

Verónica Ribas López

**VALIDACIÓ DE L'ANÀLISI DE Na I Mg EN GALETES MITJANÇANT
L'ESPECTROMETRIA D'ABSORCIÓ I EMISSIÓ ATÒMIQUES.**

TREBALL DE FI DE GRAU

**dirigit pel Sr. Fidel Roig Carbonell
Laboratori Analític Valls. Valls**

Grau de Química



UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

Tarragona

2017

INDEX DE CONTINGUTS

ABSTRACT	4
1 OBJECTIUS	5
1.1 Objectiu principal.....	5
1.2 Objectius específics	5
2 INTRODUCCIÓ	6
3 FONAMENTS	7
3.1 Espectrometria atòmica	7
3.1.1 Espectrometria d'emissió atòmica	7
3.1.2 Espectrometria d'absorció atòmica	7
3.2 Sodi i magnesi.....	8
3.2.1 Sodi.....	8
3.2.2 Magnesi	9
3.3 Galetes.....	9
3.4 Validació d'un mètode.....	10
3.4.1 Paràmetres de qualitat.....	10
3.4.1.1 Linealitat i interval de linealitat	10
3.4.1.2 Límit de detecció i límit de quantificació.....	11
3.4.1.3 Precisió	11
3.4.1.4 Exactitud	12
3.4.1.5 Selectivitat	13
3.4.1.6 Sensibilitat	14
3.4.1.7 Robustesa.....	14
4 PART EXPERIMENTAL	15
4.1 Equips, reactius i material	15
4.1.1 Equips.....	15
4.1.2 Reactius.....	15
4.1.3 Material	16
4.2 Procediment.....	16
4.2.1 Mostres d'anàlisi	16

4.2.2 Neteja del material	16
4.2.3 Conservació de la mostra	17
4.2.4 Tractament de la mostra	17
4.2.5 Precaucions de seguretat	17
4.2.6 Preparació de les solucions	17
4.2.6.1 Determinació del Na	18
4.2.6.2 Determinació del Mg	19
4.2.7 Condicions de l'equip	20
5 RESULTATS DE LA VALIDACIÓ	21
5.1 Determinació de la linealitat i de l'interval de treball.....	21
5.1.1 Determinació del Na per espectrometria d'emissió atòmica	22
5.1.2 Determinació del Na per espectrometria d'absorció atòmica	23
5.1.3 Determinació del Mg per espectrometria d'emissió atòmica.....	24
5.2 Determinació del límit de detecció i de quantificació.....	25
5.2.1 Determinació del Na per espectrometria d'emissió atòmica	26
5.2.2 Determinació del Na per espectrometria d'absorció atòmica	27
5.2.3 Determinació del Mg per espectrometria d'emissió atòmica.....	28
5.3 Determinació de la selectivitat	29
5.3.1 Determinació del Na per espectrometria d'emissió atòmica	29
5.3.2 Determinació del Na per espectrometria d'absorció atòmica	30
5.3.3 Determinació del Mg per espectrometria d'absorció atòmica	30
5.4 Determinació de la precisió	31
5.4.1 Determinació del Na per espectrometria d'emissió atòmica	32
5.4.2 Determinació del Na per espectrometria d'absorció atòmica	34
5.4.3 Determinació del Mg per espectrometria d'absorció atòmica	36
5.5 Determinació de la veracitat.....	38
5.5.1 Determinació del Na per espectrometria d'emissió atòmica	39
5.5.2 Determinació del Na per espectrometria d'absorció atòmica	41
5.5.3 Determinació del Mg per espectrometria d'absorció atòmica	43
5.6 Discussió i comparativa de l'espectroscòpia d'absorció i d'emissió atòmica per determinar el Na.....	45
6 CONCLUSIONS	46
7 AGRAÏMENTS	47
8 BIBLIOGRAFIA	48

ABSTRACT

This project has been carried out in "Laboratori Analític Valls". It is an analysis and quality laboratory and covers an area of action focuses mainly on the Tarragona and Conca de Barbera.

The aim of this final grade project is to validate the method for analysing the sodium and magnesium by atomic absorption and emission spectrometry in the biscuits. The center recently analysed food and the type of food that is the most analysed are the biscuits. Also, the equipment Aanalyst 400 is new because the other equipment was spoiled. Therefore, this method has not been validated in the new equipment. So, this is the issue on which this work is based.

Another objective is to decide what method atomic emission or absorption spectrometry is better to determine sodium in the biscuits.

1. OBJECTIUS

1.1 Objectiu principal

- Validar el mètode modificat pel laboratori Analític Valls per determinar el magnesi i el sodi mitjançant espectrometria d'absorció atòmica, i en el cas del sodi, també per emissió atòmica en galetes.

1.2 Objectius específics

- Determinar els paràmetres de qualitat els quals inclouen la linealitat, límits de quantificació i detecció, precisió, exactitud, sensibilitat i selectivitat del mètode per la determinació de sodi i magnesi mitjançant espectrometria d'absorció atòmica (EAA) i espectrometria d'emissió atòmica (EEA).
- Elaborar els procediments normalitzats de treball tant de l'instrument Aanalyst 400, així com el procediment específic d'assaig per determinar el Na i el Mg en les galetes.
- Decidir quina tècnica és la més adequada si L'EAA o EEA per determinar el sodi en les galetes.

2. INTRODUCCIÓ

Aquest treball s'ha realitzat al laboratori Analític Valls que és un laboratori d'anàlisi i control de qualitat, situat a Valls i que engloba una àrea d'acció centrada principalment al camp de Tarragona i la Conca de Barberà. Aquest centre es dedica principalment a l'anàlisi d'aigües residuals, de consum, de sanitat (piscines, dutxes de complexos esportius, càmpings...), de rec, de pou i de les torres de refrigeració. També es fan anàlisis d'aliments i de sòls.

El laboratori està acreditat per l'ENAC i les anàlisis que es realitzen segueixen un procediment normalitzat de treball. Per aquest motiu es necessita que tots els mètodes utilitzats en les diferents anàlisis i tractats en els equips del laboratori estiguin validats. El laboratori es divideix en dos departaments el Microbiològic i el Químic, en aquest últim és on es va fer el treball i principalment es realitza l'anàlisi dels paràmetres fisicoquímics de les aigües i l'anàlisi de metalls tant en aigües com en aliments mitjançant l'espectrometria d'absorció i emissió atòmica.

L'anàlisi d'aliments en aquest laboratori és relativament nou. Com l'aliment que més s'analitza són les galetes, va sorgir la necessitat de validar el mètode de determinar el sodi i el magnesi mitjançant l'espectrometria d'absorció i emissió atòmica amb l'instrument Aanalyst 400 en galetes, aquest equip va ser adquirit recentment, ja que l'anterior es va fer malbé, per tant aquest mètode encara no ha estat validat en el nou equip. Per tant, aquest és el tema en què està centrat aquest treball.

La realització d'aquest treball ha estat possible gràcies a l'interès per la química analítica i als coneixements previs assolits durant els quatre anys de la carrera. Aquests coneixements inclouen la utilització instrumental de l'espectròmetre d'absorció atòmica i el tractament i anàlisis d'aliments, tant en l'àmbit teòric com experimental.

3. FONAMENTS

3.1 Espectrometria atòmica

L'espectrometria atòmica s'utilitza en la determinació quantitativa i qualitativa en més de 70 elements, és una tècnica molt utilitzada a causa de la seva alta selectivitat, sensibilitat, rapidesa i comoditat. Les tècniques analítiques que se'n deriven són l'espectrometria d'absorció atòmica, l'espectrometria d'emissió i l'espectrometria de fluorescència. La majoria d'instruments d'absorció atòmica també estan equipats per operar en mode d'emissió.^{1,2}

El primer pas per determinar els analits és l'atomització de la mostra, el tipus d'atomitzador que s'ha fet servir ha estat de flama, com l'objectiu de l'anàlisi era determinar el Na i el Mg que fàcilment s'ionitzen, el combustible i l'oxidant que es va utilitzar va ser l'acetilè i l'aire que arriben a temperatures dels 1700 als 2400°C.¹

3.1.1 Espectrometria d'emissió atòmica

La mostra és aspirada per l'espectròmetre cap a una flama. En aquesta flama, les molècules presents en la mostra es converteixen en àtoms lliures. A causa de la calor produïda per la flama es produeix l'excitació dels electrons dels àtoms lliures a orbitals més elevats, és a dir a estats excitats. El temps de vida d'un àtom excitat és breu i en tornar al seu estat fonamental va acompanyat de l'emissió d'un fotó de radiació, aquesta radiació passa per un monocromador que selecciona la longitud d'ona específica per aquella anàlisi, seguidament passa per un fotodetector que mesura la potència d'aquesta radiació, la qual és amplificada i enviada a un dispositiu de lectura. La potència de radiació que emet un analit després de l'excitació és directament proporcional a la concentració de l'analit en un interval de concentració limitat.^{1,2}

3.1.2 Espectrometria d'absorció atòmica

Aquesta tècnica consisteix a aspirar una mostra que és nebulitzada i introduïda dintre de la flama on és desolvatada, volatilitzada i atomitzada. Al mateix temps, es dirigeix un feix de llum d'una determinada longitud d'ona a través de la flama on es produeix l'absorció de la radiació per part dels àtoms en estat fonamental que passaran a un estat excitat, la radiació arriba fins a un monocromador i un tub fotomultiplicador que actua com a transductor, el senyal s'amplifica i passa al sistema d'adquisició de dades. Donat que cada metall té la seva pròpia longitud d'ona d'absorció característica, s'utilitza com a font lluminosa una làmpada del metall a determinar. Les làmpades que es solen utilitzar són de càtode buit i amb menys freqüència les de descàrrega sense elèctrodes.¹

Es pot relacionar l'absorbància amb la concentració mitjançant l'equació de la llei de Beer, que és representada a continuació:

$$A = \epsilon \cdot b \cdot c$$

On ϵ és el coeficient d'extinció molar expressat en $\text{L mol}^{-1} \text{cm}^{-1}$, b és la longitud de la cubeta en cm i c és la concentració de l'analit expressada en mol/l.³



Figura 1. Espectròmetre d'absorció atòmica Aanalyst 400.⁴

3.2 Sodi i magnesi

Entre els elements més abundants de l'escorça terrestre estan inclosos el Na i el Mg. La seva alta abundància natural i l'alta solubilitat de les sals que formen són l'origen de la seva elevada biodisponibilitat, juntament amb espècies anióniques com els clorurs s'anomenen macronutrients i es troben en altes concentracions en els humans, en l'aigua de mar i en l'escorça terrestre respecte altres elements del seu grup.^{5,6}

3.2.1 Sodi

És un catió monovalent més abundant en els fluids extracel·lulars. La funció principal i la més coneguda és el seu paper en la bomba de Na^+/K^+ , on mitjançant aquest mecanisme intervé en els impulsos nerviosos i en la contracció muscular. També és l'encarregat de regular el repartiment de l'aigua de l'organisme, la pressió i el volum sanguini i de preservar l'equilibri àcid-base, ja que contribueix a mantindre la pressió osmòtica constant.^{5,7}

L'excés de sodi en la sang és degut a una ingesta excessiva de sodi o per un dèficit d'aigua, provocant hipertensió i malalties cardiovasculars.⁸ El dèficit de sodi en la sang és degut a un excés d'aigua o a un dèficit de l'ió sodi donant lloc a la hiponatremia, els símptomes que es poden observar són nàusees, hipoglucèmia i reducció de la hipotensió.⁹

El clorur de sodi, és a dir, la sal és la principal font de sodi en la dieta. Segons l'OMS la ingesta diària màxima recomanada de sodi és de 2 g.⁸

3.2.2 Magnesi

És un catió divalent que es troba en els ossos i en els fluids intracel·lulars. Les seves funcions principals és formar un complex amb la molècula de ATP que té un paper important en la fosforilació, és essencial en la transmissió de l'impuls nerviós. També regula i competeix amb la bioquímica del Ca.^{7,10}

