

***“Validación de un método de determinación de alfa total  
en muestras de  $^{99}\text{Mo}$  producido por fisión de  $^{235}\text{U}$ ”***

**ESPECIALIZACIÓN EN RADIOQUÍMICA Y APLICACIONES  
NUCLEARES**

***Trabajo final***

Alumna: **Farmacéutica Maricel Pirchio**

Directora: **Farmacéutica M. Verónica Cerizola**

Abril de 2016



**UNSAM**  
UNIVERSIDAD  
NACIONAL DE  
SAN MARTÍN

## **DEDICATORIA A:**

### **DIOS:**

Por darme todo lo que tengo y todo lo que soy. Porque he logrado todos mis objetivos debido a que eres mi guía y mi fuerza.

### **MIS PADRES:**

A mi Papi Roberto Pirchio por todo su amor, sus consejos, darme todo lo que tengo y permitirme tomar mis propias decisiones. A mi Mami Margarita Forni por todos sus cuidados, por todo su inmenso amor y por ser tan valiente y luchadora. Que desde el cielo los dos nos sigan protegiendo y amando. A los dos por su amor, comprensión y por sus enseñanzas.

### **A MI FAMILIA:**

A mi esposo Nelson, a mis hijos Matías y Ezequiel Minniti que en forma incondicional apoyaron las largas horas de trabajo y armado de esta presentación. Espero que mis hijos luchen y alcancen sus sueños y sus logros. Solo ustedes marcan su propio camino.

## **AGRADECIMIENTOS A:**

**DIOS:** Por ponerme en el momento y lugar indicado. Por nunca abandonarme y guiar mis pasos y por tantas bendiciones.

**COMPAÑEROS:** Marcela Tovar, mi leal compañera que acompañó en las mediciones. Fernanda González por la ayuda brindada y gracias por las consultas escuchadas. Silvia Farías por la corrección del documento. A mi jefa, gracias por brindarme su apoyo.

**A todos aquellos que me han dado una palabra de aliento, algún consejo, alguna enseñanza, me han escuchado o simplemente me dieron una sonrisa.**

**¡GRACIAS A TODOS!**

## • INDICE

1.	Capítulo 1 – INTRODUCCIÓN .....	5
1.1	• Presentación del tema .....	5
1.2	• Justificación .....	5
1.3	• Objetivos .....	6
2.	Capítulo 2 – CONTEXTO .....	7
2.1	• Antecedentes.....	7
2.2	• Producción del <sup>99</sup> Mo .....	8
2.3	• Controles que se realizan al <sup>99</sup> Mo.....	9
2.4	• Descripción de las Instalaciones .....	11
3.	Capítulo 3 – DESARROLLO EXPERIMENTAL .....	14
3.1	• Consideraciones previas a la validación.....	14
3.2	• Desarrollo de la validación .....	20
4.	Capítulo 4 – RESULTADOS Y CONCLUSIONES .....	54
4.1	• Discusión de resultados .....	54
4.2	• Conclusiones.....	54
5.	• Referencias.....	56
6.	• Anexos .....	57
6.1	• Anexo I .....	57
6.2	• Anexo II .....	59
6.3	• Anexo III .....	64

## • Resumen

Las Buenas prácticas de Laboratorio y las Buenas Prácticas de Manufactura requieren que los métodos de análisis sean validados con el fin de verificar que el sistema es capaz de identificar y cuantificar sustancias en los límites indicados en las especificaciones.

El presente trabajo se desarrolló con el propósito de validar el método utilizado en la determinación de alfa total como impurezas en el producto  $^{99}\text{Mo}$ . Para ello se determinó la eficiencia del instrumental, la eficiencia del método, la mínima actividad detectable, se verificó el cumplimiento de la linealidad en el rango de trabajo, y se evaluó la veracidad y precisión del método utilizando patrones trazables.

Se consideró como objetivo fundamental, en el presente trabajo, demostrar que la técnica cumple con los parámetros utilizados para su evaluación, de forma tal, que su aplicación rutinaria asegure la calidad de las mediciones de impurezas alfa totales en muestra provenientes de la producción del  $^{99}\text{Mo}$ .

Los resultados obtenidos fueron sometidos a un tratamiento estadístico para evaluar cada uno de los parámetros de desempeño mencionados, donde se incluyeron cálculos de desviación estándar, coeficiente de variación, y tests de Student y Fisher.

# 1. Capítulo 1 – INTRODUCCIÓN

## 1.1 • Presentación del tema

La validación es parte del cumplimiento de las Buenas Prácticas de Manufactura y Buenas Prácticas de Laboratorio. En la República Argentina constituye una exigencia legal por parte de la Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT). Por esta razón es un requisito validar los métodos utilizados para la cuantificación en este caso de impurezas, cuando éstas no han sido especificadas por las farmacopeas argentina, europea, de los Estados Unidos, u otras.

En la Comisión Nacional de Energía Atómica (CNEA), se encuentra el reactor RA-3, emplazado en el Centro Atómico Ezeiza (CAE), donde se produce  $^{99}\text{Mo}$  por fisión nuclear de uranio.  $^{103}\text{Ru}$ ,  $^{131}\text{I}$  y emisores alfa podrían ser posibles impurezas en este proceso, que pueden encontrarse a nivel de trazas con respecto a la actividad total del  $^{99}\text{Mo}$ , y para su cuantificación, dependiendo de la impurezas, es necesaria la aplicación de técnicas separativas radioquímicas.

El objetivo principal del presente trabajo ha sido la **validación de método de determinación de alfa total en muestras de  $^{99}\text{Mo}$  producido por la fisión del  $^{235}\text{U}$** . Para ello se debió realizar un análisis de interferencias beta y gamma, determinar la mínima actividad detectable (MDA), calcular la eficiencia del método para su aplicación en los cálculos de alfa total y su relación con la actividad total de  $^{99}\text{Mo}$ , obtenidos aplicando la técnica de rutina según procedimiento vigente.

La validación realizada y los parámetros evaluados en el presente trabajo siguen pautas estadísticas habituales utilizando patrones radiactivos trazables.

Como todo radionucleído que tenga el propósito de uso en seres humanos, la cuantificación de las impurezas es un atributo de calidad crítico, por lo que resultó de interés validar la técnica que se usa así como los parámetros que son aplicados en el método analítico de cuantificación actual con el fin de demostrar su confiabilidad.

## 1.2 • Justificación

La validación de técnicas o métodos, que no figuran en las monografías oficiales descritas en farmacopeas son requisitos exigidos por las Buenas Prácticas de Manufactura y las Buenas Prácticas de Laboratorio que deben cumplirse en la industria farmacéutica general y también en los controles llevados a cabo en la producción de radiofármacos, cuyo fin es garantizar la calidad de los productos, que son elaborados dentro de un sistema de calidad confiable y totalmente trazable.

El desarrollo del presente trabajo permitió determinar si los parámetros evaluados generan resultados confiables para la cuantificación de la impureza alfa total en el producto  $^{99}\text{Mo}$  y por lo tanto, aplicables por el Laboratorio de Control de Calidad de la Planta de Producción de Radioisótopos del Centro Atómico Ezeiza.

## 1.3 • Objetivos

### Objetivos generales:

- **Validación de Método de determinación de alfa total en muestras de  $^{99}\text{Mo}$  producido por fisión de  $^{235}\text{U}$** , evaluado de la misma forma que es realizado en rutina.
- Evaluar y verificar que los resultados de las mediciones realizadas, en la determinación de alfa total, aseguren el cumplimiento de las especificaciones obligatorias de la farmacopea Europea, de forma tal que permita garantizar la calidad radionucleídica del producto.

### Objetivos específicos:

- Evaluar los parámetros: precisión, linealidad, rango de trabajo y la robustez del método.
- Determinar la eficiencia del método, utilizando un patrón de referencia trazable, trabajando de modo similar a las medidas realizadas rutinariamente en el proceso de control del  $^{99}\text{Mo}$ .
- Determinar de la mínima actividad detectable.
- Evaluar posibles interferencias beta y gamma en el método de cuantificación de alfa total.
- Evaluar estadísticamente los parámetros de desempeño analítico mediante el uso de test t (Student) y test F (Fisher), para demostrar la confiabilidad de la técnica evaluada.

## 2. Capítulo 2 – CONTEXTO

### 2.1 • Antecedentes

La creación de CNEA en el año 1950, y posteriormente del CAE en 1967, en la zona sur del Gran Buenos Aires, estuvo enmarcada por un proceso de industrialización impulsado desde el Estado, con la firme intención de ser no solo poseedor de la tecnología nuclear sino también creador de la misma.

En el siguiente período (1970-1979), se desarrollaron las técnicas de producción de radioisótopos y aplicaciones de las radiaciones en medicina, biología, industria y agricultura. Con este propósito se realizaron las siguientes obras:

- Se construyó en el CAE una Planta de Producción de Radioisótopos (PPR) junto al reactor RA-3, que satisface desde su creación (1972) la demanda nacional y hoy contribuye a atenuar el déficit internacional proveyendo  $^{99}\text{Mo}$  a otros países, como Brasil.
- En 1985 se inicia la producción de  $^{99}\text{Mo}$  por fisión de uranio en la PPR en el CAE.
- En marzo de 1990 se reinauguró el reactor de investigación y producción RA-3 con un núcleo de elementos combustibles de bajo enriquecimiento (20% en  $^{235}\text{U}$ ), diseñado y construido por CNEA.
- En el año 1995 comenzó en el CAE la operación a escala industrial de la PPR de molibdeno por fisión para usos médicos. Esta instalación en el año 2002, a través de un desarrollo de CNEA, se convirtió en la primera planta en el mundo en operar con blancos de uranio de bajo enriquecimiento. Esto surgió como respuesta al requerimiento internacional de reducir el uso de  $^{235}\text{U}$  al 90% por los riesgos de proliferación que su uso implica.
- A fines del año 2005 se firma la Declaración Presidencial conjunta Argentino-Brasileña sobre Política Nuclear, en Puerto Iguazú, firmándose también el Protocolo Adicional al Acuerdo de cooperación con Brasil para el desarrollo y la aplicación de los usos pacíficos de la energía nuclear en materia de reactores, combustibles nucleares, suministro de radioisótopos y radiofármacos y de gestión de residuos radiactivos, y en las áreas de normativa e implementación de regulación nuclear

Argentina se ha convertido en el principal proveedor nacional de radioisótopos para uso médico y a escala mundial es uno de los pocos países exportadores de  $^{99}\text{Mo}$ , respondiendo a la creciente demanda actual de generadores de  $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$ .

Teniendo en cuenta que Argentina es un país productor y exportador de  $^{99}\text{Mo}$ , debe cumplir con la totalidad de las especificaciones de pureza que se exige para su comercialización, de acuerdo a las resoluciones establecidas por el *Organismo Internacional de Energía Atómica* (OIEA).

El control de calidad implementado sobre todos los radiofármacos producidos en la PPR es garantizado por la división de Control de Calidad, a través de técnicas de separación radioquímica, controles radioquímicos y radionucleídicos. Todo esto fortalecido por instrumentos, equipos altamente supervisados, calibrados y verificados y contenidos por el equipo de trabajo que realiza todas las operaciones para cumplir con el propósito de garantía de calidad de los productos a aprobar.

## 2.2 • Producción del $^{99}\text{Mo}$

Como fue mencionado anteriormente, Argentina es uno de los pocos países del mundo que cuenta con la tecnología para producir  $^{99}\text{Mo}$ . La obtención de  $^{99}\text{Mo}$  se puede realizar de dos formas: por activación neutrónica o por fisión.

El  $^{99}\text{Mo}$  producido mediante activación neutrónica, es decir por reacción  $(n, \gamma)$  sobre  $^{98}\text{Mo}$ , posee un bajo costo, y no demanda un proceso complejo de separación. Aunque el producto obtenido es de baja actividad específica.

En el otro proceso, el  $^{99}\text{Mo}$  es producido por fisión del  $^{235}\text{U}$ , por bombardeo con neutrones térmicos. La fisión provoca la aparición de aproximadamente 300 isótopos diferentes que se forman a lo largo de 90 cadenas de desintegración. El molibdeno radiactivo puede ser recuperado de la mezcla de productos de fisión, lo que requiere un proceso exhaustivo de purificación. Sin embargo, este proceso tiene un rendimiento mucho mayor que el obtenido por activación neutrónica, y provee la obtención de  $^{99}\text{Mo}$  de una alta actividad específica, convirtiendo a este proceso en el más utilizado, ya que responde a la demanda progresiva actual.

El  $^{99}\text{Mo}$  es obtenido en la Argentina por la irradiación en el reactor RA-3 de miniplacas de una aleación de aluminio-uranio, con uranio enriquecido al 20% en  $^{235}\text{U}$ , seguido de una separación radioquímica en la Planta de Fisión y posterior purificación en la PPR.

Nuestro país cuenta con la tecnología para producir  $^{99}\text{Mo}$  a partir de la fisión de  $^{235}\text{U}$ , abasteciendo así las necesidades del mercado local y teniendo la posibilidad de realizar exportación a países limítrofes. Uno de los radioisótopos de mayor empleo en medicina Nuclear es el  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ , producto del decaimiento radiactivo del  $^{99}\text{Mo}$ , el cual se emplea en marcaciones de moléculas específicas para el uso y es empleado en el diagnóstico médico, dando información de procesos metabólicos y estructuras anatómicas.

Para garantizar la calidad del  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  se debe controlar la calidad del  $^{99}\text{Mo}$ , lo cual se verifica cuantificando las impurezas probables, asegurando el cumplimiento de las especificaciones. Como las impurezas probables se hallan en trazas, con respecto a la actividad del  $^{99}\text{Mo}$ , las mismas deben ser concentradas por medio de una separación radioquímica adecuada, para realizar controles radioquímicos y cuantitativos con el instrumental específico, calibrado y verificado.

Una vez finalizados y aprobados todos los controles del producto  $^{99}\text{Mo}$  a granel, el lote es liberado para ser utilizado como ingrediente activo farmacéutico en la elaboración de generadores  $^{99}\text{Mo}/^{99\text{m}}\text{Tc}$ .

El  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  es utilizado para la marcación de distintos liofilizados para la realización de diagnósticos in vivo en cerebro, pulmón, hígado, riñón y en tiroides. Presenta la ventaja de suministrar una tasa de dosis sensiblemente inferior, a causa de su corto período de semidesintegración (6 horas) y su carácter de emisor gamma puro (fotones 140 keV).

## 2.3 • Controles que se realizan al <sup>99</sup>Mo

En el proceso de producción de <sup>99</sup>Mo deben realizarse los controles que se detallan a continuación.

- ✓ **Aspecto:** el cual es controlado en una celda activa.

*Criterio de aceptación:* La solución debe ser transparente, sin partículas suspendidas, incoloro o ligeramente amarillo.

- ✓ **pH**

*Criterio de aceptación:* pH: 7.0-10.0

- ✓ **Actividad específica y concentración de actividad**

Se especifican fecha, hora y minutos, según el periodo de semidesintegración del radionucleído.

- ✓ **Pureza radionucleídica:**

En el caso de la determinación del <sup>131</sup>I y <sup>103</sup>Ru, posibles impurezas del <sup>99</sup>Mo, se debe realizar una separación radioquímica para aislarlos de la alta actividad del <sup>99</sup>Mo. Posteriormente son identificados y cuantificados mediante la medición en equipo de espectrometría gamma de alta resolución, con detector de HPGe. Los criterios de aceptación, según Farmacopea Europea 2011, volumen 7, se resumen en la tabla 2.1.

*Tabla 2.1: Criterios de aceptación del producto <sup>99</sup>Mo*

Nucleído	Especificación % del total de la radioactividad
<sup>131</sup> I/ <sup>99</sup> Mo %	5,0 x 10 <sup>-3</sup>
<sup>103</sup> Ru/ <sup>99</sup> Mo %	5,0 x 10 <sup>-3</sup>
<sup>132</sup> Te/ <sup>99</sup> Mo %	5,0 x 10 <sup>-3</sup>
<sup>90</sup> Sr/ <sup>99</sup> Mo y <sup>89</sup> Sr/ <sup>99</sup> Mo %	6 x 10 <sup>-5</sup>
Emisión alfa / <sup>99</sup> Mo %	1 x 10 <sup>-7</sup>

✓ **Identificación Radionucleídica:**

El  $^{99}\text{Mo}$  emite un rayo gamma de 739,5 keV con una probabilidad de emisión del 12,12%, el cual puede ser utilizado para su identificación.

✓ **Determinación de Impureza gamma total ( $\Sigma\gamma$ )**

Después de tres meses de decaimiento de las muestras de  $^{99}\text{Mo}$ , las mismas son medidas por medio de un sistema de espectrometría gamma de alta resolución, para la determinación de las impurezas gamma totales, las cuales deben ser informadas con relación a la actividad total del  $^{99}\text{Mo}$ .

✓ **Determinación de impureza beta total ( $\Sigma\beta$ )**

Después de tres meses de decaimiento de las muestra de  $^{99}\text{Mo}$ , éstas son medidas por medio de un analizador de centelleo líquido. Se reporta el resultado como:

$$\sum \beta / ^{99}\text{Mo} = \sum \frac{\text{Actividad}}{\text{Actividad } ^{99}\text{Mo}}$$

Criterio de aceptación:  $\sum \beta / ^{99}\text{Mo} < 6 \times 10^{-5}$

✓ **Determinación de impureza alfa total ( $\Sigma\alpha$ )**

Se utilizan contadores de alfa total con detector de sulfuro de cinc. La técnica es descripta más adelante. Se reporta el resultado como:

$$\sum \alpha / ^{99}\text{Mo}\% = \sum \frac{\text{Actividad } \alpha \text{ total} \times 100}{\text{Actividad } ^{99}\text{Mo}}$$

Criterio de aceptación:  $\sum \alpha / ^{99}\text{Mo}\% < 1 \times 10^{-7}$

✓ **Pureza radioquímica**

Se determina utilizando la técnica de cromatografía ascendente en capa delgada y la determinación se realiza utilizando un radiocromatógrafo que posea detector beta/gamma. Los elementos utilizados en esta técnica se resumen en la tabla 2.2.

