

UCH-FC.
Q. Ambiental
A663
C.1



FACULTAD DE CIENCIAS
UNIVERSIDAD DE CHILE

**“ESTIMACIÓN DE LA INCERTIDUMBRE EN LA DETERMINACIÓN DE
PENTACLOROFENOL EXTRAÍBLE SEGÚN PRUEBA DE TOXICIDAD POR
LIXIVIACION (TCLP) PARA EVALUACIÓN DE PELIGROSIDAD DE
RESIDUOS”**

Seminario de Título entregado a la Universidad de Chile en cumplimiento parcial
de los requisitos para optar al Título de:

Químico Ambiental

Leonardo Nicolás Araya Painemal

Director de Seminario de Título y Profesor Patrocinante: Dra. Isel Cortés

Noviembre de 2011
Santiago – Chile



INFORME DE APROBACIÓN SEMINARIO DE TÍTULO

Se informa a la Escuela de Pregrado de la Facultad de Ciencias, de la Universidad de Chile que el Seminario de Título, presentado por el candidato:

LEONARDO NICOLÁS ARAYA PAINEMAL

**“ESTIMACIÓN DE LA INCERTIDUMBRE EN LA DETERMINACIÓN DE
PENTACLOROFENOL EXTRAIBLE TCLP PARA EVALUACIÓN DE
PELIGROSIDAD DE RESIDUOS”**

Ha sido aprobado por la Comisión de Evaluación, en cumplimiento parcial de los requisitos para optar al Título de Químico Ambiental

COMISIÓN DE EVALUACIÓN

Dra. Isel Cortés Nodarse
**Director Seminario de Título y
Profesor Patrocinante**

M. Cs. Sylvia Copaja Castillo
Corrector

Prof. María Inés Toral
Corrector





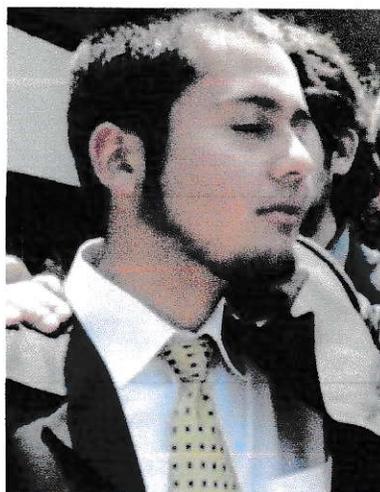




Santiago de Chile, Noviembre de 2011



Pa la Magda, mi vieja



LEONARDO NICOLAS ARAYA PAINEMAL.

Nacido el 22 de Abril de 1986 en la comuna de Puente alto, para luego vivir en la comuna de la Florida.

Sus estudios de educación básica los realizó en el colegio Elvira Errazuriz donde estudió hasta el sexto grado, para luego trasladarse al Liceo José Victorino Lastarria, donde además de haber pasado grandes momentos con sus compañeros (que luego fueron sus amigos), se le brindan los mejores conocimientos y cimientos teóricos para continuar sus estudios, ingresando a la carrera de Química Ambiental, de la Facultad de Ciencias en la Universidad de Chile el año 2004.

Al igual que en el periodo de la secundaria, la etapa universitaria está plagada de buenos recuerdos donde a pesar de que la carga estudiantil es más pesada, son los lazos y amistades forjadas dentro de las aulas lo que hace menos pesado el ritmo de estudio dentro de la escuela. Al finalizar la etapa universitaria realiza su

seminario de título en el laboratorio de química de Centro Nacional del Medio Ambiente (CENMA) donde obtiene los conocimientos prácticos que son claves para un óptimo desarrollo como profesional.

AGRADECIMIENTOS.

Primero que todo quiero agradecer a mi madre por su incondicional apoyo, entrega, esfuerzo y sacrificio durante todos estos años.

Agradezco a mis amigos de la vida que han estado siempre en las buenas y en las malas, y han sido parte invaluable dentro de mi vida universitaria, Huaso, Five, Ciego, Tolo y Paula, mostrando preocupación en esta etapa de mi vida.

Agradezco a mis compañeros de la universidad que han estado conmigo a lo largo de este periodo, en especial a Luciano Bahamonde quien ha sido mi compañero y amigo desde el primer año.

Del mismo modo agradezco a aquellos que de manera directa fueron responsables de esta etapa que se cierra.

Agradezco a las autoridades del Laboratorio de Química Ambiental del Centro Nacional del Medio Ambiente CENMA por brindarme la posibilidad de desarrollar mi tema de tesis, facilitándome equipo e instrumental y depositando su confianza en mi trabajo.

Agradezco a mi profesora Patrocinante Dra. Isel Cortés por todo su apoyo, entrega y aporte al desarrollo de este trabajo, además del resto del equipo, integrantes del laboratorio de química, en especial a Don Jorge Muñoz y Carolina Sánchez que aportaron conocimiento valioso para finalizar el presente trabajo.

Es de mi especial consideración dos personas que ya no están en el laboratorio de química ambiental, pero que merecen estar presentes en estas líneas, Ma.

Consuelo Araya, por haberme recibido en su oficina y haberme brindado conocimiento y buena onda tanto en el periodo de la unidad de investigación como en el presente seminario, y a Anita María Alvarado quien con mucha entrega, paciencia y dedicación fue mi mentora de manera directa en los inicios de este trabajo, ayudándome hasta en los pequeños detalles siempre con la mejor disposición y buena onda.

¡¡A todos Ustedes, Gracias!!

INDICE DE CONTENIDO.

INDICE DE CONTENIDO.	vii
INDICE DE TABLAS.	xi
INDICE DE FIGURAS.	xv
RESUMEN.	xvii
ABSTRACT.	xix
NOTACIÓN.	xx
I. INTRODUCCION.	1
1.1. COP's.	1
1.2. Dioxinas y Furanos.	2
1.3. Mecanismos de formación de Dioxinas y Furanos.	4
1.4. Pentaclorofenol.	7
1.4.1. Generalidades del PCP.	7
1.4.2. Dinámica Ambiental.	10
1.4.3. Efectos en el medio ambiente.	11
1.4.4. Efectos en la salud Humana.	13
1.5. Incertidumbre.	15
1.5.1. Definición de Incertidumbre, alcances y partes.	15
1.5.2. Estimación de la Incertidumbre por mediciones individuales.	17
1.5.2.1. Identificación del mesurando.	17
1.5.2.2. Elaboración de un modelo matemático.	17

1.5.2.3. Identificación de fuentes de incertidumbre.	19
1.5.2.4. Cuantificación.	20
1.5.2.4.1. Distribución Normal.	21
1.5.2.4.2. Distribución Rectangular.	22
1.5.2.4.3. Distribución Triangular.	22
1.5.2.5. Combinación.	22
1.5.2.5.1. Coeficiente de Sensibilidad.	22
1.5.3. Estimación de la Incertidumbre por validación de metodología.	23
1.5.3.1. Sensibilidad.	24
1.5.3.2. Limite de Detección.	24
1.5.3.3. Limite de Cuantificación.	24
1.5.3.4. Intervalo de linealidad.	24
1.5.3.5. Replicabilidad.	25
1.5.3.6. Repetibilidad.	25
1.5.3.7. Exactitud.	26
1.5.3.8. Incertidumbre.	26
1.5.3.8.1. Incertidumbre en la Repetibilidad del Método.	26
1.5.3.8.2. Incertidumbre en la Justeza del Método.	27
1.5.3.8.3. Incertidumbre Combinada del Método.	28
1.5.3.8.4. Incertidumbre Expandida del Método.	28
1.6. Metodología analítica para la determinación de PCP.	29
1.6.1. Prueba de toxicidad por lixiviación.	29

1.6.2. Extracción en fase sólida.	31
1.6.3. Cromatografía gaseosa.	32
1.6.4. Detector MSD.	35
HIPOTESIS.	38
1.7.OBJETIVOS.	39
1.7.1. Objetivo general.	39
1.7.2. Objetivos específicos.	39
II. MATERIALES Y MÉTODOS.	40
2.1.Sitios de muestreo.	40
2.2.Materiales y Reactivos.	41
2.3.Lavado de material de vidrio.	41
2.4.Preparación de estándares.	42
2.5.Ensayo de TCLP.	43
2.5.1. Evaluación preliminar.	43
2.5.2. Preparación de las muestras.	44
2.6.Extracción en fase sólida.	47
2.7.Concentración de la muestra.	49
2.8. Análisis de las muestras.	50
III.RESULTADOS.	52
3.1. Incertidumbre asociada a la cuantificación de PCP extraíble.	52

3.1.1. Curva de calibración.	53
3.1.1.1. Estándar de la curva.	56
3.1.1.2. Blanco.	62
3.1.1.3. Respuesta Instrumental.	62
3.1.2. Factor de Corrección.	64
3.1.3. Muestra.	67
3.2. Validación de metodología para la cuantificación de PCP extraíble.	70
IV. DISCUSION GENERAL.	79
V. CONCLUSIONES.	81
VI. REFERENCIAS.	83
VII. ANEXOS.	89
Anexo A: Incertidumbre asociada a material volumétrico.	90
Anexo B: Cálculos.	108

INDICE DE TABLAS.

- Tabla 1: Sustituciones posibles de Dioxinas y Furanos
- Tabla 2: Propiedades Fisicoquímicas del PCP
- Tabla 3: Efectos del PCP en la salud humana.
- Tabla 4: Condiciones operacionales GC/MS recomendados por Método EPA 8270D
- Tabla 5: Masa de estándar de compuestos semivolátiles y solución extractante.
- Tabla 6: Condiciones operacionales GC/MS optimizadas.
- Tabla 7: Fuentes de incertidumbres identificadas en la determinación de PCP extraíble según TCLP.
- Tabla 8: Valores de la curva de calibración
- Tabla 9: Parámetros de la curva de calibración promedio
- Tabla 10: Valores de la lectura del punto de control.
- Tabla 11: Concentración, desviación estándar e Incertidumbre estándar del punto de control.
- Tabla 12: Presupuesto de incertidumbre para estándar de 100 mgL^{-1}
- Tabla 13: Incertidumbre asociada a dilución de 100 mgL^{-1}
- Tabla 14: Presupuesto de incertidumbre Resumido
- Tabla 15: Presupuesto de Incertidumbre de estándar de 10 mgL^{-1} .
- Tabla 16: Incertidumbre asociada a la dilución de 10 mgL^{-1}
- Tabla 17: Respuestas analíticas de las muestras.
- Tabla 18: Contenido control de las respuestas analíticas de las muestras.

- Tabla 19: Concentración promedio del Material de Referencia Experimental.
- Tabla 20: Contenido control de la lectura del Material de Referencial Experimental.
- Tabla 21: Contenido control de las respuestas analíticas de las muestras
- Tabla 22: Presupuesto Final de Incertidumbre asociada a la determinación de PCP extraíble según TCLP.
- Tabla 23: Resumen de valor Certificado e Incertidumbre asociada.
- Tabla 24: Batch de validación de PCP extraíble según TCLP.
- Tabla 25: Concentraciones de PCP en las muestras en el día 0-1 de la validación.
- Tabla 26: Resultados de la validación de PCP extraíble en las muestras.
- Tabla 27: Resumen validación PCP extraíble según TCLP; Sensibilidad del Método.
- Tabla 28: Resumen validación de PCP extraíble según TCLP; Replicabilidad y Límite de detección del Método.
- Tabla 29: Resumen validación de PCP extraíble según TCLP, Repetibilidad y Justeza del Método.
- Tabla 30: Resumen Validación PCP extraíble según TCLP, Incertidumbre Combinada y Expandida del método
- Tabla 31: Observación N° 1 de masas de agua, medidas en un matraz de aforo de 10 mL.
- Tabla 32: Observación N°2 de masa de agua medidas en una matraz de aforo de 10 mL.
- Tabla 33: Presupuesto de Incertidumbre matraz 10 mL, Masa del agua (recipiente lleno y vacío)

- Tabla 34: Presupuesto de Incertidumbre matraz de 10 mL, Densidad del aire
- Tabla 35: Presupuesto de incertidumbre matraz de 10 mL, Densidad y Temperatura del agua, Densidad de masa de calibración y coeficiente de expansión cúbica.
- Tabla 36: Incertidumbre Expandida matraz de aforo 10 mL
- Tabla 37: Observación N° 1 de masas de agua, medidas en un matraz de aforo de 5 mL.
- Tabla 38: Observación N° 2 de masas de agua, medidas en un matraz de aforo de 5 mL.
- Tabla 39: Presupuesto de Incertidumbre matraz 5 mL, Masa de agua (recipiente vacío y lleno).
- Tabla 40: Presupuesto de Incertidumbre Matraz de 5 mL, Densidad del aire.
- Tabla 41: Presupuesto de Incertidumbre matraz de 5 mL. Densidad y temperatura del agua, Densidad de masas de calibración y coeficiente de expansión cúbica.
- Tabla 42: Incertidumbre Expandida matraz de aforo 5 mL.
- Tabla 43: Observación N° 1 de masas de agua, medidas en un matraz de microjeringa 500 μ L.
- Tabla 44: Observación N° 2 de masas de agua, medidas en una microjeringa de 500 μ L.
- Tabla 45: Presupuesto de Incertidumbre microjeringa de 500 μ L, Masa del agua (recipiente lleno y vacío).
- Tabla 46: Presupuesto de Incertidumbre microjeringa de 500 μ L, Densidad del aire.

Tabla 47: Presupuesto de incertidumbre microjeringa de 500 μL ,
Densidad y Temperatura del agua, Densidad de masa de
calibración y coeficiente de expansión cúbica.

Tabla 48: Incertidumbre Expandida microjeringa de 500 μL .

Tabla 49: Distribución de t de Student.

INDICE DE FIGURAS.

- Figura 1: Estructura química Dioxinas y Furanos.
- Figura 2: Mecanismo de reacción de formación de p-dibenzodioxinas.
- Figura 3: Mecanismo de formación de p-DibenzoFurano.
- Figura 4: Estructura química del PCP.
- Figura 5: Diagrama de las posibles vías de ingreso al ambiente del PCP
- Figura 6. Diagrama de Ishikawa en la determinación de PCP extraíble según TCLP.
- Figura 7: Principales partes de un cromatógrafo de gases.
- Figura 8: Detector de masa selectivo
- Figura 9: Fotos con vistas del Aserradero La Araucana.
- Figura 10: Equipo giratorio para TCLP.
- Figura 11: Equipo de Filtración Montado.
- Figura 12: Equipo de Extracción Montado.
- Figura 13: Extractor Evaporatorio Rotador.
- Figura 14: Cromatógrafo de gas HP 6890 con Detector de Masa Específico 5973
- Figura 15: Aporte de la Curva de calibración.
- Figura 16: Curva de calibración para los 3 días.
- Figura 17: Contribución Porcentual a la incertidumbre del estándar de 100 mgL^{-1} .
- Figura 18: Contribución Porcentual a la incertidumbre del estándar de 10 mgL^{-1} .

Figura 19: Incertidumbre asociada al Factor de Corrección.

Figura 20: Contribución Porcentual a la incertidumbre en la determinación de PCP extraíble según TCLP.

RESUMEN

La incertidumbre asociada a los resultados analíticos, es un tema de gran importancia en los laboratorios a nivel mundial, dado que ésta es un indicador de la calidad de los mismos. La incertidumbre se define como un parámetro asociado con los resultados de las mediciones que dan cuenta de la dispersión de los valores que pueden ser atribuidos al mesurando, por lo que los resultados analíticos no son un valor individual sino un intervalo de valores donde se encuentra el valor real de aquella medición.

El presente trabajo consiste en la determinación de la incertidumbre que posee la metodología analítica realizada en el Laboratorio de Química del CENMA (Centro Nacional del Medio Ambiente) para la determinación de Pentaclorofenol extraíble según la prueba de toxicidad por lixiviación (TCLP) para la evaluación de peligrosidad aplicada a muestras de aserrín del aserradero La Araucana ubicado en la VIII Región de Chile, utilizando la técnica de extracción en fase sólida y su posterior detección por Cromatografía Gaseosa.

El cálculo de la incertidumbre se lleva a cabo por medio de dos vías: Mediciones Individuales, en la cual se analizan las distintas fuentes de incertidumbre de manera individual y la sumatoria de ellas conlleva a la incertidumbre asociada al resultado, valor que es de un 38 % con respecto al coeficiente de variación (CV%), en tanto que el segundo consiste en la validación de la metodología analítica, donde considera las

fuentes de incertidumbre de manera aleatoria, entregando una incertidumbre de 10,9 % con respecto al coeficiente de variación.

ABSTRACT.

The uncertainty of the analytical results is a major issue into de laboratory worldwide, because that represent a quality indicator from itself. The uncertainty is defined as a parameter of the results from measurements the reflect the values dispersion that could be attributed to measurand, so the analytical results no represent a single value, in fact , represent a value's interval where is the real value from that measurement.

The current work consist in the determination of the uncertainty present into the analytical methodology make into the Chemical Laboratory form CENMA (Centro Nacional del Medio Ambiente), to determinate removable Pentachlorophenol from Toxicity characteristic leaching procedure (TCLP) to evaluation of danger applied to sawdust samples from La Araucana Sawhill located in the VII Region in Chile, using the Solid Phase Extraction and the later detection by Gas Chromatography

The applied calculus to determinate the uncertainty it's performed by two ways; Singles Measurements, where it's analyze the different uncertainty source individually and the their sum results the Uncertainty related to the final result, whose value is 38 % for the CV%, while the second way consist in validation analytical methodology, where it considers the uncertainty source in a random, giving a value of 10.9 % with respect to Variation Percentage (CV %).

NOTACIÓN.

- CVR (%): Coeficiente de Variación Relativo.
- EURACHEM/CITAC: Europe Analytical Chemistry/Cooperation on International Traceability in Analytical Chemistry.
- GUM: Guide to the expression of uncertainty in measurement.
- InHg: Pulgadas de Mercurio.
- K: Factor de Cobertura.
- PCP: Pentaclorofenol.
- PCPNa: Pentaclorofenato Sódico.
- PNUMA: Programa de Naciones Unidas para el Medio Ambiente.
- SVOC: Semi Volatil Organic Compound.
- TCLP : Toxicity Characteristic Leaching Procedure.
- u_c : Incertidumbre Combinada
- U: Incertidumbre expandida
- VIM: Vocabulary International of Metrology.

I. INTRODUCCIÓN.

1.1. COP's

Los Compuestos Orgánicos Persistentes (COP's) son sustancias que tienen en su composición química algún grupo halógeno, generalmente enlazado a una estructura aromática. Estos compuestos poseen una gran persistencia, lo que se traduce en una lenta degradación de su composición química y por ende una elevada capacidad de transporte a zonas muy lejanas de su fuente. (Albert.L, 1992).

Además presentan un gran potencial para la bioacumulación en los organismos, pudiendo ser adsorbidos, acumulados y transportados a través de la cadena trófica, afectando en mayor medida a aquellas especies que se encuentran en etapas superiores como por ejemplo la especie humana, fenómeno conocido como biomagnificación (Weinberg.J, 2009).

Los plaguicidas de primera generación (aquellos primeros plaguicidas, cuya composición es de origen orgánica vegetal y mineral) tales como DDT, Toxafeno y los PCB's, son algunos ejemplos de compuestos orgánicos persistentes, teniendo un uso principalmente en los procesos industriales, la agricultura y el control de vectores de enfermedades endémicas. Pero también éstos pueden ser productos indeseables de reacciones que ocurren espontáneamente a altas temperaturas, ya sea durante procesos industriales, incineradores o producto de la quema o incendios de carácter fortuito o planificado.

Las características fisicoquímicas que poseen los COP's determinarán la presencia en varios compartimientos ambientales (aire, agua, lluvia, nieve, sedimentos, suelos) de

todas partes del mundo. Estas características son una elevada persistencia (la vida media del compuesto no presenta degradación alguna en su composición),la movilidad característica íntimamente relacionada con la volatilidad parcial que poseen los COP's las que dependerá de la presión de vapor, solubilidad en agua (dado por la constante Henry) y por último la lipoficidad, característica que depende de la solubilidad en matrices orgánicas apolares (coeficiente de partición Octanol-Agua y coeficiente de partición Carbono orgánico-Agua), tendiendo a acumularse en los tejidos orgánicos de los organismos vivos lo que deriva en un ingreso a otras especies por la cadena trófica y una bioacumulacion de los compuestos en aquellas especies que están ultimas en la cadena trófica.

1.2. Dioxinas y Furanos.

Tanto las Dioxinas como los Furanos son compuestos clasificados como persistentes. Químicamente el nombre de las Dioxinas y Furanos son Policlorodibenzodioxinas y Policlorodibenzofuranos respectivamente, estando los primeros constituidos por dos anillos bencénicos unidos por un par de átomos de oxígeno, en tanto que los Furanos consisten en dos anillos bencénicos unidos por un enlace carbono-carbono y un enlace de oxígeno.

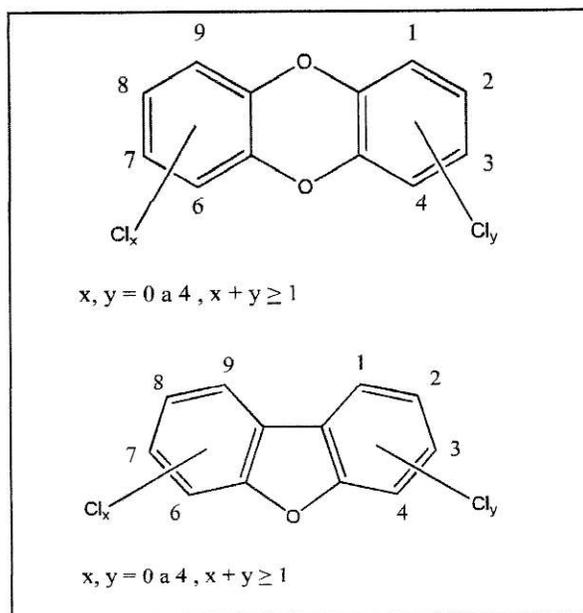


Figura 1: Estructura química Dioxinas y Furanos.

En ambas estructuras, existen distintas posibles sustituciones con el ion cloruro tanto en los carbonos 1 al 9 (Figura 1), siendo posible distintos grados de sustitución para éstas, lo que se traduce en que existan varios isómeros, de hecho según la Tabla 1 (Rappe.C, 1996) podemos apreciar la cantidad de isómeros que puede existir tanto las Dioxinas como los Furanos, llegando a un total de 75 posibles isómeros del primero y 135 isómeros del segundo.

Tabla 1: Sustituciones posibles de Dioxinas y Furanos.

