



PROCEDIMIENTOS OPERATIVOS ESTANDARIZADOS

SEMARNAT
SECRETARÍA DE
MEDIO AMBIENTE
Y RECURSOS NATURALES



CONAGUA
COMISIÓN NACIONAL DEL AGUA

PROCEDIMIENTOS OPERATIVOS ESTANDARIZADOS

Procedimientos Operativos Estandarizados

ISBN: 978-607-8246-65-6

D. R. © Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales
Boulevard Adolfo Ruiz Cortines No. 4209 Col. Jardines en la Montaña,
C. P. 14210, Tlalpan, México, D. F.

Comisión Nacional del Agua
Insurgentes Sur No. 2416 Col. Copilco El Bajo
C.P. 04340, Coyoacán, México, D.F.
Tel. (55) 5174-4000

Subdirección General Técnica
Gerencia de Calidad del Agua
Laboratorio Nacional de Referencia

Impreso y hecho en México
Distribución gratuita. Prohibida su venta.
Queda prohibido el uso para fines distintos al desarrollo social.
Se autoriza la reproducción sin alteraciones del material contenido en esta obra, sin fines de lucro y citando la fuente.

Prefacio

La Conagua a través de la Gerencia de Calidad del Agua, dentro del Programa de Modernización del Manejo del Agua del Banco Mundial, rehabilitó las instalaciones del entonces Centro de Investigación y Entrenamiento para el Control de la Calidad del Agua (CIECCA) para establecer el Laboratorio Nacional de Referencia (LNR); con el objeto de implementar un laboratorio patrón para lograr comparabilidad y confianza de los resultados analíticos emitidos por laboratorios de calidad del agua en México, con el fin de contar con laboratorios capaces técnicamente de realizar la evaluación de la conformidad de acuerdo a la Ley Federal sobre Metrología y Normalización (LFMN) para que se puedan tomar las acciones necesarias para preservar las aguas nacionales y mejorar la salud de la población y de los ecosistemas acuáticos.

Derivado de lo cual, el LNR es el brazo técnico para la evaluación, regulación y control analítico de las mediciones realizadas en laboratorios públicos y privados de calidad del agua. Esta función, la realiza a través de evaluar técnicamente a los laboratorios públicos y privados que realizan análisis de calidad del agua e implementar y validar técnicas analíticas diversas con objeto de verificar la aplicación de metodologías analíticas estandarizadas en normativas nacionales e internacionales.

Una vez que los procesos productivos, están relacionados con el uso de sustancias cada vez más complejas y tóxicas, la Conagua ha considerado fundamental medir su presencia en cuerpos de agua. Con objeto de actualizar las herramientas técnicas y normativas para análisis de calidad del agua, se planteó en una primera etapa una serie de sustancias objetivo para estandarizar su medición en México y verificar el alcance de métodos internacionalmente estandarizados. De estos trabajos se obtuvieron Procedimientos Operativos Estandarizados (POES) siguientes:

- 2,4-D y 2,4,5-T en agua natural y residual
- Carbamatos en agua natural y residual
- Carbón Orgánico Total en agua natural, residual y salina
- Compuestos orgánicos clorados en agua natural, residual y salina
- Compuestos orgánicos fosforados en agua natural, residual y salina

- Compuestos orgánicos semivolátiles en agua natural, residual y salina
- Compuestos orgánicos semivolátiles en sedimento marino
- Compuestos orgánicos volátiles en agua natural, residual y salina
- Diquat y Paraquat en agua natural y residual
- Formaldehído y acroleína, en agua natural y residual
- Mercurio en agua y sedimento de agua natural y salina
- Metales en sedimento de agua natural y salina
- Toxafeno en agua natural y residual

Los POES presentados aquí, fueron en parte trabajados en el marco de un convenio de colaboración de la Conagua con la Agencia de Cooperación Técnica del Japón (JICA). La presente publicación se realiza con objeto de difusión.

**Procedimiento operativo estandarizado
para medir los compuestos 2,4-D y 2,4,5-T
por cromatografía de gases con detector de
espectrómetro de masas**



Procedimiento operativo estandarizado para medir los compuestos 2,4-D y 2,4,5-T por cromatografía de gases con detector de espectrómetro de masas

Contenido

Introducción	2
1. Aplicación y alcances.....	2
3. Definiciones.....	3
4. Interferencias.....	4
5. Seguridad.....	4
6. Equipos y materiales	4
7. Reactivos y patrones/estándares	5
8. Recolección, preservación y almacenamiento de muestras.....	6
9. Control de calidad	6
10. Calibración.....	6
11. Procedimiento	7
12. Cálculos	8
13. Manejo de residuos.....	8
14. Bibliografía.....	8
15. Tablas y figuras.....	9

Introducción

Para el monitoreo ambiental se incrementan cada día más la demanda del análisis de sustancias químicas a niveles traza con propiedades hidrofílicas, incluyendo por ejemplo varios agroquímicos con bajo nivel de persistencia; medicamentos; hormonas y sus productos metabólicos, así como sub-productos de desinfección, entre otros.

Con respecto a las técnicas analíticas, actualmente se están desarrollando mediante la extracción líquido/líquido y posteriormente extracción en Fase Sólida (SPE) y Cromatografía de gases / Espectrómetro de Masas como las principales técnicas de preparación de muestras y análisis de contaminantes. Los herbicidas de uso común son monitoreado con el fin de establecer los límites permisibles de este en aguas nacionales, debido a que su acumulación en los cuerpos de agua causa estragos a la salud, siendo este un inhibidor de la colinesterasa y un carcinogénico potencial.

Los herbicidas son utilizados también bajo forma de sales, ésteres y aminas, pertenecen al grupo de los derivados de ácidos fenoxi-alifáticos que son denominados herbicidas hormonales, herbicidas-auxinas o fito-hormonales sintéticos porque la acción de esos compuestos en los vegetales se asemeja a la de las auxinas u hormonas vegetales. Ellos son utilizados para combatir las malezas u otras plantas perjudiciales herbáceas, leñosas, árboles o arbustos; además de herbicidas, son también defoliantes, arbusticidas o arboricidas.

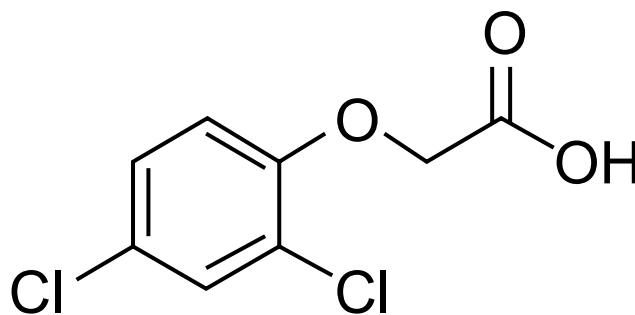
1. Aplicación y alcances

- 1.1 Propósito: Este procedimiento emplea Cromatografía Gases (GC) junto con la espectrometría de masas; y se aplica a la determinación de sustancias hidrofóbicas volátiles o semivolátiles que son capaces de ser extraídas con disolventes orgánicos, que son favorables para CG con la detección por espectrometría de masas.
- 1.2 Analitos: Los compuestos para los cuales es aplicable son 2,4-D (ácido 2,4-diclorofenoxiacético) y 2,4,5-T (ácido 2,4,5-triclorofenoxiacético). La sensibilidad depende del nivel de interferentes dentro de una matriz dada. Los límites de detección, sensibilidad e intervalos óptimos de trabajo de los compuestos antes mencionados, varían dependiendo de la matriz y el equipo utilizado.

- 1.3 Matriz: Las matrices a las cuales puede aplicarse este procedimiento son agua natural.
- 1.4 Limitaciones. Deberá realizarse con un estricto control en el manejo de los reactivos de derivatización, los cuales están categorizados como carcinógenos. Los reactivos y las sustancias relacionadas deberán ser tratados en la cámara de extracción de aire. El presente procedimiento no ha sido probado en aguas marinas o salobres.
- 1.5 Restricciones. Este procedimiento está diseñado para ser supervisado y utilizado por Químicos analistas experimentados en la operación del equipo de Cromatografía de Gases con detector de masas. Cada analista debe demostrar la habilidad y los conocimientos para generar resultados aceptables con este procedimiento antes de analizar muestras reales.

2. Principio y resumen

- 2.1 Principio: Una muestra acuosa se pre-digiere con compuestos alcalinos y los ésteres naturales de los analitos se digieren y quedan aislados. Posteriormente, la muestra es pre-limpiada por la técnica de extracción líquido-líquido y las interferencias hidrofílicas coexistentes se extraen para ser removidas. Los analitos se extraen por medio de la técnica de Extracción de Fase Sólida (SPE, por sus siglas en inglés *Solid Phase Extraction*), y se metilan con trimetilsilildiazometano (TMSD). El extracto se inyecta al Cromatógrafo de Gas/Espectrómetro de Masas (GC/MS, *Gas Chromatography / Mass Spectrometry*). Se identifican los derivados de los analitos con base en sus iones de fragmento específicos y tiempo de retención y se cuantifica con el procedimiento de estándar interno.



2.2 Resumen Se toman 250 mL de la muestra acuosa en un embudo de separación, se agregan los surrogados, se adiciona NaCl y se alcaliniza con el sulfato de sodio e hidróxido de sodio, para mantenerse por 1 hora. Posteriormente, se realiza extracción líquido-líquido 3 veces con el diclorometano y se eliminan las capas orgánicas. La capa acuosa restante se acidifica con el ácido sulfúrico.

Se recolectan los analitos en la capa acuosa superior con un disco de resina de poli-divinilbenceno y son eluidos con metil-tert-butil-éter (MTBE). El extracto de MTBE se deshidrata con sulfato de sodio anhidro y se concentra a 4 mL con el flujo de nitrógeno.

Una disolución de 1 mL de metanol y 50 µL de trimetilsilildiazometano (TMSD) se mezcla en los 4 mL de extracto obtenidos anteriormente. El extracto se calienta a 50°C por 1 hora y los analitos se derivatizan en este proceso. Luego, el exceso de TMSD se consume con un poco de ácido acético y un estándar interno se agrega al extracto. Los derivados en el extracto son determinados con el GC/MS.

perimental (LC Experimental) es la concentración mínima de cada analito que se puede determinar con certeza. El LC Experimental se calcula con base en la repetibilidad de todo el proceso de análisis (preparación de muestra y medición con instrumento). Para obtener el LC Experimental se calcula la desviación estándar de la muestra multiplicada 10 veces, utilizando los datos del análisis de las varias réplicas (típicamente n=7), de la muestra fortificada de baja concentración (Ecuación 1).

$$LC_{Experimental} = 10 \times S_{smp} \quad (\text{Ecuación 1})$$

Donde:

S_{smp} : Desviación estándar de la muestra obtenida por mediciones paralelas

3.5 Recuperación: Se calcula la recuperación de los analitos utilizando las muestras de matriz fortificada y las muestras de matriz blanco (Ecuación 2).

$$\text{Recuperación (\%)} = (C_{fm} - C_{bm}) / C_f \times 100 \quad (\text{Ecuación 2})$$

Donde:

C_{fm} : concentración obtenida de la muestra de matriz fortificada

C_{bm} : concentración obtenida de la muestra de matriz blanco

C_f : concentración fortificada

3.6 Blanco Reactivo: Se analiza el agua destilada aplicando el mismo procedimiento que las muestras de matriz, incluyendo la preparación y medición de muestras. El blanco reactivo representa contaminación e interferencias como resultado del proceso analítico.

3.7 Blanco Fortificado: Se adicionan cantidades conocidas de analitos al agua destilada. Éstas se miden utilizando el mismo procedimiento que las muestras matrices y validan la confiabilidad del método.

3.8 Muestra de Control de Calidad (MC): Es una disolución de analitos y se aplica para revisar el desempeño del instrumento. La concentración de la MC deberá estar en el rango medio de la curva de calibración. En cada uno de los lotes de análisis, la MC deberá ser medida de manera rutinaria, cada 20 muestras y al final

3. Definiciones

Para los propósitos de este procedimiento se establecen las siguientes definiciones:

3.1 Disolución Patrón Primario (DPP): Es una disolución de una concentración conocida y preparada partiendo de la reserva primaria (*primary stock*). (En casos típicos, la reserva primaria es la sustancia pura.) Básicamente, la DPP contiene solamente un analito.

3.2 Estándar de Dilución Secundaria (EDS). El EDS se proporciona para la conveniencia del siguiente procedimiento: Preparación de los Estándares de Calibración y Pruebas del Límite de Cuantificación Experimental (LC Experimental) y de Recuperación. En el caso del análisis simultáneo con múltiples analitos, se mezclan y se diluyen diferentes volúmenes de DPP dependiendo de la sensibilidad de cada analito.

3.3 Estándares de Calibración: Los estándares de calibración se preparan del EDS y se usan para obtener la curva de calibración de cada analito.

3.4 Límite de Cuantificación Experimental (LC Experimental): El Límite de Cuantificación Ex-

de un análisis de secuencia. Adicionalmente, es preferible que se obtenga la MC de una fuente externa al laboratorio o que se prepare por una fuente distinta a los Estándares de Calibración. De esta manera, la MC representa los problemas de contingencia de los Estándares de Calibración (ejemplo: deterioro, error de preparación).

4. Interferencias

- 4.1 Los disolventes, reactivos, la cristalería, y otros instrumentos de procesamiento de muestras pueden producir señales diferenciados o líneas de referencia elevadas, o ambas, causando malinterpretaciones de los cromatogramas o del espectro. Se debe demostrar que todos estos materiales se encuentran libres de interferencias bajo las condiciones de los análisis analizando los blancos del procedimiento. Puede que sea necesaria la selección específica de reactivos y disolventes de purificación por destilación en todos los sistemas de cristal.
- 4.2 Una interferencia causada durante el proceso de preparación de la muestra será observada en concentraciones muy bajas. La principal causa podrían ser los plastificantes eluidos del disco de extracción de fase sólida.
- 4.3 Los interferentes co-extraídos de la muestra varían considerablemente de fuente a fuente. Se deben verificar los tiempos de retención del analito objetivo utilizando materiales de referencia. Todo lo que se utilice deberá ser lavado con detergente, enjuagado con agua de la llave y con agua destilada, así como acetona.
- 4.4 En el caso de que la muestra contenga grandes cantidades de sustancias orgánicas, podría emulsificarse en el proceso de la extracción líquido-líquido. Si esto fuese a ocurrir, aplicar las contramedidas apropiadas.

5. Seguridad

- 5.1 Aspectos Generales: Este método no menciona todas las precauciones de seguridad asociadas con su uso. El laboratorio es responsable de mantener un ambiente de trabajo seguro y un archivo de las normas de seguridad respecto a la exposición y manejo seguro de

las sustancias químicas especificadas en este método. Se debe tener un archivo de referencias de las hojas de información de seguridad el cual debe estar disponible a todo el personal involucrado en estos análisis.

- 5.2 Carcinogenicidad: La carcinogenicidad de todos los reactivos no ha sido determinada con precisión, de todas maneras, cada sustancia química debe ser tratada como potencial peligro a la salud. La exposición a estas sustancias químicas debe ser reducida al menor nivel posible. Se sugiere que el laboratorio realice monitoreos de higiene ocupacional de cada reactivo a los que pueda estar expuesto el analista y que dichos resultados estén disponibles para los analistas.

6. Equipos y materiales

Todos los materiales volumétricos que se utilizan en este procedimiento deben ser de clase "A" o la calibración deberá ser verificada.

- 6.1 Equipo
Los siguientes equipos y materiales son necesarios para el uso de las porciones de CG/MS en este procedimiento.
 - 6.1.1 Cromatógrafo de Gases / Espectrómetro de Masas (GC/MS)
 - 6.1.2 Balanza analítica: La balanza deberá ser capaz de pesar hasta 0.1 miligramos.
 - 6.2.3 Potenciómetro: El medidor deberá estar calibrado y con la capacidad de medir hasta 0.1 o menos.
 - 6.1.4 Placa de calentamiento que se pueda controlar a 40° C.
 - 6.1.5 Concentrador con flujo de nitrógeno y calentador (40° C).
- 6.2 Materiales
 - 6.2.1 Columna para GC/MS: 35ms o equivalente (30 m longitud, 0.25 mm diámetro interior, 0.25 μ m espesor del filme)
 - 6.2.2 Disco SPE: Bakerbond Speedisk DVB.
 - 6.2.3 Extractor múltiple para SPE: Para colocar los discos SPE y aspirar las muestras y disolventes.
 - 6.2.4 Probeta de vidrio, de volumen 100 mL y 250 mL
 - 6.2.5 Embudo de separación: volumen 500 mL
 - 6.2.6 Vaso de precipitados: volumen 500 mL

- 6.2.7 Tubo capilar: con tapa sellada, volumen 10 mL o más
- 6.2.8 Tubos graduados: de vidrio, 1 a 10 mL graduación
- 6.2.9 Micro-jeringa: de varios volúmenes
- 6.2.10 Pipeta de Pasteur: de vidrio, de tallo largo.
- 6.2.11 Cronómetro: con conteo de segundos
- 6.2.12 Papel de prueba pH: Intervalo de 1 a 14 (tipo universal)
- 6.2.13 Vial para GC/MS: de vidrio, de volumen 2 mL con septa de teflón
- 6.2.14 Matraz volumétrico: de vidrio, volumen de 1 mL, 10 mL y 100 mL
- 6.2.15 Pipetas para medición: de vidrio, 5 mL y 10 mL

7. Reactivos y patrones/estándares

- 7.1 Se deben utilizar los químicos de grado reactivo analítico en todas las pruebas. A menos que se de otra indicación, se pretende que todos los reactivos sigan las especificaciones del Comité en Reactivos Analíticos de la Sociedad Americana de Química donde se dispone de dichas especificaciones. Pueden usarse otros grados, proporcionando primero que el reactivo sea lo suficientemente puro para permitir su uso sin disminuir la exactitud de la determinación. Los reactivos se deben de almacenar en vidrio para prevenir la lixiviación de contaminantes de los envases de plástico
 - 7.1.1 Agua para reactivos libre de orgánicos - Agua grado reactivo tipo I ASTM.
 - 7.1.2 Material de Referencia de 2,4-D
 - 7.1.3 Material de Referencia de 2,4,5-T
 - 7.1.4 2,4-D, Anillo-13C6 :, 100 mg/L.
 - 7.1.5 2,4,5-T, Anillo-13C6 :, 100 mg/L
 - 7.1.6 Fenantreno-d10
 - 7.1.7 Tri-metil-silil-diazometano (TMSD), 2 M disolución de hexano
 - 7.1.8 Diclorometano: grado análisis de residuos
 - 7.1.9 Ácido sulfúrico: grado reactivo analítico
- 7.2 Disoluciones madre. Las secciones siguientes describen la preparación de las disoluciones madre, intermedia y de trabajo para los compuestos de interés. Este argumento se muestra como un ejemplo, y se pueden utilizar otros acercamientos y concentraciones de los compuestos objetivos de manera apropiada para aplicaciones destinadas.

Las disoluciones de analito se deben conservar a 4°C en viales sellados y protegidos de la luz. Estas disoluciones deben ser reemplazadas regularmente. Todas las disoluciones de analito deberán prepararse cuando se requieren.

- 7.2.1 Disolución Patrón Primario (DPP) 2,4-D. Se pesa con precisión 10.0 mg del estándar 2,4-D y se disuelve con diclorometano en un matraz volumétrico de 10 mL. Esta disolución de 100 mg/L es el DPP de 2,4-D.
- 7.2.2 Disolución Patrón Primario (DPP) 2,4,5-T: Se pesa con precisión 10.0 mg del estándar 2,4,5-T y se disuelve con diclorometano en un matraz volumétrico de 10 mL. Esta disolución de 100 mg/L es el DPP de 2,4,5-T.
- 7.2.3 Estándar de Dilución Secundaria (EDS) de 2,4-D y 2,4,5-T :Se toman 100 µL de 2,4-D DPP (7.2.1.1) y de 2,4,5-T DPP (7.2.1.2) en un matraz volumétrico de 10 mL y se diluye con diclorometano. Esto es 1 mg/L EDS de 2,4-D y 2,4,5-T.
- 7.2.4 Estándar interno (ISTD): Debe de emplearse una disolución de 2 mg/L de fenantreno-d10 en diclorometano.
- 7.2.5 Surrogado: Se toman 500 µL de 2,4-D-13C6 DPP (7.2.1.3) y de 2,4,5-T-13C6 DPP (7.2.1.4) en un matraz volumétrico de 10 mL y se diluye con diclorometano.
- 7.2.6 Estándar de Calibración: Se preparan cinco disoluciones de diferentes concentraciones de 2,4-D y 2,4,5-T en el rango apropiado (típicamente de 10 a 100 µg/L). Se toma el volumen apropiado (típicamente, 10 a 100 µL) de EDS y 10 µL de surrogado en un matraz volumétrico de 1 mL y se diluye con el metanol / MTBE. La disolución se saca y se vierte en un vial se calienta a 50° C durante 1 hora (aún no selle el vial). Luego se agregan 20 µL de ácido acético / metanol y 10 µL de ISTD al vial. Se sella el vial y se realiza la medición en el GC/MS.
- 7.3 Metanol / MTBE: Se mezcla el metanol con el MTBE en una proporción de 20:80.
- 7.4 Ácido acético / metanol: Se diluye 6 mL de ácido acético glacial en 50 mL de metanol.
- 7.5 Hidróxido de sodio 6 M: Se disuelven 12 g de hidróxido de sodio en 50 mL de agua destilada.
- 7.6 Ácido sulfúrico 6 M: Se mezclan 33.5 mL de ácido sulfúrico con 66.5 mL de agua destilada.

- 7.7 Sulfato de sodio tratado: El reactivo de sulfato de sodio anhidro, se pone en una bandeja poco profunda y se calienta a 400° C durante 4 horas. Después de enfriarse, el sulfato de sodio se cubre con dietil éter y se le agrega aproximadamente 0.7 mL de ácido sulfúrico mientras se agita vigorosamente. El dietil éter restante se evapora en vacío durante una noche y el sulfato de sodio se almacena en un horno a 100°C.

Nota 1: El tratamiento anterior puede omitirse al utilizar un grado más alto del reactivo sulfato de sodio. Verifique si se obtiene una recuperación satisfactoria.

8. Recolección, preservación y almacenamiento de muestras

- 8.1 Recolectar muestras en botellas de vidrio de 500 mL. Usar vidrio ámbar o protegerlas de la luz solar.
- 8.2 Si se detecta en la muestra el cloro residual, agregue algún reductor apropiado (Ejemplo: tiosulfato o ascorbato) para que se consuma.
- 8.3 Las muestras se almacenan en 4°C y deben analizarse lo más pronto posible.

9. Control de calidad

Control de calidad en las mediciones de rutina. Los siguientes puntos deberán validarse en cada uno de los lotes de mediciones.

- 9.1 Curva de calibración: Analizar cada uno de los estándares de calibración y obtener la curva de calibración con base en la regresión del área pico correspondiente a la concentración.
- 9.2 Blanco de reactivo: El agua destilada se mide como blanco de reactivo. Se prepara de la misma manera y simultáneamente que las muestras matrices. El resultado del blanco de reactivo deberá sustraerse de los resultados de las muestras, debido a que puede ocurrir una interferencia de bajo nivel en este procedimiento. La interferencia pudiera ser debido a los plastificantes eluidos del disco de extracción de la fase sólida.

- 9.3 Blanco fortificado: Se fortifican 250 µL del EDS y 50 µL del surrogado en 250 mL de agua destilada como blanco fortificado. En este caso, la concentración fortificada en la muestra es de 0.001 mg/L. Se prepara y se mide el blanco fortificado de la misma manera y simultáneamente que las muestras.

- 9.4 Muestra de control de calidad: En cada uno de los lotes de análisis, la muestra para el control de calidad se mide cada 20 muestras y al final de un análisis de secuencia

- 9.5 Recuperaciones de Fortificados: Sustraer el blanco reactivo del blanco fortificado y reportar la diferencia como la recuperación de los analitos. La recuperación deberá ser casi 100% debido a que en este procedimiento se aplican surrogados marcados como isótopos. La respuesta del surrogado se divide por la respuesta del ISTD. Comparar los cocientes entre los estándares de calibración y las muestras matrices. Si la recuperación se desvía $100 \pm 40 \%$, las muestras correspondientes deberán volverse a preparar.

Nota 2. En caso de usar muestras fortificadas, el laboratorio debe evaluar los datos de recuperación del fortificado a partir de muestras individuales versus los límites de control del fortificado desarrollados por el laboratorio.

- 9.6 Se recomienda que se adopte prácticas de garantía de calidad adicionales para usarse con este procedimiento. Las prácticas específicas que son más productivas dependen de las necesidades del laboratorio y la naturaleza de las muestras. Cuando sea posible, participar en estudios de intercomparación.

10. Calibración

La calibración y la validación se realizan rutinariamente en cada lote del análisis como sigue:

- 10.1 Poner en marcha los sistemas CG/MS (auto-afinación): Llevar a cabo la auto-afinación y validación del sistema GC/MS.
- 10.2 Calibración: Analizar cada estándar de calibración, obtener la curva de calibración con base en la regresión de la respuesta que corresponde a la concentración y calcular el factor de respuesta relativa (RRF, Relative Response

Factor) y el Límite de Cuantificación Instrumental (LC Instrumental) a través de la regresión lineal.

En este procedimiento, los analitos marcados como isótopos se aplican a los surrogados, por lo que el RRF se calcula con base en el surrogado como se muestra en la Ecuación 3.

$$RRF = \{(As)(C_{sur})\} / \{(Asur)(Cs)\} \quad \text{(Ecuación 3)}$$

Donde:

A_s : Respuesta del analito

A_{sur} : Respuesta del surrogado

C_{sur} : Concentración del surrogado ($\mu\text{g/L}$)

C_s : Concentración del analito ($\mu\text{g/L}$)

Si el RRF o el LC Instrumental varían demasiado con respecto al lote de análisis previo o diario, verificar la causa del fenómeno.

10.3 Validación de la calibración extendida: En cada lote de análisis se mide la Muestra de Control de Calidad (MCC) cada 20 muestras y al final de un análisis de secuencia. La MCC es una disolución de concentración conocida (Sec. 3.10).

Si la respuesta o el tiempo de retención de una MC varían demasiado de la calibración (Sec. 10.2), verifique la causa del fenómeno y realice de nuevo el análisis de secuencia.

11. Procedimiento

11.1 Preparación de la muestra: El diagrama de flujo para este proceso de preparación de muestras se describe en las Figuras 1 y 2. Los detalles son los siguientes:

11.1.1 Muestreo, adición de NaCl y pre-digestión: Se toman 250 mL de la muestra en la probeta y se vierte en el embudo de separación. Se agregan 50 μL del surrogado con micro jeringa; se agregan 50 g de sulfato de sodio en el embudo y se disuelven. Posteriormente, se agregan 4 mL de del hidróxido de sodio 6 M en el embudo y se agita. Se verifica el pH de la muestra con el papel de prueba de pH y si el pH es menor de 12, se ajusta el pH a más de 12 con el hidróxido de sodio. Se deja la muestra alcalinizada por 1 hora (sin embargo, se deberá agitar el embudo cada 15 minutos).

11.1.2 Limpieza: Se agregan 15 mL de diclorometano a la muestra digerida. Se agita el embudo durante 2 minutos y se deja por 10 minutos, luego, se quita la capa de diclorometano. Para limpiar la muestra, se repiten estos procedimientos del extracto de diclorometano 3 veces. Se vierte la muestra limpia a un vaso de precipitado y se ajusta el pH de la muestra a 1.0 ± 0.1 con ácido sulfúrico 6 M.

11.1.3 Acondicionamiento del disco SPE: Se coloca el disco de resina poli-divinilbenceno (DVB o equivalente) sobre el embudo y el sistema múltiple (especializado para SPE) y se remoja con 10 mL de MTBE. Después de 1 minuto de dejarlo remojando, se elimina el MTBE a través de aspiración. Se repite el proceso de remojar el disco con 10 mL de MTBE por 1 minuto y se aspira. Se remoja el disco con 10 mL de metanol. Después de 1 minuto de dejarlo remojando, se aspira el metanol. Se repite el proceso de remojar el disco con 10 mL de metanol por 1 minuto y se aspira. El disco se enjuaga con 30 mL de agua destilada (3 veces y cada vez con 10 mL).

11.1.4 Recolección sobre el disco SPE: Se descarga la muestra acidificada sobre el disco SPE acondicionado y se aspira suavemente. Durante el proceso de descarga de la muestra, la tasa del flujo de la muestra deberá mantenerse al menos en 50 mL/min. Luego se aspira el aire del cuarto durante 20 minutos para eliminar el exceso de humedad del disco.

11.1.5 Elución del disco SPE: Cuando se termina la descarga de la muestra, se remoja el disco SPE con 5 mL de MTBE, por 1 minuto y el eluido de MTBE se aspira a un tubo de concentración graduado de vidrio. Se vuelve a remojar con 5 mL de MTBE por 1 minuto y se aspira y mezcla el eluido de MTBE al tubo anterior. Si se llega a formar una capa acuosa en el extracto, eliminarlo con una pipeta Pasteur.

11.1.6 Deshidratación y concentración: Agregue la cantidad apropiada de sulfato de sodio tratado al extracto de MTBE anterior y se deshidrata. Posteriormente se decanta el extracto en otro tubo graduado. Se concentra el extracto a

4 mL con el flujo de nitrógeno a 40 - 50°C.

- 11.1.7 Derivatización: Se agrega 1 mL de metanol y 50 µL de TMSD a los 4mL de extracto obtenido en el párrafo anterior y se mantiene en 50°C durante 1 hora. Los analitos se derivatizan en este proceso.

Se agregan 100 µL de ácido acético / metanol (7.2.7) al extracto hasta que consuma el exceso de TMSD. Se agrega al extracto 50 µL del ISTD Una parte del extracto se vierte al vial y se utiliza para la medición con el GC/MS.

- 11.2 Análisis con el GC/MS. Los estándares de calibración y las alícuotas de las disoluciones de prueba se miden utilizando el GC/MS. Las condiciones de medición del GC/MS se muestran en la Tabla 1.

12. Cálculos

- 12.1 Se identifican los analitos con base en los iones fragmentados y tiempo de retención, y se cuantifican comparándolos con la curva de calibración.

La manera de realizar el análisis de datos se basa en los procedimientos de regresión lineal y en procedimientos comunes.

- 12.2 Reporte de resultados: No se deben reportar concentraciones de elementos por debajo del límite de cuantificación. Reporte los resultados del análisis en mg/L. Si la muestra se diluyó multiplique los mg/L por el factor de dilución

13. Manejo de residuos

Es la responsabilidad del laboratorio cumplir con todos los reglamentos federales, estatales y locales referentes al manejo de residuos, particularmente las reglas de identificación, almacenamiento y disposición de residuos peligrosos.

14. Bibliografía

METODO EPA 515.2, Agencia de Protección Ambiental, Oficina de investigación y Desarrollo, Cincinnati, Ohio

EPA SERIES 3600, Agencia de Protección Ambiental, Oficina de investigación y Desarrollo, Cincinnati, Ohio.

EPA SERIES 3500, Agencia de Protección Ambiental, Oficina de investigación y Desarrollo, Cincinnati, Ohio.

EPA SERIES 5000, Agencia de Protección Ambiental, Oficina de investigación y Desarrollo, Cincinnati, Ohio.

EPA SERIES 8000, Agencia de Protección Ambiental, Oficina de investigación y Desarrollo, Cincinnati, Ohio.

15. Tablas y figuras

Tabla 1 Condiciones del GC/MS

Columna:	35ms (30 m de longitud, diámetro interior de 0.25 mm, espesor del filme 0.25 µm)
Portador:	Helio a 45 cm/seg
Horno:	110°C por 0.5 min ~ 15°C /min (110 – 320°C) ~ 320 °C por 5 min
Inyector:	1µL inyección, Splitless, 250°C, tiempo de activación de la purga 30 seg
Interfase: 250 °C	250 °C
[Iones del Monitoreo en el modelo SIM]	
2,4-D y 2,4,5-T: 159 (primario), 125 (secundario) Pentacloro-nitrobenceno: 294.8 Tetracloro-m-xileno: 243.9 Decaclorobifenil: 497.7	

Figura 1: Diagrama de Flujo del Proceso para la Preparación de la Muestra

Muestreo (250 mL)	Utilizando un embudo de separación de 500 mL.
Adicionar 50 µL de disolución de surrogado	Disolución de Surrogado: 5 mg/L de la disolución mixta de 2,4-D- ¹³ C ₆ y 2,4,5-T- ¹³ C ₆
Disolver 50 g de Na ₂ SO ₄	
Agregar 4 mL de 6 M NaOH	Medir el pH, debe ser más de 12
Pre-digestión	Dejar en temperatura ambiente durante una hora. Agitar el embudo cada 15 min.
1 ^{ra} Purificación	Agregar 15 mL de CH ₂ Cl ₂ . Agitar el embudo por 2 min., después dejarlo durante 10 min. Eliminar la capa de CH ₂ Cl ₂ (Si ocurre emulsión, se requiere contramedida como centrifuga)
2 ^{da} Purificación	Repetir el procedimiento de la 1ra Purificación.
3 ^{ra} Purificación	Repetir el procedimiento de la 1ra Purificación.
Acidificar la muestra	Verter la muestra en un vaso de precipitado (de 500 mL), Agregar H ₂ SO ₄ y ajustar el pH a 1.0 ± 0.1. Revisar el pH con un potenciómetro.
Colocar sobre el embudo	Disco SPE
Empapar con MTBE por 1 min. (10 mL x 2)	Después de esto, aspirar el disolvente con vacío.

(Continúa en la Figura 1)

Empapar con metanol 1 min. (10 mL x 2)
Aspirar 10 mL de agua destilada (x 3)
Deshidratar los eluidos con Na ₂ SO ₄
Concentrar hasta 4 mL con flujo de nitrógeno
Agregar 1 mL de metanol
Agregar 50 µL de disolución de 2M TMSD
Mantener 50 °C durante una hora
Agregar 100 µL de ácido acético / metanol
Agregar 50 µL de la disolución estándar interno
Medir con GC/MS

Después de esto, aspirar el disolvente con vacío.

Si aparece una capa acuosa, asegúrese de descargarlo previamente. Después de la deshidratación, los eluidos se vierten en otro tubo graduado.

Calentar en una parrilla a 40 - 50 °C aproximadamente.

TMSD: trimetilsilildiazometano

Para la derivatización

Para eliminar el exceso de TMSD

Disolución del estándar interno: 2 mg/L de Fenantreno-*d*₁₀

**Procedimiento operativo estandarizado para
medir compuestos no volátiles extraíbles
por medio de cromatografía líquida de alto
rendimiento/ thermospray/ espectrometría de
masa (HPLC/TS/MS) o detección ultravioleta
(UV)**



Procedimiento operativo estandarizado para medir compuestos no volátiles extraíbles por medio de cromatografía líquida de alto rendimiento/ thermospray/ espectrometría de masa (HPLC/TS/MS) o detección ultravioleta (UV)

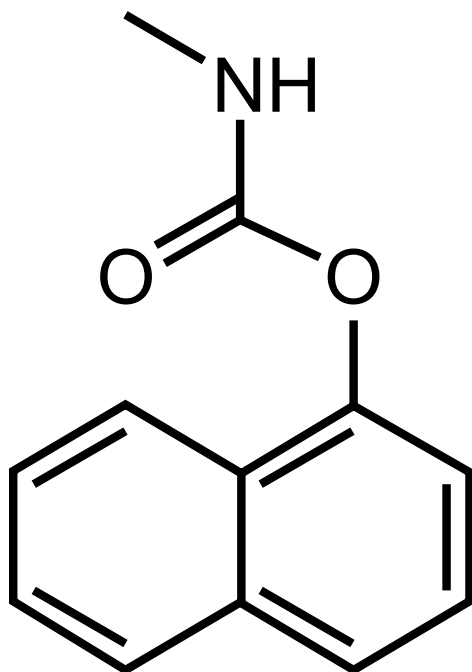
Contenido

Introducción	2
1. Aplicación y alcances	2
2. Principio y resumen	3
3. Definiciones	3
4. Interferencias	4
5. Seguridad	4
6. Equipos y materiales	4
7. Reactivos y patrones	5
8. Recolección, preservación y almacenamiento de muestras	6
9. Control de calidad	6
10. Calibración	7
11. Procedimiento	7
12. Cálculos	8
13. Manejo de residuos	9
14. Bibliografía	9
15. Tablas y figuras	10

Introducción

Para el monitoreo ambiental se incrementan cada día más la demanda del análisis de sustancias químicas a niveles traza con propiedades hidrofílicas, incluyendo por ejemplo varios agroquímicos con bajo nivel de persistencia; medicamentos; hormonas y sus productos metabólicos, así como sub-productos de desinfección, entre otros.

Los Carbamatos son compuestos orgánicos derivados del ácido carbámico (NH_2COOH). Tanto los carbamatos, como los ésters de carbamato, y los ácidos carbámicos son grupos funcionales que se encuentran interrelacionados estructuralmente y pueden ser interconvertidos químicamente. Los ésteres de carbamato son también llamados uretanos.



Estructura química Carbaryl

Los también llamados insecticidas carbamatos presentan un grupo funcional formado por un éster carbamato. Incluidos en este grupo se encuentran por ejemplo el aldicarb, carbofurano (Furadan), fenoxycarb, carbaril (Sevin), ethienocarb, y fenobucarb. Estos insecticidas matan insectos causando la inactivación reversible de la enzima acetilcolinesterasa. Los insecticidas organofosforados también inhiben esta enzima, aunque lo hacen de manera irreversible, y por lo tanto causan un envenenamiento y un síndrome colinérgico mucho más severos. El repelente para insectos icaridin es un carbamato sustituido.

Actualmente se está midiendo este grupo de compuestos mediante la Extracción en Fase Sólida (SPE) y Cromatografía de Líquido/Espectrómetro de Masas

en Tándem (LC/MS/MS) como las principales técnicas de preparación de muestras y análisis de contaminantes. La Extracción Fase Sólida que se introduce aquí es el primer paso para el monitoreo ambiental de estas sustancias.

El Carbaryl, un pesticida de uso común y es monitoreado con el fin de establecer los límites permisibles de este en aguas nacionales, debido a que su acumulación en los cuerpos de agua causa estragos a la salud, siendo este un inhibidor de la colinesterasa y un carcinogénico potencial.

1. Aplicación y alcances

- 1.1 Propósito: Este método cubre el uso de la Cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC) junto con la espectrometría de masa-termo spray (TS-MS) y con un detector ultravioleta (UV). El método de Cromatografía de Líquido / Espectrómetro de Masas en Tándem (LC/MS/MS) se aplica a la determinación de sustancias hidrofóbicas no volátiles o semivolátiles que son capaces de ser extraídas con disolventes orgánicos, que son favorables al HPLC y pueden ser ionizados bajo la introducción del Termo Spray, para detección por espectrometría de masas o puede ser determinado por el detector UV. (Ver Tabla 2).
- 1.2 Analitos: Los elementos para los cuales es aplicable este método son los que se muestran a continuación en tablas (aunque no todos fueron favorables a la detección por UV) y fueron seleccionados por análisis de HPCL/MS pues se identificó que eran compuestos problema, difíciles de analizar por el método de cromatografía de gases. La sensibilidad de este método depende del nivel de interferentes dentro de una matriz dada y varía con la clase de compuesto e incluso por compuesto dentro de una clase, además la sensibilidad depende del modo de operación. Los límites de detección, sensibilidad e intervalos óptimos de trabajo de los metales antes mencionados, varían dependiendo de la matriz y el equipo utilizado.
- 1.3 Este método puede ser aplicable a los análisis de otros compuestos no volátiles o semi volátiles que son extraíbles con disolventes, que son favorables al HPLC, y pueden ser ionizados bajo la introducción de termo spray para detección de espectrometría de masa o puede ser determinado por detector de UV. Está diseñado para detectar compuestos fenoxiácidos clorados (forma de ácido libre) y sus ésteres

sin el uso de hidrólisis ni esterificación en los procedimientos de extracción, aunque se recomienda la hidrólisis a la forma ácida porque simplifica la cuantificación.

- 1.4 Todos los carbamatos y compuestos relacionados listados en la Tabla 1 pueden ser analizados por medio de HPLC con un detector MS. Los carbamatos siguientes y sus compuestos relacionados fueron evaluados usando HPLC con detección de UV a dos longitudes de onda. Algunos compuestos se pueden determinar por longitudes de onda UV, y otros solamente a una de las dos longitudes de onda. Para una identificación de compuestos a futuro, se puede utilizar, como extensión opcional de este método, un MS/MS con una disociación de colisión activada.
- 1.5 Antes de usar este método, se les aconseja a los analistas que consulten la base del método por cada tipo de procedimiento que pueda ser utilizado en el análisis global para obtener mayor información en el control de calidad de los procedimientos, desarrollo de criterios de aceptación, cálculo, y guía general del Control de Calidad.
- 1.6 Matrices – Las matrices a las cuales puede aplicarse este método son agua natural.
- 1.7 Limitaciones – El presente método no ha sido probado en aguas marinas o salobres. Los compuestos que aparecen en la Tabla 1 son aplicables al análisis de Cromatografía de Líquidos/Espectrometría de masas y los señalados en la Tabla 2 son aplicables al análisis de Cromatografía de Líquidos de alto desempeño con Detector de Ultravioleta; sin embargo también podrían requerir el análisis con LC/MS/MS o LC/MS en lugar de HPLC/UV para el análisis simultáneo de compuestos múltiples.
- 1.8 Restricciones – Este método está diseñado para ser supervisado y utilizado por Químicos analistas experimentados en la operación del equipo de Cromatografía de Líquidos de alta eficiencia con detector UV. Cada analista debe demostrar la habilidad y los conocimientos para generar resultados aceptables con este método antes de analizar muestras reales.

2. Principio y resumen

- 2.1 Principio: Por medio de la técnica de Extracción en Fase Sólida (SPE) el (Carbaryl) analito

que se analizará, es concentrado y purificado de las muestras recolectadas de agua. Concretamente el analito que se encuentra en una muestra de agua será atrapado a través del uso de una resina hidrofóbica, posteriormente será eluido utilizando disolventes orgánicos (Acetonitrilo), debido a la capacidad de estos disolventes de interactuar con compuestos muy poco polares o no polares, por ende el carbaryl podrá ser disuelto en acetonitrilo. Posteriormente las muestras serán concentradas y llevadas a 10 mL y se procesarán en el Cromatógrafo de Líquidos el cual está equipado con una columna de fase inversa y el detector de ultravioleta.

- 2.2 Resumen: Se miden 1000 mL de una muestra de agua en una probeta graduada y se descarga al disco SPE (Extracción Fase Sólida). El disco SPE está hecho de resina de polivinilbenceno y requiere ser activado previamente antes de su uso. El analito recolectado sobre el disco se eluye con acetonitrilo, y luego se concentra aplicando suavemente flujo de nitrógeno. Se ajusta la composición del disolvente para fase móvil de Cromatografía de Líquido. De esta manera, el analito en esta alícuota se determina con HPLC/UV.

3. DEFINICIONES

Para los propósitos de este procedimiento se establecen las siguientes definiciones:

- 3.1 Aguas naturales – Se define como agua natural el agua cruda, subterránea, de lluvia, de tormenta, residual y superficial.
- 3.2 Aguas residuales – Las aguas de composición variada provenientes de las descargas de usos municipales, industriales, comerciales, agrícolas, pecuarias, domésticos y similares, así como la mezcla de ellas.
- 3.3 Blanco analítico o de reactivos – Agua reactivo o matriz equivalente que no contiene, por adición deliberada, la presencia de ningún analito o sustancia por determinar, pero que contiene los mismos disolventes, reactivos y se somete al mismo procedimiento analítico que la muestra problema.
- 3.4 Calibración – Conjunto de operaciones que establecen, bajo condiciones específicas, la rela-

ción entre los valores de una magnitud indicados por un instrumento o sistema de medición, o los valores representados por una medida materializada y los valores correspondientes de la magnitud, realizados por los patrones, efectuando una corrección del instrumento de medición para llevarlo a las condiciones iniciales de funcionamiento.

- 3.5 Desviación estándar experimental - Para una serie de n mediciones del mismo mensurando, es la magnitud s que caracteriza la dispersión de los resultados, dado por la siguiente fórmula:

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}}$$

En donde:

x_i es el resultado de la i -ésima medición y
 $\bar{x}$ es la media aritmética de los n resultados considerados.

- 3.6 Medición - Conjunto de operaciones que tiene por objeto determinar el valor de una magnitud.
- 3.7 Precisión - Es el grado de concordancia entre resultados analíticos individuales cuando el procedimiento analítico se aplica repetidamente a diferentes alícuotas o porciones de una muestra homogénea. Usualmente se expresa en términos del intervalo de confianza o incertidumbre:

$$x = \bar{x} \pm t\alpha_{/2} \frac{S}{\sqrt{n}}$$

Donde:

$\bar{x}$ es la media calculada a partir de un mínimo de tres mediciones independientes;

$t\alpha_{/2}$ es el valor de la t de Student para un nivel de significancia del 95%;

S es la desviación estándar de la muestra;

n es el número de réplicas, y

x es el resultado que incluye el intervalo de confianza.

- 3.8 Verificación de la calibración - Una verificación periódica de que no han cambiado las condiciones del instrumento en una forma significativa.

4. Interferencias

- 4.1 Los disolventes, reactivos, la cristalería, y otros instrumentos de procesamiento de muestras pueden producir artefactos diferenciados o líneas de referencia elevadas, o ambas, causando malinterpretaciones de los cromatogramas o del espectro de absorción. Se debe demostrar que todos estos materiales se encuentran libres de interferencias bajo las condiciones de los análisis analizando los blancos del método. Puede que sea necesaria la selección específica de reactivos y disolventes de purificación por destilación en todos los sistemas de cristal.
- 4.2 Interferencias causadas durante el proceso de preparación de la muestra. Una interferencia causada durante el proceso de preparación de la muestra será observada en concentraciones muy bajas. La principal causa podrían ser los plastificantes eluidos del disco de extracción de fase sólida.
- 4.3 Los interferentes co-extraídos de la muestra varían considerablemente de fuente a fuente. Se deben verificar los tiempos de retención del analito objetivo utilizando estándares de referencia.

5. Seguridad

Este método puede no mencionar todas las precauciones de seguridad asociadas con su uso.

El laboratorio es responsable de mantener un ambiente de trabajo seguro y un archivo de las normas de seguridad respecto a la exposición y manejo seguro de las sustancias químicas especificadas en este método

6. Equipos y materiales

Todos los materiales volumétricos que se utilizan en este método deben ser de clase "A" o la calibración deberá ser verificada.

- 6.1 Equipo
 Los siguientes aparatos y materiales son necesarios para el uso de las porciones de HPCL/MS en este método.
- 6.1.1 Sistema de Cromatografía de líquido de alto desempeño / Detector de ultravioleta (HPLC/UV).

6.1.2 Balanza de precisión: La balanza deberá ser capaz de pesar 0.1 mg.

6.2 Suministros.

- 6.2.1 Columna para HPLC: 150 mmL x 4.1 mm de diámetro interior o equivalente
- 6.2.2 Disco para SPE:(Solid phase extraction/extracción en fase sólida) DVB o equivalente.
- 6.2.3 Estación Múltiple de aspiración para SPE: Para colocar los discos SPE y aspirar las muestras y disolventes al vacío.
- 6.2.4 Papel de prueba pH: Intervalo de 1 a 12 o más (tipo universal)
- 6.2.5 Cronómetro: con conteo de segundos.
- 6.2.6 Probeta de vidrio: 1000 mL
- 6.2.7 Pipeta volumétrica: de vidrio, 10 mL
- 6.2.8 Tubos graduados: de vidrio, 10 mL de graduación
- 6.2.9 Pipeta de Pasteur: de vidrio, tallo largo.
- 6.2.10 Micro-pipetas calibradas, de volumen 50,100, 200, 400,500, 800 y 1000 µL.

Nota 1. Las micro-pipetas son instrumentos de medición de volumen convenientes Sin embargo, ocasionalmente son responsables de errores. Por lo que es necesario revisar regularmente la calibración de las micro-pipetas (verificar cada vez que se cambie el lote de puntas).

- 6.2.11 Puntas para micro-pipetas: Correspondientes a los volúmenes requeridos.

Nota 2. La resina de la punta se disuelve en metanol y acetonitrilo en pocos minutos. No dejar remojando la punta en los disolventes orgánicos.

- 6.2.12 Viales para HPLC: de vidrio, 2 mL de volumen
- 6.2.13 Matraz volumétrico: de vidrio, volumen de 10 mL y 100 mL

7. Reactivos y patrones

- 7.1 Se deben utilizar los químicos de grado reactivo en todas las pruebas. A menos que se de otra indicación, se pretende que todos los reactivos sigan las especificaciones del Comité en Reactivos Analíticos de la Sociedad Americana de Química donde se dispone de dichas especificaciones. Pueden usarse otros grados, proporcionando primero se comprueba que

el reactivo sea lo suficientemente puro para permitir su uso sin disminuir la exactitud de la determinación. Los reactivos se deben de almacenar en vidrio para prevenir la lixiviación de contaminantes de los envases de plástico.

- 7.1.1 Agua grado reactivo Tipo I ASTM.
- 7.1.2 Acetato de amonio, $\text{NH}_4\text{OOCCH}_3$.
- 7.1.3 Estándar de Carbaryl con 99.8% de pureza como mínimo.
- 7.1.4 Metanol CH_3OH grado HPLC.
- 7.1.5 Gas de Helio Alta pureza.
- 7.1.6 Acetonitrilo, CH_3CN – Cromatografía líquida de alto rendimiento o equivalente.
- 7.1.7 Hidróxido de Sodio NaOH grado reactivo analítico.
- 7.1.8 Ácido Clorhídrico HCl (aprox. 37%) grado reactivo analítico.

- 7.2 Disoluciones estándar: Las secciones siguientes describen la preparación de reserva, intermedio, y normas de trabajo para los compuestos de interés. Este argumento se muestra como un ejemplo, y se pueden utilizar otros acercamientos y concentraciones de los compuestos objetivos de manera apropiada para aplicaciones destinadas.

Las disoluciones de analito se deben conservar a 4°C en viales sellados y protegidos de la luz. Estas disoluciones deben ser reemplazadas regularmente.

Todas las disoluciones de analito deberán prepararse cuando se requieren.

- 7.2.1 Disolución Patrón Primario (DPP): Se pesan exactamente 20.0 mg del reactivo estándar y se disuelven con metanol en un matraz volumétrico de 100 mL. Esta disolución de 200 mg/L es la Disolución Patrón Primario (DPP).
- 7.2.2 Estándar de Dilución Secundaria (EDS): Se toma 0.5 mL de DPP con una micro-pipeta calibrada y se diluye con metanol en un matraz volumétrico de 10 mL. Esta disolución de 10 mg/L es la Estándar de Dilución Secundaria (EDS), y se utiliza para la preparación de estándares de calibración.
- 7.2.3 Disolución 5 mM de buffer de acetato de amonio: Se pesa 0.385 g de reactivo de acetato de amonio y se disuelve con 1 L de agua destilada. Estos 5 mM (0.385 g/L) del buffer de acetato de amonio se aplican a la fase móvil acuosa para análisis con HPLC. El buffer de acetato de amonio debe ser preparado cada vez que se utiliza y no deberá almacenarse.

- 7.2.4 Disolvente para diluir los Estándares de Calibración: Se mezclan el buffer de acetato de amonio (7.2.3) y el acetoni-trilo en una proporción de 60:40.
- 7.2.5 Estándar de Calibración: Se preparan las disoluciones estándar a 5 diferentes niveles de concentración dentro del rango de 0.2, 0.3, 0.5, 1.0 y 2 mg/L. Utilizando un matraz volumétrico de 10 mL se diluye de 0.2, 0.3, 0.5, 1.0, y 2 mL de EDS con el solvente diluyente (7.2.2).
- 7.2.6 Estándares internos: Cuando se utiliza la opción de calibración de estándar interno para análisis de HPLC/MS, se recomienda que el analista utilice compuestos estables isotópicamente etiquetados, de la misma clase de químico cuando estén disponibles (p.ej., puede utilizarse el 13C6-carbofuran como estándar interno en el análisis de carbamatos).
- 7.2.7 Estándares fortificados de matriz: Prepare una solución que contenga los analitos de interés en un solvente conveniente.
- 7.2.8 Disolución 2 M de ácido clorhídrico: Se mezclan 10 mL del ácido clorhídrico (37%) y 50 mL de agua destilada. Esta disolución se aplica para ajustar el pH de la muestra de agua, en caso necesario.
- 7.2.9 Disolución 2 M hidróxido de sodio: Se pesa 4 g del reactivo de hidróxido de sodio y se disuelve con 50mL de agua destilada. Esta disolución se aplica para ajustar el pH de la muestra de agua, en caso necesario.

8. Recolección, preservación y almacenamiento de muestras

- 8.1 Recolectar muestras dentro de botellas de vidrio de 1000 mL. Usar vidrio ámbar o protegerlas de la luz solar.
- 8.2 Si el pH de la muestra es mayor de 9 U pH, agregue ácido clorhídrico y ajustar el pH a menos de 9 puesto que Carbaril se descompone en soluciones alcalinas.
- 8.3 Si se detecta en la muestra el cloro residual, agregue algún reductor apropiado (por ejem-

plo tiosulfato o ascorbato) para que lo consuma, puesto que Carbaril se descompone con el cloro residual.

- 8.4 Las muestras se almacenan en 4°C y deben analizarse lo más pronto posible.

9. Control de calidad

Control de calidad en las mediciones de rutina. Los siguientes puntos deberán validarse en cada uno de los lotes de mediciones.

- 9.1 Curva de calibración: Analizar cada uno de los estándares de calibración y obtener la curva de calibración con base en la regresión del área pico correspondiente a la concentración. Ver la sección 10.2
- 9.2 Blanco de reactivo: Se miden 1000 mL de agua destilada como blanco de reactivo. Se prepara de la misma manera y simultáneamente que las muestras.
El resultado del blanco de reactivo deberá sustraerse de los resultados de las muestras, debido a que puede ocurrir una interferencia de bajo nivel en este método. La interferencia pudiera deberse a los plastificantes eluidos del disco de extracción de la fase sólida.
- 9.3 Blanco fortificado: Se fortifica 0.03 mg/L de Carbaril en 1000 mL de agua destilada como blanco fortificado. Se prepara de la misma manera y simultáneamente que las muestras.
Sustraer el blanco reactivo del blanco fortificado y reportar la diferencia como la recuperación. Si la recuperación varía de 100 ± 30 % todas las muestras deberán volverse a preparar.
- 9.4 Muestra de control de calidad (MC): En cada uno de los lotes de análisis, la muestra para el control de calidad (MC) se mide cada 20 muestras y al final de un análisis de secuencia (10.3).
- 9.5 Recuperaciones de Fortificados: En caso de usar muestras fortificadas, el laboratorio debe evaluar los datos de recuperación del fortificado a partir de muestras individuales versus los límites de control del fortificado desarrollados por el laboratorio.
- 9.6 Se recomienda que el laboratorio adopte prácticas de garantía de calidad adicionales para

usarse con este método. Las prácticas específicas que son más productivas dependen de las necesidades del laboratorio y la naturaleza de las muestras. Cuando sea posible, el laboratorio debe analizar estándares de materiales de referencia y participar en estudios de evaluación de resultados relevantes.

