los alimentos, procedentes, principalmente, de la combustión incompleta de la materia orgánica [1, 2]. Debido al potencial carcinogénico y mutágeno presentado por algunos HPAs, estos son considerados por la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (US EPA), la Organización Mundial de la Salud y la Comunidad Económica Europea (EEC) como contaminantes prioritarios. Por lo tanto se consideran de gran interés para la salud pública por los organismos reguladores de varios países [3].

La realización de mediciones confiables de estos contaminantes es esencial para asegurar la confiabilidad de la metrología y dar trazabilidad a las mediciones químicas. Esta trazabilidad se consigue mediante el uso de materiales de referencia certificados y por la determinación de la pureza de los padrones comerciales, pues ambos son usados en la calibración de los instrumentos de análisis.

Varios son los métodos descritos en la literatura para determinar la pureza de las sustancias orgánicas, que se destacan por el amplio uso de la cromatografía líquida y la cromatografía de gases con diferentes detectores [4, 5].

En este trabajo, se aplicaron metodologías analíticas para determinar la pureza de cinco HPAs, por cromatografía de gases con detector de ionización de llama (GC-DIF). Esta técnica tiene fundamento en la determinación directa de la fracción de masa, teniendo en cuenta factores como la capacidad de respuesta de los analitos y las impurezas [6].

La incertidumbre de estos experimentos se determinó sobre la base de la ISO GUM [7], adonde los valores se expresan en términos de la incertidumbre expandida (U) con un nivel de confianza del 95 %. Los resultados fueron utilizados para la cuantificación de los HPAs en la comparación clave del CCQM K50/P69 (suelo urbano y el polvo).

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1. Instrumental

Se utilizó un cromatógrafo de gases con detector de ionización de llama (CG-DIF) (CP-3800, Varian). La temperatura del detector se mantuvo en 280 °C y del inyector en 300 °C, usando helio para el flujo de 1mL/min. Programa de temperatura del equipo: 60 °C por 1 min; 40 °C hasta 100 °C; 6 °C/min hasta 300 °C y se mantuvo a esta temperatura durante 15 min.

Dos columnas cromatográfica de diferente polaridad fueron usadas: DB-1m (100 %

dimetilpolisiloxano) y VF-17ms (50 % fenil, 50 % dimetilpolisiloxano).

2.2. Padrones

Hemos utilizado los padrones comerciales: fenantreno (99,5 %), fluoranteno (99 %), benzo[a]antraceno (99 %) y el benzo[GHI]perylene (98 %), todos ellos fabricados por la Aldrich, y benzo[a]pireno (acima de 90 %), fabricado por AccuStandard.

2.3. Preparación y Análisis de Disoluciones

En la preparación de disoluciones de análisis, los patrones se pesaron por separado y fueron

disueltos con tolueno, resultando en disoluciones con concentraciones finales cerca de 0,06 mg/g. Las disoluciones fueron analizadas por GC-DIF en condiciones previamente optimizadas, y cada compuesto se inyectó siete veces.

3. RESULTADOS

Los resultados de la determinación de la pureza y la incertidumbre de medición de los análisis de estas sustancias se resumen en las Tablas 1 y 2.

Tabla 1. Valores de la pureza y la incertidumbre de 5 HPAs analizados.

Analitos	Columna DB-1ms		Columna VF-17ms	
	Pureza (%)	Incertidumbre (%)	Pureza (%)	Incertidumbre (%)
Benzo[a]pireno	99,35	0,26	99,41	0,06
Fenantreno	99,27	0,35	99,34	0,11
Fluoranteno	99,87	0,03	99,36	0,07
Benzo[g,h,i]perileno	98,44	0,11	98,97	0,05
Benzo[a]antraceno	98,75	0,18	98,88	0,05

Tabla 2. Promedio de las purzas e incertidumbres calculadas para 5 HPAs.

