

1. OBJETIVO

Describir la metodología para la determinación de Bifenilos Policlorados en aguas naturales, residuales y subterráneas por Cromatografía de Gases con detector de captura de electrones, utilizando columnas capilares.

2. ALCANCE DE LA APLICACIÓN

Este protocolo describe de forma general los métodos ASTM D5175, EPA 505, EPA 525.2 y EPA 8082A para la identificación y la determinación de los Arocloros 1221, 1232, 1242, 1248, 1254 y 1260 en aguas naturales, aguas residuales y aguas subterráneas.

3. FUNDAMENTO TEÓRICO

3.1 Características de los analitos

Los PCB son un grupo de 209 compuestos relacionados, conocidos como congéneres, los cuales difieren en el número de átomos de cloro unidos a la molécula del bifenilo.

Los PCB son compuestos no polares, no inflamables e insolubles en agua. La solubilidad en agua decrece cerca de 0.08 mg/L a 6.0 mg/L para congéneres mono y dicloro, y rangos entre 0.007 mg/L 0.175 mg/L para todos los demás.

Son solubles en solventes orgánicos, aceites y grasas. Los PCB son químicamente inertes bajo condiciones ácidas y básicas. Tienen altos puntos de ebullición y baja conductividad eléctrica. La temperatura de ebullición y la presión de vapor varían con el número de cloros y su posición en la estructura del bifenilo.

Los congéneres con uno o cuatro átomos de cloro son líquidos aceitosos y los PCB altamente clorados son grasas y ceras. Son muy resistentes a diversos oxidantes, al oxígeno, metales activos y otros productos químicos.

3.2 Descripción técnica de análisis

La cromatografía de gases es una técnica de separación, en el cual la muestra es separada por una partición diferencial de los analitos entre una fase móvil gaseosa y una fase estacionaria líquida, dependiente de la afinidad química del analito por la fase estacionaria y de la presión de vapor del analito.

Entre de los detectores más utilizados en el análisis de bifenilos policlorados en matrices ambientales se encuentra el de captura de electrones; detector selectivo ya que responde a compuestos capaces de capturar electrones, particularmente compuestos halogenados. Este detector mide la conductividad eléctrica de la corriente de gas afluente resultante de su exposición a una radiación ionizante de un radio núcleo. El radio núcleo utilizado es el ^{63}Ni , el cual emite partículas β (electrones de baja energía); estas partículas

cargadas negativamente colisionan con las moléculas del gas portador produciendo más electrones de alta energía.

Los electrones formados por este proceso establecen una corriente estacionaria entre el ánodo y el cátodo. Se aplica una diferencia de potencial entre 20 y 100 V de corriente directa. Cuando un analito electronegativo eluye captura algunos de los electrones del fondo lo cual produce una reducción de corriente estacionaria.

Los iones del analito negativos que se mueven lentamente no son colectados por el ánodo. La extensión de la absorción de electrones, y la reducción de la corriente, es proporcional a la concentración del analito.

3.3 Interferencias del método

Las interferencias en esta metodología pueden originarse en la contaminación ocurrida durante el tratamiento de la muestra, debido a la calidad de los solventes, reactivos, limpieza del material de vidrio, equipo para el procesamiento de las muestras, los cuales pueden producir señales discretas o aumentar el ruido de la línea base.

Se debe demostrar de manera rutinaria que todos los reactivos, solventes, elementos de laboratorio y equipos se encuentran libres de interferencias para lo cual se utilizan los blancos de laboratorio.

La calidad mínima requerida de estos solventes es grado cromatográfico. A continuación se ofrece una lista de los diferentes grados de pureza permisibles para los solventes en el análisis de PCB.

- Grado cromatográfico (para cromatografía gaseosa o cromatografía líquida de alta resolución).
- Grado pesticidas (bajo en residuos de compuestos orgánicos).
- Grado análisis en trazas (bajo en residuos de compuestos inorgánicos).

Cada casa fabricante posee sus propios nombres para los diferentes tipos de grados de pureza. Lo más importante es demostrar que los solventes utilizados no interfieren de ninguna forma con el análisis ya sean de la calidad sugerida o de una superior.

La contaminación por ftalatos es una interferencia que se origina por el uso de material de plástico o manipulación sobre superficies plásticas por lo que la forma de minimizar esta contaminación es evitando su uso en cualquiera de las etapas analíticas.