10. Calibración

La calibración y la validación se realizan rutinariamente en cada lote del análisis como sigue:

- 10.1 Poner en marcha los sistemas HPLC y la validación: Encender los sistemas HPLC. Verter a las fases móviles (Fase móvil "A" acetato de amonio 5 mM y Fase móvil "B" Acetonitrilo), y pasar por el proceso de desgasificación y precalentamiento. Validar y registrar la presión de la bomba justo antes de iniciar el análisis de secuencia.
- 10.2 Si la presión de la bomba varía demasiado con respecto al análisis previo o diario, verificar la causa de este fenómeno. A continuación se describen algunas causas típicas:
 - (1) Presión alta: Hay una obstrucción en alguna parte. A veces, en especial la columna de guardia está obstruida y en ese caso deberá cambiarse por otra.
 - (2) Presión baja: Existe una fuga en alguna parte.
 - (3) Fluctuación por varios segundos: Significa que hay inestabilidad en la bomba (ya sea por penetración de aire o algún empaque se ha desgastado). Asimismo, se deberá validar el tiempo de retención que se ha obtenido del Carbaril (aproximadamente 9,8 min en la práctica).
- 10.3 Calibración: Analizar cada estándar de calibración, obtener la curva de calibración con base en la regresión del área pico que corresponde a la concentración y calcular el factor de respuesta (RF, Response Factor o pendiente de la curva de calibración) y el Límite de Cuantificación Instrumental (LC Instrumental) a través de los métodos de regresión lineal. Si el RF o LC Instrumental varía demasiado con respecto al lote de análisis previo o diario, verificar la causa del fenómeno. Las causas típicas son las siguientes:
 - 1) Problema del sistema HPLC: Inestabilidad del bombeo (ya sea por penetración de aire o por empaque desgastado), o la lámpara UV pudiese estar gastada.
 - 2) Se van degradando los estándares de calibración. Prepare de nuevo los estándares de calibración utilizando el DPP.
- 10.4 Validación de la calibración extendida: En cada lote de análisis se mide la Muestra de Control de Calidad (MC) cada 20 muestras y al final de un análisis de secuencia. La MC es un estándar de concentración conocida. Si el área pico o el tiempo de retención de una MC varía demasiado de la calibración (Sec. 11.2), verifique la causa del fenómeno y realice de nuevo el análisis de secuencia.

11. Procedimiento

- 11.1 Preparación de la muestra: Se concentra y se purifica el analito en muestras acuosas por medio de la técnica de Extracción de Fase Sólida (SPE). El diagrama de flujo de este proceso de preparación de muestras se describe en la Figura 1.
 - 11.1.1 Acondicionamiento del disco SPE: Se coloca el disco de resina poli-divinilbenceno (DVB o equivalente) sobre el embudo y el sistema múltiple de vacío (especializado para SPE), y se remoja con 10 mL de metanol. Después de 2 minutos de dejarlo remojando, se elimina el metanol a través de aspiración y se enjuaga el disco con 30 mL de agua destilada (descargando 10 mL del agua por 3 veces). A través de estas operaciones, a las cuales se les llama el proceso de "acondicionamiento", se reactiva el disco y se familiariza con la muestra acuosa.
 - 11.1.2 Muestreo y ajuste del pH: Se colocan 1000 mL de la muestra de agua en un cilindro graduado (probeta graduada tipo A). Se revisa el pH de la muestra con papel de prueba pH, y si el pH no está dentro del rango de 5 a 9, debe ser ajustado en dicho rango utilizando ácido clorhídrico (7.2.8) o hidróxido de sodio (7.2.9).
 - 11.1.3 Recolección sobre el disco SPE: Una vez ajustado el pH (11.1.2) se descarga la muestra sobre el disco SPE activado (11.1.1), y se aspira suavemente. En este proceso, la tasa de flujo de la muestra debe mantenerse al menos en 50 mL/min (ajustado el flujo se vierte el volumen de muestra en un frasco de

1L de boca ancha y se coloca en el disco una base de embudo de plástico). Una vez terminada la descarga, se enjuaga el disco con 30 mL de agua destilada (Nota 3) y se aspira el aire del cuarto durante 5 minutos para eliminar el exceso de humedad del disco.

Nota 3. Aun cuando la muestra sea salada (ejemplo: agua de mar), las sales se eliminarán en este procedimiento de enjuague. Si las sales permanecen en el disco, se precipitarán dentro de los eluidos del acetonitrilo durante el proceso posterior.

11.1.4 Elución del disco SPE: Cuando se termina la descarga de la muestra, se empapa el disco SPE con 10 mL de acetonitrilo y se espera 2 minutos. Luego se aspira el acetonitrilo en un tubo de concentración graduado y de esta manera se obtienen los eluidos. El volumen de los eluidos se revisa y se mide hasta 10 mL.

11.1.5 Ajuste de la composición de los eluidos: Utilizando una micro-pipeta se toma 0.5 mL de los eluidos (12.1.4, parte de 10 mL) y 0.5 mL de agua destilada y se vierten y se mezclan en un vial para HPLC (Nota 4). Esta alícuota es la disolución de la prueba y se inyecta para la medición en el HPLC.

Nota 4. Es importante mantener uniforme la composición de la disolución de la prueba y de la fase móvil del HPLC. En caso de que cada composición difiera extremadamente, el volumen de inyección de la disolución de la prueba tiene que ser reprimido contra el flujo de fase móvil (en general, menos de 5 μ L). Si la composición está perfectamente uniforme, el volumen de inyección puede incrementarse ilimitadamente en el análisis gradiente del HPLC.

11.1.6 Cualquier procedimiento de extracción que se emplee, incluyendo aquellas específicamente listadas en este método, el analista debe demostrar los procedimientos adecuados para los analitos de interés, a los niveles de interés. Como mínimo, dicha demostración debe abarcar demostraciones iniciales de habilidades, y los procedimientos que se usarán para desarrollar criterios de desempeño para dichas demostraciones así como para fortifi-

cados y resultados de muestra de control de laboratorio.

11.2 Análisis con HPLC. Los estándares de calibración y las alícuotas de las disoluciones de la prueba se miden utilizando el HPLC. Las condiciones de medición de HPLC se muestran en la Tabla 3.

En el caso de que se utilice el HPLC sin el desgasificador en línea, desgasificar manualmente cada 4 horas. En caso de utilizar el HPLC sin la cámara termostática, mantener la temperatura ambiente estable con el aparato del aire acondicionado.

11.3 Lavado del HPLC. En caso de usarse diariamente, no es necesario el procedimiento de lavado del HPLC después de medición. (Nota 5). Si el HPLC no se usa en más de una semana, la fase móvil acuosa debe ser reemplazada con agua destilada. El buffer acuoso contiene nutrientes que pueden causar que se enmohezca el sistema de tubos del instrumento.

Nota-5. En caso de usar el buffer de fosfato, es necesario el lavado del HPLC aun cuando se utilice diariamente. Después de la medición, la fase móvil acuosa debe ser reemplazada con agua destilada. Este procedimiento ayuda a prevenir la precipitación de sales insolubles (ejemplo: fosfato de calcio). Sin embargo, como no se puede prevenir completamente la precipitación, la parte entre la aguja inyectora y la columna de guardia podría dañarse.

12. Cálculos

12.1 Se identifica el analito con base en el tiempo de retención y se cuantifica comparando el área pico con la curva de calibración. La manera de realizar el análisis de datos se basa en los métodos de regresión lineal y en procedimientos comunes.

12.2 Calcule la concentración de la(s) muestra(s) y/o las AREAS que registra el equipo. Realice las gráficas de la curva de calibración de cada uno de los analitos.

12.3 Calcule la concentración de la muestra por medio de la ecuación de la recta que se obtiene de las curvas de calibración para cada analito empleando la siguiente ecuación:

Ecuación:

$$Y = mX + b$$

Dónde:

Y es la absorbancia de la muestra ya procesada;

m es la pendiente

b es la ordenada al origen.

Despejando X se obtiene la concentración del metal en la muestra, se deben tomar en cuenta los factores de dilución que se realicen.

12.4 Si se trabaja con el método de adición de estándares, obtenga la gráfica, el coeficiente de correlación y el valor de la muestra sin añadir.

12.5 Reporte de resultados: No se deben reportar concentraciones de elementos por debajo del límite de cuantificación. Reporte los resultados del análisis en mg/L. Si la muestra se diluyó multiplique los mg/L por el factor de dilución

13. Manejo de residuos

Es la responsabilidad del laboratorio cumplir con todos los reglamentos federales, estatales y locales referentes al manejo de residuos, particularmente las reglas de identificación, almacenamiento y disposición de residuos peligrosos.

14. Bibliografía

Método 8321b, Agencia de Protección Ambiental, Oficina de investigación y Desarrollo, Cincinnati, Ohio

EPA SERIES 3600, Agencia de Protección Ambiental, Oficina de investigación y Desarrollo, Cincinnati, Ohio.

EPA SERIES 3500, Agencia de Protección Ambiental, Oficina de investigación y Desarrollo, Cincinnati, Ohio.

EPA SERIES 5000, Agencia de Protección Ambiental, Oficina de investigación y Desarrollo, Cincinnati, Ohio.

EPA SERIES 8000, Agencia de Protección Ambiental, Oficina de investigación y Desarrollo, Cincinnati, Ohio

15. Tablas y figuras

Tabla 1. Compuestos analizados por medio de HPLC

Analito	CAS N ^o a	Carbamates	
<u>Azo Dyes</u>		Aldicarb *	116-06-3
Disperse red 1	2872-52-8	Aldicarb sulfone	1646-88-4
Disperse red 5	3769-57-1	Aldicarb sulfoxide	1646-87-3
Disperse red 13	126030-78-6	Aminocarb	2032-59-9
Disperse yellow 5	6439-53-8	Barban	101-27-9
Disperse orange 3	730-40-5	Benomyl	17804-35-2
Disperse orange 30	561-31-4	Bendiocarb*	22781-23-3
Disperse brown 1	174-91-4	Bromacil	314-40-9
Solvent red 3	6535-42-8	Butylate	2008-41-5
Solvent red 23	85-86-9	Carbaryl*	63-25-2
		Carbendazim*	10605-21-7
<u>Antrhaquione dyes</u>		Carbofuran*	1563-66-2
Disperse blue 3	275-46-9	Carbosulfan	55285-14-8
Disperse blue 14	2475-44-7	Chloropropam	101-21-3
Disperse red 60	174-58-5	Chloroxuron	1982-47-4
		m-Cumenyl methyl carbamate	64-00-6
<u>Organophosphorus Compounds</u>		Diuron*	330-54-1
Methomyl	16752-77-5	EPTC	759-94-4
Thiofanox	39196-18-4	Fenosun	101-42-8
Famphur	52-85-7	Fluorometuron	2164-17-2
Asulam	3337-71-1	Formate Hydrochloride	23422-53-9
Dichlorvos (DDVP)	62-73-7	3-Hydroxycarbofuran	16655-82-6
Dimethoate	60-51-5	Linorun*	330-55-2
Disulfoton	298-04-4	Methiocarb	2032-65-7
Fesulfothion	115-90-2	Methomyl*	16752-77-5
Merphos	150-50-5	Metolcarb	1129-41-5
Parathion methyl	298-00-0	Mexacarbate	315-18-4
Monocrotophos	6923-22-4	Molinate	2212-67-1
Naled	300-76-5	Monuron	150-68-5
Phorate	298-02-2	Neburon	555-37-3
Trichloforn	52-68-6	Oxamyl*	23135-22-0
Tris (2,3-dibomopropyl)phosphate (Tris-BP)	126-72-7	Pebulate	114-71-2
		o-phenylenediamine	95-54-5
<u>Chlorinated Phenoxyacid Compounds</u>		Physostigmine	57-47-6
Dalapon	75-99-0	Physostigmine salicylate	57-64-7
Dicamba	1918-00-9	Promcarb	2631-37-0
2,4-D	94-75-7	Propham	122-42-9
MCPA	94-74-6	Propoxur	114-26-1
MCPP	7085-9-0	Prosulfocarb	52888-80-9
Dichlorprop	120-36-5	Siduron	1982-49-6
2,4,5-T	93-76-5	Tebuthiuron	34014-18-1
Silvex (2,4,5-TP)	93-72-1	<u>Carbamates</u>	
Dinoseb	88-85-7	Aldicarb *	116-06-3
2,4-DB	94-82-6	Aldicarb sulfone	1646-88-4
2,4-D,butoxyethanol ester	1929-73-3	Aldicarb sulfoxide	1646-87-3
2,4-D ethylhexyl ester	1928-43-4	Aminocarb	2032-59-9
2,4,5-T butyl ester	93-79-8	Barban	101-27-9
2,4,5-T butoxyethanol ester	2545-59-7	Benomyl	17804-35-2

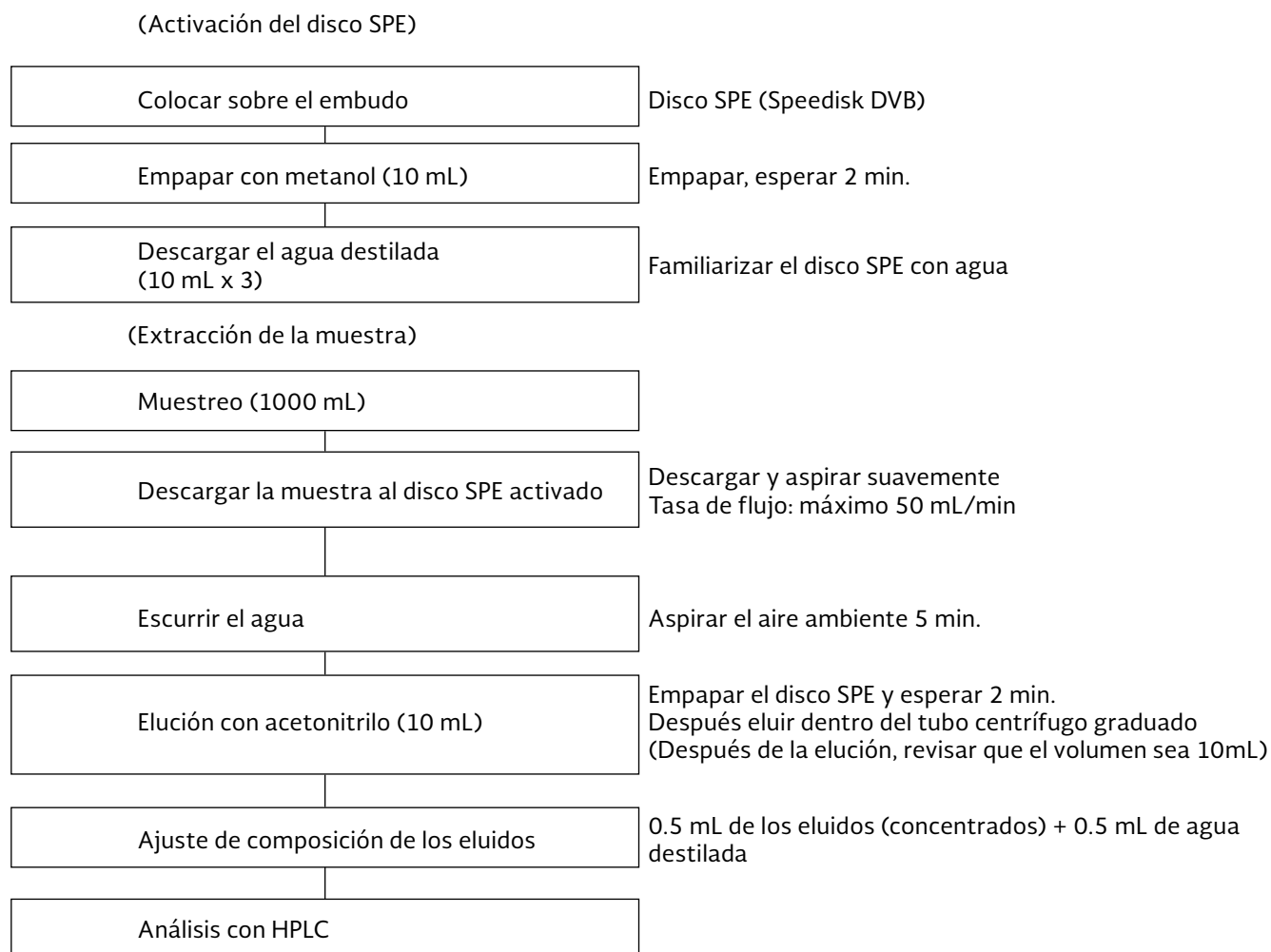
Tabla 2. Compuestos medidos por UV/Vis a dos longitudes de onda

Analito	UV/Vis at 24 nm	UV/Vis at 280 nm
Barban	Y	Y
Benomyl	Y	Y
Carbaryl	Y	Y
Carbofuram phenol	Y	Y
Carbosulfan	Y	Y
Formetanate hydroch.oride	Y	Y
Methiocarb	Y	Y
Mexacarbate	Y	Y
Propham	Y	Y
Thiophanate-methyl	Y	Y
Carbendazim	Y	Y
o-phenylenediamine	Y	Y
m-cumenyl mthyl carbamate	Y	
Oxamyl	Y	
Physostigmine	Y	
Promecarb	Y	
Prosulfocarb	Y	
Thiodicarb	Y	
Triallate	Y	
Bendiocarb		Y
Carbofuram		Y
Physostigmine salicylate		Y
Propoxur		Y

Tabla 3. Condiciones del HPLC

Columna:	Hamilton PRP Æ-1, 150 mmL x 4.1 mmID	
Temperatura de columna:	Temperatura ambiente	
Tasa de flujo de fase móvil:	0.8 mL/min	
Volumen de inyección:	20 µL	
Longitud de onda del detector ultravioleta:	254 nm	
Configuración de la bomba y fase móvil:		
Tiempo (min)	Fase móvil A (%)	Fase móvil B (%)
0	60	40
15	30	70
16	20	80
17	20	80
18	60	40
27	60	40
Fase móvil A: 5 mM acetato de amonio		
Fase móvil B: acetonitrilo		

Figura 1: Diagrama de Flujo del Proceso para la Preparación de la Muestra



Procedimiento operativo estandarizado Para la medición de carbón orgánico total



Procedimiento operativo estandarizado para la medición de carbón orgánico total

Contenido

Introducción	2
1. Aplicación y alcances.....	2
2. Principio y resumen	2
3. Definiciones	3
4. Interferencias.....	3
5. Seguridad.....	4
6. Equipo y materiales	4
7. Reactivos y patrones.....	4
8. Recolección, preservación y almacenamiento de muestras.....	5
9. Control de calidad	5
10. Calibración.....	6
11. Procedimiento	6
12. Cálculos	7
13. Manejo de residuos.....	7
14. Bibliografía.....	7
15. Tablas y figuras.....	8

Introducción

El carbón orgánico en agua y aguas residuales se compone de una gran variedad de compuestos orgánicos en varios estados de oxidación y es la cantidad de carbono unido a un compuesto orgánico y se usa frecuentemente como un indicador no específico de calidad del agua.

El Carbón Orgánico Total (COT) en las fuentes de agua procede de la materia orgánica natural en descomposición y de compuestos químicos sintéticos. Ácido húmico, ácido fúlvico, aminos y urea son algunos tipos de materia orgánica natural; detergentes, plaguicidas, fertilizantes, herbicidas, compuestos químicos industriales y compuestos orgánicos clorados son ejemplos de fuentes sintéticas.

El análisis del COT surge de la necesidad de analizar la materia orgánica en las aguas residuales y municipales, actualmente es utilizado en el monitoreo de la calidad del agua de proceso en las industrias farmacéuticas, debido a que el material orgánico es causa de la contaminación, el análisis COT también se realiza para proteger los equipos de proceso, tales como calderas, turbinas y dispositivos de depuración. Además, los niveles de TOC en sólidos tales como los suelos, las arcillas y los sedimentos son de creciente interés.

El COT es una de las formas más convenientes para expresar de una manera más directa el contenido orgánico total que DBO o DQO, pero no proporciona el mismo tipo de información. Si se establece una relación empírica repetible entre COT y DBO o DQO para una fuente específica de agua, entonces TOC puede ser utilizado para estimar el comportamiento de DBO o DQO, ya que a diferencia de la DBO o DQO, TOC es independiente del estado de oxidación de la materia orgánica y no responde a otros elementos orgánicamente vinculados como el nitrógeno, hidrógeno e inorgánicos que pueden contribuir a la demanda de oxígeno que se mide por la DBO y DQO. La medición de TOC no sustituye la DBO y pruebas de DQO.

1. Aplicación y alcances

1.1 Propósito: Este método es aplicado a la medición de carbón orgánico total por combustión a alta temperatura, en agua potable, agua salina, agua natural, doméstica y residual.

El método es utilizado para la cuantificación de carbono orgánico total alrededor de 1mg/L.

1.2 Analitos: El carbón orgánico en agua y aguas residuales se compone de una gran variedad

de compuestos orgánicos en varios estados de oxidación.

Los compuestos orgánicos que pueden ser determinados por este método son fracciones de carbono total (CT): carbono inorgánico – el carbonato, bicarbonato y CO₂ disuelto; y el COT – todos los átomos de carbono unidos covalentemente a las moléculas orgánicas; Carbono Orgánico Disuelto. La diferencia entre CT y carbono inorgánico es COT.

1.3 Matriz: Las matrices para las cuales ha sido probado este método son: aguas naturales, residuales, residuales tratadas y salinas.

1.4 Limitaciones: El método se aplica al intervalo de concentración de COT de 50 ppb a 30,000 ppm C. El intervalo de aplicación puede cambiar al variar las condiciones de operación.

El agua de mar puede ser analizada por estos métodos con cambios en la sensibilidad y después de la adaptación de los reactivos y de las disoluciones de calibración de la salinidad de las muestras.

1.5 Restricciones: Este método está restringido para ser usado por analistas experimentados en el uso del instrumento de medición de COT, con experiencia en el manejo de la estadística e interpretación de resultados.

2. Principio y resumen

2.1 Principio

El principio de este método se basa en el uso de una alta temperatura de la combustión (HTC) para la oxidación de materia carbonosa en dióxido de carbono, seguido por la detección de éste por infrarrojo no dispersivo (NDIR). Los productos de oxidación son arrastrados hacia el detector NDIR, que es selectivo para CO₂. La válvula de salida de la NDIR es cerrada para permitir que el detector se presurice, una vez que los gases en el detector han alcanzado el equilibrio, la concentración de CO₂ se analiza. Esta presurización de la corriente de gas de muestra en el NDIR, permite una mayor sensibilidad y precisión mediante la medición de la totalidad de los productos de oxidación de la muestra. La señal de salida es proporcional a la concentración de CO₂, creado a partir de la oxidación de la muestra.

2.2 Resumen

La muestra se homogeniza y diluye según sea necesario, se mezcla con ácido fosfórico para remover el carbono inorgánico presente, y una pequeña porción se inyecta en un horno de combustión de alta temperatura (680 - 1000 °C) con un catalizador de platino, en donde el agua se evapora y el carbono orgánico es oxidado a CO₂ y H₂O.

El CO₂ de oxidación de carbono orgánico es transportado por un gas portador y se mide por medio de un analizador infrarrojo no dispersivo.

3. Definiciones

Para los propósitos de este procedimiento se establecen las siguientes definiciones:

- 3.1 Aguas naturales - Se define como agua natural el agua cruda, subterránea, de lluvia, de tormenta, residual y superficial.
- 3.2 Aguas residuales - Las aguas de composición variada provenientes de las descargas de usos municipales, industriales, comerciales, agrícolas, pecuarias, domésticos y similares, así como la mezcla de ellas.
- 3.3 Blanco analítico o de reactivos - Agua reactivo o matriz equivalente que no contiene, por adición deliberada, la presencia de ningún analito o sustancia por determinar, pero que contiene los mismos disolventes, reactivos y se somete al mismo procedimiento analítico que la muestra problema.
- 3.4 Calibración - Conjunto de operaciones que establecen, bajo condiciones específicas, la relación entre los valores de una magnitud indicados por un instrumento o sistema de medición, o los valores representados por una medida materializada y los valores correspondientes de la magnitud, realizados por los patrones, efectuando una corrección del instrumento de medición para llevarlo a las condiciones iniciales de funcionamiento.
- 3.5 Desviación estándar experimental - Para una serie de n mediciones del mismo mensurando, es la magnitud s que caracteriza la dispersión de los resultados, dado por la siguiente fórmula:

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}}$$

En donde:

x_i es el resultado de la i-ésima medición

$\bar{x}$ es la media aritmética de los n resultados considerados.

3.6 Medición - Conjunto de operaciones que tiene por objeto determinar el valor de una magnitud.

3.7 Precisión - Es el grado de concordancia entre resultados analíticos individuales cuando el procedimiento analítico se aplica repetidamente a diferentes alícuotas o porciones de una muestra homogénea. Usualmente se expresa en términos del intervalo de confianza o incertidumbre:

$$x = \bar{x} \pm t\alpha_{/2} \frac{S}{\sqrt{n}}$$

Donde:

$\bar{x}$ es la media calculada a partir de un mínimo de tres mediciones independientes;

$t\alpha_{/2}$ es el valor de la t de Student para un nivel de significancia de 95%;

S es la desviación estándar de la muestra;

n es el número de réplicas, y

x es el resultado que incluye el intervalo de confianza.

3.8 Verificación de la calibración - Una verificación periódica de que no han cambiado las condiciones del instrumento en una forma significativa.

4. Interferencias

4.1 La eliminación de carbonato y bicarbonato por acidificación y purga con gas purificado tiene como resultado la pérdida de sustancias orgánicas volátiles.

4.2 Otra pérdida importante puede ocurrir si las grandes partículas que contienen carbono no se introducen a través de la aguja utilizada para la inyección.

- 4.3 Tener en cuenta que cualquier contacto con material orgánico puede contaminar una muestra. Evitar la cristalería contaminada, envases de plástico y tubos de caucho.
- 4.4 Los gases que aumentan a partir de la combustión del agua, como los halógenos y óxidos de nitrógeno, pueden presentar inferencias en el sistema de detección.
- 4.5 Utilizar temperaturas muy altas aumenta la fusión de sales disueltas, resultando en más señales en el blanco.
- 4.6 La presencia de una alta concentración de Halógenos como Cl- causan interferencias en el detector, al igual que residuos de humedad.
- 4.7 Para diluir la muestra se debe emplear agua libre de carbono con concentración de COT $\leq$ 1ppb.
- 4.8 Si la muestra contiene sólidos, se recomienda su dilución y homogenización antes del análisis.

5. Seguridad

- 5.1 Aspectos generales
Este método puede no mencionar todas las precauciones de seguridad asociadas con su uso. El laboratorio es responsable de mantener un ambiente de trabajo seguro y un archivo de las normas de seguridad respecto a la exposición y manejo seguro de las sustancias químicas especificadas en este método.

6. Equipo y materiales

Todo el material volumétrico utilizado en este método debe ser clase "A" o estar verificada su calibración.

- 6.1 Equipo
 - 6.1.1 Analizador de Combustión.
 - 6.1.2 Balanza analítica con precisión de 0.0001 g.
 - 6.1.3 Horno de secado o estufa.
- 6.2 Material de medición
 - 6.2.1 Matraces volumétricos de tamaños apropiados con tapón esmerilado (1000 mL, 2000 mL, 100 mL, entre otros).

- 6.2.2 Pipetas volumétricas de varios tamaños (0.5 mL, 1.0 mL, 2.0 mL, 5.0 mL, 10.0 mL, 20.0 mL, entre otros).
- 6.2.3 Probeta de 1000 mL– Material de vidrio con subdivisiones de 2mL.
- 6.3 Material
 - 6.3.1 Vasos de precipitados de diferente capacidad (500 mL, 250 mL, 50 mL. entre otros).
 - 6.3.2 Vidrio de reloj
 - 6.3.3 Frasco de vidrio ámbar de capacidad de 2.4 L.
 - 6.3.4 Contenedor de plástico para residuos.
 - 6.3.5 Pipetas pasteur de vidrio
 - 6.3.6 Espátula
 - 6.3.7 Parrilla de agitación y agitador magnético

7. Reactivos y patrones/ estándares

Los reactivos que requiere el método deben ser grado reactivo y deben cumplir con las especificaciones del Committee on Analytical Reagents of the American Chemical Society ACS a menos que otra cosa se indique.

- 7.1 Agua para reactivos libre de orgánicos - Agua grado reactivo tipo I ASTM.
- 7.2 Ácido fosfórico, H_3PO_4 , O bien, utilice ácido sulfúrico, H_2SO_4 .
- 7.3 Biftalato de Potasio (KHP o $\text{C}_8\text{H}_5\text{KO}_4$).
- 7.4 Bicarbonato de Sodio (NaHCO_3).
- 7.5 Disolución de Ácido fosfórico al 21%. Mida 94 mL de agua ultra pura con una probeta y colóquelos en un frasco de vidrio ámbar limpio y seco. Agregue 18 mL de ácido fosfórico al 85% en disolución (H_3PO_4) y agite para homogeneizar.
- 7.6 Disolución Madre de Carbono Orgánico 1000 mg/L. Pese aproximadamente y con exactitud 2,1254g de biftalato de potasio anhidro grado estándar primario, $\text{C}_8\text{H}_5\text{KO}_4$ previamente secado a 105°C por dos horas. En un vaso de precipitados agregue el biftalato de potasio pesado y disuelva con un poco de agua libre de carbono. Puede utilizar una varilla de vidrio para agitar o con agitador magnético y parrilla

de agitación. Trasvase a un matraz volumétrico de 1000 mL limpio y seco. Lleve al aforo con agua libre de carbono y agite para mezclar. Trasvase la disolución a un frasco ámbar de aproximadamente 2 L limpio y seco. Almacene a 4°C.

- 7.7 Disolución Madre de Carbono Inorgánico 1000 mg/L. Pese aproximadamente y con exactitud 4,4122g de carbonato sódico anhidro, Na_2CO_3 y 3,497g de bicarbonato de sodio anhidro, NaHCO_3 . En un vaso de precipitados agregue el biftalato de potasio pesado y disuelva con un poco de agua libre de carbono. Puede utilizar una varilla de vidrio para agitar o con agitador magnético y parrilla de agitación. Trasvase a un matraz volumétrico de 1000 mL limpio y seco. Lleve al aforo con agua libre de carbono y agite para mezclar. Trasvase la disolución a un frasco ámbar de aproximadamente 2 L limpio y seco. Almacene a 4°C.
- 7.8 Blancos. Prepare un blanco de reactivos de cada disolvente para demostrar que estos no están contribuyendo a la contaminación de las muestras.
- 7.9 Disolución estándar de verificación. Utilice un estándar de concentración conocida de COT certificado, o una disolución con la concentración del punto medio de la curva de calibración.
- 7.10 Muestras de Control de Calidad MCC. Prepare blancos de agua de reactivo, fortificados. La concentración añadida a éstas puede ser la misma concentración del punto medio del intervalo de trabajo a partir de las disoluciones estándar de calibración, o un estándar de concentración conocida de COT.
- 7.11 Disoluciones de calibración. Prepare por lo menos 5 niveles de diferente concentración de la disolución madre de carbono orgánico total. Prepare la curva de calibración el día en el que se va a analizar. Utilice pipetas volumétricas de diferentes volúmenes y tome las alícuotas de la disolución madre de carbono orgánico total de 1000 mg/L que se muestran en las Tablas 1 y 2. Transfiera la alícuota a un matraz volumétrico de 100.0 mL. Lleve al aforo con agua libre de orgánicos y agite. Vacíe las disoluciones de la curva de calibración en viales de 40 mL sin dejar espacio de aire. Etiquete y almacene a 4°C y protéjalas de la luz.

NOTA - 1: El punto de concentración más bajo de la curva de calibración debe ser 5 a 10 veces mayor que el valor del LDM. Las otras concentraciones corresponden al intervalo esperado de las concentraciones encontradas en las muestras reales o bien estarán definidas por el intervalo lineal del detector.

- 7.12 Cuando la concentración de las muestras se encuentre dentro del intervalo de 5 a 100 mg/L de TOC, utilice la Curva de Calibración de la Tabla 1. Cuando la concentración de las muestras se encuentre dentro del intervalo de 100 a 300 mg/L de TOC, utilice la Curva de Calibración de la Tabla 2. Los niveles de la curva de calibración pueden ser diferentes a los de la Tabla 1 y Tabla 2, siempre y cuando se cumpla con los criterios de calidad.
- 7.13 Gas portador: oxígeno o aire purificado, libre de CO_2 y que contengan menos de 1 ppm de hidrocarburos (como metano).
- 7.14 Gas de purga: cualquier gas libre de CO_2 y de hidrocarburos.

8. Recolección, preservación y almacenamiento de muestras

- 8.1 Recolecte y almacene las muestras en viales de vidrio de 40 mL con septa de PTFE, o bien en frascos de cristal ámbar de capacidad mínima de 1 L con tapones revestidos de TFE.
- 8.2 Conserve las muestras que no pueden ser examinadas inmediatamente a 4°C con una mínima exposición a la luz y la atmósfera. No se recomienda preservación con ácido.
- 8.3 Analice las muestras lo más pronto posible después de su colección (muestreo), dentro de las 24 horas después del muestreo. Homogenice las muestras que contengan sólidos.

9. Control de calidad

Control de calidad en las mediciones de rutina. Los siguientes puntos deberán validarse en cada uno de los lotes de mediciones.

- 9.1 Curva de calibración: Analizar cada uno de los estándares de calibración y obtener la curva de calibración con base en la regresión del área pico correspondiente a la concentración.
- 9.2 Blanco de reactivo: Se miden 1000 mL de agua destilada Tipo I como blanco de reactivo. Se prepara de la misma manera y simultáneamente que las muestras.
- 9.3 Muestra de control de calidad (MCC): En cada uno de los lotes de análisis, la muestra para el control de calidad (QCS) se mide cada 20 muestras y al final de un análisis de secuencia

$$y = m x + b$$

Donde:

- y Señal
- m Pendiente de la curva de calibración
- x Concentración del estándar evaluado (mg/L C)
- b Intercepción de y (ordenada al origen)

Si el coeficiente de correlación es $r \geq 0.998$, entonces la respuesta del instrumento es considerada lineal y los resultados de la curva pueden utilizarse para la cuantificación de los resultados de las muestras.

10. Calibración

- 10.1 Verificación de los blancos: Los blancos de reactivos no deben presentar ningún tipo de contaminante, por lo que es importante que los reactivos utilizados cumplan con las especificaciones mencionadas en la Sección.6.0
En caso de que existan contaminantes en los blancos, reste la cantidad obtenida a las muestras y controles.
- 10.2 Analice los cinco puntos de calibración y el blanco de reactivos.
 - 10.2.1 Seleccione el intervalo de trabajo deseado y las disoluciones de calibración adecuadas con al menos 5 disoluciones de calibración para cada rango de trabajo, utilizando de dos a tres puntos en la parte baja, un punto medio y un punto final dentro del intervalo de trabajo.
 - 10.2.2 Calibre de forma secuencial la aplicación de las disoluciones de calibración y los blancos de reactivo.
 - 10.2.3 Obtenga los valores de medida correspondientes a las disoluciones aplicadas de calibración. La señal de salida es proporcional a la concentración de Carbono Orgánico Total.
 - 10.2.4 Asegúrese de que las condiciones de análisis para las disoluciones de calibración y las muestras de análisis son idénticas.
 - 10.2.5 Construya una curva de relación de Absorbancia y la concentración de las disoluciones estándar y obtener la relación lineal establecida por la siguiente ecuación:

10.3 Estándar de verificación

- 10.3.1 Después de cada grupo de muestras medidas, por lo menos cada 10 medidas, comprobar la calibración del sistema, utilizando un Check Standard del punto medio o cualquier otro punto de la curva, o una disolución estándar de concentración conocida.
- 10.3.2 Si los resultados de esta disolución se encuentran fuera del intervalo de confianza de la curva de calibración, volver a calibrar el sistema.
- 10.3.3 Si el valor de concentración del estándar de verificación [Check Standard] se encuentra dentro del intervalo de aceptación establecido, se verifica que la calibración es correcta y puede utilizarse para la cuantificación de los resultados de las muestras.

11. Procedimiento

- 11.1 Limpieza del equipo, programe al menos 3 limpiezas, con objeto de ubicar la línea base del instrumento en los niveles adecuados de ruido para iniciar.
- 11.2 Programe la lectura de un blanco de reactivo por triplicado.
- 11.3 Programe la lectura de los cinco estándares de calibración por triplicado.
- 11.4 Programe las muestras en grupos de 10 muestras intercalando en ellos la lectura de blancos, estándares de verificación y muestras de control de calidad, la secuencia puede modificarse en función de la estabilidad de la línea base

12. Cálculos

Después de la calibración, los valores de la pendiente y el intercepto (ordenada al origen) son utilizados por el instrumento para calcular la concentración de la muestra analizada a partir de la siguiente ecuación:

$$x = \frac{y - b}{m}$$

Donde:

- y Respuesta del NDIR (absorbancia)
- m Pendiente de la curva de calibración
- x Concentración del estándar evaluado (mg/L C)
- b Intercepción de y (ordenada al origen)

El analizador de COT permite aislar cada una de las contribuciones del blanco total, aplicar las correcciones del blanco apropiadas a las respuestas de los patrones (blanco de reactivos, blanco de agua, blanco del sistema) y de la muestra (blanco de reactivos y blanco del sistema).

El instrumento permite obtener directamente los resultados en mg/L.

termination of total organic carbon (TOC) and dissolved organic carbon (DOC).

EPA Methods 415.1 Total Organic Carbon in Water Combustion or Oxidation.

EPA Methods 415.2 Determination of Total Organic Carbon and Specific UV Absorbance at 254 nm in Source Water and Drinking Water.

EPA Method 9060A: Total Organic Carbon in water and wastes by Carbonaceous Analyzer.

Standard Method 5310 B. Total Organic Carbon. The high-temperature combustion method.

Standard Method 5310 B. Total Organic Carbon. The persulfate-ultraviolet or heated-persulfate oxidation method.

Cleaning Validation USP TOC Method <643>: System Suitability Test for Total Organic Carbon (TOC).

13. Manejo de residuos

Es la responsabilidad del laboratorio cumplir con todos los reglamentos federales, estatales y locales referentes al manejo de residuos, particularmente las reglas de identificación, almacenamiento y disposición de residuos peligrosos.

14. Bibliografía

ISO 3696, *Water for analytical laboratory use- Specification and test methods.*

ISO 5667-3, *Water quality – Sampling- Part 3: Guidance on the preservation and handling of water samples.*

ISO 8466-1, *Water quality- Calibration and evaluation of analytical methods and estimation of performance characteristics- Part 1: Statistical evaluation of the linear calibration function.*

ISO 8245:1999, *Water quality- Guideliness for the de-*

15. Tablas y figuras

Tabla 1. Curva de Calibración A

Nivel	Alícuota de Disolución Madre COT (1000mg/L)	Aforo (mL)	Concentración teórica (mg/L)
Blanco	0 mL	100	0
Curva 1	0.5 mL	100	5
Curva 2	1 mL	100	10
Curva 3	2 mL	100	20
Curva 4	5 mL	100	50
Curva 5	10 mL	100	100

Tabla 2. Curva de Calibración B

Nivel	Alícuota de Disolución Madre COT (1000mg/L)	Aforo (mL)	Concentración teórica (mg/L)
Blanco	0 mL	100	0
Curva 1	10 mL	100	100
Curva 2	15 mL	100	150
Curva 3	20 mL	100	200
Curva 4	25 mL	100	250
Curva 5	30 mL	100	300

Procedimiento operativo estandarizado para medir plaguicidas organoclorados en agua y sedimento por CG/MS



Procedimiento operativo estandarizado para medir plaguicidas organoclorados en agua y sedimento por CG/MS

Contenido

Introducción	2
1. Aplicación y alcances	2
2. Principio y resumen	2
3. Definiciones	2
4. Interferencias	4
5. Seguridad	4
6. Equipos y materiales	4
7. Reactivos y patrones/estándares	5
8. Recolección, preservación y almacenamiento de muestras	6
9. Control de calidad	6
10. Calibración	7
11. Procedimiento	8
12. Cálculos	9
13. Manejo de residuos	10
14. Bibliografía	10
15. Tablas y figuras	11

Introducción

Estudios epidemiológicos y de laboratorio indican que la mayoría de los carcinógenos conocidos en el medio ambiente son productos químicos orgánicos sintéticos cuya producción comercial se ha incrementado enormemente en los últimos 30 años. Cada año, miles de nuevas sustancias son adicionadas a la lista de compuestos sintéticos. Varios de los compuestos orgánicos sintéticos son ahora fabricados e introducidos al ambiente como necesarios para su uso, tal es el caso de los plaguicidas clorados, éstos son introducidos en la mayoría de las ocasiones como desechos de plantas industriales ya sea, intencionalmente o accidentalmente. Lo anterior indica que el medio ambiente en particular el aire, aguas superficiales y mares que al contener algún plaguicida clorado se convierte en un riesgo de incidencia de cáncer en la población. Además es importante mencionar que los plaguicidas clorados tienen la característica de tener una estructura química resistente a la degradación por factores naturales.

1. Aplicación y alcances

- 1.1 Propósito: Este método se utiliza para la determinación de la concentración de varios plaguicidas organoclorados. Este es un método por cromatografía de gases con detector de espectrofotometría de masas (CG/MSD).
- 1.2 Analitos: Los analitos que pueden medirse se encuentran en la Tabla 1.
- 1.3 Matrices: Este método es aplicable para el análisis de plaguicidas organoclorados en aguas y sedimento marino, dentro de estos últimos, debido a la gran variedad de formas en los que pueden existir, es muy importante el criterio del químico analista para aplicar los métodos de limpieza adecuados según sea el caso.
- 1.4 Limitaciones: Los límites de detección en las muestras reales dependerán de las interferencias presentes en las mismas, por lo que es muy importante tener en cuenta que pueden variar hasta en magnitudes de 10 a 1 000 veces (factores de concentración de las muestras). Ver Tabla 2.
- 1.5 Restricciones: Este método está restringido para utilizarse sólo bajo la supervisión de analistas expertos en el uso de cromatografía de

gases de alta resolución y en la interpretación de sus resultados, habilidad y los conocimientos para generar resultados aceptables con este procedimiento antes de analizar muestras reales.

2. Principio y resumen

- 2.1 Principio: El principio de este método se basa en la separación y medición de los plaguicidas organoclorados presentes en un extracto orgánico purificado de la muestra inyectada en una alícuota en el cromatógrafo de gases equipado con una columna capilar y un detector de espectrofotometría de masas. La identificación de los analitos de la muestra se realiza comparando sus tiempos de retención o sus espectros de masas. Su cuantificación se realiza mediante el método de estándar interno o el método de dilución de isótopo.
- 2.2 Resumen: (Muestra de agua) Se toman 1000mL de muestra en un embudo de separación (2L) y se extraen con 50mL de hexano. La extracción se deshidrata, concentra y se fortifica con los estándares internos. Finalmente, la concentración se mide en el CG/MSD-SIM. (Muestra de sedimento) Pesar 20g de peso húmedo de la muestra aproximadamente (la muestra húmeda equivale a 10g de peso seco) en un tubo de sedimentación (agregar los surrogados para fortificar la muestra) se extrae con acetona mediante agitación y equipo ultrasónico. La capa de acetona se separa de la muestra de sedimento y se disuelve con una disolución del 5% de cloruro de sodio. La disolución se extrae con hexano. La extracción de hexano se deshidrata y concentra. Esta concentración se limpia con un cartucho de florisil (si es necesario, se utilizará también un cartucho de carbón para la eliminación del sulfuro). La elución limpiada se concentra, se fortifica con el estándar interno y finalmente, la concentración se mide con el CG/MSD-SIM.

3. Definiciones

Las definiciones presentadas en esta sección se especifican para este método.

- 3.1 Aguas residuales: Son las aguas de composición variada provenientes de las descargas de

- usos municipales, industriales, comerciales, agrícolas, pecuarias, domésticos y generalmente de cualquier fuente de descarga, así como la mezcla de ellas.
- 3.2 Blanco de campo: Una alícuota de agua reactivo que es colocada en un envase para muestra en el laboratorio, empacada para el muestreo; tratada como una muestra en todos los aspectos, incluyendo el contacto con los equipos de campo y expuesta a las condiciones del sitio de muestreo, almacenaje, preservación y todos los procedimientos analíticos, los cuales pueden incluir filtración.
 - 3.3 Blanco de reactivos: Es una matriz libre de analitos a la cual se le agregan todos los reactivos en los mismos volúmenes o proporciones usados en el procesamiento de la muestra. El blanco de reactivos debe llevarse a través de la preparación de la muestra y el procedimiento analítico. El blanco de reactivos se usa para documentar la contaminación resultante del proceso analítico.
 - 3.4 Calibración: Conjunto de operaciones que establecen, bajo condiciones específicas, la relación entre los valores de una magnitud indicados por un instrumento, sistema de medición o los valores representados por una medida materializada y los valores correspondientes de la magnitud, realizados por los patrones, efectuando una corrección del instrumento de medición para llevarlo a las condiciones iniciales de funcionamiento.
 - 3.5 Desviación estándar: Cuando se utiliza este estadístico en el presente método, se refiere a la desviación estándar de la muestra (s), calculada a partir de $n-1$ y no a la de la población (σ) la cual se calcula a partir de n .
 - 3.6 Disolución patrón: Disolución de concentración conocida preparada a partir de un patrón primario.
 - 3.7 Disolución estándar de calibración: Disolución preparada de un estándar diluido y/o una disolución patrón y utilizada para calibrar la respuesta del instrumento con respecto a la concentración de los analitos.
 - 3.8 Estándar surrogado: Compuesto orgánico el cual es similar en composición química y comportamiento en el proceso analítico al de los analitos medidos y que normalmente no está presente en las muestras a analizar.
 - 3.9 Estándar interno: Compuesto adicionado a las muestras para cuantificar analitos específicos del método en cuestión, éste debe ser similar a los compuestos medidos tanto en composición química como en comportamiento en el proceso analítico, éste no debe estar presente en las muestras.
 - 3.10 Estándar de verificación de la calibración: Punto medio del estándar de calibración que es utilizado para verificar la calibración inicial en el tiempo.
 - 3.11 Exactitud: Proximidad de concordancia entre el resultado de una medición y un valor verdadero del mensurando.
 - 3.12 Límite de detección del método (LDM): Concentración mínima de los analitos que puede identificarse con una confianza del 95% cuando la concentración de los analitos sea mayor a cero bajo las condiciones establecidas.
 - 3.13 Límite práctico de cuantificación (LPC): Concentración mínima del analito que puede determinarse con un nivel de confianza predeterminado en condiciones rutinarias de operación. Este límite puede establecerse entre 5 a 10 veces el LDM.
 - 3.14 Muestras fortificadas (MF) y Muestras Fortificadas Duplicadas (MFD): Alícuota de una muestra ambiental para la cual cantidades conocidas de los analitos del método son añadidas en el laboratorio. Las MF y MFD son analizadas exactamente como una muestra. Su propósito es la cuantificación del sesgo y la precisión causada por la matriz de la muestra. Las concentraciones bases de los analitos en la matriz de la muestra debe determinarse en una alícuota separada y los valores medidos en las MF y MFD corregidas con las concentraciones base.
 - 3.15 Muestra de control de calidad (MCC): Muestra sintética que contiene todos o un subgrupo de los analitos del método a una concentración conocida. La MCC se obtiene de una fuente externa al laboratorio o es preparada de una fuente diferente de los estándares de la fuente de los estándares de calibración. Se usa para revisar el desempeño del laboratorio con materiales de prueba preparados externamente a los procesos normales de preparación.
 - 3.16 Disoluciones madre: Disolución que es designada o reconocida ampliamente como un pa-

trón que tiene las más altas cualidades metro-lógicas y cuyo valor es aceptado sin referencia a otros patrones de la misma magnitud.

- 3.17 Estándar de referencia: Patrón en general de la más alta calidad metro-lógica disponible en un lugar dado, o en una organización determinada del cuál se derivan las mediciones realizadas en dicho lugar.
- 3.18 Precisión: Es el grado de concordancia entre resultados analíticos individuales cuando el procedimiento analítico se aplica repetidamente a diferentes alícuotas o porciones de una muestra homogénea. Usualmente se expresa en términos del intervalo de confianza o incertidumbre.
- 3.19 Intervalo de trabajo: Intervalo de la concentración sobre el cual la respuesta del instrumento para el analito es proporcional.
- 3.20 Verificación de la calibración: Una verificación periódica de que no han cambiado las condiciones del instrumento en una forma significativa.

4. Interferencias

- 4.1 Las interferencias introducidas por las muestras son contaminantes que se extraen de ella. La cantidad de interferencias de ésta variará dependiendo del tipo de agua y de la naturaleza de la muestra. El procedimiento de limpieza, puede utilizarse para superar muchas de estas interferencias.
- 4.2 Las interferencias del método pueden originarse por la presencia de contaminantes en los disolventes, reactivos, material de vidrio o cualquier otro material durante el procesamiento de la muestra que puede conducir a picos distorsionados y picos fantasma, y/o líneas base elevadas en los cromatogramas. Todos estos materiales deben estar libres de interferencias, el análisis de blancos de reactivos verifica la presencia de éstas interferencias.
 - 4.2.1 El material de vidrio calibrado debe lavarse perfectamente.
 - 4.2.2 Lavar todo el material de vidrio que no sea calibrado tan pronto como sea posible después de usarse, enjuagándolo con el último disolvente que se empleó. Seguido de un lavado con detergente y agua caliente y enjuague

con agua de la llave y agua destilada. El material de vidrio debe secarse en un horno a 100°C durante 15 a 30 minutos. Después de que el material de vidrio esté frío y seco deberá taparse y almacenarse en un ambiente limpio para prevenir cualquier acumulación de polvo u otros contaminantes. Almacene en forma invertida o tapado con papel aluminio.

- 4.2.3 Los problemas de interferencia pueden disminuirse con la ayuda del uso de reactivos y disolventes de alta pureza.

5. Seguridad

- 5.1 Este método puede no mencionar todas las precauciones de seguridad asociadas con su uso. El laboratorio es responsable de mantener un ambiente de trabajo seguro y un archivo de las normas de seguridad respecto a la exposición y manejo seguro de las sustancias químicas especificadas en este método. Debe tenerse un archivo de referencias de las hojas de información de seguridad el cual debe estar disponible a todo el personal involucrado en estos análisis.
- 5.2 Aspectos específicos del método: Los siguientes compuestos determinados por este método han sido clasificados tentativamente como conocidos o sospechosos cancerígenos para humanos o mamíferos: 4,4'-DDT, 4,4'-DDD y los BHC's. Los patrones puros de estos compuestos tóxicos deben prepararse en una campana de extracción. Cuando maneje altas concentraciones de estos compuestos tóxicos debe utilizar una mascarilla para gases tóxicos.

6. Equipos y materiales

Todos los materiales volumétricos que se utilizan en este procedimiento deben ser de clase "A" o la calibración deberá ser verificada.

- 6.1 Equipo
 - Los siguientes equipos y materiales son necesarios para el uso de las porciones de CG/MS en este procedimiento
 - 6.1.1 Cromatógrafo de gases – Sistema analítico completo con cromatógrafo de gases para inyección split-splitless,

con detector de espectrofotómetro de masas (CG/MSD) con sistema de integración y registro, así como accesorios incluidos como jeringas y columnas.

- 6.1.2 Sistema de concentración por gas N₂ y Rotavapor – Sistema de concentración para llevar el extracto a 1mL.

6.2 Materiales

- 6.2.1 Columna: Columna capilar DB-5MS de silica derretida con una fase estacionaria del 5% de metil polisiloxano (con un grosor de película de 0.25µm y 0.25mm de diámetro interno) o un producto similar.
- 6.2.2 Probeta de 1000mL – Material de vidrio con subdivisiones de 2mL.
- 6.2.3 Probeta de 50mL – Material de vidrio con subdivisiones de 1mL.
- 6.2.4 Embudo de separación de 2L – Material de vidrio con llave de teflón o vidrio.
- 6.2.5 Matraz Erlenmeyer de 500mL – Material de vidrio.
- 6.2.6 Matraz bola de 20mL, 50mL y 250mL para rotavapor – Material de vidrio.
- 6.2.7 Pipeta Pasteur – Material de vidrio, tallo largo.
- 6.2.8 Tubo de ensaye tipo centrífuga de 10mL – Material de vidrio, con tapa esmerilada.
- 6.2.9 Microjeringa de 10, 25, 50, 100, 250 y 500µL – Material de vidrio con aguja, para realizar la curva de calibración.

Todos los solventes utilizados deberán ser grado plaguicida o su equivalente y debe probarse que estén libres de ésteres de ácido ftálico.

- 7.2. Estándares y disoluciones patrón Los estándares pueden ser estándares puros o adquirirse como estándares certificados (estándares de referencia)

- 7.2.1 Compuestos organoclorados (HCB, α-BHC, β-BHC, γ-BHC [lindano], σ-BHC, pp'-DDT, pp'-DDD, pp'-DDE, heptacloro, aldrin, heptacloro epóxico, endosulfán I, dieldrin, endrin, endosulfán II, endrin aldehído, endosulfán sulfato, metoxicloro, endrin cetona, trans-clordano, cis-clordano).
- 7.2.2 Disoluciones patrón (100mg/L): Se pesan exactamente 10mg de cada compuesto y se llevan a un matraz volumétrico de 100mL, para ser disueltos con acetona. Cada volumen se afora con 100mL para obtener una disolución estándar de concentración de 100mg/L.
- 7.2.3 Disolución patrón (1mg/L): Se toman exactamente 100µL de cada disolución estándar en un matraz volumétrico de 10mL y se afora con hexano, para finalmente obtener una disolución estándar de concentración de 1mg/L.
- 7.2.4 Disolución de evaluación de desempeño (DED): Prepare la DED en hexano o isooctano a los niveles de concentración listados en la Tabla 4. La DED debe prepararse cada seis meses o antes si ésta presenta degradación o concentración.
- 7.2.5 Disolución de verificación de la resolución: Prepare la mezcla de plaguicidas en hexano o isooctano de acuerdo a las concentraciones de la Tabla 5. Prepare la disolución cada seis meses o antes si la disolución presenta degradación en la concentración.
- 7.2.6 Blancos: Prepare un blanco de reactivos y prepare blancos de cada disolvente para demostrar que éstos no están contribuyendo a la contaminación de las muestras.
- 7.2.7 Disoluciones de calibración: Prepare 5 niveles de diferente concentración de las disoluciones estándar para cada analito de interés en matraces volumétricos, adicione volúmenes de uno o más estándares internos según se requiera. Para cada disolución estándar

7. Reactivos y patrones/ estándares

- 7.1 Los reactivos que requiere el método deben ser grado pesticida o ultra-residuos y deben cumplir con las especificaciones del Committee on Analytical Reagents of the American Chemical Society (ACS) a menos que se indique otra cosa.
- 7.1.1 Agua tipo II – A menos que se indique de otra forma, el agua de referencia debe entenderse como agua libre de compuestos orgánicos.
- 7.1.2 Acetona (CH₃)₂CO, grado pesticida o equivalente
- 7.1.3 Hexano (C₆H₁₄), grado pesticida o equivalente
- 7.1.4 Sulfato de sodio anhidro (Na₂SO₄)

dar de calibración, adicione una cantidad conocida de los compuestos a analizar y lleve al aforo con isooctano. El punto de concentración más bajo de la curva de calibración debe ser 5 a 10 veces mayor que el valor del LDM. Las otras concentraciones corresponden al intervalo esperado de las concentraciones encontradas en las muestras reales o bien estarán definidas por el intervalo lineal del detector.

7.2.8 Estándares internos (Fenantreno d10, Fluoranteno d10, p-terfenilo d14). Disolución de estándares internos: Para cuantificar en el CG/MS: Se sugiere el uso del Fenantreno d10, Fluoranteno d10 y p-terfenilo d14, siempre y cuando no estén considerados como analitos a ser medidos. Se toman exactamente 5mg de cada compuesto y se colocan en un matraz volumétrico de 50mL y se disuelven con acetona. Cada volumen se afora a 50mL con acetona para, finalmente, obtener una disolución estándar de concentración de 100mg/L. Preparación de una disolución de estándar interno de 1mg/L: Se toman exactamente 100µL de cada disolución estándar en un matraz volumétrico de 10mL. El volumen se afora a 10mL con hexano para obtener una disolución de estándar interno con una concentración de 1mg/L.

7.2.9 Disolución de estándares surrogados: Si es posible, los estándares surrogados son adicionados a todas las muestras, blancos, muestras fortificadas y estándares de calibración y se utilizará el método de dilución de isótopo. Los surrogados recomendados son: 13C6-HCB y/o 13C12-p,p-DDT, así como otros compuestos que replacen isótopos podrán utilizarse. Se recomienda preparar una disolución patrón de ≈ 100 mg/L, adicione un volumen de 2µL de ésta a 1L de muestra para obtener una concentración de aproximada de 0.20 mg/L.