El seu dèficit es pot detectar a través de la presència d'excitació nerviosa i muscular excessiva amb tremolors, canvis de personalitat, anorèxia, vòmits, debilitat, etc.⁷ La toxicitat per magnesi és poc probable, s'associa amb alteracions del sistema nerviós central amb anestèsia i inclús paràlisis, també pot inhibir la calcificació.¹¹

La principal font de magnesi en la dieta són els vegetals, marisc, fruits secs i productes integrals¹². La ingesta diària recomanada de magnesi diària segons el Real decret 930/1992 és de 300 mg.¹³

3.3 Galetes

Les galetes són un producte alimentari molt consumit entre joves i adults, aquesta alta popularitat és deguda al seu baix preu, al seu alt contingut nutritiu i a la seva gran varietat.¹⁴

Tot i la gran varietat la composició nutritiva en general inclou un alt contingut d'hidrats de carboni del 60 al 70%, en els que es troben polisacàrids i alts continguts de sucre, també contenen d'un 12 a un 25% de lípids i àcids grassos, dels quals més del 50% són saturats i un 30% són monoinsaturats. Els minerals que es poden trobar en les galetes són en major quantitat el sodi i el potassi seguits pel magnesi i el calci i amb menor concentració el ferro.^{15,16}

Els avantatges de consumir-les són l'aportament energètic a causa de l'alt contingut de carbohidrats, és un aliment cardiosaludable, ja que té un contingut baix en sodi, colesterol i calories, a més són riques en àcid fòlic del complex B ajudant a prevenir defectes en el cervell i en la medul·la dels nadons en el naixement.¹⁷

El consum de galetes es manté estable durant els últims quatre anys, però aquesta estabilitat ve donada a l'adaptació als nous gustos i hàbits del consumidor. Durant el 2016 es van consumir 5,6 kg per persona, es van vendre 500 milions de kg de galetes.¹⁸

3.4 Validació d'un mètode

La validació consisteix en la confirmació a través de l'aportació d'una evidència objectiva que s'han complert els requisits per a una utilització o aplicació específica prevista (ISO 9000).¹⁹

Segons la norma ISO/IEC 17025 s'hauran de validar els mètodes no normalitzats, mètodes desenvolupats o dissenyats pel laboratori, mètodes normalitzats utilitzats fora del seu àmbit d'aplicació i amplificacions o modificacions de mètodes normalitzats.¹⁹

3.4.1 Paràmetres de qualitat

Els paràmetres de qualitat són criteris quantitatius utilitzats per decidir si un mètode és vàlid o no, és a dir, si és adequat per resoldre un problema analític. Aquests paràmetres són l'expressió numèrica d'una sèrie de característiques de qualitat dels mètodes com la linealitat, precisió, exactitud, selectivitat/especificitat, sensibilitat, límit de detecció i de quantificació, i la robustesa.¹⁹

3.4.1.1 Linealitat i interval de linealitat

La linealitat és la capacitat del mètode analític d'obtenir resultats directament proporcionals a la concentració de l'analit en la mostra.¹⁹

Per determinar la linealitat del mètode es mesura el blanc, a continuació s'analitzen cinc o més solucions que continguin una concentració d'entre 80-120% de la concentració esperada de l'analit. A partir d'un càlcul estadístic mitjançant l'anàlisi de regressió s'obté una equació lineal ($y = bx + a$) i el valor del coeficient de determinació (r^2).

Per comprovar la linealitat es fa mitjançant el gràfic de residuals, aquest gràfic representa la desviació de les dades experimentals respecte a les dades calculades. Aquest gràfic s'obté a partir de la diferència del valor observat de la resposta (y) i el valor calculat de y per cada valor de concentració (x) ($y_{\text{experimental}} - y_{\text{calculada}}$). Es considera que és lineal quan s'obté una distribució aleatòria dels residuals al voltant de zero.

Normalment per determinar la qualitat de la regressió es sol utilitzar el coeficient de determinació (r^2). Per considerar que hi ha un bon ajust, en la majoria dels casos es sol agafar com a criteri $r^2 > 0.995$.

L'interval de linealitat, que també es pot anomenar com interval de treball, és l'interval de concentració on el pendent de la recta es manté constant. Engloba des de la concentració més petita que sol ser el límit de quantificació fins a la concentració més gran seguint una línia recta amb una precisió i exactitud acceptable.²⁰

3.4.1.2 Límit de detecció i límit de quantificació

El límit de detecció (LOD) és la concentració mínima d'analit que es pot mesurar amb una estadística raonable (AOAC)²¹, és a dir, és la concentració mínima amb la qual l'analit pot donar un senyal que sigui distingible significativament al senyal del blanc, i per tant, que es pot detectar.

Per conveni s'ha arribat a una expressió per calcular el límit de detecció de forma quantitativa, aquesta fórmula es pot observar en l'equació 2.

$$\text{LOD} = 3\sigma_{bl}$$

Equació 2. Obtenció del límit de detecció.²²

Aquesta expressió s'obté a partir de fer n mesures del blanc obtenint així la seva desviació estàndard de la concentració del blanc(σ_{bl}).

El límit de quantificació (LOQ) és la mínima concentració d'analit que es pot determinar amb una repetibilitat i exactitud acceptables.²³ Aquesta concentració mínima moltes vegades es considera com el límit inferior de l'interval de linealitat.

Aquesta expressió s'obté a partir de fer n mesures del blanc obtenint així la seva desviació estàndard de la concentració del blanc(σ_{bl}). Com en el LOD la fórmula necessària per trobar el LOQ s'ha decidit per conveni i és l'equació 3.

$$\text{LOQ} = 10\sigma_{bl}$$

Equació 3. Obtenció del límit de quantificació.²²

3.4.1.3 Precisió

La precisió del mètode és el grau de concordança entre els resultats obtinguts en aplicar repetidament i independentment el mateix mètode analític sota unes condicions estipulades.²⁰

Com més diferents siguin les condicions experimentals hi haurà una major variabilitat, una major dispersió i per tant una menor precisió. Es pot considerar la precisió del mètode en tres nivells diferents²⁰:

- **Repetibilitat:** Grau de concordança entre els resultats obtinguts quan un mateix analista, en un mateix laboratori i amb els mateixos instruments fa diferents repeticions de la mateixa mostra en un període de temps curt.
- **Precisió intermèdia:** Grau de concordança dels resultats obtinguts quan hi ha una o més variables diferents entre les repeticions d'una mateixa mostra, com per exemple, quan el mètode s'aplica a la mateixa mostra repetida pel mateix analista, però en diferents dies.

- **Reproductibilitat:** Grau de concordança dels resultats obtinguts quan totes les variables són diferents, és a dir, quan distints analistes, distints laboratoris i en distints dies es fan diferents repeticions de la mateixa mostra.

La precisió s'expressa com la desviació estàndard dels resultats un cop eliminat els resultats discrepants. Quan es vol calcular la repetibilitat i la precisió intermèdia a la vegada es fa mitjançant la taula ANOVA representada a la taula 1.

Taula 1. Expressions de la taula ANOVA per calcular la precisió.²²

Variància	Expressió	Graus de llibertat
Repetibilitat (S^2_r)	MS_e	$p(n - 1)$
Entre sèries ($S^2_{sèrie}$)	$\frac{MS_{sèrie} - MS_e}{n}$	
Intermèdia (S^2_l)	$S_{sèrie}^2 + S_r^2$	$p - 1$

$$MS_e = \frac{\sum_{i=1}^p \sum_{j=1}^n (x_{ij} - \bar{x}_i)^2}{p(n-1)}$$

$$MS_{sèrie} = \frac{n \sum_{i=1}^p (\bar{x}_i - \bar{x})^2}{p-1}$$

El criteri d'acceptabilitat per la precisió es va seguir en base del coeficient de variació d'Horwitz, aquest diu perquè un mètode sigui precís s'han de complir uns estàndards de qualitat, en condicions de repetibilitat s'ha de complir que el $CV < 1/2 CV_H$ i en condicions de precisió intermèdia $CV < 3/2 CV_H$. El coeficient de variació d'Horwitz (CV_H) es calcula com $CV_H = 2^{(1-0,5)\log C}$, on C és la concentració del analit.²⁴

3.4.1.4 Exactitud

L'exactitud és la proximitat entre el resultat d'un assaig i un valor de referència acceptat (AOAC)²¹. Normalment s'estudia com a dos component la veracitat i la precisió, ja que l'exactitud es troba avaluant els errors sistemàtics i els errors aleatoris del mètode.

La veracitat és el grau de concordança entre la mitjana d'una sèrie de rèpliques produïdes amb el mètode respecte a un valor de referència acceptat, normalment es sol expressar en termes de biaix.¹⁹

Hi ha tres formes diferents que s'empren majoritàriament per determinar-la mitjançant l'anàlisi de materials de referència, experiments de recuperació utilitzant mostres addicionades i la comparació dels resultats obtinguts mitjançant un altre mètode de referència. En el treball es va utilitzar la primera opció.

Mitjançant el test t Student es determina si el mètode és veraç o no. Primer s'ha de calcular la t_{cal} seguint l'equació:

$$t_{cal} = \frac{|x_{ref} - \bar{x}|}{\sqrt{u(\bar{x}_{ref})^2 \frac{S^2}{n}}}$$

Equació 4. Obtenció de la t_{cal} .²²

On x_{ref} és el valor de referència, $\bar{x}$ és el valor mitjà dels resultats obtinguts, n és el nombre de mesures realitzades pel mètode, S és la desviació estàndard de les mesures realitzades pel mètode i $u(x_{ref})$ és la incertesa combinada estàndard del material de referència.

A continuació, s'estableix la t_{tab} mirant la taula t Student de dues cues amb un interval de confiança del 95% ($\alpha=0.05$) i amb $n-1$ graus de llibertat, n és el nombre de mesures realitzades pel mètode.

En el cas que la $t_{cal} < t_{tab}$ vol dir que no hi ha diferències significatives entre les mitjanes per a un nivell de significança del 0.05 i per tant el mètode és veraç.

3.4.1.5 Selectivitat

La **selectivitat** és el grau amb què el mètode pot determinar l'analit d'interès en presència d'altres analits, matrius o materials que puguin produir interferències (AOAC)²¹.

La selectivitat del mètode es pot determinar de diverses formes, com per exemple, preparant dos rectes de calibratge una a partir dels patrons de calibratge de l'analit i l'altre amb addicions estàndards on als patrons se li afegeix la mateixa quantitat de mostra. Es compara estadísticament les pendent de les dues rectes per veure si hi ha o no diferències significatives entre elles.²⁵

Primer es comparen les variàncies de les dos pendents mitjançant un test F Fisher, si aquestes difereixen significativament ($F_{cal} > F_{tab}$) no es pot calcular la variància conjunta i es farà el test de Cochran, segons com s'indica en l'equació 5. En canvi, si no hi ha diferències significatives per a les variàncies ($F_{cal} < F_{tab}$) es podrà calcular la variància conjunta en el test t segons s'indica en l'equació 6.²⁶

En les dues equacions $\bar{x}_1$ i $\bar{x}_2$ representen els pendents de les dues rectes, n_1 i n_2 són el nombre de punts que té la recta, s_1 i s_2 són les desviacions estàndards dels pendents, S_p^2 és la variància conjunta i v són els graus de llibertat.

$$t_{\text{cal}} = \frac{|\bar{x}_1 - \bar{x}_2|}{\sqrt{\left(\frac{s_1^2}{n_1} + \frac{s_2^2}{n_2}\right)}} \quad v = \frac{\left(\frac{s_1^2}{n_1} + \frac{s_2^2}{n_2}\right)^2}{\frac{s_1^4}{n_1^2(n_1-1)} + \frac{s_2^4}{n_2^2(n_2-1)}} \quad t_{\text{tab}}(\alpha, n_1, n_2 - 2)$$

Equació 5. Càlcul del test t en el cas que hi hagi diferències significatives entre les variàncies.²⁶

$$t_{\text{cal}} = \frac{|\bar{x}_1 - \bar{x}_2|}{\sqrt{S_p^2 \left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}\right)}} \quad S_p^2 = \frac{(n_1-1)S_1^2 + (n_2-1)S_2^2}{n_1 + n_2 - 2} \quad t_{\text{tab}}(\alpha, v)$$

Equació 6. Càlcul del test t en el cas que no hi hagi diferències significatives entre les variàncies.²⁶

Si la $t_{\text{cal}} < t_{\text{tab}}$ vol dir que no hi ha diferències significatives entre els pendents, i no hi haurà efecte matriu.