Otra forma de contaminación sucede cuando se inyectan muestras desconocidas en el cromatógrafo. Si una de ellas contiene los analitos en baja concentración y se analiza después de haber inyectado otra que contiene concentraciones altas, es posible que se genere respuesta mayor en la muestra de baja concentración, lo cual da lugar a una contaminación cruzada.

Este problema se puede disminuir realizando una inyección o más de solvente como hexano después de la muestra de concentración alta.

Los estándares de calibración, las muestras de control y las muestras para análisis deben estar disueltos en el mismo solvente para evitar posibles problemas en la comparabilidad de los picos cromatográficos.

3.4 Interferencias de matriz

Verificar que no se presente contaminación durante la recolección, almacenamiento y transporte de las muestras. Es indispensable que se analice blancos de muestra para demostrar que no se presenta este tipo de contaminación y proporcionar validez a los resultados.

Dependiendo de la fuente de la cual sea tomada la muestra se pueden presentar interferencias, principalmente si son de corrientes de desecho (aguas residuales industriales o domésticas), lixiviados de rellenos sanitarios o de la infiltración en suelos u otro tipo de residuos. En estos casos se requiere la aplicación de análisis confirmatorio para incrementar la confiabilidad de la identificación y cuantificación de compuestos determinados por el método aplicado.

Tomar las muestras de aguas crudas tratadas con cloro a una distancia adecuada antes del sitio de cloración, ya que la presencia de concentraciones excesivas de este componente induce la pérdida de algunos constituyentes de la muestra.

4. ASPECTOS DE SALUD Y SEGURIDAD LABORAL

Tener cuidado en el manejo de los reactivos y estándares utilizados en el análisis debido a que su toxicidad o carcinogenicidad no han sido evaluados en forma definitiva.

Cada compuesto manipulado debe ser considerado como potencialmente peligroso para la salud y se debe minimizar la exposición.

Mantener las fichas de seguridad de las sustancias utilizadas en la aplicación de esta metodología, las cuales deben ser conocidas por los analistas o técnicos que manejan estas sustancias.

Para realizar la manipulación de PCB es indispensable utilizar los siguientes equipos de seguridad:

- Respirador con filtro para vapores orgánicos
- Gafas de seguridad
- Guantes de nitrilo
- Bata de laboratorio
- Cabina de extracción



Instituto de Hidrología,
Meteorología y
Estudios Ambientales

DETERMINACIÓN DE BIFENILOS POLICLORADOS (PCB) EN AGUAS POR CROMATOGRAFÍA DE GASES CON DETECTOR DE CAPTURA DE ELECTRONES

Código: M2-SAPc-02

Versión: 1.0

Fecha: 2012-12-14

Página: 4 de 16

4.1 Disposición de residuos

Cumplir con la normatividad vigente en el país, sobre disposición de residuos sólidos, líquidos y emisiones en general provenientes de actividades analíticas.

5. EQUIPOS

Este protocolo está basado en los métodos ASTM D5175, EPA 505, EPA 525.2 y EPA 8082A, por lo tanto se mostrará de manera comparativa las necesidades de cada uno de ellos, con lo cual es posible proceder de acuerdo a la disponibilidad de cada laboratorio.

Tanto para los métodos EPA como ASTM se requieren los siguientes equipos:

5.1 Balanza analítica con precisión de pesada 0,0001g

5.2 Cromatógrafo de gases, equipado con:

Detector de captura de electrones(ECD)

Sistema de inyección split-splitless

Sistema de adquisición, manejo y registro de datos, que permita obtener como mínimo los datos de tiempos de retención y áreas de los picos.

Horno para la columna cromatográfica con software para realizar inyecciones con temperatura programable.

5.6 Bombas y equipo básico para la preparación de la muestra por medio de la utilización de filtros, discos o cartuchos.

5.7 Columnas cromatográficas: Se describe a continuación varias alternativas de columnas dependiendo del método a utilizar:

ORGANISMO	MÉTODO	DESCRIPCIÓN COLUMNAS CROMATOGRÁFICAS
EPA	Método 505	Columna Primaria: Columna capilar, Fase metilpolisiloxano (DB-1), diámetro interno 0,32 mm; longitud 30 m y espesor de película 1,0 µm. Columna alternativa 1: Columna capilar, Fase Mezcla 1:1 dimetil silicona y polietilenglicol (Durawax-DX3), diámetro interno 0,32 mm; longitud 30 m; espesor de película 0,25µm. Columna alternativa 2: Columna capilar, Fase Mezcla