Todas las disoluciones deben almacenarse a 4°C en viales tapados sin dejar espacio de aire y protegidos de la luz. Todas las disoluciones deben ser reemplazadas después de seis meses o si las pruebas de control de calidad demuestran lo contrario.

8. Recolección, preservación y almacenamiento de muestras

- 8.1 Tome un mínimo de 4 L de muestra en un envase de vidrio ámbar. No se necesita ningún tratamiento especial en campo.
- 8.2 Las muestras deben refrigerarse a aproximadamente 4°C desde el momento de su colecta hasta el momento de la extracción. No utilice conservadores químicos en el campo a menos que transcurran más de 24 horas antes de entregarlas al laboratorio. En el caso de compuestos organoclorados, el control de pH no es necesario.
- 8.3 Extraiga todas las muestras dentro de los 7 días después de ser muestreadas y preservadas, pueden ser analizadas las muestras dentro de los 40 días después de la extracción.

9. Control de calidad

Control de calidad en las mediciones de rutina. Los siguientes puntos deberán validarse en cada uno de los lotes de mediciones.

- 9.1 Curva de calibración: Analizar cada uno de los estándares de calibración y obtener la curva de calibración con base en la regresión del área del pico correspondiente a la concentración.
- 9.2 Blanco de reactivo: El agua destilada se mide como blanco de reactivo. Se prepara de la misma manera y simultáneamente que las muestras matrices. El resultado del blanco de reactivo deberá sustraerse de los resultados de las muestras, debido a que puede ocurrir una interferencia de bajo nivel en este procedimiento. La interferencia pudiera ser debido a los plastificantes eluidos del disco de extracción de la fase sólida.
- 9.3 Blanco fortificado: Se fortifican 250 µL de la disolución patrón (1mg/L) y 50 µL del surrogado en 250 mL de agua destilada como blanco fortificado. En este caso, la concentración fortificada en la muestra es de 0.001 mg/L. Se prepara y se mide el blanco fortificado de la misma manera y simultáneamente que las muestras.

9.4 Muestra de control de calidad En cada uno de los lotes de análisis, la muestra para el control de calidad se mide cada 20 muestras y al final de un análisis de secuencia

9.5 Recuperaciones de Fortificados: Sustraer el blanco reactivo del blanco fortificado y reportar la diferencia como la recuperación de los analitos. La recuperación deberá ser casi 100% debido a que en este procedimiento se aplican surrogados marcados como isótopos. La respuesta del surrogado se divide por la respuesta del ISTD.

Comparar los cocientes entre los estándares de calibración y las muestras matrices. Si la recuperación se desvía $100 \pm 40 \%$, las muestras correspondientes deberán volverse a preparar.

Nota 2. En caso de usar muestras fortificadas, el laboratorio debe evaluar los datos de recuperación del fortificado a partir de muestras individuales versus los límites de control del fortificado desarrollados por el laboratorio.

9.6 Se recomienda que se adopte prácticas de garantía de calidad adicionales para usarse con este procedimiento. Las prácticas específicas que son más productivas dependen de las necesidades del laboratorio y la naturaleza de las muestras. Cuando sea posible, participar en estudios de intercomparación.

10. Calibración

10.1 Verificación del Instrumento de Medición:

10.1.1 La degradación tanto del DDT como del Endrin en la DED (Sección 7.2.2.3) debe ser menor al 20% y la degradación combinada del DDT y Endrin debe ser menor al 30% lo cual se calcula como a continuación se indica:

$$\% \text{ Degradación DDT} = \frac{(A * 100)}{B} \quad \text{(Ecuación 1)}$$

donde:

A Cantidad encontrada en μg (DDD + DDE)

B Cantidad inyectada en μg de DDT

$$\% \text{ Degradación Endrin} = \frac{(A * 100)}{B} \quad \text{(Ecuación 2)}$$

donde:

A Cantidad encontrada en μg (Endrin aldehído + Endrin cetona)

B Cantidad inyectada en μg de Endrin

$$\% \text{ Degradación Combinada} = A + B \quad \text{(Ecuación 3)}$$

donde:

A % Degradación de DDT

B % Degradación de Endrin

10.1.2 Los tiempos de retención absolutos de cada uno de los plaguicidas y surrogados en ambas DEDs deben estar dentro del intervalo de tiempo determinado en la calibración inicial.

10.1.3 Si cumple con los criterios antes mencionados prosiga con la siguiente sección, en caso de no cumplir verifique que el sistema cromatográfico específicamente el inyector no este contaminado con materiales de alto punto de ebullición en caso de ser así reemplace la septa, inserto de vidrio y/o en caso necesario corte una porción de columna (0,5 – 1 m) del extremo correspondiente al puerto de inyección.

10.2 Verificación de los blancos: Los blancos de reactivos no deben presentar ningún tipo de analito que tenga el tiempo de retención de los plaguicidas medidos, por lo que es importante que los reactivos utilizados cumplan con las especificaciones. Use también los blancos de reactivos para verificar la contaminación por arrastre de muestras con altas concentraciones en análisis secuenciales.

10.3 Verificación de la curva de calibración continuada o extendida: En cada lote analizado, se analizan más de 20 muestras durante el día, verifique la curva de calibración analizando un estándar de concentración media del intervalo de trabajo al principio del lote y después de cada 20 muestras.

10.4 Las condiciones de operación del cromatógrafo de gases están definidas por el tipo de

columna elegida. Una vez establecidas las condiciones de operación inyecte un volumen adecuado (1 a 2 µL) de cada estándar de calibración a partir de las disoluciones mencionadas en la sección 7.2.2.6, otros volúmenes pueden ser utilizados si así lo requiere la sensibilidad de los compuestos de interés.

- 10.5 Procedimiento de calibración: Analice cada estándar de calibración a partir de las disoluciones mencionadas en la sección 7.2.2.6 de acuerdo la sección 11.4.1, si la técnica de cuantificación elegida es por estándar externo construya una curva de área o altura de pico contra concentración y calcule el factor de respuesta FR para cada plaguicida.

$$FR = \frac{\text{Área del plaguicida}}{\text{Concentración del plaguicida}} \quad (\text{Ecuación 4})$$

- 10.6 Si la técnica es por estándar interno, construya una curva de relación de áreas A_e/A_{ei} contra relación de concentración C_e/C_{ei} , calcule el factor de respuesta relativo para cada plaguicida según la siguiente ecuación:

$$FRR = \frac{(A_c \times C_{ei})}{(A_{ei} \times C_c)} \quad (\text{Ecuación 5})$$

donde:

- Ac Área para el plaguicida a ser medido
- Aei Área para el estándar interno
- Cei Concentración del estándar interno en mg/l
- Cc Concentración del plaguicida a ser medido en mg/l

- 10.7 Dependiendo del método elegido, calcule el promedio de los factores de calibración FR o FRR de cada plaguicida y la desviación estándar, obtenga la desviación estándar relativa (DSR). Si la DSR de cada plaguicida es $\leq 20\%$, entonces la respuesta del instrumento es considerada lineal y el factor de calibración promedio FR o FRR puede utilizarse para la cuantificación de los resultados de las muestras. Si la DSR es mayor que 20%, entonces no puede asumirse linealidad.

11. Procedimiento

- 11.1 Extracción de la muestra de agua (diagrama de flujo 1): 1L de la muestra de agua (Nota 1) se toma en un embudo de separación con una capacidad de 2L y se le agregan 30g de cloruro de sodio (si se está analizando agua de mar, este paso no es necesario) y el surrogado (10ng~100ng, dependiendo de la sensibilidad del MSD que se esté utilizando, pero 50ng o 100ng puede ser una cantidad adecuada). Después de mezclar y disolver, 50mL de hexano se adicionan a la muestra y se realiza una extracción mediante agitación durante 10 minutos. Esta extracción se lleva a cabo por dos veces en total. La capa de hexano se recolecta y se deshidrata con sulfato de sodio anhidro. La disolución extraída se concentra a 5mL con el rotavapor y a 1mL con el sistema de purga de gas N_2 .

Nota 1: Filtre la muestra, la cual contenga una gran cantidad de sólidos suspendidos como agua residual, antes de la extracción, aun cuando se utilice la extracción líquido-líquido o sólido-líquido.

Extraiga los sólidos filtrados y filtre con una pequeña cantidad de acetona por dos veces mediante extracción ultrasónica. Agregue la disolución extraída al líquido filtrado para llevar a cabo el proceso actual de extracción. Los compuestos surrogados deberán agregarse y estar bien mezclados antes de su filtración.

- 11.2 Extracción de la muestra de sedimento (diagrama de flujo 2): Pesar 20g de sedimento seco (la muestra húmeda es equivalente a 10g del peso seco) en un tubo de sedimentación con tapa, agregue el surrogado (10ng~100ng, dependiendo de la sensibilidad del MSD, pero por lo general, 50ng o 100ng son suficientes) y se mezclan. Se adicionan 40mL de acetona a la muestra y se realiza una extracción por agitación durante 10 minutos. Después la muestra se extrae mediante equipo ultrasónico durante 10 minutos, centrifuga por 10 minutos a una velocidad de 1500~2000 rpm (o se filtra utilizando un embudo Buchner) y la capa de acetona se recolecta. Esta filtración se lleva a cabo dos veces en total.

El extracto de acetona se agrega a un embudo de separación de 1L, donde se coloca una disolución del 5% de cloruro de sodio. Se fortifica la mezcla con 50mL de hexano y se efectúa una extracción mediante agitación por diez minutos. Esta extracción se realiza

dos veces en total. La capa de hexano se recolecta y se deshidrata con sulfato de sodio anhidro. La disolución extraída se concentra a 5mL, aproximadamente, con el rotavapor y se concentra a 1mL con el sistema de purga de gas N₂.

11.3 Limpieza

11.3.1 Muestra de agua: Si es necesario, la muestra de agua deberá ser limpiada con una columna de florisil similar a la de la muestra de sedimento (11.3.2). Sin embargo, en términos generales, la limpieza no es necesaria para muestras de agua.

La muestra se concentra y se le adicionan los estándares internos (10ng~100ng, dependiendo de la sensibilidad del MSD, pero 50ng o 100ng son más que suficientes) y se mide en el CG/MSD.

11.3.2 Muestra de sedimento: Las muestras de sedimento se limpian con un cartucho cromatográfico de florisil.

La disolución pre-tratada se carga en la columna cromatográfica de florisil, que ha sido acondicionada con 10mL de hexano previo a la limpieza. Los compuestos de interés se eluyen con 10mL de hexano (Fr.1) y 10mL de hexano que incluyen 5% de acetona/hexano.

Después la elución de la Fr. 1 se concentra cerca de 2mL y 1g de cobre reducido se le agrega a la Fr. 1 para la eliminación del sulfuro. Se agita y se deja en reposo (si es necesario, se agregará más del cobre reducido hasta que el cobre no se oxide o cambie de color y se deja en reposo nuevamente). El solvente de sulfuro eliminado se pasa a través de un embudo de vidrio, el cual ha sido llenado con 10g de sulfato de sodio anhidro y lavado con 30mL de hexano. La elución se concentra a 5 mililitros en el rotavapor (o KD).

Si se observa que la Fr. 2 tiene un color dominante y se considera que tiene interferencias con sustancias extrañas volátiles, se procederá a una limpieza con cartucho de carbón activado. Antes del procedimiento, el cartucho se acondiciona con 5mL de tolueno, 6mL de acetona y 7mL de hexano. La Fr. 2 se concentra a 0.5mL utilizando el sistema de purga de gas N₂. La concen-

tración se carga en el cartucho y se eluye con 9mL de hexano. Toda la elución se recolecta en un tubo de ensayo y concentra a 2mL, aproximadamente, con el sistema de purga de gas N₂.

La Fr. 1 se concentra y se mezcla con la concentración de la Fr. 2 y la mezcla se concentra nuevamente a 1mL. Después, agregar los estándares internos (10ng~100ng, dependiendo de la sensibilidad del MSD, pero con 50ng o 100ng son suficientes) y el volumen se fija a 1mL. Ésta es la disolución a medir.

11.4 Condición para la medición en el CG:
Columna: columna capilar de silica derretida (30m×0.25mm I.D., 0.25mm de película)
Metil silicona o 5% fenilmetilpolisiloxano
Temperatura del horno: 60 °C(1 min.)-10 °C / min.-280 °C (mantener por 5 min.)
Temperatura del puerto de inyección: 250 °C
Inyección: Split-less (Purga empieza 1 min.)
Volumen de inyección: 2µL
Gas acarreador: He
Velocidad lineal: 40cm/seg
Temperatura de la interfase: 280 °C

11.5 Condición para la medición en el MS:
Método de ionización: EI
Voltaje de ionización: 70eV
Temperatura de la fuente de ión: depende del equipo utilizado
Modo de detección: SIM

11.6 Iones de monitoreo. La lista se presenta en la Tabla 3.

12. Cálculos

12.1 Curva de calibración: Cuantifique la muestra por el método de curva de calibración utilizando el estándar interno (o método de dilución del isótopo). Haga la curva de calibración cada vez que realice una medición. Agregue una cierta cantidad del estándar interno a la mezcla de estándares. Inyecte 1 a 2µL de éste al CG y produzca una curva de calibración de la relación de cada área de los picos (altura) entre cada compuesto de interés y el estándar interno. Cuantifique la muestra utilizando la curva. El intervalo de la curva de calibración deberá tener más de 5 veces el L.D.M. que incluya la concentración detectable.

- 12.2 Medición de las muestras: Inyecte 1 a 2µL de la disolución de la muestra para su medición en el CG y médalo, después de haber efectuado la confirmación de sensibilidad del SIM (o después de haber obtenido una curva de calibración). Confirme que la descomposición de los compuestos surrogados, p,p'-DDT-13C12 a DDD y DDE, no exceda del 20% en la medición.

En caso de que la descomposición exceda al 20%, revise el procedimiento de limpieza y vuelva a analizar debido a que la limpieza pudiera haber sido insuficiente. Mida el estándar, cuya concentración se encuentre en el punto medio de la curva de calibración cada 8 horas transcurridas del tiempo de medición, siempre y cuando el CG/MSD esté trabajando de forma continua. Si se encuentra fuera de intervalo, ajuste el CG/MS para continuar con las mediciones.

Confirme la existencia de los compuestos de interés (compuestos surrogados) y cuantifíquelos. Cuando utilice compuestos 13C del DDT, HCB como surrogados, la tasa de recuperación se excede por mucho del intervalo, revise la causa y reanalice la muestra.

- 12.3 Identificación: Se considera que los compuestos de interés (compuestos surrogados) se encuentren dentro de la muestra deberán cumplir las siguientes condiciones:

12.3.1 El pico del ión cualificador y el ión primario para el compuesto de interés (compuesto surrogado) aparece dentro de 5 segundos del tiempo de retención, el cual se registra en la curva de calibración.

12.3.2 La intensidad del pico del ión primario es menor al $\pm 20\%$ comparado con la intensidad relativa del ión cualificador.

- 12.4 Cuantificación. Método de Curva de Calibración Si se utiliza el método de curva de calibración, la cantidad del método de detección se obtiene de la relación de las áreas de los picos (o altura) entre cada compuesto de interés y el estándar interno utilizado para la curva de calibración.

Calcular la concentración de los compuestos de interés (compuestos surrogados) en la muestra a partir de las cantidades de detección, cantidad de la muestra analizada, cantidad de la muestra dividida, entre otras.

13. Manejo de residuos

Es la responsabilidad del laboratorio cumplir con todos los reglamentos federales, estatales y locales referentes al manejo de residuos, particularmente las reglas de identificación, almacenamiento y disposición de residuos peligrosos.

14. Bibliografía

Publicación del Ministerio del Medio Ambiente (octubre 1998). *The Interim Manual for the Study of Endocrine-disrupt Chemicals* (El manual provisional para el estudio de las afecciones químicas endocrinas)

Capítulo II del *Analytical Method for Organic-Chlorine-Pesticide, Poly-bromo-biphenyl and benzo(a) pylene*

Método EPA americano 8270d (2007) *SEMIVOLATILE ORGANIC COMPOUNDS BY GAS CHROMATOGRAPHY/MASS SPECTROMETRY (GC/MS)*

Método EPA americano 3510c (1996) *SEPARATORY FUNNEL LIQUID-LIQUID EXTRACTION* (extracción líquido-líquido por embudo de separación)

Método EPA americano 3550c (2007) *ULTRASONIC EXTRACTION* (extracción ultrasónica)

Método EPA americano 3620c (2007) *FLORISIL CLEANUP* (limpieza de florisil)

15. Tablas y figuras

Tabla 1. Compuestos de interés

PLAGUICIDA	USO A (mg/L)	USO B (mg/L)	USO C (mg/L)	USO D (mg/L)	Cas No.
HEXACLOROBENCENO					118-74-1
ALFA-BHC	-	-	0.001	0.000004	319-84-6
LINDANO	0.003	-	0.002	0.0002	319-86-8
BETA-BHC	-	-	0.001	0.000004	319-85-7
HEPTACLORO	0.0001	0.02	0.0005	0.0005	76-44-8
DELTA BHC	-	-	0.001	0.000004	58-89-9
ALDRIN	0.001	0.02	0.0003	0.0074	309-00-2
HEPTACLORO EPÓXIDO isomero B					1024-57-3
TRANS CLORDANO					5103-74-2
CIS CLORDANO					5103-71-9
ENDOSULFÁN I	0.07	-	0.0002	0.0003	959-98-8
4.4'DDE	-	0.04	0.01	0.0001	72-55-9
DIELDRIN	0.001	0.02	0.002	0.0009	60-57-1
ENDRIN	0.0005	-	0.00002	0.00004	72-20-8
4.4'DDD	0.001	-	0.00001	0.0001	72-54-8
ENDOSULFÁN II	0.07	-	0.0002	0.00003	33212-65-9
4.4'DDT	0.001	-	0.001	0.0001	50-29-3
ENDRIN ALDEHÍDO					7421-93-4
ENDOSULFÁN SULFATO					1031-07-8
METOXICLORO	0.03	-	0.000005	0.00044	72-43-5
ENDRIN CETONA					53494-70-5

A= Fuente de abastecimiento para uso público urbano
 B= Riego agrícola
 C= Protección a la vida acuática: Agua dulce, incluye humedales.
 D= Protección a la vida acuática: Aguas costeras y estuarios
 A, B, C, D Pertenece a los límites de la Ley Federal de Derechos

Tabla 2. Límites de detección del método

Parámetro	Límite de Detección del Método (µg/L)	Límite de Detección del Método (µg/L)
	Agua Subterránea	Agua Residual
a-BHC	N.A	N.A
γ-BHC	0.93	0.35
B-BHC	0.91	0.20
Heptacloro	1.3	0.56
Lindano	1.4	0.32
Aldrin	1.4	0.83
Heptacloro epóxico	1.5	0.34
Endosulfán I	1.3	0.51
4,4'-DDE	1.0	0.59
Dieldrin	0.90	0.49
Endrin	1.70	0.82
4,4'-DDD	1.40	0.85
Endosulfán II	0.90	0.54
4,4'-DDT	0.60	0.71
Endrin aldehído	0.80	0.36
Endosulfán sulfato	N.A	N.A
γ-Clordano	1.8	0.58
α-Clordano	1.50	0.58
Toxafeno	N.A	N.A

NOTA: 1) Los resultados fueron determinados por la EPA 8081 método de referencia con 7 réplicas de cada tipo de matriz.

Tabla 3. Iones de monitoreo

No	Nombre del compuesto	EI de referencia (o surrogado)	Ión de monitoreo		
			Primario	cualificador 1	cualificador 2
1	Hexaclorobenceno (HCB)	ES1 o ¹³ C ₆ -HCB	283.8	285.8	248.8
2	Hexaclorociclohexano (HCHs)	EI1	180.9	218.9	182.9
3	Heptacloro	EI1	271.8	100	273.8
4	Aldrin	EI2	262.9	264.9	66
5	Heptacloro epóxido, isomero B	EI2	352.8	354.8	81
6	trans y cis-clordano	EI2	374.8	372.8	236.8
7	Endosulfán I	EI3	195	240.6	338.9
8	p,p'-DDE	EI3	246	248(o 317.9)	316.9
9	Dieldrin	EI3	79	262.9	276.8
10	Endrin	EI3	262.9	81	264.9
11	Endosulfán II	EI3	195	240.9	338.9
12	p,p'-DDD	EI3	235	237	165.1
13	Endrin aldehído	EI3	67	345	250
14	Endosulfán sulfato	EI3	272	387	422
15	p,p'-DDT	EI3 o ¹³ C ₁₂ -p,p'-DDT	235	237	165.1
17	Endrin cetona	EI3			
18	Metoxicloro	EO3	227.1	228.1	
	¹³ C ₆ -HCB (surrogado)		289.8	291.8	283.8
	¹³ C ₁₂ -p,p'-DDT (surrogado)		247.0	249.0	177.1
	Fenantreno d ₁₀ (EI 1)		188		
	Fluoranteno d ₁₀ (EI 2)		212		
	P Terfenil d ₁₄ (EI 3)		244		

Tabla 4. Niveles para la preparación de la mezcla de evaluación de desempeño (DED)

Compuesto	Concentración (ng/mL)
γ -BHC	10.0
4,4-DDT	10.0
Endrin	10.0
Metoxicloro	10.0
Decaclorobifenilo	10.0

Tabla 5. Concentraciones para la preparación de la mezcla de verificación de resolución

Compuesto	Concentración (ng/mL)
Endosulfán I	10.0
p,p-DDE	10.0
Dieldrin	10.0
Endosulfán sulfato	10.0
Endrin cetona	10.0
Metoxicloro	10.0
Decaclorobifenilo	10.0

Diagrama de flujo 1. Pre-tratamiento para plaguicidas organoclorados (en agua) (para CG/MS-SIM)

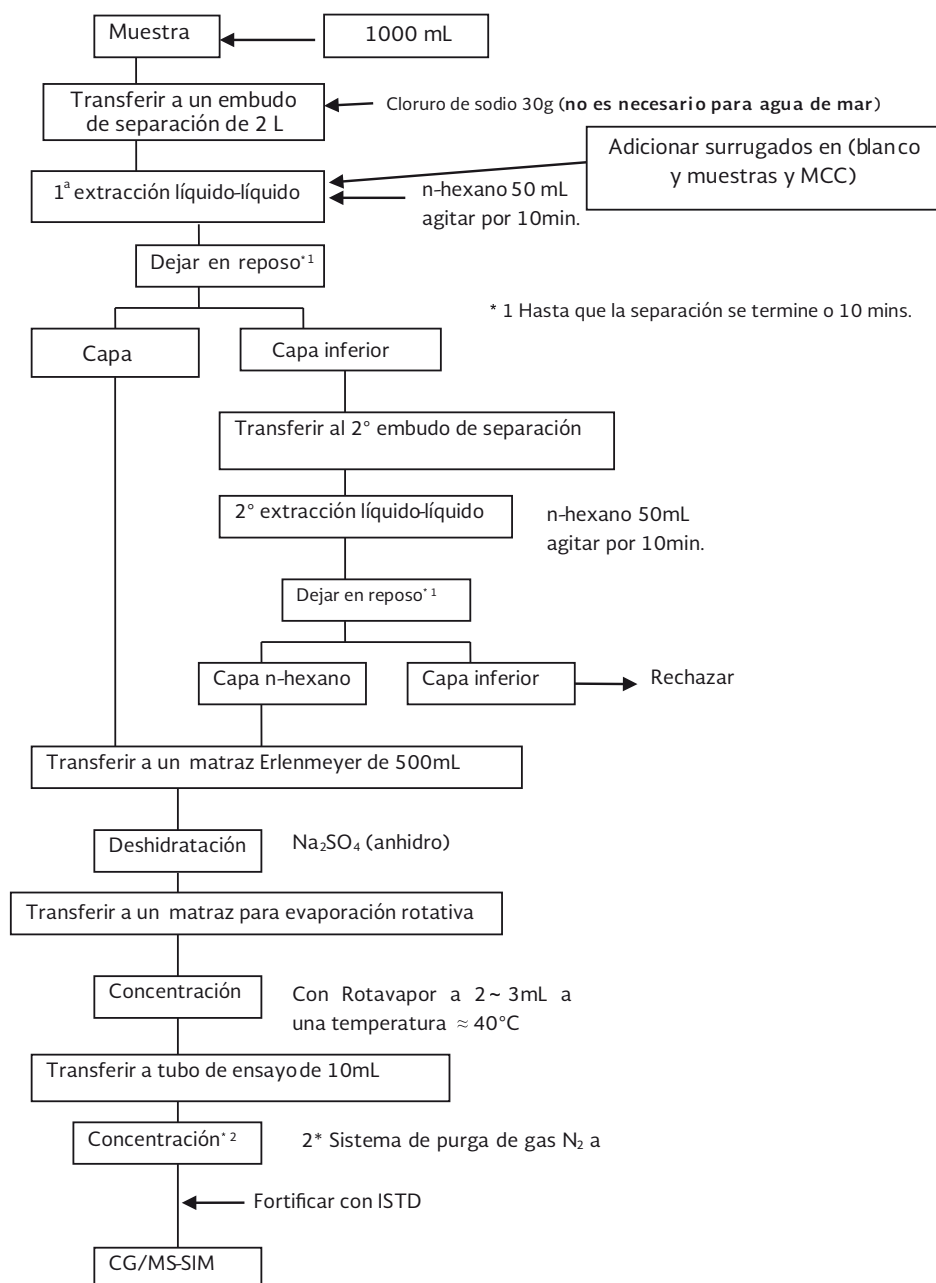
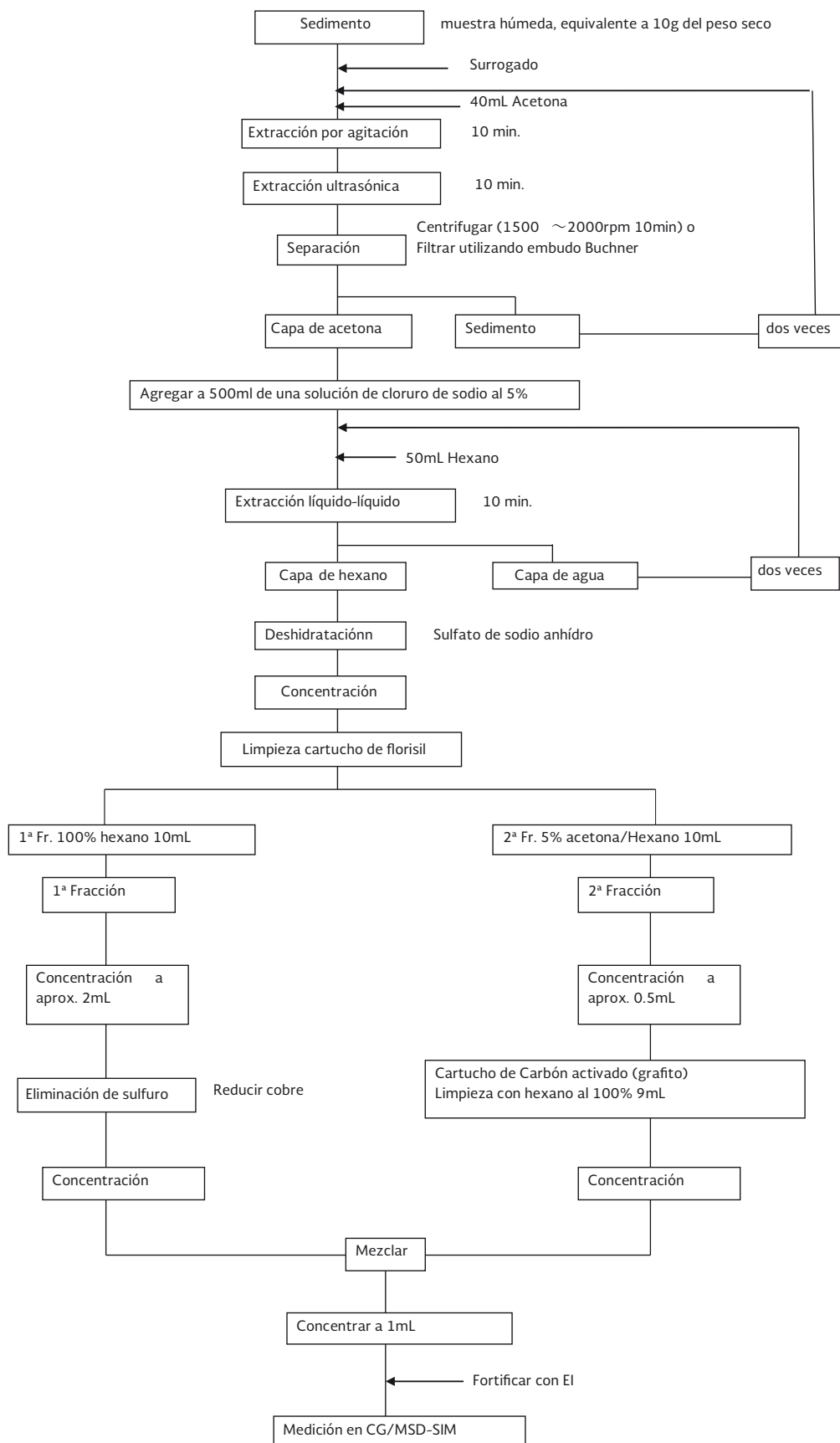


Diagrama de flujo 2. Pre-tratamiento para plaguicidas organoclorados (en sedimento) (para CG/MSD)



Procedimiento operativo estandarizado para medir plaguicidas organofosforados en agua y sedimento por CG/MS



Procedimiento operativo estandarizado para medir plaguicidas organofosforados en agua y sedimento por CG/MS

Contenido

Introducción	2
1. Aplicación y alcances	3
2. Principio y resumen	2
3. Definiciones	3
4. Interferencias	4
5. Seguridad	4
6. Equipos y materiales	5
7. Reactivos y patrones	5
8. Recolección, preservación y almacenamiento de muestras	6
9. Control de calidad	6
10. Calibración	7
11. Procedimiento	8
12. Cálculos	9
13. Manejo de residuos	10
14. Bibliografía	10
15. Tablas y diagramas de flujo	11

Introducción

Estudios epidemiológicos y de laboratorio indican que la mayoría de los carcinógenos conocidos en el medio ambiente son productos químicos orgánicos sintéticos cuya producción comercial se ha incrementado enormemente en los últimos 30 años. Cada año, miles de nuevas sustancias son adicionadas a la lista de compuestos sintéticos. Varios de los compuestos orgánicos sintéticos son ahora fabricados e introducidos al ambiente como necesarios para su uso, tal es el caso de los plaguicidas organofosforados, éstos son introducidos en la mayoría de las ocasiones como desechos de plantas industriales ya sea, intencionalmente o accidentalmente. Lo anterior indica que el medio ambiente en particular el aire, aguas superficiales y mares que al contener algún plaguicida organofosforado se convierte en un riesgo de incidencia de cáncer en la población. Además es importante mencionar que los plaguicidas organofosforados tienen la característica de tener una estructura química resistente a la degradación por factores naturales.

1. Aplicación y alcances

- 1.1 Propósito – Este método se utiliza para la determinación de la concentración de varios plaguicidas organofosforados por cromatografía de gases con detector de espectrofotometría de masas (CG/MSD).
- 1.2 Analitos – Los parámetros que pueden determinarse por este método se presentan al final de la sección 1 y en la Tabla 1.
- 1.3 Matrices – Este método es aplicable para el análisis de plaguicidas organofosforados en aguas y sedimento marino, dentro de estos últimos, debido a la gran variedad de formas en los que pueden existir, es muy importante el criterio del químico analista para aplicar los métodos de limpieza adecuados según sea el caso.
- 1.4 Limitaciones – Los límites de detección en las muestras reales dependerán de las interferencias presentes en las mismas, por lo que es muy importante tener en cuenta que pueden variar hasta en magnitudes de 10 a 1 000 veces (factores de concentración de las muestras).

- 1.5 Este método está restringido para utilizarse sólo bajo la supervisión de analistas expertos en el uso de cromatografía de gases de alta resolución y en la interpretación de sus resultados. Cada analista debe demostrar la habilidad para generar resultados aceptables con este método.
- 1.6 Normatividad de Límites Máximos Permisibles aplicables
 - 1.6.1 Los plaguicidas clorados incluidos en éste método se encuentran regulados por la siguiente normatividad: Ley Federal de Derechos Tabla de Lineamientos de Calidad del Agua, Capítulo XI del Título II, Art. 224.

2. Principio y resumen

- 2.1 Principio
 - 2.1.1 El principio de este método se basa en la separación y medición de los plaguicidas organofosforados presentes en un extracto orgánico purificado de la muestra inyectada en una alícuota en el cromatógrafo de gases equipado con una columna capilar y un detector de espectrofotometría de masas. La identificación de los analitos de la muestra se realiza comparando sus tiempos de retención o sus espectros de masas. Su cuantificación se realiza mediante el método de estándar interno o el método de dilución de isótopo.
- 2.2 Resumen
 - 2.2.1 Muestra de agua: Se toman 1000mL de muestra en un embudo de separación de 2L y se extraen con 50mL de diclorometano. La extracción se deshidrata, concentra y se fortifica con los estándares internos. Finalmente, la concentración se mide en el CG/MSD-SIM.
 - 2.2.2 Muestra de sedimento: Se pesan 20g de peso húmedo de la muestra (la muestra húmeda equivale a 10g de peso seco) en un tubo de sedimentación, se fortifican con los surrogados y se extrae con acetona mediante agitación y equipo ultrasónico. La capa de acetona se separa de la muestra de sedimento y se disuelve con una solución del 5% de cloruro de sodio. La so-

lución se extrae con diclorometano. El extracto se deshidrata, se transfiere a hexano y se concentra. Esta concentración se limpia con un cartucho de florisil (si es necesario, se utiliza también un cartucho de carbón activado y se realiza una eliminación de sulfuro). La elución limpia se concentra, se fortifica con el estándar interno y se mide con el CG/MSD-SIM.

medición para llevarlo a las condiciones iniciales de funcionamiento.

3. Definiciones

Las definiciones presentadas en esta sección son específicas para este método, pero han sido conformadas para que sean en lo posible de uso común.

- 3.1 Aguas residuales – Son las aguas de composición variada provenientes de las descargas de usos municipales, industriales, comerciales, agrícolas, pecuarias, domésticos y generalmente de cualquier fuente de descarga, así como la mezcla de ellas.
- 3.2 Blanco de campo – Una alícuota de agua reactivo que es colocada en un envase para muestra en el laboratorio, empacada para el muestreo; tratada como una muestra en todos los aspectos, incluyendo el contacto con los equipos de campo y expuesta a las condiciones del sitio de muestreo, almacenaje, preservación y todos los procedimientos analíticos, los cuales pueden incluir filtración. El propósito del blanco de campo es determinar cual procedimiento de campo o transporte de muestra y ambiente ha contaminado la muestra.
- 3.3 Blanco de reactivos – Es una matriz libre de analitos a la cual se le agregan todos los reactivos en los mismos volúmenes o proporciones usados en el procesamiento de la muestra. El blanco de reactivos debe llevarse a través de la preparación de la muestra y el procedimiento analítico. El blanco de reactivos se usa para documentar la contaminación resultante del proceso analítico.
- 3.4 Calibración – Conjunto de operaciones que establecen, bajo condiciones específicas, la relación entre los valores de una magnitud indicados por un instrumento, sistema de medición o los valores representados por una medida materializada y los valores correspondientes de la magnitud, realizados por los patrones, efectuando una corrección del instrumento de medición para llevarlo a las condiciones iniciales de funcionamiento.
- 3.5 Desviación estándar – Cuando se utiliza este estadístico en el presente método, se refiere a la desviación estándar de la muestra (s), calculada a partir de $n-1$ y no a la de la población (σ) la cual se calcula a partir de n .
- 3.6 Disolución patrón – Disolución de concentración conocida preparada a partir de un patrón primario.
- 3.7 Disolución estándar de calibración – Disolución preparada de un estándar diluido y/o una disolución patrón y utilizada para calibrar la respuesta del instrumento con respecto a la concentración de los analitos.
- 3.8 Estándar surrogado – Compuesto orgánico el cual es similar en composición química y comportamiento en el proceso analítico al de los analitos medidos y que normalmente no está presente en las muestras a analizar.
- 3.9 Estándar interno – Compuesto adicionado a las muestras para cuantificar analitos específicos del método en cuestión, éste debe ser similar a los compuestos medidos tanto en composición química como en comportamiento en el proceso analítico, éste no debe estar presente en las muestras.
- 3.10 Estándar de verificación de la calibración – Punto medio del estándar de calibración que es utilizado para verificar la calibración inicial en el tiempo.
- 3.11 Exactitud – Proximidad de concordancia entre el resultado de una medición y un valor verdadero del mensurando.
- 3.12 Límite de detección del método (LDM) – Concentración mínima de los analitos que puede identificarse con una confianza del 95% cuando la concentración de los analitos sea mayor a cero bajo las condiciones establecidas.
- 3.13 Límite práctico de cuantificación (LPC) – Concentración mínima del analito que puede determinarse con un nivel de confianza predeterminado en condiciones rutinarias de operación. Este límite puede establecerse entre 5 a 10 veces el LDM.
- 3.14 Muestras fortificadas (MF) y Muestras Fortificadas Duplicadas (MFD) – Alícuota de una

muestra ambiental para la cual cantidades conocidas de los analitos del método son añadidas en el laboratorio. Las MF y MFD son analizadas exactamente como una muestra. Su propósito es la cuantificación del sesgo y la precisión causada por la matriz de la muestra. Las concentraciones bases de los analitos en la matriz de la muestra debe determinarse en una alícuota separada y los valores medidos en las MF y MFD corregidas con las concentraciones base.

- 3.15 Muestra de control de calidad (MCC) – Muestra sintética que contiene todos o un subgrupo de los analitos del método a una concentración conocida. La MCC se obtiene de una fuente externa al laboratorio o es preparada de una fuente diferente de los estándares de la fuente de los estándares de calibración. Se usa para revisar el desempeño del laboratorio con materiales de prueba preparados externamente a los procesos normales de preparación.
- 3.16 Disoluciones madre – Disolución que es designada o reconocida ampliamente como un patrón que tiene las más altas cualidades metrológicas y cuyo valor es aceptado sin referencia a otros patrones de la misma magnitud.
- 3.17 Estándar de referencia – Patrón en general de la más alta calidad metrológica disponible en un lugar dado, o en una organización determinada del cuál se derivan las mediciones realizadas en dicho lugar.
- 3.18 Precisión – Es el grado de concordancia entre resultados analíticos individuales cuando el procedimiento analítico se aplica repetidamente a diferentes alícuotas o porciones de una muestra homogénea. Usualmente se expresa en términos del intervalo de confianza o incertidumbre.
- 3.19 Intervalo de trabajo – Intervalo de la concentración sobre el cual la respuesta del instrumento para el analito es proporcional.
- 3.20 Verificación de la calibración – Una verificación periódica de que no han cambiado las condiciones del instrumento en una forma significativa.

4. Interferencias

- 4.1 Las interferencias de las muestras son contaminantes que son extraídos de ella. La cantidad

de interferencias de ésta variará dependiendo del tipo de agua y de la naturaleza de la muestra. El procedimiento de limpieza, se utiliza para eliminar gran cantidad de estas interferencias.

- 4.2 Las interferencias del método pueden originarse por la presencia de contaminantes en los disolventes, reactivos, material de vidrio o cualquier otro material durante el procesamiento de la muestra que puede conducir a picos distorsionados y picos fantasma, y/o líneas de base elevadas en los cromatogramas.

Todos estos materiales deben estar libres de interferencias, el análisis del blanco de reactivo verifica la presencia de éstas interferencias.

- 4.2.1 El material de vidrio calibrado debe limpiarse perfectamente.
- 4.2.2 Limpie todo el material de vidrio que no esté calibrado tan pronto como sea posible después de usarse, enjuagándolo con el último disolvente que se empleó. Seguido de un lavado con detergente, agua caliente, enjuague con agua de la llave y agua destilada. El material de vidrio debe secarse en un horno a 100°C durante 15 a 30 minutos. Después de que el material de vidrio esté frío y seco deberá almacenarse en un ambiente limpio para prevenir cualquier acumulación de polvo u otros contaminantes. Almacene en forma invertida o tapado con papel aluminio.
- 4.2.3 Los problemas de interferencia pueden disminuirse con el uso de reactivos y disolventes de alta pureza.

5. Seguridad

- 5.1 Aspectos generales
Este método puede no mencionar todas las precauciones de seguridad asociadas con su uso. El laboratorio es responsable de mantener un ambiente de trabajo seguro y un archivo de las normas de seguridad respecto a la exposición y manejo de las sustancias químicas especificadas en este método. Debe haber un archivo de referencias con información de seguridad, el cuál debe estar disponible a todo el personal involucrado en estos análisis.
- 5.2 Carcinogenicidad
La carcinogenicidad de todos los reactivos no se ha determinado con precisión; de todas maneras, cada sustancia química debe tratarse como

potencial peligroso a la salud de los analistas. La exposición de los analistas de estas sustancias químicas debe reducirse al menor nivel posible.

6. Equipos y materiales

Todo el material volumétrico utilizado en éste método debe ser clase “A” o estar verificada su calibración.

- 6.1 Equipo
 - 6.1.1 Cromatógrafo de gases – Sistema analítico completo con cromatógrafo de gases para inyección *split-splitless*, con detector espectrofotómetro de masas (CG/MSD) con sistema de integración y registro, así como accesorios incluidos como jeringas y columnas analíticas.
 - 6.1.2 Sistema de concentración por gas N_2 y Rotavapor – Sistema de concentración para llevar el extracto a 1mL.
- 6.2 Materiales
 - 6.2.1 Columna – Columna capilar DB-5MS de silica derretida con una fase estacionaria del 5% de metil polisiloxano (con un grosor de película de 0.25 μ m y 0.25mm de diámetro interno) o un producto similar.
 - 6.2.2 Probeta de 1000mL – Material de vidrio con subdivisiones de 2mL.
 - 6.2.3 Probeta de 50mL – Material de vidrio con subdivisiones de 1mL.
 - 6.2.4 Embudo de separación de 2L – Material de vidrio con llave de teflón o vidrio.
 - 6.2.5 Matraz Erlenmeyer de 500mL – Material de vidrio.
 - 6.2.6 Matraz bola de 20mL, 50mL y 250mL para rotavapor – Material de vidrio.
 - 6.2.7 Pipeta Pasteur – Material de vidrio, tallo largo.
 - 6.2.8 Tubo de ensaye tipo centrífuga de 10mL – Material de vidrio, con tapa esmerilada.
 - 6.2.9 Microjeringa de 10, 25, 50, 100, 250 y 500 μ L – Material de vidrio con aguja, para realizar la curva de calibración.

7. Reactivos y patrones/estándares

Los reactivos que requiere el método deben ser grado pesticida o ultra-residuos y deben cumplir con las

especificaciones del Committee on Analytical Reagents of the American Chemical Society (ACS) a menos que se indique otra cosa.

- 7.1 Agua tipo II – A menos que se indique de otra forma, el agua de referencia debe entenderse como agua libre de compuestos orgánicos.
- 7.2 Acetona ($CH_3)_2CO$, grado pesticida o equivalente, libre de ésteres de ácido ftálico.
- 7.3 Hexano (C_6H_{14}), grado pesticida o equivalente, libre de ésteres de ácido ftálico
- 7.4 Sulfato de sodio anhidro (Na_2SO_4)
- 7.5 Disoluciones patrón de Compuestos organofosforados (100mg/L) (Metil-paratión, Malatión, Clorpirifos, Paratión, EPN). Pese exactamente 10mg de cada compuesto y se llevan a un matraz volumétrico de 100mL, para ser disueltos con acetona. Cada volumen se afora a 100mL para obtener una solución estándar cuya concentración es de 100mg/L.
- 7.6 Disolución patrón de Compuestos organofosforados (1mg/L). Tome exactamente 100 μ L de cada solución estándar en un matraz volumétrico de 10mL y aforan con hexano, para finalmente obtener una solución estándar de concentración de 1mg/L.
- 7.7 Disolución de evaluación de desempeño (DED). Prepare la DED en hexano o isooctano a los niveles de concentración listados en la Tabla 2. La DED debe prepararse cada seis meses o antes si ésta presenta degradación o concentración.
- 7.8 Disolución de verificación de la resolución. Prepare la mezcla de plaguicidas en hexano o isooctano a las concentraciones de la Tabla 3 cuando la disolución patrón de la mezcla de estándares no esté lo suficientemente resuelta. Prepare la disolución cada seis meses o antes si la disolución presenta degradación o concentración.
- 7.9 Blancos. Prepare un blanco de reactivos de cada disolvente para demostrar que éstos no están contribuyendo a la contaminación de las muestras.
- 7.10 Disoluciones de calibración. Prepare 5 niveles de diferente concentración de las disoluciones estándar para cada analito de interés en matraces volumétricos, adicione volúmenes

de uno o más estándares internos según se requiera. Para cada disolución estándar de calibración, adicione una cantidad conocida de los compuestos a analizar y lleve al aforo con isooctano. El punto de concentración más bajo de la curva de calibración debe ser 5 a 10 veces mayor que el valor del LDM.

Las otras concentraciones corresponden al intervalo esperado de las concentraciones encontradas en las muestras reales o bien estarán definidas por el intervalo lineal del detector.

- 7.11 Disolución de estándares internos. Para cuantificar en el CG/MS se sugiere el uso del Fluoranteno d_{10} y p-terfenilo d_{14} .

- 7.11.1 Disoluciones de estándares internos (100mg/L). Se toman exactamente 5mg de cada compuesto y se colocan en matraces volumétricos de 50mL y se disuelven con acetona. Cada volumen se afora a 50mL con acetona para obtener una solución estándar de 100mg/L.
- 7.11.2 Disoluciones de estándares internos (1mg/L). Tome exactamente 100μL de cada solución estándar de 100 mg/L en un matraz volumétrico de 10mL. El volumen se afora a 10mL con hexano para obtener una solución de estándar interno con una concentración de 1mg/L.

Todas las disoluciones deben almacenarse a 4°C en viales sellados sin dejar espacio de aire y protegidos de la luz. Todas las disoluciones deben ser reemplazadas después de seis meses o si las pruebas de control de calidad demuestran lo contrario.

- 7.12 Disolución de estándares surrogados. Los estándares surrogados son adicionados a todas las muestras, blancos, blancos fortificados y estándares de calibración, los surrogados recomendados son: decafluorobifenilo y/o tetracloro-m-xileno. Se recomienda prepare una disolución patrón de ≈ 100 mg/L, adicione un volumen de 2 μL de ésta a 1 L de muestra para obtener una concentración de aproximada de 0,20 mg/L.

8. Recolección, preservación y almacenamiento de muestras

- 8.1 Tome un mínimo de 4 L de muestra en un envase de vidrio ámbar con septa de PTFE.

- 8.2 No se necesita ningún tratamiento especial en campo.

- 8.3 Las muestras deben refrigerarse a aproximadamente 4°C desde el momento de su colecta hasta el momento de la extracción. No utilice conservadores químicos en el campo a menos que transcurran más de 24 horas antes de entregarlas al laboratorio. Para compuestos organofosforados, el control de pH no es necesario.

- 8.4 Extraiga todas las muestras dentro de los 7 días después de ser muestreadas y preservadas, pueden ser analizadas las muestras dentro de los 40 días después de la extracción.

9. Control de calidad

Control de calidad en las mediciones de rutina. Los siguientes puntos deberán validarse en cada uno de los lotes de mediciones.

- 9.1 Curva de calibración: Analizar cada uno de los estándares de calibración y obtener la curva de calibración con base en la regresión del área del pico correspondiente a la concentración.
- 9.2 Blanco de reactivo: El agua destilada se mide como blanco de reactivo. Se prepara de la misma manera y simultáneamente que las muestras matrices. El resultado del blanco de reactivo deberá sustraerse de los resultados de las muestras, debido a que puede ocurrir una interferencia de bajo nivel en este procedimiento. La interferencia pudiera ser debido a los plastificantes eluidos del disco de extracción de la fase sólida.
- 9.3 Blanco fortificado: Se fortifican 250 μL de la disolución patrón de Compuestos organofosforados (1mg/L) y 50 μL del surrogado en 250 mL de agua destilada como blanco fortificado. En este caso, la concentración fortificada en la muestra es de 0.001 mg/L. Se prepara y se mide el blanco fortificado de la misma manera y simultáneamente que las muestras.
- 9.4 Muestra de control de calidad (MCC). En cada uno de los lotes de análisis, la muestra para el control de calidad se mide cada 20 muestras y al final de un análisis de secuencia.
- 9.5 Recuperaciones de Fortificados: Sustraer el blanco reactivo del blanco fortificado y re-

portar la diferencia como la recuperación de los analitos. La recuperación deberá ser casi 100% debido a que en este procedimiento se aplican surrogados marcados como isótopos. La respuesta del surrogado se divide por la respuesta del ISTD.

Comparar los cocientes entre los estándares de calibración y las muestras matrices. Si la recuperación se desvía $100 \pm 40 \%$, las muestras correspondientes deberán volverse a preparar.

Nota 2. En caso de usar muestras fortificadas, el laboratorio debe evaluar los datos de recuperación del fortificado a partir de muestras individuales versus los límites de control del fortificado desarrollados por el laboratorio.

- 9.6 Se recomienda que se adopte prácticas de garantía de calidad adicionales para usarse con este procedimiento. Las prácticas específicas que son más productivas dependen de las necesidades del laboratorio y la naturaleza de las muestras. Cuando sea posible, participar en estudios de intercomparación.

10. Calibración

10.1 Verificación del Instrumento de Medición:

10.1.1 La degradación tanto del DDT como del Endrin en la DED (Sección 7.2.2.3) debe ser menor al 20% y la degradación combinada del DDT y Endrin debe ser menor al 30% lo cual se calcula como a continuación se indica:

$$\% \text{ Degradación DDT} = \frac{(A * 100)}{B} \quad (\text{Ecuación 1})$$

donde:

- A Cantidad encontrada en μg (DDD + DDE)
B Cantidad inyectada en μg de DDT

$$\% \text{ Degradación Endrin} = \frac{(A * 100)}{B} \quad (\text{Ecuación 2})$$

donde:

- A Cantidad encontrada en μg (Endrin aldehído + Endrin cetona)

B Cantidad inyectada en μg de Endrin

$$\% \text{ Degradación Combinada} = A + B \quad (\text{Ecuación 3})$$

donde:

- A % Degradación de DDT
B % Degradación de Endrin

10.1.2 Los tiempos de retención absolutos de cada uno de los plaguicidas y surrogados en ambas DEDs deben estar dentro del intervalo de tiempo determinado en la calibración inicial.

10.1.3 Si cumple con los criterios antes mencionados prosiga con la siguiente sección, en caso de no cumplir verifique que el sistema cromatográfico específicamente el inyector no este contaminado con materiales de alto punto de ebullición en caso de ser así reemplace la septa, inserto de vidrio y/o en caso necesario corte una porción de columna (0,5 – 1 m) del extremo correspondiente al puerto de inyección.

10.2 Verificación de los blancos: Los blancos de reactivos no deben presentar ningún tipo de analito que tenga el tiempo de retención de los plaguicidas medidos, por lo que es importante que los reactivos utilizados cumplan con las especificaciones. Use también los blancos de reactivos para verificar la contaminación por arrastre de muestras con altas concentraciones en análisis secuenciales.

10.3 Verificación de la curva de calibración continuada o extendida: En cada lote analizado, se analizan más de 20 muestras durante el día, verifique la curva de calibración analizando un estándar de concentración media del intervalo de trabajo al principio del lote y después de cada 20 muestras.

10.4 Las condiciones de operación del cromatógrafo de gases están definidas por el tipo de columna elegida. Una vez establecidas las condiciones de operación inyecte un volumen adecuado (1 a 2 μL) de cada estándar de calibración a partir de las disoluciones mencionadas en la sección 7.2.2.6, otros volúmenes pueden ser utilizados si así lo requiere la sensibilidad de los compuestos de interés.

- 10.5 Procedimiento de calibración: Analice cada estándar de calibración a partir de las disoluciones mencionadas en la sección 7.2.2.6 de acuerdo la sección 11.4.1, si la técnica de cuantificación elegida es por estándar externo construya una curva de área o altura de pico contra concentración y calcule el factor de respuesta FR para cada plaguicida.

$$FR = \frac{\text{Área del plaguicida}}{\text{Concentración del plaguicida}} \quad (\text{Ecuación 4})$$

- 10.6 Si la técnica es por estándar interno, construya una curva de relación de áreas A_e/A_{ei} contra relación de concentración C_e/C_{ei} , calcule el factor de respuesta relativo para cada plaguicida según la siguiente ecuación:

$$FRR = \frac{(A_c \times C_{ei})}{(A_{ei} \times C_c)} \quad (\text{Ecuación 5})$$

donde:

A_c Área para el plaguicida a ser medido

A_{ei} Área para el estándar interno

C_{ei} Concentración del estándar interno en mg/L

C_c Concentración del plaguicida a ser medido en mg/L

- 10.7 Dependiendo del método elegido, calcule el promedio de los factores de calibración FR o FRR de cada plaguicida y la desviación estándar, obtenga la desviación estándar relativa (DSR). Si la DSR de cada plaguicida es $\leq 20\%$, entonces la respuesta del instrumento es considerada lineal y el factor de calibración promedio FR o FRR puede utilizarse para la cuantificación de los resultados de las muestras. Si la DSR es mayor que 20%, entonces no puede asumirse linealidad.

11. Procedimiento

- 11.1 Extracción de la muestra de agua (Diagrama de flujo 1): Antes de la extracción, la muestra se filtra utilizando filtro de fibra de vidrio (diámetro del poro: 1 μ m) si la muestra contiene muchos sólidos suspendidos (más de 50mg/L de sólidos suspendidos). Los agroquímicos, se encuentran

contenidos en los sólidos suspendidos filtrados, se extraen con acetona utilizando el equipo ultrasónico. La extracción de acetona se agrega a la filtración. La acetona, la cual se utilizó para la extracción y lavado, no deberá exceder del 5% del contenido total del volumen del filtrado.

Tomar un litro con una probeta y colocar en un embudo de separación de capacidad de 2L, siempre y cuando la muestra contenga una menor cantidad de sólidos suspendidos. Se agrega a la muestra 50g de cloruro de sodio y 50mL de diclorometano. La muestra se extrae mediante agitación por 10 minutos y después se mantiene en reposo (Nota 1). La capa de diclorometano se recolecta en un matraz Erlenmeyer de 500mL. Se repite el mismo procedimiento de extracción, una vez más. Se agregan 50mL de hexano (Nota 2) al matraz Erlenmeyer y se deshidrata agregando sulfato de sodio anhidro.

La solución mezclada (hexano y diclorometano) se concentra a 5mL utilizando el rotavapor (o KD). A la concentración se le adicionan 30mL de hexano y reconcentra a 1mL.

Nota 1: La capa de diclorometano se procesa después de que el agua y el diclorometano se han separado por completo. Si esto no se logra debido a la emulsión, ésta se puede pasar a otro embudo de separación con 200mL de hexano y agitarlo suavemente. Este procedimiento induce a la separación.

Nota 2: La razón por la cual se adiciona hexano es para acentuar la eficiencia de la deshidratación y proteger el detrimento de los compuestos de interés durante la concentración.

- 11.2 Extracción de la muestra de sedimento (Diagrama de flujo 2): Pesar 20g de sedimento seco (la muestra húmeda es equivalente a 10g del peso seco) se toman en un tubo de sedimentación con tapa y se mezcla con 40mL de acetona y se extrae mediante agitación por diez minutos. Luego la muestra se extrae en un equipo ultrasónico por diez minutos, se centrifuga por diez minutos a 1500~2000 rpm (o se filtra utilizando el embudo Buchner) y se recolecta la capa de acetona. Esta extracción se lleva a cabo dos veces en total.

El extracto de acetona se agrega a un embudo de separación de 1L, donde se coloca una solución del 5% de cloruro de sodio. Se agregan 50mL de diclorometano y se efectúa una extracción mediante agitación por diez minutos. Esta extracción se realiza dos veces en total. La capa de diclorometano se recolecta y se deshidrata con sulfato de sodio anhidro. La solución extraída se concentra a 5mL, aproximadamen-

te, con el rotavapor y después se concentra a 1mL con el sistema de purga de gas N₂.