*Tabla 2.2: Técnica de cromatografía ascendente en capa delgada*

Soporte	ITLC Sílica gel 60 soporte de aluminio (5 x 25 cm) marca Merck
Solvente	Solución de Carbonato de sodio 10,6 g/L
Revelador	Fenilhidracina
Rf $\text{MoO}_4^{2-}$	0.9 (aproximado)

Criterio de aceptación: Pureza radioquímica  $\geq 95\%$ ; Rf  $\pm 5\%$

## 2.4 • Descripción de las Instalaciones

El laboratorio de Control de Calidad, donde se realizaron las experiencias vinculadas al siguiente trabajo, se encuentra funcionando en la PPR en el predio del Centro Atómico Ezeiza. El mismo se encarga de efectuar tomas de muestras y análisis de distintos insumos, materias primas y materiales de acondicionamiento, brindando servicios a distintos sectores de CNEA. Mientras que los principios activos, productos intermedios, a granel y terminados, son muestreados y analizados siguiendo los lineamientos de los procedimientos vigentes aprobados por nuestro sector, los cuales están bajo un sistema de calidad supervisado por la división Aseguramiento de Calidad y la Dirección Técnica de CNEA.

Las técnicas de control efectuadas se encuentran enmarcadas en los lineamientos de la disposición vigente del ente regulador ANMAT, Disp 2819/2004, de Buenas prácticas de Fabricación y Control. El laboratorio también cumple con los lineamientos de la Autoridad Regulatoria Nuclear Argentina (ARN), así como la correspondiente gestión de los residuos generados por el sector.

La División Control de Calidad, cuenta con una serie de laboratorios y locales donde se desarrollan las distintas actividades, a saber:

- *Local de Embalaje*, donde se emplaza una celda de calibración de radioisótopos. Zona relevante, que tiene como misión las mediciones de actividad y concentración de actividad de los radioisótopos, que posteriormente serán entregados a los centros de medicina nuclear o para mediciones internas del sector. El trabajo se realiza en celda totalmente blindada con paredes de plomo, vidrio plomado para evitar la irradiación de los ojos, tele pinzas y consola exterior que comanda al activímetro ubicado en el interior. El activímetro es calibrado anualmente y verificado con material de referencia certificado (fuente de  $^{137}\text{Cs}$ ). Próximamente el sector contará con una balanza para ser operada con consola externa.
- *El laboratorio de Materias Primas*, cuenta con instalaciones y equipamiento para llevar a cabo todos los análisis cualitativos y cuantitativos de las materias primas y material de acondicionamiento requeridos por los sectores productivos.
- *Laboratorio N° 9*, donde se dispone de un cromatógrafo gaseoso, Agilent Technology, utilizado para analizar los solventes residuales del producto  $^{18}\text{FDG}$ , también producido en el CAE, así como las materias primas acetonitrilo, alcohol, acetona, utilizadas en el proceso de producción del mencionado radiofármaco. En el mismo local se ubica un equipo de centelleo líquido, calibrado, verificado utilizando patrones de referencia provistos por el Laboratorio de Metrología de CNEA, y con patrones específicos propios del equipo para determinar su eficiencia y realizar un seguimiento con carta de control adjunta al instrumento. En el centelleo líquido se analizan impurezas betas del producto  $^{99}\text{Mo}$  y de muestras de residuos de fisión, donde este laboratorio presta servicio.
- En el *laboratorio N° 18 "Químicos"*, se realizan los controles radioquímicos y pureza radioquímica, de los distintos radioisótopos, donde se encuentra el equipo radiocromatógrafo, el cual dispone de un detector de yoduro de sodio ubicado sobre un colimador con desplazamiento horizontal que opera a una velocidad constante. Este equipo permite detectar radiaciones del tipo beta y gamma; las mencionadas radiaciones pasan por un sistema de adquisición y luego son procesadas por el software "Peak simple". Los datos son visualizados por medio de espectros donde se especifican los porcentuales de las áreas integradas y se provee información en

cuanto al porcentual de la pureza radioquímica y el tiempo de retención de los activos analizados.

- *Laboratorio N° 19*, se ubican los activímetros (activímetro calibrador radioisotópico CAPINTEC, y el activímetro Vexcal) para la determinación del período de semidesintegración del producto  $^{18}\text{FDG}$ . Son calibrados anualmente y verificados dos veces por semana, presentan control de mantenimiento preventivo y control del instrumental por medio de la herramienta estadística carta de control. El activímetro Vexcal ha sido calificado en su operación y desempeño, quedando documentado los datos reportados.

Todos los laboratorios cuentan con el instrumental e insumos requeridos para la realización de los controles radioquímicos pertinentes. Dentro de ellos se encuentran todos los reactivos necesarios para la preparación de las distintas fases estacionarias empleadas en los procesos cromatográficos, cubas para cromatografía, heladeras clasificadas y asignadas para contener material microbiológico y/o químicos (soluciones, contramuestras, patrones líquidos certificados), en donde el rango de trabajo de temperatura requerido es controlado con data loggers calibrados.

Locales, exclusivos para el control microbiológico:

- *Laboratorio N° 20*, preparación de medios de cultivo para el control microbiológico ambiental de áreas destinadas a la producción de radiofármacos de aplicación endovenosa. El mencionado laboratorio cuenta con equipamiento validado, calibrado y verificado como incubadoras de cultivo, campanas de flujo laminar, baño térmico.
- *Laboratorio N° 21A, Controles Microbiológicos*. Es un área clasificada y físicamente separada del siguiente modo:
  - ✓ Área limpia: ISO clase 7 con presión diferencial controlada.
  - ✓ Vestuario: ISO clase 7 presión diferencial.
  - ✓ Flujo laminar, integridad de filtros HEPA (High Efficiency Particulate Air). Conteo de partículas ISO clase 5.
- *Laboratorio N° 21B*, se realizan las separaciones radioquímicas de las posibles impurezas del producto  $^{99}\text{Mo}$ , utilizando una campana radioquímica controlada y verificada por personal de seguridad radiológica de la PPR. En el mismo local se encuentran dos equipos contadores de alfa total, de los cuales uno de ellos, de marca Ludlum, que ha sido adquirido a mediados del año 2015. El mismo fue utilizado para realizar la validación del método mencionado en este trabajo.
- *Laboratorio N° 38, Controles Nucleares*, donde se realizan todos los controles radionucleídicos de los radioisótopos. El sector actualmente cuenta con un sistema de espectrometría gamma de alta resolución con detector de germanio hiperpuro (HPGe) y en un futuro inmediato (2016) se incorporará un segundo detector de características similares al existente.
- *Sala de balanzas*, cuyas balanzas analíticas de precisión son calibradas anualmente según el procedimiento CNEA PO-ATN31C-30 "Calibración y mantenimiento de equipos e instrumentos de Control de Calidad" y verificadas tres veces a la semana,

teniendo un seguimiento estadístico con carta de control, utilizando pesas certificadas, las cuales son calibradas según procedimiento vigente.

El sector cuenta con un banco de radioisótopos y bunkers donde se conservan contramuestras de todos los radioisótopos producidos en la PPR, llevándose un registro del ingreso y egreso de las mismas. Algunas muestras son controladas en un tiempo diferido y después de un año con la supervisión de un oficial de radioprotección, son controladas, acondicionadas y gestionada su disposición final en el sector Residuos de CAE.

El sector también cuenta con un droguero, disponiendo de una carpeta informativa con hojas de seguridad. Los reactivos líquidos están contenidos en bandejas antiderrames que en su interior contienen paños absorbentes especiales en caso de ruptura de envases. Se dispone de elementos de seguridad física en el caso de suceder algún tipo de derrame.

Es importante destacar que se cumplen las normas referidas a la Protección Radiológica. En todos los procesos los viales a ser analizados conteniendo una muestra con actividad, son transportados dentro de un blindaje o en el interior de un pastillero de acrílico, dependiendo del tipo de radioisótopo y de su actividad.

El sector cuenta con un sistema de transferencia de materiales (SAS) donde las muestras contenidas en blindajes son transferidas a distintos sectores donde serán analizadas.

Las separaciones radioquímicas y determinaciones químicas de los productos activos son realizados dentro de campanas radioquímicas.

El personal del laboratorio cuenta con dosímetros personales usados siempre en la solapa del guardapolvo, y de anillo cuando se está manipulando material activo. También está a disposición permanente del personal el contador de todo el cuerpo y el control dosimétrico de tiroides realizado por personal de Radioprotección.

Todo material descartable utilizado (guantes, jeringas, tips) deben ser depositados en contenedores identificados por el símbolo de radioactividad, para su posterior disposición final.

### 3. Capítulo 3 – DESARROLLO EXPERIMENTAL

#### 3.1 • Consideraciones previas a la validación

En los siguientes párrafos se expresarán algunas consideraciones a tener en cuenta, sobre las tareas que habitualmente se llevan a cabo en el Laboratorio de Control de Calidad, y el desarrollo del trabajo experimental vinculado a la validación que se llevó a cabo.

##### 3.1.1 Muestra analítica de rutina

La muestra es proporcionada por los técnicos de la PPR los días de producción del <sup>99</sup>Mo. Es entregada en un vial de 10 ml rotulado como “Vial B”, conteniendo 2,5 ml en medio de agua purificada <sup>(1)</sup> en un blindaje asignado. La actividad contenida en el vial B es medida en la celda de calibración en el activímetro Capintec CRC-15R ECC 005 por personal técnico del sector de Control de Calidad. Toda la medición se realiza siguiendo las instrucciones del procedimiento CNEA PO-ATN 31C-010, “Uso, limpieza, mantenimiento y verificación de la Cámara Capintec CRC-15R ECC005”, mediante el uso de telepinzas.

Se registra la actividad hora, día y producto en el libro de uso del activímetro. Posteriormente la muestra es recibida por personal auxiliar de producción, quien lo ubica en el SAS de transferencia N° 1.

A continuación personal auxiliar de Control de Calidad se encarga de retirarlo y colocarlo en la campana radioquímica del laboratorio 21B-Molibdeno para su respectivo control.

##### 3.1.2 Control de instrumental

**Balanza Mettler Toledo:** Balanza analítica, la cual es calibrada anualmente y verificada dos veces a la semana. La verificación se realiza según procedimiento vigente propio del laboratorio PO-ATN31C-011, utilizando pesas certificadas trazables. El funcionamiento del instrumento es controlado por medio de carta control mensual.

---

<sup>1</sup> (\*) **Definición de agua purificada** USP 34 NF 29 2011 volumen 1 (edición): es agua obtenida mediante un proceso adecuado. No contiene ninguna sustancia agregada. El agua purificada debe cumplir con los requisitos de pureza química, iónica y orgánica y debe protegerse de la contaminación microbiana. La calidad mínima del agua fuente, o agua de alimentación para la producción de agua purificada es la del agua potable. Esta agua de alimentación puede purificarse usando operaciones unitarias que incluyen la deionización, la destilación, el intercambio iónico, la ósmosis inversa, la filtración u otros procedimientos de purificación adecuados.<sup>1</sup>

**Contador alfa total marca Ludlum:** es un equipo que presenta un detector de ZnS (Ag). Con fototubo multiplicador de dinodos de 10 clavijas, fondo alfas de 3 CPM o menos, reporta fecha, hora, radionucleído y actividad medida. El equipo es calibrado por empresa externa representante de la marca. El laboratorio de Control de Calidad se encarga de realizar el control de la eficiencia del instrumental según procedimiento CNEA PO-ATN31C-072. El mencionado control tiene una frecuencia mensual. El patrón utilizado es una fuente puntual electrodepositada de  $^{241}\text{Am}$  sobre un soporte de oro.

### 3.1.3 Control de la eficiencia del equipo Ludlum

El equipo es controlado realizando un seguimiento en la determinación de la eficiencia del detector. Se siguen los lineamientos del procedimiento CNEA PO-ATN31C-072, "Verificación de la Eficiencia del detector Alfa Ludlum Modelo 3030E ECC077".

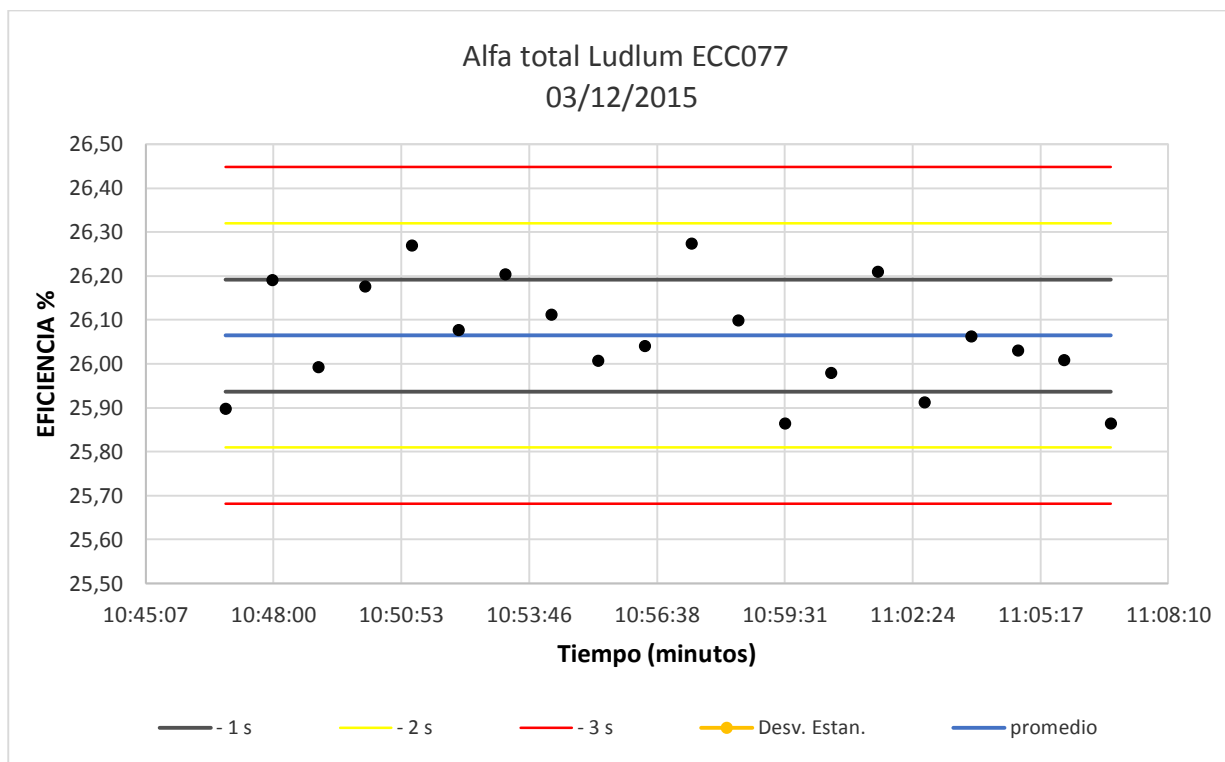
Utilizando una fuente patrón puntual certificada de  $^{241}\text{Am}$  se realizan 20 mediciones, setear previamente al equipo para coleccionar las mediciones de forma continua y cada minuto. El equipo emite su reporte en cuentas, para ingresar los datos en la planilla excel mostrada en la tabla 3.1, se debe dividir las cuentas obtenidas en cada medición por 60 para tener los datos en cuentas por segundo (cps). A continuación se muestra un ejemplo de registro y tabla de colección de datos.

$^{241}\text{Am}$	
Concentración de actividad, según certificado [Bq]:	3618
Periodo de semidesintegración ( $t_{1/2}$ ) [años]:	432,2
Periodo de semidesintegración ( $t_{1/2}$ ) [días]:	157861,05
Constante de semidesintegración ( $\lambda$ ):	4,39E-06
FECHA CERTIFICADO:	01-03-97
FECHA MEDIDA:	01-12-15
t [días]=	7217

*Tabla 3.1 - Eficiencia porcentual en función de la hora de medición, para la fuente puntual  $^{241}\text{Am}$  electrodepositada*

Fecha de medición	Hora de medición	Valor medido (cps)	Actividad Patrón (Bq)	Eficiencia (%)
03/12/2016	10:46:55	907,78	3505,17	25,90
03/12/2016	10:47:58	918,05	3505,17	26,19
03/12/2016	10:49:01	911,12	3505,17	25,99
03/12/2016	10:50:04	917,55	3505,17	26,18
03/12/2016	10:51:07	920,80	3505,17	26,27
03/12/2016	10:52:10	914,10	3505,17	26,08
03/12/2016	10:53:13	918,52	3505,17	26,20
03/12/2016	10:54:16	915,28	3505,17	26,11
03/12/2016	10:55:19	911,60	3505,17	26,01
03/12/2016	10:56:22	912,82	3505,17	26,04
03/12/2016	10:57:25	920,97	3505,17	26,27
03/12/2016	10:58:28	914,85	3505,17	26,10
03/12/2016	10:59:31	906,63	3505,17	25,87
03/12/2016	11:00:34	910,67	3505,17	25,98
03/12/2016	11:01:37	918,75	3505,17	26,21
03/12/2016	11:02:40	908,28	3505,17	25,91
03/12/2016	11:03:43	913,55	3505,17	26,06
03/12/2016	11:04:46	912,45	3505,17	26,03
03/12/2016	11:05:49	911,68	3505,17	26,01
03/12/2016	11:06:52	906,63	3505,17	25,87
			<b>Promedio</b>	26,06

Con los datos obtenidos se realiza la carta de control del equipo, se grafica Eficiencia (%) del equipo en función del tiempo, quedando evidenciado en la Figura N° 3.1.



*Figura 3.1 – Carta de control equipo Ludlum*

En el anexo II pueden observarse imágenes del equipamiento empleado.

