

## 1. OBJETIVO

Describir la metodología para la determinación de Bifenilos Policlorados (PCB) en extractos de suelos, sedimentos y lodos por cromatografía de gases con detector de captura de electrones (ECD).

## 2. ALCANCE DE LA APLICACIÓN

**2.1.** Este método es usado para determinar las concentraciones de bifenilos policlorados (PCB) como arocloros o congéneres individuales en extractos de suelos y sedimentos usando columnas capilares con detector de captura de electrones (ECD). Los compuestos referenciados en la siguiente tabla pueden ser determinados utilizando un sistema analítico de una o dos columnas.

<b>Compuesto</b>	<b>No de Registro CAS</b>	<b># IUPAC</b>
Aroclor 1016	12674-11-2	-
Aroclor 1221	11104-28-2	-
Aroclor 1232	11104-28-2	-
Aroclor 1242	53469-21-9	-
Aroclor 1248	12672-29-6	-
Aroclor 1254	12672-29-6	-
Aroclor 1260	12672-29-6	-
2-Chlorobiphenyl	2051-60-7	1
2,3-Dichlorobiphenyl	16605-91-7	5
2,2',5-Trichlorobiphenyl	37680-65-2	18
2,4',5-Trichlorobiphenyl	16606-02-3	31
2,2',3,5'-Tetrachlorobiphenyl	41464-39-5	44
2,2',5,5'-Tetrachlorobiphenyl	35693-99-3	52
2,3',4,4'-Tetrachlorobiphenyl	32598-10-0	66
2,2',3,4,5'-Pentachlorobiphenyl	38380-02-8	87
2,2',4,5,5'-Pentachlorobiphenyl	38380-03-9	101
2,3,3',4',6-Pentachlorobiphenyl	38380-03-9	110
2,2',3,4,4',5'-Hexachlorobiphenyl	35065-28-2	138
2,2',3,4,5,5'-Hexachlorobiphenyl	52712-04-6	141
2,2',3,5,5',6-Hexachlorobiphenyl	52663-63-5	151
2,2',4,4',5,5'-Hexachlorobiphenyl	35065-27-1	153
2,2',3,3',4,4',5-Heptachlorobiphenyl	35065-30-6	170
2,2',3,4,4',5,5'-Heptachlorobiphenyl	35065-29-3	180
2,2',3,4,4',5,6-Heptachlorobiphenyl	52663-69-1	183
2,2',3,4',5,5',6-Heptachlorobiphenyl	52663-68-0	187
2,2',3,3',4,4',5,5',6-Nonachlorobiphenyl	40186-72-9	206

**2.2.** Los Arocloros son mezclas de varios congéneres de PCB. Cuando las muestras contienen más de un Aroclor, es necesario que el análisis se realice por un analista experimentado, para lograr niveles aceptables tanto cualitativos como cuantitativos, teniendo en consideración que los Arocloros se degradan por exposición por largo tiempo a determinadas condiciones ambientales “envejecimiento” o por tratamientos tecnológicos, generando señales que pueden presentar diferencias significativas respecto a los perfiles de los patrones de los picos de los Arocloros empleados como estándares.

Los arocloros de la lista en la sección 2.1, son los comúnmente especificados en las regulaciones de la US EPA. La cuantificación de PCB como arocloros es apropiada para algunas regulaciones, sin embargo, presenta dificultad cuando los arocloros han estado expuestos en el medio ambiente por largo tiempo.

**2.3.** Este método proporciona los procedimientos para la determinación de un grupo seleccionado de los 209 posibles congéneres de PCB, como otro medio de medir las concentraciones de Arocloros degradados. Los 19 congéneres de PCB mencionados anteriormente han sido probados por este método y fueron elegidos debido a que muchos de ellos representan congéneres específicos para las formulaciones de Arocloros (Ver tabla 6). Los procedimientos de análisis para los 19 congéneres pueden ser apropiados para el análisis de otros congéneres que no están incluidos en este método y puede ser utilizado como un modelo para el desarrollo de dicho procedimiento. Sin embargo, los 209 congéneres de PCB no se pueden separar utilizando columnas de cromatografía de gases y los procedimientos descritos en este método. Si el procedimiento es extendido para abarcar otros congéneres, el analista debe documentar bien la resolución de los congéneres que están siendo analizados, ya que debido al comportamiento químico y cromatográfico de algunos de estos compuestos se genera co-elución de los congéneres de interés.