11.3 Limpieza

11.3.1 Muestra de agua. Si es necesario, la muestra de agua deberá limpiarse con una columna de florisil similar a la de la muestra de sedimento (11.3.2).

Sin embargo, en términos generales, la limpieza no es necesaria para muestras de agua. La muestra se concentra y se le adicionan los estándares internos (10ng~100ng, dependiendo de la sensibilidad del MSD que se esté utilizando, pero 50ng o 100ng son más que suficientes) y se mide en el CG/MSD.

11.3.2 Muestra de sedimento. Las muestras de sedimento serán limpiadas con un cartucho cromatográfico de florisil. La solución pre-tratada se carga en la columna cromatográfica de florisil, ha sido condicionada con 10mL de hexano previo a la limpieza. Estos 10mL de hexano una vez pasados por la columna, se rechazan. Un nuevo tubo de ensayo se coloca y los compuestos de interés se eluyen con 10mL de un 5% de acetona/hexano. Toda esta elución se recolecta en el tubo de ensayo y se concentra a 1mL utilizando el sistema de purga de gas N₂.

Después agregar los estándares internos (10ng~100ng, dependiendo de la sensibilidad del MSD, pero con 50ng o 100ng son suficientes) y el volumen se fija a 1mL. Esta es la solución a medir.

11.4 Condiciones para la medición en el CG/MSD
Columna: columna capilar de silica derretida (30m×0.25mm I.D., 0.25µm de película) Metil-silicona o fenilmetilpolisiloxano, no polar o con baja polaridad, no reproducible y que tenga excelente desempeño en la separación y reproducibilidad (por ejemplo: DB-5ms).
Condiciones del horno: 50°C (1min)-20°C/min-170°C -7°C/min-280°C (5min)
Temperatura de inyección: 250°C
Inyección: *Splitless* (1 min)
Gas acarreador: He; velocidad lineal: 40-50cm/seg
Temperatura de la interfase : 280°C
Temperatura de la fuente de ión : 230°C
Energía de ionización: 70eV
Ionización actual: 300µA
Método de ionización: EI (Método de Impacto de Electrón)

Ajuste de masas con DFTPP(decafluorotriphenilfosfina) y PFTBA (prefluorotributilamina) o PKF(perfluoroquerosén).

Los iones de monitoreo se muestran en la Tabla 2.

12. Cálculos

12.1 Curva de calibración: Cuantifique la muestra por el método de curva de calibración utilizando el estándar interno (o método de dilución del isótopo). Haga la curva de calibración cada vez que realice una medición. Agregue una cierta cantidad del estándar interno a la mezcla de estándares. Inyecte 1 a 2µL de éste al CG y produzca una curva de calibración de la relación de cada área de los picos (altura) entre cada compuesto de interés y el estándar interno. Cuantifique la muestra utilizando la curva. El intervalo de la curva de calibración deberá tener más de 5 veces el L.D.M. que incluya la concentración detectable.

12.2 Medición de las muestras: Inyecte 1 a 2µL de la disolución de la muestra para su medición en el CG y mídalo, después de haber efectuado la confirmación de sensibilidad del SIM (o después de haber obtenido una curva de calibración). Confirme que la descomposición de los compuestos surrogados no exceda del 20% en la medición.

En caso de que la descomposición exceda al 20%, revise el procedimiento de limpieza y vuelva a analizar debido a que la limpieza pudiera haber sido insuficiente. Mida el estándar, cuya concentración se encuentre en el punto medio de la curva de calibración cada 8 horas transcurridas del tiempo de medición, siempre y cuando el CG/MSD esté trabajando de forma continua. Si se encuentra fuera de intervalo, ajuste el CG/MS para continuar con las mediciones.

Confirme la existencia de los compuestos de interés (compuestos surrogados) y cuantifíquelos. Cuando utilice compuestos 13C del DDT, HCB como surrogados, la tasa de recuperación se excede por mucho del intervalo, revise la causa y reanalice la muestra.

12.3 Identificación: Se considera que los compuestos de interés (compuestos surrogados) se encuentren dentro de la muestra deberán cumplir las siguientes condiciones:

12.3.1 El pico del ión cualificador y el ión primario para el compuesto de interés (compuesto surrogado) aparece dentro de 5 segundos del tiempo de retención, el cual se registra en la curva de calibración.

12.3.2 La intensidad del pico del ión primario es menor al $\pm 20\%$ comparado con la intensidad relativa del ión cualificador.

12.4 Cuantificación. Método de Curva de Calibración Si se utiliza el método de curva de calibración, la cantidad del método de detección se obtiene de la relación de las áreas de los picos (o altura) entre cada compuesto de interés y el estándar interno utilizado para la curva de calibración.

Calcular la concentración de los compuestos de interés (compuestos surrogados) en la muestra a partir de las cantidades de detección, cantidad de la muestra analizada, cantidad de la muestra dividida, entre otras.

13. Manejo de residuos

Es la responsabilidad del laboratorio cumplir con todos los reglamentos federales, estatales y locales referentes al manejo de residuos, particularmente las reglas de identificación, almacenamiento y disposición de residuos peligrosos.

14. Bibliografía

Publicación del Ministerio del Medio Ambiente (octubre 1998). *The Interim Manual for the Study of Endocrine-disrupt Chemicals* (El manual provisional para el estudio de las afecciones químicas endocrinas) Capítulo IX *Method for analysis of Agrochemicals* (Método para el análisis de agroquímicos) Section 1 *Methodology of Multi-component Agrochemicals* (Metodología para multi-componentes agroquímicos).

Método EPA americano 8270d (2007) *SEMIVOLATILE ORGANIC COMPOUNDS BY GAS CHROMATOGRAPHY/MASS SPECTROMETRY (GC/MS)*.

Método EPA americano 3510c (1996) *SEPARATORY FUNNEL LIQUID-LIQUID EXTRACTION* (extracción líquido-líquido por embudo de separación).

Método EPA americano 3550c (2007) *ULTRASONIC EXTRACTION* (extracción ultrasónica).

Método EPA americano 3620c (2007) *FLORISIL CLEANUP* (limpieza de florisil).

15. Tablas y diagramas de flujo

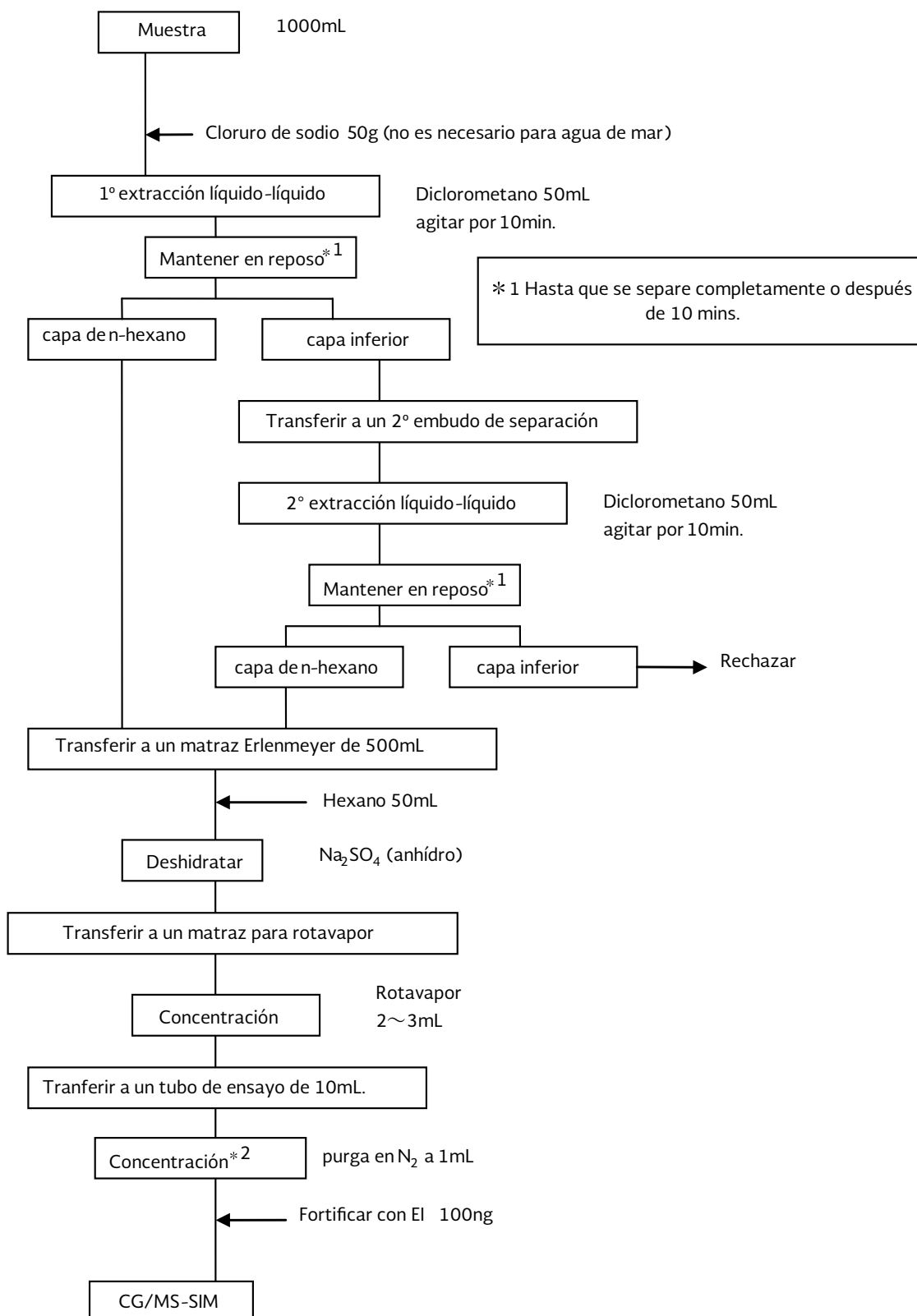
Tabla 1. Compuestos de interés

PLAGUICIDA	Cas No.
Metil paratión	298-00-0
Malatión	121-75-5
Clorpirifos	2921-88-2
Paratión	56-38-2
EPN	2104-65-5

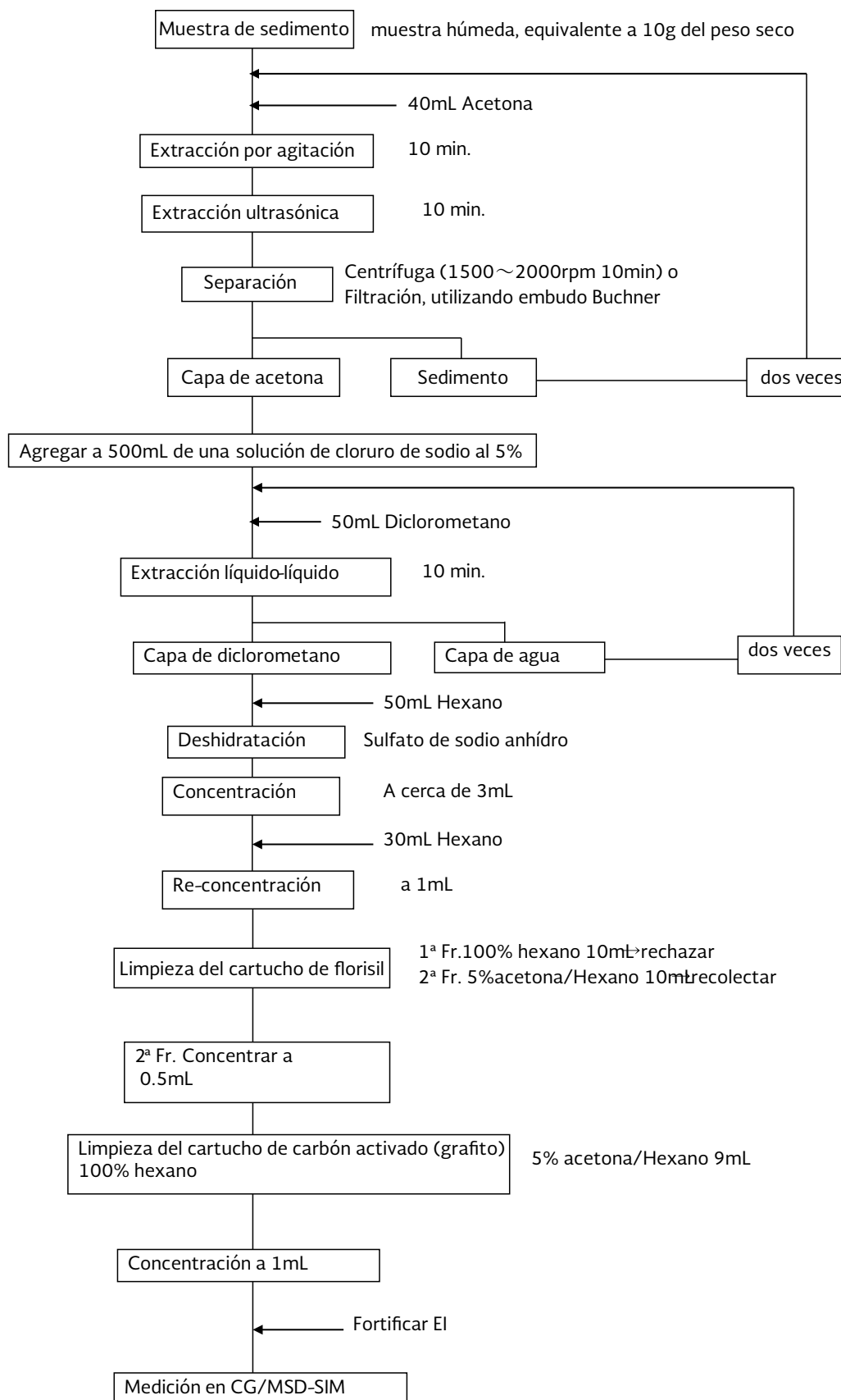
Tabla 2 Iones de monitoreo de los compuestos de interés

Nombre de los compuestos	Isotopo primario masa molecular	Masa de monitoreo (m/z)	El de referencia
Estándar interno			
El-1 Fluoranteno d ₁₀	212	212	-
El-2 p Terfenil d ₁₄	244	244	-
Compuestos de interés (dentro del paréntesis se encuentra el ión calificador)			
Paratión metílico	263	263 (109, 125)	IS-1
Malatión	330	173 (127, 158)	IS-2
Clorpirifos	350	197 (314, 199)	IS-2
Paratión	291	291 (109, 97)	IS-2
EPN	323	157 (141, 169)	IS-2

**Diagrama de flujo1. Pre-tratamiento para plaguicidas organofosforados (en agua)
(para CG/MSD)**



**Diagrama de flujo 2. Pre-tratamiento para plaguicidas organofosforados (en sedimento)
(para CG/MSD)**



Procedimiento operativo estandarizado para medir compuestos orgánicos semivolátiles en agua por CG/MS



Procedimiento operativo estandarizado para medir compuestos orgánicos semivolátiles en agua por CG/MS

Contenido

Introducción	2
1. Aplicación y alcances	2
2. Resumen y método	2
3. Definiciones	3
4. Interferencias	4
5. Seguridad	5
6. Equipos y materiales	5
7. Reactivos y patrones/estándares	5
8. Recolección, preservación y almacenamiento de muestras	6
9. Control de calidad	7
10. Calibración	7
11. Procedimiento	8
12. Cálculos	11
13. Manejo de residuos	11
14. Bibliografía	12
15. Tablas y figuras	12

Introducción

Un compuesto orgánico es todo compuesto que contenga carbono y uno o más de los siguientes elementos: hidrógeno, halógenos, oxígeno, azufre, fósforo, silicio o nitrógeno, salvo los óxidos de carbono y los carbonatos y bicarbonatos inorgánicos.

Estudios epidemiológicos y de laboratorio indican que la mayoría de los carcinógenos conocidos en el medio ambiente son productos químicos orgánicos sintéticos cuya producción comercial se ha incrementado enormemente en los últimos 30 años. Cada año miles de nuevas sustancias son adicionadas a la lista de compuestos sintéticos. Varios de los compuestos orgánicos sintéticos son ahora fabricados e introducidos al ambiente como necesarios para su uso, éstos son introducidos en la mayoría de las ocasiones como desechos de plantas industriales, ya sea intencionalmente o accidentalmente. Lo anterior indica que el medio ambiente en particular el aire y aguas superficiales al contener algún compuesto orgánico sintético tales como los compuestos semivolátiles se convierten en un riesgo de incidencia de cáncer en la población.

Además es importante mencionar que estos compuestos tienen la característica de tener una Los ftalatos que son un grupo diverso de sustancias químicas semivolátiles presentes en muchos productos habituales de consumo. Diversos estudios han señalado efectos negativos de algunos tipos de estas sustancias sobre el medio ambiente y la salud. La Unión Europea ha prohibido una lista de ftalatos considerados nocivos, pero todavía se pueden encontrar en algunos productos comercializados. Por ello, se necesitan más investigaciones y controles de seguridad para que este tipo de sustancias no entren en contacto con los seres humanos o la naturaleza. Los ftalatos, también denominados “plastificantes”, son un grupo de productos químicos industriales utilizados como disolventes y para la fabricación de plásticos más flexibles o resistentes, como el policloruro de vinilo (PVC). Su utilización se ha generalizado, de manera que se pueden hallar en juguetes, envases de alimentos, mangueras, impermeables, cortinas de baño, suelos de vinilo, cubiertas de pared, lubricantes, adhesivos, detergentes, esmalte de uñas, lacas para el pelo y champú, cosméticos, entre otros.

Otros compuestos semivolátiles como el benzo[a]pireno está presente como un componente del contenido total de hidrocarburos aromáticos policíclicos en el medio ambiente. La exposición humana a benzo[a]pireno se produce fundamentalmente a través del humo del tabaco, la inhalación de aire contaminado y por ingestión de comida y agua contaminadas por efluentes de combustión.

1. Aplicaciones y alcances

- 1.1 Este método es aplicado a la mayoría de los compuestos orgánicos semivolátiles (COS) que tengan punto de ebullición entre 150° C y 380°C solubles en disolventes orgánicos de bajo punto de ebullición. El método es utilizado para la cuantificación de compuestos orgánicos neutros, ácidos y básicos que son solubles en cloruro de metileno y capaces de eluir sin derivatización para su volatilización.
- 1.2 Analitos. Los parámetros que pueden medirse son los presentados en la Tabla 1.
- 1.3 Matrices. Las matrices para las cuales ha sido probado este método son: agua natural, residual, residual tratada y salina.
- 1.4 Limitaciones. Este método tiene una aplicación limitada ya que para la determinación de compuestos altamente solubles en agua provoca que los límites de detección y cuantificación para estos se encuentren en el orden de los mg/L. Ejemplos de éstos son algunos hidrocarburos halogenados de bajo peso molecular, aromáticos, cetonas, nitrilos, acetatos, acrilatos y éteres.
- 1.5 Restricciones. Este método está restringido para ser utilizado por analistas experimentados en el uso de sistemas de Cromatografía de Gases acoplado a Espectrometría de Masas, con experiencia en la interpretación de espectros de masas, manejo de técnicas estadísticas y de cuantificación.
- 1.6 Normatividad. En la Tabla 1 se mencionan los analitos que pueden ser analizados por este método, con sus números de registro del Chemical Abstracts Service (CAS) y los iones máxicos (cuantitativos y cualitativos) de cada uno de ellos utilizados para su análisis.

2. Resumen y método

- 2.1 Resumen: Se extrae aproximadamente un litro de muestra usando el método de preparación apropiada. El extracto resultante se concentra y se analiza por cromatografía de gases con un detector selectivo de masas. La identificación y cuantificación de los compuestos se lleva a cabo por comparación de la respuesta de los

espectros de masas obtenidos de la muestra con respecto a los de los estándares de referencia y por comparación de las respuestas del primario con la técnica de estándar interno.

- 2.2 Método: El principio de este método se basa en la separación y medición de los compuestos orgánicos semivolátiles presentes en un extracto orgánico purificado de la muestra, inyectando una alícuota en el cromatógrafo de gases con detector selectivo de masas (CG/EM) equipado con columna capilar. Los analitos eluidos de la columna cromatográfica son introducidos al espectrómetro de masas, la identificación de los compuestos se lleva a cabo por la comparación de sus espectros de masas (obtenidos por el sistema de impacto electrónico) con los espectros de estándares, la cuantificación se efectúa comparando la respuesta del ion mayoritario (ion de cuantificación o primario) por la técnica de estándar interno usando una curva de calibración de 5 puntos.

3. Definiciones

Las definiciones presentadas en esta sección se especifican para este método.

- 3.1 Aguas residuales. Son las aguas de composición variada provenientes de las descargas de usos municipales, industriales, comerciales, agrícolas, pecuarias, domésticos y generalmente de cualquier fuente de descarga, así como la mezcla de ellas.
- 3.2 Blanco de campo. Una alícuota de agua reactivo que es colocada en un envase para muestra en el laboratorio, empacada para el muestreo; tratada como una muestra en todos los aspectos, incluyendo el contacto con los equipos de campo y expuesta a las condiciones del sitio de muestreo, almacenaje, preservación y todos los procedimientos analíticos, los cuales pueden incluir filtración. El propósito del blanco de campo es determinar cuál procedimiento de campo o transporte de muestra y ambiente ha contaminado la muestra.
- 3.3 Blanco de reactivos. Es una matriz libre de analitos a la cual se le agregan todos los reactivos en los mismos volúmenes o proporciones usados en el procesamiento de la muestra. El blanco de reactivos debe llevarse a través de la preparación de la muestra y el procedimien-

to analítico. El blanco de reactivos se usa para documentar la contaminación resultante del proceso analítico.

- 3.4 Calibración. Conjunto de operaciones que establecen, bajo condiciones específicas, la relación entre los valores de una magnitud indicados por un instrumento, sistema de medición o los valores representados por una medida materializada y los valores correspondientes de la magnitud, realizados por los patrones, efectuando una corrección del instrumento de medición para llevarlo a las condiciones iniciales de funcionamiento.
- 3.5 Desviación estándar. Cuando se utiliza este estadístico en el presente método, se refiere a la desviación estándar de la muestra (s), calculada a partir de $n-1$ y no a la de la población (σ) la cual se calcula a partir de n .
- 3.6 Disolución patrón. Disolución de concentración conocida preparada a partir de un patrón primario.
- 3.7 Disolución estándar de calibración. Disolución preparada de un estándar diluido y/o una disolución patrón y utilizada para calibrar la respuesta del instrumento con respecto a la concentración de los analitos.
- 3.8 Estándar surrogado. Compuesto orgánico el cual es similar en composición química y comportamiento en el proceso analítico al de los analitos medidos y que normalmente no está presente en las muestras a analizar.
- 3.9 Estándar interno. Compuesto adicionado a las muestras para cuantificar analitos específicos del método en cuestión, éste debe ser similar a los compuestos medidos tanto en composición química como en comportamiento en el proceso analítico, éste no debe estar presente en las muestras.
- 3.10 Estándar de verificación de la calibración. Punto medio del estándar de calibración que es utilizado para verificar la calibración inicial en el tiempo.
- 3.11 Exactitud. Proximidad de concordancia entre el resultado de una medición y un valor verdadero del mensurando.
- 3.12 Límite de detección del método (LDM). Concentración mínima de los analitos que puede

identificarse con una confianza del 95% cuando la concentración de los analitos sea mayor a cero bajo las condiciones establecidas.

3.13 Límite práctico de cuantificación (LPC). Concentración mínima del analito que puede determinarse con un nivel de confianza predeterminado en condiciones rutinarias de operación. Este límite puede establecerse entre 5 a 10 veces el LDM.

3.14 Muestras fortificadas (MF) y Muestras Fortificadas Duplicadas (MFD). Alícuota de una muestra ambiental para la cual cantidades conocidas de los analitos del método son añadidas en el laboratorio. Las MF y MFD son analizadas exactamente como una muestra. Su propósito es la cuantificación del sesgo y la precisión causada por la matriz de la muestra. Las concentraciones bases de los analitos en la matriz de la muestra debe determinarse en una alícuota separada y los valores medidos en las MF y MFD corregidas con las concentraciones base.

3.15 Muestra de control de calidad (MCC). Muestra sintética que contiene todos o un subgrupo de los analitos del método a una concentración conocida. La MCC se obtiene de una fuente externa al laboratorio o es preparada de una fuente diferente de los estándares de la fuente de los estándares de calibración. Se usa para revisar el desempeño del laboratorio con materiales de prueba preparados externamente a los procesos normales de preparación.

3.16 Disoluciones madre. Disolución que es designada o reconocida ampliamente como un patrón que tiene las más altas cualidades metroológicas y cuyo valor es aceptado sin referencia a otros patrones de la misma magnitud.

3.17 Estándar de referencia. Patrón en general de la más alta calidad metroológica disponible en un lugar dado, o en una organización determinada del cuál se derivan las mediciones realizadas en dicho lugar.

3.18 Precisión. Es el grado de concordancia entre resultados analíticos individuales cuando el procedimiento analítico se aplica repetidamente a diferentes alícuotas o porciones de una muestra homogénea. Usualmente se expresa en términos del intervalo de confianza o incertidumbre.

3.19 Intervalo de trabajo. Intervalo de la concentración sobre el cual la respuesta del instrumento para el analito es proporcional.

3.20 Verificación de la calibración. Una verificación periódica de que no han cambiado las condiciones del instrumento en una forma significativa.

4. Interferencias

Las interferencias introducidas por las muestras son contaminantes que son co-extraídos de ella. La cantidad de interferencias de estas variará dependiendo del tipo de agua y de la naturaleza de la muestra

4.1 Las interferencias del método pueden originarse por la presencia de contaminantes en los disolventes, reactivos, material de vidrio o cualquier otro material durante el procesamiento de la muestra que puede conducir a picos distorsionados y picos fantasma, y/o líneas base elevadas en los cromatogramas. Todos estos materiales deben estar libres de interferencias, el análisis de blancos de reactivos verifica la presencia de estas interferencias.

4.2 El material de vidrio calibrado debe limpiarse perfectamente. Limpie todo el material de vidrio que no sea calibrado tan pronto como sea posible después de usarse, enjuagándolo con el último disolvente que se empleó. Seguido de un lavado con detergente y enjuague con agua de la llave y agua destilada. El material de vidrio debe secarse en estufa a 150°C durante 15 a 30 minutos con excepción del material volumétrico. Después que el material de vidrio esté frío y seco deberá sellarse y almacenarse en un ambiente limpio para prevenir cualquier acumulación de polvo u otros contaminantes. Almacene en forma invertida o tapado con papel aluminio.

4.3 Los problemas de interferencia pueden disminuirse con la ayuda del uso de reactivos y disolventes de alta pureza.

4.4 La bencidina puede estar sujeta a pérdidas por oxidación durante la concentración del disolvente y debido a esto obtener una pobre respuesta cromatográfica.

4.5 El hexaclorobutadieno y la N-nitrosodifenilamina se descomponen por contaminación del puerto de inyección.

5. Seguridad

- 5.1 Aspectos Generales: Este método no menciona todas las precauciones de seguridad asociadas con su uso. El laboratorio es responsable de mantener un ambiente de trabajo seguro y un archivo de las normas de seguridad respecto a la exposición y manejo seguro de las sustancias químicas especificadas en este método. Se debe tener un archivo de referencias de las hojas de información de seguridad el cual debe estar disponible a todo el personal involucrado en estos análisis.
- 5.2 Carcinogenicidad: La carcinogenicidad de todos los reactivos no ha sido determinada con precisión, de todas maneras, cada sustancia química debe ser tratada como potencial peligro a la salud. La exposición a estas sustancias químicas debe ser reducida al menor nivel posible. Se sugiere que el laboratorio realice monitoreos de higiene ocupacional de cada reactivo a los que pueda estar expuesto el analista y que dichos resultados estén disponibles para los analistas.

6. Equipos y materiales

Todo el material volumétrico utilizado en este método debe ser clase "A" o estar verificada su calibración.

- 6.1 Equipo
- 6.1.1 Cromatógrafo de gases – Sistema analítico completo con cromatógrafo de gases con programación de temperatura para técnica de inyección split-splitless, y accesorios incluidos como jeringas y columnas analíticas.
- 6.1.2 Espectrómetro de masas capaz de realizar barridos de 35 a 500 uma por segundo o menor, usando un modo de ionización de impacto de electrónico (energía de electrón de 70 eV valor nominal). El espectrómetro debe ser capaz de producir un espectro de masas (al inyectar 1 µL de la disolución de decafluorotriphenilfosfina DFTPP), el cual cumpla con los criterios mencionados en la sección 10.1
- 6.1.3 Sistema de cómputo el cual se encuentra acoplado al espectrómetro de masas. Este sistema debe ser capaz de tener una adquisición y almacenamien-

to continuo de todos los espectros de masas generados durante el programa cromatográfico.

- 6.1.4 Balanza analítica con precisión de 0.0001 g

6.2 Material

- 6.2.1 Columna capilar de sílica fundida y 5% metil fenil Silicona de 0.25 mm de diámetro interno, con fase estacionaria HP-5MS o equivalente, y 0.25 mm de espesor de película.
- 6.2.2 Micropipetas de 10 µL, certificada o equivalente calibrada.
- 6.2.3 Micropipetas de 20 µL, certificada o equivalente calibrada.
- 6.2.4 Micropipetas de 1000 µL, certificada o equivalente calibrada.
- 6.2.5 Matraces volumétricos de tamaños apropiados con tapón esmerilado.
- 6.2.6 Jeringas Hamilton de varios tamaños (50 µL, 100µL, 250µL, 500µL).
- 6.2.7 Botellas de vidrio con tapa de politetrafluoroetileno (PTFE) de rosca.

7. Reactivos y patrones/estándares

- 7.1 Los reactivos que requiere el método deben ser grado plaguicida o ultra-residuos y deben cumplir con las especificaciones del *Committee on Analytical Reagents of the American Chemical Society (ACS)*.
- 7.1.1 Agua grado reactivo libre de compuestos orgánicos y dióxido de carbono. tipo I ASTM libre de compuestos orgánicos, calentar el agua a punto de ebullición con el fin de eliminar el CO₂ durante 20 min, tapar y dejar enfriar a temperatura ambiente.
- 7.1.2 Acetona grado pesticida o equivalente, (CH₃)₂CO
- 7.1.3 Hexano grado pesticida o equivalente, C₆H₁₄
- 7.1.4 Isoctano grado pesticida o equivalente, C₈H₁₈
- 7.1.5 Cloruro de metileno grado pesticida o equivalente, CH₂Cl₂
- 7.1.6 Éter etílico grado pesticida, (CH₃CH₂)₂O
- 7.1.7 Acetato de etilo grado pesticida o equivalente, CH₃COOC₂H₅
- 7.1.8 Metanol grado pesticida o equivalente, CH₃OH

- 7.1.9 Ácido sulfúrico grado analítico, H_2SO_4
- 7.1.10 Disoluciones patrón (1000 mg/L). Pese aproximadamente y con precisión 10 mg de material puro. Disuelva el material en acetona y metanol y diluya en un matraz volumétrico de 10 mL. Se puede emplear volúmenes mayores. Si la pureza del compuesto es certificada al 96% o mayor, el peso puede emplearse sin corrección para calcular la concentración de la disolución patrón. Los estándares patrón preparados comercialmente pueden utilizarse a cualquier concentración si son certificados por el fabricante o por una fuente independiente.
- 7.1.11 Blancos. Prepare blancos de cada disolvente para demostrar que estos no están contribuyendo a la contaminación de las muestras.
- 7.1.12 Disoluciones de calibración Prepare 5 niveles de diferente concentración de las disoluciones estándar para cada analito de interés en matraces volumétricos, adicione volúmenes de uno o más estándares internos y surrogados según se requiera. Para cada disolución estándar de calibración, adicione una cantidad conocida de los compuestos a analizar y lleve al aforo con el disolvente apropiado de acuerdo a la naturaleza química de los compuestos medidos.
- 7.1.13 El punto de concentración más bajo de la curva de calibración debe ser 5 a 10 veces mayor que el valor del LDM. Las otras concentraciones corresponden al intervalo esperado de las concentraciones encontradas en las muestras reales o bien estarán definidas por el intervalo lineal del detector.
- 7.1.14 Prepare blancos fortificados. La concentración añadida a éstas debe estar alrededor de la concentración media del intervalo de trabajo a partir de las disoluciones estándar de calibración.
- 7.1.15 Los compuestos recomendados para la fortificación de la muestra son los siguientes:

1,2-Diclorobenceno	1,4-Diclorobenceno
Clorofenol	Naftaleno
Fluoranteno	Hexaclorobutadieno
Hexaclorobenceno	Nitrobenceno
Fenantreno	Pentaclorofenol
Antraceno	Dioctil Ftalato

2,4-Dinitrobenceno	Fenol
2,4,6-Triclorofenol	Fluoreno
Dioctil Ftalato	

- 7.1.16 Disolución de estándares internos. Ver Tabla 2, donde se enlistan los estándares internos recomendados. Pese aproximadamente con precisión 10 mg de cada compuesto, transfiera a un matraz volumétrico de 10 mL y afore con cloruro de metileno. La disolución resultante debe contener cada compuesto en una concentración 1,000 mg/L. Adicione a cada mililitro de muestra extractada 20 μ L de la disolución de estándares internos, la concentración resultante es de 20 mg/L de cada estándar.
- 7.1.17 Disolución de estándares surrogados. Los estándares surrogados son adicionados a todas las muestras, blancos, muestras adicionadas y estándares de calibración, la disolución de estándares surrogados debe adicionarla previo a la extracción y concentración de la muestra, los surrogados recomendados son: 2-fluorofenol, nitrobenceno-d8, 2-fluorobifenilo, 2,4,6-tribromofenol, y terfenilo-d14. Abra una ampolleta de 1 mL de estándar surrogado, mida exactamente con microjeringa 1mL y coloque en un matraz volumétrico de 10 mL previamente llenado a la mitad con cloruro de metileno como disolvente, agite y afore a 10 mL. Tome con pipeta Pasteur el contenido del matraz y transfiera a viales de 2 mL.
- 7.1.18 Disolución estándar de calibración del sistema CG/EM. Prepare una disolución que contenga 50 mg/L de decaclorotrifenilfosfina (DFTPP).
NOTA: Todas las disoluciones deben almacenarse a 4°C en viales sellados sin dejar espacio libre de aire y protegidos de la luz. Todas las disoluciones deben ser reemplazadas después de 1 año o antes si pruebas de control de calidad demuestran lo contrario.

8. Recolección, preservación y almacenamiento de muestras

- 8.1 Tome un mínimo de 4 L de muestra en un envase de vidrio ámbar. No se necesita ningún tratamiento especial en campo.

- 8.2 Las muestras deben refrigerarse a aproximadamente 4°C desde el momento de su colecta hasta el momento de la extracción. No utilice conservadores químicos en el campo a menos que transcurran más de 24 horas antes de entregarlas al laboratorio, si esto ocurre agregar H₂SO₄ 1:1 a un pH <2.
- 8.3 Extraiga todas las muestras dentro de los 7 días después de ser muestreadas, analice las muestras dentro de los 40 días después de la extracción.

9. Control de calidad

- 9.1 Control de calidad en las mediciones de rutina. Los siguientes puntos deberán validarse en cada uno de los lotes de mediciones.
 - 9.1.1 Curva de calibración: Analizar cada uno de los estándares de calibración y obtener la curva de calibración con base en la regresión del área pico correspondiente a la concentración. Ver la sección 10.2
 - 9.1.2 Blanco de reactivo: El agua destilada se mide como blanco de reactivo. Se prepara de la misma manera y simultáneamente que las muestras matrices. El resultado del blanco de reactivo deberá sustraerse de los resultados de las muestras, debido a que puede ocurrir una interferencia de bajo nivel en este procedimiento. La interferencia pudiera ser debido a los plastificantes eluidos del disco de extracción de la fase sólida.
 - 9.1.3 Blanco fortificado: Se fortifican con una concentración conocida de la disolución patrón que contenga todos los compuestos de interés (dentro del intervalo de la curva de calibración) y 50 µL del surrogado en 250 mL de agua destilada como blanco fortificado. En este caso, la concentración fortificada en la muestra es de 0.001 mg/L. Se prepara y se mide el blanco fortificado de la misma manera y simultáneamente que las muestras.
 - 9.1.4 Muestra de control de calidad: En cada uno de los lotes de análisis, la muestra para el control de calidad se mide cada 20 muestras y al final de un análisis de secuencia.

10. Calibración

- 10.1 Verificación del equipo
 - 10.1.1 Verificación de la sintonía del Espectrómetro de masas (Autotune), ver Instructivo de operación CG-MS
 - 10.1.2 Verificación de la sintonía del Espectrómetro de masas de acuerdo al DFTPP-tune, ver Instructivo de operación CG-MS.
 - 10.1.3 Calibración del CG/EM DFTPP tune.
 - 10.1.4 Inyecte 1µL de la disolución estándar de DFTPP.
 - 10.1.5 Verifique que el espectro del pico del DFTPP cumpla con los criterios de la Tabla 3.
 - 10.1.6 Si el espectro obtenido de DFTPP no cumpliera con las condiciones anteriores será necesario que revise los parámetros de la calibración y repita nuevamente esta verificación.
 - 10.1.7 Verifique que el sistema CG/EM esté libre de contaminación (nivel señal-ruido)
 - 10.1.8 Realice un blanco electrónico, el cual deberá estar libre de picos.
- 10.2 Verificación de los blancos: Los contaminantes más comunes encontrados en los blancos son: cloruro de metileno, acetona, tolueno, 2-butanona y ésteres del ácido ftálico; si alguno de estos contaminantes está presente en las muestras y se encuentra asociado al blanco no debe ser reportado a menos que la concentración detectada en las muestras sea mayor a 10 veces su concentración en el blanco. Para cualquier otro compuesto presente en la muestra que no sea alguno de los mencionados y esté asociado con el blanco, se reportará siempre y cuando sea 5 veces mayor a la concentración detectada en éste.
- 10.3 Evaluación de Estándares Internos: Si el tiempo de retención para cualquier estándar interno cambia por más de 30 segundos, tomando como referencia la última calibración, deberá verificarse el sistema cromatográfico y corregir.
- 10.4 Evaluación de estándares surrogados: Calcule el % de recobro con la ecuación siguiente utilizando al ión cuantitativo para esto:

$$\%Recobro = A \times 100/B$$

(Ecuación 1)

Donde:

- A Concentración en µg/L obtenida del subrogado en la muestra
- B Concentración adicionada del surrogado a la muestra en µg/L

Los intervalos de aceptación son los siguientes:

Parámetro	Intervalo de aceptación (%)
2-fluorofenol	45 a 100
Nitrobenceno	55 a 114
Fluorobifenilo	43 a 116
Tribromofenol	56 a 141
P-terfenilo	50 a 120
Fenol d6	60 a 120

Si al evaluar el porcentaje de recobro de los surrogados en las muestras, si dos de ellos no cumplen con los criterios mencionados, repita el análisis y si esto se repitiera, registre la anomalía como interferencia de matriz.

11. Procedimiento

11.1 Extracción de la muestra

- 11.1.1 Decantar cualquier capa de agua en la muestra de sedimento, también quitar objetos foráneos como rocas, ramas, hojas, conchas, etc. Mezclar la muestra a fondo, especialmente muestras compuestas.
- 11.1.2 Determinar el % de humedad de la muestra. Separar una parte de la muestra y pesarla al mismo tiempo que se trabaja con la porción que se va analizar. El horno donde se va a secar la muestra debe estar en una campana o ventilado, pues puede haber una significativa contaminación en el laboratorio cuando se van a analizar muestras altamente contaminadas.
- 11.1.3 Después de pesar la alícuota que se va a extraer, pesar adicionalmente de 5 a 10 g de la muestra. Secar esta alícuota toda la noche a 105°C. Permitir que se enfríe en un desecador antes de pesar de nuevo, y calcular el % de humedad como se indica enseguida:

$$\% \text{ humedad} = (\text{gr de muestra seca})/(\text{gramos de muestra inicial}) \times 100$$

- 11.1.4 Pesar aproximadamente 20 g muestra (la muestra húmeda es equivalente a 10 g del peso seco). Coloque en un tubo de sedimentación con tapa. Adicionar estándares surrogados a todas las muestras, duplicados muestras adicionadas y blancos. Si la muestra es muy húmeda añadir 60 g de sulfato de sodio anhidro con una espátula para secarla, si es necesario, añadir más sulfato de sodio. Una vez que se le adiciona el sulfato de sodio, la muestra debe fluir fácilmente, como arena seca.
- 11.1.5 Inmediatamente añadir de 40 a 60 mL de acetona y extraer mediante agitación por 10 min.
- 11.1.6 Después extraer la muestra en un equipo ultrasónico por 10 min el agua del baño debe estar entre la capa de disolvente y de sedimento. Decantar el extracto y filtrar por vacío a través de papel filtro en un embudo Buchner limpio.
- 11.1.7 Repetir la extracción dos veces más con una porción de disolvente limpio. Decantar el disolvente después de la extracción ultrasónica. Después verter toda la muestra en el embudo buchner y enjuagar el tubo con disolvente limpio, y adicionarlo para enjuagar también el embudo. Recolecte el extracto. Continuar con la filtración hasta se vea que se removi6 todo el disolvente del embudo, pero no esperar hasta que esté completamente seca la muestra, pues si se llegara a abusar del vacío, pueden perderse analitos.
- 11.1.8 Transferir la muestra al embudo de separación de 2 litros. Adicionar 500 mL de una disolución 5% de cloruro de sodio. Adicionar de 30 mL a 60mL embudo, cerrarlo herméticamente y agitar por 10 min liberando la presión frecuentemente.
- 11.1.9 Dejar en reposo el embudo hasta la separación de las fases durante al menos 5 minutos. En caso de que la emulsión en la interface sea mayor de un tercio (20 mL aproximadamente) del volumen del hexano, el analista debe utilizar técnicas mecánicas para completar la separación. La técnica mecánica óptima depende del tipo de muestra. Puede utilizarse agitación circular, filtración de la emulsión a través de lana de vidrio, centrifugación u otro método.

- do físico. Colectar el extracto del disolvente utilizado en un matraz Erlenmeyer de 250 mL.
- 11.1.1.10 Adicionar un segundo volumen de 30 mL a 60mL de disolvente utilizado al embudo de separación y repetir el procedimiento de extracción, combinando los extractos en el matraz Erlenmeyer.
- 11.1.1.11 Secar los extractos. Colocar aproximadamente 10 g de sulfato de sodio anhidro (o Sulfato de Magnesio) en el matraz Erlenmeyer de 250 mL que contiene la fracción orgánica. Ensamblar el equipo de concentración Kuderna-Danish, uniendo el tubo concentrador de 10 mL al matraz de evaporación de 500 mL. Puede utilizarse otro método de concentración. Verter los extractos orgánicos combinados a través de la columna de secado (véase 7.2.2.3) con aproximadamente 1cm de sulfato de sodio anhidro y que se ha enjuagado previamente con diclorometano. Colectar el extracto en el equipo concentrador. Para lograr una transferencia cuantitativa, enjuagar el matraz Erlenmeyer y la columna de secado con 20-30mL de cloruro de metileno.
- 11.1.1.12 Adicionar una o dos perlas de ebullición limpias al equipo concentrador, colocar la columna Snyder y adicionar aproximadamente 1 mL de disolvente utilizado por la parte superior de la columna que contiene tres esferas para evitar la evaporación de los extractos. Colocar el aparato concentrador dentro del baño de aguade 15 °Ca 20°C por encima del punto de ebullición del disolvente utilizado, de manera a que el tubo concentrador este parcialmente inmerso en el agua caliente y la parte redondeada inferior del matraz sea calentada por el vapor del agua. Ajustar la posición vertical del aparato concentrador y ajustar la temperatura del agua de tal forma que la evaporación dure entre 15 min a 20 min. Cuando el volumen del extracto alcanza cerca de 1mL, retire el equipo y permita que se enfríe durante al menos 10 minutos.
- 11.1.1.13 Para el cambio del disolvente incrementar la temperatura del baño de agua aproximadamente a 80 °C. Retirar momentáneamente la columna Snyder y adicionar 5 mL de hexano y una perla de ebullición nueva, colocar nuevamente la columna Snyder y concentrar el extracto de la misma manera que se describió anteriormente, a excepción que en la parte superior de la columna Snyder se adiciona aprox. 1mL de hexano para humedecer previamente las esferas. El tiempo que tarde la concentración debe ser entre 5 min a 10 min.
- 11.1.1.14 Retirar la columna Snyder y enjuagar el matraz y su conexión inferior con 1mL a 2mL de hexano. Proceder con la limpieza, si no se va a inyectar inmediatamente almacenar el extracto orgánico y concentrar el día que se inyecte.
- 11.2 Limpieza
- 11.2.1 La limpieza puede no ser necesaria para matrices de muestra relativamente limpias, su objetivo es eliminar las interferencias y depende de la naturaleza de las muestras y la calidad del objetivo a medir.
- 11.2.2 La disolución pre-tratada se carga en la columna cromatográfica de florisil, que ha sido acondicionada con 10mL de hexano previo a la limpieza. Los compuestos de interés se eluyen con 10mL de hexano (Fracción 1) y 10mL de una mezcla de disolventes de 95% hexano y 5% de acetona (Fracción 2) que pasan a través de la columna.
- 11.2.3 La elución de la Fracción 1 se concentra a cerca de 2mL y 1g de cobre reducido se le agrega para la eliminación del sulfuro. Se agita y se deja en reposo (si es necesario, se agregará más del cobre reducido hasta que el cobre no se oxide o cambie de color y se deja en reposo nuevamente). El solvente de sulfuro eliminado se pasa a través de un embudo de vidrio, el cual ha sido llenado con 10g de sulfato de sodio anhidro y lavado con 30mL de hexano. La elución se concentra a 5 mililitros aproximadamente con Kuderna-Dannish
- 11.2.4 La Fracción 2 se concentra a 0.5mL utilizando el sistema de purga de gas N₂. Si se observa que tiene un color dominante y se considera que tiene interferencias con sustancias extrañas volátiles, se procederá a una limpieza con cartucho de carbón activado.
- Antes del procedimiento, el cartucho se acondiciona con 5mL de tolueno, 6mL de acetona y 7mL de hexano. La

concentración se carga en el cartucho y se eluye con 9mL de hexano. Toda la elución se recolecta en un tubo de ensayo y concentra a 2mL, aproximadamente, con el sistema de purga de gas N₂.

11.2.5 Finalmente, las fracciones concentradas se mezclan y se concentran nuevamente a 1mL.

11.2.6 Agregar los estándares internos y el volumen se afora a 1mL. Ésta es la disolución a medir.

11.3 Condiciones instrumentales

Intervalo de masas	30-500 uma
Tiempo de barrido	1 seg/scan
Temperatura inicial	30 °C (3 min)
Programa de temperatura	30-300 a 10 °C/min
Temperatura final	300 °C 5 min
Temperatura del inyector	257 °C
Temperatura de línea de t.	275 °C
Gas acarreador	Hidrógeno a 50 o Helio a 30 cm/seg

11.4 Análisis de muestras

11.4.1 Inyecte (1-2 µL) del extracto de muestra con estándares internos y surrogados usando las condiciones mencionadas en el inciso 11.1. El extracto inyectado debe contener 20 ppm de surrogados. Si la respuesta de cualquier ion cuantitativo excede la respuesta del intervalo de calibración, diluya el extracto y reanalice.

11.5 Análisis cualitativo

11.5.1 La determinación cualitativa de cada compuesto determinado por este método está basada en la comparación del tiempo de retención y de los espectros de masas de las muestras, con los tiempos y iones característicos de los espectros de masas de los estándares de referencia. Los espectros de masas de referencia están definidos por tres iones de mayor intensidad relativa (mayor al 30% de intensidad). Los compuestos son identificados como presentes cuando cumplen con los siguientes criterios:

- La intensidad relativa de los iones característicos se encuentren dentro del 30% de las intensidades relativas de estos iones en el espectro de referencia (ejemplo: para un ion con abundancia del 50% en el espectro de referen-

cia, la abundancia en el espectro de la muestra debe encontrarse en el intervalo de 20% y 80%).

- Los iones que estén presentes en el espectro de la muestra y que no estén en el espectro del estándar deben ser revisados cuidadosamente, ya que puede tratarse de contaminación de fondo o coelución de otros compuestos.

- Si hay iones que estén presentes en el espectro del estándar y no estén presentes en la muestra, debe someterlo a revisión ya que éstos pueden haberse perdido por posibles sustracciones en el momento de limpiar los espectros

11.5.2 Para muestras que contienen componentes que no están asociados con los estándares de calibración, realice una búsqueda por librería para obtener una identificación tentativa. Use la siguiente guía para realizar la identificación tentativa:

- Las intensidades relativas de los iones mayoritarios en el espectro de referencia (iones mayores al 10% del ion más abundante) deben estar presentes en el espectro de la muestra.
- Los iones moleculares que estén presentes en el espectro del estándar deben estar presentes en el espectro de la muestra.
- Los iones que estén presentes en el espectro de la muestra y que no estén en el espectro del estándar deben ser revisados cuidadosamente, ya que puede tratarse de contaminación de fondo o coelución de otros compuestos.
- Si hay iones que estén presentes en el espectro del estándar y no estén presentes en la muestra, debe someterlo a revisión ya que éstos pueden haberse perdido por posibles sustracciones en el momento de limpiar los espectros.
- Para muestras que contienen componentes que no están asociados con los estándares de calibración, realice una búsqueda por librería para obtener una identificación tentativa. Use la siguiente guía para realizar la identificación tentativa:
- Las intensidades relativas de los iones mayoritarios en el espectro de referencia (iones mayores al 10% del ión más abundante) deben estar presentes en el espectro de la muestra.

- La intensidad relativa de los iones mayoritarios deben encontrarse dentro de ± 20 . (Ejemplo: Para un ión en el espectro del estándar con una abundancia del 50%, el valor del ión de la muestra debe estar en un intervalo de 30 y 70 %).
- Los iones moleculares que estén presentes en el espectro del estándar deben estar presentes en el espectro de la muestra.
- Los iones que estén presentes en el espectro de la muestra y que no estén en el espectro del estándar deben ser revisados cuidadosamente, ya que puede tratarse de contaminación de fondo o coelución de otros compuestos.
- Si hay iones que estén presentes en el espectro del estándar y no estén presentes en la muestra, debe someterlo a revisión ya que éstos pueden haberse perdido por posibles sustracciones en el momento de efectuar la limpieza de espectros.

11.6 Calibración inicial

Establezca las condiciones de operación inicial del CG/MS, utilizando la siguiente guía:

Rango de la masa:	De m/z 35-270
Tasa del muestreo:	Para obtener al menos cinco espectros completos de masas a lo largo de los picos pero para no excederse de 1 segundo por masa del espectro
Temperatura de la fuente:	De acuerdo a las especificaciones del fabricante
Trampa de ión:	Colóquelo en la modulación axial, perilla de la temperatura y emisión de acuerdo a las especificaciones del fabricante

12. Cálculos

12.1 Curva de calibración: Cuantifique la muestra por el método de curva de calibración utilizando el estándar interno (o método de dilución del isótopo). Haga la curva de calibración

cada vez que realice una medición. Agregue una cierta cantidad del estándar interno a la mezcla de estándares. Inyecte 1 a 2 μL de éste al CG y produzca una curva de calibración de la relación de cada área de los picos (altura) entre cada compuesto de interés y el estándar interno. Cuantifique la muestra utilizando la curva. El intervalo de la curva de calibración deberá tener más de 5 veces el L.D.M. que incluya la concentración detectable.

12.2 Medición de las muestras: Inyecte 1 a 2 μL de la disolución de la muestra para su medición en el CG y médalo, después de haber efectuado la confirmación de sensibilidad del SIM (o después de haber obtenido una curva de calibración). Confirme la existencia de los compuestos de interés (compuestos surrogados) y cuantifíquelos.

12.3 Identificación: Se considera que los compuestos de interés (compuestos surrogados) se encuentren dentro de la muestra deberán cumplir las siguientes condiciones:

12.3.1 El pico del ión cualificador y el ión primario para el compuesto de interés (compuesto surrogado) aparece dentro de 5 segundos del tiempo de retención, el cual se registra en la curva de calibración.

12.3.2 La intensidad del pico del ión primario es menor al $\pm 20\%$ comparado con la intensidad relativa del ión cualificador.

12.4 Cuantificación. Método de Curva de Calibración Si se utiliza el método de curva de calibración, la cantidad del método de detección se obtiene de la relación de las áreas de los picos (o altura) entre cada compuesto de interés y el estándar interno utilizado para la curva de calibración.

Calcular la concentración de los compuestos de interés (compuestos surrogados) en la muestra a partir de las cantidades de detección, cantidad de la muestra analizada, cantidad de la muestra dividida, entre otras.

13. Manejo de residuos

13.1 Es la responsabilidad del laboratorio cumplir con todos los reglamentos federales, estatales y locales referentes al manejo de residuos, particularmente las reglas de identificación, almacenamiento y disposición de residuos peligrosos.

13.2 Las muestras una vez purgadas podrán ser desechadas al drenaje y/o basura.

14. Bibliografía

“Ley Federal de Derechos, tabla de Lineamientos de Calidad del Agua, Capítulo XI, Título II, Art. 224. *Diario Oficial de la Federación*, diciembre de 1997.

