



UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI



**VALIDACIÓ D'UN MÈTODE
CROMATOGRÀFIC PER A LA
DETERMINACIÓ D'HIDROCARBURS
AROMÀTICS POLICÍCLICS (PAHs) I
PLAGUICIDES ORGANOCJORATS (OCPs)
MITJANÇANT SBSE-GC-MS/MS**

TREBALL DE FI DE MÀSTER

JUNY 2022

Alumne: Albert Miravent Sans

Tutor acadèmic: Francesc Borrull Ballarín

Empresa: Consorci d'Aigües de Tarragona

Tutora empresa: Josepa Fàbregas Serra

Màster en Tècniques Cromatogràfiques Aplicades

AGRAÏMENTS

En primer lloc, agrair a la entitat del Consorci d'Aigües de Tarragona per haver-me donat la oportunitat de realitzar aquest estudi al seu laboratori. Concretament donar les gràcies a la Josepa Fàbregas Serra que ha sigut la responsable de deixar-me formar part de l'empresa i també a tots els treballadors de tots els departaments del laboratori, sense deixar-me ningú, per la seva constant atenció, ajuda i facilitats que m'han proporcionat al llarg d'aquestes setmanes.

També donar les gràcies al Francesc Borrull Ballarín, el tutor acadèmic, pel seu constant suport i ajut proporcionat cap a mi sempre i quan ho he necessitat. A més, aquest suport sempre ha sigut immediat i és d'agrair entenent el volum de feina com a investigador i professor de la Facultat de Química.

I finalment donar les gràcies a la meva família i als meus amics, que han estat en tot moment al meu costat, s'han preocupat i han donat tot tipus de suport en qualsevol moment de necessitat.

Moltes gràcies.

ÍNDEX

1. RESUM.....	1
2. OBJECTIUS.....	3
3. INTRODUCCIÓ	4
4. MARC TEÒRIC.....	6
4.1. Compostos.....	6
4.1.1. Hidrocarburs aromàtics policíclics (PAHs).....	6
4.1.2. Plaguicides organoclorats (OCPs).....	7
4.2. Instrumentació.....	8
4.2.1. Procés d'extracció	8
4.2.2. Desorció tèrmica	8
4.2.3. Cromatografia de gasos-espectroscòpia de masses (GC-MS/MS).....	9
4.3. Validació d'un mètode	10
4.3.1. Límit de quantificació	11
4.3.2. Linealitat	12
4.3.3. Precisió.....	13
4.3.4. Exactitud	14
4.3.5. Incertesa	15
4.3.5.1. Component de la reproductibilitat de la incertesa	16
4.3.5.2. Component del biaix de la incertesa.....	19
5. PART EXPERIMENTAL	21
5.1. Presa de mostra	21
5.2. Equips, material, reactius i patrons	21
5.2.1. Equips.....	21
5.2.2. Material	21
5.2.3. Reactius	22
5.2.4. Patrons.....	22
5.3. Procés d'extracció i preparació de patrons i mostres	25
5.4. Condicions cromatogràfiques.....	26
6. RESULTATS	27
6.1. Validació del mètode.....	27
6.1.1. Límit de quantificació	27
6.1.2. Linealitat	27
6.1.3. Comparació de pendents de rectes en diferents matrius.....	29
6.1.4. Precisió.....	31
6.1.5. Exactitud	33

6.1.6. Incertesa	34
6.1.6.1. Component de la reproductibilitat de la incertesa	34
6.1.6.2. Component del biaix de la incertesa.....	35
7. CONCLUSIONS	38
8. BIBLIOGRAFIA.....	39
9. ANNEXOS.....	41
9.1. ANNEX 1: Informació detallada dels compostos del mètode.....	41
9.2. ANNEX 2: Exemples de cromatogrames.....	44

1. RESUM

La possible presència de microcontaminants orgànics en el medi ambient provoca que els laboratoris hagin de desenvolupar diferents mètodes amb l'objectiu de determinar i quantificar aquests tipus de compostos. Concretament, el laboratori de l'Estació de Tractament d'Aigua Potable (ETAP) del Consorci d'Aigües de Tarragona analitza i controla la presència d'aquests en aigües continentals i de consum. El primer cas fa referència a l'aigua d'entrada a la planta de tractament, anomenada mostra EB0, que prové del riu Ebre gràcies a un sistema de bombament. El segon cas correspon a l'aigua de sortida de la planta, anomenada EB1, que es reparteix per als diferents ajuntaments i indústries de tota la província de Tarragona.

Un cop el mètode s'ha desenvolupat i optimitzat, un procés important és la validació del mètode per a proporcionar la màxima traçabilitat possible i la màxima fiabilitat dels resultats a proporcionar. Aquest estudi es centra concretament en aquest procediment tenint en compte el que marca la llei RD 140/2003 i les seves diferents versions.

L'arribada d'un equip instrumental nou implica posar-lo en marxa i realitzar aquest procés de validació per a una possible acreditació per ENAC mitjançant la ISO 17025 en un futur no molt llunyà. La determinació d'aquests compostos es realitza mitjançant una extracció *Stir Bar Sorptive Extraction* (SBSE) acoblada a la cromatografia de gasos (GC) amb l'espectroscòpia de masses en tàndem (MS/MS) com a detector, concretament amb un triple quadrupol (QqQ) com a analitzador.

The possible presence of organic microcontaminants in the environment promotes the development of different methods to determine and quantify these types of compounds by the laboratories. Specially, the laboratory of the Drinking Water Treatment Plant (DWTP) of *Consorti d'Aigües de Tarragona* analyses and monitors their presence in inland and drinking water. The first case refers to the water entering the treatment plant, called EB0 sample, which comes from the Ebro River thanks to a pumping system. The second case corresponds to the outlet water of the plant, called EB1 sample, which is distributed to the different municipalities and industries throughout the province of Tarragona.

An important process when the method has been developed and optimized is its validation to provide the maximum possible traceability and the maximum reliability of the results to be provided. This study focuses specifically on this procedure taking into account the provisions of RD 140/2003 and its different versions.

The arrival of new instrumental equipment means launching it and carrying out this validation process for possible ENAC accreditation through ISO 17025 in the not-too-distant future. The determination of these compounds is performed by a Stir Bar Sorptive Extraction (SBSE) coupled to gas chromatography (GC) with tandem mass spectroscopy (MS/MS) as a detector, specifically with a triple quadrupole (QqQ) as an analyser.

2. OBJECTIUS

El principal objectiu d'aquest treball consisteix en realitzar la validació d'un mètode d'anàlisi de microcontaminants orgànics regulats i emergents mitjançant una extracció *Stir Bar Sorptive Extraction* i la tècnica analítica de cromatografia de gasos acoblada a la detecció d'espectrometria de masses en tàndem (SBSE-GC-MS/MS) en mostres d'aigües continentals i destinades al consum humà per a una futura acreditació ENAC basada en la norma ISO 17025. Dintre d'aquest objectiu, també apareixen altres objectius secundaris com són els següents:

- Aprendre a utilitzar i a fer funcionar l'equip instrumental de treball i el seu software.
- Familiaritzar amb els possibles problemes tècnics que pot presentar l'equip tenint en compte d'on provenen i com es poden solucionar.
- Assabentar-se i assimilar quin és el funcionament diari d'un laboratori de rutina.
- Aprendre el funcionament d'un sistema de qualitat dintre d'un laboratori químic, concretament aquell que es basa en la norma ISO 17025.

3. INTRODUCCIÓ

El Consorci d'Aigües de Tarragona (CAT)¹ és un ens amb personalitat jurídica pròpia sense ànim de lucre creat formalment a l'any 1985. Amb les dues comunitats de regants, ajuntaments i indústries i representant de la Generalitat es va formar aquesta institució degut a que el desenvolupament econòmic de la zona es veia perillar degut a la falta d'aigua a finals dels anys 70. En aquest temps es va produir una important expansió industrial, agrícola i de serveis provocant un augment considerable de consum d'aigua provocant una salinització dels pous i exhaurint els recursos subterranis.

La principal funció del CAT és captar l'aigua procedent dels canals dels marges esquerre i dret del riu Ebre amb l'objectiu de tractar-la i distribuir-la als consorciats, concretament a 72 ajuntaments i 25 indústries de tota la província de Tarragona. La quantitat màxima que pot captar són 4 m³/s i està regulat per la llei 18/81.

Un cop l'aigua és captada, aquesta és tracta mitjançant diversos processos a l'Estació de Tractament d'Aigua Potable (ETAP) situat a l'Ampolla (Tarragona). L'aigua dels canals es capta per aspiració fins a l'Estació de Bombament Zero (EB0) on és bombejada fins a la planta de tractament. Durant tot el procés de potabilització s'utilitzen diverses tècniques mecàniques i físiques, com per exemple floculadors amb turbines, decantadors, filtres de sorra i filtres de carbó actiu. A més diversos reactius són utilitzats, com són el CO₂ per a regular l'acidesa, O₃ per a microorganismes, microcontaminants i oxidar compostos orgànics, FeCl₃ com a coagulant i polidagma com a additiu floculant. Per acabar, l'aigua tractada és acumulada a uns depòsits els quals a la seva sortida tenen un últim procés de postcloració i a continuació es distribueix per tota la xarxa gràcies a un sistema de bombeig (aigua EB1).

A la mateixa planta de tractament, el Consorci d'Aigües de Tarragona disposa d'un Laboratori de Qualitat (LQAigua) amb l'objectiu principal de garantir la qualitat i la seguretat de l'aigua distribuïda. Aquest laboratori disposa d'una instrumentació i tecnologia avançada per a poder realitzar analítiques orgàniques, inorgàniques, microbiològiques i radioactives. Pel que fa a aquest últim, correspon al departament de la Unitat Radioquímica Ambiental i Sanitària (UR AIS) de la Universitat Rovira i Virgili de Tarragona i va ser creat en conveni entre les dues entitats. En aquest laboratori, es compleix escrupolosament els paràmetres fixats per al consum humà en el Reial Decret 140/2003², el Reial Decret 314/2016³ i el Reial Decret 902/2018⁴ i està acreditat per a

diversos assaigs per la *Entidad Nacional de Acreditación* (ENAC) sobre la norma UNE-EN ISO/IEC 17025. A més, actualment hi ha un projecte de Reial Decret (versió 02/2022)⁵ que vol incorporar les exigències de la nova Directa (UE) 2020/2184 del Parlament Europeu i per tant seria una nova versió del Reial Decret 140/2003.

Per tant, aquest treball es centra en la validació d'un mètode per a la determinació de diversos microcontaminants orgànics mitjançant GC-MS/MS. La determinació de molts d'aquests compostos ja ho tenen acreditat però mitjançant GC-MS. L'arribada de l'equip nou provoca que s'ha de realitzar una nova validació ja que l'empresa ho necessitarà per a obtenir l'acreditació en un futur no molt llunyà.

4. MARC TEÒRIC

4.1. Compostos

Moltes legislacions actuals que s'han desenvolupat durant els últims anys, tan estatals, europees com mundials, fan referència al control de la presència de contaminants orgànics persistents en aigua de tot tipus. La presència d'aquests contaminants⁶ en aigües de consum pot provocar efectes perjudicials per a la salut humana. A més, aquest control en aigües superficials, com per exemple de riu o de mar, implica una prevenció i millora dels ecosistemes. Per aquest motiu, obtenir un mètode per a determinar-los és necessari i un dels principals problemes en els seus anàlisis ha sigut les baixes concentracions a les quals estan presents. Hi ha una gran varietat d'aquest tipus de compostos, però en aquest cas es determinen, analitzen i validen dues famílies diferents les quals són presentades i explicades a continuació: els hidrocarburs aromàtics policíclics i els plaguicides organoclorats.

4.1.1. Hidrocarburs aromàtics policíclics (PAHs)

Els hidrocarburs aromàtics policíclics (PAHs)^{7,8} són compostos contaminants orgànics que durant les últimes dècades han estat detectats en ambients aquàtics. Estan classificats com a contaminants prioritari degut a la seva toxicitat i als efectes mutagènics, cancerígens i estrogènics en humans. Aquests compostos es formen com a productes de la combustió incompleta de fonts naturals, com per exemple, carbó, petroli i fusta, i també a partir d'actuacions artificials com les emissions d'automòbils. A més d'aquestes fonts pirogèniques, els PAHs també poden tenir origen petrogènic i biològic: en el primer cas es formen durant la maduració del cru i processos similars i pel segon cas a partir de bacteries i plantes.

Aquests contaminants entren a les fonts d'aigua principalment a través de combustibles fòssils, vessament de petroli, aigües residuals industrials, disposicions seques i humides, etc. Per tant, s'ha determinat la seva presència en aigües potables, rius, llacs, aigües subterrànies, aigües residuals, aigua de mar i sediments. Per tant, la seva detecció i quantificació és important en aigües de consum i continentals. A la Taula 1 es mostren com a resum els PAHs que es detecten i quantifiquen en aquest mètode, els quals alguns s'han de controlar segons ordena la legislació vigent per a la qualitat de l'aigua per al consum humà i l'Annex 1 conté informació més detallada d'aquests. El conjunt de

legislacions comentat anteriorment determinen que la concentració màxima permesa del *Benzo[a]pyrene* és 10 ng/L i que el sumatori del *Benzo[b]fluoranthene*, *Benzo[k]fluoranthene*, *Benzo[g,h,i]perylene* i *Indeno[1,2,3-c,d]pyrene* és 100 ng/L.

4.1.2. Plaguicides organoclorats (OCPs)

Els plaguicides organoclorats (OCPs)^{9,10,11} són uns compostos orgànics que s'utilitzen en l'agricultura amb l'objectiu de millorar la seva productivitat des dels anys 40. Es fan servir principalment per a prevenir, evitar o minimitzar les plagues i els efectes que produeixen. Diversos estudis han demostrat que són uns dels contaminants orgànics ambientals més persistents i malgrat que la majoria s'han prohibit a principis dels anys 70 a causa dels seus efectes cancerígens i mutagènics, encara estan presents en el medi ambient ja que tenen una gran relació cost-bon control sobre els insectes. Aquests compostos arriben al medi aquàtic generalment a través de l'escorrentia superficial i la incontrolada aplicació en l'agricultura, tal i com s'ha comentat anteriorment. El seguiment d'aquests compostos és un dels aspectes més essencials per a avaluar impactes negatius mediambientals i possibles perills per a la salut humana. Per tant, la seva determinació és important ja que representen un risc degut a la seva bioacumulació, no-bio-degradabilitat i toxicitat. A la Taula 1 es mostren com a resum els OCPs que es detecten i quantifiquen en aquest mètode, els quals s'han de controlar segons ordena la legislació vigent per a la qualitat de l'aigua per al consum humà i l'Annex 1 conté informació més detallada d'aquests, tal i com succeeix amb els PAHs. El conjunt de legislacions comentat anteriorment determinen que la concentració màxima permesa del compost individual és 100 ng/L i que el seu sumatori és 500 ng/L.