**2.4.** Realizar el análisis de PCB por congéneres proporciona una mayor precisión en la cuantificación, cuando se conoce que los PCB están presentes. Como resultado, este método puede ser usado para determinar Arocloros, algunos congéneres de PCB o "PCB totales", dependiendo de los regulaciones o necesidades de cada análisis. El método de los congéneres es de especial valor en la determinación de Arocloros degradados. Este método no es apropiado para la determinación de los congéneres coplanares en los niveles de partes por trillón.

**2.5.** La identificación de los compuestos se basa en el análisis por una sola columna que debe ser confirmada en una segunda columna. Este método describe las condiciones analíticas para una segunda columna cromatográfica que puede ser utilizada para confirmar las medidas hechas con la primera columna. Se recomienda también el método USEPA 8270 GC/MS (Cromatografía de gas con espectrómetro de masas) como una técnica confirmatoria, si la sensibilidad lo permite.

**2.6.** Este método incluye la opción de análisis en doble columna. La opción permite una configuración del equipo de dos columnas analíticas unidas a un único puerto de inyección. La opción permite que una sola inyección sea utilizada para el análisis en las dos columnas. El analista debe tener la precaución que la opción de dos columnas (dual columna) puede no ser la apropiada cuando el instrumento sufre stress mecánico o cuando muchas muestras fueron inyectadas en un periodo corto, o cuando son analizadas muestras contaminadas.

**2.7.** El analista debe seleccionar las columnas, detectores y procedimiento de calibración adecuados para el analito de interés que se desea analizar. Debe establecer los valores de rendimiento para cada matriz específica, la estabilidad del sistema analítico,

y la calibración del instrumento debe establecerse para cada clase de matriz analítica (Ej. Solución de Hexano a partir de extractos de muestras, muestras disueltas en aceite, etc.).

**2.8.** Este método debe ser utilizado bajo la supervisión de un analista experimentado en el uso del cromatógrafo de gas (GC) y hábil en la interpretación de cromatogramas. Cada analista debe demostrar la habilidad para generar resultados aceptables con este método.

### **3. FUNDAMENTO TEÓRICO**

#### **3.1. Fundamento conceptual**

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.

En general, estas sustancias son apolares y no inflamables. La solubilidad en agua está en el rango de 0,08 mg/L a 6 mg/L para congéneres mono y dicloro sustituidos, y entre 0,007 mg/L y 0,175 mg/L para todos los demás. Son solubles en solventes orgánicos, aceites y grasas. Además, los PCB son químicamente inertes bajo condiciones ácidas y básicas, tienen altos puntos de ebullición y baja conductividad eléctrica. Sus propiedades, como 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.

Diferentes isómeros de PCB con el mismo número de cloros pueden dar una respuesta diferente en el detector. Las mezclas que contienen una misma cantidad de PCB pero diferentes fracciones de isómeros, puede dar diferentes cromatogramas, por lo que esta técnica es efectiva sólo cuando los estándares y los especímenes de prueba presentan una correspondencia entre sí. Los Arocloros son estándares adecuados, ya que estos son las mezclas que se encuentran con mayor frecuencia en líquidos aislantes, entre las que se destacan los arocloros 1242, 1254 y 1260.

#### **3.2 Fundamento de la técnica analítica**

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 los detectores más utilizados para el análisis de bifenilos policlorados en matrices ambientales se encuentra el de captura de electrones (ECD); un 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  $^{63}\text{Ni}$ , el cual emite partículas  $\beta$  (electrones de baja energía); estas

	<b>DETERMINACIÓN DE BIFENILOS POLICLORADOS (PCB) EN SUELOS Y SEDIMENTOS POR CROMATOGRAFÍA DE GASES CON DETECTOR DE CAPTURA DE ELECTRONES</b>	Código: M2-SAPc-03
		Versión: 1.0
		Fecha: 2012-12-14
		Página: 4 de 20

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.