		1:1 metil-fenil silicona, diámetro interno 0,32 mm; longitud 25 m; espesor de película 1,5µm.
	Método 525.2	Columna Capilar, polifenilmetilsilicona (DB-5MS o equivalente), longitud 30 m; diámetro interno 0,25 mm y espesor de película de 0,25 µm.
	Método 8082A	<p>Columna Capilar, Fase sílica fundida con SE-54 (DB-5 o equivalente), longitud 30 m, diámetro interno 0,25 o 0,32 mm y espesor de película de 1 µm.</p> <p>Columna Capilar, Fase sílica fundida con 35% fenilpolisiloxano (DB-608, SPB-608 o equivalente), longitud 30 m, diámetro interno 0,25 mm y espesor de película de 1 µm.</p> <p>Columna Capilar, Fase sílica fundida con 35% fenilpolisiloxano (DB-608, SPB-608, RTx-35 o equivalente), longitud 30 m, diámetro interno 0,53 mm y espesor de película de 0,5-0,83 µm.</p> <p>Columna Capilar, Fase sílica fundida con 14% cianopropilmetilpolisiloxano (DB-1701 o equivalente), longitud 30 m, diámetro interno 0,53 mm y espesor de película de 1 µm.</p> <p>Columna Capilar, Fase sílica fundida con SE-54 (DB-5, SPB-5, RTx-5 o equivalente), longitud 30 m, diámetro interno 0,53 mm y espesor de película de 1,5 µm.</p>
ASTM	Método D5175	<p>Columna Primaria: Columna capilar, Fase metilpolisiloxano, diámetro interno 0,32 mm y longitud 30 m.</p> <p>Columna alternativa 1: Columna capilar, Fase Mezcla 1:1 dimetil silicona y polietilenglicol, diámetro interno 0,32 mm y longitud 30 m.</p> <p>Columna alternativa 2: Columna capilar, Fase Mezcla 1:1 metil-fenil silicona, diámetro interno 0,32 mm y longitud 25 m.</p>

6. REACTIVOS

Se deben emplear solventes, reactivos y otros materiales para el análisis de bifenilos policlorados libres de interferencias bajo las condiciones de análisis..

La calidad mínima requerida de estos solventes es grado cromatográfico. A continuación se ofrece una lista de los diferentes grados de pureza permisibles para los solventes en el análisis de PCB:

- Grado cromatográfico (para cromatografía gaseosa o cromatografía líquida de alta resolución).
- Grado pesticidas (bajo en residuos de compuestos orgánicos).
- Grado análisis en trazas (bajo en residuos de compuestos inorgánicos).

Cada casa fabricante posee sus propios nombres para los diferentes tipos de grados de pureza. Lo más importante, es demostrar que los solventes utilizados no interfieren de ninguna forma con el análisis ya sean de la calidad sugerida o de una superior.

6.1 Método ASTM D5175 y EPA 505

- 6.1.1 Agua Destilada
- 6.1.2 n-Hexano, grado pesticida o equivalente
- 6.1.3 Metanol, grado pesticida o equivalente
- 6.1.4 Acetona, grado pesticida o equivalente
- 6.1.5 Cloruro de sodio (NaCl), antes de usar pulverizar un lote de cloruro de sodio y colocar en la mufla a una temperatura de 400 °C por 30 minutos
- 6.1.6 Solución de tiosulfato de sodio (Na₂S₂O₃): Mezclar 1 g de tiosulfato de sodio con agua a un volumen de 25 mL en balón volumétrico
- 6.1.7 Fosfato de potasio K₂HPO₄, grado reactivo

6.2 Método EPA 525.2

- 6.2.1 Agua Destilada
- 6.2.2 Metanol, grado pesticida o equivalente
- 6.2.3 Acetato de etilo, grado pesticida o equivalente
- 6.2.4 Diclorometano, grado pesticida o equivalente
- 6.2.5 Acetona, grado pesticida o equivalente
- 6.2.6 Cartuchos de Sílica modificados con C18 (Columna de Secado)
- 6.2.7 Sulfato de sodio anhídrido

6.3 Purificación de Reactivos

- 6.3.1 Cloruro de sodio: Calentar los cristales en una cápsula de porcelana a 400°C durante 4 horas para remover sustancias orgánicas que pueden ocasionar interferencias. Almacenar en frasco de vidrio para evitar contaminación por ftalatos.
- 6.3.2 Agua destilada: Utilizar preferiblemente recién destilada, almacene en vidrio para evitar contaminación por ftalatos y libre de los analitos de interés y/o agua grado cromatográfico.