Taula 1. Compostos a determinar en aquest mètode

Família	Compostos		
PAHs	<i>Fluoranthene</i>	<i>Benzo[k]fluoranthene</i>	<i>Benzo[b]fluoranthene</i>
	<i>Benzo[a]pyrene</i>	<i>Benzo[g,h,i]perylene</i>	<i>Indeno[1,2,3-c,d]pyrene</i>
OCPs	<i>Aldrin</i>	<i>Endrin</i>	<i>Dieldrin</i>
	<i>Heptachlor</i>	<i>Heptachlor endo-epoxide</i>	<i>Heptachlor exo-epoxide</i>
	<i>Hexachlorobenzene</i>	<i>Methoxychlor</i>	<i>α-HCH</i>
	<i>β-HCH</i>	<i>γ-HCH</i>	<i>Endosulfan I</i>
	<i>Endosulfan II</i>	<i>p,p'-DDD</i>	<i>p,p'-DDT</i>
	<i>o,p'-DDT</i>	<i>p,p'-DDE</i>	

4.2. Instrumentació

La determinació i la quantificació dels compostos comentats a l'apartat anterior es realitzen en aquest mètode mitjançant SBSE-GC-MS/MS amb un triple quadrupol (QqQ) com a analitzador. Les diferents etapes del procediment analític amb el corresponent equip instrumental són comentades en els següents apartats.

4.2.1. Procés d'extracció

L'extracció dels analits es realitza mitjançant un sistema de preconcentració anomenat *Stir Bar Sorptive Extraction (SBSE)*¹².

Aquesta tècnica consisteix en introduir a la mostra una petita barra magnètica recoberta per un polímer adsorbent, en aquest cas polidimetilsiloxà (PDMS), amb la finalitat d'adsorbir els compostos en aquest polímer. Aquesta barra magnètica és més coneguda comercialment com a *Twister*. Un cop feta l'extracció, el *Twister* es situa dintre d'un tub de desorció tapat per a que els compostos siguin desorbits posteriorment per l'equip instrumental.

4.2.2. Desorció tèrmica

La desorció dels analits del *Twister* es realitza gràcies a un sistema d'injecció *Thermal Desorption Unit (TDU)* i un sistema refrigerant d'injecció *Cooled Injection System (CIS)*.

El TDU¹³ és un sistema automatitzat i flexible per a la desorció tèrmica i s'adapta a qualsevol cromatògraf de gasos modern. Està connectat directament al CIS, que serveix tan com a trampa de criofofocalització com a entrada del cromatògraf de gasos amb programa de temperatura. D'aquesta manera s'eliminen els llocs actius i es redueix al mínim la pèrdua d'analit i l'efecte memòria. Es pot treballar en mode Split o no, fet que li permet cobrir l'interval més ampli de concentracions, protegir la columna de l'aigua i les contaminacions i aconseguir els límits de detecció més baixos possibles.

Un cop realitzada l'extracció, el braç mostrejador agafa el tub i el situa dintre del TDU quan l'equip rep l'ordre de començar l'anàlisi, el qual s'escalfa per a produir la desorció dels compostos. El CIS situat a continuació concentra els compostos gràcies al sistema de refrigeració per a transferir-los a la columna cromatogràfica minimitzant la possible

diferència de temps que es podria produir. La Figura 1 mostra aquesta part del procediment automatitzat.

4.2.3. Cromatografia de gasos-espectroscòpia de masses (GC-MS/MS)

L'equip que s'utilitza és un cromatògraf de gasos Agilent 8890 acoblat a l'equipament Gerstel comentat anteriorment i a un equip Agilent 7000D com a detector d'espectroscòpia de masses en tàndem (MS/MS) amb un triple quadrupol (QqQ) com a analitzador.

La cromatografia de gasos (GC)¹⁴ és una tècnica analítica que permet separar els components individuals d'una mescla i permet la seva identificació i quantificació. En aquest cas, els compostos han de tenir una volatilitat i una estabilitat tèrmica adequades. La mostra es vaporitza i mitjançant un gas portador és transportada a l'interior de la columna cromatogràfica travessant-la a diferent velocitat en funció de les seves propietats físiques i químiques. Per acabar, aquests compostos entren en un detector, en aquest cas l'espectròmetre de masses en tàndem, generant una senyal la qual es registra en un sistema de dades.

El MS/MS està format per una font de ionització, en aquest cas *Electron Ionization* (EI), i un analitzador QqQ en el qual el primer i el tercer quadrupol actuen com a filtres de massa i el segon provoca la fragmentació dels ions que arriben del primer quadrupol degut a la interacció amb un gas de col·lisió. Es pot treballar en diferents modes, com per exemple, exploració de ions precursors, exploració de pèrdues neutres, *Selected Reaction Monitoring* (SRM), etc., però en aquest mètode s'utilitza el *Multiple Reaction Monitoring* (MRM) que consisteix en seleccionar un ió en el primer quadrupol, fragmentar-lo en el segon i seleccionar un ió producte en el tercer. Per tant, el que s'avalua en aquest cas són transicions. Per a cada compost es poden obtenir més d'una transició i normalment es selecciona la que proporciona més senyal com a transició quantificadora (Q) i les altres com a qualificadores (q). A l'Annex 2 hi ha uns exemples dels cromatogrames d'aquestes transicions. Aquest detector implica un augment en la selectivitat, una millora de la relació *signal/noise* (S/N), límits inferiors de quantificació i detecció, interval lineal més ampli i millor precisió, entre d'altres. La Figura 2 mostra un esquema de les parts del MS/MS (QqQ) i la Figura 3 és una imatge del equip GC-MS/MS utilitzat en aquest mètode.

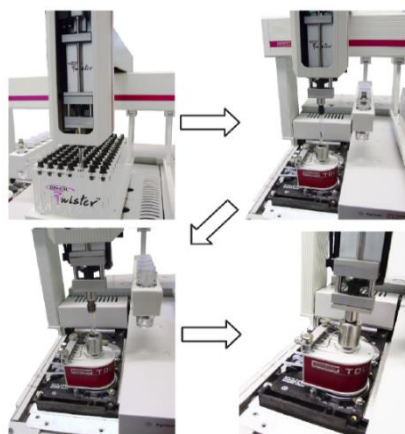


Figura 1. Introducció del tub de desorció al TDU

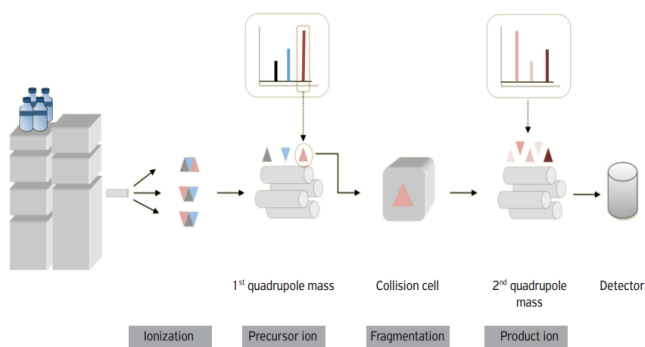


Figura 2. Esquema de les parts del MS/MS (QqQ)¹⁵



Figura 3. Equip GC Agilent 8890 + MS/MS (QqQ) Agilent 7000D

4.3. Validació d'un mètode

Una de les activitats necessàries per a garantir bons resultats en un laboratori és la validació del mètode¹⁶. Aquest procediment ha de confirmar el comportament adequat del mètode en l'interval de concentració i matrius de treball que són especificades abans de la realització de la validació.

Aquest procés tracta d'un conjunt d'anàlisis que inclouen totes les etapes incloses en el mètode (extracció, pre-concentració, etc.) i qualsevol tractament realitzat que permet comprovar les característiques de mesurament del mètode. El procediment de validació depèn de diversos factors, com poden ser la finalitat del mètode (qualitatiu o quantitatiu), l'existència de normes internacionals, l'establiment de matrius equivalents, etc. A més, el laboratori ha de registrar els resultats obtinguts i el procediment utilitzat, comprovar

l'adequació del mètode per al seu ús i considerar la revalidació del mètode a partir de dades obtingudes en intercomparacions, controls de qualitat interns o externs, etc.

Hi ha diversos paràmetres que caracteritzen la validació d'un mètode els quals el laboratori ha d'avaluar. Aquests són els següents: linealitat, límit de quantificació, precisió, exactitud, incertesa, límit de detecció, selectivitat, sensibilitat, robustesa i veracitat. En el LQAigua del Consorci d'Aigües de Tarragona sempre treballen amb els cinc primers i es realitza la validació del mètode a 3 nivells de concentració diferents (baix, mig i alt).

A continuació, la Figura 4 mostra un exemple d'una plantilla d'arxiu Excel amb el resum dels resultats de la validació i és la utilitzada en aquest mètode.

Característica	Valor Patró	Valor Objectiu* (%)	Valor Calculat (%)	Comentaris
PRECISIÓ REPRODUCIBILITAT	0,004	25	9,0	
expressat en %	0,008		6,5	
	0,020		5,7	
VERACITAT - BAIX	0,004	25	-5,1	
expressat en %	0,008		0,1	
	0,020		1,0	
INCERTESA	0,004	40	26,6	
expressat en %	0,008		22,1	
	0,020		22,1	

Interval de Treball: 0,002-0,020 µg/l Interval de Validació: ± 0,004 µg/l Valor paramètric: 0,100 µg/l

Límit de Quantificació: 0,002 µg/l Concentració mínima a quantificar*: 0,025 µg/l

CONCLUSIONS DE LA VALIDACIÓ * Valors objectius fixats a partir del RD 902/2018 - Projecte RD transposició directiva UE 2020/2184

S'assoleixen els valors objectius proposats Sí No s'assoleixen els objectius proposats No

Observacions:

Figura 4. Exemple de plantilla Excel de la caràtula de la validació per al fluorantè

4.3.1. Límit de quantificació

El límit de quantificació (LOQ) és la quantitat o concentració mínima d'un analit que s'estableix en el procés desenvolupat de validació per a una matriu determinada en la qual es compleixen els valors objectius d'exactitud, precisió i/o incertesa. Hi ha diverses referències que expliquen com estimar aquest paràmetre, com per exemple, IUPAC, PS15 o NATA, però aquest laboratori segueix el criteri de que el LOQ ha de ser menor o igual al 25% del valor paramètric marcat en el RD 140/2003.

4.3.2. Linealitat

La linealitat d'un mètode indica la capacitat d'aquest de proporcionar resultats proporcionals a la concentració de l'analit. S'estableix normalment analitzant un conjunt de patrons que cobreixen l'interval desitjat i en aigües és habitual utilitzar patrons preparats pel propi laboratori directament sobre l'aigua. Les normes tècniques recomanen treballar en un interval de 3 a 7 nivells de calibratge, però el sistema de qualitat d'aquest laboratori concretament determina l'ús de com a mínim 5.

La primera manera senzilla i intuïtiva d'avaluar la linealitat és la representació gràfica de les dades de calibratge i la seva regressió. Es realitza un ajust lineal i a partir d'aquest s'obté el coeficient de determinació (R^2), el qual proporciona la correlació entre la variable concentració i el senyal analític. El seu valor sempre es troba comprès entre 0 i 1 i en les tècniques cromatogràfiques s'accepta un valor superior o igual a 0.98. En aquest mètode es realitza una regressió lineal entre la relació de concentració d'analit i de patró intern i la relació de senyals d'analit i de patró intern.

A més, també s'utilitza l'anàlisi dels residuals de regressió. El residual és la diferència entre el valor de la relació de concentracions obtingut una vegada s'ha realitzat la regressió i el valor de la relació de concentracions de referència dels patrons utilitzats. Concretament es valora que aquest residual sigui inferior al 20% respecte la relació de concentracions entre l'analit i el patró intern.

La Figura 5 mostra un exemple d'una plantilla d'arxiu Excel utilitzat en aquest mètode amb l'anàlisi de la linealitat, en aquest cas per al fluorantè.