### 3.1.4 Eficiencia del método

Para determinar la eficiencia del método, se decide realizar la medición en condiciones idénticas a las medidas en una muestra real.

Para reproducir una muestra real se procede a realizar diluciones de una solución patrón de  $^{241}\text{Am}$  certificada (Fuente 77/07) proveniente del laboratorio de Metrología de Radioisótopos del Centro Atómico Ezeiza. Los datos de la fuente son los siguientes:

*Concentración de actividad certificada = 4,681 kBq/g.*

*Incertidumbre estándar combinada = 0,027 kBq/g.*

*Fecha de Referencia = 09/09/2011.*

Las diluciones fueron preparadas con agua purificada, del mismo tipo que es utilizada en el proceso del  $^{99}\text{Mo}$ . En la Tabla N° 3.2 se identifica la procedencia de las diluciones para generar la muestra a ser medida.

*Tabla 3.2 – Diluciones patrón <sup>241</sup>Am*

Identificación	m <sub>i</sub> (g)	μ	m <sub>f</sub> (g)	μ	DPM/g	μ
77/07	-	-	-	-	278905	1620
77/07 1:10	0,0998	0,0001	1,0324	0,0001	26961	159
77/07 1:100	0,1050	0,0001	1,0209	0,0001	2773	17
77/07 1:1000	0,0996	0,0001	1,0133	0,0001	273	2

Donde:

**m<sub>i</sub>**: masa de solución a diluir (g)

**m<sub>f</sub>**: masa final diluida (g)

**μ**: incertidumbre propagada de la preparación del estándar, incluyendo la pesada en la balanza utilizada.

**dpm/g**: desintegraciones por minuto en un gramo

Una vez preparada la dilución a emplear (77/07 1:1000) se prosiguió de igual manera que en la rutina, se dispensó una masa de alrededor de 0,200 g <sup>(2)</sup>, utilizando una jeringa de tuberculina, sobre un soporte lámina de acero inoxidable.

*Tabla 3.3 – Dpm teóricas obtenidas para la alícuota dispensada*

Identificación	Masa (g)	Dpm teórico (en la lámina)
Eficiencia del método	0,1907	52

Aplicando la fórmula de eficiencia:

$$Eficiencia \% = \frac{cpm \times 100}{dpm}$$

La eficiencia del método, la cual se puede decir, se comporta constante si se mantienen las mismas condiciones de medición a lo largo del rango de trabajo.

La medición en el equipo Ludlum se realizó por conteo continuo, configurándolo con un tiempo de conteo de 84 minutos para cada medición. Se obtuvieron 30 datos, consignados en la tabla N° 3.4.

---

<sup>2</sup> Masa en peso equivalente a 9 gotas, dispensadas en la técnica de trabajo rutinario con jeringa sin aguja. Se dispensa de esta forma por la actividad que se maneja, por realizarse habitualmente en horas de la madrugada, y por seguridad radiológica.

*Tabla 3.4 – Eficiencia % del método para cada medición*

Identificación	Cpm	Eficiencia %	Identificación	Cpm	Eficiencia %
1	7	12,59	16	7	12,55
2	8	14,77	17	7	13,92
3	7	12,80	18	6	12,41
4	6	12,13	19	6	11,90
5	6	11,97	20	6	12,07
6	6	11,68	21	7	12,61
7	7	13,78	22	7	13,83
8	7	13,07	23	6	12,18
9	6	11,84	24	6	11,86
10	7	12,91	25	6	12,39
11	6	11,93	26	6	11,86
12	7	12,68	27	6	13,97
13	7	13,07	28	7	12,48
14	8	15,34	29	6	12,23
15	6	11,63	30	6	12,57

**Cpm:** Cuentas por minuto (medición del equipo)

**Dpm:** Desintegraciones por minuto (cálculo teórico)

*Tabla 3.5 - Promedio de la eficiencia del método y desvío estándar asociado a la medición.*

Estadística descriptiva			
Variable	N	Promedio %	Sd%
Eficiencia	30	0,127	0,009

Desvío estándar relativo:

$$rsd = \frac{S}{x} * 100\%$$

En la Tabla 3.6 se detalla el promedio porcentual de la eficiencia del método, el desvío estándar y el desvío estándar relativo.

*Tabla 3.6 Promedio porcentual, desvío estándar y desvío estándar relativo de la eficiencia del método*

Promedio Eficiencia Método %	Desvío estándar %	RSd %
12,70	0,92	7

## 3.2 • Desarrollo de la validación

### 3.2.1 Recursos humanos y materiales

La validación se llevó a cabo, contando con los siguientes materiales y recursos.

#### 3.2.1.1. Recursos Humanos:

- Farmacéutica Maricel Pirchio (Tesisista)
- Farmacéutica y Bioquímica María Verónica Cerizola (Directora de Tesis)
- Técnica Fernanda Gonzalez (Asistente)
- Licenciada M.Marcela Tovar (Asistente)

#### 3.2.1.2. Recursos Institucionales:

- Laboratorio de la División Control de Calidad
- Biblioteca Comisión Nacional de Energía Atómica

#### 3.2.1.3. Recursos Materiales:

- Equipo LUDLUM MODEL 3030 & 3030E ALPHA SAMPLE COUNTER August 2012 Serial Number 185762 and Succeeding Serial Numbers. LUDLUM MEASUREMENTS, INC.
- Lámina de acero inoxidable 420 circular de 2 cm de diámetro y 0,6 mm de espesor.
- Balanza Analítica Mettler Toledo AL-204 ECC 007.
- Lámpara infrarroja
- Porta muestra metálico
- Porta muestra de acrílico
- Reactivo: agua purificada

#### 3.2.1.4. Fuentes Patrón:

<sup>241</sup>Am certificada (fuente 77/07)

<sup>241</sup>Am (fuente 22-14)

<sup>90</sup>Sr (fuente 22-15)

<sup>137</sup>Cs (fuente 75-03-03)

<sup>241</sup>Am (fuente puntual patrón electrodepositada en un soporte de oro)

## 3.2.2 Procedimiento

### 3.2.1.5. Método Analítico

El método de determinación de actividad alfa total, aplicado a muestras provenientes de la producción del  $^{99}\text{Mo}$  se realiza en condiciones tales que se debe proteger al personal. El vial conteniendo la muestra que ingresa al sector en su correspondiente blindaje expone al personal a las radiaciones ionizantes durante el tiempo de su manipuleo. Por tal motivo, el procedimiento empleado debe ser rápido y sencillo al momento de realizar la determinación.

Todos los elementos de radioprotección, como dosímetro personal, de anillo, guantes y guardapolvo son utilizados durante la preparación y medición de las muestras.

Descripción de la técnica utilizada para realizar todas las determinaciones:

1. Colocar la lámina circular (2 cm diámetro) de acero inoxidable 420 dentro del porta muestra metálico
2. Colocar en balanza y tarar.
3. Dispensar con jeringa tuberculina cantidad de muestra tal que su peso sea alrededor de 0,200g (cantidad que se dispensa de la muestra rutinariamente en la determinación de alfa total).
4. Registrar el peso en el registro correspondiente.
5. Poner a secar bajo lámpara infrarroja, durante 15 minutos.
6. Una vez seca, retirar la lámina y colocarla, en el interior de un portamuestra de acrílico, mediante el uso de una pinza asignada.
7. Introducir el soporte de acrílico conteniendo la muestra en el interior de la bandeja de medición del equipo Ludlum.
8. Realizar la medición según procedimiento CNEA PO-ATN31C-074 "Uso, limpieza, mantenimiento preventivo y correctivo del detector Alfa LUDLUM Modelo 3030E ECC077". Tiempo de medición: 84 minutos.

### 3.2.1.6. Método Estadístico

El análisis estadístico estuvo vinculado a los siguientes puntos:

- ✓ Determinación de la MDA
- ✓ Linealidad del método
- ✓ Selectividad-Interferencia
- ✓ Veracidad
- ✓ La precisión se realizó bajo la condición de: Repetibilidad
- ✓ Robustez del método.
- ✓ Cálculo de la incertidumbre asociada a la medición.
- ✓ Evaluación estadística de los parámetros de desempeño analítico mediante el uso de test t (Student) y Test F (Fisher), para demostrar la confiabilidad de *medición del equipo*.

### 3.2.1.7. Cálculo de MDA

Para el cálculo de la MDA se midieron un total de 25 fondos. La eficiencia del método calculada previamente fue incluida en la fórmula. Los valores obtenidos se muestran en la tabla 3.7.

*Tabla 3.7 Cuentas obtenidas en las mediciones del fondo*

Medición	Fecha	Cuentas
1	01/12/2015	23
2	01/12/2015	20
3	01/12/2015	21
4	01/12/2015	26
5	01/12/2015	21
6	01/12/2015	20
7	01/12/2015	19
8	01/12/2015	24
9	01/12/2015	23
10	01/12/2015	21
11	01/12/2015	23
12	01/12/2015	19
13	02/12/2015	24
14	02/12/2015	22
15	02/12/2015	23
16	02/12/2015	21
17	02/12/2015	18
18	02/12/2015	22
19	02/12/2015	22
20	02/12/2015	21
21	02/12/2015	19
22	02/12/2015	25
23	02/12/2015	21
24	02/12/2015	24
25	02/12/2015	22

*Tabla 3.8 - Promedio del fondo y desvío estándar asociado a la medición*

Estadística descriptiva					
Variable	N	Promedio	Sd	Mínimo	Máximo
Cuentas	25	21,76	2,01	18,00	26,00

Posteriormente se cálculo la MDA

$$MDAsd = \frac{t^2_{(24, 0,05)} + 2t_{(24, 0,05)} \times Sd_{fondo}}{Ef \times tiempo}$$

$t_{(n,\alpha)}$ : 1.711 (valor t-student con 24 grados de libertad y 0,05 factor de cobertura)

**tiempo**: tiempo de medición en segundos. 5040 segundos.

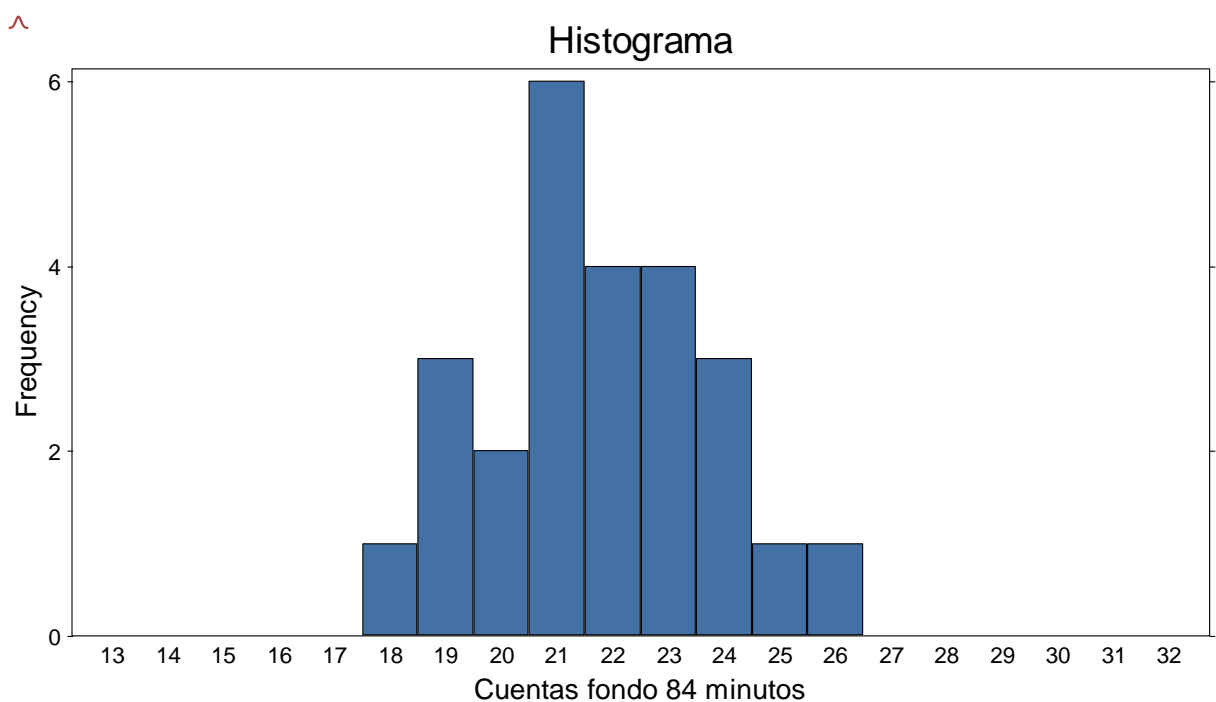
**Ef**: Eficiencia de medición del método: 0,127

**Sd<sub>fondo</sub>**: desvío estándar del fondo.

El valor obtenido de MDA, es utilizado para calcular la mínima actividad de  $^{99}\text{Mo}$  que deberá contener el vial B del proceso para poder cumplir con las especificaciones de la farmacopea europea.

La MDA, según este cálculo, resultó ser 0,0153 Bq

A continuación se representa el histograma del conteo de los fondos, evidenciando la campana gaussiana característica de una distribución normal, en la figura 3.2.



*Figura 3.2 – Histograma: Frecuencias en función del conteo.*

### 3.2.1.8. Linealidad

La determinación de alfas totales en muestras de  $^{99}\text{Mo}$  presenta un rango de trabajo próximo a la MDA, por esta razón la linealidad fue evaluada a partir de la MDA hasta un orden por encima del estándar inicial (rango de trabajo).

Lo que se evalúa en linealidad es el comportamiento entre las desintegraciones calculadas que se dispensaron en el soporte y las cuentas reportadas en la medición.

Para evaluar la linealidad se utilizó una solución patrón de  $^{241}\text{Am}$  codificada por el Laboratorio de Metrología de Radioisótopos del Centro Atómico de Ezeiza, como Fuente Líquida 22-14.

Los datos correspondientes a esta fuente son:

*Concentración de actividad* =  $4,97 \pm 0,15$  kBq/g

*Fecha de referencia* = 01/06/2014

Se realizaron progresivas diluciones para generar los puntos de evaluación, según tabla 3.9

*Tabla 3.9 - Preparación de las soluciones de trabajo*

Identificación	$m_i$ (g)	$\mu$	$m_f$ (g)	$\mu$	Ddm/g	$\mu$	Procedencia
22/14	-	-	-	-	297533	9000	-
22/14 1:10	0,1103	0,0001	1,0213	0,0001	32133	972	22/14
22/14 1:100	0,1181	0,0001	1,0450	0,0001	3632	110	22/14 1:10
22/14 1:500	0,3214	0,0001	0,6780	0,0001	1721	52	22/14 1:100
M1	0,1619	0,0001	1,0353	0,0001	269	8	22/14 1:500
M2	0,1190	0,0001	1,0132	0,0001	202	6	22/14 1:500
M3	0,0823	0,0001	1,0323	0,0001	137	4	22/14 1:500
M4	0,4320	0,0001	1,0027	0,0001	87	3	M2
M5	0,1470	0,0001	1,0288	0,0001	29	1	M2

De las diluciones anteriores se tomaron alícuotas, cuyo peso depositado en cada lámina rotulada fue registrado en la tabla 3.10.

Se decidió dispensar 7 láminas rotuladas con diferentes actividades para evaluar la linealidad y cada una de ellas fue medida por quintuplicado. La regresión lineal se generó a partir del promedio de las repeticiones.

*Tabla 3.10 - Descripción de las alícuotas dispensadas en cada lámina para la obtención de la regresión lineal*

Identificación	Masa dispensada lámina (g)	$\mu$	dpm calculadas en lámina	$\mu$	Dps calculadas en lámina	$\mu$	Procedencia
I	0,0379	0,0005	1,1	0,04	0,0183	0,0006	M5
II	0,0759	0,0005	2,2	0,07	0,0367	0,001	M5
III	0,0862	0,0005	2,5	0,08	0,0417	0,001	M5
IV	0,1207	0,0005	3,5	0,1	0,0583	0,002	M5
V	0,1965	0,0005	5,7	0,2	0,0950	0,003	M5
VI	0,1161	0,0004	10,1	0,3	0,1683	0,005	M4
VII	0,1207	0,0004	10,5	0,3	0,1750	0,005	M4

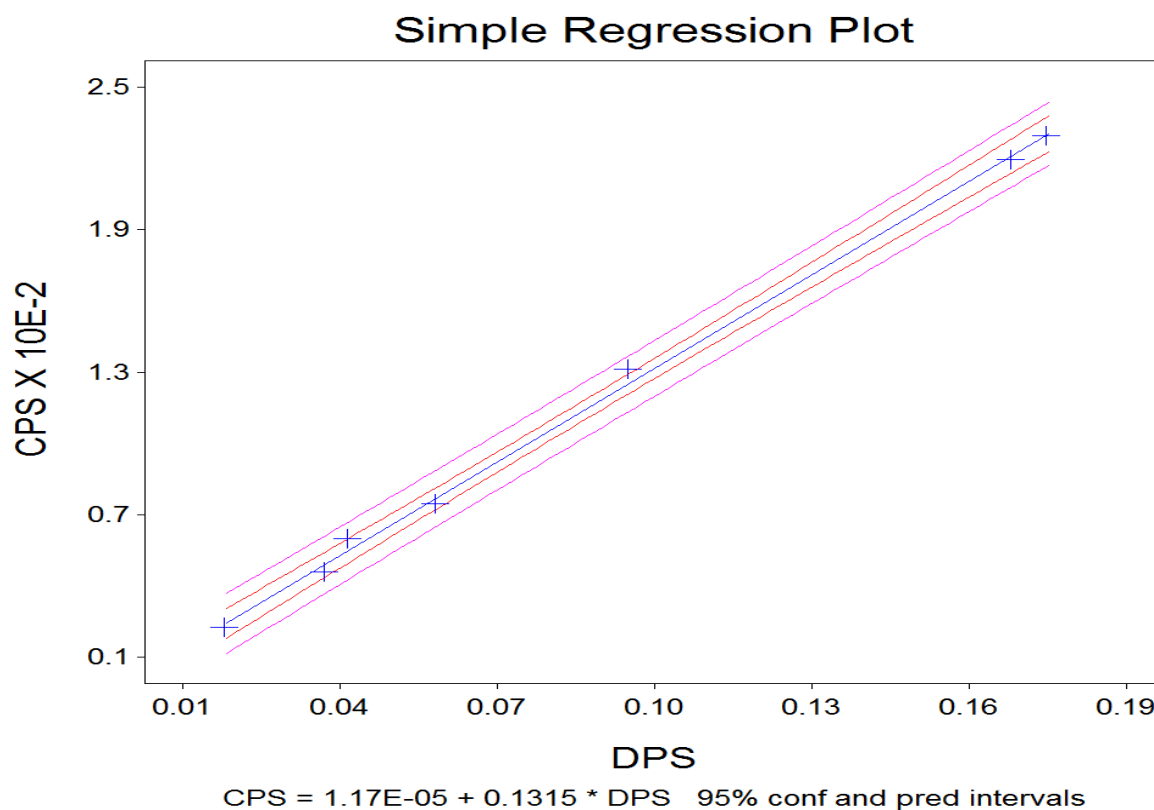
Todas las muestras fueron medidas durante 84 minutos, al igual que el fondo y que las muestras procedentes de la producción de  $^{99}\text{Mo}$ . A todas las mediciones se les descontó el fondo.