DETERMINACIÓN DE BIFENILOS POLICLORADOS (PCB) EN AGUAS POR CROMATOGRFÍA DE GASES CON DETECTOR DE CAPTURA DE ELECTRONES

6.3.3 Sulfato de sodio anhidro granular: Calentar los cristales en una cápsula de porcelana a 400°C durante 4 horas para remover sustancias orgánicas que pueden ocasionar interferencias. Almacene en frasco de vidrio para evitar contaminación por ftalatos.

6.4 Estándares

6.4.1 Solución concentrada de Bifenilos Policlorados

Se puede obtener soluciones comercialmente disponibles, certificadas por el fabricante o un ente independiente, de 1000 µg/mL, 200 µg/mL o preparadas a partir de estándares certificados de la siguiente manera:

Preparar una solución concentrada (5000 µg/mL) pesando con precisión alrededor de 0.0500 g del material certificado. Disolver el material en metanol y diluir a un volumen de 10.0 mL en un balón volumétrico.

Aplique la corrección en los cálculos de la concentración con base en la pureza declarada en el certificado del estándar. Pueden usarse diluciones mayores dependiendo de las necesidades del método.

Transfiera la solución estándar a un vial de vidrio ámbar con tapa cubierta interna y almacene a temperatura de 4°C y protegida de la luz. Estas soluciones deben reemplazarse después de 2 meses o en el momento en que los resultados de comparación con los blancos fortificados o las muestras de control indiquen que presentan problemas.

6.4.2 Solución estándar, Dilución secundaria

Usar la solución estándar concentrada para preparar la dilución secundaria. Los estándares de dilución secundaria pueden ser preparados a concentraciones fáciles de diluir para preparar los estándares de calibración, que soporte el rango de concentración de trabajo.

Almacenar los estándares de dilución secundaria con un mínimo espacio de cabeza y chequear frecuentemente para detectar signos de deterioro o evaporación, especialmente justo antes de preparar estándares de calibración.

7. MATERIALES E INSUMOS

7.1 Método ASTM D5175, EPA 505

7.1.1 Recipientes de vidrio de capacidad de 40 mL, con tapa PTFE

7.1.2 Microjeringas de 10 a 100 µL

7.1.3 Botellas para toma de muestra: capacidad 0.5 L, de vidrio ámbar, con tapa rosca recubierta con TFE.



DETERMINACIÓN DE BIFENILOS POLICLORADOS (PCB) EN AGUAS POR CROMATOGRFÍA DE GASES CON DETECTOR DE CAPTURA DE ELECTRONES

7.1.4 Recipientes de vidrio ámbar de capacidad de 15 mL para almacenamiento de estándares.

7.1.5 Viales ámbar de capacidad de 2,0 mL

7.2 Método EPA 525.2

7.2.1 Microjeringas de 10 a 100 μ L

7.2.2 Manifold vacuum

7.2.3 Balones volumétricos de diferente volumen

7.2.4 Recipientes de vidrio de capacidad de 20 mL

7.2.5 Viales ámbar con capacidad de 2,0 mL.

8. CONSIDERACIONES PARA LA TOMA DE MUESTRA

8.1 Recomendaciones para la recolección de las muestras

Para el muestreo de Aguas se utilizan recipientes de vidrio ámbar de capacidad de 500 mL.

Para aguas superficiales, aguas residuales industriales y domésticas se llena la botella ámbar, se tapa y se refrigera a una temperatura de 4 °C hasta que vaya a ser analizada. Si se utiliza muestreadores automáticos es indispensable utilizar botellas de vidrio que puedan mantenerse refrigeradas hasta finalizar el muestreo.

Para aguas tratadas se adiciona al recipiente de muestreo vacío una cantidad de 3.0 mg de tiosulfato de sodio o 75,0 μ L de una solución de tiosulfato de sodio de 0,04g/mL, para realizar la decoloración del agua evitando la oxidación de los analitos.

No utilizar recipientes plásticos para realizar el muestreo, ya que se pueden presentar interferentes críticos en el análisis de PCB.

8.2 Preservación de las muestras

Al coleccionar la muestra, medir el pH, el cual debe estar en un rango de 5.0 -9.0, luego refrigerar a una temperatura de 4°C hasta el momento de análisis. Cuando las muestras no se encuentran en dicho rango de pH es necesario ajustarlo.