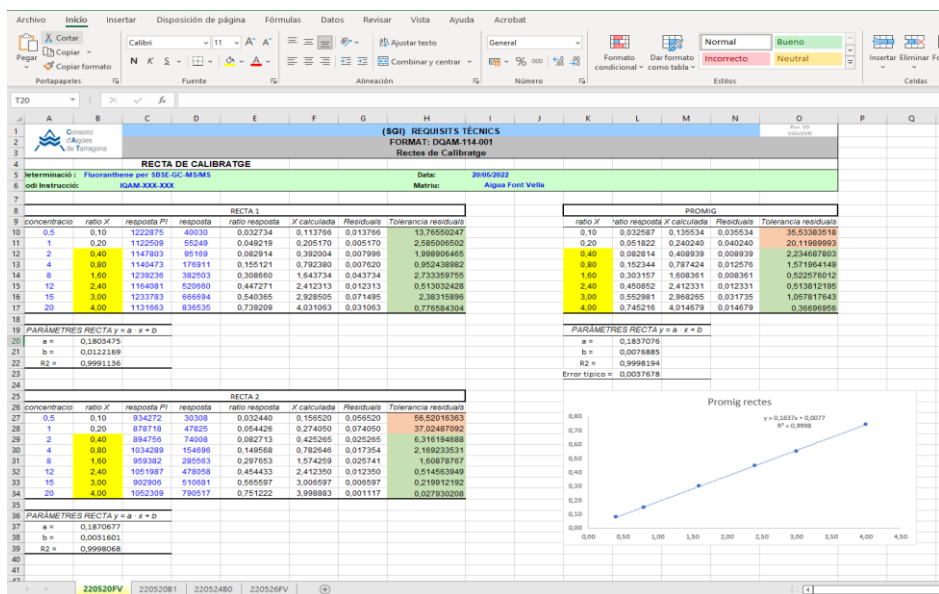


Figura 5. Exemple de plantilla Excel de la linealitat per al fluorantè

4.3.3. Precisió

La precisió és el grau de concordança entre els valors obtinguts per mesures repetides en la mateixa mostra o similars en condicions determinades de repetibilitat i reproductibilitat. La mesura de la precisió s'expressa com al coeficient de variació del conjunt de resultats obtinguts, tal i com mostra Eq.1 on S_R és la desviació estàndard, \bar{x} és la mitjana dels resultats obtinguts, n és el número de rèpliques (mínim 7) i x_i és cadascun dels resultats obtinguts, i es relaciona amb els errors aleatoris. A major desviació estàndard, menor precisió.

$$\bar{x} = \frac{\sum x_i}{n} \quad S_R = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}} \quad CV(\%) = \left(\frac{S_R}{\bar{x}} \right) \times 100 \quad Eq. 1$$

La precisió s'avalua en condicions de reproductibilitat, és a dir, avaluar la semblança de resultats realitzant diversos anàlisis en diferents condicions de mesura, és a dir, diferents analistes, dies, patrons de referència, lloc, temps, etc. tot i que el laboratori pot determinar si realitza un estudi de precisió en condicions de repetibilitat, és a dir, mateixes condicions de mesura.

Aquest paràmetre s'ha d'avaluar en l'interval de treball a diversos nivells de concentració amb unes condicions de mesura que siguin representatives de les condicions reals en les que s'aplica el mètode. Per als càlculs es poden utilitzar valors obtinguts mitjançant l'ús

de material de referència certificat, exercicis de intercomparació i mostres reals (fortificades o no).

En aquest mètode els valors de precisió han de ser inferiors al 25% per a tots els compostos, que és el valor marcat en el RD 140/2003 per a aquests analits.

4.3.4. Exactitud

L'exactitud es mesura a partir del biaix i es defineix com la diferència que existeix entre el valor mitjà dels resultats obtinguts en diverses mesures repetides i el valor de referència assignat. Aquest paràmetre es relaciona amb els errors sistemàtics i es calcula mitjançant l'expressió Eq.2 on \bar{x} és la mitjana dels resultats obtinguts i V_{ref} correspon al valor de referència:

$$biaix = \bar{x} - V_{ref} \qquad biaix (\%) = \left(\frac{\bar{x} - V_{ref}}{V_{ref}} \right) \times 100 \qquad Eq. 2$$

El biaix es pot determinar a partir de diverses metodologies, com per exemple, comparació amb un mètode de referència amb error conegut, participació en exercicis de intercomparació, càlcul de les recuperacions en mostres fortificades, etc., però en aquest mètode s'utilitzen patrons de control a partir de material de referència.

En aquest mètode els valors d'exactitud han de ser inferiors al 25% per a tots els compostos, que és el valor marcat en el RD 140/2003 per a aquests analits.

La Figura 6 mostra un exemple d'una plantilla d'arxiu Excel utilitzat en aquest mètode pels càlculs de la precisió i l'exactitud.

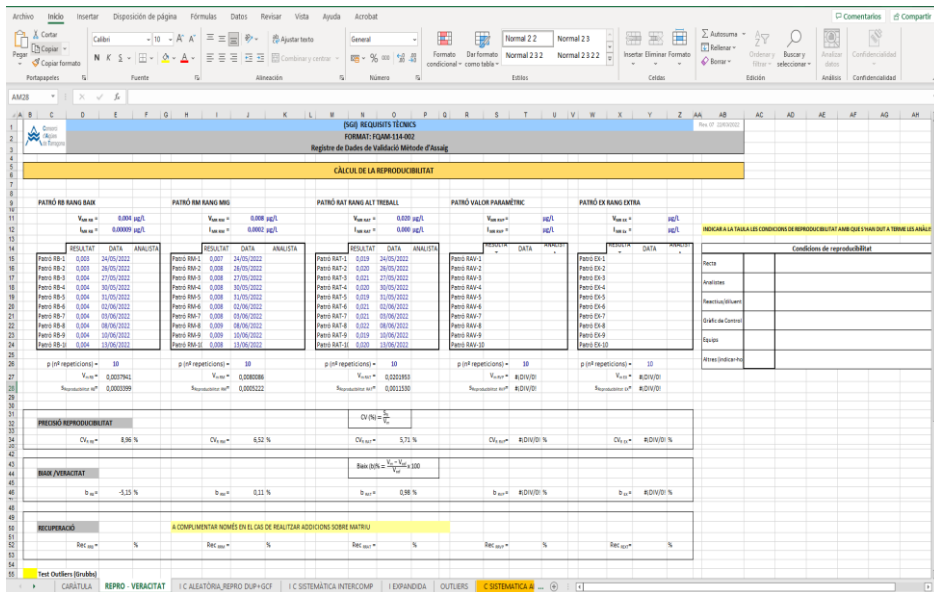


Figura 6. Exemple de plantilla Excel per als càlculs de precisió i exactitud

4.3.5. Incertesa

La incertesa de la mesura correspon al paràmetre que caracteritza la dispersió dels valors atribuïts a la magnitud que es desitja mesurar. Proporciona una certa idea de la qualitat del resultat ja que mostra un interval al voltant del valor estimat dintre el qual es troba el valor verdader considerat amb una probabilitat determinada.

Per al seu càlcul s'ha de tenir en compte dues components, la component sistemàtica (u_a) i la component aleatòria (u_b), que conjuntament mitjançant l'expressió Eq.3 s'obté la incertesa combinada (u_c) i a partir d'aquesta s'obté la incertesa expandida (U), on $k = 2$ i correspon a un factor de cobertura indicant una probabilitat del 95% de contenir el valor verdader assumint una distribució normal:

$$u_c = \sqrt{u_a^2 + u_b^2} \quad U = k \cdot u_c \quad \text{Eq. 3}$$

En realitat, la combinació de les components de la incertesa provinents del biaix (error sistemàtic) i la reproductibilitat (error aleatori) del mètode pot donar una aproximació acceptable en l'estimació de la incertesa d'un mètode analític. Per tant tal i com mostra l'Eq.4, l'expressió anterior es pot calcular de la següent manera:

$$u_c = \sqrt{u_{biaix}^2 + u_R^2} \quad U = k \cdot u_c \quad \text{Eq. 4}$$

Tot i validar el mètode per a 3 nivells de concentració diferents, per a aquest paràmetre es realitza l'estudi a nivell baix per una banda i els altres nivells conjunts per una altra i

en aquest mètode els valors de incertesa han de ser inferiors al 50% del valor paramètric per al *Benzo[a]pyrene*; inferiors al 40% del valor paramètric per als PAHs *Benzo[b]fluoranthene*, *Benzo[g,h,i]perylene*, *Benzo[k]fluoranthene* i *Indeno[1,2,3-c,d]pyrene* i inferiors al 30% del valor paramètric per als plaguicides, que són les indicacions marcades en el RD 140/2003 per a aquests analits.

La Figura 7 mostra un exemple d'una plantilla d'arxiu Excel utilitzat en aquest mètode pels càlculs de les incerteses combinada i expandida.

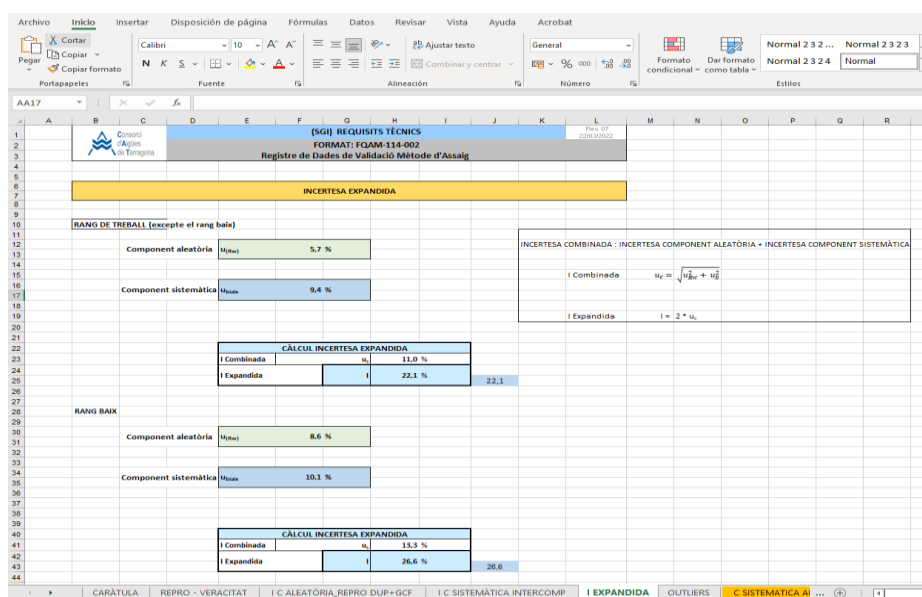


Figura 7. Exemple de plantilla Excel per als càlculs de incertesa expandida

4.3.5.1. Component de la reproductibilitat de la incertesa

Ja que la reproductibilitat del laboratori té en compte totes les possibles fonts de contribució a la incertesa, la seva desviació estàndard a una concentració determinada estableix la component de la reproductibilitat de la incertesa. Es pot obtenir a partir de materials de referència o exercicis d'intercomparació. En aquesta validació es realitza l'anàlisi de duplicats (fortificar la mateixa mostra a la mateixa concentració amb 7 dies de diferència entre els anàlisis) i de patrons de control i es calcula segons les següents expressions:

$$u_R = \sqrt{u_{repro}^2 + u_{matriu}^2} \quad Eq. 5$$

- u_{repro} és la component de la reproductibilitat obtinguda a partir dels patrons de control.

$$u_{repro} = \sqrt{\frac{\sum(CV_{i,GF})^2}{n_i}} \quad Eq. 6$$

- $CV_{i,GF}$ és el coeficient de variació dels patrons de control calculat en percentatge (%).
- n_i és el número de coeficients de variació calculats (pel cas de la nivell baix $n = 1$, però pels nivells mig i alt $n = 2$).

- u_{matriu} és la component de la reproductibilitat obtinguda a partir dels duplicats aplicant un factor de 1.128.

$$u_{matriu} = \left(\frac{Promig_{rel}}{1.128}\right) \times 100 \quad Eq. 7$$

- $Promig_{rel}$ correspon a la mitjana dels recorreguts calculats entre el nombre de duplicats realitzats.

$$Promig_{rel} = \frac{Mitjana R_{rel}}{n^{\circ} duplicats} \quad Eq. 8$$

- R_{rel} correspon al recorregut relatiu de cada duplicat

$$R_{rel} = \frac{Recorregut}{Mitjana dels 2 resultats obtinguts} \quad Eq. 9$$

$$Recorregut = |Resultat 1 - Resultat 2| \quad Eq. 10$$

Les Figures 8 i 9 mostren un exemple d'una plantilla d'arxiu Excel utilitzat en aquest mètode pels càlculs de la component de la reproductibilitat de la incertesa.

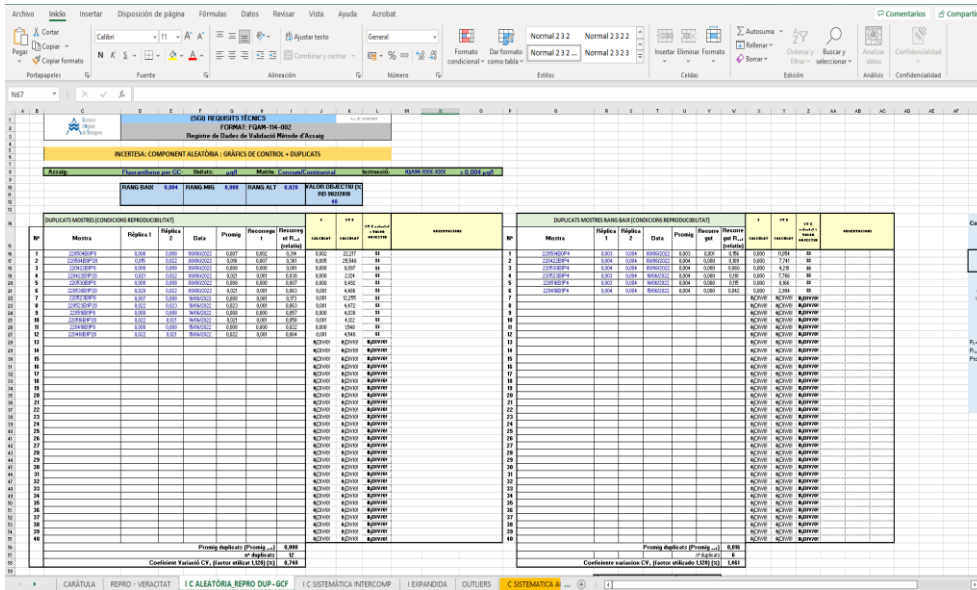


Figura 8. Exemple de plantilla Excel per als càlculs de la component reproductibilitat de la incertesa (1)