Nivel de sustitución de Cloruro	Posible número de Congéneres de Cloro DibenzoDioxinas	Posible número de Congéneres de Cloro DibenzoFuranos
Mono	2	4
Di	10	16
Tri	14	28
Tetra	22	38
Penta	14	28
Hexa	10	16
Hepta	2	4
Octa	1	1

Esto es un detalle no menor dado que a mayor grado de sustitución, mayor es la estabilidad que presenta la molécula, por lo que aquellas Dioxinas y Furanos que son tetra sustituidos por iones cloruros en las posiciones 2, 3, 7 y 8 representan una elevada peligrosidad para los organismos. (Commonwealth Australia, 1999).

1.3.Mecanismos de formación de Dioxinas y Furanos.

Actualmente se reconoce a nivel urbano que las principales fuentes que explican la formación de Dioxinas y Furanos serían: Incineración de residuos urbanos que poseen una determinada concentración de Dioxinas, lo que trae consigo una reestructuración de Dioxinas común mayor nivel de toxicidad productos de la combustión generada; A partir de precursores tales como fenoles clorados y finalmente producto de la incineración de residuos en que poseen especies orgánicas y dadoras de cloro, por ser restos de PVC , madera y papel.(González.J.L.1999).

Del punto de vista químico y tomando en consideración análisis cinéticos termoquímicos, combinados con propiedades termodinámicas, se sabe que existen tres posibles mecanismos para la síntesis de Dioxinas y Furanos.

El primero es la llamada vía en fase gas, donde en el transcurso de la reacción y la síntesis final de Dioxinas y Furanos hay una pérdida de un ion cloruro (en forma de HCl) y una adición de un radical hidroxilo (OH⁻).

La segunda vía es la de superficie catalizada, es posible encontrar dos reacciones, la primera es vía de Novo, donde la eventual formación de Dioxinas y Furanos está basada por la reacción de moléculas de carbón, oxígeno, hidrógeno y cloro. En tanto que la segunda vía de superficie catalizada es la vía precursores, la cual consiste en la síntesis de Dioxinas y Furanos producto de la reacción que sufren precursores orgánicos.

Si bien estas vías explican de manera teórica los mecanismos de formación, en la práctica los rendimientos son muy bajos para los dos primeros, por lo que la teoría que mas toma fuerza en este caso es la teoría del precursor el cual es catalizado por cenizas en suspensión.

Esta vía indica que los precursores, los cuales se formaron en una combustión incompleta son producidos a altas temperaturas, para luego reaccionar a bajas temperaturas (Commonwealth Australia.1999), siendo diferente la formación de Dioxinas que la Furanos.

Para el caso de las Dioxinas aromáticos (Figura 2), los clorofenoles presentes en la combustión, están inmersos en un ambiente básico (condición producto de las cenizas generadas por la misma combustión), lo que se refleja en la presencia de los clorofenoles en estado oxidado, reaccionado este último (ion fenolato), con una

molécula de clorofenol, (perdiendo una molécula de ácido clorhídrico) para formar una estructura aromática doble la cual se dobla hasta formar un enlace de tipo oxidativo (con una pérdida de un cloruro) y dando como producto final a una Dioxina (Tuppurainen.1998).

De esta forma la función que cumple el catalizadores de actuar como electrón de transferencia oxidante, lo que conlleva a la formación de dos anillos (Commonwealth Australia.1999).

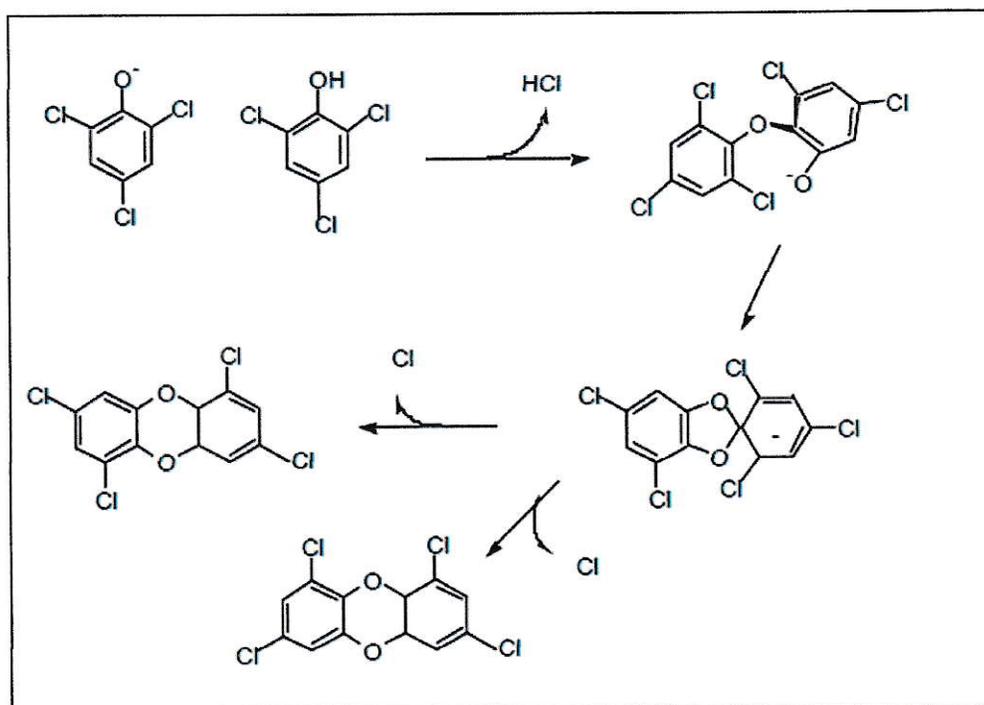


Figura 2: Mecanismo de reacción de formación de p-dibenzodioxinas.

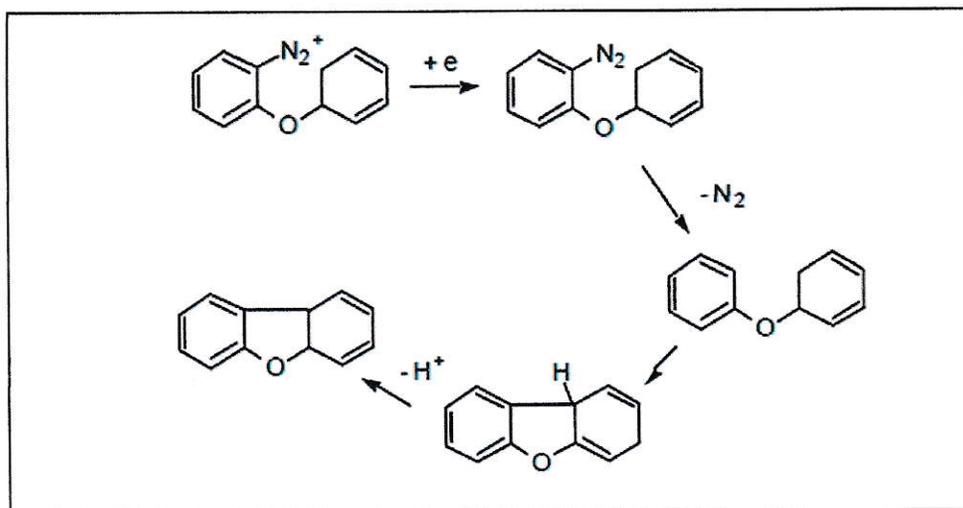


Figura 3: Mecanismo de formación de p-DibenzoFurano.

Por otro lado, para el caso de síntesis de Furanos aromáticos (Figura 3), la reacción incluye la presencia de metales como catalizadores, especialmente el Cu y Fe, a semejanza con la reacción de Pschorr, el cual tiene como producto los Furanos por una sustitución molecular de un areno por un radical arilo.

1.4. Pentaclorofenol.

1.4.1. Generalidades del Pentaclorofenol.

El Pentaclorofenol (PCP) nombre con que comúnmente se identifica al 1-hidroxi-2,3,4,5,6-pentaclorobenceno (Figura 4) se conoce como Penclorol, Dowcide 7/EC-7/G; Dowicide G, P.C.P, Santophen 20, Phenol, Pentachloro, Chlorophen, Pentachlorophenol, Clorofeno, Block Penta; Chem-Tol; Cryptogil oil; Dirotax; EP 30, Fungifen; GLAZD Penta; Grundier Arbezol; Lautor A, Lauxtol; Lauxtrol A; Lipoprem; Pentchloral; Pentacon; Penta C 30; Penta-Kil; Penta Plus 40; Penta Pres 1-10; Penta WR1-5 Penwar;

Peratox; Permicide; Permagard; Persasan; Permatox; Permite; Santobrite;; Santophen 20; Sautox, Sinituho; Term-i-Trol; Thompson's Wood Fix (FAO, 1996; Arana.M, 2000).

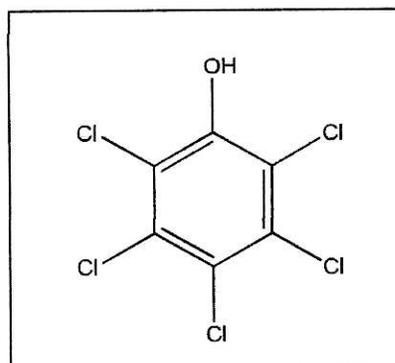


Figura 4: Estructura química PCP.

Las propiedades fisicoquímicas se presentan en el Tabla 2:

Tabla 2: Propiedades Fisicoquímicas del PCP

Fórmula Química	C ₆ Cl ₅ OH
Masa Molar	266,35 g/mol
Densidad	1,970 g/cm ³
Punto de fusión	191 °C (en estado anhidro) 174°C (en estado monohidro).
Punto de ebullición	293°C
Presión de vapor a 20°C	2 mPa
Solubilidad (mgL⁻¹) en agua a 30 °C.	20 mgL ⁻¹
Coefficiente de repartición agua/octanol	5,01
Número CAS	87-86-5

El PCP, es un producto químicamente estable, calentado a temperaturas cercanas al punto de fusión, y en presencia de agua se descompone con liberación de ácido clorhídrico (HCl), químicamente es parecido al fenol, pero con sus propiedades ácidas aumentadas, producto de los enlaces de cloro al anillo bencénico (Arana. M, 2000).

La toxicidad aguda del PCP y del NaPCP es a causa de sus características fisicoquímicas mostradas en la Tabla 2, como también por la presencia de impurezas, tanto Clorodibenzodioxinas como Clorodibenzofuranos en su composición.

El PCP es utilizado como alguicida, fungicida, insecticida, afectando Fosforilación exudativa mitocondrial sin acoplamiento, lo que causa una aceleración del metabolismo aeróbico y un aumento de la producción de calor. Además ocasiona la pérdida de resistencia eléctrica de la membrana (Butler G.L, 1977).

Los usos que tiene el PCP son principalmente en el proceso de aserradero de la industria maderera, específicamente en las etapas de baño anti manchas y en el secado de la madera, lo que representa un serio riesgo a los operadores que se encuentran trabajando en estas etapas, dado que la madera tratada libera PCP el cual se moviliza del centro de la madera hacia la superficie de donde se evapora, dejando impurezas y productos de degradación (Butler & Frank,1991; USEPA,1990; Williams,1982; Kauppinen & Lindroos, 1985; Jones, 1986).

De esta manera el peligro que posee el PCP radica en la producción industrial, uso en los procesos de conservación de la madera en los aserraderos y a partir de los productos de madera finalizados, los que poseen un exceso de preservante en su composición.

1.4.2. Dinámica ambiental.

El ingreso del PCP al ambiente puede ocurrir por diferentes rutas, las cuales se grafican en la Figura 5. Se calcula que para el período comprendido entre 1989 y 1993, 52 toneladas aproximadamente fueron ingresadas al medioambiente, teniendo como principal fuente, las industrias relacionadas con la preservación de la madera (CONAMA, 2000). Se han hecho estimaciones acerca de la distribución de los residuos de PCP en el ambiente y se calcula que se está distribuido en el suelo con un 48%, en los sedimentos, un 45 %, en los cuerpos acuíferos un 5,5% y en el aire un 1,4 % (NCAMP, 1996; Hattemer.F & Travis, 1989).

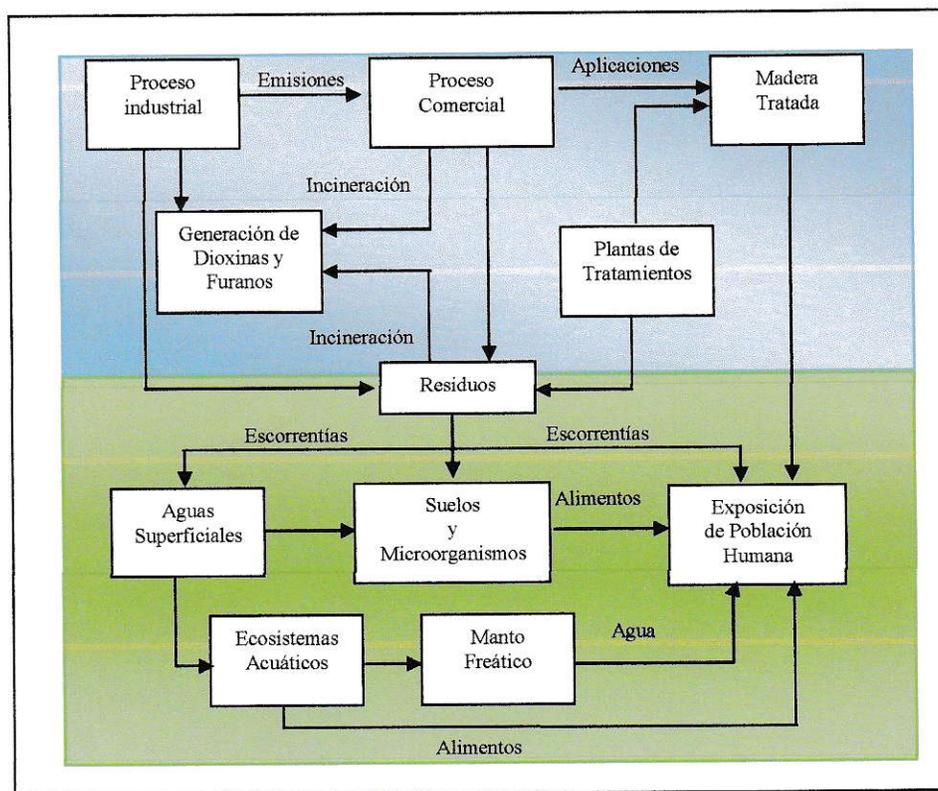


Figura 5: Diagrama de las posibles vías de ingreso al ambiente del PCP.

1.4.3. Efectos en el medio ambiente.

Los efectos ambientales son consecuencia de un uso excesivo de PCP, derrames accidentales o la disposición inadecuada de los residuos con PCP lo que puede provocar la contaminación de los distintos sistemas ecosistémicos.

Dentro de la industria maderera, donde se utiliza al PCP como insumo, se ha detectado elevadas concentraciones de PCDD y PCDF principalmente en el suelo y en el agua permitiendo que sean arrastrados por el agua de lluvia, se adhieran a las partículas de suelo o incluso ingresen directamente en los cuerpos de agua.

En el suelo, el PCP posee una vida media superior a los 5 años lo que le confiere una gran persistencia, llegando a representar un 48% del total de PCP liberado al ambiente. Sus residuos se unen fuertemente a las partículas del suelo y esto favorece que migre a suelos neutros y alcalinos (USEPA, 1988).

Por otro lado, en campos de cultivo inundados, la presencia de residuos de PCP eliminó hasta el 90% de algas de los géneros Chara y Nitelle (Butler G.L, 1977). Si bien el PCP presenta una elevada persistencia estando en el suelo, existe la posibilidad de ingresar a otro sistema, lixiviando a capas más profundas, contaminando el manto freático, además producto de la actividad bacteriana (y en un ambiente anaeróbico) éste puede ser degradado en el mismo suelo rico en materia orgánica. Las concentraciones de PCP de 20 mgL^{-1} pueden inhibir la actividad de los microorganismos del suelo y continuar inhibiéndola hasta 48 días después (Zelles.L y col, 1985).

En los ecosistemas acuáticos, se han detectados residuos de PCP en agua y sedimentos acuáticos lo que representa un 45% del total que ha ingresado al ambiente. Además se ha

detectado su presencia en cuerpos de agua de escorrentía e incluso en sistemas de agua potable así como en organismos acuáticos (Seidler.J y col, 1986).

Por otro lado se ha observado que dependiendo del pH de un estuario puede favorecer la incorporación de PCP presente en el sedimento a través de su adsorción en el detritus y la asimilación en las aguas bénticas y el zooplancton, lo que se refleja en que estos compuestos poseen un elevado potencial de bioacumulacion (Brown.A.W, 1978, Davies.R & Dobbs.A.J, 1984; Niimi.A.J & Cho.C.Y, 1983).

El PCP que ingresa a los cuerpos acuáticos superficiales en concentraciones elevadas puede provocar mortandad de peces, invertebrados y vegetales y se ha observado que concentraciones de 2 a 10 $\mu\text{g/L}$ de PCP en agua pueden inhibir el crecimiento de algunos peces (Niimi.A.J & Cho.C.Y, 1983).

Ahora el PCP producto de la combustión incompleta y en determinadas condiciones de combustión, puede ser liberada a la atmosfera transformadas en PCDD o PCDF, vale decir se liberan compuestos orgánicos persistentes, los cuales tiene un efecto perjudicial para la salud.

1.4.4. Efectos para la salud humana.

Los efectos en la salud humana dependerán principalmente del tipo de exposición a la cual se encuentre sometida la población, pudiendo distinguirse la exposición ocupacional, apuntado principalmente a las personas que tienen contacto directo con el pentaclorofenol y sus productos dentro de un ambiente laboral limitado, el segundo tipo de exposición es la vía no-ocupacional, donde apunta a aquel segmento de la población que hace uso de los productos que fueron tratados con pentaclorofenol, y el tercer tipo es el indirecto, apuntando a la población general, donde el ingreso se hace por el ambiente, tanto en el aire , agua como en los alimentos.(Castillo.I & Bárcenas.C, 2002).

Cada una de ellas está limitada por el tiempo de exposición, así como la concentración con la que está expuesto, además de factores de aseguramiento que extrapolan los efectos en los organismos de animales de laboratorios con los organismos de los humanos.

Los niveles y vías de exposición, así como los efectos tóxicos y sus riesgos para la salud resumen en la Tabla 3 (OMS, 1995; Castillo.I & Bárcenas.C, 2002):

Tabla 3: Efectos del PCP en la salud humana.

<p>Niveles y vías de exposición.</p>	<p>Ocurre principalmente por inhalación y contacto dérmico. La captación del pentaclorofenol se realiza a través de los pulmones y piel. Esta última vía puede captar desde la mitad a dos tercios de la carga total de sustancia en caso que haya una exposición de tipo ocupacional. Para casos no ocupacionales, ésta ocurre por inhalación en ambientes cerrados dentro de casas fabricadas con maderas tratadas con PCF, en tanto que a nivel de población general, principalmente por ingesta de agua y alimentos, (pero comparativamente menor que las anteriores).</p>
<p>Efectos tóxicos</p>	<p>Presencia de cloracné, irritación y extantemas cutáneas, trastornos respiratorios, cambios neurológicos, cefalea, náusea, debilidad, irritabilidad y somnolencia. De manera directa la presencia de PCF provoca irritación cutánea y de membranas mucosas, hiperexia, estados de coma y muerte; estudios epidemiológicos suecos y norteamericanos asocian la exposición de mezclas de clorofenoles a la incidencia de sarcomas en tejidos lisos, linfomas y cánceres nasales y nasofaríngeos.</p>
<p>Evaluación de riesgos</p>	<p>Para la exposición ocupacional de tipo dérmica, la carga máxima permisible es de 3 µg/kg de peso corporal como IDA (Ingreso Diario Aceptable), en tanto que para la exposición por inhalación se calcula en 5000 µg/día. Para exposiciones no ocupacionales, el IDA hasta 500 µg/persona por día, pero este valor disminuye a 180 µg/ persona, para casas con madera recién tratada con PCP. Para la población general se ha calculado que el IDA es de 180 µg/persona por día, teniendo como vías de ingreso el aire, el agua y los alimentos.</p>

1.5. Incertidumbre.

1.5.1. Definición de Incertidumbre. Alcances y Partes.

Hoy en día, los laboratorios a nivel mundial deben ser capaces de demostrar que sus métodos analíticos proporcionan resultados fiables y adecuados para su finalidad o propósito perseguido ya que muchas de las decisiones que se toman están basadas en la información que estos resultados proporcionan.

Para poder llevar a cabo esto, se debe tener muy presente en las actividades englobadas en el control del aseguramiento de la calidad parámetros que demuestren la competencia que poseen los laboratorios.

En este sentido la trazabilidad, así como la incertidumbre tienen una gran importancia a la hora de evaluar la confiabilidad de los resultados de un determinado método analítico.

El primer término, definido según la VIM (Vocabulary International of Metrology) como propiedad del resultado de una medida que permite relacionarlo con alguna referencia ya sea nacional o internacional a través de una cadena ininterrumpidas de comparaciones todas aquellas con una incertidumbre conocida, dentro del presente trabajo se lleva a cabo utilizando materiales de referencias dejando de lado los planteamientos de la metrología, vale decir, dejando a un lado el uso de estándares del S.I (Sistema Internacional)

Por otro lado es sabido que, en todo proceso analítico existen distintos tipos de variables que hacen que el mesurando, término que se define como aquella cantidad que está sujeto a medición (JCGM:VIM, 2008), no sea fidedigno, causado tanto por los distintos

grados de influencia que tienen éstas sobre el mesurando como también de la naturaleza propia de las variables de las que depende la cuantificación.

Es por esto que los resultados obtenidos de cualquier medición de un determinado mesurando, posee variabilidad dentro del proceso analítico lo que conlleva a errores en las mediciones, vale decir, los resultados poseen una incertidumbre asociada.

La incertidumbre se define como parámetro asociado con el resultado de una medición que caracteriza la dispersión de los valores y que pueden ser razonablemente atribuidos al mensurando (JCGM: VIM, 2008), lo que en palabras sencillas se traduce en pasar de un único resultado posible a un intervalo de valores dentro del cual se encuentra el valor verdadero de la cantidad medida y engloba tanto errores aleatorios como sistemáticos.

Los errores aleatorios se pueden minimizar, pero no eliminar totalmente. Los sistemáticos deben detectarse y eliminarse, pero si no se llegan a conocer, constituyen errores que forman parte de la incertidumbre. Cuando se detectan, se intentan corregir, y después de este proceso se expresa el valor del resultado con su incertidumbre. La incertidumbre total incluye errores aleatorios y sistemáticos no corregidos.