8.3 Almacenamiento de la muestra

Las muestras se deben mantener refrigeradas a 4°C desde el momento de la recolección hasta que se realice la extracción en el laboratorio. Los extractos almacenados a temperatura $\leq 4^\circ\text{C}$ son estables para los analitos del método hasta por 30 días.

9. LIMPIEZA DEL MATERIAL

El material de vidrio debe limpiarse de acuerdo al siguiente protocolo para asegurar su limpieza:

- 9.1 Enjuague todo material de vidrio con el solvente utilizado para la determinación cromatográfica (Hexano).
- 9.2 Lave con agua del grifo y detergente neutro; enjuague con agua del suministro y agua destilada, en este orden.
- 9.3 Escurra el agua.
- 9.4 Enjuague todo el recipiente con acetona y deje secar
- 9.5 Calentar el material en una mufla o estufa que alcance 400°C (A excepción del material volumétrico)
- 9.6 Dejar enfriar el material
- 9.7 Tapar el material con papel de aluminio o invierta y almacene en un ambiente limpio para prevenir la acumulación de polvo u otros contaminantes.

10. PREPARACIÓN DE MUESTRAS

10.1 Método ASTM D5175, EPA 505. Microextracción líquido-líquido. Este procedimiento es aplicable a agua potable en cualquier etapa de tratamiento y agua cruda.

- 10.1.1 Retirar las muestras de almacenamiento y permitir que estas alcancen una temperatura ambiente para realizar el proceso de extracción.
- 10.1.2 Medir el pH de la muestra y garantizar un pH en un rango entre 5,0-9,0. Filtrar la muestra utilizando filtros de nylon de 0,45 µm.
- 10.1.3 Pesar un recipiente vacío con la tapa, adicionar la muestra, tomando un volumen de 5,0 mL con pipeta graduada. Tapar nuevamente el recipiente y pesar con una precisión de 0.001 g para determinar el volumen exacto de la muestra.
- 10.1.4 Adicionar 6,0 g de NaCl, tapar e invertir el recipiente varias veces (20 segundos aproximadamente) para disolver el Cloruro de sodio.
- 10.1.5 Retirar la tapa y adicionar con una pipeta volumétrica 2,0 mL de hexano. Tapar nuevamente y agitar vigorosamente por 1 min (invirtiendo el vial).
- 10.1.6 Remover la tapa y transferir cuidadosamente 0,5 mL aproximadamente de la capa de hexano dentro de un vial de 2,0 mL, utilizando pipetas pasteur de vidrio.

10.1.7 Pasar la fase hexano restante, teniendo cuidado de no incluir fase acuosa, en un segundo vial. Preserve este segundo vial a 4 ° C para un nuevo análisis inmediato si es necesario.

10.1.8 Inyectar entre 1-2 μ L de la fase del vial 1, en el cromatógrafo de gases para realizar el análisis.

Este mismo procedimiento aplica para los estándares.

10.2 Método EPA 525.2. Extracción en fase sólida. Este procedimiento aplica a Aguas subterráneas y aguas residuales.

10.2.1 Retirar las muestras de almacenamiento y permitir que estas alcancen una temperatura ambiente para realizar el proceso de extracción.

10.2.2 Medir en un balón volumétrico de 100 mL a 200 mL de muestra.

10.2.3 Acondicionar el cartucho con 10 mL de metanol, 10 mL de agua grado cromatográfico (Ver numeral 6.3.2). En la etapa de acondicionamiento no dejar secar el cartucho.

10.2.4 Antes de pasar el último volumen de agua grado cromatográfico (Ver numeral 6.3.2) por el cartucho, agregar la muestra a un flujo lento y al terminar, hacer una limpieza del balón con aproximadamente 5 mL de agua grado cromatográfico (Ver numeral 6.3.2). Secar el cartucho con una corriente de nitrógeno por 10 minutos.

10.2.5 Luego realizar la elución de los analitos con 5 mL de Acetato de etilo y 5 mL de Diclorometano.

10.2.6 El eluyente obtenido se pasa por una columna de secado que contiene aproximadamente 5,7 g de Sulfato de sodio anhídrido y se recoge en un segundo vial. Lavar la columna con al menos 2 mL de Diclorometano (todo se colecta en el mismo vial).

10.2.7 Concentrar el extracto con corriente de nitrógeno a un volumen superior a 0.5 mL, para evitar pérdidas del analito y realizar ajustes de volumen con Acetato de etilo.

10.2.8 Inyectar entre 1 y 2 μ L del extracto final en el cromatógrafo de gases para realizar el análisis.

Este mismo procedimiento aplica para los estándares.