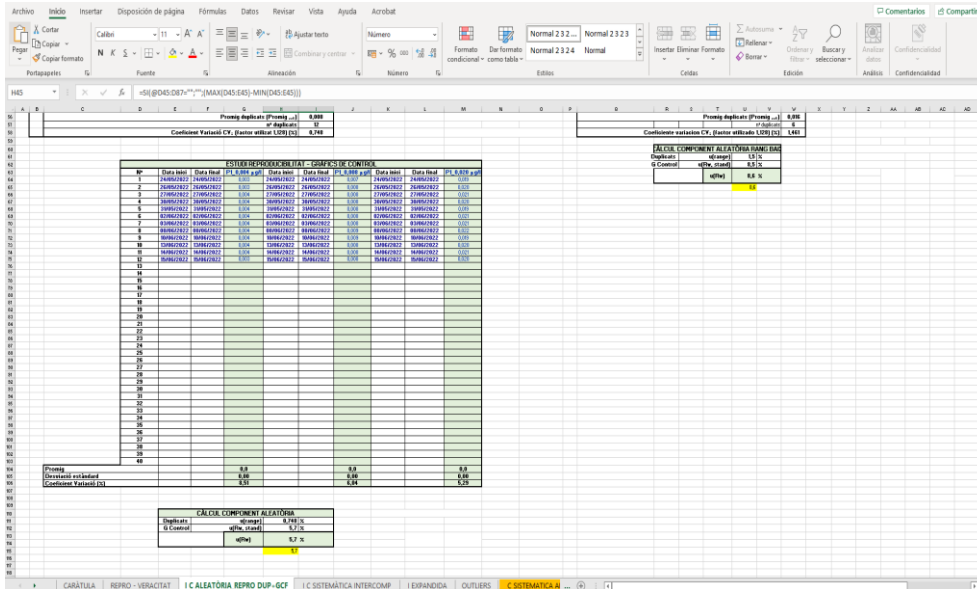


Figura 9. Exemple de plantilla Excel per als càlculs de la component reproductibilitat de la incertesa (2)

4.3.5.2. Component del biaix de la incertesa

La incertesa del biaix pot ser obtinguda de diverses maneres, com per exemple, utilitzant materials de referència o amb exercicis d'intercomparació, però en aquesta validació s'utilitzen addicions conegudes en matrius reals i es calcula mitjançant les següents expressions:

$$u_{biaix} = \sqrt{MC_{biaix}^2 + u_{ad}^2} \quad Eq. 11$$

- MC_{biaix} és la mitjana quadràtica dels biaixos de les addicions realitzades.

$$MC_{biaix} = \sqrt{\frac{\sum(b_i)^2}{n_{ad}}} \quad MC_{biaix} (\%) = \left(\frac{MC_{biaix}}{Concentració}\right) \times 100 \quad Eq. 12$$

- b_i és el biaix de cadascun dels anàlisis de les mostres adicionades.
- n_{ad} és el número de addicions realitzades.
- u_{ad} és la incertesa estàndard de les addicions realitzades que prové de la naturalesa del material utilitzat, com per exemple el material volumètric.

$$u_{ad} = \sqrt{u_{conc}^2 \left(\frac{V_i}{V_f}\right)^2 + u_{vi}^2 \left(\frac{C_i}{V_f}\right)^2 + u_{vf}^2 \left(\frac{C_i \times V_i}{V_f^2}\right)^2} \quad Eq. 13$$

$$u_{ad} (\%) = \left(\frac{u_{ad}}{Concentració}\right) \times 100$$

- u_{conc} és la incertesa del patró mare a partir del qual es prepara cada dilució.
- C_i és la concentració del patró amb el que es prepara cada dilució.
- V_i és el volum del patró afegit al preparar cada dilució.
- u_{vi} és la incertesa del material volumètric utilitzat per a pipetejar el patró.
- V_f és el volum final de cada dilució preparada.
- u_{vf} és la incertesa del material volumètric utilitzat per a preparar cada dilució.

Per a les nivells de concentració mig i alt que el càlcul és conjunt, aquest es realitza mitjançant la següent equació després d'obtenir-los per separat on $n_i = 2$ ja que són 2 nivells diferents:

$$MC_{biaix} (\%) = \sqrt{\frac{\sum (MC_{biaix} (\%))^2}{n_i}}$$

Eq. 14

$$u_{ad} (\%) = \sqrt{\frac{\sum (u_{ad} (\%))^2}{n_i}}$$

La Figura 10 mostra un exemple d'una plantilla d'arxiu Excel utilitzat en aquest mètode pels càlculs de la component del biaix de la incertesa.

The screenshot shows an Excel spreadsheet with the following structure:

- Summary Table (Rows 26-32):** Contains input parameters like n , s , \bar{x} , σ , μ , MC_{bias} , and u_{ad} .
- Summary Results (Rows 41-44):** Displays calculated values: $MC_{bias} = 5.36$, $u_{ad} = 1.0668$, $MC_{bias}(BI) = 5.02$, and $u_{ad}(BI) = 1.0751$.
- Main Data Table (Rows 47-72):** A large table with columns for 'REPLICUES', 'MUESTRA', 'ADICION', 'MUESTRA', 'RESULTAT EXPERIMENTAL', 'RESULTAT EXP.', 'BIAS', and 'BIAS'. It contains multiple rows of data for different samples and matrix additions.

Figura 10. Exemple de plantilla Excel per als càlculs de la component biaix de la incertesa

5. PART EXPERIMENTAL

5.1. Presa de mostra

Les mostres són recollides en ampolles de vidre de 250 mL. En el cas de l'aigua de sortida de l'ETAP (mostra EB1) s'afegeix 250 µL de tiosulfat de sodi ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) 0.1 M a l'ampolla de mostreig amb l'objectiu de reduir el clor emprat pels tractaments previs realitzats en tots els processos de potabilització.

Sempre i quan sigui possible, els anàlisis s'han de realitzar al mateix dia del mostreig, però si per no hi ha aquesta possibilitat, s'han de conservar a la nevera a 5°C durant un termini màxim d'una setmana per a què no es produeixin alteracions i/o degradacions dels analits presents. Quan succeeix aquest fet, les mostres s'han de temperar abans de realitzar l'anàlisi però tenint en compte que no incrementi considerablement la temperatura ja que pot provocar una pèrdua dels compostos volàtils i/o semivolàtils.

5.2. Equips, material, reactius i patrons

5.2.1. Equips

- Cromatògraf GC Agilent 8890
- Detector MS/MS (QqQ) Agilent 7000D
- Braç automostrejador Gerstel MPS
- Sistema de desorció tèrmica Gerstel TDU 2
- Sistema d'injecció refrigerat Gerstel CIS
- Agitador Gerstel

5.2.2. Material

- Vials de vidre de 20 mL amb coll de rosca
- Vials de vidre topazi de 10 mL amb tap de plàstic
- Pipeta de vidre de doble enràs de 10 mL
- Micropipeta automàtiques de volum variable de 2-20 µL, 10-100 µL, 25-250 µL i 100-1000 µL
- Matrassos aforats de 2, 5 i 10 mL classe A
- Pipeta *Pasteur* de vidre amb tetina
- Stir Bars - *Twister* (10 mm llarg i 0.5 mm gruix de PDMS)
- Tubs i adaptadors de termodesorció
- Paper Parafilm
- Pinces i imant amb mànec

5.2.3. Reactius

- Acetona, CAS 67-64-1, puresa 99.5%, Honeywell Riedel-de Haën™

5.2.4. Patrons

A partir de patrons comercials de 100 i 10 mg/L es prepara una solució a una concentració de 1 mg/L (anomenada Mix A). Es pipetegen, depenent del cas, 100 µL i 1 mL amb una micropipeta de volum variable de 10-100 µL i 100-1000 µL respectivament en un matràs aforat de 10 mL en acetona (Eq.15 i 16). La Taula 2 mostra el llistat de compostos que formen part d'aquesta solució i és la que s'utilitza per a realitzar les rectes de calibratge conservant-se al congelador en un vial de vidre topazi de 10 mL. Cal comentar que aquesta solució conté més compostos a part dels que es validen en aquest treball, ja que l'empresa els vol determinar en els seus anàlisis de rutina i en un futur tenir la possibilitat de validar-los i acreditar-se.

$$10 \text{ mL} \times \frac{1 \text{ mg}}{1000 \text{ mL}} \times \frac{1000 \text{ mL}}{100 \text{ mg}} = 0.1 \text{ mL} = 100 \text{ }\mu\text{L} \quad \text{Eq. 15}$$

$$10 \text{ mL} \times \frac{1 \text{ mg}}{1000 \text{ mL}} \times \frac{1000 \text{ mL}}{10 \text{ mg}} = 1 \text{ mL} \quad \text{Eq. 16}$$

Taula 2. Informació dels patrons comercials utilitzats per al mix A

Patró Comercial	Concentració Certificada (mg/L)
Custom OrgCl Standard 17 (1)	100
Custom Pesticides (2)	10
PAH Mix 9 (3)	100
PCB Mix 19 (4)	10
4-n-Octylphenol	10
4-n-Nonilphenol	10
Bifenox	100

Nota: 1) El patró comercial Custom OrgCl Standard 17 conté els següents compostos en una concentració individual de 100 mg/L: α -HCH, β -HCH, γ -HCH, Hexachlorobenzene, Heptachlor, Heptachlor Endo-Epoxide, Heptachlor Exo-Epoxide, Endosulfan I, Endosulfan II, Aldrin, Dieldrin, Endrin, Methoxychlor, o,p'-DDT, p,p'-DDT, p,p'-DDD i p,p'-DDE.

2) El patró comercial Custom Pesticides conté els següents compostos en una concentració individual de 10 mg/L: Diphenylamine, 1,2,3-Trichlorobenzene, 1,2,4-Trichlorobenzene, 1,3,5-Trichlorobenzene, 2-Phenylphenol, Alachlor, Anthraquinone, Chlorpyrifos, Disulfoton, Ethyl

parathion, Fenitrothion, Hexachlorobutadiene, Isodrin, Malathion, Methyl parathion, Metolachlor, Molinate, Oxadiazon i Trifluralin.

3) El patró comercial PAH Mix 9 conté els següents compostos en una concentració individual de 100 mg/L: Naphtalene, Acenaphtylene, Acenaphtene, Fluorene, Phenantrene, Anthracene, Fluoranthene, Pyrene, Benz[a]anthracene, Chrysene, Benzo[b]fluoranthene, Benzo[k]fluoranthene, Benzo[a]pyrene, Dibenz[a,h]anthracene, Benzo[g,h,i]perylene i Indeno[1,2,3-c,d]pyrene.

4) El patró comercial PCB Mix 19 conté els següents compostos en una concentració individual de 10 mg/L: PCB 18, PCB 28, PCB 31, PCB 44, PCB 52, PCB 101, PCB 118, PCB 138, PCB 149, PCB 153, PCB 170, PCB 180, PCB 194 i PCB 209.

Per una altra banda, a partir d'uns altres patrons comercials per als compostos d'interès, es prepara una altra solució a una concentració de 1 mg/L (anomenada Mix B) en un matràs aforat de 10 mL en acetona. La Taula 3 mostra el llistat de compostos que formen part d'aquesta solució i és la que s'utilitza per a realitzar la validació. Igual que pel cas anterior, conté més compostos a part dels que es validen en aquest treball, ja que l'empresa els vol determinar en els seus anàlisis de rutina i en un futur tenir la possibilitat de validar-los i acreditar-se. La preparació es realitza de la mateixa manera que pel Mix A (Eq.15 i 16) i també es conserva al congelador en un vial de vidre topazi de 10 mL.

Taula 3. Informació dels patrons comercials utilitzats per al mix B

Patró Comercial	Concentració Certificada (mg/L)
Pesticide Mix 14 (1)	10
Custom Pesticides (2)	10
PAH Mix 20 (3)	10
PCB Mix 19 (4)	10
4-n-Octylphenol	10
4-n-Nonilphenol	10
Bifenox	100
Heptachlor Exo-Epoxyde	100

Nota: 1) El patró comercial Pesticide Mix 14 conté els següents compostos en una concentració individual de 10 mg/L: α -HCH, β -HCH, γ -HCH, Hexachlorobenzene, Heptachlor, Heptachlor Endo-Epoxyde, Endosulfan I, Endosulfan II, Aldrin, Dieldrin, Endrin, Methoxychlor, o,p'-DDT, p,p'-DDT, p,p'-DDD i p,p'-DDE.

2) El patró comercial Custom Pesticides conté els següents compostos en una concentració individual de 10 mg/L: Diphenylamine, 1,2,3-Trichlorobenzene, 1,2,4-Trichlorobenzene, 1,3,5-Trichlorobenzene, 2-Phenylphenol, Alachlor, Anthraquinone, Chlorpyrifos, Disulfoton, Ethyl

parathion, Fenitrothion, Hexachlorobutadiene, Isodrin, Malathion, Methyl parathion, Metolachlor, Molinate, Oxadiazon i Trifluralin.

3) El patró comercial PAH Mix 20 conté els següents compostos en una concentració individual de 100 mg/L: Fluoranthene, Benzo[b]fluoranthene, Benzo[k]fluoranthene, Benzo[a]pyrene, Benzo[g,h,i]perylene i Indeno[1,2,3-c,d]pyrene.

4) El patró comercial PCB Mix 19 conté els següents compostos en una concentració individual de 10 mg/L: PCB 18, PCB 28, PCB 31, PCB 44, PCB 52, PCB 101, PCB 118, PCB 138, PCB 149, PCB 153, PCB 170, PCB 180, PCB 194 i PCB 209.