3.4.1.6 Sensibilitat

La sensibilitat és la capacitat del mètode per diferenciar dues concentracions molt semblants de l'analit. Com més baixes són les concentracions que es poden diferenciar més alta serà la sensibilitat del mètode. Aquest paràmetre es quantifica com el pendent en el tram lineal de la recta de calibratge, per tant com major sensibilitat major serà el pendent de la recta.²⁰

3.4.1.7 Robustesa

La robustesa d'un procediment analític és la mesura de la seva capacitat per no ser afectat per petites però deliberades variacions en les condicions experimentals del mètode (com poden ser el pH, la temperatura, la força iònica, etc.) i proporcionar una indicació de la seva fiabilitat durant la seva utilització normal (ICH)²⁷. Amb la robustesa es vol avaluar la variabilitat dels resultats deguda a una variació aleatòria de les condicions experimentals, en definitiva, es vol predir quina és la dependència del mètode respecte a aquells factors que creen la variabilitat dels resultats.

4 PART EXPERIMENTAL

En aquest apartat es descriu el procediment que s'ha seguit per realitzar la validació del mètode per determinar el sodi i el magnesi en galetes mitjançant l'espectrometria atòmica emprant l'espectròmetre Aanalyst 400. El mètode utilitzat ha estat el descrit per la AOAC²⁸ i per als mètodes normalitzats per l'anàlisi d'aigües potables i residuals APHA-AWWA-WPCF²⁹ amb lleus modificacions.

El procediment de validació ha estat establert per la guia Eurachem¹⁹, la qual es centra en la validació interna de mètodes, realitzada pel mateix laboratori. Permet avaluar els principals paràmetres de qualitat necessaris per validar el mètode.

4.1 Equips, reactius i material

A continuació s'especifica un llistat amb tots els equips, reactius i materials necessaris per dur a terme la validació del mètode.

4.1.1 Equips

- Espectròmetre d'absorció atòmica Perkin Elmer Aanalyst 400
- Làmpada de càtode buit multielement de Mg-Ca-Zn i Na-K
- Compressor d'aire
- Balança analítica
- Mufla
- Placa calefactora
- Campana extractora de gasos

4.1.2 Reactius

- Patró de referència de Na de 1000 mg/L comercial Scharlau
- Patró de referència de Mg de 1000 mg/L comercial Scharlau
- Àcid clorhídric al 35%
- Àcid nítric concentrat al 60% (p/p)
- Aigua destil·lada
- Gasos:
 - o Acetilè 99.6% de puresa
 - o Aire

4.1.3 Material

- Gresols
- Espàtula
- Gots de precipitats de vidre de 100 i 150 ml
- Proveta graduada de 25 ml
- Pipetes aforades de dues línies de graduació de 1, 2, 5, 10, 15, 20 i 25 ml
- Matrassos aforats de 50 i 100 ml
- Vareta de vidre
- Flascó rentador

(Tot el material volumètric és de classe A)

4.2 Procediment

4.2.1 Mostres d'anàlisis

El material de referència utilitzat per la validació ha estat el que porta per referència LGC7 103 Sweet digestive biscuit. El valor de referència ha estat obtingut per un exercici interlaboratori on cada laboratori ha fet 5 mesures replicades del material, el mètode analític utilitzat no ha estat especificat. A la taula 2 es pot veure tant el valor obtingut del sodi com del magnesi en determinar el material de referència per la LGC.³⁰

Taula 2. Dades rellevants del material de referència certificat.

Metall	Nombre de laboratoris	Valor avaluat (mg/L)	Incertesa (mg/kg)	Factor de cobertura, k
Sodi	11	5010	400	2,2
Magnesi	11	254	59	2,2

4.2.2 Neteja del material

Per eliminar les possibles traces que es poden trobar en el material utilitzar s'ha de netejar bé, en concret, per l'anàlisi de metalls que són abundants en l'aigua d'aixeta o que l'interval de treball en EAA per flama sigui molt petit. Entre aquests metalls s'inclou el Na i el Mg.

Tant el material de vidre com els gresols s'ha de netejar amb aigua destil·lada, seguidament submergir-los en HNO₃ al 20% v/v i posteriorment rentar-lo amb aigua destil·lada 3 vegades. Deixar-ho assecar a l'estufa.²⁸

4.2.3 Conservació de la mostra

L'única mostra que s'utilitzarà en aquesta validació és el material de referència, aquest s'ha de conservar tancat a la nevera a una temperatura de 4 a 5°C. Una vegada obert s'ha de traspasar a un pot de vidre amb tapa net i sec, abans d'utilitzar-lo s'ha d'homogeneïtzar i mantenir a una temperatura aproximadament de 20°C.³⁰

4.2.4 Tractament de la mostra

L'objectiu principal del tractament de la mostra és l'eliminació de la matèria orgànica, obtenint així l'analit d'interès lliure de possibles interferències. El tipus de tractament que és dura a terme és per via seca o calcinació, és un mètode senzill que permet el tractament simultani de moltes mostres, amb un risc baix de contaminació.³¹

El procediment consisteix a pesar 1 g de mostra en la balança analítica en un gresol, s'introdueix a la mufla a 550°C el temps mínim necessari per obtenir cendres blanques, aproximadament entre 3 i 5 h. Deixar refredar i traspasar a un got de precipitats amb l'ajuda d'aigua destil·lada, afegir 5 ml d'HNO₃ i 5 ml d'HCl mesurats amb proveta. Posar el got en una placa calefactora durant 10 min un cop ha arribat a ebullició, s'ha d'evitar que la mostra s'arribi a assecar per evitar-ho s'ha d'anar afegint aigua destil·lada. Deixar refredar i transferir-lo a un matràs aforat de 100 ml, enrasar amb aigua destil·lada.

4.2.5 Precaucions de seguretat

Durant tot el procediment de validació hi ha diversos reactius que poden suposar algun perill per la salut, aquests reactius estan descrits a la taula 3.^{32,33}

Taula 3. Característiques de toxicitat i manipulació dels reactius.

Reactiu	Perills	Possibles accidents	Prevencions
Àcid clorhídric	Tòxic i corrosiu.	Esquitxades en la pell i els ulls, vessament i sufocació a causa dels gasos àcids.	Utilitzar guants i treballar sota la campana d'extracció de gasos.
Àcid nítric	Comburent, corrosiu, toxicitat aguda i cancerigen.		

4.2.6 Preparació de les solucions

Per dur a terme la validació s'han de preparar diverses solucions tant dels patrons de calibratge com de la mostra. La preparació d'aquestes solucions està descrita a continuació tant per al sodi com per al magnesi.

4.2.6.1 Determinació del Na

Preparació dels patrons de calibratge

Abans d'analitzar la mostra s'ha de generar la recta de calibratge. A partir de la solució intermèdia de 20 mg/L de Na es van preparar 7 patrons de diferents concentracions.

- **Solució intermèdia de 20 mg/L de Na:** Es van agafar 20 ml, amb una pipeta aforada de doble línia de graduació, de la solució mare comercial de 1000 mg/L de Na (nitrat de sodi en HNO_3 0,5 mol/l) i es van enrasar en un matràs aforat de 100 ml amb aigua destil·lada.

- **Solucions patrons:** Es van preparar a partir de la solució intermèdia de 20 mg/L i es van enrasar en matrassos de 50 ml amb aigua destil·lada. Tant els ml agafats com la concentració dels patrons es mostren a la taula 4.

Taula 4. Patrons de sodi.

Patró	1	2	3	4	5	6
Concentració (mg/L Na)	0,8	2	4	6	8	10
Volum (ml)	2	5	10	15	20	25

Preparació de les dilucions del material de referència

Per realitzar la validació es necessiten una sèrie de mostres del material de referència que representin tot l'interval de concentració, aquestes mostres es van preparar a partir d' 1 g del material que es va portar a digestió i es va enrasar en un matràs aforat de 100 ml, la concentració final és de 50 mg/L de Na.

Es van preparar 3 nivells de concentració partir de la dilució del material de referència amb una concentració de 50 mg/L de Na. El nivell 1 correspon a una concentració baixa d' 1 mg/L, el nivell 2 a una concentració mitjana de 5 mg/L i el nivell 3 a una concentració alta de 10 mg/L de Na.

- **Mostra 1 mg/L de Na:** Es va agafar 1 ml de la solució del material de referència amb una concentració de 50 mg/L, i es van enrasar amb aigua destil·lada en un matràs aforat de 50ml.

- **Mostra 5 mg/L de Na:** Es va agafar 5 ml de la solució del material de referència amb una concentració de 50 mg/L, i es van enrasar amb aigua destil·lada en un matràs aforat de 50 ml.

- **Mostra 10 mg/L de Na:** Es va agafar 10 ml de la solució del material de referència amb una concentració de 50 mg/L, i es van enrasar amb aigua destil·lada en un matràs aforat de 50 ml.

4.2.6.2 Determinació del Mg

Preparació dels patrons de calibratge

Primer de tot, s'ha de construir la recta de calibratge per dur a terme l'anàlisi de la mostra, es van preparar 7 patrons de diferent concentració a partir de la solució intermèdia de 10 mg/L de Mg.

- **Solució intermèdia de 10 mg/L de Mg:** Es van agafar 10 ml, amb una pipeta aforada de doble línia de graduació, de la solució mare comercial de 1000 mg/L de Mg (nitrat de magnesi en HNO_3 0,5 mol/l) i es van enrasar en un matràs aforat de 100 ml amb aigua destil·lada.

- **Solucions patrons:** Es van preparar a partir de la solució intermèdia de 10 mg/L i es van enrasar en matrassos de 100 ml amb aigua destil·lada. Tant els ml agafats com la concentració dels patrons es mostren a la taula 5.

Taula 5. Patrons de magnesi.

Patró	1	2	3	4	5	6
Concentració (mg/L Na)	0,2	0,5	1	1,5	2	2,5
Volum (ml)	2	5	10	15	20	25

Preparació de les dilucions del material de referència

Per realitzar la validació es necessiten una sèrie de mostres que representin tot l'interval de concentració, aquestes mostres es van preparar a partir d' 1 g del material de referència que es va portar a digestió i es va enrasar en un matràs aforat de 100 ml, la concentració final és de 2,5 mg/L de Mg.

Es van preparar 3 nivells de concentració a partir de la dilució del material de referència amb una concentració de 2,5 mg/L de Mg. El nivell 1 correspon a una concentració baixa de 0,2 mg/L, el nivell 2 a una concentració mitjana d' 1 mg/L i el nivell 3 a una concentració alta de 2,5 mg/L de Mg. En aquest últim nivell no cal fer la dilució del material de referència, ja que aquesta és la concentració de la solució.

- **Mostra 0,2 mg/L de Mg:** Es va agafar 5 ml de la solució del material de referència amb una concentració de 2,5 mg/L de Mg, i es van enrasar amb aigua destil·lada en un matràs aforat de 50 ml.

- **Mostra 1 mg/L de Mg:** Es va agafar 20 ml de la solució del material de referència amb una concentració de 2,5 mg/L de Mg, i es van enrasar amb aigua destil·lada en un matràs aforat de 50 ml.