En la tabla 3.11 se detallan los valores en CPS obtenidos en las mediciones realizadas contra las DPS calculadas teóricamente para la masa dispensada.

*Tabla 3.11 - Valores de CPS y DPS para la masa dispensada*

Identificación	CPS (Medidas)	DPS (Calculadas)
I	0,0022	0,0183
II	0,0045	0,0367
III	0,0060	0,0417
IV	0,0074	0,0583
V	0,0131	0,0950
VI	0,0219	0,1683
VII	0,0230	0,1750

La figura 3.3 describe la regresión lineal, donde se graficó CPS versus DPS



*Figura 3.3 – Regresión lineal*

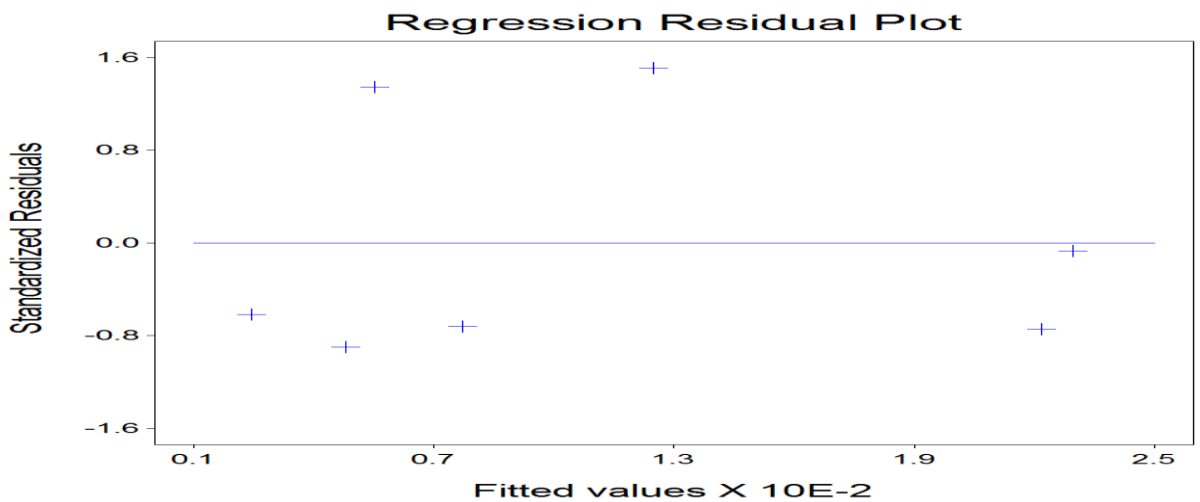
UNWEIGHTED LEAST SQUARES LINEAR REGRESSION OF CPS

PREDICTOR VARIABLES	COEFFICIENT	STD ERROR	STUDENT'S T	P	
CONSTANT	1.171E-05	2.815E-04	0.04	0.9684	
DPS	0.13150	0.00272	48.29	0.0000	
R-SQUARED	0.9979	RESID. MEAN SQUARE (MSE)	1.817E-07		
ADJUSTED R-SQUARED	0.9974	STANDARD DEVIATION	4.263E-04		
SOURCE	DF	SS	MS	F	P
REGRESSION	1	4.238E-04	4.238E-04	2332.38	0.0000
RESIDUAL	5	9.085E-07	1.817E-07		
TOTAL	6	4.247E-04			

CASES INCLUDED 7 MISSING CASES 0

*Figura 3.4 - Datos estadísticos obtenidos con el programa Statistic*

Se realizó también el análisis de residuales. En la figura 3.5 puede verse el gráfico correspondiente a los residuales estandarizados para las muestras analizadas.



*Figura 3.5 - Distribución de la regresión residual*

Del gráfico puede deducirse que:

- ✓ Los residuales tienen una distribución aleatoria de los puntos experimentales, lo cual es un indicio de linealidad.
- ✓ No se evidencia tendencia.
- ✓ La distribución aleatoria y la no observación de tendencia, son evidencias de linealidad experimental.



*Figura 3.6 - Distribución de los residuos en forma aleatoria.*

Se utilizó el residual estandarizado, por lo que cualquier observación con un residual mayor de 2 o menor de 2 fue considerado "outlier". En la figura 5 no hay evidencia de outliers ya que todos puntos experimentales se encuentran entre  $\pm 2$ .

En el caso evaluado se cumple con el ajuste lineal por:

- ✓ Coeficiente de determinación es próximo a 1 ( $R^2 = 0.9979$ ).
- ✓ El análisis de residuales presenta una distribución aleatoria
- ✓ No se evidencia tendencia.

El método presenta evidencias suficientes para afirmar que es lineal para el rango de trabajo estipulado desde 0,0183 Bq hasta 0,175 Bq.

### **3.2.1.9. Selectividad / Interferencias**

Selectividad y especificidad son características de performance de un método, las cuales evalúan la confiabilidad de las mediciones en presencia de potenciales interferencias.

La importancia de realizar la determinación de la selectividad y la especificidad en nuestro método, es muy importante para asegurar que la medición de la radiación emitida es debida a los emisores alfa y que en presencia de impurezas betas y/o gammas, las mediciones no son afectadas.

Las fuentes de interferencias son las radiaciones ionizantes presentes en la muestra distintas de la alfa, sobretodo la del  $^{90}\text{Mo}$  y del  $^{90}\text{Sr}$ .

### 3.2.1.9.1 Evaluación de interferencia Beta.

Para evaluar dicha interferencia, se procede a preparar una solución que contenga actividad alfa utilizando un patrón de  $^{241}\text{Am}$ , la fuente líquida 22-14, como se observa en la tabla 3.12.

*Tabla 3.12 - Preparación de solución  $^{241}\text{Am}$ , utilizando el patrón (fuente 22-14)*

Identificación	Masa inicial (g)	$\mu$	Masa final (g)	$\mu$	Dpm/g	$\mu$	Procedencia
22/14	-	-	-	-	297437	8977	-
22/14 1:10	0,1114	0,0001	1,0148	0,0001	32651	986	22/14
22/14 1:100	0,1052	0,0001	1,0258	0,0001	3349	101	22/14 1:10

A continuación se dispensó en la lámina 0,2150 g de la dilución 22-14 1:100 de  $^{241}\text{Am}$ . Los datos son registrados en la Tabla 3.13.

*Tabla 3.13 – Dpm teóricas calculadas, contenidas en la alícuota dispensada*

Identificación	Masa dispensada en lámina (g)	u	Dpm alfa	u	Procedencia
$^{241}\text{Am}$	0,2150	0,0001	720	22	22/14 1:100

Posteriormente fue medida en forma repetida, obteniéndose 13 mediciones. A continuación se procedió a preparar una dilución del Patrón  $^{90}\text{Sr}$ , con certificado de calibración, denominada Fuente Líquida 22-15. Los datos correspondientes a esta fuente son:

*Concentración de actividad =  $15,1 \pm 0,4$  kBq/g*

*Fecha de referencia = 11/05/2015*

La preparación de las diluciones se registra en la tabla 3.14

*Tabla 3.14 – Diluciones patrón  $^{90}\text{Sr}$  Fuente Líquida 22-15*

Identificación	Masa inicial (g)	$\mu$	Masa final(g)	$\mu$	Dpm/g	$\mu$	Madre
$^{90}\text{Sr}$ 22/15	-	-	-	-	892946	24000	-
22/15 1:10	0,1000	0,0001	1,0003	0,0001	89268	2401	$^{90}\text{Sr}$ 22/15
22/15 1:100	0,0986	0,0001	1,0035	0,0001	8771	236	22/15 1:10

Se dispensó en la misma lámina sobre la alícuota de  $^{241}\text{Am}$  ya medida, una masa de 0,2001 g de una solución diluida del patrón  $^{90}\text{Sr}$  identificada como 22/15 1:100. Los valores obtenidos se registran en la tabla 3.15

*Tabla 3.15 – Dpm teóricas calculadas, contenidas en la muestra dispensada*

Identificación	Masa dispensada lámina (g)	$\mu$	Dpm calculadas en lámina	$\mu$
$^{90}\text{Sr}$	0,2001	0,0001	1755	47

Posteriormente se procedió a secar la muestra con lámpara infrarroja, durante 15 minutos, y a continuación se procedió a medir. En la tabla 3.16 se ven las cuentas obtenidas en ambos conteos. Tiempo de medición para cada determinación: 84 minutos.

*Tabla 3.16 - Cuentas obtenidas en la lámina conteniendo alfas y posteriormente con el agregado de la muestra de  $^{90}\text{Sr}$ .*

Datos	Cuentas Alfa	Cuentas Alfa + $^{90}\text{Sr}$
1	670	659
2	659	662
3	667	668
4	701	667
5	685	679
6	670	661
7	678	689
8	679	670
9	658	667
10	685	672
11	672	677
12	670	668
13	671	676

A continuación se muestra la evaluación de las cuentas obtenidas en ambas determinaciones:

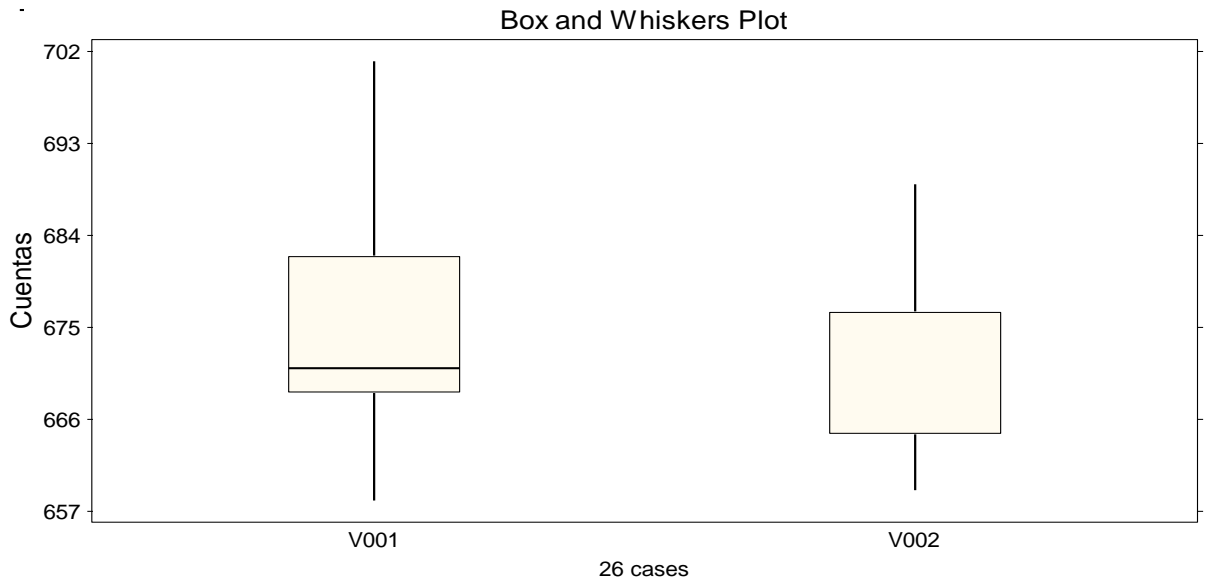
**Descriptive Statistics V001**

	<b>Alfa</b>
N	13
<b>Mean</b>	<b>674,23</b>
SD	11,555
<b>Variance</b>	<b>133,53</b>
Minimum	658,00
Median	671,00
Maximum	701,00

### Descriptive Statistics V002

Alfa + Sr 90

N	13
<b>Mean</b>	<b>670,38</b>
SD	8,2718
<b>Variance</b>	<b>68,423</b>
Minimum	659,00
Median	689,00
Maximum	689,00



*Figura 3.7 – Diagrama de cajas y bigotes, realizado mediante el uso del programa Statistics*

Estadísticamente lo que se observa es:

- ✓ Ambas distribuciones se contienen una a la otra.
- ✓ Ambas distribuciones no son simétricas ya que las medianas se encuentran desplazadas.
- ✓ No hay evidencia de “outliers”.

Para seguir avanzando con la evaluación estadística se realizó la prueba de Fisher para evaluar si las varianzas de ambos muestreos son similares, a

La hipótesis nula ( $H_0$ )= las varianzas no son significativamente diferentes.

Hipótesis alternativa ( $H_1$ ) = La varianza de la medición 1 (de mayor varianza) es mayor que la varianza  $S_2$ .

$$H_0 : S_1^2 = S_2^2$$
$$H_1 : S_1^2 > S_2^2$$

- 1) Determinar los grados de libertad de la experiencia 1:  $n_1-1 = 13-1= 12$
- 2) Determinar los grados de libertad de la experiencia 2:  $n_2-2 = 13-1= 12$
- 3) Dividir la varianza más grande por la más pequeña, para calcular el estadístico F.

$$F = \frac{S_1^2}{S_2^2} = 1,951$$

Al ingresar a la tabla de Fisher (ver Anexo III), con  $n_1-1$  y  $n_2-1$  grados de libertad, para un valor de significancia de  $\alpha= 0,05$  para el análisis de una cola.

El valor **F** tabulado resulta ser de **2,687**.

Se procede a comparar el F tabulado y el F calculado,  $F_{\text{calc}}= 1,951$ ,

Se observa.  $F_{\text{tab}} > F_{\text{calc}}$ .

Se concluye que la hipótesis nula es aceptada, por tanto las dos varianzas no son significativamente diferentes, para un nivel de confianza del 95%.

Se supone que el muestreo es de varianzas poblacionales desconocidas pero iguales, por lo tanto se procede a realizar el **test de Student (t)**.

Esta prueba permite comparar las medias de dos grupos de datos y determinar si entre estos parámetros las diferencias son estadísticamente significativas.

$$H_0 : \bar{x}_1 = \bar{x}_2$$

$$H_1 : \bar{x}_1 \neq \bar{x}_2$$

$H_0$ : se postula que no hay diferencia significativa entre sus medias.

En la prueba t , se procede a determinar el valor t de student calculado, obtenido de los datos experimentales , y este valor posteriormente se compara con el llamado valor tabulado, este valor critico se obtiene de la tabla de t-student para un determinado porcentaje de confiabilidad (normalmente se utiliza el 95% de confianza, es decir, un valor  $\alpha$  de 0,05).

Si no existen diferencias significativas entre los 2 grupos experimentales, la t calculada debería ser inferior a la t tabulada.

El cálculo es el siguiente

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{S_p \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}} = 0,976 \quad S_p = \sqrt{\frac{(n_1 - 1)S_1^2 + (n_2 - 1)S_2^2}{n_1 + n_2 - 2}} = 10,049$$

$S_p$  desvío estándar estimado de las dos muestras.

Al ingresar a la tabla de Student (ver Anexo III), con 24 grados de libertad, para un valor de significancia de  $\alpha = 0,05$  para el análisis de dos cola, el valor t tabulado obtenido corresponde a 2,064.

Como el  $t \text{ tab} > t \text{ calc.}$  **se concluye que la hipótesis nula es aceptada** y se puede decir que las distribuciones no presentan diferencias significativas en sus medias. **Por lo tanto, en presencia de radiaciones ionizantes beta, el método resulta ser selectivo y no presenta interferencias en la medición.**

### 3.2.1.9.2 Evaluación de interferencia beta para un caso extremo.

Se decidió evaluar un caso extremo, donde la actividad de la muestra emisor alfa dispensada fue de 0,03 Bq con respecto a 146 Bq de  $^{90}\text{Sr}$  dispensada en una misma lámina.

Para evaluar dichas interferencias, se procede a preparar una solución que contenga actividad alfa utilizando un patrón de Am 241, fuente líquida 84-15.

*Tabla 3.17 - Preparación de solución Am-241 fuente 84-15.*

Identificación	masa inicial (g)	$\mu$	masa final (g)	$\mu$	Dps/g	$\mu$	Procedencia
84-15	-	-	-	-	4994	151	-
84-15 (1)	0,2445	0,0001	10,0030	0,0001	122	4	84-15
84-15 (2)	0,1431	0,0001	5,0109	0,0001	3	0,1	84-15 (1)
84-15 (3)	0,1401	0,0001	2,0150	0,0001	0,2	0,01	84-15 (2)

A continuación se dispensó en la lámina 0,1075 g de la dilución 84-15 (3) de Am-241, los datos son registrados en la Tabla 3.18.