A partir dels Mix A i B, els dies de treball es preparen 2 solucions intermèdies: una de 10 µg/L (Mix A 10 µg/L i Mix B 10 µg/L) a partir de 1 mg/L i una altra de 1 µg/L (Mix A 1 µg/L i Mix B 1 µg/L) a partir de la de 10 µg/L. Es pipetegen 10 i 500 µL (Eq.17 i 18) amb una micropipeta de volum variable de 2-20 µL i 100-1000 µL en matrassos aforats de 1 mL i 5 mL en acetona respectivament.

$$1 \text{ mL} \times \frac{10 \text{ } \mu\text{g}}{1000 \text{ mL}} \times \frac{1 \text{ mg}}{1000 \text{ } \mu\text{g}} \times \frac{1000 \text{ mL}}{1 \text{ mg}} = 0.01 \text{ mL} = 10 \text{ } \mu\text{L} \quad \text{Eq. 17}$$

$$5 \text{ mL} \times \frac{1 \text{ } \mu\text{g}}{1000 \text{ mL}} \times \frac{1000 \text{ mL}}{10 \text{ } \mu\text{g}} = 0.5 \text{ mL} = 500 \text{ } \mu\text{L} \quad \text{Eq. 18}$$

Per acabar, es prepara una solució de 1 mg/L de patrons interns (Mix PI). A partir de patrons comercials de 10 i 100 mg/L, es pipetegen 100 i 10 µL respectivament (Eq.19 i 20) amb una micropipeta de volum variable de 10-100 µL i 2-20 µL respectivament en un matràs aforat de 1 mL en acetona. La Taula 4 mostra el llistat de compostos que formen part d'aquesta solució.

$$1 \text{ mL} \times \frac{1 \text{ mg}}{1000 \text{ mL}} \times \frac{1000 \text{ mL}}{10 \text{ mg}} = 0.10 \text{ mL} = 100 \text{ } \mu\text{L} \quad \text{Eq. 19}$$

$$1 \text{ mL} \times \frac{1 \text{ mg}}{1000 \text{ mL}} \times \frac{1000 \text{ mL}}{100 \text{ mg}} = 0.01 \text{ mL} = 10 \text{ } \mu\text{L} \quad \text{Eq. 20}$$

Taula 4. Informació dels patrons comercials utilitzats per al mix B

Patró Comercial	Concentració Certificada (mg/L)
PAHs Mix 9 Deuterated (1)	10
α-HCH-D6	100
Endosulfan I-D4	100
o.p'-DDT-D8	100
Chlorfenvinphos-D10	100
Chlorpyrifos-D10	100

Nota: 1) El patró comercial PAHs Mix 9 Deuterated conté els següents compostos en una concentració individual de 10 mg/L: Acenaphthene-D10, Acenaphthylene-D8, Anthracene-D10, Benzo[a]pyrene-D12, Benzo[b]fluoranthene-D12, Benzo[k]fluoranthene-D12, Benzo[g,h,i]perylene-D12, Benzo[a]anthracene-D12, Chrysene-D12, Dibenzo(a,h)anthracene-D14, Fluoranthene-D10, Fluorene-D10, Indeno(1,2,3-c,d)pyrene-D12, Napthalene-D8, Phenanthrene-D10 i Pyrene-D10.

Igual que pels Mix A i B, a partir d'aquesta solució es preparen 2 solucions intermèdies: el dia inicial una de 10 µg/L (Mix PI 10 µg/L) a partir de 1 mg/L que es conserva al congelador en un vial de vidre topazi de 10 mL i cada dia de treball una altra de 1 µg/L (Mix PI 1 µg/L) a partir de la de 10 µg/L. Es pipetegen 100 i 200 µL (Eq.21 i 22) amb una micropipeta de volum variable de 10-100 µL i 25-250 µL en matrassos aforats de 10 mL i 2 mL en acetona respectivament.

$$10 \text{ mL} \times \frac{10 \text{ } \mu\text{g}}{1000 \text{ mL}} \times \frac{1 \text{ mg}}{1000 \text{ } \mu\text{g}} \times \frac{1000 \text{ mL}}{1 \text{ mg}} = 0.1 \text{ mL} = 100 \text{ } \mu\text{L} \quad \text{Eq. 21}$$

$$2 \text{ mL} \times \frac{1 \text{ } \mu\text{g}}{1000 \text{ mL}} \times \frac{1000 \text{ mL}}{10 \text{ } \mu\text{g}} = 0.2 \text{ mL} = 200 \text{ } \mu\text{L} \quad \text{Eq. 22}$$

5.3. Procés d'extracció i preparació de patrons i mostres

Les condicions del procés d'extracció per aquest mètode són les següents:

1. En un vial de vidre de 20 mL afegir 10 mL d'aigua (Fontvella o mostra) mitjançant una pipeta de vidre de doble enràs de 10 mL.
2. Posar-hi el *Twister* agafant el tub de termodesorció amb un paper ja que s'ha de tenir en compte de no tocar-lo directament amb els dits.
3. Afegir 50 µL del Mix PI 1 µg/L amb la micropipeta de volum variable de 10-100 µL.
4. En el cas de preparar patrons per a la recta de calibratge, afegir el volum necessari dependent de la concentració desitjada a partir del Mix A 1 ppb amb la micropipeta de volum variable de 2-20 µL i 25-250 µL dependent del cas.
5. Afegir el volum necessari d'acetona a cada vial per a tenir el mateix volum final en cadascun.
6. Tapar els vials amb paper Parafilm i situar-los sobre l'agitador Gerstel durant 1h a 500 rpm.

7. Un cop transcorregut aquest temps, treure els *Twisters* amb l'ajuda del imant i les pinces. L'únic que ha de tocar-lo són les pinces. Eixugar-lo una mica amb un paper i posar-lo dintre el tub de termodesorció.

5.4. Condicions cromatogràfiques

Les condicions cromatogràfiques i utilitzades en aquest mètode són les resumides a continuació en la Taula 5:

Taula 5. Condicions cromatogràfiques del mètode

INLET		COLUMN	
Gas	He	Type	HP-5MS UI
Mode	Solvent Vent	Stationary Phase	5% phenyl-methylpolisiloxane
Vent Flow (mL/min)	80	Dimensions	30 m x 0.25 mm x 0.25 µm
Pressure (psi)	8.8	Flow (mL/min)	1.03
OVEN		MS/MS DETECTOR	
Initial Time and T	1 min a 60°C	Ion Source	EI
Ramp	60°C a 120°C fins 2.5 min (40°C/min)	Source T (°C)	280
	120°C a 310°C fins 40.5 min (5°C/min)	Electron Energy (eV)	70
Post run	3 min a 325°C	Mode	MRM
CIS		TDU	
Equilibri time (min)	0.50	Initial T (°C)	40
Initial time and T	0.10 min a -20°C	Delay time (min)	0.05
Ramp	-20°C a 300°C fins 1.04 min (12°C/s)	Transfer T (°C)	40
	300°C fins 6.04 min	Ramp	40°C a 300°C fins 3.25 min (80°C/min)
	300°C a 280°C fins 6.068 min (12°C/s)		300°C fins 9.25 min
	280°C fins 43.068 min	Desorption Mode	Splitless

6. RESULTATS

Com que el mètode amb totes les seves condicions d'extracció, cromatogràfiques i instrumentals ja estava optimitzat al començar amb aquest treball, directament es procedeix a realitzar la validació.

6.1. Validació del mètode

A continuació es comenten com s'han calculat els diferents paràmetres per a la validació del mètode i s'avaluen els resultats obtinguts.

6.1.1. Límit de quantificació

El primer que es realitza es decidir i seleccionar quin ha de ser el límit de quantificació dels compostos pel volum de mostra d'aquest mètode (10 mL). Tal i com s'ha comentat anteriorment, la normativa del RD 190/2003 marca que aquest ha de ser com a mínim el 25% del valor paramètric. Per tant, s'arriba al consens de que com que el *Benzo[a]pyrene* és el compost que té el valor paramètric més petit (10 ng/L), aleshores el seu límit de quantificació també ha de ser el més petit (com a mínim 2.5 ng/L). Pel que fa als altres compostos, els altres PAHs i els plaguicides organoclorats tenen un valor paramètric de 100 ng/L i els seus límits de quantificació han de ser 25 ng/L. Aleshores es proposa que aquests LOQs no siguin estrictament aquests valors sinó una mica inferiors i es treballa amb 1 ng/L pel *Benzo[a]pyrene* i 2 ng/L per la resta de compostos. En el cas particular d'aquest laboratori, s'intenta que el màxim de compostos tinguin el mateix LOQ i les mateixes linealitats amb l'objectiu de que el treball diari del futur sigui més òptim, senzill i eficaç.

6.1.2. Linealitat

Pel que fa a les linealitats, es proposa treballar amb els intervals de linealitat de 1-15 ng/L pel *Benzo[a]pyrene* i 2-20 ng/L pels altres compostos. El procediment de la preparació dels diferents nivells de la recta de calibratge és l'explicat en l'apartat 5.3 i la Taula 6 mostra a continuació quines són les seves concentracions i quin és el volum que es pipeteja del Mix A 1 µg/L:

Taula 6. Concentracions dels patrons de la recta de calibratge i volum a pipetejar per a la seva preparació

Concentracions patrons (ng/L)	1	2	4	8	10	12	15	20
Volum (μ L) pipetejat de 1 μ g/L	10	20	40	80	100	120	150	200

Un cop analitzats s'avaluen els dos paràmetres explicats en l'apartat 4.3.2.: que el coeficient de correlació (R^2) sigui superior a 0.98 i que la tolerància dels residuals sigui inferior al 20% per a tots els nivells de la recta de calibratge. Ambdues situacions es compleixen i per tant es pot determinar que es compleix amb les linealitats. A continuació, la Taula 7 mostra els intervals de linealitat i els resultats obtinguts dels coeficients de correlació (R^2) per a cada compost i la Figura 11 és un exemple d'una recta de calibratge, concretament per al α -HCH:

Taula 7. Resultats de les linealitats

Compost	Interval de linealitat (ng/L)	R^2
<i>Benzo[a]pyrene</i>	1 – 15	0.9997
<i>Aldrin</i>	2 – 20	0.9972
<i>Benzo[b]fluoranthene</i>		0.9987
<i>Benzo[g,h,i]perylene</i>		0.9985
<i>Benzo[k]fluoranthene</i>		0.9960
<i>Dieldrin</i>		0.9941
<i>Endosulfan I</i>		0.9922
<i>Endosulfan II</i>		0.9983
<i>Endrin</i>		0.9996
<i>Fluoranthene</i>		0.9998
<i>Heptachlor</i>		0.9997
<i>Heptachlor endo-epoxide</i>		0.9983
<i>Heptachlor exo-epoxide</i>		0.9986
<i>Hexachlorobenzene</i>		0.9991
<i>Indeno[1,2,3-c,d]pyrene</i>		0.9987
<i>Methoxychlor</i>		0.9991
<i>o,p'-DDT</i>		0.9994
<i>p,p'-DDD</i>		0.9991
<i>p,p'-DDE</i>		0.9985
<i>p,p'-DDT</i>		0.9990
α -HCH		0.9999

β -HCH		0.9979
γ -HCH		0.9998

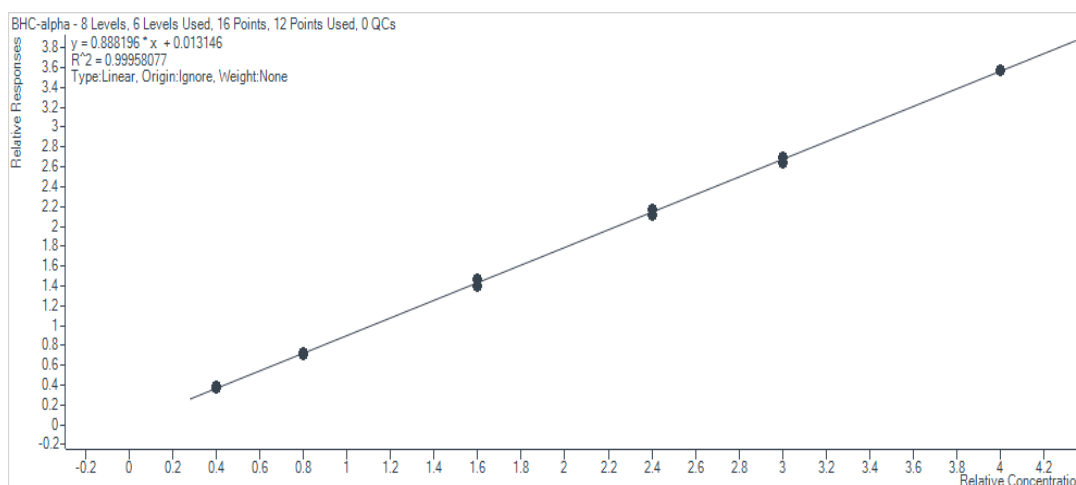


Figura 11. Recta de calibratge del α -HCH

6.1.3. Comparació de pendents de rectes en diferents matrius

Un cop s'han obtingut les linealitats amb la matriu del mètode optimitzat (aigua Fontvella) també es realitzen rectes de calibratges en matrius de les mostres del dia a dia del laboratori: aigua d'entrada (EB0) i de sortida (EB1) de l'ETAP. Això es realitza amb l'objectiu de realitzar una comparació dels pendents obtinguts en les diferents matrius i si són comparables aleshores es pot quantificar les mostres analitzades cada dia de treballa amb rectes de calibratge elaborades en aigua Fontvella. Segons les instruccions del sistema de qualitat del laboratori¹⁷, es realitza un test estadístic F avaluant si les variàncies (s^2) obtingudes de les rectes són equivalents. Aquesta variància correspon a l'error en forma de desviació estàndard de la regressió. Mitjançant la Eq.23 es calcula F_{exp} comparant les rectes 1 i 2 respectivament. En aquest cas, es compara la recta en aigua Fontvella per una banda amb l'elaborada amb EB0 i per una altra amb EB1. El resultat obtingut es compara amb els valors tabulats amb un nivell de confiança del 95% on els graus de llibertat són $n-1$ (n = número de punts de la recta de calibratge). Si $F_{exp} < F_{tab}$, no hi ha diferències significatives i per tant es considera que hi ha equivalència entre les dues rectes.

$$F_{exp} = \frac{S_1^2}{S_2^2} \quad Eq. 23$$

- s_1^2 i s_2^2 corresponen a les variàncies de les rectes 1 i 2 respectivament. Al numerador sempre es situa el valor més alt perquè $F > 1$.

A continuació, les Taules 8 i 9 mostren els resultats obtinguts al realitzar aquest estudi per a tots els compostos concloent que es pot utilitzar aigua Fontvella per a elaborar les rectes de calibratge i poder obtenir resultats òptims a l'hora de quantificar tot i tenir les mostres del dia a dia en altres matrius.