De esta forma, producto de una mayor exigencia en la calidad de los resultados, se hace imperativo que el método para la evaluación y expresión de la incertidumbre sea uniforme a través del mundo para que las mediciones realizadas en diferentes países sean fácilmente comparadas.

1.5.2. Estimación de la Incertidumbre por mediciones individuales.

Una alternativa para estimar la incertidumbre de una determinada metodología analítica es el método de mediciones individuales. (Wolfgang S & Lazos R, 2004), el cual combina cada paso involucrado hasta obtener el resultado, obteniendo finalmente la incertidumbre combinada del resultado analítico, por medio de la suma de las contribuciones individuales de cada paso.

La determinación de la incertidumbre utilizando esta metodología posee varios pasos.

1.5.2.1. Identificación del mesurando:

El proceso de medición tiene como último fin determinar el valor de una magnitud, llamada “mensurando”, el cual se define como el atributo sujeto a medición de un fenómeno, cuerpo o sustancia que puede ser distinguido cualitativamente y determinado cuantitativamente. (JCGM: GUM, 2008).

Para el presente caso el mesurando identificado es la concentración de PCP extraíble de aserrines, analizada dentro del laboratorio, excluyendo toda fuente de incertidumbre presente tanto en el muestreo como en el transporte de las muestras.

1.5.2.2. Elaboración de un modelo matemático:

La determinación de la incertidumbre dentro de un proceso de medición implica estudiarla de manera completa y exacta, lo que refleja en una solución que no pocas veces se vislumbra de manera clara, de allí que se haga necesario llevar a cabo una simplificación del fenómeno conservando las características más relevantes para el propósito pretendido, mediante la construcción de un modelo para la medición.

El modelo matemático supone aproximaciones originadas por la representación imperfecta o limitada de las relaciones entre las variables involucradas. (Schmid.W. & Lazos.R, 2004).

De esta manera, la medición es un proceso, al cual se le identifican magnitudes de entrada denotadas por el conjunto $\{X_i\}$ donde el índice i toma valores entre 1 y el número de magnitudes de entrada N , cuyos valores pueden ser tanto los resultados de mediciones hechas, como valores tomados de la literatura, vale decir manuales o certificados.

Para poder calcular el mejor estimado y del valor del mensurando se debe calcular el valor de la función f evaluada en el mejor estimado de cada magnitud de entrada x_i .

En el presente caso, la concentración de PCP extraíble según TCLP es expresada en mgL^{-1} , para el cual se usa un modelo de regresión lineal para su cuantificación expresada por una ecuación lineal, específicamente una función de calibración lineal $y = mx + n$, que reemplazando da lugar al modelo expresado en la Ecuación 1:

$$C_{PCP \text{ Extraible}} = \frac{A}{m} \cdot \frac{V_e}{V_m} \cdot f_{cc} \cdot f_{repet} \quad (1)$$

Donde:

$C_{PCP \text{ Extraible}}$: Concentración de Pentaclorofenol Extraíble expresada en mgL^{-1}

A: Área bajo la curva del cromatograma del Pentaclorofenol.

m: Pendiente de la curva de calibración.

V_e : volumen del extracto expresado en mL

V_m : Volumen de la muestra expresadas en mL

f_{cc} : Factor de la Curva de Calibración.

F_{Rep} : Factor de Repetibilidad.

1.5.2.3. Identificación de fuentes de incertidumbre.

Identificado el mesurando y determinado el modelo matemático a utilizar, se procede a identificar las fuentes de incertidumbres asociadas al cálculo de la concentración de pentaclorofenol, extraíbles según TCLP, para lo cual se realiza un diagrama de Ishikawa (Figura 6) donde se esquematizan las principales fuentes y subfuentes que aportan incertidumbre a los resultados de las mediciones respectivas.

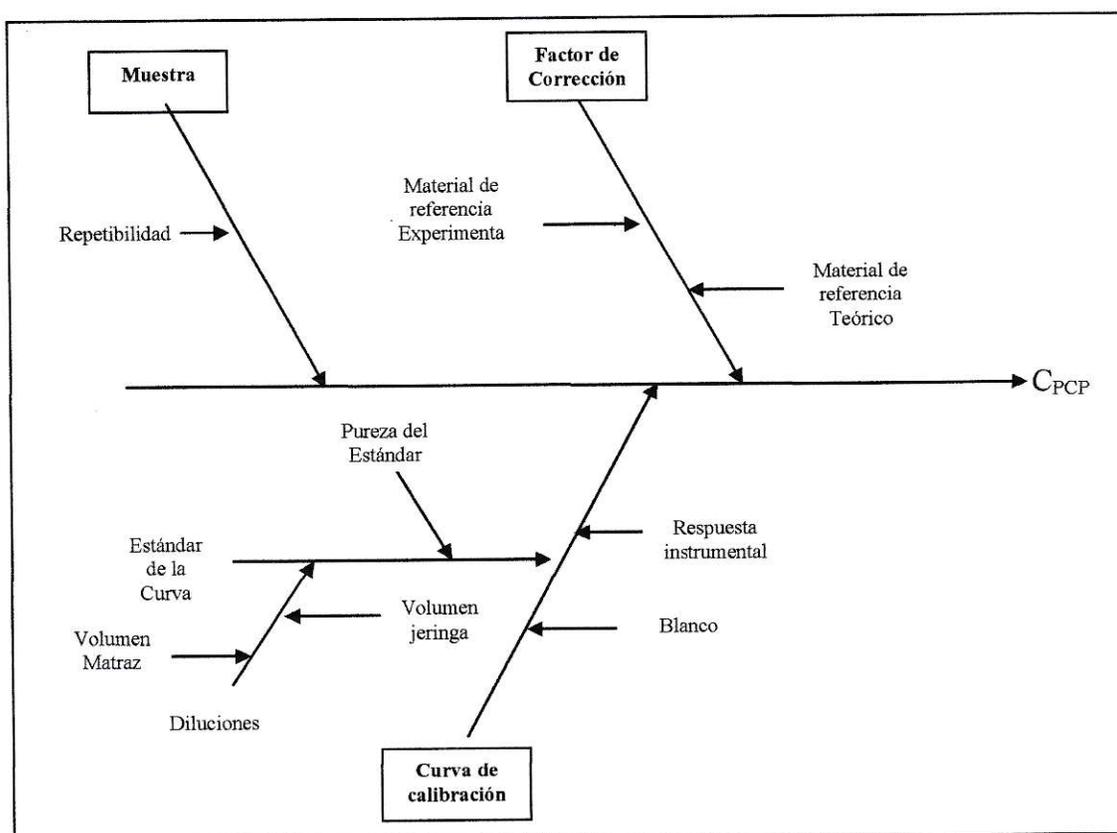


Figura 6. Diagrama de Ishikawa en la determinación de PCP extraíble según TCLP.

1.5.2.4. Cuantificación.

Para realizar la cuantificación de las fuentes de incertidumbre existen dos métodos; el primero corresponde al denominado método A, el cual se basa en un análisis estadístico de una serie de mediciones de variables que se encuentran de manera implícita y explícita en el cálculo de la incertidumbre, en tanto que el segundo método corresponde al denominado método B y se basa en toda aquella fuente de información restantes, principalmente de la literatura. (JCGM:GUM, 2008).

Para el presente trabajo se utiliza el Método A, donde la incertidumbre de una magnitud de entrada X_i se determina por una serie de mediciones repetidas, independientes una de otra, dando como resultados valores q_1, q_2, \dots, q_n , en donde el mejor estimado x_i para la magnitud de entrada X_i está dado por la media de los resultados individuales.

Así, la dispersión de los resultados para la magnitud de entrada X_i se expresa por la desviación estándar experimental:

$$s(q) = \sqrt{\frac{1}{n-1} \cdot \sum_{j=1}^n (q_j - \bar{q})^2} \quad (2)$$

Finalmente la incertidumbre estándar $u(x_i)$ para la magnitud de entrada X_i se obtiene por el cálculo de la desviación estándar experimental de la media:

$$u(x_i) = s(\bar{q}) = \frac{s(q)}{\sqrt{n}} \quad (3)$$

En algunas ocasiones es necesario combinar contribuciones de la incertidumbre las cuales poseen diferentes distribuciones, para lo cual se le asigna un valor dependiendo

del tipo distribución por la cual se rige una determinada fuente de incertidumbre. Las distribuciones que aparecen más frecuentemente son:

1.5.2.4.1. Distribución normal.

Esta distribución es aplicada a resultados de una medición repetida afectada por magnitudes de influencia que varían aleatoriamente, en este caso, cuando se dispone de valores de una incertidumbre expandida U y la distribución del Mensurando es o se supone normal como los presentados por ejemplo en certificados de Calibración, se divide U entre el factor de cobertura k , obtenido ya sea directamente o a partir de un nivel de confianza dado:

$$u(x_i) = \frac{U}{k} \quad (4)$$

1.5.2.4.2. Distribución Rectangular.

En una distribución rectangular cada valor en un intervalo dado tiene la misma probabilidad, o sea la función de densidad de probabilidad es constante en este intervalo generalmente usado cuando sólo se posee información de los límites superior e inferior de un intervalo de una magnitud de entrada.

Para la determinación de la incertidumbre ésta se calcula utilizando la Fórmula 5:

$$u(x_i) = \frac{a/2}{\sqrt{3}} \quad (5)$$

Donde $a/2$ es el semiancho del intervalo a con $a = a_+ - a_-$.

1.5.2.4.3. Distribución Triangular.

Si además del conocimiento de los límites superiores e inferior hay evidencia de que la probabilidad es más alta para valores en el centro del intervalo y se reduce hacia los límites, puede ser más adecuado basar la estimación de la incertidumbre en una distribución triangular.

$$u(x_i) = \frac{a/2}{\sqrt{6}} \quad (6)$$

Obtenidas las incertidumbres de cada una de las fuentes, estas deben ser combinadas por medio de la suma geométrica de cada una de ellas para dar como resultado la incertidumbre combinada. Esta queda expresada según la Ecuación 7:

$$u_c^2(y) = \sum_{i=1}^N u_i^2(y) \quad (7)$$

1.5.2.5. Combinación.

Obtenidos los resultados de las incertidumbres estándares de todas las magnitudes de entradas consideradas, se combinan cada una de sus contribuciones obteniendo la incertidumbre estándar combinada $u_c(y)$, por el producto de $u(x_i)$ y su coeficiente de sensibilidad c_i (o factor de sensibilidad).

1.5.2.5.1. Coeficiente de Sensibilidad.

El coeficiente de sensibilidad describe qué tan sensible es el mensurando con respecto a Variaciones de la magnitud de entrada correspondiente. (Schmid W. & Lazos.R, 2004)

Este coeficiente se calcula por la derivada parcial de f con respecto a X_i si es que el modelo matemático para el mensurando representa de manera óptima la influencia de la magnitud de entrada X_i .

1.5.3. Estimación de la incertidumbre por Validación de metodología.

La validación de una metodología analítica se define como el establecimiento de un procedimiento analítico el cual conlleva a resultados exactos y precisos, con un elevado grado de seguridad, dentro de los atributos de calidad previamente establecidos, evidenciados a través de documentos.

Es necesario validar para demostrar que los métodos son adecuados para los análisis propuestos en las condiciones descritas, además de ser parte integral dentro del desarrollo de una metodología analítica, entregando datos de la proceso analítico, además de posibles factores de influencia individuales que pueden ser aplicados en la estimación de la incertidumbre la cual está asociada con los resultados de un método en uso normal (CENMA, 2009).

La importancia que posee la validación de metodologías es identificar y eliminar efectos importantes provenientes de aquellas fuentes de incertidumbre del proceso analítico a la hora de evaluar la presión total de las mediciones (Maroto. A y col, 2002).

Esto conlleva a una situación en la que la mayor parte de las fuentes de incertidumbres han sido identificadas y revisadas para ser comparadas con la precisión total y demostrar que su aporte a los resultados es insignificante.

Dentro de la validación de metodologías analíticas es donde surgen parámetros con los cuales se determina la incertidumbre:

1.5.3.1. Sensibilidad: Dentro de una metodología analítica corresponde a la pendiente de la gráfica de la curva de calibración obtenida al graficar el valor de la señal analítica en función de las concentraciones de estándares.

1.5.3.2. Límite de Detección: Corresponde a la concentración mínima de un compuesto que puede ser detectada dentro de una matriz real, la cual es tratada siguiendo todas las etapas del método completo, incluyendo separaciones y pretratamientos. Esta mínima concentración produce una señal detectable con una fiabilidad definida, estadísticamente diferente a la señal producto del blanco obtenido en las mismas condiciones. Matemáticamente esta corresponde a 3 veces la desviación estándar de 10 blancos.

1.5.3.3. Límite de Cuantificación : Corresponde a la concentración mínima de un compuesto que puede ser cuantificada dentro de una matriz real, la cual es tratada siguiendo todas las etapas del método completo, incluyendo separaciones y pretratamientos. Esta mínima concentración produce una señal cuantificable con una fiabilidad definida. Matemáticamente esta corresponde a 10 veces la desviación estándar de la lectura de 10 blancos

1.5.3.4. Intervalo de linealidad: Corresponde al intervalo de concentración más fiable de medida para la determinación analítica del analito. Este intervalo está comprendido entre el LCM hasta el límite de linealidad.

1.5.3.5. Replicabilidad: Corresponde a un nivel de precisión asociado al grado de concordancia entre los resultados individuales obtenidos al aplicar el método en una misma muestra sometida a los ensayos realizados en el mismo laboratorio, y en las mismas condiciones, vale decir, mismo analista, mismo instrumento, mismo día. La Replicabilidad queda expresada según la Fórmula 8:

$$\text{Replicabilidad} = \frac{\sigma_{\text{Proceso}} \cdot t_{(0,95,N-1)}}{\sqrt{N}} \quad (8)$$

Donde: σ_{Proceso} es la desviación estándar al nivel de repetibilidad; N es el número de datos; $t_{(0,95, N-1)}$ corresponde al coeficiente de Student para un 95% de nivel de confianza y $N-1$ son los grados de libertad.

1.5.3.6. Repetibilidad: Corresponde a un nivel de precisión asociado al grado de concordancia entre los resultados individuales obtenidos al aplicar el método en una misma muestra sometida a los ensayos realizados en el mismo laboratorio, y al menos una de las siguientes condiciones diferentes: analista, instrumento, día. Para la presente tesis, la repetibilidad se expresa según la Fórmula 9:

$$\text{Repetibilidad} = \frac{\sigma_{\text{Proceso}} \cdot t_{(0,95,N-1)}}{\sqrt{N}} \quad (9)$$

Donde: σ_{Proceso} es la desviación estándar al nivel de repetibilidad; N es el número de datos; $t_{(0,95, N-1)}$ corresponde al coeficiente de Student para un 95% de nivel de confianza y $N-1$ son los grados de libertad.

1.5.3.7. Exactitud : corresponde al grado de concordancia entre el valor garantizado al máximo por un organismo reconocido (certificado), respecto la concentración de un parámetro dado en una muestra, y el resultado obtenido aplicando el método analítico "n" réplicas. La exactitud se determina a un nivel dado de concentración en el intervalo de determinación del método. Para la presente tesis, la exactitud se expresa por el error relativo (E,%).

1.5.3.8. Incertidumbre: La incertidumbre es el intervalo dentro del cual se espera encontrar el valor real de aquello que se mide. Cualquier proceso de medición está sujeto a diferentes fuentes de variación producto de errores aleatorios y errores sistemáticos.

El cálculo de la incertidumbre a un nivel de concentración es aplicable en métodos de rutina con un intervalo restringido de concentraciones ya que se asume que el sesgo y la precisión del método es el mismo en todo el intervalo de concentraciones. Por otra parte, la siguiente metodología supone que los resultados presentan una distribución normal.

La incertidumbre según el método de validación considera los siguientes puntos:

1.5.3.8.1. Incertidumbre del proceso-Repetibilidad: Esta contribución incluye todo lo relacionado al proceso instrumental y al proceso operacional del método, todo lo cuales tienen efecto sobre la medida. Este tipo de incertidumbre es evaluada según la Fórmula 10:

$$u_{\text{Repetibilidad}} = \frac{CV (\%)_{\text{Repetibilidad}}}{\sqrt{n}} \quad (10)$$

Donde CV (%) corresponde a la variación porcentual de cada valor y n es el número de mediciones realizadas. La variación porcentual se expresa a través de la Fórmula 11:

$$CV (\%) = CV \cdot 100 \quad (11)$$

Donde CV es el coeficiente de variación, el cual se define como un parámetro estadístico que indica, en términos porcentuales, la dispersión de una serie de datos respecto al valor. El coeficiente de variación queda expresado a través de la Fórmula 12:

$$CV = \frac{\sigma}{X} \quad (12)$$

Donde σ es la desviación estándar de la serie de mediciones y X es el promedio.

1.5.3.8.2. Incertidumbre de la Justeza: contribución realizada por el material de referencia utilizado como control de calidad en el proceso analítico.

$$u_{\text{bias}} = \sqrt{u_{\text{Prep}}^2 + u_{\text{Recup}}^2} \quad (13)$$

Donde: u_{Prep}^2 corresponde a la incertidumbre estándar de la preparación de las muestras la que está expresada por la Fórmula 14:

$$u_{\text{Prep.}} = \frac{CVR (\%)}{\sqrt{6}} \quad (14)$$

Donde CVR (%) corresponde al coeficiente de variación relativa que se asigna al cálculo de la incertidumbre debido al aporte de los materiales de referencia usados.

En tanto que u_{Recup}^2 corresponde a la incertidumbre estándar de la recuperación de las muestras, la cual matemáticamente se define como:

$$u_{rec} = \frac{RE (\%)}{\sqrt{n}} \quad (15)$$

Donde a su vez RE% es la recuperación porcentual, la cual se define por:

$$RE\% = \frac{Conc.medida - Conc. Esperada}{Conc.Esperada} \cdot 100 \quad (16)$$

1.5.3.8.3. Incertidumbre Combinada del Método: corresponde a la raíz cuadrada positiva de la sumatoria de los cuadrados de las incertidumbres anteriormente mencionadas, expresada en la Fórmula 17:

$$u_{combinada} = \sqrt{u_{justeza}^2 + u_{repetibilidad}^2} \quad (17)$$

1.5.3.8.4. Incertidumbre Expandida del Método: Corresponde a la magnitud que define el intervalo, dentro del cual los valores que se podrían atribuir razonablemente a la medida, que estén incluidos con un alto nivel de confianza, que para el presente trabajo, corresponderá a un nivel de 95,45 %, asumiendo un valor de k de 2.

$$U_{Expandida} = 2 \cdot u_{Combinada} \quad (18)$$

1.6. Metodologías analíticas para la determinación de PCP.

1.6.1. Prueba de toxicidad por lixiviación (TCLP)

La lixiviación es un proceso por el cual se extrae uno o varios componentes de un sólido por contacto con un disolvente líquido. El líquido percolado o drenado a través de un residuo y que contiene componentes solubles en éste, se le denomina como lixiviado.

En este sentido, la prueba de toxicidad por lixiviación (TCLP), simula la lixiviación ocurrida en una disposición de residuos sometidas a determinadas condiciones ambientales teniendo como agente móvil a las gotas de lluvia, las cuales al realizar contacto con los residuos, este último libera en mayor o menor grado los contaminantes que posee al ambiente, dependiendo del tipo y naturaleza del contaminante. El grado con que se liberan los distintos contaminantes del residuo en cuestión, determinará la magnitud de la peligrosidad que posee el material, compuesto o sustancia a la cual se le desea realizar una evaluación de peligrosidad. (León. M, 2011).

Es por esto que dependiendo de la composición química del residuo, como de su concentración, revista un posible peligro para el medio ambiente, afectando no solamente el entorno cercano donde están dispuestos, sino también sectores más alejados alterando la composición química de las napas subterráneas aumentando el área de expansión de la mezcla producida.

Partiendo sobre la base del fenómeno antes expuesto y concientes de las potenciales consecuencias negativas que pueden tener, en Estados Unidos , por medio de la Agencia de Protección al Medioambiente (U.S EPA) a fines de la década de los 80, se desarrolla una metodología que permite evaluar de manera práctica y a escala de laboratorio la peligrosidad de un residuo, denominado Prueba de Toxicidad por Lixiviación, TCLP

(Toxicity Characteristic Leaching Procedure) y clasificado como Método EPA 1311 , el cual permite simular el proceso real de interacción entre el residuo y el medio a fin de evaluar la movilidad de los contaminantes contenidos en los residuos dispuestos en el suelo.

La prueba de toxicidad antes mencionada fue desarrollada como una herramienta de evaluación para el peor escenario posible de la disposición de un residuo.

En Chile según el Reglamento sanitario sobre manejo de residuos peligrosos (Decreto Supremo 148) un residuo peligroso se define como todo aquel residuo o mezcla de residuos que presenta riesgo para la salud pública y/o efectos adversos al medio ambiente, ya sea directamente o debido a su manejo actual o previsto, como consecuencia de presentar toxicidad aguda, crónica, intrínseca, inflamabilidad, reactividad y corrosividad.

Desde el punto de vista técnico los ensayos de lixiviación constituyen un procedimiento estandarizado de preparación de una muestra mediante el cual se pretende extraer del residuo estudiado (generalmente sólido o pastoso) los constituyentes solubles en agua, teniendo como producto final un extracto homogéneo, donde son identificados los analitos, y en qué medida éstos poseen la capacidad para liberarse del residuo, vale decir evaluar la capacidad de ser extraíbles de aquellas sustancias presentes.

El test simula la posible lixiviación de los residuos sólidos acopiados en la superficie hasta llegar a las aguas subterráneas, bajo condiciones similares a las encontradas en un relleno sanitario de residuos sólidos, liberando contaminantes de distinta naturaleza: metálicos, orgánicos volátiles, pesticidas y semi volátiles. El test emplea fluidos que simulan ser los ácidos orgánicos (buffer de acetato) que deberían formarse por la

descomposición de residuos domésticos en rellenos sanitarios, además de los movimientos físicos en terreno y que son simulados por el equipo giratorio de TCLP sometiendo a la muestra a giros por un determinado tiempo.

Centrándose en el caso del PCP, según el DS 148 artículo 14, para la evaluación de la peligrosidad del residuo a través de su disposición final en el suelo, éste debe poseer una concentración máxima permisible de 100 mgL^{-1} .

1.6.2. Extracción en fase sólida

La extracción en fase sólida corresponde a una técnica de preparación de muestra, donde una solución que contiene los analitos de interés son retenidos por una fase sólida producto de las interacciones químicas ocurridas con los grupos funcionales presente en las extracción, para posteriormente ser eluidos con un determinado solvente.