*Tabla 3.18 - Dps calculados del patrón Am -241 dilución 84-15 (3), dispensados en la lámina.*

Identificación	Masa alfa dispensada en lámina (g)	$\mu$	DPS alfa	$\mu$	Procedencia
Am 241	0,1075	0,0001	0,03	0,001	84/15 (3)

A continuación se procedió a preparar una dilución del Patrón Sr-90, Certificado de calibración denominado Fuente líquida N° 23-15:

Concentración de actividad  $14,7 \pm 0,4$  KBq/ g

Fecha de referencia 11/05/2015

*Tabla 3.19 - Preparación del patón Sr-90 fuente 23-15.*

Identificación	masa inicial (g)	$\mu$	masa final (g)	$\mu$	Dps/g	$\mu$	Madre
Sr/90 23-15	-	-	-	-	862260	24000	-
23-15 (1)	0,0250	0,0001	1,0003	0,0001	21550	606	Sr-90 23-15
23-15 (2)	0,0680	0,0001	1,0035	0,0001	1460	41	23-15 (1)

Se dispensó en la misma lámina sobre la alícuota de Americio ya medida, una masa de 0,1000 g de una solución diluida del patrón Sr-90 identificada como 23-15 (2)

*Tabla 3.20 - Dps calculados del patrón Sr-90, dispensados en la lámina.*

Identificación	Masa betas dispensada lámina (g)	$\mu$	Dps calculadas en la lámina	$\mu$
Sr-90	0,1000	0,0001	146	4

Posteriormente se procedió a secar la muestra con lámpara infrarrojo (15 minutos) y a continuación se procedió a medir.

En la tabla 3.21 se ven las cuentas obtenidas en ambos conteos. Tiempo de medición: 84 minutos.

*Tabla 3.21 - Cuentas obtenidas en ambos conteos.*

Datos	Cuentas Alfa	Cuentas Alfa + Sr-90
1	56	56

Como la cantidad de cuentas en ambas mediciones reportaron el mismo resultado, se concluye que en presencia de radiaciones ionizantes beta, el método resulta ser selectivo y no presenta interferencias en la medición.

### 3.2.1.9.3 Evaluación de Interferencias Gamma.

Para evaluar interferencias gamma, se procede a preparar una solución que contenga actividad alfa utilizando un patrón de <sup>241</sup>Am, fuente consumible 22-14

*Tabla 3.22 - Preparación de solución <sup>241</sup>Am fuente 22-14*

Identificación	Masa inicial (g)	μ	Masa final (g)	μ	Dpm/g	μ	Procedencia
22/14	-	-	-	-	297393	8976	-
22/14 1:10	0,1114	0,0001	1,0148	0,0001	32646	986	22/14
22/14 1:100	0,1052	0,0001	1,0258	0,0001	3348	101	22/14 1:10
22/14 1:500	0,3027	0,0001	0,6037	0,0001	1679	51	22/14 1:100
Dilución 1	0,1250	0,0001	1,0258	0,0001	205	6	22/14 1:500

A continuación se dispensó en la lámina 0,2049 g de la "Dilución 1". Los datos son registrados en la Tabla 3.23.

*Tabla 3.23 – Dpm teóricas contenidas en la masa dispensada de <sup>241</sup>Am en la lámina*

Identificación	Masa dispensada en lámina (g)	μ	Dpm calculadas alfa	μ
Dilución 1	0,2049	0,0001	41,9	1,27

Posteriormente fue medida en forma repetida, obteniéndose 12 mediciones.

A continuación se procedió a preparar una dilución del Patrón <sup>137</sup>Cs, con certificado de calibración, denominada Fuente líquida 75-03-03. Los datos correspondientes a esta fuente son:

*Concentración de actividad = 4,12 ± 0,011 kBq/g*

*Fecha de referencia = 30/07/2008*

La preparación de la dilución se registra en la tabla 3.24

*Tabla 3.24 – Dilución de <sup>137</sup>Cs procedente de la fuente patrón 75-03-03*

Identificación	Masa inicial (g)	μ	Masa final (g)	μ	Dpm/g	μ	Madre
75-03-03	-	-	-	-	208177	660	-
Dilución Cs-137	0,1173	0,0001	0,2206	0,0001	110694	367	75-03-03

Se dispensó en la misma lámina sobre la alícuota de <sup>241</sup>Am ya medida, la solución diluida del patrón <sup>137</sup>Cs identificada como “Dilución Cs-137”, cuya masa fue de 0,2206 g.

Los valores obtenidos se registran en la tabla 3.25

*Tabla 3.25 – Dpm teóricas calculadas, contenidas en la muestra dispensada*

Identificación	Masa dispensada en la lámina (g)	μ	Dpm en lámina	μ
Dilución Cs-137	0,2206	0,0001	24419	82

Posteriormente se procedió a secar la muestra con lámpara de infrarrojo y a continuación se procedió a medir. En la tabla 3.26 se ven las cuentas obtenidas en ambos conteos, obtenidos en 84 minutos de medición cada una.

*Tabla 3.26 – Cuentas obtenidas en la lámina conteniendo alfas y posteriormente con el agregado de la muestra de <sup>137</sup>Cs.*

Datos	Cuentas Alfa	Cuentas Alfa + Cs-137
1	325	331
2	328	329
3	329	329
4	330	328
5	328	324
6	330	330
7	325	321
8	321	328
9	321	327
10	329	329
11	328	324
12	330	331

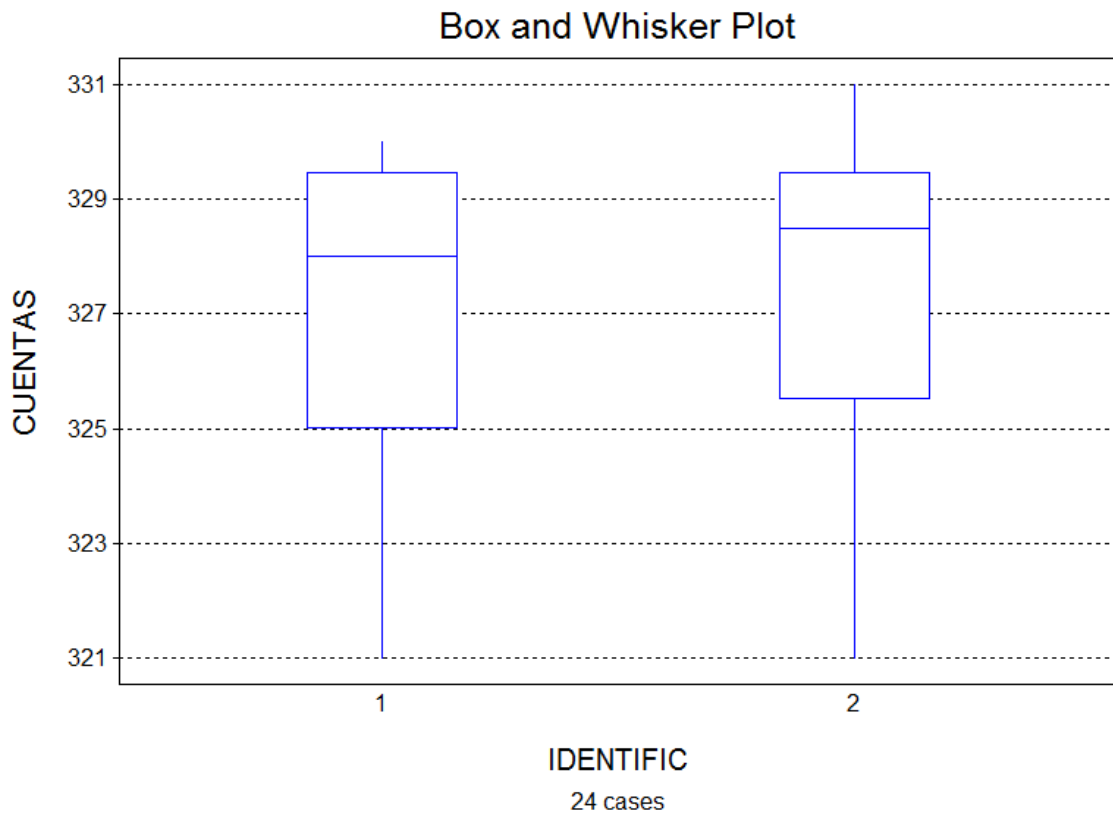
A continuación se muestra la evaluación de las cuentas obtenidas en ambas determinaciones:

**Descriptive Statistics 1**

	<b>Alfa</b>
N	12
Mean	327,00
SD	3,28
Variance	10,73

**Descriptive Statistics 2**

	<b>Alfa + Cs-137</b>
N	12
Mean	328,00
SD	3,09
Variance	9,54



*Figura 3.8 – Diagrama de cajas y bigotes, realizado mediante el uso del programa Statistics para las muestras de alfa (1) y alfa + <sup>137</sup>Cs (2)*

Estadísticamente lo que se observa:

- ✓ Ambas distribuciones se contienen una a la otra.
- ✓ Las dos distribuciones son asimétricas.

Para seguir avanzando con la evaluación estadística se realiza el test de Fisher para evaluar si las varianzas de ambos muestreos son similares, asumiendo que las muestras presentan una distribución normal.

Para esto se postula la hipótesis nula

La hipótesis nula ( $H_0$ )= las varianzas no son significativamente diferentes.

Hipótesis alternativa ( $H_1$ ) = La varianza de la medición 1 (de mayor varianza) es mayor que la varianza  $S_2$ .

$$H_0 : S_1^2 = S_2^2$$
$$H_1 : S_1^2 > S_2^2$$

- 1) Determinar los grados de libertad de la experiencia 1:  $n_1-1 = 12-1= 11$
- 2) Determinar los grados de libertad de la experiencia 1:  $n_2-2 = 12-1= 11$
- 3) Dividir la varianza más grande por la más pequeña, para calcular el estadístico F.

$$F = \frac{S_1^2}{S_2^2} = 1,125$$

Al ingresar a la tabla de Fisher, con  $n_1-1$  y  $n_2-1$  grados de libertad, para un valor de significancia de  $\alpha= 0,05$  para el análisis de una cola.

El valor **F** tabulado resulta ser de **2,818**.

Se procede a comparar el F tabulado y el F calculado,  $F_{\text{calc}}= 1,125$

Se observa.  $F_{\text{tab}} > F_{\text{calc}}$ .

Se concluye que la hipótesis nula es aceptada, por tanto las dos varianzas no son significativamente diferentes, para un nivel de confianza del 95%.

Se supone que el muestreo es de varianzas poblacionales desconocidas pero iguales, por lo tanto se procede a realizar el test Student (t).

Esta prueba permite comparar las medias de dos grupos de datos y determinar si entre estos parámetros las diferencias son estadísticamente significativas.

$$H_0 : \bar{x}_1 = \bar{x}_2$$

$$H_1 : \bar{x}_1 \neq \bar{x}_2$$

$H_0$ : se postula que no hay diferencia significativa entre sus medias.

En la prueba t, se procede a determinar el valor t de student calculado, obtenido de los datos experimentales, y este valor posteriormente se compara con el llamado valor tabulado, este valor critico se obtiene de la tabla de t-student para un determinado porcentaje de confiabilidad (normalmente se utiliza el 95% de confianza, es decir, un valor  $\alpha$  de 0,05).

Si no existen diferencias significativas entre los 2 grupos experimentales, el t calculado debería ser inferior al t tabulado.

El cálculo es el siguiente:

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{S_p \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}} = 0,449 \quad S_p = \sqrt{\frac{(n_1 - 1)S_1^2 + (n_2 - 1)S_2^2}{n_1 + n_2 - 2}} = 3,183$$

$S_p$  desvió estándar estimado de las dos muestras.

Al ingresar a la tabla de Student, con 22 grados de libertad, para un valor de significancia de  $\alpha = 0,05$  para el análisis de dos cola, se obtiene el valor t tabulado de 2,074.

Como el  $t_{tab} > t_{calc}$ . se concluye que la hipótesis nula es aceptada y se puede decir que las distribuciones no presentan diferencias significativas en sus medias. Por lo tanto, en presencia de radiaciones ionizantes gamma, el método resulta ser selectivo y no presenta interferencias en la medición.

### 3.2.1.10. Veracidad

La veracidad de un método (sesgo) expresa la cercanía de la media de un conjunto de resultados (producidos por el método), al valor aceptado como referencia (material de referencia).

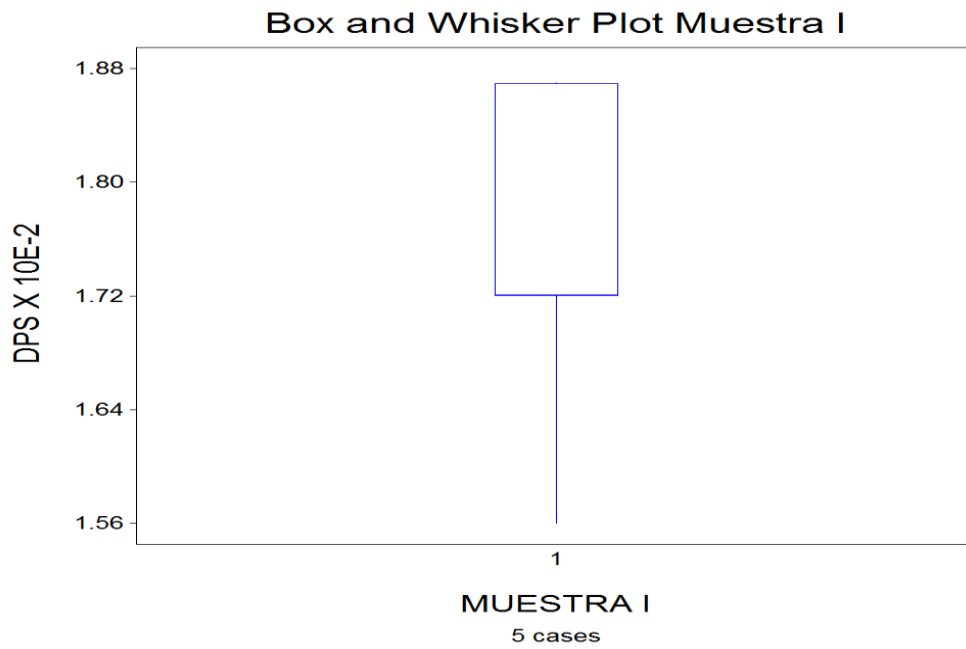
Se analizaron las mediciones obtenidas en las muestras I, II y VI las cuales fueron medidas por quintuplicado. Posteriormente los valores obtenidos fueron promediados y comparados con la actividad dispensada.

Se decidió realizar un cálculo previo a la determinación de la veracidad, para evaluar la medición realizada, analizando “**Diferencias significativas**”

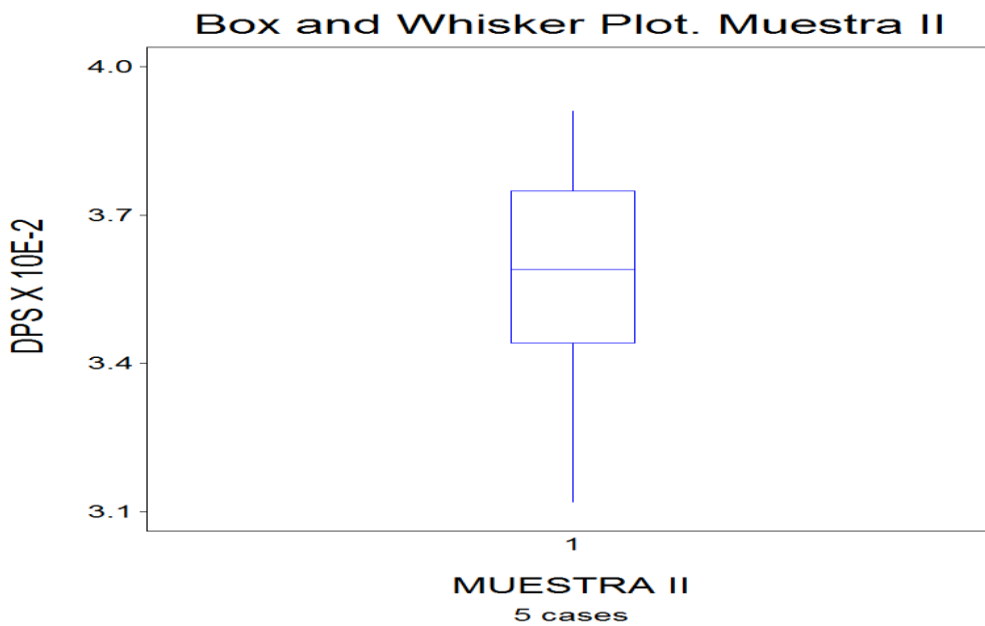
El cálculo estadístico para la evaluación de las diferencias significativas se realiza aplicando un test estadístico de hipótesis nula, teniendo como valor de referencia el patrón preparado; para ello se modifica el test estadístico, siendo la variación del material de referencia la incertidumbre propagada en la preparación del mismo.