4.2.7 Condicions de l'equip

Les condicions utilitzades en l'espectròmetre tant d'emissió com d'absorció són específiques per a cada metall. Les condicions òptimes són donades per al mateix espectròmetre, encara que es van fer diverses proves per confirmar que aquestes són les millors condicions, l'únic paràmetre que es va canviar respecte a les condicions òptimes ha estat el flux d'acetilè en el cas del Mg. A la taula 6 es poden observar aquestes condicions tant per al sodi com per al magnesi.

Taula 6. Condicions experimentals utilitzades en l'espectrometria d'absorció atòmica

	Na	Mg
Longitud d'ona (nm)	589,00	285,21
Amplada d'obertura (nm)	1,8/0,6	2,7/1,05
Soroll relatiu	1	1
Concentració característica (mg/L)	0.007	0.004
Comparació de sensibilitat (mg/L)	0.3	0.18
Corrent de làmpada (mA)	8	30
Tipus flama	Aire/Acetilè	Aire/Acetilè
Flux d'acetilè(L/min)	2,5	2,82
Flux d'aire (L/min)	10	10

Les condicions utilitzades en l'espectrometria d'emissió atòmica per determinar el Na són les mateixes que en cas de l'espectrometria d'absorció, a excepció que en el cas de l'emissió no s'utilitza la làmpada.

5 RESULTATS DE LA VALIDACIÓ

5.1 Determinació de la linealitat i de l'interval de treball

Es van realitzar diferents assajos segons com s'indica en la guia Eurachem¹⁹ per tal de proporcionar la linealitat i l'interval de concentració per al mètode de determinar Mg per espectrometria d'absorció atòmica i de determinar el Na tant per l'espectrometria d'absorció com d'emissió atòmica, mitjançant l'espectròmetre Aanalyst 400.

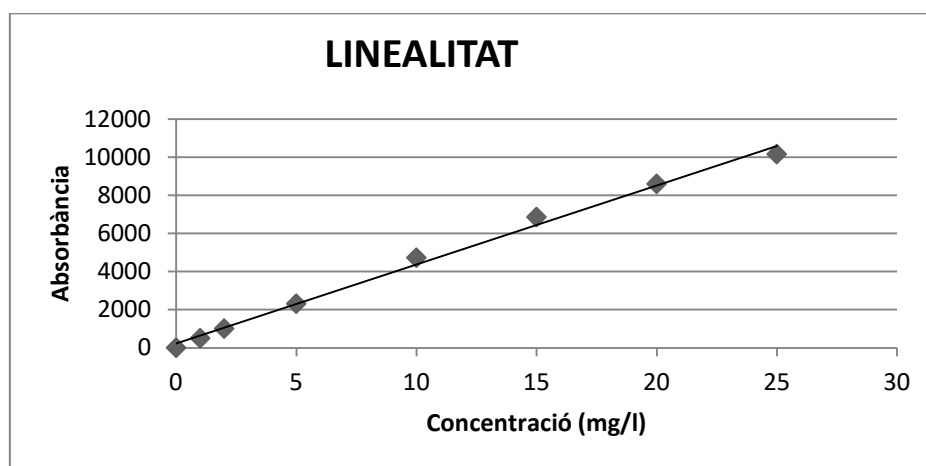
Primer es va determinar la linealitat a partir de la mesura d'un blanc més sis patrons amb concentracions espaiades ocupant tot l'interval d'interès. Un cop obtingudes les dades es van representar gràficament, la concentració en l'eix de les x i la resposta en l'eix de les y. Visualment es van determinar els extrems inferiors i superiors de l'interval lineal, per comprovar-lo es compara amb l'interval teòric obtingut del PNT de cada metall en concret. Per al Na aquest interval va des de 0 a 10 i per al Mg de 0 a 2,5.

Un cop s'ha establert una estimació de l'interval lineal es passa a verificar que l'interval de treball sigui lineal. Es van tornar a mesurar per triplicat un blanc més sis patrons amb concentracions espaiades uniformement en l'interval lineal. Es va representar el gràfic de residuals on l'eix de les x es troba la concentració i en l'eix de les y el residual, el residual es calcula fent la diferència entre la resposta trobada experimentalment i la resposta teòrica que s'aconsegueix interpolant la concentració de cada patró en la recta de calibratge. El coeficient de determinació és superior a 0,995, el que ens dóna una idea de l'adequació dels punts a la recta de regressió. De totes maneres, el més important és que el gràfic de residuals segueixi les següents condicions:

- Els residuals han de mostrar una distribució aleatòria al voltant de zero.
- Els residuals no han de seguir tendències.
- Els residuals aproximadament han de tindre el mateix nombre de valors positius que negatius.
- Els residuals han de tenir aproximadament el mateix valor absolut, per tant la mitja dels valors residuals han de donar aproximadament zero.

En el cas que no es compleixin les condicions mencionades i s'observin tendències sistemàtiques serà un indicatiu de la no linealitat o d'un canvi de variància del nivell.

5.1.1 Determinació del Na per espectrometria d'emissió atòmica

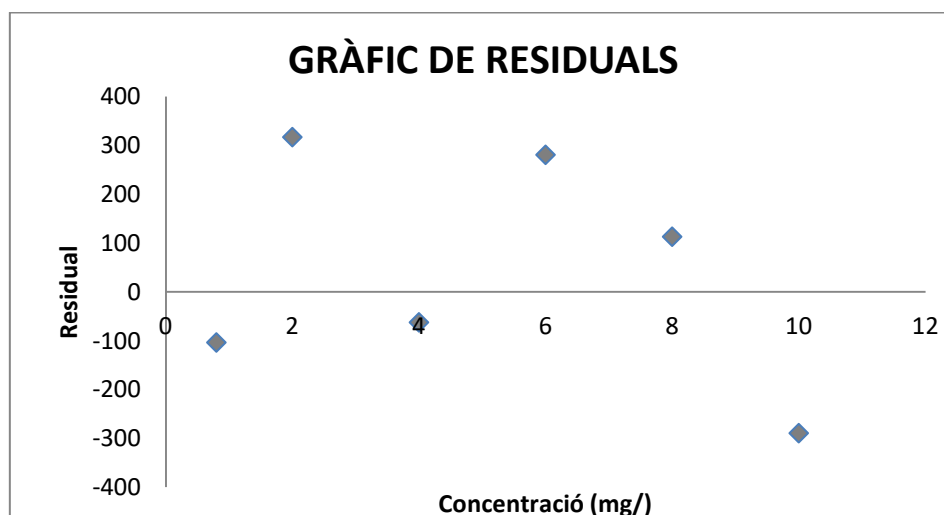


Gràfic 1. Corba de calibratge del Na mitjançant l'espectrometria d'emissió atòmica per determinar la linealitat.

Com s'indica en el PNT de la determinació del sodi per espectrometria d'emissió atòmica el límit de detecció del mètode és menor a 0,8, l'interval de linealitat òptim va des de 0,8 fins a 10 mg/L. Com s'observa en el gràfic 1 l'interval de linealitat s'adapta al descrit en el procediment analític. Per tant la recta de calibratge i el gràfic de residuals es farà per aquest interval.

A partir de les tres repeticions del blanc més els sis patrons es va fer la mitja d'aquestes i es va obtenir una sola recta amb el seu coeficient de determinació

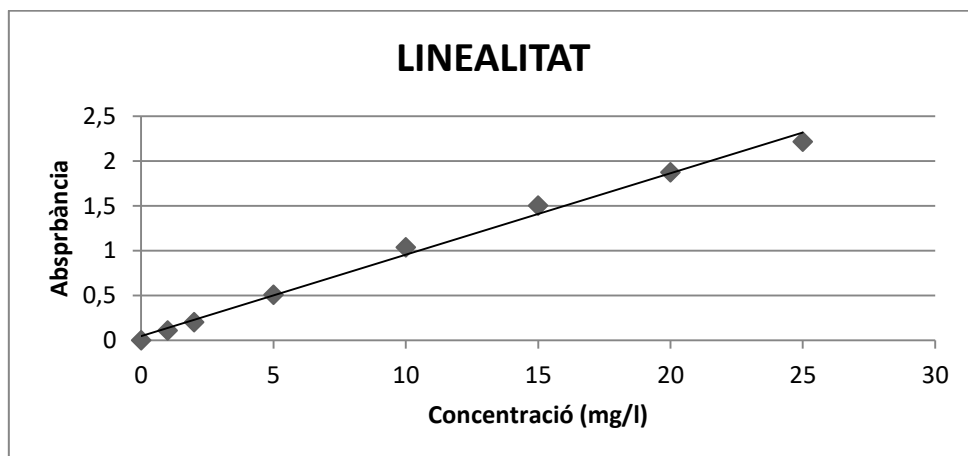
$$y = 2528,42 x + 272,44 \quad R^2 = 0,9993$$



Gràfic 2. Corba de calibratge del Na mitjançant l'espectrometria d'emissió atòmica per determinar la l'interval de treball.

Un cop obtingudes les dades de cada rèplica es pot veure com en el gràfic 2 els valors estan distribuïts aleatòriament sense mostrar tendències, hi ha tres valors positius i tres negatius de cada rèplica i si es fa la mitjana dels residuals per cada assaig dona aproximadament 0. Per una altra part, el coeficient de determinació de la recta obtinguda a partir de les tres rèpliques, és més gran que 0.995. En conclusió es pot confirmar que l'interval de treball per al Na determinat per espectrometria d'emissió atòmica és del 0,8 a 10 mg/L.

5.1.2 Determinació del Na per espectrometria d'absorció atòmica

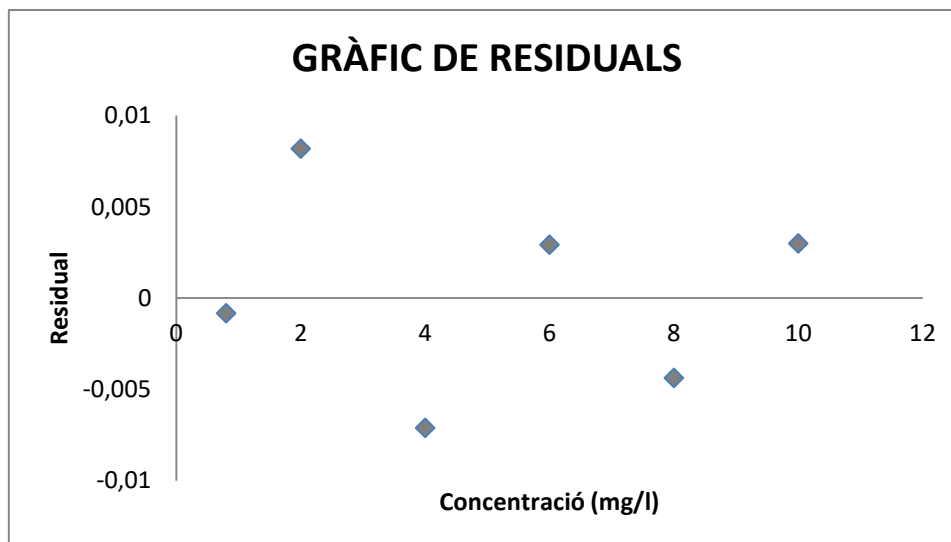


Gràfic 3. Corba de calibratge del Na mitjançant l'espectrometria d'absorció atòmica per determinar la linealitat.

L'interval de linealitat descrit per al PNT per determinar el sodi per espectrometria d'emissió atòmica va des de 0 fins a 10 mg/L. Si s'observa el gràfic 3, l'interval de linealitat s'adapta al descrit en el procediment analític. Per tant la recta de calibratge i el gràfic de residuals es farà per aquest interval.