La utilidad que posee esta técnica es que dependiendo de la composición química de la fase sólida, es que esta interactuará con aquel grupo de moléculas de la muestra total, que presenten un comportamiento químico similar, actuando de manera selectiva con algunos de los compuestos presentes en la muestra que es analizada.

Para la determinación del pentaclorofenol (y de manera más general compuestos aromáticos en una matriz acuosa) se utiliza una fase solida, compuesta por una resina de estireno-divinilbenzeno con un elevado entrecruzamiento.

La retención de las moléculas de pentaclorofenol en una fase polar (por ejemplo agua) dentro de la resina es a causa principalmente de las fuerzas de atracción entre los enlaces carbón hidrógeno del pentaclorofenol y los grupos funcionales en la superficie de la

sílica. Estas fuerzas atractivas no polares son comúnmente denominadas fuerzas de Van-der Waals, o fuerzas de dispersión. (SUPELCO,1998).

Para poder eluir las moléculas de pentaclorofenol adsorbido desde la resina, es necesario utilizar un solvente no polar para disminuir estas fuerzas que unen el compuesto con el empaquetado (ARGONAUT, 1997).

Para la determinación de PCP extraíble según TCLP, se toma como lectura base, lo descrito en el método EPA 3535 c, usando Cartridges para el propósito.

1.6.3. Cromatografía gaseosa.

La cromatografía gaseosa se basa en la separación de los componentes de una mezcla los cuales se reparten entre dos fases: la *fase estacionaria* (líquida), la cual posee una superficie de exposición muy grande y la otra, la *fase móvil*, correspondiente a un gas el cual circula en contacto con la fase estacionaria (gas carrier).

La muestra una vez ingresada al sistema de inyección es volatilizada y luego transportada por la fase móvil gaseosa a través de la columna. El reparto o partición de los componentes de la muestra con la fase estacionaria, se basa en sus diferentes solubilidades en esta fase a una temperatura dada.

Por lo tanto, los fundamentos teóricos en los que se basa la separación de los componentes de la mezcla (solutos o analitos) son: diferencias de presión de vapor *relativas* de cada uno de los compuestos y sus afinidades respectivas con la fase estacionaria. Este tipo de proceso cromatográfico se denomina elusión. (Fowlis.I, 1995)

Los principales componentes en un sistema de cromatografía gaseosa son: la fuente de gas portador, el sistema de inyección, el horno que contiene la columna, el detector y el sistema de registro e integración (Figura 7).

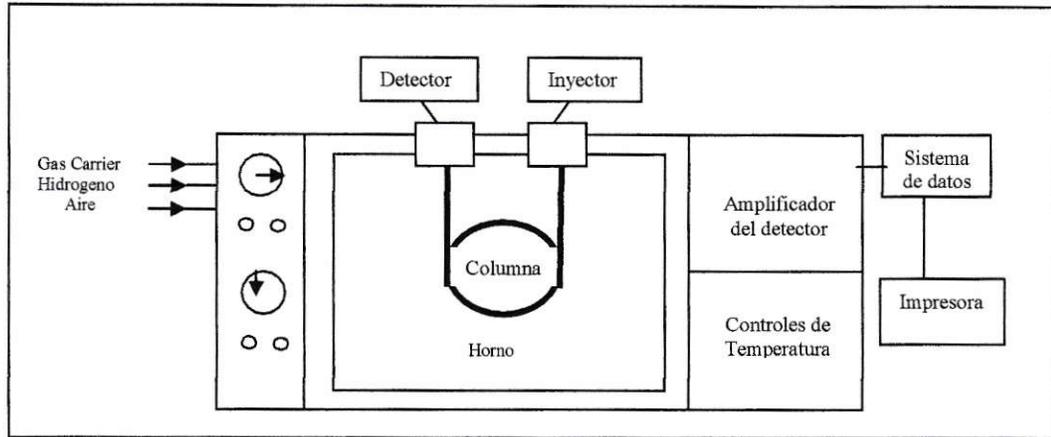


Figura 7: Principales partes de un cromatógrafo de gases.

Un cromatógrafo de gases funciona de la siguiente forma: un gas inerte (Nitrógeno, Helio o Hidrógeno) fluye de manera continua desde un cilindro de gas a través del inyector, para luego pasar por la columna y finalmente llegar al detector. La velocidad de flujo del gas carrier debe ser constante ya que esta característica asegura que los tiempos de retención sean reproducibles, además de lograr una eficiente disminución en las variaciones y ruidos en el detector.

La muestra primero es inyectada, utilizando para aquello, una microjeringa de vidrio borosilicatado en el inyector que se encuentra a una elevada temperatura donde se vaporiza. El modo de inyección puede ser del modo Splitt, esto es, solo una parte de la

muestra es inyectada, como el modo Splitless que implica inyectar la muestra con un solvente volátil , para posteriormente volatilizar ambos con un flujo de inyección menor.(Fowles,I, 1995).

Luego la muestra es transportada a la columna, la cual internamente está cubierta por una película de un líquido con un elevado punto de ebullición (la fase estacionaria) donde se reparte entre la fase móvil y la estacionaria de modo de que los distintos analitos a cuantificar son separados en base a su solubilidad relativa en la fase líquida y sus presiones de vapor relativas de manera selectiva (McNair. H & Miller J, 1998).

Una vez que la muestra ha pasado a través de la columna esta finaliza en un detector, dispositivo que tiene por finalidad medir la cantidad de cada componente generando una señal eléctrica, la cual es transmitida a un sistema de registro e integración, dando como respuesta un cromatograma que representa un registro del análisis.

En la mayor parte de los casos, el sistema integra automáticamente el área de cada pico, realiza los cálculos e imprime un reporte con los resultados cuantitativos y los tiempos de retención.

1.6.4. Detector MSD

Una vez que la muestra ha pasado a través de la columna, llega al detector, dispositivo que debe ser sensible a los efluentes de la columna y capaz de suministrar un registro de la cromatografía en la forma de un cromatograma. La señal del detector debe ser proporcional a la cantidad de cada soluto (analito), con lo cual debe ser posible realizar un análisis cuantitativo. (Grob.R & Barry.E, 2004).

Se han desarrollado una gran cantidad de detectores para monitorear los componentes que son separados en el efluente del cromatógrafo de gases. Los detectores más usados pertenecen a la categoría de ionización. El principio aplicado consiste en la medida de los cambios de conductividad eléctrica causados por cambios en las corrientes de iones generados en la llama del detector. (Kitson.F y col, 1996).

Para la determinación de compuestos semivolátiles, el detector utilizado es el MSD (detector de masa selectivo), el cual mide la proporción masa/carga de los iones en fase gas de los analitos, lo que entrega una medida de la abundancia de cada especie iónica (McNair.H & Miller.J, 1998).

Este dispositivo posee dos grande técnicas de acoplamiento, la más utilizada es la de análisis por impacto electrónico (EI), sin embargo, la técnica de ionización química (CI) tiene cada vez más aplicaciones, desde su introducción en 1966, por la mayor información que permite obtener, siendo particularmente útil para la identificación de ésteres, acetales y cetales. (Kitson. F y col, 1996).

Primero comienza con la introducción del analito al dispositivo de detección, donde es ionizado, luego pasan a un detector de masa cuadripolar, donde los iones del analito entran a través de cuatro barras, aplicando paralelamente un determinado campo de fuerza siendo transportadas a través de las barras y aplicando un radiofrecuencia específica, éstas son desviadas a excepción de aquellas que poseen una determinada relación masa carga las cuales llegan al detector para su posterior cuantificación. (Figura 8).

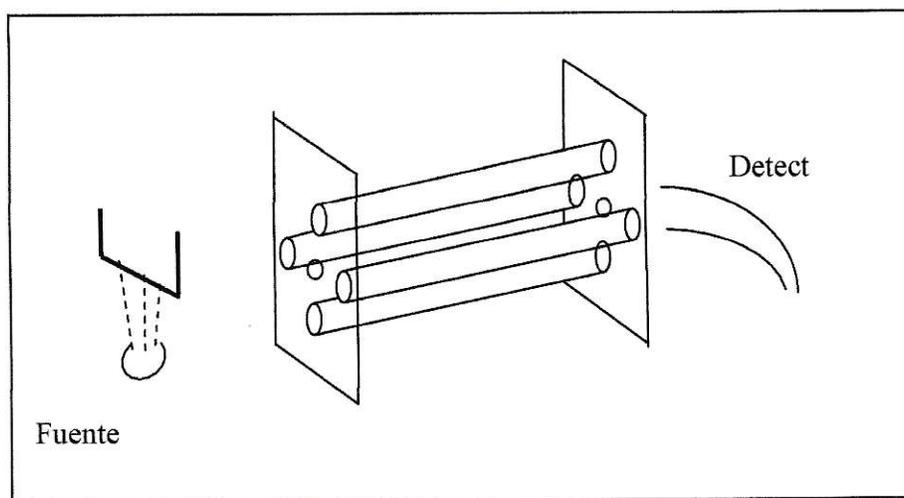


Figura 8: Detector de masa selectivo.

Para el presente caso se toma en consideración el Método EPA 8270 D para determinación de compuestos orgánicos semivolátiles por Cromatografía de gases con Detector de Masa Específico (GC/MS), el cual tiene como condiciones operacionales del cromatógrafo de gases con detector de masa (Tabla 4).

Tabla 4: Condiciones operativas GC/MS recomendado por Método EPA 8270 D

Condiciones Operacionales	Valores
Rango de masa del Detector	35-350 amu
Tiempo de escaneo	1 s /Scan
Temperatura inicial	40°C durante 4 minutos
Rampa de temperatura	40°C hasta 270°C cada 10°C/min
Temperatura del inyector	250-300 °C
Temperatura de línea de transferencia	250-300°C
Tipo de Inyección	Splitless
Volumen de inyección	1-2 µL
Gas Carrier	Hidrogeno con taza de flujo de 50 cm/s o Helio con taza de flujo de 30 cm/s

HIPOTESIS

Tomando en consideración dos métodos para la evaluación de la incertidumbre asociada a la determinación de Pentaclorofenol extraíble en residuos de aserrines por medio de TCLP, se espera encontrar cual es la etapa que representaría la mayor fuente de incertidumbre de la metodología analítica y estimar la incertidumbre expandida evaluado en ambos métodos.

1.7. OBJETIVOS.

1.7.1. Objetivo general.

Evaluar la incertidumbre expandida de la determinación de pentaclorofenol extraíble según TCLP para evaluación de peligrosidad de residuos.

1.7.2. Objetivos específicos.

- Optimizar la metodología para la extracción TCLP de pentaclorofenol en muestras de residuo y su cuantificación por cromatografía gaseosa.
- Validar la metodología de determinación de compuestos orgánicos extraíbles por TCLP, lo que incluye determinar los límites de detección y cuantificación, repetibilidad, y exactitud desde muestras reales y sintéticas.
- Identificar las fuentes de incertidumbre.
- Estimar la contribución de cada una de las fuentes de incertidumbre según procedimiento extendido del GUM y a partir de datos de validación.

II. MATERIALES Y MÉTODOS.

2.1. Sitio de muestreo.

Las muestras de Aserrín fueron extraídas del aserradero La Araucana (Figura 9), del grupo Celulosa Arauco. Las instalaciones están ubicadas en Los Álamos, provincia de Arauco, Octava Región del Biobío, la cual había cesado sus funciones de manera indefinida producto de la disminución en las exportaciones a EE.UU (EMOL, 2007).



Figura 9: Fotos con vistas del Aserradero La Araucana.

2.2. Materiales y Reactivos.

Los solventes usados en el presente trabajo son del grado ultra puro GC MERCK ®. Además se utiliza un material de referencia de compuestos orgánico semivolátiles (TCLP Semi-Volátiles Sandy Loam) marca RTC ® con una incertidumbre de certificado de $0,05 \text{ mgL}^{-1}$ y un multiestándar de compuestos semivolátiles en diclorometano (Standard Mix Semi-volátiles) marca AccuStandard® de concentración 2 mg/mL con una incertidumbre de certificado de $0,01 \text{ mg/mL}$.

Los materiales utilizados son Pipetas Hirschman EM® ($10 \pm 0,02 \text{ mL}$, tipo A). Brand (Brau Brand)® ($25 \pm 0,03 \text{ mL}$, Tipo A), Vasos precipitados Kimax® y Pyrex® (Tipo A), Matraces ámbar Pyrex ($5 \pm 0,015 \text{ mL}$, Tipo A), Micro jeringa HP® ($500 \pm 0,3 \mu\text{L}$), para filtrar el extracto de la prueba TCLP se utiliza filtros $0,7 \mu\text{m}$ Milipore®, para la extracción fase sólida se utilizan Cartridges de extracción fase solida 6 mL Supelco® y para recolectar las muestras evaporadas se utiliza Viales de 2 mL Agilent®.

2.3. Lavado de material de vidrio.

El protocolo de lavado comienza por remover cualquier residuo después del uso del material, para luego lavar el material en un baño ultrasónico con agua caliente (50°C o más cuando sea posible) y detergente ácido líquido biodegradable, durante 15 minutos. La cantidad de detergente usado dependerá del grado de suciedad que presenten los materiales, la dosificación usada cuando la suciedad sea leve es de 50 mL , cuando la suciedad sea mediana se usan 100 mL , y cuando el grado de suciedad sea elevado, se utilizan 150 mL de detergente.

Finalizado el período de baño de ultrasonido, se procede con el enjuague de los materiales utilizando agua caliente para eliminar todo el material particulado que se haya desprendido, luego se enjuaga tres veces con agua destilada para quitar los depósitos metálicos del agua potable de la llave.

Posteriormente se deja en estufa de secado a 100°C por 15 minutos y se enjuaga 3 veces con agua destilada, para luego repetir el proceso con agua desionizada y secado final.

(CENMA, 2011).

2.4.Preparación de estándares.

Los estándares utilizados para cuantificar al PCP corresponden a multiestándares de compuestos semivolátiles. Se toma una alícuota de 500 μL y se afora en un matraz de 2 mL con acetato de etilo dada las características de insolubilidad en solventes polares, luego se toman alícuotas de 125, 250, 650 1250 y 2500 μL en distintos matraces de 2 mL los cuales se aforan con acetato de etilo, esto con el fin de tener puntos de la curva de calibración de 5, 10, 25, 50 y 100 mgL^{-1} .

2.5. Ensayo de TCLP.

2.5.1. Evaluación preliminar.

Según el método EPA 1811, la evaluación preliminar para un residuo consiste en la determinación de porcentaje de sólido, porcentaje de sólidos seco, determinación del tamaño de las partículas del sólido y finalmente la elección de la solución extractante a utilizar.

Debido a las condiciones físicas propias tanto de las muestras reales como de los estándares de TCLP-SVOC, sólo fue necesario realizar la última evaluación preliminar, esto es, las muestra y los estándares no poseen fase líquida alguna, el porcentaje de sólidos seco es mayor al 0,5 % y el tamaño de las partículas es menor a 1 cm para ambos casos.

La determinación de la solución extractante a utilizar, dependerá exclusivamente de la alcalinidad que posee el residuo. Se masan 5 g. de muestra, utilizando una Balanza analítica Metter Toledo® modelo PB1502, y se deposita en un matraz al cual se le agregan 96,5 mL de agua desionizada y se agita a 1800 rpm durante 5 minutos. Pasado el tiempo, se detiene y se mide el pH. Si es menor a 5, se debe utilizar la solución extractante n°1; si el pH es mayor, se debe agregar 3,5 mL de HCl y calentarlo durante 10 minutos a 50°C. Transcurrido el tiempo se deja enfriar y se mide el pH, si es menor a 5, se utiliza la solución extractante N°1; en tanto que si es mayor a 5, se debe utilizar la solución extractante N°2.

Para el presente caso, al agregar agua desionizada, el pH resultante fue de 7,45, por lo que se agrega ácido clorhídrico 1N, y se calienta. Finalizado el período y dejado enfriar

se mide el pH, obteniendo el valor de 1,94, por lo que la solución a utilizar es la solución extractante n° 1.

2.5.2. Preparación de las muestras.

Determinada la solución extractante, se procede con el tratamiento de las muestras, donde se calcula el volumen de la solución a usar.

Tomando en consideración la Fórmula 17, la lixiviación se realiza en botellas de plástico de 500 mL y al ser 100% el porcentaje de sólidos secos de las muestras, por lo que un reordenamiento, en la Fórmula nos da un valor de 25 g. como masa teórica del residuo.

$$\text{Masa de Sln extractante (g)} = \frac{20\% \text{ de Sólido seco} \cdot \text{Masa del residuo (g)}}{100} \quad (19)$$

Para asegurar la integridad de la muestra en el frasco, se toman 20 g. como masa teórica.

Los valores tanto de las masas de las muestras reales como de los estándares y sus respectivas masas de solución extractante se muestran en la Tabla 5.

Tabla 5: Masa de estándar de compuestos semivolátiles y solución extractante.

Muestra	Masa de la muestra (g)	Masa de solución extractante (g)
1	20,03	401,08
2	20,69	401,82
3	20,01	401,84
4	20,02	405,57
5	20,00	401,90
6	20,02	401,68
7	20,02	417,25
8	20,62	412,13
9	20,05	400,29
10	20,09	404,24
11	20,01	416,65
12	20,00	404,15
13	20,03	413,39
Material de Referencia	20,05	405,15
Blanco extracto 1	0	400,76
Blanco extracto 2	0	401,85

Masadas, selladas la botellas con las muestras y la solución extractante, éstas son puestas en el Equipo giratorio TCLP Design and MFG Co, modelo 3740-12-BRE (Figura 10) durante 18 ± 2 horas a una temperatura controlada de 23°C , transcurrido este periodo, se filtran los extractos de las muestras, para lo cual se procede con el montaje del sistema de filtración utilizando filtros de fibra de vidrio de $0,7\mu\text{m}$ para la separación de las fases (Figura 11). Una vez filtradas las muestras, son refrigeradas a -4°C para una óptima preservación.



Figura 10: Equipo giratorio para TCLP.



Figura 11: Equipo de Filtración.

2.6. Extracción en fase sólida.

Una vez preparadas las muestras, éstas son transferidas a matraces de aforo de 250 mL donde se utiliza la técnica de adición de estándar SVOC-TCLP el cual deja como concentración final 1 mgL^{-1} . Paralelamente se procede con el montaje del equipo de extracción (Figura 12), asegurando que haya un vacío efectivo y que los cartuchos usados estén en el lugar correcto. Para el presente caso, los cartridges usados son de la marca SUPELCO®, modelo ENVI-Chrom P-SPE de 6 mL.

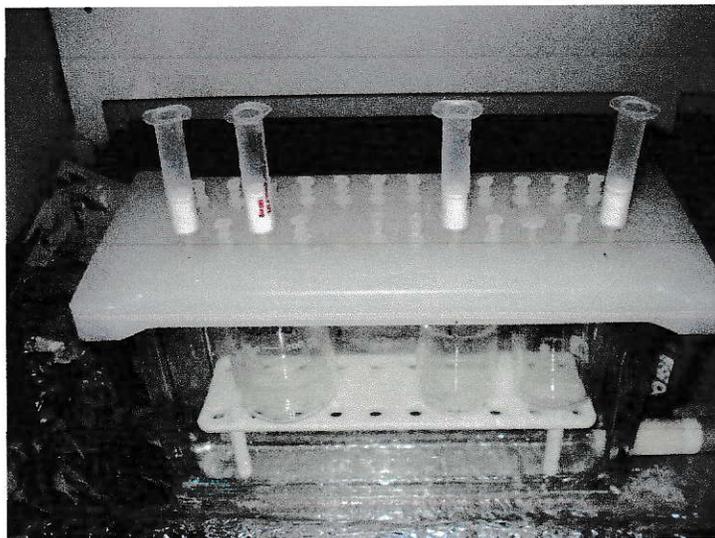


Figura 12: Equipo de Extracción.

Posterior a esto, se procede con la primera etapa de la extracción, el lavado de los cartuchos, donde se enjuagan los cartuchos con 5 mL de acetato de etilo, durante un minuto, encendiendo la bomba del manifold para que se forme un vacío, luego se repite la operación pero con 5 mL de diclorometano hasta que el cartucho quede completamente seco.

Luego se realiza el acondicionamiento de los cartuchos, donde éstos se enjuagan con 5 mL de metanol, permitiendo que se humedezcan durante 30 segundos con la bomba de vacío encendida. Se deja fluir el contenido total de metanol, con la bomba apagada hasta que quede un poco de éste sobre el adsorbente, para luego lavarlo nuevamente con 5 mL de metanol.

Posterior a esto se debe dejar pasar el metanol y enjuagar con dos alícuotas consecutivas de 5 mL de agua, teniendo especial cuidado en dejar el agua por sobre el adsorbente, vale decir que no se seque.

Una vez realizada esta operación se deja escurrir la muestra por los cartuchos, lavados y acondicionados, utilizando para aquello un flujo constante de 20 mL/min cartucho con una presión de vacío de 10 a 15 pulgadas de mercurio (inHg). Mantener encendido la bomba de vacío durante 10 minutos una vez que ya ha escurrido la totalidad de la muestra.

Finalmente en la etapa de elución, se debe añadir 5 mL de acetato de etilo a los cartuchos, dejando que se humedezca el adsorbente por 30 segundos, sin aplicar vacío. Luego dejar pasar un pequeño vacío de 2 a 4 inHg. Esta operación se repite con 5 mL de DCM. Luego enjuagar los cartuchos con 2 a 3mL de una mezcla 1:1 de acetato de etilo: diclorometano.

Obtenido el extracto, se procede con el secado, para lo cual se instala una columna de secado rellena con 5 a 7 g. de sulfato de sodio anhidro, la cual debe ser pre enjuagada con 2 mL de mezcla 1:1 de acetato de etilo: Diclorometano. Una vez lista, se deja pasar el extracto y se recolecta en viales ámbar de 20 mL. Posteriormente las columnas se lavan con dos porciones de 3 mL de mezcla 1:1 acetato de etilo: diclorometano, esta

última etapa tiene como finalidad remover moléculas de agua remanentes de las etapas anteriores, ya que para la lectura, el agua representa un interferente.

2.7. Concentración de la muestra.

Teniendo el extracto listo, se procede a concentrarlo, para lo cual se utiliza un extractor evaporatorio rotador Rocket, GENEVAC®, modelo RKCM-23050-5NN (Figura 13).

Una vez transferida la muestra a los frascos de vidrio del equipo, se fijan las condiciones de evaporación, (13 minutos en el programa, sustancias de bajo punto de ebullición) hasta llegar a un volumen final de 1mL. Luego ésta es transferida a un vial de 1 mL y se afora con acetato de etilo para su posterior lectura en el cromatógrafo de gases.



Figura 13: Extractor Evaporativo rotador.