*Tabla 3.27 – Detalle de los valores obtenidos y el análisis estadístico de las muestras testeadas*

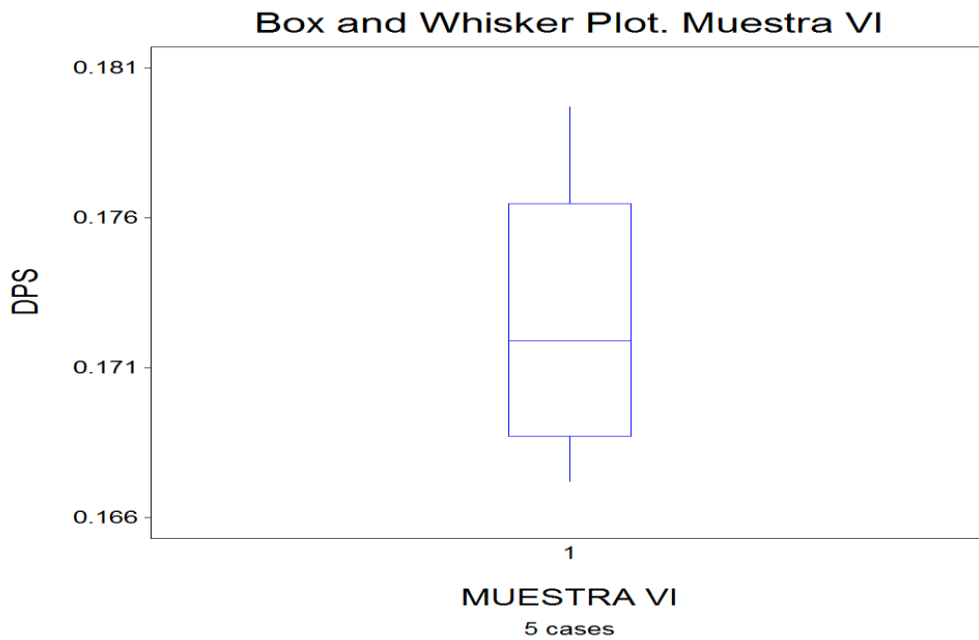
ID	Material de referencia dispensado		Valores colectados por el equipo	Descriptive statistics
	Dps	$\mu$	Dps	
I	0,0183	0,0006	0,0187	Dps N 5
			0,0187	MEAN 0.0175
			0,0172	SD 1.291E-03
			0,0156	VARIANCE 1.667E-06
			0,0172	MINIMUM 0.0156 MAXIMUM 0.0187
II	0,0367	0,001	0,0344	Dps N 5
			0,0391	MEAN 0.0356
			0,0312	SD 3.031E-03
			0,0375	VARIANCE 9.187E-06
			0,0359	MINIMUM 0.0312 MAXIMUM 0.0391
VI	0,1683	0,005	0,1797	Dps N 5
			0,1765	MEAN 0.1728
			0,1719	SD 5.251E-03
			0,1687	VARIANCE 2.757E-05
			0,1672	MINIMUM 0.1672 MAXIMUM 0.1797



*Figura 3.9 - Diagrama de cajas y bigotes, realizado mediante el uso del programa Statistics para la muestra I*



*Figura 3.10 - Diagrama de cajas y bigotes, realizado mediante el uso del programa Statistics para la muestra II*



*Figura 3.11 - Diagrama de cajas y bigotes, realizado mediante el uso del programa Statistics para la muestra IV*

Hipótesis nula:

$$H_0 : \bar{x} = \mu$$

$$H_1 : \bar{x} \neq \mu$$

Donde:

x: promedio de las mediciones realizadas

$\mu$ : valor en Dps del material preparado

El cálculo del valor  $t_{(0.05,v)}$  se realiza según la siguiente fórmula:

$$t_{calc} = \frac{|\bar{x} - \mu_{mr}|}{\sqrt{S^2/n + u_{mr}^2}}$$

Se compara el valor de t calculado (experimental) contra el valor tabulado que se obtiene de la tabla de t-student para un determinado porcentaje de confiabilidad (normalmente se utiliza el 95% de confianza, es decir, un valor  $\alpha$  de 0,05), para un ensayo de ensayo a dos colas.

Si  $t_{tab} > t_{calc}$ ., el método no presenta diferencias significativas

Los valores de t de Student calculados resultaron ser los reportados en la tabla 3.28.

*Tabla 3.28 – Valores t de Student para las muestras analizadas*

ID	t-Student calculado
I	0,961
II	0,653
VI	0,815

Se concluye que la hipótesis nula es aceptada, no se evidencia diferencias significativas, incluso trabajando a grados de libertad tendiendo a  $\infty$ , el valor tabulado es de 1,9600, el cual resulta ser mayor a los calculados. Por lo tanto podemos decir que estadísticamente, trabajando a un nivel de confianza del 95% no existen diferencias significativas entre el valor nominal del material de referencia y el cuantificado por el método.

Dado que no presentan diferencias significativas al 5%, el sesgo aceptado deberá ser menor a dicho porcentaje. Para la evaluación del sesgo se utilizaron las muestras I, II y VI.

*Tabla 3.29 - Sesgo para las muestras analizadas*

Identificación	Dps medidas					Promedio Dps medidas	Dps Dispensadas	Sesgo %
I	0,0187	0,0187	0,0172	0,0156	0,0172	0,0175	0,0183	4,5
II	0,0344	0,0391	0,0312	0,0375	0,0359	0,0356	0,0367	2,9
VI	0,1797	0,1765	0,1719	0,1687	0,1672	0,1728	0,1683	2,7

La fórmula utilizada es la siguiente:

$$Sesgo \% = \frac{(Promedio\ medido - Dispensado) \times 100}{Dispensado}$$

### 3.2.1.11. Precisión

La precisión se evalúa a lo largo del rango de trabajo, empleando como parámetro el cálculo de desvió estándar relativo (RSd). Se utilizaron los datos de evaluación de la exactitud del método.

La precisión se realizó bajo la condición de repetibilidad. La precisión en condiciones de repetibilidad involucra:

- Mismo laboratorio
- Mismo equipo
- Único analista
- Mismo método
- Misma muestra (patrones certificados)
- Intervalos cortos de tiempo.

La fórmula utilizada es la siguiente:

$$rsd = \frac{S}{x} * 100\%$$

A continuación se muestra la evaluación obtenida para cada una de más muestras analizadas:

```
DESCRIPTIVE STATISTICS For example I
VARIABLE      N      MEAN      SD      MINIMUM
MAXIMUM
DPS           5      0.0175    1.29 E-03  0.0156
0.0187
Rsd: 7,4 %
```

```
DESCRIPTIVE STATISTICS for example II
VARIABLE      N      MEAN      SD      MINIMUM
MAXIMUM
DPS           5      0.0356    3.03 E-03  0.0312
0.0391
Rsd: 8,5 %
```

```
DESCRIPTIVE STATISTICS For example VI
VARIABLE      N      MEAN      SD      MINIMUM
MAXIMUM
DPS           5      0.1728    5.25E-03  0.1672    0.1797
Rsd: 3,0 %
```

*Tabla 3.30 – Resumen de los RSD de las muestras evaluadas*

	<b>Muestra I (Dps)</b>	<b>Muestra II( Dps)</b>	<b>Muestra VI (Dps)</b>
<b>Promedio</b>	0,0175	0,0356	0,1728
<b>Sd</b>	1.29 E-03	3.03 E-03	5.25E-03
<b>RSD %</b>	7,4	8,5	3,0

En la tabla 3.30, se observa que el desvío estándar relativo se ve aumentado al analizar actividades pequeñas y disminuye al aumentar la cantidad de la actividad.

### **3.2.1.12. Robustez**

La robustez del método es la capacidad del resultado de no sufrir alteraciones por pequeñas modificaciones en los parámetros de análisis. Estos parámetros han sido:

- Tiempo de secado después de dispensar la muestra.
- Duración de la medición de la muestra.

#### **3.2.1.12.1. Tiempo de secado después de dispensar la muestra**

Para este análisis se dispensó una muestra de 0,2017 g de <sup>241</sup>Am proveniente de la dilución M5. Se continuó los pasos del procedimiento de la técnica, variando solo el tiempo de secado:

- Durante 15 minutos
- Durante 17 minutos.

Se realizaron mediciones de 84 minutos, y las cuentas indicadas tienen descontado el fondo

*Tabla 3.31 – Conteo para dos tiempos de secado*

<b>Determinaciones realizadas</b>	<b>Tiempo secado 15 minutos</b>	<b>Tiempo secado 17 minutos</b>
	<b>CUENTAS</b>	<b>CUENTAS</b>
1	38	36
2	29	23
3	30	37
4	26	35
5	29	28
6	41	31
7	30	37
8	--	37

A continuación se muestra la evaluación obtenida para cada una de los tiempos de secado evaluados:

DESCRIPTIVE STATISTICS FOR SECADO = 15 min  
 CUENTAS  
 N 7  
 MEAN 31.86  
 SD 5.46  
 VARIANCE 29.81

DESCRIPTIVE STATISTICS FOR SECADO = 17 min  
 CUENTAS  
 N 8  
 MEAN 33.00  
 SD 5.21  
 VARIANCE 27.14

Se realiza un test estadístico de hipótesis nula para evaluar si existen diferencias significativas al 5%, para ello se emplean las fórmulas mencionadas anteriormente.

Test de Fisher:

$$F_{\text{calculado}} = 29,809/27,142 = 1,098 \quad F_{\text{tabulado}} = 3,866$$

El F tabulado es mayor que el F calculado, por lo tanto no hay diferencia significativas entre las dos varianzas muestrales para un nivel de confianza del 95 %.

Se supone que el muestreo es de varianzas poblacionales desconocidas pero iguales, por lo tanto se procede a realizar el test estadístico utilizando la distribución t-Student

$$t_{\text{calculado}} = -0,4135 \quad t_{(0,05;n_1+n_2-2)} \text{ tabulado} = 2,160$$

*Tabla 3.32 – Resumen comparación de secado*

Medición minutos	Comparación secado			
	15 minutos		17 minutos	
	F calculado	f tabulado	T calculado	t tabulado
84	1,098	3,866	0,4135	2,160

## Conclusión:

- El t calculado resulta ser menor que el tabulado, por lo tanto, se puede afirmar que no existen diferencias significativas entre los pares de muestreos analizados.
- Se comprobó que las variaciones en el tiempo de secado (de 15 y 17 minutos) no interfieren en los resultados obtenidos.

Se concluye que el tiempo de secado no afecta a la medición si el operador se excede del tiempo estimado.

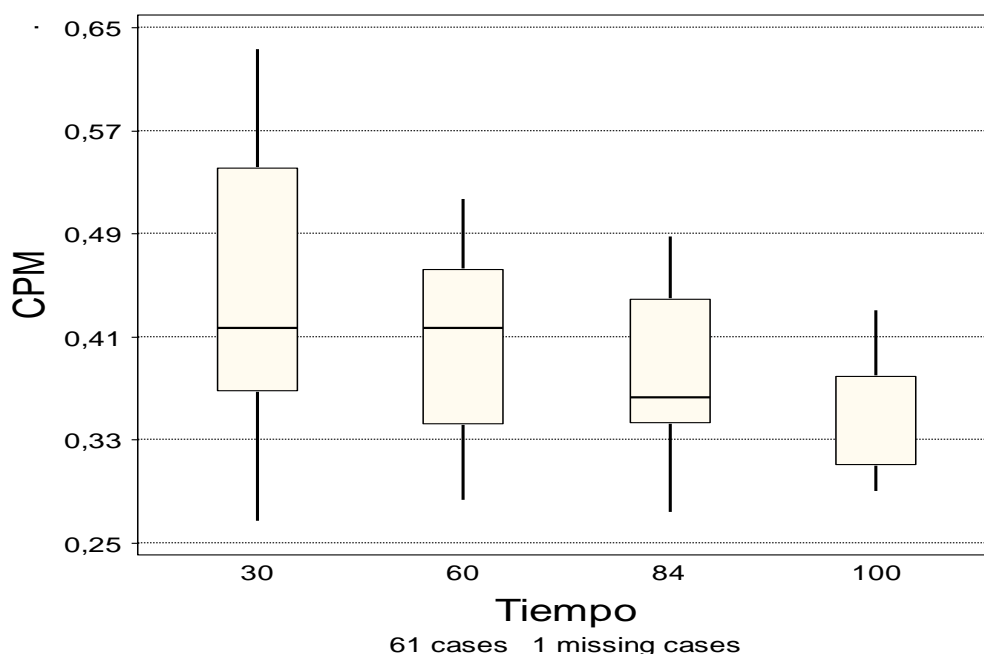
### 3.2.1.12.2. Tiempo de medición de la muestra.

La misma lámina se midió a 30, 60, 84 y 100 minutos, y los datos obtenidos se registraron en la tabla 3.33.

Se considera Cpm normalizada, al valor obtenido al realizar, el descuento del fondo y posteriormente dividir por los minutos que duró la medición.

*Tabla 3.33 – Conteo para distintos tiempos de medición*

30 Minutos de Medición		60 Minutos de Medición		84 Minutos de Medición		100 Minutos de Medición	
Cuentas	Cpm normalizadas	Cuentas	Cpm normalizadas	Cuentas	Cpm normalizadas	Cuentas	Cpm normalizadas
26	0,633	42	0,467	57	0,452	60	0,370
18	0,367	38	0,400	48	0,345	54	0,310
21	0,467	33	0,317	49	0,357	52	0,290
23	0,533	34	0,333	45	0,310	54	0,310
15	0,267	39	0,417	48	0,345	61	0,380
23	0,533	34	0,333	60	0,488	53	0,300
24	0,567	41	0,450	49	0,357	57	0,340
31	0,800	40	0,433	55	0,429	61	0,380
26	0,633	43	0,483	42	0,274	66	0,430
19	0,400	45	0,517	56	0,440	59	0,360
20	0,433	39	0,417	54	0,417	63	0,400
18	0,367	31	0,283	47	0,333	57	0,340
18	0,367	36	0,367	50	0,369	62	0,390
19	0,400	38	0,400	56	0,440	60	0,370
19	0,400	32	0,300	56	0,440	55	0,320
--		42	0,467	--	-	53	0,300
--		39	0,417	--	-	61	0,380
--		41	0,450	--			--
7	Fondo	14	Fondo	19	Fondo	23	Fondo



*Figura 3.12 - Diagrama de cajas y bigotes, para distintos tiempos de medición*

Cómo el tiempo de medición evaluado en el actual documento corresponde a 84 minutos, se compara la distribución de esta misma con cada tiempo de medición, como se observa en la tabla 3.34

*Tabla 3.34 – Comparación tiempos de medición vs. 84 minutos*

84 minutos vs	F calculado	F tabulado	Varianzas iguales	t calculado	t tabulado	Aceptado
30 minutos	3,1902	2,507	NO	2,0909	2,0860	NO
60 minutos	1,2017	2,428	SI	0,7265	2,0395	SI
100 minutos	2,2359	2,373	SI	1,9285	2,0423	SI

Se puede entonces concluir que:

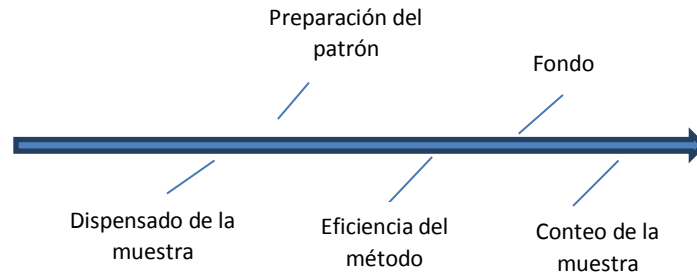
- ✓ Existen diferencias significativas entre medir durante 30 minutos y 84 minutos.
- ✓ No se evidencia diferencias significativas entre medir 84 minutos, 60 o 100.
- ✓ Se puede observar en el gráfico de cajas y bigotes (figura 3.12) que la variación en la distribución disminuye a medida que se aumenta el tiempo de medición, por lo tanto, una buena opción para bajar el valor de la MDA sería aumentar el tiempo de medición de las muestras.

Los análisis realizados permiten corroborar que los tiempos usados de secado y de medición son robustos para los parámetros evaluados.

### 3.2.3 Incertidumbre

Se identifican las fuentes de incertidumbre, en la figura 3.13

*Figura 3.13 - Fuentes de incertidumbre*



La incertidumbre total combinada se calcula utilizando una de las referencias armadas partir de la propagación de cada incertidumbre:

*Figura 3.14 – Fórmula para calcular la incertidumbre*

$$u = dps * \sqrt{\left(\frac{u \text{ patrón}}{\text{patrón}}\right)^2 + \left(\frac{u \text{ disp muestra}}{\text{disp muestra}}\right)^2 + \left(\frac{u \text{ eficiencia método}}{\text{eficiencia método}}\right)^2 + \left(\frac{u \text{ fondo}}{\text{fondo}}\right)^2 + \left(\frac{u \text{ conteo muestra}}{\text{Conteo muestra}}\right)^2}$$

- La evaluación de la incertidumbre tipo A es el método de evaluación de la incertidumbre por medio del análisis estadístico de una serie de observaciones.
- La evaluación de la incertidumbre tipo B es el método de evaluación de la incertidumbre por medios distintos al análisis estadístico de una serie de observaciones. *La incertidumbre tipo B (datos experimentales) se obtiene dividiendo el desvío estándar por la raíz cuadrada de la cantidad de datos evaluados.*

A continuación se describen las fuentes de la incertidumbre y sus respectivos aportes para el cálculo de incertidumbre de la muestra identificada como I

#### 1- Preparación del patrón (aporte de incertidumbre Tipo A):

Para realizar el cálculo del aporte por la preparación del patrón, se utilizan los siguientes datos:

Dps= 0.0183 y su incertidumbre propagada de 0,0006. (Tabla 3.35)

*Tabla 3.35 - Descripción de la masa dispensada en la lámina identificada como I*

Identificación	Masa dispensada lámina (g)	$\mu$ de la masa dispensada	Dps del patrón calculadas en lámina	$\mu$ del patrón	Procedencia
I	0,0379	0,0005	0,0183	0,0006	M5

El patrón proviene de la preparación de sucesivas diluciones (explicado en la tabla)  $\mu = 0,0005$  es la incertidumbre de la pesada aportada por el uso de la balanza Toledo.

$\mu = 0,0006$  es la incertidumbre propagada que incluye la incertidumbre de preparación del patrón aportada por su certificado y la posterior preparación de las diluciones realizadas en nuestro laboratorio que suma la incertidumbre las pesadas aportada por el uso de la balanza Toledo.