A partir de les tres repeticions del blanc més els sis patrons es va fer la mitja d'aquestes i es va obtenir una sola recta amb el seu coeficient de determinació

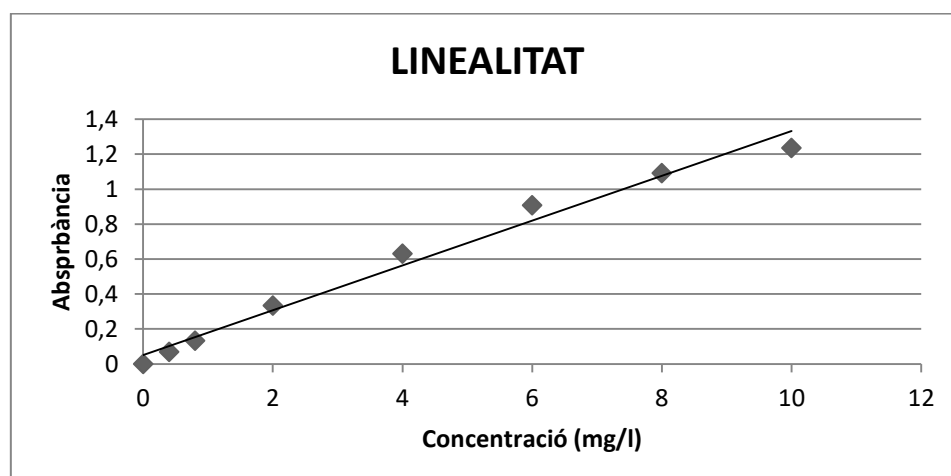
$$y = 2528,42 x + 272,44 \quad R^2 = 0,9993$$



Gràfic 4. Corba de calibratge del Na mitjançant l'espectrometria d'emissió atòmica per determinar la linealitat.

Al representar les dades obtingudes de les tres rèpliques en un gràfic de residuals, es pot veure en el gràfic 4 com els residuals estan distribuïts aleatòriament sense tendències, amb el mateix nombre de valors positius i negatius, i aquests tenen el mateix valor en valor absolut. El coeficient de determinació obtingut és major a 0,995. Després d'avaluar els criteris per determinar l'interval de linealitat es pot afirmar que l'interval de treball per al Na determinat per espectrometria d'absorció atòmica és del 0,8 a 10 mg/L. El límit inferior ha de ser igual o més gran que el límit de quantificació, com es veurà posteriorment és més gran.

5.1.3 Determinació del Mg per espectrometria d'emissió atòmica

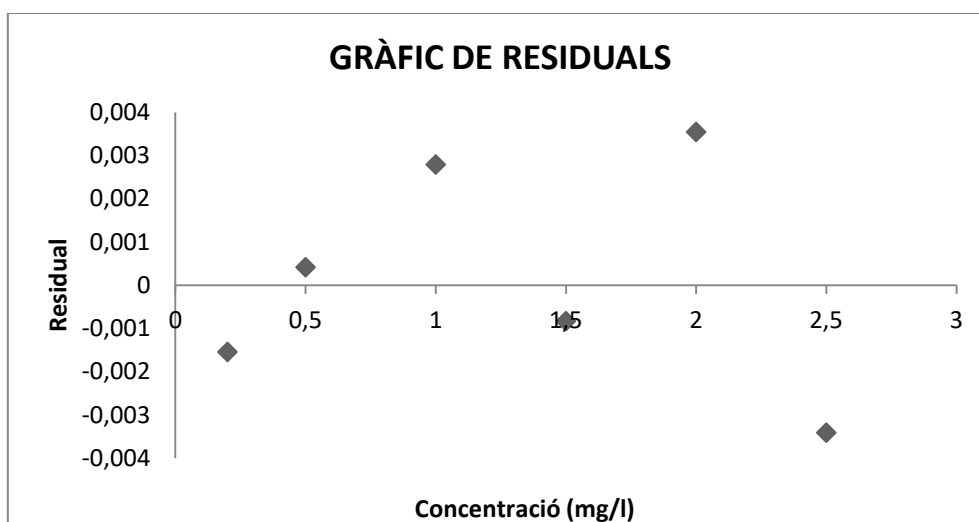


Gràfic 5. Corba de calibratge del Mg mitjançant l'espectrometria d'absorció atòmica per determinar la linealitat

Com s'observa en el gràfic 5 l'interval de linealitat s'adapta al descrit en el PNT de la determinació del Mg per espectrometria d'absorció atòmica, l'interval de linealitat òptim va de 0,2 a 2,5 mg/L. Per tant la recta de calibratge i el gràfic de residuals es farà per aquest interval.

A partir de les tres repeticions del blanc més els sis patrons es va fer la mitjana aritmètica d'aquestes i es va obtenir una sola recta amb el seu coeficient de determinació.

$$y = 0,1512 x + 0,0010 \quad R^2 = 0,9997$$



Gràfic 6. Corba de calibratge del Na mitjançant l'espectrometria d'emissió atòmica per determinar la linealitat.

Observant el gràfic 6 es veu que compleix les condicions que demostren que l'interval de treball per al Mg determinat per espectrometria d'absorció atòmica com que el límit de quantificació és menor a 0,2, l'interval de treball és del 0,2 a 2,5 mg/L. El límit inferior ha de ser igual o més gran que el límit de quantificació. En el gràfic no s'observen tendències, els residuals estan, tant el nombre de valors positius i negatius com el valor absolut d'aquest és el mateix. Si es mira el coeficient de determinació és més gran de 0,995.

5.2 Determinació del límit de detecció i de quantificació

Per calcular tant el límit de detecció com de quantificació s'ha seguit la Guia Eurachem¹⁹. S'han fet 10 mesures duplicades del blanc en condicions de repetibilitat intermèdia, és a dir, durant 10 dies s'han dut a terme 2 mesures al dia. El blanc és la matriu sense l'analit d'interès. Per al mètode utilitzat, el blanc consisteix en 5 ml d'HNO₃ més 5ml d'HCl enrasats en un matràs de 100 ml amb aigua destil·lada, ja que són els reactius utilitzats a l'hora de fer el pretractament de la mostra.

5.2.1 Determinació del Na per espectrometria d'emissió atòmica

Taula 7. Resultats del estudi del límit de detecció i de quantificació per al Na mitjançant EEA.

Rèplica	Recta	A	Concentració (mg/L)
1	$y=2246,44x + 306,82$	248 236	0,026 0,032
2	$y=2491,32x + 195,76$	204 206	0,003 0,004
3	$y=2612,94x + 233,49$	301 316	0,026 0,032
4	$y=2411,83x + 149,10$	259 268	0,046 0,046
5	$y=2389,67x + 177,73$	229 224	0,021 0,019
6	$y=2362,34x + 121,19$	115 127	0,003 0,003
7	$y=2352,63x + 119,01$	179 164	0,026 0,019
8	$y=2125,69x + 301,10$	190 182	0,052 0,056
9	$y=2464,61x + 186,88$	301 292	0,046 0,043
10	$y=2312,22x + 64,65$	147 159	0,036 0,041
Desviació estàndard			0,017

- Límit de detecció:

$$\text{LOD} = 3 \times \text{Desviació estàndard}$$

$$\text{LOD} = 3 \times 0,017$$

$$\text{LOD} = 0,05 \text{ mg/L}$$

- Límit de quantificació:

$$\text{LOQ} = 10 \times \text{Desviació estàndard}$$

$$\text{LOQ} = 10 \times 0,017$$

$$\text{LOQ} = 0,17 \text{ mg/L}$$

El límit de detecció obtingut és de 0,05 mg/L de Na, és la quantitat mínima d'analit que es pot diferenciar significativament del blanc. El límit de quantificació és de 0,17 mg/L de Na, és la quantitat d'analit mínima que es pot quantificar.

5.2.2 Determinació del Na per espectrometria d'absorció atòmica

Taula 8. Resultats del estudi del límit de detecció i de quantificació per al Na mitjançant EAA.

Rèplica	Recta	A	Concentració (mg/L)
1	$y=0,1073x + 0,0038$	0,004 0,005	0,002 0,011
2	$y=0,0930x - 0,0063$	0,003 0,004	0,100 0,110
3	$y=0,0918x + 0,0024$	0,005 0,007	0,029 0,050
4	$y=0,0787x + 0,0071$	0,008 0,006	0,011 0,014
5	$y=0,0844x + 0,0025$	0,000 0,002	0,030 0,006
6	$y=0,0866x + 0,0042$	0,007 0,007	0,032 0,032
7	$y=0,1076x + 0,0007$	0,007 0,006	0,058 0,049
8	$y=0,1035x - 0,0033$	0,007 0,006	0,099 0,089
9	$y=0,1095x + 0,0029$	0,005 0,005	0,019 0,019
10	$y=0,0887x + 0,0010$	0,004 0,003	0,034 0,023
		Desviació estàndard	0,034

- **Límit de detecció:**

$$\text{LOD} = 3 \times \text{Desviació estàndard}$$

$$\text{LOD} = 3 \times 0,034$$

$$\text{LOD} = 0,10 \text{ mg/L}$$

- **Límit de quantificació:**

$$\text{LOQ} = 10 \times \text{Desviació estàndard}$$

$$\text{LOQ} = 10 \times 0,034$$

$$\text{LOQ} = 0,34 \text{ mg/L}$$

El límit de detecció obtingut per al Na és del 0,10 mg/L, és la quantitat mínima d'analit que es pot diferenciar significativament del blanc. El límit de quantificació és del 0,34 mg/L de Na, és la mínima quantitat d'analit que es pot quantificar.

5.2.3 Determinació del Mg per espectrometria d'emissió atòmica

Taula 9. Resultats del estudi del límit de detecció i de quantificació per al Mg mitjançant EAA.

Rèplica	Recta	A	Concentració (mg/L)
1	$y = 0,1819x - 0,0021$	0,002 0,001	0,022 0,017
2	$y = 0,1727x + 0,0036$	0,001 0,001	0,015 0,015
3	$y = 0,1804x + 0,0044$	0,002 0,002	0,013 0,013
4	$y = 0,1574x - 0,0015$	0,000 0,001	0,009 0,016
5	$y = 0,1572x + 0,0018$	0,000 0,001	0,012 0,005
6	$y = 0,0702x - 0,0004$	0,000 0,003	0,006 0,048
7	$y = 0,2154x + 0,0038$	0,004 0,003	0,001 0,004
8	$y = 0,2059x + 0,0034$	0,002 0,003	0,007 0,002
9	$y = 0,1585x + 0,0032$	0,001 0,002	0,014 0,008
10	$y = 0,1404x + 0,0011$	0,000 0,001	0,008 0,001
Desviació estàndard			0,010

- Límit de detecció:

$$\text{LOD} = 3 \times \text{Desviació estàndard}$$

$$\text{LOD} = 3 \times 0,010$$

$$\text{LOD} = 0,03 \text{ mg/L}$$

- Límit de quantificació:

$$\text{LOQ} = 10 \times \text{desviació estàndard}$$

$$\text{LOQ} = 10 \times 0,010$$

$$\text{LOQ} = 0,10 \text{ mg/L}$$

La quantitat mínima de Mg que es pot detectar, és a dir, el límit de detecció és de 0,03 mg/L. I la quantitat mínima de Mg que es pot quantificar, és a dir, el límit de quantificació que és del 0,10 mg/L.

5.3 Determinació de la selectivitat

Es va comprovar si la mostra conté interferències en concret si hi havia la presència de l'efecte matriu. Es van preparar dos rectes amb el mateix interval de concentració utilitzat en l'estudi de la linealitat, una sense addició de la mostra (recta patró) i l'altre addicionant 1 ml de la mostra ja digerida a cada patró (recta d'addicions estàndards), en el cas del magnesi s'afegeixen 2 ml.²⁵

Un cop es van obtenir les dues rectes es van comparar els pendents amb un test t. Abans de fer el test t es va fer el test F Fisher per saber si hi havia o no diferències significatives entre les variàncies, per així poder calcular el test t amb o sense variància conjunta.