El peso de la muestra (2- 30 g) es determinado por la técnica de extracción a utilizar.

En general las muestras sólidas son extraídas con acetona/hexano (1:1) o cloruro de metileno/acetona (1:1) utilizando el método de extracción por ultrasonido (Método USEPA 3550), soxhlet (Método USEPA 3540 y 3541), Microondas (Método USEPA 3546) u otra técnica apropiada.

Pueden ser aplicados al extracto una gran variedad de pasos de limpieza, dependiendo de su naturaleza o de las interferencias de la matriz y del analito de interés. Las interferencias en los extractos son eliminadas usando el método de limpieza con ácido sulfúrico/permanganato (Método US EPA 3660 y 3665 A) o limpieza con florisil (Método USEPA 3546).

Después de la limpieza, el extracto es analizado mediante la inyección de una alícuota de muestra al cromatógrafo de gases equipado con una columna capilar estrecha o amplia de sílica gel fundida y detector de captura de electrones (GC/ECD).

### 3.3 Interferencias del método

Las fuentes de interferencias en este método pueden ser agrupadas en tres categorías generales:

- 3.3.1 Contaminaciones del solvente, reactivos o material utilizado para procesar la muestra.
- 3.3.2 Contaminación en el gas de arrastre, partes en el revestimiento de la columna o en la superficie del detector.
- 3.3.3 Compuestos extraídos a partir de la matriz de la muestra y para los cuales el detector produce una respuesta, como los pesticidas clorados y algunos de sus análogos. (DDT, DDE y DDD).

**NOTA:** Un estándar de los análogos del DDT debe ser inyectado para determinar cuál de los picos de los PCB o Aroclor puede ser sujeta a interferencias en las columnas analíticas utilizadas. El DDT puede interferir con el último pico del Aroclor 1254 en algunas muestras de suelo y sedimentos.

3.3.4. Coelución de los analitos relacionados, no todos los 209 congéneres de PCB pueden ser separados con las columnas de GC y el procedimiento descrito en este método. Si este procedimiento se amplía para abarcar otros congéneres, el analista deberá documentar la resolución obtenida para estos congéneres y establecer procedimientos para la presentación de informes de resultados.

3.3.4.1 La interferencia por Ésteres de Ftalato introducidos durante la preparación de la muestra pueden causar un mayor problema en la determinación de PCB:

Estos compuestos pueden ser removidos antes del análisis utilizando el método de limpieza de extractos con ácido sulfúrico/permanganato para la determinación de bifenilos policlorados (PCB) en suelos y sedimentos. Los plásticos flexibles comunes contienen una cantidad variable de Ésteres de Ftalato, los cuales pueden ser fácilmente extraídos por filtración o lixiviación a partir de los materiales durante las operaciones de laboratorio.

Contaminación cruzada del material de vidrio limpio rutinariamente ocurre cuando son manipulados los plásticos durante el procedimiento de extracción, especialmente cuando son manipulados con la superficie húmeda de solvente.

Las interferencias provenientes de Ésteres de Ftalato pueden ser mejor minimizadas evitando el contacto con materiales plásticos y verificando todos los solventes y reactivos. Se requiere una exhaustiva limpieza del material de vidrio para eliminar contaminación por Ésteres de Ftalato.

### **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.

Tener en cuenta que dependiendo del origen de las muestras, se pueden presentar interferencias por efecto de matriz. Las interferencias de matriz pueden variar dependiendo de la fuente de las muestras y su diversidad y ocurren por la coextracción de contaminantes contenidos en ella.

Dependiendo de la fuente de la cual sea tomada la muestra se pueden presentar interferencias, en estos casos se requiere la aplicación de análisis confirmatorio (columna dual o cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas) para incrementar la confiabilidad de la identificación y cuantificación de compuestos determinados por el método aplicado.

La inyección sucesiva de matrices desconocidas puede producir interferencias por efecto memoria de muestras anteriores, ya sea de componentes de la matriz, como de los

analitos de interés. Este problema debe evitarse, realizando una inyección o más de solvente después de la muestras de concentraciones altas, con un elevado ruido de fondo o periódicamente cada número de inyecciones definido en el laboratorio.