15. Tablas y figuras

Tabla 1. COSV que se pueden ser medidos con este procedimiento

PARÁMETRO	No. de CAS	Ión primario (cuantitativo)	Iones secundarios (cualitativos)
N-NITROSODIMETILAMINA	62-75-9	74	42,40
FENOL	108-95-2	94	65,66
BIS(2-CLOROETIL)ETER	111-44-4	65	128,63,64
1,3 DICLOROBENCENO	541-73-1	146	148,111
1,4 DICLOROBENCENO	106-46-7	146	148,111
1,2 DICLOROBENCENO	95-50-1	146	148,111
BIS(2-CLOROISOPROPIL) ETER	108-60-1	45	41, 121
HEXACLOROETANO	67-72-1	117	199, 201
N-NITROSODI-n-PROPILAMINA	621-64-7	70	43, 42, 41
NITROBENCENO	98-95-3	77	123,65
ISOFORONA	78-59-1	82	95,138
2 NITROFENOL	88-75-5	139	109,65
2,4 DIMETILFENOL	105-67-9	122	107,121
BIS(2-CLOROETOXI) METANO	111-44-4	93	63, 95, 65
2,4 DICLOROFENOL	120-83-2	162	164,98
1,2,4 TRICLOROBENCENO	120-82-1	180	182,145
NAFTALENO	91-20-3	128	129,127
HEXACLOROBUTADIENO	87-68-3	225	223,227
4 CLORO 3 METIL FENOL	59-50-7	107	144,142
HEXACLOROCICLOPENTADIENO	77-47-4	237	239, 235, 95
2,4,6 TRICLOROFENOL	88-06-2	196	198, 97
2-CLORONAFTALENO	91-58-7	162	127, 164
ACENAFTILENO	208-96-8	152	151,153
DIMETILFTALATO	131-11-3	163	77,92, 76
2,6 DINITROTOLUENO	606-20-2	165	63,89
ACENAFTENO	83-32-9	154	153,152
4-NITROFENOL	100-02-7	65	139, 109
2,4 DINITROTOLUENO	121-14-2	165	63,89
FLUORENO	86-73-7	166	165,167
DIETILFTALATO	84-66-2	149	177,150
AZOBENCENO	103-33-3	77	51, 182

PARÁMETRO	No. de CAS	Ión primario (cuantitativo)	Iones secundarios (cualitativos)
4 BROMOFENIL FENIL ETER	101-55-3	248	250, 141, 77
HEXACLOROBENCENO	118-74-1	117	201,199
PENTACLOROFENOL	87-86-5	266	264,268
FENANTRENO	85-01-8	178	176,179
ANTRACENO	120-12-7	178	179,176
CARBAZOLA	86-74-8		
FLUORANTENO	206-44-0	202	101,203
BUTIL BENCILFTALATO	85-68-7	149	91
PIRENO	129-00-0	202	200,203
BENZO (A) ANTRACENO	56-55-3	228	229,226
BIS (2-ETIL HEXIL)FTALATO	117-81-7	149	167,279
CRISENO	218-01-9	228	226,229
DIOCTIL FTALATO	117-81-7	149	167,43
BENZO(b) FLUORANTENO	205-99-2	252	253,125
BENZO (k) FLUORANTENO	207-08-9	252	253,125
BENZO (a) PIRENO	50-32-8	252	253,125
INDENO(1,2,3, c;d) PIRENO	193-39-5	276	138,227
DIBENZO (a;h) ANTRACENO	53-70-3	278	139,279
BENZO (g;h;i) PERILENO	191-24-2	276	138,277

Tabla 2. Estándares internos semivolátiles asignados para la cuantificación de analitos

1,4-DICLOROBENCENO-d4	NAFTALENO-d8	ACENAFTENO-d10
N- Nitrosodimetilamina	Naftaleno	Acenafteno
2- Fluorofenol (surr)	Hexaclorobutadieno	4-nitrofenol
Fenol	4-cloro-3-metilfenol	2,4 Dinitrotolueno
Bis (2-cloroetil) eter	2-Fluorobifenilo (surr)	Fluoreno
1,3 Diclorobenceno	Hexaclorociclopentadieno	Dietilftalato
1,4-diclorobenceno	2,4,6 triclorofenol	Azobenceno
1,2-diclorobenceno	2-Cloronaftaleno	4-Bromofenil fenil eter
Bis (2-cloroisopropil) eter	Acenaftileno	Hexaclorobenceno
Hexacloroetano	Dimetilftalato	2,4,6 Tribromofenol (surr)
N- Nitrosodi-n-propilamina	2,6-dinitrotolueno	Pentaclorofenol
Nitrobenceno		
Isoforona		
2-nitrofenol		
2,4-dimetilfenol		
Bis (2- Cloroetoxi) metano		
2,4-diclorofenol		
1,2,4 -Triclorobenceno		

FENANTRENO-d10	CRISENO-d12	PERILENO-d12
Fenantreno	Benzo (a) antraceno	Indeno (1,2,3-cd) pireno
Antraceno	Bis (2-etilhexil) ftalato	Dibenzo (a,h) antraceno
Carbazola	Criseno	Benzo (g,h,i) perileno
Fluoranteno	Di-octilftalato	
Butil-bencilftalato	Benzo(b) fluoranteno	
Pireno	Benzo(k)fluoroanteno	
p-Terfenilo- d12 (surr)	Benzo (a) pireno	
	Benzo (a) antraceno	

Tabla 3. Criterios de evaluación de DFTPP

ION MASICO	CRITERIO DE ABUNDANCIA RELATIVA DE IONES MASICOS DE LA DFTPP
51	30 A 60% de la masa 198
68	< 2% DE LA MASA 69
70	< 2 % DE LA MASA 69
127	40 A 60 % DE LA MASA 198
197	<1% DE LA MASA 198
198	PICO BASE 100 %
199	5 A 9% DE LA MASA 198
275	10 A 30 % DE LA MASA 198
365	> A 1 % DE LA MASA 198
441	PRESENTE PERO MENOR QUE LA MASA 443
442	> 40% DE LA MASA 198
443	17 A 23 % DE LA MASA 442

Procedimiento operativo estandarizado para medir compuestos orgánicos volátiles en agua por CG/MS



Procedimiento operativo estandarizado para medir compuestos orgánicos volátiles en agua por CG/MS

Contenido

Introducción	2
1. Aplicacion y alcances	2
2. Principio y resumen	3
3. Definiciones	3
4. Interferencias	4
5. Seguridad	4
6. Equipos y materiales	5
7. Reactivos y patrones/estándares	5
8. Recolección, preservación y almacenamiento de muestras	7
9. Control de calidad	8
10. Calibración	8
11. Procedimiento	9
12. Cálculos	10
13. Manejo de residuos	12
14. Bibliografía	12
15. Tablas y figuras	12

Introducción

Un compuesto orgánico es todo compuesto que contenga carbono y uno o más de los siguientes elementos: hidrógeno, halógenos, oxígeno, azufre, fósforo, silicio o nitrógeno, salvo los óxidos de carbono y los carbonatos y bicarbonatos inorgánicos. El término Compuestos Orgánicos Volátiles (COV) se puede definir como cualquier compuesto químico orgánico volátil que participa de las reacciones fotoquímicas en la atmósfera y que con los óxidos de nitrógeno en presencia calor y luz solar forma ozono y por lo tanto puede ser nocivo para salud y producir importantes perjuicios al medio ambiente.

Alrededor del 70% de las fuentes de los compuestos orgánicos volátiles (COV) es natural, el resto es producido por el hombre, correspondiendo las mayores proporciones a productos aromáticos y alcanos antropogénicos; por ejemplo: a) COV naturales: isopreno, pineno y limoneno y b) COV Artificiales: benceno, tolueno y nitrobenceno.

Los COV se producen por la quema de combustibles, como gasolina, madera, carbón o gas natural, así como el uso de disolventes, pinturas, pegamentos, repelentes de polillas, aromatizantes del aire, materiales empleados en pasatiempos, preservativos de madera, sustancias en aerosol, disolventes de grasa, productos de uso automotor y líquidos para la industria de lavado en seco. Los COV más frecuentes son el metano, etano, propano, acetileno, alcanos, bencenos, tolueno y butano. El principal problema medioambiental de los COV es que al mezclarse con otros contaminantes atmosféricos (como óxidos de nitrógeno) y reaccionar con la luz solar, pueden formar ozono al nivel del suelo, el cual contribuye al smog fotoquímico y son también precursores del ozono troposférico y su papel como destructores del ozono estratosférico. Esto se da principalmente en áreas urbanas, dando lugar a atmósferas ricas en ozono de un color marrón, por lo que reduciendo la emisión de estos compuestos orgánicos volátiles y de los óxidos de nitrógeno se conseguiría evitar la formación del smog.

Los compuestos orgánicos volátiles presentan propiedades características como liposolubles, tóxicas e inflamables que son responsables de efectos sobre la salud y el medio ambiente.

Los COV pueden moverse con facilidad por el medio ambiente. Si se desechan indebidamente en el suelo, estas sustancias químicas pueden filtrarse hacia el interior a través del suelo y, finalmente, alcanzar aguas subterráneas.

La medición de COV se realiza tanto en aguas subterráneas como superficiales, ya que se presentan como resultado de la infiltración (mantos acuíferos) y el escurrimiento (cuerpos superficiales) de com-

bustibles, disolventes, compuestos utilizados en la agricultura y descargas de aguas residuales (domésticas e industriales).

Los estudios toxicológicos en animales, han mostrado que varios compuestos orgánicos volátiles tienen el potencial de ser teratogénicos y cancerígenos, problema que se está estudiando en humanos. Por todo lo anterior, es importante el determinar el intervalo de toxicidad de los compuestos orgánicos volátiles y el riesgo que representan para la salud.

1. Aplicacion y alcances

- 1.1 Propósito.- Este método puede ser aplicado para la mayoría de los compuestos orgánicos volátiles que tengan punto de ebullición por debajo de los 200°C y que su solubilidad en agua sea poca o nula. Existen varias técnicas para introducir estos compuestos al sistema de cromatografía de gases con detector de masas (CG/MSD). La técnica utilizada por este método es la de Purga y Trampa.
- 1.2 Analitos.- Los parámetros que pueden medirse son los presentados en la Tabla 1-A.
- 1.3 Matrices – Las matrices para las cuales ha sido probado este método son: agua natural, residual, residual tratada y salina.
- 1.4 Limitaciones - Este método tiene una aplicación limitada para la determinación de compuestos altamente solubles en agua, ya que la baja eficiencia del purgado provoca que los límites de detección y cuantificación para estos se encuentren en el orden de los mg/L. Ejemplos de éstos son algunos hidrocarburos halogenados de bajo peso molecular aromáticos, cetonas, nitrilos, acetatos, acrilatos y éteres.
- 1.5 Restricciones.-Este método está restringido para ser utilizado por analistas experimentados en el uso de sistemas de Purga y Trampa, Cromatografía de Gases acoplado a Espectrometría de Masas, con experiencia en la interpretación de espectros de masas, manejo de técnicas estadísticas y de cuantificación.
- 1.6 Normatividad.- En la Tabla 1-A se mencionan los analitos que pueden ser analizados por este método, con sus números de registro del Chemical Abstracts Service (CAS) y los iones másicos (cuantitativos y cualitativos) de cada uno de ellos utilizados para su análisis.

2. Principio y resumen

- 2.1 Principio: Los compuestos orgánicos volátiles son extraídos de su matriz original al burbujear un gas inerte a través de la muestra (purga) a temperatura ambiente dentro del equipo de Purga y Trampa. Una vez que los analitos se encuentran en el sistema cromatográfico, estos son separados y posteriormente detectados por el Espectrómetro de Masas.
- 2.2 Resumen: Una alícuota de la muestra es colocada en la cámara del equipo de Purga y Trampa, en la muestra se burbujea un gas inerte (Helio o Nitrógeno) a un flujo de 40 L/min y a temperatura ambiente durante 11 minutos. Los compuestos orgánicos volátiles presentes en la muestra pasan de la fase acuosa a la gaseosa y son atrapados en una columna de material adsorbente, la cual es calentada posteriormente a una temperatura adecuada de adsorción de los compuestos e introducidos al cromatógrafo de gases por medio de una línea de transferencia caliente, una vez introducidos los compuestos volátiles al sistema cromatográfico son separados utilizando un programa de temperatura y posteriormente detectados por un espectrómetro de masas para su identificación y cuantificación.

3. Definiciones

- 3.1 Adsorción: es un proceso por el cual átomos, iones o moléculas son atrapadas o retenidas en la superficie de un material, en contraposición a la absorción, que es un fenómeno de volumen, es decir es un proceso en el cual un contaminante soluble (adsorbato) es eliminado del agua por contacto con una superficie sólida (adsorbente). El proceso inverso a la adsorción se conoce como desorción.
- 3.2 Límite de Cuantificación Experimental (LC Experimental): El Límite de Cuantificación Experimental (LC Experimental) es la concentración mínima de cada analito que se puede determinar con certeza. El LC Experimental se calcula con base en la repetibilidad de todo el proceso de análisis (preparación de muestra y medición con instrumento). Se calcula la desviación estándar de la muestra multiplicada 10 veces, utilizando los datos del análisis de las varias réplicas (típicamente $n=7$), de la muestra fortificada de baja concentración (Ecuación 1).

$$LC_{Experimental} = 10 \times S_{smp}$$

(Ecuación 1)

Donde

S_{smp} es la desviación estándar de la muestra obtenida por mediciones paralelas.

- 3.3 Recuperación: Se calcula la recuperación de los analitos utilizando las muestras de matriz fortificada y las muestras de matriz blanco (Ecuación 2).

$$Recuperación (\%) = (C_{fm} - C_{bm}) / C_f \times 100 \quad \text{(Ecuación 2)}$$

Donde:

C_{fm} concentración obtenida de la muestra de matriz fortificada

C_{bm} concentración obtenida de la muestra de matriz blanco

C_f concentración fortificada

- 3.4 Blanco Reactivo: Se analiza el agua destilada aplicando el mismo procedimiento que las muestras de matriz, incluyendo la preparación y medición de muestras. El blanco reactivo representa contaminación e interferencias como resultado del proceso analítico.

- 3.5 Blanco Fortificado: Se adicionan cantidades conocidas de analitos al agua destilada. Éstas se miden utilizando el mismo procedimiento que las muestras matrices y validan la confiabilidad del método.

- 3.6 Muestra de Control de Calidad (MC): Es una disolución de analitos y se aplica para revisar el desempeño del instrumento. La concentración de la MC deberá estar en el rango medio de la curva de calibración. En cada uno de los lotes de análisis, la MC deberá ser medida de manera rutinaria, cada 20 muestras y al final de un análisis de secuencia. Adicionalmente, es preferible que se obtenga la MC de una fuente externa al laboratorio o que se prepare por una fuente distinta a los Estándares de Calibración. De esta manera, la MC representa los problemas de contingencia de los Estándares de Calibración (ejemplo: deterioro, error de preparación).

4. Interferencias

4.1 Los disolventes, reactivos, material de vidrio y otro equipo para procesar las muestras puede producir errores y/o interferencias en el análisis de las muestras. Todos estos materiales deberán demostrar estar libres de interferencias bajo las condiciones de análisis mediante el uso de blancos del método.

4.2 El origen de la mayor parte de los contaminantes interferentes son los compuestos volátiles utilizados en el laboratorio.

Se recomienda evitar el uso de materiales plásticos tales como mangueras y/o uniones de plástico. Analice blancos de reactivos de los cuales se pueda obtener información acerca de la presencia de contaminantes interferentes.

4.3 Cuando se analicen muestras que contengan grandes cantidades de analitos solubles en agua, sólidos suspendidos, compuestos con altos puntos de ebullición o altas concentraciones de determinados compuestos, es necesario lavar el aparato de purga con una disolución de detergente libre de fosfatos, enjuagar con agua grado reactivo libre de orgánicos y secar en horno a 105°C; en una situación extrema, desarmar y lavar por completo el sistema Purga y Trampa, es recomendable aplicar una técnica presuntiva alterna para prevenir la contaminación del sistema.

4.4 Muchos analitos exhiben bajas eficiencias al momento de la purga desde 25mL por muestra. Esto frecuentemente resulta en que una cantidad significativa de estos analitos permanecen en vial de purga aún después del análisis. Después de remover la alícuota de la muestra que ha sido purgada y enjuagar el vial de purga tres veces con una agua libre de orgánicos, el vial limpio debe ser sujeto a un ciclo de purga caliente antes de proceder al análisis de otra muestra en el mismo vial. Este reducirá el acarreamiento de muestra a muestra.

4.5 Se deberán tomar precauciones especiales cuando se analice cloruro de metileno. Tanto el área analítica y de almacenaje deberán estar aisladas de todas las fuentes atmosféricas de cloruro de metileno. De lo contrario, niveles aleatorios provenientes del medio ambiente podrían resultar. Debido a que el cloruro de metileno se permeará a través del tubo de politetrafluoroetileno (PTFE), todas las líneas del

gas acarreados y líneas de plomería deberán estar construidas de acero inoxidable o tubo de cobre. La ropa utilizada por los analistas deberá estar limpia, ya que la exposición previa a los humos del cloruro de metileno durante la extracción líquido-líquido puede contribuir a la contaminación de las muestras.

4.6 Las muestras pueden ser contaminadas por difusión de compuestos orgánicos volátiles durante su traslado y almacenamiento (particularmente cloruro de metileno y fluorocarbonos) a través de la septa de sello del contenedor de la misma. Prepare un blanco de campo con agua reactivo libre de orgánicos y sométalo al mismo protocolo de muestreo, traslado y almacenamiento que las muestras para que este pueda proporcionar información acerca de este tipo de contaminación.

4.7 El uso de un espectrofotómetro de masas para conseguir niveles de cuantificación más bajas incrementará el potencial para detectar los contaminantes del laboratorio como interferencias.

4.8 Inyección directa – Algunos de los contaminantes pueden ser eliminados horneando la columna entre los análisis. Cambiando el inyector del liner reducirá el potencial de la contaminación cruzada. Pudiera ser necesario remover una porción de la columna en caso de contaminación extrema. El uso de una inyección directa conllevará a que el equipo necesite mantenimiento frecuentemente.

Si se adiciona hexadecano a las muestras de desechos o de petróleo que son analizadas, algunos picos cromatográficos eluirán después de los analitos de interés. El programa de temperatura del horno deberá incluir un análisis posterior al período de análisis para asegurar que los hidrocarburos semivolátiles hayan sido volatilizados.

5. Seguridad

5.1 Aspectos Generales: Este método no menciona todas las precauciones de seguridad asociadas con su uso. El laboratorio es responsable de mantener un ambiente de trabajo seguro y un archivo de las normas de seguridad respecto a la exposición y manejo seguro de las sustancias químicas especificadas en este método. Se debe tener un archivo de referencias de las hojas de información de seguridad

el cual debe estar disponible a todo el personal involucrado en estos análisis.

- 5.2 Carcinogenicidad: La carcinogenicidad de todos los reactivos no ha sido determinada con precisión, de todas maneras, cada sustancia química debe ser tratada como potencial peligro a la salud. La exposición a estas sustancias químicas debe ser reducida al menor nivel posible. Se sugiere que el laboratorio realice monitoreos de higiene ocupacional de cada reactivo a los que pueda estar expuesto el analista y que dichos resultados estén disponibles para los analistas.

6. Equipos y materiales

Todo el material volumétrico utilizado en éste método debe ser clase "A" o estar verificada su capacidad.

- 6.1 Equipo
- 6.1.1 Equipos para preparación de muestra: Balanza analítica con una precisión de 0,0001g.
 - 6.1.2 Equipos para análisis instrumental:
 - 6.1.2.1 Cromatógrafo de Gases (CG) Con puerto de inyección capilar del tipo split-splitless, que permita realizar la separación con programa de temperatura y todos los accesorios necesarios. Para algunas configuraciones de columna, el horno debe ser enfriado a temperaturas menores de 30 °C, en estos casos el horno debe contar con un sistema criogénico.
 - 6.1.2.2 Detector Espectrofotómetro de Masas (MS)
 - 6.1.2.3 Sistema de datos.- Un sistema de cómputo con adquisición y almacenamiento continuo de datos durante el programa cromatográfico. La computadora debe contar con un programa que permita la búsqueda de los iones específicos de las masas y proporcione una gráfica de abundancias de iones contra el número de barridos. Este tipo de gráfica es definido como un perfil de iones extraídos.

6.2 Materiales

- 6.2.1 Viales de vidrio de 40mL de capacidad con tapón de rosca y septa de silicon/teflón de 22mm de diámetro.
- 6.2.2 Micropipetas de 10µL, 20µL, 40 µL, 50µL y 100µL.
- 6.2.3 Microjeringas de 10 µL, 25µL, 100µL, 250µL y 500µL.
- 6.2.4 Guantes de nitrilo
- 6.2.5 Matraces volumétricos de 5mL y 10mL con tapón esmerilado
- 6.2.6 Jeringa para gases de 5mL y 25mL con válvula de seguridad
- 6.2.7 Jeringa de vidrio hipodérmica de 5mL con válvula de dos cambios con punta Luer.
- 6.2.8 Viales de 5mL de color ámbar con septa de teflón y tapa de presión.
- 6.2.9 Inserto de vidrio para puerto de inyección.
- 6.2.10 Septa color gris de bajo sangrado
- 6.2.11 Columna 1.- Columna capilar de sílica fundida de 60m de longitud x0.32mm de diámetro interno, con 1.8µm de espesor de película.
- 6.2.12 Columna 2.- Columna capilar de sílica fundida de 30m de longitud x0.25-032mm de diámetro interno, 95% dimetil-5%defenil polisiloxano (DB-5, RTx-5, HP5, SPB-5 o equivalente) con 3µm de espesor de película.
- 6.2.13 Columna 3.- Columna capilar de sílica fundida de 60m de longitud x 0.25mm de diámetro interno, 95% dimetil-5% difenil polisiloxano (DB-5, RTx-5, SPB-5 o equivalente) con 1µm de espesor de película capaz de integrar la abundancia de cualquier PIE.

7. Reactivos y patrones/estándares

- 7.1 Los reactivos que requiere el método deben ser grado plaguicida o ultra-residuos y deben cumplir con las especificaciones del *Committee on Analytical Reagents of the American Chemical Society (ACS)* a menos que se indique otra cosa. Reactivos para preparación de muestra y análisis instrumental:
- 7.1.1 Agua grado reactivo libre de compuestos orgánicos y dióxido de carbono-agua grado reactivo tipo I ASTM libre de compuestos orgánicos, hervir

el agua antes de usarse durante 20 min y taparla inmediatamente, dejarla enfriar.

- 7.1.2 Metanol CH_3OH – Grado plaguicida o equivalente, éste debe almacenarse lejos de otros disolventes.
- 7.1.3 Hexadecano Reactivo – El hexadecano reactivo está definido como el hexadecano en el cual las interferencias son menores al límite de cuantificación del método de los compuestos de interés.
- 7.1.4 Polietilenglicol $\text{H}(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OH}$ – Libre de interferencias en el límite de cuantificación de los analitos de interés.
- 7.1.5 Ácido clorhídrico (1:1 v/V) HCl – Con cuidado agregue un volumen medido de HCl concentrado a agua desionizada.

Todos los disolventes utilizados deberán ser grado plaguicida o su equivalente y debe probarse que estén libres de ésteres de ácido ftálico.

- 7.2 Materiales de Referencia: Los materiales de referencia a emplear pueden ser de pureza conocida o adquirirse como materiales de referencia certificados.

- 7.2.1 Disolución Madre de material de referencia. Prepare las disoluciones madre en metanol, utilizando líquidos o gases de análisis, tal y como lo considere necesario. Adicione los materiales estándares puros probados, como se describen a continuación:
- 7.2.2 Prepare las disoluciones patrón poniendo 9.8 mL de metanol dentro de un matraz volumétrico de 10 mL, permita al matraz estabilizarse estando destapado, por aproximadamente 10 minutos, o hasta que la superficie húmeda con alcohol o agua se seque. Pese el matraz hasta 0.1 mg. Adicione el material de referencia como se describe abajo.
- 7.2.3 Si el compuesto es líquido, utilice una jeringa de 100 μL , inmediatamente adicione 2 o más gotas del material de referencia dentro del matraz, luego pese. El líquido deberá ponerse dentro del alcohol sin tocar el cuello del matraz.
- 7.2.4 Si el compuesto es un gas a baja temperatura, llene una jeringa con válvula de 5 mL con el material de referencia hasta la marca de 5 mL. Introduzca la aguja 5 mm por abajo del menisco del metanol, lentamente descargue el material de referencia bajo la superficie

del líquido. El gas rápidamente se disolverá en el metanol.

- 7.2.5 Pese nuevamente, y diluya al volumen, tape, y mezcle bien invirtiendo el matraz varias veces. Para compuestos no gaseosos, calcule la concentración en $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ del peso ganado. Cuando el ensayo o pureza del material sea más del 97 %, este puede ser utilizado sin corrección para calcular la concentración del estándar. Si la pureza es menor al 97 % El peso deberá ser corregido cuando se calcule la concentración del estándar. Para compuestos gaseosos, calcule la concentración en $\mu\text{g}/\mu\text{L}$, usando la ley de los gases ideales, tomando en cuenta las condiciones de temperatura y presión del laboratorio. Transfiera la disolución estándar madre a una botella con una tapa con rosca tipo PTFE. Almacene, dejando un mínimo espacio superior y protegido de la luz, a una temperatura de $\leq 6^\circ\text{C}$ o siguiendo las recomendaciones del fabricante. Los estándares deberán colocarse nuevamente en el refrigerador o congelador, tan pronto como el analista complete la mezcla o dilución de los estándares para prevenir la evaporación de los compuestos de interés volátiles.
- 7.2.7 Los estándares para los gases permanentes deberán ser monitoreados frecuentemente por comparación con la curva de calibración inicial. Los estándares frescos deberán ser preparados si esta revisión excede del 20%. Los estándares para los gases pueden necesitar ser cambiados después de una semana o según lo que recomiende el fabricante de los estándares, a menos que la aceptabilidad del estándar pueda ser documentada. El diclorodifluorometano y el clorometano serán usualmente los primeros compuestos en evaporarse del estándar y deberán ser, por lo tanto, monitoreados muy de cerca cuando los estándares son almacenados por más de una semana.
- 7.2.8 Los estándares para los no-gases deberán ser monitoreados frecuentemente por comparación con la curva de calibración inicial. Los estándares frescos deberán ser preparados si esta revisión excede del 20%. Los estándares para los no-gases pueden requerir

ser reemplazados después de un mes para los estándares que están siendo utilizados y tres meses para disoluciones madres abiertas o según lo que recomiende el fabricante, a menos que la aceptabilidad de los estándares pueda ser documentada. Los estándares para compuestos reactivos, tales como el 2-cloroetilvinil éter y el estireno pueden requerir ser preparados con una frecuencia mayor.

- 7.2.9 Disoluciones estándar: Use las disoluciones patrón para preparar las disoluciones estándar en metanol como disolvente conteniendo los compuestos de interés en mezcla o por separado. Las disoluciones estándar deben ser almacenadas en viales adecuados con septas de teflón tratando de no dejar espacio libre de aire y protegidas de la luz a 4°C.

Verifique si existen signos de degradación y/o evaporación de éstas, especialmente antes de la preparación de los estándares de calibración.

- 7.3 Disolución estándar de surrogados: Los estándares surrogados utilizados para este método son tolueno-d8, 4-bromofluorobenceno y dibromofluorometano.

- 7.3.1 Prepare las disoluciones estándar de surrogados en metanol a partir de las disoluciones madre y que queden en una concentración de 20 a 200µg/mL este intervalo dependerá del intervalo de trabajo de la curva de calibración que se esté corriendo. Adicione a cada 5mL de muestra y blancos 30µg/mL.

- 7.4 Disolución estándares internos

- 7.4.1 Los estándares internos recomendados para este método son pentafluorobenceno, 1,4-difluorobenceno, 1,4-diclorobenceno d₄ y clorobenceno d₅.

- 7.4.2 Prepare la disolución de estándares internos por dilución de la disolución patrón se toma 1mL y se diluye con metanol a 10mL quedando una concentración de 200mg/L, adicione 50µg/mL a 5mL de muestra, blancos o estándares de calibración, se puede trabajar en un intervalo de 50µg/L a 80µg/L aproximadamente la concentración debe estar en la mitad de la curva de calibración.

- 7.4.3 Disolución estándar de 4-Bromofluorobenceno (BFB).- Prepare una disolución conteniendo 25µg/mL de BFB en metanol.

- 7.5 Disoluciones estándar de calibración

- 7.5.1. Disoluciones estándar de calibración inicial.- Prepare un mínimo de 5 concentraciones diferentes en un intervalo de 20 a 200µg/mL a partir de las disoluciones madre de referencia o a partir de una disolución certificada de estos. Prepare los estándares de calibración por adición con microjeringa de un volumen apropiado de la disolución estándar en 5mL o 25mL (según lo requiera) de agua libre de compuestos orgánicos y libre de dióxido de carbono.

- 7.5.2 Los puntos de calibración deben corresponder al intervalo de concentración en que se encuentran normalmente las muestras, tenga cuidado de no exceder el intervalo lineal de trabajo del sistema CG/EM.

- 7.6 Blancos de reactivos: Prepare blanco de reactivos.- Tome 5mL de agua reactivo libre de compuestos orgánicos y libre de CO₂ en un vial de 40mL de capacidad con tapón de rosca y septa de silicón/teflón, adicione estándares internos y subrogados

8. Recolección, preservación y almacenamiento de muestras

- 8.1 Cantidad de muestra. Llene un vial de vidrio de 40mL de capacidad con la muestra hasta formar un menisco y ciérrelo evitando la presencia de aire (sello de agua).

- 8.2 Tratamiento en campo. No se requiere ningún tratamiento especial en campo.

- 8.3 Preservación de la muestra. Preserve la muestra a 4°C, hasta el momento de su análisis.

- 8.4 Tiempo Máximo Previo al Análisis. El tiempo límite de análisis será de 7 días a partir de su recolección.

9. Control de calidad

- 9.1 Control de calidad en las mediciones de rutina. Los siguientes puntos deberán validarse en cada uno de los lotes de mediciones.
- 9.1.1 Curva de calibración: Analizar cada uno de los estándares de calibración y obtener la curva de calibración con base en la regresión del área pico correspondiente a la concentración. Ver la sección 10.2
 - 9.1.2 Blanco de reactivo: El agua destilada se mide como blanco de reactivo. Se prepara de la misma manera y simultáneamente que las muestras matrices. El resultado del blanco de reactivo deberá sustraerse de los resultados de las muestras, debido a que puede ocurrir una interferencia de bajo nivel en este procedimiento. La interferencia pudiera ser debido a los plastificantes eluidos del disco de extracción de la fase sólida.
 - 9.1.3 Blanco fortificado: Se fortifican 250 µL de la disolución estándar de compuestos orgánicos volátiles y 50 µL del surrogado en 250 mL de agua destilada como blanco fortificado. En este caso, la concentración fortificada en la muestra es de 0.001 mg/L. Se prepara y se mide el blanco fortificado de la misma manera y simultáneamente que las muestras.
 - 9.1.4 Muestra de control de calidad: En cada uno de los lotes de análisis, la muestra para el control de calidad se mide cada 20 muestras y al final de un análisis de secuencia (Secciones 3., 10.3).

- 10.1.5 Verifique que el espectro del pico del 4-BFB cumpla con los criterios de la Tabla 9.
- 10.1.6 Si el espectro obtenido de 4-BFB no cumpliera con las condiciones anteriores será necesario que revise los parámetros de la calibración y repita nuevamente esta verificación.
- 10.1.7 Verifique que el sistema CG/EM esté libre de contaminación (nivel señal-ruido)
- 10.1.8 Realice un blanco electrónico, el cual deberá estar libre de picos.

- 10.2 Verificación de los blancos: Los contaminantes más comunes encontrados en los blancos son: cloruro de metileno, acetona, tolueno, 2-butanona y ésteres del ácido ftálico; si alguno de estos contaminantes está presente en las muestras y se encuentra asociado al blanco no debe ser reportado a menos que la concentración detectada en las muestras sea mayor a 10 veces su concentración en el blanco. Para cualquier otro compuesto presente en la muestra que no sea alguno de los mencionados y esté asociado con el blanco, se reportará siempre y cuando sea 5 veces mayor a la concentración detectada en éste.
- 10.3 Evaluación de Estándares Internos: Si el tiempo de retención para cualquier estándar interno cambia por más de 30 segundos, tomando como referencia la última calibración, deberá verificarse el sistema cromatográfico y corregir.
- 10.4 Evaluación de estándares surrogados: Calcule el % de recobro con la ecuación siguiente utilizando al ión cuantitativo para esto:

$$\%Recobro = A \times 100/B$$

(Ecuación 1)

10. Calibración

- 10.1 Verificación del equipo
- 10.1.1 Verificación de la sintonía del Espectrómetro de masas (*Autotune*), ver Instructivo de operación CG-MS
 - 10.1.2 Verificación de la sintonía del Espectrómetro de masas de acuerdo al BFB-tune, ver Instructivo de operación CG-MS.
 - 10.1.3 Calibración del CG/EM BFB tune.
 - 10.1.4 Inyecte 1µL de la disolución estándar de 4-Bromofluorobenceno, 4-BFB.

Donde:

- A Concentración en µg/L obtenida del subrogado en la muestra
- B Concentración adicionada del surrogado a la muestra en µg/L

Los intervalos de aceptación son los siguientes:

Parámetro	Intervalo de aceptación (%)
Tolueno-d8	78-110
Clorobenceno-d5	70-120
4-Bromofluorobenceno	76-115
Dibromofluorometano	76-118

Si al evaluar el porcentaje de recobro de los surrogados en las muestras, si dos de ellos no cumplen con los criterios mencionados, repita el análisis y si esto se repitiera, registre la anomalía como interferencia de matriz.

11. Procedimiento

11.1 Análisis de muestras

- 11.1.1 Una vez que ha cumplido con los criterios establecidos en la sección 10.0, analice las muestras.
- 11.1.2 Tome una alícuota de muestra de 5mL con automuestreador. Si requiere de LDM bajos tome alícuota de 25mL cada una.
- 11.1.3 Utilice el siguiente procedimiento en caso de que requiera diluir las muestras.
 - 11.1.3.1 Prepare las diluciones sólo en caso de ser muy necesario en matraces volumétricos de 10 y 100 mL. Seleccione el matraz de acuerdo a la dilución que requiera. Puede realizar diluciones intermedias para evitar grandes diluciones.
 - 11.1.3.2 Calcule el volumen aproximado de agua reactivo libre de orgánicos y libre de CO₂, adiciónela al matraz.
 - 11.1.3.3 Adicione el volumen apropiado de la muestra original al matraz con agua, no se recomiendan volúmenes menores a 1mL. Diluya la muestra con agua reactivo libre de CO₂, hasta la marca del aforo, tape el matraz e inviértalo tres veces, repita el procedimiento anterior si requiere de diluciones adicionales. Tome 5mL de la muestra diluida.
 - 11.1.3.4 Adicione 25µg/mL de la disolución de subrogados y 50µg/mL de la de internos, esto puede hacerlo en forma manual o por automuestreador.
 - 11.1.3.5 Adicione 40µg/mL de la disolución de fortificación a 5mL de la muestra que haya seleccionado. Analice

la muestra según el método correspondiente a la técnica de Purga y Trampa.

- 11.1.4 Si en el análisis de la primera alícuota o dilución de ésta, detecta concentraciones de compuestos excedentes del intervalo de calibración, analice la segunda alícuota con una mayor dilución.
- 11.1.5 Cuantifique con los iones secundarios si la muestra presenta interferencias con el ión primario.
- 11.1.6 Analice blancos de reactivos posteriores para evidenciar que no existe contaminación cruzada.

11.2 Análisis cualitativo

- 11.2.1 La determinación cualitativa de cada compuesto determinado por éste método está basada en la comparación del tiempo de retención y de los espectros de masas de las muestras, comparándolos con los tiempos e iones primarios y secundarios de los espectros de masas de los estándares de referencia. Los espectros de masas de referencia están definidos por tres iones de mayor intensidad relativa (mayor al 30% de intensidad). Los compuestos son identificados como presentes cuando cumplen con los siguientes criterios:
- 11.2.2 Los iones que estén presentes en el espectro de la muestra y que no estén en el espectro del estándar deben ser revisados cuidadosamente, ya que puede tratarse de contaminación de fondo o coelución de otros compuestos.

Si hay iones que estén presentes en el espectro del estándar y no estén presentes en la muestra, debe someterlo a revisión ya que éstos pueden haberse perdido por posibles sustracciones en el momento de limpiar los espectros.
- 11.2.3 Para muestras que contienen componentes que no están asociados con los estándares de calibración, realice una búsqueda por librería para obtener una identificación tentativa. Use la siguiente guía para realizar la identificación tentativa:
- 11.2.4 Las intensidades relativas de los iones mayoritarios en el espectro de referencia (iones mayores al 10% del ión más abundante) deben estar presentes en el espectro de la muestra. La intensidad relativa de los iones mayoritarios

deben encontrarse dentro de ± 20 .

- 11.2.5 Los iones moleculares que estén presentes en el espectro del estándar deben estar presentes en el espectro de la muestra.

Los iones que estén presentes en el espectro de la muestra y que no estén en el espectro del estándar deben ser revisados cuidadosamente, ya que puede tratarse de contaminación de fondo o coelución de otros compuestos.

Si hay iones que estén presentes en el espectro del estándar y no estén presentes en la muestra, debe someterlo a revisión ya que éstos pueden haberse perdido por posibles sustracciones en el momento de efectuar la limpieza de espectros.

11.3 Condiciones para la medición en el CG/MS

Las condiciones cromatográficas recomendadas se presentan como ejemplos basadas en una serie de análisis variados utilizados para generar los datos del desempeño que se utilizan en este método. Las condiciones actuales dependerán, en última instancia, de los compuestos de interés, instrumento y los lineamientos de la columna del fabricante. Las temperaturas máximas de operación deberán ser siempre verificadas con las especificaciones del fabricante.

11.3.1 Condiciones generales

Temperatura del inyector:	200-275°C
Temperatura de la línea de transferencia:	200-300°C

11.3.2 Inyección *split/splitless*

11.3.2.1 Columna 1. Las condiciones presentadas en la Tabla 4 son meramente explicativas y pueden variar dependiendo del instrumento y de las recomendaciones que el fabricante dé sobre el uso de la columna.

11.3.3 Inyección directa

11.3.3.1 Columna 2. Las condiciones presentadas en la Tabla 5 son un ejemplo y pueden variar según las recomendaciones del fabricante para la columna.

11.3.4 Interface de *split* directa

11.3.4.1 Columna 3. Las condiciones presentadas en la Tabla 6 son un ejemplo y variarán de-

pendiendo del instrumento y las recomendaciones del fabricante dé sobre la columna.

11.3.5 Inyección del *split*

11.3.5.1 Columna 4. Las condiciones presentadas en la Tabla 7 son un ejemplo y varían dependiendo del instrumento y las condiciones para la columna que el fabricante recomiende.

11.3.6 Inyección del *split*

11.3.6.1 Columna 5. Las condiciones presentadas en la Tabla 8 fungen como ejemplo y varían dependiendo del instrumento y las recomendaciones del fabricante.

11.4 Calibración inicial

Establezca las condiciones de operación inicial del CG/MS, utilizando la siguiente guía:

Rango de la masa:	De m/z 35-270
Tasa del muestreo:	Para obtener al menos cinco espectros completos de masas a lo largo de los picos pero para no excederse de 1 segundo por masa del espectro
Temperatura de la fuente:	De acuerdo a las especificaciones del fabricante
Trampa de ión:	Colóquelo en la modulación axial, perilla de la temperatura y emisión de acuerdo a las especificaciones del fabricante

12. Cálculos

12.1 Una vez que ha identificado los compuestos, efectúe la cuantificación integrando la abundancia del ión característico primario (cuantitativo) del perfil de iones seleccionados extraídos PIE. Use el estándar interno más cercano en tiempo de retención al del compuesto a cuantificar (ver Tabla 1-A y 1-B).

12.2 Una vez que ha obtenido la integración aplique la siguiente ecuación para obtener la concentración de cada compuesto identificado:

$$\mu g / mL = \frac{(As)(Cis)}{(Ais)(FRR)} \quad \text{(Ecuación 2)}$$

donde:

- As Área característica de ión primario o cuantitativo del compuesto medido
 Cis Concentración del ión primario del estándar interno inyectada
 Ais Área característica de ión primario del estándar interno
 FRR Factor de respuesta relativo promedio obtenido de la curva inicial

Tome en cuenta para el cálculo final cualquier operación realizada sobre el volumen de la muestra inicial.

- 12.3 Tabule el área de respuesta de los iones característicos relacionando las concentraciones de cada analito de interés y cada estándar interno. Calcule los factores de respuesta (RF) para cada analito de interés relativo a uno de un estándar interno. El estándar interno seleccionado para el cálculo del FR para cada analito de interés deberá ser el estándar interno que tenga el tiempo de retención más cercano al analito que está siendo medido.

El FR se calcula de la siguiente manera:

$$FR = \frac{AsXC}{AisXCs}$$

donde:

- A_s Área del pico (o altura) del analito o surrogado
 A_{is} Área del pico (o altura) del estándar interno
 C_s Concentración del analito o surrogado
 C_{is} Concentración del estándar interno

- 12.4 Calcule el principal factor de respuesta y la desviación estándar relativa (DER) de los factores de respuesta para cada analito de interés utilizando las siguientes ecuaciones. La DER deberá ser menor o igual al 20% para cada analito de interés. También se recomienda que un mínimo factor de respuesta para el común de los compuestos de interés sean demostrados para cada nivel de calibración, de manera individual, para asegurar que estos compuestos se están comportando como se espera. En adición, alcanzar los criterios mínimos para

el FR para los puntos mínimos de calibración de los estándares es crítico para establecer y demostrar la sensibilidad deseada. Debido al gran número de compuestos que se llegarán a analizar por este método, algunos de estos pudieran no cumplir con los criterios establecidos. Si se llegará a presentar este caso, se reconoce que los compuestos pudieran no ser críticos para el proyecto específico y, por lo tanto, pudieran ser utilizados como datos calificativos o datos estimativos para propósitos de selección.

$$FR = \overline{FR} = \frac{\sum_{i=1}^n FR_i}{n} \quad SD = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (FR_i - \overline{FR})^2}{n-1}} \quad DER = \frac{DE}{RF} \times 100$$

donde:

- $\overline{RF_i}$ para cada estándar de calibración
 n número de estándares de calibración, p. ej: 5

- 12.5 Si más del 10% de los compuestos incluidos en la calibración inicial exceden del 20% del límite de DRE y no alcanzan el coeficiente mínimo de correlación (0.99) para acondicionar una curva alternativa, después de que el sistema cromatográfico se ha considerado como impreciso para que el análisis pueda comenzar. Ajuste los parámetros de control de la humedad, reemplace la trampa analítica o columna, reemplace la trampa de humedad o ajuste el tiempo de absorción; luego, repita el procedimiento de calibración desde el principio.

- 12.6 Evaluación de los tiempos de retención – Los tiempos de retención relativa (TRR) para cada analito de interés en cada estándar de calibración deberá estar en correlación dentro de la unidad de 0.06 TRR. Los analitos de interés con tiempo de elución tardía, por lo general, tienen mejor aceptación. El TRR se calcula como sigue:

$$TRR = \frac{\text{Tiempo de retención del analito}}{\text{Tiempo de retención del EI}}$$

- 12.7 Linealidad de los analitos de interés – Si el DRE de los analitos de interés es del 20% o menos, entonces el factor de respuesta relativa se asume como constante sobre el rango de calibración y el factor de respuesta relativa promedio puede ser utilizado para cuantificación.

12.8 Verificación de la calibración del CG/MS – La verificación de la calibración consiste en tres pasos que se realizan al principio de cada 12 horas del turno analítico.

12.8.1 Previo al análisis de las muestras o calibración de los estándares, inyecte o introduzca 50ng o menos de 4-bromo-fluorobenceno en el CG/MS.

12.8.2 La curva de calibración inicial deberá ser verificada inmediatamente después de realizar un análisis de los estándares utilizando una segunda fuente de estándares fortificados en una agua grado reactivo con una concentración, preferible, en el punto medio de la curva de calibración. Los límites sugeridos de aceptación pueden variar dependiendo de los objetivos específicos del proyecto. Los análisis cuantitativos de las muestras no deberán ser procesados para aquellos analitos que fallen la verificación inicial de calibración del estándar de segunda fuente. Sin embargo, los análisis se podrán continuar para aquellos analitos que

fallen dicha prueba, podrán ser utilizados para verificación y considerarse como valores estimados.

13. Manejo de residuos

Es la responsabilidad del laboratorio cumplir con todos los reglamentos federales, estatales y locales referentes al manejo de residuos, particularmente las reglas de identificación, almacenamiento y disposición de residuos peligrosos. Las muestras una vez purgadas podrán ser desechadas al drenaje y/o basura.

14. Bibliografía

Method 8260C “Volatile Organic Compounds by Gas Chromatography/Mass Spectrometry (GC/MS)”, SW-846, Environmental Protection Agency, Office of Research and Development, Cincinnati, Ohio, August 2006, Revision 3.

15. Tablas y figuras

Tabla 1-A. COV que se pueden ser medidos con este procedimiento

PARÁMETRO	No. de CAS	Ión primario (cuantitativo)	Iones secundarios (cualitativos)
Tetracloruro de carbono	56-23-5	117	119.121
Cloroformo	67-66-6	83	85.47
Cloruro de metileno	75-09-2	84	49.51
Benceno	71-43-2	78	52.77
Acrilonitrilo	107-13-1	53	52.51
Acrolenina	107-02-8	56	55.58
Cloruro de vinilo	75-01-4	62	61.61
Tolueno	108-88-3	92	91.65
Clorobenceno	108-90-7	112	114.77
1,2-Dicloroetano	107-06-2	62	64.98
1,1-Dicloroetileno	75-35-4	61	96.98
1,1,2,2-Tetracloroetano	79-35-5	83	85.131
1,1,2-Tricloroetano	79-00-5	97	83.85
Tricloroetileno	79-01-6	130	95.97
1,1,1-Tricloroetano	71-55-6	97	99.117
Tetracloroetileno	127-18-4	164	129.131
Etilbenceno	100-41-4	106	91

PARÁMETRO	No. de CAS	lón primario (cuantitativo)	lones secundarios (cualitativos)
Bromoformo	75-25-2	173	171.175
Bromometano	74-83-9	94	96.79
2-Cloroetilvinil éter	110-75-8	63	65.106
Trans-1,2-Dicloroeteno	156-60-5	96	61.98
1,2-Dicloropropano	78-87-5	63	62.41
1,2-Dicloropropileno			
trans-1-2-dicloroetileno	156-60-5	61	96, 98, 72
1,1-dicloroetano	75-34-3	63	65.83
cis-1,2-dicloroetileno	3156-59-2	61	96,98,76
Bromoclorometano	74-97-5	49	129,127
Dibromofluorometano	1868-53-7	113	111,99
Pentafluorobenceno	363-72-4	168	99.97
1,1-dicloropropeno	563-58-6	75	110.39
1,4-difluorobenceno	540-36-3	114	
Tricloroetileno	79-01-6	132	95.130
Dibromometano	74-95-3	174	93.95
Bromodiclorometano	75-27-4	83	85.127
Tolueno	108-88-3	91	92.64
Dibromoclorometano	124-48-1	129	127.131
1,2-Dibromometano	106-93-4	107	109.198
Clorobenceno d5	108-90-7	117	82.119
m-Xileno	108-38-3	91	106.105
Estireno	100-42-5	91	104,106,78
Isopropilbenceno (cumeno)	98-82-8	105	103,106,120
4-Bromofluorobenceno	460-00-4	95	174.176
Bromobenceno	108-86-1	77	156,158,83
1,2,3-Tricloropropano	96-18-4	75	77.110
n-Propilbenceno	103-65-1	91	120.121
2-Clorotolueno	95-49-8	91	126.89
1,3,5-trimetilbenceno	108-67-8	105	120.119
4-clorotolueno	106-43-4	91	126.125
tert-butilbenceno	98-06-6	119	120.91
sec-butilbenceno	135-98-8	105	104
1,3-diclorobenceno	541-73-1	146	148,111,120
p-isopropiltolueno	99-87-6	119	134.91
1,4-diclorobenceno	106-46-7	146	148,111,75
n-butilbenceno	104-51-8	91	92.134
1,2-diclorobenceno	95-50-1	146	148,111,113
1,2-dibromo-3-cloropropano	96-12-8	157	155.75
1,2,4-Triclorobenceno	120-82-1	179	182.184
Hexaclorobutadieno	87-68-3	225	223.224

Tabla 1-B. Estándares internos para la cuantificación de los analitos

Pentafluorobenceno	1,4-difluorobenceno	Clorobenceno-d5	1,4-diclorobenceno-d4
1,1-dicloroetileno	Tricloroetileno	Clorobenceno	1,3-diclorobenceno
Diclorometano	1,2-dicloropropano	1,1,1,2-tetracloroetano	p-isopropiltolueno
Trans-1,2-dicloroetileno	Dibromometano	Etilbenceno	1,4-diclorobenceno
1,1-dicloroetano	Bromodiclorometano	Xileno	n-butilbenceno
Cis-1,2-dicloroetileno	1,2-dibromoetano	Estireno	1,2-diclorobenceno
Bromoclorometano		Bromoformo	1,2-dibromo-3-cloropropano
Cloroformo		Isopropilbenceno	1,2,4-triclorobenceno
1,1,1-tricloroetano		Bromobenceno	Hexaclorobutadieno
1,1-dicloropropileno		1,2,3-tricloropropano	Naftaleno
Tetracloruro de carbono		n-propilbenceno	1,2,3-triclorobenceno
Cloruro de vinilo		2-clorotolueno	
		1,3,5-trimetilbenceno	
		4-clorotolueno	
		Ter-butilbenceno	
		1,2,4-trimetilbenceno	
		Sec-butilbenceno	

Tabla 2. Datos de precisión y exactitud para compuestos orgánicos volátiles determinados en agua con columna capilar de diámetro ancho

Compuestos	Intervalo de Concentración (µg/L)	Número de muestras	% de Recobro ^a	Desviación Estándar de Recobro ^b	%DSR
Benceno	0,1-10	31	97	6,5	5,7
Bromobenceno	0,1-10	30	100	5,5	5,5
Bromoclorometano	0,5-10	24	90	5,7	6,4
Bromodiclorometano	0,1-10	30	95	5,7	6,1
Bromoformo	0,5-10	18	101	6,4	6,3
Bromometano	0,5-10	18	95	7,8	8,2
n-Butilbenceno	0,5-10	18	100	7,6	7,6
sec-Butilbenceno	0,5-10	16	100	7,6	7,6
tert-Butilbenceno	0,5-10	18	102	7,4	7,3
Tetracloruro de carbono	0,5-10	24	84	7,4	8,8
Clorobenceno	0,1-10	31	98	5,8	5,9
Cloroetano	0,5-10	24	89	8,0	9,0
Cloroformo	0,5-10	24	90	5,5	6,1
Clorometano	0,5-10	23	93	8,3	8,9
2-Clorotolueno	0,5-10	31	90	5,6	6,2
4-Clorotolueno	0,5-10	31	99	8,2	8,3
1,2-Dibromo-3-Cloropropano	0,5-10	24	83	16,6	19,9
Dibromocloro metano	0,1-10	31	92	6,5	7,0
1,2-Dibromoetano	0,5-10	24	102	4,0	3,9
Dibromometano	0,0-10	24	100	5,9	5,6

Compuestos	Intervalo de Concentración (µg/L)	Número de muestras	% de Recobro ^a	Desviación Estándar de Recobro ^b	%DSR
1,2-Diclorobenceno	0,1-10	31	93	5,8	6,2
1,3- Diclorobenceno	0,5-10	24	99	6,8	6,9
1,4-Diclorobenceno	0,2-20	31	103	6,6	6,4
Diclorodifluorometano	0,5-10	18	90	6,9	7,7
1,1-Diclorobenceno	0,5-10	24	96	5,1	5,3
1,2-Diclorobenceno	0,1-10	31	95	5,1	5,4
1,1-Dicloroeteno	0,1-10	34	94	6,3	6,7
cis-1,2-Dicloroeteno	0,5-10	18	101	6,7	6,7
trans-1,2-Dicloroeteno	0,1-10	30	93	5,2	5,6
1,2-Dicloropropano	0,1-10	30	97	5,9	6,1
1,3-Dicloropropano	0,1-10	31	96	5,7	6,0
2,2-Dicloropropano	0,5-10	12	86	14,6	16,9
1,1-Dicloropropano	0,5-10	18	98	8,7	8,9
Etilbenceno	0,1-10	31	99	8,4	8,6
Hexaclorobutadeno	0,1-10	18	100	6,8	6,8
Isopropilbenceno	0,5-10	16	101	7,7	7,6
p-Isopropiltolueno	0,1-10	23	99	6,7	6,7
Clorometileno	0,1-10	30	95	5,0	5,3
Naftaleno	0,1-100	31	104	8,6	8,2
n-Propilbenceno	0,1-10	31	100	5,8	5,8
Estireno	0,1-100	39	102	7,3	7,2
1,1,1,2-Tetracloroetano	0,5-10	24	90	6,1	6,8
1,1,2,2-Tetracloroetano	0,1-10	30	91	5,7	6,3
Tetracloroetano	0,5-10	24	89	6,0	6,8
Tolueno	0,5-10	18	102	8,1	8,0
1,2,3-Triclorobenceno	0,5-10	18	109	9,4	8,6
1,2,4-Triclorobenceno	0,5-10	18	108	9,0	8,3
1,1,1-Tricloroetano	0,5-10	18	98	7,0	8,1
1,1,2-Tricloroetano	0,5-10	18	104	7,6	7,3
Tricloroeteno	0,5-10	24	90	6,5	7,3
Triclorofluorometano	0,5-10	24	89	7,2	8,1
1,2,3-Tricloropropano	0,5-10	16	108	15,6	14,4
1,2,4-Trimetilbenceno	0,5-10	18	99	8,0	8,1
1,3,5-Trimetilbenceno	0,5-10	23	92	6,8	7,4
Vinil cloro	0,5-10	18	98	6,5	6,7
o-Xileno	0,1-31	18	103	7,4	7,2
m-Xileno	0,1-10	31	97	6,3	6,5
p-Xileno	0,5-10	18	104	8,0	7,7

^a La recuperación fue calculada utilizando estándar internos. El estándar interno fue fluorobenceno

^b La desviación estándar fue calculado para un banco de datos de tres concentraciones.

Tabla 3- Datos de precisión y exactitud para compuestos orgánicos volátiles determinados en agua con columna capilar de diámetro estrecho

Compuestos	Concentración (µg/L)	Número de muestras	% de Recobro ^a	Desviación Estándar de Recobro ^b	%DSR
Benceno	0,1	7	99	6,2	6,3
Bromobenceno	0,5	7	97	7,4	7,6
Bromoclorometano	0,5	7	97	5,8	6,0
Bromodiclorometano	0,1	7	100	4,6	4,6
Bromoformo	0,5	7	101	5,4	5,3
Bromometano	0,5	7	99	7,1	7,2
n-Butilbenceno	0,5	7	94	6,0	6,4
sec-Butilbenceno	0,5	7	110	7,1	6,5
tert-Butilbenceno	0,5	7	110	2,5	2,3
Tetracloruro de carbono	0,1	7	108	6,8	6,3
Clorobenceno	0,1	7	91	5,8	6,4
Cloroetano	0,1	7	100	5,8	5,8
Cloroformo	0,1	7	105	3,2	3,0
Clorometano	0,5	7	101	4,7	4,7
2-Clorotolueno	0,5	7	99	4,6	4,6
4-Clorotolueno	0,5	7	96	7,0	7,3
1,2-Dibromo-3-Cloropropano	0,5	7	92	10,0	10,9
Dibromocloro metano	0,1	7	99	5,6	5,7
1,2-Dibroetano	0,5	7	97	5,6	5,8
Dibromometano	0,5	7	93	5,6	6,0
1,2-Diclorobenceno	0,1		97	3,5	3,6
1,3- Diclorobenceno	0,1	7	101	6,0	5,9
1,4-Diclorobenceno	0,1	7	106	6,5	6,1
Diclorodifluorometano	0,1	7	99	8,8	8,9
1,1-Diclorobenceno	0,5	7	98	6,2	6,3
1,2-Diclorobenceno	0,1	7	100	6,3	6,3
1,1-Dicloroetano	0,1	7	95	9,0	9,5
cis-1,2-Dicloroetano	0,1	7	100	3,5	3,7
trans-1,2-Dicloroetano	0,1	7	98	7,2	7,3
1,2-Dicloropropano	0,5	7	96	6,0	6,3
1,3-Dicloropropano	0,5	7	99	5,8	5,9
2,2-Dicloropropano	0,5	7	99	4,9	4,9
1,1-Dicloropropano	0,5	7	102	7,4	7,3
Etilbenceno	0,5	7	99	5,2	5,3
Hexaclorobutadeno	0,5	7	100	6,7	6,7
Isopropilbenceno	0,5	7	102	6,4	6,3
p-Isopropiltolueno	0,5	7	113	13,0	11,5
Clorometileno	0,5	7	97	13,0	13,4
Naftaleno	0,5	7	98	7,2	7,3
n-Propilbenceno	0,5	7	99	6,6	6,7

Compuestos	Concentración (µg/L)	Número de muestras	% de Recobro ^a	Desviación Estándar de Recobro ^b	%DSR
Estireno	0,5	7	96	19,0	19,8
1,1,1,2-Tetracloroetano	0,5	7	100	4,7	4,7
1,1,2,2-Tetracloroetano	0,5	7	100	12,0	20,0
Tetracloroetano	0,1	7	96	5,0	5,2
Tolueno	0,5	7	100	5,9	5,9
1,2,3-Triclorobenceno	0,5	7	102	8,9	8,7
1,2,4-Triclorobenceno	0,5	7	91	16,0	17,6
1,1,1-Tricloroetano	0,5	7	100	4,0	4,0
1,1,2-Tricloroetano	0,5	7	102	4,9	4,8
Tricloroetano	0,1	7	104	2,0	1,9
Triclorofluorometano	0,1	7	97	4,6	4,7
1,2,3-Tricloropropano	0,5	7	96	6,5	6,8
1,2,4-Trimetilbenceno	0,5	7	96	6,5	6,8
1,3,5-Trimetilbenceno	0,5	7	101	4,2	4,2
Vinil cloro	0,1	7	104	0,2	0,2
o-Xileno	0,5	7	106	7,5	7,1
m-Xileno	0,5	7	106	4,6	4,3
p-Xileno	0,5	7	97	6,1	6,3

a La recuperación fue calculada utilizando estándar internos. El estándar interno fue fluorobenceno

b La desviación estándar fue calculado para un banco de datos de tres concentraciones.

Tabla 4. Condiciones de Columna 1.

Flujo del Gas acarreador (He):	1.0mL/min
Temperatura inicial:	35°C
Temperatura del programa:	35°C por 1 min, 9°C/min hasta 250°C (mantener por 2.5 min)
Temperatura final:	250°C, se mantiene hasta que todos los compuestos de interés se han leído

Tabla 5. Condiciones de Columna 2.