En el cas que la $t_{cal} < t_{tab}$ vol dir que no hi ha diferències significatives entre els pendents, per tant, el mètode és selectiu, així que no hi ha efecte matriu i durant tota la validació s'utilitzarà la recta patró.

5.3.1 Determinació del Na per espectrometria d'emissió atòmica

Taula 10. Comparació de la recta patró amb la recta d'addicions estàndards per al Na mitjançant EEA

	Recta patró	Recta addicions
Recta	$y=2192,5x + 245,98$	$y=2202,8x + 2677,9$
Variància de la pendent	543,31	686,23

Primer de tot es va fer el test F Fisher per comparar les variàncies entre els dos mètodes, a partir de les dades obtingudes de l'anàlisi observades en la taula 10.

$$F_{cal} = \frac{26,20}{23,31} = 1,26$$

$$F_{tab (0,05,6,6)} = 4,28$$

Com que la $F_{cal} < F_{tab}$ vol dir que no hi ha diferències significatives entre les variàncies, per tant a l'hora de calcular la t_{cal} s'utilitzarà la fórmula amb la variància conjunta. La variància conjunta va donar un valor de 614,77.

$$t_{cal} = \frac{|2192,5 - 2202,8|}{\sqrt{614,77(\frac{1}{7} + \frac{1}{7})}} = 0,78$$

$$t_{tab (0,05,12)} = 2,18$$

Com que la $t_{cal} < t_{tab}$ vol dir que no hi ha diferències significatives entre els pendents de les rectes, per tant, no hi ha efecte matriu.

5.3.2 Determinació del Na per espectrometria d'absorció atòmica

Taula 11. Comparació de la recta patró amb la recta d'addicions estàndards per al Na mitjançant EAA

	Recta patró	Recta addicions
Recta	$y=0,0893x - 0,0061$	$y=0,0889x + 0,0871$
Variància de la pendent	$8,21 \cdot 10^{-7}$	$6,30 \cdot 10^{-7}$

Un cop es van obtenir els resultats de l'anàlisi, que es poden observar a la taula 11, es va fer el test F per comparar les variàncies entre els dos mètodes.

$$F_{cal} = \frac{8,21 \cdot 10^{-7}}{6,30 \cdot 10^{-7}} = 1,31$$

$$F_{tab(0,05,6,6)} = 4,28$$

La fórmula que es va utilitzar per calcular la t_{cal} va ser la de la variància conjunta, ja que la $F_{cal} < F_{tab}$, així que no hi ha diferències significatives entre les variàncies. La variància conjunta va donar un valor de $7,25 \cdot 10^{-7}$.

$$t_{cal} = \frac{|0,0893 - 0,0889|}{\sqrt{7,25 \cdot 10^{-7} \left(\frac{1}{7} + \frac{1}{7} \right)}} = 1,05$$

$$t_{tab(0,05,12)} = 2,18$$

Com que la $t_{cal} < t_{tab}$ vol dir que no hi ha diferències significatives entre els pendents, així que no hi ha efecte matriu.

5.3.3 Determinació del Mg per espectrometria d'absorció atòmica

Taula 12. Comparació de la recta patró amb la recta d'addicions estàndards per al Mg mitjançant EAA

	Recta patró	Recta addicions
Recta	$y=0,1819x - 0,0021$	$y=0,1854x + 0,0908$
Variància de la pendent	$1,92 \cdot 10^{-6}$	$2,00 \cdot 10^{-5}$

$$F_{cal} = \frac{2,00 \cdot 10^{-5}}{1,92 \cdot 10^{-6}} = 0,10$$

$$F_{tab(0,05,6,6)} = 4,28$$

Com que la $F_{cal} < F_{tab}$ vol dir que no hi ha diferències significatives entre les variàncies, per tant a l'hora de calcular la t_{cal} s'utilitzarà la fórmula amb la variància conjunta. El valor de la variància conjunta és de $1,09 \cdot 10^{-5}$.

$$t_{cal} = \frac{|0,1819 - 0,1854|}{\sqrt{1,09 \cdot 10^{-5} \left(\frac{1}{7} + \frac{1}{7} \right)}} = 1,97$$

$$t_{tab(0,05,12)} = 2,18$$

No hi ha diferències significatives entre els pendents, ja que la $t_{cal} < t_{tab}$. Durant tot l'anàlisi s'utilitzarà la recta patró, ja que no hi ha efecte matriu.

5.4 Determinació de la precisió

Es va calcular la precisió d'acord la Guia Eurachem¹⁹ i l'article Validation of analytical methods²². Seguint un disseny niat es va determinar en un únic estudi tant la repetibilitat com la precisió intermèdia. Per avaluar aquests dos paràmetres es va analitzar el material de referència amb el mateix analista, equip i laboratori, però amb un període de temps prolongat, ja que l'anàlisi es va dur a terme en 10 dies diferents i en cada dia es van fer 2 rèpliques. Al fer l'anàlisi en diferents dies es determina la precisió intermèdia i al fer una mesura duplicada cada dia s'obté la repetibilitat.

Es va estimar la precisió en tres nivells de concentració ocupant tot l'interval de treball. La preparació d'aquestes solucions està explicat a l'apartat 4.3.5.

Un cop obtinguts els resultats, primer de tot es mira si hi ha valors discrepants en cada nivell mitjançant el test de Grubb, en cas d'haver algun valor discrepant aquest s'elimina. A continuació, es va determinar tant la desviació estàndard de la repetibilitat (s_r) com la desviació estàndard de la precisió intermèdia (s_i) mitjançant la taula ANOVA d'un factor. El criteri d'acceptabilitat per la precisió es va seguir en base el coeficient de variació d' Horwitz.

5.4.1 Determinació del Na per espectrometria d'emissió atòmica

Taula 13. Resultats per determinar la precisió per al Na mitjançant EEA.

Dia	Nivell 1 (mg/Kg)	Nivell 2 (mg/Kg)	Nivell 3 (mg/Kg)
26/04/17	5022	5037	5016
	5069	4939	5053
27/04/17	5087	4982	4855
	5004	4924	4755
28/04/17	5011	5027	5020
	5018	5030	5001
02/05/17	5055	5067	4903
	4870	5032	5023
03/05/17	5213	5051	4789
	5072	5090	4965
04/05/17	4990	5066	5010
	4934	5073	5017
05/05/17	5033	5016	4931
	5029	5065	4927
06/05/17	5069	5044	4989
	5073	4995	4928
07/05/17	5014	5045	5007
	4939	4999	4993
08/05/17	4922	4995	4925
	5034	5072	5057
$\bar{x}$	5018	5027	4958
S	61,759	44,359	82,727
G_{cal} (mínima)	2,389	2,343	2,455
G_{cal} (màxima)	1,542	1,414	1,196
G_{tab} (0,05, 9)	2,681		

Abans de determinar si el mètode és precís, es va fer el test de Grubb, primer s'ha de calcular la G_{cal} mitjançant l'equació 5, on x_i és el valor que es vol comprovar que és un outlier, $\bar{x}$ és el valor mitjà dels n resultats i s és la desviació estàndard dels n resultats. Es calcula la G del valor màxim i del valor mínim dels resultats obtinguts per a cada nivell i es compara amb la G_{tab} per a n-1 graus de llibertat i un nivell de significança del 0,05, els tres nivells tenen la mateixa G_{tab} .

$$G_{cal} = \frac{|x_i - \bar{x}|}{S}$$

Equació 5. Obtenció de la G_{cal}

Seguidament es pot observar un exemple de com es va fer el test per al nivell 1.

$$G_{cal}(minim) = \frac{|4870-5018|}{61,759} = 2,389 \quad G_{cal}(màxim) = \frac{|5113-5018|}{61,759} = 1,542$$

$$G_{tab}(0,05,19) = 2,681$$

Com s'observa a la taula 13 es compleix que la $G_{cal} < G_{tab}$ per als tres nivells per tant no hi ha cap punt discrepant entre els resultats obtinguts.

A la taula 14 s'observen les dades obtingudes de fer l'ANOVA per a cada nivell de concentració.

Taula 14. Resultats de fer l'ANOVA per al Na mitjançant la EEA.

		S^2	CV	CV_H
Nivell 1	Repetibilitat	3332,149	1,150	4,437
	Entre dies	508,862	0,450	
	Intermèdia	3841,012	1,235	
Nivell 2	Repetibilitat	1426,887	0,745	4,430
	Entre dies	570,890	0,471	
	Intermèdia	1997,776	0,881	
Nivell 3	Repetibilitat	3924,792	1,239	4,432
	Entre dies	3081,099	1,098	
	Intermèdia	7005,891	1,655	

S'apliquen els criteris de qualitat tant de la repetibilitat com de la precisió intermèdia per comprovar que el mètode és precís.

Nivell 1:

$$\text{Repetibilitat: } CV < 1/2 CV_H \rightarrow 1,150 < 2,219$$

$$\text{Precisió intermèdia: } CV < 2/3 CV_H \rightarrow 1,235 < 2,958$$

Nivell 2:

$$\text{Repetibilitat: } CV < 1/2 CV_H \rightarrow 0,745 < 2,215$$

$$\text{Precisió intermèdia: } CV < 2/3 CV_H \rightarrow 0,881 < 2,954$$

Nivell 3:

$$\text{Repetibilitat: } CV < 1/2 CV_H \rightarrow 1,239 < 2,216$$

$$\text{Precisió intermèdia: } CV < 2/3 CV_H \rightarrow 1,655 < 2,955$$

Per als tres nivells es compleixen els criteris d'acceptació, així que es compleixen els estàndard de qualitat de la precisió. En definitiva vol dir que el mètode és precís tant en condicions de repetibilitat com de reproductibilitat.

5.4.2 Determinació del Na per espectrometria d'absorció atòmica

Taula 15. Resultats per determinar la precisió per al Na mitjançant EAA.

Dia	Nivell 1 (mg/Kg)	Nivell 2 (mg/Kg)	Nivell 3 (mg/Kg)
26/04/17	4894	5005	4990
	5069	5034	5046
27/04/17	5004	5097	4959
	4906	4918	4793
28/04/17	5132	5063	5091
	5019	4949	4935
02/05/17	5065	5072	4997
	5174	5028	4789
03/05/17	5147	5007	5067
	5034	5048	4957
04/05/17	4922	5087	4999
	5215	4999	4944
05/05/17	5064	5027	4968
	4860	5006	4954
06/05/17	4973	5088	5014
	4963	5001	4975
07/05/17	5132	5066	4989
	5061	5040	5017
08/05/17	4988	5032	5004
	5051	5050	4982
$\bar{x}$	5034	5031	4974
S	97,116	45,201	74,082
G_{cal} (mínima)	1,784	2,497	2,476
G_{cal} (màxima)	1,866	1,474	1,573
G_{tab} (0,05, 9)	2,681		

A continuació hi ha un exemple per al primer nivell de com s'ha fet el test de Grubb,

$$G_{cal}(minim) = \frac{|4860-5034|}{97,116} = 1,784$$

$$G_{cal}(màxim) = \frac{|5215-5034|}{97,116} = 1,866$$

$$G_{tab}(0,05,19) = 2,681$$

Com s'observa a la taula 15 es compleix que la $G_{cal} < G_{tab}$ per als tres nivells per tant no hi ha cap punt discrepant entre els resultats obtinguts.

A continuació a la taula s'observen les dades obtingudes de fer l'ANOVA per a cada nivell de concentració.

Taula 16. Resultats de fer l'ANOVA per al Na mitjançant EAA.