2.8. Análisis de las muestras.

Para el análisis de las muestras se utilizó un Cromatógrafo de Gas HP ® modelo 6890, acoplado a detector de masa selectivo HP ® modelo 5973 (Figura 14) y una columna HP-5MS Agilent ®, de 30 m de largo, 0,25 mm diámetro externo y 0,25 μm de diámetro interno.

Tomando en consideración el método EPA 8270C se procede con la cuantificación de los extractos de PCP, para lo cual se fijan las condiciones operativas del cromatógrafo de gases acoplada a un detector de masa (Tabla 4).



Figura 14: Cromatógrafo de gas HP 6890 con Detector de Masa Específico 5973.

Al realizar la cuantificación de los extractos utilizando las condiciones operativas del cromatógrafo mencionadas por el método EPA 8270c no se obtuvo señal alguna del pentaclorofenol, cambió las condiciones de operación del equipo, variando

principalmente el flujo de la fase móvil, la temperatura del detector y la rampa de temperatura.

Teniendo como principal consideración el punto de ebullición del PCP, se encuentra las condiciones operativas que mejoran de manera óptima el desarrollo de la cuantificación (Tabla 6).

Tabla 6: Condiciones operacionales GC/MS optimizados.

Condiciones Operacionales	Valores
Rango de masa del Detector	45-450 amu
Tiempo de escaneo	1 s /Scan
Temperatura inicial	40°C durante 1 minuto
Rampa de temperatura	40°C hasta 110°C cada 15°C/min 100°C hasta 210°C cada 10 °C/min
Temperatura del inyector	260 °C
Temperatura de línea de transferencia	290°C
Tipo de Inyección	Splittless
Volumen de inyección	1 µL
Gas Carrier	Hidrógeno con taza de flujo de 50 cm/s o Helio con taza de flujo de 30 cm/s

III. RESULTADOS.

3.1. Estimación de la incertidumbre asociada a la cuantificación del PCP extraíble por mediciones individuales.

Tomando en consideración lo mencionado en el Diagrama de Ishikawa, para el cálculo de la incertidumbre asociada a la determinación del pentaclorofenol extraíble según TCLP y cuantificado por cromatografía gaseosa, existen 3 fuentes de incertidumbre, entre las que podemos mencionar, la curva de calibración, el factor de corrección y la muestra, cada una teniendo las entradas de magnitud que realizan subaportes a la incertidumbre final.

Estas fuentes y sus incertidumbres las podemos resumir en la Tabla 7:

Tabla 7: Fuentes de incertidumbres identificadas en la determinación de PCP extraíble según TCLP.

Fuente de incertidumbre	Magnitud de entrada Xi
CURVA DE CALIBRACION	Estándar de curva
	Blanco
	Respuesta Instrumental
FACTOR DE CORRECIÓN	MR Experimental
	MR nominal
MUESTRA	Factor de Repetibilidad

3.1.1. Curva de calibración.

Para poder determinar la influencia que posee la primera magnitud de entrada identificada, la curva de calibración, se deben considerar las fuentes que ésta posee (respuesta instrumental, blanco y estándar de la curva) y a su vez las magnitudes de entrada del estándar de la curva (pureza del estándar y volúmenes del matraz y de la jeringa usadas). Estas consideraciones se pueden ejemplificar en la Figura 15.

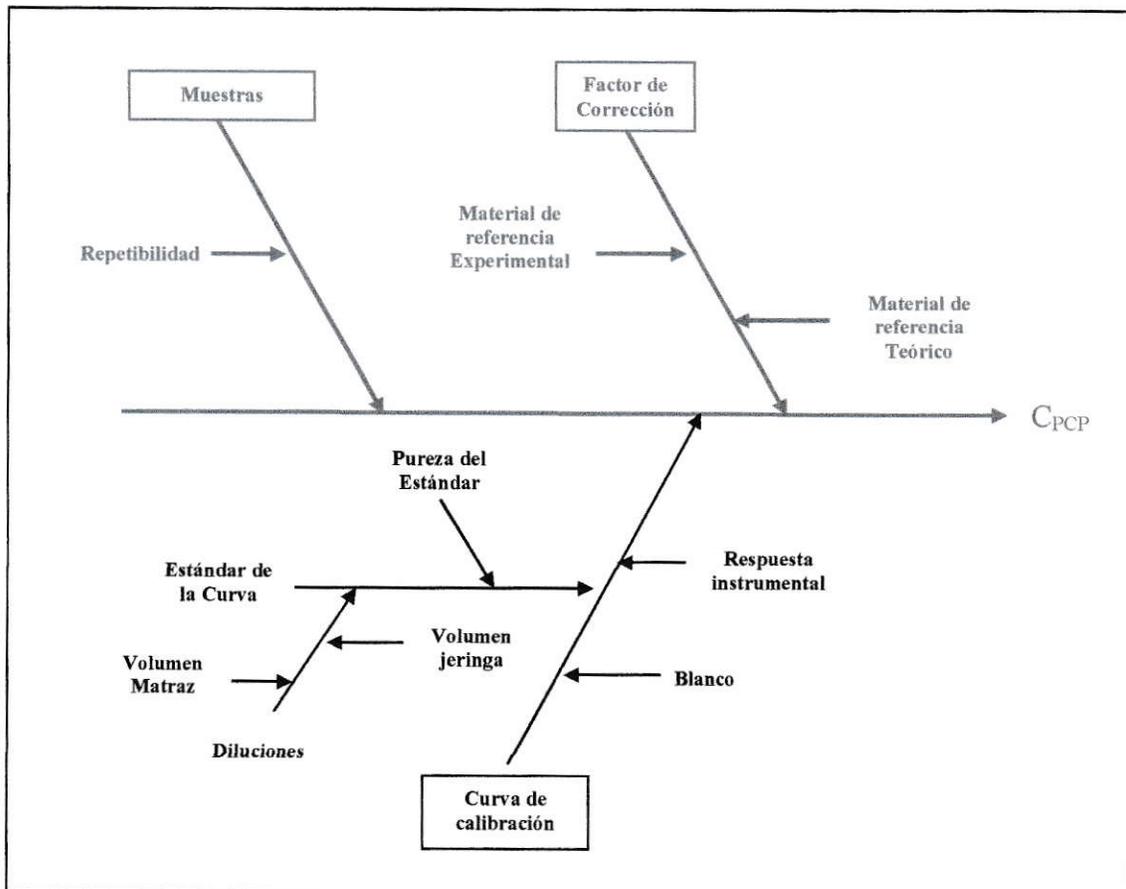


Figura 15: Aporte de la Curva de calibración.

Las fuentes de incertidumbre que aportan los matraces y las microjeringas usadas es a causa de las diluciones que se deben realizar desde el estándar concentrado inicial (2000 mgL^{-1}), hasta el estándar con la concentración necesaria (10 mgL^{-1}).

Para determinar el mesurando de la curva de calibración, se realizan durante 3 días distintos, la lectura de tres curvas hechas bajo las mismas condiciones y el mismo analista. Los valores encontrados se muestran en la Tabla 8.

Tabla 8: Valores de la curva de calibración.

Concentración Analito (mgL^{-1})	Respuesta Analítica ($\text{Área} \cdot 10^5$)			Promedio Respuesta ($\text{Área} \cdot 10^5$)	Desviación estándar
	Día 1	Día 2	Día 3		
0	0	0	0	0	0
5	0,826	6,77	4,53	4,04	3,00
10	3,42	26,38	13,513	14,44	11,56
25	9,87	76,02	49,02	45,04	33,35
50	23,6	1,69,21	132,63	108,75	75,48
75	36,72	292,52	213,76	181,82	131,90

Estos valores gráficamente son representados en la Figura 16:

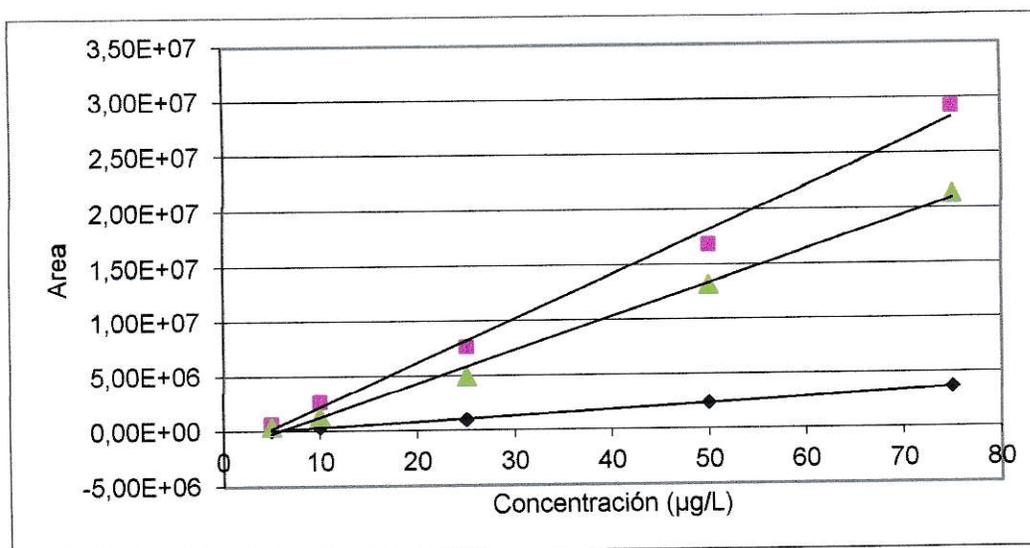


Figura 16: Curva de calibración para los 3 días.

Como se puede apreciar en la Figura 16, existen diferencias entre las curvas de calibraciones de los distintos días, por lo que para efectos de cálculo, se considera la señal promedio para cada una de las concentraciones. Los parámetros propios de la regresión lineal realizada a la curva de calibración están dados en la Tabla 9.

Tabla 9: Parámetros de la curva de calibración promedio.

Pendiente	$2,28 \cdot 10^5$
Intercepto	0,00
r^2	0,995
S	$5,55 \cdot 10^6$
n	18

Las distintas concentraciones reportadas de aquí en adelante son obtenidas usando esta curva de calibración promedio. Es importante mencionar que al aplicar un modelo de regresión lineal a los datos obtenidos, este fue forzado a cero, lo que se traduce en que la lectura del blanco obtenido corresponde un valor de 0 mgL^{-1} , por lo tanto la concentración promedio, y la desviación estándar tendrán un valor 0.

3.1.1.1. Estándar de la Curva.

La primera fuente de incertidumbre de la magnitud de entrada es el aporte realizado por el estándar de la curva para lo cual se cuantifica un punto de control. En este caso el punto usado posee una concentración de 10 mgL^{-1} . Estos valores, son presentados en la Tabla 10.

Tabla 10: Valores de la lectura del punto de control.

Respuesta Analítica (Área)			Promedio Respuesta (Área)	Concentración Control Curva (mgL^{-1})
Día 1	Día 2	Día 3		
$1,08 \cdot 10^5$	$8,28 \cdot 10^5$	$4,89 \cdot 10^5$	$4,75 \cdot 10^5$	11,085
$1,81 \cdot 10^5$	$8,33 \cdot 10^5$		$5,07 \cdot 10^5$	11,836

Por lo que, la incertidumbre estándar aportada por el material de referencia estará dada por la división de la desviación estándar per la raíz cuadrada de dos (por el numero de datos). Estos valores se presentan en la Tabla 11.

Tabla 11: Concentración, Desviación estándar e Incertidumbre estándar del punto de control.

C control	11,46 mgL ⁻¹
S control	0,531
u control	0,37 mgL ⁻¹

Donde la incertidumbre original de 0,36 mgL⁻¹ se calcula utilizando la Fórmula 3.

Tomando en consideración que la concentración nominal del estándar ocupado para la fabricación del punto de control es de 10 mgL⁻¹, con una incertidumbre estándar de 0,3 mgL⁻¹, según las diluciones realizadas, la incertidumbre estándar combinada corresponde a 0,071 mgL⁻¹, valor obtenido según la Fórmula 7.

Al no contar con un estándar de 10 mgL⁻¹, el cual fue el punto control utilizado, se debió realizar una dilución al estándar concentrado (de 2000 mgL⁻¹) y llevarlo a 100 mgL⁻¹, para finalmente llegar a 10 mgL⁻¹ como concentración final del estándar.

Esta serie de diluciones hechas, aporta incertidumbre al resultado, por lo tanto, hay que analizar las contribuciones tanto del volumen con que se empezó a realizar la dilución del estándar (microjeringa), el volumen del matraz, por las diluciones correspondientes con el cual se afora el estándar (Trujillo.S & Arias.R, 2002) y la pureza propia del estándar usado.

La determinación de la incertidumbre para el caso del estándar de 100 mgL⁻¹, se basa en los datos dados en la Tabla 12:

Tabla 12: Presupuesto de incertidumbre para estándar de 100 mgL⁻¹.

Magnitud de entrada Xi	Valor estimado xi	Fuente de información	Incertidumbre original	Tipo de distribución	Incertidumbre relativa Uxi/xi	Contribución (ui*ci)^2
Concentración del Estándar	2000 mgL ⁻¹	certificado	0,05 mgL ⁻¹	normal k=2	2,5·10 ⁻⁵	6,25·10 ⁻¹⁰
Volumen del estándar	5,00·10 ⁻⁴ L	presup.	2,74·10 ⁻⁵ L	normal	5,47·10 ⁻²	2,99·10 ⁻³
Volumen de matraz	1,00·10 ⁻² L	presup.	1,45·10 ⁻⁴ L	normal	1,45·10 ⁻²	2,11·10 ⁻⁴

En la Tabla 12 se aprecia que la concentración inicial del estándar es de 2000 mgL⁻¹, del cual se toma con microjeringa un volumen de 500 μL para llevarlo a un volumen final de 100 mL, obteniendo el estándar con una concentración final de 100 mgL⁻¹.

Para el cálculo de la incertidumbre relativa se realiza una división entre el valor de la incertidumbre original y el valor del estimado correspondiente, dando como resultado la incertidumbre relativa.

El valor de la incertidumbre asociada a la preparación del estándar de 100 mgL⁻¹ se calcula utilizando la Fórmula 7, cuyo valor es mostrado en la Tabla 13.

Tabla13: Incertidumbre asociada a dilución de 100 mgL⁻¹.

Valor	Unidades	u	Unidades	U (k=2)	Unidades
100,00	mgL ⁻¹	5,66	mgL ⁻¹	11,3	mgL ⁻¹

Tomando en consideración los valores de las magnitudes de entradas podemos dar a conocer el aporte de cada una de ellas al estándar de 100 mgL^{-1} , lo que se ve reflejado en la Tabla 14.

Tabla 14: Presupuesto de incertidumbre Resumido.

Concentración del Estándar	$6,25 \cdot 10^{-10} \text{ mgL}^{-1}$	$1,95 \cdot 10^{-5}$
Volumen del Estándar	$3 \cdot 10^{-3} \text{ L}$	93,43
Volumen de matraz	$2 \cdot 10^{-4} \text{ L}$	6,57
Total	0,003	100%

La cual genera la Figura 17, donde se aprecia que el mayor aporte porcentual a la incertidumbre es el volumen de estándar obtenido usando una microjeringa de $500 \mu\text{L}$.

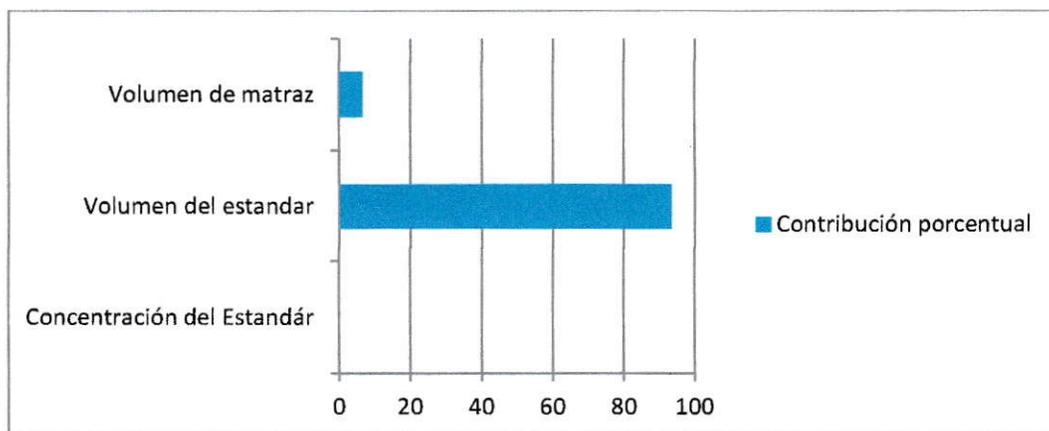


Figura 17: Contribución Porcentual a la Incertidumbre del estándar de 100 mgL^{-1} .

La Figura 17 muestra de esta forma que es el uso de la microjeringa el que aporta un 95 % a la incertidumbre, por lo que el preciso uso de este instrumento es limitante, a la hora de preparar un estándar.

Ahora para determinar la incertidumbre estándar del la segunda dilución, se debe analizar la fuentes asociadas a la preparación del estándar de 10 mgL^{-1} . Los valores envueltos en esta operación se muestran en la Tabla 15.

Tabla 15: Presupuesto de Incertidumbre de estándar de 10 mgL^{-1} .

Magnitud de entrada Xi	Valor estimado xi	Fuente de información	Incertidumbre original	Tipo de distribución	Incertidumbre relativa U_{xi}/xi	Contribución $(u_i \cdot c_i)^2$
Concentración del Estándar	100 mgL^{-1}	presup.	$11,326 \text{ mgL}^{-1}$	normal	0,113	0,013
Volumen del estándar	$5,00 \cdot 10^{-4} \text{ L}$	presup.	$2,74 \cdot 10^{-5} \text{ L}$	normal	0,055	0,003
Volumen de matraz	$0,005 \text{ L}$	presup.	$6,59 \cdot 10^{-4} \text{ L}$	normal	0,132	0,017

Donde ahora la incertidumbre original de 100 mgL^{-1} , corresponde al mismo valor calculado en la Tabla anterior ($11,36 \text{ mgL}^{-1}$), el volumen del estándar de 100 mgL^{-1} tomado es de $500 \mu\text{L}$, y el volumen final es de 5 mL . La incertidumbre asociada al estándar de 10 mgL^{-1} se muestra en la Tabla 16 calculada con la Fórmula 7.

Tabla 16: Incertidumbre asociada a la dilución de 10 mgL^{-1} .

Valor	unidades	u	Unidades	U (k=2)	unidades
10,00	mgL^{-1}	0,18	mgL^{-1}	0,37	mgL^{-1}

Mientras que la contribución porcentual de las distintas magnitudes de entradas están dadas en la Figura 18

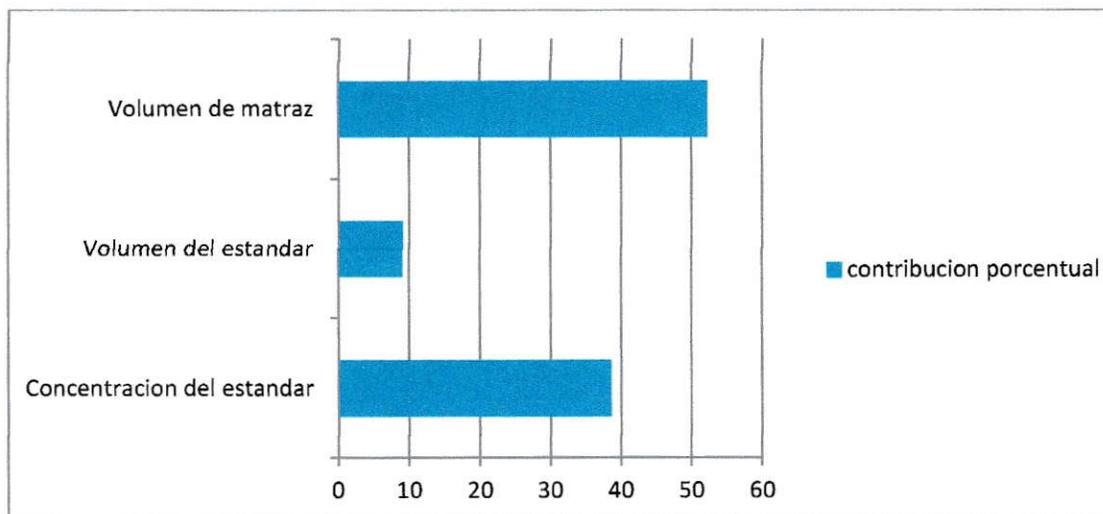


Figura 18: Contribución Porcentual a la incertidumbre del estándar de 10 mgL⁻¹.

La Figura 18 refleja que la concentración del estándar de 10 mgL⁻¹ tiene dos principales aportes, el volumen del matraz al cual se aforó, y también la incertidumbre asociada al estándar de origen preparado.

Tanto en la Tabla 10 como en la 13, las incertidumbres originales asociadas al volumen del estándar, y el volumen del matraz fueron determinadas por mediciones repetidas de las masas bajo condiciones ambientales controladas.

Los resultados de cada una de las masas y su presupuesto se encuentran en el ANEXO B Tablas 31 a la 48.

3.1.1.2. Blanco.

Al utilizar blancos con una pureza de grado GC, las señales analíticas obtenidas no corresponden a analito, sino más bien a ruido instrumental. Esto deriva en que el modelo matemático aplicado para la cuantificación de las muestras sea el de regresión lineal forzada a 0, siendo 0 mgL^{-1} la concentración del blanco y por ende aritméticamente la desviación estándar es 0 por ende entregando una incertidumbre aportada por los blancos de reactivos es de 0 mgL^{-1} , cosa que es lógica considerando el grado de pureza de los reactivos usados como blancos.

3.1.1.3. Respuesta Instrumental.

Para determinar la incertidumbre aportada por la respuesta instrumental, se realizaron lecturas a diez muestras distintas durante 3 días, considerando el mismo analista, y el mismo equipo.

Una vez realizado la lixiviación, se procede a recolectar 250 mL de muestra y a esta masa inicial se le realiza la extracción en fase sólida, la concentración y la lectura en el equipo cromatográfico. Los valores de las respuestas analíticas y las concentraciones se muestran en la Tabla 17:

Tabla 17: Respuestas analíticas de las muestras.