10.3 Método EPA 8082A. Según este método, en general, las muestras de agua pueden ser extraídas con diclorometano (extracción líquido-líquido) a pH neutro siguiendo los procedimientos establecidos en USEPA 3510, con extracción continua líquido-líquido según método USEPA 3520, por extracción en fase sólida según método USEPA 3535 o por otra técnica apropiada.

NOTA: El uso de hexano-acetona en general, reduce la cantidad de interferencias que son extraídas y mejora la relación señal-ruido.

La selección del solvente de extracción dependerá de los analitos específicos de interés. El analista deberá demostrar el adecuado desempeño para el analito de interés a los niveles de interés con el solvente seleccionado.

10.4. Limpieza del Extracto.

Los procedimientos de limpieza pueden no ser necesarios para muestras matriz relativamente limpias, otros extractos pueden requerir una preparación adicional antes del análisis.

El procedimiento específico de limpieza utilizado depende de la naturaleza de la muestra y de las cualidades que serán objeto de la medida. Generalmente, los extractos para la determinación específica de bifenilos policlorados (PCB) se purifican con ácido sulfúrico/permanganato (Método USEPA 3565A) o con florisil (Método USEPA 3620C).

11. PROCEDIMIENTO ANALÍTICO

11.1 Condiciones cromatográficas

Cromatografo de gases con detector de μ -ECD

Columna	Parámetro	Especificación
Columna capilar de silica fundida de metil polisiloxano de 30 m * 0.25 mm ó 0.32 mm ID, una película de 1 μ espesor	Gas de arrastre	Helio
	Flujo del gas de arrastre	25 cm/s a 180°C
	Presión del gas de arrastre	9 psi
	Temperatura del inyector	250 °C
	Volumen de inyección	5.0 uL
	Modo de inyección	Split 1:1, Flujo 20 mL/min
	Temperatura del detector	290 °C
	Temperatura del horno	Desde 180 °C a 260 °C a una velocidad de 4°C/min, y



Instituto de Hidrología,
Meteorología y
Estudios Ambientales

DETERMINACIÓN DE BIFENILOS POLICLORADOS (PCB) EN AGUAS POR CROMATOGRFÍA DE GASES CON DETECTOR DE CAPTURA DE ELECTRONES

Código: M2-SAPc-02

Versión: 1.0

Fecha: 2012-12-14

Página: 12 de 16

mantener a 260 °C

12. METODOLOGÍA DE CÁLCULO

12.1 Calibración por estándares

En la cuantificación de PCB no es necesario saber la composición de cada especie individualmente sino el tipo de Aroclor presente y la cantidad total del mismo. El tipo de Aroclor se identifica cualitativamente, al comparar el perfil obtenido con uno de los estándares conocidos.

Cada uno de los Arocloros debe calibrarse previamente, realizando curvas en solvente, para este efecto se diluye en solvente cada estándar de cada Aroclor, partiendo de las soluciones descritas en **sección 6.4**. Una vez se ha logrado una solución de trabajo confiable, deben realizarse diluciones de la misma a por lo menos 5 puntos diferentes de concentración y en un rango que incluya los niveles de concentración de mayor importancia en el análisis. Una vez los estándares se han inyectado, se obtienen los perfiles característicos para cada Aroclor. Este perfil característico permite identificar cualitativamente que Aroclor está presente en las muestras; además, deben escogerse los picos más representativos del perfil; es decir, aquellos con mayor área, resolución, mejor simetría y que sólo pertenezcan al Aroclor en cuestión; para realizar curvas de calibración externa con cada uno de estos picos de modo que cada Aroclor tenga, como mínimo tres picos de cuantificación, cada uno con su respectiva curva de calibración.

Después de identificar el tipo de Aroclor, este se cuantifica por medio de los picos seleccionados. Cada pico tendrá una concentración característica. Esta se calcula de la siguiente manera.

$$C_{PCB} = \alpha A + I$$

Donde:

C_{PCB} : concentración de PCB (en $\text{mg}_{\text{Aroclor}}/\text{L}_{\text{solución}}$).

A : área del pico característico.

α : pendiente (obtenida de la regresión lineal realizada en **12.1**).

I : intercepto (obtenido de la regresión lineal realizada en **12.1**).

La concentración obtenida de cada pico se promedia (aritmética o ponderadamente) para obtener un resultado global de la concentración del Aroclor. Es importante realizar la cuantificación con mucho cuidado, verificar la veracidad de los datos y analizarlos usando herramientas estadísticas. Si las concentraciones muestran resultados dispares con desviaciones por fuera de lo admitido no puede reportarse presencia del Aroclor ni su concentración en la muestra; no obstante, debe informarse la presencia de PCB en la misma.