#### **4. ASPECTOS DE SALUD Y SEGURIDAD LABORAL**

Tenga 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 y bata de laboratorio.

##### **4.1. Disposición de Residuos**

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

#### **5. EQUIPOS**

##### **5.1. Cromatógrafo de gases.**

Un sistema analítico completo con cromatógrafo de gas apropiado para la inyección en columna, split-splitless y todos los accesorios requeridos incluyendo jeringas, columnas analíticas, gases, detector de captura de electrones (ECD), y registrador/integrador o sistema de datos.

##### **5.2. Columnas de cromatografía de gas (GC):**

Este método describe los procedimientos para análisis por sistemas de una y dos columnas (dual). El método de una sola columna involucra un análisis para determinar que un compuesto que está presente, seguido por un segundo análisis para confirmar la identidad del compuesto. La técnica de una sola columna pueden emplear columnas de diámetro pequeño ( $\leq 0,32$  mm ID) o columnas de diámetro grande (0,53 mm ID). El sistema de dos columnas involucra una sola inyección que es dividida en dos (2) columnas que son montadas en un mismo cromatógrafo de gas. La técnica de dos columnas únicamente utiliza columnas de gran diámetro (0,53 mm ID).

Las columnas listadas en esta sección son las columnas utilizadas para desarrollar el método y obtener los resultados. La mención de estas columnas en este método no excluye el uso de otras columnas que puedan ser utilizadas (encontradas en el mercado o desarrolladas en el laboratorio). El laboratorio puede utilizar columnas documentando los datos de rendimiento (Ej. Resolución cromatográfica, límites de detección) que sean iguales o excedan a los rendimientos descritos en este método, o como apropiadas para el propósito de la aplicación.

Las columnas de diámetro pequeño para análisis con una sola columna se listan a continuación (use ambas columnas para confirmar los compuestos identificados a menos que sea empleada otra técnica de identificación como GC/MS)

- 5.2.1 Columna capilar, Fase metilpolisiloxano (DB-1), diámetro interno 0.32 mm, longitud 30 m, espesor de película 1.0  $\mu\text{m}$ .
- 5.2.2 Capilar, Fase sílica fundida 95% dimetil 5% fenilpolisiloxano (DB-5) o equivalente, longitud 30 m, diámetro interno 0,25 mm, espesor de película de 0,25  $\mu\text{m}$ .
- 5.2.3 Columna capilar, Fase Mezcla 1:1 dimetil silicona y polietilenglicol (Durawax-DX3), diámetro interno 0.32 mm, longitud 30 m, espesor de película 0.25 $\mu\text{m}$ .

Los tres pares de columnas recomendadas se enumeran a continuación.

5.2.4 Par 1 de columnas:

Columna capilar de sílica fundida de 30 m \* 0,53 mm ID enlazada químicamente con SE-54 (DB-5, SPB-5, RTx-5 o equivalente) con un película de 1,5  $\mu\text{m}$  de espesor.

Columna capilar de sílica fundida de 30 m \* 0,53 mm ID enlazada químicamente con 50% de fenil Metilpolisiloxano (DB-1701 o equivalente), con una película de 1,0  $\mu\text{m}$  de grosor.

El par 1 de columnas debe ser montado con la presión adecuada en una unión divisora de vidrio de tres vías en forma de Y (J&W Scientific, Catalog N°. 705-0733) o un conector de sílica fundida en forma de Y (Restek, Catalog No. 20405), o equivalente.

5.2.5 Par 2 de columnas

Columna capilar de sílica fundida de 30 m \* 0,53 mm ID enlazada químicamente con SE-54 (DB-5, SPB-5, RTx-5 o equivalente) con un película de 0,83  $\mu\text{m}$  de espesor.

Columna capilar de sílica fundida de 30 m \* 0,53 mm ID enlazada químicamente con 50 por ciento de fenil metilpolisiloxano (DB-1701 o Equivalente), con una película de 1,0  $\mu\text{m}$  de grosor.