Muestra	Respuesta Analítica (Área · 10 ⁶)			Concentración (mgL ⁻¹)			Concentración promedio del extracto (mgL ⁻¹)	Respuesta analítica promedio (Área· 10 ⁶)	Concentración Promedio de la muestra (mgL ⁻¹)
	Día 1	Día 2	Día 3	Día 1	Día 2	Día 3			
1	2,99	19,7	18,89	0,058	0,384	0,369	0,27	13,84	60,62
2	2,60	18,32	17,43	0,051	0,358	0,340	0,25	12,78	55,97
3	2,62	18,84	18,57	0,051	0,368	0,363	0,26	13,34	58,42
4	2,54	21,59	18,73	0,050	0,422	0,366	0,28	14,29	62,57
5	2,69	18,94	19,06	0,053	0,370	0,372	0,27	13,57	59,41
6	2,72	20,37	15,92	0,053	0,398	0,311	0,25	13,00	56,94
7	2,91	22,51	15,73	0,057	0,440	0,307	0,27	13,72	60,09
8	2,77	19,79	19,27	0,054	0,386	0,376	0,27	13,94	61,06
9	2,74	18,30	18,37	0,053	0,357	0,359	0,26	13,14	57,54
10	2,99	22,57	15,73	0,058	0,441	0,307	0,27	13,76	60,28

Obtenidos los datos de la concentración se procede con el cálculo de la desviación estándar, y la incertidumbre estándar del PCP extraíble. Los valores se encuentran en la Tabla 18:

Tabla 18: Contenido control de las respuestas analíticas de las muestras.

C muestra	59,29 mgL ⁻¹
S repe	0,009
u resp. instrumental	9,62 mgL ⁻¹

Tomando en consideración que al ser 10 muestras durante 3 días, el total de lecturas es de 30, por lo que la incertidumbre original para el caso de la respuesta instrumental corresponde a 9,62 mgL⁻¹.

3.1.2. Factor de corrección.

El factor de corrección corresponde a aquella fuente en la que está implícita los controles de calidad que son demandados por los laboratorios regidos por la ISO 17025. El uso de estos controles deriva en una nueva fuente de incertidumbre que aporta al resultado final.

En la práctica, la determinación de la incertidumbre aportada por el factor de corrección se cuantifica por el análisis de los materiales de referencias usados en los batch de lecturas. Para ejemplificar las magnitudes de entrada de esta fuente ver la Figura 19.

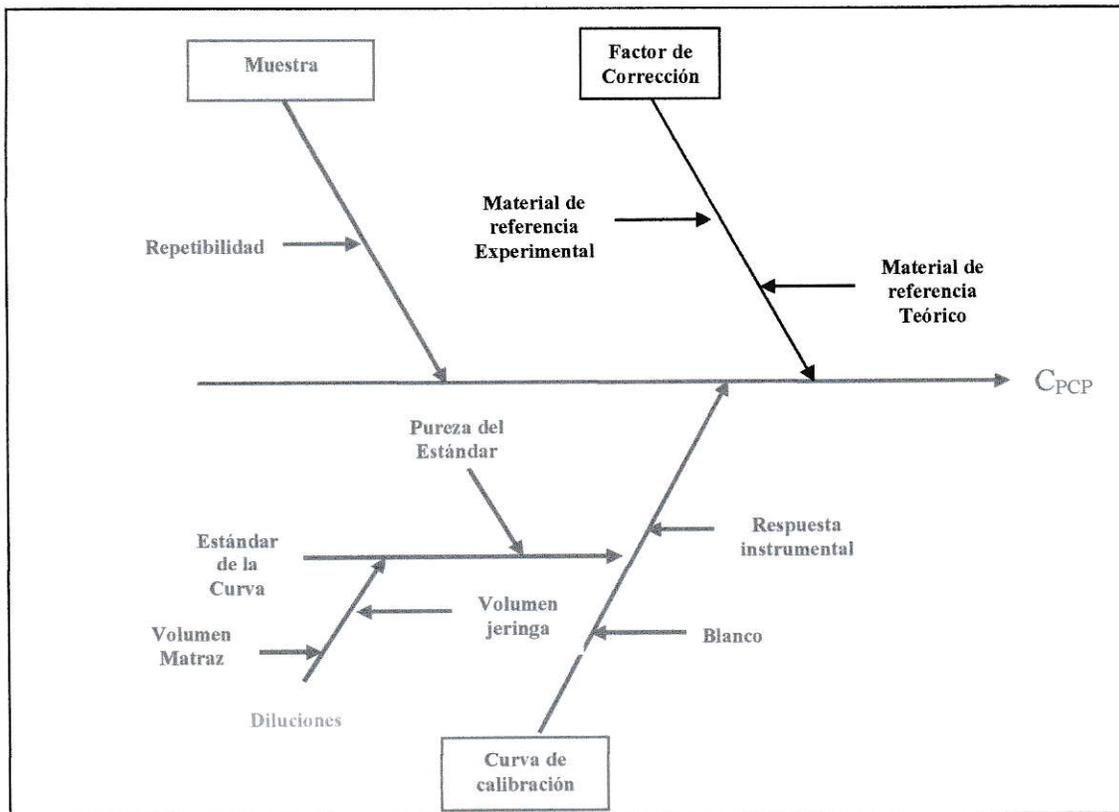


Figura 19: Incertidumbre asociada al Factor de Corrección.

Para determinar el aporte que realiza el factor de corrección aplicado en el proceso analítico se toma en consideración tanto el aporte del material de referencia experimental, y el material de referencia nominal. El primero se obtiene al introducir en el batch de lectura dos materiales de referencia, cuyos valores se presentan en la Tabla 19.

Tabla 19: Concentración promedio del Material de Referencia Experimental.

Material de Referencia	Respuesta Analítica (Área · 10 ⁶)			Concentración (mgL ⁻¹)			Concentración promedio (mgL ⁻¹)
	Día 1	Día 2	Día 3	Día 1	Día 2	Día 3	
MR1	1,64	12,58	9,37	0,036	0,275	0,205	0,772
MR2	2,42	13,42	3,54	0,053	0,294	0,078	0,942

Generando la incertidumbre del método (Tabla 20), realizando la división entre la concentración promedio de la lectura por la raíz cuadrada del número de lecturas (dos lecturas), expresada en la Fórmula 3.

Tabla 20: Contenido control de la lectura del Material de Referencia Experimental.

C MR método	0,857 mgL ⁻¹
S MR método	0,12
u MR método	0,085 mgL ⁻¹

Para el segundo caso, y por certificado de análisis, la incertidumbre del material de referencia nominal corresponde a 0,01mgL⁻¹, valor que al ser combinado con la Incertidumbre del Material de Referencia experimental dada en la Tabla 20, se obtiene una incertidumbre nominal de 0,08 mgL⁻¹, según lo mencionado en la Fórmula 7 como aporte del Factor de Corrección del Método.

3.1.3. Muestra.

Para el caso de la muestra como fuente de incertidumbre, la magnitud de entrada de ésta corresponde a la reproducibilidad de la proceso analítico implicada en el proceso, producto de las distintas etapas que contempla la cuantificación del PCP extraíble, desde la muestra real, hasta el extracto concentrado.

El valor correspondiente a esta magnitud es cuantificada por las desviaciones estándares de la serie de mediciones de las muestras. Los valores se encuentran tabulados en la Tabla 15 anteriormente mostrada y los valores resumidos en la Tabla 21 obteniendo un valor de $0,003 \text{ mgL}^{-1}$ para la repetibilidad de las muestras. El valor de la incertidumbre para el caso del material de Referencia usado en el método se obtiene en base a la Fórmula 3.

Tabla 21: Contenido control de las respuestas analíticas de las muestras.

C muestra	$59,29 \text{ mgL}^{-1}$
S repetibilidad	0,009
u repetibilidad	$0,003 \text{ mgL}^{-1}$

Obtenidos todos los valores y sus incertidumbres, podemos realizar el presupuesto de final incertidumbre asociado a la determinación del PCP extraíble según TCLP, los valores por cada fuente de incertidumbre (Tabla 22).

Tabla 22: Presupuesto Final Incertidumbre asociada a la determinación de PCP extraíble según TCLP.

Magnitud de entrada X_i , Fuentes de incertidumbre	Valor estimado (X_i)	Fuente de Información	Incertidumbre Original (U_{xi})	Tipo de Distribución	Incertidumbre Relativa (U_{xi}/x_i)	Contribución ($u_i \cdot c_i$) ²
Curva de calibración						
Blanco	0		0	normal	0	0
Respuesta instrumental	59,289		9,619		0,162	0,026
Estándar de curva	2,149		0,071	normal	0,033	0,001
					0,166	0,027
Factor de Corrección						
MR Experimental	0,857		0,085	normal	0,099	0,009
MR Nominal	1		0,01	normal	0,01	0,0001
					0,099	0,009
Muestra						
Repetibilidad	1		0,003	normal	0,003	$1,662 \cdot 10^{-5}$

De la cual se realiza la Tabla 23:

Tabla 23: Resumen de valor Certificado e Incertidumbre asociada.

Valor	unidades	u	unidades	U (k=2)	unidades
1	mgL ⁻¹	0,19	mgL ⁻¹	0,385	mgL ⁻¹

De esta manera la incertidumbre asociada a la determinación de PCP extraíble es de 0,38 mgL⁻¹. Además y observando la Tabla 22, vemos que el principal aporte a la incertidumbre es la curva de calibración, dado que aporta alrededor de un 45 % de la incertidumbre total de la proceso analítico (valor graficado en la Figura 20) por lo que es en esta etapa donde hay que tener precaución y tener una un gran énfasis a la hora de realizar análisis con una mayor cantidad de muestras.

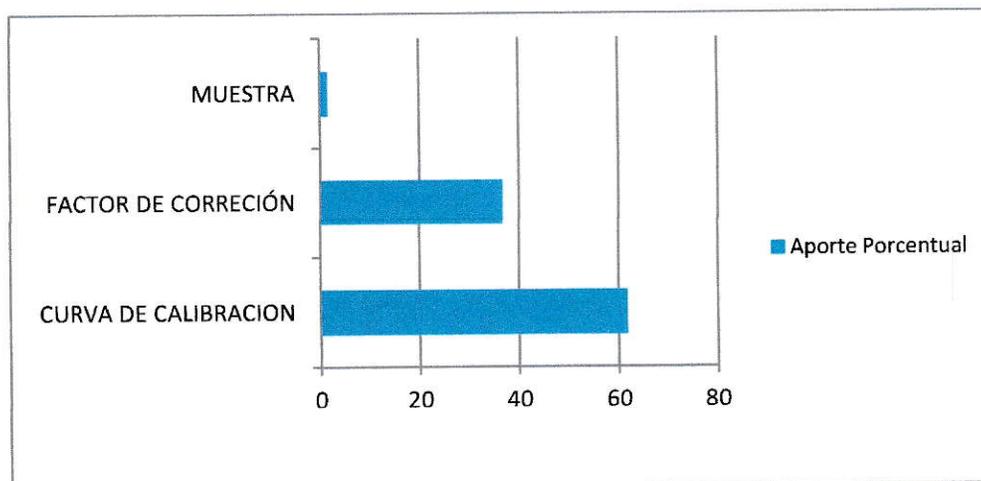


Figura 20: Contribución Porcentual a la incertidumbre en la determinación de PCP extraíble según TCLP.

3.2. Validación de metodología analítica para la cuantificación de PCP.

La estimación de la incertidumbre, además de ser estimada por la metodología de repeticiones, también es calculada a través de las validaciones de la metodología.

Para la validación de la metodología analítica se realizó durante 10 días, mediciones a 13 muestras, siendo el primer día, la lectura de todas las muestras, más la curva de calibración y un material de referencia como control de calidad. El batch de lectura cronometrado se resume en la Tabla 24:

Tabla 24: Batch de validación de PCP extraíble según TCLP.

Día de Validación	Muestras
0-1	Curva de calibración N°1 +2 blancos+10 muestras + 1 material de referencia
2	Curva de calibración N°1 +2 blancos+ muestra 3 y 4
3	Curva de calibración N°2 +2 blancos+ muestra 5 y 6
4	Curva de calibración N°2 +2 blancos+ muestra 7 y 8
5	Curva de calibración N°3 +2 blancos+ muestra 9 y 10
6	Curva de calibración N°3 +2 blancos+ muestra 11 y 12
7	Curva de calibración N°4 +2 blancos+ muestra 13 y 3
8	Curva de calibración N°4 +2 blancos+ muestra 4 y 5
9	Curva de calibración N°5 +2 blancos+ muestra 6 y 7
10	Curva de calibración N°5 +2 blancos+ muestra 9 y 10

Para llevar a cabo la validación de la metodología se realizaron 5 curvas de calibración distintas, usando una para cada dos días, además por motivos de aseguramiento de la lectura, se realizó el análisis a 13 muestras, seleccionando los mejores 10 resultados, requisito mínimo pedido para la validación, esto con el fin de obtener un óptimo desarrollo y posterior resultado.

Las lecturas para el día 0-1, correspondiente a todas las muestras se dan a conocer en la Tabla 25.

Tabla 25: Resultados de PCP en las muestras en el día 0-1 de la validación.

Muestra	Concentración de PCP en el extracto (mgL ⁻¹)	Concentración de PCP en la muestra (mgL ⁻¹)
1	16	0,064
2	23,05	0,092
3	23,25	0,093
4	26,6	0,106
5	35,78	0,143
6	33,77	0,135
7	33,81	0,135
8	32,86	0,131
9	50,74	0,203
10	41,45	0,166
11	52,47	0,210
12	29,92	0,120
13	11,81	0,047
MR	7,24	0,029

Donde la conversión de los resultados de PCP en el extracto a la muestra real considera un factor de 250, valor que corresponde al volumen inicial de muestra utilizada.

Los resultados obtenidos en la lectura de los días restantes se sintetizan en la Tabla 26:

Tabla 26: Resultados de la Validación de PCP extraíble en las muestras.

Día de la validación	Número de Muestra	Concentración de PCP en el extracto (mgL ⁻¹)	Concentración de PCP en la muestra (mgL ⁻¹)
1	1	16	0,06
	2	23,05	0,09
2	3	26,85	0,11
	4	35,99	0,14
3	5	41,72	0,17
	6	34,82	0,14
4	7	44,05	0,18
	8	39,96	0,16
5	9	45,77	0,18
	10	40,32	0,16
6	11	62,35	0,25
	12	27,89	0,11
7	13	30,2	0,12
	3	13,34	0,05
8	4	29,04	0,12
	5	25,56	0,10
9	6	36,74	0,15
	7	34,1	0,14
10	9	41,23	0,17
	10	40,89	0,16

La concentración promedio calculada es de 34,49 mgL⁻¹ en el extracto y 0,14 mgL⁻¹ en la muestra.

Obtenidos los datos se procede con la obtención de los parámetros que son propios de la validación de una metodología.

Según la definición 1.4.3.1, y para el presente caso, la sensibilidad corresponde a la pendiente promedio de las mediciones, representando una mejor sensibilidad, aquella pendiente la cual tiene un mayor valor numérico, dado que ésta refleja de mejor manera la señal analítica, producto de pequeñas variaciones en las concentraciones (Skoog.D.A, y col, 1993) Los valores se presentan en la Tabla 27.

En la Tabla 28 se tabulan los resultados obtenidos para el cálculo de la Replicabilidad y el límite de detección donde para el primer caso donde al obtener la desviación estándar de las mediciones, se utiliza la Fórmula 3 explicada en el punto 1.4.3.8.1. con la cual se determina el valor de la repetibilidad valor que está definido por la t de Student dependiendo de los grados de libertad correspondiente.

Los valores de la t de Student y grados de libertad son presentados en la Tabla 49 del Anexo B.

Finalmente la incertidumbre de la Replicabilidad queda expresa según la Fórmula 7, la que entrega un valor de 8,0 % con respecto al porcentaje de variación de las muestras.

Para el segundo caso, el límite de detección y el límite de cuantificación según lo dicho en los puntos 1.4.3.2 y 1.4.3.3 respectivamente corresponden para el primer caso, 3 veces la desviación estándar, en tanto que para el segundo caso es 10 veces la desviación estándar. Estos dos parámetros se ven reflejados en misma Tabla 25.

En la Tabla 29 tenemos los valores de la repetibilidad, donde al igual que en el cálculo de la Replicabilidad, se obtiene la desviación estándar de las mediciones, utilizando la Fórmula 10, explicada en el punto 1.4.3.8.1 y se calcula la t de Student, tomando en consideración los grados de libertad correspondiente a los datos.

La incertidumbre de la repetibilidad queda expresada según la Fórmula 7 que entrega un valor de 3,5 % con respecto al porcentaje de variación de las muestras.

En la misma Tabla se observan los valores de la Justeza, cuya incertidumbre está dada por la contribución de la incertidumbre en la preparación de las muestras y la incertidumbre asociada a la recuperación de las mismas, expresada en la Fórmula 13

La determinación de la incertidumbre aportada por la Justeza del método se lleva a cabo utilizando las Fórmulas 13, 14, 15 y 16 del punto 1.4.3.8.2.

Finalmente en la Tabla 30 está el presupuesto final de la determinación de PCP extraíble según TCLP determinado por la validación de la metodología, donde queda expresado que el valor de la incertidumbre combinada es de 5,4 en tanto que la incertidumbre expandida es de un 10,8 % con respecto al porcentaje de variación.

Tabla 27: Resumen validación PCP extraíble según TCLP, Sensibilidad del Método.

SENSIBILIDAD			
Fecha	Valor obtenido (mgL ⁻¹)		
24-05-2011	8,95·10 ⁵	Promedio	7,46·10 ⁶ mgL ⁻¹
25-05-2011	8,73·10 ⁵	Desv. Estándar:	3,79·10 ⁶
27-05-2011	7,55·10 ⁵	Numero de datos	5
01-06-2011	1,0·10 ⁵	Rango de Concentraciones	
02-06-2011	1,10·10 ⁵	Mínima	0 mgL ⁻¹
		Máxima	100 mgL ⁻¹

Tabla 28: Resumen validación PCP extraíble según TCLP, Replicabilidad y Limite de Detección del Método.

REPLICABILIDAD				LIMITES DE DETECCION Y CUANTIFICACION			
Muestra real; mismo día, mismo analista, mismo equipo				Mismo día, muestra real			
Fecha	Valor obtenido (mgL ⁻¹)			Fecha	Valor obtenido (mgL ⁻¹)		
24-05-2011	0,092			24-05-2011	0,144		
24-05-2011	0,093			25-05-2011	0,167		
24-05-2011	0,106	Promedio	0,133 mgL ⁻¹	27-05-2011	0,139	Promedio	0,150
24-05-2011	0,143	Desv. Estándar:	0,034	01-06-2011	0,160	Desv. Estándar:	0,016
24-05-2011	0,135	Numero de datos	10	02-06-2011	0,164	Numero de datos	10
24-05-2011	0,135	Grados de Libertad	9	03-06-2011	0,161	LDS 3s	0,049 mgL ⁻¹
24-05-2011	0,131	t (95,N-1)	2,262	06-06-2011	0,116	LQM 10s	0,164 mgL ⁻¹
24-05-2011	0,203	Repetibilidad	0,024	07-06-2011	0,165	Razón Concentración estándar /LD	3,0
24-05-2011	0,166	%CV Replicabilidad	25,4	08-06-2011	0,147		
24-05-2011	0,120	Incertidumbre	8,0 %	09-06-2011	0,136		

Tabla 29: Resumen validación PCP extraíble según TCLP, Repetibilidad y Justeza del Método.

REPETIBILIDAD				JUSTEZA			
Identificación de las muestra: Aserrín				Valor: 50 mgL ⁻¹		CVR (%)	
(Muestra real; 10 días, mismo equipo, mismo analista)				Material de referencia		10	
Fecha	Valor obtenido (mgL ⁻¹)			Fecha	Valor obtenido (mgL ⁻¹)		
24-05-2011	0,144			14-07-2011	46,61		
25-05-2011	0,167			14-07-2011	42,65		
27-05-2011	0,139	Promedio	0,150 mgL ⁻¹	14-07-2011	56,24	Promedio	49,028 mgL ⁻¹
01-06-2011	0,160	Desv. Estándar:	0,016	14-07-2011	49,52	Desv. Estándar:	4,999
02-06-2011	0,164	Numero de datos	10	14-07-2011	50,12	Numero de datos	4
03-06-2011	0,161	Grados de Libertad	9			Grados de Libertad	3
06-06-2011	0,116	t (95,N-1)	2,262			t (95,N-1)	3,182
07-06-2011	0,165	repetibilidad	0,012			Error Relativo %	-1,9
08-06-2011	0,147	%CV repetibilidad	10,9			Justeza %	98,1
09-06-2011	0,136	Incertidumbre	3,5 %			Incertidumbre	4,2 %

Tabla 30: Resumen Validación PCP extraíble según TCLP, Incertidumbre combinada y expandida del método.

PRSEUPUESTO FINAL DE INCERTIDUMBRE.					
Nombre de la variable	Valor de la concentración	unidad	Incertidumbre estándar u(x)	Incertidumbre Combinada del Método	Incertidumbre Expandida del Método
Repetibilidad	0,150	mgL ⁻¹	3,5 %	5,4 % de C _{pcp}	10,8 % de C _{pcp}
Justeza	49,01	mgL ⁻¹	4,2 %		

IV. DISCUSION GENERAL.

Tomando en consideración los resultados, se puede apreciar que la incertidumbre asociada a la determinación de PCP extraíble según TCLP obtenida en la validación de la metodología (10,9 %) fue menor que aquella calculada para las mediciones individuales (38 %).

La explicación de este resultado se halla en la naturaleza misma de cada metodología, vale decir la validación se basa en el hecho de combinar la influencia de muchos efectos de manera simultánea, a través de la estimación de la repetibilidad y la justeza de la metodología, no así las mediciones individuales la cual considera factor de corrección dentro del modelo propuesto lo cual representa un aumento en el resultado final de la incertidumbre expandida.

En este sentido el procedimiento de validación, a diferencia de las mediciones individuales, no cuantifica los fuentes de incertidumbre de manera individual sino que lo hace integradamente, vale decir, cuando los ensayos son llevados a cabo, se asume que todos los factores varían dentro de sus límites establecidos.(Shegunova.P y col. 2008). La variabilidad de los resultados por lo tanto es un estimado de los efectos combinados de todas las fuentes en su conjunto.

La factibilidad técnica del laboratorio serán las pautas para llevar a cabo una validación, específicamente el número de analistas que sean parte del laboratorio el número de equipos y la disponibilidad de materiales de referencia certificados determinarán el tipo de datos necesarios y el criterio para llevar a cabo una validación de la metodología.

Otro tema a considerar es el modelo matemático utilizado para realizar la cuantificación de las señales instrumentales, específicamente la línea de tendencia siguiendo un modelo lineal es forzado a cero principalmente por el hecho de que los blancos utilizados dentro del procedimiento analítico poseen una pureza grado GC, por lo que aquella señal del blanco reportada en los informes corresponden a ruido instrumental. De esta manera, del punto de vista práctico, el aporte realizado por los blancos como fuente de incertidumbre en los valores de concentración de PCP es nulo.