Flujo del Gas acarreador (He):	1mL/min
Columna:	Para compuestos orgánicos volátiles: 60mx0.32mm, grosor de la película: 1.8µm (Por ejemplo: J&W DB-624)
Temperatura inicial:	40°C, mantener por 3 minutos
Temperatura del programa:	8°C/min→ °C→ °C/min
Temperatura final:	°C, se mantiene hasta que todos los compuestos de interés se han leído
Tiempo en que se calienta la columna:	3 minutos

Tabla 6. Condiciones de Columna 3.

Flujo del Gas acarreador (He):	1.5mL/min
Temperatura inicial:	35°C, mantener por 2 minutos
Temperatura del programa:	4°C/min hasta 50°C
10°C/min hasta 220°C	
Temperatura final:	220°C, se mantiene hasta que todos los compuestos de interés han eluído
Relación de <i>split</i> :	100:1

Tabla 7. Condiciones de Columna 4.

Flujo del Gas acarreador (He):	1mL/min
Temperatura inicial:	35°C, mantener por 2 minutos
Temperatura del programa:	35°C/min hasta 60°C a 10°C/min; 60°C hasta 150°C a 15°C/min: 150°C hasta 230°C a 6°C/min, se mantiene al final por 0.5 minutos
Temperatura final:	230°C, se mantiene hasta que todos los compuestos de interés han eluído
Temperatura del inyector:	250°C
Temperatura de la línea de transferencia:	280°C

Tabla 8. Condiciones de Columna 5.

Flujo del Gas acarreador (He):	0.9mL/min
Temperatura inicial:	30°C, mantener por 3 minutos
Temperatura del programa:	10°C/min hasta 100°C, 20°C/min hasta 220°C, mantener por 1 minuto
Temperatura final:	220°C, se mantiene hasta que todos los compuestos de interés han eluído
Relación de <i>split</i> :	50:1

Tabla 9. Criterios de evaluación de BFB.

IÓN MASICO	CRITERIO DE ABUNDANCIA RELATIVA DEL IÓN
50	15 a 40% de la masa 95
75	30 a 60% de la masa 95
95	Pico base 100%
96	5 a 9% de la masa 95
173	<2% de la masa 174
174	Mayor del 50% de la masa 95
175	5 a 9% de la masa 174
176	Mas del 95%, pero menor del 101% de la masa 174
177	a 9% de la masa 176

**Procedimiento operativo estandarizado para
la medición de Diquat y Paraquat en agua por
extracción líquido-sólido y cromatografía
líquida de alto rendimiento con detección
ultravioleta**



Procedimiento operativo estandarizado para la medición de Diquat y Paraquat en agua por extracción líquido-sólido y cromatografía líquida de alto rendimiento con detección ultravioleta

Contenido

Introducción	2
1. Alcance y aplicación.....	2
2. Principio y resumen	2
3. Definiciones.....	2
4. Interferencia.....	3
5. Seguridad.....	3
6. Equipos y materiales	4
7. Reactivos y patrones.....	4
8. Recolección, preservación y almacenamiento de muestras.....	5
9. Control de calidad	5
10. Calibración.....	5
11. Procedimiento	6
12. Análisis de datos y cálculos.....	7
13. Manejo de residuos.....	7
14. Bibliografía.....	7
15. Tablas y figuras.....	8

Introducción

Para el monitoreo ambiental se incrementan cada día más la demanda del análisis de sustancias químicas a niveles traza con propiedades hidrofílicas, incluyendo por ejemplo varios agroquímicos con bajo nivel de persistencia; medicamentos; hormonas y sus productos metabólicos, así como sub-productos de desinfección, entre otros.

El Paraquat es el nombre comercial del Dicloruro de 1,1'-dimetil-4,4'-bipiridilo, un viológeno. Es peligrosamente venenoso para los humanos si es ingerido. Otros miembros de esta clase incluyen Diquat, Ciperquat entre otros. todos estos son reducidos a ión radical, lo que genera radicales superóxidos que reaccionan con membranas lípidas insaturadas.

El Paraquat fue producido por vez primera para propósitos comerciales en 1961 y está hoy en día entre los herbicidas más usados comúnmente. En 1969 fue introducido a México y América Latina.

La Unión Europea autorizó el Paraquat en el año 2004 debido a un fallo judicial a causa de un contencioso que Suecia apoyada por Dinamarca, Austria y Finlandia mantuvo contra la Comisión Europea, el 11 de julio del 2007 los tribunales anularon la directiva que autorizaba al Paraquat como una sustancia activa de protección para las plantas prohibiendo desde entonces su comercialización dentro del ámbito de toda la Unión Europea.

El Paraquat, un herbicida cuaternario de amonio de uso común principalmente para el control de pasto y maleza y es monitoreado con el fin de establecer los límites permisibles de este en aguas nacionales, debido a que su acumulación en los cuerpos de agua causa estragos a la salud, siendo este un tóxico potencial que afecta principalmente los pulmones.

Con respecto a las técnicas analíticas, actualmente se están desarrollando mediante la Extracción de Fase Sólida (SPE) y Cromatografía de Líquido / Espectrómetro de Masas en Tándem (LC/MS/MS) como las principales técnicas de preparación de muestras y análisis de contaminantes. La Extracción Fase Sólida que se introduce aquí es el primer paso para el monitoreo ambiental de estas sustancias.

1. Alcance y aplicación

- 1.1 Propósito y Analito: Este método se usa para determinar la concentración de Paraquat.
- 1.2 Matriz: Este método es aplicable para el agua para beber. También es aplicable para el análisis de agua natural poco contaminada.

- 1.3 Limitaciones: Este método incluye los procedimientos para la Extracción de Fase Sólida (SPE, por sus siglas en inglés Solid Phase Extraction) para la concentración y limpieza (purificación) de las muestras. Sin embargo, el proceso de SPE está basado en una metodología inusual, por lo que el desempeño puede depender de la marca del disco SPE y su lote de producción. En caso de que la recuperación no sea satisfactoria, el proceso de SPE podría ser omitido y la muestra sin tratamiento puede ser medida directamente con el HPLC. En este caso, el Límite de Cuantificación Experimental (LC Experimental) sería más alto, pues tienden a ocurrir interferencias.

2. Principio y resumen

- 2.1 Principio: El analito se concentra y se purifica con la técnica de Extracción de Fase Sólida. El analito en la muestra acuosa se reúne en una resina de octil-sílice (octyl-silica) y se eluye con el reactivo de intercambio iónico

Nota 1. El eluido se inyecta en el Cromatógrafo de líquidos equipado con una columna de fase inversa y detector ultravioleta. El analito se identifica con base en su tiempo de retención y se cuantifica utilizando el método de calibración absoluta.

Nota 2. El Paraquat interactúa con el silanol restante en la resina de octil-sílice y es eluido con el reactivo de intercambio iónico. Esta resina se sintetiza con el objetivo principal de la interacción hidrófoba, para que el desempeño de la interacción del silanol varíe de acuerdo a la marca y al lote de producción.

- 2.2 Resumen: Se toman 250 mL de la muestra acuosa en un cilindro graduado y se descarga en un disco SPE. El disco SPE consiste en resina de octil-sílice, que ha sido activada previamente. El analito es eluido con 10 mL de reactivos de pares iónicos del disco y se determina con el sistema de Cromatografía de Líquido de Alto Rendimiento/Detector Ultravioleta.

3. Definiciones

- 3.1 Disolución Patrón Primario (DPP): Es una disolución de una concentración conocida y preparada partiendo de la reserva primaria. En casos típicos, la reserva primaria es la sustancia

pura. Básicamente, la DPP contiene solamente un analito.

- 3.2 Estándares de Calibración: Los estándares de calibración se preparan del EDS y se usan para obtener la curva de calibración de cada analito.
- 3.3 Estándar de Dilución Secundaria (EDS). El EDS se proporciona para la conveniencia del siguiente procedimiento: Preparación de los Estándares de Calibración y Pruebas del Límite de Cuantificación Experimental (LC Experimental) y de Recuperación. En el caso del análisis simultáneo con múltiples analitos, se mezclan y se diluyen diferentes volúmenes de DPP dependiendo de la sensibilidad de cada analito.
- 3.4 Límite de Cuantificación Experimental (LC Experimental): El Límite de Cuantificación Experimental (LC Experimental) es la concentración mínima de cada analito que se puede determinar con certeza. El LC Experimental se calcula con base en la repetibilidad de todo el proceso de análisis (preparación de muestra y medición con instrumento). Para obtener el LC Experimental se calcula la desviación estándar de la muestra multiplicada 10 veces, utilizando los datos del análisis de las varias réplicas (típicamente $n=7$), de la muestra fortificada de baja concentración (Ecuación 1).

$$LC_{Experimental} = 10 \times S_{smp} \quad \text{(Ecuación 1)}$$

Donde:

S_{smp} Desviación estándar de la muestra obtenida por mediciones paralelas

- 3.5 Recuperación: Se calcula la recuperación de los analitos utilizando las muestras de matriz fortificada y las muestras de matriz blanco (Ecuación 2).

$$Recuperación (\%) = (C_{fm} - C_{bm}) / C_f \times 100 \quad \text{(Ecuación 2)}$$

Donde:

C_{fm} concentración obtenida de la muestra de matriz fortificada

C_{bm} concentración obtenida de la muestra de matriz blanco

C_f concentración fortificada

- 3.6 Blanco Reactivo: Se analiza el agua destilada aplicando el mismo procedimiento que las muestras de matriz, incluyendo la preparación y medición de muestras. El blanco reactivo representa contaminación e interferencias como resultado del proceso analítico.

- 3.7 Blanco Fortificado: Se adicionan cantidades conocidas de analitos al agua destilada. Éstas se miden utilizando el mismo procedimiento que las muestras matrices y validan la confiabilidad del método.

- 3.8 Muestra de Control de Calidad (MC): Es una disolución de analitos y se aplica para revisar el desempeño del instrumento. La concentración de la MC deberá estar en el rango medio de la curva de calibración. En cada uno de los lotes de análisis, la MC deberá ser medida de manera rutinaria, cada 20 muestras y al final de un análisis de secuencia. (Sección 10.3).

Adicionalmente, es preferible que se obtenga la MC de una fuente externa al laboratorio o que se prepare por una fuente distinta a los Estándares de Calibración. De esta manera, la MC representa los problemas de contingencia de los Estándares de Calibración (ejemplo: deterioro, error de preparación).

4. Interferencias

- 4.1 Lavado de los aparatos: Todo lo que se utilice deberá ser lavado con detergente, enjuagado con agua de la llave y con agua destilada y con metanol.
- 4.2 Interferencias: Las sustancias orgánicas hidrófobas co-existentes pueden causar interferencias. La mayoría de las interferencias se eliminan en el proceso SPE (Sección 11.1).

5. Seguridad

Este método puede no mencionar todas las precauciones de seguridad asociadas con su uso. El laboratorio es responsable de mantener un ambiente de trabajo seguro y un archivo de las normas de seguridad respecto a la exposición y manejo seguro de las sustancias químicas especificadas en este método

6. Equipos y materiales

Los aparatos que entren en contacto con el analito deberán ser de plástico. Nunca se deberá usar material de vidrio puesto que el Paraquat tiende a ser adsorbido con silanol en la superficie de vidrio. Por ejemplo, lo que se utilizaría serían las botellas de muestreo, tubos graduados para los eluidos, viales para el HPLC, frascos para los estándares de calibración, entre otros.

6.1 Equipo

- 6.1.1 Sistema de Cromatografía de Líquido con detector ultravioleta (HPLC/UV)
- 6.1.2 Balanza de precisión: La balanza deberá ser capaz de pesar hasta 0.1 miligramos

6.2 Materiales

- 6.2.1 Columna para HPLC: Hamilton PRP Æ-1, 150 mm x 4.1 mm de diámetro interno, o equivalente
- 6.2.2 Disco SPE: Bakerbond Speedisk C₈ o equivalente
- 6.2.3 Múltiple de aspiración para SPE: Para colocar los discos SPE y aspirar las muestras y disolventes.
- 6.2.4 Papel de prueba pH: Intervalo de 1 a 12 o más (tipo universal)
- 6.2.5 Cronómetro: con conteo de segundos
- 6.2.6 Cilindro graduado: Plástico, 250 mL
- 6.2.7 Tubos graduados: Plástico, 10 mL graduado
- 6.2.8 Micro-pipetas: Calibradas
- 6.2.9 Puntas para micro-pipetas: Correspondientes al punto anterior
- 6.2.10 Viales para HPLC: Plástico, 1 mL de volumen
- 6.2.11 Matraz volumétrico: Plástico, 50 mL de volumen

7. Reactivos y patrones/estándares

Se deberán utilizar los siguientes reactivos y estándares o sus equivalentes.

7.1 Reactivos

- 7.1.1 Estándar de Paraquat (dicloruro de Paraquat).
- 7.1.2 Agua destilada: Agua libre de orgánicos. Agua Tipo I ASTM.

- 7.1.3 Bromuro de cetiltrimetilamonio (también conocido como bromuro de hexadeciltrimetilamonio)

- 7.1.4 Amonia acuosa: grado de reactivo analítico

- 7.1.5 Ácido 1-Hexanosulfónico, sal de sodio

- 7.1.6 Ácido 1-Heptanosulfónico, sal de sodio

En el caso de que no se obtiene una separación satisfactoria en la medición del HPLC, la EPA menciona que la separación puede ser mejorada reemplazando el ácido 1-hexanosulfónico (7.1.5) con el ácido 1-heptanosulfónico.

- 7.1.7 Ácido orto-fosfórico (H₃PO₄): grado de reactivo analítico

- 7.1.8 Dietilamina

- 7.1.9 Metanol: grado de análisis de residuos

7.2 Disoluciones patrón

La disolución Patrón Primario (DPP) y el Estándar de Dilución Secundario (EDS) se deben mantener a 4°C en viales sellados y protegidos de la luz solar. Estas disoluciones deben ser reemplazadas regularmente.

- 7.2.1 Disolución Patrón Primario (DPP o en inglés Stock Standard Solution): Se pesan exactamente 50.0 mg del estándar de Paraquat y se disuelve con agua destilada en un matraz volumétrico de 50 mL. Esta disolución de 1000 mg/L es la DPP.

- 7.2.2 Estándar de Dilución Secundaria (EDS): Se toma 0.25 mL de la DPP con una micropipeta y se diluye con agua destilada en un matraz volumétrico de 50 mL. Esta disolución de 5 mg/L es la EDS y se usa para la preparación de estándares de calibración y muestras fortificadas.

- 7.2.3 Estándar de Calibración: Se preparan 5 niveles de diferentes concentraciones de soluciones estándares en el rango apropiado (típicamente, entre 0.05 y 0.5 mg/L). Se toma el volumen apropiado (típicamente de 0.5 a 5 mL) de EDS y se diluye con el HPLC fase móvil (7.2.8) en matraces volumétricos de 50 mL.

- 7.2.4 Disolución Acondicionadora A: Se disuelven 0.500 g de bromuro de cetiltrimetilamonio (7.1.3) y 5 mL de hidróxido de amonio concentrado (7.1.4) en 500 mL de agua destilada. Se mide hasta 1000 mL en el matraz volumétrico.

- 7.2.5 Disolución Acondicionadora B: Se disuelven 10.0 g de ácido 1-hexanosulfónico (7.1.5) y 10 mL de hidróxido de

- amonio concentrado (7.1.4) en 250 mL de agua destilada. Se mide hasta 500 mL en el matraz volumétrico.
- 7.2.6 Disolvente de Elución: Se agregan 13.5 mL de ácido orto-fosfórico (7.1.7) y 10.3 mL de dietilamina (7.1.8) a 500 mL de agua destilada. Se mide hasta 1000 mL en el matraz volumétrico.
- 7.2.7 Reactivo del par iónico: Se disuelven 3.75 g de ácido 1-hexanosulfónico (7.1.5) en 15 mL de disolvente de elución (7.2.6). Se mide hasta 25 mL en el matraz volumétrico.
- 7.2.8 Fase móvil para HPLC: Se disuelven 13.5 mL de ácido orto-fosfórico (7.1.7), 10.3 mL de dietilamina (7.1.8) y 3.0 g de ácido 1-hexanosulfónico (7.1.5) en 1 L de agua destilada.

8. Recolección, preservación y almacenamiento de muestras

- 8.1 Recolectar muestras en botellas de plástico. Usar botellas ámbar o protegerlas de la luz solar.
- 8.2 Si se checa el pH de la muestra y excede del rango entre 5 y 9, se ajusta el pH agregando ácido clorhídrico o hidróxido de sodio.
- 8.3 Si se detecta en la muestra el cloro residual, agregue algún reductor apropiado (Ejemplo tiosulfato o ascorbato) para que se consuma puesto que el Paraquat se descompone con e hidróxido de sodio.
- 8.4 Las muestras se almacenan en 4°C y deben analizarse lo más pronto posible.

9. Control de calidad

- 9.1 Control de calidad en las mediciones de rutina: Los siguientes puntos deberán validarse en cada uno de los lotes de mediciones.
- 9.1.1 Curva de calibración: Analizar cada uno de los estándares de calibración y obtener la curva de calibración con base en la regresión de la respuesta correspondiente a la concentración. Ver la sección 10.2
- 9.1.2 Blanco de reactivo: El agua destilada se mide como blanco de reactivo. Se prepara de la misma manera y simultá-

neamente que las muestras matrices. El resultado del blanco de reactivo deberá sustraerse de los resultados de las muestras.

- 9.1.3 Blanco fortificado: Se fortifica el volumen apropiado de EDS (típicamente, 0.5 mL) en 250 mL de agua destilada como blanco fortificado. En este caso, la concentración fortificada en la muestra es de 0.01 mg/L. Se prepara y se mide de la misma manera y al mismo tiempo que las muestras.

Se sustrae el blanco reactivo del blanco fortificado y se reporta la diferencia como la recuperación. Si la recuperación varía de $100 \pm 30\%$ (Nota 2), todas las muestras se deberán volver a preparar.

Nota 2. El umbral de recuperación fue propuesto tentativamente. Deberá establecerse apropiadamente basándose en los datos que se vayan acumulando en el futuro.

- 9.1.4 Muestra de control de calidad (MC): En cada uno de los lotes de análisis, la muestra para el control de calidad (MC) se mide cada 20 muestras y al final del análisis de secuencia (Secciones 3.10, 10.3).

10. Calibración

La calibración y la validación se realizan rutinariamente en cada lote del análisis de la siguiente manera:

- 10.1 Iniciar el sistema de HPLC y validación: Iniciar los sistemas HPLC. Se vierte a la fase móvil, y se realiza el proceso de desgasificación y precalentamiento. Validar y registrar la presión de la bomba justo antes de iniciar el análisis de secuencia. Si la presión de la bomba varía demasiado con respecto al análisis anterior y diario, se verifica la causa de este fenómeno. Las posibles causas típicas pudieran ser las siguientes:
- 1 Presión alta: Hay una obstrucción en alguna parte. Algunas veces, la columna de guardia, en especial, tiende a obstruirse y en este caso deberá cambiarse por otra.
 - 2 Presión baja: Existe una fuga en alguna parte.
 - 3 Fluctuación por varios segundos: Significa que hay inestabilidad en la bomba (ya sea por penetración de aire o algún empaque se ha desgastado).

10.2 Analizar cada estándar de calibración, obtener la curva de calibración con base en la regresión de la respuesta que corresponde a la concentración y calcular el factor de respuesta (RF, Response Factor) y el Límite de Cuantificación Instrumental (LC Instrumental).

Si el RF o LC Instrumental varía demasiado con respecto al lote de análisis previo o diario, verificar la causa del fenómeno. Las causas típicas son las siguientes:

- 1 Problema del sistema HPLC: Inestabilidad del bombeo (ya sea por penetración de aire o por empaque desgastado), o la lámpara UV pudiese estar gastada.
- 2 Se van degradando los estándares de calibración. Prepare de nuevo los estándares de calibración utilizando el DPP.

10.3 En cada lote de análisis se mide la Muestra de Control de Calidad (MC) cada 20 muestras y al final de un análisis de secuencia. La MC es un estándar de concentración conocida (Sección 3.8).

Si la respuesta o el tiempo de retención de una MC varían demasiado de la calibración (Sección 10.2), verifique la causa del fenómeno y realice de nuevo el análisis de secuencia.

11. Procedimiento

11.1 Preparación de la muestra: Se concentra y se purifica el analito en las muestras acuosas con la técnica SPE. El diagrama de flujo para este proceso de preparación de muestras se describe en las Figura 1. Los detalles son los siguientes:

11.1.1 Acondicionamiento del disco SPE: El disco de resina de octil-sílice se coloca sobre el embudo y el sistema múltiple y se remoja con 10 mL de metanol. Después de 1 minuto de dejarlo remojando, se elimina el metanol a través de aspiración. Se repite el proceso de remojar con el metanol durante 1 minuto y se elimina a través de aspiración. Posteriormente, se vierten 10 mL de agua destilada sobre el disco e inmediatamente se limpia con aspiración. 10 mL obtenidos en el paso anterior de la disolución "Acondicionadora A" se vierten sobre el disco. Después de 1 minuto de dejarlo remojando, se aspira la disolución "Acondicionadora A".

Se repite el proceso de remojarlo con la disolución "Acondicionadora A" por 1 minuto y se aspira. Se vierten los 10 mL de agua destilada sobre el disco e inmediatamente se vuelve a aspirar. Continuamente, se vierten 10 mL de la disolución "Acondicionadora B" sobre el disco. Después de 1 minuto de dejarlo remojando, se aspira la disolución "Acondicionadora B". Se repite el proceso durante 1 minuto y se vuelve a aspirar. Se vierten los 10 mL de agua destilada sobre el disco e inmediatamente se aspira. Se enjuaga el disco adicionalmente con agua destilada, con 10 mL por dos veces.

11.1.2 Recolección sobre el disco SPE. En caso de que la muestra no se haya neutralizado todavía, se neutraliza con el proceso que se describe en la sección 8.2. Se toman 250 mL de la muestra neutralizada con el cilindro graduado y se descarga sobre el disco SPE activado (11.1.1) y se aspira suavemente. Durante el proceso de descarga de la muestra, la tasa de flujo de la muestra debe mantenerse a menos de 50 mL/min. Una vez terminada la descarga, se vierten 30 mL de agua destilada sobre el disco y se aspira. Posteriormente, se aspira el aire del cuarto durante 1 minuto para eliminar el exceso de humedad.

11.1.3 Elución del disco SPE: Cuando se termina la descarga de la muestra, se remoja el disco SPE con 4.4 mL de "disolvente de elución". Se deja remojando 1 minuto, luego se aspira el "disolvente de elución" en un tubo de concentración graduado de plástico de 10 mL. Este proceso de remojar el "disolvente de elución" se repite por 1 minuto y se recolecta en un tubo.

Continuamente, se agrega 0.2 mL del "reactivo de par iónico" al eluido mencionado anteriormente y se mide el eluido hasta 10 mL. Luego, se toma 1 mL del eluido y se vierte en el vial de HPLC. Esta alícuota se usa para las mediciones en el HPLC, como la disolución de prueba.

11.2 Análisis con el HPLC: Los estándares de calibración y las alícuotas de las soluciones de prueba se miden utilizando el HPLC. Las condiciones de medición del HPLC se muestran en la Tabla 2.

En el caso de que se utilice el HPLC sin el desgasificador en línea, desgasificar manualmente cada 4 horas. En caso de usar HPLC sin la cámara termostática, mantener la temperatura ambiente estable con el aire acondicionado.

Nota 3. Se deberá optimizar el volumen de inyección en cada laboratorio. El rendimiento depende de las especificaciones de la columna y los detalles de las condiciones de medición. Si el volumen de inyección aumenta, se mejora la sensibilidad pero se deteriora la separación.

- 11.3 Limpieza del HPLC: Después de las mediciones, el contenido de la botella con la fase móvil "A" botella se sustituye con agua destilada. Por otro lado, se aplica metanol o acetonitrilo a la fase móvil "B". Después se limpia el sistema de HPLC con el siguiente procedimiento.
- 1 Bombear la fase móvil (A/B = 95 / 5) a 0.4 mL/min durante 60 minutos.
 - 2 Bombear la fase móvil (A/B = 50 / 50) a 0.4 mL/min durante 10 minutos.
 - 3 Bombear la fase móvil B a 0.4 mL/min durante 10 minutos.
 - 4 Bombear la fase móvil (A/B = 50 / 50) a 0.4 mL/min durante 10 minutos.
 - 5 Estos procedimientos previenen la precipitación de fosfatos y lavan contaminantes hidrófobos.

12. Análisis de datos y cálculos

Se identifica el analito con base en el tiempo de retención y se cuantifica comparando el área pico con la curva de calibración. La manera de realizar el análisis de datos se basa en los métodos de regresión lineal o mínimos cuadrados y en procedimientos comunes.

- 12.1 Calcule la concentración de la(s) muestra(s) y/o las AREAS que registra el equipo. Realice las gráficas de la curva de calibración de cada uno de los analitos.
- 12.2 Calcule la concentración de la muestra por medio de la ecuación de la recta que se obtiene de las curvas de calibración para cada analito empleando la siguiente ecuación:

$$Y = mX + b$$

Dónde:

Y es la absorbancia de la muestra ya procesada;

m es la pendiente

b es la ordenada al origen.

Despejando X se obtiene la concentración del metal en la muestra, se deben tomar en cuenta los factores de dilución que se realicen.

- 12.3 Si se trabaja con el método de adición de estándares, obtenga la gráfica, el coeficiente de correlación y el valor de la muestra sin añadir.

- 12.4 Reporte de resultados:

12.4.1 No se deben reportar concentraciones de elementos por debajo del límite de detección.

12.4.2 Reporte los resultados del análisis en mg/L.

12.4.3 Si la muestra se diluyó multiplique los mg/L por el factor de dilución.

Nota 4. El Paraquat se discute a menudo con Diquat y la EPA propone el análisis simultáneo de Paraquat y Diquat. Estas dos sustancias son eluidas en el orden de Diquat y Paraquat en HPLC con el acondicionamiento que se describe.

13. Manejo de residuos

Es la responsabilidad del laboratorio cumplir con todos los reglamentos federales, estatales y locales referentes al manejo de residuos, particularmente las reglas de identificación, almacenamiento y disposición de residuos peligrosos.

14. Bibliografía

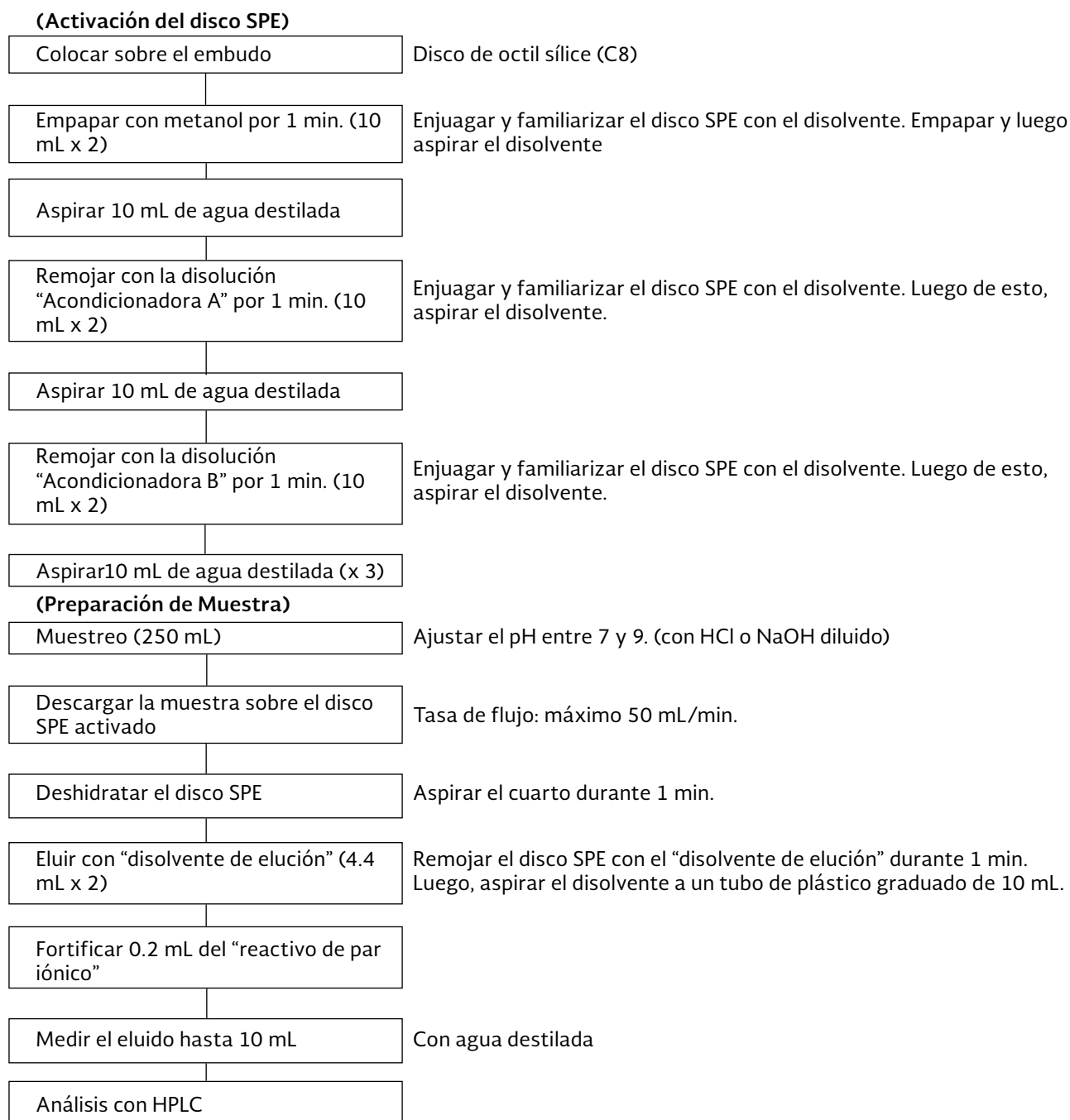
EPA 549.2 Determinación de Diquat y Paraquat en agua para beber por extracción líquido-sólido y cromatografía líquida de alto rendimiento con detección ultravioleta. Junio de 1997

15. Tablas y figuras

Tabla 1 Condiciones del HPLC

Columna:		Hamilton PRP Æ-1, 150 mmL x 4.1 mmID
Temperatura de la columna:		Temperatura ambiente
Tasa de flujo de la fase móvil:		0.8 mL/min.
Volumen de inyección:		100 µL (Notes 3)
Longitud de onda del detector ultravioleta:		257 nm
Bomba y fase móvil		
Tiempo (min)	Fase Móvil A (%)	Fase Móvil A (%)
0	100	0
15	100	0
Fase Móvil A : 13.5 mL de ácido orto-fosfórico, 10.3 mL de dietilamina y 3.0 g de ácido 1-hexanosulfónico se disuelven en 1 L de agua destilada.		

Figura 1 Diagrama de flujo del proceso para la preparación de la muestra



**Procedimiento operativo estandarizado
para la medición de compuestos orgánicos
con Carbonilo extraíbles por medio de
cromatografía líquida de alto rendimiento/
Thermospray/Espectometría de Masa (HPLC/
TS/MS) o detección ultravioleta (UV) en aguas**



Procedimiento operativo estandarizado para la medición de compuestos orgánicos con Carbonilo extraíbles por medio de cromatografía líquida de alto rendimiento/ Thermospray/ Espectrometría de Masa (HPLC/TS/MS) o detección ultravioleta (UV) en aguas

Contenido

Introducción	2
1. Aplicación y alcances	2
2. Principio y resumen	2
3. Definiciones	2
4. Interferencias	3
5. Seguridad	3
6. Equipos y materiales	3
7. Reactivos y estándares	4
8. Colección, preservación y almacenamiento de muestras	5
9. Control de calidad	5
10. Calibración	6
11. Procedimiento	7
12. Cálculos	8
13. Manejo de residuos	8
14. Bibliografía	9
15. Tablas y figuras	9

Introducción

Para el monitoreo ambiental se incrementan cada día más la demanda del análisis de sustancias químicas a niveles traza con propiedades hidrofílicas, incluyendo por ejemplo varios agroquímicos con bajo nivel de persistencia; medicamentos; hormonas y sus productos metabólicos, así como sub-productos de desinfección, entre otros.

Con respecto a las técnicas analíticas, actualmente se están desarrollando mediante la Extracción de Fase Sólida (SPE) y Cromatografía de Líquido/Espectrómetro de Masas en Tándem (HPLC/TS/MS) como las principales técnicas de preparación de muestras y análisis de contaminantes. La Extracción Fase Sólida que se introduce aquí es el primer paso para el monitoreo ambiental de estas sustancias. El Formaldehído y la acroleína, un pesticida de uso común y es monitoreado con el fin de establecer los límites permisibles de este en aguas nacionales, debido a que su acumulación en los cuerpos de agua causa estragos a la salud, siendo este un inhibidor de la colinesterasa y un carcinogénico potencial.

1. Aplicación y alcances

- 1.1 Propósito: Este método se aplica para determinar la concentración de formaldehído y acroleína.
- 1.2 Matriz: este método es aplicable para el análisis de aguas dulces.
- 1.3 Limitaciones: Este método que comprende la derivatización de 2,4-dinitrofenilhidrazina (DNPH) y la medición en HPLC es ampliamente aplicable para los compuestos de carbonilo. Sin embargo, estos compuestos Carbonílicos también pueden causar interferencias por lo que es eficiente siempre y cuando los compuestos coexistentes de Carbonilo no causen serias interferencias.

2. Principio y resumen

- 2.1 Principio: Para acroleína se vierten 300 mL de la muestra acuosa en un vaso de precipitados. Se agrega el DNPH a la muestra y se ajusta el pH de la muestra a 3. La muestra se calienta a 40°C durante 1 hora. El analito derivatizado en la muestra se recolecta en un disco de

resina de polidivinilbenceno y se eluye con 15 mL de acetonitrilo. Para ajustar la composición del extracto, se mezcla 0.5 mL del extracto y 0.5 mL de agua destilada en un vial para HPLC. Luego, el derivado en el vial se determina con el HPLC.

Para formaldehído, se vierte 0.5 mL de la muestra acuosa en el vial de HPLC. Se agrega 0.5 mL de la disolución diluida de DNPH en el vial y se calienta a 40°C durante 1 hora. Posteriormente, el derivado se determina en el vial de HPLC.

- 2.2 Resumen: Los analitos se derivatizan con 2,4-dinitrofenilhidrazina (DNPH). Para acroleína, el derivado se acumula en una resina hidrófoba, se eluye en un extracto orgánico y el eluido se toma en un vial. Para el formaldehído, el analito se derivatiza directamente en el vial.

La alícuota en el vial se inyecta a un Cromatógrafo de líquido equipado con una columna de fase inversa y un detector ultravioleta. Los derivados se identifican basándose en su tiempo de retención y se cuantifican utilizando el método de calibración absoluta.

3. Definiciones

Para los propósitos de este procedimiento se establecen las siguientes definiciones:

- 3.1 Aguas naturales - Se define como agua natural el agua cruda, subterránea, de lluvia, de tormenta, residual y superficial.
- 3.2 Aguas residuales - Las aguas de composición variada provenientes de las descargas de usos municipales, industriales, comerciales, agrícolas, pecuarias, domésticos y similares, así como la mezcla de ellas.
- 3.3 Blanco analítico o de reactivos - Agua reactivo o matriz equivalente que no contiene, por adición deliberada, la presencia de ningún analito o sustancia por determinar, pero que contiene los mismos disolventes, reactivos y se somete al mismo procedimiento analítico que la muestra problema.
- 3.4 Calibración - Conjunto de operaciones que establecen, bajo condiciones específicas, la relación entre los valores de una magnitud indicados por un instrumento o sistema de medición, o los valores representados por una medida

materializada y los valores correspondientes de la magnitud, realizados por los patrones, efectuando una corrección del instrumento de medición para llevarlo a las condiciones iniciales de funcionamiento.

- 3.5 Desviación estándar experimental - Para una serie de n mediciones del mismo mensurando, es la magnitud s que caracteriza la dispersión de los resultados, dado por la siguiente fórmula:

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}}$$

En donde:

$\bar{x}_i$ es el resultado de la i-ésima medición y

$\bar{x}$ es la media aritmética de los n resultados considerados.

- 3.6 Medición - Conjunto de operaciones que tiene por objeto determinar el valor de una magnitud.
- 3.7 Precisión - Es el grado de concordancia entre resultados analíticos individuales cuando el procedimiento analítico se aplica repetidamente a diferentes alícuotas o porciones de una muestra homogénea. Usualmente se expresa en términos del intervalo de confianza o incertidumbre:

$$x = \bar{x} \pm t_{\alpha/2} \frac{S}{\sqrt{n}}$$

Donde:

x es la media calculada a partir de un mínimo de tres mediciones independientes;

$t_{\alpha/2}$ es el valor de la t de Student para un nivel de significancia del 95%;

S es la desviación estándar de la muestra;

n es el número de réplicas, y

x es el resultado que incluye el intervalo de confianza.

- 3.8 Verificación de la calibración - Una verificación periódica de que no han cambiado las condiciones del instrumento en una forma significativa.

4. Interferencias

- 4.1 Lavado de cristalería y otros materiales: Toda la cristalería se deberá lavar con detergente, se enjuaga con agua de la llave y se vuelve a enjuagar con agua destilada y con acetonitrilo. Justo antes de ser usada, la cristalería se enjuaga de nuevo cuidadosamente con acetonitrilo. Tener cuidado y prevenir cualquier contaminación del aparato con grasas o elementos plastificantes de los guantes.
- 4.2 Interferencias causadas durante el proceso de preparación de la muestra: La mayoría de los compuestos carbonílicos reaccionan con DNPH y causan interferencias. Típicamente, tanto la acetona como el ácido acético causan este problema. Asimismo, el metanol se oxida y genera formaldehído, causando contaminación. Evite el uso de estos compuestos carbonílicos y alcoholes. Para evitar estas interferencias y contaminaciones, es preferible que el área de trabajo sea en un espacio separado.

5. Seguridad

Este método puede no mencionar todas las precauciones de seguridad asociadas con su uso. El laboratorio es responsable de mantener un ambiente de trabajo seguro y un archivo de las normas de seguridad respecto a la exposición y manejo seguro de las sustancias químicas especificadas en este método

6. Equipos y materiales

Todos los materiales volumétricos que se utilizan en este método deben ser de clase "A" o la calibración deberá ser verificada.

- 6.1 Equipo
Los siguientes aparatos y materiales son necesarios para el uso de las porciones de HPCL/MS en este método.
- 6.1.1 Sistema de Cromatografía de líquido de alto desempeño / Detector de ultravioleta (HPLC/UV).
- 6.1.2 Balanza de precisión: La balanza deberá ser capaz de pesar 0.1miligramos.

- 6.1.3 Calentador: Cámara termostática o plato para calentar, controlado a 40 °C
- 6.2 Suministros
 - 6.2.1 Columna para HPLC, 150 mmL x 4.1 mm diámetro interior o equivalente.
 - 6.2.2 Disco para SPE: DVB o equivalente.
 - 6.2.3 Estación Múltiple de aspiración para SPE: Para colocar los discos SPE y aspirar las muestras y disolventes.
 - 6.2.4 Papel de prueba pH: Intervalo de 1 a 12 o más (tipo universal)
 - 6.2.5 Cronómetro: con conteo de segundos.
 - 6.2.6 Probeta graduada: de vidrio, 500 mL
 - 6.2.7 Pipeta volumétrica: de vidrio, 5 mL y 10 mL
 - 6.2.8 Tubos graduados: de vidrio, 15 mL o más de volumen
 - 6.2.9 Pipeta de Pasteur: de vidrio, tallo largo.
 - 6.2.10 Micro-pipetas: calibradas
 - 6.2.11 Puntas para micro-pipetas: Correspondientes a los volúmenes requeridos
 - 6.2.12 Viales para HPLC: de vidrio, 2 mL de volumen
 - 6.2.13 Matraz volumétrico: de vidrio, 10 mL, 50 mL y 100 mL de volumen

7. Reactivos y estándares

- 7.1 Se deben utilizar los químicos de grado reactivo en todas las pruebas. A menos que se dé otra indicación, se pretende que todos los reactivos sigan las especificaciones del Comité en Reactivos Analíticos de la Sociedad Americana de Química donde se dispone de dichas especificaciones.

Los reactivos se deben de almacenar en vidrio para prevenir la lixiviación de contaminantes de los envases de plástico.

- 7.1.1 Agua grado reactivo tipo I ASTM
- 7.1.2 Formalina (37 % disolución acuosa): Ésta es la disolución primaria de formaldehído.
- 7.1.3 Estándar de acroleína, 10mL.
- 7.1.4 Clorhidrato de 2,4-dinitrofenilhidrazina (DNPH).
- 7.1.5 Derivado de formaldehído-DNPH.
- 7.1.6 Derivado de acroleína-DNPH.
- 7.1.7 Acetonitrilo: grado HPLC.
- 7.1.8 Ácido Clorhídrico HCl (aprox. 37%) grado reactivo analítico.
- 7.1.9 Hidróxido de sodio: grado reactivo analítico.

- 7.2 Disoluciones estándar: Las secciones siguientes describen la preparación de reserva, intermedio, y normas de trabajo para los compuestos de interés. Este argumento se muestra como un ejemplo, y se pueden utilizar otros acercamientos y concentraciones de los compuestos objetivos de manera apropiada para aplicaciones destinadas.

Las disoluciones de analito se deben conservar a 4°C en viales sellados y protegidos de la luz. Estas soluciones deben ser reemplazadas regularmente.

Todas las soluciones de analito deberán prepararse cuando se requieren.

- 7.2.1 Disolución Patrón Primario (DPP): Las soluciones de analitos y derivados se deben almacenar en viales sellados a 4°C y protegidos de la luz. Estas soluciones deben ser reemplazadas regularmente.

- 7.2.1.1 Formaldehído: Se disuelve 0.27 mL de la disolución al 37% de Formalina en 100 mL de agua. Esto proporcionará aproximadamente 1000 mg/L de la DPP de formaldehído.

- 7.2.1.2 Acroleína: Se pesan exactamente 50.0 mg de acroleína estándar y se disuelven en 50 mL de acetonitrilo. Esto proporcionará 1000 mg/L de la DPP de acroleína.

- 7.2.1.3 Formaldehído-DNPH: Se pesan exactamente 10.0 mg del reactivo derivado de formaldehído-DNPH y se disuelven en 100 mL de acetonitrilo. Esto proporcionará 100 mg/L de la DPP de formaldehído-DNPH.

- 7.2.1.4 Acroleína-DNPH: Se pesan exactamente 10.0 mg del reactivo derivado de acroleína-DNPH y se disuelven en 100 mL de acetonitrilo. Esto proporcionará 100 mg/L de la DPP de acroleína-DNPH.

- 7.2.2 Estándar de Dilución Secundaria (EDS): El EDS se prepara con la DPP diluida y se usa para la preparación de los estándares de calibración. Se deberá preparar cada vez que se requiera.

- 7.2.2.1 Formaldehído y Acroleína: Se diluye 0.5 mL de la DPP de Formaldehído y 0.5 mL de la

- DPP de acroleína en 50 mL de disolvente diluyente. Esto proporcionará 10 mg/L del EDS de formaldehído y acroleína.
- 7.2.2.2 Formaldehído-DNPH y Acroleína-DNPH: Se diluye 1 mL de la DPP de formaldehído-DNPH y 1 mL de la DPP de acroleína-DNPH en 10 mL de disolvente diluyente. Esto proporcionará 10 mg/L del EDS de formaldehído-DNPH y acroleína-DNPH.
- 7.2.3 Disolución de DNPH: Las soluciones de DNPH tienden a contaminarse fácilmente, por lo que deberán prepararse frescas para cada lote de análisis.
- 7.2.3.1 10 g/L de disolución DNPH (para la extracción de fase sólida): Se disuelve 1 g del reactivo DNPH en 100 mL de acetonitrilo acidificado. El acetonitrilo acidificado se prepara con 75 mL de acetonitrilo + 20 mL de agua destilada + 5 mL de ácido clorhídrico.
- 7.2.3.2 0.04 g/L de disolución DNPH (para la derivatización directa en vial): Se diluye 0.2 mL de disolución de DNPH (10 g/L) en 50 mL de acetonitrilo.
- 7.2.4 Disolvente diluyente para los Estándares de Calibración: Se mezcla el agua destilada con el acetonitrilo en una proporción de 50:50.
- 7.2.5 Estándares de Calibración:
- 7.2.5.1 Para la extracción de fase sólida (Acroleína): Se preparan 5 diferentes niveles de concentración de las soluciones derivadas de DNPH dentro del rango de 0.1 a 1 mg/L. En matraces volumétricos de 10 mL se diluye de 0.1 a 1 mL del derivado del EDS con el disolvente diluyente.
- 7.2.5.2 Para la derivatización directa en viales (Formaldehído): Se preparan 5 diferentes niveles de concentración de las soluciones derivadas de DNPH dentro del rango de 0.03 a 0.3 mg/L. En matraces volumétricos de 10 mL se diluye de 0.03 a 0.3 mL del derivado del EDS con el disolvente diluyente.

- 7.2.6 Ácido clorhídrico 0.5 M: Se diluyen 2 mL del ácido clorhídrico (37%) en 50 mL de agua destilada. Esta disolución se aplica para ajustar el pH de la muestra acuosa, en caso necesario.
- 7.2.7 Hidróxido de sodio 0.5 M: Se pesa 1g del reactivo de hidróxido de sodio y se disuelve con 50 mL de agua destilada. Esta disolución se aplica para ajustar el pH de la muestra acuosa, en caso necesario.

8. Colección, preservación y almacenamiento de muestras

- 8.1 Recolectar muestras dentro de botellas de vidrio. Usar vidrio ámbar o protegerlas de la luz solar.
- 8.2 Si verifica el pH de la muestra y excede del rango entre 5 y 9, se ajusta el pH agregando ácido clorhídrico o hidróxido de sodio.
- 8.3 Si se detecta en la muestra el cloro residual, agregue algún reductor apropiado (por ejemplo ascorbato) para que lo consuma, puesto que formaldehído y acroleína se descomponen con el cloro residual.
- 8.4 Las muestras se almacenan en 4°C y deben analizarse lo más pronto posible.

9. Control de calidad

Control de calidad en las mediciones de rutina. Los siguientes puntos deberán validarse en cada uno de los lotes de mediciones.

- 9.1 Curva de calibración: Analizar cada uno de los estándares de calibración y obtener la curva de calibración con base en la regresión del área pico correspondiente a la concentración.
- 9.2 Blanco de reactivo: Se miden 1000 mL de agua destilada como blanco de reactivo. Se prepara de la misma manera y simultáneamente que las muestras.
- El resultado del blanco de reactivo deberá sustraerse de los resultados de las muestras, debido a que puede ocurrir una interferencia de bajo nivel en este método. La interferencia

podiera deberse a los plastificantes eluidos del disco de extracción de la fase sólida.

- 9.3 Blanco fortificado: Se fortifica 0.03 mg/L de Carbaril en 1000 mL de agua destilada como blanco fortificado. Se prepara de la misma manera y simultáneamente que las muestras.

Sustraer el blanco reactivo del blanco fortificado y reportar la diferencia como la recuperación. Si la recuperación varía de $100 \pm 30\%$, todas las muestras deberán volverse a preparar.

- 9.4 Muestra de control de calidad (MC): En cada uno de los lotes de análisis, la muestra para el control de calidad (QCS) se mide cada 20 muestras y al final de un análisis de secuencia.

- 9.5 Estandarización de reactivos de analitos: Los aldehídos tienden a degradarse fácilmente (oxidación, volatilización, polimerización, entre otros). Asimismo, la concentración de la disolución comercial de Formalina es aproximadamente 37% y no está estrictamente determinada, por consiguiente, los reactivos libres de aldehídos deben estandarizarse.

- 9.6 Se derivatiza el PDD de formaldehído y acroleína con el método de derivatización directo. Posteriormente, se diluye y se mide la alícuota con estándares de calibración. Los detalles del procedimiento para la preparación se muestran en la Tabla 1.

- 9.7 Desempeño del Método: Los resultados de las pruebas de recuperación y del Límite de Cuantificación (LC) Experimental se muestran en la Tabla 3. Existen dos opciones para la preparación de muestras, la Extracción de Fase Sólida y la derivatización directa.

El formaldehído fue medido con el método de derivatización directa y el resultado del LC Experimental fue 0.042 mg/L y el de recuperación fue 113.6%.

La Acroleína fue medida con el método de extracción de fase sólida y el resultado del LC Experimental fue 0.023 mg/L y el de recuperación fue 100.1%.

10. Calibración

La calibración y la validación se realizan rutinariamente en cada lote del análisis como sigue:

- 10.1 Poner en marcha los sistemas HPLC y la validación: Prender los sistemas HPLC. Verter a las fases móviles (Fase móvil "A" acetato de amonio 5 mM y Fase móvil "B" Acetonitrilo.), y pasar por el proceso de desgasificación y precalentamiento. Validar y registrar la presión de la bomba justo antes de iniciar el análisis de secuencia. Si la presión de la bomba varía demasiado con respecto al análisis previo o diario, verificar la causa de este fenómeno. A continuación se describen algunas causas típicas:

- (1) Presión alta: Hay una obstrucción en alguna parte. A veces, en especial la columna de guardia (guarda-columna) está obstruida y en ese caso deberá cambiarse por otra.
- (2) Presión baja: Existe una fuga en alguna parte.
- (3) Fluctuación por varios segundos: Significa que hay inestabilidad en la bomba (ya sea por penetración de aire o algún empaque se ha desgastado).

Asimismo, se deberá validar el tiempo de retención que se ha obtenido del Carbaril.

- 10.2 Calibración: Analizar cada estándar de calibración, obtener la curva de calibración con base en la regresión del área pico que corresponde a la concentración y calcular el factor de respuesta (RF, Response Factor o pendiente de la curva de calibración) y el Límite de Cuantificación Instrumental (LC Instrumental).

Si el RF o LC Instrumental varía demasiado con respecto al lote de análisis previo o diario, verificar la causa del fenómeno. Las causas típicas son las siguientes:

- (1) Problema del sistema HPLC: Inestabilidad del bombeo (ya sea por penetración de aire o por empaque desgastado), o la lámpara UV pudiese estar gastada.
- (2) Se van degradando los estándares de calibración. Prepare de nuevo los estándares de calibración utilizando el DPP.

- 10.3 Validación de la calibración extendida: En cada lote de análisis se mide la Muestra de Control de Calidad (QCS) cada 20 muestras y al final de un análisis de secuencia. La QCS es un estándar de concentración conocida.

Si el área pico o el tiempo de retención de una QCS varía demasiado de la calibración (Sec. 11.2), verifique la causa del fenómeno y realice de nuevo el análisis de secuencia.

11. Procedimiento

Existen 2 opciones para la preparación de la muestra, se puede realizar por medio de la Extracción de Fase Sólida o la derivatización directa. La Extracción de Fase Sólida se aplica para la acroleína y la derivatización directa se aplica para el formaldehído.

Para evitar contaminaciones e interferencias, realice todos los procedimientos sin retraso. Asimismo, las muestras y los reactivos deberán mantenerse en la cámara o campana de extracción de aire lo más posible.

11.1 Extracción de Fase Sólida (SPE, Solid Phase Extraction): El diagrama del flujo para el método de la Extracción de Fase Sólida (SPE) se muestra en la Figura 1. Los detalles son los siguientes:

11.1.1 Acondicionamiento del disco SPE: Se coloca el disco de resina poli-divinilbenceno (DVB o equivalente) sobre el embudo y el sistema múltiple (especializado para SPE), y se remoja con 10 mL de acetonitrilo. Después de 2 minutos de dejarlo remojando, se elimina el acetonitrilo a través de aspiración y se enjuaga el disco con 30 mL de agua destilada (descargando 10 mL del agua por 3 veces). A través de estas operaciones, a las cuales se les llama el proceso de “acondicionamiento”, se reactiva el disco y se familiariza con la muestra acuosa.

11.1.2 Muestreo, ajuste del pH y derivatización: Se colocan 300 mL de la muestra acuosa en un cilindro graduado y se vierte a un vaso de precipitado. Se agregan 5 mL de la disolución DNPH (10 g/L) (7.2.3.1) a la muestra, y se mide el pH de la muestra, debe ser ajustado a 3.0 ± 0.1 utilizando 0.5 M de ácido clorhídrico (7.2.6) ó 0.5 M de hidróxido de sodio (7.2.7).

El vaso de precipitado con la muestra se envuelve con papel aluminio y se pone sobre el calentador a 40°C durante 1 hora. Los analitos se derivatizan en este proceso.

11.1.3 Recolección sobre el disco SPE: La muestra derivatizada (11.1.2) se descarga sobre el disco SPE activado (11.1.1), y se aspira suavemente. En este proceso, la tasa de flujo de la muestra debe mantenerse a menos en 50 mL/min. Una vez terminada la descarga, se enjuaga el disco con 30 mL

de agua destilada (Nota 1) y se aspira el aire durante 30 segundos para eliminar el exceso de humedad del disco.

Nota 1. Aun cuando la muestra sea de agua de mar, las sales se eliminarán en este procedimiento de enjuague. Si las sales permanecen en el disco, se precipitarán dentro de los eluidos del acetonitrilo durante el proceso posterior.

11.1.4 Elución del disco SPE: Cuando se termina la descarga de la muestra, se empapa el disco SPE con 5 mL de acetonitrilo y se espera 2 minutos. Luego se aspira el acetonitrilo en un tubo de concentración graduado. Este proceso de elución se repite 3 veces. De esta manera se obtiene un total de 15 mL de eluido en un tubo y es tratado como un extracto.

11.1.5 Ajuste de la composición del extracto: Utilizando una micro-pipeta se toma 0.5 mL del extracto (11.1.4, parte de los 15 mL) y 0.5 mL de agua destilada se vierten y se mezclan en un vial para HPLC (Nota 2). Esta alícuota es la disolución de la prueba y se inyecta para la medición en el HPLC.

Nota 2. Es importante mantener uniforme la composición de la disolución de la prueba y de la fase móvil del HPLC. En caso de que cada composición difiera extremadamente, el volumen de inyección de la disolución de la prueba tiene que ser reprimido contra el flujo de fase móvil (en general, menos de 5 µL). Si la composición está perfectamente uniforme, el volumen de inyección puede incrementarse ilimitadamente en el análisis gradiente del HPLC.

11.2 Derivatización directa en el vial. El diagrama de flujo para el método de la derivatización directa en vial se muestra en la Figura 2. Los detalles son los siguientes:

11.2.1 Muestreo y ajuste del pH: Se revisa el pH de la muestra, y si el pH no está dentro del rango de 5 a 9, debe ser ajustado en dicho rango utilizando 0.5 M de ácido clorhídrico o 0.5 M de hidróxido de sodio. Se toma 0.5 mL de la muestra con el pH ajustado en una micropipeta y se vierte en un vial de HPLC.

11.2.2 Derivatización; Se agrega 0.5 mL de la disolución DNPH (0.04 g/L) al vial de

la sección anterior. El vial se sella y se coloca en calentador a 40° C durante 1 hora. Los analitos se derivatizan en este proceso.

- 11.3 Análisis con HPLC. Los estándares de calibración y las alícuotas de las soluciones de la prueba se miden utilizando el HPLC. Las condiciones de medición del HPLC se muestran en la Tabla 2.

En el caso de que se utilice el HPLC sin el desgasificador en línea, desgasificar manualmente cada 4 horas. En caso de utilizar el HPLC sin la cámara termostática, mantener la temperatura ambiente estable con aire acondicionado.

- 11.4 Limpieza del HPLC. Después de las mediciones, bombear acetonitrilo en la columna durante 15 minutos.

12. Cálculos

- 12.1 Se identifica el analito con base en el tiempo de retención y se cuantifica comparando el área pico con la curva de calibración.

La manera de realizar el análisis de datos se basa en los métodos de regresión lineal y en procedimientos comunes.

- 12.2 Calcule la concentración de la(s) muestra(s) y/o las AREAS que registra el equipo. Realice las gráficas de la curva de calibración de cada uno de los analitos.