HPAs	Pureza (%)	incertidumbre combinada (%)	K (95 %)	Grados de libertad	incertidumbre expandida (%)
Benzo[a]pireno	99,38	0,27	2,21	12,89	0,59
Fenantreno	99,31	0,36	2,21	13,83	0,80
Fluoranteno	99,62	0,08	2,17	16,12	0,16
Benzo[g,h,i]perileno	98,70	0,12	2,17	15,84	0,26
Benzo[a]antraceno	98,82	0,19	2,21	13,23	0,42

4. DISCUSIÓN

4.1. Determinación de la Pureza

La técnica de utilizar la CG-DIF con columnas capilares ofrece buena resolución de las impurezas con un buen límite de detección y es ampliamente empleado [6]. Al menos dos columnas, con diferentes polaridades deben

utilizarse para proporcionar una mejor resolución y separar las impurezas de diferentes polaridades [5].

En este estudio se utilizó una columna cromatográfica con una fase estacionaria considerada apolar (100 % dimetilpolisiloxano) y

una con polaridad media (50 % y 50 % dimetilolisiloxano fenil), compatibles para el análisis de HPAs.

Los mismos picos cromatográficos (impurezas) se han detectado utilizando las dos columnas, Fig. 1.

De este modo, la pureza se ha calculado utilizando la media de los valores encontrados en las columnas empleadas y las incertidumbres fueron combinadas y luego expandidas (Tabla 2).

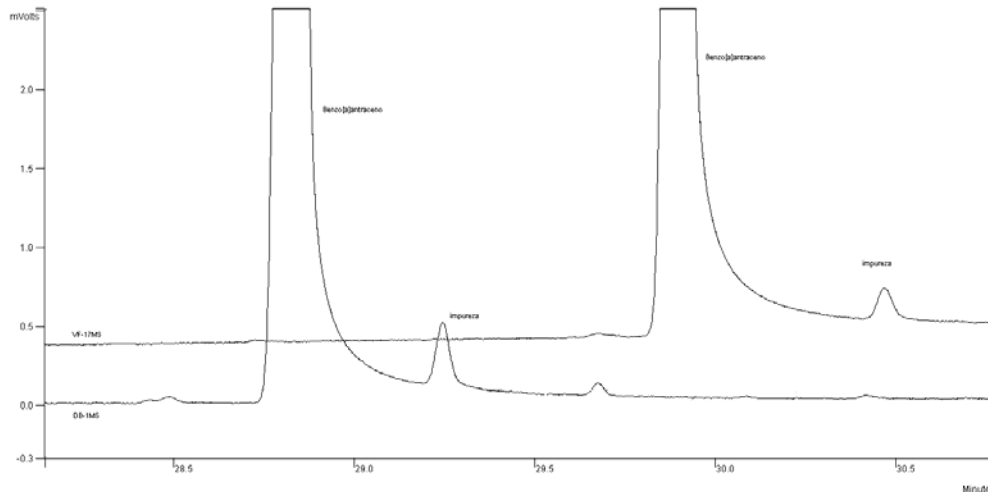


Fig. 1. Cromatograma obtenido para el benzo[a]antraceno utilizando columnas de diferente polaridad.

Se realizó un estudio previo para determinar la concentración adecuada, lo que ayuda a ilustrar las impurezas y no sobrecargar la columna, lo que puede provocar picos asimétricos y dañar la reproducibilidad del método.

De ésta, la resolución adecuada de los picos cromatográficos con la mayor sensibilidad posible fue obtenida.

La Ec. 1 se utiliza para determinar la pureza, adonde A_a es el área del analito, A_t es la suma de todas las áreas de los picos, con excepción del promedio de áreas de los picos del disolvente (A_s).

$$Pureza = \frac{A_a}{(A_t - A_s)} \tag{1}$$

4.2. La incertidumbre de la Medición

La incertidumbre de la medición es un parámetro asociado con el resultado de una medición que caracteriza a la difusión de valores que pueden atribuirse a un aparato de medición.

La determinación de la incertidumbre de la medición fue fundamentada en la *Guide to the*

expression of uncertainty in measurement y la Guía EURACHEM [7, 8].