		S^2	CV	CV_H
Nivell 1	Repetibilitat	10720,327	2,057	4,433
	Entre dies	1360,496	0,733	
	Intermèdia	12080,823	2,184	
Nivell 2	Repetibilitat	3320,817	1,145	4,433
	Entre dies	1348,689	0,730	
	Intermèdia	4669,510	1,358	
Nivell 3	Repetibilitat	10720,327	1,537	4,442
	Entre dies	1360,496	0,390	
	Intermèdia	12080,823	1,586	

Seguidament es pot veure com s'apliquen els criteris d'acceptació d'Horwitz en els tres nivells per comprovar la qualitat de la precisió.

Nivell 1:

$$\text{Repetibilitat: } CV < 1/2 CV_H \rightarrow 2,057 < 2,217$$

$$\text{Precisió intermèdia: } CV < 2/3 CV_H \rightarrow 2,184 < 2,955$$

Nivell 2:

$$\text{Repetibilitat: } CV < 1/2 CV_H \rightarrow 1,146 < 2,217$$

$$\text{Precisió intermèdia: } CV < 2/3 CV_H \rightarrow 1,358 < 2,955$$

Nivell 3:

$$\text{Repetibilitat: } CV < 1/2 CV_H \rightarrow 1,537 < 2,221$$

$$\text{Precisió intermèdia: } CV < 2/3 CV_H \rightarrow 1,586 < 2,961$$

En els tres casos es compleixen els criteris d'acceptació d'Horwitz, això vol dir, que el mètode per determinar el Na mitjançant l'espectrometria d'absorció atòmica és precís.

5.4.3 Determinació del Mg per espectrometria d'absorció atòmica

Taula 17. Resultats per determinar la precisió per al Mg mitjançant EAA.

Dia	Nivell 1 (mg/Kg)	Nivell 2 (mg/Kg)	Nivell 3 (mg/Kg)
26/04/17	259	252	250
	253	241	248
27/04/17	247	265	251
	253	269	249
28/04/17	256	248	264
	245	249	246
02/05/17	254	241	240
	266	252	258
03/05/17	242	230	233
	236	251	243
04/05/17	257	257	251
	271	244	250
05/05/17	258	252	258
	257	242	238
06/05/17	232	249	249
	255	256	265
07/05/17	239	241	253
	246	244	256
08/05/17	250	256	254
	265	262	259
$\bar{x}$	252	250	251
S	10,273	9,237	8,323
G_{cal} (mínima)	1,988	2,174	2,080
G_{cal} (màxima)	1,888	2,002	1,718
G_{tab} (0,05, 9)	2,681		

Un cop obtingudes les dades s'ha fet el test de Grubb per als tres nivells de concentració, seguidament es veu un exemple del nivell 1.

$$G_{cal}(minim) = \frac{|232-252|}{10,273} = 1,988$$

$$G_{cal}(màxim) = \frac{|271-252|}{10,273} = 1,868$$

$$G_{tab}(0,05,19) = 2,681$$

No hi ha cap punt discrepant en cap dels resultats dels tres nivells ja que com s'observa a la taula 17 en tots 3 casos es compleix que la $G_{cal} < G_{tab}$.

A continuació a la taula s'observen les dades obtingudes de fer l'ANOVA per a cada nivell de concentració.

Taula 18. Resultats de fer l'ANOVA per al Mg mitjançant EAA.

		S²	CV	CV_H
Nivell 1	Repetibilitat	72,163	3,370	6,961
	Entre dies	35,234	2,355	
	Intermèdia	107,397	4,112	
Nivell 2	Repetibilitat	52,031	2,884	6,969
	Entre dies	35,135	2,370	
	Intermèdia	87,166	3,733	
Nivell 3	Repetibilitat	74,561	3,444	6,966
	Entre dies	5,588	0,943	
	Intermèdia	80,150	3,571	

A continuació s'observa com s'apliquen els criteris d'acceptació d'Horwitz en els tres nivells per comprovar la qualitat de la precisió.

Nivell 1:

$$\text{Repetibilitat: } CV < 1/2 CV_H \rightarrow 3,370 < 3,484$$

$$\text{Precisió intermèdia: } CV < 2/3 CV_H \rightarrow 4,112 < 4,641$$

Nivell 2:

$$\text{Repetibilitat: } CV < 1/2 CV_H \rightarrow 2,884 < 3,484$$

$$\text{Precisió intermèdia: } CV < 2/3 CV_H \rightarrow 3,733 < 4,646$$

Nivell 3:

$$\text{Repetibilitat: } CV < 1/2 CV_H \rightarrow 3,444 < 3,483$$

$$\text{Precisió intermèdia: } CV < 2/3 CV_H \rightarrow 3,571 < 4,644$$

En els tres casos es compleixen els criteris d'acceptació d'Horwitz, això vol dir, que el mètode per determinar el Na mitjançant l'espectrometria d'absorció atòmica és precís.

5.5 Determinació de la veracitat

Seguint la Guia Eurachem¹⁹ i l'article Validation of analytical methods²² es va comprovar si el mètode és veraç o no. Es van fer 10 mesures independents en el mateix dia, del material de referència mitjançant el mètode candidat, explicat anteriorment.

Per comprovar que el mètode és exacte en tot l'interval de concentració s'ha avaluat la veracitat en 3 nivells de concentració baix, mitja i alt. La preparació d'aquestes solucions està explicat en l'apartat 4.3.5.

Un cop obtinguts els resultats primer s'ha de comprovar que no hi ha cap valor discrepant per això es fa el test de Grubb, en el cas d'haver-hi algun valor discrepant s'elimina. A continuació es compara estadísticament el valor mitjà obtingut de les mesures del mètode amb el valor de referència mitjançant el test t Student de dues cues amb un interval de confiança del 95% ($\alpha=0.05$) i amb $n-1$ graus de llibertat.

Normalment amb el material de referència ve donada la incertesa final (U), encara que per calcular la veracitat es necessita la incertesa combinada estàndard, $u(x_{ref})$, que es calcula com U/k , on la U és la incertesa total i la k és el factor de cobertura. En el cas del Na $u(x_{ref})= 182$ del Mg la $u(x_{ref})= 26,82$ i en el cas del Na $u(x_{ref})= 182$.

5.5.1 Determinació del Na per espectrometria d'emissió atòmica

Taula 19. Resultats per determinar la veracitat per al Na mitjançant EEA.

Rèplica	Nivell 1 (mg/kg)	Nivell 2 (mg/kg)	Nivell 3 (mg/kg)
1	5055	5032	5003
2	4981	5030	4945
3	5058	4988	5025
4	5001	4972	4973
5	4991	5001	5016
6	4926	5076	4953
7	4971	4952	4982
8	5030	5038	5023
9	5040	5064	5009
10	4996	4982	4969
$\bar{x}$	5005	5013	4990
S	41,275	40,874	29,401
G_{cal} (mínima)	1,904	1,511	1,528
G_{cal} (màxima)	1,284	1,542	1,211
$G_{tab} (0,05, 9)$	2,215		
t_{cal}	0,28	0,18	1,23
$t_{tab} (0,05, 9)$	2,26		

Abans de comprovar la veracitat del mètode s'ha de fer un pretractament de les dades previes per comprovar que no hi ha cap outlier mitjançant el test de Grubb. A continuació es veu un exemple per calcular el test de Grubb en el nivell 1.

$$G_{cal}(minim) = \frac{|4926-5005|}{41,275} = 1,904$$

$$G_{cal}(màxim) = \frac{|5058-5005|}{41,275} = 1,284$$

$$G_{tab(0,05,9)} = 2,215$$

Com es pot veure a la taula 19 pels tres nivells es compleix que la $G_{cal} < G_{tab}$, per tant no hi ha cap punt discrepant entre els resultats obtinguts.

Un cop s'ha comprovat que no hi ha la presència de cap valor discrepant, ja es pot determinar si el mètode és veraç mitjançant el test t de Student.

A continuació es pot veure un exemple de com s'ha calculat la t_{cal} per al nivell 1, en tots els nivells es calcula de la mateixa forma.

$$t_{cal} = \frac{|5010 - 5005|}{\sqrt{182^2 \frac{41,275^2}{10}}} = 0,28$$

$$t_{tab(0,05,9)} = 2,26$$

Com es pot observar a la taula en els tres nivells la $t_{cal} < t_{tab}$, per tant no hi ha diferències significatives entre les mitjanes del valor obtingut dels 10 assajos i el valor de referència. Per tant es demostra que el mètode per determinar Na en les galetes mitjançant l'espectrometria d'emissió atòmica en tot l'interval de linealitat és veraç.

5.5.2 Determinació del Na per espectrometria d'absorció atòmica

Taula 20. Resultats per determinar la veracitat per al Na mitjançant EAA.

Rèplica	Nivell 1 (mg/kg)	Nivell 2 (mg/kg)	Nivell 3 (mg/kg)
1	5076	5038	4983
2	4930	5010	4992
3	4986	5066	4996
4	4983	5033	5016
5	5077	5039	5021
6	5068	5089	5034
7	4928	4994	4998
8	5053	5015	4990
9	5000	5051	5004
10	4917	4983	4980
$\bar{x}$	5002	5032	5001
S	63,774	32,500	17,392
G_{cal} (mínima)	1,326	1,508	1,242
G_{cal} (màxima)	1,179	1,760	1,883
$G_{tab (0,05, 9)}$	2,215		
t_{cal}	0,044	0,119	0,048
$t_{tab (0,05, 9)}$	2,26		

Primer de tot es fa el test de Grubb per comprovar que no hi ha cap punt discrepant. A continuació es veu un exemple per calcular aquest test en el nivell 1.

$$G_{cal}(minim) = \frac{|4917-5002|}{63,774} = 1,326$$

$$G_{cal}(màxim) = \frac{|5077-5002|}{63,774} = 1,179$$

$$G_{tab(0,05,9)} = 2,215$$

Com es pot veure a la taula 20 tant per als tres nivells es compleix que la $G_{cal} < G_{tab}$, per tant no hi ha cap punt discrepant entre els resultats obtinguts.

Un cop s'ha comprovat que no hi ha la presència de cap valor discrepant, ja es pot determinar si el mètode és veraç mitjançant el test t de Student. A continuació es pot veure un exemple de com s'ha calculat la t_{cal} per al nivell 1, en tots els nivells es calcula de la mateixa forma.

$$t_{cal} = \frac{|5010 - 5002|}{\sqrt{182^2 \frac{63,774^2}{10}}} = 0,044$$

$$t_{tab(0,05,9)} = 2,26$$

En els tres nivells com es pot veure a la taula es compleix la condició en què la $t_{cal} < t_{tab}$, per tant la mitjana dels 10 assajos no difereix estadísticament del valor de referència, per a un nivell de significació del 0,05. Per tant es demostra que el mètode per determinar Na en les galetes mitjançant l'espectrometria d'absorció atòmica en tot l'interval de linealitat és veraç.

5.5.3 Determinació del Mg per espectrometria d'absorció atòmica

Taula 21. Resultats per determinar la veracitat per al Mg mitjançant EAA.

Rèplica	Nivell 1 (mg/kg)	Nivell 2 (mg/kg)	Nivell 3 (mg/kg)
1	217	226	223
2	256	251	257
3	247	253	251
4	255	259	250
5	260	256	258
6	247	255	253
7	241	240	239
8	249	245	249
9	233	239	236
10	242	248	249
$\bar{x}$	245	248	246
S	12,637	9,982	10,674
G_{cal} (mínima)	2,219	2,141	2,155
G_{cal} (màxima)	1,220	1,126	1,089
G_{tab} (0,05, 9)	2,215		
t_{cal}	0,34	0,29	0,28
t_{tab}	2,26		

A continuació es veu un exemple per calcular el test de Grubb en el nivell 1.

$$G_{cal}(minim) = \frac{|217-245|}{12,637} = 2,129$$

$$G_{cal}(màxim) = \frac{|260-245|}{12,637} = 1,220$$

$$G_{tab(0,05,9)} = 2,215$$

Com es pot veure a la taula 21 tant per als tres nivells es compleix que la $G_{cal} < G_{tab}$, per tant no hi ha cap punt discrepant entre els resultats obtinguts. A continuació es pot veure un exemple de com s'ha calculat la t_{cal} per al nivell 1, en tots els nivells es calcula de la mateixa forma.

$$t_{cal} = \frac{|256 - 245|}{\sqrt{26,82^2 \frac{12,637^2}{10}}} = 0,34$$

$$t_{tab(0,05,9)} = 2,26$$

En els tres nivells com es pot veure a la taula es compleix la condició en què la $t_{cal} < t_{tab}$, per tant la mitjana dels 10 assajos no difereix estadísticament del valor de referència, per a un nivell de significació del 0,05. Per tant es demostra que el mètode per determinar Mg en les galetes mitjançant l'espectrometria d'absorció atòmica en tot l'interval de linealitat és veraç.