- 12.3 Calcule la concentración de la muestra por medio de la ecuación de la recta que se obtiene de las curvas de calibración para cada analito empleando la siguiente ecuación:

Ecuación:

$$Y = mX + b$$

Dónde:

Y es la absorbancia de la muestra ya procesada;

m es la pendiente

b es la ordenada al origen.

Despejando X se obtiene la concentración del analito en la muestra, se deben tomar en cuenta los factores de dilución que se realicen.

- 12.4 Conversión de derivados a analitos.

- 12.4.1 Los estándares de calibración consisten en derivados comerciales, por lo que la concentración de los derivados deberá convertirse a analitos.

- 12.4.2 Con respecto al formaldehído, el peso molecular del analito es 30 y el del derivado DNPH es 210. Por consiguiente, la concentración del formaldehído-DNPH corresponde a 7 veces (210:30) la del formaldehído libre.

- 12.4.3 Con respecto a acroleína, el peso molecular del analito es 56 y el del derivado DNPH es 236. Por consiguiente, la concentración de la acroleína-DNPH corresponde 4.214 veces (236:56) la de la acroleína libre.

- 12.4.4 Se deberá considerar lo anterior para el proceso analítico de datos. La descripción general se muestra como la Ecuación. La curva de calibración deberá determinarse basándose en la concentración de analitos libres, a pesar de que los estándares de calibración se preparan con derivados.

$$Canal = Cdrv \cdot MW / (MW + 180)$$

Dónde:

C_{anal} concentración del analito
 C_{drv} concentración del derivado de DNPH
 MW peso molecular del analito

- 12.4.5 Asimismo, la diferencia del peso molecular entre los analitos y los derivados de DNPH consistentemente es 180.

- 12.5 Reporte de resultados:

- 12.5.1 No se deben reportar concentraciones de elementos por debajo del límite de cuantificación. Reporte los resultados del análisis en mg/L. Si la muestra se diluyó multiplique los mg/L por el factor de dilución.

13. Manejo de residuos

Es la responsabilidad de cada laboratorio cumplir con todos los reglamentos federales, estatales y locales referentes al manejo de residuos, particularmente las reglas de identificación, almacenamiento y disposición de residuos peligrosos.

14. Bibliografía

METODO EPA 8315A: Agencia de Protección Ambiental, Oficina de investigación y Desarrollo, Cincinnati, Ohio.

EPA SERIES 3600, Agencia de Protección Ambiental, Oficina de investigación y Desarrollo, Cincinnati, Ohio.

EPA SERIES 3500 Agencia de Protección Ambiental, Oficina de investigación y Desarrollo, Cincinnati, Ohio.

EPA SERIES 5000, Agencia de Protección Ambiental, Oficina de investigación y Desarrollo, Cincinnati, Ohio.

EPA SERIES 8000 Agencia de Protección Ambiental, Oficina de investigación y Desarrollo, Cincinnati, Ohio.

15. Tablas y figuras

Tabla 1 Preparación de la muestra reactiva de aldehídos para la estandarización

Blanco reactivo	(0.5 mL de agua destilada) + (0.2 mL de DNPH [10 g/L]) + (0.3 acetonitrilo mL) → Derivatización (40°C, 60 min) → diluir 1500 veces con agua/acetonitrilo (50/50)
Reactivo de estandarización	(0.05 mL Formaldehído [1000 mg/L]) + (0.05 Acroleína mL [1000 mg/L]) + (0.4 mL de agua destilada) + (0.2 mL DNPH [10 g/L]) + (0.3 mL de acetonitrilo) → derivatización (40°C, 60 min) → diluir 1500 veces con agua/acetonitrilo (50/50)

Tabla 2 Condiciones para la medición con HPLC

Columna:	150 mmL x 4.1 mmID	
Temperatura de la columna:		Temperatura ambiente.
Tasa de flujo:		0.8 mL/min
Volumen de inyección:		100 µL
Longitud de onda del detector ultravioleta:		360 nm
Configuración de la bomba y de la fase móvil		
Tiempo (min)	Fase Móvil A (%)	Fase Móvil B (%)
0	45	55
17.5	10	90
18	45	55
26	45	55
Fase Móvil A : agua destilada Fase Móvil B: acetonitrilo		

Tabla 3. Resultados de las pruebas del LC Experimental y de Recuperación

Analito	Formaldehído	Acroleína
Opción de la preparación de muestras	Derivatización en viales	Extracción Fase Sólida
Blanco matriz -1 (mg/L)	0.0042	0.0053
Blanco matriz -2 (mg/L)	0.0068	0.0052
Promedio de Blanco matriz (mg/L)	0.0055	0.0052
Fortificada -1 (mg/L)	0.0722	0.0152
Fortificada -2 (mg/L)	0.0755	0.0179
Fortificada -3 (mg/L)	0.0668	0.0176
Fortificada -4 (mg/L)	0.0744	0.0161
Fortificada -5 (mg/L)	0.0732	0.0165
Fortificada -6 (mg/L)	0.0805	0.0116
Fortificada -7 (mg/L)	0.0751	–
Promedio de matriz fortificada (mg/L)	0.0740	0.0158
Diferencia entre “Fortificada” y “Blanco”	0.0685	0.0106
Concentración fortificada en muestra (mg/L)	0.0603	0.0106
Recuperación (%)	113.6	100.1
Desviación estándar de muestra (σ)	0.00411	0.00228
LC Experimental (10 x σ, mg/L)	0.042	0.023

Figura 1. Diagrama de Flujo para el Método de Extracción de Fase Sólida

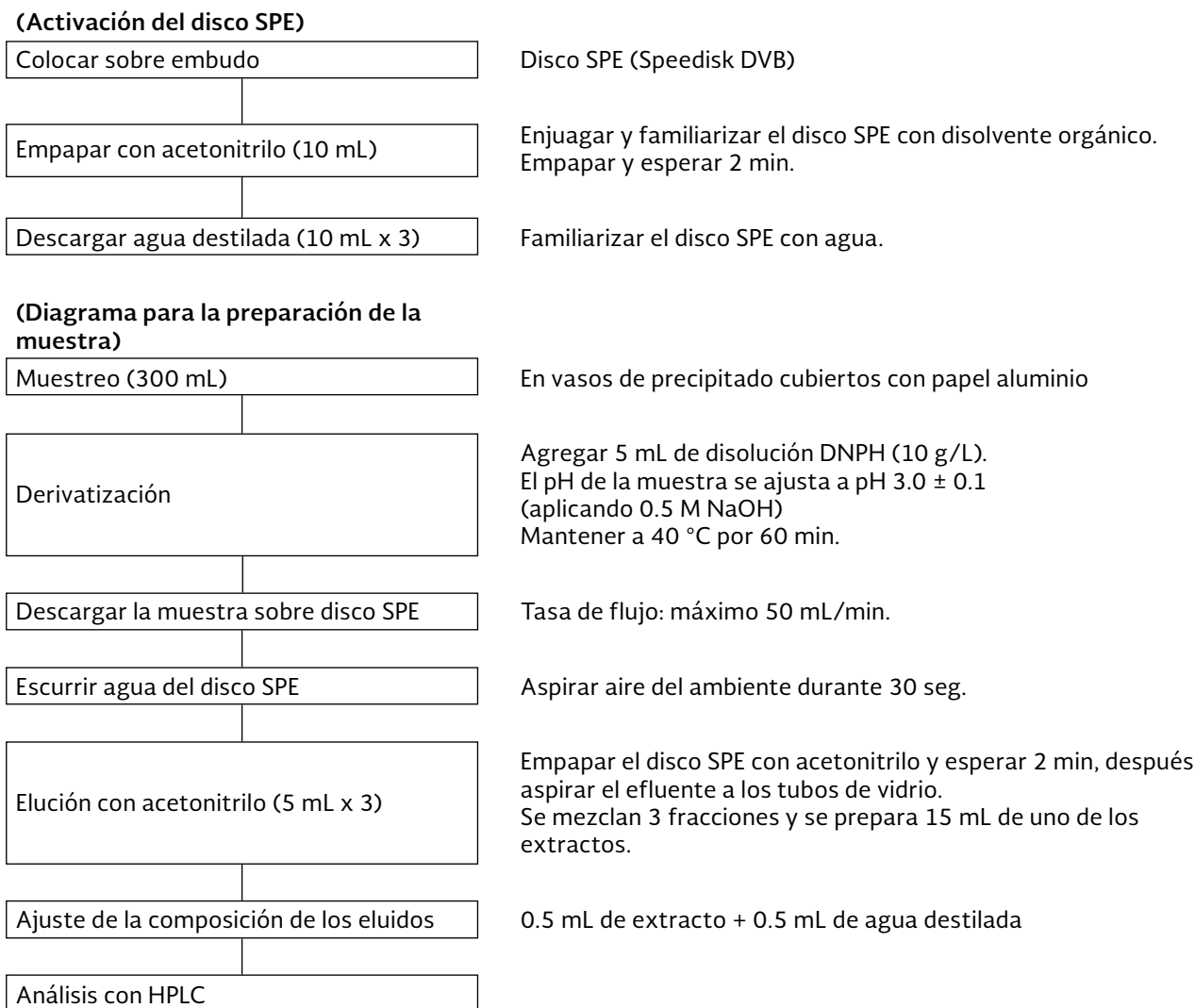
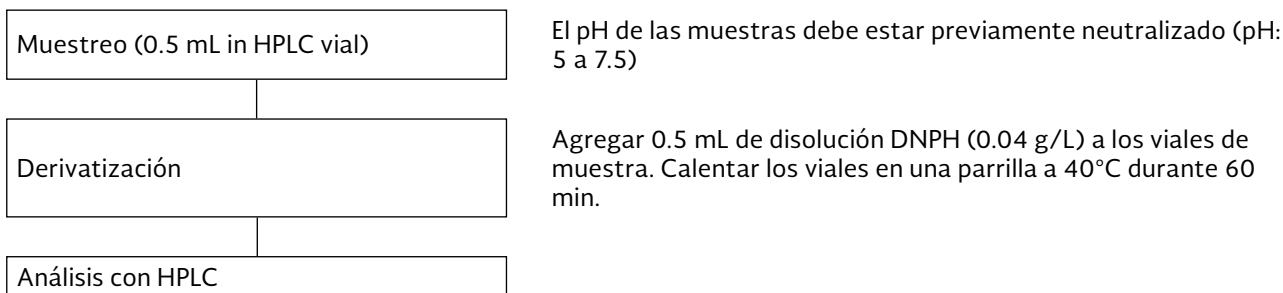


Figura 2 Diagrama de Flujo del Método para la Derivatización Directa en Viales



**Procedimiento operativo estandarizado para
la medición de mercurio en aguas de mar y
sedimentos marino- método de prueba
(Vapor Frío)**



Procedimiento operativo estandarizado para la medición de mercurio en aguas de mar y sedimentos marino- método de prueba (Vapor Frío)

Contenido

Introducción	2
1. Aplicación y alcances.....	2
2. Principio y resumen	2
3. Definiciones.....	2
4. Interferencias.....	3
5. Seguridad.....	3
6. Equipos y materiales	4
7. Reactivos y patrones/ estándares.....	4
8. Colección, preservación y almacenamiento de muestras.....	5
9. Control de calidad	5
10. Calibración.....	6
11. Procedimiento.	6
12. Cálculos	7
13. Manejo de residuos.....	7
14. Bibliografía.....	7
15. Tablas y figuras.....	8

Introducción

El mercurio es un metal que ocurre en forma natural en el ambiente y que tiene varias formas químicas. El mercurio metálico es un líquido inodoro, de color blanco-plateado brillante. Al calentarlo se transforma en un gas inodoro e incoloro.

El mercurio se combina con otros elementos, por ejemplo cloro, azufre u oxígeno para formar compuestos de mercurio inorgánicos o “sales,” las que son generalmente polvos o cristales blancos. El mercurio también se combina con carbono para formar compuestos de mercurio orgánicos. El más común, metilmercurio, es producido principalmente por organismos microscópicos en el suelo y en el agua. Mientras mayor es la cantidad de mercurio en el medio ambiente, mayor es la cantidad de metilmercurio que estos organismos producen. Un factor muy importante de los efectos del mercurio en el medio ambiente es su capacidad para acumularse en organismos y ascender por la cadena alimentaria.

La biomagnificación del mercurio es lo que más incide en los efectos para animales y seres humanos. Al parecer, los peces adhieren con fuerza el metilmercurio; casi el 100% del mercurio que se bioacumula en peces depredadores es metilmercurio. La mayor parte del metilmercurio en tejidos de peces forma enlaces covalentes con grupos sulfhidrido proteínico, con lo que la vida media de eliminación resulta larga (aproximadamente de dos años). Como consecuencia, se genera un enriquecimiento selectivo de metilmercurio (en comparación con el mercurio inorgánico) cuando se pasa de un nivel trófico al siguiente nivel trófico superior.

El mercurio metálico se usa en la producción de gas de cloro y soda cáustica y también se usa en termómetros, tapaduras dentales y pilas. Las sales de mercurio se usan en cremas para aclarar la piel y en cremas y ungüentos antisépticos.

En fuentes naturales de agua, los compuestos de mercurio se presentan solo en muy bajas concentraciones ($\mu\text{g/L}$). Altas concentraciones pueden presentarse, por ejemplo, en aguas residuales. El mercurio puede acumularse en los sedimentos y lodo. Compuestos orgánicos e inorgánicos pueden estar presentes.

1. Aplicación y alcances

Es absolutamente esencial que esta prueba sea conducida de conformidad con este documento y aplicada por personal calificado.

Propósito.- Este método puede ser aplicado para Para mediciones en los rangos bajos, reactivos de alta pureza, recipientes de reacción limpios, aire ambiente libre de mercurio y un sistema de medición estable son esenciales. Deberá ser investigado, ya sea que pudieran requerir condiciones especiales al margen de las especificadas.

- 1.1 Analitos.-Mercurio
- 1.2 Matrices – Las matrices para las cuales ha sido probado este método son: agua y sedimento salino.
- 1.3 Restricciones.-Este método está restringido para ser utilizado por analistas experimentados en el uso de sistemas de absorción atómica con experiencia en la interpretación de espectros, manejo de técnicas estadísticas y de cuantificación.
- 1.4 Normatividad.- Criterios de Calidad del Agua, para protección a la vida acuática en aguas costeras y estuarios es 0.00005 mg/L

2. Principio y resumen

- 2.1 Principio: El método para la determinación de mercurio por espectrofotometría de absorción atómica en aguas naturales, potables y residuales se basa en la generación de átomos en estado basal y en la medición de la cantidad de energía absorbida por estos, la cual es directamente proporcional a la concentración de ese elemento en la muestra analizada.
- 2.2 Resumen: La muestra se homogeniza, se acidifica y digiere, se filtra y afora y se lee en el Espectrofotómetro de absorción atómica.

3. Definiciones

- 3.1 Aguas naturales - Se define como agua natural el agua cruda, subterránea, de lluvia, de tormenta, residual y superficial.
- 3.2 Aguas residuales - Las aguas de composición variada provenientes de las descargas de usos municipales, industriales, comerciales, agrícolas, pecuarias, domésticos y similares, así como la mezcla de ellas.

3.3 Blanco analítico o de reactivos - Agua reactivo o matriz equivalente que no contiene, por adición deliberada, la presencia de ningún analito o sustancia por determinar, pero que contiene los mismos disolventes, reactivos y se somete al mismo procedimiento analítico que la muestra problema.

3.4 Calibración - Conjunto de operaciones que establecen, bajo condiciones específicas, la relación entre los valores de una magnitud indicados por un instrumento o sistema de medición, o los valores representados por una medida materializada y los valores correspondientes de la magnitud, realizados por los patrones, efectuando una corrección del instrumento de medición para llevarlo a las condiciones iniciales de funcionamiento.

3.5 Desviación estándar experimental - Para una serie de n mediciones del mismo mensurando, es la magnitud s que caracteriza la dispersión de los resultados, dado por la siguiente fórmula:

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}}$$

en donde:

x_i es el resultado de la i-ésima medición
 $\bar{x}$ es la media aritmética de los n resultados considerados.

3.6 Medición - Conjunto de operaciones que tiene por objeto determinar el valor de una magnitud.

3.7 Precisión - Es el grado de concordancia entre resultados analíticos individuales cuando el procedimiento analítico se aplica repetidamente a diferentes alícuotas o porciones de una muestra homogénea. Usualmente se expresa en términos del intervalo de confianza o incertidumbre.

$$x = \bar{x} \pm t_{\alpha/2} \frac{S}{\sqrt{n}}$$

Donde:

$\bar{x}$ es la media calculada a partir de un mínimo de tres mediciones independientes;

$t_{\alpha/2}$ es el valor de la t de Student para un nivel de significancia del 95%;
 S es la desviación estándar de la muestra;
 n es el número de réplicas, y
 x es el resultado que incluye el intervalo de confianza.

3.8 Verificación de la calibración - Una verificación periódica de que no han cambiado las condiciones del instrumento en una forma significativa.

4. Interferencias

4.1 Se adiciona permanganato de potasio para eliminar posibles interferencias por el sulfuro. Las concentraciones tan altas como 20 mg/L de sulfuro como sulfuro de sodio no interfieren con la recuperación del mercurio inorgánico adicionado al agua reactiva.

4.2 También se ha reportado el cobre como interferente; sin embargo, las concentraciones de cobre tan altas como 10 mg/L no afectan la recuperación del mercurio de las muestras adicionadas.

4.3 Las aguas marinas, salobres y efluentes industriales altos en cloruros requieren permanganato adicional (como 25 mL) porque durante el paso de oxidación, los cloruros son convertidos a cloro libre, el cual absorbe radiación de 253.7 nm. Considerar esto y asegurarse de que el cloro libre esté ausente antes que el mercurio se reduzca y se recolecte en la celda. Esto se puede complementar usando un exceso de reactivo de sulfato de hidroxilamina (25 mL).

3.4 Ciertos materiales orgánicos volátiles que absorben a esta longitud de onda y que pueden causar interferencia. Una corrida preliminar sin reactivos puede determinar este tipo de interferencia, si es que está presente.

5. Seguridad

Este método puede no mencionar todas las precauciones de seguridad asociadas con su uso. El laboratorio es responsable de mantener un ambiente de trabajo seguro y un archivo de las normas de seguridad respecto a la exposición y manejo seguro de las sustancias químicas especificadas en este método.

6. Equipos y materiales

Todos los materiales volumétricos que se utilizan en este método deben ser de clase “A” o la calibración deberá ser verificada.

6.1 Equipos

Los siguientes equipos y materiales son necesarios para el uso de este método.

- 6.1.1 Espectrofotómetro de Absorción Atómica o equivalente; cualquier unidad de Absorción Atómica con un área de presentación de muestra abierta en donde la boca de la celda de absorción está disponible. Se recomienda que la colocación del instrumento se diseñe específicamente para la medición del mercurio usando la técnica del vapor frío que está disponible comercialmente y puede ser sustituida por el espectrofotómetro de absorción atómica.
- 6.1.2 Lámpara de cátodo hueco para mercurio o lámpara de descarga de electrones.
- 6.1.3 Registro: Será muy útil cualquier registrador multiintervalo con velocidad variable que sea compatible con el sistema de detección UV.
- 6.1.4 Celda de absorción: Se puede usar una celda estándar de espectrofotómetro de 10 cm de longitud con ventanas de cuarzo en el extremo. Las celdas útiles deben estar construidas con tubos de plexiglás, 1 pulg. O. D. X 4.5 pulg. Los extremos deben ser profundos y perpendiculares al eje longitudinal y una ventana de cuarzo (1 pulg. de diámetro x 1/16 pulg. de grosor que deben estar fijos en un sitio. La celda es sin fondo en un quemador para apoyar y alinear un haz de luz por el uso de dos tarjetas de 2 pulg. x 2 pulg.. Un hueco de 1 pulg. debe existir a la mitad de cada tarjeta. Las tarjetas se colocan en cada extremo de la celda. La celda es entonces posicionada y ajustada verticalmente y horizontalmente para lograr la máxima absorbancia.
- 6.1.5 Bomba de aire: Se usa cualquier bomba peristáltica capaz de transferir hasta 1 L de aire/min. Se encuentra que es satisfactoria una bomba Masterflex con control electrónico de velocidad.
- 6.1.6 Flujómetro: Capaz de medir un flujo de aire de 1 litro/minuto.
- 6.1.7 Tubo de aireación: Una base recta de vidrio con porosidad gruesa (piedra porosa). Se usa un tubo de tygon para el paso del vapor de mercurio de la botella de la muestra la celda de absorción y su regreso.
- 6.1.8 Tubo de secado: tubo de 6 pulg. X $\frac{3}{4}$ pulg. de diámetro conteniendo 20 g de perclorato de magnesio o una pequeña lámpara de lectura con un bulbo de 60 W, se pueden usar para prevenir la condensación de la humedad en el interior de la celda. La lámpara debe ser colocada para iluminar la celda de absorción así que la temperatura del aire en la celda sea alrededor de 10°C por arriba de la del ambiente.
- 6.1.9 El generador de vapor frío se arma de acuerdo a las instrucciones del fabricante. Debido a que el vapor de mercurio es tóxico, se deben tomar precauciones para evitar la inhalación.
- 6.1.10 Placa caliente o equivalente. Ajustable y capaz de mantener la temperatura de 90-95°C.

6.2 Materiales.

- 6.2.1 Probeta graduada de 100 mL o equivalente.
- 6.2.2 Cronómetro: con conteo de segundos.
- 6.2.3 Pipeta volumétrica: de vidrio, 0.5, 1, 2, 3, 4, 5 y 10 mL
- 6.2.4 Matraz volumétrico: de vidrio, volumen de 100 mL.
- 6.2.5 Tubos para automuestreador de 15 y 50 mL.

7. Reactivos y patrones/estándares

Los reactivos que requiere el método deben ser grado reactivo y deben cumplir con las especificaciones del *Committee on Analytical Reagents of the American Chemical Society ACS* a menos que otra cosa se indique.

- 7.1 Agua reactiva: Agua reactiva libre de interferencias. Agua grado reactivo tipo I ASTM.
- 7.2 Ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4): Grado reactivo
- 7.3 Ácido sulfúrico 0.5N: Diluir 14.0 mL de ácido sulfúrico concentrado en 1.0 L

- 7.4 Ácido nítrico concentrado (HNO_3): Grado reactivo de bajo contenido de mercurio. Obtener un blanco de reactivo alto. Es necesario destilar el ácido nítrico.
- 7.5 Sulfato estañoso: Adicional 25 g de sulfato estano a 250 mL de H_2SO_4 0.5 N. Esta mezcla es una suspensión y debe ser agitada continuamente durante su uso. (Se puede usar cloruro estañoso en lugar del sulfato estañoso o bien Borihidruro de sodio al 0.2 % con 0.05% de NaOH).
- 7.6 Disolución de sulfato de sodio cloruro-hidroxilamina: Disolver 12 g de cloruro de sodio y 12 g de sulfato de hidroxilamina en agua reactiva y diluir a 100 mL. (Puede ser usado el hidrocloreuro de hidroxilamina en lugar del sulfato de hidroxilamina).
- 7.7 Permanganato de Potasio, libre de mercurio, solución al 5% (p/v): Disolver 5 g de permanganato de potasio en 100 mL de agua reactiva.
- 7.8 Persulfato de potasio, solución 5% (p/v). Disolver 5 g de persulfato de potasio en 100 mL de agua reactiva.
- 7.9 Disolución de Ácido Clorhídrico (HCl) concentrado.
- 7.10 Disolución de HCl al 5% v/v.
- 7.11 Disolución madre de mercurio: Disolver 0.1354 g de cloruro de mercurio en 75 mL de agua reactiva. Adicionar 10 mL de HNO_3 concentrado y ajustar el volumen a 100.0 mL (1 mL = 1 mg Hg). Se pueden comprar las disoluciones madre de 1000 mg/L u otra concentración.
- 7.12 Estándar de trabajo de mercurio. Hacer diluciones sucesivas de la disolución madre de mercurio para obtener un estándar de trabajo que contenga 0.1 μg por mL (0.1 mg/L). Este estándar de trabajo y las diluciones de la solución madre de mercurio deben ser preparaciones frescas diarias. La acidez del estándar de trabajo debe ser mantenida en ácido nítrico 0.15%. Este ácido debe ser adicionado al matraz, cuando sea necesario, antes de la adición de la alícuota.
- 7.13 Estándar de Calibración: Se preparan las disoluciones estándar a 5 diferentes niveles de concentración dentro del rango de

0.001, 0.002, 0.003, 0.004 y 0.005 mg/L. Utilizando un matraz volumétrico de 100 mL se diluye de 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, y 5.0 mL del estándar de trabajo (7.12) agregando 5 mL de HCl concentrado (7.9), agua reactiva (7.1) y 2 gotas de permanganato de potasio 5% (7.8).

8. Colección, preservación y almacenamiento de muestras

- 8.1 Todas las muestras deben ser recolectadas usando un plan de muestreo.
- 8.2 Todos los contenedores de las muestras deben ser prelavados con detergentes, ácidos y agua reactiva. Son útiles los contenedores de plástico y vidrio.
- 8.3 Las muestras acuosas deben ser acidificadas a un $\text{pH} < 2$ con HNO_3 . El tiempo máximo para el mercurio es de 28 días.
- 8.4 Las muestras no acuosas deben ser refrigeradas, cuando sea posible y analizadas tan pronto sea posible.

9. Control de calidad

Control de calidad en las mediciones de rutina. Los siguientes puntos deberán validarse en cada uno de los lotes de mediciones.

- 9.1 Curva de calibración: Analizar cada uno de los estándares de calibración y obtener la curva de calibración con base en la regresión del área pico correspondiente a la concentración.
- 9.2 Blanco de reactivo: Se miden 100 mL de agua destilada como blanco de reactivo. Se prepara de la misma manera y simultáneamente que las muestras. El resultado del blanco de reactivo deberá sustraerse de los resultados de las muestras, debido a que puede ocurrir una interferencia de bajo nivel en este método. La interferencia pudiera ser debido a lo descrito en el capítulo 4.0
- 9.3 Blanco fortificado: Se fortifica 0.002 mg/L de Mercurio en 100 mL de agua destilada como blanco fortificado. Se prepara de la misma manera y simultáneamente que las muestras. Sus-

traer el blanco reactivo del blanco fortificado y reportar la diferencia como la recuperación. Si la recuperación varía de $100 \pm 20\%$ (Nota 1), todas las muestras deberán volverse a preparar.

Nota 1. Tentativamente se propuso el umbral de la recuperación. En un futuro, deberá establecerse apropiadamente basándose en los datos acumulados.

- 9.4 Recuperaciones de Fortificados. En caso de usar muestras fortificadas, el laboratorio debe evaluar los datos de recuperación del fortificado a partir de muestras individuales versus los límites de control del fortificado desarrollados por el laboratorio.
- 9.5 Se recomienda que el laboratorio adopte prácticas de garantía de calidad adicionales para usarse con este método. Las prácticas específicas que son más productivas dependen de las necesidades del laboratorio y la naturaleza de las muestras. Cuando sea posible, el laboratorio debe analizar estándares de materiales de referencia y participar en estudios de evaluación de resultados relevantes.

10. Calibración

La calibración y la validación se realizan rutinariamente en cada lote del análisis como sigue:

- 10.1 Poner en marcha los sistemas de inyección de flujo (FIAS) o sistema utilizado y la validación. Prender los sistemas AA –FIAS y medir que el flujo de ácido y reactivo reductor estén en los volúmenes deseados 2 a 1 es decir 2 volúmenes de ácido por 1 de borohidruro de sodio o sulfato estañoso.
- 10.2 Verificar la masa característica del Hg a $10\mu\text{g/L}$ que esta es la indicada en cada equipo $\pm 20\%$. Si esta está dentro del valor esperado se puede seguir con la curva de calibración y las muestras.
- 10.3 Calibración: Analizar cada estándar de calibración, obtener la curva de calibración con base en la regresión del área pico que corresponde a la concentración y calcular el factor de respuesta (RF, Response Factor o pendiente de la curva de calibración) y el Límite de Cuantificación Instrumental (LC Instrumental) a través de los Métodos de Mínimos cuadrados o regresión lineal.

11. Procedimiento

- 11.1 Preparación de la muestra (ver diagrama de flujo): Transferir 100 mL o una alícuota diluida a 100 mL conteniendo < 1.0 g de mercurio, a 300 mL en un matraz erlenmeyer o equivalente. Adicionar 2.5 mL de HNO_3 concentrado, mezclando después de cada adición. Adicionar 10 mL o más de permanganato de potasio en solución a cada botella con muestra agitar y el color debe permanecer por 15 min. Los desechos de las muestras pueden requerir permanganato adicional.

Asegurarse que se adicionan las mismas cantidades de permanganato a los estándares y blancos. Sacudir y adicionar partes de la solución de permanganato de potasio, si es necesario, hasta que el color púrpura persista por al menos 15 minutos. Adicionar 8 mL de persulfato de potasio o clorhidrato de hidroxilamina a cada botella y calentar por 2 horas en baño de agua mantenido a 95°C o en autoclave a 121°C por 60 min. Enfriar y adicionar 6 mL de cloruro de sodio- Cloruro de hidroxilamina para reducir el exceso de permanganato.

- 11.2 Preparación del estándar: Transferir 0-, 0.5-, 1.0-, 2.0-, 3.0, 4.0 y 5.0- mL alícuotas de mercurio del estándar de trabajo, conteniendo 0-5.0 $\mu\text{g/L}$ de mercurio, a una serie de matraces volumétricos de 100 mL. Adicionar agua reactiva a la mitad de cada matraz y 5 mL de HCl concentrado, agitar y agregar unas gotas de KMnO_4 agitar y agregar agua reactiva para hacer un volumen total de 100 mL, inmediatamente poner la botella en el aparato de aireación (o en FIAS) y continuar como se describe en el párrafo 7.3.

- 11.3 Análisis: En este punto la muestra se permite que esté calmadamente recta sin agitación manual. La bomba de recirculación, que ha sido previamente ajustada a una velocidad de 4-6 mL/min del borohidruro de sodio y de 8-11 mL/min de HCl 5%, se permite que corra continuamente. La absorbancia puede incrementarse y alcanzar un máximo en 20 segundos. Tan pronto como las plumas del registro de niveles se apaguen (ajustado al desarrollar el método), abrir la válvula del bypass y continuar la aireación hasta que la absorbancia regrese a su valor mínimo. Cerrar la válvula del bypass, retirar el tapón y la frita (frit) de la botella de DBO y continuar la aireación. Para la variación del instrumento, acudir a lo reco-

mendado por los fabricantes para las condiciones de operación cuando se use este método. En este proceso se pueden usar los sistemas automatizados especiales para este método (flujo de inyección automatizado).

- 11.4 **Análisis con Sistema Automatizado (FIAS).** Los estándares de calibración y las alícuotas de las disoluciones de la prueba se miden utilizando el Flujo por Inyección automatizada y el equipo de Absorción Atómica con la canastilla de calentamiento para la celda de cuarzo.

12. Cálculos

Se identifica el analito con base a la respuesta en absorbancia y se cuantifica comparando el área pico con la curva de calibración. La manera de realizar el análisis de datos se basa en los métodos de regresión lineal y en procedimientos comunes.

- 12.1 Construir una curva de calibración graficando las absorbancias de los estándares contra microgramos de mercurio por litro. Determinar el pico alto desconocido de la gráfica y leer el valor del mercurio de la curva estándar. Los duplicados, muestras adicionadas y estándares de verificación deben ser analizados rutinariamente.
- 12.2 Calcular la concentración de metales (1) por el método de adiciones de estándar, o (2) de la curva de calibración. Todas las diluciones de los factores de concentración deben ser tomadas en cuenta. Las concentraciones reportadas por muestras húmedas deben ser apropiadamente calificadas (p. ej. 5 µg/g peso seco).

Emplear la siguiente ecuación:

$$Y = mX + b$$

Dónde:

Y es la absorbancia de la muestra ya procesada;
m es la pendiente
b es la ordenada al origen.

Despejando X se obtiene la concentración del metal en la muestra, se deben tomar en cuenta los factores de dilución que se realicen. Si se trabaja con el método de adición de estándares, obtenga la gráfica, el coeficiente de correlación y el valor de la muestra sin añadir.

- 12.3 Reporte de resultados:

- 12.3.1 No se deben reportar concentraciones de elementos por debajo del límite de
12.3.2 Reporte los resultados del análisis en mg/L.
12.3.3 Si la muestra se diluyó multiplique los mg/L por el factor de dilución

13. Manejo de residuos

Es la responsabilidad del laboratorio cumplir con todos los reglamentos federales, estatales y locales referentes al manejo de residuos, particularmente las reglas de identificación, almacenamiento y disposición de residuos peligrosos.

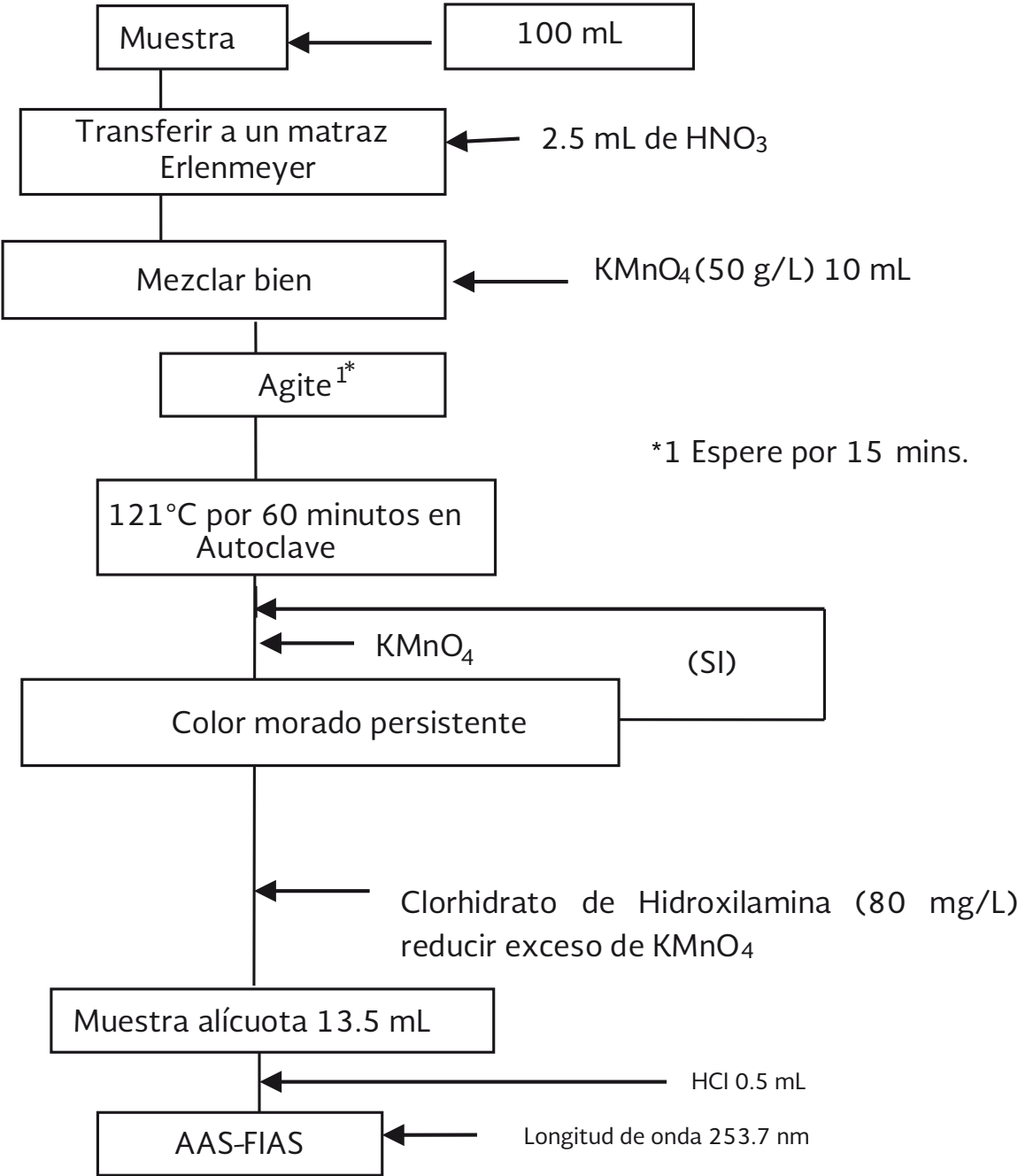
14. Bibliografía

Methods for Chemical Analysis of Water and Wastes.
EPA-600/4-82-055. December 1982. Method 245.1.

ISO 5666 1999 1er edición.

15. Tablas y figuras

Figura 1: Diagrama de Flujo del Proceso para la Preparación de la Muestra para Hg.



**Metales en sedimentos de aguas naturales,
residuales, residuales tratadas y salinas por
espectroscopia de emisión óptica de plasma
acoplado inductivamente (ICP-OES)**



Metales en sedimentos de aguas naturales, residuales, residuales tratadas y salinas por espectroscopia de emisión óptica de plasma acoplado inductivamente (ICP-OES)

Contenido

Introducción	2
1. Aplicación y alcances	2
2. Principio y resumen	2
3. Definiciones	3
4. Interferencias	4
5. Seguridad	6
6. Equipos y materiales	6
7. Reactivos y patrones/estándares	7
8. Recolección, preservación y almacenamiento de muestras	8
9. Control de calidad	8
10. Calibración	9
11. Procedimiento	9
12. Cálculos	10
13. Manejo de residuos	10
14. Bibliografía	10
15. Tablas y figuras	11

Introducción

Proteger la calidad del agua y sedimento marinos es una parte importante de la restauración y el mantenimiento de la integridad biológica de las aguas de nuestra nación, así como la protección de la vida acuática, la fauna y la salud humana. El sedimento es un componente integral de los ecosistemas acuáticos, proporcionando hábitat, alimentación, desove y áreas de cría para muchos organismos acuáticos.

Los sedimentos también sirven como un depósito para contaminantes y por lo tanto una fuente potencial de contaminantes a la columna de agua, organismos, y en última instancia, los consumidores humanos de esos organismos. Estos contaminantes pueden provenir de diversas fuentes, incluidas las descargas municipales e industriales, escorrentía urbana y agrícola, la deposición atmosférica y las operaciones portuarias.

1. Aplicación y alcances

1.1 Propósito: Método para la medición de los elementos disueltos y los elementos vinculados a partículas del contenido total de elementos en diferentes tipos de sedimentos como sedimentos de aguas naturales, residuales, residuales tratadas y salinas.

1.2 Analitos: Los elementos para los cuales es aplicable este método son: Aluminio, Antimonio, Arsénico, Bario, Berilio, Boro, Cadmio, Calcio, Cromo, Cobalto, Cobre, Hierro, Plomo, Magnesio, Manganeseo, Mercurio, Molibdeno, Níquel, Potasio, Selenio, Plata, Sodio, Estroncio, Talio, Vanadio y Zinc.

Los límites de detección, sensibilidad e intervalos óptimos de trabajo de los metales antes mencionados, varían dependiendo de la matriz y el equipo utilizado.

Las longitudes de onda recomendadas, los límites de cuantificación (XLQ) y las interferencias espectrales más importantes son mostradas en la Tabla 1, sin embargo, pueden ser tomadas de las recomendaciones del proveedor y utilizar la línea con menores interferencias.

NOTA: Debido a las diferencias entre los distintos modelos de instrumentos, el analista deberá referirse a las instrucciones proporcionadas por el fabricante del mismo.

1.3 Matrices: Las matrices a las cuales puede aplicarse este método son sedimentos de agua

natural, potable, residual, residual tratada y salina.

1.4 Restricciones: Este método está diseñado para ser supervisado y utilizado por Químicos analistas experimentados en la operación del equipo de espectroscopia de emisión óptica de plasma acoplado inductivamente (ICP-OES).

2. Principio y resumen

2.1 Principio: La base del método es la medición de la emisión de luz por la técnica de espectroscopia óptica. La muestra es nebulizada y el aerosol que se produce se transporta a la antorcha de plasma donde ocurre excitación a emisión característica de los espectros son producidos por un emisor de radio-frecuencia de plasma acoplado inductivo (ICP).

Los espectros son dispersados por una rejilla del espectrómetro y las intensidades de las líneas son captadas por un detector. Las señales del detector(es) son tratadas y controladas por un sistema computarizado. Una adecuada técnica de corrección de fondo se utiliza para compensar la variable de las contribuciones a la línea base determinada de los elementos traza.

2.2 Resumen: Para digestión de la muestra en horno de microondas – Se toman 0.5000g de muestra representativa, se transfieren a un vaso reactor, se añaden 3 mL de ácido nítrico suprapuro y 1 mL de ácido clorhídrico suprapuro; la muestra se introduce al horno de microondas y se digiere. Bajo un programa de temperaturas preestablecido, la muestra se filtra y se lleva a un volumen de 50 mL con agua destilada.

Para digestión de la muestra en placa de calentamiento – Se toman 0.5000g de muestra, se transfieren a un vaso de precipitados de 600mL y se acidifica con 10 mL de ácido clorhídrico (1:1), se cubre la boca del vaso con un vidrio de reloj, la muestra se trata a una temperatura de 95° C, en un período de 10 minutos, se agregan 5 mL de H₂SO₄ (1:1) se deja enfriar y después se añaden 5 mL de HNO₃ suprapuro, se calienta hasta 5 mL por 2 horas, nuevamente se deja enfriar y se agregan 2 mL de agua desionizada y 3 mL de H₂O₂ al 30%, posteriormente se calienta durante 10 minutos de 90-95°C hasta 5 mL, se deja enfriar y se ajusta el volumen a 100mL para filtrar. La

muestra digerida es filtrada, el filtrado es aspirado y atomizado en la cámara de nebulización y los resultados obtenidos son impresos y analizados

3. Definiciones

Las definiciones presentadas en esta sección no son específicas para este método pero han sido conformadas para que sean en lo posible de uso común.

- 3.1 Aguas naturales: Agua cruda, subterránea, de lluvia, de tormenta, de tormenta residual y superficial.
- 3.2 Aguas potables: Aquella que no contiene contaminantes objetables ya sean químicos o agentes infecciosos y que no causa efectos nocivos al ser humano.
- 3.3 Análisis de blanco analítico: Es el someter una alícuota de agua reactiva a todo el proceso de análisis por el cual pasa una muestra real. Los laboratorios deben realizar los análisis de blancos para corregir la señal de fondo del sistema de medición. El análisis de blancos se debe realizar con cada lote de muestras.
- 3.4 Aguas residuales: Las aguas de composición variada provenientes de las descargas de usos municipales, industriales, comerciales, agrícolas, pecuarias, domésticos y similares, así como la mezcla de ellas.
- 3.5 Bitácora: Cuaderno de laboratorio debidamente foliado e identificado, en el cual los analistas anotan todos los datos de los procedimientos que siguen en el análisis de una muestra, así como todas las informaciones pertinentes y relevantes a su trabajo en el laboratorio. Es a partir de dichas bitácoras que los inspectores pueden reconstruir el proceso de análisis de una muestra tiempo después de que se llevó a cabo.
- 3.6 Blanco: Agua reactivo o matriz equivalente a la que no se le aplica ninguna parte del procedimiento analítico y sirve para evaluar la señal de fondo.
- 3.7 Blanco analítico o de reactivos: Agua reactivo o matriz equivalente que no contiene, por adición deliberada, la presencia de ningún analito o sustancia por determinar, pero que contiene los mismos disolventes, reactivos y se somete al mismo procedimiento analítico que la muestra problema.
- 3.8 Calibración: Conjunto de operaciones que establecen, bajo condiciones específicas, la relación entre los valores de una magnitud indicados por un instrumento o sistema de medición, o los valores representados por una medida materializada y los valores correspondientes de la magnitud, realizados por los patrones, efectuando una corrección del instrumento de medición para llevarlo a las condiciones iniciales de funcionamiento.
- 3.9 Disolución madre: Corresponde a la disolución de máxima concentración en un análisis. Es a partir de esta disolución que se prepara la disolución de trabajo.
- 3.10 Disolución patrón: Disolución de concentración conocida preparada a partir de un patrón primario.
- 3.11 Exactitud: Proximidad de concordancia entre el resultado de una medición y un valor verdadero del mesurado.
- 3.12 Límite de cuantificación del método (LCM): Es la menor concentración de un analito o sustancia en una muestra que puede ser cuantificada con precisión y exactitud aceptables bajo las condiciones en el que se lleva a cabo el método.
- 3.13 Límite de detección del método (LDM): Es la mínima concentración de un analito o sustancia en una muestra, la cual puede ser detectada pero no necesariamente cuantificada bajo las condiciones en el que se lleva a cabo el método.
- 3.14 Límite Máximo Permisible: Valor o intervalo asignado a un parámetro, el cual no debe ser excedido en la descarga de aguas residuales.
- 3.15 Material de referencia: Material o sustancia en el cual uno o más valores de sus propiedades son suficientemente homogéneas y bien definidas, para ser utilizadas para la calibración de aparatos, la evaluación de un método de medición o para asignar valores a los materiales.
- 3.16 Material de referencia certificado: Material de referencia, acompañado de un certificado, en el cual uno o más valores de las propiedades están certificados por un procedimiento que establece la trazabilidad a una realización exacta de la unidad en la cual se expresa los

valores de la propiedad, y en el que cada valor certificado se acompaña de una incertidumbre con un nivel declarado de confianza.

- 3.17 Metales disueltos: Aquellos metales en disolución o en estado coloidal que pasan a través de un filtro de poro de 0.45 μm .
- 3.18 Metales suspendidos: Aquellos metales en estado suspendido los cuales son retenidos en un filtro de poro de 0.45 μm .
- 3.19 Metales totales: Es la suma de la concentración de metales de ambas fracciones (metales disueltos + metales suspendidos) o es el resultado de la digestión de la muestra.
- 3.20 Muestra compuesta: La que resulta de mezclar un número de muestras simples. Para conformar la muestra compuesta, el volumen de cada una de las muestras simples deberá ser proporcional al caudal de la descarga en el momento de su toma.
- 3.21 Muestra simple: La que se tome en el punto de descarga, de manera continua, en día normal de operación que refleje cuantitativa y cualitativamente él o los procesos más representativos de las actividades que generan la descarga, durante el tiempo necesario para completar cuando menos, un volumen suficiente para que se lleven a cabo los análisis necesarios para conocer su composición, aforando el caudal descargado en el sitio y en el momento de muestreo.
- 3.22 Patrón (de medición): Material de referencia, instrumento de medición, medida materializada o sistema de medición destinado a definir, realizar, conservar o reproducir una unidad o uno o más valores de una magnitud para utilizarse como referencia.
- 3.23 Patrón de referencia: Patrón, en general de la más alta calidad metrológica disponible en un lugar dado, o en una organización determinada de la cual se derivan las mediciones realizadas en dicho lugar.
- 3.24 Sedimentos. Los sedimentos son arena, arcilla, limo y otras partículas sueltas del suelo que se depositan en el fondo de una masa de agua. Pueden provenir de la erosión del suelo o de la descomposición de plantas y animales. El viento el agua y el hielo pueden transportar estas partículas hasta los ríos, lagos y arroyos.

3.25 Suelo: Material no consolidado compuesto por partículas inorgánicas, materia orgánica, agua, aire y organismos, que comprende desde la capa superior de la superficie terrestre hasta diferentes niveles de profundidad.

3.26 Suelo contaminado: Aquél en el que se encuentren presentes uno o mas materiales o residuos peligrosos y que puede constituir un riesgo para el ambiente y la salud;

3.27 Trazabilidad: Propiedad del resultado de una medición o del valor de un patrón por la cual pueda ser relacionado a referencias determinadas, generalmente patrones nacionales o internacionales, por medio de una cadena ininterrumpida de comparaciones teniendo todas las incertidumbres determinadas.

3.28 Verificación de la calibración: Verificación periódica de que no han cambiado las condiciones del instrumento en una forma significativa.

4. Interferencias

Generalidades: Varios tipos de efectos de interferencia pueden contribuir a errores en la medición y determinación de los elementos, son también denominados efectos de matriz. Con el fin de evitar interferencias, cada vez que se encuentra una nueva matriz de muestra, el método en uso debería revisarse cuidadosamente si es conveniente para este tipo de muestra o un nuevo método debe ser desarrollado. Se deberán realizar las mediciones con materiales de referencia. Además la comparación de las pruebas puede ser realizada con otras técnicas analíticas como la espectrometría de absorción atómica o ICP-MS.

4.1. Interferencias espectrales: Estos tipos de interferencias son causadas por la luz de otros elementos presentes en la matriz. El error es aditivo. Normalmente, producen un error que causa alta lectura. En el caso de las influencias de fondo, las lecturas pueden ser bajas.

4.2 Superposición espectral: Superposición de una línea espectral de otro elemento. Durante el desarrollo de métodos, el objetivo es evitar la superposición de la línea a elegir una alterna. Si esto no es posible, estos efectos pueden ser compensados mediante la utilización de la corrección por computadora de datos.

- 4.3 Superposición sin resolver de espectros de banda molecular: Si es posible, una línea sin interferencia debe elegirse. Si esto no es posible, estos efectos pueden ser compensados por la utilización de equipo de corrección de los datos primarios.
- 4.4 Influencias de fondo: Donde se incluye a) La contribución del fondo para fenómenos continuos o combinados, b) la contribución del fondo a partir de la luz generada por la línea de emisión de los elementos de alta concentración. El efecto de las interferencias de fondo puede ser compensado por la corrección de fondo adyacente a la línea del Analito.
- 4.5 Detección de interferencias espectrales: Si los cambios en la forma del pico, en comparación con la forma de los picos generados por una disolución unielemental son considerables, entonces puede referirse a una interferencia espectral. Los cambios de fondo son mejor identificadas por superposición de los espectros de blancos, estándares y muestras. Asimismo, la comparación de los resultados de un determinado elemento de medida en las diferentes líneas se indica interferencias espectrales.
- 4.6 Interferencias no espectrales: Interferencias físicas Estas son generalmente consideradas como los efectos asociados con la nebulización de la muestra y otros procesos del transporte de la muestra del contenedor de muestras hacia el plasma.
Son causados por el cambio en la viscosidad, densidad y/o la tensión superficial. Que pueden resultar en errores significantes especialmente en las muestras que contienen altas concentraciones de sólidos disueltos y/o concentraciones de ácido.
Estos tipos de interferencia se puede reducirse mediante el ajuste de matriz (si las concentraciones de los analitos son lo suficientemente altas (diluir la muestra puede ser la mejor forma), el uso de un patrón ó estándar interno (siempre que no existan interferencias por excitación) o en el uso adiciones estándar.
- 4.7 Interferencias de excitación: Dependiendo de la relación de la temperatura de la sala (en operación) y la temperatura del plasma, el cambio de la temperatura del plasma debido a la introducción de la muestra puede provocar un aumento o disminución de la señal. En adición, elementos que fácilmente liberan electrones pueden cambiar la densidad de electrones en el plasma, que puede influir en la distribución entre las transiciones atómicas e iónicas. Metales alcalinos (Li, K, Na) son altamente susceptibles a interferencias de excitación, sobre todo en visión axial.
- 4.8 Interferencias químicas: Se caracterizan por la formación de compuestos moleculares, variación de estado de oxidación y de vaporización de soluto. Estas interferencias son muy raras, sin embargo cuando son encontradas, pueden causar errores graves.
- 4.9 Detección de interferencias no espectrales: Con el fin de detectar interferencias no espectrales, se deben realizar las siguientes pruebas para evaluar la recuperación.
a) Dilución: Si la concentración del analito es lo suficientemente alto (por lo menos un factor de 10 por encima del límite de detección instrumental después de la dilución), los resultados del análisis de una dilución de acuerdo a las necesidades dentro de $\pm 10\%$ de los obtenidos en la muestra sin diluir (o dentro de unos límites aceptables de control que se ha establecido para esa matriz).
b) Adición de estándar (Recuperación del estándar): La recuperación de un estándar añadido a un nivel mínimo de 10 veces el límite de detección original (máximo 100 veces) a la medición original tiene que ser recuperado con un (80 al 120) % o en el límite establecido para que el control de la matriz. Si no es así, tenemos un efecto de matriz.
- 4.10 Compensación de interferencias no espectrales por uso de estándar interno: El uso de estándar interno, en algunos casos es un método adecuado para corregir las interferencias. El enfoque implica la adición de una cantidad conocida de una sustancia o material de referencia a la muestra. Las muestras son analizadas y las respuestas para la medición ó determinación y el estándar añadido (interno) se miden. La observación para el estándar interno se utiliza para relacionar la señal determinada a cierta concentración. El efecto sobre el análisis de error y el tipo de error puede variar en función del enfoque exacto adoptado.
Generalmente, hay una primera, calibración convencional relacionada con las respuestas para todos los elementos a sus concentraciones. En consecuencia, cada uno de los análisis subsecuentes depende del estándar interno como medio de ajuste por cambios en la sensibilidad instrumental, posiblemente debido a

cambios en la toma de muestra o por la deriva instrumental en la respuesta del analito.

Aquí, los cuidados necesarios deben adoptarse para eliminar los factores como la eficiencia de excitación que afectan el nivel y uno o más de los mensurandos en diversos grados, ya que estos darán lugar a un error sistemático. A menos que el tamaño de la respuesta para el patrón interno sea el mismo para todos los elementos de interés, la no linealidad de la respuesta también puede conducir a error. Esto bien puede pasar desapercibido, ya que es raro en una serie de adiciones de patrón interno.

Como consecuencia, esta medida aumentará el error aleatorio asociado a la calibración. Sin embargo, la precisión global aún puede ser mejor, ya que el control de la deriva, instrumental puede mejorar la desviación estándar.

5. Seguridad

- 5.1 Aspectos Generales: Este método puede no mencionar todas las precauciones de seguridad asociadas con su uso. El laboratorio es responsable de mantener un ambiente de trabajo seguro y un archivo de las normas de seguridad respecto a la exposición y manejo seguro de las sustancias químicas especificadas en éste método. Debe tenerse un archivo de referencia de las hojas de información de seguridad el cual debe estar disponible a todo el personal involucrado en estos análisis.
- 5.2 Carcinogenicidad: No se ha determinada la carcinogenicidad de todos los reactivos con precisión, por lo que cada sustancia química debe tratarse como potencialmente peligrosa para la salud. La exposición a estas sustancias debe reducirse al menor nivel posible. Se sugiere que el laboratorio realice monitoreos de higiene ocupacional de cada reactivo a los que pueda estar expuesto el analista y que dichos resultados estén a su disposición.
- 5.3 Aspectos Específicos: El uso de una campana, ropa de protección, lentes de seguridad y mascarilla se requieren cuando se preparan las disoluciones donde las reacciones entre el disolvente y el soluto son exotérmicas. Se requieren iguales precauciones cuando se diluyen, ácidos fuertes, debe evitarse el contacto con la piel y vías respiratorias. Se requiere un sistema de ventilación permanente para eliminar de gases algunas veces tóxicos.

6. Equipos y materiales

Sólo se mencionan los equipos y materiales que son relevantes en este método analítico.

- 6.1 Equipo:
 - 6.1.1 Placa de calentamiento.
 - 6.1.2 Balanza analítica con precisión de 0,1 mg.
 - 6.1.3 Horno de Microondas.
 - 6.1.4 Espectrómetro de Emisión Óptica de plasma de argón acoplado inductivamente (ICP-OES) – Con detector sólido, diseño óptico Echelle, dispositivo de inyección de carga (CID) para proporcionar análisis elemental, generador de radiofrecuencia, controlador de flujo de masa, nebulizador con bomba peristáltica de velocidad variable.
 - 6.1.5 Nebulizador ultrasónico. Este nebulizador se puede adquirir para tener mayor sensibilidad y así poder bajar límites de cuantificación se recomienda si se van a determinar concentraciones muy bajas.
- 6.2 Material:

Todo el material volumétrico utilizado en este método debe ser clase A con certificado o verificada su calibración.

Para la medición de los elementos en un nivel muy bajo de concentración, el material de vidrio o cloruro de polivinilo (PVC) no debe utilizarse, se recomienda utilizar perfluoroalcoxi (PFA), hexafluoroetano propeno (FEP) o contenedores de cuarzo, limpiar con agua caliente, ácido nítrico concentrado en un sistema cerrado. Para la medición de los elementos en una concentración más alta, pueden usarse contenedores de polietileno de alta densidad (HDPE) o politetrafluoroetano (PTFE) que también son aceptables para la recolección de muestras.