Los valores se expresan en términos de incertidumbre expandida (U), determinados por el producto del factor de amplitud (k) con un nivel de confianza del 95 %, por la incertidumbre combinada (uc) obtenidos a partir de los dos métodos utilizados (Ec. 2).

$$U = u_c * k \tag{2}$$

Las incertidumbres de la entrada de cantidades derivadas de la Ec. 1 (A_a , A_t e A_s), se calcularon con el método tradicional. En este método, se emplea el concepto de la derivada para normalizar las unidades de las cantidades de entrada en relación con la unidad de medición (Ecs. 3 a 5).

$$\frac{d_{pureza}}{dA_a} = \frac{1}{(A_t - A_s)}, \tag{3}$$

$$\frac{d_{pureza}}{dA_t} = -\frac{A_a}{(A_t - A_s)^2}, \tag{4}$$

$$\frac{d_{\text{pureza}}}{dA_s} = -\frac{A_a}{(A_t - A_s)^2}. \quad (5)$$

Porque es una medida de carácter experimental, la incertidumbre de las grandezas de entrada se calcula con las Ecs. de 6 a 8, respectivamente; donde s es la desviación estándar de los resultados y n es el número de repeticiones.

$$uA_a = \frac{S_{Aa}}{\sqrt{n_{Aa}}}, \quad (6)$$

$$uA_t = \frac{S_{At}}{\sqrt{n_{At}}}, \quad (7)$$

$$uA_s = \frac{S_{As}}{\sqrt{n_{As}}}. \quad (8)$$

Por lo tanto, de la A_a la incertidumbre se deriva de la Ec. 1 en función de A_a (coeficiente de sensibilidad), multiplicado por la incertidumbre de la A_a (Ec. 6), y así sucesivamente para todas las demás variables (Ecs. 7 y 8).

Las incertidumbres se combinan, lo cual se eleva al cuadrado sumando y tomando la raíz cuadrada. Pero esto sólo puede hacerse si las incertidumbres son independientes. Si son dependientes, tenemos que poner un coeficiente de correlación (r), que ira a ponderar las variaciones. Como existe una correlación entre A_t y A_a , el factor r debe incluirse en la ecuación que combina las incertidumbres (Ec. 9).

$$u_{\text{pureza}} = \sqrt{\left(\frac{d_{\text{pureza}}}{dA_a} * uA_a\right)^2 + \left(\frac{d_{\text{pureza}}}{dA_t} * uA_t\right)^2 + \left(\frac{d_{\text{pureza}}}{dA_s} * uA_s\right)^2 + 2 * \left(-\frac{A_a}{(A_t - A_s)^2}\right) * \left(\frac{1}{(A_t - A_s)}\right) * \left(\frac{S_{A_t}}{\sqrt{n_{A_t}}}\right) * \left(\frac{S_{A_a}}{\sqrt{n_{A_a}}}\right) * r_{A_t, A_a}} \quad (9)$$

5. CONCLUSIONES

La técnica de utilizar la CG-DIF con columnas cromatográfica de diferentes polaridades demostró ser adecuada para determinar la pureza de las sustancias investigadas, proporcionando la trazabilidad al Sistema Internacional de unidades (SI).

AGRADECIMIENTOS

CNPq/PROMETRO

REFERENCIAS

- [1] N. Venturini, L.R. Tommasi., Polycyclic aromatic hydrocarbons and changes in the trophic structure of polychaete assemblages in sediments of Todos os Santos Bay, Northeastern, Brazil, Marine Pollution Bulletin, 48, 2004, 97.
- [2] M. Mastral, M. S. Callén, A review on polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) emissions from energy generation, Environmental Science & Technology, 34, 3051, 2000.
- [3] Internacional Agency for Research on Cancer, IARC Mixtures and Exposures Evaluated and Their Classification, 2007.
- [4] I. Schumacher, *et alli.*, Development of an obidoxime chloride reference material: a metrological approach to the determination of chromatographic, Accred Qual Assur, 12, 2007, 629–636.
- [5] NIST (National Institute of Standards and Technology), An approach to the metrologically sound traceable assessment of the chemical purity of organic reference materials, NIST Special Publication, 1012, 2004.
- [6] B. King; S. Westwood, GC–FID as a primary method for establishing the purity of organic CRMs used for drugs in sport analysis, Fresenius J Anal Chem., 370, 2001, 194–199.
- [7] ISO GUM. Guide to the expression of uncertainty of measurement. ISO - International Organization for Standardization, Switzerland:Geneva, 1993.
- [8] EURACHEM/CITAC Guide CG4, Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement., EURACHEM/CITAC, London, 2a edition, 2000.