V. CONCLUSIONES.

- Se evaluó la incertidumbre expandida de la determinación de PCP extraíble según TCLP utilizando dos procedimientos basados en las recomendaciones del GUM y en la validación experimental respectivamente.
- La incertidumbre expandida para la determinación de PCP extraíble según TCLP siguiendo las recomendaciones del GUM fue de 38% expresada como coeficiente de variación.
- La incertidumbre expandida para la determinación de PCP extraíble según TCLP de acuerdo a los resultados de la validación experimental fue de 10,9% expresada como coeficiente de variación.
- Las diferencias encontradas para la incertidumbre expandida según ambos procedimientos se corresponden con las diferencias de alcance de los mismos. El procedimiento basado en la validación no considera la cuantificación detallada de todas las fuentes de incertidumbre y por lo tanto arroja resultados menores.
- Según el enfoque del GUM, el mayor aporte a la incertidumbre expandida se encuentra en la preparación de la curva de calibración.
- Para el caso de la validación, el mayor aporte a la incertidumbre expandida se encuentra en la repetibilidad de los resultados, lo cual revela que la correcta manipulación de las muestras durante el proceso analítico es importante, dadas las

etapas por los que pasa la muestra (Extracción TCLP, extracción con solvente, concentración y cuantificación).

- Si bien el procedimiento basado en el GUM resulta más tedioso a la hora de determinar la incertidumbre de una metodología analítica, constituye una buena herramienta para estimar con detalle la contribución de cada una de las fuentes.
- Ambos procedimientos pueden ser complementarios a la hora de analizar la incertidumbre de una metodología analítica dado que revisten distintos enfoques dentro de la determinación de la incertidumbre.
- El conocimiento de la incertidumbre representa una herramienta útil para permitir que un resultado sea interpretado con relación a sus límites como para identificar aquellas etapas del proceso analítico que tienen una mayor variabilidad durante su ejecución.
- La concentración de PCP extraíble encontrada en la muestra de aserrín del aserradero La Araucana es de $0,138 \text{ mgL}^{-1}$, valor menor que la concentración permisible estipulado en el DS 148, por lo que el aserrín no es un residuo peligroso.
- El método de cuantificación en GC/MS y la técnica de extracción en fase sólida optimizados demostraron un nivel satisfactorio ya que se pudo detectar y cuantificar PCP en el extracto para una muestra real.

VI. REFERENCIAS.

- Arana M, 2000. Mutual Chilena de seguridad. Ficha de sustancias toxicas. Pentaclorofenol, Pentaclorofenato sódico. pp 1-4.
- Albert. L, 1997. Introducción a la toxicología ambiental. Capitulo 20. pp 333-358. Metepec ECO/OPS/OMS. Ciudad de México.
- ARGONAUT, 1997. International Sorbent Technology. Dr Weber Consulting Kft. SPE modes of Operation. pp 1-2.Hungria.
- Brown. A.W, 1978. Ecology of pesticides. pp 525.Wiley-Interscience, New York.
- Butler G.L, 1977. Algae and Pesticides. Rev. 66: 15-16.
- Butler K.M & Frank. R, 1991. Pentachlorophenol residues in porcine tissues following preslaughter exposure to treated wood shaving. pp 448-450. Journal of Food Protection.
- Castillo.I & Bárcenas.C, 1998. Maderas y bosques. Rev. 5: 21-37.
- CENMA, 2011. Centro nacional del medio ambiente. Instructivo interno de Laboratorio de Química Ambiental. Lavado de Material y Muestreadores. pp 9-10.Santiago. Chile.

- CENMA, 2009. Centro Nacional del medio Ambiente. Procedimiento interno de Laboratorio de Química Ambiental. Validación de Métodos Analíticos. Santiago. Chile
- Commonwealth Australia, 1999. Environmental and Safety Services for Environment, Department of the Environment and Heritage. Incineration and Dioxins Review of Formation Processes.
- CONAMA, 2000. Comisión Nacional del Medio ambiente. Guía para el control y prevención de la contaminación industrial. Rubro Aserraderos y procesos de Madera Chile. pp 5-8.
- Davies.R & Dobbs.A.J, 1984. The prediction of bioaccumulation in fish. Rev.18:1253-1262.
- EMOL, 2007. El mercurio Online, Boletín Economía y Negocios: <http://www.economiaynegocios.cl/noticias/noticias.asp?id=36013>
- EURACHEM/CITAC Guía n°4, 2000. Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement, 2ed. Elison.S, Roselin.M, Williams.A.(eds) pp 21-66.
- FAO, 1996. Documentos de Orientación para la toma de decisiones Pentaclorofenol. Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente.
- Fowlis.I, 1995. Gas Chromatography, Analytical Chemistry by open Learning 2ed.pp 45-84.

- González.J.L, 1999. Dioxinas, Furanos y PCB's. Boletín electrónico Plataforma virtual del Centro Técnico Nacional de Conservación de Productos de la Pesca. España.
http://www.anfaco.es/webs/webAnfaco/portales/cecopesca/docs_interes/files/documento_104.pdf
- Grob.R & Barry.E. 2004. Modern practice of gas chromatography 4ed.pp 45-67.
- Hattermer-Frey H. & Travis.C, 1989. Pentachlorophenol: environmental partitioning and human exposure. *Environmental Contamination. Toxicol. Rev.*18: 482-489.
- JCGM, 2008. Comité unido para guías en metrología. Evaluación en la medición de los datos. GUM. Guía para la expresión de la incertidumbre en la medición. pp 34-89.
- JCGM, 2008. Comité unido para guías en metrología. Vocabulario Internacional de Metrología.VIM. Conceptos básicos, generales y términos asociados. pp 21-68
- Jones.R.D, 1986. Adsorption study of pentachlorophenol in persons working with wood preservatives. *Toxicol. Rev.*5:189-194.
- Kauppinen.T. & Lindroos.L, 1985. Chlorophenol exposure in sawmills. *Am.Ind.Hyg.Assn.J. Rev.*46:1-34-38.
- Kitson. F y col, 1996. *Gas Chromatography and Mass Spectrometry. A practical guide.* Ed. Academic Press.

- León. M, 2011. Evaluación de la peligrosidad de pilas en lixiviados. Seminario de Título para optar al Título de Químico Ambiental, Santiago, Universidad de Chile, Facultad de Ciencias. Departamento de Química Ambiental. pp 67-74
- Maroto. A, y col, 2002. Estrategias para el cálculo de la Incertidumbre Técnicas de Laboratorio pp.270.
- McNair. H & Miller J, 1998. Basic Gas Chromatography. Techniques in analytical Chemistry. John Wiley and sons Inc, 29- 52. pp 101- 123
- Niimi.A.J & Cho.C.Y, 1983. Laboratory and field analysis of pentachlorophenol (PCP) accumulation by salmonids Water. Rev. 17:1791-1795.
- NCAMP, 1996. National Coalition against the Misuse of Pesticides. Chemicals at a Glance.penta.A Report About their Toxic Trail and Safer Alternative.
- OMS. Organización Mundial de la Salud, 1995. Centro Panamericano de Ecología humana y salud. Programa de salud ambiental. Pentaclorofenol Guía para la salud y la seguridad.
- Rappe.C, 1996. Sources and environmental concentrations of dioxins and related compounds Pure & Appl. Chem. Rev. 68:178-179.
- Seidler.J y col, 1986. Persistence of pentachlorophenol in a wastewater estuarine aquaculture system.Bull. Enviro.Contam.Toxicol. Rev. 36: 101-108.

- Shegunova.P y col, 2008. Estimation of measurement uncertainty in organic analysis: two practical approaches. pp 2-17.
- Schmid W. & Lazos R, 2004. CENAM. Centro Nacional de Metrología. Guía para estimar la incertidumbre de la medición. México. pp 4-16
- Skoog, D.A. y col, 1993. Principios de Análisis Instrumental. Madrid.McGraw-Hill pp 80-494.
- SUPELCO, Sigma-Aldrich Co, 1998. Guide to solid Phase Extraction. Bulletin 910.
- Trujillo.S & Arias.R, 2002. CENAM. Centro Nacional de Metrología. Incertidumbre en la Calibración de un Matraz volumétrico. México pp 3-21.
- Tupperainen, K. y col, 1998,Chemosphere. Rev.36:1493.
- UNILABS Enviromental, 2001. Characterization and Estimation of Dioxin and Furan Emissions from Waste Incineration Facilities. Environment Australia.
- USEPA, 1988. Environmental Protection Agency. Health Advisory Office. Pentachlorophenol.Environ. Contam. Toxicol. Rev.104: 183-194.
- USEPA, 1990. Environmental Protection Agency. Identification and listing of Hazardous waste. Wood Preserving. Federal Register 55. 50450- 50490.
- Weinberg.J, 2009. Guía para las ONG sobre los Contaminantes Orgánicos Persistentes, Marco para las medidas de protección de la salud humana y el medio ambiente de los Contaminantes Orgánicos Persistentes (COP).

- Williams.P.L, 1982. Pentachlorophenol, an assessment of the occupational hazard. *Am. Ind. Hyg. Assn. Rev.* 43:799-810.
- Wolfgang S & Lazos R, 2004. Guía para estimar la incertidumbre de la medición. CENAM. Centro Nacional de Metrología. México. pp 4-27.
- Zelles.L y col, 1985. Side effects of some pesticides on non-target soil microorganisms. *Environmental Sci.Health. Rev.* 20:457-488.

ANEXOS.

ANEXO A

Incertidumbre asociada a material volumétrico.

Para determinar la incertidumbre asociada a un matraz volumétrico, se masan 10 veces los matraces sin agua, y luego se aforan para luego volver a masarlos. Obtenidos los datos, se realiza la sustracción de ambos valores para determinar la masa de agua con que el analista aforó el matraz volumétrico y se calcula el promedio.(Tablas 31 y 32).

Obtenidos los promedios, se procede con la determinación de la incertidumbre estándar (Tabla 33), valor que dependerá del tipo de distribución como de la incertidumbre original, la cual varía dependiendo del tipo de fuente.

Luego, se combinan para obtener la incertidumbre combinada y multiplicándolo con el coeficiente de sensibilidad se obtiene la contribución de la fuente.

La determinación de la incertidumbre aportada por la densidad del aire (Tabla 34) , se consideran la temperatura, la humedad y la presión del aire al realizar las mediciones volumétricas, además de tomar la constante de gases ideales (R) y un ajuste de la Ecuación de la densidad. Los cálculos llevados a cabo son los mismos presentados en la Tabla 33.

En la Tabla 35 se presentan los valores de la incertidumbre aportada por la densidad del agua, cuya magnitud de entrada corresponde a la temperatura del agua. Además están presentes la incertidumbre aportada por la densidad de masas de calibración usada en cada medición y el coeficiente de expansión cúbica que posee el vidrio, propiedad que depende de la temperatura.

Finalmente en la Tabla 36 queda expresada la incertidumbre expandida del matraz de aforo de 10 mL, valor obtenido por la raíz cuadrada de la sumatoria contribución de cada fuente elevada al cuadrado ($u_i(y))^2$

La explicación antes mencionada aplica tanto para determinar la incertidumbre del matraz de 5 mL (Tablas 37 al 42) y de la microjeringa de 500 μ L. (Tablas 43 al 48)

Tabla 31: Observación N°1 de masa de agua medidas en una matraz de aforo de 10 mL.

Instrumento : Matraz 10 mL Incertidumbre (K=2): 0,0001 N° Balanza: AB204 CENMA: 1881-1	T° Amb. Inicial (°C)		21	T° Amb. Final (°C)		23
	T° Agua Inicial (°C)		21,3	T° Agua Final (°C)		23
	% Humedad Inicial		39	% Humedad Final		38
	Presión (hPa) inicial		938000	Presión (Pa) Final		939000
	N°	Masa Matraz s/a (Kg)	Masa Matraz c/a (Kg)	Masa Agua (kg)	Masa de calibración 1x10 ⁻³ Kg	Masa de calibración 2x10 ⁻³ Kg
	1	0,0092877	0,0192097	0,009922	0,0100001	0,0200003
	2	0,0092102	0,0191283	0,0099181	0,0100003	0,0200005
	3	0,0095541	0,0194688	0,0099147	0,0100002	0,0200004
	4	0,0096043	0,0194925	0,0098882	0,0100001	0,0200005
	5	0,0096712	0,0195557	0,0098845	0,0100002	0,0200004
	6	0,0092757	0,019193	0,0099173	0,0100001	0,0200005
	7	0,0092249	0,0191878	0,0099629	0,0100002	0,0200004
	8	0,0098985	0,0198245	0,009926	0,0100001	0,0200004
	9	0,0093985	0,0193253	0,0099268	0,0100002	0,0200003
10	0,0096334	0,0195572	0,0099238	0,0100002	0,0200004	
Promedio		9,48 · 10⁻³	1,92 · 10⁻²	9,92 · 10⁻³	0,0100	0,0200

Tabla 32: Observación N°2 de masa de agua medidas en una matraz de aforo de 10 mL

Instrumento : Matraz 10 mL Incertidumbre (K=2) : 0,0001 Balanza: AB204 N°CENMA: 1881-1	T° Amb. Inicial (°C)		21	T° Amb. Final (°C)		22
	T° Agua Inicial (°C)		21	T° Agua Final (°C)		22
	% Humedad Inicial		33	% Humedad Final		33
	Presión (hPa) inicial		935000	Presión (Pa) Final		935000
	N°	Masa Matraz s/a (Kg)	Masa Matraz c/a (Kg)	Masa Agua (kg)	Masa de Calibración $1 \cdot 10^{-3}$ Kg	Masa de Calibración $2 \cdot 10^{-3}$ Kg
	1	0,0092099	0,0191721	0,0099622	0,0100003	0,0200005
	2	0,0096711	0,0195634	0,0098923	0,0100002	0,0200004
	3	0,0092185	0,0192006	0,0099821	0,0100002	0,0200004
	4	0,0092735	0,0192041	0,0099306	0,0100002	0,0200004
	5	0,0098916	0,0198491	0,0099575	0,0100004	0,0200004
	6	0,0095935	0,0194886	0,0098951	0,0100003	0,0200004
	7	0,0096042	0,019565	0,0099608	0,0100002	0,0200006
	8	0,0095535	0,0194581	0,0099046	0,0100002	0,0200004
	9	0,009398	0,0193108	0,0099128	0,0100002	0,0200004
10	0,009276	0,0192593	0,0099833	0,0100003	0,0200005	
Promedio		$9,47 \cdot 10^{-3}$	$1,94 \cdot 10^{-2}$	$9,94 \cdot 10^{-3}$	0,0100	0,0200

Tabla 33: Presupuesto de Incertidumbre matraz 10 mL, Masa del agua (recipiente lleno y vacío).

Fuente	Valor Xi	Fuente de Información	Incertidumbre Original	Tipo de Distribución	Incertidumbre Estándar	Incertidumbre combinada	Coefficiente de Sensibilidad	Contribución (ui(y))	(ui(y))^2
Masa de Agua (g)	$9,93 \cdot 10^{-3}$								
Lectura recipiente lleno	$1,94 \cdot 10^{-2}$								
Repetibilidad		mediciones	$9,57 \cdot 10^{-6}$ Kg	A, normal K=1	$9,57 \cdot 10^{-6}$ Kg	$1,08 \cdot 10^{-5}$ Kg	$-1,01 \cdot 10^{-3}$ m^3/Kg	$-1,09 \cdot 10^{-8}$	$1,19 \cdot 10^{-16}$
Resolución		escala	$1,00 \cdot 10^{-7}$ Kg	B, rect.	$3,16 \cdot 10^{-8}$ Kg				
Calibración		Certificado	$1,00 \cdot 10^{-5}$ Kg	B, normal. K=2	$5,00 \cdot 10^{-6}$ Kg				
Lectura recipiente vacío	$9,47 \cdot 10^{-3}$								
Repetibilidad		mediciones	$7,07 \cdot 10^{-5}$ Kg	A, normal K=1	$7,07 \cdot 10^{-5}$ Kg	$7,09 \cdot 10^{-3}$ Kg	$1,01 \cdot 10^{-3}$ m^3/Kg	$7,17 \cdot 10^{-8}$	$5,15 \cdot 10^{-15}$
Resolución		escala	$1,00 \cdot 10^{-7}$ Kg	B, rect.	$3,16 \cdot 10^{-8}$ Kg				
Calibración		Certificado	$1,00 \cdot 10^{-5}$ Kg	B, normal. K=2	$5,00 \cdot 10^{-6}$ Kg				

Tabla 34: Presupuesto de Incertidumbre matraz de 10 mL, Densidad del aire.

Fuente	Valor Xi	Fuente de Información	Incertidumbre Original	Tipo de Distribución	Incertidumbre estándar	Incertidumbre Combinada	Coefficiente de Sensibilidad	Contribución (ui(y))	(ui(y))^2
Densidad del Aire (m ³ /Kg)	11,1								
Temperatura del Aire (°C)	21								
Resolución		Instrumento	1,00 °C	B, rect. K=2	0,29 °C	0,926	-3,54 · 10 ⁻³	-3,28 · 10 ⁻³	1,07 · 10 ⁻⁵
Calibración		Certificado	1,56 °C	B, normal K=2	0,78 °C				
Estabilidad		Mediciones	2,00 °C	B, triangular K=1	0,41 °C				
Humedad (%)	39,0								
Resolución		Instrumento	1,00 %	B, rect. K=1	0,29 %	0,86	-1,15 · 10 ⁻²	-9,82 · 10 ⁻³	9,63 · 10 ⁻⁵
Calibración		Certificado	1,56 %	B, normal k=2	0,78 %				
Estabilidad		Mediciones	1,00 %	B, triangular K=1	0,20 %				
Presión (Pa)	9,38 · 10 ⁻⁵								
Resolución		Instrumento	100,00 Pa	B, rect. K=2	28,87 Pa	216,16	1,19 · 10 ⁻⁵	2,58 · 10 ⁻³	6,65 · 10 ⁻⁶
Calibración		Certificado	130,00 Pa	B, normal k=2	65,00 Pa				
Estabilidad		Mediciones	1000,00 Pa	B, triangular K=1	204,12 Pa				
Constante R	8,31	Tablas	8,40 · 10 ⁻⁶ J/mol K°	B, normal K=1	8,40 · 10 ⁻⁶ J/mol K°	-0,115	-1,15 · 10 ⁻¹	-9,67 · 10 ⁻⁷	9,36 · 10 ¹³
Ajuste de Ecuación		Tablas	1,00 · 10 ⁻⁴ Kg/m ³	B, normal k=1	9,5 · 10 ⁻³ Kg/m ³	1	1,00	9,50 · 10 ⁻⁵	9,03 · 10 ⁻⁹
						1,07 · 10 ⁻⁴	8,90 · 10 ⁻⁹	9,49 · 10 ⁻¹¹	9,01 · 10 ⁻²¹

Tabla 35: Presupuesto de incertidumbre matraz de 10 mL, Densidad y Temperatura del agua, Densidad de masa de calibración y coeficiente de expansión cúbica.

Fuente	Valor Xi	Fuente de Información	Incertidumbre Original	Tipo de Distribución	Incertidumbre estándar	Incertidumbre combinada	Coefficiente de Sensibilidad	Contribución (ui(y))	(ui(y)^2)
Densidad del agua (m/Kg)	997,93								
Temperatura del agua (°C)	21,30								
Resolución		Instrumento	0,10	B, rect.	0,03	0,49	-0,22		
Calibración		Certificado	0,10	B, normal	0,05				
Estabilidad		Mediciones	1,70	B, rect.	0,49				
						-0,11	-1,00·10 ⁻¹⁰	1,09·10 ⁻¹¹	1,19·10 ⁻²²
Densidad de Masas	7,85·10 ³				0		1,01·10 ⁻⁵	0,00	0,00
Coef. Expansión cubica (1/°C)	1,00·10 ⁻⁵				2,90·10 ⁻⁶		-1,03·10 ⁻⁷	-2,97·10 ⁻¹³	8,84·10 ⁻²⁶

Tabla 36: Incertidumbre Expandida matraz de aforo 10 mL.

Incertidumbre Estándar Combinada	7,26·10 ⁻⁸ m ³
Grados de Libertad	2,00
Incertidumbre Expandida	1,45·10 ⁻⁷ m ³

Tabla 37: Observación N° 1 de masas de agua, medidas en un matraz de aforo de 5 mL.

Instrumento: matraz 5 mL Incertidumbre (k02) : 0,0001 Balanza: AB204 N°CENMA: 1881-1	T° AMB. Inicial (°C)	19	T° AMB. Inicial (°C)	20		
	T° AMB. Inicial (°C)	19,5	T° AMB. Inicial (°C)	20		
	% Humedad Inicial	35	% Humedad Inicial	36		
	Presión (hPa) Inicial	93600	Presión (hPa) Inicial	93600		
	N°	Masa Matraz sin agua (kg)	Masa Matraz con agua (kg)	Masa Agua (kg)	Masa de calibración $1 \cdot 10^{-3}$ Kg	Masa de Calibración $2 \cdot 10^{-3}$ Kg
	1	0,0118058	0,0167118	0,004906	0,0200002	0,0200002
	2	0,009366	0,0142402	0,0048742	0,0200003	0,0200003
	3	0,0092933	0,0141247	0,0048314	0,0200003	0,0200001
	4	0,0099505	0,0148588	0,0049083	0,0200002	0,0200002
	5	0,0094277	0,014323	0,0048953	0,0200003	0,0200003
	6	0,0112777	0,0162035	0,0049258	0,0200003	0,0200000
	7	0,0098203	0,0146652	0,0048449	0,0200003	0,0200003
	8	0,0113799	0,0162926	0,0049127	0,0200003	0,0200001
	9	0,011878	0,0167636	0,0048856	0,0200003	0,0200003
10	0,011438	0,0163972	0,0049592	0,0200003	0,0200002	
Promedio		$1,06 \cdot 10^{-2}$	$1,55 \cdot 10^{-2}$	$4,89 \cdot 10^{-3}$	0,0200	0,0200

Tabla 38: Observación N° 2 de masas de agua, medidas en un matraz de aforo de 5 mL.