Antes de su uso, lavar a fondo todo el material de laboratorio con ácido nítrico diluido (10%) y enjuagar con agua desionizada varias veces

 - 6.2.1 Matraz volumétrico de 50mL y 100 mL de plástico.
 - 6.2.2 Equipo de filtración de membrana con filtros de membrana tamaño de poro de 0.45µm utilizados para medición de elementos traza.
 - 6.2.3 Micro pipetas de 10, 20, 50, 100, 200, 500 y 1000 µL.

- 6.2.4 Puntas para micro pipetas de plástico.
- 6.2.5 Membranas de filtración de 0.45 μm .
- 6.2.6 Matraz aforado, por lo general de la capacidad nominal de 25, 50 ml o 100 ml de plástico.
- 6.2.7 Pipetas graduadas o dispensadores, de volumen apropiado para la tarea.

Los contenedores de las muestras deben lavarse con disolución de detergente no iónico, libre de metales, enjuagarse con agua, remojar en ácido toda la noche y volver a enjuagarse con agua libre de metales. En los casos de que el material presente grasas, enjuague con acetona y/o hexano.

Todo el material usado en esta determinación debe ser exclusivo para este procedimiento. Para el lavado del material se debe mantener en remojo 1 h en una disolución de ácido nítrico al 10 % y enjuagar con agua. Los detergentes con base de amoníaco no deben usarse para la limpieza del material. Su uso debe restringirse dentro del laboratorio.

En los casos de que se presenten adherencias en el material debe dejarse remojando de 12 h a 24 h con HNO_3 (1:5), HCl (1:5) o con agua regia (3 partes de HCl concentrado + 1 parte de HNO_3 concentrado) a 70°C, después debe ser enjuagado con agua libre de metales.

7. Reactivos y patrones/estándares

Los reactivos que requiere el método deben ser grado pesticida o ultra-residuos y deben cumplir con las especificaciones del Committee on Analytical Reagents of the American Chemical Society (ACS) a menos que se indique otra cosa.

Para la medición de elementos traza y ultra-traza, usar reactivos de pureza adecuada.

La concentración del analito o las sustancias que interfieren en los reactivos y el agua deberán ser insignificantes en comparación con la concentración más baja que se determine. Salvo se indique lo contrario, secar todas las sales por 1 hora a 105 °C o lo que indique el certificado del material de referencia.

- 7.1 Agua grado reactivo Tipo I ASTM.
- 7.2. Ácido nítrico; ρ (HNO_3)= 1.4 g/mL (Se encuentra disponible tanto como ρ (HNO_3)= 1.40 g/mL [w (HNO_3)= 650 g/Kg] y ρ (HNO_3)= 1.42 g/mL [w (HNO_3)= 690 g/Kg]. Ambos son aptos para su utilización en este método siempre

que sea insignificante el contenido de los analitos de interés.

- 7.3 Peróxido de Hidrógeno, w (H_2O_2)= 30%. En la medición del fósforo, se debe prestar atención a una posible estabilización de peróxido de hidrógeno con el ácido fosfórico, ya que esto afectará a la medición del fósforo.
- 7.4 Ácido sulfúrico, ρ (H_2SO_4)= 1,84 g/mL
- 7.5 Ácido clorhídrico, ρ (HCl)= 1,16 g/mL
- 7.6 Ácido clorhídrico, c (HCl)= 0,2 mol/L
- 7.7 Sulfato de amonio (NH_4)₂ SO_4
- 7.8 Materiales de referencia Certificado Multielemento de: Ag, Al, As, B, Ba, Be, Bi, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, K, Li, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, Pb, Sb, Se, Sn, Sr, Ti, V, Zn = 1000 mg/L cada uno. O mezclas apropiadas que se encuentren en el mercado con una adecuada especificación que indique el ácido utilizado en la preparación y comercialmente disponibles. Pueden utilizarse disoluciones elementales de diferentes concentraciones, por ejemplo de 100 mg/L que son estables por un año o más pero para garantizar la estabilidad se debe de considerar las indicaciones del fabricante para su almacenamiento.
- 7.9 Disolución de ácido nítrico al 0,5%.- En 900 mL de agua adicione con cuidado y lentamente 5 mL de ácido nítrico concentrado y afore con agua a 1000 mL.
- 7.10 Disoluciones materiales de referencia mixtas intermedias: Tomar en cuenta la compatibilidad química y la posible hidrólisis de los compuestos iniciales, así como las interferencias espectrales, y con el fin de evitarlas, añadir a la digestión los reactivos (por ejemplo, ácido nítrico, ácido sulfúrico, agua regia).
- 7.11 Materiales de Referencia Certificado Multielemento mezcla comercial que contengan los siguientes elementos o seleccione los elementos de interés.
Material de Referencia Certificado multielemental Disolución B concentración 100 μg /mL con Sb, Ag, Mo, Sn, Si, Ti.

Material de Referencia Certificado multielemental Disolución A:

Elem	µg/mL	Elem	µg/mL	Elem	µg/mL	Elem	µg/mL
Al	100	As	100	Ba	100	Be	100
Bi	100	B	100	Cd	100	Ca	1000
Cr	100	Co	100	Cu	100	Fe	100
Pb	100	Li	100	Mg	1000	Mn	100
Ni	100	K	1000	Se	100	Na	1000
Sr	100	Tl	100	V	100	Zn	100

8. Recolección, preservación y almacenamiento de muestras

Las muestras de sedimento, según las facilidades con que cuente el laboratorio se colectan con cono o corazonadores plásticos y se transfieren luego a bolsas de polietileno convenientemente rotuladas. Si sólo se dispone de dragas, la muestra debe colectarse usando cucharas plásticas y tomando de la parte central el sedimento que no ha tenido contacto con las paredes de metal.

- 8.1 Cantidad de muestra: necesaria para metales es de aproximadamente 150 gramos
- 8.2 Preservación: Las muestras se deben transportar al laboratorio bajo refrigeración. La mejor forma de almacenar y preservar la muestra es secándola en liofilizador y almacenarla en un medio exento de humedad.
- 8.3 Si el análisis inmediato no es posible, y tampoco se cuenta con un equipo liofilizador es conveniente homogenizar la muestra y colocarla en cajas petri tratadas con HNO₃ 10% y secar a 60°C hasta peso constante. Estando la muestra libre de humedad, se almacena en bolsas plásticas. Previamente se tamizan a través de una malla de 63 µm. Sólo la fracción menor a 63 µm se utiliza para estudios ambientales
- 8.4 Tiempo Máximo Previo al Análisis – El tiempo máximo previo al análisis es de 6 meses. Para mercurio es de 28 días.

9. Control de calidad

Control de calidad en las mediciones de rutina. Los siguientes puntos deberán validarse en cada uno de los lotes de mediciones.

- 9.1 Curva de calibración: Analizar cada uno de los estándares de calibración y obtener la curva de calibración con base en la regresión del área pico correspondiente a la concentración.
- 9.2 Blanco de reactivo: Se miden 100 mL de agua destilada como blanco de reactivo. Se prepara de la misma manera y simultáneamente que las muestras. El resultado del blanco de reactivo deberá sustraerse de los resultados de las muestras, debido a que puede ocurrir una interferencia de bajo nivel en este método. La interferencia pudiera ser debido a lo descrito en el capítulo 4.0
- 9.3 Blanco fortificado: Se fortifica con la concentración del punto medio de la curva de calibración o cualquier concentración conocida que no salga del intervalo de la curva de calibración. Se prepara de la misma manera y simultáneamente que las muestras. Sustraer el blanco reactivo del blanco fortificado y reportar la diferencia como la recuperación. Si la recuperación varía de 100 ± 20 % (Nota 1), todas las muestras deberán volver a prepararse.
Nota 1. Tentativamente se propuso el umbral de la recuperación. En un futuro, deberá establecerse apropiadamente basándose en los datos acumulados.
- 9.4 Recuperaciones de Fortificados. En caso de usar muestras fortificadas, el laboratorio debe evaluar los datos de recuperación del fortificado a partir de muestras individuales versus los límites de control del fortificado desarrollados por el laboratorio.
- 9.5 Se recomienda que el laboratorio adopte prácticas de garantía de calidad adicionales para usarse con este método. Las prácticas específicas que son más productivas dependen de las necesidades del laboratorio y la naturaleza de las muestras. Cuando sea posible, el laboratorio debe analizar estándares de materiales

de referencia y participar en estudios de evaluación de resultados relevantes.

10. Calibración

- 10.1 Calibración y Verificación del Espectrómetro de Emisión Óptica de Plasma acoplado inductivamente (ICP-OES): La calibración y verificación debe realizarse cada vez que se utilice el espectrofotómetro.
- 10.2 Preparar disoluciones estándares de 5 concentraciones a partir de las disoluciones A y B, un blanco de reactivo, leer en equipo y calibrar.

11. Procedimiento

La digestión de la muestra se selecciona, dependiendo del número de muestras y de los analitos solicitados: Se digieren en horno de microondas o se digieren en placa de calentamiento.

El lote analítico incluye dos blancos, muestra control, punto intermedio de la curva, muestras y una muestra duplicada, muestra fortificada. Las concentraciones se reportan como metales totales.

- 11.1 La muestra debe estar conservada en frío sin ningún preservador.
- 11.2 La muestra debe ser secada en cajas Petri, previamente lavadas y enjuagadas con HNO₃ al 10%, secar en estufa a 60-65°C hasta que no haya variación en el peso. Ver Diagrama 1.
- 11.3 Para la digestión de la muestra en parrilla de calentamiento y en vaso abierto transferir 0.5 g del sedimento seco agregar 10 ml de HNO₃(1:1), calentar durante 10 a 15 minutos agregar 5 mL(1:1) H₂SO₄, enfriar agregar 5mL de HNO₃ calentar a reflujo por 30 min hasta reducir el volumen a 5 mL, enfriar y agregar 1ml de H₂O₂ al 30% y 10 mL de HCL, calentar hasta reducir el volumen a 5 mL, enfriar y ajustar a 100ml con agua desionizada y filtrar. Ver Diagrama 2.
- 11.4 Digestión con horno de microondas: Etiquetar cada uno de los vasos, pesar 0.5000g + 0.5% g de muestra homogénea, está fracción es depositada dentro de los vasos de digestión. Ver Diagrama 3.

- 11.5 Adicionar 3 mL de ácido nítrico suprapuro y 1 mL de ácido clorhídrico suprapuro a cada tubo de digestión, sellarlo y depositarlos en el carrusel del microondas
- 11.6 En el proceso un blanco de reactivos es tratado en la misma manera que las muestras.
NOTA: Durante el proceso pueden ser liberados vapores tóxicos, por lo cual se debe asegurar que el sistema de ventilación funcione correctamente.
- 11.7 La distribución de los vasos en el carrusel deben estar siempre en equilibrio. El propósito de los blancos de muestra es para darle un balance a la energía seleccionada.
- 11.8 El programa de microondas para la secuencia de las muestras debe de ir de 160 ±4 en 5 minutos y permitir un ascenso lento de 165 a 170°C durante los siguientes 10 minutos. Ver Figura 1.
- 11.9 Al final del programa del microondas permitir que los vasos se enfríen al menos 5 minutos en la unidad antes de remover el carrusel, para evitar posibles daños en el sistema de ventilación de los vasos. Las muestras pueden enfriarse fuera de la unidad, si se desea que el enfriado sea más rápido se pueden meter en agua fría.
- 11.10 Completar la preparación de la muestra destapando cuidadosamente cada vaso dentro de la campana de extracción, la muestra digerida contiene partículas que pueden obstruir el nebulizador, pasar la muestra a través de filtros de nitrocelulosa de 0.45 µm y recibir el filtrado en tubos para centrifuga de 50 mL u otro recipiente que se adapte al filtrado al vacío, aforar y guardar para su análisis.
- 11.11 Los valores de concentración obtenida del análisis deben ser corregidos con el factor de dilución basado en la cantidad de ácido adicionado.
- 11.12 Realice tres lecturas independientes de blancos, curva de calibración, muestra control y muestras.
- 11.13 Calibre el espectrofotómetro de emisión óptica de plasma acoplado inductivamente. Obtenga los valores de la curva de calibración: registrados por el equipo y/o calcular en hoja de Excel.

12. Cálculos

- 12.1 Calcule la concentración de la(s) muestra(s) y/o las que registra el equipo.
- 12.2 Realice las gráficas de la curva de calibración de cada uno de los metales.
- 12.3 Calcule la concentración de la muestra por medio de la ecuación de la recta que se obtiene de las curvas de calibración para cada metal empleando la siguiente ecuación:

$$x = \frac{y - b}{m}$$

Dónde:

- y Respuesta del NDIR (absorbancia)
- m Pendiente de la curva de calibración
- x Concentración del estándar evaluado (mg/L C)
- b Intercepción de y (ordenada al origen)

$$Y = mX + b$$

Dónde:

- Y es la absorbancia de la muestra ya procesada;
- m es la pendiente
- b es la ordenada al origen

Despejando X se obtiene la concentración del metal en la muestra, se deben tomar en cuenta los factores de dilución que se realicen.

- 12.4 Si se trabaja con el método de adición de estándares, obtenga la gráfica, el coeficiente de correlación y el valor de la muestra sin añadir.
- 12.5 Reporte de resultados del análisis en mg/L o µg/L según sea solicitado. No se deben reportar concentraciones de elementos por debajo del límite de cuantificación. Si la muestra se diluyó multiplique el resultado por el factor de dilución realizado.

13. Manejo de residuos

Es la responsabilidad del laboratorio cumplir con todos los reglamentos federales, estatales y locales referentes al manejo de residuos, particularmente las

reglas de identificación, almacenamiento y disposición de residuos peligrosos.

- 13.1 El área de metales pesados cuenta con recipientes para almacenar temporalmente las disoluciones contaminadas con metales pesados, y otro para residuos sólidos.
- 13.2 Los desechos ácidos deben neutralizarse para su disposición final.

14. Bibliografía

ISO 11885: 2007 Water quality — Determination of selected elements by inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES).

ISO 11885-2007- segunda edición

Method SW-846, "Test Methods for Evaluating Solid Waste", Metals Atomic Absorption Methods, Environmental Protection Agency, Office of Solid Waste and Emergency Response, Washington, DC, Noviembre 1986.

Parte 3000-Metals, "Standard Methods for the Examination of Water and Wasterwater", America Public Health Association, Washington, DC 20005, 20th Edition, 1998.

"Analytical Methods for Atomic Absorption Spectrophotometry", Perkin Elmer, USA, 1982.

15. Tablas y figuras

Figura 1: Temperatura y duración permitida de la digestión.

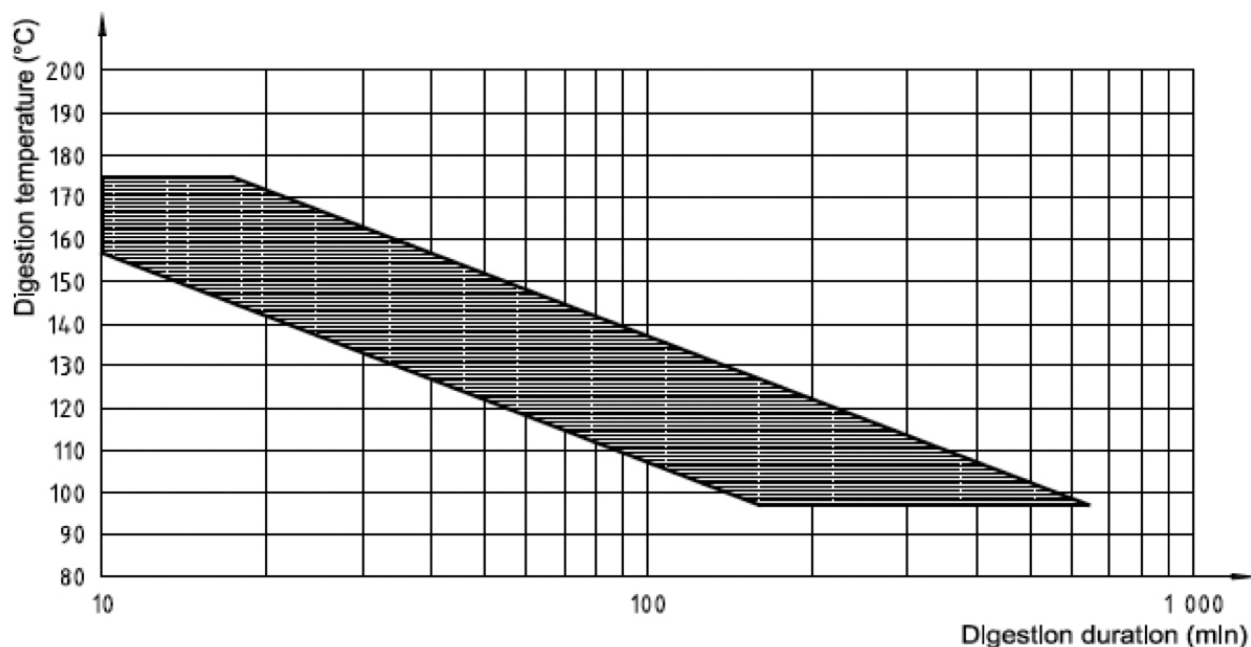


Tabla1. Longitudes de onda recomendadas, límites de cuantificación e interferencias espectrales para los diferentes tipos de instrumentos

Elemento	Longitud de onda	Aprox. X_{LQ}		Elementos interfiriendo
	nm	Visualización Radial $\mu\text{g/L}$	Visualización Axial $\mu\text{g/L}$	
Ag	328.068 338.289	(20) (20)	(4) (10)	Fe. Mn. Zr. Cr. Fe. Zr. Mn
Al	167.079 308.215 396.152	1 100 10	2 17 6	Fe. Pb Fe. Mn. OH. V Cu. Fe. Mo. Zr
As	188.979 193.696 197.197	18 5 (100)	14 14 31	Al. Cr. Fe. Ti Al. Co. Fe. W. V Al. Co. Fe. Pb. Ti
B	182.528 208.957 249.677 249.772	(6) (5) 10 4	(7) 5 24	S Al. Mo Co. Cr. Fe Co. Fe
Ba	230.425 233.527 455.403 493.408	— 2 6 (3)	3 0.5 0.7 0.4	— Fe. V Zr —
Be	313.042 313.107 234.861	(2) — (5)	(0.1) (0.3) (0.1)	Fe V —
Bi	223.060 306.770	(40) (80)	(17) (165)	Co. Cu. Ti. V Fe. Mo. V

Elemento	Longitud de onda	Aprox. X_{LQ}		Elementos interfiriendo
	nm	Visualización Radial $\mu\text{g/L}$	Visualización Axial $\mu\text{g/L}$	
Ca	315.887	100	13	Co. Mo Fe. V V. Zr V. Mo. Zr
	317.933	26	4	
	393.366	0.4	25	
	422.673	--	--	
Cd	214.441	1	0.9	As. Cr. Fe. Sc. Sb As. Co. Fe. Ni As. Co. Sc
	226.502	4	0.2	
	228.802	2	0.5	
Co	228.616	6	1	Ti Fe
	238.892	10	3	
Cr	205.559	1	5	Be. Fe. Mo. Ni. Ti Mn. P. V Fe. Mo. V. W Fe
	267.719	4	2	
	283.563	(10)	(2)	
	284.324	(10)	--	
Cu	324.754	9	2	Cr. Fe. Mo. Ti Co. Ti
	327.396	4	3	
Fe	238.204	14	(3)	Co Co --
	259.940	6	2	
	271.441	--	--	
Ga	287.424	--	--	Cr Fe. Ti Fe. V
	294.364	--	--	
	417.204	--	--	
In	230.605	--	--	Fe Mn Ce
	325.609	--	--	
	410.175	--	--	
K	766.490	66	20	Ar. Ba. Mg Ba
	769.896	--	(230)	
Li	460.290	900	(700)	Ar. fe Ar
	670.778	6	10	
Mg	279.078	33	19	Fe Fe Cr
	279.553	1	7	
	285.213	4	14	
Mn	257.610	1	0.4	Cr. Fe. Mo. W Al. Cr. Fe. Ti
	293.305	(20)	(8)	
Mo	202.031	(30)	(2)	Al. Fe. Ni Co. Cr
	204.597	(50)	(6)	
Na	330.237	(20)	300	Zn Ar. V Ba
	588.995	20	200	
	589.592	93	20	
Ni	221.648	10	2	Si Co. Sb
	231.604	15	2	
P	177.434	500	(16)	Cu Fe. I Co. Cu. Fe. Mo. Zn Al. Co. Cu. Mg
	178.221	25	13	
	213.618	500	50	
	214.915	330	9	
Pb	220.353	14	5	Al. Co. Fe. Ti Cr. Fe
	283.305	(70)	(20)	
S	180.669	13	33	As. Ca Cr. Mo
	181.975	39	17	
Sb	206.834	(100)	(4)	Co. Cr. Fe. Mg. Mn Pb. Fe
	217.582	(100)	(18)	

Elemento	Longitud de onda	Aprox. X_{LQ}		Elementos interfiriendo
	nm	Visualización Radial $\mu\text{g/L}$	Visualización Axial $\mu\text{g/L}$	
Se	196.089	(100)	(7)	--
	203.984	(100)	(7)	Cr. Sb
Si	212.412	3	(13)	Mo
	251.611	20	10	--
	288.158	(30)	24	Cr
Sn	189.988	(100)	(60)	Cr. Ti
	235.485	(100)	(200)	Cd. Mo
	283.998	--	(120)	
Sr	407.771	2.6	0.6	Cr
	421.552	0.1	0.1	--
	460.733	(10)	(3)	--
Ti	334.941	(5)	(2)	Cr
	336.123	(10)	(1)	--
	337.280	(10)	--	--
	368.521	(10)	--	Co. Cr
V	290.881	(10)	--	Fe. Mo
	292.402	(10)	(3)	Cr. Fe. Mo. V
	310.229	(10)	(0.7)	Cr. Mg
	311.071	(10)	(1)	Cr. Fe. Mn. Ti
W	202.998	(60)	--	Ni. Zn
	207.912	(30)	(10)	Ni. Mo. V
	209.860	(60)	(20)	--
	222.589	(60)	(30)	Cr. Cu. Ni
	239.711	(60)	--	--
Zn	202.548	--	(3)	Cr. Cu. Co. Ni
	206.200	13	5	Cr
	213.857	3.3	1	Cu. Fe. Ni
Zr	339.197	--	(2)	
	343.823	(10)	(0.3)	Mo
	354.262	(50)	(1)	

Diagrama 1. Procedimiento

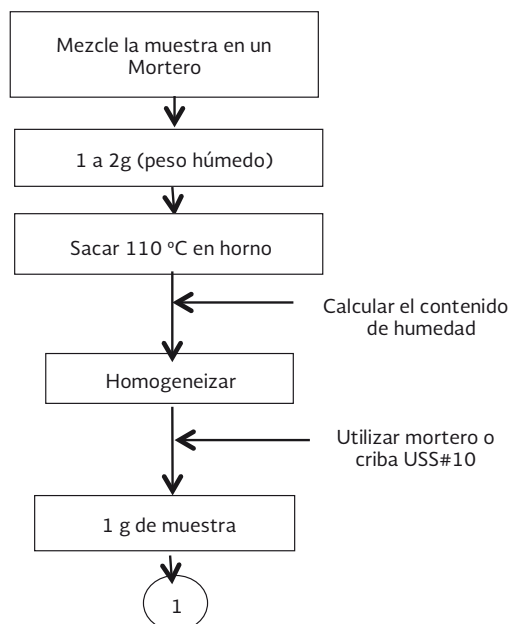


Diagrama 2. Digestión en placa de calentamiento

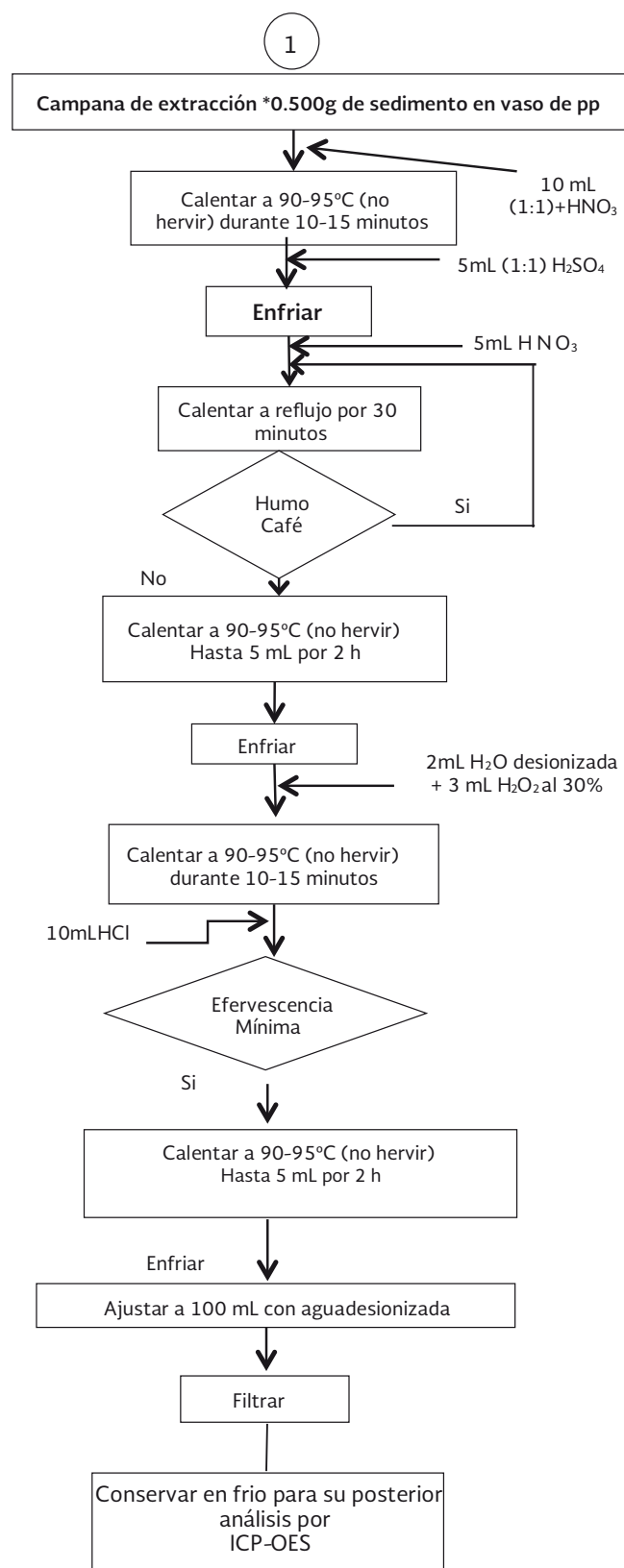
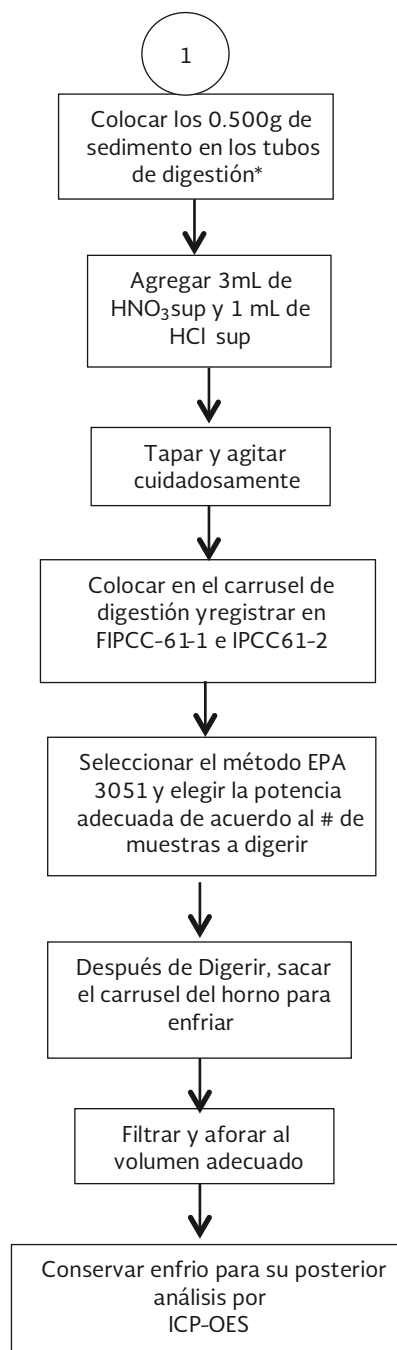


Diagrama 3. Digestión en microondas



Procedimiento operativo estandarizado para medir Toxafeno por medio de cromatografía de gases con detector de espectrómetro de masas



Procedimiento operativo estandarizado para medir Toxafeno por medio de cromatografía de gases con detector de espectrómetro de masas

Contenido

Introducción	2
1. Aplicación y alcances	2
2. Principio y resumen	2
3. Definiciones	3
4. Interferencias	4
5. Seguridad	4
6. Equipos y materiales	5
7. Reactivos y patrones/estándares	6
8. Recolección, preservación y almacenamiento de muestras	7
9. Control de calidad	8
10. Calibración	9
11. Procedimiento	9
12. Cálculos	10
13. Manejo de residuos	11
14. Bibliografía	11
15. Tablas y figuras	11

Introducción

Para el monitoreo ambiental se incrementan cada día más la demanda del análisis de sustancias químicas a niveles traza con propiedades hidrofílicas, incluyendo por ejemplo varios agroquímicos con bajo nivel de persistencia; medicamentos; hormonas y sus productos metabólicos, así como sub-productos de desinfección, entre otros.

Con respecto a las técnicas analíticas, actualmente se están desarrollando mediante la extracción líquido/líquido y concentración con N_2 utilizando la técnica de Cromatografía de gases/Espectrómetro de Masas como las principales técnicas de preparación de muestras y análisis de contaminantes. El uso común y monitoreado con el fin de establecer los límites permisibles de este en aguas nacionales, debido a que su acumulación en los cuerpos de agua causa estragos a la salud. El toxafeno es un insecticida el uso principal es para controlar insectos en cosechas de algodón y en otras cosechas. También se usó para controlar insectos en el ganado y para matar peces indeseables en lagos.

1. Aplicación y alcances

- 1.1 Propósito: Este método cubre el uso de la Cromatografía Gases (CG) junto con la espectrometría de masas; se aplica en la determinación de la concentración del Toxafeno el cual es capaz de ser extraído con disolventes orgánicos, que son favorables para CG con la detección por espectrometría de masas.
- 1.2 Analitos: El toxafeno también se conoce como canfeclor, clorocanfeno, policlorocanfeno y canfeno clorado. La sensibilidad de este método depende del nivel de interferentes dentro de una matriz dada. Los límites de detección, sensibilidad e intervalos óptimos de trabajo de los metales antes mencionados, varían dependiendo de la matriz y el equipo utilizado.
- 1.3 Matrices: Las matrices a las cuales puede aplicarse este método son agua dulce.
- 1.4 Limitaciones: Este procedimiento es adecuado para muestras acuosas que contienen una cantidad relativamente baja de sólidos suspendidos (SS). En caso de que la muestra contenga una gran cantidad de SS, tal vez se requiera un procedimiento adicional de extracción para los SS.

- 1.5 Restricciones: Este método está diseñado para ser supervisado y utilizado por Químicos analistas experimentados en la operación del equipo de Cromatografía de Gases con detector de masas. Cada analista debe demostrar la habilidad y los conocimientos para generar resultados aceptables con este método antes de analizar muestras reales.

2. Principio y resumen

- 2.1 Principio: El analito en la muestra acuosa se extrae con hexano. El extracto se deshidrata y se concentra, y posteriormente se inyecta en el Cromatógrafo de Gases/Espectrómetro de Masas (GC/MS, Gas Chromatography/Mass Spectrometry). Se identifica el analito con base en sus iones de fragmento específicos y tiempo de la retención y se cuantifica con el método estándar interno.
- 2.2 Resumen: Se toman 1000 mL de la muestra acuosa en un embudo de separación, se le agrega cloruro de sodio y se realiza el procedimiento de extracción líquido-líquido 2 veces, con hexano. El extracto se deshidrata con sulfato de sodio anhídrido y se concentra a 1 mL, para ser medido con el GC/MS.

3. DEFINICIONES

Para los propósitos de este procedimiento se establecen las siguientes definiciones:

- 3.1 Disolución Patrón Primario (DPP): Es una disolución de una concentración conocida y preparada partiendo de la reserva primaria (*primary stock*). (En casos típicos, la reserva primaria es la sustancia pura.) Básicamente, la DPP contiene solamente un analito.
- 3.2 Estándar de Dilución Secundaria (EDS). El EDS se proporciona para la conveniencia del siguiente procedimiento: Preparación de los Estándares de Calibración y Pruebas del Límite de Cuantificación Experimental (LC Experimental) y de Recuperación. En el caso del análisis simultáneo con múltiples analitos, se mezclan y se diluyen diferentes volúmenes de DPP dependiendo de la sensibilidad de cada analito.

- 3.3 Estándares de Calibración: Los estándares de calibración se preparan del EDS y se usan para obtener la curva de calibración de cada analito.
- 3.4 Límite de Cuantificación Experimental (LC Experimental): El Límite de Cuantificación Experimental (LC Experimental) es la concentración mínima de cada analito que se puede determinar con certeza. El LC Experimental se calcula con base en la repetibilidad de todo el proceso de análisis (preparación de muestra y medición con instrumento). Para obtener el LC Experimental se calcula la desviación estándar de la muestra multiplicada 10 veces, utilizando los datos del análisis de las varias réplicas (típicamente $n=7$), de la muestra fortificada de baja concentración (Ecuación 1).

$$LC_{Experimental} = 10 \times S_{smpl} \quad \text{(Ecuación 1)}$$

Donde:

S_{smpl} Desviación estándar de la muestra obtenida por mediciones paralelas

- 3.5 Recuperación: Se calcula la recuperación de los analitos utilizando las muestras de matriz fortificada y las muestras de matriz blanco (Ecuación 2).

$$Recuperación (\%) = (C_{fm} - C_{bm}) / C_f \times 100 \quad \text{(Ecuación 2)}$$

Donde:

C_{fm} concentración obtenida de la muestra de matriz fortificada

C_{bm} concentración obtenida de la muestra de matriz blanco

C_f concentración fortificada

- 3.6 Blanco Reactivo: Se analiza el agua destilada aplicando el mismo procedimiento que las muestras de matriz, incluyendo la preparación y medición de muestras. El blanco reactivo representa contaminación e interferencias como resultado del proceso analítico.
- 3.7 Blanco Fortificado: Se adicionan cantidades conocidas de analitos al agua destilada. Éstas se miden utilizando el mismo procedimiento que las muestras matrices y validan la confiabilidad del método.

- 3.8 Muestra de Control de Calidad (MC): Es una disolución de analitos y se aplica para revisar el desempeño del instrumento. La concentración de la MC deberá estar en el rango medio de la curva de calibración. En cada uno de los lotes de análisis, la MC deberá ser medida de manera rutinaria, cada 20 muestras y al final de un análisis de secuencia. Adicionalmente, es preferible que se obtenga la MC de una fuente externa al laboratorio o que se prepare por una fuente distinta a los Estándares de Calibración. De esta manera, la MC representa los problemas de contingencia de los Estándares de Calibración (ejemplo: deterioro, error de preparación).

4. Interferencias

- 4.1 Los disolventes, reactivos, la cristalería, y otros instrumentos de procesamiento de muestras pueden producir artefactos diferenciados o líneas de referencia elevadas, o ambas, causando malinterpretaciones de los cromatogramas o del espectro. Se debe demostrar que todos estos materiales se encuentran libres de interferencias bajo las condiciones de los análisis analizando los blancos del método. Puede que sea necesaria la selección específica de reactivos y disolventes de purificación por destilación en todos los sistemas de cristal.
- 4.2 Interferencias causadas durante el proceso de preparación de la muestra. Las sustancias hidrófobas coexistentes pueden causar interferencias. Si en el cromatograma obtenido del GC/MS el pico mayor de interferencia se superpone al pico objetivo, reemplace el pico objetivo con uno diferente
- 4.3 Los interferentes co-extraídos de la muestra varían considerablemente de fuente a fuente. Se deben verificar los tiempos de retención del analito objetivo utilizando estándares de referencia.
- 4.4 Todo lo que se utilice deberá ser lavado con detergente, enjuagado con agua de la llave y con agua destilada y con acetona.
- 4.5 En el caso de que la muestra contenga grandes cantidades de sustancias orgánicas, podría emulsificarse en el proceso de la extracción líquido-líquido. Si esto fuese a ocurrir, aplicar las contramedidas apropiadas.

5. Seguridad

- 5.1 Es necesario controlar estrictamente el uso de Toxafeno. Toxafeno está categorizado como uno de los contaminantes orgánicos persistentes (COPs ó POPs por sus siglas en inglés Persistent Organic Pollutants).
- 5.2 Este método no menciona todos los problemas de seguridad asociados a su uso. El laboratorio se hace responsable de mantener un ambiente laboral seguro y de tener conocimientos actuales de las regulaciones de OSHA acerca del manejo seguro de los químicos listados en este método. Debe de ponerse a disposición de todo el personal involucrado en los análisis un documento de material de seguridad (MSDSs).

6. Equipos y materiales

Todos los materiales volumétricos que se utilizan en este método deben ser de clase “A” o la calibración deberá ser verificada.

- 6.1 Equipos
Los siguientes equipos y materiales son necesarios para el uso de las porciones de GC/MS en este método.
 - 6.1.1 Cromatógrafo de Gases/Espectrómetro de Masas (GC/MS)
 - 6.1.2 Balanza de precisión: La balanza deberá ser capaz de pesar hasta 0.1 miligramos.
 - 6.1.3 Evaporador rotatorio: Con temperatura del baño controlada por termostato (a 40°C)
 - 6.1.4 Concentrador: Con flujo de nitrógeno y calentador (a 40°C)
- 6.2 Materiales
 - 6.2.1 Columna para GC/MS: DB-35ms (30 m longitud, 0.25 mm diámetro interior, 0.25 µm espesor del filme), o equivalente
 - 6.2.2 Cilindro graduado: de vidrio, 50 mL y 1000 mL de volumen
 - 6.2.3 Embudo de separación: 2 L de volumen
 - 6.2.4 Matraz de destilación: 200 mL de volumen
 - 6.2.5 Matraz de concentración: para el evaporador rotatorio
 - 6.2.6 Tubos graduados: de vidrio, 1 mL de graduación

- 6.2.7 Vial para GC/MS: de vidrio, 2 mL de volumen
- 6.2.8 Matraz volumétrico: de vidrio, 1 mL y 10 mL de volumen
- 6.2.9 Micro-jeringa: de varios volúmenes
- 6.2.10 Pipeta de Pasteur: de vidrio, de tallo largo.
- 6.2.11 Cronómetro: con conteo de segundos
- 6.2.12 Papel de prueba pH: Intervalo de 1 a 12 o más (tipo universal)

7. Reactivos y patrones/estándares

- 7.1 Se deben utilizar los químicos de grado reactivo en todas las pruebas. A menos que se de otra indicación, se pretende que todos los reactivos sigan las especificaciones del Comité en Reactivos Analíticos de la Sociedad Americana de Química donde se dispone de dichas especificaciones. Los reactivos se deben de almacenar en vidrio para prevenir la lixiviación de contaminantes de los envases de plástico.
 - 7.1.1 Estándar de Toxafeno: Sigma-Aldrich, PS79, 1000 mg. o también, 1000 µg/mL de disolución iso-octano también está disponible para la Disolución Patrón Primario o DPP
 - 7.1.2 Pentacloronitrobenzoceno
 - 7.1.3 Tetracloro-m-xileno
 - 7.1.4 Decaclorobifenil
 - 7.1.5 Agua destilada: Agua libre de orgánicos Tipo I ASTM
 - 7.1.6 Hexano: grado de análisis residual
 - 7.1.7 Acetona: grado de análisis residual
 - 7.1.8 Cloruro de sodio: grado de análisis residual
 - 7.1.9 Sulfato de sodio: anhidro, grado de análisis residual
- 7.2 Disoluciones estándar: Las secciones siguientes describen la preparación de reserva, intermedio, y normas de trabajo para los compuestos de interés. Este argumento se muestra como un ejemplo, y se pueden utilizar otros acercamientos y concentraciones de los compuestos objetivos de manera apropiada para aplicaciones destinadas.
Las disoluciones de analito se deben conservar a 4°C en viales sellados y protegidos de la luz. Estas disoluciones deben ser reemplazadas regularmente.

Todas las disoluciones de analito deberán prepararse cuando se requieren.

- 7.2.1 Disolución Patrón Primario (DPP): Se pesa con precisión 10.0 mg del estándar de Toxafeno (7.1.1), y se disuelve con hexano en un matraz volumétrico de 10 mL. Esta disolución de 1000 mg/L es la Disolución Patrón Primario (DPP).
- 7.2.2 Estándar de Dilución Secundaria (EDS): Se toman 100 µL de la DPP con una micro jeringa y se diluye con hexano en un matraz volumétrico de 1 mL. Esta disolución de 100 mg/L es el Estándar de Dilución Secundaria (EDS) y se utiliza para la preparación de estándares de calibración y muestras fortificadas.
- 7.2.3 Estándar interno (ISTD): Se pesa con exactitud 10.0 mg de pentacloronitrobenzeno y se disuelve con el hexano en un matraz volumétrico de 100 mL. Se toma con una microjeringa 400 µL de la disolución anterior de 100 mg/L y se diluye con el hexano en un matraz volumétrico de 10 mL. Esta disolución ISTD de 4 mg/L se le agrega a los estándares de calibración y extracción de muestras matrices.
- 7.2.4 Surrogado: Se pesa con exactitud 10.0 mg de tetracloro-m-xileno y se disuelve con el hexano en un matraz volumétrico de 100 mL. Por otro lado, se pesa exactamente 10.0 mg de decaclorobifenil y se disuelve con el hexano en un matraz volumétrico de 100 mL. Se toma con una micro jeringa 100 µL de la disolución anterior de 100 mg/L y se diluye con acetona (Nota 1) en un matraz volumétrico de 10 mL. Esta disolución de surrogado de 1 mg/L se le agrega a los estándares de calibración y muestras matrices.
- Nota 1.** El surrogado debe diluirse con acetona, debido a que se mezcla con las muestras acuosas y con las soluciones orgánicas como estándares de calibración.
- 7.2.5 Estándar de Calibración: Se preparan 5 niveles de diferentes concentraciones de soluciones de Toxafeno en el rango de 1 a 10 mg/L. Con una micro jeringa se toma el volumen apropiado (típicamente, 10 a 100 µL) de EDS, 50 µL del ISTD y 50 µL del surrogado, respectivamente y se mezcla. Se diluye con hexano en un matraz volumétrico de 1 mL.

Estos procedimientos, los procedimientos podrían omitirse al utilizar un grado más alto del reactivo sulfato de sodio. Verifique si se obtiene una recuperación satisfactoria.

8. Recolección, preservación y almacenamiento de muestras

- 8.1 Recolectar muestras en botellas de vidrio de 1000 mL. Usar botellas de vidrio ámbar o protegerlas de la luz solar.
- 8.2 Se verifica el pH de la muestra con el papel de prueba de pH, y si el pH no está en el intervalo entre 5 y 9, el pH se ajusta con ácido clorhídrico o hidróxido de sodio.
- 8.3 Si se detecta en la muestra el cloro residual, agregue algún reductor apropiado (Ejemplo: tiosulfato o ascorbato) para que se consuma.
- 8.4 Las muestras se almacenan en 4°C y deben analizarse lo más pronto posible.

9. Control de calidad

- 9.1 Control de calidad en las mediciones de rutina. Los siguientes puntos deberán validarse en cada uno de los lotes de mediciones.
- 9.2 Curva de calibración: Analizar cada uno de los estándares de calibración y obtener la curva de calibración con base en la regresión del área pico correspondiente a la concentración. Ver la sección 10.2
- 9.3 Blanco de reactivo: El agua destilada se mide como blanco de reactivo. Se prepara de la misma manera y simultáneamente que las muestras matrices. El resultado del blanco de reactivo deberá sustraerse de los resultados de las muestras, debido a que puede ocurrir una interferencia de bajo nivel en este método. La interferencia pudiera ser debido a los plastificantes eluidos del disco de extracción de la fase sólida.
- 9.4 Blanco fortificado: Se fortifican 50 µL del EDS y 50 µL del surrogado en 1000 mL de agua destilada como blanco fortificado. En este caso, el analito fortificado en la muestra es de 0.005

mg/L. Se prepara y se mide el blanco fortificado de la misma manera y simultáneamente que las muestras.

9.5 Muestra de control de calidad (MC): En cada uno de los lotes de análisis, la muestra para el control de calidad (MC) se mide cada 20 muestras y al final de un análisis de secuencia.

9.6 Recuperaciones de Fortificados: Sustraer el blanco reactivo del blanco fortificado y reportar la diferencia como la recuperación de los analitos. La recuperación deberá ser casi 100% debido a que en este método se aplican surrogados marcados como isótopos.

9.7 La respuesta del surrogado se divide por la respuesta del ISTD. Comparar los cocientes entre los estándares de calibración y las muestras matrices. Si la recuperación se desvía $100 \pm 30 \%$, las muestras correspondientes deberán volverse a preparar.

El umbral fue propuesto tentativamente. Deberá ser establecido apropiadamente basándose en los datos que se acumulen en el futuro.

En caso de usar muestras fortificadas, el laboratorio debe evaluar los datos de recuperación del fortificado a partir de muestras individuales versus los límites de control del fortificado desarrollados por el laboratorio.

9.8 Se recomienda que el laboratorio adopte prácticas de garantía de calidad adicionales para usarse con este método. Las prácticas específicas que son más productivas dependen de las necesidades del laboratorio y la naturaleza de las muestras. Cuando sea posible, el laboratorio debe analizar estándares de materiales de referencia y participar en estudios de evaluación de resultados relevantes.

10. Calibración

La calibración y la validación se realizan rutinariamente en cada lote del análisis como sigue:

10.1 Poner en marcha los sistemas CG/MS (auto-afinación). Llevar a cabo la auto-afinación y validación del sistema GC/MS.

10.2 Calibración: Analizar cada estándar de calibración, obtener la curva de calibración con base en la regresión de la respuesta que corresponde a la concentración y calcular el factor

de respuesta relativa (RRF, Relative Response Factor) y el Límite de Cuantificación Instrumental (LC Instrumental) a través de los Métodos de mínimos cuadrados y regresión lineal. El RRF se calcula con la Ecuación 3.

$$RRF = \{ (A_s) / (C_{sur}) \} / \{ (A_{sur}) / (C_s) \} \quad \text{(Ecuación 3)}$$

Donde:

A_s Respuesta del analito

A_{sur} Respuesta del ISTD

C_{sur} Concentración del ISTD ($\mu\text{g/L}$)

C_s Concentración del analito ($\mu\text{g/L}$)

Si el RRF o el LC Instrumental varían demasiado con respecto al lote de análisis previo o diario, verificar la causa del fenómeno.

10.3 Validación de la calibración extendida: En cada lote de análisis se mide la Muestra de Control de Calidad (MC) cada 20 muestras y al final de un análisis de secuencia. La MC es un estándar de concentración conocida (Sec. 3.10).

Si la respuesta o el tiempo de retención de una MC varían demasiado de la calibración (Sec. 10.2), verifique la causa del fenómeno y realice de nuevo el análisis de secuencia.

11. Procedimiento

11.1 Preparación de la muestra: El diagrama de flujo para este proceso de preparación de muestras se muestra en la Figura 1. Los detalles son los siguientes:

11.1.1 Muestreo y saladura: Se toman 1000 mL de la muestra en el cilindro graduado y se vierten en el embudo de separación. Se agregan 50 μL del surrogado con una micro jeringa, se agregan 30 g de cloruro de sodio en el embudo y se disuelven.

11.1.2 Extracción Líquido - Líquido (1): Se agregan 50 mL de hexano sobre el embudo, se agita el embudo durante 5 minutos y se deja para que ocurra la separación de las 2 capas. Luego, se saca la capa acuosa y se vierte en otro embudo. Por otro lado, se elimina la capa restante de hexano y se vierte en un matraz de destilación.

11.1. Extracción Líquido - Líquido (2): Se agregan 50 mL de hexano a la capa

acuosa que se obtuvo en la sección 11.1.2, se agita el embudo durante 5 minutos y se deja para que ocurra la separación de las 2 capas. Luego, se elimina la capa acuosa y se mezcla la capa restante de hexano y se vierte en un matraz de destilación

- 11.1.4 Deshidratación y concentración: Agregue la cantidad apropiada de sulfato de sodio en el extracto de hexano, se agita y se deshidrata. Luego se decanta el extracto deshidratado en un matraz volumétrico (6.2.5) y se concentra a menos de 5 mL en el evaporador rotatorio a 40°C. Luego, se saca el extracto y se vierte en un tubo graduado. Se enjuaga el matraz evaporado con un poco de hexano y se mezcla el hexano del enjuague con el extracto en el tubo graduado. Se concentra el extracto a menos de 1 mL con el flujo de nitrógeno a 40°C.

Se agregan 50 µL del estándar interno (7.2.3) al extracto. Luego, se mide el extracto hasta 1 mL con hexano. Ésta es la disolución de prueba para la medición en el GC/MS.

- 11.2 Análisis con el GC/MS: Los estándares de calibración y las alícuotas de las soluciones de prueba se miden utilizando el GC/MS. Las condiciones de medición del GC/MS se muestran en la Tabla 2.

12. Cálculos

El Toxafeno consiste en miles de isómeros y congéneres, por lo que muchos picos aparecen en el cromatograma del GC/MS. Por consiguiente, se requiere de un poco de ingeniosidad para su determinación. Los puntos esenciales son los siguientes.

- 12.1 Se toman los 5 picos más importantes (Nota 3) y se determina con base en la altura máxima, debido a que los fondos de los picos se superponen sobre otros picos menores y esto dificulta una determinación rigurosa del área máxima.
- 12.2 Los cinco picos se denominan “Toxafeno 1”, “Toxafeno 2”, hasta “Toxafeno 5” por conveniencia y se debe calibrar y cuantificar respectivamente. Se promedian los cinco valores cuantificados y se registran como la concentración de Toxafeno.

Nota 3. En el método de la EPA 8081b se menciona que “se usa el área total del patrón de toxafeno” ó “se usan de 4 a 6 picos mayores”. Esto último funciona mejor para evitar interferencias.

13. Manejo de residuos

Es la responsabilidad del laboratorio cumplir con todos los reglamentos federales, estatales y locales referentes al manejo de residuos, particularmente las reglas de identificación, almacenamiento y disposición de residuos peligrosos.

14. Bibliografía

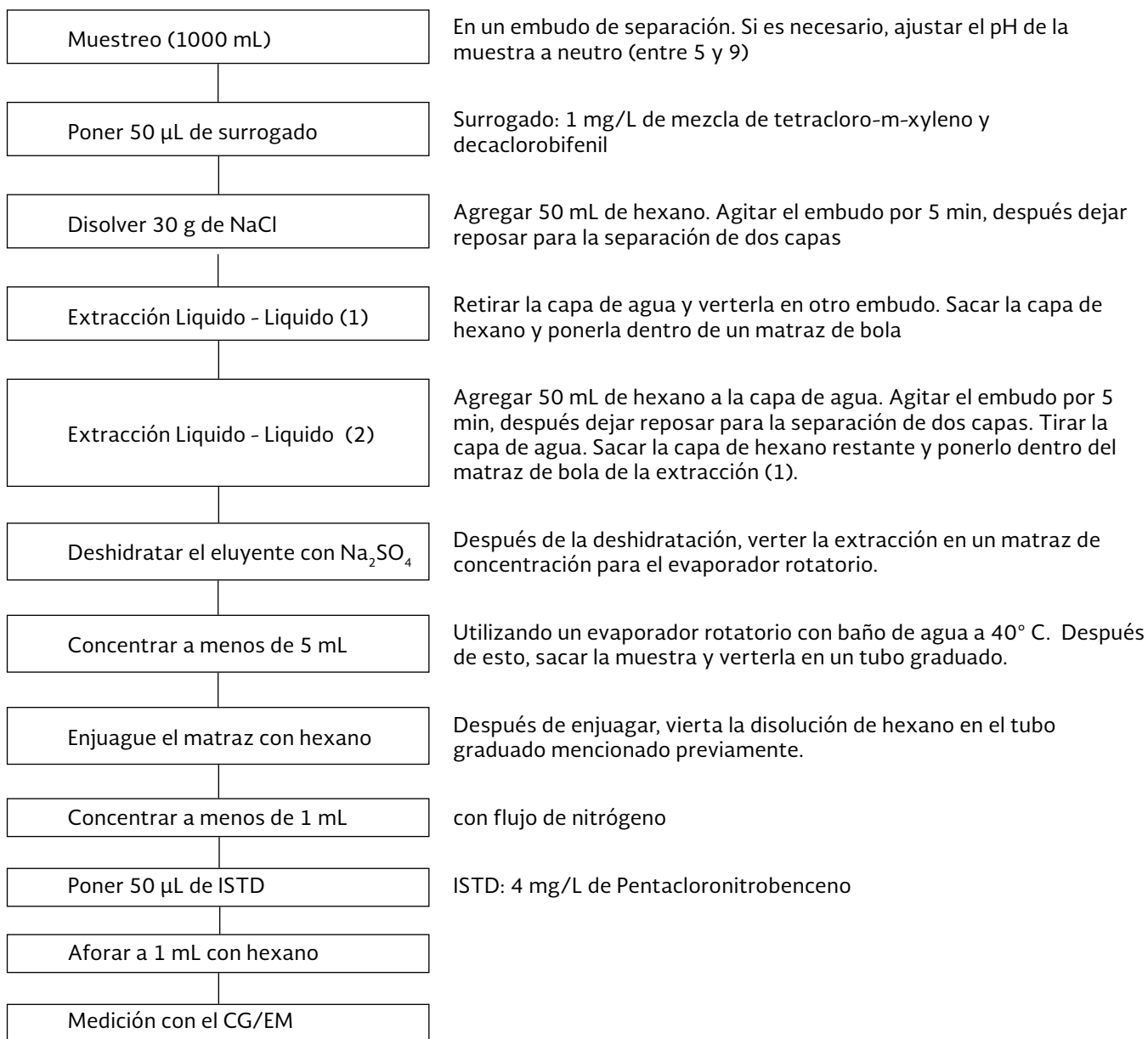
METODO EPA 8081B.2 Agencia de Protección Ambiental, Oficina de investigación y Desarrollo, Cincinnati, Ohio

15. Tablas y figuras

Tabla 1 Condiciones del GC/MS

Columna: DB-35ms (30 m de longitud, diámetro interior de 0.25 mm, espesor del filme 0.25 µm)
Portador: Helio a 45 cm/seg
Horno: 110°C por 0.5 min ~ 15°C /min (110 – 320°C) ~ 320 °C por 5 min
Inyector: 1 µL inyección, Splitless, 250°C, tiempo de activación de la purga 30 seg
Interfase: 250 °C
[Iones del Monitoreo en el modelo SIM]
2,4-D y 2,4,5-T: 159 (primario), 125 (secundario)
Pentacloro-nitrobenceno: 294.8
Tetracloro-m-xileno: 243.9
Decaclorobifenil: 497.7

Figura 1 Diagrama de Flujo del Proceso para la Preparación de la Muestra



Este libro fue creado en InDesign e Ilustrador CS5, con la fuente tipográfica Soberana Sans en sus diferentes pesos y valores, utilizando papel con certificación medioambiental para su elaboración y forma parte de los productos generados por la Subdirección General Técnica cuyo cuidado editorial estuvo a cargo de la Coordinación General de Comunicación y Cultura del Agua de la Comisión Nacional del Agua. Se terminó de imprimir en mayo de 2013. México, D.F.
El tiraje fue de XXXXXXXX ejemplares.



EL AGUA NOS UNE,
CUIDARLA ES COMPROMISO DE TODOS

www.semarnat.gob.mx
www.conagua.gob.mx