Taula 8. Resultats de la comparació de rectes de calibratge entre matriu EB1 i FV

	TEST F COMPARACIÓ RECTES MATRIUS					
	S ² EB1	S ² FV	Graus Llibertat	F _{cal}	F _{tab}	F _{cal} < F _{tab}
<i>Aldrin</i>	0.0282	0.0308	5	1.08946	5.05033	OK
<i>Benzo[a]pyrene</i>	0.0685	0.0343	5	1.99621	5.05033	OK
<i>Benzo[b]fluoranthene</i>	0.0722	0.0840	5	1.16392	5.05033	OK
<i>Benzo[g,h,i]perylene</i>	0.1018	0.1182	5	1.16095	5.05033	OK
<i>Benzo[k]fluoranthene</i>	0.0629	0.1292	5	2.05217	5.05033	OK
<i>Dieldrin</i>	0.0074	0.0236	5	3.19064	5.05033	OK
<i>Endosulfan I</i>	0.3744	0.1946	5	1.92451	5.05033	OK
<i>Endosulfan II</i>	0.1633	0.2037	5	1.24782	5.05033	OK
<i>Endrin</i>	0.0080	0.0056	5	1.43039	5.05033	OK
<i>Fluoranthene</i>	0.0047	0.0038	5	1.25802	5.05033	OK
<i>Heptachlor</i>	0.0047	0.0056	5	1.17488	5.05033	OK
<i>Heptachlor endo-epoxide</i>	0.0076	0.0145	5	1.90503	5.05033	OK
<i>Heptachlor exo-epoxide</i>	0.0011	0.0017	5	1.53772	5.05033	OK
<i>Hexachlorobenzene</i>	0.0605	0.0626	5	1.03554	5.05033	OK
<i>Indeno[1,2,3-c,d]pyrene</i>	0.0722	0.0755	5	1.04585	5.05033	OK
<i>Methoxychlor</i>	0.0468	0.0475	5	1.01500	5.05033	OK
<i>o,p'-DDT</i>	0.0091	0.0083	5	1.10408	5.05033	OK
<i>p,p'-DDD</i>	0.0375	0.1002	5	2.67317	5.05033	OK
<i>p,p'-DDE</i>	0.0090	0.0063	5	1.42072	5.05033	OK
<i>p,p'-DDT</i>	0.0055	0.0089	5	1.62165	5.05033	OK
<i>α-BHC</i>	0.0390	0.0093	5	4.18677	5.05033	OK
<i>β-BHC</i>	0.0287	0.0146	5	1.97192	5.05033	OK
<i>γ-BHC</i>	0.0268	0.0100	5	2.67063	5.05033	OK

Taula 9. Resultats de la comparació de rectes de calibratge entre matriu EB0 i FV

TEST F COMPARACIÓ RECTES MATRIUS						
	S ² EB0	S ² FV	Graus Llibertat	F _{cal}	F _{tab}	F _{cal} < F _{tab}
<i>Aldrin</i>	0.0333	0.0308	5	1.08260	5.05033	OK
<i>Benzo[a]pyrene</i>	0.0378	0.0343	5	1.10195	5.05033	OK
<i>Benzo[b]fluoranthene</i>	0.0444	0.0840	5	1.89107	5.05033	OK
<i>Benzo[g,h,i]perylene</i>	0.1006	0.1182	5	1.17443	5.05033	OK
<i>Benzo[k]fluoranthene</i>	0.0669	0.1292	5	1.93001	5.05033	OK
<i>Dieldrin</i>	0.0129	0.0236	5	1.82362	5.05033	OK
<i>Endosulfan I</i>	0.3094	0.1946	5	1.59020	5.05033	OK
<i>Endosulfan II</i>	0.2238	0.2037	5	1.09845	5.05033	OK
<i>Endrin</i>	0.0158	0.0056	5	2.85100	5.05033	OK
<i>Fluoranthene</i>	0.0039	0.0038	5	1.03030	5.05033	OK
<i>Heptachlor</i>	0.0048	0.0056	5	1.15506	5.05033	OK
<i>Heptachlor endo-epoxide</i>	0.0093	0.0145	5	1.55146	5.05033	OK
<i>Heptachlor exo-epoxide</i>	0.0010	0.0017	5	1.66768	5.05033	OK
<i>Hexachlorobenzene</i>	0.0996	0.0626	5	1.59119	5.05033	OK
<i>Indeno[1,2,3-c,d]pyrene</i>	0.0784	0.0755	5	1.03806	5.05033	OK
<i>Methoxychlor</i>	0.0605	0.0475	5	1.27344	5.05033	OK
<i>o,p'-DDT</i>	0.0026	0.0083	5	3.23512	5.05033	OK
<i>p,p'-DDD</i>	0.0726	0.1002	5	1.37895	5.05033	OK
<i>p,p'-DDE</i>	0.0048	0.0063	5	1.30970	5.05033	OK
<i>p,p'-DDT</i>	0.0044	0.0089	5	2.00876	5.05033	OK
<i>α-BHC</i>	0.0265	0.0093	5	2.84230	5.05033	OK
<i>β-BHC</i>	0.0067	0.0146	5	2.18009	5.05033	OK
<i>γ-BHC</i>	0.0153	0.0100	5	1.52239	5.05033	OK

6.1.4. Precisió

En aquest mètode la precisió es mesura a partir de l'anàlisi de 10 patrons de control. Aquests patrons es preparen a partir del Mix B, diferent dels patrons per a fer les rectes de calibratge, ja que d'aquesta manera es comprova que el mètode sigui de qualitat i que es puguin proporcionar resultats confiables.

Amb els resultats obtingut d'aquests 10 patrons de control per als 3 nivells de concentració (baix, mig i alt) es calcula la mitjana (\bar{x}) i la desviació estàndard (S_R) per a finalment calcular el coeficient de variació (CV) en percentatge segons la Eq.1. Els nivells de concentració de treball per a tots els paràmetres de la validació són les següents: nivell baix: 2 ng/L per al *Benzo[a]pyrene* i 4 ng/L per a la resta; nivell mig: 4 ng/L per al

Benzo[a]pyrene i 8 ng/L per a la resta i nivell alt: 10 ng/L per al *Benzo[a]pyrene* i 20 ng/L per a la resta. Els resultats obtinguts per a cada compost es mostren a la següent taula i es pot observar que s'ha complert en tots els casos que el resultat obtingut sigui inferior al 25%:

Taula 10. Resultats obtinguts per al càlcul de la precisió

Compost	\bar{x} (ng/L)			S_R (ng/L)			CV (%)			CONCLUSIÓ		
	B	M	A	B	M	A	B	M	A	B	M	A
<i>Benzo[a]pyrene</i>	1.92	3.74	9.76	0.22	0.40	1.30	11.30	10.77	13.32	OK	OK	OK
<i>Aldrin</i>	3.60	7.45	19.33	0.33	0.61	1.54	9.25	8.25	7.94	OK	OK	OK
<i>Benzo[b]fluoranthene</i>	3.73	7.60	19.68	0.23	0.43	1.07	6.24	5.65	5.43	OK	OK	OK
<i>Benzo[g,h,i]perylene</i>	4.29	8.37	20.47	0.68	1.21	1.97	15.91	14.49	9.61	OK	OK	OK
<i>Benzo[k]fluoranthene</i>	3.58	7.62	19.54	0.32	0.62	1.22	9.05	8.11	6.25	OK	OK	OK
<i>Dieldrin</i>	3.21	6.64	19.26	0.30	0.55	0.94	9.47	8.31	4.89	OK	OK	OK
<i>Endosulfan I</i>	3.33	7.40	19.72	0.33	0.50	1.25	9.88	6.81	6.36	OK	OK	OK
<i>Endosulfan II</i>	3.10	6.38	18.80	0.17	0.44	1.51	5.36	6.86	8.03	OK	OK	OK
<i>Endrin</i>	3.29	6.71	18.65	0.52	0.90	1.36	15.77	13.37	7.26	OK	OK	OK
<i>Fluoranthene</i>	3.79	8.01	20.20	0.34	0.52	1.15	8.96	6.52	5.71	OK	OK	OK
<i>Heptachlor</i>	3.64	7.60	20.00	0.26	0.46	1.20	7.10	6.10	6.00	OK	OK	OK
<i>Heptachlor endo-epoxide</i>	3.71	8.23	20.13	0.44	0.71	1.64	11.83	8.58	8.12	OK	OK	OK
<i>Heptachlor exo-epoxide</i>	3.84	7.98	20.59	0.43	0.52	1.29	11.17	6.49	6.25	OK	OK	OK
<i>Hexachlorobenzene</i>	4.34	8.19	20.47	0.32	0.57	0.99	7.47	6.94	4.82	OK	OK	OK
<i>Indeno[1,2,3-c,d]pyrene</i>	4.19	8.43	20.71	0.46	0.79	1.51	11.06	9.32	7.31	OK	OK	OK
<i>Methoxychlor</i>	3.33	7.50	20.42	0.23	0.42	0.58	7.01	5.61	2.85	OK	OK	OK
<i>o,p'-DDT</i>	3.56	7.83	19.96	0.19	0.45	0.97	5.46	5.69	4.86	OK	OK	OK
<i>p,p'-DDD</i>	3.46	7.40	19.03	0.33	0.63	1.31	9.59	8.52	6.88	OK	OK	OK
<i>p,p'-DDE</i>	3.23	7.24	17.66	0.18	0.56	1.28	5.52	7.72	7.23	OK	OK	OK
<i>p,p'-DDT</i>	3.33	7.15	18.56	0.36	0.54	1.08	10.73	7.61	5.82	OK	OK	OK
<i>α-HCH</i>	3.54	7.46	19.06	0.33	0.48	0.99	9.43	6.41	5.17	OK	OK	OK
<i>β-HCH</i>	3.53	7.24	18.63	0.47	0.69	1.35	13.40	9.47	7.22	OK	OK	OK
<i>γ-HCH</i>	3.51	7.39	19.07	0.26	0.42	0.98	7.29	5.63	5.13	OK	OK	OK

6.1.5. Exactitud

L'exactitud o el biaix es calcula amb els mateixos resultats obtinguts dels 10 patrons de control per a calcular la precisió. A partir d'ells es calcula la mitjana (\bar{x}) i el valor de referència (V_{ref}) s'assigna com el valor esperat, és a dir, el valor de cada nivell de concentració de treball i finalment amb aquests paràmetres es calcula el biaix segons la Eq.2. Els resultats obtinguts per a cada compost es mostren a la següent taula i es pot observar que s'ha complert en tots els casos que el resultat obtingut sigui inferior al 25%:

Taula 11. Resultats obtinguts per al càlcul de l'exactitud

Compost	\bar{x} (ng/L)			V_{ref} (ng/L)			biaix (%)			CONCLUSIÓ		
	B	M	A	B	M	A	B	M	A	B	M	A
<i>Benzo[a]pyrene</i>	1.92	3.74	9.76	2.00	4.00	10.00	-3.98	-6.47	-2.39	OK	OK	OK
<i>Aldrin</i>	3.60	7.45	19.33	4.00	8.00	20.00	-10.04	-6.82	-3.35	OK	OK	OK
<i>Benzo[b]fluoranthene</i>	3.73	7.60	19.68				-6.79	-4.99	-1.58	OK	OK	OK
<i>Benzo[g,h,i]perylene</i>	4.29	8.37	20.47				7.13	4.65	2.37	OK	OK	OK
<i>Benzo[k]fluoranthene</i>	3.58	7.62	19.54				-10.42	-4.69	-2.28	OK	OK	OK
<i>Dieldrin</i>	3.21	6.64	19.26				-19.65	-16.95	-3.71	OK	OK	OK
<i>Endosulfan I</i>	3.33	7.40	19.72				-16.63	-7.55	-1.38	OK	OK	OK
<i>Endosulfan II</i>	3.10	6.38	18.80				-22.42	-20.23	-5.98	OK	OK	OK
<i>Endrin</i>	3.29	6.71	18.65				-17.63	-16.10	-6.73	OK	OK	OK
<i>Fluoranthene</i>	3.79	8.01	20.20				-5.15	0.11	0.98	OK	OK	OK
<i>Heptachlor</i>	3.64	7.60	20.00				-8.97	-4.97	-0.02	OK	OK	OK
<i>Heptachlor endo-epoxide</i>	3.71	8.23	20.13				-7.13	2.86	0.67	OK	OK	OK
<i>Heptachlor exo-epoxide</i>	3.84	7.98	20.59				-4.05	-0.24	2.95	OK	OK	OK
<i>Hexachlorobenzene</i>	4.34	8.19	20.47				8.43	2.39	2.35	OK	OK	OK
<i>Indeno[1,2,3-c,d]pyrene</i>	4.19	8.43	20.71				4.76	5.36	3.54	OK	OK	OK
<i>Methoxychlor</i>	3.33	7.50	20.42				-16.74	-6.27	2.10	OK	OK	OK
<i>o,p'-DDT</i>	3.56	7.83	19.96				-10.96	-2.15	-0.18	OK	OK	OK
<i>p,p'-DDD</i>	3.46	7.40	19.03				-13.47	-7.46	-4.87	OK	OK	OK
<i>p,p'-DDE</i>	3.23	7.24	17.66				-19.20	-9.55	-11.69	OK	OK	OK
<i>p,p'-DDT</i>	3.33	7.15	18.56				-16.82	-10.57	-7.22	OK	OK	OK
<i>α-HCH</i>	3.54	7.46	19.06				-11.44	-6.72	-4.70	OK	OK	OK
<i>β-HCH</i>	3.53	7.24	18.63	-11.69	-9.48	-6.84	OK	OK	OK			
<i>γ-HCH</i>	3.51	7.39	19.07	-12.24	-7.69	-4.64	OK	OK	OK			

6.1.6. Incertesa

Per a calcular la incertesa als diferents nivells de concentració de treball (per una banda nivell baix i per l'altra els altres nivells conjunts), s'utilitza l'Eq.4 i es realitza tal i com s'ha descrit en l'apartat 4.3.5 ja que la incertesa prové de dos components diferents: u_R i u_{baix} .

6.1.6.1. Component de la reproductibilitat de la incertesa

Tal i com s'ha comentat anteriorment en l'apartat 4.3.5.1, aquesta part de la incertesa es calcula amb l'Eq.5 i també té dos contribucions: u_{repro} i u_{matriu} .

- Per a calcular u_{repro} es realitza l'anàlisi del màxim número possible de patrons de control, es calcula la mitjana i la desviació estàndard dels resultats obtinguts i a continuació amb aquests valors és calcula en percentatge (%) el coeficient de variació (CV). Amb aquest resultat, es calcula u_{repro} mitjançant l'Eq.6.
- Per a calcular u_{matriu} s'analitzen el màxim número possible de duplicats (en aquest cas per la disponibilitat de temps han sigut 6 duplicats per al nivell baix i 12 per als altres nivells) i a partir dels 2 resultats obtinguts per a cada duplicat es calcula la mitjana, el recorregut amb l'Eq.10, el recorregut relatiu (R_{rel}) amb l'Eq.9 i la mitjana relativa dels recorreguts ($Promig_{rel}$) amb l'Eq.8. Finalment, amb aquest últim valor obtingut, es calcula u_{matriu} mitjançant l'Eq.7.