Instrumento: matraz 5 mL Incertidumbre (k=2) : 0,0001 Balanza: AB204 N°CENMA: 1881-1	T° AMB. Inicial (°C)		19	T° AMB. Inicial (°C)		20
	T° AMB. Inicial (°C)		19,5	T° AMB. Inicial (°C)		20
	% Humedad Inicial		35	% Humedad Inicial		36
	Presión (hPa) Inicial		93600	Presión (hPa) Inicial		93600
	N°	Masa Matraz sin agua (kg)	Masa Matraz con agua (kg)	Masa Agua (kg)	Masa de calibración $1 \cdot 10^{-3}$ Kg	Masa de Calibración $2 \cdot 10^{-3}$ Kg
	1	0,0118239	0,0166889	0,004865	0,0200003	0,0200001
	2	0,0113509	0,0162821	0,0049312	0,0200003	0,0200002
	3	0,0092779	0,0142118	0,0049339	0,0200002	0,0200000
	4	0,0099292	0,0148506	0,0049214	0,0200003	0,0200001
	5	0,0097977	0,0147258	0,0049281	0,0200003	0,0200002
	6	0,0094063	0,0143038	0,0048975	0,0200003	0,0200002
	7	0,0093508	0,0142117	0,0048609	0,0200002	0,0200002
	8	0,0099979	0,0149608	0,0049629	0,0200003	0,0200003
	9	0,0112394	0,0162998	0,0050604	0,0200003	0,0200003
10	0,0118583	0,0168981	0,0050398	0,0200004	0,0200001	
Promedio		$1,04 \cdot 10^{-2}$	$1,53 \cdot 10^{-2}$	$4,94 \cdot 10^{-3}$	0,0200	0,0200

Tabla 39: Presupuesto de Incertidumbre matraz 5 mL, Masa de agua (recipiente vacío y lleno).

Fuente	Valor Xi	Fuente de Información	Incertidumbre Original	Tipo de Distribución	Incertidumbre Estándar	Incertidumbre combinada	Coefficiente de Sensibilidad	Contribución (ui(y))	(ui(y))^2
Masa de Agua (g)	$4,92 \cdot 10^{-3}$								
Lectura recipiente lleno	$1,54 \cdot 10^{-2}$								
Repetibilidad		mediciones	$1,81 \cdot 10^{-5}$ Kg	A, normal K=1	$1,81 \cdot 10^{-5}$ Kg	$1,08 \cdot 10^{-5}$ Kg	$-1,01 \cdot 10^{-3}$ m^3/Kg	$-1,89 \cdot 10^{-8}$	$3,56 \cdot 10^{-16}$
Resolución		escala	$1,00 \cdot 10^{-7}$ Kg	B, rect.	$3,16 \cdot 10^{-7}$ Kg				
Calibración		Certificado	$1,00 \cdot 10^{-5}$ Kg	B, normal. K=2	$5,00 \cdot 10^{-6}$ Kg				
Lectura recipiente vacío	$1,05 \cdot 10^{-2}$								
Repetibilidad		mediciones	$3,28 \cdot 10^{-4}$	A, normal K=1	$3,28 \cdot 10^{-4}$ Kg	$3,28 \cdot 10^{-4}$ Kg	$1,01 \cdot 10^{-3}$ m^3/Kg	$3,29 \cdot 10^{-7}$	$1,08 \cdot 10^{-13}$
Resolución		escala	$1,00 \cdot 10^{-7}$	B, rect.	$3,16 \cdot 10^{-8}$ Kg				
Calibración		Certificado	$1,00 \cdot 10^{-5}$	B, normal. K=2	$5,00 \cdot 10^{-6}$ Kg				

Tabla 40: Presupuesto de Incertidumbre Matraz de 5 mL, Densidad del aire.

Fuente	Valor Xi	Fuente de Información	Incertidumbre Original	Tipo de Distribución	Incertidumbre estándar	Incertidumbre Combinada	Coefficiente de Sensibilidad	Contribución (ui(y))	(ui(y))^2
Densidad del Aire (m ³ /Kg)	11,1								
Temperatura del Aire (°C)	21								
Resolución		Instrumento	1,00 °C	B, rect. K=2	0,29 °C	8,56	-3,51·10 ⁻³	-3,00·10 ⁻³	9,01·10 ⁻⁵
Calibración		Certificado	1,56 °C	B, normal K=2	0,78 °C				
Estabilidad		Mediciones	1,00 °C	B, triangular K=1	0,20 °C				
Humedad (%)	35								
Resolución		Instrumento	1,00 %	B, rect. K=1	0,29 %	0,86	-1,15·10 ⁻²	-8,47·10 ⁻³	7,10·10 ⁻⁵
Calibración		Certificado	1,56 %	B, normal k=2	0,78 %				
Estabilidad		Mediciones	1,00 %	B, triangular K=1	0,20 %				
Presión (Pa)	9,36·10 ⁴								
Resolución		Instrumento	100,00 Pa	B, rect. K=2	28,87 Pa	216,16	1,19·10 ⁻⁵	8,49·10 ⁻³	7,21·10 ⁻⁶
Calibración		Certificado	130,00 Pa	B, normal k=2	65,00 Pa				
Estabilidad		Mediciones	0,00 Pa	B, triangular K=1	0,00 Pa				
Constante R	8,31	Tablas	8,40·10 ⁻⁶ J/mol K°	B, normal K=1	0 J/mol K°	8,4·10 ⁻⁶	-1,15·10 ⁻¹	-9,69·10 ⁻⁷	9,38·10 ⁻¹³
Ajuste de Ecuación		Tablas	1,00·10 ⁻⁴ Kg/m ³	B, normal k=1	0 Kg/m ³	9,5·10 ⁻⁵	1,00	9,50·10 ⁻⁵	9,03·10 ⁻⁹
						9,03·10 ⁻⁷	4,32·10 ⁻⁹	3,90·10 ⁻¹¹	1,52·10 ⁻²¹

Tabla 41: Presupuesto de Incertidumbre matraz de 5mL, Densidad y temperatura del agua, Densidad de masa de calibración y coeficiente de expansión cúbica.

Fuente	Valor Xi	Fuente de Información	Incertidumbre Original	Tipo de Distribución	Incertidumbre estándar	Incertidumbre combinada	Coefficiente de Sensibilidad	Contribución (u _i (y))	(u _i (y)) ²
Densidad del agua (m ³ /kg)	998,31								
Temperatura del agua (°C)	19,50								
Resolución		Instrumento	0,10	B, rect.	0,03	0,16	-0,20		
Calibración		Certificado	0,10	B, normal	0,05				
Estabilidad		Mediciones	0,50	B, rect.	0,14				
						-0,03	-4,93·10 ⁻¹¹	1,54·10 ⁻²²	2,38·10 ⁻²⁴
Densidad de Masas	7,85·10 ³				1,22·10 ⁻⁸		4,93·10 ⁻⁶	6,00·10 ⁻¹⁴	3,60·10 ⁻²⁷
Coef. Expansión cubica (1/°C)	1,00·10 ⁻⁵				2,90·10 ⁻⁶		1,94·10 ⁻⁸	5,61·10 ⁻¹⁴	3,15·10 ⁻²⁷

Tabla 42: Incertidumbre Expandida matraz de aforo 5 mL.

Incertidumbre Estándar Combinada	3,30·10 ⁻⁷ m ³
Grados de Libertad	2,00
Incertidumbre Expandida	6,59·10 ⁻⁷ m ³

Tabla 43: Observación N° 1 de masas de agua, medidas en un matraz de microjeringa 500 µL.

Instrumento : Matraz 10 mL Incertidumbre (K=2) : 0,0001 Balanza: AB204 N°CENMA: 1881-1	T° Amb. Inicial (°C)		24	T°Amb. Final (°C)		24
	T° Agua Inicial (°C)		23,4	T°Agua Final (°C)		24
	% Humedad Inicial		37	% Humedad Final		36
	Presión (hPa) inicial		93700	Presión (Pa) Final		93700
	N°	Masa Matraz s/a (Kg)	Masa Matraz c/a (Kg)	Masa Agua (kg)	Masa $1 \cdot 10^{-3}$ Kg	Masa $2 \cdot 10^{-3}$ Kg
	1	0,0020403	0,0025001	0,0004598	0,001	0,002001
	2	0,002088	0,002543	0,000455	0,0010001	0,002001
	3	0,0020599	0,0025255	0,0004656	0,001	0,002001
	4	0,0020851	0,0025476	0,0004625	0,001	0,002001
	5	0,0020517	0,0025153	0,0004636	0,001	0,002001
	6	0,0020879	0,002549	0,0004611	0,001	0,002001
7	0,0020358	0,0024945	0,0004587	0,0010001	0,002001	
8	0,002067	0,0025295	0,0004625	0,001	0,002001	
9	0,0020854	0,0025495	0,0004641	0,0010001	0,002001	
10	0,0020479	0,0025136	0,0004657	0,001	0,002001	
Promedio		$2,07 \cdot 10^{-3}$	$2,53 \cdot 10^{-3}$	$4,62 \cdot 10^{-4}$	0,0010	0,0020

Tabla 44: Observación N° 2 de masas de agua, medidas en una microjeringa de 500 µL.

Instrumento : Matraz 10 mL Incertidumbre (K=2) : 0,0001 Balanza: AB204 N°CENMA: 1881-1	T° Amb. Inicial (°C)	24	T° Amb. Final (°C)	24		
	T° Agua Inicial (°C)	24	T° Agua Final (°C)	24		
	% Humedad Inicial	25	% Humedad Final	26		
	Presión (hPa) inicial	93600	Presión (Pa) Final	93600		
	N°	Masa Matraz s/a (Kg)	Masa Matraz c/a (Kg)	Masa Agua (kg)	Masa $1 \cdot 10^{-3}$ Kg	Masa $2 \cdot 10^{-3}$ Kg
	1	0,002024	0,0025156	0,0004916	0,001	0,0020001
	2	0,0020295	0,002519	0,0004895	0,001	0,0020002
	3	0,0020183	0,0025059	0,0004876	0,0010001	0,0020001
	4	0,0019993	0,0024883	0,000489	0,0010001	0,0020002
	5	0,0020116	0,0024987	0,0004871	0,0010001	0,0020001
	6	0,0020003	0,0024938	0,0004935	0,001	0,0020002
	7	0,0020075	0,0025009	0,0004934	0,001	0,0020002
	8	0,002	0,0024939	0,0004939	0,001	0,0020001
9	0,0020129	0,0025068	0,0004939	0,001	0,0020002	
10	0,001983	0,0024763	0,0004933	0,001	0,0020002	
Promedio		$2,05 \cdot 10^{-3}$	$2,01 \cdot 10^{-3}$	$2,49 \cdot 10^{-3}$	$4,91 \cdot 10^{-4}$	0,002

Tabla 45: Presupuesto de Incertidumbre microjeringa de 500 μ L, Masa del agua (recipiente lleno y vacío).

Fuente	Valor Xi	Fuente de Información	Incertidumbre Original	Tipo de Distribución	Incertidumbre Estándar	Incertidumbre Combinada	Coefficiente de Sensibilidad	Contribución (ui(y))	(ui(y))^2
Masa de Agua (g)	$4,77 \cdot 10^{-4}$								
Lectura recipiente lleno	$2,51 \cdot 10^{-3}$								
Repetibilidad		mediciones	$4,86 \cdot 10^{-7}$ Kg	A, normal K=1	$4,86 \cdot 10^{-6}$ Kg	$6,98 \cdot 10^{-6}$ Kg	$-1,01 \cdot 10^{-3}$ m^3/Kg	$-7,00 \cdot 10^{-9}$	$4,90 \cdot 10^{-17}$
Resolución		escala	$1,00 \cdot 10^{-7}$ Kg	B, rect.	$3,16 \cdot 10^{-8}$ Kg				
Calibración		Certificado	$1,00 \cdot 10^{-5}$ Kg	B, normal. K=2	$5,00 \cdot 10^{-6}$ Kg				
Lectura recipiente vacío	$2,04 \cdot 10^{-3}$								
Repetibilidad		mediciones	$1,06 \cdot 10^{-5}$ Kg	A, normal K=1	$1,06 \cdot 10^{-5}$ Kg	$1,07 \cdot 10^{-2}$ Kg	$1,01 \cdot 10^{-3}$ m^3/Kg	$1,18 \cdot 10^{-8}$	$1,38 \cdot 10^{-16}$
Resolución		escala	$1,00 \cdot 10^{-7}$ Kg	B, rect.	$3,16 \cdot 10^{-8}$ Kg				
Calibración		Certificado	$1,00 \cdot 10^{-5}$ Kg	B, normal. K=2	$5,00 \cdot 10^{-6}$ Kg				

Tabla 46: Presupuesto de Incertidumbre microjeringa de 500 μ L, Densidad del aire.

Fuente	Valor Xi	Fuente de Información	Incertidumbre Original	Tipo de Distribución	Incertidumbre estándar	Incertidumbre Combinada	Coefficiente de Sensibilidad	Contribución (ui(y))	(ui(y))^2
Densidad del Aire (m ³ /Kg)	1,09								
Temperatura del Aire	24,00								
Resolución		Instrumento	1,00	B, rect. K=2	0,29	4,09 · 10 ⁻¹	-3,47 · 10 ⁻³	-1,42 · 10 ⁻³	2,01 · 10 ⁻⁶
Calibración		Certificado	0,58	B, normal K=2	0,29				
Estabilidad		Mediciones	0,00	B, triangular k=1	0,00				
Humedad (%)	37,00								
Resolución		Instrumento	1,00	B, rect, K=1	0,29	0,86	-1,32 · 10 ⁻²	-1,13 · 10 ⁻²	1,28 · 10 ⁻⁴
Calibración		Certificado	1,56	B, normal k=2	0,78				
Estabilidad		Mediciones	1,00	B, triangular K=1	0,20				
Presión (Pa)	9,37 · 10 ⁴								
Resolución		Instrumento	100,00	B, ret. K=2	28,87	71,12	1,17 · 10 ⁻⁵	8,35 · 10 ⁻⁴	6,97 · 10 ⁻⁷
Calibración		Certificado	130,00	B, normal k=2	65,00				
Estabilidad		Mediciones	0,00	B, triangular K=1	0,00				
Constante R	8,315	Tablas	8,40 · 10 ⁻⁶	B, normal K=1	0,00		-1,13 · 10 ⁻¹	-9,51 · 10 ⁻⁷	9,04 · 10 ⁻¹³
Ajuste de Ecuación		Tablas	1,00 · 10 ⁻⁴	B, normal k=1	0,00		1,00	9,50 · 10 ⁻⁵	9,03 · 10 ⁻⁹
						1,14 · 10 ⁻²	4,19 · 10 ⁻¹⁰	4,79 · 10 ⁻¹²	2,29 · 10 ⁻²³

Tabla 47: Presupuesto de incertidumbre microjeringa de 500 μ L, Densidad y Temperatura del agua, Densidad de masa de calibración y coeficiente de expansión cúbica.

Fuente	Valor Xi	Fuente de Información	Incertidumbre Original	Tipo de Distribución	Incertidumbre estándar	Incertidumbre combinada	Coefficiente de Sensibilidad	Contribución (u(y))	(u(y))^2
Densidad del Agua (m^3/Kg)	997,44								
Temperatura del Agua ($^{\circ}C$)	23,40								
Resolución		Instrumento	0,10	B,rect.	0,03	0,18	-0,24		
Calibración		Certificado	0,10	B, normal	0,05				
Estabilidad		Mediciones	0,60	B, rect.	0,17				
						-0,04	$-4,78 \cdot 10^{-12}$	$2,11 \cdot 10^{-13}$	$4,43 \cdot 10^{-26}$
Densidad de Masas	$7,85 \cdot 10^3$				$1,39 \cdot 10^{-8}$		$4,78 \cdot 10^{-7}$	$6,67 \cdot 10^{-15}$	$4,45 \cdot 10^{-29}$
Coef. Expansión cubica ($1/^{\circ}C$)	$1,00 \cdot 10^{-5}$				$2,90 \cdot 10^{-6}$		$-1,28 \cdot 10^{-8}$	$-3,70 \cdot 10^{-14}$	$1,37 \cdot 10^{-27}$

Tabla 48: Incertidumbre Expandida microjeringa de 500 μ L.

Incertidumbre Estándar Combinada	$1,37 \cdot 10^{-8} m^3$
Grados de Libertad	2,00
Incertidumbre Expandida	$2,74 \cdot 10^{-8} m^3$

Tabla 49: Distribución de t de Student.

Grados de Libertad	T de Student
1	12,69
2	4,303
3	3,182
4	2,776
5	2,571
6	2,447
7	2,365
8	2,306
9	2,262
10	2,228
20	2.086
50	2.009
100	1.984

ANEXO B.

Cálculos.

1. Mediciones Individuales

1.1. Incertidumbre en el estándar de la curva calibración.

Tomando en consideración que la curva de calibración promedio es de $y = 2,283 \cdot 10^5 x + 0$ la concentración promedio del punto control es de $11,46 \text{ mgL}^{-1}$, con una desviación estándar de $0,531$, por lo que la incertidumbre estándar del punto se expresa:

$$u(x_i) = s(\bar{q}) = \frac{s(q)}{\sqrt{n}} = \frac{0,531}{\sqrt{2}} = 0,375 \text{ mgL}^{-1}$$

1.2. Incertidumbre combinada del estándar de calibración.

La determinación de la incertidumbre combinada se realiza según lo mostrado en la ecuación 7.

$$\begin{aligned} u_c^2(STD \text{ calibracion}) &= \sum_{i=1}^N u_i^2(y) = \sqrt{(0,375 \text{ mgL}^{-1})^2 + (0,365 \text{ mgL}^{-1})^2} \\ &= 0,071 \text{ mgL}^{-1} \end{aligned}$$

Donde $0,365 \text{ mgL}^{-1}$ es la incertidumbre estándar del estándar hecho por las diluciones desde una concentración de 2000 mgL^{-1} . (ver siguiente punto).

1.2.1. Incertidumbre en las diluciones.

Tomando en consideración las distintas fuentes de entradas (Concentración del estándar puro, volumen de la microjeringa y volumen del matraz de aforo) para el cálculo de la incertidumbre de las diluciones, las incertidumbre relativas de cada una de las fuentes son elevadas al cuadrado, utilizando la ecuación 7, se obtiene la incertidumbre expandida (considerando el factor de cobertura de 2 para un intervalo de confianza de un 95 %).

Para el caso de la incertidumbre en la dilución de 100 mgL^{-1} , los cálculos involucrados son:

$$\begin{aligned}u_c^2(\text{Diluciones}) &= \sum_{i=1}^N u_i^2(y) \\ &= \sqrt{6,25 \cdot 10^{-10} + 2,99 \cdot 10^{-3} + 2,11 \cdot 10^{-4}} \\ &= 5,66 \text{ mgL}^{-1} \times 2 = 11,3 \text{ mgL}^{-1}\end{aligned}$$

Para el caso de la incertidumbre en la dilución de 10 mgL^{-1} , los cálculos involucrados son:

$$\begin{aligned}u_c^2(\text{Diluciones}) &= \sum_{i=1}^N u_i^2(y) \\ &= \sqrt{1,3 \cdot 10^{-2} + 3,00 \cdot 10^{-3} + 1,7 \cdot 10^{-4}} \\ &= 0,182 \text{ mgL}^{-1} \times 2 = 0,3645 \text{ mgL}^{-1}\end{aligned}$$

Donde $1,3 \cdot 10^{-2}$ corresponde a la contribución de la concentración del estándar de 100 mgL^{-1} ($11,3 \text{ mgL}^{-1}$ de incertidumbre).

1.3. Incertidumbre Respuesta Instrumental.

Para determinar la incertidumbre de la respuesta instrumental, se analizan 10 muestras, obteniendo 10 resultados, de los cuales se calcula el promedio y su desviación estándar, además utilizando la Fórmula 20

$$u_c(Resp Inst) = \frac{s}{m} \cdot \sqrt{\frac{1}{n_{Lect.muestras}} + \frac{1}{n_{Lect.Calib}} + \frac{(Conc.Promedio - \bar{X}_{Curv Calib})^2}{S_{xx}}}$$

$$u_c(Resp Inst) = \frac{5,56 \cdot 10^6}{2,28 \cdot 10^5} \cdot \sqrt{\frac{1}{10} + \frac{1}{18} + \frac{(59,23 \text{ mgL}^{-1} - 27,5 \text{ mgL}^{-1})^2}{24144,49}}$$

$$u_c(Resp Inst) = 9,62 \text{ mgL}^{-1}$$

Donde:

S: desviación estándar de la curva de calibración promedio.

m: pendiente promedio de la curva de calibración.

$n_{Lect\ muestras}$: Número de muestras leídas.

$n_{Lect\ Calib}$: Número total de los puntos de las 3 curvas de calibración.

$Conc_{promedio}$: Concentración promedio de las muestras leídas.

$\bar{X}_{Cuev\ Calib}$: Promedio de las Concentraciones de los puntos usados en la curva de calibración

1.4. Incertidumbre Factor de Corrección.

La incertidumbre aportada por el factor de corrección está asociada al material de referencia utilizado, cuya incertidumbre queda expresado por la Fórmula 3:

$$u(x_i) = s(\bar{q}) = \frac{s(q)}{\sqrt{n}} = \frac{0,120}{\sqrt{2}} = 0,0857 \text{ mgL}^{-1}$$

Tomando en consideración que la incertidumbre Teórica del Material de Referencia utilizado es de $0,01 \text{ mgL}^{-1}$ la incertidumbre del Factor de Corrección se calcula por la Fórmula 7.

$$\begin{aligned} u_c^2(\text{Factor de Correc}) &= \sum_{i=1}^N u_i^2(y) \\ &= \sqrt{(0,01 \text{ mgL}^{-1})^2 + (0,085 \text{ mgL}^{-1})^2} = 5,66 \text{ mgL}^{-1} \times 2 \\ &= 11,3 \text{ mgL}^{-1} \end{aligned}$$

1.5. Incertidumbre Repetibilidad de las muestras.

La incertidumbre asociada a la repetibilidad de la muestra queda expresada por la misma Fórmula 3:

$$u(x_i) = s(\bar{q}) = \frac{s(q)}{\sqrt{n}} = \frac{0,09}{\sqrt{10}} = 0,003 \text{ mgL}^{-1}$$

2. Validación del Método.

2.1. Incertidumbre de la Repetibilidad del Método.

La incertidumbre en la repetibilidad se expresa según la ecuación 10:

$$u_{\text{Repetibilidad}} = \frac{CV (\%)_{\text{Repetibilidad}}}{\sqrt{n}} = \frac{210,9}{\sqrt{10}} = 3,46 \%$$

2.2. Incertidumbre de la Justeza del Método

La incertidumbre en la repetibilidad se expresa según la ecuación 13, la cual reemplazándolas con las ecuaciones 14 y 15 sería:

$$u_{\text{bias}} = \sqrt{\left(\frac{CVR (\%)}{\sqrt{6}}\right)^2 + \left(\frac{RE (\%)}{\sqrt{n}}\right)^2} = \sqrt{\left(\frac{10}{\sqrt{6}}\right)^2 + \left(\frac{-1,9}{\sqrt{4}}\right)^2} = 4,2 \%$$