El par 2 de columnas debe ser montado en una T de inyección de vidrio 8". (Supelco, Catalog No 2-3665M), o equivalente.

#### 5.2.6 Par 3 de columnas

Columna capilar de sílica fundida de 30 m \* 0,53 mm ID enlazada químicamente con SE-54 (DB-5, SPB-5, RTx-5 o equivalente) con un película de 1.5 µm de espesor.

Columna capilar de sílica fundida de 30 m \* 0,53 mm ID enlazada químicamente con 35 por ciento de fenil metilpolisiloxano (HP-608, DB-608, SPB-608, RTx-35, o equivalente), con una película de 0,5 µm de grosor.

Este par de columnas se montan en inyectoros y detectores separados.

5.3 Matraces volumétricos de 10 y 25 mL, para preparación de estándares.

5.4 Balanza analítica con precisión de pesada 0,0001g.

## 6. REACTIVOS

Utilice reactivos grado pesticida en todos los procedimientos, salvo se indique lo contrario. Se entiende que todos los reactivos deben cumplir con las especificaciones del comité de reactivos analíticos de la Sociedad Americana de Química, para los reactivos que cuenten con tales especificaciones. Otros grados de reactivos pueden ser usados evaluando primero que el grado de pureza del reactivo es lo suficientemente alto para permitir su uso sin disminuir la exactitud de la determinación.

**NOTA:** Almacene las soluciones estándar (estándares stock, mixtos, calibración, interno, y surrogates) a 4 °C en un contenedor, sellados con tapas de teflón (PTFE), protegido de la luz. Cuando el estándar es preparado, se recomienda que las alícuotas sean almacenadas individualmente en pequeños viales. Todas las otras soluciones estándar deben ser reemplazadas después de seis (6) meses o cuando los ensayos control de calidad de rutina indiquen algún problema

### 6.1. Solventes

Intercambie a n-Hexano o Isooctano antes del análisis, los solventes utilizados en los procedimientos de extracción y limpieza incluyen n-Hexano, Dietiléter, Cloruro de Metileno, Acetona, Acetato de Etilo, e Isooctano (2,2,4-trimetilpentano). Se pueden requerir Acetona o Tolueno para la preparación de algunas soluciones estándar.

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.

Cada uno de los solventes debe ser analizado para demostrar estar libre de Ftalatos.

## **6.2. Agua reactivo libre de compuestos orgánicos.**

Todas las referencias de agua en este método se refieren a Agua reactivo libre de compuestos orgánicos.

## **6.3. Soluciones Estándares Stock (Madre)**

Pueden ser preparadas a partir de materiales estándar puros o pueden ser compradas como soluciones certificadas.

- 6.3.1. Para preparar las soluciones estándar stock pese exactamente cerca de 0,0100 g de compuesto puro. Disuelva el compuesto en Isooctano o Hexano y diluya a volumen en un matraz volumétrico de 10 mL. Si la pureza del compuesto es del 96% o mayor, el peso puede ser utilizado sin la corrección del cálculo de la concentración de la solución estándar stock.
- 6.3.2. Puede utilizar soluciones estándar stock preparadas comercialmente de cualquier concentración si ésta es certificada por el productor o por una fuente independiente.
- 6.3.3. Transfiera la solución estándar a un vial ámbar de vidrio con tapa cubierta interna y almacene a temperatura de 4°C y protegida de la luz. Estas soluciones deben reemplazarse después de 6 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. Soluciones Estándares de Calibración para Arocloros.**

Un estándar que contiene una mezcla de aroclor 1016 y aroclor 1260 incluye muchos de los picos representativos de las cinco mezclas de aroclor. Inicialmente la calibración inicial de múltiples puntos empleando una mezcla de estos aroclor a 5 concentraciones debe ser suficiente para demostrar la linealidad de la respuesta del detector sin la necesidad de realizar calibraciones iniciales de múltiples puntos para cada uno de los siete arocloros. Además, esta mezcla se puede utilizar como un estándar para demostrar que una muestra no contiene picos que puedan representar uno de los arocloros. Este

estándar puede utilizarse para determinarse la concentración de los arocloros 1016 o 1260 en caso que estén presentes en una muestra.