La següent taula mostra els resultats obtinguts per a la component de la reproductibilitat de la incertesa:

Taula 12. Resultats obtinguts per al càlcul de la component de la reproductibilitat de la incertesa

Compost	u_{repro} (%)		u_{matriu} (%)		u_R (%)	
	B	M - A	B	M - A	B	M - A
<i>Benzo[a]pyrene</i>	10.28	11.19	1.47	0.64	10.39	11.21
<i>Aldrin</i>	11.34	8.44	1.54	0.61	11.44	8.46
<i>Benzo[b]fluoranthene</i>	6.31	6.39	1.56	0.68	6.50	6.43
<i>Benzo[g,h,i]perylene</i>	14.46	13.09	1.99	0.96	14.60	13.12
<i>Benzo[k]fluoranthene</i>	8.32	6.88	1.95	0.96	8.55	6.95
<i>Dieldrin</i>	9.37	6.65	1.13	0.69	9.44	6.69
<i>Endosulfan I</i>	9.77	6.98	1.36	0.65	9.86	7.01
<i>Endosulfan II</i>	7.94	7.76	1.01	0.21	8.00	7.76
<i>Endrin</i>	12.44	11.09	1.01	0.57	12.49	11.11

<i>Fluoranthene</i>	8.51	5.68	1.46	0.75	8.63	5.73
<i>Heptachlor</i>	7.34	6.45	1.20	0.78	7.44	6.49
<i>Heptachlor endo-epoxide</i>	10.81	8.64	1.28	0.78	10.88	8.68
<i>Heptachlor exo-epoxide</i>	11.03	7.14	1.42	0.92	11.12	7.20
<i>Hexachlorobenzene</i>	7.77	6.39	1.48	0.58	7.91	6.41
<i>Indeno[1,2,3-c,d]pyrene</i>	10.65	7.95	1.30	0.70	10.73	7.98
<i>Methoxychlor</i>	6.84	4.22	1.59	1.10	7.02	4.36
<i>o,p'-DDT</i>	6.40	5.58	1.01	0.77	6.48	5.63
<i>p,p'-DDD</i>	10.90	8.01	1.23	0.68	10.97	8.04
<i>p,p'-DDE</i>	8.14	7.00	1.11	0.56	8.22	7.02
<i>p,p'-DDT</i>	10.36	6.97	1.14	0.58	10.43	6.99
<i>α-HCH</i>	8.72	5.45	1.42	0.69	8.84	5.50
<i>β-HCH</i>	13.17	8.52	1.21	0.49	13.23	8.53
<i>γ-HCH</i>	7.36	5.08	1.45	0.75	7.51	5.14

6.1.6.2. Component del biaix de la incertesa

Tal i com s'ha comentat anteriorment en l'apartat 4.3.5.2, aquesta part de la incertesa es calcula amb l'Eq.11 i també té dos contribucions: MC_{biaix} i u_{ad} .

- Per a calcular MC_{biaix} es realitza l'anàlisi de 10 mostres amb les que es treballen normalment al dia a dia al laboratori (concretament 5 EBO del dia 04/05 i 5 EB1 del dia 22/04) fortificades als diferents nivells de concentració de treball, es calcula el biaix de cada resultat i amb aquest resultat, es calcula MC_{biaix} en percentatge (%) mitjançant l'Eq.12 i Eq.14.
- Per a calcular u_{ad} es té en compte el material volumètric (volums i toleràncies) que s'ha utilitzat per a preparar les diferents dilucions des del patró comercial fins al patró del nivell de concentració de treball. Aquest paràmetre es calcula en percentatge (%) tal i com mostra l'Eq.13 i Eq.14 i els seus diferents paràmetres.

La següent taula mostra els resultats obtinguts per a la component de la reproductibilitat de la incertesa:

Taula 13. Resultats obtinguts per al càlcul de la component del biaix de la incertesa

Compost	MC_{biaix} (%)		u_{ad} (%)		u_{biaix} (%)	
	B	M - A	B	M - A	B	M - A
<i>Benzo[a]pyrene</i>	16.99	13.77	1.10	1.10	18.09	14.87
<i>Aldrin</i>	7.64	8.20	1.08	1.07	8.71	9.27
<i>Benzo[b]fluoranthene</i>	11.45	8.38	1.08	1.07	12.52	9.45
<i>Benzo[g,h,i]perylene</i>	8.31	6.77	1.62	1.61	9.92	8.38
<i>Benzo[k]fluoranthene</i>	14.05	13.09	1.57	1.56	15.62	14.65
<i>Dieldrin</i>	8.87	8.69	1.17	1.17	10.04	9.85
<i>Endosulfan I</i>	12.69	12.90	1.08	1.07	13.77	13.96
<i>Endosulfan II</i>	6.51	7.30	4.01	4.00	10.52	11.31
<i>Endrin</i>	4.50	5.75	1.57	1.56	6.07	7.31
<i>Fluoranthene</i>	9.02	8.36	1.08	1.07	10.09	9.43
<i>Heptachlor</i>	11.51	9.77	1.08	1.07	12.59	10.84
<i>Heptachlor endo-epoxide</i>	8.13	9.82	1.22	1.22	9.35	11.04
<i>Heptachlor exo-epoxide</i>	10.45	7.57	12.30	12.30	22.75	19.87
<i>Hexachlorobenzene</i>	8.39	8.02	1.08	1.07	9.47	9.09
<i>Indeno[1,2,3-c,d]pyrene</i>	9.31	8.39	1.57	1.56	10.88	9.95
<i>Methoxychlor</i>	17.44	13.74	1.08	1.07	18.51	14.81
<i>o,p'-DDT</i>	1.08	1.07	11.40	11.16	12.47	12.23
<i>p,p'-DDD</i>	8.26	9.97	1.08	1.07	9.33	11.04
<i>p,p'-DDE</i>	9.69	11.66	1.08	1.07	10.76	12.73
<i>p,p'-DDT</i>	9.20	11.21	1.22	1.22	10.42	12.43
<i>α-HCH</i>	12.86	10.20	1.57	1.56	14.43	11.76
<i>β-HCH</i>	13.65	9.54	1.17	1.17	14.83	10.71
<i>γ-HCH</i>	10.07	10.53	1.08	1.07	11.14	11.60

Per tant, un cop obtingudes les dues components de la incertesa, es poden calcular la incertesa combinada (u_c) i la incertesa expandida (U) mitjançant l'Eq.4 i a continuació a la Taula 14 es mostren els resultats obtinguts observant que per a 18 dels 23 compostos d'estudi s'ha complert que els resultats obtinguts per a tots els nivells de concentració de treball siguin inferiors al límit marcat al RD 140/2003.

Taula 14. Resultats obtinguts per incertesa expandida

Compost	u_R (%)		u_{biaix} (%)		U (%)		CONCLUSIÓ	
	B	M - A	B	M - A	B	M - A	B	M - A
<i>Benzo[a]pyrene</i>	10.39	11.21	18.09	14.87	41.71	37.24	OK	OK
<i>Aldrin</i>	11.44	8.46	8.71	9.27	28.76	25.10	OK	OK
<i>Benzo[b]fluoranthene</i>	6.50	6.43	12.52	9.45	28.22	22.86	OK	OK
<i>Benzo[g,h,i]perylene</i>	14.60	13.12	9.92	8.38	35.30	31.14	OK	OK
<i>Benzo[k]fluoranthene</i>	8.55	6.95	15.62	14.65	35.61	32.43	OK	OK
<i>Dieldrin</i>	9.44	6.69	10.04	9.85	27.57	23.82	OK	OK
<i>Endosulfan I</i>	9.86	7.01	13.77	13.96	33.87	31.25	NO OK	NO OK
<i>Endosulfan II</i>	8.00	7.76	10.52	11.31	27.44	27.44	OK	OK
<i>Endrin</i>	12.49	11.11	6.07	7.31	27.77	26.59	OK	OK
<i>Fluoranthene</i>	8.63	5.73	10.09	9.43	26.56	22.06	OK	OK
<i>Heptachlor</i>	7.44	6.49	12.59	10.84	29.24	25.27	OK	OK
<i>Heptachlor endo-epoxide</i>	10.88	8.68	9.35	11.04	28.70	28.08	OK	OK
<i>Heptachlor exo-epoxide</i>	11.12	7.20	22.75	19.87	50.64	42.27	NO OK	NO OK
<i>Hexachlorobenzene</i>	7.91	6.41	9.47	9.09	24.67	22.25	OK	OK
<i>Indeno[1,2,3-c,d]pyrene</i>	10.73	7.98	10.88	9.95	30.57	25.51	OK	OK
<i>Methoxychlor</i>	7.02	4.36	18.51	14.81	39.60	30.88	NO OK	NO OK
<i>o,p'-DDT</i>	6.48	5.63	12.47	12.23	28.11	26.93	OK	OK
<i>p,p'-DDD</i>	10.97	8.04	9.33	11.04	28.81	27.32	OK	OK
<i>p,p'-DDE</i>	8.22	7.02	10.76	12.73	27.08	29.08	OK	OK
<i>p,p'-DDT</i>	10.43	6.99	10.42	12.43	29.48	28.52	OK	OK
α -HCH	8.84	5.50	14.43	11.76	33.84	25.97	NO OK	OK
β -HCH	13.23	8.53	14.83	10.71	39.74	27.39	NO OK	OK
γ -HCH	7.51	5.14	11.14	11.60	26.87	25.37	OK	OK

7. CONCLUSIONS

Un cop s'han obtingut tots els resultats dels diferents paràmetres de la validació, es pot arribar a les següent conclusions:

- S'ha aconseguit validar el 78 % dels compostos d'estudi ja que els resultats obtinguts són inferiors als límits de precisió, exactitud i incertesa marcats per la legislació vigent.
- El laboratori està preparat per a sol·licitar l'acreditació de la norma ISO 17025 per a la determinació d'aquests compostos mitjançant aquest mètode. És a dir, si l'auditoria per a determinar aquesta acreditació resultés satisfactòria significaria que el laboratori proporciona resultats fiables i amb traçabilitat, fet que indica quin pot ser el nivell de qualitat del laboratori.
- Pel que fa als compostos que no s'han obtingut resultats satisfactoris, es pot veure que és degut a la incertesa, però la normativa del RD 140/2003 només parla d'aquests paràmetres respecte al valor paramètric. Aleshores, com els resultats obtinguts per a aquests compostos no són molt superiors al límit marcat i tenint en compte que s'està treballant a concentracions inferiors al valor paramètric implicant que és més difícil obtenir les mateixes incerteses, a criteri del Responsable de Qualitat es consideren acceptables les obtingudes en aquest mètode per a validar-se i acreditar-se.

A més, també es pot considerar que gràcies a l'experiència de totes aquestes setmanes es pot arribar a les següents conclusions:

- S'ha pogut veure, reflexionar i resoldre els diferents aspectes tècnics de l'equip que van sorgint amb el transcurs del temps, com per exemple el desgast del liner i com es produeix el seu canvi, problemes que sorgeixen amb el software, talls de llum que es produeixen per necessitat o tempesta, bloquejos del braç mostrejador, etc.
- Al llarg de totes aquestes setmanes s'ha observat i viscut quin és el funcionament diari d'un laboratori de rutina i tot el que això implica.
- S'ha treballat tenint en compte en el sistema de qualitat d'un laboratori, corresponent a la ISO 17025. Concretament, s'ha aprofundit en la validació d'un mètode que és una part d'aquesta norma.

8. BIBLIOGRAFIA

- (1) Consorci d'Aigües de Tarragona. <http://www.ccaait.com>
- (2) Reial Decret 140/2003, de 7 de Febrer, pel qual s'estableixen els criteris sanitaris de la qualitat del aigua de consum humà. Ministeri de la Presidència - Govern de Espanya. *Bol. Of. del Estado (BOE)* **2003**, 7228–7245.
- (3) Reial Decret 314/2016, de 29 de juliol, pel qual es modifiquen el Reial Decret 140/2003, de 7 de febrer, pel qual s'estableixen els criteris sanitaris de la qualitat de l'aigua de consum humà, el Reial Decret 1798/2010, de 30 de desembre, pel qual es regula l'explotació i comercialització d'aigües minerals naturals i aigües de brollador envasades per al consum humà, i el Reial Decret 1799/2010, de 30 de desembre, pel qual es regula el procés d'elaboració i comercialització d'aigües preparades envasades per al consum humà. Ministeri de la Presidència - Govern de Espanya. *Boletín Of. del Estado (BOE)* **2019**, No. 11, 2260–2268.
- (4) Reial Decret 902/2018, de 20 de juliol, pel qual es modifiquen el Reial Decret 140/2003, de 7 de febrer, pel qual s'estableixen els criteris sanitaris de la qualitat de l'aigua de consum humà, i les especificacions dels mètodes d'anàlisi del Reial Decret 1798/2010, de 30 de desembre, pel qual es regula l'explotació i comercialització d'aigües minerals naturals i aigües de brollador envasades per al consum humà, i del Reial Decret 1799/2010, de 30 de desembre, pel qual es regula el procés d'elaboració i comercialització d'aigües preparades envasades per al consum humà. Ministeri de la Presidència - Govern de Espanya. *Boletín Of. del Estado (BOE)*, núm. 185 **2018**, 77350–77370.
- (5) Projecte de Reial Decret pel qual s'estableixen els criteris tècnics sanitaris del subministrament i control de la qualitat de l'aigua de consum. Versió de **10/02/2022**, 1–156.
- (6) Prieto, A.; Zuloaga, O.; Usobiaga, A.; Etxebarria, N.; Fernández, L. A. Development of a Stir Bar Sorptive Extraction and Thermal Desorption-Gas Chromatography-Mass Spectrometry Method for the Simultaneous Determination of Several Persistent Organic Pollutants in Water Samples. *J. Chromatogr. A* **2007**, 1174 (1–2), 40–49. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2007.07.054>.
- (7) Eldos, H. I.; Zouari, N.; Saeed, S.; Al-Ghouti, M. A. Recent Advances in the Treatment of PAHs in the Environment: Application of Nanomaterial-Based Technologies. *Arab. J. Chem.* **2022**, 15 (7), 103918. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2022.103918>.
- (8) Gutierrez-Urbano, I.; Villen-Guzman, M.; Perez-Recuerda, R.; Rodriguez-Maroto, J. M. Removal of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in Conventional Drinking Water Treatment Processes. *J. Contam. Hydrol.* **2021**, 243, 103888. <https://doi.org/10.1016/j.jconhyd.2021.103888>.