- *Cálculo - Incertidumbre aportada por el patrón*

$$\left( \frac{\mu \text{ incertidumbre patrón}}{DPS \text{ del patrón}} \right) = \frac{0,0006}{0,0183} = 0,033$$

**2- Dispensado de muestra (Incertidumbre Tipo B):** La masa dispensada en la muestra I, es de 0,0379 g y su incertidumbre asociada es de 0,0005. ( ver tabla 3.35)

- *Cálculo – Incertidumbre aportada por la masa dispensada de la muestra*

$$\left( \frac{\mu \text{ incertidumbre de la masa dispensada}}{\text{Masa dispensada}} \right) = \frac{0,0005}{0,0379} = 0,013$$

**3- Eficiencia del método (Incertidumbre tipo B):** Los valores se encuentran evidenciados en la Tabla 3.36.

*Tabla 3.36 Promedio de la eficiencia del método, desvío estándar y cantidad de mediciones realizadas.*

Promedio Eficiencia Método	Desvío estándar (Sd)	Cantidad de mediciones (n)
0,127	0,009	30

- *Cálculo – Incertidumbre aportada por la eficiencia del método*

$$\mu \text{ Incertidumbre por eficiencia del método} = \frac{Sd}{\sqrt{n}} = \frac{0,009}{\sqrt{30}} = 0,0016$$

$$\left( \frac{\mu \text{ incertidumbre por eficiencia del método}}{\text{Eficiencia}} \right) = \frac{0,0016}{0,127} = 0,013$$

- 4- **Fondo (Incertidumbre tipo B):** Los datos utilizados para el cálculo del aporte de la incertidumbre por el fondo se obtiene de la Tabla 3.37.

*Tabla 3.37 - Promedio del fondo y desvío estándar asociado a la medición*

Estadística descriptiva			
Variable	Cantidad de mediciones (n)	Promedio	Sd
Cuentas	25	21,76	2,01

- *Cálculo – Incertidumbre aportada por el fondo*

$$\mu \text{ Incertidumbre por fondo} = \frac{Sd}{\sqrt{n}} = \frac{2,01}{\sqrt{25}} = 0,401$$

$$\left( \frac{\mu \text{ incertidumbre por fondo}}{\text{Fondo}} \right) = \frac{0,401}{21,76} = 0,0184$$

- 5- **Conteo de la muestra:** En la práctica la muestra se mide una sola vez, por lo tanto, el valor de incertidumbre asociado a la medición es la raíz cuadrada del conteo de la muestra.

*Tabla 3.38 - Valores de CPS y DPS para la masa dispensada*

Identificación	Cps (Medidas)	Dps (Calculadas)
I	0,0022	0,0183

- *Cálculo – Incertidumbre aportada por conteo de la muestra*

Cuentas = CPS medidas x 5040 s (t de medición)

Cuentas = 0.0022 CPS x 5040 s = 11 cuentas

$\mu$  Incertidumbre por conteo =  $\sqrt{n} = \sqrt{11} = 3,32$

$$\left( \frac{\mu \text{ incertidumbre por conteo}}{\text{Cuentas}} \right) = \frac{3,32}{11} = 0,302$$

*Tabla 3.39 – Evaluación del aporte en las fuentes de incertidumbre*

Fuente	$\mu$ /componente	$\mu^2$	Aporte
Preparación del estándar	0,033	0,0011	1,2%
Dispensado muestra	0,013	0,0002	0,2%
Eficiencia del método	0,013	0,0002	0,2%
Fondo	0,018	0,0003	0,3%
Conteo	0,302	0,0912	98,1%
	sumatoria	0,0930	
	Raiz	0,3049	

*Figura 3.14 – Fórmula para calcular la incertidumbre, se obtiene el valor de la incertidumbre total combinada:*

Aplicando la fórmula de la *Figura 3.14 – Fórmula para calcular la incertidumbre:*

$$\mu = 0,0183 * 0,3049 = 0,0056$$

La expresión del resultado final, corresponde a:

**Resultado: (0,0183 ± 0,006) Bq**

### 3.2.4 Mínima actividad en el vial B de la muestra de <sup>99</sup>Mo para entrar en especificación con la Farmacopea Europea.

El valor obtenido de MDA, es utilizado para calcular la mínima actividad en el vial B de la muestra de <sup>99</sup>Mo para poder cumplir con las especificaciones de la Farmacopea Europea.

El alcance de la técnica de determinación de alfa total en muestras de <sup>99</sup>Mo, presenta un rango de trabajo próximo a la MDA, y en el procedimiento CNEA PO-ATN31C-076 "Determinación alfa total <sup>99</sup>Mo", se determina la relación porcentual de actividad alfa total (como impureza) con respecto a la actividad total de la muestra de <sup>99</sup>Mo. La farmacopea Europea especifica una **relación porcentual no mayor al 1. 10<sup>-07</sup>**

La relación se calcula con una alícuota de 0,200g de la muestra contenida en el "Vial B" y MDA 0,0153 Bq.

*Tabla 3.40 – Relación porcentual de MDA calculada versus actividad <sup>99</sup>Mo, se observa un resultado fuera de especificación*

Actividad del vial		MDA Calculada previamente	
mCi	4	Relación alfa/ <sup>99</sup> Mo	
Bq <sup>99</sup> Mo	148000000	MDA/ <sup>99</sup> Mo	1,3E-09
Bq en Lámina	11840000	MDA/ <sup>99</sup> Mo * 100	1,3E-07

*Tabla 3.41– Relación porcentual de MDA calculada versus actividad <sup>99</sup>Mo, el resultado obtenido está dentro de la especificación.*

Actividad del vial		MDA calculada previamente	
mCi	5	Relación alfa/ <sup>99</sup> Mo	
Bq <sup>99</sup> Mo	185000000	MDA/ <sup>99</sup> Mo	1,0E-09
Bq en Lámina	14800000	MDA/ <sup>99</sup> Mo * 100	1,0E-07

Los resultados obtenidos en las mediciones realizadas permiten confirmar la mínima actividad de Mo-99 que es necesario contener en el "Vial B" (entregado por producción), siempre que la actividad alfa esté en el orden de la MDA.

En la tabla 3.40, se observa que una actividad de 4 mCi de Mo-99, contenida en el vial B de la cual, se dispensa 0,2000g y aplicando como actividad alfa, el valor de la MDA se obtiene el siguiente resultado:

$$\frac{\text{Relación alfa}}{\text{Mo} - 99} = \frac{\text{MDA}}{\text{Mo} - 99} = \frac{0,0153 \text{ Bq}}{11840000 \text{ Bq}} = 1,3 \text{ E} - 07$$

El resultado obtenido no cumple con la especificación de la Farmacopea Europea.

En la tabla 3.41, la actividad contenida en el vial B es de 5 mCi, del cual se dispensa 0,200g en la lámina de soporte y se utiliza la MDA calculada previamente como actividad alfa, obteniéndose el siguiente resultado:

$$\frac{\text{Relación alfa}}{Mo - 99} = \frac{MDA}{Mo - 99} = \frac{0,0153 \text{ Bq}}{14800000 \text{ Bq}} = 1,0 \text{ E} - 07$$

El resultado cumple con el límite especificado por la Farmacopea Europea.

Se concluye, que el vial B, deberá contener una actividad total igual o mayor a los 5 mCi para cumplir con la especificación mandatoria.

## 4. Capítulo 4 – RESULTADOS Y CONCLUSIONES

### 4.1 • Discusión de resultados

Los resultados obtenidos demuestran que el método de medición de alfa total aplicado en muestras procedentes de la producción del  $^{99}\text{Mo}$  cumplió con todos los parámetros de desempeño para ser utilizado como un método analítico confiable, siempre y cuando se trabaje bajo las mismas condiciones especificadas.

El método demostró ser específico para la determinación de alfa total debido a que los resultados obtenidos no presentaron ningún tipo de señal o respuesta que interfiriera con el patrón evaluado. Esto indica que las impurezas alfas pueden ser cuantificadas por dicho método.

El parámetro de linealidad fue evaluado por quintuplicado en muestras de patrones diluidas con emisor alfa  $^{241}\text{Am}$ . Mediante el análisis de mínimos cuadrados se obtuvo un coeficiente de correlación de 0.9998, un coeficiente de correlación muy cercano a 1, el análisis de residuales presenta una distribución aleatoria, no hay tendencia y sumado a que existe una relación de dependencia entre las CPS y DPS, todos estos datos nos permiten evidenciar que el método presenta evidencias suficientes para afirmar que es lineal para el rango de trabajo estipulado desde 0,0183 Bq hasta 0,175 Bq.

### 4.2 • Conclusiones

El método propuesto para cuantificación de alfa total es confiable ya que cumple con los parámetros de precisión, veracidad, linealidad e intervalo de trabajo que permite el control de las muestras para cumplimentar los requisitos requeridos por la Farmacopea Europea.

El método propuesto es reproducible, permitiendo obtener resultados con desviación estándar relativa del 8,5 %.

Es específico para la determinación de alfa total, ya que en la medición no se determina ninguna interferencia proveniente de mediciones conjuntas provenientes de emisores betas y gamma.

El método propuesto es lineal, ya que las respuestas obtenidas en las mediciones son directamente proporcionales a las diferentes actividades dispensadas, siempre que se trabaje en el intervalo de trabajo evaluado.

En el análisis de la robustez de la técnica se tomó como parámetro al tiempo de medición de la muestra, y se analizaron mediciones de 30, 60 y 100 minutos, junto con el tiempo de medición habitual de 84 minutos. Se determinó que existen diferencias significativas mayores al 5% comparando las mediciones a 30 y 84 minutos. Pero no se evidencian diferencias significativas al 5%, cuando se comparan las mediciones de 60, 84 y 100 minutos.

Se probó la técnica, realizando un secado de la muestra a 15 minutos y a 17 minutos. Los resultados permiten afirmar que no existen diferencias significativas entre los pares de muestreos analizados. Se concluye que el tiempo de secado no afecta a la medición si el operador se pasa del tiempo estimado.

La técnica tiene un rango de trabajo próximo a la MDA, y su determinación permite calcular la mínima actividad de  $^{99}\text{Mo}$  para entrar en especificación con la Farmacopea Europea.

Los análisis realizados permiten corroborar que los tiempos usados de secado y de medición son robustos para los parámetros evaluados.

El cumplimiento estadístico a los criterios de aceptación de validación evaluados determina que el método propuesto es confiable.

En un futuro se propone ampliar la robustez aplicando Test de Youden Steiner utilizando tres variables:

- ✓ Variar el material de la lámina soporte, por ejemplo, probando con acero inoxidable 416, 422, y 431.
- ✓ Realizar ensayos en tiempo de secado de 13 y 17 minutos.
- ✓ Colección de datos para 84 y 88 minutos.

Es de destacar, como valor agregado a la realización del presente trabajo, que conjuntamente a la validación de la metodología propuesta para la determinación de alfa total se desarrolló parte del sistema de gestión de calidad que incluyó tanto análisis e investigación de información, como realización de la documentación correspondiente.

## 5. • Referencias

1. J.N.Miller, J.C.Miller. Statistics and Chemometrics for analytical Chemistry. 6<sup>th</sup> edition (2010). Prentice Hall, England.
2. D.A. Gollnick. Basic Radiation Protection Technology, 3<sup>rd</sup> edition (1994). Pacific Radiation Corporation, USA.
3. American National Standard Performance Specifications for Health Physics Instrumentation. Portable Instrumentation for use in Normal Environmental conditions. ANSI N 42.17A-2004 (2004) Institute of Electrical and Electronic Engineers. New York, USA.
4. J.D. Berger. Manual for Conducting Radiological Surveys in Support of License Terminations. Nureg/CR-5849 (1997). Oak Ridge, USA
5. D.J. Strom., P.S. Stansbury. Minimum Detectable Activity when Background is Counted Longer than Sample. Journal of the Health Phys. 63(3) 360; 1992.
6. Farmacopea Europea, Séptima edición (2001). Página 999.
7. Farmacopea regional CTT - Radiofarmacos. CTT-RAD01-03 (2012) Pag.1-27.
8. Manual del equipo LUDLUM MODEL 3030 & 3030E ALPHA SAMPLE COUNTER. August 2012 Serial Number 185762 and Succeeding Serial Numbers. LUDLUM MEASUREMENTS, INC.
9. Validación e incertidumbre en Química analítica. Introducción a la Estadística. Licenciada Alba Zaretsky (2014). Apuntes de curso.
10. Validación de Métodos de Ensayo. Organismo Argentino de Acreditación. Silvia Sara Farias (2014). Apuntes de curso.

## 6. • Anexos

### 6.1 • Anexo I

#### ***Procedimientos analíticos que son objeto de validación***

Las categorías de prueba para las que se exigen datos de validación han sido clasificadas de la siguiente manera:

#### ***Parámetros de desempeño analítico:***

##### **1. Precisión:**

Expresa el grado de concordancia entre una serie de mediciones individuales obtenidas de múltiples muestreos de una misma muestra homogénea original o bien a partir de varias muestras obtenidas por dilución de la muestra bajo condiciones establecidas. Existen tres formas de determinación; repetibilidad, precisión intermedia y reproducibilidad.

La precisión de un método analítico es por lo general expresada como la desviación estándar o la desviación estándar relativa (coeficiente de variación). La precisión es una medida de la reproducibilidad de un método analítico bajo circunstancias normales de operación.

##### **2. Veracidad**

Es la proximidad entre los resultados de la prueba obtenidos mediante ese método y el valor verdadero. La exactitud, frecuentemente, es expresada como el porcentaje que el método puede detectar del valor real de un principio activo cuya concentración es conocida. La exactitud es la medida de la fidelidad del método analítico.

##### **3. Linealidad**

Capacidad para obtener resultados de prueba que sean proporcionales ya sea directamente o por medio de una transformación matemática bien definida, a la concentración de analito en muestras en un intervalo dado.

Es generalmente expresada en términos de varianza alrededor de una pendiente de regresión de línea recta, calculada de acuerdo para establecer la relación matemática desde los resultados obtenidos de los ensayos por el análisis de muestras con variaciones de la concentración del principio activo

#### **4. Intervalo**

Amplitud entre las concentraciones inferior y superior de analito (incluyendo esos niveles), en la cual se puede determinar el analito con un nivel adecuado de precisión, exactitud y linealidad utilizando el método según se describe. El rango o intervalo es normalmente expresado en las mismas unidades de los resultados de los ensayos

#### **5. Especificidad o Selectividad**

Capacidad de evaluar, medir e identificar simultánea o separadamente, los analitos de interés de forma inequívoca sin interferencias de impurezas, productos de degradación, compuestos relacionados, excipientes u otras sustancias previsibles presentes en la matriz de la muestra. Cuando se realiza un análisis en particular, el analista asume que los resultados de la prueba se refieren únicamente al componente a analizar sin ninguna interferencia de otros componentes que se espera se encuentren presentes en la matriz de la muestra que se analiza tales como impurezas, ingredientes placebo o la presencia de sustancias farmacéuticamente activas o inertes

#### **6. Límite de Detección**

Mínima cantidad de analito en una muestra que puede ser detectada por una única medición, pero no necesariamente cuantificada con un valor exacto. Es comúnmente expresado como concentración del analito. Usualmente se determinan en porcentaje o partes por millón.

#### **7. Límite de Cuantificación**

Mínima cantidad del analito en una muestra que puede ser cuantitativamente determinada con precisión y exactitud aceptable. Es un parámetro del análisis cuantitativo para niveles bajos de compuestos en matrices de muestra y se usa particularmente para la determinación de impurezas y productos de degradación

La validez de un procedimiento analítico puede verificarse sólo mediante estudios de laboratorio. Por lo tanto, la documentación de la finalización con éxito de dichos estudios constituye un requisito básico para determinar si un procedimiento es adecuado para sus aplicaciones previstas.