Prepare los estándares de calibración con un mínimo de cinco (5) concentraciones diferentes por dilución del estándar stock con Hexano o iso-octano. Las concentraciones deben corresponder al rango de concentraciones encontradas en muestras reales y en el rango lineal del detector.

Los estándares individuales de cada uno de los otros cinco arocloros servirán de ayuda para los analistas en el reconocimiento del perfil de los patrones. Suponiendo que los arocloros 1016/1260 se han utilizado para demostrar la linealidad del detector, los cinco estándares restantes de arocloros también puede ser usada para determinar el factor de calibración para cada aroclor cuando se utiliza un modelo de regresión lineal. Preparar un estándar de cada uno de los otros arocloros. Las concentraciones deben generalmente corresponden a el punto medio del rango lineal del detector.

#### **6.5. Soluciones Estándares de Calibración para congéneres de PCB**

Si los resultados se determinan para los distintos congéneres de PCB, los estándares se pueden preparar desde los 19 congéneres listados en la **sección 2.1**. Este procedimiento puede ser apropiado para otros congéneres, pero el analista debe documentar la resolución de los congéneres para informar de los resultados de coelución.

Los estándares de los congéneres se pueden preparar de manera similar a los arocloros, o pueden ser comprados como soluciones certificadas. Prepare los estándares de calibración con un mínimo de cinco (5) concentraciones diferentes por dilución del estándar stock con Hexano o Iso-octano. Las concentraciones deben corresponder al rango de concentraciones encontradas en muestras reales y en el rango lineal del detector.

#### **6.6. Estándar Interno.**

Cuando los congéneres de PCB se han de determinar, el uso de un estándar interno es recomendable. El decaclorobifenil (PCB 209) puede ser utilizado como estándar interno, agregándose a cada extracto de muestra antes del análisis, incluyéndolo en cada uno de los estándares de calibración.

Cuando los PCB se han de determinar cómo arocloros, el estándar interno normalmente no se utiliza y el decaclorobifenil se emplea como estándar de surrogate.

Prepare una solución de 5.0 mg/l de decaclorobifenil, y agregue una porción de 10 µL de esta solución en cada extracto de muestra de 1 mL.

#### **6.7. Estándar surrogate**

El rendimiento del método debe ser monitoreado utilizando compuestos surrogate. Los estándares surrogate son adicionados a todas las muestras, blanco de método, adiciones

de matriz, y estándares de calibración. Los siguientes compuestos son sugeridos como estándares surrogates:

Cuando los PCB se han de determinar como arocloros, el decaclorobifenil puede ser utilizado como un surrogate, y se añade a cada muestra antes de la extracción. La concentración de la solución recomendada es de 5.0 mg/L en acetona, el tetracloro-m-xileno también puede ser utilizado como surrogate para el análisis de arocloros.

Cuando la determinación se realiza como congéneres, el decaclorobifenil es utilizado como estándar interno y por lo tanto no puede ser utilizado como surrogate. El tetracloro-m-xileno puede ser utilizado como surrogate para el análisis de los congéneres de PCB. La concentración de la solución recomendada es de 5.0 mg/L en acetona.

El 2,2',4,4',5,5'-hexabromobifenilo puede ser usado como estándar interno o surrogate.

Transfiera las soluciones estándares a un vial ámbar de vidrio 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.

## **7. MATERIALES E INSUMOS**

- 7.1** Mortero
- 7.2** Micropipetas con puntas desechables de teflón.
- 7.3** Pipetas Pasteur.
- 7.4** Papel de aluminio.
- 7.5** Marcadores vidriograf.
- 7.6** Pipeteador de caucho.
- 7.7** Balones aforados de vidrio clase A, con tapa esmerilada.
- 7.8** Viales ámbar, con tapa rosca plástica y con *septa* de teflón / goma roja de 2 mL.
- 7.9** Papel absorbente.
- 7.10** Frascos de vidrio ámbar con tapa rosca para residuos de solventes.
- 7.11** Frasco para residuos de PCB.
- 7.12** Viales transparentes de 20 y 50 mL, con tapa plástica y *septa* de teflón.
- 7.13** Jeringas analíticas (10 µL, 100 µL y 1000 µL)

**Nota:** Todos los viales utilizados para el análisis deben ser nuevos, o en su defecto, previamente lavados y sometidos a tratamiento térmico en un horno. Las septas deben ser nuevas. Una vez este tipo de insumos se utilizan para el análisis de PCB en aceites deben descartarse de manera adecuada según las disposiciones de los entes reguladores competentes.