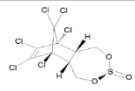
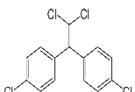
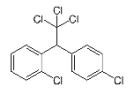
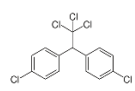
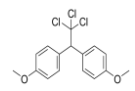
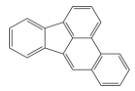
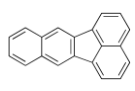
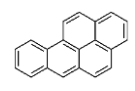
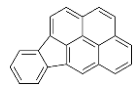
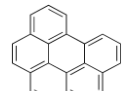
- (9) Vasseghian, Y.; Hosseinzadeh, S.; Khataee, A.; Dragoi, E. N. The Concentration of Persistent Organic Pollutants in Water Resources: A Global Systematic Review, Meta-Analysis and Probabilistic Risk Assessment. *Sci. Total Environ.* **2021**, *796*, 149000. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.149000>.
- (10) Wang, H.; Qu, B.; Liu, H.; Ding, J.; Ren, N. Analysis of Organochlorine Pesticides in Surface Water of the Songhua River Using Magnetoliposomes as Adsorbents Coupled with GC-MS/MS Detection. *Sci. Total Environ.* **2018**, *618*, 70–79. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.11.046>.
- (11) El-Gawad, H. A. Validation Method of Organochlorine Pesticides Residues in Water Using Gas Chromatography–Quadruple Mass. *Water Sci.* **2016**, *30* (2), 96–107. <https://doi.org/10.1016/j.wsj.2016.10.001>.
- (12) Ochiai, N.; Sasamoto, K.; Kanda, H. A Novel Extraction Procedure for Stir Bar Sorptive Extraction (SBSE): Sequential SBSE for Uniform Enrichment of Organic Pollutants in Water Samples. *Gerstel Glob. AppNote*, **2008**, *12*.
- (13) Unit, T. D. Thermal Desorption Unit TDU. No. 780, 30–33.
- (14) Agilent Technologies. Agilent Gas Chromatographs. *Fundamentals of Gas Chromatography*, **2002**, 10–15.
- (15) Torre, C. A. L. de la; Blanco, J. E.; Silva, J. T.; Paschoalin, V. M. F.; Conte Júnior, C. A. Chromatographic Detection of Nitrofurans in Foods of Animal Origin. *Arq. Inst. Biol. (Sao. Paulo)*, **2015**, *82* (0). <https://doi.org/10.1590/1808-1657000532013>.
- (16) Guia Para El Funcionamiento de Los Laboratorios de Ensayo de Aguas, AEAS, *Canal Isabel II*, **2016**, No. Revisión 1, 1–96.
- (17) IQAM-114-004. Elaboració de rectes de calibratge. Consorci d’Aigües de Tarragona.

9. ANNEXOS


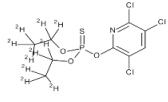
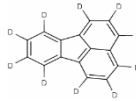
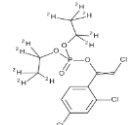
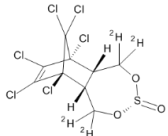
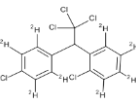
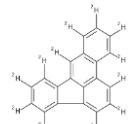
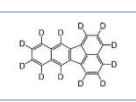
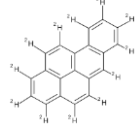
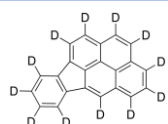
9.1. ANNEX 1: Informació detallada dels compostos del mètode

Taula 15. Informació detallada dels analits del mètode

Compost	Nº CAS	Estructura	t _R (min)	Transició Q (CE-eV)	Transició q1 (CE-eV)	Transició q2 (CE-eV)	Patró intern
<i>α</i> -HCH	319-84-6		14.082	216.9 → 181.0 (5)	218.9 → 183.0 (5)	180.9 → 145.0 (15)	<i>α</i> -HCH - D6
Hexachlorobenzene	118-74-1		14.345	283.8 → 213.9 (30)	281.8 → 211.9 (30)	248.9 → 214.0 (15)	<i>α</i> -HCH - D6
<i>β</i> -HCH	319-85-7		15.116	216.9 → 181.1 (10)	218.9 → 183.1 (10)	181.0 → 145.0 (10)	<i>α</i> -HCH - D6
<i>γ</i> -HCH	58-89-9		15.325	216.9 → 181.1 (10)	218.9 → 183.1 (10)	181.0 → 145.0 (10)	<i>α</i> -HCH - D6
Heptachlor	76-44-8		18.017	236.9 → 142.9 (25)	236.9 → 118.8 (25)	336.8 → 232.0 (40)	Chlorpyrifos - D10
Aldrin	309-00-2		19.296	262.9 → 192.9 (20)	262.9 → 190.9 (35)	254.9 → 220.0 (20)	<i>α</i> -HCH - D6
Heptachlor <i>exo</i> -epoxide	1024-57-3		20.812	182.9 → 118.9 (25)	288.8 → 217.0 (35)	288.8 → 253.0 (15)	Chlorpyrifos - D10
Fluoranthene	206-44-0		20.932	202.1 → 152.1 (50)	202.1 → 176.0 (40)	200.1 → 174.0 (40)	Fluoranthene-D10
Heptachlor <i>endo</i> -epoxide	28044-83-9		20.980	182.9 → 118.9 (25)	288.8 → 253.0 (15)	288.8 → 217.0 (35)	Chlorpyrifos - D10
Endosulfan I	959-98-8		22.128	194.9 → 159.0 (5)	194.9 → 160.0 (5)	194.9 → 125.0 (20)	Endosulfan I - D4
Dieldrin	60-57-1		23.087	262.9 → 193.0 (35)	277.0 → 241.0 (5)	345.0 → 262.7 (5)	<i>α</i> -HCH - D6
<i>p,p'</i> -DDE	72-55-9		23.131	315.8 → 246.0 (15)	317.8 → 248.0 (15)	317.8 → 246.0 (15)	<i>o,p'</i> -DDT - D8
Endrin	72-20-8		23.856	262.8 → 193.0 (35)	244.8 → 173.0 (30)	316.7 → 280.8 (5)	<i>α</i> -HCH - D6

<i>Endosulfan II</i>	33213-65-9		24.213	194.9 → 158.9 (10)	194.9 → 124.9 (25)	276.7 → 240.9 (5)	<i>Endosulfan I - D4</i>
<i>p,p'</i> -DDD	72-54-8		24.635	237.0 → 165.1 (25)	199.1 → 164.1 (20)	165.1 → 115.0 (35)	<i>Chlorpyrifos - D10</i>
<i>o,p'</i> -DDT	789-02-6		24.737	235.0 → 165.2 (20)	237.0 → 165.2 (20)	235.0 → 199.1 (15)	<i>o,p'</i> -DDT - D8
<i>p,p'</i> -DDT	50-29-3		25.965	235.0 → 165.2 (20)	237.0 → 165.2 (20)	235.0 → 199.2 (15)	<i>o,p'</i> -DDT - D8
<i>Methoxychlor</i>	72-43-5		28.082	227.0 → 141.1 (40)	227.0 → 169.1 (25)	227.0 → 212.1 (15)	<i>Chlorpyrifos - D10</i>
<i>Benzo[b]fluoranthene</i>	205-99-2		32.210	252.1 → 250.1 (35)	250.1 → 248.1 (40)	252.1 → 226.1 (30)	<i>Benzo[b]fluoranthene-D12</i>
<i>Benzo[k]fluoranthene</i>	207-08-9		32.315	252.1 → 250.1 (35)	250.1 → 248.1 (40)	252.1 → 226.1 (30)	<i>Benzo[k]fluoranthene-D12</i>
<i>Benzo[a]pyrene</i>	50-32-8		33.445	252.1 → 250.1 (35)	250.1 → 248.0 (40)	125.0 → 124.1 (25)	<i>Benzo[a]pyrene-D12</i>
<i>Indeno[1,2,3-c,d]pyrene</i>	193-39-5		37.569	276.1 → 274.1 (40)	137.0 → 136.0 (15)	138.1 → 137.1 (10)	<i>Indeno[1,2,3-c,d]pyrene - D12</i>
<i>Benzo[g,h,i]perylene</i>	191-24-2		38.367	276.1 → 274.1 (45)	138.0 → 137.0 (15)	137.0 → 136.0 (15)	<i>Indeno[1,2,3-c,d]pyrene - D12</i>

Taula 16. Informació detallada dels patrons interns del mètode

Compost	Nº CAS	Estructura	t _R (min)	Transició Q (CE-eV)	Transició q1 (CE-eV)	Transició q2 (CE-eV)
<i>α</i> -HCH-D6	86194-41-4		13.939	222.0 → 184.9 (10)	222.0 → 147.9 (25)	
Chlorpyrifos-D10	285138-81-0		19.564	324.0 → 260.0 (15)	324.0 → 195.0 (25)	259.8 → 166.9 (30)
Fluoranthene-D10	93951-69-0		20.850	212.0 → 208.0 (45)	212.0 → 210.0 (45)	
Chlorfenvinphos-D10	1346606-54-9		21.135	333.1 → 269.0 (10)	271.0 → 162.1 (18)	
Endosulfan I - D4	203645-57-2		22.046	199.0 → 163.0 (20)	199.0 → 164.0 (30)	
<i>o,p'</i> -DDT - D8	221899-88-3		24.641	243.0 → 173.0 (24)	245.0 → 173.0 (22)	243.0 → 206.0 (10)
Benzo[b]fluoranthene-D12	93951-98-5		32.112	264.2 → 260.2 (40)	264.2 → 262.2 (30)	
Benzo[k]fluoranthene-D12	93952-01-3		32.315	264.2 → 260.2 (40)	264.2 → 262.2 (30)	
Benzo[a]pyrene-D12	63466-71-7		33.357	264.2 → 260.2 (40)	250.1 → 248.0 (30)	
Indeno[1,2,3-c,d]pyrene - D12	203578-33-0		37.501	288.0 → 284.0 (45)	288.0 → 286.0 (40)	

9.2. ANNEX 2: Exemples de cromatogrames

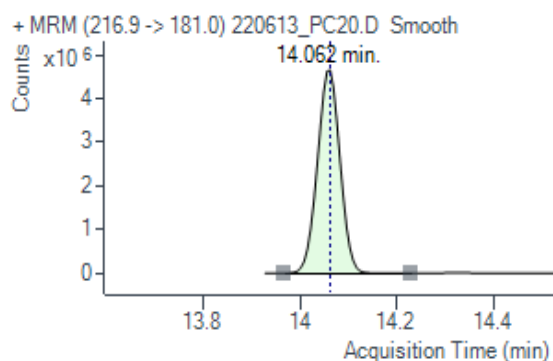


Figura 12. Transició Q del α -HCH

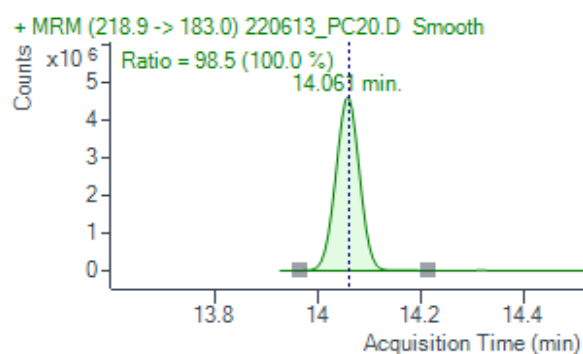


Figura 13. Transició q1 del α -HCH

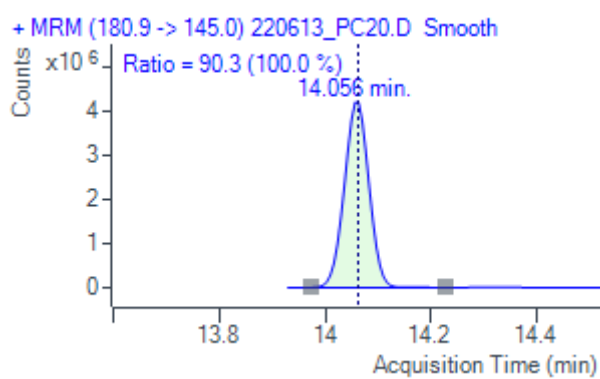


Figura 14. Transició q2 del α -HCH

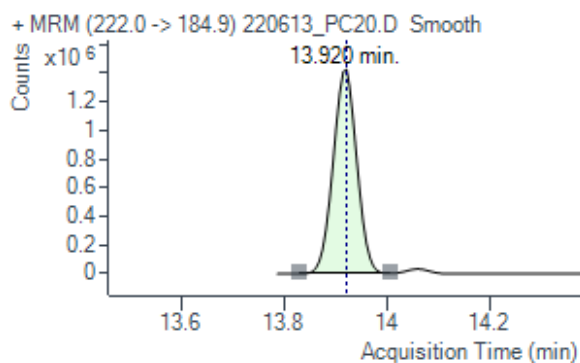


Figura 15. Transició Q del α -HCH-D6

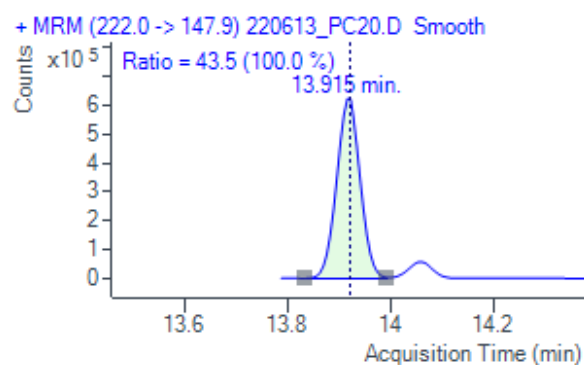


Figura 16. Transició q1 del α -HCH-D6