La regresión lineal puede corresponder a una calibración externa o a una calibración por estándar interno. Dependiendo del tipo de calibración la fórmula que define la pendiente α varía. Este método es aplicable a la cuantificación de PCB como Arocloros o como congéneres.

12.2 Calibración por Factor de Respuesta

Los Arocloros, o los PCB como congéneres, pueden cuantificarse usando el método de Factor de Respuesta (RF). Para ello se usa un estándar interno en conjunto con un estándar de una concentración similar a la que podría tener la muestra. Una vez analizado el estándar y la muestra se utiliza la siguiente ecuación:

$$C_{PCB} = \frac{A_X}{A_{IX}} \times \frac{A_{IS}}{A_S} \times C_S$$

Donde:

C_{PCB} : concentración de PCB en la muestra (en $\text{mg}_{\text{Aroclor}}/\text{L}_{\text{solución}}$).

A_X : área del pico en la muestra.

A_{IX} : área del estándar interno en la muestra.

A_S : área del pico en el estándar.

A_{IS} : área del estándar interno en el estándar.

C_S : concentración de PCB en el estándar (en $\text{mg}_{\text{Aroclor}}/\text{L}_{\text{solución}}$).

12.3 PCB como Arocloros

En caso de que la concentración final de PCB en la muestra se reporte como Arocloros en agua (mg/L), se calcula a partir de la siguiente ecuación:

$$PCB_T = C_{PCB} \times \frac{V_S}{V_m}$$

Donde:

PCB_T : concentración total de PCB en agua ($\text{mg}_{\text{Aroclor}}/\text{L}_{\text{muestra}}$)

C_{PCB} : concentración de PCB (en $\text{mg}_{\text{Aroclor}}/\text{L}_{\text{solución}}$)

V_S : volumen final de aforo del extracto ($\text{L}_{\text{solución}}$)

V_m : volumen inicial de muestra (en $\text{L}_{\text{muestra}}$).

Es importante resaltar que la PCB_T es una aproximación del contenido real de PCB. Para que sea verosímil, el perfil de la muestra debe coincidir satisfactoriamente con el de un Aroclor únicamente. Para mezclas de Arocloros o perfiles irreconocibles es indispensable realizar la cuantificación por congéneres individuales, procedimiento que no se cubre en este protocolo.

12.4 PCB como congéneres

Cuando los PCB se han analizado como congéneres cada uno se concibe como un analito individual. Independiente del método de calibración utilizado, la concentración final de PCB, a partir de la determinación de los congéneres se calcula así:

$$PCB_T = \left(\sum_{i=1}^n C_{PCB_i} \right) \times \frac{V_S}{V_m}$$

Donde:

PCB_T : concentración total de PCB en agua ($mg_{Aroclor}/L_{muestra}$).

C_{PCB_i} : concentración de cada congénere individual (en $mg_{Aroclor}/L_{solución}$).

n : cantidad total de congéneres cuantificados.

V_S : volumen final de aforo del extracto ($L_{solución}$).

V_m : volumen inicial de muestra (en $L_{muestra}$).

13. ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD ANALÍTICA

Remitirse al protocolo “Aseguramiento de la Calidad y Estandarización de Métodos Cromatográficos”, para especificaciones de los procedimientos de control de calidad.

El laboratorio debe demostrar la competencia técnica para aplicar la metodología en el análisis de PCB y otros contaminantes ambientales con el fin de asegurar y demostrar la obtención de resultados confiables. El laboratorio deberá implementar, mantener, soportar y aplicar las buenas prácticas de laboratorio, que son la base para las demás estrategias de demostración de la competencia. Lo anterior incluye un programa formal de aseguramiento de la calidad. El laboratorio también debe mantener registros de los documentos de control de calidad generados.

13.1 Demostración de la Competencia

El requerimiento mínimo de control de calidad exigido incluye la demostración de la capacidad del laboratorio, análisis de blancos de reactivos, la muestra de control de laboratorio y muestras enriquecidas.

Cada laboratorio debe demostrar ser competente para llevar a cabo el análisis de PCB. Esto implica competencia en el método de preparación de la muestra y la técnica de determinación utilizada, generando datos aceptables de exactitud y precisión para el analito de interés en una matriz sin interferentes. El laboratorio debe verificar la validez de sus figuras de mérito cada vez que se realice un cambio de personal o se realicen cambios en los equipos.