## **8. CONSIDERACIONES PARA LA TOMA DE MUESTRA**

Los extractos deben ser almacenados bajo refrigeración en la oscuridad y analizados dentro de los 40 días posteriores a su extracción.

## **9. LIMPIEZA DE 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 último solvente utilizado tan pronto como sea posible.
- 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.** Coloque 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. Extracción de la Muestra**

Las muestras de suelos y sedimentos son extraídas con acetona/hexano (1:1) o diclorometano/acetona (1:1) utilizando el método de extracción por ultrasonido (Método USEPA 3550), soxhlet (Método USEPA 3540C y 3541), Microondas (Método USEPA 3546) u otra técnica apropiada (Métodos 3545, 3562).

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

Se utilizan muestras con adiciones conocidas para verificar la aplicabilidad de la técnica de extracción para cada tipo de muestra. Agregue una cantidad conocida de analito a cada tipo de muestra para determinar el porcentaje de recuperación y el límite de detección para la muestra.

### **10.2. 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

de suelos y sedimentos para la determinación específica de bifenilos policlorados (PCB) se purifican con ácido sulfúrico/permanganato (Método USEPA 3565A) o con florisil (Método USEPA 3546).

## **11. PROCEDIMIENTO ANALÍTICO**

### **11.1. Condiciones Cromatográficas**

Este método permite al analista escoger entre una configuración de un puerto de inyección para una o dos columnas, pueden utilizarse columnas de diferentes diámetros (grande o pequeño), la identificación se basa en los tiempos de retención a partir de una columna pero debe ser confirmada por una segunda.

#### **11.1.1. Análisis con una sola columna.**

Este método capilar GC/ECD permite al analista la opción de utilizar columnas capilares de pequeño diámetro 0,25 – 0,32 mm ID o columnas capilares de gran diámetro 0,53 mm ID. Los datos de rendimiento son proporcionados para ambas opciones.

El uso de columnas de diámetro pequeño (< 0,32 mm ID) es recomendado cuando el analista requiere cromatogramas de alta resolución. El uso de columna de diámetro pequeño es apropiado para muestras relativamente limpias o para extractos que han sido preparados por uno o más de los procesos de limpieza referenciados en este método. Las columnas de diámetro mayor (0,53 mm) son apropiadas para muestras complejas.

En la tabla 1 y 2 presentan las condiciones de operación del GC para el método de análisis en una sola columna.

#### **11.1.2. Análisis por dos Columnas.**

El método de dos columnas - dos detectores involucra el uso de dos columnas tubulares abiertas de sílica gel fundida de 30 m \* 0,53 mm ID con distintas polaridades, de este modo, el analito es separado por diferentes selectividades. Las columnas son conectadas por una T en el puerto de inyección y separada para dos detectores de captura de electrones. Las condiciones de operación del cromatógrafo de gases se listan en la tabla 3.

**Tabla 1.** Condiciones cromatográficas para columnas de diámetro pequeño para análisis en una sola columna

<b>Columna</b>	<b>Parámetro</b>	<b>Especificación</b>
<p>Columna capilar de sílica fundida de 30 m * 0,25 mm ó 0,32 mm ID enlazada químicamente con SE-54 (DB-5 o Equivalente), una película de 1 µm de espesor.</p>	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 mantener a 260 °C
<p>Columna capilar de sílica fundida de 30 m * 0,25 mm ID enlazada químicamente con 35 por ciento de fenil metilpolixilosano (DB-608, SPB-608, o equivalente), con un revestimiento de 2,5 µm de grosor, y una película de 1 µm de grosor.</p>	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 160 °C mantenido 2 min a 290 °C a una velocidad de 5°C/min, y mantener a 290 °C mantenido a 1 min.