5.6 Discussió i comparativa de l'espectroscòpia d'absorció i d'emissió atòmica per determinar el Na.

Després d'analitzar els resultats de la determinació del sodi i consultar la bibliografia¹, s'ha pogut fer un llistat dels avantatges i inconvenients dels dos mètodes per així decidir quin és el millor.

Taula 22. Comparació dels dos mètodes EAA i EEA.

	Emissió	Absorció
Font de radiació	La mateixa flama.	Una làmpada per cada element o conjunt d'elements.
Monocromador	Qualitat elevada.	Com les línies emeses per la làmpada són estretes no ha de ser d'alta qualitat.
Habilitat de l'operador	Ha de ser major a causa de la naturalesa crítica dels ajusts com la longitud d'ona o la relació entre el combustible i l'oxidant.	Pot ser menor que per l'EEA.
Interferències espectrals	Apareixen interferències espectrals, encara que es poden detectar i evitar fàcilment.	L'aparició d'interferències espectrals és menor.
Interferències químiques	Els dos mètodes poden patir aquest tipus d'interferències de forma similar.	
Límits de detecció i quantificació	LOD= 0,05 LOQ= 0,17	LOD= 0,10 LOQ= 0,34
Interval de linealitat	En els dos casos s'ha determinat que tenen el mateix interval que va dels 0,8 als 10 mg/L.	
Exactitud i precisió	Com es pot veure en els apartats anteriors, els dos mètodes són precisos i verços, per tant són exactes.	
Selectivitat	En els dos casos no hi ha efecte matriu per tant s'utilitzarà una recta patró per realitzar l'anàlisi	

Els dos mètodes són apropiats per analitzar el Na en les galetes, no obstant és preferible utilitzar l'espectrometria d'emissió atòmica. Com que els paràmetres són molt similars en els dos casos, i l'habilitat de l'operador no és un impediment, ja que en laboratori Analític Vall tot el personal està qualificat. El factor decisiu és la font de radiació que per l'EAA es necessita utilitzar una làmpada diferent per a cada element i té un temps de vida limitat, en canvi per a la EEA no és necessari, ja que aquesta funció la fa la flama.

6 CONCLUSIONS

- It has been shown that these methods are used to determine sodium and magnesium in biscuits with good accuracy and relatively quickly.
- Therefore, absorption and emission atomic spectroscopy are optimal for determining the sodium in biscuits, but it is preferred to use atomic emission spectroscopy because you need a source of external radiation which is the same flame.
- While the two methods to determine the sodium by EAA and the EEA have a linear range of 0,8 to 10 mg / L. The range for determining magnesium by EAA is 0,2 to 2,5 mg / L.
- The detection limit for sodium by the EEA and EEA and magnesium by EAA are respectively 0,05, 0,10 and 0,0 , and the limits of quantification are 0,17, 0,34 and 0,10.
- These methods have no effect matrix, so the calibration line to be used in the analysis is the line pattern.
- As shown with the Student t test the methods have a good repeatability and intermediate precision, the variation obtained on the same day and on different days is not significant. These methods are precise and trueness, so too are accurate.

7 AGRAÏMENTS

Vull donar les gràcies a totes aquelles persones que m'han ajudat o col·laborat en fer possible la realització d'aquest projecte, ja que sense la seva ajuda no hauria estat possible.

En concret, a les persones del Laboratori Analític Valls per permetre'm realitzar aquest treball i donar-me el suport i les eines necessàries per dur-lo a terme. Treballar en aquest centre ha estat una experiència enriquidora a nivell professional, ja que m'ha permès ampliar i posar en pràctica els coneixements de química apresos fins ara.

També vull agrair al meu tutor acadèmic Xavier Rius per les seves orientacions i consells que m'han permès poder tirar aquest projecte endavant.

8 BIBLIOGRAFIA

- (1) Skoog, D. A.; Leary, J. J.; Ariño Blasco, C. *Análisis instrumental*; McGraw-Hill: Madrid :, 1994. 227-267
- (2) Compañó Beltrán, R.; Universitat de Barcelona. Departament de Química Analítica. *Experimentació en química analítica*; Publicacions i Edicions de la Universitat de Barcelona, 2007. 27-29
- (3) Skoog, D. A.; Holler, F. J.; Nieman, T. A.; Martín Gómez, M. del C. *Principios de análisis instrumental*, 5a ed.; McGraw-Hill Interamericana: Madrid [etc.] :, 2001. 157-159
- (4) *Aanalyst 400 Hardward guide*; Perkin Elmer:, 2004. 67
- (5) Faus Payá, J.; Garcia-España, E.; Moratal Mascarell, J.; Vallet, M. *Introducción a la química bioionorgánica*; Síntesis: Madrid :, 2003. 373-374
- (6) Casas Fernández, J. S. *Química bioinorgánica*; Síntesis: Madrid :, 2002. 231-235
- (7) Bódalo Santoyo, A.; Gómez Gómez, E.; Máximo, M. F. *Química en Murcia, 2002: 50 aniversario de los colegios de químicos de España*; Universidad de Murcia, Servicio de Publicaciones, 2002. 62-66
- (8) Alberto March. OMS: Ingesta de sodio en adultos y niños. http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/85224/1/WHO_NMH_NHD_13.2_spa.pdf?ua=1&ua=1 (Data de consulta 17 maig 2017)
- (9) Moore, K. L.; Persaud, T. V. N. *Embriología clínica: el desarrollo del ser humano*; Elsevier, 2004. 20-21
- (10) Baran, E. J. *Química bioinorgánica*; McGraw-Hill: Madrid :, 1995. 190
- (11) Téllez Villagómez, M. E.; Martínez Moreno, M. *Nutrición clínica*; Manual Moderno, 2014.
- (12) Williams, M. H. *Nutrición: para la salud, la condición física y el deporte*; Editorial Paidotribo, 2002. 253
- (13) Agencia Estatal Boletín Oficial del Estado. Real Decreto 930/1992, de 5 agosto 1992 por el que se aprueba la norma de etiquetado sobre propiedades nutritivas de los productos alimenticios. <https://www.boe.es/boe/dias/1992/08/05/pdfs/A27381-27383.pdf> (Data de consulta 17 maig 2017)

- (14) Ministerio de medio ambiente y medio rural y marino. GUÍA MARCO DE PRÁCTICAS CORRECTAS en el Sector de FABRICACIÓN DE GALLETAS Orientaciones para la aplicación de la legislación en higiene y seguridad alimentaria, la implementación de sistemas de autocontrol y la creación de instrumentos de información. http://www.mapama.gob.es/es/alimentacion/temas/industria-agroalimentaria/Gu%C3%ADa_Marco_Pr%C3%A1cticas_Fabricaci%C3%B3n_de_galletas_tcm7-203291.pdf (Data de consulta 29 abril 2017)
- (15) Gil Hernández, A.; Sánchez de Medina Contreras, F. *Tratado de nutrición*; Médica-Panamericana, 2010. 120
- (16) Centro de Información Tecnológica (Chile). *Información tecnológica*.; Centro de Información Tecnológica. 5.
- (17) Instituto de la Galleta, nutrición y salud <http://institutodelagalleta.com/galletasNutricion.php?cl=2> (Data de consulta 29 abril 2017).
- (18) Ministerio de agricultura y pesca, alimentación y medio ambiente. Informe del consumo de alimentación en España año 2016. http://www.mapama.gob.es/imagenes/es/informeannualconsumo2016_tcm7-422016.pdf (Data de consulta 12 maig 2017)
- (19) Guía, U.; Laboratorio, D.; Métodos, V. De. *La Adecuación al Uso de los Métodos* Eurolab España. P.P. Morillas y colaboradores. *Guia Eurachem: La adecuación al uso de los métodos analíticos - Una Guia de laboratorio para la validación de métodos y temas relacionados* (1a ed. 2016). Disponible en www.eurachem.org.
- (20) Sierra Alonso, I. *Análisis instrumental: algunas herramientas de enseñanza-aprendizaje adaptadas al Espacio Europeo de Educación Superior*; Netbiblo, 2010. 9-11
- (21) AOAC Guidelines for Single Laboratory Validation of Chemical Methods for Dietary Supplements and Botanicals https://www.aoac.org/aoac_prod_imis/AOAC_Docs/StandardsDevelopment/SLV_Guidelines_Dietary_Supplements.pdf.(Data de consulta 2 maig 2017)
- (22) Boqué, B. R.; Maroto, A.; Riu, J.; Rius, F. X. Validation of Analytical Methods. **2002**, 53, 128-143.
- (23) Sagrado Vives, S. *Manual práctico de calidad en los laboratorios: enfoque ISO 17025*; AENOR: Madrid :, 2005.
- (24) Validación de métodos y determinación de la incertidumbre de la medición: «Aspectos generales sobre la validación de métodos». **2010**. 9

- (25) Rodríguez, R.; Cecilia, A.; Saucedo, L.; Chávez, M.; Sierra, M.; Subirat, Z.; Cecilia, A.; Rodríguez, R.; Saucedo, B. L.; Chávez, L. M.; et al. Validación de un método de determinación de Na , K , Cd , Pb y Hg por Espectrometría de Absorción Atómica en policosanol y extracto purificado de cera de caña. **2005**.
- (26) Díaz, P.; Fernández, P. Investigación: Métodos paramétricos para la comparación de dos medias. t de Student. **2001**, 8, 37-41.
- (27) ICH HARMONISED TRIPARTITE GUIDELINE VALIDATION OF ANALYTICAL PROCEDURES: TEXT AND METHODOLOGY Q2(R1) Guideline on Validation of Analytical Procedures: Methodology developed to complement the Parent Guideline. https://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q2_R1/Step4/Q2_R1_Guideline.pdf (Data de consulta 1 maig 2017)
- (28) Cook, K. K. Extension of dry ash atomic absorption and spectrophotometric methods to determination of minerals and phosphorus in soy-based, whey-based, and enteral formulae (modification of AOAC Official Methods 985.35 and 986.24): collaborative study. *J. AOAC Int.* 80 (4), 834-844.
- (29) APHA-AWWA-WPCF. *Métodos normalizados para el análisis de aguas potables y residuales*; 1992.
- (30) Setting standards in analytical science LGC. Statement of measurement: sweet digestive biscuit. LGC7103. Disponible en www.igcgroup
- (31) Sogorb Sánchez, M. Vilanova Gisbert, E. *Técnicas analíticas de contaminantes químicos: Aplicaciones toxicológicas, medioambientales y alimentarias*; 2004.
- (32) Ácido nítrico; ICSC No 0183 [Online]: Oct, 2006. <http://www.insht.es/InshtWeb/Contenidos/Documentacion/FichasTecnicas/FISQ/Ficheros/101a200/nspn0183.pdf> (Data de consulta 29 maig 2017).
- (33) Cloruro de hidrógeno; ICSC No 0163 [Online]: Abr, 2000. <http://www.insht.es/InshtWeb/Contenidos/Documentacion/FichasTecnicas/FISQ/Ficheros/101a200/nspn0163.pdf> (Data de consulta 29 maig 2017).