Para demostrar la capacidad inicial del laboratorio se debe determinar las figuras de mérito de la metodología de análisis (linealidad y rango de trabajo, porcentaje de recuperación, la desviación estándar relativa y el límite de detección; para cada Aroclor) a partir de los datos obtenidos en el proceso de validación. Las figuras de mérito que se obtengan con este método dependen del tratamiento de la muestra y su efecto matriz. Cada laboratorio está en capacidad de escoger los criterios de aceptación regulados que utilizará para sus figuras de mérito.

13.2 Control de Calidad del Método

El laboratorio debe evaluar el efecto matriz sobre el desempeño del método, determinando precisión, exactitud y límite de detección.

El análisis de muestras se realiza por secuencias. Cada secuencia de análisis contiene un máximo 20 muestras, además del control analítico que consiste en un blanco de reactivos (inyectado como chequeo para confirmar la ausencia de contaminación cruzada), blanco de muestra, la muestra de control de laboratorio, una réplica de muestra y una muestra enriquecida con el analito. La recuperación de los analitos en la muestra enriquecida debe ser determinada y comparada con los límites de control establecidos por el laboratorio.

La muestra de control de laboratorio consiste en una alícuota de una matriz limpia (control), similar a la matriz de la muestra y de igual peso o volumen, dopada con los analitos de interés. Cuando los resultados del análisis de la muestra enriquecida indican un problema potencial debido a su composición, el resultado de la muestra de control de laboratorio se utiliza para verificar que el laboratorio puede realizar el análisis en una matriz sin interferentes.

La calibración debe verificarse regularmente usando la muestra de control de laboratorio, cuyo valor de concentración debe estar entre $\pm 15\%$ de la concentración esperada. Cuando la concentración del estándar excede los límites aceptables, el laboratorio debe detener el análisis y tomar la acción correspondiente.

Si la calibración se realiza utilizando un estándar interno, éste debe evaluarse para ser aceptado. La medida del área del estándar interno no debe superar el $\pm 50\%$ de área del promedio calculado en la calibración. Cuando el área del estándar interno esta fuera de los límites, el laboratorio debe verificar la metodología y efectuar las medidas necesarias para mantener la validez de su método.

Se recomienda que el laboratorio adopte prácticas adicionales de aseguramiento de la calidad para el uso de este método. Las prácticas específicas que se deben realizar dependen tanto de las necesidades del laboratorio como de la naturaleza de las muestras. El laboratorio debe analizar materiales estándar de referencia y participar en estudios de evaluación relevantes.

13.3 Desempeño del Método

El procedimiento descrito en el presente protocolo fue corroborado. Para ello se utilizó la matriz agua, hexano para análisis de trazas y estándares certificados de los Arocloros. Se analizaron extractos de muestras que contenían una adición de los compuestos de interés a dos concentraciones distintas. Se determinó la precisión evaluada como repetibilidad instrumental y reproducibilidad intermedia del método; así como la exactitud del mismo.

14. PROPUESTA DE VALIDACIÓN DEL MÉTODO

Ver el documento “Aseguramiento de la Calidad y Estandarización de Métodos Cromatográficos”.

15. BIBLIOGRAFÍA

ASTM, Method, S. T., Organohalide Pesticides and Polychlorinated Biphenyls in Water by Microextraction and Gas Chromatography. *ASTM D5175 – 91* **2003**.

EPA, U. S., Analysis of Organohalide Pesticides and Commercial Polychlorinated Biphenyl (PCB) Products in Water by Microextraction and Gas Chromatography. *EPA 505*. **1995**

EPA, U. S., Determination of organic compounds in drinking water by liquid-solid extraction and capillary column gas chromatography/mass spectrometry. *EPA 525.2* **2000**

EPA, U. S., Polychlorinated Biphenyls (PCB) by gas chromatography. *US EPA 8082 A*.**2000**.

EPA, U. S., Separatory Funnel Liquid-Liquid Extraction. *US EPA 3510C*, **1996**

EPA, U. S., Continuous Liquid-Liquid Extraction. *USEPA 3520C*. **1996**

EPA, U. S., Solid-Phase Extraction (SPE). *EPA 3535A*, **2007**.

EPA, U. S., Florisil Cleanup. *EPA 3620C*, **2007**.

EPA, U. S., Sulfuric Acid/Permanganate Cleanup. *EPA 3665A*, **1996**.