**Tabla 2.** Condiciones cromatográficas para columnas de diámetro grande, análisis en una sola columna

<b>Columna</b>	<b>Parámetro</b>	<b>Especificación</b>
Columna capilar de sílica fundida de 30 m * 0,53 mm ID enlazada químicamente con SE-54 (DB-5, SPB-5, RTx-5 o equivalente), con una película de 1,0 µm de grosor.	Gas de arrastre	Helio
	Flujo del gas de arrastre	6 mL/min
	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 mantener a 260 °C

Columna capilar de sílica fundida de 30 m * 0,53 mm ID enlazada químicamente con 50 por ciento de fenil metilpolixilosano (DB-1701 o equivalente), con una película de 1,0 µm de grosor.	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 160 °C mantenido 2 min a 290 °C a una velocidad de 5°C/min, y mantener a 290 °C mantenido a 1 min.

**Tabla 3.** Condiciones cromatográficas para el análisis en dos columnas (dual)

Columna	Parámetro	Especificación
Columna 1: Columna capilar de sílica fundida de 30 m * 0,53 mm ID enlazada químicamente con SE-54 (DB-5, SPB-5, RTx-5 o equivalente) con un película de 0,83 µm de espesor.	Gas de arrastre	Helio
	Flujo del gas de arrastre	6 mL/min
	Presión del gas de arrastre	9 psi
	Temperatura del inyector	250 °C
Columna 2: Columna capilar de sílica fundida de 30 m * 0,53 mm ID enlazada químicamente con 50 por ciento de fenil metilpolisiloxano (DB-1701 o Equivalente), con una película de 1,0 µm de grosor.	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 mantener a 260 °C

## 12. METODOLOGÍA DE CÁLCULO

### 12.2. 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 la **sección 6.3**. 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 característicos escogidos. 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.

$\alpha$ : pendiente (obtenida de la regresión lineal).

$I$ : intercepto (obtenido de la regresión lineal).

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  $\alpha$  varía. Este método es aplicable a la cuantificación de PCB como Arocloros o como congéneres.

### 12.3. 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  $\text{mg}_{\text{Aroclor}}/\text{L}_{\text{solución}}$ ).

### 12.4. PCB como Arocloros

En caso de que la concentración final de PCB en la muestra se reporte como Arocloros en suelo ( $\text{mg}/\text{kg}$ ), se calcula a partir de la siguiente ecuación:

$$PCB_T = C_{PCB} \times \frac{V_f}{m_s}$$

Donde:

$PCB_T$ : concentración total de PCB en el suelo o sedimento ( $mg_{Aroclor}/kg_{Suelo/sedimento}$ ).

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

$V_f$ : Volumen final de aforo del extracto ( $L_{solución}$ ).

$m_s$ : Masa inicial de muestra (en  $Kg_{muestra}$ ).

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.

### 12.5. 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:

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

Donde:

$PCB_T$ : Concentración total de PCB en el aceite ( $mg_{Aroclor}/kg_{suelo/sedimento}$ ).

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

$V_f$ : Volumen final de aforo del extracto ( $L_{solución}$ ).

$m_s$ : Masa inicial de muestra (en  $Kg_{muestra}$ ).

La  $PCB_T$  es una medida en base húmeda. Si es necesario expresarla en base seca, debe determinarse el porcentaje de humedad con un método válido y recalcularla partiendo de la  $PCB_T$  obtenida anteriormente.

## 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 las 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 utilizaron muestras reales de suelos y sedimentos, 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**

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

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

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

EPA, U. S., Ultrasonic Extraction. EPA 3550C, 2007.

EPA, U. S., Soxhlet Extraction. EPA 3540C, 1996.

EPA, U. S., Automated Soxhlet Extraction. EPA 3541, 1994.

EPA, U. S., Microwave Extraction. EPA 3546, 2007.

EPA, U. S., Pressurized Fluid Extraction. EPA 3545, 1996.

EPA, U. S., Supercritical Fluid Extraction of Polychlorinated biphenyls (PCB) and organochlorine pesticides. EPA 3545, 2007.