6.2 • Anexo II



Mesada de ubicación del detector Alfa Ludlum Modelo 3030E ECC077



Detalle detector Alfa Ludlum Modelo 3030E ECC077



Detalle del sector donde se dispuso el patrón sobre las láminas de acero inoxidable



Detalle de las fuentes preparadas para realizar la linealidad del test



Profesional dispensando el patrón de referencia diluido para obtener las distintas fuentes de  $^{241}\text{Am}$

### 6.3 • Anexo III

$F_{\alpha}$	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
1	161.446	199.499	215.707	224.583	230.160	233.988	236.767	238.884	240.543	241.882	242.981	243.905	244.690	245.363	245.949	246.466	246.917	247.324	247.688	248.016
2	18.513	19.000	19.164	19.247	19.296	19.329	19.353	19.371	19.385	19.396	19.405	19.412	19.419	19.424	19.429	19.433	19.437	19.440	19.443	19.446
3	10.128	9.552	9.277	9.117	9.013	8.941	8.887	8.845	8.812	8.785	8.763	8.745	8.729	8.715	8.703	8.692	8.683	8.675	8.667	8.660
4	7.709	6.944	6.591	6.388	6.256	6.183	6.094	6.041	5.999	5.964	5.936	5.912	5.891	5.873	5.858	5.844	5.832	5.821	5.811	5.803
5	6.608	5.786	5.409	5.192	5.050	4.950	4.876	4.818	4.772	4.735	4.704	4.678	4.655	4.636	4.619	4.604	4.590	4.579	4.568	4.558
6	5.987	5.143	4.757	4.534	4.387	4.284	4.207	4.147	4.099	4.060	4.027	4.000	3.976	3.956	3.938	3.922	3.908	3.896	3.884	3.874
7	5.591	4.737	4.347	4.120	3.972	3.866	3.787	3.726	3.677	3.637	3.603	3.575	3.550	3.529	3.511	3.494	3.480	3.467	3.455	3.445
8	5.318	4.459	4.066	3.838	3.688	3.581	3.500	3.438	3.388	3.347	3.313	3.284	3.259	3.237	3.218	3.202	3.187	3.173	3.161	3.150
9	5.117	4.258	3.863	3.633	3.482	3.374	3.293	3.230	3.179	3.137	3.102	3.073	3.048	3.025	3.006	2.989	2.974	2.960	2.948	2.936
10	4.965	4.103	3.708	3.478	3.326	3.217	3.135	3.072	3.020	2.978	2.943	2.913	2.887	2.865	2.845	2.828	2.812	2.798	2.785	2.774
11	4.844	3.982	3.587	3.357	3.204	3.095	3.012	2.948	2.896	2.854	2.818	2.788	2.761	2.739	2.719	2.701	2.685	2.671	2.658	2.646
12	4.747	3.885	3.490	3.259	3.106	2.996	2.913	2.849	2.796	2.753	2.717	2.687	2.660	2.637	2.617	2.599	2.583	2.568	2.555	2.544
13	4.667	3.806	3.411	3.179	3.025	2.915	2.832	2.767	2.714	2.671	2.635	2.604	2.577	2.554	2.533	2.515	2.499	2.484	2.471	2.459
14	4.600	3.739	3.344	3.112	2.958	2.848	2.764	2.699	2.646	2.602	2.565	2.534	2.507	2.484	2.463	2.445	2.428	2.413	2.400	2.388
15	4.543	3.682	3.287	3.056	2.901	2.790	2.707	2.641	2.588	2.544	2.507	2.475	2.448	2.424	2.403	2.385	2.368	2.353	2.340	2.328
16	4.494	3.634	3.239	3.007	2.852	2.741	2.657	2.591	2.538	2.494	2.456	2.425	2.397	2.373	2.352	2.333	2.317	2.302	2.288	2.276
17	4.451	3.592	3.197	2.965	2.810	2.699	2.614	2.548	2.494	2.450	2.413	2.381	2.353	2.329	2.308	2.289	2.272	2.257	2.243	2.230
18	4.414	3.555	3.160	2.928	2.773	2.661	2.576	2.510	2.456	2.412	2.374	2.342	2.314	2.290	2.269	2.250	2.233	2.217	2.203	2.191
19	4.381	3.522	3.127	2.895	2.740	2.628	2.542	2.477	2.423	2.378	2.340	2.308	2.280	2.256	2.234	2.215	2.198	2.182	2.168	2.155
20	4.351	3.493	3.098	2.866	2.711	2.599	2.514	2.447	2.393	2.348	2.310	2.278	2.250	2.225	2.203	2.184	2.167	2.151	2.137	2.124
21	4.325	3.467	3.072	2.840	2.685	2.573	2.488	2.420	2.366	2.321	2.283	2.250	2.222	2.197	2.176	2.158	2.139	2.123	2.109	2.096
22	4.301	3.443	3.048	2.816	2.661	2.549	2.464	2.397	2.342	2.297	2.259	2.226	2.198	2.173	2.151	2.131	2.114	2.098	2.084	2.071
23	4.279	3.422	3.027	2.795	2.640	2.528	2.442	2.375	2.320	2.275	2.236	2.204	2.175	2.150	2.128	2.109	2.091	2.075	2.061	2.048
24	4.260	3.403	3.008	2.776	2.621	2.509	2.423	2.355	2.300	2.255	2.216	2.183	2.155	2.130	2.108	2.088	2.070	2.054	2.040	2.027
25	4.242	3.385	2.990	2.758	2.603	2.490	2.405	2.337	2.282	2.236	2.198	2.165	2.136	2.111	2.089	2.069	2.051	2.035	2.021	2.007
26	4.225	3.369	2.974	2.742	2.587	2.474	2.388	2.321	2.265	2.220	2.181	2.148	2.119	2.094	2.072	2.052	2.034	2.018	2.003	1.990
27	4.210	3.354	2.959	2.727	2.572	2.459	2.373	2.305	2.250	2.204	2.166	2.132	2.103	2.078	2.056	2.036	2.018	2.002	1.987	1.974
28	4.196	3.340	2.945	2.713	2.558	2.445	2.359	2.291	2.236	2.190	2.151	2.118	2.089	2.064	2.041	2.021	2.003	1.987	1.972	1.959
29	4.183	3.328	2.934	2.701	2.545	2.432	2.346	2.278	2.223	2.177	2.138	2.104	2.075	2.050	2.027	2.007	1.989	1.973	1.958	1.945
30	4.171	3.316	2.922	2.689	2.534	2.421	2.334	2.266	2.211	2.165	2.126	2.092	2.063	2.037	2.015	1.995	1.976	1.960	1.945	1.932
40	4.085	3.232	2.839	2.606	2.449	2.336	2.249	2.180	2.124	2.077	2.038	2.003	1.974	1.948	1.924	1.904	1.885	1.868	1.853	1.839
50	4.034	3.183	2.790	2.557	2.400	2.286	2.199	2.130	2.073	2.026	1.986	1.952	1.921	1.895	1.871	1.850	1.831	1.814	1.798	1.784
60	4.001	3.150	2.758	2.525	2.368	2.254	2.167	2.097	2.040	1.993	1.952	1.917	1.887	1.860	1.836	1.815	1.796	1.778	1.763	1.748
70	3.978	3.128	2.736	2.503	2.346	2.231	2.143	2.074	2.017	1.969	1.928	1.893	1.863	1.836	1.812	1.790	1.771	1.753	1.737	1.722
80	3.960	3.111	2.719	2.486	2.329	2.214	2.126	2.056	1.999	1.951	1.910	1.875	1.845	1.817	1.793	1.772	1.752	1.734	1.718	1.703
90	3.947	3.098	2.706	2.473	2.316	2.201	2.113	2.043	1.986	1.938	1.897	1.861	1.830	1.803	1.779	1.757	1.737	1.720	1.703	1.688
100	3.936	3.087	2.696	2.463	2.305	2.191	2.103	2.032	1.975	1.927	1.886	1.850	1.819	1.792	1.768	1.746	1.726	1.708	1.691	1.676
200	3.888	3.041	2.650	2.417	2.259	2.144	2.056	1.985	1.927	1.878	1.837	1.801	1.769	1.742	1.717	1.694	1.674	1.656	1.639	1.623
500	3.860	3.014	2.623	2.390	2.232	2.117	2.028	1.957	1.899	1.850	1.808	1.772	1.740	1.712	1.686	1.664	1.643	1.625	1.607	1.592
1000	3.851	3.005	2.614	2.381	2.223	2.108	2.019	1.948	1.889	1.840	1.798	1.762	1.730	1.702	1.676	1.654	1.633	1.614	1.597	1.581

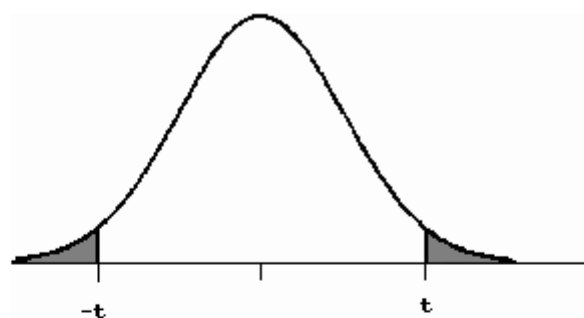
Tabla de valores de F de la distribución de F de Fisher

$1-\alpha= 0,95$

N1= grado de libertad del numerador

N2= grado de libertad del denominador

## Tabla de cuantiles de la distribución t de Student



(a) El área de las dos colas está sombreada en la figura.

(b) Si  $H_A$  es direccional, las cabeceras de las columnas deben ser divididas por 2 cuando se acota el P-valor.

gl	ÁREA DE DOS COLAS						
	0,20	0,10	0,05	0,02	0,01	0,001	0,0001
1	3,078	6,314	12,706	31,821	63,657	636,619	6366,198
2	1,886	2,920	4,303	6,695	9,925	31,598	99,992
3	1,638	2,353	3,182	4,541	5,841	12,924	28,000
4	1,533	2,132	2,776	3,747	4,604	8,610	15,544
5	1,476	2,015	2,571	3,365	4,032	6,869	11,178
6	1,440	1,943	2,447	3,143	3,707	5,959	9,082
7	1,415	1,895	2,365	2,998	3,499	5,408	7,885
8	1,397	1,860	2,306	2,896	3,355	5,041	7,120
9	1,383	1,833	2,262	2,821	3,250	4,781	6,594
10	1,372	1,812	2,228	2,764	3,169	4,587	6,211
11	1,363	1,796	2,201	2,718	3,106	4,437	5,921
12	1,356	1,782	2,179	2,681	3,055	4,318	5,694
13	1,350	1,771	2,160	2,650	3,012	4,221	5,513
14	1,345	1,761	2,145	2,624	2,977	4,140	5,363
15	1,341	1,753	2,131	2,602	2,947	4,073	5,239
16	1,337	1,746	2,120	2,583	2,921	4,015	5,134
17	1,333	1,740	2,110	2,567	2,898	3,965	5,044
18	1,330	1,734	2,101	2,552	2,878	3,922	4,966
19	1,328	1,729	2,093	2,539	2,861	3,883	4,897
20	1,325	1,725	2,086	2,528	2,845	3,850	4,837
21	1,323	1,721	2,080	2,518	2,831	3,819	4,784
22	1,321	1,717	2,074	2,508	2,819	3,792	4,736
23	1,319	1,714	2,069	2,500	2,807	3,767	4,693
24	1,318	1,711	2,064	2,492	2,797	3,745	4,654
25	1,316	1,708	2,060	2,485	2,787	3,725	4,619
26	1,315	1,706	2,056	2,479	2,779	3,707	4,587
27	1,314	1,703	2,052	2,473	2,771	3,690	4,558
28	1,313	1,701	2,048	2,467	2,763	3,674	4,530
29	1,311	1,699	2,045	2,462	2,756	3,659	4,506
30	1,310	1,697	2,042	2,457	2,750	3,646	4,482
40	1,303	1,684	2,021	2,423	2,704	3,551	4,321
60	1,296	1,671	2,000	2,390	2,660	3,460	4,169
100	1,290	1,660	1,984	2,364	2,626	3,390	4,053
140	1,288	1,656	1,977	2,353	2,611	3,361	4,006
∞	1,282	1,645	1,960	2,326	2,576	3,291	3,891

Tabla t-Student



Grados de libertad	0.25	0.1	0.05	0.025	0.01	0.005
1	1.0000	3.0777	6.3137	12.7062	31.8210	63.6559
2	0.8165	1.8856	2.9200	4.3027	6.9645	9.9250
3	0.7649	1.6377	2.3534	3.1824	4.5407	5.8408
4	0.7407	1.5332	2.1318	2.7765	3.7469	4.6041
5	0.7267	1.4759	2.0150	2.5706	3.3649	4.0321
6	0.7176	1.4398	1.9432	2.4469	3.1427	3.7074
7	0.7111	1.4149	1.8946	2.3646	2.9979	3.4995
8	0.7064	1.3968	1.8595	2.3060	2.8965	3.3554
9	0.7027	1.3830	1.8331	2.2622	2.8214	3.2498
10	0.6998	1.3722	1.8125	2.2281	2.7638	3.1693
11	0.6974	1.3634	1.7959	2.2010	2.7181	3.1058
12	0.6955	1.3562	1.7823	2.1788	2.6810	3.0545
13	0.6938	1.3502	1.7709	2.1604	2.6503	3.0123
14	0.6924	1.3450	1.7613	2.1448	2.6245	2.9768
15	0.6912	1.3406	1.7531	2.1315	2.6025	2.9467
16	0.6901	1.3368	1.7459	2.1199	2.5835	2.9208
17	0.6892	1.3334	1.7396	2.1098	2.5669	2.8982
18	0.6884	1.3304	1.7341	2.1009	2.5524	2.8784
19	0.6876	1.3277	1.7291	2.0930	2.5395	2.8609
20	0.6870	1.3253	1.7247	2.0860	2.5280	2.8453
21	0.6864	1.3232	1.7207	2.0796	2.5176	2.8314
22	0.6858	1.3212	1.7171	2.0739	2.5083	2.8188
23	0.6853	1.3195	1.7139	2.0687	2.4999	2.8073
24	0.6848	1.3178	1.7109	2.0639	2.4922	2.7970
25	0.6844	1.3163	1.7081	2.0595	2.4851	2.7874
26	0.6840	1.3150	1.7056	2.0555	2.4786	2.7787
27	0.6837	1.3137	1.7033	2.0518	2.4727	2.7707
28	0.6834	1.3125	1.7011	2.0484	2.4671	2.7633
29	0.6830	1.3114	1.6991	2.0452	2.4620	2.7564
30	0.6828	1.3104	1.6973	2.0423	2.4573	2.7500
31	0.6825	1.3095	1.6955	2.0395	2.4528	2.7440
32	0.6822	1.3086	1.6939	2.0369	2.4487	2.7385
33	0.6820	1.3077	1.6924	2.0345	2.4448	2.7333
34	0.6818	1.3070	1.6909	2.0322	2.4411	2.7284
35	0.6816	1.3062	1.6896	2.0301	2.4377	2.7238
36	0.6814	1.3055	1.6883	2.0281	2.4345	2.7195
37	0.6812	1.3049	1.6871	2.0262	2.4314	2.7154
38	0.6810	1.3042	1.6860	2.0244	2.4286	2.7116
39	0.6808	1.3036	1.6849	2.0227	2.4258	2.7079
40	0.6807	1.3031	1.6839	2.0211	2.4233	2.7045
41	0.6805	1.3025	1.6829	2.0195	2.4208	2.7012
42	0.6804	1.3020	1.6820	2.0181	2.4185	2.6981
43	0.6802	1.3016	1.6811	2.0167	2.4163	2.6951
44	0.6801	1.3011	1.6802	2.0154	2.4141	2.6923
45	0.6800	1.3007	1.6794	2.0141	2.4121	2.6896
46	0.6799	1.3002	1.6787	2.0129	2.4102	2.6870
47	0.6797	1.2998	1.6779	2.0117	2.4083	2.6846
48	0.6796	1.2994	1.6772	2.0106	2.4066	2.6822
49	0.6795	1.2991	1.6766	2.0096	2.4049	2.6800

50	0.6794	1.2987	1.6759	2.0086	2.4033	2.6778
51	0.6793	1.2984	1.6753	2.0076	2.4017	2.6757
52	0.6792	1.2980	1.6747	2.0066	2.4002	2.6737
53	0.6791	1.2977	1.6741	2.0057	2.3988	2.6718
54	0.6791	1.2974	1.6736	2.0049	2.3974	2.6700
55	0.6790	1.2971	1.6730	2.0040	2.3961	2.6682
56	0.6789	1.2969	1.6725	2.0032	2.3948	2.6665
57	0.6788	1.2966	1.6720	2.0025	2.3936	2.6649
58	0.6787	1.2963	1.6716	2.0017	2.3924	2.6633
59	0.6787	1.2961	1.6711	2.0010	2.3912	2.6618
60	0.6786	1.2958	1.6706	2.0003	2.3901	2.6603
61	0.6785	1.2956	1.6702	1.9996	2.3890	2.6589
62	0.6785	1.2954	1.6698	1.9990	2.3880	2.6575
63	0.6784	1.2951	1.6694	1.9983	2.3870	2.6561
64	0.6783	1.2949	1.6690	1.9977	2.3860	2.6549
65	0.6783	1.2947	1.6686	1.9971	2.3851	2.6536
66	0.6782	1.2945	1.6683	1.9966	2.3842	2.6524
67	0.6782	1.2943	1.6679	1.9960	2.3833	2.6512
68	0.6781	1.2941	1.6676	1.9955	2.3824	2.6501
69	0.6781	1.2939	1.6672	1.9949	2.3816	2.6490
70	0.6780	1.2938	1.6669	1.9944	2.3808	2.6479
71	0.6780	1.2936	1.6666	1.9939	2.3800	2.6469
72	0.6779	1.2934	1.6663	1.9935	2.3793	2.6458
73	0.6779	1.2933	1.6660	1.9930	2.3785	2.6449
74	0.6778	1.2931	1.6657	1.9925	2.3778	2.6439
75	0.6778	1.2929	1.6654	1.9921	2.3771	2.6430
76	0.6777	1.2928	1.6652	1.9917	2.3764	2.6421
77	0.6777	1.2926	1.6649	1.9913	2.3758	2.6412
78	0.6776	1.2925	1.6646	1.9908	2.3751	2.6403
79	0.6776	1.2924	1.6644	1.9905	2.3745	2.6395
80	0.6776	1.2922	1.6641	1.9901	2.3739	2.6387
81	0.6775	1.2921	1.6639	1.9897	2.3733	2.6379
82	0.6775	1.2920	1.6636	1.9893	2.3727	2.6371
83	0.6775	1.2918	1.6634	1.9890	2.3721	2.6364
84	0.6774	1.2917	1.6632	1.9886	2.3716	2.6356
85	0.6774	1.2916	1.6630	1.9883	2.3710	2.6349
86	0.6774	1.2915	1.6628	1.9879	2.3705	2.6342
87	0.6773	1.2914	1.6626	1.9876	2.3700	2.6335
88	0.6773	1.2912	1.6624	1.9873	2.3695	2.6329
89	0.6773	1.2911	1.6622	1.9870	2.3690	2.6322
90	0.6772	1.2910	1.6620	1.9867	2.3685	2.6316
91	0.6772	1.2909	1.6618	1.9864	2.3680	2.6309
92	0.6772	1.2908	1.6616	1.9861	2.3676	2.6303
93	0.6771	1.2907	1.6614	1.9858	2.3671	2.6297
94	0.6771	1.2906	1.6612	1.9855	2.3667	2.6291
95	0.6771	1.2905	1.6611	1.9852	2.3662	2.6286
96	0.6771	1.2904	1.6609	1.9850	2.3658	2.6280
97	0.6770	1.2903	1.6607	1.9847	2.3654	2.6275
98	0.6770	1.2903	1.6606	1.9845	2.3650	2.6269
99	0.6770	1.2902	1.6604	1.9842	2.3646	2.6264
100	0.6770	1.2901	1.6602	1.9840	2.3642	2.6259
∞	0.6745	1.2816	1.6449	1.9600	2.3263	2.5758